

Филогенетическая характеристика штаммов возбудителя туляремии на территории Ростовской области и выявление эритромициночувствительных геновариантов

*В. М. СОРОКИН, Н. В. ПАВЛОВИЧ, М. В. ЦИМБАЛИСТОВА,
А. П. ХАМЕТОВА, А. С. ВОДОПЬЯНОВ, Р. В. ПИСАНОВ, А. К. НОСКОВ

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия

Резюме

Актуальность. Изучение вопросов филогеографии туляремийного микроба представляет не только практический, но и научный интерес, так как позволяет оценить эволюционные процессы *Francisella tularensis* в современных условиях. **Цель.** Филогенетический анализ штаммов возбудителя туляремии на территории Ростовской области и выявление эритромициночувствительных геновариантов. **Материал и методы.** Культурально-морфологические, биохимические и биологические свойства туляремийного микроба изучали в соответствии с МУ 3.1.2007-05. Антибиотикочувствительность исследуемых культур изучали диско-диффузионным методом, согласно МУК 4.2.2495-09. Для генотипирования штаммов применён метод VNTR анализа по 5 локусам. Кластерный анализ и построение филогенетического дерева проводили с использованием программы GrapeTree. **Результаты.** Проведено исследование репрезентативной коллекции 122 культур, изолированных из различных источников в период с 1945 по 2022 гг. Как установлено, все изученные штаммы возбудителя туляремии обладали типичными культурально-морфологическими и биологическими характеристиками. Результаты изучения антибиотикограмм бактерий показали, что все штаммы были устойчивы к бета-лактамам, полимиксину, клиндамицину и чувствительны к аминогликозидам, рифампицину и фторхинолонам. В отношении эритромицина обнаружены только 2 эритромициночувствительных штамма. Филогенетический анализ 34 европейских и российских штаммов *F. tularensis* позволил определить принадлежность этих штаммов к подгруппе В.7 основной генетической группы В.6. **Заключение.** Впервые в Целинском районе Ростовской области зарегистрировано наличие «нетипичных» геновариантов туляремийного микроба, принадлежащих к подгруппе В.7 основной группы В.6 подвида *holarctica*, согласно современной схеме генетического типирования *F. tularensis* subsp. *holarctica*.

Ключевые слова: *Francisella tularensis*; подвиды; типирование; филогеография; эритромициночувствительность; ПЦР

Для цитирования: Сорокин В. М., Павлович Н. В., Цимбалистова М. В., Хаметова А. П., Водопьянов А. С., Писанов Р. В., Носков А. К. Филогенетическая характеристика штаммов возбудителя туляремии на территории Ростовской области и выявление эритромициночувствительных геновариантов. *Антибиотики и химиотер.* 2024; 69 (1–2): 23–28. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-1-2-23-28>.

Phylogenetic Characteristics of Strains of Tularemia Causative Agent in the Rostov Region and Identification of Erythromycin-Sensitive Genovariants

*VLADIMIR M. SOROKIN, NATALIA V. PAVLOVICH,
MARINA V. TSIMBALISTOVA, ANNA P. HAMETOVA,
ALEXEY S. VODOPYANOV, RUSLAN V. PISANOV, ALEXEY K. NOSKOV

Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, Rostov-on-Don, Russia

Abstract

Background. The study of the phylogeography of the tularemia microbe is not only practical, but also of scientific interest, as it allows us to evaluate the evolutionary processes of *Francisella tularensis* in modern conditions. **Aim.** Phylogenetic analysis of strains of the causative agent of tularemia in the Rostov region and identification of erythromycin-sensitive genovariants. **Results.** A representative collection of 122 cultures, isolated from various sources from 1945 to 2022, was studied. As it was established, all the studied strains of the causative agent of tularemia had typical cultural, morphological, and biological characteristics. The results of the study of bacteria antibiograms showed that all strains were resistant to β -lactams, polymyxin, clindamycin, and sensitive to aminoglycosides, rifampicin, and fluoroquinolones. In relation to erythromycin, only 2 erythromycin-sensitive strains were found. Phylogenetic analysis of 34 European and Russian strains of *F. tularensis* made it possible to determine whether these strains belong to subgroup B.7 of the main genetic group B.6. **Conclusion.** For the first time, in the Tselinsky district of the Rostov region, the presence of «atypical» genovariants of the tularemia microbe belonging to subgroup B.7 of the main group B.6 of the subspecies *holarctica* was registered, according to the modern scheme of genetic typing of *F. tularensis* subsp. *holarctica*.

