

На правах рукописи



Фёдорова Галина Анатольевна

**ОСОБЕННОСТИ ЭПИЗООТОЛОГИИ
И БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ИЗОЛЯТОВ
ВОЗБУДИТЕЛЯ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ
В АЛТАЙСКОМ КРАЕ**

16.00.03 — ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология,
микология с микотоксикологией и иммунология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Барнаул 2005

Работа выполнена на кафедре микробиологии и вирусологии Института ветеринарной медицины Алтайского государственного аграрного университета и Государственном научном учреждении Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной вирусологии и микробиологии Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии).

Научный руководитель: доктор ветеринарных наук, профессор
Барышников Пётр Иванович

Научный консультант: кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник
Селянинов Юрий Олегович

Официальные оппоненты: доктор ветеринарных наук,
профессор **Смирнов Павел Николаевич**;

кандидат ветеринарных наук
Бокова Татьяна Владимировна

Ведущая организация: Государственное научное учреждение
Институт экспериментальной ветеринарии
Сибири и Дальнего Востока

Защита диссертации состоится «12» мая 2005 г. в 10⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 220.002.02 в Институте ветеринарной медицины Алтайского государственного аграрного университета по адресу: 656922, Алтайский край, г. Барнаул, ул. Попова 276, ИВМ АГАУ, тел./факс (3852)31-30-48.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института ветеринарной медицины Алтайского государственного аграрного университета.

Автореферат разослан «7» *апрель* 2005 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
профессор



П.И. Барышников

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Сибирская язва (anthrax) является особо опасной сапрозоонозной инфекцией, встречающейся в настоящее время в виде спорадических случаев и редко в виде вспышек. Возбудитель сибирской язвы, активно распространяясь в абиотической среде, представляет потенциальную опасность для диких и сельскохозяйственных животных, а также человека. Несмотря на значительное снижение в последние десятилетия экономического ущерба от этого инфекционного заболевания в результате проведения широкомасштабных профилактических мероприятий болезнь продолжает регистрироваться во многих странах мира, в различных регионах России и в частности в Алтайском крае.

Решение проблемы ликвидации сибирской язвы во многом зависит от знания экологии возбудителя с учётом влияния на него различных факторов внешней среды, закономерностей распространения, особенностей эпизоотического проявления болезни. Наиболее широко эпизоотолого-эпидемиологические особенности сибирской язвы изучены на территории бывших союзных республик и в европейской части России (Шляхов Э.Н., 1963; Андроников А.В., 1968; Данилова К.С., 1971; Погребняк Л.И., 1974; Адилов Д.А., 1977; Жанузаков Н. Ж., 1978; Завируха А.И., 1979), в Западной Сибири (Джупина С.И., 1971; Коган И.Я., 1971), Буриятии (Найманов И.Л., 1971), Кемеровской (Аркатовский П.А., 1974) и Новосибирской (Шатыко П.Д., 1971) областях.

Проводимая специфическая профилактика лишь предупреждает заражение животных не исключая возможности возникновения болезни. Это связано со способностью спор возбудителя длительно сохраняться в почве, обуславливая устойчивое поддержание исходного почвенного очага, стационарность заболевания и его распространение (Черкасский Б.Л., 2002). Поэтому требуется детальный анализ эпизоотических очагов, изучение их территориального распределения и региональных особенностей проявления эпизоотического процесса за многолетний период.

Существование наряду с типичными представителями вида *B. anthracis*, множества атипичных форм, отличающихся по фенотипическим и генетическим признакам, является свидетельством высокой пластичности генома возбудителя сибирской язвы и значительных потенциальных возможностей, позволяющих быстро перестраиваться под действием биотических и абиотических факторов, приводящих к изменению тех или иных свойств микроба. Это определяет необходимость дальнейшего изучения биологических и генетических особенностей возбудителя сибирской язвы.

Обнаружение и сравнительное изучение фенотипических свойств и молекулярной организации типичных и измененных форм изолятов поможет лучше понять процессы и механизмы изменения возбудителя и самой болезни, позволит установить эволюционные взаимосвязи патогена, прояснить эпизоотологическую картину его распространения и оптимизировать систему мероприятий по защите животных от этой опасной болезни.

Цель и задачи исследования. Целью исследований явилось изучение особенностей эпизоотологии сибирской язвы сельскохозяйственных животных в различных природно-географических областях Алтайского края за 1960-2001 гг., характеристики вирулентных и авирулентных изолятов её возбудителя, и выявление внутривидовых различий с использованием традиционных и дополнительных методов исследований фенотипических признаков и генетических особенностей.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

- анализ эколого-эпизоотологических предпосылок возникновения сибирской язвы в Алтайском крае;
- эпизоотологическое исследование по сибирской язве сельскохозяйственных животных в различных природно-географических областях Алтайского края за 1960-2001 гг.;
- составить кадастр неблагополучных пунктов по сибирской язве животных Алтайского края (1927-2001 гг.);
- анализ эпизоотолого-эпидемиологических аспектов сибирской язвы в Алтайском крае;
- определить фенотипические свойства капсулообразующих и бескапсульных полевых изолятов возбудителя сибирской язвы, выделенных в различных природно-географических областях Алтайского края;
- определить наличие нуклеотидных последовательностей генов капсуло- и токсинообразования методом ПЦР у полевых изолятов *B. anthracis* и генетические различия между ними методом RAPD-фингерпринта.

Научная новизна работы. В условиях Алтайского края изучена эпизоотическая ситуация по сибирской язве у разных видов сельскохозяйственных животных за 40-летний период и определено влияние природно-географических факторов на её развитие и течение; проведён анализ эпизоотолого-эпидемиологической ситуации по сибирской язве; впервые в Алтайском крае составлен кадастр неблагополучных пунктов по сибирской язве животных (1927-2001 гг.); определены внутривидовые различия у полевых изолятов *B. anthracis*, выделенных на территории Алтайского края.

Практическая значимость работы. Кадастр неблагополучных пунктов по сибирской язве животных Алтайского края (1927-2001 гг.) рассмотрен, одобрен и рекомендован к внедрению научно-техническим советом Управления администрации Алтайского края (протокол №3 от 25.02.2004 г.) и подсекцией «Инфекционная патология животных в регионе Сибири и Дальнего Востока» отделения ветеринарной медицины СО РАСХН (протокол №12 от 27.05.2004 г.).

Комплекс методов оценки проявления фенотипических признаков и генетических свойств предложен в качестве дополнения к методическим указаниям «Лабораторная диагностика сибирской язвы у животных и людей, обнаружение возбудителя в сырье животного происхождения и объектах внешней среды».

Основные положения диссертационной работы, выносимые на защиту:

- анализ эколого-эпизоотологических предпосылок возникновения сибирской язвы и эпизоотической ситуации по сибирской язве у разных видов

сельскохозяйственных животных в различных природно-географических областях Алтайского края за 1927-2001 гг.;

- материалы кадастра неблагополучных пунктов по сибирской язве животных Алтайского края;

- использование комплекса дополнительных фенотипических характеристик и изучение геномного полиморфизма методом RAPD-fingerprinting позволяющие выявлять внутривидовые различия у изолятов *V.anthraxis*.

Апробация работы. Материалы диссертации доложены и обсуждены на международных научно-практических конференциях (г. Покров, 2003, 2004; Улан-Удэ, 2004; г. Барнаул, 2004;); всероссийской научно-практической конференции (г. Москва, 2003); сибирской научно-практической конференции (г. Новосибирск, 2004); региональной научной конференции (г. Барнаул, 2003); научно-производственной конференции (г. Омск, 2004); научно-практической конференции молодых учёных (г. Барнаул, 2003); городской научно-практической конференции молодых учёных (г. Барнаул, 2003).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 15 научных работ.

