

DOI: 10.21055/0370-1069-2025-2-152-159

УДК 579:579.852.11(470.3)

С.В. Писаренко, Д.А. Ковалев, О.В. Бобрышева, Н.С. Сафонова, А.М. Жиров, Н.А. Шапаков,
О.В. Семенова, А.Н. Куличенко**Филогеографический анализ штаммов сибиреязвенного микроба,
выделенных в Центральном федеральном округе в 2023 г.**

ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт», Ставрополь, Российская Федерация

Цель работы – определить эволюционно-филогеографическое происхождение штаммов возбудителя сибирской язвы, вызвавших вспышки заболевания в Центральном федеральном округе Российской Федерации в 2023 г. **Материалы и методы.** Выполнено полногеномное секвенирование 13 штаммов возбудителя сибирской язвы, выделенных в Рязанской и Воронежской областях. Полногеномное секвенирование осуществляли с использованием платформ высокопроизводительного секвенирования Ion GeneStudio S5 Plus System (Life Technologies, США) и DNBSEQ-G50 (MGI, Китай). Выполнен полногеномный SNP-анализ 1245 штаммов *Bacillus anthracis* из 50 стран, включая 304 штамма из 44 субъектов Российской Федерации. **Результаты и обсуждение.** Установлено, что штаммы возбудителя сибирской язвы, выделенные на территории субъектов Центрального федерального округа в 2023 г., относятся к филогенетической ветви A.Br.117, принадлежащей к монофилетической кладе TEA Tsiankovskii. Штаммы 1394, 1395 (Рязанская область) и 1402, 1404 (Воронежская область, Панинский район) относятся к генотипу A.Br.117-2, а штаммы 1405–1420 (Воронежская область, Богучарский район) – к генотипу A.Br.117-4. Штаммы, вызвавшие случаи заболевания в Панинском районе, имеют общее происхождение со штаммами 988/717 и 546/714, выделенными на территории области в 1980–1990-х гг., а штаммы из Богучарского района филогенетически близки со штаммом 991/178, выделенным в 1991 г. в Днепропетровской области Украины. Описана максимально детализированная на данный момент топология филогенетической ветви A.Br.117, включающая четыре генотипа, для которых определены вероятные временные интервалы дивергенции и описаны особенности филогеографического распространения 165 штаммов *B. anthracis*. Штаммы, относящиеся к генотипу A.Br.117-1, обнаружены в Молдавии и на Украине, штаммы генотипа A.Br.117-2 преобладают на территории Центрального и Южного федеральных округов, штаммы генотипа A.Br.117-3 – в Приволжском, Южном и Северо-Кавказском федеральных округах, а штаммы генотипа A.Br.117-4 – в Северо-Кавказском и Южном федеральных округах.

Ключевые слова: *Bacillus anthracis*, полногеномное секвенирование, геномный мониторинг, филогения, эволюция.

Корреспондирующий автор: Писаренко Сергей Владимирович, e-mail: pisarenko_sv@mail.ru.

Для цитирования: Писаренко С.В., Ковалев Д.А., Бобрышева О.В., Сафонова Н.С., Жиров А.М., Шапаков Н.А., Семенова О.В., Куличенко А.Н. Филогеографический анализ штаммов сибиреязвенного микроба, выделенных в Центральном федеральном округе в 2023 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2025; 2:152–159. DOI: 10.21055/0370-1069-2025-2-152-159

Поступила 03.10.2024. Отправлена на доработку 08.11.2024. Принята к публикации 28.12.2024.

S.V. Pisarenko, D.A. Kovalev, O.V. Bobrysheva, N.S. Safonova, A.M. Zhiron, N.A. Shapakov,
O.V. Semenova, A.N. Kulichenko**Phylogeographical Analysis of Anthrax Microbe Strains Isolated
in the Central Federal District in 2023**

Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation

Abstract. The aim of the work is to determine an evolutionary and phylogeographic origin of *Bacillus anthracis* strains that caused large-scale outbreaks of anthrax in the Central Federal District in 2023. **Materials and methods.** Whole genome sequencing of 13 strains of the anthrax pathogen isolated in the Ryazan and Voronezh Regions was performed. It was conducted using the Ion GeneStudio S5 Plus System (Life Technologies, USA) and DNBSEQ-G50 (MGI, China) high-throughput sequencing platforms. A whole-genome SNP analysis of 1245 *Bacillus anthracis* strains from 50 countries, including 304 strains from 44 constituent entities of the Russian Federation, was carried out. **Results and discussion.** It has been established that the anthrax strains isolated in the Central Federal District in 2023 fall under the phylogenetic branch A.Br.117, which belongs to the monophyletic clade TEA Tsiankovskii. Strains 1394, 1395 (Ryazan Region), 1402, 1404 (Voronezh Region, Paninsky District) belong to the genotype A.Br.117-2, and strains 1405–1420 (Voronezh Region, Bogucharsky District) – to the genotype A.Br.117-4. The strains that caused the cases of the disease in Paninsky District have a common origin with strains 988/717 and 546/714 isolated in the region in the 1980–1990s, and the strains from Bogucharsky District are phylogenetically close to strain 991/178 isolated in 1991 in Dnepropetrovsk Region of Ukraine. The most detailed, to date, topology of the phylogenetic branch of A.Br.117 is described, including four genotypes for which probable time intervals of divergence are determined and the features of the phylogeographic distribution of 165 *B. anthracis* strains are provided. Strains belonging to the genotype A.Br.117-1 were isolated in Moldova and Ukraine, strains of the genotype A.Br.117-2 predominate in the Central and Southern Federal Districts; strains of genotype A.Br.117-3 – in the Volga, Southern and North Caucasian Federal Districts, and strains of genotype A.Br.117-4 – in the North Caucasian and Southern Federal Districts.

