

МЕТОДИКА ЗООЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В ЛЕСНЫХ ОЧАГАХ ГЕМОРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКИ С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ НА ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ

А.Д.Бернштейн, к.б.н.,

Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П.Чумакова РАМН

Детально описаны методы зоологических исследований геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС) в европейских лесных очагах и приведены формы обработки данных по численности и демографической структуре популяций основных хозяев этой инфекции. Применение указанных методов позволит грамотно проводить мониторинг активных очагов и своевременно прогнозировать возникающие здесь эпидемические вспышки. Аналогичные методы сбора и обработки зоологических материалов можно использовать при работе в природных очагах других зоонозов.

В нашей стране геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) занимает первое место среди зоонозных инфекций, причем за последние десятилетия заболеваемость возросла в 3,5 раза (4). Большая часть заражений этой хантавирусной инфекцией происходит в лесных очагах Европейской части России, где ее основной резервуар — рыжая полевка (*Clethrionomys glareolus*). Источником заражения людей могут служить как инфицированные полевки, так и продукты их жизнедеятельности (слюна, моча, экскременты), попадающие во внешнюю среду. Вирус проникает в организм человека в основном респираторным путем, через дыхательные пути. Участие в передаче возбудителя эктопаразитов не отмечено (1, 2).

При нетрансмиссивных зоонозах, к которым относится ГЛПС, риск заражения людей, помимо социальных факторов, напрямую связан с динамикой популяций основных хозяев инфекции. В результате многолетних наблюдений в лесных очагах ГЛПС было показано, что уровень заболеваемости тесно коррелирует с численностью инфицированных рыжих полевок ($r = 0.90$, $n = 15$), которая в свою очередь, зависит от общего обилия зверьков, сроков и интенсивности их размножения и возрастной структуры популяции (2). Отмечено, что в наиболее активных очагах (Среднее Поволжье, Предуралье), расположенных в оптимальном ареале рыжей полевки, эпидемические вспышки геморрагической лихорадки происходят на фоне повышенной численности этих зверьков в годы с ранним началом их размножения. Поэтому основное внимание при обследовании лесных очагов ГЛПС необходимо уделять изучению популяций рыжей полевки, а также других фоновых видов. К ним в первую очередь относятся красная полевка (*Cl. rutilus*) и мыши: желтогорлая (*Arodemus flavicolus*) и малая лесная (*Ar. talensis*), которые в некоторых частях европейского биоареала ГЛПС бывают достаточно многочисленны. Роль, этих грызунов в лесных очагах пока недостаточно ясна и прояснить ее могут только детальные наблюдения на активных очаговых территориях. Основные методы изучения теплокровных животных в естественных условиях, и в частности в природных очагах болезней человека, подробно описаны в работах В.В.Кучерука и Э.И.Коренберга, Н.В.Тупиковой, Н.А.Никитиной в книге „Методы изучения природных очагов бо-

лезней человека“ (6, 7, 8), а также в последней методической сводке Е.В.Карасевой и А.Ю.Телициной, „Методы изучения грызунов в полевых условиях“ (5). Здесь мы остановимся лишь на тех из них, которые в первую очередь нужно использовать при работе в лесных очагах ГЛПС, с учетом специфики и степени изученности этой инфекции.

Для того, чтобы проследить за динамикой популяционных процессов и выявить факторы, влияющие на интенсивность эпизоотий, необходимы регулярные зоологические наблюдения на стационарных участках в течение ряда лет. Участки (размером не менее 3-5 км².) выбирают в характерных для данной местности лесных биотопах, в местах, где происходят систематические заражения людей. Желательно, чтобы такие стационары были легко доступны для работы с ранней весны до поздней осени. В пределах обследованного участка выделяют наиболее типичные станции, соответствующие основным типам леса и прилегающих угодий (лесные массивы, балки и лесные полосы среди полей, сады и строения, примыкающие к лесу). Для более полной характеристики очаговой территории желательно вести регулярные наблюдения, по крайней мере, на двух-трех стационарах, т.к. отдельные участки могут значительно отличаться по динамике популяций основных носителей и эпидемическому проявлению. Особенно отчетливо эти отличия выражены в лесостепной зоне, где население грызунов даже в близлежащих лесных массивах подчас представляют автономные популяции, каждая со своей динамикой. В таких случаях данные, полученные на одном стационаре, нельзя экстраполировать на всю территорию области или республики.