Личный вклад. Представленные в диссертационной работе экспериментальные исследования, теоретический и практический анализ полученных результатов проведены автором самостоятельно. В выполнении работы по разделам 2.9 и 2.10 оказали практическую и консультативную помощь сотрудники ГНУ ВНИИВВиМ: заведующий лабораторией «Биофизики» д.б.н. Цыбанов С.Ж. и м.н.с. лаборатории «Экспериментальной микробиологии» Егорова И.Ю., которым автор выражает искреннюю признательность.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 152 страницах машинописного текста и включает введение, обзор литературы, материалы и методы исследований, результаты собственных исследований, обсуждение полученных результатов, выводы и приложения. Диссертация иллюстрирована 38 рисунками и 12 таблицами. Список литературы содержит 200 источников, в т.ч. 53 зарубежных авторов.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы и методы исследований

При составлении кадастра, изучении и анализе эпизоотолого-эпидемиологической ситуации по сибирской язве в Алтайском крае использовались материалы ветеринарной статистической отчетности с 1927 по 2001 гг. и центра Госсанэпиднадзора с 1953 по 2003 гг.; списки сельских населенных пунктов и сельскохозяйственных предприятий в разные годы; административно-территориальные изменения Алтайского края.

Эпизоотологическое исследование проведено с 1960 по 2001 гг. с использованием «Методических указаний по применению статистических данных в эпизоотологии» (Сосов Ф.Ф., Глушко А.А., 1974), «Методических указаний по эпизоотологическому исследованию» (Бакулов И.А и др., 1975),

«Материалов и методов эпизоотологической нозогеографии» (Нуйкин Я.В., 1977), методических рекомендаций «Изучение эпизоотической ситуации инфекционных болезней сельскохозяйственных животных в области (крае, АССР)» (Джупина СИ., Ведерников В.А., 1981).

Для проведения экспериментальных исследований использовали вакцинные штаммы *V. anthracis* - 55-ВНИИВВиМ, СТИ-1 и 8 полевых изолятов возбудителя сибирской язвы, выделенных в различных природно-географических областях Алтайского края (табл. 1).

Таблица 1

Характеристика полевых изолятов возбудителя сибирской язвы

№ п/п	Номер штамма	Год выделения	Место выделения	Объект выделения	Природно-географическая область
1.	№638	1986	с/з Прутской, Павловский р-н	комбикорм	лесостепная
2.	№633	1986	с. Поповичи, Целинный р-н	органы от павшего животного (крс)	лесостепная
3.	№5	1989	с/з Сваловский, Чарышский р-н	абортированный плод (крс)	предгорная
4.	№174	1989	с. Круглые Семенцы, Егорьевский р-н	органы от павшего животного (крс)	степная
5.	№214	1989	з/с Николаевский, Поспелихинский р-н	органы от павшего животного (крс)	степная
6.	б/н 1	1990	свинокомплексе Озёрский, Тальменский р-н	органы от вынужденно убитого животного (свинья)	лесостепная
7.	б/н 2	1991	с/з Вознесенский, Родинский р-н	органы от павшего животного (крс)	степная
8.	№868	2002	с. Залесово, Залесовский р-н	органы павшего животного (крс)	салаирская

Культивирование микроорганизмов осуществляли на жидких и плотных питательных средах, а споры получали путем выращивания клеток на картофельном агаре при температуре $36 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение 7 суток.

Изучение биологических свойств исследуемых культур микроорганизмов проводили в соответствии с «Методическими указаниями по лабораторной диагностике сибирской язвы у животных и людей и обнаружению возбудителя сибирской язвы в сырье животного происхождения и объектах внешней среды» (1989). Гемолитическую активность определяли на двухслойном кровяном агаре (Селянинов Ю.О., Егорова И.Ю., 2003), протеолитическую активность и синтез желтого пигмента - на однослойной казеиновой среде, пигментсорбирующую активность на L-агаре с добавлением конго красного до конечной концентрации 25 мг/мл (Шевченко О.В., 1999), лецитиназную активность - на твердой питательной среде, содержащей 0,4% лецитина (Pomerantsev A.P. et. al., 1997) и фосфатазную активность - на агаре СВК с добавлением 0,01% фенолфталеинфосфата натрия.

Определение капсуло- и токсинообразования при дифференциации изолятов по вирулентности *in vitro* проводили по методике Е.И. Еременко (1997)

на среде СОПЭК, а вирулентность - на беспородных белых мышах (15-20 г). Значения LD₅₀ вычисляли по формуле Кербера в модификации И.П. Ашмарина и А.А. Воробьева (1962).

Выделение ДНК для проведения типирования штаммов с помощью одно- (RAPD-fingerprinting) и двухпраймерной ПЦР проводили фенольно-детергентным методом. Для выявления rag- и sar-генов использовали праймеры, рекомендованные МЭБ. Для RAPD-анализа применяли три олигонуклеотидных праймера предложенных для выявления геномного полиморфизма *B. anthracis* (Егорова И.Ю., 2003). Амплификацию осуществляли в режиме 35 циклов - денатурация (94°C, 0,5 мин), отжиг (55°C, 0,5 мин), полимеризация (72°C, 0,5 мин) и заключительная полимеризация в течение 3 мин. Фрагменты ПЦР анализировали в 1,5% геле агарозы и 6% ПААГ.

Анализ и статистическую обработку полученных результатов проводили общепринятыми методами, используемыми в биологии (Лакин Г.Ф., 1980; Таршиш М.Г., Константинов В.М., 1975; Левкин, 1980; Коростелева Н.И., Рабинович И.Е., 1992). Достоверность статистической разницы между средними величинами определяли по разностному методу Стьюдента-Фишера.

2.2. Эколого-эпизоотологические аспекты сибирской язвы в Алтайском крае

Наибольшее число неблагополучных пунктов зарегистрировано в восточной и юго-восточной (382), а также северо-западной (258) частях степной области, в восточной и юго-восточной частях (423) лесостепной области, в западной (285) и восточной (241) частях предгорной области и в центральной части (261) салаирской области. Оказалось, что здесь наиболее благоприятные условия для возникновения сибирской язвы: почвы представлены лугово-чернозёмными, пойменными, лугово-каштановыми типами, выщелоченными, обыкновенными и оподзоленными чернозёмами с повышенным, средним или малым содержанием гумуса и нейтральной, слабощелочной или слабокислой реакцией почвенного раствора.

Дерново-подзолистые песчаные почвы степной и лесостепной областей с малым содержанием гумуса и кислой реакцией почвенного раствора, горно-лесные серые оподзоленные, бурые чернозёмовидные почвы предгорной области и горно-лесные дерново-глубокоподзолистые почвы салаирской с высоким содержанием гумуса и кислой реакцией почвенного раствора создают неблагоприятные условия для развития сибиреязвенной инфекции.

2.3. Анализ эпизоотической ситуации по сибирской язве сельскохозяйственных животных в различных природно-географических областях Алтайского края

Динамика неблагополучных пунктов по сибирской язве сельскохозяйственных животных по природно-географическим областям Алтайского края анализировалась с 1927 по 2001 гг., а эпизоотическая ситуация - с 1960 по 2001 гг.

2.3.1. Динамика неблагополучных пунктов и числа заболевших животных

За данный период зарегистрировано 2802 пункта. В 1931-1940 гг. наблюдалось увеличение количества неблагополучных пунктов с 47 до 308, с максимумом неблагополучия в 1937 г. (311). В 1941-1972 гг. их количество снизилось с 72 до 5. В 1973-2001 гг. наблюдаются единичные случаи заболевания. В 1929, 1976, 1980, 1983-1985, 1987-1988, 1994, 1995 гг. сибирская язва в Алтайском крае не диагностировалась. При этом в степной области установлено 1034, в лесостепной - 770, в предгорной - 698 и в салаирской - 300 неблагополучных пунктов.

