

DOI: 10.21055/0370-1069-2026-2-156-162

УДК 579.841.95:616-07

Р.С. Махмудов¹, В.М. Сорокин¹, М.В. Цимбалистова¹, А.С. Анисимова¹, Н.В. Аронова¹,
Г.А. Гасанов², Н.В. Павлович¹**Оценка эффективности методов индикации *Francisella tularensis* при исследовании различных видов полевого материала и характеристика изолированных штаммов возбудителя**¹Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт, Ростов-на-Дону, Российская Федерация;²Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии, Москва, Российская Федерация

Цель работы – сравнительный анализ информативности диагностических методов при исследовании различных объектов окружающей среды на наличие маркеров возбудителя туляремии; молекулярно-генетическая характеристика штаммов возбудителя туляремии. **Материалы и методы.** Проведен сравнительный анализ эффективности методов диагностики туляремии (ПЦР, РНАт, ИХ-тест) в различных образцах полевого материала из очагов Ростовской области, Луганской (ЛНР) и Донецкой (ДНР) народных республик, Запорожской и Херсонской областей за период с 2020 по 2023 г. Молекулярно-генетическую характеристику штаммов, выделенных из различных источников, получали с помощью VNTR-типирования с последующим построением дендрограммы методом NJ. **Результаты и обсуждение.** Сравнительный анализ эффективности используемых методов диагностики показал, что биологический метод остается золотым стандартом для обнаружения живых бактерий *Francisella tularensis* в полевом материале. Серологические методы, основанные на выявлении специфических антигенов, являются надежным маркером циркуляции возбудителя в очаге туляремии в случаях, когда не удается выделить живые бактерии. При сомнительных результатах РНАт дополнительно эти пробы исследовались с помощью иммунохроматографических тестов. Как установлено при исследовании материала из гнездово-норового субстрата, погадок птиц и помета хищных млекопитающих, наиболее информативным методом является РНАт. В то же время, согласно полученным нами данным, для проб из таких объектов окружающей среды, как сено, зерно, фураж, вода и др., наиболее адекватными являются методы ПЦР-диагностики. Изученная 31 культура *F. tularensis* представлена шестью индивидуальными VNTR-генотипами. Наибольшее число генотипов (4 из 6) выявлено среди мелких млекопитающих, два генотипа обнаружено у клещей и один – в водном источнике. Сочетанное использование серологических и молекулярно-биологических методов позволяет повысить достоверность и точность выявления возбудителя туляремии в объектах окружающей среды.

Ключевые слова: *Francisella tularensis*, диагностические методы, филогенетический анализ штаммов.

Корреспондирующий автор: Павлович Наталья Владимировна, e-mail: info@tularemia.ru.

Для цитирования: Махмудов Р.С., Сорокин В.М., Цимбалистова М.В., Анисимова А.С., Аронова Н.В., Гасанов Г.А., Павлович Н.В. Оценка эффективности методов индикации *Francisella tularensis* при исследовании различных видов полевого материала и характеристика изолированных штаммов возбудителя. Проблемы особо опасных инфекций. 2026; 2:156–162. DOI: 10.21055/0370-1069-2026-2-156-162

Поступила 24.06.2025. Отправлена на доработку 15.10.2025. Принята к публикации 27.01.2026.

R.S. Makhmudov¹, V.M. Sorokin¹, M.V. Tsimbalistova¹, A.S. Anisimova¹, N.V. Aronova¹,
G.A. Gasanov², N.V. Pavlovich¹**Evaluation of the Effectiveness of Methods for Detecting *Francisella tularensis* in the Study of Field Material and Characterization of Isolated Strains of the Pathogen**¹Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don, Russian Federation;²Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russian Federation