*Адрес для корреспонденции: 117/40, ул. М. Горького, Ростовский-на-Дону противочумный институт, г. Ростов-на-Дону, Россия, 344002.
E-mail: plague@aaanet.ru



EDN: EKEYRC

*Correspondence to: 117/40, M. Gorkogo st., Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, Rostov-on-Don, 344002, Russia. E-mail: plague@aaanet.ru



For citation: Sorokin V. M., Pavlovich N. V., Tsimbalistova M. V., Hametova A. P., Vodopyanov A. S., Pisanov R. V., Noskov A. K. Phylogenetic characteristics of strains of the causative agent of tularemia in the Rostov region and identification of erythromycin-sensitive genovariants. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2024; 69 (1–2): 23–28. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-1-2-23-28>.

Введение

В настоящее время молекулярно-биологические методы исследования инфекционных агентов приобретают всё большее значение в связи с их информативностью и возможностью определить филогенетическое родство тех или иных штаммов. При этом пристального внимания требуют возбудители особо опасных инфекций человека, которые способны вызывать не только тяжёлое течение инфекционного процесса, но и могут быть использованы в качестве агентов биотерроризма.

Туляремия относится к природно-очаговым инфекциям, эндемичные очаги которой широко распространены в северном полушарии земного шара, включая Россию. Несмотря на безусловные успехи в борьбе с этим заболеванием, связанные с введением массовой иммунизацией населения, тем не менее, периодические спорадические и эпидемические вспышки туляремии у людей в различных районах не снимают проблему с повестки дня. Более того, в последние годы регистрируется тенденция к расширению ареала циркуляции туляремийного микроба с появлением штаммов, не характерных для данного региона. Например, если исторически штаммы среднеазиатского подвида были приурочены к небольшому региону Средней Азии, то в 2013 г. они уже были изолированы в Алтайском крае РФ [1]. Как известно, туляремийный микроб склонен к обитанию в умеренных широтах земного шара [2]. Вместе с тем, существенное потепление климата, по мнению Д. С. Орлова [3], будет сопровождаться постепенным вовлечением северных территорий, изменением паразитарной системы и возможным изменением фенотипических и генетических свойств возбудителя. Поэтому изучение вопросов филогеографии туляремийного микроба представляет не только практический, но и научный интерес, так как позволяет оценить эволюционные процессы *Francisella tularensis* в современных условиях.

В своё время на основании обширного исследования чувствительности/устойчивости к эритромицину штаммов из различных регионов N. G. Olsufjev и I. S. Meshcheryakova [4] предложили использовать этот маркер для разделения подвида *holarctica* на три биовара: bv.I Ery^S, bv.II Ery^R и штаммы, выделенные в Японии — bv.japonica. Более того, как установлено, на территории России циркулируют, в основном, штаммы Ery^R, штаммы Ery^S встречаются на Дальнем Востоке и

Сибири. Тем не менее, до 1980 г. небольшое количество эритромициночувствительных штаммов обнаруживалось на северо-западе и центре европейской части РФ [5].

Проведённый нами анализ биологических свойств 91 штамма туляремийного микроба, выделенных в 1989 г. на Европейской территории России (Ростовская, Ленинградская области), показал, что все культуры были резистентны к макролидам [6]. Результаты мониторинга чувствительности к антибиотикам у штаммов *F. tularensis*, изолированных в природных очагах Ростовской области (РО) в последующие годы (до 1995 г.), не выявили культур с маркером Ery^S. Следовательно, на протяжении длительного времени наблюдения для РО характерна циркуляция возбудителя туляремии с фенотипом Ery^R. В этой связи представляло интерес сравнительное изучение филогенетических связей штаммов возбудителя туляремии, в том числе «нетипичных», выделенных в различные годы, с использованием современных молекулярно-биологических методов. Это и определило цель исследования.

Цель исследования — филогенетический анализ штаммов возбудителя туляремии на территории Ростовской области и выявление эритромициночувствительных геновариантов.

Материал и методы

В работе были использованы 122 штамма *F. tularensis*, изолированных из различных источников в период с 1945 по 2022 гг. Бактерии выращивали на среде Т в течение 24 ч при 37°C [7]. Культурально-морфологические, биохимические и биологические свойства туляремийного микроба изучали в соответствии с МУ 3.1.2007-05 «Эпидемиологический надзор за туляремией» [8]. Антибиотикочувствительность исследуемых культур изучали диско-диффузионным методом, согласно МУК 4.2.2495-09 «Определение чувствительности возбудителей опасных бактериальных инфекций (чума, сибирская язва, холера, туляремия, бруцеллёз, сеп, мелиоидоз) к антибактериальным препаратам» [9].

Конструирование праймеров и проведение ПЦР *in silico* осуществляли при помощи программ Primer3Plus и авторской программы VirtualPCR. Кластерный анализ и построение филогенетического дерева проводили с использованием программы GrapeTree (алгоритм NJ) [10]. Для оптимизации набора VNTR локусов с целью получения максимального числа индивидуальных генотипов была использована программа AuSeTTS (Automated Selection of Typing Target Subsets) [11].

