

**НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК АЗЕРБАЙДЖАНА
ИНСТИТУТ МИКРОБИОЛОГИИ**

На правах рукописи

САБИНА МАМЕДАГА КЫЗЫ ИБРАГИМОВА
ОСОБЕННОСТИ РАСПРОСТРАНЕНИЯ
VACILLUS ANTHRACIS И ДРУГИХ ПОЧВЕННЫХ
БАЦИЛЛ В ПОЧВАХ АЗЕРБАЙДЖАНА И
РАЗРАБОТКА ЭКСПРЕСС-МЕТОДА ИХ
ДЕТЕКЦИИ

2414.01 - Микробиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
доктора философии по биологии

Баку - 2015

Диссертационная работа выполнена на базе Азербайджанской Республиканской Противочумной станции им.С.Имамалиева.

Научный руководитель: д.н.п.м., проф., з.д.н.Ф.Э.Садыхова

Официальные оппоненты: д.н.п.б., дос. С.Ю.Гасымова
д.ф.п.б., дос. Т.Г.Абдуллаева

Ведущее учреждение: Азербайджанский Медицинский
Университет, кафедра микробиология и
иммунология

Защита состоится « 29 ___ » октября 2015 года в _____ часов на заседании Диссертационного Совета FD 01.222 при Институте Микробиологии НАН Азербайджана по адресу: AZ1004, г.Баку, ул.М.Мушфиг 103

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института Микробиологии НАН Азербайджана.

Автореферат разослан « ___ » сентябрь 2015 г.

Ученый секретарь Диссертационного
Совета FD 01.222, д.н.п.б., дос.

Ф.Х. Гахраманова

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Несмотря на значительные достижения ветеринарно-медицинской науки в разработке эффективных мер и средств борьбы с инфекционными болезнями, предотвратить распространение сибирской язвы и других природно-очаговых нозоформ еще не удалось, а многие аспекты эпизоотического проявления их в различных регионах остаются недостаточно изученными [Буланцев А.Л., Липницкий А.В., 2000].

В естественных условиях сибирской язвой болеют преимущественно травоядные животные, в основном, крупный и мелкий рогатый скот, лошади, свиньи и др. Источником заражения человека являются больные животные, изделия, приготовленные из инфицированного материала, а также мясо [Монсонов А.В., Третьяков А.М., 2009].

Инфицирование сибирской язвой животных протекает с выделениями возбудителя в окружающую среду с фекалиями, мочой, слюной, молоком и др. [Третьяков А.М., Цыдыпов В.Ц., Евдокимов П.И., 2009].

В настоящее время, по данным Всемирной Организации Здравоохранения, сибирская язва регистрируется среди людей и животных в 158 странах мира. Актуальность проблемы сибиреязвенной болезни еще более повышается в связи с возникшей опасностью использования сибиреязвенных бацилл и других патогенных микроорганизмов или продуктов их жизнедеятельности в изготовлении биологического оружия для организации диверсионно-террористических актов [Caksen H., Arabaci F., Abuhandan M., 2001, <http://www.healthmap.org>].

На протяжении веков сибирская язва была эндемичной для территории Азербайджана, которая характеризуется благоприятными природными условиями для сохранения активности множества известных и формирования новых очаговых территорий, способных вызвать внезапное обострение эпизоотической обстановки в регионе с последующими возможными случаями сибиреязвенного заболевания [Самедов П.А., 2004].

Анализ литературных данных о возбудителе сибирской язвы, о распространении заболеваемости в Азербайджанской Республике и за рубежом, об особенностях экологии сибиреязвенного микроба, связанная с его биологическими особенностями (самостоятельный паразитический вид, сохранивший свойства сапрофитов) придает

сибирской язве характер почвенно-очаговой инфекции, носящий стационарный характер, которая раз возникнув в какой-либо местности сохраняет на многие десятилетия угрозу повторных вспышек [Третьяков А.М., Цыдыпов В.Ц., Евдокимов П.И., 2009].

В связи с вышеотмеченным, целью настоящего исследования явилось комплексное изучение региональных особенностей распространения сибирской язвы в различных природно-географических зонах Азербайджана с различными почвенными пластами за период 1999-2012 г.г. с исследованием биологических свойств выделенных штаммов *Bacillus anthracis* и других почвенных бацилл.

Для достижения поставленной цели планировалось решить следующие задачи:

- Индикация *Bacillus anthracis* и других представителей почвенных бацилл, из почв различных регионов Азербайджана, неблагоприятных по данной инфекции, общепринятыми бактериологическими методами, а также методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), методом SNP (Single Nucleotide Polimorphism) генотипирования, методом флюоресцирующих антител (МФА);
- Отработка экспресс-метода «радиального лизиса» детекции *Bacillus anthracis* с использованием феномена фаголизабельности;
- Изучение адсорбционных свойств природных цеолитсодержащих соединений относительно выделенных штаммов *Bacillus anthracis*;
- Выявление геоморфологической характеристики почвенных очагов *Bacillus anthracis* на территории Азербайджана;
- Изучение физико-химических свойств почв, отобранных из стационарно-неблагополучных регионов Азербайджана.