Abstract. The aim of the work was to perform a comparative analysis of the informative value of diagnostic methods in the study of various environmental objects for the presence of tularemia agent markers; molecular-genetic characterization of strains of the causative agent of tularemia. **Materials and methods.** A comparative analysis of effectiveness of diagnostic methods for tularemia indication: PCR (polymerase chain reaction), AbNT (antibody neutralization test), ICT (immune-chromatographic test) in various samples of field material from the foci of the Rostov Region, Lugansk People's Republic, Donetsk People's Republic, Zaporozhe and Kherson Regions for the period of 2020–2023 was carried out. The molecular-genetic characteristics of the strains isolated from various sources was obtained using VNTR typing followed by the construction of a dendrogram applying the NJ method. **Results and discussion.** The comparative analysis of the effectiveness has shown that the biological method remains the gold standard for detecting live bacteria, *Francisella tularensis*, in field material. Serological methods based on the detection of specific antigens are a reliable marker of the pathogen circulation in the focus of tularemia in cases where it is not possible to isolate live culture. If the AbNT results were questionable, the samples were additionally investigated using immune-chromatographic tests. It has been established that AbNT is the most informative method when studying the material from the nesting and burrowing substrate, bird regurgitates and droppings of predatory mammals. At the same time, according to our data, PCR diagnostic methods are the most adequate ones in relation to such environmental objects as hay, grain, fodder, water, etc. The 31 *F. tularensis* cultures studied are represented by six individual VNTR genotypes. The largest number of genotypes (4 out of 6) was found among small mammals, two genotypes were indicated in ticks and one – in a water sample. The combined use of serological and molecular-biological methods makes it possible to increase the reliability and accuracy of detecting the causative agent of tularemia in environmental objects.

Key words: *Francisella tularensis*, diagnostic methods, phylogenetic analysis of strains.

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

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

Corresponding author: Natalia V. Pavlovich, e-mail: info@tularemia.ru.

Citation: Makhmudov R.S., Sorokin V.M., Tsimbalistova M.V., Anisimova A.S., Aronova N.V., Gasanov G.A., Pavlovich N.V. Evaluation of the Effectiveness of Methods for Detecting *Francisella tularensis* in the Study of Field Material and Characterization of Isolated Strains of the Pathogen. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2026; 2:156–162. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2026-2-156-162

Received 24.06.2025. Revised 15.10.2025. Accepted 27.01.2026.

Makhmudov R.S., ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-7679-032X>
Sorokin V.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1835-1496>
Tsimbalistova M.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4091-649X>
Anisimova A.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4010-2138>

Aronova N.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7772-9276>
Gasanov G.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0121-521X>
Pavlovich N.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8287-4294>

Туляремия, одна из наиболее распространенных и опасных природно-очаговых инфекций, представляет значительную угрозу для населения, поскольку ее очаги отличаются стабильностью и встречаются во всех регионах России, включая Ростовскую область (РО), Луганскую (ЛНР) и Донецкую (ДНР) народные республики, Запорожскую и Херсонскую области [1–3]. Устойчивость очагов обусловлена своеобразием паразитарных систем, определяемых биологическими особенностями возбудителя, переносчиков, носителей.

В последние годы наблюдается устойчивая тенденция к активизации природных очагов туляремии после длительного периода относительного затишья [4, 5]. В связи с этим проведение регулярного мониторинга состояния очагов и совершенствование методов диагностики приобретают особую важность для своевременной профилактики и борьбы с заболеванием.

Методы диагностики туляремии включают как традиционные (серологические, бактериологические, биологические), так и современные молекулярно-генетические технологии. В частности, для обнаружения ДНК туляремийного микроба широко используется полимеразная цепная реакция в реальном времени (РТ ПЦР), а для обнаружения антигенов – серологические реакции (РНГА, РА, ИФА, РКОА). Анализ данных литературы последних лет показывает достаточную эффективность применения различных вариантов реакции микроагглютинации в качестве скринингового метода [6, 7]. Все более популярным становится иммунохроматографический анализ (ИХ-тест) благодаря своей высокой специфичности и удобству. Актуальным для молекулярной диагностики туляремии является применение аптамеров для мониторинга уровня биомаркеров в крови или других биологических жидкостях. Аптамеры – это короткие одноцепочечные нуклеиновые кислоты или пептиды, которые специфически связываются с мишенью, такой как молекула белка, вируса или клетки. Они могут быть спроектированы для определенной мишени и иметь высокую аффинность и специфичность, что делает их идеальными для использования в медицине, фармакологии и биотехнологии. Применение аптамеров в диагностике позволяет создавать быстрые и чувствительные тесты для обнаружения различных заболеваний [8].

При выделении чистой культуры *Francisella tularensis* для молекулярно-генетической характеристики штаммов в практику внедрены VNTR-анализ (MLVA-типирование), INDEL-типирование, полногеномное секвенирование, SNP-анализ [9, 10]. Развитие метода MLVA-типирования позволило создать инструменты для адекватной дифференциации штаммов возбудителя туляремии и упростило межлабораторное сравнение полученных данных [11–14].

