

ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет»

На правах рукописи

Чумаченко Павел Андреевич

**ЭКОЛОГО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
ОЧАГОВ ДИФИЛЛОБОТРИОЗОВ НА ТЕРРИТОРИИ
ИРКУТСКОЙ ОБЛАСТИ**

03.02.08 - Экология (биологические науки)

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель
доктор биологических наук,
профессор Саловарова В.П.

Иркутск – 2016

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. Состояние изученности проблемы дифиллоботриозов и эколого-эпидемиологическая оценка района исследования.....	13
1.1. Современные представления о природе дифиллоботриоза	13
1.2. Гельминтозы, общие для человека и рыб. Влияние дифиллоботриид на состояние здоровья рыб и качество рыбной продукции	15
1.3. Нозоареал дифиллоботриозов в мире, ретроспектива и современное состояние	18
1.4. Состояние заболеваемости дифиллоботриозами в Российской Федерации и Сибирском Федеральном округе	21
1.5. Факторы, способствующие распространению дифиллоботриоза в современных экономических и социальных условиях	25
1.6. Подходы к классификации очагов дифиллоботриоза.....	29
1.7. Сравнительная характеристика микроскопических и молекулярно-биологических методов, используемых для выявления и детекции дифиллоботриид.....	30
1.8. Основные направления профилактики дифиллоботриоза	37
1.9. Характеристика дифиллоботриид, участвующих в формировании очагов инвазии на территории Иркутской области	40
1.10. Эколого-эпидемиологическая оценка района исследования ...	43
ГЛАВА 2. Материалы и методы исследования	50
2.1. Паразитологическое исследование рыбы	50
2.2. Эпидемиологические исследования	52
2.3. Исследования методом полимеразно-цепной реакции.....	55
2.4. Метод личного интервью.....	57
2.5. Статистические методы	58

2.6. Программа исследований	60
ГЛАВА 3. Результаты и их обсуждение	60
3.1. Эколого-эпидемиологическое районирование территории Иркутской области по степени риска заражения дифиллоботридами.....	61
3.1.1. Влияние на показатели заболеваемости дифиллоботриозами уровня охвата населения копроовоскопическими обследованиями	69
3.1.2. Влияние на уровень заболеваемости дифиллоботриозами фактора миграции	70
3.1.3. Клинические проявления дифиллоботриоза.....	73
3.2. Районирование территорий Иркутской области по степени риска заболеваемости дифиллоботриозами.....	74
3.3. Характеристика очагов дифиллоботриозов на территории Иркутской области.....	76
3.4. Эколого-эпидемиологический мониторинг рыбы, реализуемой населению.....	84
3.5. Результаты видовой идентификации возбудителя дифиллоботриоза в пробах рыбы и биоматериала человека методом ПЦР.....	85
ВЫВОДЫ.....	96
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	100

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования. Показатели здоровья населения являются специфическим индикатором социально-биологического благополучия людей и могут рассматриваться как комплексный экологический критерий.

В настоящее время широкое распространение в различных регионах Российской Федерации имеют дифиллоботриозы – группа кишечных гельминтозоонозов, передающихся человеку при употреблении рыбы, зараженной личинками ленточных червей рода *Diphyllobothrium* (Лысенко и др., 2002).

В последние десятилетия проблема заболеваемости населения дифиллоботриозами приобрела новую остроту, чему способствовали различные факторы, в том числе приводящие к изменению привычек питания, такие как повышенный спрос на белки животного происхождения, увеличение обмена продуктами питания между странами, расширение спектра и числа зарубежных поездок, социальная миграция населения (Авдюхина и др., 2012).

Дифиллоботриоз в Российской Федерации занимает второе место по распространенности среди биогельминтозов, передающихся через рыбу, и вносит существенный вклад в структуру краевой патологии, ежегодно составляя от 18,2% до 23,3% от общей заболеваемости биогельминтозами (Государственные Доклады, 2008-2014).

В Иркутской области, взятой в качестве полигона настоящих исследований, ежегодно выявляется до 320 новых случаев заболевания дифиллоботриозами, а уровень заболеваемости за последние 5 лет в 1,7 -2,5 раза превышал среднероссийский показатель (Здравоохранение в России, 2015).

Нозогенным экологическим фактором, определяющим широкое распространение гельминтозов этой группы, является наличие на территории

области очагов дифиллоботриозов, сформировавшихся в экосистемах оз. Байкал, Ангарских водохранилищ и бассейна реки Лена. Изучение проблемы дифиллоботриозов в Иркутской области проводилось рядом исследователей. Труды Т. П. Чижовой и П.Б. Гофман-Кадошникова (Чижова, Гофман-Кадошников, 1960), Н.М. и С.В. Прониных (Пронин и др., 1988; Пронина, Пронин, 1988; Пронин, Санжиева, 1990; Пронин и др., 1991; Пронин и др., 2007; Пронин и др., 2009), А.А. Майборода (Майборода и др., 1987), О. Т. Русинек (Русинек, Пронин, 1991; Русинек, 2003; Русинек, 2007), Т.М. Тимошенко (Тимошенко и др., 1995; Тимошенко, Русинек, 2000; Тимошенко и др., 2008) и других исследователей описана пространственная структура Байкальского очага инвазии, и накоплен обширный материал по зараженности дифиллоботридами промежуточных и окончательных хозяев. В то же время, систематические исследования очага дифиллоботриоза в Братском водохранилище, после описания его М.М. Колокольцевым в 90-х годах 20 века (Колокольцев, 1989, 1990), не проводились. Не проводилось и целенаправленное изучение очага дифиллоботриоза в бассейне реки Лена на территории Иркутской области. Таким образом, до начала настоящих исследований данные о распространении дифиллоботриозов в Иркутской области носили дискретный и разрозненный характер. Это не давало целостного представления о структуре очагов дифиллоботриозов, границах их нозоареала и не позволяло провести необходимое для эффективного планирования профилактических мероприятий районирование территории региона по степени эколого-эпидемиологической безопасности.

Не менее важным являлось изучение путей и обстоятельств поступления дифиллоботриид в организм человека на основе результатов регулярного исследования по паразитологическим показателям качества рыбы и рыбной продукции разных видов технологической обработки.

В очагах дифиллоботриозов на территории Иркутской области доказана циркуляция трех видов лентецов (*Diphyllobothrium latum*, *D.*

dendriticum и *D. ditremum*), из которых значение в распространении заболеваемости имеют два первых вида. Эти виды оказывают неравноценное воздействие на человеческую популяцию и вызывают, по сути, разные формы заболевания, требующие разных подходов к лечению. Вместе с тем, различна и роль человека в циркуляции возбудителей инвазии: если в очагах дифиллоботриоза, вызванного лентецом широким, человек является облигатным звеном эпидемического процесса, то очаги чаечного дифиллоботриоза могут благоприятно развиваться и без участия человека.

Эти важные обстоятельства существования, развития и распространения очагов необходимо учитывать при разработке программы профилактических мероприятий. К сожалению, большинство лабораторий лечебно-профилактических организаций, занимающихся диагностическими паразитологическими исследованиями, не проводят дифференциальную диагностику этих видов лентецов. В связи с этим, до настоящего времени нет возможности оценить эколого-эпидемиологическую роль конкретных видов дифиллоботриид, предсказать их распространение и ход заболеваемости.

Отсутствие дифференциальной диагностики, в условиях циркуляции на территории Иркутской области разных видов лентецов, с одной стороны, и широкие возможности высокочувствительного метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) в определении вида возбудителя, с другой стороны, обусловили значимость проведения работы по совершенствованию эколого-эпидемиологического мониторинга очагов дифиллоботриозов и методов выявления у рыб и у человека тех или иных видов дифиллоботриид.

Таким образом, актуальность настоящего исследования вызвана необходимостью получения комплексной эколого-эпидемиологической характеристики очагов дифиллоботриозов и эффективных методов детекции дифиллоботриид как основы для разработки эффективных мер профилактики.

Цель работы: выявить эколого-эпидемиологические особенности очагов дифиллоботриозов на территории Иркутской области и их влияния на человеческую популяцию для совершенствования системы территориально и социально дифференцированных комплексов профилактических мероприятий по снижению степени риска заражения населения

Задачи исследования:

1. Выявить географическое распространение и эпидемическую опасность очагов дифиллоботриозов в Иркутской области, включая исследование территориальной организации нозоэкологических систем.

2. Установить основные тенденции заболеваемости дифиллоботриозами населения Иркутской области за 1971-2015 годы в сравнении с Российской Федерацией и регионами Сибирского федерального округа (СФО).

3. Изучить распространение заболеваемости дифиллоботриозами в административных районах области, провести их ранжирование по степени риска заражения и выявить основные детерминирующие факторы.

4. Оценить эколого-эпидемическую безопасность рыбы и рыбной продукции, поступающей на потребительский рынок Иркутской области по паразитологическим показателям.

5. Доказать возможность использования метода видоспецифичной ПЦР для детекции и идентификации дифиллоботриид в пробах рыбы и биологическом материале людей.

6. Подготовить предложения для органов эпидемиологического, ветеринарного надзора, здравоохранения и образования Иркутской области, направленные на повышение эффективности комплекса профилактических мероприятий в очагах дифиллоботриозов.

Научная новизна работы.

На основе анализа совокупных данных о пораженности плероцеркоидами дифиллоботриид промежуточных хозяев и многолетних показателей заболеваемости населения впервые установлены границы

нозоарелов очагов дифиллоботриозов на территории Иркутской области и выявлены эколого-эпидемиологические особенности этих очагов.

Впервые определены основные тенденции, динамика и структура заболеваемости дифиллоботриозами в Иркутской области, исследована корреляционная связь заболеваемости с уровнем обследования населения, отмечены особенности эпидемиологии гельминтозов этой группы в сравнении с Российской Федерацией и регионами СФО.

Для видовой идентификации возбудителей дифиллоботриозов в клиническом материале от людей и в пробах рыбы доказана целесообразность использования метода ПЦР, который может иметь ключевое значение при проведении эпидемиологических расследований и оценке роли природных очагов дифиллоботриоза на территориях.

В ходе выполнения диссертационного исследования впервые подробно изучены закономерности распространения дифиллоботриозов и проведено эколого-эпидемиологическое районирование и картографирование территории Иркутской области по степени риска заражения дифиллоботриозами, позволяющее повысить эффективность системы профилактических мероприятий с учетом медико-географических особенностей территорий.

Практическая и теоретическая значимость работы. Выявление эколого-эпидемиологических особенностей очагов дифиллоботриозов и географического распространения дифиллоботриид, как среди различных видов рыб, так и в популяции людей, значительно обогащает научные данные о паразитофауне Иркутской области. Примененный на примере дифиллоботриозов подход к пониманию детерминант и закономерностей распространения дает возможность прогнозировать степень эпидемической опасности других гельминтозоонозов и может использоваться не только в исследуемых районах, что создает основу для определения четких стратегических и тактических ориентиров и принятия управленческих

решений. Районирование и картографирование Иркутской области по степени эпидемиологического благополучия территории и риску заражения дифиллоботриозом, несомненно, является первым шагом к созданию серии карт и по другим паразитарным заболеваниям и имеет большое теоретическое и практическое значение, так как открывает возможность проведения широких сопоставлений с аналогичными схемами экорегионов России и других стран мира.

Мониторинг пораженности личинками гельминтов рыбы, реализуемой населению, выявил наиболее «рискованные» с точки зрения паразитарной безопасности способы её технологической обработки.

Подходы и методы проведенного исследования могут использоваться для более детального мониторинга состояния здоровья населения и прогнозирования инвазий. С этой целью предложен высокочувствительный метод ПЦР-диагностики дифиллоботриозов, повышающий качество выявления инвазии у населения и детекции зараженности рыбы плероцеркоидами дифиллоботриид.

По материалам исследований подготовлены и внедрены:

1. Информационное письмо о заболеваемости дифиллоботриозами среди детей с текстами обучающих диктантов для детей школьного возраста разных ступеней обучения и тексты памяток для родителей по мерам профилактики гельминтозов, передающихся через рыбу (в Министерство образования Иркутской области и для размещения в дошкольных и школьных образовательных учреждениях);

2. Информационно-методическое письмо о заболеваемости, эколого - эпидемиологических особенностях, методах диагностики и мерах профилактики дифиллоботриозов, вызванных разными видами лентецов (в Министерство здравоохранения Иркутской области).

3. Информационное письмо о заболеваемости населения в зонах влияния очагов дифиллоботриозов (в службу ветеринарии Иркутской области).

Материалы диссертационной работы вошли в циклы лекций по дисциплинам - «Экология» (направления «Биология» и «Товароведение»), «Биозащита и биобезопасность» (направление «Биология»), «Региональная экология» и «Экспертиза пищевых продуктов и биологического сырья» (направление «Экология и природопользование») ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет», использованы при подготовке в ходе циклов повышения квалификации для госпитальных эпидемиологов и врачей-инфекционистов Иркутской области, при проведении семинаров по профилактике паразитарных болезней для родителей и учащихся МБОУ г. Иркутска Основная Общеобразовательная Школа №8 имени Д. Г. Сергеева, а также в ходе внедрения метода ПЦР для выявления возбудителей паразитарных болезней в микробиологической лаборатории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Иркутской области».

Защищаемые положения:

1. Эколого-эпидемиологические характеристики основных очагов дифиллоботриозов, расположенных на территории Иркутской области, определяют особенности распространения, уровни и структуру заболеваемости населения, а сложившаяся система профилактики гельминтозов, передающихся при употреблении населением рыбы, не учитывает особенности их распространения в различных возрастных и социальных группах, а, следовательно, не обеспечивает должный профилактический эффект и нуждается в совершенствовании.

2. В распространении на территории Иркутской области дифиллоботриозов имеет значение, как рыба собственного улова, так и реализуемая через торговую сеть.

3. Метод ПЦР, позволяющий обеспечить более достоверную, по сравнению с применяемыми в настоящее время методами диагностики, детекцию возбудителей дифиллоботриозов и дающий возможность идентификации вида дифиллоботриид в биологическом материале от человека и пробах рыбы, может использоваться в диагностических целях, при проведении эпидемиологических расследований и оценке роли природных очагов дифиллоботриозов.

Апробация работы:

Основные положения работы были доложены и обсуждены на международной научно-практ. конф. «Актуальные проблемы экологии – 2013» (23-25 октября 2013, Республика Беларусь, г. Гродно); Всероссийской конф. «Актуальные аспекты паразитарных заболеваний в современный период» (25-26 сентября 2013, г. Тюмень); Российской научно-практ. конф. «Итоги и перспективы изучения проблем инфекционных и паразитарных болезней» (24-25 сентября 2015, г. Тюмень); на VII Ежегодном Всероссийском Конгрессе по инфекционным болезням с международным участием (30 марта-01 апреля 2015, г. Москва); 10-Региональной научно-практ. конф. молодых ученых «Оценка качества и безопасность потребительских товаров (16-18 ноября, 2015 г. Иркутск); ежегодной научно-теоретической конф. аспирантов и студентов ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет» (22 апреля, г. Иркутск, 2016); 9-ой Всероссийской научно-практ. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых с международным участием «Технологии и оборудование химической, биотехнологической и пищевой промышленности» (18–20 мая 2016, г. Бийск).

Публикации: По материалам диссертационной работы опубликовано 11 печатных работ, в том числе 2 в изданиях, рекомендованных ВАК РФ.

Структура и объем диссертации: Работа включает введение, 3 главы, список литературы (219 наименований, в том числе 90 - на иностранных

языках). Общий объем рукописи составляет 126 страниц, содержит 11 таблиц, 18 рисунков.

Декларация личного участия автора: Формирование базы данных, анализ, интерпретация и статистическая обработка результатов, подготовка материалов для докладов и публикаций проведены лично или при определяющем вкладе автора. Результаты диссертационной работы являются совокупностью научных исследований, проведенных лично автором в ФГБОУ ВО «ИГУ» на кафедре физико-химической биологии, а так же совместных исследований с сотрудниками паразитологической лаборатории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Иркутской области» и ФГБУН СО РАН «Лимнологический институт» (ЛИН СО РАН).

Благодарности: Автор выражает глубокую признательность своему руководителю, д.б.н., профессору В.П. Саловаровой за неоценимую помощь и постоянную поддержку в работе над диссертацией. Особая благодарность за помощь в проведении исследований к.б.н., доценту Н.Л. Бельковой и сотрудникам паразитологической лаборатории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Иркутской области».

ГЛАВА 1. СОСТОЯНИЕ ИЗУЧЕННОСТИ ПРОБЛЕМЫ ДИФИЛЛОБОТРИОЗОВ И ЭКОЛОГО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА РАЙОНА ИССЛЕДОВАНИЯ

1.1. Современные представления о природе дифиллоботриоза

Дифиллоботриозы – группа кишечных гельминтозоонозов, характеризующихся хроническим течением, преимущественным поражением тонкого кишечника, нарушением функции верхнего отдела пищеварительного тракта, при тяжелом течении – анемией пернициозного типа, передающихся при употреблении рыбы, зараженной личинками дифиллоботриид (лентецов) (Лысенко и др., 2002).

Для дифиллоботриозов, как и других паразитарных болезней, характерно хроническое течение, связанное с длительным, иногда многолетним, паразитированием возбудителя в организме больного, что зависит от продолжительности жизни паразита и реинвазии (Хамидулин, 2011).

Дифиллоботрииды – цестоды отряда *Pseudophyllidea*, подсемейства *Diphyllobothriinae* (Liihe, 1910), рода *Diphyllobothrium* (Cobbold, 1858), широко распространенные среди водных, наземных животных и птиц.

Лентецы относятся к числу самых крупных паразитов человека, их длина может составлять до 15 м. Есть сообщение об извлеченном от больного лентеце длиной 25 м, стробила паразита состояла из 4000 члеников. Темп роста лентецов может составить до 22 см/день или почти 1 см/ч. Длительность паразитирования в организме человека может составлять 20 лет или дольше; сообщалось о пациенте с длительностью инвазии более 25 лет (Scholz et al., 2009).

Цикл развития лентецов, впервые изученный на примере лентеца широкого, благодаря экспериментальным исследованиям Макса Брауна (1851 – 1934) в 1881 – 1883 годах включает окончательных (рыбоядные животные и человек), ряд промежуточных хозяев (веслоногие рачки и рыбы) и

свободноживущие стадии паразита (яйцо гельминта и выходящий из него в воде корацидий) (Magath, 1929; Софронова, 1998).

Яйца с фекалиями окончательного хозяина для дальнейшего развития обязательно должны попасть в воду, где под влиянием света и кислорода из них выходит корацидий.

Первыми промежуточными хозяевами дифиллоботриид, по данным Scholz с соавторами, могут являться около 40 видов *Acanthodiptomus*, *Arctodiptomus*, *Diaptomus*, *Eudiptomus*, *Eurytemora* и *Boeckella* (Copepoda: *Diaptomidae*) и, вероятно, *Mesocyclops* (Copepoda: *Cyclopidae*) (Adams, Rausch, 1997; Scholz et al., 2009).

Корацидий проникает через стенку кишечника и развивается в процеркоид, который не имеет дифференцированного сколекса, но имеет на головном конце шесть эмбриональных крючьев.

Далее веслоногий рачок поедается планктоноядными рыбами, и процеркоид, проникая в мышцы тела рыбы, превращается в заразную для человека и рыбоядных животных личинку – плероцеркоид. Если планктоноядные рыбы поедаются хищниками (щукой), то в их организме через 3,5 месяца так же развиваются заразные личинки, которые концентрируются, как правило, во внутренних органах (икре).

Личинка из рыбы (плероцеркоид) попадает в организм человека, проходит пищевод, желудок и фиксируется с помощью щелевидных присосок (ботрий) в тонкой кишке. В начале инвазии паразит может менять места прикрепления к кишечной стенке. По достижению половой зрелости гельминт начинает выделять яйца (Лысенко и др., 2002).

Развитие плероцеркоидов в организме окончательных хозяев протекает очень быстро, и уже через 2 – 6 недель в члениках паразита содержатся яйца. При этом дифиллоботрииды на взрослой стадии характеризуются относительно низкой специфичностью, в результате чего люди могут инвазироваться паразитами, которые обычно паразитируют у

млекопитающих плотоядных или даже рыбадных птиц (Scholz et al., 2009). В России из возбудителей дифиллоботриоза человека зарегистрированы: *Diphyllobothrium dendriticum*, *D. latum*, *D. ditremum*, *D. klebanovski*, из которых на территории Иркутской области встречаются 3 первых вида возбудителя, а эпидемиологическое значение имеют *D. latum* (Linnaeus, 1758), Liihe 1970 – лентец широкий и *D. dendriticum* (Nitzsch, 1824), Liihe 1970 – лентец чаечный (Пронин и др., 2007).

1.2. Гельминтозы, общие для человека и рыб. Влияние дифиллоботриид на состояние здоровья рыб и качество рыбной продукции

Морская рыба составляет в среднем более 80 % общего вылова рыбы и поступает в торговую сеть в основном в охлажденном или мороженом виде. По данным литературы, практически вся морская рыба может быть заражена различными видами гельминтов, до 30 видов которых представляют потенциальную опасность для человека или вызывают нежелательные изменения в рыбе как технологическом сырье. Наиболее часто в морской рыбе встречаются личинки нематод семейства анизакид следующих родов: *Anisakis*, *Terranova*, *Contracaecum* и личинки (плероцеркоиды) цестод семейства *Diphyllobothriidae* (Довгалев и др., 1998; Однокурцев, 2009).

Анизакидоз – заболевание, вызываемое нематодами и проявляющееся у человека патологией желудочно-кишечного тракта. Личинки этих круглых червей белого цвета, длиной от 9 до 29 мм, паразитирующие в рыбах, как правило, свернуты в спираль. Окончательные хозяева паразитов – морские водные млекопитающие (китообразные, ластоногие), рыбадные птицы, промежуточные – водные беспозвоночные и рыбы. Возбудители этого заболевания широко распространены у рыб Тихого, Атлантического океанов и смежных с ним морей, в бассейнах рек Северная Двина, Лизень. (Ларцева, Проскурина, 2012).

У пресноводных рыб из водоемов на территории Российской

Федерации обнаружено около 1,5 тыс. видов и форм паразитов (Довгалев и др., 1997, Довгалев, 1999).

Анализ данных ветеринарной отчетности показал, что наибольший удельный вес имеют такие заразные заболевания рыб, как ботриоцефалез (20,58%), дифиллоботриоз (16,22%), описторхоз (15,59%) и лигулез (13,93%) (Говоркова, Романова, 2014).

Потенциальными носителями личинок - возбудителей дифиллоботриозов, в частности плероцеркоидов *D. latum*, являются щука, налим, окунь, ёрш; плероцеркоидов *D. dendriticum* – пелядь, омуль, сиг, голец, муксун, чир, лосось, тугун, форель, хариус, горбуша, сёмга, кумжа, ряпушка, таймень, ленок, корюшка, колюшка трёхиглая, колюшка девятииглая; плероцеркоидов *D. klebanovskii* (*D. luxi*) – дальневосточные лососевые – кета, горбуша, кунджа, сима, сахалинский таймень (Студенцова и др., 2007; Кокколова и др., 2013).

Исходя из определения паразитизма как антагонистического симбиоза, само присутствие паразитического организма вызывает ответную реакцию организма хозяина. Поэтому заражение любым паразитом можно рассматривать в рамках патологии, а по отношению к рыбам – ихтиопатологии (Пронин и др., 1988).

В доступной литературе данные по вопросам патогенеза дифиллоботриоза рыб сравнительно немногочисленны. Паразитирование лентецов оказывает выраженное воздействие на организм рыб, прежде всего на их мышечную ткань, снижая ее пищевую ценность. Плероцеркоид способен формировать вокруг себя соединительнотканную капсулу, которая отличается от капсул, образующихся вокруг неактивных инородных тел. Мышечные волокна в области локализации плероцеркоида подвержены некротическим трансформациям, таким как набухание волокон, потеря поперечной иссеченности, гомогенизация. Патологические изменения проявляются в разном объеме в зависимости от видовой принадлежности

рыбы хозяина. Кроме того, паразитарный фактор, сам по себе достаточно патогенетический, а во время нерестовых миграций, при отсутствии экзогенного питания и возрастающих энергетических затратах рыб, он может приобретать элиминирующий характер (Пронина, Пронин, 1988).

О.Е. Мазуром и Л.В. Толочко были проведены исследования по влиянию на состояние здоровья байкальского омуля в нерестовый период инвазии *D. dendriticum*, которые установили, что у омуля, зараженного плероцеркоидами *D. dendriticum*, по сравнению с незараженными особями, отмечались изменения в эритроцитарном и иммунологическом профиле, в основном имеющие характер тенденции. Вместе с тем, некоторые гематологические трансформации в организме зараженного лентецом омуля типичны для токсикоза. Продукты жизнедеятельности плероцеркоидов и распад поврежденных тканей, в результате миграции и развития паразита приводит к эндогенной интоксикации, о чем свидетельствует и увеличенный уровень лейкоцитарного индекса интоксикации. Выявленные эффекты модулируют развитие опосредованного иммунного ответа рыб, что подтверждается снижением функциональной активности Т-лимфоцитов (Мазур, Толочко, 2012).

И.А. Кутырев и др. при исследовании иммунных органов у омуля при дифиллоботриозе, вызываемом *D. dendriticum*, регистрировали активную пролиферацию иммуноцитов, что указывает на развитие защитно-компенсаторных реакций в ответ на инвазию лентеца (Кутырев и др., 2011).

Инвазионные болезни резко снижают качество рыбной продукции: больные рыбы истощены, в их тканях снижается содержание питательных веществ – жиров, белков и углеводов, витаминов и микроэлементов. Инвазионные болезни протекают на фоне резко выраженных клинических симптомов, это ухудшает товарный вид рыбной продукции. Поражённая рыба вследствие низких товарных и пищевых качеств используется в пищу людям и животным с ограничениями или подвергается специальному

обезвреживанию. При этом происходит снижение сортности и качества продукции, выбраковки отдельных партий, запрет на реализацию свежей рыбы (Однокурцев, Решетников, 2008).

1.3. Нозоареал дифиллоботриозов в мире, ретроспектива и современное состояние

Дифиллоботриоз регистрируется во многих странах мира, однако проблеме распространения этого заболевания, а также вопросам зараженности возбудителями дифиллоботриоза промежуточных хозяев, уделяется недостаточно внимания. Во многих странах отсутствует систематическая отчетность о заболеваемости населения, в связи с чем, имеющиеся в литературе данные об уровне и распространенности дифиллоботриоза в мире имеют отрывочный характер (Scholz et al., 2009).

Наиболее полные сведения имеются о заболеваемости дифиллоботриозом в Западной Европе, для стран которой это заболевание является эндемичным. Исследователи указывают на большое число зарегистрированных до 70-х гг. 20 в. случаев заболевания в Прибалтике, Польше, Румынии, Швеции, Норвегии, особенно в Финляндии, в то же время отмечается, что уровень заболеваемости в последнее десятилетие 20в. значительно снизился и составлял по опубликованным данным около двадцати случаев в год (Faust et al., 1964; Von Bonsdorff, 1964 и 1977; Raisanen, Puska, 1984; Kyrönseppä, 1993; Jögiste, Barotov, 2001; Scholz et al., 2009).

Сообщалось о случаях дифиллоботриоза в областях, расположенных вокруг великих Швейцарских, Итальянских и Французских озер, связанных с употреблением сырой, либо недостаточно термически обработанной рыбы. В период с 1987 по 2002 гг. там было зарегистрировано более двухсот случаев, начиная с 2002 до 2007 гг. сообщалось о 330 случаях инвазии. Так же регистрировалась вспышка заболевания, связанная с завозной рыбой, в

Женева (Lloyd et al., 1998; Jackson et al., 2007; Reperant et al., 2007; Marval et al., 2010).

По данным зарубежных исследователей, основным видом лентеца, циркулирующим на территории центральной Европы, считается *Diphyllobotrium latum*, а в северной Европе – *D. dendriticum* (Andersen et al., 1987; Andersen, Gibson, 1989; Dick et al., 2001; Dick, 2008). Однако, применение молекулярных методов исследования стробил гельминта, полученных от больных в Финляндии, Франции и Швейцарии, показали наличие так же других видов, вероятно завозного происхождения, например *D. nihonkaiense* (Ward, 1930; Andersen, 1977; Yazaki et al., 1986).

По поводу происхождения очагов дифиллоботриоза на территориях Северной и Южной Америк мнения исследователей расходятся. Часть из них полагает, что инвазия была завезена иммигрантами из Скандинавских стран и других стран Европы (Nickerson, 1906; Andersen et al., 1977; Ash, Orihel, 2007). Так, первый случай дифиллоботриоза в Южной Америке был зарегистрирован в 1911 году у молодого российского иммигранта, прибывшего в Аргентину (Semenas, Úbeda, 2001). В дальнейшем зарегистрирован завоз дифиллоботриоза иммигрантами из Северной Америки в Чили (Neghme et al., 1950; Muller, 2002; Torres et al., 2004). Приводятся исследования, свидетельствующие об исключительно завозном характере заболевания в странах Южной Америки иммигрантами из эндемичных областей (Torres et al., 1995; Sagua et al., 2001).

Другие исследователи считают, что для Северной Америки дифиллоботриоз, вызванный *D. latum*, являлся эндемичным заболеванием и был распространен среди коренных народов до колонизации (Nickerson, 1906; Needham, 1965; Wicht et al., 2008).

В Северной Америке история регистрации дифиллоботриоза началась с Миннесоты, где был выявлен заболевший ребенок (Ward, 1930; Andersen et al., 1987). По оценке Центров по контролю и профилактике заболеваний

(CDC), за период с 1977 по 1981г. регистрировалось от 125 до 200 случаев (Rausch, Hilliard, 1970; Byland, 1972; Rausch, Adams, 2000). В конце 20 века количество сообщений о случаях заболевания значительно снизилось, большинство случаев регистрировались в районе Великих Озер, центральной Канаде (Манитоба) и Аляске (Semenas et al., 2001).

В Северной Америке было отмечено паразитирование у людей следующих видов дифиллоботриид: *D. latum*, *D. dendriticum*, *D. dalliae*, *D. lanceolatum*, *D. ursi*, *D. alascense*, и *D. nihonkaiense* (Rausch, Hilliard, 1970; Reinhard, Urban, 2003).

Для Южной Америки характерным видом, по всей вероятности, является *D. pacificum*, яйца которого были обнаружены в окаменелостях, датированных 2000-3000 г. до н.э., что указывает на древний возраст этого вида (Wicht, 2008).

О случаях заболевания *D. latum* много раз сообщалось в Чили, Перу, Аргентине и Эквадоре (Cortelezzi, 1913; Baer et al., 1967; Baer, 1969; Semenas et al., 2001; Flores et al., 2002). Так же, сообщалось о вспышках заболеваемости в Рио-де-Жанейро и Сан-Паулу в Бразилии (Sagua et al., 2001; Torres et al., 2004; Tavares et al., 2005; Sampaio et al., 2005; Eduardo et al., 2005; Sampaio et al., 2005, Tavares, Luque, Bomfim, 2005).

В Азии, в связи с особенностями традиционной кухни, дифиллоботриоз широко распространен в Японии (Maejima et al., 1983; Камо, 1999). Авторы указывают на значительное количество инвазированных среди населения, проживающего вдоль побережья Японского моря, с 1970-х годов регистрируется около ста случаев в год (Nakao et al., 2007). Всего в Японии, зарегистрировано 11 видов дифиллоботриид (Yamane et al., 1986; Yamane, Shiwaku, 2003). При этом преобладающим видом является *D. nihonkaiense* (Yazaki et al., 1986; Yamane et al., 1989; Kino et al., 2002; Chai et al., 2005). Российские исследователи также отмечали широкое распространение

дифиллоботриоза в Японии (Муратов, 1986; Муратов, Посохов, 1992; Муратов, 1995).