Для детекции VNTR локусов ПЦР проводили отдельно для каждого из 5 локусов. Температура отжига составляла 55°C для всех локусов (M3, M6, M10, M20A, M24). Продукты амплификации анализировали в 8 % полиакриламидном геле (ПААГ) и определяли размер амплифицированных фрагментов по стандарту молекулярных масс с помощью программы «Quantity One».

Результаты и обсуждение

Современная схема генетического типирования *F. tularensis* subsp. *holarctica* определяет 4 основные филогенетические группы в пределах этого подвида (B.4, B.6, B.12 и B.16). Группа B.12 представлена исключительно *Egy^R* штаммами, тогда как штаммы с маркером *Egy^S* распределены по другим группам. Распространение штаммов группы B.12 носит глобальный характер, в частности, на европейской территории они преобладают в Восточной Европе, а в Западной Европе доминируют представители группы B.6. В Центральной Европе циркулируют как штаммы генотипа B.12, так и B.6. Группу B.16 формируют штаммы *F. tularensis* subsp. *holarctica* bv. *japonica* [12]. Как было сказано выше, на территории России циркулируют, в основном, штаммы *Egy^R*, а штаммы *Egy^S* встречаются на Дальнем Востоке и Сибири. Групповая принадлежность российских *Egy^S* штаммов пока не определена.

Для выявления филогенетических связей штаммов *F. tularensis* из природных очагов как России, так и Европы было проведено MLVA типирование по 5 VNTR локусам. VNTR анализ 16 российских штаммов, включая 13 выделенных в разное время в Ростовской области, проводили *in vitro*. Типирование штаммов из разных стран Европы проводили *in silico* с использованием базы данных GenBank. Филогенетическое дерево генотипов штаммов *F. tularensis* представлено на рис. 1.

Следует отметить, что происходит четкое разделение изученных штаммов на два кластера — европейский и российский, причём внутри кластеров существуют отдельные генетические линии. Примечательным является факт присутствия в российском кластере четырёх турецких штаммов, а в европейском — двух штаммов, выделенных в Целинском районе Ростовской области в 1996 г. (27) и 2017 г. (Obl1) [13] (см. рис. 1). Показано, что оба этих штамма относятся к биовару *Egy^S*, выделение которого на территории Юга России до 1996 г. не описано.

Для определения генотипов изученных штаммов и выявления филогенетических связей штаммов *F. tularensis*, циркулирующих не только на территории РФ, но и в других регионах мира, проведена оптимизация набора праймеров для MLVA анализа штаммов возбудителя туляремии. В основу разработки набора в представленном исследовании была положена схема типирования по А. J. Vogler [14] с 11 VNTR маркерами. Нами с целью увеличения точности определения числа повторов в указанных VNTR локусах были сконструированы новые праймеры для уменьшения размера целевых фрагментов. Для оценки корреляции между индексом разнообразия Симпсона (DI) и количеством применяемых VNTR маркеров использовали программу AuSeTTS [11]. В качестве матрицы ло-

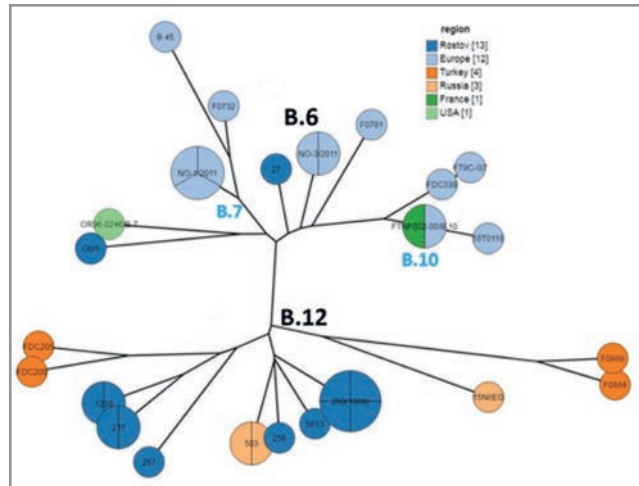


Рис. 1. Филогенетическое дерево VNTR генотипов 34 европейских и российских штаммов *F. tularensis*, построенное по алгоритму NJ

Fig. 1. Phylogenetic tree of VNTR genotypes of 34 European and Russian strains of *F. tularensis* built using the NJ algorithm