Тем не менее для обнаружения живых бактериальных клеток наиболее чувствительным остается биологический метод с использованием модели высокочувствительных к инфекции белых мышей, позволяющий выявить даже единичные микробные клетки.

Однако в литературе не систематизировано использование тех или иных диагностических методов при исследовании различных объектов окружающей среды. В связи с этим целью настоящей работы явился сравнительный анализ информативности диагностических методов при исследовании различных объектов окружающей среды на наличие маркеров возбудителя туляремии, молекулярно-генетическая характеристика штаммов возбудителя туляремии.

Материалы и методы

В период с 2020 по 2023 г. в ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора было проведено 4115 исследований полевого материала из очагов РО, ДНР, ЛНР, Запорожской и Херсонской областей. Наличие ДНК *F. tularensis* в пробах первичного полевого материала определяли методом РТ ПЦР. Экстракцию ДНК из образцов полевого материала производили с помощью набора реагентов «Проба НК» (НПФ «ДНК-Технология», Москва). Детекцию ДНК *F. tularensis* проводили с применением набора реагентов «Ген *Francisella tularensis*-РГФ» (ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов). Наличие специфического туляремийного антигена определяли методами РНГА с использованием набора реагентов диагностикум эритроцитарный туляремийный антигенный жидкий «РНГА-Тул-Аг-СтавНИПЧИ» (ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, Ставрополь) и ИХ-тест с помощью иммунохроматографической

тест-системы для экспресс-выявления и идентификации возбудителя туляремии «ИХ-тест-система *F. tularensis*» (ФБУН ГНЦ ПМБ Роспотребнадзора, Оболенск). При положительных результатах в одной из реакций образцы дополнительно изучались для детекции живых бактерий *F. tularensis* с помощью биологической пробы на модели высокочувствительных к инфекции белых мышей.

Для изучения генетического разнообразия выделенных штаммов использовали метод VNTR-типирования по пяти локусам (M3, M6, M10, M20A, M24) с последующим филогенетическим анализом [15]. Филогенетический анализ проводили с помощью программы GrapeTree с использованием алгоритма NJ [16]. Программа предназначена для построения и визуализации филогенетических деревьев.

Статистическую обработку данных проводили с помощью формулы Вильсона (Wilson score interval), которая используется для расчета доверительного интервала процентного значения. Она считается наиболее точной для выборок среднего размера [17].

Результаты и обсуждение

В результате проведенной работы с 2020 по 2023 г. с помощью биологического метода удалось выделить 25 культур возбудителя туляремии, а также верифицировать 6 штаммов, поступивших из Республиканского центра санитарно-эпидемиологического надзора Государственной санитарно-эпидемиологической службы Минздрава ДНР – 2, из ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ростовской области» – 4. Наибольшее коли-

чество выделено в Новоазовском районе ДНР (8), Целинском (8), Ремонтненском (5), Сальском (4) районах РО. Результаты проведенного исследования показали, что основными источниками явились мелкие млекопитающие и клещи.

Сравнительный анализ эффективности используемых методов диагностики (РТ ПЦР, РНАт, ИХ-тест) показал их высокую информативность. Так, РТ ПЦР-диагностика дала положительные результаты в образцах, содержащих живые бактерии, в 84 % случаев (26 из 31), а РНАт – в 58 % (18 из 31). При сомнительных результатах РНАт дополнительно мы использовали ИХ-тест. Туляреминый антиген обнаружен в 44 % этих проб. По-видимому, это связано с более низкой чувствительностью ИХ-теста (не менее 10^7 м.к./мл).

В 42 % случаев с последующим выделением культуры данные на наличие маркеров возбудителя в ПЦР и РНАт совпадали. Однако в 48 % наблюдались положительные находки только в одной из реакций. Тем не менее благодаря биологическому методу удавалось успешно изолировать культуру туляреминого микроба. Результаты сравнительного анализа положительных результатов от общего количества исследованных проб в зависимости от вида изучаемого материала представлены в табл. 1. В доступной литературе имеются лишь единичные публикации по анализу подобных данных.

В зависимости от вида полевого материала показана различная эффективность используемых методов.