Активность очагов ГЛПС связана с уровнем численности основных хозяев инфекции, демографической структурой их популяций (генеративным состоянием, возрастном-половым составом), а также с условиями существования зверьков на территории очагов. В соответствии с этим стационарные зоологические исследования включают в себя следующие разделы:

1. Учеты численности мелких млекопитающих

Численность мелких млекопитающих чаще всего определяют методом ловушко-линий, и показателем ее служит „процент попадания“, т.е. число особей, добы-

Таблица 1.

Результаты относительных учетов мелких млекопитающих

Дата	Место, станция	Всего			По видам (число экземпляров/ % попадания)					Примечания (аномальные погодные усл. и пр.)	
		л-с	добыто экз.	% попадания	полевки		мыши		земл. буроз.		прочие виды
					рыжая	красная	лесная	желтогорлая			

Примечания:

1. Вносить только те виды, которые встречаются на стационаре. Если есть другие многочисленные виды – внести дополнительно.
2. В полевых графах в числителе приводить количество добытых экземпляров, а в знаменателе – % попадания зверьков в ловушки.
3. В графу „прочие виды“ включать малочисленные виды и указывать их названия и количество.
4. В конце таблицы привести суммы абсолютных показателей и средние показатели численности на стационаре за один цикл учетов.

Таблица 2.

Соотношение видов мелких млекопитающих (по результатам учетов)

Дата	Место, станция	Всего добыто экз.	из них, %						
			полевки		мыши		землеройки-бурозубки	прочие виды	
			рыжая	красная	лесная	желтогор.			

См. примечания к таблице 1.

Таблица 3.

Генеративное состояние и участие в размножении грызунов фоновых видов

Дата	Место, станция	Возр. группа	самки								самцы			участие в размн., %					
			к-во обсл.	не рож.		беременные		кормящие		откормившие		кол-во обсл.	sp-	sp+	sp?	начало	конец	самки	самцы
				инф	в тече	1раз	≥ 2 раз	1раз	≥ 2 раз	1раз	≥ 2 раза								
				1а	1б	2а	2б	3а	3б	4а	4б	5	6	7а	7б	8	9		

- 1а – незрелые (инфантильные): матка нитевидная, без темных пятен; в яичниках – мелкие, незрелые фолликулы
 1б – созревшие, до оплодотворения: матка расширена (при тече – вздутая), белая или розовая; в яичниках крупные зрелые фолликулы
 2а – беременные первый раз: в первый день во влагалище „пробка“, матка вздута; со второго дня в яичниках желтые тела беременности; с 6-7-го дня в матке имплантированные эмбрионы, темных (плацентарных) пятен нет, соски не отсосаны; млечные железы развиваются в последние дни беременности
 2б – беременные второй и более раз: желтые тела и эмбрионы так же, как в предыдущем случае, кроме того, темные пятна, развитые млечные железы и/или отсосанные соски
 3а,б – Кормящие (не беременные): желтых тел и эмбрионов нет. В матке темные пятна одной (3а) или двух (3б) генераций. Млечные железы хорошо развиты, соски отсосаны
 4а,б – Откормившие (рожавшие): то же, что в пунктах 3а,б, но млечные железы не развиты, а соски могут быть менее заметны
 5 – незрелые (сперматогенеза нет): семенники не более 7 мм в длину, придатки семенника и семенные пузырьки не развиты
 6 – зрелые (со сперматогенезом): семенники 11-20 мм, придатки семенников и семенные пузырьки хорошо заметны, светлые, с тургором
 7а – начало созревания (сперматогенеза): семенники 8-10 мм, семенные пузырьки 3-5 мм, светлые, с тургором
 7б – конец сперматогенеза: семенники и семенные пузырьки увеличены, но темные, дряблые
 8 – включать только беременных и кормящих особей (пункты 2,3)
 9 – включать только зрелых особей (пункт 6)