Научная новизна. Впервые в условиях Азербайджана изучены почвенные очаги *Bacillus anthracis* и других представителей почвенных бацилл, представлены результаты их детекции и выявлены биологические свойства.

Впервые в условиях Азербайджана выявлены адсорбционные способности природного цеолитсодержащего соединения Айдаг-

Таузского месторождения, относительно *Bacillus anthracis*.

Впервые в условиях Азербайджана отработан экспресс-метод детекции *Bacillus anthracis* – метод «радиального лизиса» с использованием бактериофага Гамма-А-26

Впервые в Азербайджане было проведено генотипирования выделенных штаммов *Bacillus anthracis* методом SNP (Single Nucleotide Polimorphism) генотипирования.

Практическая значимость исследования. В результате проведенных бактериологических исследований получены данные по обсемененности почв *Bacillus anthracis* и других представителей почвенных бацилл в различных ландшафтных зонах Азербайджана, составившие основу географического районирования распространения возбудителя. Составлена картография распространения сибирской язвы на территории Азербайджана.

Полученные данные об адсорбционных свойствах природного цеолитсодержащего соединения, относительно *Bacillus anthracis* дают основание рекомендовать природный цеолит Айдаг-Таузского месторождения для очистки обсемененных почв в ограниченных пространствах.

Метод «радиального лизиса» с использованием феномена бактериофагии может быть применен в полевых условиях при диагностике *Bacillus anthracis*.

Полученные результаты генотипирования могут быть использованы в дальнейшем при идентификации новых штаммов *Bacillus anthracis*. Определение генотипа штаммов *Bacillus anthracis* будет способствовать выявлению территориальной принадлежности и установлению происхождения циркулирующих и вновь выделенных на территории Азербайджана штаммов возбудителя *Bacillus anthracis*.

Внедрение результатов исследования.

Результаты проведенных исследований внедрены в курс лекционных занятий на кафедре гигиены и на кафедре микробиологии и эпидемиологии АзГИУВ им. А.Алиева.

Апробация диссертации: Основные положения диссертации доложены на научной конференции “Zeomedcos” (Баку, 2010), международном конгрессе “Природные катаклизмы и глобальные проблемы современной цивилизации” (Турция, 2011).

Публикации: По результатам исследований опубликовано 11 научных работ.

Структура диссертации: Диссертация изложена на 126 страницах компьютерного набора и состоит из введения, 5 глав, заключения, основных выводов, практических рекомендаций, списка используемой литературы, который включает 179 источников, местных и зарубежных авторов.

Основные положения, выносимые на защиту:

- Регулярный мониторинг за обсемененностью почв с районированием и картированием почвенных очагов с кадастрами скотомогильников является необходимостью для принятия санитарно-гигиенических мер по превенции вспышек сибиреязвенной инфекции.
- Экспресс-метод «радиального лизиса» с использованием бактериофага может быть применен в полевых условиях при детекции *Bacillus anthracis*.
- Природный цеолит Айдаг-Таузского месторождения целесообразно использовать в качестве сорбента *Bacillus anthracis*.
- Метод SNP- генотипирования позволил изучить генотип выделенных штаммов, с дальнейшим выяснением территориальной принадлежности циркулирующих в Азербайджане штаммов *Bacillus anthracis*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В ходе исследований был осуществлен сбор 117 проб почвы из 43 регионов Азербайджана. Пробы отбирали в соответствии с ГОСТ 28168-80 «Почвы. Отбор проб». Хранение, транспортировка и подготовка проб к анализу соответствовали требованиям ГОСТ 17.4.4.02-84 «Охрана природы. Почвы. Методы отбора и подготовка проб почвы для химического, бактериологического и гельминтологического анализа» (ГОСТ 28168-89. «Почвы. Отбор проб»).

Были изучены физико-химические свойства почв стационарно-неблагополучных по сибирской язве, а также были исследованы пробы

почв с мест возможной инфицированности их вследствие либо содержания, либо забоя животных [Еременко Е.И., 2007].

Индикация и идентификация выделенных штаммов проводились общепринятыми в бактериологии методами с изучением культурально-морфологических, биохимических свойств выделенных культур. *Bacillus anthracis* и другие представители почвенных бацилл были детектированы в различных физико-географических районах Азербайджана. Дифференциация этих форм проведена по комплексу признаков, свойственных только возбудителю сибирской язвы. [Шишкова Н.А., Кравченко Т.Б., Маринин Л.И., Мокриевич А.Н., 2011].

Лизабельность определяли специфическим бактериофагом Гамма А-26 согласно «Инструкции по применению бактериофага диагностического сибирезвенного Гамма А-26 жидкого» [Лобач Р.Н., 2013].