Key words: *Bacillus anthracis*, whole-genome sequencing, genomic monitoring, phylogeny, evolution.

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

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

Corresponding author: Sergey V. Pisarenko, e-mail: pisarenko_sv@mail.ru.

Citation: Pisarenko S.V., Kovalev D.A., Bobrysheva O.V., Safonova N.S., Zhiron A.M., Shapakov N.A., Semenova O.V., Kulichenko A.N. Phylogeographical Analysis of Anthrax Microbe Strains Isolated in the Central Federal District in 2023. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2025; 2:152–159. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2025-2-152-159

Received 03.10.2024. Revised 08.11.2024. Accepted 28.12.2024.

Pisarenko S.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6458-6790>

Kovalev D.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9366-5647>

Bobrysheva O.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6338-4476>

Safonova N.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8974-1053>

Zhiron A.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7698-7361>

Shapakov N.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9152-4026>

Semenova O.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0274-898X>

Kulichenko A.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9362-3949>

Систематический мониторинг и анализ геномных профилей патогенных микроорганизмов, циркулирующих на территории Российской Федерации, является одной из первостепенных задач глобальной национальной стратегии геномного эпидемиологического надзора. Накопление данных об особенностях геномов штаммов патогенных микроорганизмов, характерных для территории отдельных регионов, сведений о филогеографическом распространении отдельных генотипов и определение эволюционных связей – важные этапы совершенствования системы геномного мониторинга за возбудителем сибирской язвы.

Сибирская язва – особо опасное зоонозное заболевание, вызываемое палочковидной, грамположительной, спорообразующей бактерией *Bacillus anthracis* [1]. В Российской Федерации в 2023 г. отмечено увеличение числа случаев заболевания сибирской язвой относительно среднего пятилетнего показателя. Крупные вспышки сибирской язвы регистрировались в пяти субъектах трех федеральных округов: Приволжского (ПФО), Сибирского (СФО) и Центрального (ЦФО). Причем подавляющее число случаев заболевания отмечено на территории ЦФО. Однако имеющиеся сведения о филогенетической принадлежности штаммов из этого региона, ввиду ограниченного количества изученных штаммов, имеют фрагментарный характер и не отображают целостной картины. Данные о том, какие штаммы являются эндемичными в настоящее время для территории ЦФО, позволят существенно повысить качественный уровень эпидемиологических исследований в будущем.

Цель работы – определить эволюционно-филогеографическое происхождение штаммов возбудителя сибирской язвы, вызвавших вспышки заболевания в ЦФО в 2023 г.

Материалы и методы

В исследовании использовались геномные последовательности 13 штаммов *B. anthracis*, изолированных в ЦФО в июле – сентябре 2023 г., о секвенировании которых сообщалось ранее [2]. Исследуемые штаммы изолированы в разных районах двух регионов Российской Федерации: 2 штамма – в Захаровском районе Рязанской области, 2 – в Панинском

районе Воронежской области, 9 – в Богучарском районе Воронежской области. Идентификацию выделенных культур осуществляли методами лабораторной диагностики в соответствии с МУ «Лабораторная диагностика и обнаружение возбудителя сибирской язвы» (МУК 4.2.2413-08), ПЦР в реальном времени выполняли с использованием набора реагентов «АмплиСенс® *Bacillus anthracis*-FRT» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия).

Бактерии культивировали на агаре ВНИ (HiMedia Laboratories Pvt Ltd, Индия) при 37 °C в течение 18–20 ч. Геномную ДНК выделяли из 0,5 мл микробной взвеси с использованием набора QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Германия) по протоколу для грамположительных бактерий. Все манипуляции с бактериальными культурами выполняли в соответствии с требованиями МУК 4.2.2413-08 и МУК 4.2.2941-11. Стерильность образцов ДНК подтверждали культивированием 5 % конечного объема ДНК в течение 5 суток на агаре Хоттингера при 37 °C. Концентрацию ДНК количественно определяли с помощью флуориметра Qubit 4.0 (Thermo Fisher Scientific, США). Образцы геномной ДНК хранили при минус 20° C.

Подготовку библиотек парных фрагментов ДНК осуществляли по стандартному протоколу с использованием набора реагентов FAST FS DNA Library Prep Set V2.1. Библиотеки парных фрагментов ДНК исследовали с использованием секвенатора DNBSEQ-G50 (MGI, Китай). Подготовку библиотек одиночных фрагментов ДНК выполняли, как было описано ранее [3]. Секвенирование одиночных фрагментов ДНК проводили с использованием секвенатора Ion GeneStudio S5 Plus System (Thermo Fisher Scientific, США). Сборку геномных последовательностей выполняли с использованием программного обеспечения SPAdes v3.15.3 [4]. Оценку качества сборки геномов осуществляли с помощью программы Quast 5.2.0 [5]. Для аннотации полученных геномов использовали программу Dfast [6].

Филогенетическую принадлежность исследуемых штаммов к ветви A.Br.117 определяли на основе результатов полногеномного SNP-анализа 1245 штаммов *B. anthracis* с использованием программного обеспечения ParSNP [7]. Выборка включала 866 геномов возбудителя сибирской язвы из базы NCBI (National Center for Biotechnology

Information) и 379 геномов из коллекции геномов ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора. В анализе использовали завершённые геномы и полногеномные сборки, отвечающие следующим критериям: число контигов <100, глубина прочтения >30х, наличие сведений о географическом местоположении и времени выделения штамма.