Так же сообщалось о случаях заболевания в Южной Корее (Kim et al., 2007; Jeon et al., 2009). За период с 2008 по 2012 гг. описаны 4 случая *D. latum* у молодых мужчин, у всех было выявлено по одной взрослой особи, однако ранее сообщалось о случае с 3 особями из Кореи, при этом три случая были выявлены только после выделения стробилы лентеца при дефекации и 1 случай при колоноскопии. В период с 1971 до 2007 гг. в Корее был зафиксирован 41 случай дифиллоботриоза (Lee et al., 1988; Lee et al., 1989; Kim et al., 2007; Park et al., 2011; Choi et al., 2012), однако есть основания предполагать, что фактический уровень заболеваемости значительно выше, что объясняется особенностями корейской кухни. Молекулярный анализ особей в вышеописанных случаях не проводился, поэтому есть подозрение, что это были гельминты вида *D. nihonkaiense* (Lee et al., 2007). Отличительной культурной особенностью в Корее является употребление сырой рыбы в качестве закуски к крепким алкогольным напиткам. Источником инвазии в Корее чаще всего служит кефаль и форель, потребляемые в сыром виде (Lee et al., 1988; Chung et al., 1995).

О единичных случаях заболевания поступали сообщения из Ближнего Востока, Саудовской Аравии, Индии, Индонезии, Малайзии, Монголии и Тайваня (Pancharatnam et al., 1998; Rohela et al., 2002; Rohela et al., 2006; Alkhalife et al., 2006; Lou et al., 2007; Devi et al., 2007; Margono et al., 2007). При этом часть случаев носит завозной характер из эндемичных зон, таких как Япония (Oshima, Wakai, 1983).

1.4. Состояние заболеваемости дифиллоботриозами в Российской Федерации и Сибирском Федеральном округе

Зооантропонозные гельминтозы, передающиеся через рыбу, такие как дифиллоботриоз, описторхоз, анизакидоз и др., не были обделены вниманием и отечественных исследователей. Опубликовано множество сведений о

дифиллоботриидах как пресноводных, так и морских видов (Подъяпольская, 1968; Булычева, 1963; Заика, 1965; Довгалев, 1984; Пронин, Пронина, Санжиева, 1988; Пронин, Санжиева, 1990; Пронин и др., 2007).

В Российской Федерации описаны очаги дифиллоботриоза в бассейнах рек Иртыш, Енисей, Обь, Лена, Свирь, Нева, Печора, Амур, озерах Онежское, Чудское и Ладожское. Острова Северного Ледовитого океана и Кольский полуостров так же являются действующими очагами дифиллоботриоза. (Клебановский и др., 1971; Куперман, 1979). Известен природный очаг в Охотском море, в зоне влияния этого очага пораженность населения составляет 1 – 3,3% (Богданова, 1991; Белецкая, 2003).

Дифиллоботриоз регистрируется в Ямало-Ненецком и Ханты - Мансийском автономных округах, республике Саха (Якутия), на Чукотке, Камчатке, Сахалине и других регионах Дальнего Востока (Скрябин и др., 1929; Змеев, 1947; Ахмеров, 1960; Шпилько, Клебановский, 1969; Ройтман, 1982; Муратов, 1988, 1995; Гофман-Кадошников и др., 1963; Гофман-Кадошников и др., 1982; Ходакова и др., 1996; Вялова, 1999; Белецкая, 2003). Пораженность личинками лентецов рыбы в реке Лена на территории республики Саха (Якутия) исследовал Т.А. Платонов (Платонов, 2011; Платонов и др., 2014).

Очаги чаечного дифиллоботриоза выявлены в Архангельской, Мурманской областях, Карелии, Западной и Восточной Сибири, Чукотке (Клебановский и др., 1971; Артамошин, 1993; Атрашкевич, 1996; Савченков и др., 2008).

Дифиллоботриоз в Российской Федерации занимает второе место по распространенности среди биогельминтозов, передающихся через рыбу, и вносит существенный вклад в структуру краевой патологии, ежегодно составляя от 18,2% до 23,3% от общей заболеваемости биогельминтозами (Государственные Доклады, 2008-2014).

На территории РФ выделяют 6 речных и озерных зон с относительно высоким риском заражения дифиллоботриозом: Северно-Западная, Волжско-Камская, Обь-Иртышская, Енисейско-Ленская, Дальневосточная, Черноморско-Азовская (Ястребов, 2010, 2013).

По отдельным округам РФ заболеваемость дифиллоботриозом распределяется неравномерно: большинство случаев регистрируется в Сибирском и Дальневосточном (62,4%), Приволжском (12,6%), Северо-Западном (11,6%), Уральском (9,1%) округах, на остальные округа приходится оставшиеся 4%.

Современные данные свидетельствуют, что нозоарел дифиллоботриозов в пределах Российской Федерации занимает практически все области северных и умеренных широт Уральского, Сибирского и Дальневосточного округов.

Из 4-х видов лентецов, распространенных в этих регионах, основная верифицированная заболеваемость этиологически связана с *D. latum*, на севере Западной и в Восточной Сибири к нему присоединяется *D. dendriticum*. На Дальнем Востоке возбудителем дифиллоботриоза является *D. klebanovski*.

В пределах Сибирского федерального округа В.К. Ястребов выделяет очаги дифиллоботриоза, связанные с Обь-Иртышским и Енисейско-Ленским бассейнами (Ястребов, 2015). О зараженности рыбы в нижнем и среднем течении р. Иртыша пишет А.Н. Пельгунов, указывая на возможность пространственно-временной трансформации структуры очага (Пельгунов, 2012). Ж.Н. Дугаров с соавторами указывают на функционирование очага дифиллоботриозов, вызываемых *D. latum* и *D. dendriticum* в Селенгинском районе Республики Бурятия (Дугаров, 2015, 2016). Показатели заболеваемости дифиллоботриозом в Сибирском федеральном округе значительно превышают среднероссийский уровень, за период с 2007 по 2014 г. - более, чем в 3 раза (Ястребов, 2015).

В литературе имеется обширная база данных по вопросам этиологии, эпидемиологии, клиники дифиллоботриозов, однако, сведения о структуре заболеваемости в очагах довольно немногочисленны.

Так в отношении возрастного состава дифиллоботриозов имеются следующие данные. Г.М. Дмитриева указывает, что в Красноярском крае доля взрослых среди больных дифиллоботриозами в период с 1991 по 2005гг. составила 91%, уровень заболеваемости среди взрослых превысил таковой среди детей до 14 лет в 2,8 раза (Дмитриева, 2008). По данным Л.М. Коколовой с соавторами удельный вес детей в структуре заболеваемости дифиллоботриозом в Республике Саха (Якутия) составлял в 2005 году – 5%, в 2008 году – 4,1% (Коколова и др., 2010). В.А. Астафьев с соавторами упоминают о том, что доля детей среди заболевших этим гельминтозом в Пермском крае снизилась с 7,4% в 2001 году до 2,8% в 2010 году (Астафьев и др., 2012). Н. Н. Никешина и А. М. Славина пишут о том, что в 2012 году в Астраханской области доля детей среди заболевших дифиллоботриозом составила 6,1% (Никешина, Славина, 2013).

В среднем по Российской Федерации за период с 2009 по 2011гг. доля детей в заболеваемости дифиллоботриозом составила 7,17% при показателе $3,96\text{‰}$, по Сибирскому федеральному округу – 13,4%. (Ястребов, 2013).

Распределение заболеваемости среди городского и сельского населения в разных регионах значительно различается. Так, Н.А. Остапенко и Т.М. Гузеева указывают, что в Ханты-Мансийском Автономном округе дифиллоботриозом болеют, в основном, сельские жители (Остапенко, Гузеева, 2013г.). В Республике Саха (Якутия) в 2012 году по данным А.Г. Федуловой и Л.Р. Федосеевой удельный вес сельских жителей в структуре заболеваемости составил 37% (Федулова, Федосеева 2013). В среднем по Российской Федерации среди заболевших преобладают горожане - 63% (Государственные доклады, 2007-2011), а по сведениям В.К. Ястребова, в 1996 году доля горожан составляла 69,4% (Ястребов, 2015).

В этой связи представляет интерес изучение уровня и структуры заболеваемости дифиллоботриозами населения Иркутской области в сравнении с Российской Федерацией и Сибирским федеральным округом.

1.5. Факторы, способствующие распространению дифиллоботриоза в современных экономических и социальных условиях

Степень риска заражения и интенсивность эпидемического проявления очагов дифиллоботриоза зависит от комплекса биологических и социальных факторов. Особенности рыночной экономики, технологического режима обеззараживания рыбы, интенсивный миграционный процесс населения обусловили ухудшение эпидемической ситуации по заболеваемости гельминтозами, передающимися человеку при употреблении рыбы, как в Сибири, так и в целом по Российской Федерации (Скударнов, Куркатов, 2010; Ларцева, Проскурина, 2012).

Важное значение для распространения инвазии имеют стереотипы приготовления и употребления в пищу сырой или полусырой рыбы, принятые среди коренных народов и распространившиеся на пришлое население (Ястребов, 2010). Такие случаи регистрируются в странах, где традиционно готовятся блюда из сырой рыбы, а также в странах, где популяризована ресторанный кухня, в меню которой включены суши, сашими, карпаччо, севиче, сагудай и т.д.. Так, например, в Латинской Америке распространено блюдо из сырой рыбы, маринованной в лимонном соке, известное как «севиче» (Beldsoe, 2001; Chou, 2006). В Японии таким блюдом являются «суши» – кусочки рыбы, обернутые рисом и листом высушенных водорослей, и «сашими» – филе свежей рыбы, подающееся с соевым соусом (Pancharatnam, 1998; Nawa et al., 2005). В странах Балтии и Скандинавии – слабо-соленое или маринованное филе рыбы, в северной Италии – очень тонко нарезанная рыба (“карпаччо di persico” и “карпаччо d'omble кавалер”), во франкоязычных областях Европы – “poisson du lac façon

nordique”); среди еврейского населения “Gefilte fish ” (тефтели из рыбного фарша с хлебными крошками, яйцом и приправами, приготовленные в бульоне) (Scholz et al, 2009). Подобные деликатесы, получая широкую популяризацию в странах, население которых до этого не имело подобных гастрономических привычек, способствуют распространению дифиллоботриоза на новые территории. Все большее число жителей в мире употребляет новые продукты, популярными становятся сырые или полусырые блюда, увеличивается спрос на экзотические продукты (Авдюхина и др. 2012).

Риск заболеваемости дифиллоботриозом так же связан и с профессиональным родом занятий человека. Так, высокому риску заболевания подвержены повара, пробующие рыбу в процессе приготовления, и рыбаки – любители, зачастую использующие в пищу свежепойманную рыбу. Следует отметить, что в зону риска заражения дифиллоботриозом попадают и члены семей рыбаков-любителей, особенно те из них, кто занимается приготовлением пищи (Dupouy-Camet, Peduzzi, 2004).

Повышенному риску заражения гельминтозами, передаваемыми при употреблении рыбы, подвержен и плавсостав речных и морских судов.

В последнее время появились сообщения о случаях заражения дифиллоботриозами, произошедших при употреблении зараженного сырья, завезенного с эндемичных территорий (Beldsoe, 2001; Tavares, Luque, Bomfim, 2005; Wicht, Marval, Peduzzi, 2007; Wicht, 2008).

Интерес в этой связи вызывает и получившая в последнее время распространение практика продажи в крупных супермаркетах и специализированных магазинах живой рыбы. Поставщиками живой рыбы являются озерно-прудовые, речные рыбоводные хозяйства (Мамонтов, 2003).

К распространению дифиллоботриоза может привести интродукция в новые водоемы рыб с высокой зараженностью плероцеркоидами

дифиллоботриид, таких как форель или сиг, при условии наличия в этих водоемах остальных участников биологического цикла развития паразита (Муратов, 1986).

Все виды дифиллоботриид отличаются крайне высокой плодовитостью. Так, одна особь способна производить до 1 миллиона яиц в день (Eduardo, 2005). Поэтому, не леченые больные могут значительно ухудшать санитарное состояние водоемов. Поддерживается интенсивная циркуляция возбудителя и увеличивается зараженность рыбы за счет поступления большого количества неочищенных стоков. Проблема обостряется также постоянными весенними паводками, которые затопляют населенные пункты (Успенский, 2013).

Весьма частым является путь распространения инвазии, когда при разделке рыбы внутренние органы выбрасываются рыбаками в воду, поедаются дефинитивными хозяевами (например, серебристой и сизой чайками), от которых вновь заражается рыба, что приводит к интенсификации очага инвазии. При таких обстоятельствах возрастает вероятность заражения человека (Пронин и др., 1988). Известно возникновение новых очагов инвазии, связанных с миграцией населения из эндемичных зараженных областей, т.к. люди зачастую сохраняют свои пищевые привычки, а также особенности устройства быта, являющиеся фактором распространения заболевания (сброс необеззараженных фекалий в водоемы, на лед, строительство туалетов по берегам водоемов и т.д.)

Проблему в отношении риска передачи инвазии может представлять не только рыба, добытая в природных водоемах, но и искусственно выращиваемая. Рыбные запасы внутренних водоемов находятся в критическом состоянии и поддерживаются в основном за счет искусственного воспроизводства. За последнее время доля рыбных продуктов в рационе россиян снизилась в 2 раза и находится на грани физиологической нормы (Мамонтов, 2003). При этом спрос на рыбную продукцию ежегодно возрастает. На фоне резкого падения запасов

естественных популяций рыб в связи с их сверхинтенсивным промышленным ловом и возникшими проблемами сохранения биоресурсов рыбохозяйственных водоемов, единственно надежным источником увеличения объемов рыбной продукции является аквакультура (Суходолов и др., 2003; Студенцова и др., 2007). Однако, необходимо учитывать, что современные формы ведения рыбоводства предусматривают уплотненные посадки рыб в водоемы, что обуславливает тесный контакт выращиваемых рыб, а отсюда и благоприятные условия для распространения различных болезней, в т.ч. паразитарных, а следовательно, возникает необходимость проведения мероприятий по предупреждению паразитарных заболеваний рыб при искусственном выращивании (Абдуллаева, 2012; Говоркова, Романова, 2014).

Необходимо учитывать, что для широкого лентеца человек является специфичным хозяином и играет основную роль в распространении инвазии, следовательно, при воздействии на это звено эпидемического процесса, возможно, добиться значительного улучшения ситуации по заболеваемости населения дифиллоботриозом. Однако чаечный лентец свободно циркулирует в природе без участия человека. Дегельминтизация населения приочаговой зоны не устранил сам очаг заболевания. Безусловно, более важную роль в распространении и поддержании очагов чаечного дифиллоботриоза играют рыбацкие птицы (Пронин, Санжиева, 1990; Русинек, 2003), поэтому достижение цели оздоровления очага чаечного дифиллоботриоза представляется весьма проблематичным, что свидетельствует о необходимости сотрудничества медицинских работников – паразитологов, эпидемиологов – с биологами и ветеринарами. Без эпидемиологической работы с популяциями рыб невозможно ликвидировать очаг инвазии, так как в организме рыб плероцеркоиды возбудителя выживают до нескольких лет (Пронин, Санжиева, 1990; Scholz et al., 2009).

1.6. Подходы к классификации очагов дифиллоботриоза

В литературе описано несколько подходов к классификации очагов дифиллоботриоза.

Так, В.П. Подъяпольская и В.Ф. Капустин в 1958 году предложили поделить очаги дифиллоботриоза на семь типов, позволяющих детально учитывать эпидемиологическую обстановку каждого очага. Они выделяли: пойменные очаги в устьях крупных рек; очаги на берегах рек, тесно связанные с проточной частью реки; очаги в замкнутых водоемах; очаги на крупных озерах, имеющих связь с другими водоемами; очаги в устьях притоков рек; очаги на водохранилищах; очаги на опресненных участках морей (Подъяпольская, Капустин, 1958).

И.В. Романовым предложена классификация по типу водоема (озерные, речные, водохранилища), а также в зависимости от количества промежуточных хозяев инвазии (олигокопеподные, мезокопеподные, поликопеподные) (Романов, 1973).

П.Б. Гофман-Кадошников в 1963 году предложил классификацию очагов, основанную на наличии или отсутствии возможностей реализации полного жизненного цикла гельминта: потенциальные (есть все условия для возникновения очага, но возбудитель отсутствует); экзогенные (существуют условия для заноса возбудителя из неблагоприятных территорий); эндогенные (возбудитель циркулирует в природе, а риски инвазии населения высоки) (Гофман-Кадошников и др., 1963).

А.С. Довгалев предлагает делить водоемы на: чистые – без предпосылок к формированию очага; потенциально опасные – промежуточные и дополнительные хозяева присутствуют в водоеме и так же есть вероятность заноса яиц возбудителя; условно годные – возбудитель присутствует (Довгалев и др., 1997).

1.7. Сравнительная характеристика микроскопических и молекулярно-биологических методов, используемых для выявления и детекции дифиллоботриид

Актуальность применения видоспецифичных методов выявления дифиллоботриид обусловлена многообразием видов, которые включает в себя род *Diphyllobothrium*. С.Л. Делямуре с соавторами указывает, что дифиллоботрииды пресноводного комплекса насчитывают 8 видов паразитов человека, наземных млекопитающих и птиц, морской комплекс включает не менее 33 видов (Делямуре и др., 1985), а J. Pastor-Valle с соавторами отмечают, что из 14 видов дифиллоботриид, встречающихся у человека, наиболее распространенными являются *D. latum*, *D. dendriticum*, *D. nihonkaiense*, *D. cordatum* и *D. lanceolatum*, тогда как *D. ursi*, *D. alascense*, *D. dalliae*, *D. cameroni*, *D. hians*, *D. orcini*, *D. pacificum*, *D. scoticum*, *D. stemmacephalum* встречаются редко (Pastor-Valle et al., 2009).

1.7.1. Микроскопические методы

Несмотря на то, что у человека доказано паразитирование, как минимум, 14 видов лентецов, которые оказывают различное по степени выраженности клинических проявлений воздействие на организм человека, паразитологические исследования, проводимые в клинико-диагностических лабораториях в настоящее время, не обеспечивают дифференциальную диагностику (Pastor-Valle et al., 2009). Идентификация дифиллоботриид в медицинских лабораториях, как правило, основывается на морфологических отличиях яиц и члеников взрослых червей. Эти критерии позволяют идентифицировать дифиллоботриид до уровня рода, но не являются надежными для оценки идентичности видов, т.к. зависят от характеристик сколекса или полового аппарата зрелых члеников, которые часто недоступны в клиническом материале.

Исследователи, изучавшие дифиллоботриид, указывают, что у этой группы цестод мало морфологических признаков, которые более или менее

стабильны и тем самым пригодны в целях систематики. А.М. Сердюков в качестве признаков, пригодных для дифференциации для *D. latum*, *D. dendriticum* и *D. ditremum* указывает ширину сколекса, длину шейки, угол краспедотности, количество семенников в членике, угол между продольной осью бурсы и семенного пузырька, то же с поперечной осью членика, порядковый номер членика, в котором появились зачатки половой системы и первые яйца, длина и ширина яиц (Сердюков, 1979).

Принимая во внимание, что виды рода *Diphyllobothrium* очень однообразны в половозрелой стадии, Хиллиард (Hilliard, 1960) исследовал с применением электронного микроскопа яйца и корацидии 11 видов, в том числе *D. dendriticum* и *D. ditremum*. В результате Хиллиард установил, что величина крючьев корацидии не может служить надежным признаком в систематике, тогда как их форма в некоторых случаях может быть пригодна для этой цели. Большое таксономическое знание автор придает количеству пластинчатых клеток, которое различно у корацидий разных видов лентецов, независимо от вида дефинитивного хозяина (Приводится по: Делямуре, 1985).

Наиболее доступным материалом для диагностики дифиллоботриозов являются фекалии. В связи с тем, что матка хвостовых члеников *Diphyllobothridae* имеет выводное отверстие, в кале обнаруживаются яйца, имеющие характерное строение: они сероватого цвета, овальной формы, с тонкой двухконтурной оболочкой. На одном полюсе имеется крышечка, на другом - утолщение оболочки в виде бугорка. Последний виден не всегда, особенно при работе методом Като. В центре яйца находится зародышевая клетка (МУК 4.2.3145-13; Ridley, Hawgood, 1956; Maejima et al., 1983).

Учитывая высокую яйцепродукцию лентецов, метод анализа, основанный на морфологическом анализе яиц дешев, легок, но не способен определить паразита до уровня вида. В методических указаниях «МУК 4.2.3145-13. Методы контроля. Биологические и микробиологические

факторы. Лабораторная диагностика гельминтозов и протозоозов», устанавливающих порядок применения методов лабораторных исследований биологического материала от людей с целью обнаружения возбудителей гельминтозов, определения их видовой принадлежности и предназначенных для специалистов осуществляющих лабораторную диагностику гельминтозов, указано, что по морфологическим признакам яиц *Diphyllobothriidae* невозможно определить видовую принадлежность лентеца, в связи с чем, при записи результатов анализа указывают «обнаружены яйца *Diphyllobothriidae sp.*»

Возможна также диагностика лентецов на основании морфологических особенностей фрагментов стробилы с половозрелыми проглоттидами или сколекса паразита, однако данный материал, как правило, отсутствует в клинических образцах. Помимо этого, после процедур по дегельминтизации человека морфологический анализ не возможен из-за разрушения тканей особи паразита.

Кроме того, микроскопические методы исследования требуют определенного уровня квалификации работников клинико-диагностических лабораторий, которая, как показали проведенные исследования, часто оказывается недостаточной. В ходе оценки качества профессиональных компетенций специалистов лабораторий различного уровня по микроскопическому выявлению возбудителей зоонозных гельминтозов в биологическом материале (кале) больных, проведенной в 2010 – 2013 гг. по линии Федеральной системы внешней оценки качества клинических лабораторных исследований (ФСВОК), только 57% протестированных специалистов правильно определили яйца цестод и трематод в препаратах (Довгалева и др., 2014).

Известны случаи ошибочной идентификации с трематодами *Digenea*, которые обладают яйцами похожего размера, и с сегментами *Taenia saginata* похожей формы. Множество образцов автоматически определяются как *D.*

latum, однако последующий молекулярный анализ детектирует их как *D. dendriticum*, *D. nihonkaiense*, и другие разновидности (Regnath, 2004; Paugam et al., 2009)

Некоторые виды могут быть диагностированы только на основе формы и размера эмбриональных крючков онкосферы (Margolis, Arthur, 1979; Yamane, Shiwaku, 1989). Однако они не присутствуют в фекалиях окончательных хозяев и требуют развития в течение нескольких дней в воде (Eduardo, 2005).

Морфологический анализ плероцеркоидов у рыбы также достаточно сложен (Matsuura et al., 1992). Плероцеркоиды отличаются друг от друга гладкой либо сморщенной поверхностью, сокращением сколекса и числом субтегументальных продольных мышц (Arizono et al., 2001). Идентификация плероцеркоидов во многих случаях представляет большие сложности и требует применения более современных методов диагностики (Von Bonsdorff, 1977; Andersen, 1987; Ching, 1988; Yéra, 2006).

Не очень успешными были попытки применить для этих целей методы изоферментного анализа или иммуноэлектрофоретические методы (Wicht, 2008). Вместе с тем, дифиллоботриозы, вызванные разными видами лентецов, вызывают сходные симптомы и успешно лечатся празиквантелом, что может привести практических врачей к мысли, что специфическая идентификация возбудителя не имеет значения (Wicht, 2008).

Такой подход не является корректным с точки зрения эпидемиологии. С учетом часто регистрирующихся случаев заболевания, имеющих завозной характер, видовая идентификация гельминта представляет большую ценность в эпидемиологическом смысле, в плане целостного понимания структуры очага инвазии, области распространения, путях завоза инвазии и жизненных циклов паразитов. Для решения этих задач наиболее перспективным представляется метод молекулярного анализа.

1.7.2. Молекулярные методы

В основе метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) лежит многократное копирование (амплификация) с помощью фермента ДНК-полимеразы определенного фрагмента ДНК по принципу комплементарности, который является маркерным для заболевания или данного вида инфекционного возбудителя и позволяет обнаружить несколько специфических молекул ДНК в присутствии миллионов других молекул (Гинцбург, 1990).

Ключевую роль в образовании продуктов реакции амплификации играют праймеры – искусственно синтезированные олигонуклеотиды, имеющие, как правило, размер от 15 до 30 п.н., идентичные соответствующим участкам ДНК-мишени (Зорина, 2012). Исследование методом полимеразной цепной реакции имеет ряд преимуществ перед стандартными методами: отсутствие предела чувствительности, метод ПЦР позволяет выявлять даже единичные клетки бактерий или вирусов, абсолютная специфичность – способность применяемого метода распознавать исключительно целевую последовательность и отличать ее от исходных последовательностей и загрязняющих примесей (не дает ложноположительных результатов в отличие от метода иммуноферментного анализа); специфичное увеличение (амплификация) в сотни раз участка ДНК возбудителя заболевания в исследуемом образце; возможность количественного определения ДНК в исследуемом образце (Клиндухов и др. 2012).

Следует отметить, что методом ПЦР возможно выявление возбудителей не только в клиническом материале, полученном от больного, но и в материале, получаемом из объектов внешней среды (воды, почва и т.д.) (Веревкина и др., 2008).

В зарубежной литературе опубликованы работы, доказывающие ценность методов ПЦР для решения вопросов эпидемиологии

дифиллоботриозов, в частности, определения видов возбудителя, путей и факторов его распространения (Logan et al., 2004; Arizono et al., 2008)

Так, благодаря использованию молекулярных методов *D. nihonkaiense*-паразит, обычный для Японии и Южной Кореи был обнаружен в Швейцарии, Франции, Финляндии и Северной Америке (Jeon et al., 2009). У швейцарского пациента был также найден *D. dendriticum*, распространенный в Северной Европе, а у пациента из Тайваня был выявлен *D. latum* (Lou et al., 2007; Jeon et al., 2009). Также было доказано, что, зарегистрированная в Сан-Паулу, Бразилия, вспышка со значительными экономическими последствиями и общественным резонансом была связана с употреблением в пищу импортированного сырого лосося и вызвана *D. latum* (Eduardo et al., 2005). В ряде случаев результаты молекулярных исследований ставят под сомнение казавшиеся ранее бесспорными данные об ареалах обитания тех или иных видов дифиллоботриид. Так, например, *D. nihonkaiense* был выделен от тихоокеанских лососей в Северной Америке (Wicht, 2008).

Попытки использовать для дифференциации гельминтов рода *Diphyllobothrium* молекулярные методы исследования предпринимались с конца 1990-х годов, ознаменовавшихся бурным развитием молекулярной биологии.

В 2007 году метод молекулярного анализа был применен для дифференциации *D. latum* и *D. nihonkaiense* в Корею, подобные исследования в Японии проводили Т. Matsuura с соавторами и М. Nakaо с соавторами (Matsuura et al., 1992; Kim et al., 2007; Park et al., 2007).

В 2008 году В. Wicht с соавторами использовала метод ПЦР для изучения *D. latum* и *D. dendriticum* в Швейцарии (Witch et al., 2007; Witch, 2008; Witch et al., 2008).

Об успешном применении метода ПЦР с использованием митохондриальных и ядерных маркеров для дифференциальной диагностики дифиллоботриоза в 2009 г. сообщили J. Pastor-Valle с соавторами, которые

исследовали членики паразитов от 4 больных в Испании и установили, что в одном случае имела место инвазия *Diplogonoporus balaenopterae* и в 3-х – *D. pacificum* при первоначальном диагнозе у всех пациентов – дифиллоботриоз, вызванный *D. latum* (Pastor-Valle et al., 2009).

В 2010 году рядом авторов (B. Wicht , Akira Ito, I. Brabec) был предложен молекулярный тест для дифференциальной идентификации наиболее распространенных видов *Diphyllobothrium* , способных инвазировать людей (*D. latum*, *D. dendriticum*, *D. nihonkaiense* и *D. pacificum*) на основе мультиплексной ПЦР. В качестве мишени для внутри- и межвидовой идентификации различных видов *Diphyllobothrium* был использован *cox1* ген митохондриальной ДНК. Из-за своей изменчивости праймеры для ПЦР были разработаны на основе нескольких репрезентативных последовательностей для каждого вида. Были отобраны образцы различного географического происхождения и на разных стадиях развития гельминта. Выравнивание было проведено с использованием последовательностей, депонированных в общедоступных базах данных (DDJB / EMBL / GenBank, №AM747494 [*D. pacificum*]; №AB268585, №NC_009463, №AM412559, №AM412560, №EF420138, №AB015755 [*D. nihonkaiense*]; №NC_008945, №AB269325, №DQ985706, №FM209180, №FM209181 [*D. latum*]; №AM412738, №AB374223 [*D. dendriticum*]). Результаты исследований показали, что ПЦР-анализ является перспективным методом для рутинной идентификации основных видов дифиллоботриид, паразитирующих у человека, и может быть применен к любой стадии развития дифиллоботриид (Wicht et al., 2010).

Отмечено, что проведение молекулярных исследований с биологическим материалом от гельминтов имеет свои особенности. Так, пробы для проведения исследований молекулярными методами (яйца, личиночные стадии и взрослые паразиты) консервируются в чистом этаноле, однако извлечение ДНК из фекальных образцов должно быть выполнено

немедленно. Не рекомендуется использовать фиксаторы, содержащие формалин, широко используемый для хранения клинических образцов, а также денатурат, так как это ведет к повреждению ДНК (Brabec et al., 2006).

В случае проведения молекулярного анализа проб, полученных непосредственно из фекальных образцов, предварительная концентрация яиц, без добавления формалина, предполагает получение достаточных сумм ДНК. Ультразвуковая очистка позволяет разрушить оболочки яиц и освободить их содержимое. Личинки и взрослые экземпляры, сохраненные в этаноле, должны быть отмыты буферным раствором перед генетическим анализом (Wicht, 2008). Для извлечения ДНК может быть использован как коммерческий комплект, так и классический метод с использованием хлороформа фенола, который дает большие суммы ДНК, особенно от процеркоидов маленького размера. Элюирование ДНК в воде вместо буфера, может быть полезным в том случае, если количество ДНК небольшое, поскольку в дальнейшем возможна концентрация с использованием вакуумной центрифуги (Wicht, 2008).

Более всего цели идентификации *Diphyllobothrium* на уровне вида соответствует – *cox1* ген митохондриальной ДНК и *tRNA^{Pro}*, *tRNA^{Ile}*, *tRNA^{Lys}*, подъединица дегидрогеназы NADH 3 (NADH3) (Byun et al., 2009; Wicht et al., 2010; Yéra et al., 2008).

Таким образом, накопленный в разных странах опыт свидетельствует о том, что метод ПЦР дает достоверные результаты и может использоваться для видоспецифичной детекции дифиллоботриид на всех стадиях развития.

1.8. Основные направления профилактики дифиллоботриоза

Меры профилактики дифиллоботриоза направлены на уменьшение риска заражения населения и животных и включают в себя обеспечение населения безопасной по паразитологическим показателям рыбной продукцией, охрану водоемов от фекального загрязнения при сбросе неочищенных или недостаточно очищенных хозяйственно-бытовых и

промышленных вод, выявление и санацию инвазированных лиц, разъяснительную работу среди населения.

В Российской Федерации разработана нормативно-техническая база, регламентирующая основные ветеринарно-санитарные и медико-санитарные профилактические мероприятия при паразитарных зоонозах, в частности, паразитологическая экспертиза рыбы и рыбной продукции осуществляется в соответствии с МУК 3.2.988-00 "Методы санитарно-паразитологической экспертизы рыбы, моллюсков, ракообразных, земноводных, пресмыкающихся и продуктов их переработки", «Правилами ветеринарно-санитарной экспертизы морских рыб и икры», утвержденными приказом Минсельхоза России от 13 октября 2008 г. N 462, СанПин 3.2.3215-14 «Профилактика паразитарных болезней на территории Российской Федерации».

Правильная технологическая обработка является самым надёжным способом профилактики инвазий, связанных с употреблением рыбной продукции. Режимы обработки рыбы, обеспечивающие обеззараживание от возбудителей паразитарных болезней приведены в СанПиН 3.2.3215-14 "Профилактика паразитарных болезней на территории Российской Федерации".

Крайне актуальной представляется проблема разработки и внедрения новых современных методов обеззараживания рыбы от личинок гельминтов. Так, А.Н. Пельгунов приводит данные о применении для этих целей вакуума, электродинамического удара и ультразвуковой обработки (Пельгунов, 2015).

Оценка структуры питания, влияния его на состояние здоровья, контроль за безопасностью продовольственного сырья и пищевых продуктов на этапах производства и оборота для предупреждения инфекционных и массовых неинфекционных заболеваний, связанных с питанием, являются приоритетными задачами в работе государственной санитарно-эпидемиологической службы Российской Федерации (СанПиН 3.2.3215-14).