В работе, в качестве подтверждающего метода был использован метод ПЦР в реальном времени (Real-Time PCR). Было проведено последующее генотипирование выделенных штаммов методом SNP анализа, т.е. изучением единичных нуклеотидных полиморфизмов [А.Г. Рязанова., Е.И. Еременко., О.И. Цыганкова., Е.А. Цыганкова., А.Н. Куличенко., 2011].

В работе использован метод флуоресцирующих антител (МФА), с использованием «Имуноглобулинов диагностических сибирезвенных соматических люминесцирующих сухих» (Минздрав РФ, Ставропольский НИ Противочумный Институт, ФГУЗ СтавНИИПЧИ Роспотребнадзор) [Мицаев Ш.Ш. 2010].

При изучении адсорбционных возможностей выделенных штаммов на природных сорбентах руководствовались рядом исследований, обобщенных в сборниках и монографиях [Tasanella A., Tonello F., Garofolo G. 2008, Садыхова Ф.Э., Халилова Т.Ш., Джаганов М.М., Ибрагимова С.М., 2010].

При распределении стационарно-неблагополучных по сибирской язве почвенных очагов по зонам Азербайджана использовались современные методы картографирования-Географические Информационные Системы (ГИС).

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

1. Выделение и общая характеристика *Bacillus anthracis* и других представителей почвенных бацилл, выделенных из почв различных регионов Азербайджана

В результате бактериологического исследования 117 проб почвы были выделены 22 культуры *Bacillus*. Детектировано 4 штамма *Bacillus anthracis* и 18 штаммов почвенных бацилл в различных обследуемых регионах, которые по своим культурально-морфологическим свойствам были идентифицированы как *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus mesentericus*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis*, что составило 81,8%. Результаты исследований представлены в табл. 1.

Таблица 1.

Характеристика общих биологических (культурально-морфологических) свойств штаммов *Bacillus anthracis* и других почвенных бацилл, выделенных из почв Азербайджана

Кол-во штаммов	Культурально- морфологические свойства							
	Рост на МПА		Рост на МПБ		Подвижность		Рост при 45 ⁰ С	
	В.А	А/т	В.А	А/т	(+).	(-)	(+).	(-)
4	4	-	4	-	-	4	-	4
18	7	11	-	18	18	-	7	11

Примечание: В.А – *Bac. anthracis*, А/т – атипичный,
(+) – положительный, (-) - отрицательный

При росте на МПА и МПБ 4 штамма из 22 давали характерную для *Bac. anthracis* морфологию. На МПА у 4-х штаммов отмечался рост в виде серебристо-белых шероховатых матовых колоний с бахромчатым краем, с характерными завитками, состоящими из нитей сибирезвенных бацилл. На МПБ отмеченные штаммы имели типичный характер: на дне пробирки наблюдался рост в виде комка

ваты, с трудом разбивающегося при встряхивании, бульон оставался прозрачным; 18 штаммов имели типичную для других почвенных бактерий морфологию. Несмотря на характерную для *Bac.anthraxis* морфологию (серебристо-белые шероховатые матовые колонии с бахромчатым краем, с характерными завитками), при росте на МПБ давали опалесценцию, на дне пробирки наблюдался рост в виде мелких хлопьев. При бактериоскопии штаммов в мазках у 18 штаммов отмечено: нехарактерные палочки – толстые, короткие с вздутиями посередине, в ряде случаев – изогнутые, зернистые. Изредка встречались единичные палочки с выраженными обрубленными концами.

Выращивание при 45°C дало отрицательные результаты в отношении 4 штаммов *Bacillus anthracis*, подтвержденных методом ПЦР, и еще в отношении 11 штаммов из 18. При росте на полужидком агаре отмеченные выше 4 штамма *Bac. anthracis*, идентифицированные методом ПЦР, были неподвижны. Остальные 18 штаммов проявляли слабую подвижность.

Было установлено, что выделенные штаммы гемолизировали среду, не ферментировали маннит, хотя и обладали высокой ферментативной активностью. В отличие от *Bac. anthracis* при проверке на чувствительность к пенициллину вырастали в виде обычных форм. *Bacillus megaterium* не обладал летитиназой. При положительной реакции Фогес-Проскауэра через 2-5 мин наблюдали розовое окрашивание. У штаммов, дающих сильную реакцию, через 30 минут окраска становилась очень интенсивной, а через 1 час - малиновой. При отрицательной реакции розового окрашивания не наблюдалось, и раствор принимал цвет меди. Результаты изучения биохимических особенностей представлены в табл. 2.

В результате проведенных исследований по изучению биохимических свойств выделенных нами полевых штаммов следует вывод, что род *Bacillus* многообразен и наблюдается сходство фенотипического проявления различных видов. Проведение данных исследований целесообразно с точки зрения определения доминирующих для данной географической местности генотипов сибирской язвы.

