

БОРЬБА С ОЧАГОМ ЦЕРКАРИОЗА НА ОЗЕРЕ НАРОЧЬ – ОСНОВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ, ТРУДНОСТИ И ПЕРСПЕКТИВЫ

С.В. Ризевский, В.П. Курченко

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

Введение

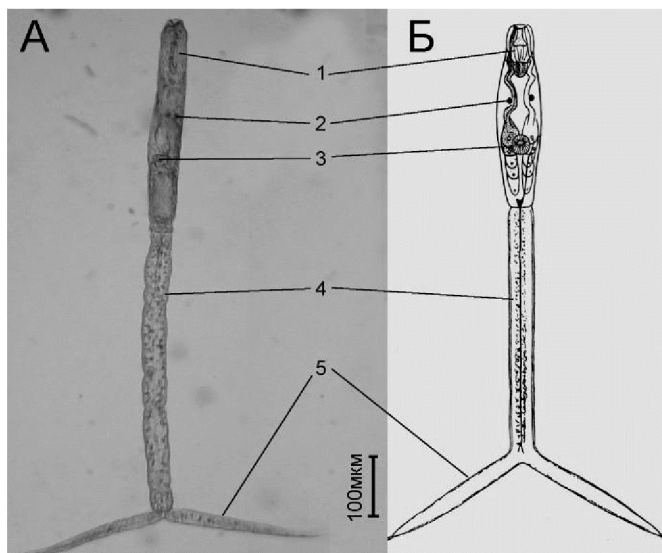
В последние десятилетия в водоемах Национального Парка «Нарочанский» возник устойчивый очаг церкариоза. Это заболевание возникает при купании и вызывается проникновением в кожу человека церкарий – водных личинок трематод семейства Schistosomatidae. Причиной формирования очага послужило нарушение экологического равновесия, вызванное антропогенной деятельностью в регионе. Центром Парка является озеро Нарочь – основное место отдыха населения Беларуси и известный курорт для иностранных туристов. Здесь расположено 12 здравниц и учреждений отдыха, а количество отдыхающих достигает 80 000 человек в год. Наличие очага церкариоза в озере Нарочь значительно ухудшает условия купания в водоеме. Большое число пострадавших от этого заболевания превратило проблему церкариоза из сугубо научной в медико-экологическую, с серьезными социальными и экономическими последствиями для государства.

Основными возбудителями церкариоза в Европе являются церкарии трематод семейства Schistosomatidae, рода *Trichobilharzia* [1]. Все виды рода имеют схожий жизненный цикл с двумя хозяевами, характерный для всех представителей шистосоматид. Брюхоногие моллюски семейства Lymnaeidae являются промежуточными, а водоплавающие птицы (в основном, семейства Anatidae) выступают в роли окончательных хозяев. Взрослые самки шистосоматид, паразитирующие в кровеносных сосудах птиц, производят в сутки до 3 000 яиц, которые попадают в просвет кишечника, а затем выводятся с экскрементами. В воде из яиц выходят мирацидии, проникающие в организм моллюсков, где превращаются в спороцисты. Образующиеся в спороцистах церкарии выходят из моллюска в воду, инфицируют водоплавающих птиц и развиваются в них во взрослые особи [2]. Важно отметить, что в результате интенсивного партеногенетического размножения на стадиях спороцисты число церкарий, производимых одним моллюском, может достигать 500 000 экз. в сутки [3]. При контакте с неспецифическим хозяином – человеком, – церкарии могут проникать в кожу и вызывать церкариоз.

Малая изученность биологического разнообразия возбудителей церкариоза в Республике Беларусь, высокое число заболевших купальщиков и отсутствие эффективных методов борьбы с заболеванием делает проблему церкариоза актуальной. Ее решение требует комплексного подхода и привлечения различных специалистов: экологов, зоологов, молекулярных генетиков, биохимиков, медиков и др.

1. Возбудители церкариоза в озере Нарочь

Вопрос паразитарных инфекций водоплавающих птиц на озере Нарочь длительное время не привлекал должного внимания ученых. При определении таксономического статуса церкарий птичьих шистосом, исследователи относили их к группе «*Trichobilharzia ocellata*», представляющей собой комплекс морфологически практически недифференцируемых видов [5]. По данным чешских паразитологов, изучение церкарий из водоемов Западной и Центральной Европы с использованием методов молекулярно-генетического маркирования, показало, что группа включает в себя, по меньшей мере, 3 вида: *T. szidati*, *T. franki*, *T. regenti* [6]. Промежуточными хозяевами этих трематод являются специфические для них виды моллюсков. Обнаруживаемые в озере Нарочь церкарии рода *Trichobilharzia* относятся к группе фуркоцеркарий – церкарий, имеющих расщепленный на 2 ветви хвост. Для прикрепления и внедрения в кожу головной орган церкарии несет 2 присоски, несколько пар желез внедрения, содержащих протеолитические ферменты, с их протоками (рисунок 1).



1 – головной орган с присоской, 2 – пигментные глаза, 3 – брюшная присоска, 4 – стебель хвоста, 5 – фурки
Рисунок 1 – Внешний вид (А) и схема строения (Б, по [4], с изменениями) церкарии рода *Trichobilharzia*

Диагностика возбудителей церкариоза затрудняется тем, что на озере Нарочь обнаружены представители 4 семейств фуркоцеркарий, не патогенных для человека, но трудно дифференцируемых по внешним признакам от шистосоматид [7]. Неверная идентификация возбудителя заболевания может приводить к применению

неэффективных методов борьбы с ним, а также к ошибочному завышению риска заражения человека церкариозом. Поэтому определение видовой принадлежности возбудителя церкариоза в нарочанском регионе является важной задачей.

Используя современные методы молекулярной систематики, нам удалось определить таксономический статус церкарий группы «*Trichobilharzia ocellata*» из озера Нарочь. Для этого была проанализирована нуклеотидная последовательность широко используемого большинством паразитологов маркерного участка ДНК птичьих шистосоматид – второго внутреннего транскрибируемого спейсера рибосомальных генов (ITS-2) [6, 8–14]. Накопленная в базе данных GenBank информация по более чем 220 последовательностям ITS-2 для представителей *Trichobilharzia* из популяций различных стран, позволила подобрать соответствующие праймеры, провести амплификацию, определить нуклеотидную последовательность и провести филогенетический анализ церкарий рода *Trichobilharzia* из озера Нарочь (рисунок 3). Расшифрованные нами нуклеотидные последовательности ITS-2 для 9 изолятов *T. sp.* свидетельствует о наличии в озере Нарочь 2 видов птичьих шистосом – *T. szidati*, *T. franki*, – и одного неидентифицированного вида *T. sp.* [15, 16]. Кроме того, были обнаружены представители другого рода семейства Schistosomatidae – церкарии *Bilharziella polonica*. Как известно, церкарии этих трематод также могут вызывать церкариоз, но в меньшей степени [1].

Подтверждением того, что обнаруженные в озере Нарочь виды рода *Trichobilharzia* способны вызывать церкариоз, служат результаты экспериментального заражения (рисунок 2). Симптомами заболевания являются возникновение на коже эритем и папул, сопровождающихся продолжительным зудом.