Динамика неблагополучных пунктов и числа заболевших животных в большинстве случаев находились в прямой зависимости друг от друга, т.е. с увеличением количества неблагополучных пунктов возрастало число заболевших животных.

Анализ доли неблагополучных пунктов частного сектора и хозяйств Алтайского края показал, что наблюдается их динамичное снижение в хозяйствах с 97,6% в 1927-1937 гг. до 25% в 1992-2001 гг. и возрастание в частном секторе, соответственно, с 2,4 до 75% (рис. 1).

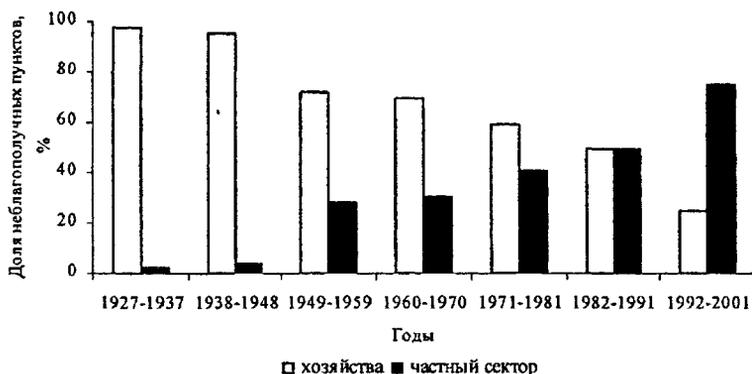


Рис. 1. Доля неблагополучных по сибирской язве пунктов животных частного сектора и хозяйств Алтайского края за 1927 - 2001 гг.

2.3.2. Пораженность отдельных видов сельскохозяйственных животных

За исследуемый период в степной области Алтайского края зарегистрировано 58 неблагополучных пунктов по сибирской язве сельскохозяйственных животных. Из них среди крупного рогатого скота - 37 (63,8%), свиней - 12 (20,8%), мелкого рогатого скота - 5 (8,6%), лошадей - 2 (3,4%) и нескольких видов - 2 (3,4%). В лесостепной области - 44: у крупного рогатого скота - 31 (70,5%), свиней - 7 (15,9%), мелкого рогатого скота - 3 (6,8%), лошадей - 2 (4,5%) и нескольких видов животных - 1 (2,3%). В предгорной области установлено 63 неблагополучных пункта: крупный рогатый скот - 44 (69,8%), свиньи - 14 (22,3%), мелкий рогатый скот - 4 (6,3%) и несколько видов животных - 1 (1,6%). В салаирской области зарегистрировано 11 неблагополуч-

ных пунктов у 2 видов сельскохозяйственных животных: крупный рогатый скот - 6 (54,5%), свиньи - 4 (36,4%) и несколько видов животных - 1 (9,1%).

Абсолютное большинство заболевших и павших животных в лесостепной, предгорной и салаирской областях приходится на крупный рогатый скот и свиней, а в степной - крупный и мелкий рогатый скот.

23.3. Удельная доля болезни

Удельная доля сибирской язвы в общей инфекционной заболеваемости зависит от вида животных. В Алтайском крае у крупного рогатого скота данный показатель в первом, втором и четвертом периодах исследования колеблется от 2,97 до 3,27%, а в третьем наблюдается его снижение до 0,79%. У свиней происходит его снижение в первых трёх периодах с 7 до 0,59% и последующее возрастание до 5,37%. У мелкого рогатого скота и лошадей в первых трёх периодах показатель снижается до 0, а в четвертом возрастает только у лошадей до 3,99% (рис. 2).

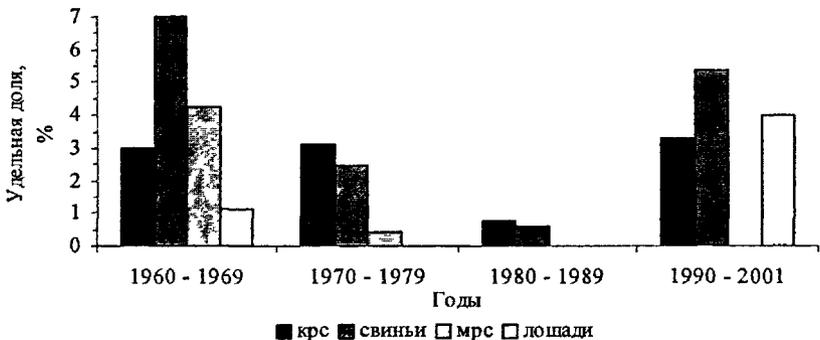


Рис 2 Удельная доля сибирской язвы в общей инфекционной заболеваемости животных в Алтайском крае за 1960 - 2001 гг.

Анализируя данный показатель по областям установили, что у крупного рогатого скота в 1960-1989 гг. он снижается в степной области с 0,8 до 0,46%, в лесостепной - с 0,93 до 0,25%. В предгорной и салаирской областях наблюдается увеличение удельной доли до 1,7 и 0,46% и снижение в 1980-1989 гг. до 0,08% и 0, соответственно. В 1990-2001 гг. показатель возрастает во всех областях на 0,2-0,5%, а в салаирской - на 1,2%.

У свиней удельная доля болезни снижается в 1960-1989 гг. в степной области с 1,07%, в лесостепной - с 1,27% и салаирской - с 2,09% до 0, в предгорной - с 2,6 до 0,6%, возрастает в 1990-2001 гг. до 0,42, 0,69, 4,3% и отсутствует в салаирской, соответственно.

У мелкого рогатого скота происходит снижение удельной доли сибирской язвы в 1960-1989 гг. в степной области с 1,08%, в лесостепной - с 2,6%, предгорной - с 0,5% до 0 и полное отсутствие в последующие годы.

У лошадей в 1960-1979 гг. в степной области показатель отсутствует, а в лесостепной снижается с 1,1% до 0 и возрастает в 1990-2001 гг. до 1,19 и 2,8%, соответственно.

2.3.4. Сезонность болезни

В Алтайском крае сибирская язва сельскохозяйственных животных регистрируется в течение всего года, достигая наибольшей интенсивности в летние месяцы. В степной области пик заболеваемости у крупного рогатого скота приходится на апрель-август, у свиней - май и август, у мелкого рогатого скота — апрель и август, у лошадей - июль. В лесостепной области максимальный подъём заболеваемости у крупного и мелкого рогатого скота происходит в июне, июле, у свиней - марте, у лошадей - июле. В предгорной области заболеваемость сибирской язвой регистрируется в течение всего года, достигая наибольшей интенсивности у крупного рогатого скота в июне и августе, у свиней - в июне, июле, у мелкого рогатого скота — в августе. В салаирской области наблюдаются единичные случаи заболевания крупного рогатого скота с марта по сентябрь, свиней - с апреля по июль, с пиком в июне.

2.3.5. Заболеваемость, смертность, летальность

У крупного рогатого скота средние показатели заболеваемости, смертности и летальности снижаются в 1960-1979 гг. в степной области с $0,14 \pm 0,06$ ($P > 0,05$) до $0,009 \pm 0,005$ ($P > 0,1$), с $0,09 \pm 0,05$ ($P < 0,1$) до $0,009 \pm 0,005$ ($P > 0,1$) и с $73\% \pm 13$ ($P < 0,1$) до $30\% \pm 15$ ($P < 0,1$), соответственно; в лесостепной - с $0,06 \pm 0,03$ ($P > 0,05$) до $0,01 \pm 0,01$ ($P > 0,1$), с $0,05 \pm 0,02$ ($P > 0,02$) до $0,01 \pm 0,007$ ($P > 0,1$) и с $76 \pm 13,25$ ($P < 0,001$) до $40\% \pm 16$ ($P < 0,1$). В салаирской области показатели заболеваемости и смертности равны и снижаются в данном периоде исследования с $0,03 \pm 0,02$ ($P > 0,1$) до $0,02 \pm 0,01$ ($P > 0,1$), а летальность с $20\% \pm 13,33$ ($P > 0,1$) до $10\% \pm 6$ ($P > 0,1$). В предгорной области, наоборот, наблюдается возрастание заболеваемости с $0,09 \pm 0,05$ ($P > 0,05$) до $0,28 \pm 0,24$ ($P > 0,1$), смертности с $0,05 \pm 0,01$ ($P > 0,02$) до $0,07 \pm 0,03$ ($P > 0,05$), летальности $69,6 \pm 13,69$ ($P < 0,001$) до $81,5\% \pm 12,4$ ($P < 0,001$) с последующим снижением только в 1980-1989 гг. В 1990-2001 гг. интенсивные показатели эпизоотического процесса не высокие и составляют во всех областях: заболеваемость - $0,02-0,04$, смертность - $0,02-0,03$ и летальность - $17-33\%$.