кальной базы данных была выбрана совокупность VNTR маркеров для 228 штаммов подвида *holarctica*. Определено, что максимально возможное количество индивидуальных генотипов (117) достигается уже при применении 11 определённых VNTR маркеров с DI=0,988. На основании полученных данных для дальнейшей работы отобраны 5 VNTR маркеров (M3, M6, M10, M20A, M24) с максимально возможным количеством индивидуальных генотипов (101) с DI=0,986. Целесообразность такого выбора подтверждается результатами других авторов, полученными ранее. В частности, четыре локуса были использованы для MLVA анализа штаммов по 6 VNTR маркерам в Турции и Болгарии [15], а также Словении [16]. Также они входят в состав набора MLVA9, предложенного в ФБУН ГНЦ ПМБ (г. Оболенск) [17]. При изучении культур возбудителя туляремии, выделенных в Ставропольском крае в 2017 г., установлено, что при VNTR типировании по 25 локусам информативными оказались только 5 (M3, M6, M10, M20A, M24), которые и применены в нашем исследовании [18]. Результаты использования этих VNTR маркеров оказались достаточно эффективными и позволили выявить 23 индивидуальных генотипа у 32 штаммов — с индексом разнообразия DI=0,974. Для определения групповой принадлежности изученных штаммов проведено их типирование по INDEL-типам B.6 (Ftind49) и B.12 (Ftind33) [19].

В результате исследования показано, что «европейский» кластер представлен штаммами группы B.6 (*Egy^S*), а «российский» состоит из штаммов группы B.12 (*Egy^R*). Известно, что группа B.6 состоит из двух подгрупп (B.7 и B.10) [20]. Для их позиционирования в дендрограмму включены референс-штаммы OR96-0246 (B.7) и FTNF002-00 (B.10) (см. рис. 1).

Подгруппа B.7 представлена отдельным кластером, который включает в себя оба ростовских штамма. Ранее было отмечено, что представители подгруппы B.7 обнаруживаются, в основном, в Скандинавии, а штаммы подгруппы B.10 — в Западной Европе [21]. Соответственно, обнаружение в Целинском районе Ростовской области Ery^s штаммов возбудителя туляремии подгруппы B.7 вызывает вопрос об их происхождении. Необходимо отметить, что за последние несколько лет в Ростовской области зарегистрированы две эпизоотии в 2020 г. (Ремонтненский и Сальский районы) и 2022 г. (Неклиновский и Целинский районы). Все штаммы, выделенные во время этих эпизоотий, характеризовались устойчивостью к эритромицину и относились к подгруппе B.12.

Географическое расширение ареалов различных популяций возбудителя туляремии происходит и в других регионах России и мира. Так, в Швейцарии было проведено масштабное исследование штаммов *F. tularensis*, выделенных в 1996–2013 гг. Оказалось, что вплоть до 2012 г. на территории страны циркулировали только Ery^s штаммы возбудителя туляремии подгруппы B.FTNF002-00 (B.10), входящей в группу B.6, но уже в 2013 г. было отмечено выделение Ery^R штаммов группы B.12 и их совместная циркуляция с Ery^s штаммами в трёх кантонах Швейцарии [22]. В целом, в Европе доминируют штаммы двух групп B.6 и B.12, причём группа B.12 географически распространяется из Скандинавии в Восточную Европу. В некоторых европейских странах отмечена совместная циркуляция штаммов обеих групп. В Западной Европе, а именно, Франции, Италии, Испании, Швейцарии и Германии, доминирующей группой является группа B.6, при этом Германия представляет собой географическую «диафрагму», виртуально разделяющую две этих группы [23, 24]. Принимая во внимание последние данные о генетическом разнообразии изолятов *F. tularensis* subsp. *holarctica* в Европе, Германия может быть «плавающим котлом» для видов, где смешиваются штаммы и появляются новые генетические варианты [25, 26]. Фиксируется также расширение географического ареала другого подвида *F. tularensis mediasiatica*. Так, в 2013 г. были опубликованы данные о первом выделении штаммов среднеазиатского подвида на территории Алтайского края [1], что может свидетельствовать либо о слабой изученности очагов туляремии, либо о дрейфе среднеазиатских штаммов в сторону Сибири. Позднее, с помощью метода MLVA было показано, что Алтайская популяция *F. tularensis* имеет генетические отличия от классической Центрально-Азиатской популяции и, возможно, эндемична для Южной Сибири [27]. В дальнейшем возбудитель туляремии среднеазиатского подвида был изолирован более чем в 500 км восточнее, а именно в Красноярском крае [28].

