

З.Ф. Дугаржапова¹, Н.Б. Бадмаев², В.Е. Такайшвили¹, Е.В. Кравец¹, Б.З. Цыдыпов³,
О.Н. Очиров⁴, А.А. Аюржанаев³, Б.В. Содномов⁴, Б.Б. Малаткина⁷, О.А. Зверева⁵,
О.П. Шахаева⁶, К.В. Булутов⁷, С.С. Ханхареєв⁸, М.В. Чеснокова¹, С.В. Балахонов¹

ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБСЛЕДОВАНИЕ НЕБЛАГОПОЛУЧНЫХ ПО СИБИРСКОЙ ЯЗВЕ ТЕРРИТОРИЙ РЕСПУБЛИКИ БУРЯТИЯ

¹Иркутский научно-исследовательский противочумный институт; ²Институт общей и экспериментальной биологии, ³Байкальский институт природопользования, ⁴Институт физического материаловедения, ⁵Бурятская республиканская научно-производственная ветеринарная лаборатория, ⁶Управление ветеринарии по Республике Бурятия, ⁷Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Бурятия, ⁸Управление Роспотребнадзора по Республике Бурятия, Улан-Удэ

Цель. Анализ результатов экологического и микробиологического обследования неблагополучных по сибирской язве территорий в Баргузинском и Курумканском районах Республики Бурятия для обоснования профилактических мероприятий. *Материалы и методы.* Использованы космические снимки и установлены пространственные и ландшафтные признаки скотомогильников. Отобраны и исследованы 174 пробы почвы и шесть проб костных останков сельскохозяйственных животных. *Результаты.* В августе 2014 г. проведено обследование 15 объектов в 12 стационарно-неблагополучных по сибирской язве пунктов Республики Бурятия. Разработан и предложен новый подход к выявлению заброшенных скотомогильников, в пробах которых обнаружена ДНК *Bacillus anthracis*. *Заключение.* Экологические свойства почв двух районов республики способствуют длительному сохранению возбудителя сибирской язвы в окружающей среде. Рекомендованы мероприятия по санитарной очистке неблагополучных территорий, утилизации биологических отходов и решение правового статуса заброшенных объектов.

Журн. микробиол., 2016, № 4, С. 22—28

Ключевые слова: сибирская язва, *Bacillus anthracis*, стационарно-неблагополучный по сибирской язве пункт, космические снимки, пространственные и ландшафтные признаки

Z.F. Dugarzhapova¹, N.B. Badmaev², V.E. Takaisvili¹, E.V. Kravets¹, B.Z. Tsydyпов³,
O.N. Ochirov⁴, A.A. Ayurzhanayev³, B.V. Sodnomov⁴, B.B. Malatkina⁷, O.A. Zvereva⁵,
O.P. Shakhayeva⁶, K.V. Bulutov⁷, S.S. Khankhareev⁸, M.V. Chesnokova¹, S.V. Balakhonov¹

ECOLOGICAL AND MICROBIOLOGICAL EXAMINATION OF TERRITORIES NON-WELFARE FOR ANTHRAX IN THE REPUBLIC OF BURYATIA

¹Irkutsk Research Institute of Plague Control, ²Institute of General and Experimental Biology, ³Baikal Institute of Nature Management, ⁴Institute of Physical Materials Science, ⁵Buryatia Republic Scientific-Production Veterinary Laboratory, ⁶Administration for Veterinary of the Republic of Buryatia, ⁷Centre of Hygiene and Epidemiology for the Republic of Buryatia, ⁸Administration of the Federal Service for Surveillance on Consumers' Rights Protection and Human Wellbeing for the Republic of Buryatia, Ulan-Ude, Russia