Рисунок 2 – Клиническая картина церкариоза на коже предплечья, вызванная экспериментальным заражением добровольца церкариями *Trichobilharzia szidati* из моллюска *Lymnaea stagnalis*, отловленного на озере Нарочь

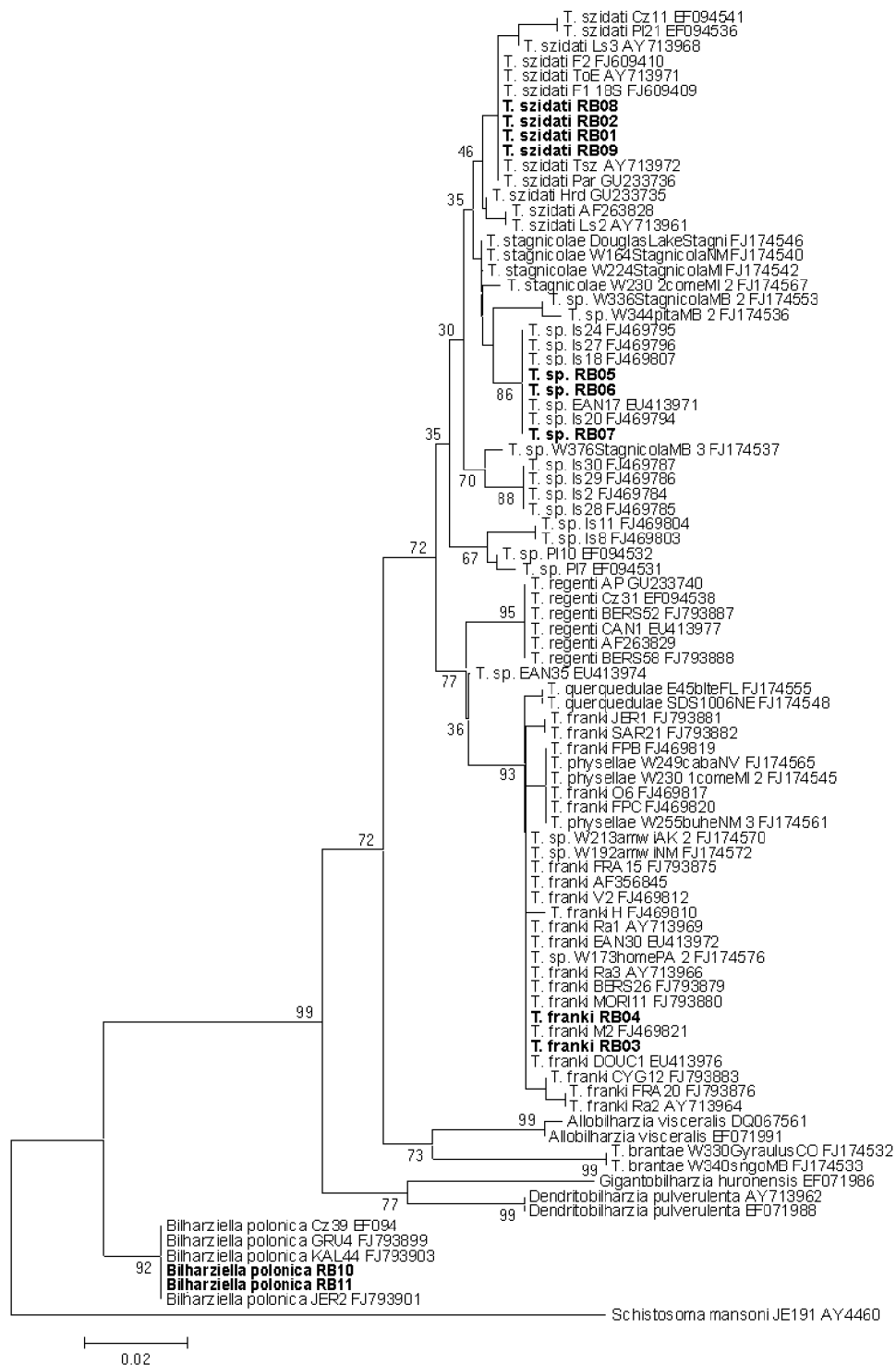


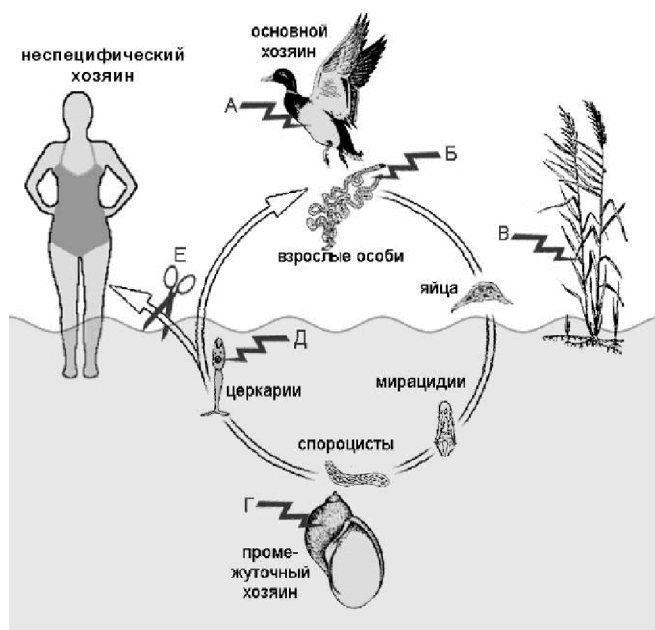
Рисунок 3 – Филогенетическое дерево, построенное на основании полученных в ходе работы последовательностей ITS-2 (отмечены полужирным шрифтом) и сиквенса птичьих шистосом из базы GenBank. Показаны значения бутстреп-поддержки для 1000 псевдореplik при использовании алгоритма Maximum Likelihood. В качестве внешней группы использована последовательность *Schistosoma mansoni*

Важно отметить, что была показана видоспецифичность обнаруживаемых в озере Нарочь шистосоматид по отношению к промежуточному хозяину. Церкарии *T. szidati* обнаруживались только в моллюсках *Lymnaea stagnalis*; *T. franki* – в *Radix auricularia*. Неидентифицированным видом *T. sp.* были поражены представители *Radix peregra*, а личинками *Bilharziella polonica* были инфицированы *Planorbarius corneus*. Эти результаты соответствуют данным, полученным чешскими и американскими паразитологами [1, 6, 17].

Факт видоспецифичности необходимо учитывать при разработке эффективных методов борьбы с очагом церкариоза, так как в озере обитают не менее 19 видов моллюсков [18], из которых лишь немногие являются потенциальными хозяевами патогенных шистосоматид.

2. Возможные пути ликвидации очага церкариоза на озере Нарочь

Возникновение и развитие очага церкариоза на озере Нарочь произошло вследствие нарушения равновесия в экосистеме водоема. Это выразилось в увеличении численности окончательных и промежуточных хозяев трематод: птиц и моллюсков. Интенсивная рекреационная деятельность в регионе привела к значительному учащению случаев контакта человека с возбудителем церкариоза. Основываясь на особенностях биологии птичьих шистосом, применяемые в мире методы борьбы с заболеванием направлены на исключение отдельных звеньев из жизненного цикла развития паразитов (рисунок 4).