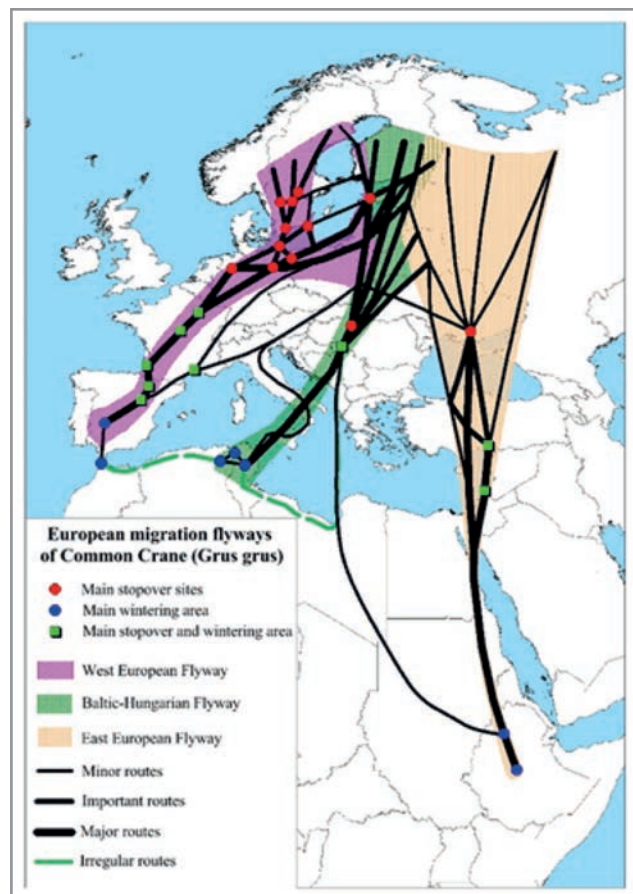


Рис. 2. Европейские маршруты некоторых перелётных птиц [32].

Fig. 2. European routes of some migratory birds [32].

Некоторые авторы в качестве гипотезы предполагают, что источниками распространения *F. tularensis* на дальние расстояния могут быть перелётные птицы [29]. В качестве потенциального переносчика рассматривается каменка-изабелла — перелётная насекомоядная птица. Ранее предполагалась её возможная роль в распространении возбудителя чумы [30, 31]. Для европейской территории характерны свои маршруты перелётных птиц из Скандинавии до побережья Африки (рис. 2).

С целью подтверждения появления на территории Ростовской области штаммов возбудителя туляремии «нового» геноварианта Ery^s проведено исследование репрезентативной коллекции 122 культур, изолированных из различных источников в период с 1945 по 2022 гг., включая изучение чувствительности к широкому спектру антибиотиков. Как установлено, все штаммы обладали типичными для *F. tularensis* subsp. *holarctica* культурально-морфологическими и биологическими характеристиками. Результаты изучения антибиотикограмм бактерий показали, что все штаммы были устойчивы к бета-лактамам, полимиксину, клиндамицину и чувствительны к аминогликозидам, рифампи-

цину и фторхинолонам. В отношении эритромицина обнаружены только 2 штамма (27 и Obl-1), выделенные в 1996 г. и 2017 г. и проявляющие чувствительность к антибиотику. Все остальные культуры относились к Ery^r биовару.

Заключение

Анализ результатов нашего исследования позволяет предположить связь между существованием «Восточно-Европейского» маршрута перелётных птиц, берущего начало в Скандинавии, пролегающего над Северной Европой, Центральной Россией, акваториями Азовского и Чёрного морей и ведущего на побережье Африки и появлением возбудителя туляремии из Скандинавии на Европейской части России. В пользу этого свидетельствует и генетическое родство Ery^s штамма *F. tularensis* 27, выделенного в Ростовской области в 1996 г., с некоторыми «норвежскими» штаммами (рис. 2), а также данные о выделении эритромициночувствительных штаммов на северо-западе и центре европейской части РФ [5].