В частности, наиболее информативным методом при исследовании нативных проб оказалась реак-

Таблица 1 / Table 1

Сравнительный анализ эффективности методов выявления маркеров *F. tularensis* в полевом материале (n=4115)
Comparative analysis of the effectiveness of methods for detecting *F. tularensis* markers in field material (n=4115)

Вид полевого материала Type of field material	Количество положительных результатов, абс. (%), доверительный интервал Вильсона The number of positive results, abs. (%), Wilson score interval			
	Методы исследования / Research methods			
	РНАт Antibody Neutralization Test – AbNT	ПЦР Polymerase chain reaction – PCR	ИХ-тест Immune-chromatographic test – ICT	Выделенная культура Isolated culture
Мелкие млекопитающие (мыши, полевки, белозубки и др.), n=1949 Small mammals (mice, voles, white-toothed shrew, etc.), n=1949	143 (7 %) 6–9	70 (4 %) 3–5	12 (1 %) 0–1	22 (1 %) 0–1
Клещи, кровососущие (комары, слепни и др.), n=1721 Ticks, blood-sucking insects (mosquitoes, horse-flies, etc.), n=1721	79 (5 %) 4–6	18 (1 %) 1–2	6 (0,3 %) 0–1	8 (0,5 %) 0–1
Объекты внешней среды (сено, зерно, солома, фураж, вода и др.), n=211 Environmental objects (hay, grain, straw, fodder, water, etc.), n=211	9 (4 %) 2–8	19 (9 %) 6–14	2 (1 %) 0–3	1 (0,5 %) 0–3
Гнездово-норовой субстрат, n=153 Nest-burrow substrate, n=153	9 (6 %) 3–11	2 (1 %) 0–5	1 (0,7 %) 0–4	0
Погадки хищных птиц, помет хищных млекопитающих, n=81 Regurgitates of birds of prey, droppings of predatory mammals, n=81	12 (15 %) 9–24	2 (2,5 %) 1–9	1 (1 %) 0–7	0

ция нейтрализации антител. Нельзя исключить, что большой процент обнаружения антигена туляреминого микроба в пробах от мелких млекопитающих и клещей обусловлен стабильностью основного антигена липополисахарида *F. tularensis* по сравнению с ДНК. Косвенным подтверждением этому является тот факт, что в материале из гнездо-норового субстрата (ГНС) в 6 %, погадок птиц и помета хищных млекопитающих в 15 % случаев обнаруживали антигены, но не ДНК. Например, в ГНС и погадках птиц наиболее показательными являются серологические методы обнаружения антигенов туляреминого микроба. При этом с помощью ПЦР специфические фрагменты ДНК обнаружены лишь в 1 % случаев. Можно предположить, что это обусловлено высокой кислотностью желудка птиц, повреждающей ДНК. В то же время, согласно полученным нами данным, в таких объектах окружающей среды, как сено, зерно, фураж, вода и др., наиболее адекватными являются методы ПЦР-диагностики. Возможно, это связано с высокой чувствительностью данного метода по сравнению с другими.