У свиней динамика этих же показателей позволила установить выраженную тенденцию к снижению в 1980-1989 гг. заболеваемости, смертности и летальности в степной, лесостепной, салаирской областях до 0, а в предгорной до $0,007 \pm 0,007$ ($P > 0,1$), $0,007 \pm 0,007$ ($P > 0,1$) и $10\% \pm 10$ ($P > 0,1$), соответственно. В 1990-2001 гг. наблюдается возрастание в последнем периоде заболеваемости, смертности до $0,004-0,02$ и летальности до $8-25\%$ во всех областях, за исключением салаирской, где показатели равны 0.

У мелкого рогатого скота заболеваемость, смертность и летальность характеризуются неуклонным снижением в 1960-1989 гг. в степной области с $0,06 \pm 0,03$ ($P > 0,1$), $0,06 \pm 0,03$ ($P > 0,1$) и $44,4\% \pm 16,67$ ($P > 0,02$), соответст-

венно; в лесостепной с $0,02 \pm 0,01$ ($P > 0,05$), $0,02 \pm 0,01$ ($P > 0,05$) и $30\% \pm 15,28$ ($P > 0,05$); в предгорной с $0,08 \pm 0,07$ ($P > 0,1$), $0,08 \pm 0,07$ ($P > 0,1$) и летальности с $30\% \pm 15,28$ ($P > 0,05$) до 0 и отсутствием в 1990-2001 гг.

У лошадей в степной области в 1960-1989 гг. показатели отсутствуют и резко возрастают в 1990-2001 гг.: заболеваемость до $0,17 \pm 0,17$ ($P > 0,1$), смертность - до $0,12 \pm 0,12$ ($P > 0,1$) и летальность - до $6,1\% \pm 6,1$ ($P > 0,1$). В лесостепной области заболеваемость и смертность динамично снижаются в 1960-1989 гг. с $0,03 \pm 0,03$ ($P > 0,1$), летальность с $10\% \pm 10$ ($P > 0,1$) до 0 и возрастают в последнем периоде до $0,03 \pm 0,03$ ($P > 0,1$) и $8,3\% \pm 8,3$ ($P > 0,1$), соответственно.

2.3.6. Индекс эпизоотичности

У крупного рогатого скота индекс эпизоотичности снижается в 1960-1989 гг. в степной и лесостепной областях до 0,2, в предгорной - до 0,1 и в салаирской - с 0,2 до 0, а в 1990-2001 гг. возрастает до 0,25, 0,3, 0,25 и 0,17, соответственно. У свиней данный показатель в 1960-1989 гг. снижается в степной, лесостепной, салаирской областях до 0 и в предгорной - с 0,5 до 0,1, а в 1990-2001 гг. возрастает во всех областях, за исключением салаирской, где он равен 0. У мелкого рогатого скота наблюдается снижение показателя в 1960-1989 гг. в степной области с 0,4, в лесостепной и предгорной с 0,3 до 0 и отсутствие в последующие годы. У лошадей в 1960-1989 гг. индекс эпизоотичности в степной области равен 0, в лесостепной снижается с 0,1 до 0, а в 1990-2001 гг. возрастает до 0,08 и 0,1, соответственно.

2.3.7. Коэффициент очаговости и уровень вакцинации

У крупного рогатого скота в 1960-1979 гг. наблюдается повышение уровня вакцинации в степной области с 97 до 103%, в лесостепной с — 99 до 128% и в салаирской - со 100 до 126 %, при этом коэффициент очаговости снижается с 2,7 до 0,3, с 0,9 до 0,4 и с 0,4 до 0, соответственно. В предгорной же области повышение уровня вакцинации с 96 до 128% привело к росту коэффициента очаговости с 1,6 до 3,2 (корреляционная связь обратная, слабой степени). В 1980-1989 гг. проводимая специфическая профилактика не способствовала снижению заболеваемости, а в 1990-2001 гг. уровень вакцинации снизился во всех областях на 19-43%, а коэффициент очаговости колебался от 0,2 в салаирской и до 1,4 в степной.

У свиней в 1960-1979 гг. повышение уровня вакцинации в степной области с 33,8% до 77,5%, в лесостепной - с 28 до 77%, в предгорной - с 37% до 107% и в салаирской - с 19% до 72% способствовало снижению коэффициента очаговости с 1,17 до 0,1, с 1,1 до 0,2, с 3 до 1,9 и с 1 до 0, соответственно, что говорит об эффективности проводимых профилактических мероприятий (корреляционная связь прямая или обратная слабой степени). В 1980-1989 гг. коэффициент очаговости во всех областях равен 0, за исключением предгорной (0,1), а в 1990-2001 гг. - увеличился на 0,08-0,17, при этом уровень вакцинации снизился.

У мелкого рогатого скота в 1960-1979 гг. наблюдается рост уровня вакцинации в степной области с 80,5% до 155%, в лесостепной - с 58 до 105% и в предгорной — с 78% до 127%, при этом коэффициент очаговости снижается с 6,6 до 0, с 0,6 до 0 и с 3,8 до 0,1, соответственно (корреляционная связь обратная, средней степени). В 1990-2001 гг. несмотря на снижение уровня вакцинации на 33-50% коэффициент очаговости равен 0.

У лошадей коэффициент очаговости полностью отсутствует в 1960-1989 гг. в степной области и снижается до 0 в лесостепной, при этом уровень вакцинации повышается с 82% до 102% и с 113% до 136%, соответственно (корреляционная связь прямая или обратная, слабой степени). В 1990-2001 гг. в связи со снижением уровня вакцинации в степной области до 92%, коэффициент очаговости возрастает до 0,9 (корреляционная связь прямая, слабой степени, $r = 0,05$), а в лесостепной — до 106% и 0,1, соответственно (корреляционная связь прямая, средней степени, $r = 0,76$).

2.4. Эпизоотологическое районирование сибирской язвы

На основании данных о неблагополучных пунктах животных за 1927-2001 гг. определён нозоареал сибирской язвы на территории Алтайского края с выделением 3 эпизоотологических зон.

В первую зону вошло 19 районов, где за весь период наблюдения было зарегистрировано в каждом из них по 10-30 неблагополучных пунктов. На данную зону приходится 15,8% всех неблагополучных пунктов, а большинство из них на крупный рогатый скот - 9,7% и лошадей - 3%. Районы, входящие в эту зону относятся ко всем географическим областям Алтайского края, однако наибольшая вероятность возникновения сибирской язвы существует в 6 районах и г. Барнауле.

Ко второй эпизоотологической зоне отнесено 29 районов, где регистрировали по 31-60 неблагополучных пунктов. На данную зону приходится 45,9% от их общего количества, большинство которых составляют крупный рогатый скот - 27,1% и лошади - 9,1%. Подавляющее большинство районов здесь относится к западной части степной и восточной части лесостепной областей.