Примечания:

1. Каждую особь вносить только в одну графу.
2. Обработку материалов по каждой возрастной группе производить отдельно. Если возраст не определен точнее, то подразделить всех зверьков по комплексу признаков на 2 группы: перезимовавшие и сеголетки (родившиеся в текущий сезон размножения).
3. При более детальном анализе размножения мелких грызунов в пункте 2 можно выделять самок на разных стадиях беременности: 1) первые 6 дней, до имплантации эмбрионов (заметны только желтые тела). 2) 7-14-й день и 3) 15-18-й день (рис.1). Это особенно важно в начале сезона размножения, чтобы знать более точные сроки появления первых оплодотворенных особей в разные годы и в разных биотопах. Кроме того, в ряде случаев среди повторно беременных, кормящих и откормивших самок (пункты 2б, 3б и 4б) можно выделить особей с 2, 3 и более генерациями, а также подсчитывать число самок, у которых беременность совмещена с лактацией.
4. В пунктах 5-7 даны средние размеры семенников и семенных пузырьков мелких грызунов в разных стадиях зрелости. Для проверки внешних признаков зрелости самцов желательно в начале работы просмотреть под микроскопом мазки из придатка семенника у особей с разными размерами генеративных органов, так как эти показатели отличаются у разных видов и изменяются в зависимости от внешних условий.

Таблица 4.

Величина выводка грызунов фоновых видов (по возрастным группам)

Дата	Место, станция	Всего		Количество выводков разной величины												Средняя величина выводка	Резорбция			
		выводков	эмбрионов														выводки		эмбрионы	
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		кол-во	%	кол-во	%

Примечания:

1. Величину выводка лучше всего определять по количеству эмбрионов. В некоторых случаях можно учитывать число плацентарных (темных) пятен у первородящих самок, если пятна одинаковой интенсивности и хорошо просматриваются. Количество желтых тел не характеризует величину выводка, т.к. часто превышает количество имплантирующихся эмбрионов.
2. Резорбирующиеся эмбрионы обычно учитывают при расчете средней величины выводка, а их доля свидетельствует о состоянии популяции. Так как резорбирующихся эмбрионов в выводке может быть несколько, то рассчитывают отдельно процент выводков с резорбцией и процент резорбирующихся эмбрионов.

Таблица 5.

Определение возраста рыжей и красной полевки по степени развития коренных зубов (по материалам Н.В. Тупикова и др., 1970)

Возраст	Особенности зубной системы					
1 месяц	Зуб не имеет корней и состоит только из призм. Между ними по всей высоте зуба проходят продольные бороздки, они открыты как со стороны жевательной поверхности, так и у основания зуба (рис. 2,1).					
2 месяца	Формируется шейка зуба. Зуб не имеет корней, он состоит из призматической коронки и зарождающейся или полностью сформировавшейся шейки. Бороздки у основания зуба полностью замкнуты и упираются в шейку зуба (рис. 2,2).					
3-12 месяцев	Зуб состоит из коронки (призматической части), шейки и двух корней (Рис. 2,3-12). Более точно возраст таких зверьков устанавливают по отношению длины корня к высоте всего зуба:					
	Возраст в месяцах	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12
	Доля корня от высоты всего зуба	Менее 1/4	1/4	1/3	1/2	2/3
>12 месяцев	Призматическая часть зуба (коронка) полностью стерта. Зуб состоит либо из корней и шейки, либо из одних корней. Шейка лишена характерных для коронки призм и борозд; по этому признаку зубы зверьков старше года легко отличить от более молодых (рис.2,12-16)					

тых на 100 ловушко-суток (л-с.) (5, 6). Для получения репрезентативных данных по численности необходимо набирать не менее 600 л-с на каждом стационаре и не менее 100-200 л-с в отдельных станциях за один цикл учета. Такие учеты в теплое время года желательно проводить 15-25 числа каждого месяца, в крайнем случае – через месяц (апрель, июнь, август, октябрь). В наиболее отдаленных очагах допустимы двухразовые учеты: весной (апрель) и в период сезонного пика численности (август–начало сентября). Форма обработки учетных данных представлена в таблице 1.