Дальнейший эволюционный и филогеографический анализ проводили среди геномов 165 штаммов *B. anthracis*, относящихся к ветви A.Br.117, с использованием программного пакета BEAST v2.7.5 [8]. Множественное выравнивание геномов 165 штаммов *B. anthracis*, относящихся к ветви A.Br.117, и штамма Larissa (занимающего ближайшую соседнюю ветвь филогенетического дерева), представляющего внешнюю группу, выполняли с помощью программы REALPHY (Reference Sequence Alignment-based Phylogeny Builder) [9]. Полученная таким образом матрица множественного выравнивания геномов (коровый геном) включала как обнаруженные SNP, так и инвариантные сайты гомологичных последовательностей всех геномов выборки. Выбор оптимальной эволюционной модели осуществляли с использова-

нием программы ModelTest-NG [10]. Оптимальную модель нуклеотидных замен (GTR+I+G4) определяли на основе значений информационного критерия BIC (Bayesian Information Criterion) [11]. Оценку времени дивергенции ветвей филогенетического дерева выполняли на основе сведений о времени выделения штаммов с использованием некоррелированной модели расслабленных молекулярных часов, что предполагает независимую скорость эволюции каждой из ветвей, рассчитываемую из единого общего параметрического распределения скорости. Консенсусное филогенетическое дерево визуализировали с использованием программы FigTree [12].

Сравнительный SNP-анализ геномов выполняли с использованием программы ParSNP с параметрами по умолчанию [7].

Результаты и обсуждение

Получены геномные последовательности 13 штаммов *B. anthracis*, выделенных в июле – сентябре 2023 г. на территории ЦФО. Метаданные штаммов и основные характеристики геномов приведены в таблице.

Метаданные штаммов и основные характеристики геномных последовательностей
Strain metadata and basic characteristics of genomic sequences

№	Штамм Strain	Географическое местоположение Geographic location	Дата выделения Isolation date	Размер генома, п.о. Genome size, bp	Число фрагментов Number of fragments	Гены Genes	Технология секвенирования Sequencing technology
1	1394	Рязанская область, Захаровский район, с. Старое Зимино Ryazan Region, Zakharovsky District, v. Staroe Zimino	13.07.2023	5 469 317	37	5894	Ion Torrent
2	1395	Рязанская область, Захаровский район, с. Старое Зимино Ryazan Region, Zakharovsky District, v. Staroe Zimino	13.07.2023	5 468 306	40	5888	Ion Torrent
3	1402	Воронежская область, Панинский район, с. Красные Холмы Voronezh Region, Paninsky District, v. Krasnye Kholmy	21.08.2023	5 458 414	36	5912	Ion Torrent
4	1404	Воронежская область, Панинский район, с. Красные Холмы Voronezh Region, Paninsky District, v. Krasnye Kholmy	21.08.2023	5 455 176	32	5903	Ion Torrent
5	1405	Воронежская область, Богучарский район, х. Батовка Voronezh Region, Bogucharsky District, farmstead Batovka	08.09.2023	5 457 379	36	5871	Ion Torrent
6	1406	Воронежская область, Богучарский район, с. Лебединка Voronezh Region, Bogucharsky District, v. Lebedinka	08.09.2023	5 457 171	35	5895	Ion Torrent
7	1408	Воронежская область, Богучарский район, с. Лебединка Voronezh Region, Bogucharsky District, v. Lebedinka	08.09.2023	5 456 352	37	5943	Ion Torrent
8	1410	Воронежская область, Богучарский район, х. Батовка Voronezh Region, Bogucharsky District, farmstead Batovka	10.09.2023	5 457 134	34	5886	Ion Torrent
9	1411	Воронежская область, Богучарский район, с. Лебединка Voronezh Region, Bogucharsky District, v. Lebedinka	10.09.2023	5 459 442	38	5903	Ion Torrent
10	1412	Воронежская область, Богучарский район, с. Лебединка Voronezh Region, Bogucharsky District, v. Lebedinka	11.09.2023	5 455 041	32	5873	Ion Torrent
11	1416	Воронежская область, Богучарский район, с. Поповка Voronezh Region, Bogucharsky District, v. Popovka	11.09.2023	5 456 116	31	5884	Ion Torrent
12	1419	Воронежская область, Богучарский район, х. Дядин Voronezh Region, Bogucharsky District, farmstead Dyadin	13.09.2023	5 453 701	22	5818	MGI
13	1420	Воронежская область, Богучарский район, х. Дядин Voronezh Region, Bogucharsky District, farmstead Dyadin	13.09.2023	5 454 183	22	5808	MGI

Геномы всех исследуемых штаммов обладают идентичными наборами 13 генов вирулентности, характерными для вида *B. anthracis*: *capA*, *capB*, *capC*, *dep/capD*, *capE*, *lef*, *pagA*, *cyo*, *inhA*, *nheA*, *nheB*, *nheC*, *alo*; а также генов, ассоциированных с устойчивостью к антибактериальным препаратам: клиндамицину (*lsa(B)*), фосфомицину (*fosB1*, *fosB2*), ванкомицину (*vanR-M*, *vanZ-F*).

Определение филогенетического положения и эволюционных связей штаммов *B. anthracis*, изолированных в ЦФО в 2023 г., выполняли в два этапа. На первом этапе на основании результатов полногеномного SNP-анализа 1245 штаммов возбудителя, выделенных в 1935–2023 гг., проводили филогенетическую реконструкцию по методу максимального правдоподобия, что позволило определить принадлежность исследуемых штаммов к филогенетической ветви A.Br.117.