В третью эпизоотологическую зону вошло 12 районов, где регистрировали по 61-120 неблагополучных пунктов. Здесь зарегистрировано 38,3% от их общего количества: крупный рогатый скот - 24,5%, свиньи - 2,6%, мелкий рогатый скот - 4,1%, лошади - 5,2%, пушные звери — 0,07%, несколько видов животных — 1,8% и 0,03% - неизвестный вид животных. В районах данной зоны установлены наиболее выраженные предпосылки возникновения сибирской язвы у животных.

2.5. Кадастр неблагополучных пунктов по сибирской язве животных

Кадастр представляет собой перечень неблагополучных пунктов по сибирской язве животных, зарегистрированных в Алтайском крае с 1927 по

2001 г. Материалы его систематизированы по географическому, территориальному, временному и видовому признакам, сопровождаются приложением, содержащим таблицы и диаграммы, показывающие развитие эпизоотической ситуации по сибирской язве животных в географических областях и отдельных административных районах Алтайского края.

В перечне неблагополучных пунктов по сибирской язве животных указан населенный пункт и хозяйство (с учётом административно-территориальных изменений районов, населённых пунктов и названий хозяйств), год и месяц регистрации, количество неблагополучных пунктов и вид животного.

За исследуемый период сибирской язвой поражались: крупный рогатый скот, свиньи, овцы, лошади, козы, песцы, норки, серебристо-чёрные лисицы, лоси. Имеются неблагополучные пункты, в которых сибирская язва регистрировалась сразу у нескольких видов животных или вид животных не указан.

Одним из приложений кадастра является кадастровая карта, анализ которой показывает преимущественную приуроченность неблагополучных пунктов к равнинной и предгорной безлесной территории, а также к поймам рек и озёрам. В качестве основы использована географическая карта административно-территориального деления Алтайского края, на которую были нанесены географические границы областей и условные знаки: квадрат - крупный рогатый скот; ромб - свиньи; квадрат меньшего размера, чем у крупного рогатого скота - овцы; равнобедренный треугольник - лошади, круг - несколько видов животных (Нуйкин Я.В., 1970). Цифрой внутри значка указано количество вспышек сибирской язвы. В цветной шкале знаки всех видов животных окрашены в чёрный цвет. В отчётных материалах в ряде случаев указан только район, но нет данных о точном месте регистрации неблагополучного пункта. Такие пункты нанесены ближе к районному центру и обозначены такими же условными знаками, но в цветной шкале они окрашены в красный цвет.

Анализ материалов кадастра позволяет установить повторяемость сибирской язвы в одних и тех же пунктах через различные промежутки времени. В 685 пунктах болезнь регистрировалась на протяжении ряда лет ежегодно: в степной области - 265, в лесостепной - 177, в предгорной - 194, в салаирской - 49; в других - периодически через различные промежутки времени. Так в степной области чаще всего через 1-5 года, в лесостепной - через 1-2, 4 года, в предгорной - через 1-3, 5 и в салаирской - через 1-2 года с частотой повторения одно- или двукратно.

2.6. Эпизоотологическая классификация неблагополучных пунктов по сибирской язве Алтайского края

Так как сибиреязвенные очаги могут долго сохранять свою активность, то исследования неблагополучных пунктов целесообразно проводить за более длительные сроки времени. Анализ статистических данных о динамике заболевания животных сибирской язвой в Алтайском крае был проведён за 75-летний период. Учитывая, что повторяемость и периодичность сибирской

язвы в неблагополучных пунктах различна, следует определить характер их потенциальной опасности.

По классификации Б.Л. Черкасского (1968, 2002) в Алтайском крае все стационарно неблагополучные по сибирской язве пункты относятся к старым. При этом 57 (2%) являются манифестными рецидивирующими и 2745 (98%) - неманифестными (табл. 2).

Таблица 2

Классификация стационарно неблагополучных по сибирской язве пунктов в Алтайском крае за 1927-2001 гг. по Б.Л. Черкасскому

Типы неблагополучных пунктов	Количество неблагополучных пунктов (%)
1 Старые	2802 (100%)
1 1 Манифестные (активно неблагополучные)	57 (2%)
1 1 1 Постоянно действующие	-
1 1 2 Рецидивирующие	57 (2%)
1 2 Неманифестные (неактивные)	2745 (98%)
2. Новые (вновь образовавшиеся)	-
Всего	2802 (100%)

Примечание: - отсутствуют

Манифестные рецидивирующие в основном расположены в восточной и центральной частях степной области на обыкновенных, южных чернозёмах и лугово-пойменных почвах, в северо-западной и восточной частях лесостепной области на выщелоченных чернозёмах, на севере и юго-западе предгорной области на обыкновенных и выщелоченных чернозёмах и в северной и южной частях салаирской области на выщелоченных чернозёмах.

Другие классификации (Коротич А.С., 1968; Шляхов Э.Н., 1968; Погребняк Л.И., 1974; Ипатенко Н.Г., Зелепукин В.С., 1996) либо ограничивают период исследования до 50 лет, при этом более половины пунктов на территории края остаются неучтёнными, либо не учитывают период благополучия после последней вспышки сибирской язвы, который по данным наших исследований составил от 1 года до 70 лет или почти все неблагополучные пункты являются благополучными.

2.7. Эпидемиология сибирской язвы в Алтайском крае

По данным центра Госсанэпиднадзора в Алтайском крае в 1953-2003 гг. зарегистрировано 90 случаев заболевания людей сибирской язвой. В 1953-1967 гг. ежегодно регистрировали по 1-10 случаев, с пиком неблагополучия 1955, 1958 и 1962 гг. (9-10 случаев). В последующие годы болезнь диагностировали 1-6 раз в год с периодами благополучия 1-11 лет. В 1968-1971 гг., 1973-1974 гг., 1976, 1978 г., 1982-1992 гг., 1996 г., 1998-2003 гг. заболеваемость сибирской язвой среди населения края не регистрировалась.

При этом в степной области выявлено 17 случаев болезни, в лесостепной - 33, в предгорной - 34 и в салаирской - 6.

Максимальный подъём заболеваемости у населения приходится на летне-осенний период с пиком в августе месяце. При этом в степной области болезнь в основном регистрируется в августе, сентябре; в лесостепной - в июне, июле, ноябре; в предгорной - в июне-августе и в салаирской - в августе. Более подвержены опасности инфицирования ветеринарные специалисты и работники животноводства, а в возрастном аспекте - население от 25 до 50 лет.

2.8. Эпизоотолого-эпидемиологические аспекты сибирской язвы в Алтайском крае

Снижение вспышек сибирской язвы у животных наблюдается в 1953-1970 гг. с 43 до 2, при этом происходит снижение числа случаев заболевания и среди населения. В последующие годы у животных регистрировали по 1-7 вспышки ежегодно с благополучием в 1976, 1980, 1983-1985, 1987-1988, 1995 и 2002 гг., а у людей - по 1-6 случаев. Периоды благополучия среди населения совпадают с таковыми же у животных, за исключением 1995 г., когда среди животных заболеваемость не регистрировалась, а у людей выявлено 3 случая заражения сибирской язвой.

Максимальный подъём заболеваемости у животных и населения приходится на летне-осенний период с пиком в августе месяце.

Более половины случаев заболеваемости людей и животных - 53,8% (50) совпадают по месту и времени регистрации, 37,6% (35) случаев - только по месту регистрации, в 5,4% (5) случаев болезнь диагностировали только у людей и в 3,2% (3) - неизвестно.