2. Определение видовой структуры населения мелких млекопитающих

Для этого по учетным данным вычисляют долю (%) каждого вида среди общего числа выловленных зверьков (табл. 2). Надо иметь в виду, что этот показатель не характеризует численность представителей разных видов, а лишь показывает место каждого из них в населении мелких млекопитающих („индекс доминирования“). Поэтому при анализе изменений обилия зверьков разных видов во времени и пространстве надо пользоваться „процентом попадания“. Однако, видовая структура населения в каждом конкретном случае достаточно информативна. В частности, эпизоотийные годы, как правило, характеризуются увеличением индекса доминирования основного хозяина (в европейских лесных очагах ГЛПС – рыжей полевки).

3. Определение генеративного состояния

Наиболее детально генеративное состояние определяют у представителей фоновых видов грызунов. При вскрытии у самок отмечают наличие (или отсутствие) желтых тел в яичниках, эмбрионов и плацентарных („темных“) пятен в матке, а также состояние млечных

желез. У самцов определяют наличие сперматогенеза по степени развития семенников и семенных пузырьков (8). Более подробно форма обработки материалов по размножению представлена в таблицах 3 и 4 и рисунке 1. Для анализа интенсивности размножения грызунов фоновых видов на каждом стационаре в один цикл учетов необходимо иметь не менее 30 экземпля-

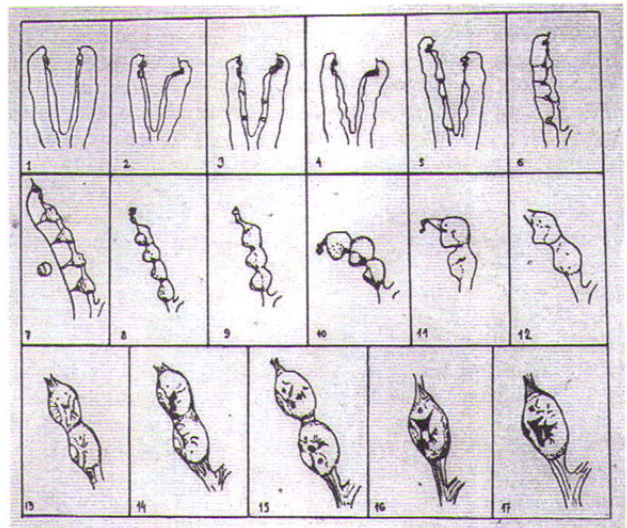


Рис.1. Внешний вид матки степной пеструшки в разные дни беременности (Тупикова, 1964). 1-7-й дни беременности. Аналогично развиваются эмбрионы у лесных и серых полевок; у мышей сроки беременности более растянуты (до 23-35 дней)

Возрастной состав популяций рыжей и красной полевков (по видам)

Дата	Место, станция	Пол	Всего экз.	Возраст в месяцах, абс.							Возраст в месяцах, %							
				1	2	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	>12	1	2	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12
		самки																
		самцы																
		всего																

Примечания:

1. В первой части таблицы — количество добытых экземпляров указанного возраста, во второй — доля (%) особей указанного возраста в общем вылове.
2. Для грызунов других видов можно использовать эту форму, заменив „возраст в месяцах” на возрастные группы: „перезимовавшие” и „сеголетки”.

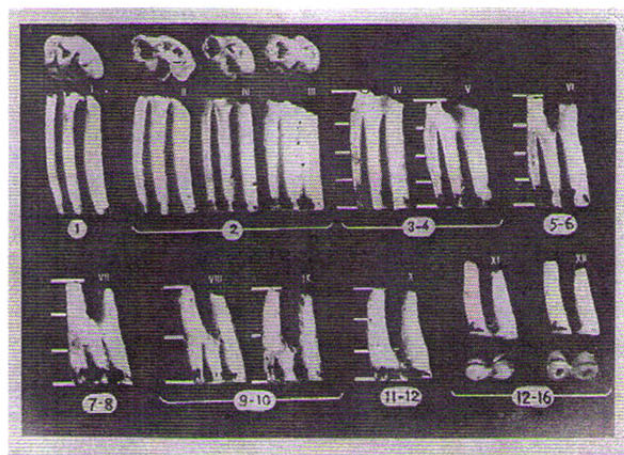


Рис.2. Стадии развития корня второго верхнего коренного зуба у рыжей и красной полевков (Тупикова и др. 1970).