Aim. Analysis of results of ecological and microbiological examination of territories non-welfare for anthrax in territories of Barguzinsky and Kurumkansky districts of the Republic of Buryatia for justification of prophylaxis measures. *Materials and methods.* Space photographs were used and area and landscape signs of cattle grave sites were established. 174 samples of soil and 6 samples of bone remains of agricultural animals were obtained and studied. *Results.* Examination of 15 objects in 12 non-welfare for anthrax stationary points of the Republic of Buryatia was carried out in August 2014. A novel approach to detection of abandoned cattle grave sites, where DNA of *Bacillus anthracis* had been detected in samples, was developed and proposed. *Conclusion.* Ecological

properties of soils 2 districts of the Republic facilitate prolonged conservation of *B. anthracis* in the environment. Measures of sanitary clean-up of non-welfare territories, utilization of biological waste and decision on legal status of abandoned objects are recommended.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2016, No. 4, P. 22—28

Key words: anthrax, *Bacillus anthracis*, non-welfare for anthrax stationary point, space photography, area and landscape signs

ВВЕДЕНИЕ

Республика Бурятия находится в зоне высокого риска заражения сельскохозяйственных животных (СХЖ) и человека сибиреязвенной инфекцией и относится к территориям сибирского региона с выраженным эпизоотолого-эпидемиологическим неблагополучием по сибирской язве. В соответствии с Кадастром СНП РФ (2005 г.) в республике учтено 369 стационарно-неблагополучных по сибирской язве пунктов (СНП), из них 10 (2,7%) в Баргузинском и 17 (4,6%) в Курумканском районах [3]. В перечне скотомогильников (в том числе сибиреязвенных) Министерства сельского хозяйства Российской Федерации, расположенных на территории Сибирского федерального округа (2012 г.), указаны 19 сибиреязвенных скотомогильников: 10 в Баргузинском и 9 в Курумканском районах. Данных о точном местоположении других скотомогильников (захоронений) нет.

Споры *B. anthracis* длительно сохраняют жизнеспособность в почве и устойчивы к различным неблагоприятным воздействиям. Для вегетации и сохранения *B. anthracis* почвенный субстрат выступает питательной средой, а его физико-химические и экологические свойства влияют на темпы размножения и сохранение возбудителя [4]. Известно, что черноземные почвы, аллювиальные отложения, лессовидные глины и суглинки степных и лесостепных зон способствуют росту и развитию в них возбудителя сибирской язвы [4, 5]. Наличие микроэлементов, таких как кобальт и марганец, а также определенное количество питательного субстрата, кислотность, влажность и температура почв оказывают влияние на выживание возбудителя сибирской язвы в окружающей среде [7].

Цель работы — оценка результатов экологического и микробиологического обследования неблагополучных по сибирской язве территорий в Баргузинском и Курумканском районах Республики Бурятия для обоснования профилактических мероприятий.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведен анализ действующих нормативно-методических документов по обустройству скотомогильников. В работе использованы космические снимки территорий Баргузинского и Курумканского районов Республики Бурятия, на основании которых установлены пространственные и ландшафтные признаки скотомогильников. Полевые работы в двух районах республики проведены в августе 2014 г. Отобраны 174 пробы почвы (глубина 5 — 40 см) и шесть проб костных останков СХЖ на территории 12 СНП и 15 объектов (пять предполагаемых мест сибиреязвенных захоронений, восемь мест падежа СХЖ в период эпизоотии 2008 г., биотермическая яма Беккари и несанкционированный полигон биологических отходов) в соответствии с МУК 4.2.2413-08

«Лабораторная диагностика и обнаружение возбудителя сибирской язвы». Точки отбора фиксировали координатами GPS навигации.

Пробоподготовку и исследования проб почв, костных останков СХЖ проводили согласно требованиям МУК 4.2.24.13-08 в Испытательном лабораторном центре Иркутского научно-исследовательского противочумного института.

Для постановки ПЦР в режиме реального времени использовали тест-систему «АмплиСенс *Bacillus anthracis*-FRT» (ЦНИИЭ, Москва), для метода флуоресцирующих антител — два вида иммуноглобулинов диагностических флуоресцирующих сибиреязвенных (Ставрополь НИПЧИ и НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва).