Важным звеном профилактических мероприятий является организация мониторинга за состоянием водоемов - качеством их воды по паразитологическим показателям, уровнем зараженности возбудителями дифиллоботриоза всех звеньев биологического цикла развития, что позволяет осуществлять комплексную оценку эпизоотической и эпидемической ситуации в условиях конкретной ландшафтно-географической структуры и проводить ее ранжирование по основным показателям напряженности процесса (Студенцова и др., 2007). С целью своевременного выявления паразитов, могущих оказать отрицательное влияние на ведение промысла, необходимо регулярно проводить паразитологическое обследование всех промысловых или перспективных для промысла видов рыб. Проведение таких работ особенно важно в районах, впервые осваиваемых промыслом, а также в тех районах, где уже регистрировались те или иные эпизоотии (Ахмеров, 1960, Богданова, 1991).

Для предотвращения неблагоприятного влияния имеющихся и создаваемых на реках Сибири водохранилищ ГЭС, противоэпидемические мероприятия должны предусматривать профилактику паразитарных заболеваний, в том числе гельминтозов, передающихся через рыбу, среди населения, строителей и персонала ГЭС, выполнения мероприятий по дезинвазии, проведение эпидемиологического и зооэнтомологического мониторингов с заблаговременным прогнозированием изменений активности природных очагов инфекционных и паразитарных заболеваний (Успенский, 2013).

Актуальным следует считать реализацию целевых программ по профилактике паразитарных зоонозов, включая обеспечение современных технологических условий для выпуска продукции, благополучной по паразитологическим показателям, совершенствование методической базы по оптимизации ветеринарно-санитарного контроля продукции. Важным является усиление материально-технической базы диагностических

лабораторий и повышение профессиональной подготовки кадров (Студенцова и др., 2007).

Огромную роль играет разъяснительная работа среди населения, проживающего в зоне влияния очагов дифиллоботриоза, и работников предприятий, осуществляющих переработку рыбы (Тимошенко и др., 2008), внедрение информационно-аналитических систем по профилактике паразитарных зоонозов.

Очевидно, что, помимо всего комплекса медицинских мероприятий, необходимо проведение научных исследований эколого-гигиенического профиля для организации более эффективной борьбы с этим паразитозом (Мамонтов, 2003).

1.9. Характеристика дифиллоботриид, участвующих в формировании очагов инвазии на территории Иркутской области

1.9.1. Diphyllbothrium latum

Diphyllbothrium latum (Linnaeus, 1758), Liihe 1970 – лентец широкий, вид зарегистрирован в 1957 году, впервые был открыт и описан Карлом Линнеем (1707 – 1778). В 20 веке широкий лентец считался основным возбудителем дифиллоботриоза у населения России, что отражено во множестве публикаций (Скрябин и др., 1929; Бауер, 1958; Гофман-Кадошников и др., 1963; Вайсман и др., 1967; Изюмова и др., 1977; Изюмова, 1977; Гараева, 1990; Сергиев, 1991; Булычева, 1963; Костарев, 2003; Смирнова и др., 2004).

Для широкого лентеца человек выступает в роли облигатного хозяина, а плотоядные животные, употребляющие инвазированную рыбу, рассматриваются как факультативные хозяева. Очаги распространения этого гельминтоза носят антропоургический характер, и функционировать без участия человека не могут. Чаще всего плероцеркоиды широкого лентеца обнаруживаются у щуки, налима, окуня, ерша, леща, судака, сома и угря (Бауер, 1958; Решетникова, 1965; Ходакова и др., 1996; Акбаев, 2000).

Половозрелые особи локализуются в тонком отделе кишечника. У плотоядных млекопитающих длина стробилы достигает 1 – 2 метров, у человека – до 20 метров, упоминаются случаи обнаружения особей и с большей длиной стробилы (Бауер, 1958; Поляков, 2002). Паразитируя у собак, паразит может достигать длины 10 метров с шириной 1,5 см (Акбаев, 2000).

Установлено, что в зависимости от видовой принадлежности дефинитивного хозяина сроки созревания и продолжительность жизни паразита различны, так у собак половой зрелости паразит достигает за 13 – 23 суток, продолжительность жизни составляет 394 суток, у лисицы за 16 – 36 суток; продолжительность жизни 112 суток, у песцов – за 21 – 26 суток, срок жизни – 289 суток, у человека – за 60 – 75 суток, продолжительность паразитирования – до 29 лет (Акбаев, 2000).

Патогенез дифиллоботриоза, вызванного лентецом широким, изучен достаточно подробно. При паразитировании у человека, широкий лентец, прикрепляясь к слизистой оболочке тонкой кишки, приводит к ее локальному изъязвлению, некротизации и атрофии. В результате у заразившихся людей наблюдается слабость, тошнота, рвота, утомляемость, нарушение сна, может развиваться анемия и надпочечниковая недостаточность. В 50,0% случаев паразитирование сопровождается развитием дисбактериоза, обусловленного антибиотической активностью паразита и инокуляцией нормофлоры в местах механической травматизации слизистой кишечника, хотя в 10,0% случаев инвазия протекает практически бессимптомно (Ларцева, Проскурина, 2012).

1.9.2. Diphyllbothrium ditremum

Diphyllbothrium ditremum (Creplin, 1825) Liihe 1910 – лентец узкий, впервые описан Талызиным Ф.Ф. в 1932 году при изучении экземпляра, полученного от населения на острове Ольхон. Длина гельминта до 50 см при ширине 4 мм. Цисты небольшого размера. Промежуточным хозяином и звеном передачи инвазии выступает ряпушка (90%), сиг (33%), омуль (24%)

и другие рыбы (Бауер, 1958). Окончательными хозяевами являются рыбацкие птицы и хищные млекопитающие, в том числе и человек. Локализация гельминта - на внутренних органах рыб и в жировой ткани, у окончательных хозяев - в тонком кишечнике.

Известно, что плероцеркоид *Diphyllobothrium ditremum* мало инвазионен для человека (Довгалева, 1984, Однокурцев, 2010). Эпидемиологическое значение этого паразита «...несущественно, в связи с абортивным характером хозяинно-паразитных взаимоотношений между человеком и этим видом лентеца» (Муратов, 1986).

1.9.3. *Diphyllobothrium dendriticum*

Diphyllobothrium dendriticum (Nitzsch, 1824), Lihe 1970 – лентец чаечный. Первым промежуточным хозяином являются рачки родов *Diaptomus* и *Cyclops*, вторым промежуточным хозяином - омуль, пелядь, ряпушка, и другие рыбы семейства сельдевых, лососевых, хариусовых. Окончательными хозяевами *D. dendriticum* являются рыбацкие птицы (чайка, баклан и др.) и хищные млекопитающие. Инвазия человека опасна, однако, в меньшей степени, нежели инвазия *D. latum* (Акбаев, 2000).

В отличие от лентеца широкого, общая продолжительность жизни чаечного лентеца в организме окончательного хозяина, в т.ч. и человека, не превышает 1,5 – 2 месяцев, а яйцепродукция (в экспериментах) продолжается не более 2 – 3 недель (Пронин и др., 1988). Значительно отличается и воздействие чаечного лентеца на состояние организма млекопитающих.

Патогенез чаечного лентеца изучался при экспериментальном заражении собаки, золотистого хомячка, белой крысы, котят.

В 2010 году С. В. Прониной с соавторами было установлено, что при экспериментальном заражении лентецом чаечным существенные морфофункциональные изменения происходят не только в органе локализации паразита – пищеварительном тракте и печени, но и в органах иммунной защиты. У зараженных хомячков наблюдались структурная

дезорганизация состава лимфоцитов, снижение хелперного и цитотоксического потенциала лимфоцитов, депрессия В-звена иммунитета. Супрессивное воздействие паразита на В-лимфоциты отмечалось как в крови исследованных животных, так и в периферических органах иммунной системы, что, по мнению авторов, способствует успешному приживлению и развитию паразита (Пронина и др., 2010). Приводятся также результаты исследования воздействия чаечного лентеца на организм котят. Лентец чаечный в кишечнике котят глубокие гистопатологические изменения вызывает только в месте фиксации сколекса, снабженного ботриями, которыми он ущемляет ворсинки, вызывая их атрофию. На остальных участках при хронической фазе воспаления в слизистой наблюдаются преимущественно дистрофические изменения эпителия, покрывающего ворсинки. Одновременно в слизистой кишечника происходят защитнокомпенсаторные реакции: усиление выработки муцинов, увеличение количества интраэпителиальных лимфоцитов и повышение митотической активности эпителиоцитов крипт. Повышение митотической активности эпителиоцитов компенсирует число поврежденных клеток и препятствует развитию эрозий и язв в местах контакта стробилы (Качина, Комарова, 2007).

1.10. Эколого-эпидемиологическая оценка района исследования

Водные ресурсы Иркутской области включают: озеро Байкал, площадь акватории которого составляет 31,5 тыс. км кв, протяженность с севера на юг – 636 км, максимальная ширина – 79,5 км, максимальная глубина – 1637 км; 229 озер общей площадью водного зеркала 7732,5 км кв.; систему ангарских водохранилищ с общей площадью зеркала более 7500 км кв; речную сеть, представленную бассейнами таких крупных рек как Ангара, Лена, Нижняя Тунгуска и др., всего более 65 тыс. рек различной глубины и протяженности (Зеленская, Шишелова, 2014).

Промысловый и любительский лов рыбы в Иркутской области осуществляется на Братском и Усть-Илимском водохранилищах, в акватории

оз. Байкал (Малое море) и на других озерах, а также в бассейнах Лены, Ангары, Нижней Тунгуски. Удельный вес Братского и Усть-Илимского водохранилищ в суммарном промысловом улове области составляет около 44%, оз. Байкал (Малое море) — 48%, основных рек и их притоков — 7,0% (Суходолов и др., 2003).

Особенностью Иркутской области является превалирование любительского и браконьерского рыболовства, которое, по данным А. П. Суходолова с соавторами, получило широкое распространение на всех реках области и по объему лова значительно превышает объем промышленного (например, хариуса рыбаками любителями добывается в 14 раз больше, сига - в 7 раз) (Суходолов и др., 2003). Основные очаги дифиллоботриозов на территории области приурочены к оз. Байкал, реке Лена с ее притоками и системе Ангарских водохранилищ.

1.10.1. Байкальский очаг

Является одним из крупнейших известных очагов чаечного дифиллоботриоза. Основным фактором, обеспечивающим стабильную эпидемиологическую опасность Байкальского очага дифиллоботриоза является высокая зараженность дифиллоботридами рыбацких птиц. Хозяйственная деятельность человека способствует ухудшению ситуации (загрязнение неочищенными или недостаточно очищенными хозяйственно-бытовыми водами, с которыми происходит занос яиц лентеца, сброс в водоем внутренностей рыбы при ее разделке), но не играет определяющей роли.

Структура природного очага дифиллоботриоза на озере Байкал была расшифрована трудами многих ученых - Т. П. Чижовой и П.Б. Гофман-Кадошникова (Чижова, Гофман-Кадошников, 1960), Н.М. и С.В. Прониных (Пронин и др., 1988; Пронина, Пронин, 1988; Пронин, Санжиева, 1990; Пронин и др., 1991; Пронин и др., 2007; Пронин и др., 2009), А.А. Майборода (Майборода и др., 1987), Т.М. Тимошенко (Тимошенко и др., 1995; Тимошенко, Русинек, 2000; Тимошенко и др., 2008). Фундаментальный

вклад в изучение очага чаечного дифиллоботриоза на Байкале внесен трудами О.Т. Русинек (Русинек, Пронин, 1991; Русинек, 2007 и др.). Большой вклад в изучение очага чаечного дифиллоботриоза на территории Иркутской области внесли сотрудники областной санитарно-эпидемиологической станции - Э.А. Житницкая, Т.А. Журина, В.Т. Иванов, М.М. Колокольцев (Тимошенко Т.М., 2008).

Характеризуя структуру паразитарной системы *D. dendriticum* в озере Байкал, О.Т. Русинек указывает, что первыми промежуточными хозяевами *D. dendriticum* являются шесть видов ракообразных: *Epischura baicalensis*, *Cyclops kolensis*, *Eucyclops serrulatus*, *Macrocyclus albidus*, *Mesocyclops leuckarti*, *Diaptomus incongruens* (Русинек, 2007).

Основным вторым промежуточным хозяином, как по численности, так и по уровню зараженности является байкальский омуль, на долю которого приходится около 98% всей гемипопуляции лентеца на стадии плероцеркоида, и зараженность которого плероцеркоидами достигает 64 – 77% от общего количества взятых на анализ проб (Пронин и др., 1988; Пронина, Пронин, 1988).

По данным О.Т. Русинек (Русинек, 2007), байкальский омуль (*Coregonus autumnalis migratorius*) представлен тремя морфоэкологическими группами: прибрежной, пелагической, придонно-глубоководной. Обследовано 20 экземпляров молоди пелагической группы, 15 экземпляров – прибрежной, и 20 экземпляров придонно-глубоководной группы. Зараженность *D. dendriticum* выявлена во всех группах, при этом экстенсивность заражения у омуля пелагической группы составила 85%, при индексе обилия 7,12 на экземпляр, у омуля придонно-глубоководной группы - 80%, при индексе обилия 3,4 на экземпляр, у омуля прибрежной группы – 73,3% при индексе обилия 4,3 на экземпляр. У омуля пелагической группы выявлена так же зараженность *D. ditremum* (экстенсивность заражения 50%). Высокий уровень зараженности омуля этими видами паразитов может быть

обусловлен тем, что к нему они попадают не только непосредственно от первых промежуточных хозяев, но и от резервуарных хозяев, которыми являются рогатковидные рыбы.

Кроме того, в качестве промежуточных хозяев *D. dendriticum* О.Т. Русинек называет следующие виды рыб: ленок, таймень, омуль, сиг, хариус (Русинек, 2007).

К числу резервуарных хозяев О.Т. Русинек относит 16 видов широколобок, желтокрылку, длиннокрылку, большую и малую голомянки.

В летнее время до 93% гемипопуляции гельминта сосредоточено в птицах. Ведущая роль в циркуляции паразита принадлежит серебристой чайке. В качестве дефинитивных хозяев чаечного лентеца Н.М. Пронин указывает более 10 видов птиц (Пронин и др., 1988), О.Т. Русинек – 14 видов птиц (в том числе краснозобая и чернозобая гагары, красношейные, черношейные, большая поганки, черный коршун, серебристая, сизая, озерная чайки, чеграва, длинноносый и большой крохаль, ворон, черная ворона). Так же дефинитивными хозяевами являются хищные млекопитающие (лисица, собака и др.), байкальский тюлень и человек, но их роль гораздо менее существенна (Русинек, 2007).

В литературе имеются указания на зараженность рыб бассейна оз. Байкал плероцеркоидами *D. latum*, которая была зарегистрирована в 60-е гг., хотя дифиллоботриоз человека, вызываемый этим лентецом, отмечался ранее. Наиболее крупный антропогенный очаг дифиллоботриоза, вызываемого широким лентецом, описан на озеро Гусиное (Пронин и др., 1988). Указаний о находках плероцеркоидов *D. latum* в самом оз. Байкал не найдено. Зараженность плероцеркоидами широкого лентеца рыб Иркутского водохранилища (щуки, налима) показал В.Т. Иванов в 1962 году (Иванов, 1964), однако, в последнее время указания о таких находках отсутствуют.

1.10.2. Ангарские водохранилища

Ангара является основной водной артерией области с водосборной

площадью более миллиона километров. В пределах Иркутской области расположено 60% общей протяженности Ангары. При сооружении каскада ГЭС, образовались Ангарские водохранилища (Зеленская, Шишелова, 2014).

Зарегулирование стока Ангары началось в 1956 г. с образованием Иркутского водохранилища, окончательно оно сформировалось к 1959 году, получив площадь 154 кв км и объем 2,1 куб км. Заполнение Братского водохранилища происходило с 1961 по 1967 гг., водоем имеет площадь 5470 кв км и объем 169 куб км. Усть-Илимское водохранилище создавалось с 1974 по 1977 гг., площадь его 1893 кв км, объем 59,4 куб км (Мусихина, 2010).

Каскадное расположение водохранилищ привело к последовательному увеличению у них трофности от олиго- к мезо- и эвтрофии. Разнообразие размеров, водообмена, биологических характеристик определило особенности состава их ихтиофауны.

До зарегулирования, р. Ангара характеризовалась повышенной рыбопродуктивностью. При увеличении водности при приеме крупных притоков она подразделялась на участки с преобладанием хариуса и ленка, хариуса и ельца, осетровых. На всех участках значительную долю рыб составляли сиг, таймень, налим, и у устьев притоков – щука, окунь, плотва. При зарегулировании стока проявились закономерности, свойственные для многих водохранилищ. Произошла смена ценных реофильных видов на лимнофильные, короткоцикловые виды. В конечном счете, на основной акватории сформировалось преобладание плотвично-окуневого комплекса со значительной долей ерша, налима, щуки и акклиматизируемых видов, в том числе омуля, пеляди. На участках с повышенным течением реофильные виды (хириус, ленок) сохраняют свое доминирование, но численность их снижена до уровня, когда промысловое использование становится невозможным (Мамонтов, 1977).

Рыбное население Иркутского водохранилища включает 29 видов. На верхнем участке сложился хариусово-ельцовый биоценоз, на среднем –

плотвично-ельцово-хариусовый, на нижнем – плотвично-окуневый. Из промежуточных хозяев дифиллоботрид можно отметить: черного хариуса (*Thymallus arcticus baicalensis*) – преобладающий вид на верхнем участке, и окуня (*Perca fluviatilis L.*), оба имеют широкий спектр питания, но основу рациона составляют бокоплав и хирономиды.

В настоящее время Иркутское водохранилище является водоемом рекреационного назначения, данные по учету вылова рыбы малочисленны, отмечаются единичные уловы сига и омуля. Учитывая географическое положение и сходность состава ихтиофауны, климатологических, гидрологических условий, Иркутское водохранилище можно включить в состав Байкальского очага дифиллоботриоза.

Братское водохранилище является наиболее экономически эффективным промысловым водоемом, в котором заготавливается до 40% промысловой рыбы Иркутской области.

В составе ихтиофауны Братского водохранилища насчитывается 34 вида рыб, из них в отношении возможности передачи дифиллоботриоза имеют значение: окунь (*Perca fluviatilis L.*), преобладающий в уловах на среднем участке водохранилища, байкальский омуль (*Coregonus autumnalis migratorius*), который нагуливается на нижнем глубоководном участке и восточный лещ (*Abramis brama orientalis Berg.*), распространенный на всех участках.

В реке Ангара в зоне Усть-Илимского водохранилища обитало 23 вида рыб, кроме того, вселены байкальский омуль, пелядь, восточный лещ. Несмотря на то, что водохранилище планировалось для разведения ценных видов рыб, в настоящее время представляет собой плотвично-окуневый водоем. Из промежуточных хозяев дифиллоботриоза распространены окунь (*Perca fluviatilis L.*) на всех участках, сибирский хариус (*Thymallus arcticus (Pallas)*) – отмечается только в верхних участках и зонах подпора. Кроме

того, в небольших количествах ловятся щука и налим (Купчинский, Купчинская, 2006).

Понкратов С.Ф. отмечает, что байкальский омуль, начиная с 1959 года вселялся в Иркутское, Братское, Усть-Илимское водохранилища.

В настоящее время в Иркутском водохранилище в уловах встречается редко, в Братском водохранилище – расселился по всему водоему, но формирование популяции происходит, преимущественно, за счет искусственного размножения, улов не превышает 0,5 – 0,75 т, в Усть-Илимском водохранилище небольшие скопления отмечены на верхнем участке (Пронини др., 1999; Понкратов, 2013).

1.10.3. Ленский очаг

Река Лена начинается на территории Иркутской области с небольшого ручейка на западном склоне Байкальского хребта. Протяженность в пределах Иркутской области составляет 1250 км (40% общей протяженности), бассейн представлен участком самой реки в верхнем и среднем течении (от п. Качуг до г. Киренск), а также 20 притоками (Зеленская, Шишелова, 2014).

Промышленное рыболовство осуществляется, в основном, на р. Киренга и Ханда (Казачинско-Ленский район), на других практически не ведется из-за экономической нецелесообразности. Однако, практически на всех реках широко распространено любительское рыболовство. Объем любительского лова примерно в 25 раз превышает объемы промышленного улова.

В реке Лена и ее притоках обитают: ленок, хариус, сиг, омуль, щука, таймень, сом, судак, тугун, окунь, чир, налим, елец, сазан, плотва, лещ, карась, ерш, карп, язь (Суходолов и др., 2003).

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования явились очаги дифиллоботриозов на территории Иркутской области. Исходя из поставленных задач, при выполнении работы использовался комплекс эпидемиологических, паразитологических, статистических, молекулярно-биологических методов исследования, а также метод «личного интервью».

Место проведения исследования – г. Иркутск, Иркутская область.

2.1. Паразитологическое исследование рыбы

Пробы рыбы были отобраны в ходе надзорных мероприятий на предприятиях, осуществляющих изготовление, хранение и реализацию рыбы и рыбной продукции на территории области, а также поступали на исследование с целью гигиенической сертификации, в ходе производственного контроля, с целью мониторинга за состоянием рыбохозяйственных водоемов. Также проводилась закупка рыбы в торговой сети. Всего за период с 2001 по 2014гг. на базе паразитологической лаборатории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Иркутской области», при частичном участии автора, было исследовано 3375 проб рыбы, из них 2419 – морской и 956 – пресноводной рыбы.

Для изучения зараженности рыбы использовался метод неполного гельминтологического исследования с определением жизнеспособности выявленных личинок гельминтов (МУК 3.2.988-00), который включал следующие этапы:

1. Рыбу вскрывают в кювете или на широкой гладкой доске, проводят наружный осмотр рыбы для выявления личинок, просвечивающих через кожу, извлекают их препаровальной иглой.
2. Затем открывают доступ к полости тела. Делают дугообразный надрез, вырезают левую брюшную стенку, отделяют ее. Рыбу кладут на правый бок. При внимательном осмотре полости тела и внутренних органов

могут быть обнаружены свободно лежащие или под серозной, или в капсулах личинки цестод, нематод, скребней, видимые невооруженным глазом.

3. Накладывают лигатуры на кишечник близ анального отверстия и на пищевод в его начальном отделе, чтобы содержимое пищеварительного тракта не вышло наружу. Затем извлекают и просматривают внутренние органы.
4. Исследуют освобожденный от жировой ткани пищеварительный тракт, отыскивая личинок в капсулах на его поверхности или просвечивающих через серозные покровы.
5. Пилорические придатки (развитые у налима, сиговых, лососевых) расправляют и осматривают снаружи.
6. Стенки желудка и пищевода после наружного осмотра исследуют под бинокулярной лупой, подбирая степень увеличения в зависимости от объекта.
7. После просмотра внутренних органов с рыбы снимают кожу в направлении от головы к хвосту, подрезая ее ножницами и оттягивая хирургическим пинцетом или рукой. Осматривают внутреннюю сторону кожи, а часть мышц, отделившихся с кожей, разрезают на пластинки или соскабливают и компрессуют.
8. Метод исследования мускулатуры выбирается в зависимости от целей паразитологического контроля (вида гельминта):

Метод параллельных разрезов применяется для обнаружения в мышечной ткани рыбы личинок гельминтов, видимых без использования увеличительных приборов (цестод, нематод, скребней). Мышечную ткань острым скальпелем разрезают на пластинки толщиной до 5 мм, которые затем раздвигают и просматривают в падающем свете невооруженным глазом. Разрезы можно делать как поперек, так и вдоль мышечных волокон. Делая разрезы мускулатуры, и встречая в ее толще крупных личинок или

капсулы с личинками (величиной около 1 см и более), нужно извлечь несколько экземпляров паразитов целиком для определения вида. Выделенных личинок следует поместить в чашку Петри или часовое стекло с физиологическим раствором с температурой 28-30°C для изучения их жизнеспособности. При исследовании тихоокеанских лососей, кунджи и сахалинского тайменя на наличие плероцеркоидов *D. luxi* (*D. klebanovskii*) разрезы проводят поперек мышечных волокон всей дорсальной части тела, большинство личинок локализуется между жировым и спинным плавниками.

Метод исследования мышечной ткани на просвет используется также для выявления личинок нематод, цестод, скребней. Для применения этого метода необходимо применяется столик с прозрачной крышкой (размером не менее 40x40 см, лучше из молочного или матового стекла) и подсветкой снизу. Можно пользоваться столиком микроскопа типа МБС с нижней подсветкой. Мышечную ткань рыбы (или филе) острым скальпелем или ножом нарезают на пластинки толщиной не более 2-3 см. Куски мышц помещают на верхнюю крышку столика и просматривают. Яркость подсветки и толщина ломтиков в зависимости от степени просвечиваемости мяса конкретного вида рыбы устанавливается опытным путем. Обнаруженных личинок гельминтов выделяют из мышечных тканей рыбы с помощью препаровальных игл. Выделенных личинок помещают в чашку Петри или часовое стекло с физиологическим раствором. Всех выявленных гельминтов фиксировали 70°этанолом.

2.2. Эпидемиологические исследования

Исследование заболеваемости дифиллоботриозом населения Иркутской области проводилось на основании данных официальной статистики. Административное деление, численность и структура населения административных образований Иркутской области на 01.01.2015г. приведены по данным Территориального органа Федеральной службы

государственной статистики по Иркутской области (Иркутскстат)
(Статистический сборник, 2015), табл. 2.1.

Таблица 2.1

Численность и структура населения Иркутской области в разрезе
муниципальных образований

Территории	все жители	до 14 лет	сельские жители
Балаганский р-н	8737	2074	4796
г. Ангарск, Ангарский р-н	240666	39207	3231
Бодайбинский р-н	21106	4277	1433
г. Братск, Братский р-н	291704	51119	32453
г. Зима, г. Саянск, Зиминский р-н	84275	16939	13751
Жигаловский р-н	8686	2138	3599
Заларинский р-н	27980	7127	14675
г. Иркутск	616536	101377	0
Иркутский р-н	105033	19048	83276
Казачинский р-н	17450	3887	5933
Катангский р-н	3506	756	3506
Качугский р-н	17156	4080	10194
Киренский р-н	18705	4025	4743
г. Железногорск, Н-Илимский р-н	51006	10195	8384
Куйтунский р-н	29703	7094	20066
Мамско-Чуйский р-н	4630	986	273
Нижнеудинский р-н	65585	14128	18795
Ольхонский р-н	9583	2177	8239
г. Тайшет, Тайшетский р-н	75873	15651	19040
г. Тулун, Тулунский р-н	68366	14803	26183
г. Усолье, Усольский р-н	130952	24718	22234
Усть-Кутский р-н	51063	10598	5255
Усть-Удинский р-н	13866	3599	8674
г. Черемхово, Черемховский р-н	93611	20515	21461
г. Шелехов, Шелеховский р-н	63992	11899	11805
Слюдянский р-н	40011	8629	4355
Чунский р-н	34228	7637	9655
г. Усть-Илимск, Усть-Илимский р-н	99844	18478	9658
Аларский р-н	20820	4959	20820
Осинский р-н	20812	5674	20812
Боханский р-н	25009	6156	25009
Нукутский р-н	15680	4207	15680
Эхирит-Булагатский р-н	29346	7393	29346
Баяндаевский р-н	11110	2807	11110
Усть-Ордын.Бурят. окр	122777	31196	122777
Иркутская область	2293853	427161	375667
Иркутская обл. с окр	2416630	458357	498444

Проведен ретроспективный анализ динамики заболеваемости дифиллоботриозом населения Иркутской области за период с 1971 по 2015 гг., дана оценка месту дифиллоботриоза в структуре паразитарной заболеваемости, проанализировано распределение заболеваемости в различных социальных группах населения (за период с 2005 по 2015 гг.) и уровень эпидемиологического неблагополучия на административных территориях области.

Многолетняя динамика заболеваемости в разрезе административных территорий изучена по данным государственных отчетных форм статистического наблюдения: №87-СЭС «Противогельминтозные мероприятия» (1979 – 1990 гг.), №2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» (1990 – 2015 гг.).

Использовались также данные информационных сборников МЗ СССР, МЗ РСФСР, МЗ Российской Федерации, информационных сборников статистических материалов «Санитарно-эпидемиологическая обстановка в Сибирском Федеральном округе», данных Государственных докладов «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения Российской Федерации» за 2005 – 2014 гг., годовых отчетов Центров Госсанэпиднадзора Иркутской области, Территориальных отделов Управления Роспотребнадзора по Иркутской области, а также архивных данных Управления Роспотребнадзора по Иркутской области.

С целью изучения уровня и структуры заболеваемости, интенсивности эпидемических проявлений в различных возрастных и социально-профессиональных группах населения, особенностей клинического проявления проведен анализ 1550 карт эпидемиологического обследования очагов дифиллоботриоза (ф. №357-у).

Для оценки роли факторов заражения дифиллоботриозом, автором разработана и внедрена в работу Управления Роспотребнадзора по Иркутской области и его территориальных отделов форма представления

информации, включающая данные о местах промысла или приобретения рыбы и способов ее кулинарной обработки.

В работе использованы данные статистической отчетности Службы ветеринарии Иркутской области, результаты паразитологических исследований рыбы, проведенных Федеральным бюджетным учреждением здравоохранения «Центр гигиены и эпидемиологии в Иркутской области» и его филиалами в 2000 – 2014 гг.

2.3. Исследования методом полимеразно-цепной реакции

Для проведения видоспецифичной ПЦР были использованы фрагменты биологического материала, выделенные от особей омуля, добытых на территории Иркутской области и Республики Бурятия. Всего было отобрано 20 образцов. Биологический материал для исследования был получен от больных, выявленных в паразитологической лаборатории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Иркутской области». Отбор проб проведен согласно методическим рекомендациям «Взятие, транспортировка, хранение клинического материала для ПЦР диагностики». Всего было отобрано 24 образца фекалий людей, больных дифиллоботриозом, жителей Иркутской области и Республики Бурятия.

Видовая диагностика возбудителя (*D. dendriticum*) обеспечивалась использованием в ПЦР видоспецифичных праймеров. Чувствительность метода отрабатывали в поиске оптимальных условий реакции. Для контроля селективности на уровне видовой диагностики использовали плероцеркоиды *D. latum*. Плероцеркоиды фиксировали в этаноле, перед проведением генетического анализа отмывали буферным раствором (Reperant et al., 2007).

Далее, с учетом результатов исследования рыбы, было проведено исследование биологического материала от людей. С этой целью использовали фекалии людей, зараженных дифиллоботриозом, при этом шестнадцать образцов были получены от больных, проживающих на территории Иркутской области и четыре – от больных из Республики

Бурятия. Во всех образцах стандартными копроовоскопическими методами подтверждено наличие яиц *Diphyllobothrium sp.*

Забор биологического материала также осуществляли согласно методическим рекомендациям «Взятие, транспортировка, хранение клинического материала для ПЦР диагностике» (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва, 2012). Образцы для молекулярного исследования (фекалии, содержащие яйца лентеца), так же как и в случае с образцами, взятыми от рыбы, фиксировали в этаноле и отмывали буферным раствором. Выделение ДНК из подготовленных образцов проводили с помощью коммерческого набора «ДНК-сорб» по модифицированной методике (Белькова, Андреева, 2008). К образцу объемом 100 мкл добавляли 300 мкл лизирующего буфера и тщательно перемешивали гомогенизатором. Для удаления взвеси лизат центрифугировали на настольной центрифуге (5 мин, 12000 об/мин), надосадочную жидкость переносили в новую пробирку и к ней добавляли 25 мкл сорбента. Далее все стадии отмывки проводили согласно инструкции фирмы-изготовителя. Нуклеиновые кислоты элюировали в 50 мкл безбактериальной стерильной воды. Для этого осадок суспендировали, прогревали в термостате 5 мин. при 60°C и центрифугировали 5 мин при 12000 об/мин. Надосадочную жидкость использовали в качестве матрицы в ПЦР.

В ПЦР использованы видо-специфичные праймеры: MulRevCom (5'-ATGATAAGGGAYAGGRCYCA-3') и MulDen4 (5'-GTGTTTTTCATTTGATGATGACCAGTC-3'), позволяющие амплифицировать фрагмент гена, кодирующего первую субъединицу цитохром с - оксидазы длиной 338 н.п. митохондриальной ДНК *D. dendriticum*. Специфичность реакции обеспечивается высокой гомологией праймера MulDen4 с целевым фрагментом *D. dendriticum*. Максимальное количество замен на выбранном участке составляет не более 2 для *D. dendriticum*, идентифицированных в разных объектах, в то время как с другими

эпидемиологически важными видами *D. latum* и *D. ditremum* замен существенно больше, причем располагаются они и на важном для амплификации 3'-конце.