2.9. Изучение биологических свойств изолятов *B. anthracis*, выделенных в различных природно-географических областях Алтайского края

2.9.1. Изучение фенотипических свойств изолятов *B. anthracis* с использованием общепринятых лабораторных тестов

При изучении культурально-морфологических свойств эпизоотических изолятов *B. anthracis* установлено, что все они обладают свойствами типичными для возбудителя сибирской язвы. На МПА наблюдался рост в виде шероховатых серовато-белых матовых колоний округлой формы (R-формы) с периферией в виде тонких локонов или «гривы льва», МПБ оставался прозрачным (у №174 и б/н1 легкая опалесценция) и на дне пробирки формировался осадок в виде комочка ваты. При микроскопическом исследовании в мазках наблюдали грамположительные одиночно расположенные или в виде коротких цепочек палочки. Морфология клеток и спор в мазках с питательных сред и из органов биопробных животных соответствовала традиционным описаниям с небольшими отличиями между штаммами, касающимися длины цепочек, размеров палочковидных клеток и выраженности капсулы. Все без исключения изоляты не обладали подвижностью и гемолитической активностью на стандартном кровяном агаре.

Изучение гликолитической активности показало, что все изоляты не ферментируют лактозу, рамнозу, инозит и эскулин и ферментируют с образованием кислоты без газа глюкозу, сахарозу и мальтозу. Изолят №5 слабо ферментировал с образованием кислоты без газа сорбит и арабинозу, а 4 изолята - фруктозу. Протеолитической активностью обладали изоляты №№633, 638, б/н1 и б/н2 - очень медленно и слабо разжижали свернутую лошадиную сыроворотку.

В тесте «жемчужного ожерелья» изоляты №№214 и 633 были не чувствительны к пенициллину. Лизабельностью бактериофагами обладали все изоляты, за исключением №633, который был не чувствителен к К-ВИЭВ и у-МВА и слабо чувствителен к Fah-ВНИИВВиМ бактериофагу. При изучении антигенной специфичности в реакции кольцепреципитации все изоляты дали положительный результат. Капсулообразующей способностью *in vivo* и *in vitro* обладали изоляты №№174, 214, 633, 638 и б/н2, а термотолерантностью (рост при 45°C) - №214 и б/н1 (при встряхивании пробирки выявлялся слабый рост).

Вакцинные штаммы 55-ВНИИВВиМ и СТИ-1 по основным морфологическим и биохимическим свойствам различий не имели. Их главной отличительной чертой являлось отсутствие способности к капсулообразованию как на специальных питательных средах, так и в организме животных. На МПА и МПБ штаммы характеризовались типичным ростом, за исключением 55-ВНИИВВиМ, который на МПБ вызывал легкую опалесценцию бульона с формированием на поверхности пристеночного кольца и рыхлого осадка на дне пробирки.

2.9.2. Изучение фенотипических свойств изолятов V. anthracis с использованием дополнительных лабораторных тестов

Щелочную фосфатазу (табл. 3) не вырабатывали или синтезировали на очень низком уровне изоляты №№174, 214, б/н1 и б/н2, среди которых один бескапсульный. Однако колонии двух вирулентных (№№638, 633 - LD₅₀ для белых мышей 10 и 15 спор, соответственно) и одного авирулентного (№ 5 - LD₅₀ для белых мышей 1,57x10⁶ спор) изолятов были фосфатазопозитивны и по продукции этого фермента почти не отличались от близкородственных представителей рода *Bacillus*, что свидетельствует о непостоянстве данного признака.

По способности сорбировать конго красный из среды исследуемые изоляты были распределены на 3 группы: с высокой-№№174, 214, 633, 638, б/н2 (колонии окрашивались в красный цвет); средней - №5 (ярко-розовый цвет) и низкой — б/н1 (слабо-розовое окрашивание) пигментсорбирующей активностью. Вакцинные штаммы отнесены к третьей группе.

Все изоляты на двухслойном кровяном агаре продуцировали экзотоксины, обладающие литическим действием на эритроциты барана: капсулообразующие - синтезировали α-гемолизины, тогда как бескапсульные и оба вакцинных штамма лизировали эритроциты по р-типу. Уровень экспрессии ге-

молизинов варьировал: у №№5, 174, 633, б/н1 и б/н2 наблюдали высокий уровень, №638 - средний и №214 низкий. Вакцинные штаммы продуцировали гемолизины на среднем уровне.

Таблица 3

Уровень ферментативной активности у изолятов/штаммов *B. Anthracis*

№ п/п	Наименование изолята/штамма	Гемолитическая активность		Протеолитическая активность		Лецитиназная активность	Фосфатазная активность	Пигментсорбирующая активность
		тип гемолиза	уровень	синтез пигмента	уровень			
1	№638	α	средний	-	средний	-	+	высокая
2.	№633	α	высокий	-	средний	-	+	высокая
3.	№5	β	высокий	-	низкий	низкая	+	средняя
4.	№174	α	высокий	+	высокий	низкая	-	высокая
5	№214	α	низкий	+	высокий	низкая	-	высокая
6.	б/н 1	β	высокий	-	средний	средняя	-	низкая
7.	б/н 2	α	высокий	-	высокий	низкая	-	высокая
8	СТИ-1	β	средний	-	низкий	низкая	±	низкая
9.	55-ВНИИВВиМ	β	средний	-	низкий	низкая	-	низкая

Лецитиназной активностью обладали четыре изолята, из них низкой - №№5, 174, 214 и б/н2, средней - б/н1, а у №№638 и 633 синтез энзимов, расщепляющих лецитин не регистрировался. Вакцинные штаммы экспрессировали лецитиназу на низком уровне.

Капсулообразующие вирулентные изоляты №№174, 214 и б/н2 обладали высоким уровнем экспрессии протеаз, а №633 и 638 - средним. Один бескапсульный изолят (б/н 1) обладал средней протеолитической активностью, а другой (№5) - низкой. Вакцинные штаммы продуцировали протеолитические ферменты на низком уровне. Два штамма с высокой активностью протеолитических ферментов (№№174 и 214) были способны синтезировать *in vitro* желтый пигмент, остальные - пигментсинтезирующей активностью не обладали.

При определении капсуло- и токсинообразования на среде СОПЭК все капсулообразующие полевые изоляты (LD₁₀₀ для белых мышей - 10² спор) формировали колонии SM-формы со слизистым капсульным веществом на поверхности. В мазках, окрашенных по Романовскому-Гимза, обнаруживали вегетативные клетки, окруженные слоем капсульного полипептида. Бескапсульные изоляты (№5, б/н 2) образовывали колонии R-формы. На агаре Хоттингера все изоляты в атмосфере воздуха формировали колонии R-формы. Продукцию токсина регистрировали по наличию линии преципитации, формирующейся вокруг колоний: у 5-ти изолятов выявлялись четкие линии преципитации, а у №№638 и 633 они отсутствовали, либо были вне зоны видимости, находясь под колонией.

Установлено, что LD_{100} для изолятов №№638, 633, 174, 214, б/н 2 составила 10^2 жизнеспособных спор, а для бескапсульных изолятов №5 и б/н - $1-10^8$ и $>$ чем 10^8 спор, соответственно. Причем введение мышам 10^8 спор атипичного по капсулообразованию штамма б/н 1 не вызывало их 100%-ной гибели, т.е. он являлся для них авирулентным. У капсулообразующих изолятов №№633 и 638 показатель LD_{50} колебался от 10 до 20 спор, у №№174, 214 и б/н 2 - от 20 до 200 спор, №5 и б/н 1 - превышал 1×10^4 спор ($1,57 \times 10^6$ - 1×10^7 спор).

На основании полученных данных определены фенотипические профили исследуемых изолятов, анализ которых подтверждает неоднородность вида *V. anthracis*, что дает основание для проведения работ по его внутривидовой таксономии.

2.10. Генетическая характеристика изолятов *V. anthracis*, выделенных в различных природно-географических областях Алтайского края

2.10.1. Выявление нуклеотидных последовательностей генов капсуло- и токсинообразования методом ПЦР

Из исследуемых изолятов №№633 и 638 не продуцировали токсин *in vitro*, а №5 и б/н1 были бескапсульными. Это представляет интерес для проведения работы по выявлению генов, ответственных за проявление данных признаков у возбудителя сибиреязвенной инфекции методом ПЦР.

