

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-131-138

УДК 579.841.95:579

В.М. Сорокин, Н.В. Павлович, М.В. Цимбалистова, Н.В. Аронова,
А.С. Водопьянов, Р.В. Писанов, А.К. Носков

Пространственно-временной анализ популяции возбудителя туляремии в Ростовской области, ДНР, ЛНР и на Украине с 1943 по 2023 год

ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт», Ростов-на-Дону,
Российская Федерация

Цель исследования – пространственно-временной ретроспективный и оперативный генетический анализ популяции возбудителя туляремии в Ростовской области (РО), Донецкой (ДНР), Луганской (ЛНР) народных республиках и на Украине в период с 1943 по 2023 г. **Материалы и методы.** Использовали штаммы *Francisella tularensis*, выделенные на территории РО, ДНР, ЛНР и на Украине в период с 1943 по 2023 г. VNTR-генотипирование проводили по пяти локусам. Кластерный анализ и построение филогенетического дерева проводили с использованием программы GrapeTree (алгоритмы NJ и MST). Полногеномное секвенирование осуществляли на платформе MiSeq Illumina. Сборку геномов, представленных в виде ридов, проводили с использованием программы Spades. **Результаты и обсуждение.** Проведен сравнительный анализ VNTR-генотипов 72 штаммов *F. tularensis*, из них 35 штаммов, выделенных из различных природных очагов России и, в частности, в РО с 1928 по 2023 г., 11 штаммов – из ДНР и ЛНР (2022–2023 гг.) и 26 штаммов из коллекции Ростовского-на-Дону противочумного института, изолированных на территории Украины с 1949 по 1990 г. У изученных штаммов выявлено 20 индивидуальных генотипов, распределенных по трем клональным комплексам (CC1 – CC3). Молекулярно-генетический анализ штаммов *F. tularensis* позволил выявить три клональных комплекса возбудителя туляремии (CC1 – CC3), циркулирующих на изученных территориях. Все они присутствуют на территории РО и только комплекс CC2 проявляет географическую приуроченность к южным районам РО. Штаммы, выделенные на территории Западной Украины до 90-х гг. прошлого столетия, принадлежат исключительно к комплексу CC3. Судя по широте распространения и разнообразию генотипов, популяция штаммов комплексов CC3 и CC1 существует на изученных территориях длительное время. Штаммы одного генотипа могут обнаруживаться в эндемичных районах в течение 80 лет и на расстоянии около 1000 км друг от друга. Напротив, популяция комплекса CC2 является самой недавней по времени происхождения и территориально ограничена территорией РО. Географические данные о происхождении клонов – предшественников клональных комплексов возбудителя туляремии CC1 и CC3 позволяют предположить расширение генетического разнообразия популяции возбудителя туляремии с востока на запад.

Ключевые слова: *Francisella tularensis*, VNTR, полногеномное секвенирование, филогенетический анализ.

Корреспондирующий автор: Сорокин Владимир Михайлович, e-mail: sorokin_vm@antiplague.ru.

Для цитирования: Сорокин В.М., Павлович Н.В., Цимбалистова М.В., Аронова Н.В., Водопьянов А.С., Писанов Р.В., Носков А.К. Пространственно-временной анализ популяции возбудителя туляремии в Ростовской области, ДНР, ЛНР и на Украине с 1943 по 2023 год. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 4:131–138. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-131-138

Поступила 08.07.2024. Отправлена на доработку 14.08.2024. Принята к публ. 19.08.2024.

V.M. Sorokin, N.V. Pavlovich, M.V. Tsimbalistova, N.V. Aronova, A.S. Vodop'yanov, R.V. Pisanov,
A.K. Noskov

Spatio-Temporal Analysis of the Tularemia Agent Population in the Rostov Region, DPR, LPR and Ukraine from 1943 to 2023

Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don, Russian Federation

Abstract. The aim of the study was to conduct spatio-temporal retrospective and operational genetic analysis of the tularemia agent population in the Rostov Region, Donetsk People's Republic (DPR), Lugansk PR and Ukraine in the period of 1943–2023. **Materials and methods.** We used *Francisella tularensis* strains isolated in the Rostov Region (RR), DPR, LPR and Ukraine between 1943 and 2023. VNTR genotyping was performed by 5 loci. Cluster analysis and construction of a phylogenetic tree were carried out using the GrapeTree software (NJ and MST algorithms). Whole-genome sequencing was performed on the MiSeq Illumina platform. The assembly of genomes in the form of reads was carried out using the Spades program. **Results and discussion.** A comparative analysis of the VNTR genotypes in 72 *F. tularensis* strains has been conducted: 35 strains isolated from various natural foci of Russia and the Rostov Region in particular from 1928 to 2023, 11 strains from the DPR and LPR (2022–2023) and 26 strains from the collection of the Rostov-on-Don Anti-Plague Institute, isolated on the territory of Ukraine from 1949 to 1990. In the studied strains, 20 individual genotypes have been identified, distributed among three clonal complexes (CC1 – CC3). Molecular-genetic analysis of *F. tularensis* strains has made it possible to identify three clonal complexes of tularemia agent (CC1 – CC3), circulating in the studied areas. All of them are present on the territory of the RR and only complex CC2 shows a geographic confidedness to the southern areas of the RR. Strains isolated in western Ukraine before the 1990s belong exclusively to the CC3 complex. Judging by the range of distribution and diversity of genotypes, the population of strains of the CC3 and CC1 complexes has been existing for a long time in the studied areas. Strains of the same genotype can be found in endemic areas for up to 80 years and at a distance of about 1000 km from each other. On the contrary, the population of

the CC2 complex is the most recent in time of origin and is geographically limited to the territory of RR. Geographic data on the origin of the CC1 and CC3 progenitor clones of the tularemia agent clonal complexes suggest an expansion of the genetic diversity of tularemia agent population from east to west.

Key words: *Francisella tularensis*, VNTR, whole genome sequencing, phylogenetic analysis.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Funding: The authors declare no additional financial support for this study.

Corresponding author: Vladimir M. Sorokin, e-mail: sorokin_vm@antiplague.ru.

Citation: Sorokin V.M., Pavlovich N.V., Tsimbalistova M.V., Aronova N.V., Vodop'yanov A.S., Pisanov R.V., Noskov A.K. Spatio-Temporal Analysis of the Tularemia Agent Population in the Rostov Region, DPR, LPR and Ukraine from 1943 to 2023. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 4:131–138. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-131-138

Received 08.07.2024. Revised 14.08.2024. Accepted 19.08.2024.