Последовательность праймеров разработана зарубежными коллегами и ранее не применялась для работы с образцами, полученными на территории Иркутской области (Yéra et al, 2008).

Реакцию проводили с коммерческим набором Encyclo (Евроген, Москва), использовали 10–20 нг матричной ДНК и по 5–10 пмоль каждого праймера. В первом цикле денатурация проводилась при 95 °С 5 мин, затем 30 циклов, включающих: денатурацию при 94°С в течении 30 с, отжиг при 58°С – 30 с и элонгацию при 72°С – 45 с. В последнем цикле время элонгации увеличивали до 7 мин. Амплификацию проводили в термоциклере Бис (БИС-Н, Россия). После реакции проводили электрофоретический анализ ампликонов в 1,5% агарозном геле в трис-ацетатном буфере (20 миллимоль/л трис-ацетат, 0,5 миллимоль/л ЭДТА, рН 7,6). Электрофорез вели в электрофоретической ячейке (Bio-Rad, США) при напряжении 120 вольт, в течение 40 мин. Ампликоны окрашивали этидиум бромидом (рабочая концентрация 2 мкг/мл) и визуализировали в ультрафиолетовом свете на трансиллюминаторе ECX-20L (Vilber Lourmat, Франция).

2.4 Метод личного интервью

С целью изучения уровня знаний населения по вопросам профилактики паразитарных болезней использовался метод личного интервью.

С помощью разработанной анкеты, содержащей вопросы о мерах профилактики дифиллоботриоза, было опрошено 112 жителей Ольхонского района Иркутской области.

В соответствии с целью исследования для первичной обработки данных построена частотная таблица, итоги оформлены в виде диаграммы.

Анкета изучения уровня знаний населения по вопросам профилактики
паразитарных болезней

	Вопросы	Варианты ответа		
		да	не знаю	нет
1	Может ли омуль являться источником заражения паразитарными болезнями?			
2	Отмечали ли Вы отхождение частиц, похожих на непереваренную лапшу в кале?			
3	Обращались ли когда-нибудь к врачу для обследования на паразитарные болезни?			
4	Употребляете ли Вы омуль, сиг, хариус в виде расколотки?			
5	Время посола рыбы (омуль, сиг, хариус) составляет 1 сутки			
6	Время посола рыбы (омуль, сиг, хариус) составляет 10 суток			

2.5. Статистические методы

Работа проведена с использованием общепринятых методов математической статистики (Сырцова, 2003, Астафьев и др., 2012; Савилов и др., 2011). Выводы сделаны при вероятности безошибочного прогноза $P \geq 0,95$. Статистическую обработку и анализ данных проводили на персональном компьютере с использованием пакета стандартных компьютерных программ Microsoft Excel.

При обработке полученных данных определялись такие статистические величины как показатели частоты и структуры изучаемых явлений, рассчитывалась стандартная ошибка. Для оценки статистической значимости различий показателей использовались t-критерий Стьюдента.

Для оценки связи между изучаемыми явлениями применялся корреляционный анализ. Расчет коэффициента Пирсона проводился по формуле: $r_{xy} = \frac{\sum dx \cdot dy}{\sqrt{\sum d^2 x \cdot \sum d^2 y}}$, где r_{xy} — коэффициент корреляции, x и y — коррелируемые ряды, d_x и d_y — отклонение каждого из чисел этих рядов от их средних.

Практический расчет коэффициента ранговой корреляции включал следующие этапы:

1. составление рабочей таблицы для первичных данных;
2. расчет средних арифметических показателей для заболеваемости дифиллоботриозом и охвата копроовоскопических исследованиями;
- 3 расчет отклонения значений каждого члена коррелируемых рядов (x и y) от их средней арифметической (d_x и d_y);

Проведение расчета коэффициента корреляции

Расчет средней ошибки (m_r) коэффициента корреляции по формуле:

$$m_r = \pm \frac{1-r^2}{\sqrt{n}}$$

Проверка достоверности коэффициента корреляции (коэффициент корреляции считается достоверным, если не менее чем в 3 раза превышает свою среднюю ошибку).

Для оценки силы корреляционной связи применялась шкала Чеддока: слабая — от 0,1 до 0,3; умеренная — от 0,3 до 0,5; заметная — от 0,5 до 0,7; высокая — от 0,7 до 0,9; весьма высокая (сильная) — от 0,9 до 1,0.

Для изучения распределения заболеваемости дифиллоботриозом по административным территориям области применен метод «суммы занятых мест» с использованием интегральных показателей:

1. определен перечень территорий с показателями заболеваемости за период 2005 – 2015 гг.;
2. проведено ранжирование показателей от минимума к максимуму;
3. получены суммы занятых мест и на их основе рассчитаны коэффициенты наглядности по формуле: $K_n = (1 - (S_x - S_p) / (S_x - S_y)) \times 100$.

При расчете прогноза эпидемиологической ситуации применялся регрессионный анализ с расчетом уравнений и коэффициента регрессии: $R_{x/e} = r\sigma_x/\sigma_y$, где r - коэффициент корреляции, σ_x - среднее квадратическое отклонение показателя заболеваемости, σ_y - среднее квадратическое

отклонение величины охвата копроовоскопическими обследованиями (Савилов и др., 2011).

2.6. Программа исследований

Программа исследований включала следующие этапы:

- формирование базы данных и анализ эколого-эпидемиологических особенностей дифиллоботриид и вызываемых ими инвазий в Иркутской области;
- проведение социологического опроса лиц из группы риска заражения дифиллоботриозом;
- паразитологическое исследование и сбор проб рыбы, инвазированной личинками дифиллоботриид;
- проведение оценки качества рыбы, реализуемой населению области, по показателям паразитарной безопасности;
- постановка реакции ПЦР с целью идентификации видовой принадлежности плероцекоидов лентецов;
- сбор проб фекалий лиц, инвазированных дифиллоботриозом, и постановка реакции ПЦР с целью детекции возбудителя в биологическом материале от человека;
- статистическая обработка полученных результатов с применением стандартных пакетов прикладных программ.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Дифиллоботриозы, ежегодно составляя до 44% общей заболеваемости гельминтозами (без энтеробиоза) и до 72% от зарегистрированной заболеваемости биогельминтозами, остаются одной из актуальных проблем здравоохранения (стат. ф. №2, 2006-2015).

Сведения об уровне зараженности дифиллоботриозами населения области до 50-х гг. 20 века немногочисленны. Среди рыбаков о. Ольхон заболеваемость составляла: в 1929 г. – 24,6%, в 1938 г. – 7%, в 1939 г. – 5% (Тимошенко и др., 2008).

На постоянной основе регистрация случаев дифиллоботриоза среди населения области ведется с 1953 года, анализ заболеваемости – с 1971года. С учетом архивных данных, имеются сведения о 7540 случаях дифиллоботриоза, зарегистрированных за этот период.

3.1. Эколого – эпидемиологическое районирование территории Иркутской области по степени риска заражения дифиллоботриозами

Россия занимает лидирующее место по числу зарегистрированных случаев заболевания человека и количеству действующих очагов заражения дифиллоботриозом, что, однако, может быть объяснено достаточным уровнем развития и доступностью медицинской помощи и обязательной регистрацией выявленных случаев заболевания (Сергиев, 1991).

Ежегодно, в период с 2005 по 2015гг., в Российской Федерации выявлялось от 5 до 15 тысяч случаев заболевания дифиллоботриозами. Показатель средней многолетней заболеваемости за этот период составил $6,3 \pm 0,6^0 / 0000$ и имел значимую тенденцию к снижению (ср. $T_{пр} = - 9,9\%$), рис.3.1.

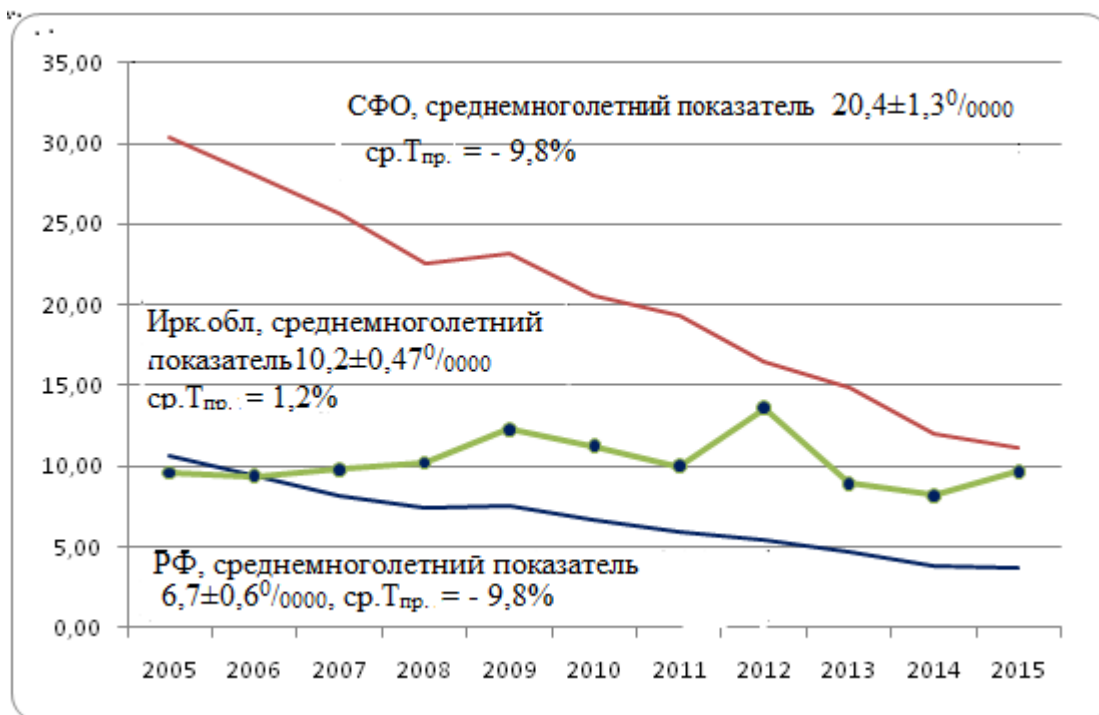


Рис.3.1. Заболеваемость дифиллоботриозами в Российской Федерации, Сибирском Федеральном округе и Иркутской области (2005 - 2015гг.)

Сибирский Федеральный округ является одним из лидеров по заболеваемости дифиллоботриозом среди субъектов Российской Федерации, в 2015г. показатель заболеваемости в СФО превысил среднероссийский в 3 раза- 11,1⁰/₀₀₀₀ и 3,6⁰/₀₀₀₀, соответственно (Здравоохранение в России, 2015).

Чтобы оценить ситуацию по заболеваемости этим гельминтозом внутри округа, проведен расчет среднегодовых показателей заболеваемости, динамики (темпы прироста) и интегральных показателей, что позволило выделить группы с низким, высоким и очень высоким уровнями заболеваемости (табл.3.1).

При изучении динамики заболеваемости внутри округа за период с 2005 по 2014 гг., на большинстве территорий выявлена тенденция к снижению заболеваемости, о чем свидетельствуют отрицательные темпы прироста.

Таблица 3.1

Динамика заболеваемости за период 2005 – 2014 гг.

Территория	M±m (‰/0000)	Темпы прироста	Показатель наглядности	Уровень заболеваемости дифиллоботриозом
Республика Алтай	0,2±0,5	0,0	0,0	низкий
Алтайский край	0,2±0,1	-0,1	7,1	
Кемеровская область	0,2±0,03	-0,1	11,4	
Новосибирская область	0,5±0,03	0,0	30,4	
Томская область	0,7±0,1	-0,1	30,4	
Омская область	0,6±0,1	-0,2	31,5	
Республика Тыва	8,6±1,5	-0,2	59,8	высокий
Иркутская область	10,2±0,5	1,2	64,1	
Республика Бурятия	40,6±3,3	-0,6	78,3	очень высокий
Красноярский край	80,8±6,8	-0,1	89,1	
Республика Хакасия	208,8±22,4	-0,1	100,0	

С учетом интегрального показателя, регионы СФО по уровню заболеваемости дифиллоботриозом можно разделить на группы с низким (средний показатель заболеваемости до $0,6 \pm 0,1$ ‰/0000), высоким (показатель до $10,2 \pm 0,5$ ‰/0000) и очень высоким (до $208 \pm 22,41$ ‰/0000) уровнями заболеваемости (рис. 3.2.).

При изучении динамики заболеваемости внутри округа за период с 2005 по 2014 г., на большинстве территорий выявлена тенденция к снижению заболеваемости, о чем свидетельствуют полученные отрицательные темпы прироста. С учетом интегрального показателя, регионы СФО по уровню заболеваемости дифиллоботриозом можно разделить на группы с низким (средний показатель заболеваемости до $0,6 \pm 0,1$ ‰/0000), высоким (показатель до $10,2 \pm 0,5$ ‰/0000) и очень высоким (до $208 \pm 22,41$ ‰/0000) уровнями заболеваемости (рис. 3.2.).

Иркутская область среди регионов СФО за указанный период занимает

4 ранговое место по уровню заболеваемости и характеризуется сохранением неблагоприятной тенденции к увеличению заболеваемости.

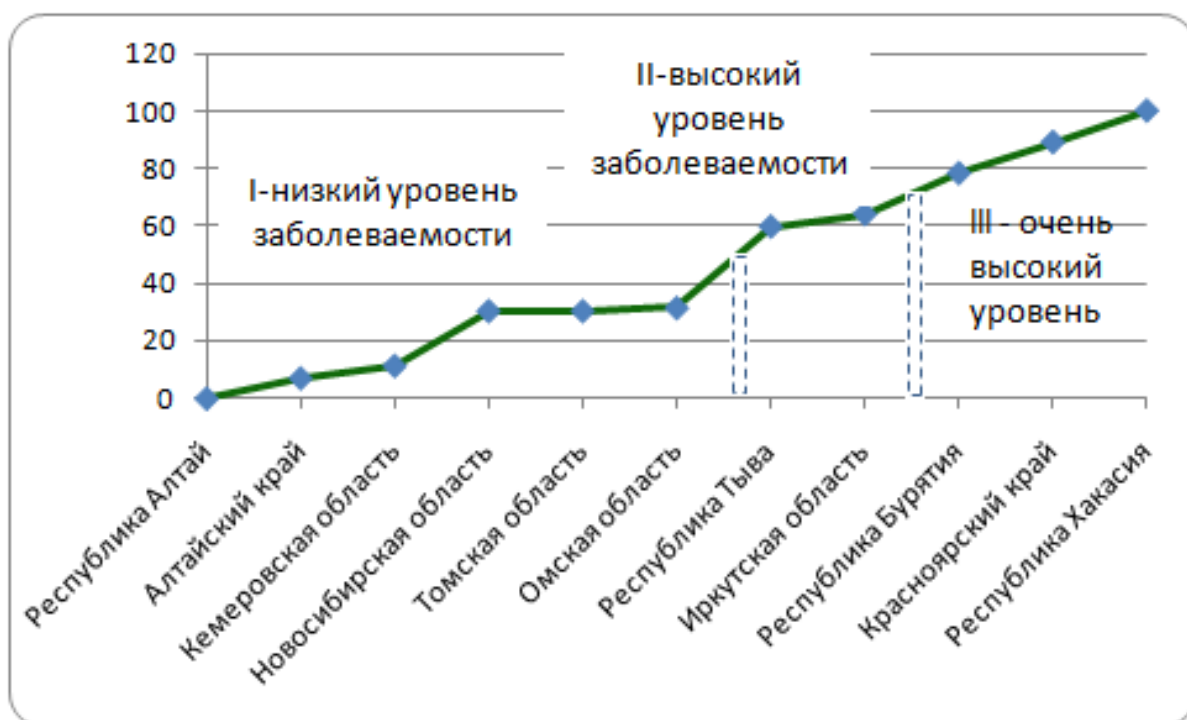


Рис. 3.2. Ранговое распределение регионов СФО по заболеваемости дифиллоботриозами, с учетом интегрального показателя.

Анализ возрастной структуры заболеваемости дифиллоботриозом за период 2006 – 2015 гг. выявил доминирование взрослого населения, доля которого в совокупной заболеваемости составила $89,5 \pm 1,0\%$ (рис. 3.3).

Уровень заболеваемости взрослого населения дифиллоботриозом ($12,6 \pm 0,4\text{‰}$) за указанный период статистически достоверно превышал таковой среди детей и подростков ($6,6 \pm 0,4\text{‰}$) ($p < 0,01$ %).

Отмечено, что доля детей среди заболевших в Иркутской области была выше, чем в среднем по Российской Федерации и СФО за тот же период ($10,5 \pm 0,4\%$ против $7,1 \pm 0,2\%$ и $9,3 \pm 0,2\%$, соответственно). Уровень заболеваемости детского населения ($6,6 \pm 0,4\text{‰}$) был ниже, чем по СФО ($11,8 \pm 1,45\text{‰}$), но выше, чем в среднем по РФ ($3,27 \pm 0,4\text{‰}$) при $p < 0,01$ %.

При изучении заболеваемости среди отдельных групп детского населения, установлена пораженность детей и подростков всех возрастных групп, за исключением детей до 1 года, при этом статистически значимых различий в уровне заболеваемости не выявлено. Особую тревогу вызывает заболеваемость среди детей младшей возрастной группы (1-2 года).

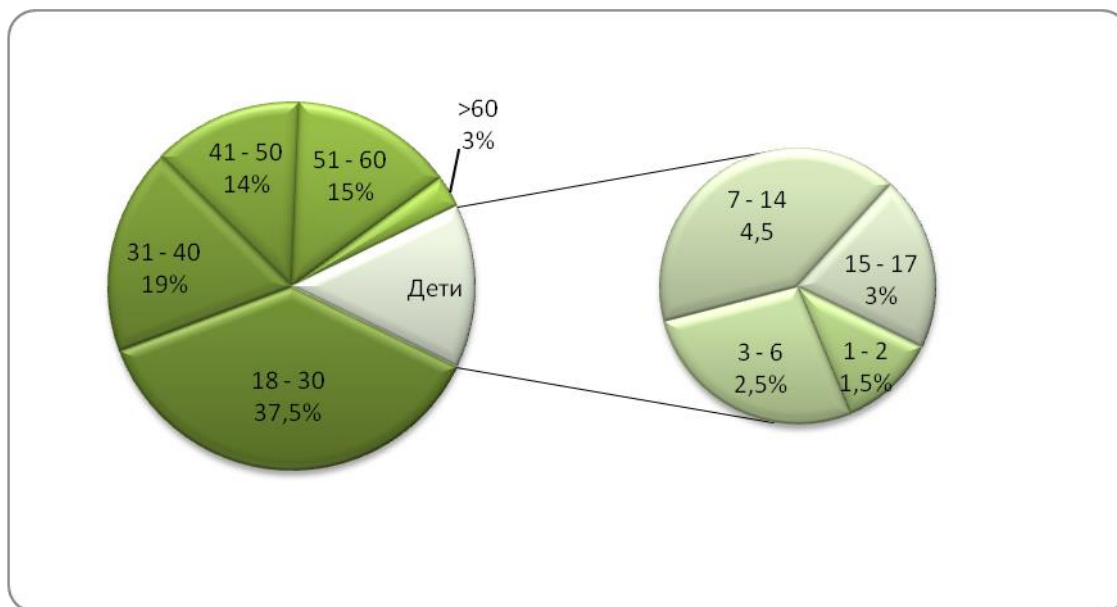


Рис. 3.3. Возрастная структура заболеваемости дифиллоботриозом за период 2006 – 2015 гг.

Отрицательные темпы прироста (таблица 3.2) свидетельствуют о движении заболеваемости среди детей в Иркутской области за анализируемый период к снижению.

Таблица 3.2

Заболеваемость детского населения Иркутской области дифиллоботриозом: уровень регрессии, темпы прироста (2006-2015гг.)

Возраст	Среднемноголетний показатель заболеваемости	Темпы прироста
1-2 года	6,1±0,7	-6%
3-6 лет	7±0,4	-2%
7 - 14 лет	6,4±0,4	-2%
средняя дети до 14	6,5±0,3	-3%
15 - 18 лет	7,1±0,9	-11%
средняя дети до 18	6,6±0,4	-5%

В то же время, снижение выражено значительно слабее, чем в среднем по РФ и СФО: (по Иркутской области $T_{пр} = -3\%$, по РФ $T_{пр} = -17,8\%$, по СФО $T_{пр} = -12,3\%$).

Анализ заболеваемости среди населения урбанизированных территорий и сельской местности показал, что если в РФ и СФО заболеваемость выше среди сельского населения (в РФ $5,1^0/0000$ и $3,1^0/0000$, в СФО $14,9^0/0000$ и $9,7^0/0000$), то в Иркутской области среднееголетние уровни заболеваемости примерно равны: среди городского населения – $10,2^0/0000 \pm 0,4$, среди сельского – $10,2^0/0000 \pm 0,7$, несмотря на то, что последнее имеет больший риск заражения вследствие традиционно развитого любительского рыболовства.

Возможно, это связано с разным уровнем охвата обследованиями на кишечные гельминтозы городских и сельских жителей, так за период с 2013 по 2015 г. охват обследованиями среди городского населения превышал таковой среди сельского, в среднем, на 5,4%, в т.ч. взрослых – на 1,8%, детей - на 14,1% (табл.3.3).

Таблица 3.3

Охват копроовоскопическими исследованиями городского и сельского населения в 2013-2015 гг. (%)

Год	Население	Охват копроовоскопическими обследованиями (%)		
		всего	взрослые	дети до 17
2013	городское	13,7	9,3	32,3
	сельское	8,6	7,6	20,1
2014	городское	13,4	8,9	30,5
	сельское	9,1	7,1	21
2015	городское	16,2	9,7	40,9
	сельское	9,4	7,9	20,5

Среди заболевших дифиллоботриозом 53,4% – женщины, 46,6% – мужчины. При анализе заболеваемости по гендерному признаку отмечено,

что в период до начала 90-х годов доля женщин в структуре заболеваемости была выше, чем мужчин (с 1971 по 1979 г. – в среднем 68% к 32%, с 1981 по 1989 гг. в среднем – 56,2% к 43,8%). В период с 1990 г. по 1999 гг. соотношение женщины – мужчины составило 40% к 60%, в последующие годы преобладание женщин в структуре заболеваемости дифиллоботриозом восстановилось (с 2001 г. до 2015 г. – в среднем, 55% к 45%). Можно предположить, что структура заболеваемости дифиллоботриозом по полу отражает демографическую структуру населения за исследуемый период времени, поскольку статистически значимого различия в уровнях среднесуточных показателей заболеваемости не выявлено (рис. 3.4).

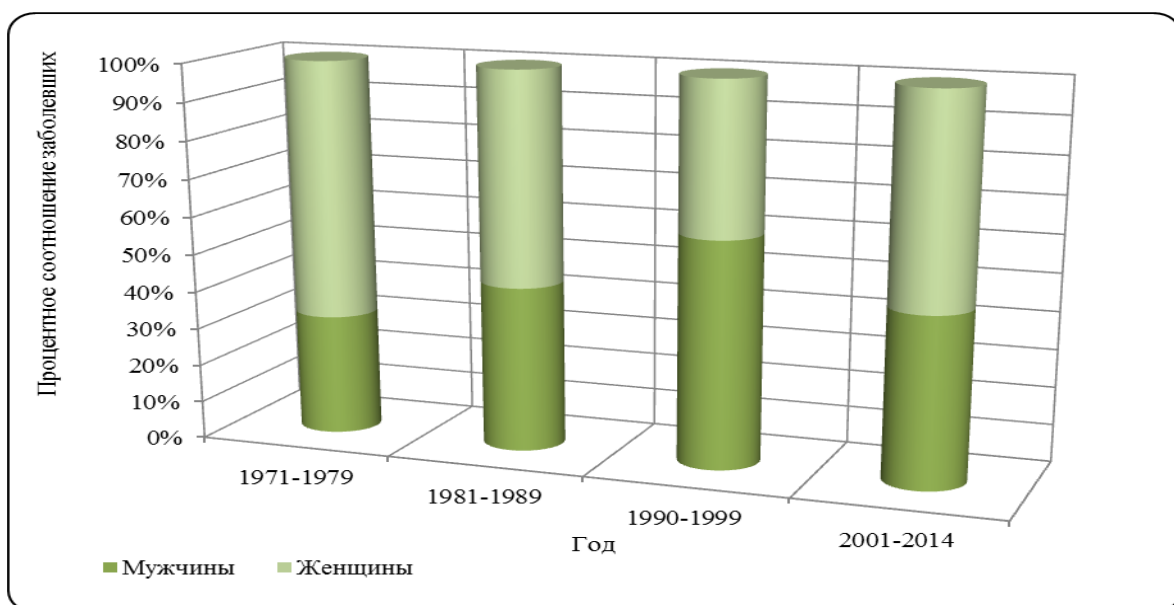


Рис. 3.4. Структура заболеваемости дифиллоботриозом по гендерному признаку (Иркутская область, 1971 – 2014 гг., %).

Проведенный ретроспективный анализ заболеваемости показал, что Иркутская область относится к числу территорий с высокой заболеваемостью дифиллоботриозом во всех исследованных социальных группах и характеризуется сохранением тенденции к росту заболеваемости. Отличительной чертой Иркутской области является более высокая, по сравнению с другими регионами, доля детей среди заболевших и самые низкие в СФО темпы снижения заболеваемости в этой группе. В то же время,

система профилактических мероприятий ориентирована, прежде всего, на взрослое население. В связи с этим, по результатам работы было подготовлено и направлено в Министерство образования Иркутской области информационное письмо о заболеваемости дифиллоботриозом среди детей, и предложены тексты обучающих диктантов для детей школьного возраста разных ступеней обучения, а так же тексты памяток для родителей по мерам профилактики гельминтозов, передающихся через рыбу для размещения в дошкольных учреждениях.

Кривая многолетней динамики эпидемического процесса дифиллоботриоза (рис. 3.5) на территории Иркутской области характеризуется чередованием периодов роста (1971 – 1980 гг. – $T_{пр}=19,4\%$, 1991 – 2000 гг. – $T_{пр}=11,9\%$, 2001 – 2010 гг. – $T_{пр}=5\%$) и снижения заболеваемости (1981 – 1990 гг. – $T_{пр}=-5,5\%$, 2011 – 2015 гг. – $T_{пр}=-3\%$, $p<0,05$) при сохранении значимой тенденции к росту (средняя абсолютного прироста составляет $0,17\text{‰}$).

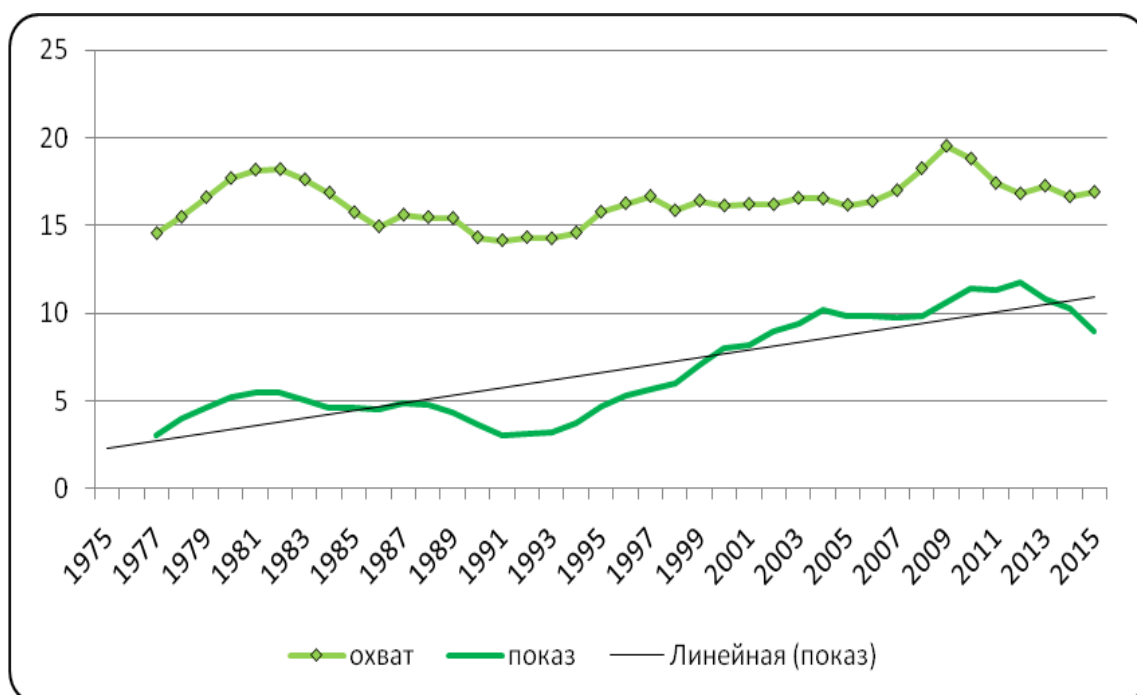


Рис. 3.5. Динамика заболеваемости дифиллоботриозом и охват копроовоскопическими обследованиями населения Иркутской области за период с 1971 по 2015 гг.

С целью оценки внутригодовой динамики проведен расчет индекса сезонности за период 2005 – 2015 гг. (таблица 3.4).

Таблица 3.4

Внутригодовая динамика заболеваемости дифиллоботриозом за период 2005 – 2015 гг.

Месяц	январь	февраль	март	апрель	май	июнь
средне месячн. заболеваемость	0,72	0,83	0,79	0,97	0,76	0,72
индекс сезонности	84,7	97,6	92,9	114,1	89,4	84,7
Месяц	июль	август	сентябрь	октябрь	ноябрь	декабрь
средне месячн. заболеваемость	0,78	0,96	0,78	1,01	1,11	0,82
индекс сезонности	91,8	112,9	91,8	118,8	130,6	96,5

Повышение индекса сезонности зарегистрировано в апреле, августе, октябре-ноябре, на указанные 4 месяца пришлось 40% от общего числа выявленных случаев дифиллоботриоза, таким образом, анализ не выявил четкой сезонности эпидемического процесса дифиллоботриоза.

3.1.1. Влияние на показатели заболеваемости дифиллоботриозами уровня охвата населения копроовоскопическими обследованиями

Учитывая, что клинические проявления дифиллоботриоза не отличаются специфичностью либо вовсе отсутствуют, выявление этого гельминтоза часто происходит случайно – при обследовании по поводу других заболеваний или во время профилактических осмотров. Следовательно, уровень охвата населения обследованиями на кишечные гельминтозы влияет на показатели заболеваемости дифиллоботриозом (Степанова, Корначев, 2012).

С целью изучения этой связи проведен корреляционный анализ. При сопоставлении динамических рядов заболеваемости и охвата копроисследованиями получены значения коэффициента корреляции: на отрезке 1975 – 1980 гг. - $r_{xy}=0,92$, 1981-1990гг. - $r_{xy}=0,79$, 1991-200гг. -

$r_{xy}=0,46$, 2001-2010гг. - $r_{xy}=0,78$, 2011-2015гг. - $r_{xy}=0,8$ ($p < 0,05$), т.е. доказано наличие умеренного и сильного влияния этого фактора на зарегистрированный уровень заболеваемости дифиллоботриозом.

Так, возможно, именно низким уровнем охвата обследованиями на кишечные гельминтозы объясняется отсутствие различия в уровнях заболеваемости между городскими и сельскими жителями, несмотря на то, что последние имеют больший риск заражения дифиллоботриозом вследствие традиционно развитого любительского рыболовства. Особенно наглядно прямая корреляционная зависимость уровня заболеваемости дифиллоботриозом от охвата копроовоскопическими исследованиями проявляется при анализе ситуации в отдельных муниципальных образованиях, что будет рассмотрено в разделе 3.2.

Полученные данные позволяют предположить, что в связи с низким уровнем охвата населения копроовоскопическими исследованиями, фактический уровень заболеваемости дифиллоботриозом выше, чем зарегистрированный. Расчет среднего коэффициента регрессии (R_{xy}) за десятилетние периоды с 1971г. по 2010г. и за период с 2011 по 2015гг. позволил сделать вывод, что при увеличении охвата копроовоскопическими исследованиями на 1% можно ожидать увеличение показателя заболеваемости на $0,59^0/_{0000}$.