Указаны звенья цикла, воздействие на которые может привести к снижению риска церкариоза или ликвидации очага заболевания: А – отпугивание и отстрел утиных птиц; Б – дегельминтизация птиц; В – выкашивание прибрежной растительности; Г – сбор и уничтожение легочных моллюсков; Д – химическое и физическое воздействие на церкарий; Е – использование личных средств профилактики для предотвращения внедрения церкарий в кожу человека

Рисунок 4 – Жизненный цикл трематод рода *Trichobilharzia*

Для снижения риска распространения церкариоза в Нарочанском курортном регионе специалистами лаборатории паразитологии ГНПО «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам», совместно с

сотрудниками лаборатории гидроэкологии Белорусского государственного университета разработаны специальные рекомендации [19]. Проблему церкариоза предлагается решать в двух направлениях: снижение активности очага церкариоза и защита купающихся от поражения патогенными личинками трематод.

Снижение активности очага может быть достигнуто в результате нарушения жизненного цикла шистосоматид путем исключения из него значительной части основных или промежуточных хозяев. Руководствуясь принципами регуляции церкариозной обстановки и «тактикой сдерживания», разработанными проф. Беэром [20], для эффективной борьбы с очагом заболевания необходимо регулирование «коридоров сдерживания». Это те звенья в жизненном цикле трематод, воздействие на которые принципиально минимизирует риск заражения очередных по циклу развития хозяев паразита. Такими «коридорами сдерживания» являются популяции водоплавающих птиц и брюхоногих моллюсков.

2.1. Птицы как объект регулирования церкариозной обстановки

Водоплавающие птицы, являясь окончательными хозяевами шистосом, играют важную роль в сохранении и поддержании очага церкариоза. Проведенные сотрудниками ГНПО «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам» в 2005–2008 гг. исследования гнездящихся и пролетных видов птиц показали, что взрослые птичьи шистосомы на Нарочи обнаруживаются в крякве (*Anas platyrhynchos*), чирке-свистунке (*Anas crecca*), чирке-трескунке (*Anas querquedula*), свиязе (*Anas Penelope*), чернети хохлатой (*Aythya fuligula*), чернети красноглазой (*Aythya ferina*) и чомге (*Podiceps cristatus*) [21]. На основании анализа показателей заражения шистосомами в популяции этих видов птиц, авторы делают вывод о том, что основным природным источником возбудителей церкариоза на озере Нарочь

является кряква обыкновенная. Учитывая упомянутую выше «тактику сдерживания» в научных рекомендациях [20] в отношении окончательных хозяев шистосом предлагается:

- Отпугивание (отстрел) водоплавающих птиц (рисунок 4А).
- Дегельминтизация птиц (рисунок 4Б).
- Выкашивание прибрежной надводной растительности (рисунок 4В)

В результате отпугивания и отстрела птиц должен быть достигнут постоянный эффект – избегание птицами зоны купания. При этом уменьшается количество попадающих в воду пляжей яиц шистосоматид и снижается уровень зараженности моллюсков, продуцирующих патогенных для человека церкарий. Важную роль играет соблюдение запрета на кормление птиц отдыхающими, особенно в пляжных зонах.

Также предлагается использование антигельминтных средств для лечения водоплавающих птиц. Проводимые меры по применению специальных кормовых приманок в местах скопления птиц способствует снижению их инвазированности на озере. Об этом свидетельствуют данные литературы [22], основанные на анализе показателей зараженности кряквы в периоды до и после проведения мероприятий по дегельминтизации на озере Нарочь.

Методом локального снижения численности окончательных хозяев шистосом вблизи пляжей является выкашивание прибрежной растительности, как мест гнездования кряквы, чирка-трескунка, чирка-свистунка, красноглазая и хохлатой чернети. В теплое время года рекомендуется проводить очистку пляжных зон от прибрежной растительности на акватории мест купания и в 25 метровой зоне, прилегающей к пляжу.

Описанные выше меры, направленные на регулирование численности птиц и их зараженность трематодами имеют свои недостатки. Во-первых, нецелесообразно уничтожить всех птиц, как элемент экосистемы водоема. Во-вторых, даже малочисленные зараженные особи птиц, благодаря своей подвижности и высокой плодовитости трематод, способны поддерживать паразитарное загрязнение озера. Выходом из такой ситуации многие исследователи видят снижение численности не окончательного, а промежуточного хозяина трематод – брюхоногих моллюсков. Именно моллюски, являясь источником патогенных церкарий, долгое время остаются основной мишенью воздействия при попытках снижения активности очага церкариоза.

2.2. Сбор и уничтожение моллюсков – промежуточных хозяев птичьих шистосом

В озере Нарочь обитают представители значительного числа видов брюхоногих моллюсков, доминирующими из которых являются семейство Lymnaeidae [18]. Виды этого семейства – *Lymnaea stagnalis*, *Radix auricularia* и *R. peregra*, по данным литературы, являются промежуточными хозяевами трематод рода *Trichobilharzia* [1]. Личинки другого патогенного вида птичьих шистосом – *Bilharziella polonica*, встречаются в моллюсках *Planorbarius corneus* из семейства Planorbidae, также широко представленного на озере Нарочь.

В мировой практике широко известным методом контроля церкариозной обстановки является уничтожение моллюсков. При этом применяются как различные моллюскоцидные препараты, так и сбор моллюсков вручную или при помощи специальных механических устройств [23]. Из химических средств наиболее распространенным остается использование сульфата меди, направляемого при помощи шланга в места скопления моллюсков [24]. Другими авторами предлагалось применять формальдегид, моллюскоцидные препараты нового поколения [25–27]. Однако как показала практика, эти меры являются малоэффективными, затратными и экологически небезопасными.

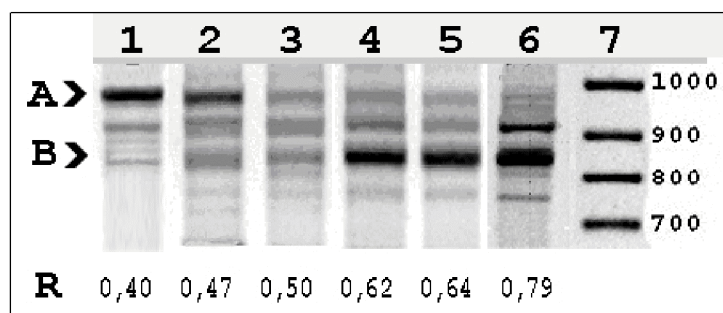
На озере Нарочь наиболее апробирован на практике метод снижения численности промежуточных хозяев шистосом путем ручного сбора и уничтожения моллюсков. За время масштабных мероприятий, которые проводятся с 2005 г., из озера было изъято и уничтожено более 50 000 особей, из которых значительную долю составляли представители прудовика большого (*L. stagnalis*) – промежуточного хозяина трематод *T. szidati*.

Несмотря на значительное снижение численности моллюсков, очаг церкариоза на озере Нарочь сохраняется, о чем свидетельствует официальная медицинская статистика заболеваний отдыхающих: 2004 г. – 329 человек, 2005 г. – 553, 2006 г. – 679, 2007 г. – 495. Это заставило усомниться в эффективности принимаемых мер и искать причину сохранения очага заболевания при искусственном снижении численности популяции прудовика.