Sorokin V.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1835-1496>

Pavlovich N.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8287-4294>

Tsimbalistova M.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4091-649X>

Aronova N.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7772-9276>

Vodop'yanov A.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9056-3231>

Pisanov R.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7178-8021>

Noskov A.K., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0550-2221>

Туляремия относится к природно-очаговым инфекциям, эндемичные очаги которой широко распространены в Северном полушарии, включая Россию. Несмотря на безусловные успехи в борьбе с этим заболеванием, связанные с введением массовой иммунизации населения, периодические спорадические и эпидемические вспышки туляремии у людей в различных районах не снимают проблему с повестки дня. Более того, в последние годы регистрируются тревожные тенденции как к расширению ареала циркуляции туляремийного микроба, так и к появлению штаммов, не характерных для данного региона. В странах Северной Европы, несмотря на большое сходство климатических, ландшафтных и других природных условий, выявлено значительное генетическое разнообразие популяций *Francisella tularensis* subsp. *holarctica*, представленных тремя основными генетическими группами: В.4, В.6 (биовар Ery^S) и В.12 (биовар Ery^R) – с различным географическим распределением. Норвежские штаммы примерно одинаково распределены по этим филогенетическим группам, тогда как более 90 % финских штаммов принадлежат к группе В.12. Таким образом, генетическое разнообразие *F. tularensis* возрастает в направлении с востока на запад [1].

Распространение штаммов группы В.12 в Евразии носит глобальный характер, в частности на европейской территории они преобладают в Восточной Европе, а в Западной Европе доминируют представители группы В.6. В Центральной Европе циркулируют как штаммы генотипа В.12, так и В.6. В настоящее время наблюдается процесс продвижения популяции *F. tularensis*, принадлежащей к генетической группе В.12, с востока на запад. В Швейцарии проведено масштабное исследование штаммов *F. tularensis*, выделенных в 1996–2013 гг. Как оказалось, вплоть до 2012 г. на территории страны изолировали только Ery^S-штаммы возбудителя туляремии подгруппы В.FTNF002-00 (В.10), входящей в группу В.6. В то же время уже в 2013 г. было отмечено появление Ery^R-штаммов группы В.12 и их совместная циркуляция с Ery^S-штаммами в трех кантонах Швейцарии [2]. В России зафиксирован процесс

расширения ареала популяции подвида *F. tularensis mediasiatica*. Так, в 2013 г. были опубликованы данные о первом выделении штаммов среднеазиатского подвида на территории Алтайского края [3], что может свидетельствовать либо о слабой изученности очагов туляремии, либо о дрейфе среднеазиатских штаммов в сторону Сибири. В дальнейшем возбудитель туляремии среднеазиатского подвида был изолирован более чем в 500 км восточнее, а именно в Красноярском крае [4]. По мнению D. Orlov *et al.* [5], процесс существенного потепления климата 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 *F. tularensis* в современных условиях. При проведении генетического мониторинга природных очагов туляремии в Ростовской области (РО) в 2020–2023 гг. нами подтверждено существование общего очага на территории РО, Донецкой (ДНР) и Луганской (ЛНР) народных республик [6]. Полученные результаты послужили основанием для дальнейшего изучения популяции возбудителя туляремии на географически удаленных территориях и в течение длительного времени.

Цель исследования – пространственно-временной ретроспективный и оперативный генетический анализ популяции возбудителя туляремии в Ростовской области, ДНР, ЛНР и на Украине в период с 1943 по 2023 г.

Материалы и методы

Бактерии *F. tularensis* выращивали на среде Т в течение 24 ч при 37 °С. Культурально-морфологические, биохимические и биологические свойства туляремийного микроба изучали в соответствии с МУ 3.1.2007-05 «Эпидемиологический надзор за туляремией» (2005 г.). Антибиотикочувствительность исследуемых культур изучали диско-диффузионным

методом согласно МУК 4.2.2495-09 «Определение чувствительности возбудителей опасных бактериальных инфекций (чума, сибирская язва, холера, туляремия, бруцеллез, сепсис, мелиоидоз) к антибактериальным препаратам» (2009 г.). Полногеномное секвенирование проводили на платформе MiSeq Illumina. Сборку геномов, представленных в виде ридов, осуществляли с использованием программы Spades. Алгоритм выбора SNP для анализа WGS описан ранее [7]. VNTR-генотипирование проводили по пяти локусам, как описано ранее [6].

Результаты и обсуждение

Сравнительный анализ VNTR-генотипов проведен для 72 штаммов *F. tularensis*, из них 35 штаммов, выделенных из различных природных очагов России и, в частности, в РО с 1928 по 2023 г., 11 штаммов – из ДНР и ЛНР (2022–2023 гг.) и 26 штаммов из коллекции Ростовского-на-Дону противочумного института, изолированных на территории Украины с 1949 по 1990 г. Туляремия является эндемичной инфекцией для территории Украины, на которой зарегистрирован 51 природный очаг. Из них наиболее активные расположены в Волынской, Ровенской, Полтавской, Черниговской и Сумской областях (рис. 1) [8].

В период с 1941 по 2008 г. на территории Украины было выделено 3086 штаммов *F. tularensis* в 1084 географических пунктах. За пять лет (2012–2017 гг.) зарегистрировано 18 случаев

заболевания людей – в Волынской, Сумской, Киевской и Черкасской областях [9]. Вакцинация против туляремии прекратилась в стране в 1991 г., после распада СССР. В настоящее время иммунопрофилактика проводится гражданским лицам, а также военнослужащим, находящимся в эпидемически неблагоприятных районах ДНР и ЛНР [10]. Сведения о генотипировании «украинских» штаммов в доступной литературе отсутствуют. Проведенное исследование показало, что все изученные нами штаммы принадлежат к подгруппе B.12 подвида *holarctica* Ery^R. VNTR-генотипирование по пяти локусам позволило выявить у 72 изученных штаммов 20 индивидуальных генотипов (рис. 2).

Общепринятым методом выявления клональных комплексов является метод MST (minimum spanning tree). При анализе VNTR-генотипов методом MST (рис. 3) выявлено три клональных комплекса (CC1 – CC3), все они присутствуют на территории РО и только комплекс CC2 проявляет географическую приуроченность к южным районам РО (Азовский, Орловский, Целинский, Сальский, Ремонтненский районы) (рис. 4). Следует особо подчеркнуть, что циркуляция штаммов комплекса CC2 регистрируется в течение длительного времени – с 1949 по 2023 г.

Центральным клоном – предшественником клонального комплекса CC1 является генотип типового штамма 503, выделенного в России до 1980-х гг. Позднее этот же генотип обнаружен у штаммов, выделенных в Калмыкии в 1987 г. и Одессе в 1990 г.