Таблица 2.

Биохимические особенности

Признаки	Виды бактерий						
	Vac. cereus	Vac. megaterium	Vac. mesentericus	Vac. mycoides	Vac. anthracis	Vac. subtilis	Vac. thuringiensis
Морфология колоний на МПА	Крупные шероховатые колонии			Морщинистые колонии	Крупные шероховатые Колонии	Морщинистые колонии	Крупные шероховатые колонии
Окраска по Грамму	+	+	+	+	+	+	+
Реакция Фогес-Проскауэра	+	+-	+	+	+	+	+
Лецитиназа	+	-	+	+-	+	-	+
Спорообразование.	+	+	+	+	+	+	+
Манит	+-	+-	+-	+-	+-	+-	+-
Редукция нитратов	+	+-	+-	+	+	+	+

Условные обозначения:

«+» - положительный признак,

«-» - отрицательный признак,

«±» - варибельность.

2. Изучение физико-химические свойства почв, отобранных из стационарно-неблагополучных (по сибирской язве) пунктов Азербайджана.

Учитывая наличие в Азербайджане 9 климато-географических зон и возможности сохранения активности известных и формирования новых очаговых территорий, необходимо определение территориальных границ функционирования системы сибирской явы в соответствии с геоморфологией почв. Нами изучены физико-химические показатели почвы, определяемые по запасу гумуса, удельному весу, реакции среды и содержанию микроэлементов. агрохимических исследований почвенных образцов, отобранных из стационарно-неблагополучных пунктов (таб. 3). Исследования в

Таблица 3.

Физико-химические свойства почв, отобранных из Стационарно-неблагополучных пунктов Азербайджана

Тип почвы	Агрохимические показатели, М±m						Агрофизические показатели, М±m		
	Гумус(в %)	pH	P ₂ O ₅ (в %)	K ₂ O (в %)	N/NH ₃	Подвижный азот	Уд.вес	Общее сод. Са, М, Na, К	Физическая глина
Черноземные	4,6	6,8	0,16	2,4	20	22	2,4	35	60
Желтые	3,8	6,8	0,14	2,0	20	24	2,2	25	60
Серо-бурые	2,9	5,0	0,16	2,2	80	350	1,23	25	60
Сероземы	3,1	8,5	0,17	2,8	25	20	1,23	30	60
Каштановые	2,7	8,5	0,2	3,2	30	15	1,2	27	60
Луговые	2,2	8,0	0,16	3,3	30	11	1,22	24	60
Лугово-каштановые	1,8	8,5	0,16	2,0	20	12	1,27	26	60
Прибрежные песчаные	0,9	8,2	0,11	1,1	27	9	1,5	12	10

отмеченных областях подчеркивают наличия определенных условий, способствующих эндемическому характеру заболевания сибирской явзой, т.е., как было отмечено выше, тип почвы, жаркий климат,

глубокое и раннее прогревание почвы в период весенней вегетации, удовлетворительное содержание гумуса, минеральный состав и определенное соотношение микроэлементов, pH и влажность.

3. Метод фаголизабельности

Из выделенных 22 штаммов 4 штамма методом МФА, идентифицированы как *Bacillus anthracis*. Остальные 18 штаммов с помощью теста фаголизабельности идентифицированы как *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus mesentericus*, *Bacillus megaterium*.

У всех тестируемых 4 штаммов *Bacillus anthracis* в месте нанесения бактериофага образовывались зоны лизиса (рис. 1). В остальных 18 случаях было отмечено некоторое разрежение роста в месте нанесения капли фага на газоне выросшей культуры.

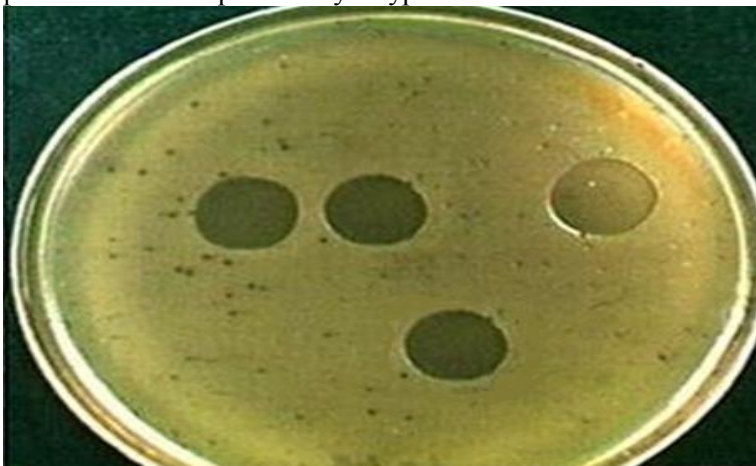


Рисунок 1. Лизис 4 штаммов *Bacillus anthracis*.

4. Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР)

Из выделенных 22 штаммов 4 выделенных штамма *Bacillus anthracis* были подтверждены современным лабораторным методом ПЦР, с дальнейшим SNP-генотипированием.

SNP-генотипирования проводилось на аппарате BioRad на основе SNP Real-Time PCR Protocol, BioRad. В результате был установлен

дизайн обнаруженных единичных полиморфизмов(таб.4). В качестве положительных контролей были взяты эталонные грузинские штаммы. В случае обнаружения “Ancestral state” форм, исследования в данном направлении останавливались. При наличии “Derived state” форм продолжались дальнейшие исследования в соответствующем брэнче, т.е. ветви.

Таблица 4.

SNP-генотипирование:

	Районы	Годы	A/B.Br001	B.Br.003	A.Br.006	A.Br.007	A.Br.008	A.Br.003	A.Br.002
1	Шамкир	2002	DER	ANC	DER	ANC	DER	ANC	ANC
2	Шамкир	2003	DER	ANC	DER	ANC	DER	ANC	ANC
3	Шамкир	2006	DER	ANC	DER	ANC	DER	ANC	ANC
4	Гах	2012	DER	ANC	DER	ANC	ANC	DER	ANC

5. МФА.

Все 4 штамма *Bacillus anthracis* (споры и вегетативные клетки), окрашенные люминесцирующим иммуноглобулином, давали характерное яркое свечение периферии клеток(рис. 2).

Это специфическое свечение характерно для *Bac.anthraxis*. Неспецифическое свечение (равномерное неярко свечение всей поверхности клеток) характерно для других представителей рода *Bacillus*.

5. Методы адсорбции *Bacillus anthracis*

Нами изучены адсорбционные возможности *Bacillus anthracis* на

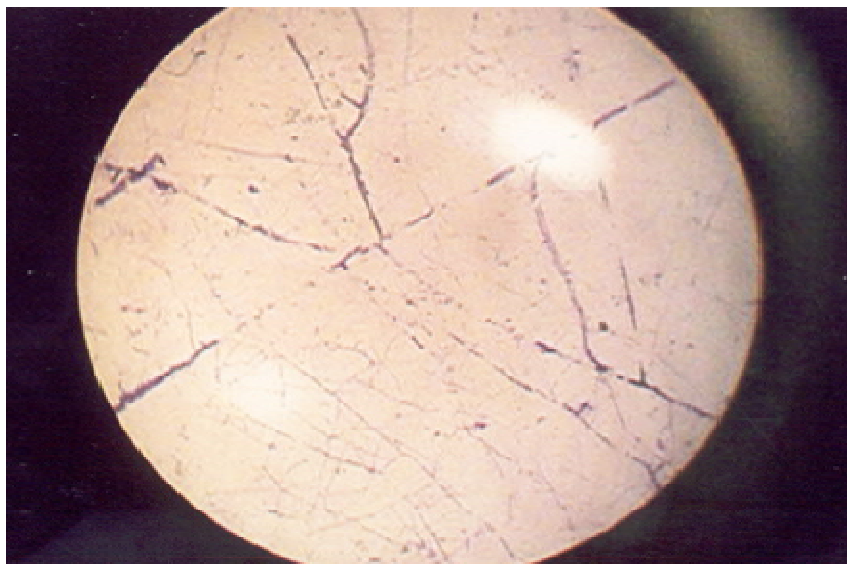


Рисунок 2. Характерное свечение при использовании МФА

природных цеолитсодержащих сорбентах Айдаг-Таузского месторождения. В качестве антигена использовали вакцину, представляющую собой взвесь авирулентных живых спор вакцинных штаммов. Параллельно засеивали культуру *Bacillus anthracis* в вышеотмеченных дозах в качестве контроля антигена. Примененный сорбент – основа клиноптилолит, содержащий дополнительно доломит, при следующем соотношении компонентов масс %: клиноптилолит – 70-80; доломит – 20-25. Используемый в опыте антиген засеивали в чашки с мясопептонным агаром и в пробирки с мясопептонным бульоном. В качестве антигена использовали сибирезвенную вакцину.

В 1 мл вакцины для накожного метода, содержится 4 млрд микробных тел, в вакцине для подкожного применения – 100 млн.

Содержимое одной ампулы со 100 млн микробных тел растворяли в 1 мл физиологического раствора, засеивали в пробирки с мясопептонным бульоном. Через 24 часа инкубации при 37°C из бульонной суспензии выросшую культуру петлей засеивали на чашки Петри с мясопептонным агаром.

В опыт была взята доза антигена в разведении 1:200, т.е. в дозе 0,5 млн микробных тел, давшая 200 бляшек. А из бульонной культуры, т.е. вегетативная форма антигена, патоген был взят в разведении 1:400, т.е. 0,25 млн микробных тел, давший 120 бляшек на мясопептонном агаре.