Культурально-морфологические свойства выделенных культур, подозрительных на *B. anthracis*, проверяли на жидких (мясо-пептонный бульон и бульон Хоттингера, рН 7,2), полужидких (0,3% полужидкий агар) и плотных (казеиново-дрожжевой агар и агар Хоттингера, рН 7,2; кровяной агар с 5% дефибринированной крови барана; агар с добавлением 0,05 ЕД бензилпенициллина натриевой соли; 1% бикарбонатный агар) питательных средах. Бактериоскопию мазков проводили с окраской по Граму, Ожешко и Бурри-Гинсу на наличие спор и капсулы. Для оценки фаголизательности применяли бактериофаг Гамма А-26 (Ставрополь НИПЧИ).

Для проведения биопробы нативного материала и подозрительных на *B. anthracis* культур заражали внутрибрюшинно (0,5 мл) на одну пробу по три мыши обоих полов весом 18 ± 1 г. Животных наблюдали в течение 10 суток, затем усыпляли хлороформом, вскрывали для дальнейшего бактериологического исследования. При работе с лабораторными животными руководствовались правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных.

Токсичность и питательные возможности почвы изучали бактериологическим методом согласно методическим рекомендациям Иркутского противочумного НИИ «Изучение токсичности и питательных свойств проб почв стационарно-неблагополучных по сибирской язве пунктов и сибиреязвенных захоронений в отношении *B. anthracis*» (2013 г.). Токсичность почвы оценивали по наличию или отсутствию роста на чашках с агаризованной почвой культуры штамма *B. anthracis* СТИ-1 после инкубации при $37 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение 24 ч. Питательные возможности почвы определяли по срокам роста (от 1 до 7 суток) штамма *B. anthracis* СТИ-1 на голодном агаре с почвенным субстратом.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При ретроспективном анализе заболеваемости установлено, что с 1914 по 2008 г. в двух районах республики сибирская язва отмечалась у 1043 голов животных. В Курумканском районе за 1934 — 1976 г. заболела 731 голова СХЖ, из них пали 564 (77,2%). Последние проявления сибирской язвы относятся к 1976 г. (совхоз «Гаргинский») и 1979 г. (с. Арзгун), когда заболели по одной голове КРС. Официальных данных о заболевших людях в Курумканском районе нет. В Баргузинском районе за 1914 — 2008 г. выявлено 312 голов СХЖ, больных сибирской язвой, из них пали 208 (69,9%), зарегистрированы 13 случаев сибирской язвы среди людей [6].

Крупная эпизоотия сибирской язвы с эпидемическими осложнениями возникла в июне 2008 г. в с. Баянгол и прилегающих местностях Баргузинского района. Ранее случаи заболевания в этих местах регистрировались в 1936 — 1939 и 1954 — 1958 г. Эпизоотия началась в середине июня с падежа овец (38

голов) на пастбище местности Тогсохо. Животных закапывали в месте падежа, затем трупы эксгумировали и кремировали с последующим захоронением на санкционированном скотомогильнике с. Баянгол. Всего за период с 15 июня по 18 июля 2008 г. в селах Баянгол и Соел, местностях Даахин и Жаргаланта заболели и пали 59 голов СХЖ, из них МРС — 51, КРС — 4, лошади — 3, свиньи — 4. После вынужденного убоя бычка 28 июня на заимке Асули заболели восемь человек. Заражение людей произошло контактным (75 %) и алиментарным (25 %) путями. Во время вспышки культура *V. anthracis* выделена из проб мяса бычка, ноздри и уха павших овец, почвы с мест убоя бычка и падежа лошади, а также ДНК *V. anthracis* обнаружена в почве несанкционированного захоронения трупов овец в местности Тогсохо [2].