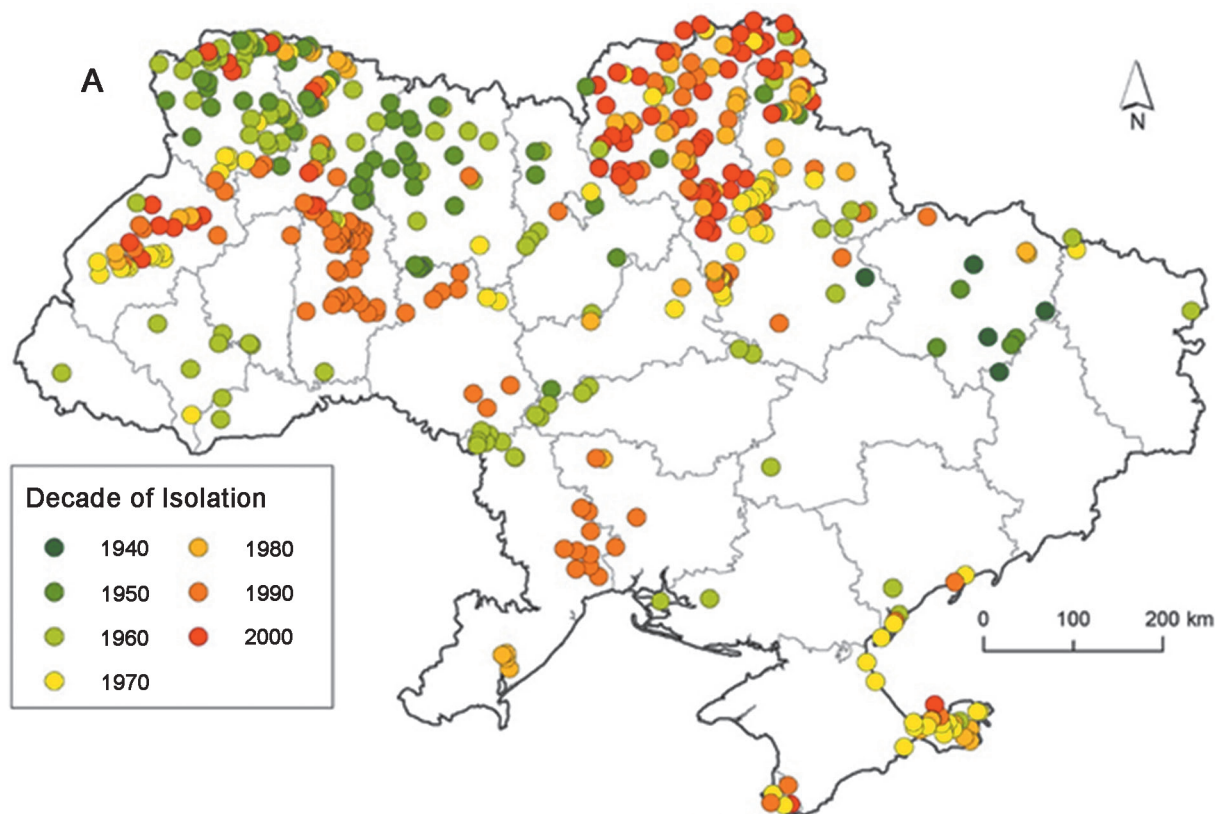


Рис. 1. Территориальное распределение точек выделения культур туляремиального микроба на Украине с 1940 по 2000 г. [8]

Fig. 1. Territorial distribution of points of isolation of *F. tularensis* cultures in Ukraine from 1940 to 2000 [8]

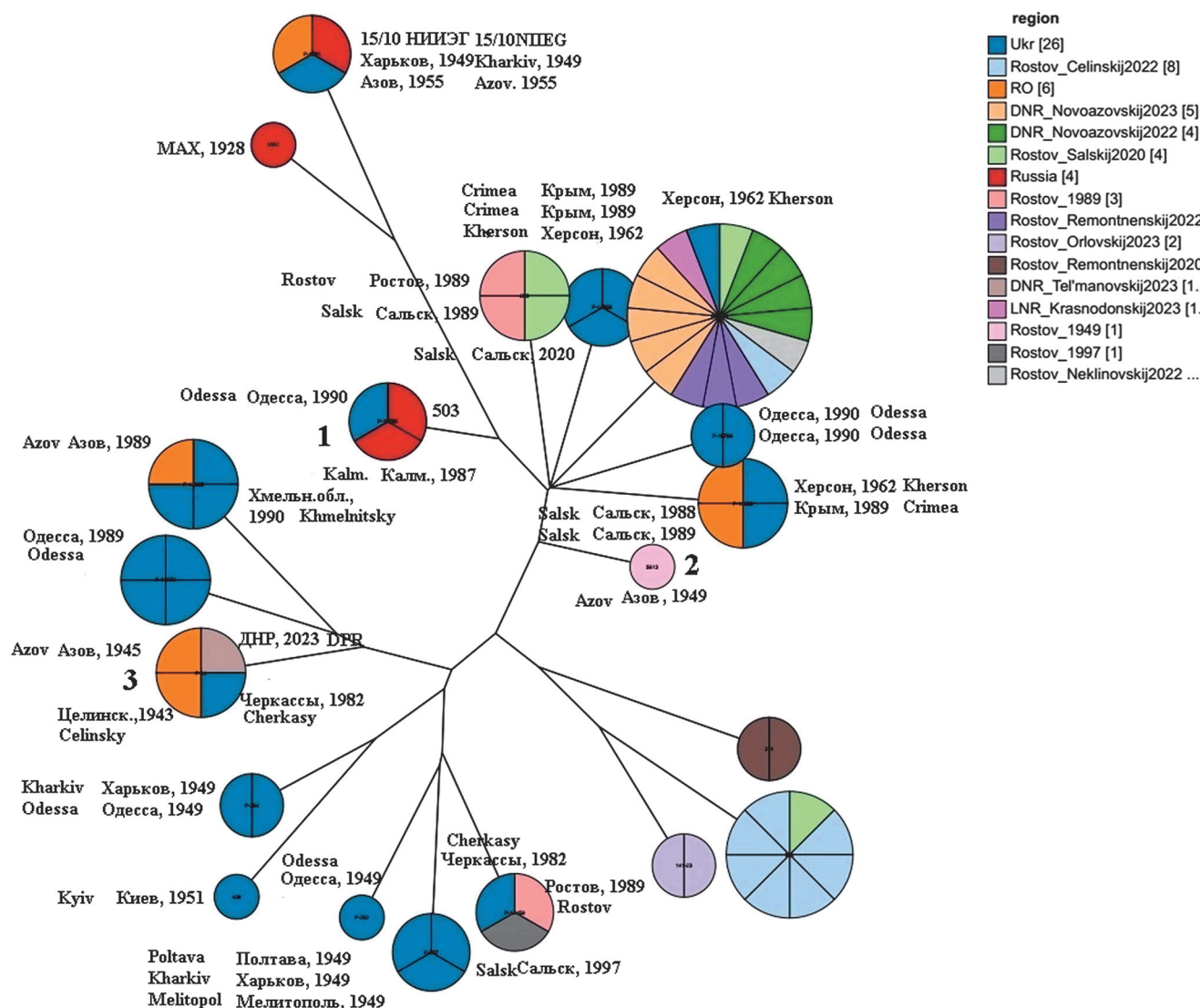


Рис. 2. Филогенетическое дерево VNTR-генотипов 72 штаммов *F. tularensis*, принадлежащих к подгруппе B.12, построенное по алгоритму NJ (генотипы клонов-предшественников обозначены цифрами)

Fig. 2. Phylogenetic tree of VNTR genotypes of 72 *F. tularensis* strains belonging to subgroup B.12, constructed using the NJ algorithm (genotypes of predecessor clones are indicated by numbers)

Дочерние клоны получили распространение как в РО, так и на Восточной Украине.