Ветвь A.Br.117 принадлежит к монофилетической кладе ТЕА Tsiankovskii (A.Br.105) [13], которая включает четыре генетических линии: L1 – L4 [14]. Штаммы генетических линий L1 – L3 в разное время выявлялись на территории трех европейских стран: Болгарии, Греции и Албании. Согласно результатам недавних исследований (V. Timofeev et al., 2021), ветвь A.Br.117 соответствует генотипу L4, который представляет собой полиномию с четырьмя ветвями, L4a – L4d [15].

На втором этапе анализировали 165 геномных последовательностей штаммов *B. anthracis*, принадлежащих к ветви A.Br.117, и геном штамма внешней группы с применением наиболее эффективного байесовского метода филогенетической реконструкции, позволяющего использовать сложные модели эволюции. Размер корового генома 165 штаммов, принадлежащих к ветви A.Br.117, составил 4 967 574 п.о., что соответствует ~91 % среднего размера генома (5,45 Мб) штаммов ветви A.Br.117 и свидетельствует о достаточно высокой степени однородности исследуемых геномов.

Полученные в результате анализа сведения о структуре филогенетической ветви A.Br.117 согласуются с недавними исследованиями. Структура ветви A.Br.117 представлена четырьмя кластерами A.Br.117-1 – A.Br.117-4, которые соответствуют ранее описанным генотипам L4a – L4d. Использование байесовского метода филогенетического анализа позволило разрешить полиномию и определить вероятный временной интервал событий дивергенции для генотипов A.Br.117-1 – A.Br.117-4 (рис. 1), медианное значение которого соответствует второй половине XVIII в. (1767–1779 гг., 95 % HPD интервал: 1675–1865 гг.).

Генотип A.Br.117-1 образуют 13 штаммов из Молдавии (n=9, 1981–1986 гг.) и Украины (n=4, 1980–2012 гг.). Здесь и далее географическое место выделения штаммов указано в соответствии с территориальными границами государств по состоянию на апрель 2024 г.

Географическое распространение штаммов генотипа A.Br.117-2 (n=31) охватывает территорию шести стран: Словакии (n=1), Молдавии (n=1), России (n=22), Украины (n=3), Узбекистана (n=2) и Китая (n=2). Значительная часть российских штаммов (n=19) выявлена в период с 1979 по 2023 г. на территории европейской части страны: в ЦФО (n=11), Южном (ЮФО, n=6) и Северо-Кавказском (СКФО, n=2) федеральных округах (рис. 2).

Генотип A.Br.117-3 включает изоляты из Казахстана (n=8) и Российской Федерации (n=43). Подавляющее большинство российских изолятов (n=41) выделены на территории европейской части страны: ЦФО – 6 штаммов (1981–2000 гг.), ПФО – 15 (1979–1999 гг.), ЮФО и СКФО – по 11 штаммов в 1983–2011 гг. и 1968–2019 гг. соответственно.

Почти все изоляты (n=67), отнесенные к генотипу A.Br.117-4, циркулируют на территории европейской части Российской Федерации. Исключение составляют штаммы I-9 (Республика Тыва, 1956 г.), 68/12 (Азербайджан, 1967 г.) и 997/178 (Украина, 1991 г.). Среди российских изолятов наблюдается следующее филогеографическое распределение: СКФО – 36 штаммов (1956–2007 гг.), ЮФО – 20 штаммов (1981–2014 гг.), ЦФО – 11 штаммов (1981–2023 гг.).

Полученные результаты геномного профилирования территории позволяют сделать вывод, что для штаммов возбудителя сибирской язвы, относящихся к ветви A.Br.117, с территории европейской части России, закономерно следующее филогеографическое распределение: генотип A.Br.117-2 – ЦФО и ЮФО; генотип A.Br.117-3 – ПФО, ЮФО и СКФО; генотип A.Br.117-4 – СКФО и ЮФО.

Штаммы 1394 и 1395 (Рязанская область) и штаммы 1402 и 1404 (Воронежская область) относятся к генотипу A.Br.117-2 (рис. 1). Сравнительный анализ геномов обнаруживает 27 SNP (24 хромосомных и 3 плазмидных), отличающих штаммы 1402 и 1404 от штаммов 1394 и 1395. Из 20 полиморфизмов, локализованных в кодирующих областях генома, 14 (~52 %), являются несинонимичными. Значимые мутации затрагивают гены большой рибосомальной субъединицы *rplC*, АТФазы транспорта катионов Р-типа *pacL*, иммунного ингибитора А-протеазы вирулентности *inA*, большой субъединицы ацетолактатсинтазы/пуллулаказы *pulA*, стрессового белка *yflT*, АВС-транспортера гидроксамата железа *fecB*, FAD-зависимой монооксигеназы *ubiH*, эффектора экстрацитоплазматического сигма-фактора, белка клеточного деления *ftsZ*, метилтрансферазы *metH* и фагового белка.

Установлено, что штаммы 1402 и 1404 из Панинского района Воронежской области имеют общее происхождение со штаммами 988/717 и 546/714, выделенными на территории области в 1991 и 1982 гг. соответственно. Вероятное событие дивергенции датируется второй половиной XX в. (1950–1974 гг., 95 % HPD интервал: 1917–1989 гг.). Штаммы 1402 и 1404 отличаются от штаммов 988/717 и 546/714 на