Одной из возможных причин неэффективности проводимых мероприятий являются особенности биологии легочных моллюсков, а именно наличие у них альтернативных способов размножения – перекрестного оплодотворения (ПО) и самооплодотворения (СО). Размножение посредством СО у легочных моллюсков имеет несомненное адаптивное значение, поскольку обеспечивает существование их популяций в нестабильных условиях среды, сопряженных с постоянной и высокой элиминацией. СО имеет место при резком снижении плотности популяции, когда половозрелые особи оказываются неспособными найти полового партнера. Быстрое восстановление численности за счет особей, размножающихся посредством СО позволяет моллюскам противостоять таким факторам, как значительные сезонные колебания уровня воды, приводящие к осушению прибрежных биотопов, пресс хищников, летнее повышение температуры воды, сброс загрязнителей и др. Как показали исследования проф. А.П. Голубева, *L. stagnalis* способны размножаться только посредством СО в течении, по меньшей мере, 9 последовательных поколений, сохраняя при этом высокий показатель плодовитости [28–29].

С другой стороны, СО приводит к гомозиготизации генома и снижению генотипического разнообразия особей популяции. Это может негативно сказаться на жизнестойкости особей и повысить их чувствительность к факторам окружающей среды, в том числе и к инвазии трематодами. Малочисленные и противоречивые данные по этому вопросу долгое время ограничивались изучением особей лишь первого поколения от СО [30–32]. Результаты, демонстрирующие влияние способа оплодотворения на чувствительность моллюсков к трематодам, впервые были получены в ходе совместных исследований, проведенных в 2008–2011 гг. сотрудниками БГУ и БГЭУ им. Сахарова [33].

Прежде всего, в опытах с лабораторными моллюсками были определены молекулярно-генетические особенности особей, происходящих от различных способов оплодотворения. Объектами исследования являлось потомство от ПО и СО в последовательных поколениях – от второго (СО–2) до восьмого (СО–8). Использование метода полимеразной цепной реакции с декамерными праймерами позволило выявить среди продуктов маркерные фрагменты, уровень амплификации которых коррелировал со способом оплодотворения моллюска. В частности, было показано, что при использовании праймера OpB-01 (5'–GTTTCGCTCC–3'), в ПЦР-паттернах моллюсков, происходящих от ПО, преобладает фрагмент размером около 1000 пар оснований, а происходящих от длительного СО – фрагмент размером около 850 п.о. (рисунок 5). Фрагменты были обозначены как А и В, соответственно. Установлено, что отношение доли фрагмента В к сумме фрагментов А и В, обозначенное как R, зависело от продолжительности самооплодотворения в течение ряда поколений. Чем больше последовательных поколений моллюсков размножалось посредством СО, тем выше значение R. Эта зависимость имела высокий коэффициент линейной корреляции Пирсона, $r=0,93$.



1 – моллюски от ПО; 2,3 – СО–2; 4 – СО–4; 5 – СО–7; 6 – СО–8; 7 – маркер масс ДНК. Стрелками обозначены фрагменты А и В. Под дорожками приведены значения величины R

Рисунок 5 – Типичные ПЦР-паттерны, полученные при амплификации ДНК, выделенной из моллюсков, происходящих от ПО и СО в течение нескольких поколений

Таким образом, при количественной оценке фрагментов А и В, их можно использовать как маркеры СО и ПО. По значению величины R можно судить о способе оплодотворения, от которого произошел моллюск, и о продолжительности самооплодотворения в предыдущих поколениях.

Для определения влияния способа размножения моллюсков на их чувствительность к инфицированию трематодами, из озера Нарочь были взяты 2 выборки *L. stagnalis* по 60 особей. Первая выборка содержала особи, инфицированные трематодами, вторая – здоровые прудовики. Из всех особей была выделена ДНК, проведена амплификация с праймером OpV-01, в полученных ПЦР-паттернах определены доли продуктов А и В и рассчитана величина R. Средние значения величины R для двух выборок моллюсков представлены на рисунке 6.

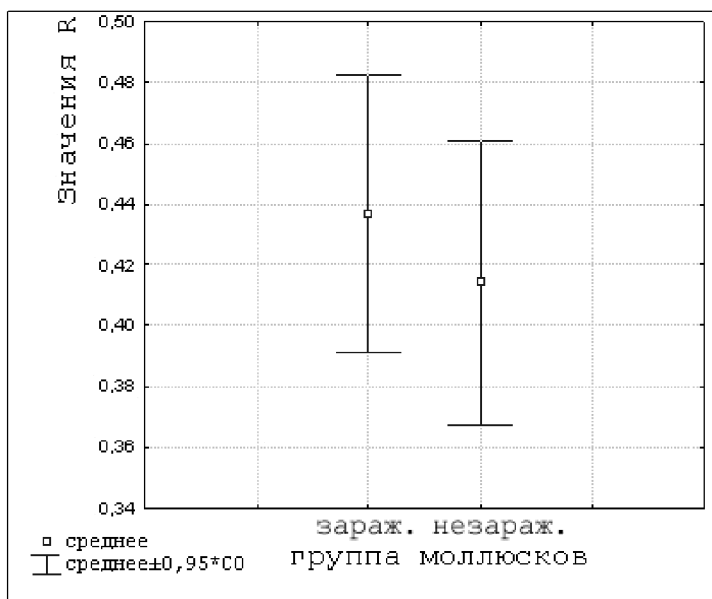
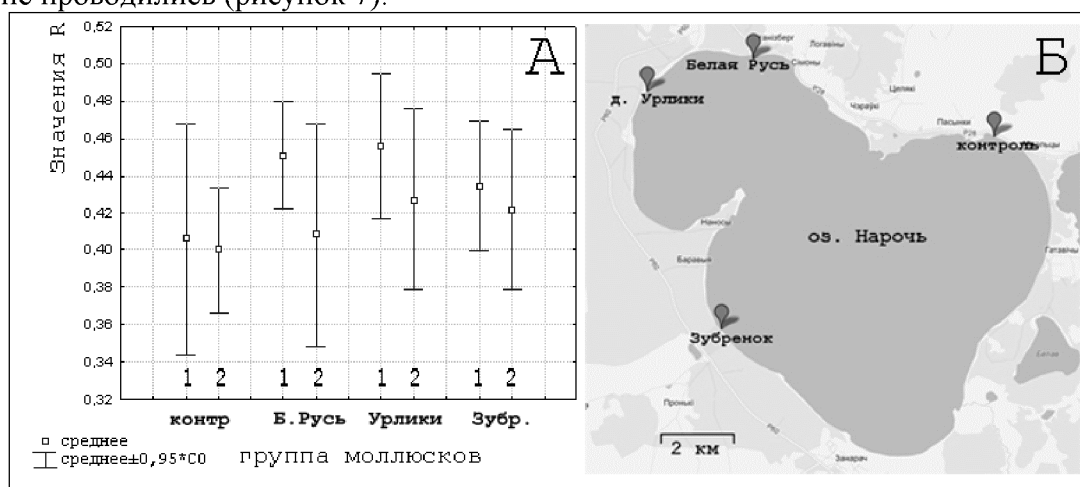


Рисунок 6 – Значения величины R в выборках зараженных и незараженных моллюсков *L. stagnalis* из озера Нарочь

Средние значения величины R двух выборок статистически достоверно отличались друг от друга. Т-критерий Стьюдента составил 2,24 при уровне значимости $P > 0,95$. Необходимо отметить, что среднее значение R в выборке инфицированных моллюсков было выше такового среди незараженных особей. Полученные данные говорят в пользу того, что среди зараженных моллюсков больше особей, происходящих от

самооплодотворения, чем в выборке здоровых. Это свидетельствует о повышенной чувствительности особей от СО к трематодам, по сравнению с особями от ПО.