По такому же сценарию происходило распространение клонального комплекса СС3. Центральным клоном-предшественником является генотип штамма Р-37, выделенного в Целинском районе РО в 1943 г., штамма Р-34, выделенного в Азовском районе РО в 1945 г. и позднее в Черкасской области Украины в 1982 г. и ДНР в 2023 г.

Штаммы генотипа 3 (СС3) выделяются на разных территориях в течение 80 лет (1943, 1982 и 2023 гг.), причем точки их выделения находятся на максимальном расстоянии друг от друга около 1000 км (Целинский район РО и Черкасская область Украины). Полученные результаты еще раз подтверждают стабильность природных очагов туляремии и необходимость их постоянного мониторинга. На одной и той же территории, а именно в Сальском районе, отмечено выделение штаммов

одного генотипа (СС1) с разницей во времени около 30 лет. Таким образом, штаммы одного генотипа могут циркулировать не только на больших расстояниях (более 1000 км), но и в течение длительного времени (до 80 лет). Возможность выделения штаммов одного генотипа на удаленных территориях и на протяжении длительного времени была отмечена и в других географических зонах Северного полушария. Исследование популяции *F. tularensis* в Скандинавии выявило большое генетическое разнообразие штаммов трех подгрупп (В.4, В.6 и В.12). Также зарегистрировано появление идентичных клональных комплексов на значительном расстоянии (>600 км) или с разницей во времени (>11 лет) [1]. Необходимо отметить выявленные различия в географическом распределении клональных комплексов. Так, на территории Западной Украины были выделены исключительно штаммы комплекса СС3 (1949–1990 гг.). Восточнее, а именно в Харькове (1949 г.) и Одессе

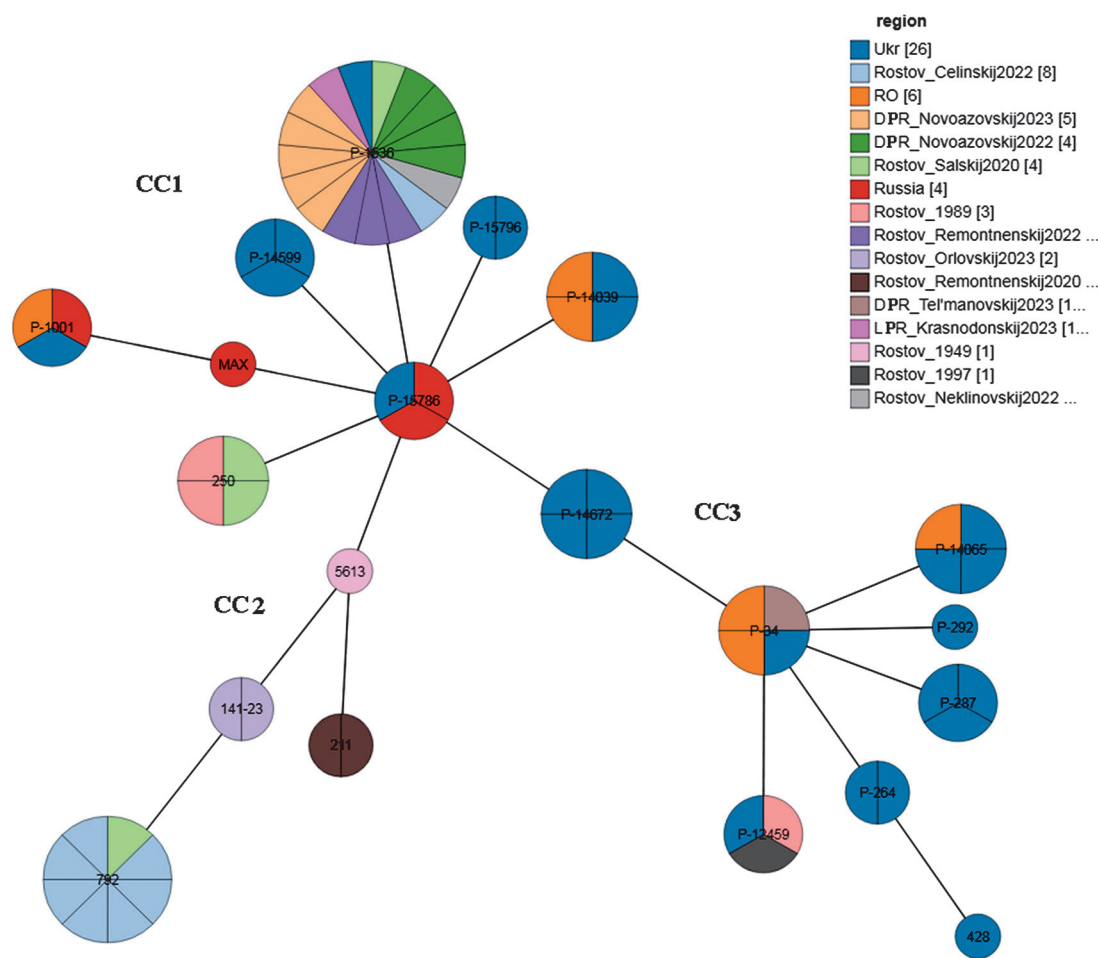


Рис. 3. Структура клональных комплексов *F. tularensis*, определенная методом MST (minimum spanning tree)

Fig. 3. Structure of clonal complexes of *F. tularensis* determined by the MST (minimum spanning tree) method

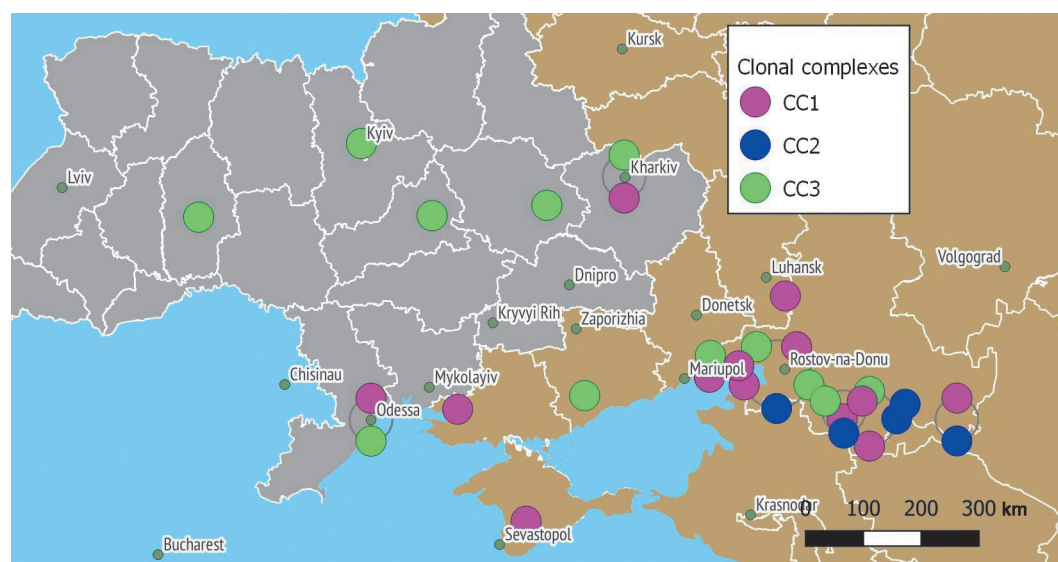


Рис. 4. Пространственное распределение клональных комплексов *F. tularensis* в регионах России и на Украине

Fig. 4. Spatial distribution of clonal complexes of *F. tularensis* in regions of Russia and Ukraine

(1990 г.), наряду с комплексом CC3 появляются и штаммы комплекса CC1.