Литература/References

1. Мокриевич А. Н., Тимофеев В. С., Кудрявцева Т. Ю., Уланова Г. И., Карбышева С. Б., Миронова Р. И. и др. Выделение среднеазиатского подвида туляремийного микроба на территории Алтайского края. Проблемы особо опасных инфекций. 2013; 1: 66–69. [Mokrievich A. N., Timofeev V. S., Kudryavtseva T. Yu., Ulanova G. I., Karbysheva S. B., Mironova R. I. i dr. Vydelenie sredneaziatskogo podvida tulyaremiinogo mikroba na territorii Altaiskogo kraia. Problemy Osobo Opasnykh Infektsii. 2013; 1: 66–69. (in Russian)]
2. Олсуфьев Н.Г. Таксономия, микробиология и лабораторная диагностика возбудителя туляремии. М.: Медицина; 1975. [Olsufyev N.G. Taksonomiya, mikrobiologiya i laboratornaya diagnostika vzbudatelya tulyaremii. Moscow: Meditsina; 1975. (in Russian)]
3. Орлов Д.С. География туляремии на Европейской территории России: Дис. ... канд. геогр. наук. М.: 2022. [Orlov D.S. Geografiya tulyaremii na Evropeiskoi territorii Rossii. [dissertation] Moscow: 2022. (in Russian)]
4. Olsufyev N.G., Meshcheryakova I.S. Subspecific taxonomy of *Francisella tularensis*. Int J Syst Bacteriol. 1983; 33: 872–4.
5. Kudelina R.I., Olsufyev N.G. Sensitivity to macrolide antibiotics and lincomycin in *Francisella tularensis holarctica*. J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol. 1980; 24: 84–91.
6. Павлович Н.В., Мишанькин Б.Н., Тынкевич Н.К., Рыжко И.В., Романова Л.В., Данилевская Г.И. Сравнительная характеристика биологических свойств штаммов *Francisella tularensis*, выделенных на территории СССР. Антибиотики и химиотер. 1991; 36 (10): 23–25. [Pavlovich N.V., Mishan'kin B.N., Tynkevich N.K., Ryzhko I.V., Romanova L.V., Danilevskaya G.I. Sravnitel'naya kharakteristika biologicheskikh svoistv shtammov Francisella tularensis, vydelennykh na territorii SSSR. Antibiot Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy. 1991; 36 (10): 23–25. (in Russian)]
7. Павлович Н.В., Мишанькин Б.Н. Прозрачная питательная среда для культивирования *Francisella tularensis*. Антибиотики и медицинская биотехнология. 1987; 32 (2): 133–137 [Pavlovich N.V., Mishan'kin B.N. Prozrachnaya pitatel'naya sreda dlya kul'tivirovaniya Francisella tularensis. Antibiotiki i medicinskaya. Biotekhnologiya. 1987; 32 (2): 133–137 (in Russian)]
8. Эпидемиологический надзор за туляремией: Методические указания МУ 3.1.2007-05.М.: 2005. [Epidemiologicheskij nadzor za tulyaremiye: Metodicheskie ukazaniya MU 3.1.2007-05. Moscow: 2005 (in Russian)]
9. Определение чувствительности возбудителей опасных бактериальных инфекций (чума, сибирская язва, холера, туляремия, бруцеллез, сепсис, мелиоидоз) к антибактериальным препаратам. Методические указания МУК 4.2.2495—09. М.: 2009. [Opredelenie chuvstvitel'nosti vzbuditelej opasnykh bakterial'nykh infekcij (chuma, sibirskaya yazva, holera, tulyaremiya, brucellez, sap, melioidoz) k antibakterial'nykh

препаратам. Metodicheskie ukazaniya MUK 4.2.2495-09. Moscow: 2009 (in Russian)]

Впервые в Целинском районе Ростовской области зарегистрировано наличие «нетипичных» геновариантов туляремийного микроба, принадлежащих к подгруппе В.7 основной группы В.6 подвида *holarctica*, согласно современной схеме генетического типирования *F. tularensis* subsp. *holarctica*. Наблюдаемый процесс географического расширения ареалов различных популяций возбудителя туляремии в регионах России и мира обуславливает необходимость постоянного мониторинга природных очагов возбудителя туляремии.

Дополнительная информация

Работа выполнена в рамках Отраслевой научно-исследовательской программы Роспотребнадзора на 2021–2025 гг. (п. 6.5.12.)

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

10. Zhou Z., Alikhan N.F., Sergeant M.J., Luhmann N., Vaz C., Francisco A.P. et al. GrapeTree: visualization of core genomic relationships among 100,000 bacterial pathogens. Genome Res. 2018; 28 (9): 1395–1404. doi: 10.1101/gr.232397.117.
11. O'Sullivan M.V., Sintchenko V. and Gilbert G.L. Software for selecting the most informative sets of genomic loci for multi-target microbial typing. BMC Bioinformatics. 2013; 14 (1): 1–8. doi: 10.1186/1471-2105-14-148.
12. Karlsson E., Golovliov I., Lärkeryd A., Granberg M., Larsson E., Öhrman, C. et al. Clonality of erythromycin resistance in *Francisella tularensis*. J Antimicrob Chemother. 2016; 71 (10): 2815–2823. doi: 10.1093/jac/dkw235.
13. Ковалев Е.В., Карпущенко Г.В., Швагер М.М., Полонский А.В., Судельников В.В., Гончаров А.Ю. и др. Особенности распространения туляремийной инфекции в Ростовской области. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2017; 16 (6 (97)): 37–40. [Kovalev E.V., Karpushchenko G.V., Shvager M.M., Polonskii A.V., Sidel'nikov V.V., Goncharov A.Yu. i dr. Osobennosti rasprostraneniya tulyaremiinoi infektsii v Rostovskoi oblasti. Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika. 2017; 16 (6 (97)): 37–40. (in Russian)]
14. Vogler A.J., Birdsell D., Wagner D.M., Keim P. An optimized, multiplexed multi-locus variable-number tandem repeat analysis system for genotyping *Francisella tularensis*. Lett Appl Microbiol. 2009 Jan; 48 (1): 140–144. https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2008.02484.x.
15. Gürkan S., Karabay O., Karadenizli A., Karagol C., Kantardjiev T., Ivanov I.N. Characteristics of the Turkish isolates of *Francisella tularensis*. Jpn J Infect Dis. 2008; 61 (3): 223–5. PMID: 18503176.
16. Glinšek Biškup U., Kogoj R., Korva M., Knap N., Cerar T., Knapič T. et al. Characterization of Tularemia Cases in Slovenia with Multiple-Locus Variable-Number Tandem Repeat Analysis. Vector-Borne and Zoonotic Dis. 2021; 21 (5): 351–357. doi: 10.1089/vbz.2020.2711.
17. Timofeev V., Bakhteeva I., Titareva G., Kopylov P., Christyany D., Mokrievich A. et al. Russian isolates enlarge the known geographic diversity of *Francisella tularensis* subsp. *mediasiatica*. PLoS One. 2017; 12 (9): e0183714. doi: 10.1371/journal.pone.0183714.
18. Гнусарева О.А., Котенев Е.С., Вольнкина А.С., Чишениук Т.И., Куличенко А.Н. Молекулярно-эпидемиологический анализ вспышки туляремии в Ставропольском крае в 2017 г. Инфекционные болезни: Новости. Мнения. Обучение. 2018; 7 (3 (26)): 57–61. [Gnusareva O. A., Kotenev E. S., Volynkina A. S., Chishenyuk T. I., Kulichenko A. N. Molekulyarno-epidemiologicheskii analiz vspyshki tulyaremii v Stavropol'skom krae v 2017 g. Infektsionnye Bolezni: Novosti. Mneniya. Obucheniye. 2018; 7 (3 (26)): 57–61. (in Russian)]
19. Svensson K., Granberg M., Karlsson L., Neubauerova V., Forsman M., Johansson A. A real-time PCR array for hierarchical identification of *Francisella* isolates. PLoS One. 2009; 4 (12): e8360. doi: 10.1371/journal.pone.0008360.