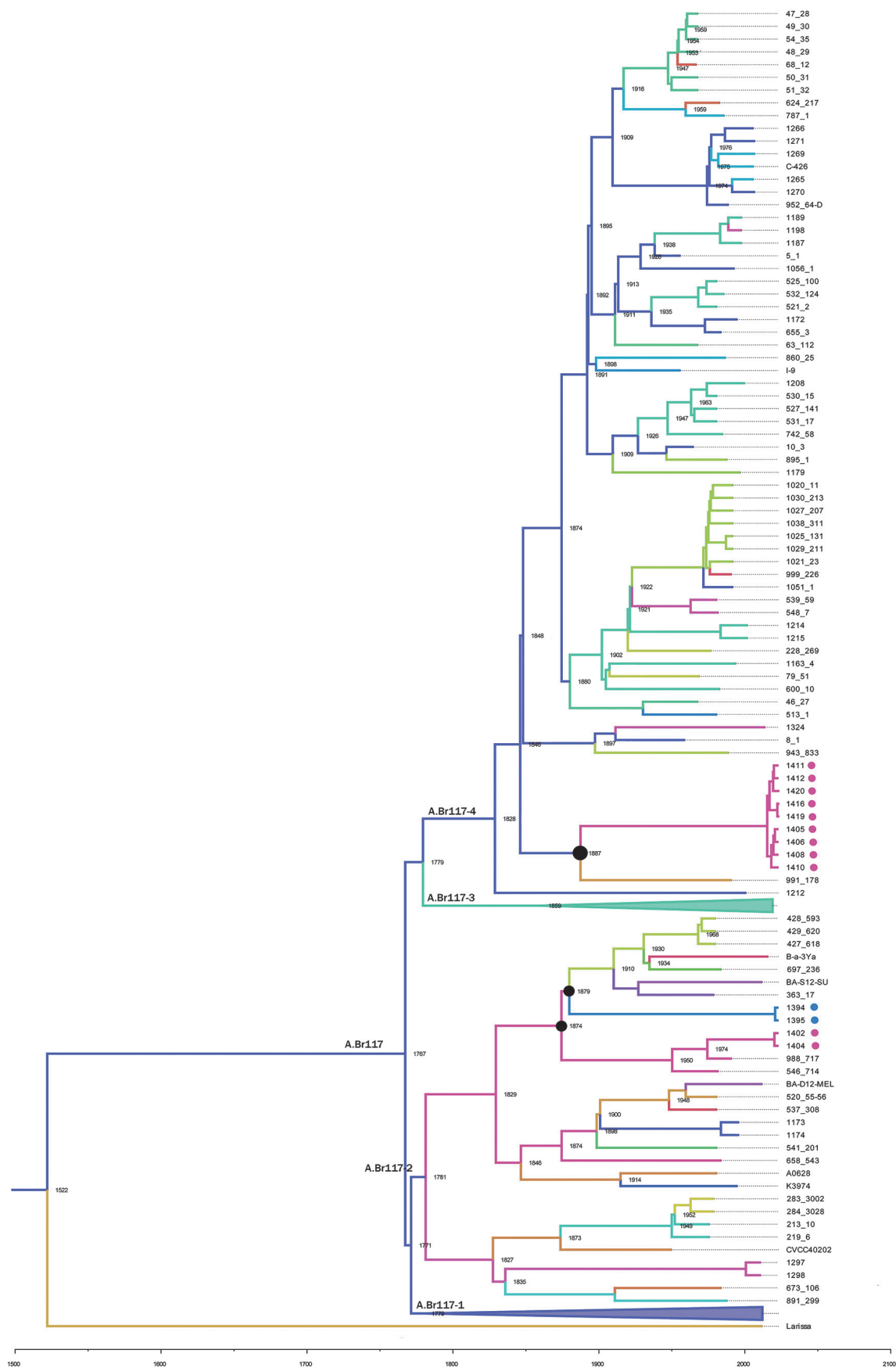


Рис. 1. Эволюционно-филогеографическая реконструкция ветви A.Br.117. Значения в узлах дерева соответствуют рассчитанному медианному времени вероятной дивергенции ветвей от общего предка

Fig. 1. Evolutionary-phylogeographic reconstruction of the branch A.Br.117. The values in the tree nodes correspond to the calculated median time of probable divergence of the branches from a common ancestor