1-16 — месяцы жизни; I-XII — условные возрастные группы

ров каждого из них. В периоды низкой численности приходится проводить дополнительный вылов зверьков, в местах их концентрации.

4. Определение возраста

Наиболее детально возраст устанавливают у грызунов фоновых видов, в основном — лесных полевков. Для рыжей и красной полевков Н.В.Тупикова с соавторами (9) разработали вполне доступную методику определения возраста с точностью до 1-2 месяцев по степени развития корневой системы зубов. Корни у зверьков этих видов появляются после 2 месяцев жизни и в дальнейшем их возраст можно установить по соотношению размеров корня и коронки. Удобнее всего для этого использовать второй коренной зуб верхней челюсти (табл. 5, рис 2). Для определения возраста этим методом непосредственно во время вскрытия зверьков острым скальпелем зачищают десну и кость по всей высоте зуба. Еще удобнее вырезать ножницами весь ряд верхних коренных зубов и зачистить средний из них. Можно также крепким пинцетом вычленив второй коренной зуб. Если зубы верхней челюсти повреждены, можно ту же процедуру проделать с нижней челюстью. При этом нет необходимости сохранять череп и проводить промеры, что сильно ускоряет процесс. У красно-серых полевков (*Cl. rufocanus*) корни появляются не ранее 7 месяцев, поэтому по развитию зубной системы можно устанавливать возраст только перезимовавших особей (8).

Как дополнительные признаки возрастной принадлежности, используют вес и размеры зверьков в сочетании с их генеративным состоянием. По этим признакам до июля — августа можно достаточно надежно отделить перезимовавших особей от сеголеток (родившихся в текущем году). Определение возраста мышей разных видов обычно ограничивается таким разделением, т.к. выделение более дробных возрастных групп достаточно трудоемко (8).

Особенно важно иметь данные по возрастному составу популяций грызунов в весенний период (апрель — май), т.к. они позволяют судить о сроках появления молодых ранних выводков. Проанализировав возрастную состав весенней популяции рыжей полевки, можно установить, происходило ли у них в этом году подснежное размножение, стимулирующее развитие эпизоотического процесса (2). Форма обработки данных по возрастному составу популяций рыжей и красной полевков представлены в таблице 6. Если среди обследованных зверьков выделены только „перезимовавшие” и „сеголетки”, в таблицу нужно включить эти две группы (вместо возраста в месяцах).

5. Сбор данных по урожаю кормов и погодным условиям

Для анализа полученного материала по численности и возрастно-функциональному составу популяций фоновых видов грызунов в разные годы необходимо также учитывать состояние их кормовой базы (особенно в зимний период) и погодные условия года: среднемесячную температуру, сумму осадков и высоту снежного покрова. Эти факторы прямо или косвенно влияют на популяции основных хозяев инфекции, а через них — на уровень эпизоотического и эпидемического процессов.

Метеоданные получают на метеостанциях, которые ближе всего расположены к стационарным участкам. Урожай основных пород деревьев и кустарников, которые обеспечивают грызунов калорийным семенным кормом в холодное время года, оценивают глазомерно и выражают в баллах (от 1 до 5). Кроме собственных наблюдений, можно использовать данные лесхозов. В хвойно-широколиственных и широколиственных лесах Среднего Поволжья и Предуралья, где расположены наиболее активные природные очаги ГЛПС, большую роль в питании зверьков в этот период играют семена липы, на которые надо обращать особое внимание. По нашим 30-летним наблюдениям в очагах ГЛПС Удмуртии, подснежное размножение рыжей полевки, после которого всегда следовал резкий подъем заболеваемости, происходило только в годы с обильным урожаем липы (4-5 баллов). Кроме того, на примере этих же очагов было показано, что рост числен-

ности полевков и ухудшение эпидемической обстановки по ГЛПС в последние два десятилетия происходили на фоне изменений климатических условий на Европейской части РФ (4).