3.1.2. Влияние на уровень заболеваемости дифиллоботриозами фактора миграции

Рассматривая эпидемический процесс дифиллоботриоза как сложное социально-биологическое явление, предпринята попытка оценить влияние на его развитие такого социального фактора как миграция населения.

На основе ретроспективного анализа исследовано влияние на эпидемиологическую ситуацию по дифиллоботриозу завоза инвазии из-за пределов области вследствие миграции населения. За весь период наблюдения (с 1971 г.) зарегистрировано 1435 случаев завозного характера, что составило 19,0% от общего числа выявленных (рис.3.6).

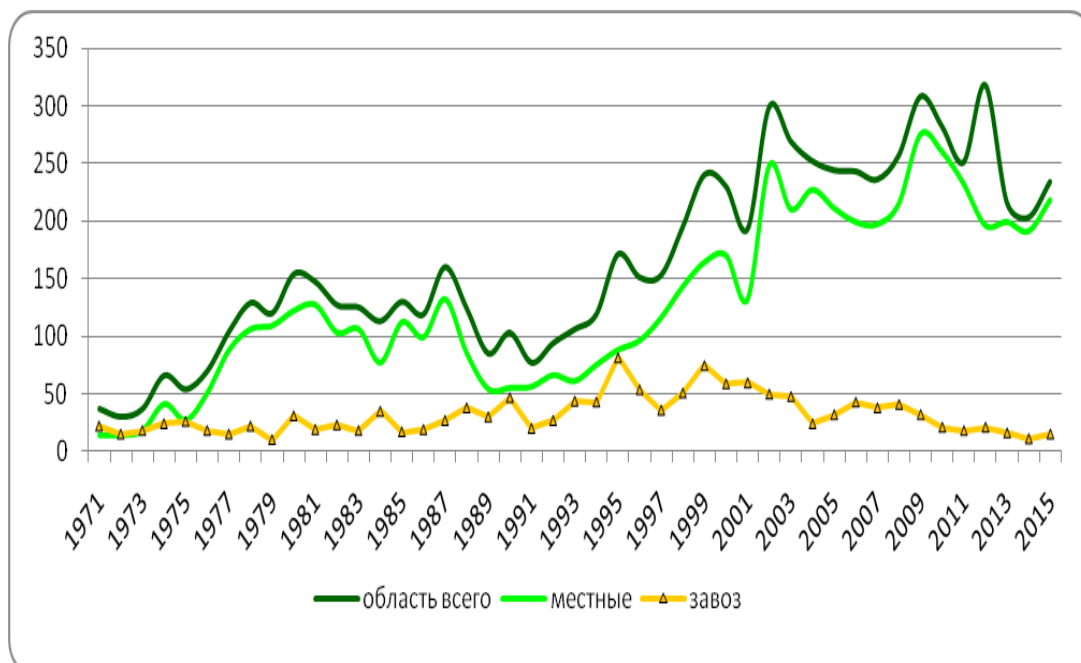


Рис. 3.6. Местные и завозные случаи заболевания дифиллоботриозом (Иркутская область, 1971 – 2015 гг.)

При этом, до начала 90-х годов 20 в. завоз дифиллоботриоза имел широкую географию. Этот период для области характеризовался значительным притоком населения, что было связано с реализацией Ангаро-Енисейского проекта, широким гидроэнергетическим строительством на Ангаре, формированием системы территориально производственных комплексов (Братско-Усть-Илимского и Саянского). Кроме того, в 1970 – 1980 гг. прирост населения продолжился за счет освоения зоны БАМа. По оценкам специалистов, в период с 1959 по 1989 г. население Иркутской области выросло, в среднем на 30%, причем, в основном, за счет мигрантов (Цыкунов, 2013).

При анализе карт эпидемиологического обследования очагов установлен завоз дифиллоботриоза с территории 31 края и области РСФСР (Горьковской, Волгоградской, Томской, Тюменской, Читинской, Амурской, Ленинградской, Куйбышевской, Московской, Новосибирской, Кемеровской, Астраханской, Архангельской, Пермской, Свердловской, Смоленской, Курской, Белгородской, Ивановской, Мурманской, Владимирской,

Вологодской, Кировской, Челябинской, Саратовской, Брянской, Омской областей, Хабаровского, Приморского, Алтайского, Краснодарского краев), 4 республик (Белоруссия, Украина, Азербайджан, Казахстан) и 8 автономных республик СССР (Карелии, Коми, Удмуртии, Татарстана, Башкирии, Чувашии, Саха (Якутии), Бурятия), при этом на долю республики Якутия пришлось 52%, Красноярского края -12,5%, республики Бурятия -10%, Регионы Западной Сибири -9,7%, Дальний Восток -3,8, Север России -2,3%, др. территории - 9,7%.

В последние десятилетия завоз происходит, преимущественно, с соседних территорий: Республика Саха Якутия (70,4%), Красноярский край (8,7%) и Республика Бурятия (16,2%) и количество завозных случаев не превышает 7% от общего числа выявляемых случаев (рис. 3.7).

Отмечено снижение коэффициента корреляции (r_{xy}) за десятилетние отрезки периода с 1971 по 2010 гг.: 0,84, 0,74, 0,48 ($p < 0,05$), что свидетельствует об уменьшении роли завозных случаев в общей картине заболеваемости. За период с 2011 по 2015 г. статистически достоверное влияние фактора миграции на заболеваемость дифиллоботриозом не определяется ($r_{xy} = 0,2, p < 0,05$).

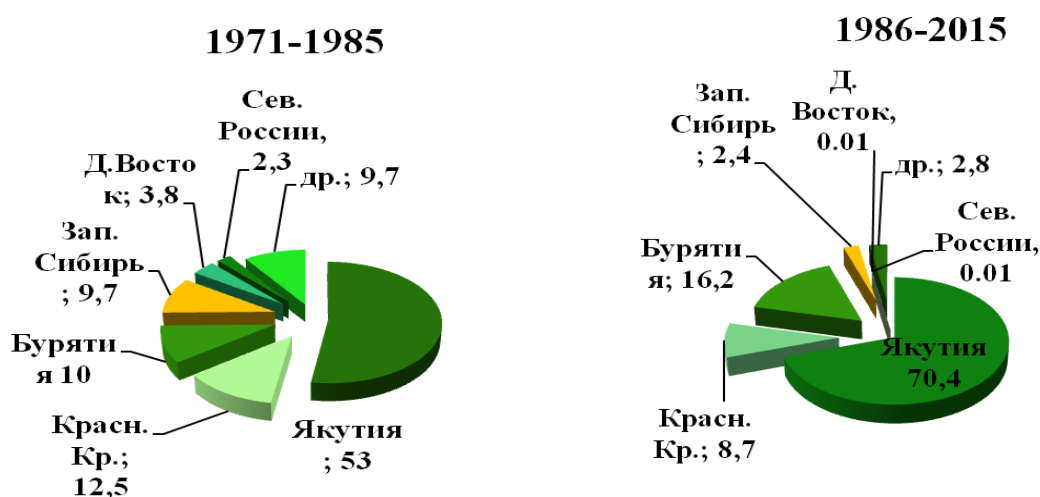


Рис. 3.7. Доля регионов России в завозе дифиллоботриоза в Иркутскую область

3.1.3. Клинические проявления дифиллоботриоза

В разные годы на территории области отмечали 32-39% больных дифиллоботриозом (табл.3.5).

Таблица 3.5

Частота клинических проявлений у больных дифиллоботриозом

Симптомы	N (число случаев)	M±m (%)
Жалобы	543	35±1
Боль в животе	203	37,4±4,0
Тошнота	103	19,0±0,56
Слабость	112	20,6±2,8
Усиление перистальтики.	56	10,3±1,24
Нарушение стула	42	7,9±1,2
Изменение аппетита.	40	7,5±0,8
Головная боль	21	3,8±0,6
Кожный зуд	18	3,2±0,4
Нарушение сна	7	1,3±0,4
Головокружение	7	1,3±0,4

По данным карт эпидемиологического обследования очагов дифиллоботриоза за 2005 – 2011 гг., заболевшие отмечали: боли в животе, тошноту, слабость, усиление перистальтики, урчание в животе, нарушение стула, изменение аппетита, головную боль, кожные высыпания, зуд, головокружение, нарушение сна. Отсутствие дифференциальной диагностики между двумя видами возбудителей дифиллоботриоза в клинико-диагностических лабораториях не позволяет сравнить клинические проявления дифиллоботриозов, вызванных чаечным и широким лентецом. При этом, короткие сроки яйцепродукции и паразитирования в организме человека чаечного лентеца, возможно, требуют иных, нежели при дифиллоботриозе, вызванном широким лентецом, подходов к лечению больных.

В связи с этим были подготовлены и направлены в Министерство здравоохранения Иркутской области, ГОУ ВПО «Иркутский медицинский университет», методические письма о заболеваемости, эпидемиологических

особенностях, мерах диагностики и профилактики дифиллоботриозов, вызванных разными видами лентецов.

3.2. Районирование территорий Иркутской области по степени риска заболеваемости дифиллоботриозами

Оценивая заболеваемость населения дифиллоботриозом, необходимо отметить, что на отдельных территориях показатели заболеваемости варьируют в широких пределах: от полного отсутствия случаев (Нижнеудинский район) до показателей, более чем в 30 раз превышающих среднеобластной уровень (Киренский район). С учетом интегрального показателя определено ранговое распределение территорий Иркутской области «по нарастанию заболеваемости» (таблица 3.6).

Таблица 3.6

Ранговое распределение территорий Иркутской области «по нарастанию заболеваемости» с учетом интегрального показателя

№	Территория	Сумма	КН	№	Территория	Сумма	КН
1	Жигаловский р-н	76	0,0	18	Зиминский р-н	198	40,1
2	Нижнеудинск р-н	76	0,0	19	Мамско-Чуйский р-н	201	41,1
3	Баяндаевский р-н	76	0,0	20	Нукутский р-н	202	41,5
4	Боханский р-н	85	3,0	21	Слюдянский р-н	207	43,1
5	Заларинский р-н	94	5,9	22	Усть-Удинский р-н	216,5	46,2
6	Куйтунский р-н	109	10,9	23	Усольский р-н	220	47,4
7	Эхирит-Булагатский р-н	109	10,9	24	Ангарский р-н	228	50,0
8	Ольхонский р-н	118	13,8	25	Братский р-н	229	50,3
9	Чунский р-н	119,5	14,3	26	Черемховский р-н	233	51,6
10	Осинский р-н	124	15,8	27	Иркутский р-н	236	52,6
11	Катангский р-н	125	16,1	28	Шелеховский р-н	280	67,1
12	Тулунский р-н	149	24,0	29	Усть-Кутский р-н	282	67,8
13	Качугский р-н	159	27,3	30	г.Иркутск	294	71,7
14	Тайшетский р-н	167,5	30,1	31	Нижне-Илимский р-н	345	88,5
15	Бодайбинский р-н	174,5	32,4	32	Балаганский р-н	369	96,4
16	Усть-Илимский р-н	186	36,2	33	Казачинский р-н	372	97,4
17	Аларский р-н	196	39,5	34	Киренский р-н	380	100,0

По уровню коэффициента наглядности территории области были сгруппированы следующим образом:

1 группа - за период наблюдения случаи дифиллоботриоза не регистрировались или регистрировались на спорадическом уровне (коэффициент наглядности – до 16,1);

2 группа – территории со средним уровнем заболеваемости (коэффициент наглядности от 24 до 40,1);

3 группа - территории с высоким уровнем заболеваемости (коэффициент наглядности от 41 до 52);

4 группа - территории с очень высоким уровнем заболеваемости (коэффициент наглядности от 67 до 100).

Графически это выглядит следующим образом (рис. 3.7) :

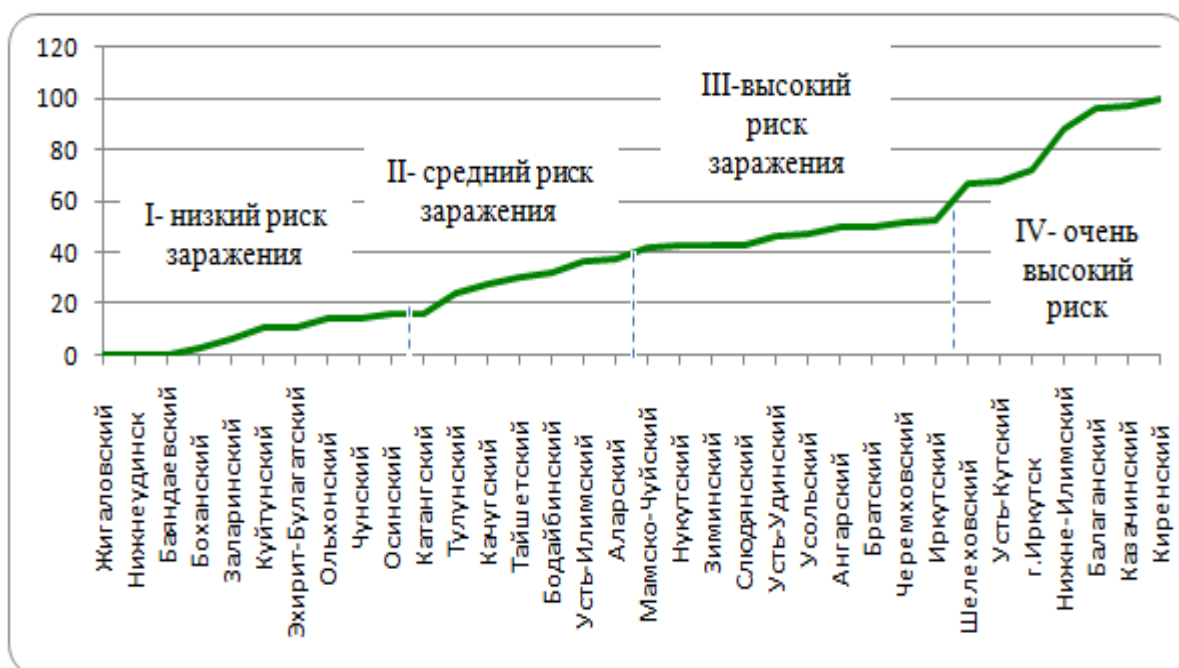


Рис. 3.7 Ранжирование территорий Иркутской области по степени риска заражения дифиллоботриозами (по интегральному показателю)

Полученные данные были сопоставлены с численностью населения на данных территориях (табл. 3.7) , что позволило сделать вывод о том, что 73% населения области проживает на территориях с высоким и очень высоким

уровнем заболеваемости дифиллоботриозом, на которые приходится свыше 90% выявленных случаев дифиллоботриоза.

Таблица 3.7

Заболеваемость населения Иркутской области дифиллоботриозом

Группа	Доля населения	Доля зарегистрированных случаев дифиллоботриоза (2005-2015 гг.)
1	11%	0,7%
2	16%	9%
3	34,5%	20,8%
4	38,5%	69,5%

3.3 Характеристика очагов дифиллоботриозов на территории Иркутской области

Из функционирующих на территории Иркутской области очагов дифиллоботриозов наиболее крупным является Байкальский очаг, в зоне влияния которого проживает более 40% населения области. Важнейшей эколого-эпидемиологической особенностью этого очага является высокая зараженность дифиллоботридами рыбадных птиц, имеющая решающее значение в поддержании циркуляции инвазии. Среди вторых промежуточных хозяев основными, как по численности, так и по уровню зараженности являются сиговые рыбы. Экстенсивность инвазии омуля в разные годы составляла от 54% до 90% (табл. 3.8). Сиговые рыбы, доступные для населения, как в торговой сети, так и при реализации браконьерских уловов в местах несанкционированной торговли, без сомнения, имеют большое значение в распространении дифиллоботриоза среди населения всей области. Однако, в первую очередь к зоне влияния Байкальского очага следует отнести территории юга области - Иркутский, Шелеховский, Слюдянский, Ангарский, Ольхонский районы, г. Иркутск, в которых к вышеуказанным факторам риска заражения дифиллоботриозом добавляется употребление необеззараженной от личинок дифиллоботриид рыбы, добытой при

любительском, рекреационном и спортивном лове в озере Байкал и Иркутском водохранилище.

Второй очаг дифиллоботриозов на территории Иркутской области был описан М.М. Колокольцевым в 90-х годах 20 века. Было показано, что после заполнения Братского водохранилища (1961-1967гг.) в нем создались благоприятные экологические условия для жизнедеятельности 1-х и 2-х промежуточных хозяев дифиллоботриид. При наличии завоза инвазии, связанного со значительным притоком населения в ходе реализации Ангаро-Енисейского проекта, формирования системы Братско-Усть-Илимского и Саянского ТПК, освоения зоны БАМа, это привело к формированию эндогенного очага дифиллоботриоза, вызываемого *D. latum*. Об обнаружении плероцеркоидов *D. latum* в щуке из Братского водохранилища писала А.А. Флоринская (Флоринская, 1979). Вселение в водохранилище омуля и многократный рост численности рыбадных птиц явились предпосылками образования очага чаечного дифиллоботриоза (Колокольцев, 1990).

В 2005-2011гг. (таблица 3.8) зараженность сиговых рыб (омуль, хариус) возбудителями чаечного дифиллоботриоза в Братском водохранилище составила 0,5-7,0% (Тетерина, 2014). Имея большую протяженность, Братское водохранилище охватывает своим влиянием большинство административных образований центральной и западной части области, однако, вследствие различных биоэкологических условий на отдельных его участках, риск заражения дифиллоботриозами на этих территориях существенно различается. Учитывая ситуацию по заболеваемости населения, в нозоарел данного очага можно включить Балаганский, Нукутский, Усть-Удинский, Братский районы и г. Братск. Кроме того, наличие заболеваемости дифиллоботриозами населения Нижне-Илимского и Усть-Илимского районов позволяет предположить формирование очагов дифиллоботриозов в Усть-Илимском водохранилище.

Зараженность плероцеркоидами дифиллоботриид вторых
промежуточных хозяев в очагах дифиллоботриозов на территории Иркутской
области*

оз. Байкал, Иркутское водохранилище, <i>D. dendriticum</i>						
	1974 ¹	1979 ¹	1988 ²	2005 ³	2006-2011 ³	2012-2014 ⁴
сиг				92,8		10±4,9
омуль	68		64-77	88,3	60-90	54,2±8,1
хариус		7,1				37,5±4,9
Братское водохранилище, <i>D. dendriticum</i>						
	1975 ⁵		1985-1989 ⁶		2007 ³	
омуль	60		16,6		6,6	
хариус			3			
ленок			3			
Братское водохранилище, <i>D. latum</i>						
щука	в 1 экз.					
окунь			в 1 экз.			
река Лена и ее притоки, <i>D. dendriticum</i>						
	2005 ³	2008 ³	2009 ³	2010 ³	2011 ³	
хариус	0,6	2,1	0,5	0,4	4,1	
ленок			2,2			
валек					4,1	
*Использованы данные: ¹ Житницкой, 1973; ² Пронина, 2009; ³ Тетериной, 2014; ⁴ ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Иркутской области», ⁵ Флоринской, 1979; ⁶ Колокольцева, 1990						

Третий очаг дифиллоботриозов связан с бассейном реки Лена, который в пределах Иркутской области представлен участком самой реки, а также ее притоками, расположенными на территории Казачинско-Ленского, Киренского, Усть-Кутского и Мамско-Чуйского районов. Ранее высказывалось мнение, что в реке Лена на территории Иркутской области отсутствуют условия для циркуляции возбудителей дифиллоботриозов, и все выявляемые случаи этих гельминтозов регистрируются среди плавсостава речных судов, совершающих рейсы по реке Лена, в т.ч. на территории высокоэндемичной по дифиллоботриозу Республики Саха (Якутия), т.е. являются завозными (Симонова, 1995). Однако, имеющиеся данные о наличии и зараженности промежуточных хозяев и заболеваемости человека, а также результаты эпидрасследований выявленных случаев

дифиллоботриозов это мнение опровергают. Так, по наблюдению Т.В. Потемкиной, в состав зоопланктона русловой части, пойменных водоемов и заливов верхнего участка реки Лена входят 7 видов веслоногих ракообразных семейства Diaptomidae Sars, 1903 и Cyclopidae Dana, 1846, являющихся потенциальными хозяевами процеркоидов дифиллоботриид (Потемкина и др., 2013). И.Б. Книжин отмечал, что в озерах Окунайской системы *Cyclops colensis* и *Diacyclops languidoides* составляют до 90% биомассы (Книжин, 1993).

Из вторых промежуточных хозяев, Т.В. Потемкина отмечает в ихтиофауне русла Верхней Лены и водоемах ее бассейна наличие видов, являющихся потенциальными промежуточными хозяевами как *D. dendriticum* (хариус, ленок, таймень, сибирский и арктический голец, сиг-пыжьян, тугун, валёк), так и *D. latum* (щука, окунь, ёрш, налим) (Потемкина, 2013).

Экстенсивность инвазии плероцекоидами *D. dendriticum* хариуса в реке Чечуй (приток реки Лена, в пределах Киренского района) в 2005-2011гг. составила от 0,4% до 4,1% (таблица 3.8).

По данным эпидрасследований, доля случаев заболевания дифиллоботриозами среди плавсостава речных судов, совершающих рейсы по реке Лена, в т.ч. на территории Республики Саха (Якутия), т.е. имеющих завозной характер, в Киренском районе за период с 2005 по 2015г. составила, в среднем 21%. В Усть-Кутском и Казачинско-Ленском районах на фоне высоких показателей заболеваемости населения, зарегистрированы единичные случаи дифиллоботриоза среди плавсостава.

Таким образом, на территории Иркутской области функционируют очаги дифиллоботриозов, вызываемых широким и чаечным лентецами. По приведенным в литературе данным, наибольшее распространение в ихтиофауне имеет *D. dendriticum*. Однако, сведения о зараженности дифиллоботриидами рыбы в Братском, Усть-Илимском водохранилище, верхнем течении реки Лена крайне малочисленны вследствие отсутствия

регулярных паразитологических исследований, что дает возможность только примерной оценки пораженности вторых промежуточных хозяев в очагах дифиллоботриоза: как высокую - в Байкальском, среднюю - в Братском и низкую - в Ленском очаге. Очаги инвазии имеют серьезные различия в климатогеографических, гидробиологических условиях, степени антропогенного воздействия, что, в совокупности с экономическими, медико-социальными особенностями территорий, находящихся в зоне их влияния, обуславливает и разную степень риска заражения населения.

Полученные данные о распределении заболеваемости были использованы для проведения сравнительной характеристики очагов дифиллоботриоза на территории области. Учитывая большой разброс показателей заболеваемости среди территорий, находящихся в зоне влияния одного очага, с целью нивелирования влияния на показатели заболеваемости фактора обследованности населения на кишечные гельминтозы, потребовалось проведение анализа обследованности населения на кишечные гельминтозы (рис. 3.8).

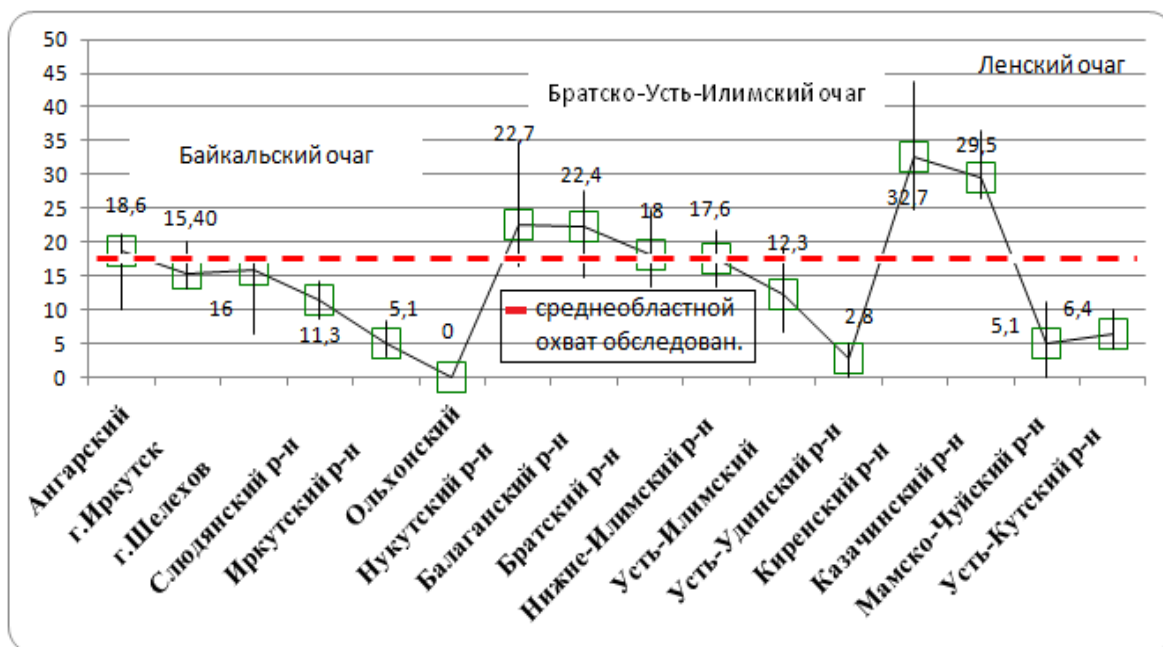


Рис. 3.8. Состояние обследованности копроовоскопическими методами населения Иркутской области в зоне влияния очагов дифиллоботриоза в 2010-2015гг. (среднее значение и пределы колебаний)

Учитывая значительные различия по уровню обследованности населения копроовоскопическими методами, был применен метод регрессионного анализа, что позволило рассчитать теоретический уровень заболеваемости на всех территориях при уровне обследованности населения, равном среднеобластному (табл. 3.9).

Таблица 3.9.

Показатели, характеризующие динамику заболеваемости дифиллоботриозом населения в зоне влияния очагов дифиллоботриоза на территории Иркутской области в 2005 – 2015 гг.

Район	Средне-многолетний уровень заболеваемости	Средне-многолетний уровень обследованности	Коэффициент корреляции	Коэффициент регрессии	Теоретический уровень заболеваемости	Среднегодовой темп прироста
Ленский очаг						
Киренский р-н	161±21,3	29,5±1,4	0,6	3,8	123	6
Казачинский р-н	113,1±17,3	32,8±2,9	0,7	4,0	121	-19
Мамско-Чуйский р-н	14,4±5,3	5,1±1,6	0,9	2,9	49,6	103
Усть-Кутский р-н	10,3±2,5	6,4±0,9	0,8	2,3	35,7	-22
Братско-Усть-Илимский очаг						
Усть-Илимский	2,7±0,7	12,3±1,0	0,6	0,3	4,16	1
Братский р-н	6,4±0,5	18±1,7	0,7	0,2	6,3	10
Нижне-Илимский р-н	35,5±3,4	17,6±1,3	0,8	2,0	35,3	12
Нукутский р-н	18±5,8	21±2,8	0,7	1,1	14,2	18
Усть-Удинский р-н	24±7,4	3,5±0,7	0,6	3,9	78,6	-17
Балаганский р-н	98,8±17,3	22,4±1,9	0,9	4,6	98	11
Усольский р-н	6±0,9	17,4±0,5	0,9	1,7	6,2	-20
Черемховский р-н	5,2±2,0	12,2±0,7	0,7	0,6	8,5	-28
Байкальский очаг						
г.Ангарск	8,5±0,6	18,6±1,7	0,8	0,1	8,4	9
г.Шелехов	10,8±1,7	16,4±1,9	0,9	0,7	11,6	4
Слюдянский р-н	7,3±2,6	11,3±0,5	0,9	2,7	24,2	-19
Иркутский р-н	7±1,0	5,1±0,8	0,9	1,1	20,6	-11
Иркутск	11,9±1,1	15,4±1,1	0,9	0,9	13,8	-9
Ольхонский р-н	5,1±3,0					-13

Проведенный анализ показал, что наивысший риск заражения отмечается в районах, находящихся в сфере влияния Ленского очага дифиллоботриоза. При доле населения, составляющей 4,1% взрослого населения области и 4,6% детей до 14 лет, в этих районах за период 2005-2015 гг. выявлено 33% случаев дифиллоботриозов среди взрослого населения и 36% - среди детей (от общего числа зарегистрированных в области). Рассчитанные для этих районов показатели заболеваемости превысили среднеобластной уровень в 12 (Киренский, Казачинско-Ленский), в 4,9 (Мамско-Чуйский) и в 3,5 (Усть-Кутский) раза.

Наибольшее неблагополучие в этой группе сохраняется в районах, расположенных ниже по течению реки Лена: Киренском (наивысший показатель заболеваемости при положительном темпе прироста) и Мамско-Чуйском (самый высокий темп прироста).

В районах, относящихся к зоне влияния Братско-Усть-Илимского очага дифиллоботриозов, проживает 16% населения области. По результатам исследований установлено, что «ядро» очага дифиллоботриоза, функционирующего в системе Ангарских водохранилищ, находится на территориях Усть-Удинского и Балаганского районов, в которых рассчитанные уровни заболеваемости превысили среднеобластной в 7,7 - 9,6 раза, соответственно. Высокий уровень заболеваемости дифиллоботриозами в Нижне-Илимском районе (в 3,5 раза выше среднеобластного) подтверждает формирование локального очага в Илимской ветке Усть-Илимского водохранилища. В то же время, в Братском и Усть-Илимском районах, на территории которых расположены основные части водохранилищ, сохраняется эпидемиологическое благополучие.

Среди районов, находящихся в сфере влияния Байкальского очага дифиллоботриоза, наибольший риск заражения сохраняется в районах, прилегающих к оз. Байкал – Слюдянском и Иркутском (рассчитанные уровни заболеваемости превышают среднеобластной в 2,4 - 2 раза).

Отдельного изучения требует ситуация в ольхонском районе, в котором копроовоскопическое обследование населения до настоящего времени, практически, не проводилось, что не позволяет оценить уровень заболеваемости жителей дифиллоботриозом. Учитывая значительное распространение любительского и браконьерского рыболовства, можно предположить высокий риск заражения дифиллоботриозом, что подтверждается результатами проведенного среди жителей Ольхонского района опроса, в ходе которого 17% опрошенных указали на отхождение члеников паразита (рис.3.9).

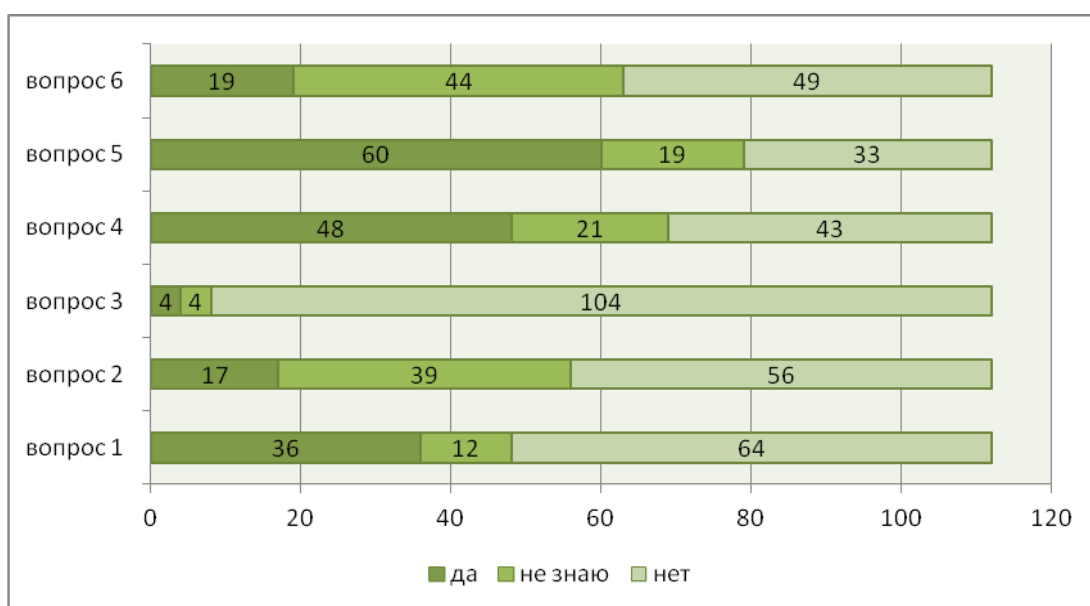


Рис. 3.9. Результаты опроса жителей Ольхонского района

Показатели, характеризующие эпидемиологическую ситуацию в зонах влияния очагов дифиллоботриозов на территории Иркутской области представлены в таблице 3.10.