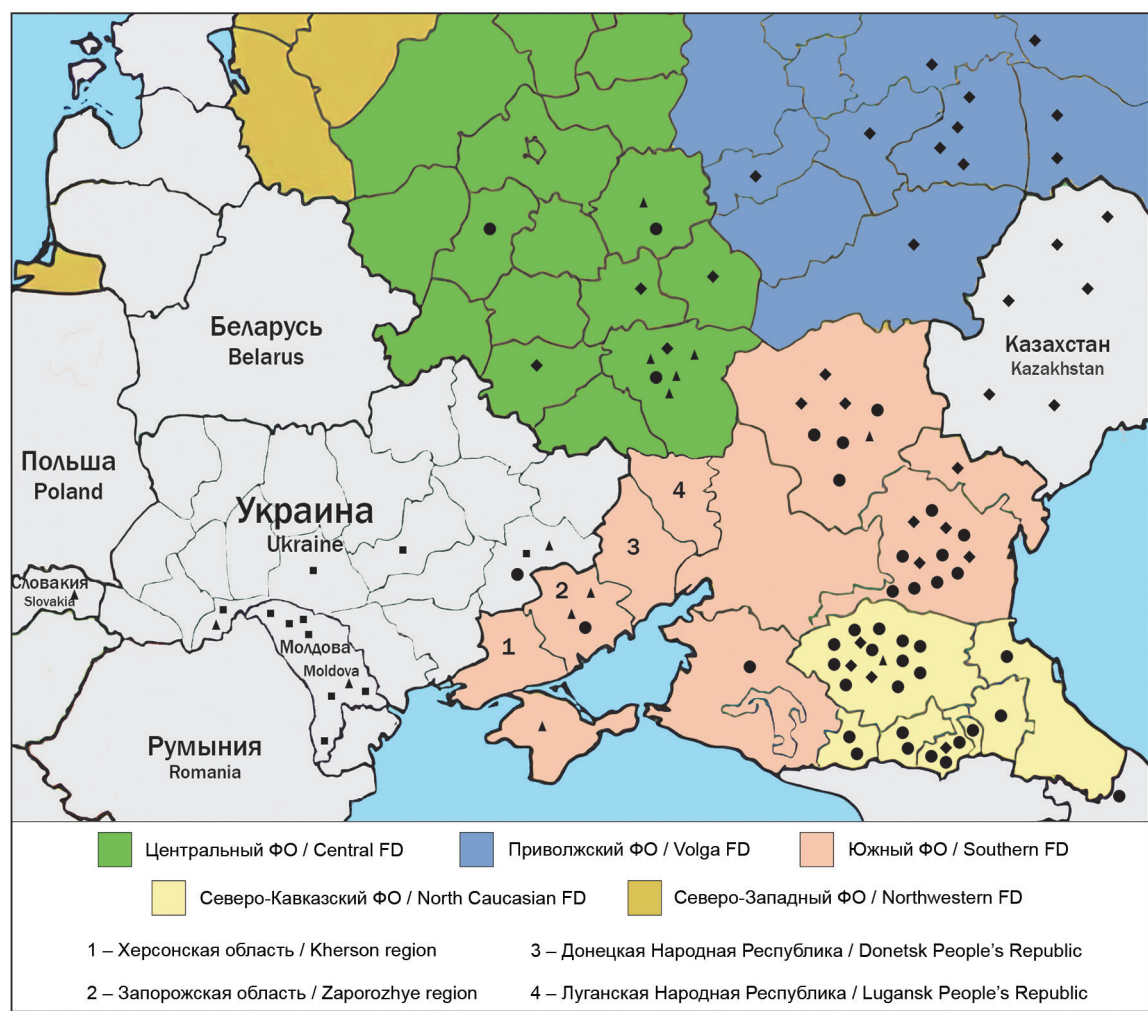


Рис. 2. Схема филогеографического распределения изолятов на территории европейской части России и стран Восточной Европы:
■ – количество вспышек сибирской язвы, вызванных штаммами генотипа A.Br.117-1; ▲ – A.Br.117-2; ◆ – A.Br.117-3; ● – A.Br.117-4

Fig. 2. Scheme of phylogeographic distribution of isolates in the European part of Russia and Eastern European countries:
■ – the number of anthrax outbreaks caused by strains of the genotype A.Br.117-1; ▲ – A.Br.117-2; ◆ – A.Br.117-3; ● – A.Br.117-4

10 SNP (7 хромосомных и 3 плазмидных), доля несинонимичных мутаций среди них составляет 70 %. Значимые изменения отмечены в структуре генов, кодирующих пермеазу ABC-транспортера железа, металлозависимую гидролазу *yfiT*, А-субъединицу дипиколинатсинтазы *dapA* и фаговый белок.

Штаммы 1405–1420 из Богучарского района Воронежской области относятся к генотипу A.Br.117-4 (рис. 1). Как было отмечено ранее, большинство штаммов этого генотипа встречается на территории СКФО и ЮФО. На территории ЦФО до 2023 г. штаммы этого генотипа выявлялись лишь дважды – в Рязанской (1981 г.) и Калужской (1989 г.) областях. Штаммы 1405–1420 филогенетически близки со штаммом 991/178, выделенным в 1991 г. на территории Днепропетровской области Украины. Вероятное событие дивергенции от общего предка датируется концом XIX в. (1887 гг., 95 % HPD интервал: 1818–1963 гг.).

В результате сравнительного анализа геномов обнаружено 15 SNP (13 хромосомных, 2 плазмидных), отличающих штаммы 1405–1420 из Воронежской области от штамма 991/178 (Украина), из них 10 полиморфизмов являются несинонимичными. Значимые нуклеотидные замены локализованы в генах спорового белка *sspF*, кардиолипсинтазы *clsA*, N-ацетилглюкозаминилдифосфоундекап

ренол N-ацетил-бета-D-маннозаминилтрансферазы, активатора продукции внеклеточных белков *aerA*, белка рекомбинации и репарации ДНК *recA*, белка инициации репликации ДНК *dnaD*, 1-дезоксид-ксилозу-5-фосфатсинтазы *dxs*, гомоцистеинметилтрансферазы *metE*, ацетаткиназы *ackA* и D-аланил-D-аланинкарбоксипептидазы *dacF*. Также отмечено, что три нуклеотидные замены в генах *clsA*, *metE*, *dacF* являются нонсенс-мутациями и приводят к преждевременной термации синтеза соответствующих белков.

Геномное профилирование территорий на основе филогенетических данных стало удобным инструментом при эпидемиологических расследованиях случаев особо опасных инфекций. Возбудитель си-

бирской язвы *B. anthracis* является источником постоянной угрозы возникновения эпизоотий и представляет собой один из приоритетных объектов научного исследования. В настоящее время в Российской Федерации динамично развивается проактивная система геномного эпидемиологического надзора за опасными инфекционными болезнями. При этом особое внимание уделяется геномному мониторингу популяций возбудителей особо опасных инфекций, изучению взаимосвязи структуры и функции генома с целью создания чувствительных, специфичных диагностических тест-систем и эффективных средств специфической профилактики инфекционных болезней. Проведенное исследование позволило впервые детально описать филогенетическую структуру ветви A.Br.117 и определить вероятные временные интервалы дивергенции генотипов. Результаты анализа свидетельствуют о том, что штаммы *B. anthracis*, принадлежащие к ветви A.Br.117, эндемичные в настоящее время для ЦФО, имеют широкое филогенетическое распространение на всей территории европейской части Российской Федерации. Штаммы, вызвавшие вспышки сибирской язвы в июле – сентябре 2023 г. на территории ЦФО, относятся к двум разным генотипам, характерным для данной местности, и не связаны друг с другом.