На локальное разнообразие штаммов тулярийного микроба влияют два различных фактора: во-первых, локальный фактор, ограничивающий распространение, при котором бактерии накапливают генетическое разнообразие и циркулируют на ограниченной территории; и, во-вторых, компонент

перемещения на большие расстояния, что приводит к импорту генетического разнообразия и выявлению очень схожих генотипов на значительных расстояниях [11]. В результате проведенного нами анализа установлено, что клональный комплекс CC2 ограничен территорией РО, штаммы комплекса CC3 выявляются на всех описанных территориях, а комплекс CC1 распространяется на территории от востока

РО до новых регионов РФ и Восточной Украины. Детальное изучение состава комплекса СС1 показало наличие удаленного от центрального клона варианта VNTR-генотипа, общего для вакцинного штамма 15 НИИЭГ и природных штаммов Р-265 и Р-1001, выделенных в Харьковской области в 1949 г. и Азовском районе РО в 1955 г. На этой же генетической линии, но ближе к центральному клону, расположен штамм МАХ, выделенный в России в 1928 г. и отличающийся, по данным Е.А. Нарышкиной и соавт. [12], от вакцинного штамма 15 НИИЭГ на 15 коровых SNPs. При анализе результатов полногеномного секвенирования удалось обнаружить наличие у штаммов Р-265 и Р-1001 одной из двух делеций, описанных у вакцинного штамма, а именно делеции в области RD18. Таким образом, нами выявлены природные штаммы *F. tularensis* с генетической структурой, близкой к таковой вакцинного штамма 15 НИИЭГ. Влияние этих генетических изменений на вирулентность природных штаммов еще предстоит выяснить. Возвращаясь к структуре клональных комплексов, нужно отметить, что штаммы из коллекции института, выделенные на территории Западной Украины до 90-х гг. прошлого столетия, принадлежат исключительно к комплексу СС3. Принимая во внимание происхождение клона-предшественника, широту распространения и разнообразие генотипов, популяция штаммов комплекса СС3 циркулирует на изученных территориях длительное время. Напротив, популяция комплекса СС2 является самой недавней по времени происхождения и территориально ограничена территорией РО. Полученные данные позволяют предположить расширение генетического разнообразия популяции возбудителя туляремии с востока на запад, подобно процессу, происходящему в европейских странах [11, 13–15]. На территории Франции выявлено несколько пространственно-временных кластеров возбудителя туляремии и показано расширение одного из них с течением времени на территорию Испании [14]. Это согласуется с гипотезой персистенции *F. tularensis* в окружающей среде и медленными темпами репликации микроба в межэпизотический период. Выделение штаммов с идентичными генотипами в течение длительных периодов времени на одной территории подтверждает эту гипотезу, а их появление на удаленных друг от друга территориях предполагает возможность распространения бактерий на большие расстояния. Ключевыми резервуарами и хозяевами *F. tularensis* считаются мелкие грызуны и зайцеобразные, которые и служат основным источником инфицирования человека [16, 17]. Членистоногие (особенно клещи) и окружающая среда также могут быть долгосрочным резервуаром *F. tularensis*. В Европе для штаммов *F. tularensis* описаны два жизненных цикла (наземный и водный) [17, 18]. Особого внимания заслуживает тот факт, что все большую роль в сохранении туляремийного микроба в природе приобретают водные экосистемы [19–22].

Механизмы распространения штаммов *F. tularensis* на большие расстояния до сих пор мало изучены. Одной из возможностей является перенос возбудителя туляремии инфицированными домашними или дикими животными. Известно, что в настоящее время *F. tularensis* subsp. *holarctica* демонстрирует широкое генетическое разнообразие в европейских странах. Штаммы основной группы В.6 (биовар I, Ery^S) преобладают в Западной Европе, а штаммы группы В.12 (биовар II, Ery^R) преимущественно распространены в Северо-Восточной Европе [23]. В странах Центральной Европы в последние годы отмечено появление штаммов группы В.12 и их сегрегация со штаммами группы В.6 [2, 15]. Возможной причиной распространения клонов группы В.12 в Германии и Швейцарии является импорт из стран Восточной Европы поголовья зайцев, предназначенных для охотничьих угодий и инфицированных штаммами группы В.12. Важным преимуществом для продвижения штаммов этой группы в западном направлении является их сниженная вирулентность по сравнению со штаммами группы В.6 [24]. Расширение ареала популяции возбудителя туляремии может быть обусловлено также ветровыми потоками. Известное свойство возбудителя быть частью аэрозоля наряду со способностью к длительному выживанию в окружающей среде обеспечивает ему возможность распространения на большие расстояния, подобно другим микробным популяциям [25, 26]. Перенос клещей, инфицированных бактериями *F. tularensis*, на очень большие расстояния может быть обусловлен миграционными потоками перелетных птиц [27–29]. Все описанные механизмы широкого территориального распространения возбудителя туляремии не обязательно приводят к формированию новых эндемичных территорий из-за неподходящих экологических условий в этих новых районах.

Итак, молекулярно-генетический анализ штаммов *F. tularensis*, выделенных ранее на Украине с 1949 по 1990 г., а также изолированных в России и, в частности, в РО с 1928 по 2023 г., и 11 штаммов из ДНР и ЛНР (2022–2023 гг.) позволил выявить три клональных комплекса возбудителя туляремии (СС1 – СС3), циркулирующих на изученных территориях. Все они присутствуют на территории РО и только комплекс СС2 проявляет географическую приуроченность к южным районам РО. Штаммы, выделенные на территории Западной Украины до 90-х гг. прошлого столетия, принадлежат исключительно к комплексу СС3. Судя по широте распространения и разнообразию генотипов, популяция штаммов комплексов СС3 и СС1 существует на изученных территориях длительное время. Штаммы одного генотипа могут обнаруживаться в эндемичных районах в течение 80 лет и на расстоянии около 1000 км друг от друга. Напротив, популяция комплекса СС2 является самой недавней по времени происхождения и территориально ограничена территорией РО. Географические данные о происхождении клонов – предшественни-

ков клональных комплексов возбудителя туляремии СС1 и СС3 позволяют предположить расширение генетического разнообразия популяции возбудителя туляремии с востока на запад. Представленные результаты согласуются с гипотезой о длительной персистенции *F. tularensis* в окружающей среде и медленными темпами репликации микроба в межэпизотический период. Выявление идентичных генотипов *F. tularensis* в течение длительных периодов времени и на большом удалении друг от друга предполагает возможность распространения бактерий на большие расстояния.