Обращает на себя внимание отсутствие прямой корреляционной связи между зараженностью рыбы личинками лентецов и заболеваемостью населения дифиллоботриозами (зараженность рыбы выше в Байкальском очаге, заболеваемость населения – в Ленском).

При сопоставлении данных заболеваемости с картой расположения

очагов дифиллоботриоза, получено графическое изображение структуры нозоареала дифиллоботриоза в Иркутской области (рис. 3.10).

Таблица 3.10

Показатели, характеризующие эпидемиологическую ситуацию в зонах влияния очагов дифиллоботриозов на территории Иркутской области (2005-2015 гг.)

ОЧАГ		Ленский	Братско-Усть-Илимский	Байкальский
Уровень пораженности вторых промеж. хозяев		низкий	средний	высокий
Доля населения на территориях в зоне влияния от населения области (%)	взрослые	4,1	16	42,7
	дети до 14	4,6	16	40,2
Доля случаев дифиллоботриоза, выявленных на данной территории от общего числа случаев, зарегистрированных в области (%)	взрослые	33,2	19,4	45,8
	дети до 14	36,1	24,4	30,9
Среднемноголетний показатель заболеваемости (0/0000)	взрослые	84,1±7,5	14,1±0,9	11,3±1,0
	дети до 14	48,4±5,3	8,3±1,1	4,8±0,4
Среднегодовой темп прироста заболеваемости (%)	взрослые	-5,7	3	5,1
	дети до 14	-6	-2,7	-0,6
Доля детей среди заболевших (%)		13,2	11,5	8

Полученные в ходе исследований знания о разном уровне заболеваемости дифиллоботриозом на территориях области легли в основу территориально и социально ориентированного подхода к организации профилактической работы.

3.4. Эколого-эпидемиологический мониторинг рыбы, реализуемой населению

В соответствии с санитарно-эпидемиологическими правилами и нормативами СанПиН 2.3.2.1078-01 "Гигиенические требования к безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов", а также СанПиН 3.2.3215-14 "Профилактика паразитарных болезней на территории Российской Федерации", основным критерием оценки безопасности рыбы и

рыбной продукции по паразитологическим показателям является отсутствие вредных для здоровья человека жизнеспособных паразитов.

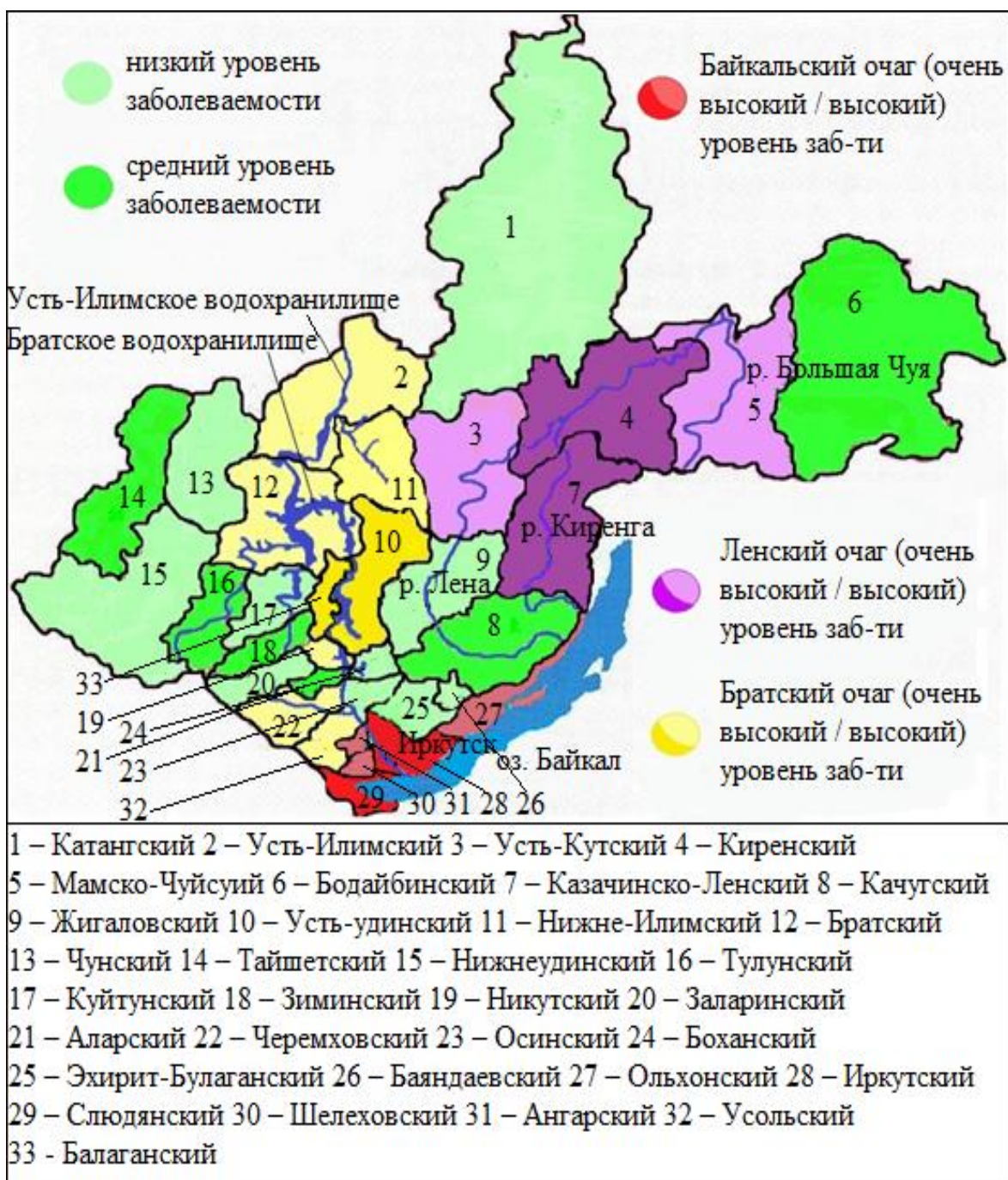


Рис. 3.10. Зонирование территории Иркутской области по уровню заболеваемости дифиллоботриозом

За период с 2001 по 2011г. было исследовано 2419 проб морской рыбы 39 видов. Наиболее часто на исследование поступали сельдь, горбуша, кета,

окунь-терпуг, мойва, минтай, камбала, которые составили 79,6% от общего числа исследованных проб (рис. 3.11).

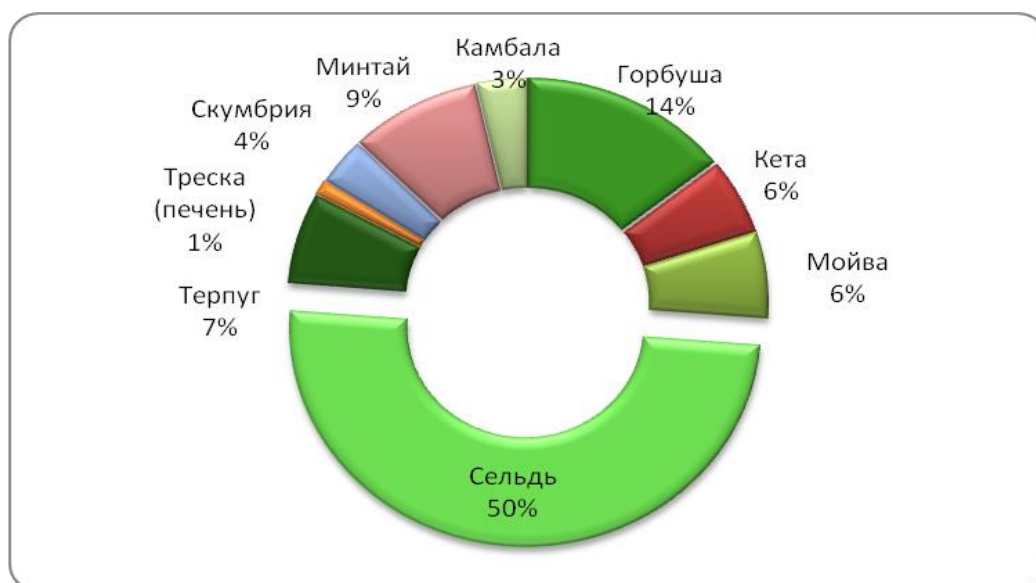


Рис. 3.11. Виды морской рыбы, поступившей на исследование (%)

Наибольшую зараженность возбудителями гельминтозов имели первые пять из перечисленных видов (таблица 3.10)

По данным мониторинга, в морской рыбе наиболее часто выявлялись личинки *Anisakis sp.* Наибольшая экстенсивность инвазии выявлена в сельди и терпуге ($71,6 \pm 3,2\%$ и $61,7 \pm 8,7\%$, соответственно).

Таблица 3.10

Результаты паразитологического исследования морской рыбы, зараженной возбудителями паразитарных болезней, реализуемой в Иркутской области в период с 2001 по 2011 гг.

Вид рыбы	всего исследовано проб	Вид выявленного паразита	Экстенсивность инвазии	
			М	m
Горбуша	348	личинки <i>Anisakis sp.</i> (не жизнеспособные)	10,4	2,1
Кета	134		16,5	1,6
Мойва	153		30,8	6,1
Сельдь	1210		71,6	3,2
Терпуг	162		61,7	8,7

Высокая пораженность *Anisakis* sp. ($44,6 \pm 9,9\%$) выявлена также в пробах консервированной печени трески (рис. 3.12).

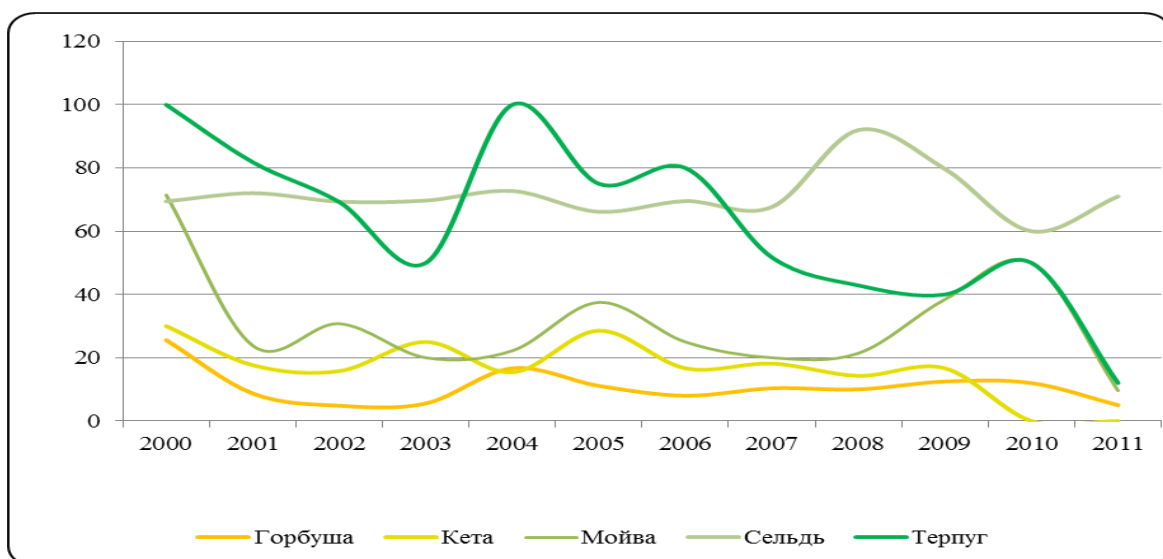


Рис. 3.12. Динамика выявляемости *Anisakis* sp. в пробах морской рыбы

Кроме перечисленных в таблице, личинки анизакид выявлены в пробах салаки, путассу, лимонемы, гольца. Кроме того, в пробах окуня-терпуга были обнаружены личинки *p.Pseudoterranova*, пробах камбалы – *p.Corinosova*. Все личинки были выявлены в нежизнеспособном состоянии (Богомазова и др., 2012).

Таким образом, за рассматриваемый период значительного изменения паразитологических показателей качества морской рыбы не произошло.

Наибольшее эпидемиологическое значение для Иркутской области имеет зараженность возбудителями паразитарных болезней пресноводной рыбы.

За период с 2001 по 2014г. исследовано 956 проб пресноводной рыбы 25 видов (семейства лососевых, карповых, окуневых, щуковых, тресковых, осетровых, сомовых, корюшковых) : омуль, сиг, хариус, лещ, окунь, щука, плотва, карась, елец, карп, налим, форель, сазан, муксун, осетр, таймень, ряпушка, нельма, ленок, ерш, пелядь, корюшка, стерлядь, калуга, сом, из них

на девять первых перечисленных видов пришлось 93,6 % от общего числа проб (рис.3.13).

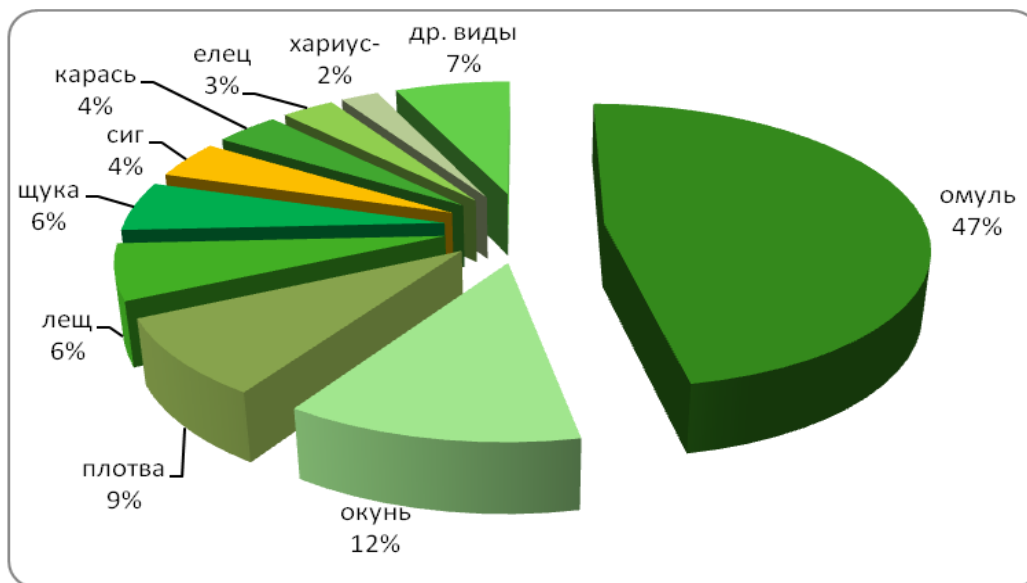


Рис. 3.13. Видовой состав пресноводной рыбы, поступившей на исследование

Возбудители биогельминтозов (плероцеркоиды *D. dendriticum* и личинки *Contracaecum osculatum*) были обнаружены в пробах омуля (экстенсивность инвазии $54,2 \pm 8,1\%$), сига ($10 \pm 4,9\%$), хариуса ($37,5 \pm 4,9\%$), причем в жизнеспособном состоянии - только в пробах омуля. В 1 пробе щуки (Казачинско-Ленинский район, 2006г) были выявлены жизнеспособные плероцеркоиды *D. latum*.

Жизнеспособные личинки *D. dendriticum* выявлены в 14,8% исследованных проб омуля. Динамика зараженности омуля личинками дифиллоботриид представлена на рис. 3.14.

Экстенсивность инвазии омуля личинками *Contracaecum osculatum* отмечена в пределах от 3,16% до 79,4% ($27,8 \pm 7,8\%$), жизнеспособные личинки обнаружены в 1 пробе (0,2%).

Учитывая, что на исследование поступала рыба, отобранная в торговой сети или готовая к реализации, можно сделать вывод о недостаточном качестве технологической обработки рыбы, не обеспечивающем обеззараживание от возбудителей гельминтозов.

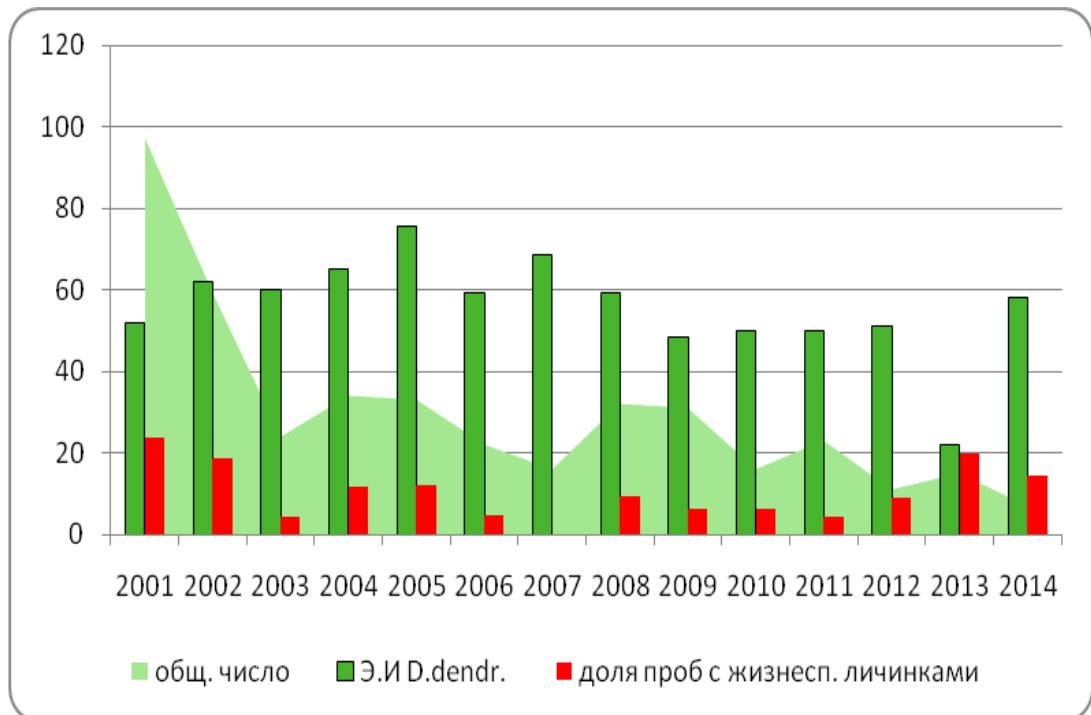


Рис. 3.14. Динамика зараженности омуля личинками дифиллоботриид

Во всех случаях плероцеркоиды *D. dendriticum* обнаружены в инцистированном виде на серозных оболочках и органах брюшной полости рыб, что согласуется с данными С.М. Пронина, который указывает, что по результатам многолетних и многочисленных исследований байкальских лососевидных рыб не известно ни одного достоверного случая нахождения плероцеркоидов дифиллоботриид в мышцах омуля, сига, хариуса и ленка. Возможна только ошибочная «диагностика» плероцеркоидов цестоды *Trienophorus crassus* или цист миксоспоридий *Hennequya zschokkei* из мышц байкальского сига и омуля в качестве дифиллоботриид (Пронин и др., 1988; Пронин и др., 1989; Пронин, Санжиева, 1990).

Результаты исследований ФГБУ ИМВЛ по определению локализации и жизнеспособности плероцеркоидов чаечного лентеца, выделенных из рыб, прошедших полный технологический цикл обеззараживания методом заморозки, проведенные на Маломорском рыбзаводе и ООО "Байкальская рыба" (2005 – 2009 гг.) также подтвердили, что плероцеркоиды чаечного

лентеца, в основном, локализируются в инцистированном виде, на серозных оболочках пищеварительного тракта (86,0%), реже в паренхиме печени (7,5%), во внутреннем жире (2,0%), в свободном состоянии, не инцистированные, в брюшной полости (2,0%) и под серозной оболочкой брюшной стенки (2,5%) (Чумаченко и др., 2014).

С учетом того, что озеро Байкал является одним из крупнейших на территории Российской Федерации очагов чаечного дифиллоботриоза и в то же время служит одним из основных поставщиков рыбы для населения Прибайкалья, проблема высокой пораженности рыбы личинками лентецов представляется очень важной.

При исследовании зараженности жизнеспособными личинками дифиллоботриид омуля разных видов кулинарной обработки установлено, что 53,6% положительных проб составил слабосоленый, 19,5% - холодного копчения, 17% - свежий, 9,7% - свежемороженый омуль.

Эти результаты подтверждаются и данными проведенных эпидемиологических исследований: среди заболевших употребляли омуль, хариус, сиг в слабосоленом виде – 40- 69%, холодного копчения – 9 – 36%, рыбу в виде расколотки – 10 – 17%, слабосоленую икру этих рыб – 4,2 – 10%, горячего копчения – 0 – 4%. В последние годы в передаче инвазии сохраняется значение рыбной продукции всех видов обработки при увеличении роли рыбы слабосоленой и холодного копчения. Среди случаев заболевания, связанных с рыбой собственного улова, велика роль рыбы, употребляемой в термически недостаточно обработанном виде – 20,5 – 33%.

В последние годы в передаче инвазии сохраняется значение рыбной продукции всех видов обработки при увеличении роли рыбы слабосоленой и холодного копчения (рис. 3.15).

Анализ карт эпидемиологического обследования очагов дифиллоботриоза (2005 – 2014 гг.) свидетельствует о том, что причиной заражения послужила рыба, преимущественно, собственного улова,

приобретенная с рук или в местах не санкционированной торговли, т.е. рыба, не прошедшая ветеринарно-санитарную экспертизу, а также обработку, гарантирующую обеззараживание от плероцеркоидов лентеца.

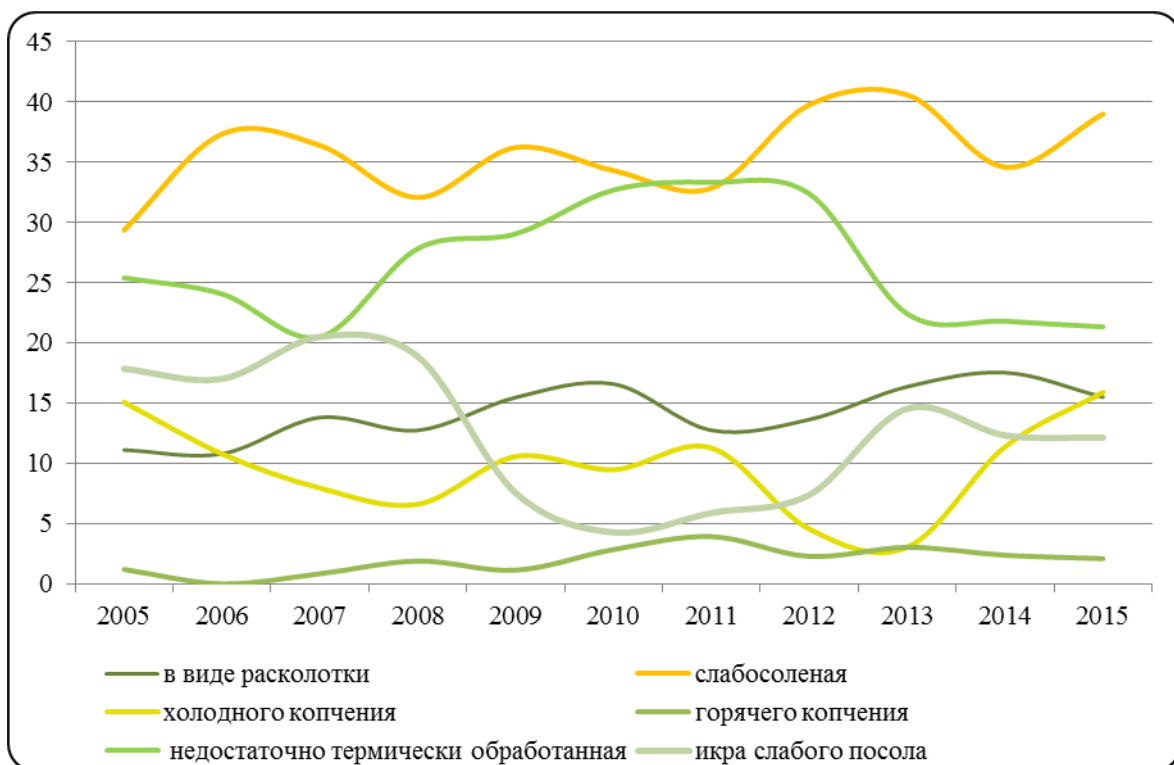


Рис. 3.15. Рыба разных видов технологической обработки как фактор передачи дифиллоботриоза, по данным эпидемиологических исследований (%)

Следовательно, главную роль в распространении дифиллоботриоза продолжает играть рыба, добытая рыбаками любителями (пойманная самим больным, членами семьи или приобретенная у рыбаков).

Таким образом, наличие природных очагов дифиллоботриоза в сочетании с широким распространением любительского и браконьерского рыболовства и применением исторически сложившихся способов обработки рыбы, являются основными причинами стабильно высокой заболеваемости этим гельминтозом. Кроме того, ежегодно в области регистрируется случаи заражения дифиллоботриозом, связанные с выездом и употреблением рыбы

за пределами области (4 – 7%), а так же случаи заражения при употреблении рыбы, завезенной с других территорий.

Актуальным представляется дальнейшее изучение экологических закономерностей существования очагов биогельминтозов в Иркутской области с разработкой эффективных мер профилактики.

3.5. Результаты видовой идентификации возбудителя дифиллоботриоза в пробах рыбы и биоматериала человека методом ПЦР

Ежегодно в Иркутской области регистрируется до 320 случаев заболевания дифиллоботриозом. Отсутствие дифференциальной диагностики при проведении диагностических исследований в клиничко-диагностических лабораториях в условиях циркуляции на территории области разных видов дифиллоботриид, с одной стороны, и, широкие возможности метода ПЦР в определении вида возбудителя, с другой стороны, обусловили проведение работы по адаптации метода полимеразной цепной реакции к видоспецифичному определению возбудителя в биологическом материале от человека и в организме рыбы.

В ПЦР использованы видоспецифичные праймеры: MulRevCom (5'–ATGATAAGGGAYAGGRGCYCA–3') и MulDen4 (5'–GTGTTTTTCATTTGATGATGACCAGTC–3'), позволяющие амплифицировать фрагмент гена, кодирующего первую субъединицу цитохром с оксидазы длиной 338 н.п. митохондриальной ДНК *D. dendriticum*. Специфичность реакции обеспечивается высокой гомологией праймера MulDen4 с целевым фрагментом *D. dendriticum* (табл. 3.11). Максимальное количество замен на выбранном участке составляет не более 2 для *D. dendriticum*, идентифицированных в разных объектах, в то время как с другими эпидемиологически важными видами *D. latum* и *D. ditremum* замен

существенно больше, причем располагаются они и на важном для амплификации 3'-конце.

Таблица 3.11

Сравнительный анализ структуры видо-специфичного праймера MulDen4 для *D. dendriticum* и целевых фрагментов ДНК

MulDen4	5'-GTTTTTCATTTGATGATGACCAGTC-3'
AB374223* <i>Diphyllobothrium dendriticum</i>	GTGTTTTTCATTTGATGATGACCAGTC
KC812049* <i>Diphyllobothrium dendriticum</i>	GTGTTTTTC <u>G</u> TTTTGATGATGACCAGTC
KC812048* <i>Diphyllobothrium dendriticum</i>	GTGTTTTTC <u>G</u> TTTTGATGATG <u>G</u> CCAGTC
FM209181* <i>Diphyllobothrium latum</i>	GTGTTTTTT <u>TG</u> TTTTGATGGTGG <u>G</u> CCAGT <u>T</u>
FM209182* <i>Diphyllobothrium ditremum</i>	GTGTT <u>C</u> TTTT <u>G</u> TTT <u>T</u> GATGATGACCAGT <u>T</u>

Примечание: *номер нуклеотидной последовательности, зарегистрированной в международной базе данных ГенБанк (*GenBank*).

Проведение ПЦР с плероцеркоидами, выделенными от особей омуля, показало, что все образцы плероцеркоидов *D. dendriticum*, отобранные из рыб, пойманных на территории Иркутской области и Бурятии дали положительную детекцию (рис. 3.16).

В качестве отрицательного контроля использовали достоверно идентифицированный образец *D. latum*. Отсутствие специфичного ампликона в отрицательном контроле позволяет говорить о селективной детекции *D. dendriticum* на уровне вида.

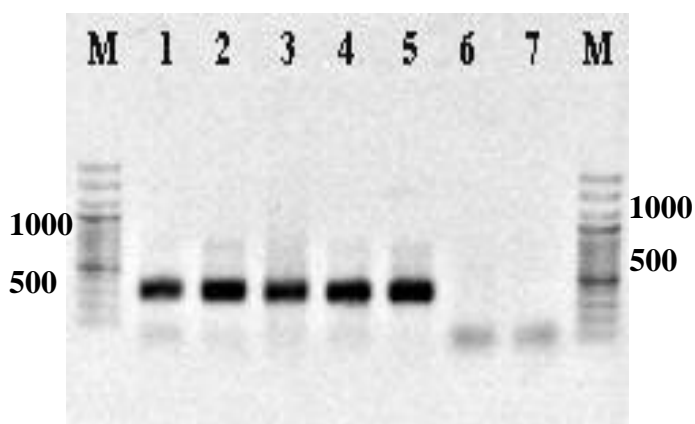


Рис. 3.16. Детекция *D. dendriticum* в исследуемых образцах: 1, 2, 3, 4 – гельминты, выделенные из омуля (Иркутская обл.); 5 – гельминт из омуля (Республика Бурятия); 6 – отрицательный контроль – *D. latum*; 7 – безматричный контроль; М – маркер молекулярного веса.

Использование для детекции фрагмента пищевода рыбы, где был определен гельминт, дало отрицательную реакцию (рис. 3.17.). Выделение из пищевода отдельных особей *D. dendriticum* и использование их в повторной диагностической процедуре дало положительную реакцию.

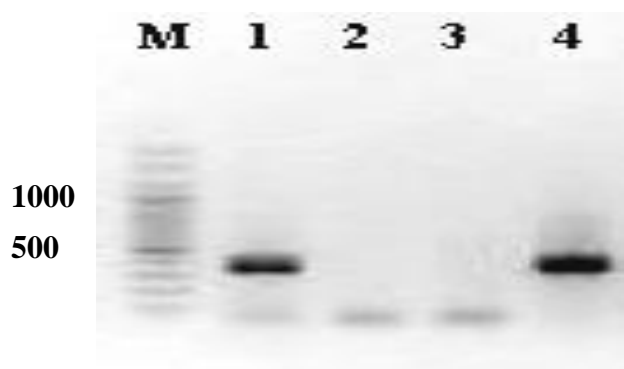


Рис. 3.17. Детекция *D. dendriticum* в исследуемых образцах: 1 – положительный контроль – *D. dendriticum*; 2 – отрицательный контроль – *D. latum*; 3 – пищевод рыбы; 4 – гельминты, выделенные из пищевода рыбы; М – маркер молекулярного веса

При постановке метода ПЦР для видоспецифичной идентификации яиц дифиллоботриид в биологическом материале (фекалиях) человека использовали подготовленные пробы биоматериала людей, инвазированных дифиллоботриидами не установленного вида.

Учитывая, что образец биологического материала от человека содержит суммарную фракцию нуклеиновых кислот, и не только ДНК возбудителя, для исключения ложноположительных результатов в экспериментах варьировали концентрацию матричной ДНК от 0,5 до 50 нг. Показано, что оптимальным является использование матричной ДНК не выше 5 нг на 50 мкл раствора (рис. 3.18.).