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

1. Carlson C.J., Kracalik I.T., Ross N., Alexander K.A., Hugh-Jones M.E., Fegan M., Elkin B.T., Epp T., Shury T.K., Zhang W., Bagirova M., Getz W.M., Blackburn J.K. The global distribution of *Bacillus anthracis* and associated anthrax risk to humans, livestock and wildlife. *Nat. Microbiol.* 2019; 4(8):1337–43. DOI: 10.1038/s41564-019-0435-4.
2. Бобрышева О.В., Писаренко С.В., Ковалев Д.А., Семенова О.В., Рязанова А.Г. Геномная характеристика штаммов *Bacillus anthracis*, выделенных в Центральном федеральном округе в 2023 году. В кн.: Куличенко А.Н., редактор. Актуальные проблемы болезней, общих для человека и животных: материалы V Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Ставрополь; 2024. С. 172–3.
3. Braun P., Grass G., Aceti A., Serrecchia L., Affuso A., Marino L., Grimaldi S., Pagano S., Hanczaruk M., Georgi E., Northoff B., Schöler A., Schloter M., Antwerpen M., Fasanella A. Microevolution of anthrax from a young ancestor (M.A.Y.A.) suggests a soil-borne life cycle of *Bacillus anthracis*. *PLoS One.* 2015; 10(8):e0135346. DOI: 10.1371/journal.pone.0135346.
4. Pribelski A., Antipov D., Meleshko D., Lapidus A., Korobeynikov A. Using SPAdes de novo assembler. *Curr. Protoc. Bioinformatics.* 2020; 70(1):e102. DOI: 10.1002/cpbi.102.
5. Mikheenko A., Pribelski A., Saveliev V., Antipov D., Gurevich A. Versatile genome assembly evaluation with QUAST-LG. *Bioinformatics.* 2018; 34(13):i142–i150. DOI: 10.1093/bioinformatics/bty266.
6. Tanizawa Y., Fujisawa T., Nakamura Y. DFAST: a flexible prokaryotic genome annotation pipeline for faster genome publication. *Bioinformatics.* 2018; 34(6):1037–9. DOI: 10.1093/bioinformatics/btx713.
7. Kille B., Nute M.G., Huang V., Kim E., Phillippy A.M., Treangen T.J. Parsnp 2.0: scalable core-genome alignment for massive microbial datasets. *Bioinformatics.* 2024; 40(5):btac311. DOI: 10.1093/bioinformatics/btac311.
8. Bouckaert R., Vaughan T.G., Barido-Sottani J., Duchêne S., Fourment M., Gavryushkina A., Heled J., Jones G., Kühnert D., De Maio N., Matschiner M., Mendes F.K., Müller N.F., Ogilvie H.A., du Plessis L., Poppinga A., Rambaut A., Rasmussen D., Siveroni I., Suchard M.A., Wu C.H., Xie D., Zhang C., Stadler T., Drummond A.J. BEAST 2.5: An advanced software platform for Bayesian evolutionary analysis. *PLoS Comput. Biol.* 2019; 15(4):e1006650. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1006650.
9. Bertels F., Silander O.K., Pachkov M., Rainey P.B., van Nimwegen E. Automated reconstruction of whole-genome phylogenies from short-sequence reads. *Mol. Biol. Evol.* 2014; 31(5):1077–88. DOI: 10.1093/molbev/msu088.
10. Darriba D., Posada D., Kozlov A.M., Stamatakis A., Morel B., Flouri T. ModelTest-NG: a new and scalable tool for the selection of DNA and protein evolutionary models. *Mol. Biol. Evol.* 2020; 37(1):291–4. DOI: 10.1093/molbev/msz189.
11. Luo A., Qiao H., Zhang Y., Shi W., Ho S.Y., Xu W., Zhang A., Zhu C. Performance of criteria for selecting evolutionary models in phylogenetics: a comprehensive study based on simulated datasets. *BMC Evol. Biol.* 2010; 10:242. DOI: 10.1186/1471-2148-10-242.
12. Rambaut A. 2014. FigTree version 1.4.2. [Электронный ресурс]. URL: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree>.
13. Sahl J.W., Pearson T., Okinaka R., Schupp J.M., Gillette J.D., Heaton H., Birdsell D., Hepp C., Fofanov V., Nosedá R., Fasanella A., Hoffmaster A., Wagner D.M., Keim P. A *Bacillus anthracis* genome sequence from the Sverdlovsk 1979 autopsy specimens. *mBio.* 2016; 7(5):e01501-16. DOI: 10.1128/mBio.01501-16.
14. Shevtsov A., Lukhnova L., Izbanova U., Vernadet J.-P., Kuibagarov M., Amirgazin A., Ramankulov Y., Vergnaud G. *Bacillus anthracis* phylogeography: new clues from Kazakhstan, Central Asia. *Front. Microbiol.* 2021; 12:778225. DOI: 10.3389/fmicb.2021.778225.
15. Timofeev V., Bakhteeva I., Khlopova K., Mironova R., Titareva G., Goncharova Y., Solomentsev V., Kravchenko T., Dyatlov I., Vergnaud G. New research on the *Bacillus anthracis* genetic diversity in Siberia. *Pathogens.* 2023; 12(10):1257. DOI: 10.3390/pathogens12101257.