Конфликт интересов. Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии дополнительного финансирования при проведении данного исследования.

Список литературы

- Birdsell D., Myrtenäs K., Tonteri E., Sissonen S., Helland S., Johansson A., Granberg M., Hemmälä H., Pelkonen K., Grub C., Nikkari S., Forsman M., Wagner D., Genetic analyses of *Francisella tularensis* in Fennoscandia reveal distinct subclade distribution and closely related isolates with large temporal and geographic distances. In: 9th International Conference on Tularemia. 16–19 October, 2018. Abstract book. 2018. P. 57.
- 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; 19(29):20858. DOI: 10.2807/1560-7917.es2014.19.29.20858.
- Мокриевич А.Н., Тимофеев В.С., Кудрявцева Т.Ю., Уланова Г.И., Карбышева С.Б., Миронова Р.И., Вахрамеева Г.М., Губарева Т.И., Павлов В.М., Дятлов И.А. Выделение среднеазиатского подвида туляремийного микроба на территории Алтайского края. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2013; 1:66–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-1-66-69.
- Timofeev V., Bakhteeva I., Mokrievich A., Vakhrameeva G., Gritskova E., Anisimov Yu., Rozhdestvensky E., Bazarova G., Zhumakaev R., Dyatlov I., Vergnaud G. The first finding of *Francisella tularensis* subsp. *mediasiatica* in Krasnoyarsk Territory, Siberia, and an update of the subspecies genetic diversity. *Bacteria.* 2022; 1(4):242–9. DOI: 10.3390/bacteria1040018.
- Orlov D., Menshakova M., Thierfelder T., Zaika Yu., Böhme S., Evengard B., Pshenichnaya N. Healthy ecosystems are a prerequisite for human health – a call for action in the era of climate change with a focus on Russia. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2020; 17(22):8453. DOI: 10.3390/ijerph17228453.
- Сорокин В.М., Павлович Н.В., Цимбалистова М.В., Водопьянов А.С., Писанов Р.В., Носков А.К. Молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Francisella tularensis*, выделенных во время эпизоотии 2022–2023 гг. в Ростовской области и Донецкой Народной Республике. *Бактериология.* 2023; 8(3):68–74. DOI: 10.20953/2500-1027-2023-3-68-74.
- Водопьянов А.С., Писанов Р.В., Водопьянов С.О., Мишанькин Б.Н., Олейников И.П., Кругликов В.Д., Титова С.В. Молекулярная эпидемиология *Vibrio cholerae* – разработка алгоритма анализа данных полногеномного секвенирования. *Эпидемиология и инфекционные болезни.* 2016; 21(3):146–52. DOI: 10.17816/EID40917.
- Hightower J., Kracalik I.T., Vydanko N., Goodin D., Glass G., Blackburn J.K. Historical distribution and host-vector diversity of *Francisella tularensis*, the causative agent of tularemia, in Ukraine. *Parasit. Vectors.* 2014; 7:453. DOI: 10.1186/s13071-014-0453-2.
- Небогаткин И., Новохатний Ю., Выдайко Н., Билоник О., Свита В. Туляремия в Украине, современное ландшафтно-географическое деление очагов, трансграничный аспект. *Ветеринарная медицина.* 2017; 103:56–7.
- Прилуцкий А.С., Роговая Ю.Д., Зубко В.Г. Туляремия: этиология, эпидемиология, вакцинопрофилактика. *Университетская клиника.* 2017; 13(2):231–9.
- Dwivedi C., Birdsell D., Lärkeryd A., Myrtenäs K., Öhrman S., Nilsson E., Karlsson E., Hochhalter C., Rivera A., Maltinsky S., Bayer B., Keim P., Scholz H.C., Tomaso H., Wittwer M., Beuret C., Schuerch N., Pilo P., Hernández Pérez M., Rodríguez-Lazaro D., Escudero R., Anda P., Forsman M., Wagner D.M., Larsson P., Johansson A. Long-range dispersal moved *Francisella tularensis* into Western Europe from the East. *Microb. Genom.* 2016; 2(12):e000100. DOI: 10.1099/mgen.0.000100.
- Нарышкина Е.А., Краснов Я.М., Альхова Ж.В., Баданин Д.В., Осин А.В., Ляшова О.Ю., Саяпина Л.В., Бондарев В.П., Меркулов В.А., Олефир Ю.В., Кутырев В.В. Полногеномное секвенирование и филогенетический анализ вакцинного штамма *Francisella tularensis* 15 НИИЭГ. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2020; 2:91–7. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-91-97.
- Seiwald S., Simeon A., Hofer E., Weiss G., Bellmann-Weiler R. Tularemia goes west: epidemiology of an emerging infection in Austria. *Microorganisms.* 2020; 8(10):1597. DOI: 10.3390/microorganisms8101597.
- Kevin M., Girault G., Caspar Y., Cherfa M.A., Mendy C., Tomaso H., Gavier-Widen D., Escudero R., Maurin M., Durand B., Ponsart C., Madani N. Phylogeography and genetic diversity of *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* in France (1947–2018). *Front. Microbiol.* 2020; 11:287. DOI: 10.3389/fmicb.2020.00287.
- Appelt S., Köppen K., Radonić A., Drechsel O., Jacob D., Grunow R., Heuner K. Genetic diversity and spatial segregation of *Francisella tularensis* subspecies *holarctica* in Germany. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2019; 9:376. DOI: 10.3389/fcimb.2019.00376.
- Gyuranecz M., Birdsell D.N., Spletstoeffer W., Seibold E., Beckstrom-Sternberg S.M., Makrai L., Fodor L., Fabbri M., Vicari N., Johansson A., Busch J.D., Vogler A.J., Keim P., Wagner D.M. Phylogeography of *Francisella tularensis* subsp. *holarctica*, Europe. *Emerg. Infect. Dis.* 2012; 18(2):290–3. DOI: 10.3201/eid1802.111305.
- Maurin M., Gyuranecz M. Tularemia: clinical aspects in Europe. *Lancet. Infect. Dis.* 2016; 16(1):113–24. DOI: 10.1016/s1473-3099(15)00355-2.
- Luque-Larena J.J., Mougeot F., Arroyo B., Vidal M.D., Rodríguez-Pastor R., Escudero R., Anda P., Lambin X. Irruptive mammal host populations shape tularemia epidemiology. *PLoS Pathog.* 2017; 13(11):e1006622. DOI: 10.1371/journal.ppat.1006622.
- Golovliov I., Bäckman S., Granberg M., Salomonsson E., Lundmark E., Näslund J., Busch J.D., Birdsell D., Sahl J.W., Wagner D.M., Johansson A., Forsman M., Thelaus J. Long-term survival of virulent tularemia pathogens outside a host in conditions that mimic natural aquatic environments. *Appl. Environ. Microbiol.* 2021; 87(6):e02713-20. DOI: 10.1128/AEM.02713-20.
- Schaudinn C., Rydzewski K., Meister B., Grunow R., Heuner K. *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* wild-type is able to colonize natural aquatic ex vivo biofilms. *Front. Microbiol.* 2023; 14:1113412. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1113412.
- Myrtenäs K., Escudero R., Zaballos A., González-Martín Niño R., Gyuranecz M., Johansson A. Genetic traces of the *Francisella tularensis* colonization of Spain, 1998–2020. *Microorganisms.* 2020; 8(11):1784. DOI: 10.3390/microorganisms8111784.
- Rodríguez D.H., Escudero R., Mougeot F., Cofreces S.H., Jado I., Luque-Larena J.J., Martín-Niño R.G., Vidal D. *Francisella* spp. prevalence in environmental compartments during epizootic and inter-epizootic periods in Castilla-y-León, Spain (S2-02). In: 10th International Conference on Tularemia, Grenoble, France. Sept. 25–28. Abstracts. 2023. P. 27.
- Appelt S., Faber M., Köppen K., Jacob D., Grunow R., Heuner K. *Francisella tularensis* Subspecies *holarctica* and Tularemia in Germany. *Microorganisms.* 2020; 8(9):1448. DOI: 10.3390/microorganisms8091448.
- Kreizinger Z., Erdélyi K., Felde O., Fabbri M., Sulyok K.M., Magyar T., Gyuranecz M. Comparison of virulence of *Francisella tularensis* spp. *holarctica* genotypes B.12 and B.FTNF002-00. *BMC Vet. Res.* 2017; 13(1):46. DOI: 10.1186/s12917-017-0968-9.
- Nguyen T.M., Ille D., Jarraud S., Rouil L., Campese C., Che D., Haeghebaert S., Ganiayre F., Marcel F., Etienne J., Desenclos J.C. A community-wide outbreak of legionnaires disease linked to industrial cooling towers – how far can contaminated aerosols spread? *J. Infect. Dis.* 2006; 193(1):102–11. DOI: 10.1086/498575.
- Smith D.J., Timonen H.J., Jaffe D.A., Griffin D.W., Birmele M.N., Perry K.D., Ward P.D., Roberts M.S. Intercontinental dispersal of bacteria and archaea by transpacific winds. *Appl. Environ. Microbiol.* 2013; 79(4):1134–9. DOI: 10.1128/AEM.03029-12.
- Lopes de Carvalho I., Zé-Zé L., Alves A.S., Pardal S., Lopes R.J., Mendes L., Nuncio M.S. *Borrelia garinii* and *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* detected in migratory shorebirds in Portugal. *Eur. J. Wildl. Res.* 2012; 58(5):857–61. DOI: 10.1007/s10344-012-0617-3.
- Padeshki P.I., Ivanov I.N., Popov B., Kantardjiev T.V. The role of birds in dissemination of *Francisella tularensis*: first direct molecular evidence for bird-to-human transmission. *Epidemiol. Infect.* 2010; 138(3):376–9. DOI: 10.1017/S0950268809990513.
- 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 эритроминочувствительных геновариантов. *Антибиотики и химиотерапия.* 2024; 69(1-2):23–8. DOI: 10.37489/0235-2990-2024-69-1-2-23-28.