На природный цеолит-клиноптилолит в количестве 400 мг наслаивалась бактериосодержащая жидкость в вышеотмеченных дозах; через 2 часа адсорбции элюат засеивался на чашки Петри с мясопептонным агаром.

Параллельно засеивали культуру *Bacillus anthracis* в вышеотмеченных дозах в качестве контроля антигена.

В результате наших экспериментов выбранные дозы антигена дали 200 и 120 бляшек на мясопептонном агаре (таб. 5), соответственно.

В опытных же чашках с засеянным элюатом антигенная культура *Bacillus anthracis* не дала роста, т.е. отмечено отсутствие бляшек.

Таблица 5.

Адсорбционные способности *Bacillus anthracis*.

Доза антигена при разведении (в миллионах микробных клеток)	Доза бляшек (Количество)
0,5	120
1	200
Контроль	0

Полученные результаты говорят об адсорбционных свойствах *Bacillus anthracis* на природном цеолитовом сорбенте Айдаг-Таузского месторождения, что может быть использовано при санитарно-гигиенических мероприятиях по обеззараживанию инфицированных почв.

Выявлены адсорбционные способности *Bacillus anthracis* на природном сорбенте – цеолите Айдаг-Таузского месторождения, что может расцениваться как одно из биологических свойств *Bacillus anthracis*.

Выявлена адсорбция *Bacillus anthracis* в дозе 0,5 млн микробных

тел (200 бляшек) на отмеченном выше сорбенте.

6. Современные методы картографирования (ГИС)

Был проведен анализ распределения стационарно-неблагополучных по сибирской язве почвенных очагов по зонам Азербайджана. Количество районов как с однократной, так и с повторными проявлениями активности составляет в настоящем 51 район. В зависимости от числа эпизоотических очагов и количества лет активности все районы Азербайджана были отнесены к одной из трех групп: территории с высокой (11-25 очагов), средней (4-10 очагов), низкой (1-3 очагов) степенью эпизоотической активности. Проявление активности стационарно неблагополучных по сибирской язве почвенных пунктов Азербайджана, позволило заключить, что максимальное количество этих пунктов расположено на территориях Кура-Араксинской низменности (27,57%), Малого Кавказа (17,1%) и Гяндже-Казахской зоне (14,72%) (рис. 3). Районы, расположенные в Кура-Араксинской низменности и в прилегающих к ней предгорных частях области Большого и Малого Кавказа, являются самыми высокопроизводительными сельскохозяйственными районами с аллювиально-луговыми каштановыми и светло-каштановыми почвами.

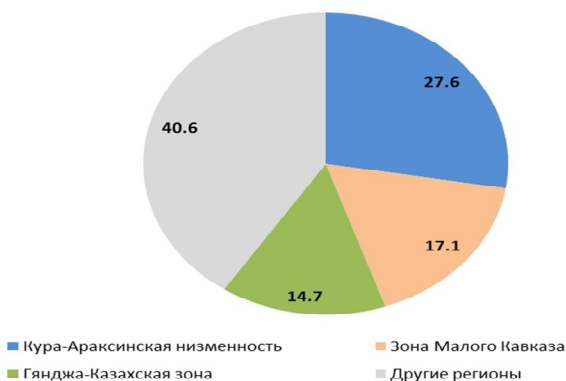


Рисунок 3. Процентное соотношение стационарно-неблагополучных по Сибирской язве почвенных очагов по регионам Азербайджана

Сопряженный анализ карты распространенности сибирской язвы в популяции людей и животных с картами почв, ландшафтов, районирования дал основание сделать заключение о приуроченности вспышек и спорадических случаев сибирской язвы с лабораторным подтверждением к зоне с сероземами, как светло, так и темно-коричневыми. Вместе с тем, интересен факт вспышки в Кахе в 2012–горнолесные бурые, горно-луговые дерновые.

Полученные нами сведения о почвенном ареале распространения инфекции *Bacillus anthracis* в сочетании с данными заболеваемости среди людей и животных являются основой предэпидемической диагностики и могут явиться превентивной диагностикой сибирской язвы, что позволит наметить целенаправленный комплекс профилактических и противоэпидемических мероприятий. Учитывая, важность GIS-технологии, как инструмента для проведения прогнозно-аналитических исследований в эпидемиологии и эпизоотологии, нами были сделаны попытки применить эти технологии при картировании почвенных очагов сибирской язвы за период с 1999 по 2012 гг. Быстрота и низкая трудоемкость данной технологии позволяет в конечном итоге положительно влиять на планируемые мероприятия по снижению заболеваемости сибирской язвой как среди людей, так и среди животных. Полученные данные могут составить основу базы материалов «Кадастра стационарно неблагополучных по сибирской язве пунктов Азербайджанской Республики», в едином компьютерном банке которого будут собраны данные санитарно-эпидемиологической, ветеринарной служб и геоморфологическая информация, который позволит автоматизировать процессы ввода, хранения, поиска и обработки данных по распространению *Bacillus anthracis* в различных почвах Азербайджана.