При анализе значений R в выборках здоровых и инфицированных моллюсков, собранных на различных участках озера Нарочь, было найдено подтверждение тому, что массовый сбор моллюсков приводит к переходу части моллюсков на размножение посредством СО. Средние значения R для прудовиков, отловленных в местах их интенсивного сбора: пляжи санатория Белая Русь, деревни Урлики и детского лагеря Зубренок, были выше, чем у особей из контрольной группы, собранных в районе озера, где сборы не проводились (рисунок 7).



1 – зараженные моллюски, 2 – здоровые

Рисунок 7 – Значение величины R в выборках моллюсков, собранных на различных участках озера Нарочь (А) и географическое расположение мест сбора проб (Б)

Таким образом, регулирование «коридора сдерживания» церкариоза на озере Нарочь на уровне популяции моллюсков, как промежуточных хозяев трематод, оказалось неэффективным. Это объясняется переходом части выживших после массовых сборов особей прудовиков к размножению посредством самооплодотворения. Такой процесс приводит к повышению чувствительности моллюсков к инфицированию трематодами. Несмотря на то, что плотность популяции промежуточного хозяина снижена, немногочисленные зараженные особи способны поддерживать очаг церкариоза, благодаря большому количеству производимых ими патогенных личинок.

3. Воздействие на личинок шистосом, как один из путей решения проблемы церкариоза

Физико-химическое воздействие на возбудителя может являться эффективным направлением в борьбе с заболеванием. Несмотря на то, что очаг церкариоза при этом сохраняется, зоны пляжей возможно обезопасить и ограничить от церкарий. Различными авторами предлагаются методы, основанные на отпугивании и уничтожении церкарий, или, наоборот, на привлечении и изолировании личинок. Например, сотрудниками ЦБС НАН Беларуси предлагается использовать технические средства, основанные на репеллентном и церкарицидном действии эфирных масел растений [34]. Такие средства представляют собой плавучие кольца со стабильным эмульгированным препаратом эфирных масел или контейнеры, заполненные сухим измельченным сырьем антигельминтных трав. Из мировой практики также известно применение ловушек, содержащих жирные кислоты – компонент кожи теплокровных животных, служащих аттрактантом, привлекающим церкарий [35].

Исследуется эффективность использования на озере Нарочь электрофизических методов, таких как переменный электрический ток, ультразвуковое излучение, озонирование воды и др., губительно воздействующих на водные личинки птичьих шистосом [36]. Несмотря на полученные положительные результаты в лабораторных опытах, применение предлагаемых методик в условиях реального водоема весьма ограничены и требуют значительного усовершенствования оборудования.

Более перспективной видится возможность применения световых ловушек, предлагаемых А.В. Зубаревым, основанных на положительном фототаксисе церкарий птичьих шистосом. Такие световые ловушки можно использовать по периметрам пляжей и снабжать их элементами, содержащими церкарицидные препараты, уничтожающие личинок в непосредственной близости.

Важным недостатком физико-химических методов является их неспецифичное действие на всех обитателей экосистемы озера и сложность прогнозирования последствий таких мероприятий. Данные ограничения, наряду со сложностью эксплуатации оборудования, не позволяют надеяться на широкое и эффективное их использование в борьбе с очагом церкариоза на озере Нарочь.

4. Средства индивидуальной профилактики церкариоза

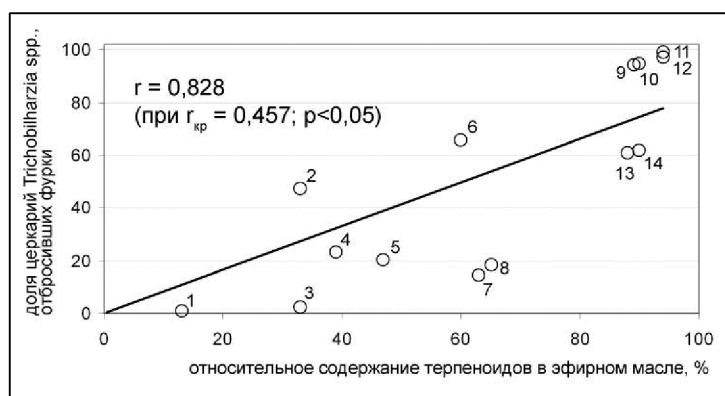
Проводимые на озере Нарочь мероприятия по нарушению жизненного цикла шистосоматид путем исключения из него значительной части основных и промежуточных хозяев могут привести к снижению активности очага церкариоза только в долгосрочной перспективе. В настоящее время, для обеспечения условий купания в водоеме и улучшения рекреационного потенциала курорта, возможно применение средств индивидуальной защиты. Профилактические кремы, мази, гели и мыла, наносимые на кожу перед купанием, создают эффективный барьер из репеллентных и церкарицидных соединений, которые препятствуют прикреплению и внедрению церкарий. При этом оказывается ничтожно малое влияние на экосистему озера в целом, и поэтому такие средства могут широко применяться без риска негативных последствий для водоема.

Основными задачами при разработке средств профилактики церкариоза являются поиск потенциальных репеллентных и церкарицидных соединений и оценка эффективности их действия на церкарий. В литературе известны работы по разработке защитных кремов на основе антигельминтных синтетических соединений: никлозамида [37], диэтилтолуамида

[38], диметил- и дибутилфталата [39], этилбутилацетиламинопропионата [40] и др. Ряд работ посвящен использованию препаратов растительного происхождения [41–43].

Одним из перспективных источников церкарицидных и репеллентных соединений являются эфирные масла растений. Имея в своем составе десятки терпеновых и терпеноидных соединений, эфирные масла обладают широким спектром биологических активностей. В этой связи актуально изучение состава терпеновых компонентов масел и определение индивидуальных соединений, ответственных за церкарицидные свойства.

В ходе совместной работы сотрудниками ЦБС НАН Беларуси и БГУ был исследован состав эфирных масел более 50 различных хвойных, лекарственных и пряно-ароматических растений. В них определены около 120 индивидуальных терпеновых и терпеноидных соединений. Для исследования церкарицидного действия эфирных масел использовался метод визуального определения гибели церкарий по потере фурок. На рисунке 8 представлены результаты церкарицидного действия эфирных масел с различным содержанием терпеноидов. Анализ полученных данных выявил прямую взаимосвязь между содержанием кислородзамещенных производных терпенов – терпеновых спиртов, эфиров, кетонов и альдегидов и их церкарицидным действием. Коэффициент линейной корреляции Пирсона составлял $r > 0,8$.



1 – *Pinus pumila*, 2 – *Picea asperata*, 3 – *Pinus strobus*, 4 – *Chamaecyparis pisifera*, 5 – *Chamaecyparis lawsoniana*, 6 – *Tsuga canadensis*, 7 – *Juniperus horizontalis*, 8 – *Abies alba*, 9 – *Thuja occidentalis*, 10 – *Thuja occidentalis* «Aurea», 11 – *Thuja occidentalis* «Spiralis», 12 – *Thuja plicata*, 13 – *Picea schrenkiana*, 14 – *Picea glehnii*

Рисунок 8 – Взаимосвязь церкарицидного действия эфирных масел и содержания в них терпеноидов

Для создания профилактических средств необходима количественная оценка и определение эффективных доз церкарицидных соединений. Эта задача была решена с применением принципиально нового подхода [44]. Он основан на измерении скорости потребления кислорода церкариями в замкнутой системе при внесении исследуемого вещества. Влияние химических веществ на жизнеспособность личинок трематод определяется по снижению скорости потребления ими кислорода.