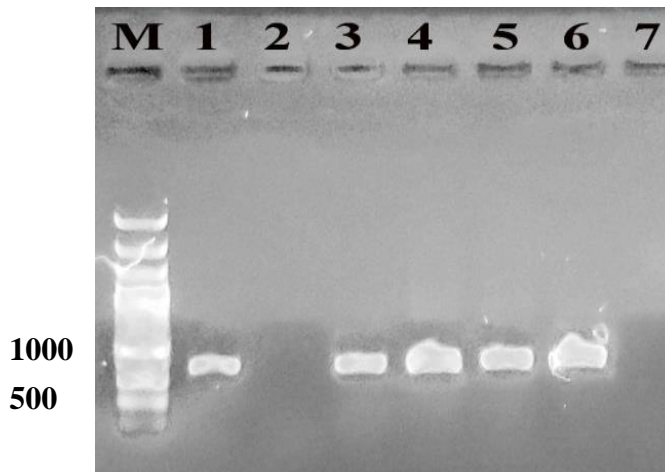


Рис. 3.18. Детекция *D. dendriticum* в исследуемых образцах:

1 – положительный контроль (гельминты, выделенные из омуля);

2 – отрицательный контроль (*D. latum*);

3–6 – образцы биоматериала человека;

7 – безматричный контроль;

М – маркер молекулярного веса

Проведенные исследования показали принципиальную возможность использования ПЦР для прямого определения наличия возбудителей *D. dendriticum* в клиническом материале, полученном от больных. Данный метод позволяет провести детекцию большого количества образцов за короткое время и дает возможность постановки диагноза при минимальном количестве яиц паразита в фекалиях, что затруднительно сделать обычными копроовоскопическими методами. Метод имеет ключевое значение не только для выявления и видовой идентификации возбудителей в клиническом материале, полученном от больного, но и для паразитологического мониторинга рыбы, позволяющего оценить уровень паразитарного заражения рыбы и скоординировать мероприятия по предупреждению и снижению заболевания среди людей.

Таким образом, преимуществами метода ПЦР при использовании для детекции цестод рода *Diphilobothrium* являются:

- Высокая специфичность: использование праймеров с заданной нуклеотидной последовательностью обеспечивает детекцию дифиллоботриид до вида и исключает возможность получения ложных результатов, в отличие от метода иммуноферментного анализа, где нередки ошибки в связи с перекрестно-реагирующими антигенами.

- Прямое определение наличия возбудителя: выявление специфического участка ДНК возбудителя методом ПЦР дает прямое указание на присутствие возбудителя инфекции.
- Высокая чувствительность: метода позволяет выявить наличие возбудителя даже в тех случаях, когда традиционными копроовоскопическими методами это сделать невозможно.
- Высокая скорость получения результата анализа: унифицированный метод обработки биоматериала и автоматизация процесса амплификации дают возможность провести полный анализ за 4-4,5 часа.
- Возможность проведение ПЦР в архивном (фиксированном) материале, что может быть важно, например, при необходимости доставки проб из отдаленных населенных пунктов.
- Возможность экспертизы. Полученные результаты ПЦР возможно вносить в компьютерные информационные носители или фотографии для оценки независимыми экспертами.
- Возможность применения метода для выявления возбудителей не только в клиническом материале, полученном от больного, но и в рыбе для определения ее зараженности личинками лентецов.

ВЫВОДЫ

1. На основе анализа совокупных данных о распространении дифиллоботриид среди рыб и в человеческой популяции впервые установлены границы нозоареалов трех очагов дифиллоботриозов, функционирующих на протяжении последних 40 лет на территории Иркутской области: Байкальский, Братско-Усть-Илимский и Ленский. В Ленском нозоареале, при доле населения немногим более 4% населения области, показатель заболеваемости (на 100 т.н.) в 8 раз выше, чем в Байкальском и Братско-Усть-Илимском очагах, в которых проживает около 58,7% населения области. В Байкальском и Братско-Усть-Илимском очагах среднегодовые темпы прироста заболеваемости 5% и 3%, соответственно, свидетельствуют о наличии прогностически неблагоприятной тенденции развития эпидемического процесса. Внутри очагов существуют наиболее и наименее благополучные в экологическом отношении районы с выраженной дисперсией показателей заболеваемости дифиллоботриозами, детерминированной комплексом экологических и социальных факторов.

2. За 10-летний период наблюдений уровень заболеваемости дифиллоботриозом в Иркутской области статистически достоверно ($p < 0,1$) выше, чем в Российской Федерации и ниже, чем в среднем по СФО. Отличительной чертой Иркутской области является большая, по сравнению с Российской Федерацией и СФО, доля детей среди заболевших ($10,5 \pm 0,4\%$ против $7,1 \pm 0,2\%$ и $9,3 \pm 0,2\%$, соответственно), самые низкие в СФО темпы снижения заболеваемости в этой группе, а также положительные темпы прироста заболеваемости среди взрослого населения.

3. Структура заболеваемости населения Иркутской области дифиллоботриозами характеризуется вовлечением в эпидемический процесс всех исследованных социальных групп: взрослых и детей, мужчин и женщин, жителей села и урбанизированных территорий. Доказано, что наиболее значительное влияние на официально регистрируемые показатели

заболеваемости дифиллоботриозами оказывает уровень обследованности населения копроовоскопическими методами. Высказано предположение, что при увеличении охвата обследованиями на 1% следует ожидать увеличение показателя заболеваемости на 0,59⁰/₀₀₀₀. Между тем, прямая корреляционная связь уровня заболеваемости населения с уровнем зараженности рыб личинками дифиллоботриид не установлена.

4. Среди дифиллоботриид в ихтиофауне Иркутской области доминирует *D. dendriticum*, а приоритетное значение в его распространении среди человеческой популяции принадлежит сиговым видам рыбы любительского, рекреационного и браконьерского улова, реализуемым без ветеринарно-санитарной экспертизы и обеззараживания от личинок паразитов. Рыбная продукция, реализуемая через торговую сеть, также является фактором передачи инвазии. У 14,8% омуля обнаруживаются жизнеспособные личинки дифиллоботриид. Самыми «рискованными» в отношении паразитарной безопасности видами продукции из омуля являются слабосоленый омуль (53,6% положительных проб) и холодного копчения (19,5%).

5. Ленский и Братско-Усть-Илимский очаги дифиллоботриозов относятся к очагам «смешанного» типа, т.к. в них поддерживается циркуляция двух эпидемически важных видов лентецов: *D. dendriticum* и *D. latum*, дифференцировать которые копроовоскопическими методами не возможно.

6. Возможность определить видовую принадлежность возбудителей дифиллоботриоза, причем не только в клиническом материале, но и пробах рыбы, дает опробованный метод видоспецифичной ПЦР, который имеет ключевое значение при проведении эпидемиологических исследований и паразитологического мониторинга качества рыбы, в том числе поступающей из разных регионов Российской Федерации и из-за ее пределов.

7. Обязательным условием повышения эффективности профилактических мероприятий является учет локальных эколого-эпидемиологических особенностей эпидемического процесса дифиллоботриоза на отдельных территориях и в различных социальных группах. В условиях Иркутской области, необходимо проведение широкой разъяснительной работы с целью развития общебиологических, экологических, гигиенических, паразитологических понятий и обеспечения компетентности в вопросах биологической безопасности среди детей, начиная с дошкольного возраста. Обязательно проведение работы по повышению паразитарной грамотности в традиционных местах рекреации населения (побережье оз. Байкал, о. Ольхон, Братское и Иркутское водохранилища).

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Паразитарные болезни, передающиеся с продуктами питания / Т. И. Авдюхина, А. С. Довгалева, К. Д. Имамкулиев, Т. Н. Константинова, Т. М. Гузеева // Инфекция и иммунитет. – 2012. – Т. 2, № 1–2. – С. 350–351.
2. Абдуллаева, Х. Г. Влияние некоторых экологических факторов на возникновение и распространение болезней рыб / Х. Г. Абдуллаева // Изв. Самар. науч. центра РАН. – 2012. – Т. 14, № 5. – С. 198–202.
3. Паразитология и инвазионные болезни животных : учеб. пособие / М. Ш. Акбаев [и др.]. – М. : Колос, 2000. – 743 с.
4. Артамошин, А. С. Условия и особенности существования очагов некоторых гельминтозов на Крайнем Севере России / А. С. Артамошин // Мед. паразитология. – 1993. – № 2. – С. 39–42.
5. Астафьев, В. А. Оценка эпидемиологической ситуации по дифиллоботриозу в Пермском крае / В. А. Астафьев, В. И. Кулешова, А. В. Духанина // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2012. – № 2 (84), ч. 2. – С. 71–74.
6. Атрашкевич, Г. И. Дифиллоботрииды в пресноводных экосистемах Чукотки / Г. И. Атрашкевич // Задачи и проблемы развития рыбного хозяйства на внутренних водоемах Сибири. – Томск, 1996. – С. 103–104.
7. Ахмеров, А. Х. Ленточные черви рыб реки Амура / А. Х. Ахмеров // Тр. Гельминтол. лаб. АН СССР. – 1960. – Т. 10. – С. 15–31.
8. Бауер, О. Н. Рыбы, как источник гельминтозов человека. Дифиллоботриоз / О. Н. Бауер // Основные проблемы паразитологии рыб. – Л. : Изд-во Ленингр. ун-та, 1958. – С. 321–330.
9. Белецкая, Н. И. Основные антропоозоозы плотоядных животных инвазионной этиологии и меры их профилактики в Ханты-Мансийском АО / Н. И. Белецкая // Ветеринар. газ. – 2003. – № 14 (256). – С. 4–5.
10. Белькова, Н. Л. Введение в молекулярную экологию микроорганизмов : учеб.-метод. пособие / Н. Л. Белькова, А. М. Андреева. – Ярославль : Принтхаус, 2009. – 91 с.

11. Богданова, Е. А. Распространение дифиллоботриид у рыб ряда водоемов Заполярья и Северо-Запада СССР при антропогенном воздействии / Е. А. Богданова // Биологические ресурсы водоемов бассейна Балтийского моря : тез. докл. 23-й науч. конф. по изучению водоемов Прибалтики. – Петрозаводск, 1991. – С. 140–141.
12. Булычева, Н. А. Опыт борьбы с дифиллоботриозом в Таворинском районе Свердловской области / Н. А. Булычева // Гельминты человека, животных и растений и борьба с ними : к 85-летию акад. Н. И. Скрыбина. – М. : Изд-во АН СССР, 1963. – С. 336–339.
13. Паразитологический контроль рыбы и рыбной продукции в Иркутской области / О. Л. Богомазова, И. В. Безгодков, С. И. Логинов, И. Г. Чумаченко, Г. Н. Горбачева, Ю. В. Валуй, В. М. Кривошеин // Инфекция и иммунитет. – 2012. – Т. 2, № 1–2. – С. 355.
14. Роль Камского водохранилища в распространении дифиллоботриоза / Я. И. Вайсман, М. М. Мульменко, Т. В. Можяева, Н. А. Казанцева. – Пермь : Изд-во Перм. мед. ин-та, 1967. – Т. 69. – С. 72–80.
15. Использование метода ПЦР для диагностики инфекционных болезней : метод. пособие / М. Н. Веревкина, В. И. Дорофеев, Е. В. Светлакова, И. А. Ожередова. – Ставрополь : АРГУС, 2008. – 45 с.
16. Вялова, Г. П. Паразиты кеты и горбуши Сахалина : автореф. дис. ... канд. биол. наук / Вялова Галина Петровна – Южно-Сахалинск, 1999. – 22 с.
17. Взятие, транспортировка, хранение клинического материала для ПЦР диагностики : метод. рекомендации / ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора. – М., 2012. – 39 с.
18. Гараева, Э. Р. Инвазированность хищных рыб лентецом широким в период формирования Нижнекамского водохранилища / Э. Р. Гараева // Тезисы докладов научной конференции. 25–26 сент. – Рязань, 1990. – С. 22–23.

19. Гинцбург А. Л. ПЦР – современный метод клинической лабораторной диагностики / А. Л. Гинцбург // Микробиология, иммунология и вирусология. – 1999. – № 5. – С. 22–26.
20. Говоркова, Л. К. Эпизоотическое состояние рыбохозяйственных водоемов в России / Л. К. Говоркова, Л. М. Романова // Вестн. Казан. гос. энергет. ун-та. – 2014. – № 2(21). – С. 60–71.
21. Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации» [Электронный ресурс] / Роспотребнадзор : офиц. сайт. – URL <http://rospotrebnadzor.ru/search/index.php?q> (дата обращения: 15.03.2016)
22. Гофман-Кадошников, П. Б. Новый тип плероцеркоидов дифиллоботриид из кеты Камчатки / П. Б. Гофман-Кадошников, Т. П. Чижова, Т. А. Яковлева // Мед. паразитология и паразитар. болезни – 1982. – № 3. – С. 237–239.
23. Анатомио-гистологическое строение плероцеркоидов из рыб реки Енисей и озера Ессей (Эвенкийский национальный округ) / П. Б. Гофман-Кадошников, Т. П. Чижова, М. А. Устинович, В. И. Ходакова // Гельминты человека, животных и растений и борьба с ними : сб. к 85-летию акад. К. И. Скрябина. – М. : Медгиз, 1963. – С. 273–276.
24. Делямуре, С. Л. Основы цестологии. Т. 11 / С. Л. Делямуре, А. С. Скрябин, А. М. Сердюков. – М. : Наука, 1985. – С. 11–13.
25. Дмитриева, Г. М. Эпидемиологическая характеристика и эпидемиологический надзор за актуальными гельминтозами на территории крупного промышленного города Сибирского региона : дис. ... канд. мед. наук : 14.00.30 / Г. М. Дмитриева ; Ом. гос. мед. акад. – Омск, 2008. – 22 с.
26. Довгалев, А. С. Биология и таксономия гельминтов животных и человека / А. С. Довгалев // Материалы научной конференции Всесоюзного общества гельминтологов. – М., 1984. – Вып. 34. – С. 149–151.

27. Методические подходы к оценке качества профессиональных компетенций специалистов лабораторий лечебно-профилактических организаций и Роспотребнадзора по микроскопическому выявлению возбудителей зоонозных гельминтозов в биологическом материале / А. С. Довгалева, С. Ю. Астанина, А. П. Сердюк, Н. Д. Андреева, Г. Ю. Никитина // Рос. паразитол. журн. – 2014. – № 4. – С. 124–131.

28. Обеспечение качества и безопасности рыбной продукции / А. С. Довгалева [и др.]. // Ветеринария. – 1998. – № 1. – С. 7–12.

29. Эпидемиолого-эпизодическая ситуация по зооантропонозным гельминтозам / А. С. Довгалева, Н. Т. Пантющенко, В. П. Сергиев, Н. А. Романенко, В. Д. Завойкин, Э. Б. Коваленко, Н. Г. Сыскова, А. А. Фролова, Н. А. Довгалева, А. В. Успенский, В. И. Шейко, Е. А. Витомскова // Ветеринария. – 1997. – № 12. – С. 8–13.

30. Эпидемические и эпизодические предпосылки усовершенствования системы профилактики паразитарных болезней человека, связанных с рыбной продукцией. / А. С. Довгалева [и др.] // Рыбы как переносчики болезней человека и животных. Рыбное хозяйство. Сер. Аквакультура. – М.: ВНИЭРХ, 1999. – С. 14–33.

31. Дугаров, Ж. Н. Распространение *Diphyllobothrium latum* в популяциях щуки в озерах Забайкалья / Ж. Н. Дугаров, О. Б. Жепхолова, Л. В. Толочко // Рос. паразитол. журн. – 2016. – № 1(35). – С. 41–44.

32. Распространение плероцеркоидов *Diphyllobothrium latum* у рыб в водоемах Забайкалья / Ж. Н. Дугаров; Н. М. Пронин, О. Б. Жепхолова; Л. В. Толочко // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями : материалы докл. науч. конф. г. Москва, 19–20 мая 2015 г. / Федер. агентство науч. организаций, Общество гельминтологов им. К. И. Скрыбина Российской академии наук, Всерос. науч.-исслед. ин-т фундам. и прикл. паразитологии животных и растений им. К. И. Скрыбина. – М., 2015. – Вып. 16. – С. 125–127.

33. Дифиллоботриоз в Иркутской области / Э. А. Житницкая, З. Н. Усольцева, Т. А. Журина, А. М. Антонова, Н. А. Лысенко // Проблемы краевой инфекционной патологии Сибири. – Иркутск : Изд-во Иркут. гос. ун-та, 1982. – С. 40–47.
34. Заика, В. Е. Паразитофауна рыб озера Байкал / В. Е. Заика. – М. : Наука, 1965. – 42 с.
35. Зеленская, Я. И. Водные ресурсы Иркутской области / Я. И. Зеленская, Т. И. Шишелова // Междунар. журн. эксперим. образования. – 2014. – № 8. – С. 100–101.
36. Здравоохранение в России. 2015 : стат. сб. / Росстат. – М., 2015. – 174 с.
37. Змеев Г. Я. Паразитические черви населения Дальнего Востока / Г. Я. Змеев // Паразитология Дальнего Востока / под ред. Е. Н. Павловского. – Л. : Медгиз, 1947 –С. 301–312.
38. Зорина, В. В. Основы ПЦР : метод. пособие / В. В. Зорина. – М. : ДНК-технология, 2012. – 80 с.
39. Иванов, В. Т. Пораженность рыб Иркутского водохранилища плероцеркоидами лентецов / В. Т. Иванов. // Проблемы общей гигиены и организации здравоохранения : сб. науч. работ Иркут. гос. мед. ин-та. – Иркутск, 1964. – С. 147–151.
40. Изюмова, Н. А. Паразитофауна основных видов рыб Камского водохранилища / Н. А. Изюмова, А. В. Маштаков, В. В. Кашковский // Биология внутрен. вод. – 1977. – № 36. – С. 64–68.
41. Изюмова, Н. А. Паразитофауна рыб водохранилищ СССР и пути ее формирования / Н. А. Изюмова. – Л. : Наука, 1977. – С. 206–224.
42. Качина, Е. А. Компенсаторно-защитные реакции в слизистой кишечника дефинитивного хозяина лентеца чаечного (*Diphyllobothrium dendriticum*, Nitzsch, 1824) при экспериментальном заражении / Е. А. Качина, Е. В. Комарова // Бюл. ВСНЦ СО РАМН.- 2007. – № 1. (53) – С. 219.

43. Природные очаги дифиллоботриозов на севере Западной Сибири и роль сиговых рыб в циркуляции возбудителей / В. А. Клебановский, Р. М. Петрова, А. М. Сердюков, З. С. Ялдыгина // Болезни и паразиты рыб Ледовитоморской провинции (в пределах СССР). – Тюмень, 1971. – С. 30–32.

44. Применение молекулярно-биологических исследований в деятельности микробиологической лаборатории / В. П. Клиндухов, Т. В. Шевырева, Г. К. Рафеенко, Л. И. Щербина, И. В. Абрамова // Современное лаб. обеспечение эпидемиол. исслед. и профилактик. мероприятий. – 2012. – Т. 2, № 1–2. – С. 280–281.

45. Книжин, И. Б. Сообщества рыб водоемов различного типа бассейна верхнего течения реки Лена : автореф. дис. ... канд. биол. наук / Книжин Игорь Борисович – Иркутск, 1993. – 22 с.

46. Распространение паразитарных болезней среди населения республики Саха (Якутия) / Л. М. Коколова, Т. А. Платонов, Л. А. Верховцева, Л. Г. Кочнева, Л. А. Григорьева // Рос. паразитол. журн. – 2010. – № 3. – С. 67–72.

47. Коколова, Л. М. Роль паразитарных болезней в патологии человека / Л. М. Коколова, Т. А. Платонов, Л. А. Верховцева // Рос. паразитол. журн. – 2013. – № 2. – С. 43–46.

48. Колокольцев, М. М. Роль антропогенных факторов в становлении очагов дифиллоботриоза на Братском водохранилище / М. М. Колокольцев, С. И. Липин, Э. А. Житницкая // Материалы Всероссийской конференции по природной очаговости болезней. – М., 1989. – С. 163–164.

49. Колокольцев, М. М. Особенности эпидемиологии и профилактики природноочаговых биогельминтозов в условиях антропопрессии (на модели территории Центральной Сибири) : дис. ... д-ра мед. наук : 03.00.20 / Колокольцев Михаил Михайлович – М., 1990. – 32 с.

50. Костарев, Г. Ф. Паразиты и болезни рыб бассейна Средней Камы (в условиях загрязнения) / Г. Ф. Костарев. – Пермь : Изд-во Перм. ун-та, 2003. – С. 194.

51. Куперман, Б. И. Экологический анализ цестод рыб водоемов Волго-Балтийской системы (Рыбинское, Шексинское водохранилища, Белое, Онежское, Ладожское озера) / Б. И. Куперман // Физиология и паразитология пресноводных животных / Тр. Ин-та биологии внутренних вод. – Л., 1979. – Вып. 38 (41). – С. 133–137.

52. Купчинский, А. Б. Состояние ихтиофауны водохранилищ Ангары / А. Б. Купчинский, Е. С. Купчинская // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2006. – № 2 (48). – С. 56–61.

53. Изменения лейкоцитарного состава органов иммунной системы Байкальского омуля при дифиллоботриозе / И. А. Кутырев, С. В. Пронина, Н. М. Пронин // Аквакультура Европы и Азии: реалии и перспективы развития и сотрудничества : материалы Междунар. науч.-практ. конф. – Тюмень : ФГУП Госрыбцентр, 2011. – С. 106–107.

54. Ларцева, Л. В. Паразиты рыб, опасные для человека / Л. В. Ларцева, В. В. Проскурина // Естеств. науки. – 2012. – № 1. – С. 68–74.

55. Клиническая паразитология / А. Я. Лысенко, М. Г. Владимирова, А. В. Кондрашин, Дж. Д. Майори, Д. Вильямс. – Женева : ВОЗ, 2002. – 752 с.

56. Мазур, О. Е. Гематологический анализ состояний здоровья Байкальского омуля в нерестовый период на фоне инвазии *Diphyllobothrium dendriticum* (Cestoda: pseudophyllidae) / О. Е. Мазур, Л. В. Толочко // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2012. – № 5-1 (87). – С. 265–267.

57. Структура природного очага дифиллоботриоза в районе пролива Малое море оз. Байкал / А. А. Майборода [и др.] // Гельминтозы человека : респ. сб. науч. тр. – Л. : НИИ эпидемиол. и микробиол. им. Пастера, 1987. – С. 56–62.

58. Мамонтов, А. М. Рыбы Братского водохранилища / А. М. Мамонтов. – Новосибирск : Наука, 1977. – 246 с.
59. Мамонтов, Ю. П. Пресноводная аквакультура в России / Ю. П. Мамонтов // Холодноводная аквакультура: старт в XXI век : материалы Междунар. симп. – СПб., 2003. – С. 6–11.
60. МУК 3.2.988-00 «Методы санитарно-паразитологической экспертизы рыбы, моллюсков, ракообразных, земноводных, пресмыкающихся и продуктов их переработки». – М. : Минздрав России, 2001. – 69 с.
61. МУК 4.2.3145-13 «Лабораторная диагностика гельминтозов и протозоозов». – М. : Минздрав России, 2013. – 88 с.
62. Муратов, И. В. Эпизоотология дифиллоботриоза на Дальнем Востоке СССР // Проблемы патологии и экологической взаимосвязи болезней диких теплокровных и сельскохозяйственных животных : тез. докл. I всесоюз. конф. – М., 1988. – С. 90.
63. Пораженность населения лентецом *Diphyllobothrium klebanovskii* в зоне выноса инвазии в Хабаровском крае / И. В. Муратов [и др.] // Мед. паразитология. – 1992. – № 2. – С. 30–32.
64. Муратов, И. В. Эколого-эпидемиологическая характеристика нозоареала дифиллоботриоза на Дальнем Востоке России : дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.30 / Муратов Игорь Викторович ; ИМПитМ. – М., 1995. – 21 с.
65. Мусихина, Е. А. Оценка водных ресурсов территории Иркутской области / Е. А. Мусихина, О. М. Мусихина // Современ. наукоем. технологии. – 2010. – № 6. – С. 95–104.
66. Никешина, Н. Н. Эпидемиологическая ситуация по дифиллоботриозу и описторхозу в Астраханской области / Н. Н. Никешина, А. М. Славина // Актуальные аспекты паразитарных заболеваний в современный период : тез. докл. всерос. конф. Тюмень, 25–26 сент. 2013 г. – Тюмень, 2013. – С. 208.

67. Новак, А. И. Особенности циркуляции *Diphyllbothrium latum* в природных очагах Костромской области / А. И. Новак // Мед. паразитология и паразитар. болезни – 2012. – №1. – С. 35–37.
68. Однокурцев, В. А. Опасные для здоровья человека паразитарные заболевания омуля – *Coregonus autumnalis Pallas* в водоёмах Якутии / В. А. Однокурцев, А. Д. Решетников // Якут. мед. журн. 2008. – С. 62–64.
69. Однокурцев, В. А. Паразитарные болезни рыб и их влияние на рыбную продукцию и здоровье человека / В. А. Однокурцев // Альманах современной науки и образования. – 2009. – № 11. (30) – С 150–153.
70. Однокурцев, В. А. Паразитофауна рыб пресноводных водоемов Якутии / В. А. Однокурцев. – Новосибирск : Наука, 2010. – 152 с.
71. Остапенко, Н. А. Эпидемиологическая ситуация по дифиллоботриозу в ХМАО-Югре / Н. А. Остапенко, Т. М. Гузеева // Актуальные вопросы паразитарных заболеваний в современный период : сб. тр. Всерос. науч.-практ. конф. – Тюмень, 2013. –С. 125.
72. Пельгунов, А. Н. Разработка новых методов обеззараживания рыб и рыбной продукции от метацеркарий *Opisthorchis felineus Rivolta* 1884/А. Н. Пельгунов // Рос. паразитол. журн. – 2015. – № 3. – С 80–85.
73. Пельгунов, А. Н. Проблемы описторхоза и дифиллоботриоза в нижнем течении Иртыша / А. Н. Пельгунов // Рос. паразитол. журн. – 2012. – № 3. – С. 68–73.
74. Платонов, Т. А. Паразитарные заболевания рыб реки Лены и их рыбохозяйственное значение / Т. А. Платонов // Достижения науки и техники. – 2011. – № 5. – С. 68–69.
75. Платонов, Т. А. Паразиты *Leuciscus leuciscus baicalensis* (D.) и *Esox lucius* (L.) среднего течения реки Лена и ее притока Вилюй в экологических условиях антропопрессии / Т. А. Платонов, Н. В. Кузьмина, А. Н. Нюкканов // Наука и образование.- 2014. – № 4. – С. 76–79.

76. Подъяпольская, В. П. Проблемы эпидемиологии гельминтов / В. П. Подъяпольская // Гельминты человека, животных и растений и меры борьбы с ними : к 90-летию акад. Н. И. Скрыбина. – М. : Медгиз, 1968. – С. 43–48.
77. Подъяпольская, В. П. Глистные болезни человека / В. П. Подъяпольская, В. Ф. Капустин. – М: Медгиз, 1958. – С. 185–195.
78. Поляков, В. Е. Дифиллоботриоз / В. Е. Поляков // Рос. мед. журн. – 2002. – №5. – С. 38–40.
79. Понкратов, С. Ф. Инвазии чужеродных видов рыб в бассейн Ангарских водохранилищ / С. Ф. Понкратов // Рос. журн. биол. инвазий. – 2013. – № 4. – С. 59–69.
80. Структура, количественные показатели зоопланктона и зообентоса верхнего течения реки Лена и его водоемов / Т. В. Потемкина, Н. Г. Шевелева, Н. И. Шабурова, Е. А. Мишарина, И. Б. Книжин // Журн. Сиб. федер. ун-та. Биология. – 2013. – Т. 6. – С. 313–329.
81. Потемкина, Т. В. Эколого-биологическая характеристика рыб верхнего течения реки Лена : дис. ... канд. мед. наук : 03.02.08 / Потемкина Т. В. ; Иркут. гос. ун-т. – Иркутск, 2013. – 20 с.
82. Пронин, Н. М. Зараженность рыб бассейна озера Байкал плероцеркоидами лентеца чаечного / Н. М. Пронин, С. В. Пронина, С. Д. Санжиева // Мед. паразитология – 1988. – № 4. – С. 64–67.
83. Выживаемость плероцеркоидов *Diphyllobothrium dendriticum* при переработке рыбы и санитарно-гельминтологическая оценка продукции / Н. М. Пронин, С. В. Пронина, М. Г. Воронов, Т. М. Тимошенко // Мед. паразитология и паразитар. болезни. – 1989. – № 4. – С. 57–60.
84. Пронин, Н. М. Распределение плероцеркоидов дифиллоботриид в популяциях оз. Байкал / Н. М. Пронин, С. Д. Санжиева // Паразиты и болезни гидробионтов Ледовитоморской провинции. – Новосибирск : Наука, 1990. – С. 140–148.

85. Динамика зараженности животных гельминтами / Н. М. Пронин, С. Д. Жалцанова, С. В. Пронина, А. В. Некрасов, В. Л. Ринчино, О. Т. Русинек, С. Д. Санжиева, Ж. Н. Дугаров, Ю. В. Белянова, А. С. Кудряшов // АН СССР, Сиб. отд-ние, Бурят. науч. центр, Ин-т биологии. – Улан Удэ : БНЦ СО АН СССР, 1991. – 200 с.
86. Пронин, Н. М. Рыбы и ихтиопатологическая ситуация в нижнем течении Ангары / Н. М. Пронин, С. В. Пронина, Н. А. Руднева // Биоразнообразие Байкальской Сибири. – Новосибирск : Наука. Сиб. издат. фирма РАН, 1999. – С. 99–120.
87. Рыбы озера Байкал и его бассейна / Н. М. Пронин, А. Н. Матвеев А. Н., В. П. Самусенок, А. И. Бобков, А. В. Соколов, Н. Ф. Дзюменко, Л. Ф. Калягин, В. П. Горлачев, С. В. Пронина, Ж. Н. Дугаров, А. И. Вокин, А. Л. Юрьев. – Улан-Удэ : Изд-во Бурят. НЦ СО РАН, 2007. – 284 с.
88. Пронин, Н. М. Структура Байкальского природного очага дифиллоботриоза и взаимоотношения *Diphyllobothrium dendriticum* с дефинитивными хозяевами / Н. М. Пронин, С. В. Пронина, И. А. Кутырев // Изв. Иркут. гос. ун-та. Сер. Биология. Экология. – 2009. – Т. 2, № 1. С. 53–56.
89. Пронина, С. В. Взаимоотношения в системах гельминты – рыбы (на тканевом, органном и организменном уровнях) / С. В. Пронина, Н. М. Пронин. – М. : Наука, 1988. – С. 84–118.
90. Морфофункциональные и иммунологические аспекты патогенеза дифиллоботриоза, вызываемого *Diphyllobothrium dendriticum* (*Pseudophyllidea: diphyllbothridae*) у сирийского хомяка / С. В. Пронина, И. А. Кутырев, Л. В. Толочко, О. Е. Мазур, Н. М. Пронин // Вестн. Бурят. с.-х. акад. им. В. Р. Филиппова. – 2010. – № 2(19). – С. 15–21.
91. Решетникова, А. В. Личинки широкого лентеца и описторхий у рыб Волгоградского водохранилища / А. В. Решетникова // Материалы научной конференции Всероссийского общества гельминтологов. – М., 1965 – Ч. 4. – С. 221–222.

92. Ройтман, В. А. Популяционные исследования гельминтов и их значение для решения практических задач рыболовства на внутренних водоемах / В. А. Ройтман // Гельминты в пресноводных биоценозах. – М: Наука, 1982. – С. 44–57.
93. Романов, И. В. Классификация очагов дифиллоботриоза / И. В. Романов // Проблемы общей и прикладной гельминтологии АН СССР / Всесоюз. о-во гельминтологов. – М. : Наука, 1973. – С. 228–232.
94. Русинек, О. Т. Паразиты рыб озера Байкал (фауна, сообщества, зоогеография, история формирования) / О. Т. Русинек. – М. : КМК, 2007. – 600 с.
95. Русинек, О. Т. Динамика зараженности омуля и сига / О. Т. Русинек, Н. М. Пронин // Динамика зараженности животных гельминтами. Улан-Удэ : ИЦ СО АН СССР , 1991. – С. 104–110.
96. Русинек, О. Т. Паразитарная система *Diphyllobothrium dendriticum* (Cestoda: Pseudophyllidea) и оценка ее возраста в озере Байкал // Международная конференция, посвященная памяти д-ра биол. наук, проф. Б. И. Купермана. Борок, 18–22 авг. –М., 2003. – С. 46–47.
97. Эпидемиологический анализ. Методы статистической обработки материала / Е. А. Савилов, В. А. Астафьев, С. Н. Жданова, Е. А. Заруднев // Новосибирск : Наука-центр, 2011. – 153 с.
98. СанПин 3.2.3215-14. Профилактика паразитарных болезней на территории Российской Федерации. – М. : Минздрав России, 2014. – 73 с.
99. Савченков, М. Ф. Дифиллоботриоз в Байкальском регионе (Эпидемиологическое наблюдение) / М. Ф. Савченков, И. Г. Чумаченко, Д. А. Турчинова // Сиб. мед. журн. – 2008. – № 3. –С. 88–90.
100. Сергиев, В. П. Регистрация и истинная распространенность паразитарных болезней / В. П. Сергиев // Мед. паразитология. – 1991. – № 2. –С. 3–5.