20. Кудрявцева Т. Ю., Мокриевич А. Н. Молекулярно-генетические основы различий подвидов возбудителя туляремии и типирования штаммов *Francisella tularensis* subsp. *holarctica*. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2022; 40 (1): 12–20. doi: <https://doi.org/10.17116/molgen20224001112>. [Kudryavtseva T.Yu., Mokrievich A.N. Molecular genetic basis of differences in tularemia causative agent subspecies and typing of strains of *Francisella tularensis* subsp. *holarctica*. Molekulyarnaya Genetika, Mikrobiologiya i Virusologiya (Molecular Genetics, Microbiology and Virology). 2022; 40 (1): 12–20. doi: <https://doi.org/10.17116/molgen20224001112>. (in Russian)]
21. Koene M., Rijks J., Maas M., Ruuls R., Engelsma M., Van Tulden P. et al. Phylogeographic distribution of human and hare *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* strains in the Netherlands and its pathology in European brown hares (*Lepus europaeus*). Frontiers in cellular and infection microbiology. 2019 Feb 11; 9: 11. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00011>
22. Origi F.C., Frey J., Pilo P. Characterisation of a new group of *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* in Switzerland with altered antimicrobial susceptibilities, 1996 to 2013. Euro Surveill. 2014 Jul 24; 19 (29): 20858. doi: [10.2807/1560-7917.ES2014.19.29.20858](https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES2014.19.29.20858).
23. Müller W., Hotzel H., Otto P., Karger A., Bettin B., Bocklisch H. et al. German *Francisella tularensis* isolates from European brown hares (*Lepus europaeus*) reveal genetic and phenotypic diversity. BMC Microbiology. 2013 Dec; 13 (1): 1–9. doi: [10.1186/1471-2180-13-61](https://doi.org/10.1186/1471-2180-13-61).
24. Kevin M., Girault G., Caspar Y., Cherfa M.A., Mendy C., Tomaso H. et al. Phylogeography and Genetic Diversity of *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* in France (1947–2018). Frontiers in microbiology. 2020 Mar 4; 11: 287. doi: [10.3389/fmicb.2020.00287](https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00287).
25. Appelt S., Köppen K., Radonić A., Drechsel O., Jacob D., Grunow R. et al. Genetic diversity and spatial segregation of *Francisella tularensis* subspecies *holarctica* in Germany. Front Cell Infect Microbiol. 2019; 376. doi: [10.3389/fcimb.2019.00376](https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00376).
26. Appelt S., Faber M., Köppen K., Jacob D., Grunow R., Heuner K. *Francisella tularensis* subspecies *holarctica* and Tularemia in Germany. Microorganisms. 2020 Sep 22; 8 (9): 1448. doi: [10.3390/microorganisms8091448](https://doi.org/10.3390/microorganisms8091448).
27. Timofeev V., Bakhteeva I., Titareva G., Kopylov P., Christiany D., Mokrievich A. et al. Russian isolates enlarge the known geographic diversity of *Francisella tularensis* subsp. *mediasiatica*. PLoS One. 2017; 12 (9): e0183714. doi: [10.1371/journal.pone.0183714](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183714).
28. Timofeev V., Bakhteeva I., Mokrievich A., Vakhrameeva G., Gritskova E., Anisimov Y. et al. The First Finding of *Francisella tularensis* subsp. *mediasiatica* in Krasnoyarsk Territory, Siberia, and an Update of the Subspecies Genetic Diversity. Bacteria. 2022 Oct 20; 1 (4): 242–249. doi: <https://doi.org/10.3390/bacteria1040018>.
29. Shevtsov V., Kairzhanova A., Shevtsov A., Shustov A., Kalendar R., Abdrakhmanov S. et al. Genetic diversity of *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* in Kazakhstan. PLoS Negl Trop Dis. 2021 May 17; 15 (5): e0009419. doi: [10.1371/journal.pntd.0009419](https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009419).
30. Попов Н. В., Слудский А. А., Завьялов Е. В., Удовиков А. И., Табачишин В. Г., Аникин В. В. и др. Оценка возможной роли каменки-плясуньи (*Oenanthe isabellina*) и других птиц в механизме энзоотии чумы. Поволжский экологический журнал. 2007; 3: 215–226. [Popov N. V., Sludskii A. A., Zav'yalov E. V., Udovikov A. I., Tabachishin V. G., Anikin V. V. i dr. Otsenka vozmozhnoi roli kamenki-plyasun'i (*Oenanthe isabellina*) i drugikh ptits v mekhanizme enzootii chumy. Povolzhskii Ekologicheskii Zhurnal. 2007; 3: 215–226. (in Russian)]
31. Balakhonov S.V., Korzun V.M., Verzhutsky D.B., Mikhaylov E.P., Rozhdestvensky E.N., Denisov A.V. The first case of *Yersinia pestis* subsp. *pestis* Isolation in the territory of the Altai Mountain natural plague focus. Communication 2. Probable Ways and Mechanisms of Plague Agent Main Subspecies Importation into the Territory of the Focus. Problems of Particularly Dangerous Infections. 2013; (2): 5–10. doi: <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2013-2-5-10>.
32. Hunt T. Migration paths of cranes and video. 26.09.2017. Available from: <https://www.looduskalender.ee/n/en/node/1735>