References

1. Birdsell D., Myrtenäs K., Tonteri E., Sissonen S., Helland S., Johansson A., Granberg M., Hemmälä H., Pelkonen K., Grub C., Nikkari S., Forsman M., Wagner D. Genetic analyses of *Francisella tularensis* in Fennoscandia reveal distinct subclade distribution and closely related isolates with large temporal and geographic distances. In: 9th International Conference on Tularemia. 16–19 October, 2018. Abstract book. 2018. P. 57.
2. 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; 19(29):20858. DOI: 10.2807/1560-7917.es2014.19.29.20858.
3. Mokrievich A.N., Timofeev V.S., Kudryavtseva T.Yu., Ulanova G.I., Karbysheva S.B., Mironova R.I., Vakhrameeva G.M., Gubareva T.I., Pavlov V.M., Dyatlov I.A. [Isolation of the Central Asian subspecies of the tularemia microbe in the Altai Territory]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2013; (1):66–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-1-66-69.
4. Timofeev V., Bakhteeva I., Mokrievich A., Vakhrameeva G., Gritskova E., Anisimov Yu., Rozhdestvensky E., Bazarova G., Zhumakayev R., Dyatlov I., Vergnaud G. The first finding of *Francisella tularensis* subsp. *mediasiatica* in Krasnoyarsk Territory, Siberia, and an update of the subspecies genetic diversity. *Bacteria*. 2022; 1(4):242–9. DOI: 10.3390/bacteria1040018.
5. Orlov D., Menshakova M., Thierfelder T., Zaika Yu., Böhme S., Evengard B., Pshenichnaya N. Healthy ecosystems are a prerequisite for human health – a call for action in the era of climate change with a focus on Russia. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2020; 17(22):8453. DOI: 10.3390/ijerph17228453.
6. Sorokin V.M., Pavlovich N.V., Cimbalistova M.V., Vodopyanov A.S., Pisanov R.V., Noskov A.K. [Molecular genetic characteristics of *Francisella tularensis* strains isolated during the 2022–2023 epizootic in the Rostov region and the Donetsk People's Republic]. *Bakteriologiya [Bacteriology]*. 2023; 8(3):68–74. DOI: 10.20953/2500-1027-2023-3-68-74.
7. Vodopyanov A.S., Pisanov R.V., Vodopyanov S.O., Mishankin B.N., Olejnikov I.P., Kruglikov V.D., Titova S.V. [Molecular epidemiology of *Vibrio cholerae* – development of the algorithm for data analysis of whole genome sequencing]. *Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni [Epidemiology and Infectious Diseases]*. 2016; 21(3):146–52. DOI: 10.17816/EID40917.
8. Hightower J., Kracalik I.T., Vydayko N., Goodin D., Glass G., Blackburn J.K. Historical distribution and host-vector diversity of *Francisella tularensis*, the causative agent of tularemia, in Ukraine. *Parasit. Vectors*. 2014; 7:453. DOI: 10.1186/s13071-014-0453-2.
9. Nebogatkin I., Novohatny Yu., Vydayko N., Bilonyk O., Svita V. [Tularemia in Ukraine, contemporary landscape-geographical division of the foci, the transboundary aspect]. *Veterinarnaya Meditsina [Veterinary Medicine]*. 2017; (103):56–7.
10. Prilutsky A.S., Rogovaya Yu.D., Zubko V.G. [Tularemia: etiology, epidemiology, vaccinoprophylactic]. *Universitetskaya Klinika [University Clinic]*. 2017; 13(2):231–9.
11. Dwivedi C., Birdsell D., Lärkeryd A., Myrtenäs K., Öhrman C., Nilsson E., Karlsson E., Hochhalter C., Rivera A., Maltinsky S., Bayer B., Keim P., Scholz H.C., Tomaso H., Wittwer M., Beuret C., Schuerch N., Pilo P., Hernández Pérez M., Rodríguez-Lazaro D., Escudero R., Anda P., Forsman M., Wagner D.M., Larsson P., Johansson A. Long-range dispersal moved *Francisella tularensis* into Western Europe from the East. *Microb. Genom.* 2016; 2(12):e000100. DOI: 10.1099/mgen.0.000100.
12. Naryshkina E.A., Krasnov Ya.M., Alhova Zh.V., Badanin D.V., Osin A.V., Lyashova O.Yu., Sayapina L.V., Bondarev V.P., Merkulov V.A., Olefir Yu.V., Kutyrev V.V. [Whole-genome sequencing and phylogenetic analysis of *Francisella tularensis* vaccine strain 15 NIEG]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; (2):91–7. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-91-97.
13. Seiwald S., Simeon A., Hofer E., Weiss G., Bellmann-Weiler R. Tularemia goes west: epidemiology of an emerging infection in Austria. *Microorganisms*. 2020; 8(10):1597. DOI: 10.3390/microorganisms8101597.
14. Kevin M., Girault G., Caspar Y., Cherfa M.A., Mendy C., Tomaso H., Gavier-Widen D., Escudero R., Maurin M., Durand B., Ponsart C., Madani N. Phylogeography and genetic diversity of *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* in France (1947–2018). *Front. Microbiol.* 2020; 11:287. DOI: 10.3389/fmicb.2020.00287.