101. Сердюков, А. М. Дифиллоботрииды Западной Сибири / А. М. Сердюков. – Новосибирск : Наука, 1979. – 120 с.
102. Симонова, Н. Ф. Особенности эпидемиологии и профилактики дифиллоботриозов на реке Лена : дис. ... канд. мед. наук : 03.00.19 / Н. Ф. Симонова ; ИМПитМ. – М., 1995. – 20 с.
103. Скрыбин, К. И. Краткий очерк деятельности 60-й Союзной гельминтологической экспедиции в дальневосточные края / К. И. Скрыбин, В. П. Подъяпольская, Р. С. Шульман // Рус. журн. троп. медицины. – 1929. – Т. 7, № 1. – С. 113–130.
104. Скударнов, С. Е. Санитарно-эпидемиологические проблемы при создании водохранилищ гидроэлектростанций на реках Сибири / С. Е. Скударнов, С. В. Куркатов // Казан. мед. журн. – 2010. – Т. 91, № 2. – С. 274–277.
105. Смирнова Н. С. Потенциально опасные для человека и животных гельминты, обнаруженные у пресноводных рыб, поступающих для реализации в Москву / Н. С. Смирнова, М. Ш. Акбаев, О. Е. Давыдова // Тр. ВИГИС. – 2004. – Т. 40 – С. 384–388.
106. Софронова, П. П. Рыбы, пораженные личинками лентеца широкого опасны для человека / П. П. Софронова, С. А. Серко // Практик. – 1998. – № 2. – С. 13–19.
107. Статистический сборник «Административно-территориальное деление и численность населения области». – Иркутск : Иркутскстат, 2015. – 91 с.
108. Степанова, Т. Ф. Подходы к совершенствованию системы надзора и управления эпидемическим процессом паразитарных заболеваний / Т. Ф. Степанова, А. С. Корначев. – Тюмень : Изд-во Тюмен. гос. ун-та, 2012. – С. 36.
109. Студенцова, Н. А. Стратегия развития рыбной отрасли и рыбопереработки в XXI веке / Н. А. Студенцова, А. В. Мазкин,

К. Н. Киселева // Изв. высш. учеб. заведений. Пищ. технология. – 2007. – № 1. – С. 5–8.

110. Суходолов, А. П. Региональное и отраслевое управление «Развитие рыбной промышленности Иркутской области» / А. П. Суходолов, С. И. Виолин, О. В. Тетерина // Изв. Иркут. гос. экон. акад. – 2003. – № 2. – С. 6–12.

111. Сырцова, Л. Е. Основы эпидемиологии и статистического анализа в общественном здоровье и управлении здравоохранением : учеб. пособие для ординаторов и аспирантов / Л. Е. Сырцова. – М. : Изд-во ММА им. Сеченова, 2003. – 91 с.

112. Тетерина, К. А. Особенности распространения некоторых инвазий у рыб в верховьях реки Ангара (Иркутская область) / К. А. Тетерина // Вестн. ИрГСХА. – 2014. – Вып. 71. – С. 97–98.

113. Заболевание населения Иркутской области дифиллоботриозом / Т. М. Тимошенко, А. М. Антонова, В. В. Ненашева, О. Л. Богомазова // Актуальные вопросы инвазионной и инфекционной патологии животных», 27–29 июня 2008 г. : материалы Междунар. науч.-практ. конф. – Удан-Удэ : Изд-во БГСХА им. В. Р. Филиппова, 2008. – С. 41–42.

114. Тимошенко, Т. М. Жизненный цикл чаечного лентеца в условиях озера Байкал. Бенедикт Дыбовский / Т. М. Тимошенко, О. Т. Русинек. – Новосибирск, 2000. – 296 с.

115. Тимошенко, Т. М. Вопросы эпидемиологии дифиллоботриоза в системе экологического мониторинга Байкала / Т. М. Тимошенко, А. А. Майборода, Н. Ю. Куприянова // Проблемы экологии: Чтения памяти проф. М. М. Кожова : материалы V междунар. конф. 23–27 окт. 1995 г. – Новосибирск, 1995. – Т. 1. – С. 149–154.

116. Успенский, А. В. Оптимизация безопасности пищевых продуктов по паразитарным зоонозам / А. В. Успенский // Теория и практика паразитар. болезней животных. – 2013. – № 14. – С. 388–390.

117. Флоринская, А. А. Паразитофауна рыб бассейна р. Ангары / А. А. Флоринская // Болезни и паразиты рыб Ледовитоморской провинции (в пределах СССР): сб. науч. тр. – Томск, 1979. – С. 34–35.
118. Формы статистического наблюдения № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» за 1990–2015 гг. // Отчеты Управления Роспотребнадзора Иркутской области. – Иркутск.
119. Формы статистического наблюдения № 87-СЭС «Противогельминтные мероприятия» за 1979–1990 гг. // Отчеты Центра Госсанэпиднадзора по Иркутской области. – Иркутск.
120. Федулова, А. Г. Актуальные аспекты паразитарных заболеваний в современный период в Республике Саха (Якутия) / А. Г. Федулова, Л. Р. Федосеева // Науч. мир. – 2013. – Т. 52, № 4. – С. 57–61.
121. Рыбная продукция и здоровье человека / А. Р. Хамидуллин, В. И. Погорельцев, И. Р. Хамидулин, Э. Г. Султанова // Казан. мед. журн. – 2011. – Т. 92, № 2. – С. 273–275.
122. Особенности очагов дифиллоботриозов в бассейне реки Пур (Ямало-Ненецкий автономный округ) / В. И. Ходакова [и др.] // Мед. паразитология. – 1996. – № 3. – С. 29–31.
123. Цыгунов, Г. А. Нужен ли Сибири новый Столыпин и общественный призыв? / Г. А. Цыгунов // Изв. ИГЭА. – 2013. – № 4 (90). – С. 138–144.
124. Чижова, Т. П. Природный очаг дифиллоботриоза на Байкале и его структура / Т. П. Чижова, П. Б. Гофман-Кадошников // Мед. паразитология и паразитар. болезни. – 1960. – Т. 29, вып. 2. – С. 165–176.
125. Эпидемиологическая ситуация по дифиллоботриозу в Прибайкалье / И. Г. Чумаченко, В. П. Саловарова, О. Л. Богомазова, Ю. Л. Кондратистов, П. А. Чумаченко, Т. М. Гузеева // Мед. паразитология и паразита. болезни. – 2014. – № 2. – С. 17–22.

126. Шпилько, В. Н. Природная очаговость гельминтозов человека Западной Сибири / В. Н. Шпилько, В. А. Клебановский // Проблемы природной очаговости человека. – Тюмень : Изд-во гос. ун-та, 1969. – С. 45–53.
127. Ястребов, В. К. Особенности эпидемиологического надзора за описторхозом и дифиллоботриозом в Сибири / В. К. Ястребов // ВНиСО, 2010. – № 10. – С. 6–9.
128. Ястребов В. К. Распространение дифиллоботриозов в Сибири и на Дальнем Востоке / В. К. Ястребов // Сборник трудов российской научно-практической конференции. – Тюмень : Изд-во Тюмен. гос. ун-та, 2015. – С. 233.
129. Ястребов, В. К. Факторы, определяющие формирование нозоареалов описторхоза и дифиллоботриоза в Сибири / В. К. Ястребов // Пест-менеджмент. – М. : НЧНОУ Институт пест-менеджмента. – 2013. – № 4 (88). – С. 16–20.
130. Adams, A. M. Diphyllbothriasis / A. M. Adams, R. L. Rausch // Pathology of infectious diseases. Vol. 2. – McGraw-Hill Professional, Stamford, 1997. – P. 1377–1390.
131. Diphyllbothriasis in Saudi Arabia / I. S. Alkhalife, R. R. Hassan, A. A. Abdel-Hameed, L. A. Al-Khayal // Saudi Med. – 2006. – Vol. 27. – P. 1901–1904.
132. Andersen, K. A Marine *Diphyllbothrium plerocercoid* (Cestoda, Pseudophyllidea) from blue whiting (*Micromestiuspoitasson*) / K. Andersen // Z. Parasitenkd. – 1977. – Vol. 52. – P. 289–296.
133. Andersen, K. A review of freshwater species of *Diphyllbothrium* with redescriptions and the distribution of *D. dendriticum* (Nitzsch, 1824) and *D. ditremum* (Creplin, 1825) from North America / K. Andersen, H. L. Ching, R. Vik // Can. J. Zool. – 1987. – Vol. 65. – P. 2216–2228.

134. Andersen, K. A key to three species of larval *Diphyllobothrium* Cobbold, 1858 (*Cestoda: Pseudophyllidea*) occurring in European and North American freshwater fishes / K. Andersen, D. I. Gibson // Syst. Parasitol. – 1989. – Vol. 13. – P. 3–9.
135. Mitochondrial DNA divergence in populations of the tapeworm *Diphyllobothrium nihonkaiense* and its phylogenetic relationship with *Diphyllobothrium klebanovskii* / N. Arizono, M. Shedko, M. Yamada, R. Uchikawa, T. Tegoshi, K. Takeda, K. Hashimoto // Parasitology International. – 2008. – Vol. 58, N 1. –P. 8.
136. Ash, L. R. Atlas of human parasitology / L. R. Ash. – 5th ed. – Chicago, IL : American Society for Clinical Pathology Press, 2007. –138p.
137. Baer, J. G. *Diphyllobothrium pacificum*, a tapeworm from sea lions endemic in man along the coastal area of Peru / J. G. Baer // J. Fish Res. Board Can. – 1969. – Vol. 26. – P. 717–723.
138. Human diphyllobothriasis in Peru / J. G. Baer, C. H. Miranda, R. W. Fernandez, T. J. Medina // Z. Parasitenkd. – 1967. – Vol. 28. – P. 277–289.
139. Beldsoe, G. E. Potential hazards in cold-smoked fish: parasites / G. E. Beldsoe, M. P. Oria // J. Food Sci. – 2001. – Vol. 66. – P. 1100–1103.
140. Brabec, J. Paraphyly of the Pseudophyllidea (Platyhelminthes: Cestoda): circumscription of monophyletic clades based on phylogenetic analysis of ribosomal RNA / J. Brabec, R. Kuchta, T. Scholz // Int. J. Parasitol. – 2006. – Vol. 36. – P. 1535–1541.
141. Byland, G. Pathogenic effects of diphillobothriid plerocercoids its hosts fishes / G. Byland // Comment. Biol. Soc. Sci. fenn. – 1972. – Vol. 58. – P. 3–11.
142. Multiple colonic aphthoid ulcers caused by *Diphyllobothrium latum* infection / T. J. Byun, D. S. Han, S. B. Ahn, H. S. Cho, C. S. Eun, J. S. Ryu, Y. H. Oh // Endoscopy. – 2009. – Vol. 41. – P. 181–182.

143. Chai, J. Y. Fish-borne parasitic zoonoses: status and issues / J. Y. Chai, K. D. Murrell, A. J. Lymbery // *Int. J. Parasitol.* – 2005. – Vol. 35. – P. 1233–1254.
144. Ching, H. L. The distribution of plerocercoids of *Diphyllbothrium dendriticum* (Nitzsch) in sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) smolts from Great Central Lake, British Columbia / H. L. Ching // *Can. J. Zool.* – 1988. – Vol. 66. – P. 850–852.
145. Choi, H. J. Four human cases of *Diphyllbothrium latum* infection / H. J. Choi, J. Lee, H. J. Yang // *Korean Journal of Parasitology.* – 2012. – Vol. 50, N 2. – P. 143–146.
146. *Diphyllbothriasis latum*: the first child case report in Taiwan / H. F. Chou, C. M. Yen, W. C. Liang, Y. J. Jong // *Kaohsiung J. Med. Sci.* – 2006. – Vol. 22. – P. 346–351.
147. The first human case of *Diplogonoporus balaenopterae* (Cestoda: Diphyllbothriidae) infection in Korea / D. I. Chung, H. H. Kong, C. H. Moon, D. W. Choi, T. H. Kim, D. W. Lee, J. J. Park // *Kor. J. Parasitol.* – 1995. – Vol. 33. – P. 225–230.
148. Cortelezzi, E. Los protozoos y vermes parásitos: apuntes de parasitología. Talleres Gráficos Sese / E. Cortelezzi. – La Plata, Argentina, 1913.
149. A rare case of diphyllbothriasis from Pondicherry, South India / C. S. Devi, C. Shashikala, S. Srinivasan, U. C. Murmu, P. Barman, R. Kanungo // *Indian J. Med. Microbiol.* – 2007. – Vol. 25. – P. 152–154.
150. Dick, T. Diphyllbothriasis: the *Diphyllbothrium latum* human infection conundrum and reconciliation with a worldwide zoonosis / T. Dick // *Food-borne parasitic zoonoses: fish and plant-borne parasites (world class parasites)*. Vol. 11. – London, United Kingdom : Springer, 2008. – P. 151–184.
151. Dick, T. A. Diphyllbothriasis: update on human cases, foci, patterns and sources of human infections and future considerations / T. A. Dick,

P. A. Nelson, A. Choudhury // Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health. – 2001. – Vol. 32. – P. 59–76.

152. Dupouy-Camet, J. Current situation of human diphyllbothriasis in Europe / J. Dupouy-Camet, R. Peduzzi // Euro Surveill. – 2004. – Vol. 9. – P. 31–34.

153. Diphyllbothrium spp.: um parasita emergence em São Paulo, associado ao consumo de peixe cru-sulis e sashimis / M. B. P. Eduardo, J. L. M. Sampaio, E. M. N. Gonçalves, V. L. P. Castilho, A. P. Randi, C. Thiago, E. P. Pimente, E. I. Pavanelli, R. P. Colleone, M. A. N. Vigilato, D. A. P. Marsiglia, M. B. Atui, D. M. A. G. V. Torres // Bol. Epidemiol. Paulista. – 2005. – Vol. 2, N 15. – P. 1–5.

154. Investigação epidemiológica do surto de difilobotríase, São Paulo, Maio de 2005 / M. B. P. Eduardo, J. L. M. Sampaio, M. L. V. S. Cesar, E. M. N. Gonçalves, V. L. P. Castilho, S. M. S. R. Albuquerque, E. I. Pavanelli, M. A. N. Vigilato, V. de Sá LÍrio, I. S. Mantesso, O. Zenebon, D. A. P. Marsiglia, M. B. Atui, R. S. M. Rodrigues, R. M. M. S. Rodrigues, D. M. A. G. V. Torres, W. C. Latorre, C. M. C. B. Fortaleza // Bol. Epidemiol. Paulista. – 2005. – Vol. 2, N 17. – P. 1–12.

155. Faust, E. C. Clinical parasitology / E. C. Faust, P. F. Russell, R. C. Jung // Lea and Febiger. – Philadelphia, PA, 1964. – P. 363–364.

156. *Diphyllbothrium pacificum* enniños del Peru / J. M. Flores, T. Vidaurre, M. L. Rivera, M. C. Rosales // Diagnóstico. – 2002. – Vol. 41. – P. 161–164.

157. *Diphyllbothrium latum* out break from marinated raw perch, Lake Geneva, Switzerland / Y. Jackson, R. Pastore, P. Sudre, L. Loutan, F. Chappuis // Emerg. Infect. Dis. – 2007. – Vol. 13. – P. 1957–1958.

158. Morphologic and genetic identification of *Diphyllbothrium nihonkaiense* in Korea / H. K. Jeon, K. H. Kim, S. Huh, J. Y. Chai, D. Y. Min, H. J. Rim, K. S. Eom // Korean J. Parasitol. – 2009. – Vol. 47. – P. 369–375.

159. Jögiste, A. Helminthiases in Estonia / A. Jögiste, O. Barotov // *Epinorth.* – 2001. – Vol. 1. – P. 60–61.
160. Kamo, H. Guide to identification of diphyllbothriid cestodes / H. Kamo // *GendaiKikaku.* – Tokyo, Japan, 1999. – P. 17.
161. Characterization of the complete mitochondrial genome of *Diphyllbothrium nihonkaiense* (Diphyllbothriidae: Cestoda), and development of molecular markers for differentiating fish tapeworms / K. H. Kim, H. K. Jeon, S. Kang, T. Sultana, G. J. Kim, K. Eom, J. K. Park // *Mol. Cells.* – 2007. – Vol. 23. – P. 379–390.
162. A case of *Diphyllbothrium latum* infection in a patient with abdominal pain / T. H. Kim, H. K. Kim, Y. S. Lee, D. H. Choi, S. H. Kang, S. J. Jeong, T. I. Park, I. T. Kim // *Korean J. Gastroenterol.* – 2007. – Vol. 50. – P. 384–387.
163. A mass occurrence of human infection with *Diplogonoporus grandis* (Cestoda: Diphyllbothriidae) in Shizuoka Prefecture, central Japan / H. Kino, W. Hori, H. Kobayashi, N. Nakamura, K. Nagasawa // *Parasitol. Int.* – 2002. – Vol. 51. – P. 73–79.
164. Kyrönseppä H. The occurrence of human intestinal parasites in Finland / H. Kyrönseppä // *Scand. J. Infect. Dis.* – 1993. – Vol. 25. – P. 671–673.
165. A case of *Diphyllbothrium latum* infection with a brief review of diphyllbothriasis in the Republic of Korea / E. B. Lee, J. H. Song, M. S. Park, B. K. Kang, H. S. Lee, Y. J. Han, H. J. Kim, E. H. Shin, J. Y. Chai // *Korean J Parasitol.* – 2007. – Vol. 45. – P. 219–223.
166. A case of *Diphyllbothrium yonagoense* infection / S. H. Lee, J. Y. Chai, T. S. Hong, W. M. Sohn, D. I. Choi // *Seoul J. Med.* – 1988. – Vol. 29. – P. 391–395.
167. Seven cases of *Diphyllbothrium latum* infection / S. H. Lee, J. Y. Chai, S. T. Hong, W. M. Sohn, S. Huh, E. H. Cheong, S. B. Kang // *Korean J. Parasitol.* – 1989. – Vol. 27. – P. 213–216.

168. Lloyd, S. Other cestode infections: hymenolepiosis, diphyllbothriosis, coenurosis, and other adult and larval cestodes / S. Lloyd, S. R. Palmer, L. Soulsby // *Zoonoses* / D. I. H. Simpson (ed.). –London, United Kingdom : Oxford University Press, 1998. – P. 651–663.
169. The phylogeny of diphyllbothriid tapeworms (Cestoda: Pseudophyllidea) based on ITS-2 rDNA sequences / F. J. Logan, A. Horák, J. Štefka, A. Aydogdu, T. Scholz // *Parasitol. Res.* – 2004. – Vol. 94. – P. 10–15.
170. A case of human diphyllbothriasis in northern Taiwan after eating raw fish fillets / H. Y. Lou, P. C. Tsai, C. C. Chang, Y. H. Lin, C. W. Liao, T. C. Kao H. C. Lin, W. C. Lee, C. K. Fan // *J. Microbiol. Immunol. Infect.* – 2007. – Vol. 40. – P. 452–456.
171. Imported diphyllbothriasis in Switzerland: molecular methods to define a clinical case of diphyllbothrium infection as diphyllbothrium dendriticum, august 2010 / F. de Marval, B. Gottstein, M. Weber, B. Wicht. – URL: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20355>.
172. Maejima, J. Morphological comparison of eggs between marine species and freshwater species in diphyllbothriid cestodes / J. S. Maejima, S. Yazaki, S. Fukumoto // *Jpn. J. Parasitol.* – 1983. – Vol. 32. – P. 27–42.
173. Magath, T. B. Experimental studies on *Diphyllbothrium latum* / T. B. Magath // *Am. J. Trop. Med. Hyg.* – 1929. – Vol. 1. – P. 17.
174. Margolis, L. Synopsis of the parasites of fishes of Canada / L. Margolis, J. R. Arthur // *Bull. Fish. Res. Board Can.* – 1979. – Vol. 199. – P. 1–269.
175. Diphyllbothriasis and sparganosis in Indonesia / S. S. Margono, R. W. Sutjahyono, A. Kurniawan, M. Nakao, T. Mulyani, T. Wandra // *Ito. Trop. Med. Health.* – 2007. – Vol. 35. – P. 301–305.
176. Matsuura, T. Comparison of restriction-fragment-length-polymorphisms of ribosomal DNA between *Diphyllbothrium nihonkaiense* and

D. latum / T. Matsuura, G. Bylund, K. Sugane // J. Helminthol. – 1992. – Vol. 66. – P. 261–266.

177. Muller, R. Worms and human disease / R. Muller. – 2nd ed. – Wallingford, United Kingdom : CABI Publishing, 2001. – P. 78.

178. Mitochondrial genomes of the human broad tapeworms *Diphyllobothrium latum* and *Diphyllobothrium nihonkaiense* (Cestoda: Diphyllbothriidae) / M. Nakao, D. Abmed, H. Yamasaki, A. Ito // Parasitol. Res. – 2007. – Vol. 101. – P. 233–236.

179. Nawa, Y. Sushi delights and parasites: the risk of fishborne and foodborne parasitic zoonoses in Asia // Y. Nawa, C. Hatz, J. Blum // Clin. Infect. Dis. – 2005. – Vol. 41. – P. 1297–1303.

180. Needham, P. R. The effect of nematode (*Philonema*) and cestoda (*Diphyllobothrium*) parasites in rainbow trout of Tebay Lake, Alaska / P. R. Needham, R. J. Behnke // Trans. Amer. Fish. Soc. – 1965. – Vol. 94. – Vol. 2. – P. 184–186.

181. *Diphyllobothrium latum* en Chile. II. Primera en cuestaen el Lago Colico / A. Neghme, V. Bertin, I. Tagke, R. Silva, J. Artigas // Bol. Inform. Parasitol. Chile. – 1950. – Vol. 5. – P. 16–17.

182. Nickerson, W. S. The broad tapeworm in Minnesota, with the report of a case of infection acquired in the state / W. S. Nickerson // JAMA. – 1906. – Vol. 46. – P. 711–713.

183. Oshima, T. Epidemiology of *Diphyllobothrium latum* infection in Japan, with special reference to infection of cherry salmon / T. Oshima, R. Wakai // Jpn. J. Antibiot. – 1983. – Vol. 36. – P. 566–572.

184. Pancharatnam, S. Human diphyllbothriasis: first report from India / S. Pancharatnam, E. Jacob, G. Kang // Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. – 1998. – Vol. 92. – P. 179–180.

185. Characterization of the mitochondrial genome of *Diphyllobothrium latum* (Cestoda: Pseudophyllidea) – implications for the phylogeny of eucestodes /

J. K. Park, K. H. Kim, S. Kang, H. K. Jeon, J. H. Kim, D. T. J. Littlewood, K. S. Eom // *Parasitology*. – 2007. – Vol. 134. – P. 749–759.

186. *Diphyllobothrium latum* accidentally detected by colonoscopy / S. C. Park, B. Keum, Y. T. Jeon, H. J. Chun // *Dig Liver Dis*. – 2011. – Vol. 43. – P. 664.

187. Molecular diagnosis of diphyllbothriasis in Spain, most presumably acquired via imported fish, or sojourn abroad / J. Pastor-Valle, M. González, J. P. Martín Cemente, F. J. Merino, B. Gottstein, T. Gárate // *Clin. Microbial*. – 2009. – Vol. 22, N 1. – P. 146–160.

188. Bothriocéphalose à *Diphyllobothrium nihonkaiense*: un nouveau risqué à la consommation de saumon / A. Paugam, H. Yéra, P. Poirier, A. Lebuissou, J. Dupouy-Camet // *Presse Médicale*. – 2009. – Vol. 38, N 4. – P. 7.

189. Raisanen, S. Fish tapeworm, a disappearing health problem in Finland / S. Raisanen, P. Puska // *Scand. J. Soc. Med*. – 1984. – Vol. 12. – P. 3–5.

190. Rausch, R. L. Natural transfer of helminths of marine origin to freshwater fishes, with observations on the *Diphyllobothrium alascense* / R. L. Rausch, A. M. Adams // *J. Parasitol*. – 2000. – Vol. 86. – P. 319–327.

191. Rausch, R. L. Studies on the helminth fauna of Alaska. XLIX. The occurrence of *Diphyllobothrium latum* (Linnaeus, 1758) (Cestoda: Diphyllbothriidae) in Alaska, with notes on other species / R. L. Rausch, D. K. Hilliard // *Can. J. Zool*. – 1970. – Vol. 48. – P. 1201–1212.

192. Regnath, T. Fisch band wurm. *Dtsch. Med. Wochenschr* / T. Regnath, D. Hassler, P. Kimming, R. Braun // *J. Parasitol.*, – 2004. – T. 129. – P. 2397–2398.

193. Reinhard, K. J. Diagnosing ancient diphyllbothriasis from Chinchorro mummies / K. J. Reinhard, O. Urban // *Mem Inst Oswaldo Cruz*. – Rio de Janeiro, 2003. – Vol. 98, Suppl. 1. – P. 191–193.

194. Diphyllbothriasis: the first case report from Malaysia / M. Rohela, I. Jamaiah, K. W. Chan, W. S. Wan-Yusoff // Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health. – 2002. – Vol. 33. – P. 229–230.
195. Influence of urbanization on the epidemiology of intestinal helminths of the red fox (*Vulpes vulpes*) in Geneva, Switzerland / L. A. Reperant, D. Hegglin, C. Fischer, L. Kohler, J. M. Weber, P. Deplazes // Parasitol. Res. – 2007. – Vol. 101. – P. 605–611.
196. Ridley, D. S. The value of formol-ether concentration of faecal cysts and ova / D. S. Ridley, B. C. Hawgood // Br. Med. – 1956. – Vol. 9. – P. 74.
197. Rohela, M. A second case of diphyllbothriasis in Malaysia / M. Rohela, I. Jamaiah, K. L. Goh, V. Nissapatorn // Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health. – 2006. – Vol. 37. – P. 896–898.
198. Nuevos casos de infección humana a por *Diphyllbothrium pacificum* (Nybelin, 1931) Margolis, 1956 en Chile y su probable relación con el fenómeno de El Niño, 1975–2000 / H. Sagua, I. Neira, J. Araya, J. González // Bol. Chil. Parasitol. – 2001. – Vol. 56. – P. 22–25.
199. Diphyllbothriasis, Brazil / J. L. Sampaio, V. P. de Andrade, M. C. Lucas, L. Fung, S. M. Gagliardi, S. R. Santos, C. M. Mendes, M. B. Eduardo, T. Dick // Emerg. Infect. Dis. – 2005. – Vol. 11. – P. 1598–1600.
200. Scholz, T. Update on the human broad tapeworm (genus diphyllbothrium), including clinical relevance / T. Scholz, H. Garcia, R. Kuchta, B. Wicht // Clin. Microbiol. – 2009. – Vol. 22, N 1. – P. 146–160.
201. Semenas, L. Difilobotriasis humana en la Patagonia, Argentina / L. Semenas, C. Úbeda // Rev. Saúde Pública. – 2001. – Vol. 31. – P. 302–307.
202. Semenas, L. New cases of human diphyllbothriosis in Patagonia, Argentine / L. Semenas, A. Kreitera, J. Urbanski // Rev. Saúde Pública. – 2001. – Vol. 35. – P. 214–216.

203. Tavares, L. E. R. Human diphyllbothriasis: reports from Rio de Janeiro, Brazil / L. E. R. Tavares, J. L. Luque, T. C. B. Bomfim // Rev. Bras. Parasitol. Vet. – 2005. – Vol. 14. – P. 85–87.

204. Introduced and native fishes as infection foci of *Diphyllbothrium* spp. in humans and dogs from two localities at Lake Panguipulli in Southern Chile / P. Torres, C. Cuevas, M. Tang, M. Barra, R. Franjola, N. Navarrete, A. Montefusco, L. Otth, G. Wilson, S. Puga, L. Figueroa, O. Cerda // Comp. Parasitol. – 2004. – Vol. 71. – P. 111–117.

205. Prevalencia y aspectos patológicos de la difilobotriasis en salmones de retorno, *Oncorhynchus kisutch*, de Coyhaique, XI Región de Chile / P. Torres, T. M. Vet, V. Cubillos, E. Aedo, R. Silva, O. Garrido, J. E. Aedo // Arch. Med. Vet., 1995. – J. 27. P. 107–114.

206. Von Bonsdorff B. Diphyllbothriasis in man / B. Von Bonsdorff. – N. Y. : Academic Press, 1977. – P. 33–39.

207. Von Bonsdorff, B. The fish tapeworm, *Diphyllbothrium latum*; a major health problem in Finland / B. von Bonsdorff // World Med. – 1964. – Vol. 11. – P. 170–172.

208. Ward, H. B. The introduction and spread of the fish tapeworm (*Diphyllbothrium latum*) in the United States. De Lamar Lectures, 1929–1930 / H. B. Ward. – Baltimore, MD : Williams & Wilkins Company, 1930. – P. 1–25.

209. Wicht, B. *Diphyllbothrium nihonkaiense* in Switzerland: first molecular evidence and case reports / B. Wicht, F. de Marval, R. Peduzzi // Parasitol. Int. – 2007. – Vol. 56. – P. 195–199.

210. Wicht, B. Ecology, epidemiology and molecular identification of the genus *Diphyllbothrium* Cobbold, 1858 in the Sub-Alpine Lakes region / B. Wicht // Ph. D. thesis. University of Geneva. – Geneva, Switzerland, 2008. – P. 74.

211. Wicht, B. First record of human infection with the tapeworm *Diphyllobothrium nihonkaiense* in North America / B. Wicht, T. Scholz, R. Kuchta // *Am. J. Trop. Med. Hyg.* – 2008. – Vol. 78. – P. 235–238.
212. Imported diphyllobothriasis in Switzerland: molecular evidence of *Diphyllobothrium dendriticum* (Nitzsch, 1824) / B. Wicht, F. de Marval, B. Gottstein, R. Peduzzi // *Parasitol. Res.* – 2008. – Vol. 102. – P. 201–204
213. Multiplex PCR for Differential Identification of Broad Tapeworms (Cestoda: *Diphyllobothrium*) Infecting Humans / B. Wicht, T. Yanagida, T. Scholz, A. Ito, J. A. Jiménez, J. Brabec // *J. Clin Microbiol.* – 2010. – Vol. 48, N 9. – P. 3111–3116.
214. Yamane, Y. *Diphyllobothrium nihonkaiense* and other marine-origin cestodes / Y. Yamane, K. Shiwaku // *Prog. Med. Parasitol. Jpn.* – 2003. – Vol. 8. – P. 245–254.
215. *Diphyllobothrium nihonkaiense* sp. nov. (Cestoda: Diphyllobothriidae) – revised identification of Japanese broad tapeworm / Y. Yamane, H. Kamo, G. Bylund, B.-J. P. Wikgren // *Shimane J. Med. Sci.* – 1986. – Vol. 10. – P. 29–48.
216. The taxonomic differences of embryonic hooks in *Diphyllobothrium nihonkaiense*, *D. latum* and *D. dendriticum* / Y. Yamane, K. Shiwaku, K. Abe, Y. Osaki, T. Okamoto // *Parasitol. Res.* – 1989. – Vol. 75. – P. 549–553.
217. Morphological and biological differences between *Diphyllobothrium* sp. ind. and *Diphyllobothrium ditremum* (Creplin, 1825) / S. Yazaki, S. Fukumoto, H. Kamo, Y. Yamane, K. Abe, K. Miyamoto // *Jpn. J. Parasitol.* – 1986. – Vol. 35. – P. 534–541.
218. Putative *Diphyllobothrium nihonkaiense* acquired from a Pacific salmon (*Oncorhynchus keta*) eaten in France: genomic identification and case report / H. Yéra, C. Estran, P. Delaunay, M. Gari-Toussaint, J. Dupouy-Camet, P. Marty // *Parasitol. Int.* – 2006. – Vol. 55. – P. 45–49.

219. Yéra, H. Use of nuclear and mitochondrial DNA PCR and sequencing for molecular identification of *Diphyllobothrium* isolates potentially infective for humans / H. Yéra, J. Nicoulaud, J. Dupouy-Camet // Parasite. – 2008. – Vol. 15. – P. 402–407.