ВЫВОДЫ

1. При исследовании почвенных материалов было выделено 4 штамма *Bacillus anthracis* и 18 штаммов (*Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus mesentericus*, *Bacillus megaterium*), относящихся к роду *Bacillus*.
2. Отработкой метода «радиального лизиса» для диагностики *Bacillus anthracis* с использованием сибирезвенного бактериофага получена

информация о возможности использования данного метода в полевых условиях.

3. Выявлены новые биологические свойства *Bacillus anthracis* относительно степени их адсорбционных возможностей на природном цеолитсодержащем соединении Айдаг-Таузского месторождения.
4. Результаты детекции *Bacillus anthracis* из почв позволил выявить больший процент неблагополучных территорий по сибирской язве в Гянджа-Казах, Кура-Араксинском районе с черноземно-каштановыми и лугово-сероземными почвами. Полученные результаты генотипирования будут способствовать выявлению территориальной принадлежности и установлению происхождения циркулирующих и вновь выделенных на территории Азербайджана штаммов возбудителя *Bacillus anthracis*.
5. Путем проведение анализа геоморфологических особенностей типа почвенного покрова и географии местности на территориях где отмечено проявление сибиреязвенной инфекции была получена информация о приуроченности сибиреязвенной инфекции к тому или иному типу почв.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Выявленные закономерности территориального распределения и проявления активности, стационарно неблагополучных по сибирской язве пунктов предлагается использовать для оценки и прогноза развития ситуации в целом по Азербайджанской Республике с целью осуществления последующего дифференцированного планирования профилактических мероприятий.
2. Необходимо внедрение в практику картирование очагов сибирской язвы, нанесение этих данных на землеустроительные карты с применением современных GIS-технологий.
3. Необходимо осуществление комплекса мероприятий по охране почвы от инфицирования возбудителем сибирской язвы и обеззараживанию обсемененной почвы.
4. Необходимо действующее законодательство, запрещающее ведение какого-либо строительства на территории сибиреязвенных скотомогильников, независимо от сроков захоронения.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

1. Ибрагимова С.М. Эпидемиологические особенности сибирской язвы.» // Sağlamlıg, 2009, N5, с.185-189.
2. Ибрагимова С.М. «The researching results of adsorption opportunities of natural zeolites for the Bacillus Anthracis» /«Application of natural zeolites in medicine and cosmetology-zeomedcos»(27-29 September 2010 Baku, Azerbaijan.). Baku, 2010, р.
3. Садыхова Ф.Э., Халилова Т.Ш., Джаганов М.М., Ибрагимова С.М.. Результаты исследования адсорбционных возможностей природного цеолита относительно Bacillus anthracis. // «Природный цеолит в медицине» / Баку, 2010, с.63-65.
4. Ибрагимова С.М., Касимов М.С., Джаганов М.М., Садыхова Ф.Э., Ахмедова С.Ф. Результат лабораторной диагностики сибирской язвы в человеческой популяции в Азербайджане в период 2007-2009 гг.// Azərbaycan təbabətinin müasir nailiyyətləri, 2010, N3, с.81-83.
5. Ибрагимова С.М. К характеристике общих биологических (культурально-морфологических и биохимических) свойств штаммов B. anthracis, выделенных из почв Азербайджана.// Azərbaycan təbabətinin müasir nailiyyətləri, 2013, N4, с.157-159.
6. Ибрагимова С.М. Эпидемиологическая ситуация и территориальное распределение заболеваемости сибирской язвой среди людей в Азербайджане в период 2001-2012 гг.// Гигиена, Эпидемиология, Иммунобиология, 2012, N2, с.47-51.
7. Ибрагимова С.М. К биологическим свойствам Bacillus anthracis-изучению его адсорбционных возможностей. // Биомедицина, 2013, N4, с.26-27
8. Ибрагимова С.М. К вопросу обсемененности почвы Bacillus anthracis в различных регионах Азербайджана.//Azərbaycan Milli Elmlər Akademiyası Mikrobiologiya İnstitutunun Elmi Əsərləri, 2013, с. 11, N1, с.100-109.

9. Ибрагимова С.М., Расулзаде З.И. Региональные почвенные особенности проявления сибиреязвенной инфекции в Азербайджане. // Azərbaycan Milli Elmlər Akademiyası Mikrobiologiya İnstitutunun Elmi Əsərləri, 2014, c. 12, N1, c.14-19.
10. İsmayilova R.İ., İbrahimova S.M. Azərbaycan qarayaranın qaynar nöqtələrinin və Bacillus anthracis-in genetik müxtəlifliyinin xəritələşdirilməsi.//Sağlamlıq, 2014, N4, .
11. Ибрагимова С.М. «Метод радиального лизиса при детекции Bacillus anthracis с использованием бактериофага диагностического сибиреязвенного.//Вестник, МГОУ, серия «Естественные науки», 2014, N2, с.34-37.