С использованием разработанного методического подхода было установлено церкарицидное действие ряда эфирных масел и их отдельных компонентов. Наибольший эффект оказывало эфирное масло гвоздики (*Syzygium aromaticum*). Анализ его состава выявил, что доминирующим компонентом является терпеновый спирт эвгенол, содержание которого составляло более 81%. Исследование действия чистого эвгенола на жизнеспособность церкарий показало, что величина его церкарицидного действия сопоставима с действием самого эфирного масла гвоздики. Следовательно, именно эвгенол является действующим компонентом масла, ответственным за проявления церкарицидных свойств. На основе эвгенола в НИЛ прикладных проблем биохимии БГУ разработан профилактический крем «Нарочанский берег», показавший свою эффективность в лабораторных и полевых опытах с церкариями птичьих шистосом. Благодаря репеллентным свойствам эвгенола, нанесение крема на кожу перед купанием значительно снижает риск контакта человека с личинками шистосом. В случае же прикрепления церкарий к коже, эвгенол действует губительно, предотвращая их внедрение. Этому способствуют и вспомогательные вещества, входящие в состав крема. Диметилфталат также снижает жизнеспособность церкарий, а этилендиаминтетраацетат (ЭДТА), являясь известным хелатором двухвалентных металлов, нарушает нормальную работу кальцийзависимых

сериновых протеаз, выделяющихся с секретом желез внедрения, и препятствует проникновению личинок в тело человека. Кроме профилактического крема, на основе эфирных масел в лаборатории ведутся работы по созданию жидкого и твердого мыла. Основываясь на анализе состава более 50 исследованных эфирных масел хвойных, лекарственных и пряно-ароматических растений, перспективными источниками церкарицидных субстанций могут выступать масла туй, некоторых видов елей и пихт, содержащих значительные количества терпеноидов.

5. Мониторинг водоемов и оценка риска заболевания церкариозом

Полученные в последние годы данные свидетельствуют о том, что потенциально опасные для купания водоемы существуют в Республике Беларусь не только в Нарочанском регионе [15, 16, 45]. Проведенный Т.Е. Дороженковой эколого-паразитологический скрининг 90 водоемов Минской области выявил еще 6 водных объектов, потенциально опасных для купания из-за обитания в них церкарий семейства Schistosomatidae. Это оз. Дягильное Дзержинского района, оз. Мястро Мядельского района, Вилейское водохранилище, пруды Дикий и Девичий Несвижского района и водоем, расположенный в дер. Новоселки Борисовского района. Так как обследованием была охвачена лишь незначительная часть водоемов Минской области, то можно предположить, что церкариозоопасные для купания очаги заболевания имеют более широкое распространение на территории Беларуси, чем считалось ранее.

Для оценки церкариозной обстановки в Беларуси и для выявления очагов заболевания и потенциально опасных водоемов исследователями должны решаться несколько задач.

Во-первых, это скрининг водоемов на наличие возбудителя. Наиболее распространенная методика включает в себя сбор легочных моллюсков и исследование их зараженности шистосоматидами [46]. Разработанные сотрудниками Минского областного центра гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья и Витебского государственного медицинского университета инструкции [47], определяют морфологические критерии при проведении идентификации патогенных церкарий. Однако как уже описывалось выше, такие методы не позволяют определить церкарий до вида, требуют высокой квалификации специалиста и сопряжены со сложностью приготовления и хранения препаратов. В этой связи целесообразно использовать молекулярно-генетические методы, обладающие высокой чувствительностью и специфичностью [48, 49]. Например, предлагаемый Хертелем [50] подход на основе полимеразной цепной реакции со специфическими праймерами позволяет идентифицировать единичные церкарии рода *Trichobilharzia* в пробах воды непосредственно из водоема. Работы в этом направлении продолжаются и имеют несомненные перспективы.

Во-вторых, перед исследователями стоит задача разработки объективных критериев оценки паразитарной обстановки на водоеме. Ведь просто наличие возбудителя говорит лишь о потенциальной опасности, а не об очаге церкариоза. Для определения паразитарной ситуации на водоеме проф. Беэром [20] предлагается анализ многих показателей, важнейшими из которых являются: видовой состав, плотность популяции и экстенсивность инвазии моллюсков; степень зарастания и характер растительности водоема, наличие утиных птиц, использование водоема в рекреационных целях. То есть, определение условий для существования зоны с повышенным риском заражения. Принципиально другим подходом является непосредственное определение количества патогенных церкарий в объеме воды в прибрежной зоне. Количественный подсчет личинок при микроскопировании больших объемов воды невероятно трудоемок. Применение молекулярно-генетических методов вместе с методами механической фильтрации при отборе проб представляется многообещающим. Показана возможность использования метода количественной полимеразной цепной реакции для определения титра церкарий шистосоматид в воде [51, 52].

При оценке паразитарной обстановки в водоемах санаторно-курортных зон особое внимание необходимо уделять прежде всего водоемам, имеющим высокую рекреационную нагрузку. Как показывает мировая практика, ликвидация сформировавшегося очага

церкариоза – это практически невыполнимая задача. Поэтому, мониторинг позволит своевременно предотвратить возникновение новых очагов церкариоза.

Выводы

Решение проблемы существования очага церкариоза на озере Нарочь требует комплексного подхода. Все предлагаемые пути борьбы с заболеванием имеют свои преимущества и недостатки. Как показывает практика, снижение активности очага церкариоза путем исключения из жизненного цикла отдельных звеньев сопряжено с определенными трудностями. Отпугивание, отстрел, дегельминтизация птиц и уничтожение мест их гнездования может дать положительные результаты только при продолжительном и неукоснительном выполнении разработанных рекомендаций по периметру всего озера. Наличие на водоеме более десятка различных здравниц и учреждений отдыха с множеством пляжей затрудняет централизованное и контролируемое проведение мероприятий такого рода.

Сбор и уничтожение легочных моллюсков, как промежуточных хозяев трематод, оказался малоэффективным в связи с наличием у них альтернативных способов оплодотворения при размножении. При искусственном снижении численности популяции моллюсков они переходят на размножение посредством самооплодотворения, быстро увеличивают численность и при этом становятся более чувствительными к инвазии трематодами.

В ближайшее время, наиболее перспективным направлением снижения случаев церкариоза является профилактика заболевания с использованием индивидуальных средств защиты – кремов, мазей, гелей, мыла.

Важно отметить, что озеро Нарочь является лишь частным примером очага церкариоза, возникшего вследствие нарушения экологического равновесия в регионе под действием антропогенной деятельности. Существование потенциально опасных водоемов по всей территории Беларуси требует разработки методов оценки церкариозной обстановки и постоянного мониторинга ситуации в рекреационно нагруженных районах. Успешное решение существующих проблем в нарочанском регионе и предотвращение формирования новых очагов заболевания предполагает сотрудничество исследователей из различных областей биологии.