В экспериментах использовали специфические праймеры, комплементарные участкам генов протективного антигена и капсульного оперона рекомендованные МЭБ. Установлено, что на матрице ДНК всех 8 эпизоотических изолятов амплифицировались специфические ПЦР-продукты к *rag*-гену, а ПЦР-продукты к *sar*-гену выявлялись в пробах ДНК 6 изолятов (№№174, 214, 633, 638, 868, б/н2), фенотипически охарактеризованных как капсульные. Амплифицированные ПЦР-продукты на *sar*- и *rag*-гены имели размеры, соответствующие расчетному значению.

На основании проведенных исследований можно заключить, что тест-системы на основе ПЦР обладают более высокой чувствительностью в отношении выявления способности изолятов к токсино- и капсулообразованию чем бактериологические, серологические и биологические методы. В данном случае об этом свидетельствуют результаты обнаружения нуклеотидных последовательностей *rag*-гена у изолятов №633 и 638, не продуцирующих токсин на среде СОПЭК в атмосфере CO_2 .

*2.10.2. Исследование геномного полиморфизма изолятов *V. anthracis* методом RAPD-fingerprinting*

Эксперименты проводили с применением трех олигонуклеотидных праймеров, отличающихся размерами и содержанием (E45, C13 и C14), предложенных для выявления геномного полиморфизма *V. anthracis* И.Ю. Егоровой, 2003. При отжиге данных праймеров на ДНК-матрицах изучаемых изолятов и последующей амплификации синтезировался уникальный набор

фрагментов. При разделении ампликонов электрофорезом в ПААГе, в зависимости от использованного праймера и ДНК-матрицы, профили полиморфных фрагментов ДНК содержали от 4 до 9 мажорных и минорных полос различного размера.

Сравнительный анализ RAPD-профилей показал, что ряд изолятов, выделенных как в одной, так и в разных природно-географических областях Алтайского края имеют значительное сходство в распределении фрагментов ДНК и различаются наличием или отсутствием 1-4 фрагментов. Наибольшее сходство RAPD-профилей имели капсулообразующий изолят №174 и бескапсульный б/н 1 - профили различались лишь по одному, двум фрагментам с каждым из праймеров. В то же время изолят №214, имел уникальный генотип, значительно отличающийся от всех изученных.

На основании расчета соотношения количества общих, присутствующих и отсутствующих фрагментов в RAPD-профилях исследуемых ДНК, была построена дендрограмма, отражающая степень гомологии различных изолятов (рис. 3). Из представленной дендрограммы видно, что изоляты №633 и 5 (предгорная область), №174 и б/н 2 (степная область), б/н 1 (лесостепная область) образуют одну самостоятельную генетическую группу. Изолят №214 (степная область) обнаружил высокий уровень отличий от всех других и располагается на дендрограмме особняком, а №638 (лесостепная область) по этим признакам занимает промежуточную позицию.

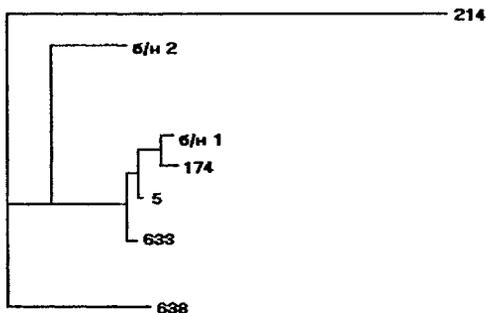


Рис. 3. Дендрограмма, отражающая филогенетические отношения изолятов *V. anthracis*, выделенных на территории Алтайского края, на основе расчета соотношения фрагментов в их RAPD-профилях

2.11. Профилактика сибирской язвы в Алтайском крае

Профилактика сибирской язвы сельскохозяйственных животных в Алтайском крае должна проводиться комплексно и включать общие мероприятия и вакцинацию животных.

Общие мероприятия должны проводиться на всей территории Алтайского края и включать: выявление, учет и паспортизацию по унифицированной форме неблагополучных по сибирской язве пунктов до 1927 г.; уточнение

места и границ почвенных сибирезязвенных очагов в стационарно неблагополучных пунктах, картографирование, микробиологический контроль, проведение работ по ограждению и содержанию их в надлежащем санитарном состоянии; обязательное согласование с ветеринарной и санитарно-эпидемиологической службами проведение работ, связанных с выемкой и перемещением грунта; изучение возможности локальной санации почвенных очагов (мелиорация, биологические методы) в районах третьей эпизоотологической зоны; разъяснительную работу среди населения об опасности и сущности заболевания сибирской язвой.

Специфическая профилактика включает: ежегодную плановую профилактическую иммунизацию всего взрослого поголовья сельскохозяйственных животных, особенно частного сектора в районах входящих в третью эпизоотологическую зону; ежемесячную или ежеквартальную допрививку молодняка в возрасте старше 3-х месяцев; экстренную вакцинацию всего восприимчивого поголовья животных в эпизоотических очагах.

ВЫВОДЫ

1. Сибирская язва в Алтайском крае регистрировалась у 4 видов сельскохозяйственных животных, в прошлом характеризовалась широкой распространенностью во всех природно-географических областях, напряженная эпизоотическая ситуация сохраняется и в настоящее время, особенно в частном секторе. За период с 1927 по 2001 гг. установлено 2802 неблагополучных пункта, из них в степной области - 1026, лесостепной - 767, предгорной - 696 и салаирской - 300.

2. Неблагополучные пункты по сибирской язве сельскохозяйственных животных в Алтайском крае преимущественно имеют приуроченность к долинам и балкам рек, представленных лугово-чернозёмными и пойменными почвами, на обыкновенных, выщелоченных и оподзоленных черноземах, серых лесных почвах предгорий. На территории с дерново-подзолистыми почвами степи и лесостепи, горно-лесными дерново-подзолистыми, горно-лесными серыми оподзоленными и бурыми чернозёмовидными почвами она не встречается или регистрируются единичные случаи.

3. Поражённость отдельных видов сельскохозяйственных животных характеризуется преобладанием случаев сибирской язвы у крупного рогатого скота во всех природно-географических областях Алтайского края. По данным за 1960-2001 гг. на крупный рогатый скот приходится 54,5-70,5%, свиней - 15,9-36,4%, мелкий рогатый скот - 6,3-8,6%, лошадей - 3,4-4,5%. Абсолютное большинство заболевших и павших животных в лесостепной, предгорной и салаирской областях приходится на крупный рогатый скот и свиней, а в степной - крупный и мелкий рогатый скот.

4. Удельная доля сибирской язвы, независимо от вида животных во всех природно-географических областях динамично снижается до 0,08 (пред-

горная - крупный рогатый скот) - 0,6% (предгорная - свиньи) и полного отсутствия (степная, лесостепная - свиньи, мелкий рогатый скот, лошади; предгорная - мелкий рогатый скот; салаирская - крупный рогатый скот, свиньи) в 1960-1989 гг. и возрастает до 0,42 (степная, лесостепная — свиньи) - 2,8% (степная, лесостепная - лошади) в 1990-2001 гг.

5. Во всех природно-географических областях Алтайского края интенсивные показатели напряженности эпизоотического процесса сибирской язвы у сельскохозяйственных животных характеризуются невысокими значениями, снижаются в 1960-1979 гг., возрастают в 1990-2001 гг. и зависят от уровня вакцинации: снижение уровня вакцинации приводит к повышению интенсивных показателей и наоборот.