Для выявления местоположения сибиреязвенных захоронений и заброшенных скотомогильников (СМ) нами разработан и предложен новый подход, основанный на анализе космических снимков с применением пространственных и ландшафтных признаков для их распознавания, который ранее был применен для координатного анализа и распознавания почв межгорных котловин (Еравнинская, Нерчинская и Ундино-Даинская) Забайкалья [1].

На первом этапе проведен анализ полученных космических снимков и общих нормативных требований к размещению и строительству сибиреязвенных скотомогильников на территории Российской Федерации согласно ВП 13.3.1320-96 «Профилактика и борьба с заразными болезнями, общими для человека и животных. 6. Сибирская язва», СП 3.1.7.2629-10 «Профилактика



Расположение сибиреязвенных скотомогильников в Баргузинском и Курумканском районах Республики Бурятия и пространственные (справа в квадратах) характеристики заброшенного (вверху) и официального (внизу) объектов.

сибирской язвы», «Ветеринарно-санитарные правила сбора, утилизации и уничтожения биологических отходов» № 13-7-2/469. По итогам работы создан «портрет 1 СМ» для выявления заброшенных скотомогильников.

На втором этапе проведены полевые исследования для установления достоверных пространственных (размер и форма скотомогильника, траншеи и рвы, формы биотермических ям) и ландшафтных (рельеф — сухой возвышенный участок, открытые степные необлесенные уголья) характеристик «19 СМ» с точными географическими координатами (рис.).

В Курумканском районе обследованы два сибиреязвенных захоронения в местностях Ухэрин-Гол, Зун Поле и шесть СНП (Арзгун, Барагхан, Гарга, Курумкан, Могойто, Сахули). Установлено, что растительность вблизи скотомогильников представлена сосновым лесом, остепненным лугом на дерновых лесных, аллювиальных остепненных, каштановых и лугово-каштановых почвах. Пробы почвы Курумканского района имели средние (50%), низкие (10%) и крайне низкие (40%) питательные свойства для выживания и сохранения *V. anthracis*. Исследования на сибирскую язву 86 проб почвы показали отрицательные результаты.

В Баргузинском районе обследованы шесть СНП (Соел, Усть-Баргузин, Максимиха и места эпизоотии сибирской язвы 2008 г. в Баянголе, Асули, Тогсохо). В местности Тогсохо обозначены и огорожены три участка, где регистрировался падеж овец, их промежуточное захоронение и остатки жилых построек.

Растительность Баргузинского района характеризовалась в основном сосновым лесом со степными и залежными сообществами. Преобладание низких (52%) и наличие крайне низких (20%) питательных свойств по отношению к *V. anthracis* в пробах почвы Баргузинского района обусловлено подзолами иллювиально-гумусовыми с дерновыми таежными кислыми перемежающимися с аллювиально-дерновыми типами почв. В аллювиально-дерновых почвах СНП Асули, Баянгол, Соел и Тогсохо отмечались средние (28 %) питательные свойства. Исследования показали, что пробы почвы обоих районов обладали слабощелочной реакцией (7,0 — 7,2) и не токсичны по отношению к возбудителю сибирской язвы.

На основе анализа космических снимков и установленных пространственных и ландшафтных признаков выявлены четыре заброшенных скотомогильника на территории Баргузинского района Республики Бурятия. Первое предполагаемое место сибиреязвенного захоронения расположено на равнине в местности Урда-Займка северо-восточнее (в 2 — 3 км) с. Соел. Второе — на территории выпаса и бывшего загона скота в местности Табхандай. Следующие два неучтенных объекта отмечены в местностях Гаагин и Даахин. В ложбине местности Гаагин по правой стороне дороги в направлении горы Ясаа обнаружен несанкционированный полигон биологических отходов, где разбросаны останки трупов КРС и МРС, истлевшие от времени и атмосферного воздействия. В местности Даахин отмечена заброшенная биотермическая яма Беккари, вокруг которой лежат костные фрагменты СХЖ. На момент обследования состояние объектов не соответствовало нормативным требованиям ВСП № 13-7-2/469.