Список литературы

1. Kolarova, L. Schistosomes causing cercarial dermatitis: a mini-review of current trends in systematics and of host specificity and pathogenicity / L. Kolarova // *Folia Parasitologica*. – 2007. – Vol. 54. – P. 81–87.
2. Horak, P. Biology of the schistosome genus *Trichobilharzia* / P. Horak, L. Kolarova, C.M. Adema // *Adv. Parasitol.* – 2002. – Vol. 52. – P. 155–233.
3. Haas, W. Parasitic worms: strategies of host finding, recognition and invasion / W. Haas // *Zoology*. – 2003. – Vol. 106. – P. 349–364.
4. Pirila, V. Cases of swimmers itch in Finland / V. Pirila, B.J. Wikgren // *Acta dermat.-vener.* – 1957. – Vol. 37. – P. 140–148.
5. Методические рекомендации по диагностике, медико-экологической экспертизе и профилактике церкариозов / С.А. Беэр [и др.] – Минск: МЗ Республики Беларусь, 1995. – 13 с.
6. Validity reassessment of *Trichobilharzia* species using *Lymnaea stagnalis* as the intermediate host / J. Rudolfova [et al.] // *Parasitol Res.* – 2005. – Vol. 95. – P. 79–89.
7. Морфологическая и молекулярно-генетическая идентификация личинок трематод. Морфологические особенности строения личинок трематод (сообщение 1). / Л.Н. Акимова [и др.] // *Труды Белорусского государственного университета*. 2007. – Том 2. – С. 225–247.
8. Comparison of European *Trichobilharzia* species based on ITS-1 and ITS-2 sequences / J. Dvorak [et al.] // *Parasitology*. – 2002. – Vol. 124. – P. 307–313.
9. *Trichobilharzia* spp. in natural conditions in Annecy Lake, France / D. Jouet [et al.] // *Parasitol. Res.* – 2008. – Vol. 103. – P. 51–58.

10. Avian schistosomes in French aquatic birds: a molecular approach / D. Jouet [et al.] // *J. Helminthol.* – 2009. – Vol. 83. – P. 181–189.
11. Bird schistosome diversity in Iceland: molecular evidence / J.A. Aldhoun [et al.] // *Helminthol.* – 2009. – Vol. 83. – P. 173–180.
12. Dvorak, J. Molecular analysis of European *Trichobilharzia* species / J. Dvorak // *Helminthologia.* – 2001. – Vol. 38, № 4. – P. 243–250.
13. Presence of *Trichobilharzia szidati* in *Lymnaea stagnalis* and *T. franki* in *Radix auricularia* in northeastern France: molecular evidence. / H. Ferte [et al.] // *Parasitol. Res.* – 2005. – Vol. 95, № 2. – P. 150–154.
14. *Allobilharzia visceralis* gen. nov., sp. nov. (Schistosomatidae – Trematoda) from *Cygnus cygnus* (L.) (Anatidae) / L. Kolarova [et al.] // *Parasitology International.* – 2006. – Vol. 55, № 3. – P. 179–186.
15. Ризевский, С.В. Определение видовой принадлежности церкарий группы *Trichobilharzia ocellata* и выявление генетического полиморфизма между особями популяций различных водоемов / С.В. Ризевский, Л.Н. Акимова, В.П. Курченко // Доклады НАН Беларуси. – 2009. – Т. 53, № 5. – С. 80–84.
16. Rizevsky, S.V. Molecular taxonomic identification of Schistosomatidae from Naroch Lake and Polonevichi Lake in Belarus / S.V. Rizevsky, E.M. Cherviakovsky, V.P. Kurchenko // *Biochemical Systematics and Ecology.* – 2011. – Vol. 39. – P. 14–21.
17. Brant, S.V. Molecular systematics of the avian schistosome genus *Trichobilharzia* (Trematoda: Schistosomatidae) in North America. / S.V. Brant, E.S. Loker // *J. Parasitol.* – 2009. – Vol. 95, № 4. – P. 941–963.
18. Макаревич, О.А. Видовой состав и плотность брюхоногих моллюсков прибрежной зоны озера Нарочь / О.А. Макаревич, Т.В. Жукова // Проблема церкариоза в Нарочанском регионе. – Материалы семинара, проведенного ГПУ НП «Нарочанский» на базе УНЦ «Нарочанская биологическая станция имени Г. Г. Винберга» БГУ 1–2 ноября 2006. – Минск, 2007. – С. 71–86.
19. Научные рекомендации (регламенты) для проведения комплекса мероприятий по снижению риска распространения церкариоза в Нарочанском курортном регионе / Е.И. Бычкова [и др.] – Минск, 2011. – 14 с.
20. Беэр С.А. Церкариозы в урбанизированных экосистемах / С.А. Беэр, М.В.Воронин. – Москва: Наука, 2007. – 239 с.
21. Хейдорова, Е.Э. Мониторинг зараженности птиц – носителей шистосоматидной инвазии на озере Нарочь в 2005–2008 гг. / Е.Э. Хейдорова, Е.И. Бычкова // Материалы Республиканской научно-практической конференции «Научное обеспечение, природоохранная и эколого-просветительская деятельность, рекреационный потенциал», посвященной 10-летию государственного природоохранного учреждения «Национальный парк «Нарочанский» 23–25 сентября 2009, Курортный поселок Нарочь. – С. 63–68.
22. Оценка эффективности метода дегельминтизации кряквы (*Anas platyrhynchos* L.) в прибрежной зоне озера Нарочь с целью снижения риска распространения шистосомных церкариозов / М. В. Якубовский [и др.] // Вопросы рыбного хозяйства Беларуси: сборник научных трудов РУП "Институт рыбного хозяйства", РУП "Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству", Белорусский государственный университет. – 2008. – Вып. 24. – С. 390–393.
23. Leighton, B.J. Ecological factors in schistosome transmission, and an environmentally benign method for controlling snails in a recreational lake with a record of schistosome dermatitis / B.J. Leighton, S. Zervos, J.M. Webster // *Parasitol. Int.* – 2000. – Vol. 49, № 1. – P. 9–17.
24. Воронин, М.В. Церкариозы и борьба с ними в разных странах мира / М.В. Воронин // Проблема церкариоза в Нарочанском регионе. – Материалы семинара, проведенного ГПУ НП «Нарочанский» на базе УНЦ «Нарочанская биологическая станция имени Г. Г. Винберга» БГУ 1–2 ноября 2006. – Минск, 2007. – С. 11–36.