6. Ранжирование на основе многолетних данных о регистрации неблагополучных пунктов сибирской язвы сельскохозяйственных животных позволило разделить административные районы Алтайского края на группы с низкой, средней и высокой напряженностью эпизоотического процесса. В первую группу вошло 19 районов с 15,8%, во вторую - 29 районов с 45,9% и в третью - 12 районов с 38,3% неблагополучных пунктов.

7. Многолетние наблюдения показали, что заболеваемость сибирской язвой сельскохозяйственных животных в Алтайском крае регистрируется в течение всего года, достигая наибольшей интенсивности в июне-августе.

8. Составлен кадастр неблагополучных по сибирской язве животных, включающий их перечень с 1927 по 2001 гг., аналитическую таблицу, диаграммы и кадастровую карту. Анализ материалов кадастра позволяет установить, что болезнь регистрировалась в них обычно однократно или по 2-5 случаев ежегодно или через 1-8 и 10-12 лет. По эпизоотологической характеристике и потенциальной опасности 57 (2%) неблагополучных пунктов относятся к старым манифестным рецидивирующим и 2745 (98%) — старым неманифестным.

9. Изучение изолятов возбудителя сибирской язвы, выделенных в различных природно-географических областях Алтайского края, выявило их атипичность по отдельным признакам: №5, б/н2 не образовывали капсулу ни при каких условиях, №633 - не чувствителен к пенициллину и бактериофагам, №214 - не чувствителен к пенициллину, а №№5, 174 и 214 - не способны разжижать свернутую лошадиную сыворотку. По вирулентности исследуемые изоляты отнесены к 3 группам: высоковирулентные - №№174, 214, б/н2; умеренновирулентные - №№633, 638 и авирулентные - №5 и б/н1.

10. Методом RAPD-fingerprinting установлено, что изоляты №№5, 633 (предгорная область), №174 и б/н2 (степная область), б/н1 (лесостепная область) образуют одну самостоятельную генетическую группу; №214 (степная область) — обнаружил высокий уровень отличий от всех других изолятов, а №638 (лесостепная область) - занимает промежуточную позицию. Методом ПЦР у изолятов №№633 и 638, не продуцирующих токсин на среде СОПЭК, были обнаружены нуклеотидные последовательности rag-гена токсинообразования.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

Материалы исследований могут быть использованы при планировании противозпизоотических мероприятий для профилактики сибирской язвы у сельскохозяйственных животных в районах Алтайского края; диагностике сибирской язвы у животных и людей; обучении студентов ветеринарных факультетов и институтов; повышении квалификации ветеринарных, зооинженерных и других специалистов сельскохозяйственного профиля, а также медицинских работников.

СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО МАТЕРИАЛАМ ДИССЕРТАЦИИ

1. Егорова И.Ю., Селянинов Ю.О., Пантюшенко М.С., Барышников П.И., Фёдорова Г.А. Изучение фенотипических и генетических свойств изолятов возбудителя сибирской язвы, выделенных на территории Алтайского края // Генодиагностика инфекционных заболеваний: Сб. тез. 4-й Всерос. науч.-практ. конф., 22-24 октября 2002 г. М., 2002. С. 334-337.
2. Барышников П.И., Гречкин А.П., Агеева Н.Н., Фёдорова Г.А. Кадастр неблагополучных пунктов по сибирской язве животных Алтайского края (1927-2001 гг.). Барнаул, 2003. 100 с.
3. Барышников П.И., Гречкин А.П., Кучина Л.А., Фёдорова Г.А. Сибирская язва животных // Газета-плакат. Барнаул, 2003.
4. Барышников П.И., Фёдорова Г.А. Анализ эпизоотической ситуации по сибирской язве сельскохозяйственных животных в степной области Алтайского края // Вестник АГАУ. №1(9). Барнаул, 2003. С. 187-189.
5. Барышников П.И., Фёдорова Г.А. Анализ эпизоотической ситуации по сибирской язве сельскохозяйственных животных в салаирской области Алтайского края // Вестник АГАУ. №1(9). Барнаул, 2003. С. 185-187.
6. Егорова И.Ю., Селянинов Ю.О., Барышников П.И., Фёдорова Г.А. Изучение изолятов возбудителя сибирской язвы, выделенных на территории Алтайского края // Ветеринарные и медицинские аспекты зооантропонозов: Тр. межд. науч.-практ. конф., посвящ. 45-летию ВНИИВВиМ, 24-26 сентября 2003 г. Покров, 2003. С. 122-126.
7. Барышников П.И., Фёдорова Г.А. Анализ эпизоотической ситуации по сибирской язве сельскохозяйственных животных в лесостепной области Алтайского края // Вопросы пантового оленеводства и болезней сельскохозяйственных животных: Матер. I науч.-практ. конф. молодых учёных. Барнаул, 2004. С. 135-140.
8. Фёдорова Г.А. Анализ эпизоотической ситуации по сибирской язве сельскохозяйственных животных в предгорной области Алтайского края // Вопросы пантового оленеводства и болезней сельскохозяйственных животных: Матер. I науч.-практ. конф. молодых учёных. Барнаул, 2004. С. 131-135.

9. Фёдорова Г.А. Эпизоотологический процесс сибирской язвы в г. Барнауле // Молодёжь — Барнаулу: Матер. 5 городской науч.-практ. конф. молодых учёных, 20-21 ноября 2003 г. Барнаул, 2003. С. 300-301.

10. Барышников П.И., Фёдорова Г.А. Кадастр неблагополучных пунктов по сибирской язве животных Алтайского края // Актуальные вопросы ветеринарной медицины: Матер. Сибирской межд. науч.-практ. конф., 12-13 февраля 2004 г. Новосибирск, 2004. С. 101-104.

11. Барышников П.И., Гречкин А.П., Фёдорова Г.А. Эпизоотологическое районирование сибирской язвы в Алтайском крае // Вестник АГАУ. №2(14). Барнаул, 2004. С. 99-101.

12. Барышников П.И., Гречкин А.П., Фёдорова Г.А. Эпизоотологическая классификация неблагополучных пунктов по сибирской язве Алтайского края // Актуальные вопросы микробиологии и инфекционной патологии животных: Матер, науч.-произв. конф., посвящ. 100-летию проф. Н.Г. Кондюрина, 21-22 сентября 2004 г. Омск, 2004. С. 227-230.

13. Барышников П.И., Гречкин А.П., Фёдорова Г.А. Эпизоотолого-эпидемиологические аспекты сибирской язвы в Алтайском крае // Актуальные аспекты экологической, сравнительно-видовой, возрастной и экспериментальной морфологии: Матер, межд. науч.-практ. конф., посвящ. 100-летию проф. В.Я. Сутина, 24-27 июня 2004 г. Улан-Удэ, 2004. С. 233-234.

14. Барышников П.И., Фёдорова Г.А. Сибирская язва диких животных в Алтайском крае // Болезни диких животных: Матер, межд. науч.-практ. конф., 28-30 сентября 2004 г. / ГНУ ВНИИВВиМ. Покров, 2004. С. 57-59.

15. Барышников П.И., Резниченко З.М., Фёдорова Г.А., Андрейцев К.М. Мониторинг и пути совершенствования профилактики основных зооантропонозов в Алтайском крае // Региональные аспекты обеспечения социальной безопасности населения юга Западной Сибири - проблемы снижения рисков и смягчения последствий чрезвычайных ситуаций природного и техногенного характера: Матер, межд. науч.-практ. конф., 10 декабря 2004 г. Барнаул, 2004. С. 192-193.

ЛР № 020648 от 16 декабря 1997 г.

Подписано в печать 31.03.2005 г. Формат 60x84/16. Бумага для множительных аппаратов. Печать ризографная. Гарнитура «Times New Roman». Усл. печ. л. 1,0. Уч.-изд. л. 0,8. Тираж 100 экз. Заказ № S .

Издательство АГАУ

656099, г. Барнаул, пр. Красноармейский, 98

62-84-26

19 МАЙ 2005