Грамотно проведенные зоологические исследования на эндемичной по ГЛПС территории лесной и лесостепной зон и выявление "факторов риска" позволяют контролировать и прогнозировать эпидемическую ситуацию в наиболее активных очагах. Пример этому – своевременный прогноз резкого подъема заболеваемости, который произошел на обширной территории Среднего Поволжья и Предуралья в конце лета – осенью 1997 г., (3). Прогноз был сделан еще весной на основании анализа численности и возрастно-функциональной структуры популяций рыжей полевки. Основные критерии эпидемической активности очагов ГЛПС в этих регионах, на которые приходится большая часть заражений, даны в работе А.Д.Бернштейн с соавторами (2). Продолжение систематических зоологических наблюдений в разных частях нозоареала этой инфекции по единой методике поможет выявить комплекс факторов, способствующих развитию эпизоотий ГЛПС в различных природных условиях. Это позволит более обоснованно подходить к прогнозированию эпидемических вспышек на конкретных очаговых территориях. Приведенные здесь методы сбора и обработки зоологических материалов можно применять и при работе в очагах ГЛПС антропогенного ландшафта, а также в очагах других зоонозов, с учетом специфики основных хозяев инфекций.

Л и т е р а т у р а .

1. Бернштейн А.Д., Апекина Н.С., Копылова Л.Ф. и др. Сравнительная эколого-эпизоотическая характеристика лесных полевков (*Clethrionomys*) Среднего Предуралья // Зоол. журн. 1987, т.66, вып. 9 с.1397-1407.
2. Бернштейн А.Д., Апекина Н.С., Копылова Л.Ф. и др. Особенности проявления лесных очагов геморрагической лихорадки с почечным синдромом, расположенных в оптимуме ареала рыжей полевки // Рэт-инфо, 2000, № 3. с.11-17.

3. Бернштейн А.Д., Копылова Л.Ф., Апекина Н.С., Михайлова Т.В. О прогнозировании подъема заболеваемости геморрагической лихорадкой с почечным синдромом // 1997, Рэт – инфо, № 2 (22). с.10.

4. Бернштейн А.Д., Апекина Н.С., Коротков Ю.С. и др. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом: экологические предпосылки активизации Европейских лесных очагов // Изменения климата здоровье населения России в XXI веке. М.: „АдамантЪ”. 2004, с.105-113.

5. Карасева Е.В., Телицина А.Ю. Методы изучения грызунов в полевых условиях. М.: „Наука”, 1996, 236 с.

6. Кучерук В.В., Коренберг Э.И. Количественный учет важнейших теплокровных носителей болезней // Методы изучения природных очагов болезней человека. М., „Медицина”, 1964. с. 129-153.

7. Никитина Н.А. Изучение контактов и подвижности у мелких млекопитающих // Там же. с.192-205.

8. Тупикова Н.В. Изучение размножения и возрастного состава популяций мелких млекопитающих // Там же, с. 154 – 191.

9. Тупикова Н.В., Сидорова Г.А., Коновалова Э.А. Определитель возраста лесных полевков // Фауна и экология грызунов. М., „Моск. Ун-т”, 1970, вып. 9. с.160 –167.

The methods of zoological investigations in the forest foci of hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) in the European part of Russia

Bernshtain A.D., Cand. Sc. (Biol.), M.P. Chumakov's Institute of poliomyelitis and virus encephalitis, Russian Academy of Medical Science, Moscow

Methods of zoological investigations in the European forest foci of hemorrhagic fever with renal syndrome are described in detail and the forms of processed data (numbers and demographic population structure of the main hosts of this infection) are presented. Use of the stated methods will allow to carry out monitoring of active foci and to give the prognosis epidemic of outbreaks. The same methods of collection and processing of zoological data will be able to use in the work with other natural zoonosis foci.