SƏBİNƏ MƏMMƏDAĞA QIZI İBRAHİMOVA
AZƏRBAYCAN TORPAQLARINDA BACILLUS ANTHRACIS VƏ
BAŞQA TORPAQ BASİLLƏRİNİN YAYILMA XÜSUSİYYƏTLƏRİ
VƏ ONLARIN DETEKSIYASININ EKSPRESS-METODUNUN
İŞLƏNİB HAZIRLANMASI

Qara yara infeksiyasının səhiyyə, heyvandarlıq və bioterrorizm üçün aktuallığını nəzərə alaraq, təqdim olunan işin məqsədi 1992-2012-ci illərdə Azərbaycan ərazisinin fəqqli torpaq layları olan müxtəlif təbi-coğrafi zonalarında qara yaranın yayılmasının regional xüsusiyyətlərinin öyrənilməsidir.

Tədqiqat zamanı aşkar olunan B.a. və onun növlərinin bioloji xüsusiyyətri öyrənilib.

Aparılan tədqiqatların nəticəsində Azərbaycanın müxtəlif landşaft zonalarında torpağın çirklənməsinin səbəbi olan B.a. göstəriciləri aşkar olunmuşdur.

Bu göstəricilər törədicinin coğrafi ərazilər üzrə yayılmasının əsasını təşkil edir.

İlk dəfə olaraq Aydaq-Tovuz yataqlarının təbii seolit tərkibli birləşmələrində B.a. adsorbsiya qabiliyyəti aşkar edilmişdir.

Azərbaycanda ilk dəfə olaraq, B.a. deteksiyası üçün Qamma –A-26 bakteriofaqın istifadəsi ilə “radial lizis” ekspres- üsulu işlənmişdir.

İlk dəfə olaraq Azərbaycanda deteksiya olunmuş Bacillus anthracis-in ştammlarının SNP (Single Nucleotide Polimorphism) üsulu ilə genotipləşməsi həyata keçirilmişdir.

Azərbaycanın müxtəlif regionlarında qara yara halların aşkarı və öyrənilən rayonların torpaqlarından törədicinin deteksiya və indikasiya nəticəsində alınan məlumatlar “Azərbaycan Respublikası qara yara üzrə stasionar qənaətbaxş olmayan nöqtələrin Kadastr” bazasının əsasını təşkil edə bilər. Bu bazada vahid kompyuter bankında sanitar-epidemioloji, baytarlıq xidmətlərinin məlumatları və geomorfoloji infirmasiyalar toplanacaqdır.

İBRAHIMOVA SABINA MAMMADAQA

FEATURES OF DISTRIBUTION BACILLUS ANTHRACIS AND OTHER SOIL BACILLI IN SOILS OF AZERBAIJAN AND THE DEVELOPMENT EXPRESS METHODS THEIR DETECTION

Considering of actuality of anthrax infection in terms of its importance to public health, animal breeding, as well as by his bioterrorist values, purpose of this study was a comprehensive study of regional characteristics spread of anthrax in a variety of natural and geographical zones of Azerbaijan with various soil layers during the period 1999-2012 with the study of the biological properties of the isolated strains *Bacillus anthracis* and its variants.

As a result of bacteriological studies provided data on contamination of soil *Bacillus anthracis* in different landscape zones of Azerbaijan, which form the basis of geographical zoning spread of the pathogen. For the first time revealed the ability of *Bacillus anthracis* adsorption on natural zeolite compound Aydag-Tovuz deposit. For the first time in the conditions of Azerbaijan worked out a rapid method for detecting *Bacillus anthracis* - the method of "radial lysis" using bacteriophage Gamma-A-26.

The obtained data to identify cases of anthrax in different regions of Azerbaijan and the data display and detection of the pathogen - *Bacillus anthracis* from soil survey areas to identify their biological properties may form the basis of base materials "Cadastre permanently disadvantaged anthrax points of Azerbaijan Republic", in a single computer The bank, which will be collected sanitary-epidemiological, veterinary services and geomorphological information.

AZƏRBAYCAN MİLLİ ELMLƏR AKADEMİYASI

MİKROBİOLOGİYA İNSTİTUTU

Əlyazma hüququnda

SƏBİNƏ MƏMMƏDAĞA QIZI İBRAHİMOVA

**AZƏRBAYCAN TORPAQLARINDA BACILLUS ANTHRACIS VƏ
BAŞQA TORPAQ BASİLLƏRİNİN YAYILMA XÜSUSİYYƏTLƏRİ
VƏ ONLARIN DETEKSİYASININ EKSPRESS-METODUNUN
İŞLƏNİB HAZIRLANMASI**

2414.01 - Mikrobiologiya

**Biologiya üzrə fəlsəfə doktoru elmi dərəcəsi
almaq üçün təqdim edilən dissertasiyanın**

AVTOREFERATI

Bakı- 2015