В 88 пробах почвы и шести костных останков животных Баргузинского района при исследовании бактериологическим методом обнаружены подозрительные на *V. anthracis* культуры в семи пробах (6,2%): в почве частной усадьбы с. Баянгол, местности Табхандай, несанкционированного полигона биологических отходов в местности Гаагин, первого участка в местности

Тогсохо, рядом с ямой Беккари в местности Даахин, а также в одной пробе кости КРС в местности Гаагин. Принадлежность к виду *B. anthracis* выделенных культур не подтверждена в основных идентификационных тестах по совокупности культурально-морфологических свойств.

Несмотря на отрицательные результаты бактериологического исследования, в четырех (1,5%) пробах методом ПЦР обнаружена ДНК внехромосомных элементов *B. anthracis*. В пробе почвы, отобранной рядом с ямой Беккари в местности Даахин, выявлены специфические фрагменты генов плазмид токсино- (pXO1) и капсулообразования (pXO2). В почве усадьбы Тогмидон (2 пробы) и пробе кости крупного рогатого скота в местности Гаагин получен положительный амплификационный ответ на наличие сигнальной последовательности гена плазмиды токсинообразования (pXO1). Исследование нативных проб с положительными результатами ПЦР было продолжено бактериологическим и биологическим методами. В суспензиях органов биопробных животных культуры *B. anthracis* и ее ДНК не выделены.

Обнаружение в ПЦР специфических участков одного или двух генов ДНК *B. anthracis* в почве и костных фрагментах животных на фоне отсутствия токсичности и наличия средних питательных свойств почвы СНП Асули, Баянгол, Соел и Тогсохо могут косвенно указывать на возможность длительного сохранения возбудителя сибирской язвы в одной из своих жизненных форм или стадий развития в окружающей среде.

На основании полученных результатов муниципальным образованиям Баргузинского района рекомендованы следующие мероприятия: 1. санитарная очистка потенциально опасных территорий частной усадьбы в с. Баянгол, местности Табхандай, несанкционированного полигона сброса биологических отходов местности Гаагин, первого участка местности Тогсохо и вокруг ямы Беккари в местности Даахин Баргузинского района; 2. использование метода кремации при утилизации биологических отходов в соответствии с требованиями ВП 13.3.1320-96 «Профилактика и борьба с заразными болезнями, общими для человека и животных. 6. Сибирская язва», СП 3.1.7.2629-10 «Профилактика сибирской язвы», ветеринарно-санитарных правил сбора, утилизации и уничтожения биологических отходов № 13-7-2/469; 3. решение вопроса правового статуса заброшенных скотомогильников и их обустройство, содержание или ликвидация.

Обследование СНП на территории Баргузинского и Курумканского районов Республики Бурятия показало, что основными резервуарами *B. anthracis* остаются места сброса биологических отходов и сибиреязвенные захоронения.

Положительные результаты исследования методом ПЦР проб почвы и костных фрагментов животных из заброшенных скотомогильников свидетельствуют о возможности длительного сохранения сибиреязвенного микроба в окружающей среде и являются индикаторами потенциальной биологической опасности заброшенных объектов.

Научно-исследовательская работа проведена в рамках проекта UNOPS (RPO GPO_2014-071 (IWC-78317), финансируемого Глобальным экологическим фондом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бадмаев Н.Б. Координатный анализ и распознавание почв. Улан-Удэ, Изд-во БГУ, 2015.
2. Дугаржапова З.Ф., Родзиковский А.В., Чеснокова М.В., Балахонов С.В., Болошинов А.Б., Ханхареев С.С. и др. Эпизоотолого-эпидемиологический анализ ситуации по

сибирской язве в Республике Бурятия (1995 — 2008 гг.). Эпидем. инф. бол. 2010, 6: 11-15.