References

1. Carlson C.J., Kracalik I.T., Ross N., Alexander K.A., Hugh-Jones M.E., Fegan M., Elkin B.T., Epp T., Shury T.K., Zhang W., Bagirova M., Getz W.M., Blackburn J.K. The global distribution of *Bacillus anthracis* and associated anthrax risk to humans, livestock and wildlife. *Nat. Microbiol.* 2019; 4(8):1337–43. DOI: 10.1038/s41564-019-0435-4.
2. Bobrysheva O.V., Pisarenko S.V., Kovalev D.A., Semenova O.V., Ryzanova A.G. Genomic characteristics of *Bacillus anthracis* strains isolated in the Central Federal District in 2023. In: [Kulichenko A.N., editor. Topical Issues of Diseases Common to Humans and Animals: Proceedings of the V All-Russian Scientific and Practical Conference with International Participation]. Stavropol; 2024. P. 172–3.
3. Braun P., Grass G., Aceti A., Serrecchia L., Affuso A., Marino L., Grimaldi S., Pagano S., Hanczaruk M., Georgi E., Northoff B., Schöler A., Schloter M., Antwerpen M., Fasanella A. Microevolution of anthrax from a young ancestor (M.A.Y.A.) suggests a soil-borne life cycle of *Bacillus anthracis*. *PLoS One.* 2015; 10(8):e0135346. DOI: 10.1371/journal.pone.0135346.
4. Pribelski A., Antipov D., Meleshko D., Lapidus A., Korobeynikov A. Using SPAdes de novo assembler. *Curr. Protoc. Bioinformatics.* 2020; 70(1):e102. DOI: 10.1002/cpbi.102.
5. Mikheenko A., Pribelski A., Saveliev V., Antipov D., Gurevich A. Versatile genome assembly evaluation with QUAST-LG. *Bioinformatics.* 2018; 34(13):i142–i150. DOI: 10.1093/bioinformatics/bty266.
6. Tanizawa Y., Fujisawa T., Nakamura Y. DFAST: a flexible prokaryotic genome annotation pipeline for faster genome publication. *Bioinformatics.* 2018; 34(6):1037–9. DOI: 10.1093/bioinformatics/btx713.
7. Kille B., Nute M.G., Huang V., Kim E., Phillippy A.M., Treangen T.J. Parsnp 2.0: scalable core-genome alignment for massive microbial datasets. *Bioinformatics.* 2024; 40(5):btac311. DOI: 10.1093/bioinformatics/btac311.
8. Bouckaert R., Vaughan T.G., Barido-Sottani J., Duchêne S., Fourment M., Gavryushkina A., Heled J., Jones G., Kühnert D., De Maio N., Matschiner M., Mendes F.K., Müller N.F., Ogilvie H.A., du Plessis L., Poppinga A., Rambaut A., Rasmussen D., Siveroni I., Suchard M.A., Wu C.H., Xie D., Zhang C., Stadler T., Drummond A.J. BEAST 2.5: An advanced software platform for Bayesian evolutionary analysis. *PLoS Comput. Biol.* 2019; 15(4):e1006650. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1006650.
9. Bertels F., Silander O.K., Pachkov M., Rainey P.B., van Nimwegen E. Automated reconstruction of whole-genome phylogenies from short-sequence reads. *Mol. Biol. Evol.* 2014; 31(5):1077–88. DOI: 10.1093/molbev/msu088.
10. Darriba D., Posada D., Kozlov A.M., Stamatakis A., Morel B., Flouri T. ModelTest-NG: a new and scalable tool for the selection of DNA and protein evolutionary models. *Mol. Biol. Evol.* 2020; 37(1):291–4. DOI: 10.1093/molbev/msz189.

11. Luo A., Qiao H., Zhang Y., Shi W., Ho S.Y., Xu W., Zhang A., Zhu C. Performance of criteria for selecting evolutionary models in phylogenetics: a comprehensive study based on simulated datasets. *BMC Evol. Biol.* 2010; 10:242. DOI: 10.1186/1471-2148-10-242.
12. Rambaut A. 2014. FigTree version 1.4.2. [Internet]. Available from: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree>.
13. Sahl J.W., Pearson T., Okinaka R., Schupp J.M., Gillece J.D., Heaton H., Birdsell D., Hepp C., Fofanov V., Noseda R., Fasanella A., Hoffmaster A., Wagner D.M., Keim P. A *Bacillus anthracis* genome sequence from the Sverdlovsk 1979 autopsy specimens. *mBio*. 2016; 7(5):e01501-16. DOI: 10.1128/mBio.01501-16.
14. Shevtsov A., Lukhnova L., Izbanova U., Vernadet J.-P., Kuibagarov M., Amirgazin A., Ramankulov Y., Vergnaud G. *Bacillus anthracis* phylogeography: new clues from Kazakhstan, Central Asia. *Front. Microbiol.* 2021; 12:778225. DOI: 10.3389/fmicb.2021.778225.
15. Timofeev V., Bakhteeva I., Khlopova K., Mironova R., Titareva G., Goncharova Y., Solomentsev V., Kravchenko T.,

Dyatlov I., Vergnaud G. New research on the *Bacillus anthracis* genetic diversity in Siberia. *Pathogens*. 2023; 12(10):1257. DOI: 10.3390/pathogens12101257.

Authors:

Pisarenko S.V., Kovalev D.A., Bobrysheva O.V., Safonova N.S., Zhirov A.M., Shapakov N.A., Semenova O.V., Kulichenko A.N. Stavropol Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: stavnipchi@mail.ru.

Об авторах:

Писаренко С.В., Ковалев Д.А., Бобрышева О.В., Сафонова Н.С., Жиров А.М., Шапаков Н.А., Семенова О.В., Куличенко А.Н. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: stavnipchi@mail.ru.