15. Appelt S., Köppen K., Radonić A., Drechsel O., Jacob D., Grunow R., Heuner K. Genetic diversity and spatial segregation of *Francisella tularensis* subspecies *holarctica* in Germany. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2019; 9:376. DOI: 10.3389/fcimb.2019.00376.
16. Gyuranecz M., Birdsell D.N., Spletstoesser W., Seibold E., Beckstrom-Sternberg S.M., Makrai L., Fodor L., Fabbri M., Vicari N., Johansson A., Busch J.D., Vogler A.J., Keim P., Wagner D.M. Phylogeography of *Francisella tularensis* subsp. *holarctica*, Europe. *Emerg. Infect. Dis.* 2012; 18(2):290–3. DOI: 10.3201/eid1802.111305.
17. Maurin M., Gyuranecz M. Tularemia: clinical aspects in Europe. *Lancet. Infect. Dis.* 2016; 16(1):113–24. DOI: 10.1016/s1473-3099(15)00355-2.
18. Luque-Larena J.J., Mougeot F., Arroyo B., Vidal M.D., Rodríguez-Pastor R., Escudero R., Anda P., Lambin X. Irruption mammal host populations shape tularemia epidemiology. *PLoS Pathog.* 2017; 13(11):e1006622. DOI: 10.1371/journal.ppat.1006622.
19. Golovliov I., Bäckman S., Granberg M., Salomonsson E., Lundmark E., Näslund J., Busch J.D., Birdsell D., Sahl J.W., Wagner D.M., Johansson A., Forsman M., Thelaus J. Long-term survival of virulent tularemia pathogens outside a host in conditions that mimic natural aquatic environments. *Appl. Environ. Microbiol.* 2021; 87(6):e02713–20. DOI: 10.1128/AEM.02713-20.
20. Schaudinn C., Rydzewski K., Meister B., Grunow R., Heuner K. *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* wild-type is able to colonize natural aquatic *ex vivo* biofilms. *Front. Microbiol.* 2023; 14:1113412. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1113412.
21. Myrtenäs K., Escudero R., Zaballos A., González-Martín-Niño R., Gyuranecz M., Johansson A. Genetic traces of the *Francisella tularensis* colonization of Spain, 1998–2020. *Microorganisms*. 2020; 8(11):1784. DOI: 10.3390/microorganisms8111784.
22. Rodríguez D.H., Escudero R., Mougeot F., Cofreces S.H., Jado I., Luque-Larena J.J., Martín-Niño R.G., Vidal D. *Francisella* spp. prevalence in environmental compartments during epizootic and inter-epizootic periods in Castilla-y-León, Spain (S2-02). In: 10th International Conference on Tularemia, Grenoble, France. Sept. 25–28. Abstracts. 2023. P. 27.
23. Appelt S., Faber M., Köppen K., Jacob D., Grunow R., Heuner K. *Francisella tularensis* Subspecies *holarctica* and Tularemia in Germany. *Microorganisms*. 2020; 8(9):1448. DOI: 10.3390/microorganisms8091448.
24. Kreizinger Z., Erdélyi K., Felde O., Fabbri M., Sulyok K.M., Magyar T., Gyuranecz M. Comparison of virulence of *Francisella tularensis* ssp. *holarctica* genotypes B.12 and B.FTNF002-00. *BMC Vet. Res.* 2017; 13(1):46. DOI: 10.1186/s12917-017-0968-9.
25. Nguyen T.M., Ille D., Jarraud S., Rouil L., Campese C., Che D., Haeghebaert S., Ganiayre F., Marcel F., Etienne J., Desenclos J.C. A community-wide outbreak of legionnaires disease linked to industrial cooling towers – how far can contaminated aerosols spread? *J. Infect. Dis.* 2006; 193(1):102–11. DOI: 10.1086/498575.
26. Smith D.J., Timonen H.J., Jaffe D.A., Griffin D.W., Birmele M.N., Perry K.D., Ward P.D., Roberts M.S. Intercontinental dispersal of bacteria and archaea by transpacific winds. *Appl. Environ. Microbiol.* 2013; 79(4):1134–9. DOI: 10.1128/AEM.03029-12.
27. Lopes de Carvalho I., Zé-Zé L., Alves A.S., Pardo S., Lopes R.J., Mendes L., Nuncio M.S. *Borrelia garinii* and *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* detected in migratory shorebirds in Portugal. *Eur. J. Wildl. Res.* 2012; 58(5):857–61. DOI: 10.1007/s10344-012-0617-3.
28. Padeshki P.I., Ivanov I.N., Popov B., Kantardjiev T.V. The role of birds in dissemination of *Francisella tularensis*: first direct molecular evidence for bird-to-human transmission. *Epidemiol. Infect.* 2010; 138(3):376–9. DOI: 10.1017/S0950268809990513.
29. Sorokin V.M., Pavlovich N.V., Tsimbalistova M.V., Khametova 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 Himioter [Antibiotics and Chemotherapy]*. 2024; 69(1-2):23–8. DOI: 10.37489/0235-2990-2024-69-1-2-23-28.

Authors:

Sorokin V.M., Pavlovich N.V., Tsimbalistova M.V., Aronova N.V., Vodopyanov A.S., Pisanov R.V., Noskov A.K. Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute. 117/40, M. Gor'kogo St., Rostov-on-Don, 344002, Russian Federation. E-mail: plague@aaanet.ru.

Об авторах:

Сорокин В.М., Павлович Н.В., Цимбалистова М.В., Аронова Н.В., Водопьянов А.С., Писанов Р.В., Носков А.К. Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 344002, Ростов-на-Дону, ул. М. Горького, 117/40. E-mail: plague@aaanet.ru.