3. Кадастр стационарно-неблагополучных по сибирской язве пунктов Российской Федерации: Справочник. Б.Л. Черкасский (ред.). М., Интерсэн, 2005.
4. Сибирская язва: актуальные аспекты микробиологии, эпидемиологии, клиники и диагностики, лечения и профилактики. Г.Г. Онищенко (ред.). М., ВУНМЦ МЗ РФ, 1999.
5. Черкасский Б.Л. Эпидемиология и профилактика сибирской язвы. М., Интерсэн, 2002.
6. Цыдыпов В.Ц., Галсанова Г.Д., Будаев Ю.Ж., Гармаев М.Ц. Эпизоотологический мониторинг сибирской язвы в регионе Центральной Азии. Улан-Удэ, Изд-во БГСХА, 2000.
7. Viator R.J., Rest R.F., Hildebrandt E., McGee D.J. Characterization of *Bacillus anthracis* arginase: effects of pH, temperature and cell viability on metal preference. BMC Biochem. 2008, 3: 9-15.

Поступила 10.03.16.

Контактная информация: Дугаржапова Зоригма Федоровна, к.м.н., 664047, Иркутск, ул. Трилиссера, 78, р.т. (3952)22-01-35

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

Е.Д.Савилов^{1,3}, В.А.Астафьев^{1,3}, М.К.Винокурова², О.Б.Огарков^{1,4},
С.Н.Жданова¹, Г.И.Алексеева², А.Ф.Кравченко²

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО ТУБЕРКУЛЕЗУ В ДАЛЬНЕВОСТОЧНОМ ФЕДЕРАЛЬНОМ ОКРУГЕ И РЕСПУБЛИКЕ САХА (ЯКУТИЯ)

¹Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека, ²Научно-практический центр «Фтизиатрия», ³ Государственная медицинская академия последиplomного образования, Иркутск; ⁴Иркутский государственный университет

Цель. Комплексная оценка эпидемиологической ситуации по туберкулезу на территории Дальневосточного федерального округа (ДФО) и Республики Саха (Якутия). **Материалы и методы.** Использовались данные (заболеваемость, распространенность, смертность, генотипы *Mycobacterium tuberculosis*), характеризующие эпидемиологическую ситуацию по туберкулезу за 2002 — 2014 гг. **Результаты.** Показано, что из всех округов РФ наиболее высокие показатели заболеваемости туберкулезом регистрировались в ДФО, а из всех территорий округа наиболее высокий ее уровень регистрировался в Приморском крае и Еврейской автономной области ($166,3 \pm 6,2$ / 10000 и $166,1 \pm 4,8$ / 10000 соответственно), а самый низкий — в Магаданской области и Якутии ($76,0 \pm 2,1$ / 10000 и $78,6 \pm 1,9$ / 10000 соответственно). В районах, располагающихся в арктической зоне республики Якутия, эпидемиологическая ситуация характеризуется как неблагоприятная. Кроме того, наиболее высокие показатели заболеваемости туберкулезом регистрировались среди малочисленных народов Севера. **Заключение.** Интегральная оценка основных эпидемиологических показателей позволяет проводить более глубокую сравнительную оценку эпидемиологической ситуации. С учетом такого подхода установлено, что в ДФО наиболее неблагоприятная ситуация по туберкулезу регистрируется в Приморском крае, а в Якутии имеет место наиболее благоприятная. Наблюдение за циркуляцией генотипов *M. tuberculosis* позволяет предположить возможность вытеснения генотипа S более агрессивными (трансмиссивными) субтипами генотипа Beijing.

Журн. микробиол., 2016, № 4, С. 28—34

Ключевые слова: туберкулез, заболеваемость, смертность, интегральный показатель, генотипы микобактерий туберкулеза, Республика Саха (Якутия), Дальневосточный федеральный округ