Поступила / Received 31.03.2023

Принята в печать / Accepted 25.06.2023

Информация об авторах

Сорокин Владимир Михайлович — к. б. н., старший научный сотрудник лаборатории природноочаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия. ORCID ID: 0000-0002-1835-1496

Павлович Наталья Владимировна — д. м. н., главный научный сотрудник, и. о. заведующей отделом природноочаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия. ORCID ID: 0000-0001-8287-4294

Цимбалистова Марина Викторовна — к. м. н., старший научный сотрудник, лаборатории природноочаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия. ORCID ID: 0000-0002-4091-649X

Хаметова Анна Петровна — младший научный сотрудник, лаборатории экспериментально-биологических моделей и биологической безопасности ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия. ORCID ID: 0000-0002-4329-8340

Водопьянов Алексей Сергеевич — к. м. н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии природноочаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия. ORCID ID: 0000-0002-9056-3231

Писанов Руслан Вячеславович — к. б. н., главный научный сотрудник, и. о. заведующего лабораторией молекулярной биологии природноочаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия. ORCID ID: 0000-0002-7178-8021

Носков Алексей Кимович — директор ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия. ORCID ID: 0000-0003-0550-2221

About the authors

Vladimir M. Sorokin — Ph. D. in Biology, Senior Researcher at the Laboratory of Natural Focal and Zoonotic Infections, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, Rostov-on-Don, Russia. ORCID ID: 0000-0002-1835-1496

Natalia V. Pavlovich — D. Sc. in Medicine, Chief Researcher, Acting Head of the Department of Natural Focal and Zoonotic Infections, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, Rostov-on-Don, Russia. ORCID ID: 0000-0001-8287-4294

Marina V. Tsybalistova — Ph. D. in Medicine, Senior Researcher at the Laboratory of Natural Focal and Zoonotic Infections, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, Rostov-on-Don, Russia. ORCID ID: 0000-0002-4091-649X

Anna P. Hametova — Junior Researcher at the Laboratory of Experimental Biological Models and Biological Safety, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, Rostov-on-Don, Russia. ORCID ID: 0000-0002-4329-8340

Alexey S. Vodopyanov — Ph. D. in Medicine, Leading Researcher at the Laboratory of Molecular Biology of Natural Focal and Zoonotic Infections, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, Rostov-on-Don, Russia. ORCID ID: 0000-0002-9056-3231

Ruslan V. Pisanov — Ph. D. in Biology, Chief Researcher, Acting Head of the Laboratory of Molecular Biology of Natural Focal and Zoonotic Infections, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, Rostov-on-Don, Russia. ORCID ID: 0000-0002-7178-8021

Aleksey K. Noskov — Director of Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, Rostov-on-Don, Russia. ORCID ID: 0000-0003-0550-2221