25. Brackett, S. Methods for controlling schistosome dermatitis / S. Brackett // Journ. Am. Med. Assoc. – 1939. – Vol. 113. – P. 11–12.
26. Cherfas, J. New weapon in the war against schistosomiasis / J. Cherfas // Science. – 1989. – Vol. 246, № 4935. – P. 1242–1243.
27. Survey of trematode infections in Spring Lake Regional Park, California, USA / A.K. Bei [et al.] // Helminthologia. – 2001. – Vol. 38. – P. 25–29.
28. Голубев, А.П. Воздействие длительного самооплодотворения на рост и размножение большого прудовика *Lymnaea stagnalis* (Gastropoda, Pulmonata) – промежуточного хозяина возбудителей гельминтозных заболеваний / А.П. Голубев, О.А. Бодиловская, Л.Е. Слесарева // Доклады НАН Беларуси. – 2010. – Т. 54, № 1. – С. 90 – 93.
29. Голубев, А.П. Способность большого прудовика *Lymnaea stagnalis* (Gastropoda, Pulmonata) к длительному самооплодотворению как фактор его популяционной стабильности / А.П. Голубев [и др.] // Наук. зап. Тернопільського нац. пед. ун-та ім. В. Гнатюка. Сер. біол. – 2010. – № 3. – С. 89 – 93.
30. The effects of mating system and genetic variability on susceptibility to trematode parasites in a freshwater snail, *Lymnaea stagnalis* / M. Puurtinen [et al.] // Evol. Int. J. Org., Evol. – 2004. – Vol. 58, № 12. – P. 747 – 753.
31. Richards, C.S. The genetic variation of compatibility in *Biomphalaria glabrata* and *Schistosoma mansoni* / C.S. Richards, P.C. Shade // J. Parasitol. – 1987. – V. 73, № 6. – P. 1146–1451.
32. Short report: *Schistosoma mansoni* miracidia are killed by defense system of an Argentine strain of *Biomphalaria straminea* / L. Grassi [et al.] // Am. J. Trop. Med. Hyg. – 2001. – V. 65, № 4. – P. 290–292.
33. Роль особенностей размножения *Lymnaea stagnalis* в сохранении очагов церкариоза / С.В. Ризевский [и др.] // Известия Самарского НЦ РАН. – 2011. – Т. 13, № 6 (2). – С. 106–108.
34. Использование препаратов растительного происхождения для профилактики распространения церкариоза / Е.В. Спиридович [и др.] // Материалы семинара, проведенного ГПУ НП «Нарочанский» на базе УНЦ «Нарочанская биологическая станция имени Г. Г. Винберга» БГУ 1–2 ноября 2006. – Минск, 2007. – С. 184–202.
35. A trap for the detection of schistosome cercariae / C.J. Shiff [et al.] // J. Parasitol. – 1993. – Vol. 72, №2. – P. 149–154.
36. Оценка возможности воздействия электрофизических методов, ультразвука и эффекта озонирования на личиночные стадии гельминтов и их носителей – моллюсков в целях подавления очага церкариоза в курортной зоне озера Нарочь / М.Е. Никифоров [и др.] // Материалы Республиканской научно–практической конференции «Научное обеспечение, природоохранная и эколого-просветительская деятельность, рекреационный потенциал», посвященной 10-летию государственного природоохранного учреждения «Национальный парк «Нарочанский» 23–25 сентября 2009, Курортный поселок Нарочь. – С. 95–99.
37. Wulff, C. Cream formulations protecting against cercarial dermatitis by *Trichobilharzia* / C. Wulff, S. Haerberlein, W. Haas // Parasitol. Res. – 2007. – Vol. 101. – P. 91–97.
38. Topical application of DEET for schistosomiasis. / K. Ramaswamy [et al.] // Trends. Parasitol. – 2003. – Vol. 19. – P. 551–555.
39. Dimethicone barrier cream prevents infection of human skin by schistosome cercariae: evidence from Franz cell studies / R.J. Ingram [et al.] // J. Parasitol. – 2002. – Vol. 88. – P. 399–402.
40. Fradin, M.S. Comparative efficacy of insect repellents against mosquito bites. M.S. Fradin, J.F. Day // N. Engl. J. Med. – 2002. – Vol. 347. – P. 13–18.
41. Angioni, A. Chemical composition of the essential oils of *Juniperus* from Ripe and unripe berries and leaves and their antimicrobial activity / A. Angioni, A. Barra, M.T. Russo // J. Agric. Food. Chem. – 2003. – Vol. 51. – P. 3073–3078.

42. Naples, J.M. Schistosoma mansoni: cercariacidal effects of cedarwood oil and various of its components / J.M. Naples, C.J. Schiff, F.H. Rosler // *J. Trop. Med. Hyg.* – 1992. – Vol. 95, № 6. – P.390–396.
43. Saleh, M.M. The essential oil of *Apium graveolens* var. *secalinum* and its cercariacidal activity / M.M. Saleh, J.H. Zwaving, T.M. Malingre // *Pharm. Weekbl. Sci.* – 1985. – Vol. 7, № 6. – P. 277–279.
44. Ризевский, С.В. Церкариецидные свойства эфирных масел ряда растений / С.В. Ризевский, В.П. Курченко // Доклады НАН Беларуси. – 2010. – Т. 54, № 6. – С. 72–76.
45. Бекиш, О.-Я.Л., Церкариальные дерматиты как проблема Нарочанского курортного региона / О.-Я.Л. Бекиш, Т. Е. Дороженкова // *Медицинские новости.* – 2008. – № 16. – С. 40–44.
46. Kolarova, L. Methodical approaches in the identification of areas with a potential risk of infection by bird schistosomes causing cercarial dermatitis / L. Kolarova, P. Horak, K. Skirnisson // *J. Helminthology.* – 2010. – Vol. 84. – P. 327–335.
47. Бекиш, О.-Я.Л. Способ определения видовой принадлежности церкариев птичьих трематод семейства Schistosomatidae в брюхоногих легочных моллюсках. Инструкция по применению / О.-Я.Л. Бекиш, Т.Е. Дороженкова – Минск, 2007. – 8 с.
48. Морфологическая и молекулярно-генетическая идентификация личинок трематод. Идентификация церкарий трематод *Trichobilharzia* sp. с помощью метода полимеразной цепной реакции (сообщение 2). / С.В. Ризевский [и др.] // Труды Белорусского государственного университета. – 2007. – Том 2. – С. 248–257.
49. Ризевский, С.В. Молекулярно-генетические особенности личинок трематод семейства Schistosomatidae. / С.В. Ризевский, Л.Н. Акимова, В.П. Курченко // Труды Белорусского государственного университета. – 2008. – Том 3, В. 1. – С. 170–182.
48. Detection of bird schistosomes in lakes by PCR and filter-hybridization / J. Hertel [et al.] // *Exp. Parasitol.* – 2002. – Vol. 101. – P. 57–63.
49. Hung, Y. W. Quantitative Detection of *Schistosoma japonicum* Cercariae in Water by Real-Time PCR / Y. W. Hung, J. Remais // *PLoS Negl. Trop. Dis.* – 2008. – Vol. 2. – P. 337.
50. Field Detection of *Schistosoma japonicum* Cercariae in Environmental Water Samples by Quantitative PCR / C. Worrell [et al.] // *App. Env. Microb.* – 2011. – Vol. 77, № 6. – P. 2192–2195.

DISEASE CONTROL OF CERCARAIL DERMATITIS ON NAROCH LAKE – THE MAIN WAYS, DIFFICULTIES AND PERSPECTIVES

S.V. Rizevsky, V.P. Kurchenko

Belarusian State University, Minsk, Belarus

In Belarus Naroch Lake is the area with a high incidence of the human cercarial dermatitis. The active focus of disease in the health-resort area leads to serious social and economic problems.

In this paper the various strategies of disease control, targeting either the mollusc or avian hosts of schistosomes, are discussed. The possibility and limitation of using of physicochemical treatment are explained. The perspectives of individual prophylactic means, based on cercariacidal substances of plant essential oils, are shown. The necessity for parasitological screening of water reservoirs in recreational areas is discussed.