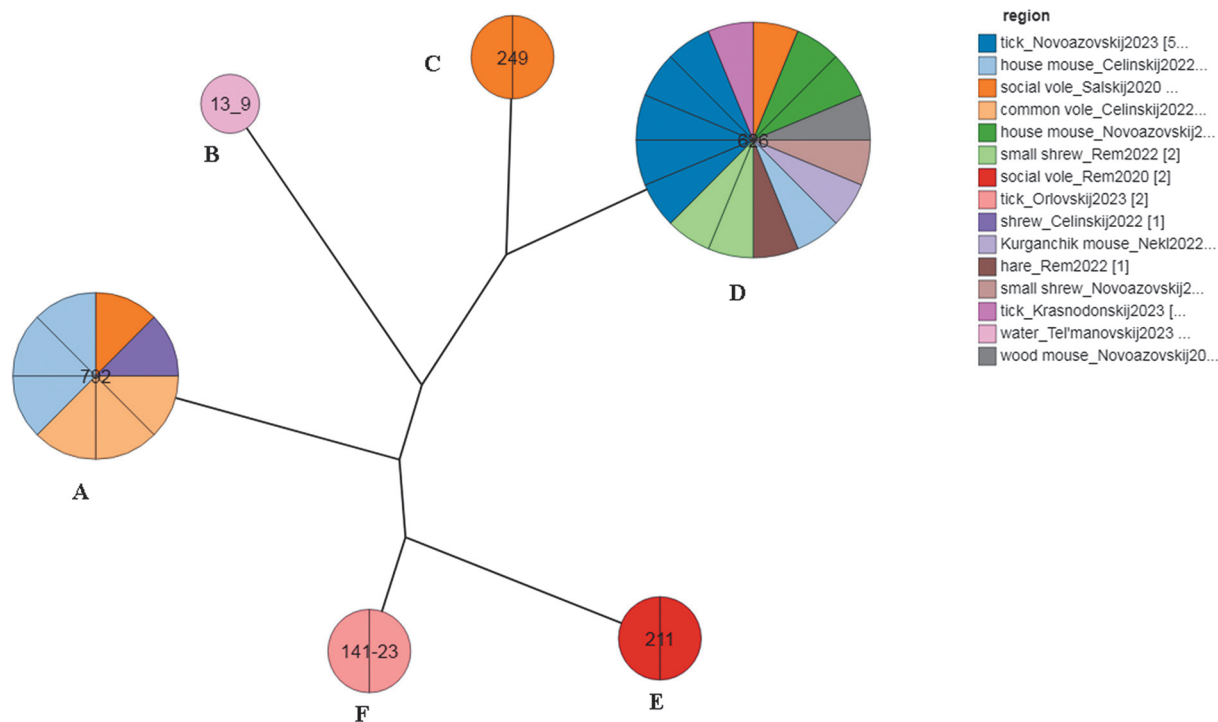
Таким образом, применение комплекса методов диагностики, включающего биологический метод, ПЦР и РНАт, позволяет повысить эффективность выявления возбудителя туляремии и обеспечить своевременную организацию противоэпидемических мероприятий. Наличие культур возбудителя туляремии, изолированных из различных источников, позволило изучить их фенотипические и молекулярно-генетические свойства.

Все культуры были представлены полиморфными грамотрицательными бактериями, агглютинировались туляреминой сывороткой, не обладали фосфатазной активностью, синтезировали активную β -лактамазу и были устойчивы к пенициллинам, цефалоспорином, клиндамицину, эритромицину и полимиксину. Полученные данные позволили отнести выделенные штаммы к подвиду *F. tularensis* subsp. *holarctica* EryR.

В нашем исследовании культуры возбудителя туляремии были выделены из различных резервуаров окружающей среды, включая водный источник, мелких млекопитающих и клещей.

Всего выделена 31 культура, которая исследована методом VNTR-типирования по пяти локусам (M3, M6, M10, M20A, M24) с последующим филогенетическим анализом. Филогенетический анализ проводили с помощью программы GrapeTree с использованием алгоритма NJ. Показано, что изученные культуры представлены шестью индивидуальными VNTR-генотипами. Наибольшее число генотипов (4 из 6) выявлено среди мелких млекопитающих, два генотипа обнаружено у клещей и один – в водном источнике. Самыми распространенными генотипами являются генотип D, включающий 17 штаммов, выделенных из клещей и мелких млекопитающих, и генотип A, представленный 8 штаммами, изолированными только от мелких млекопитающих (рисунок, табл. 2).

Интересно отметить, что культуры, выделенные из клещей в Орловском районе и из водного источни-



Разнообразие MLVA-генотипов штаммов *F. tularensis*, выделенных в ЛНР, ДНР, Ростовской, Запорожской и Херсонской областях в 2020–2023 гг. из различных источников. Дендрограмма построена с помощью программы GrapeTree с использованием алгоритма NJ:

A–F – обозначение генотипов; 792, 13_9, 249, 626, 211, 141-23 – номера одного из штаммов данного генотипа (табл. 2)

The diversity of MLVA genotypes of *F. tularensis* strains isolated in the LPR, DPR, Rostov, Zaporozhe and Kherson Regions in 2020–2023 from various sources. The dendrogram is constructed applying the GrapeTree software using the NJ algorithm:

A–F – designation of genotypes; 792, 13_9, 249, 626, 211, 141-23 – the numbers of one of the strains of this genotype (Table 2)

Таблица 2 / Table 2

Сведения о выделенных штаммах *F. tularensis*, представленных на дендрограммеData on the isolated *F. tularensis* strains presented in the dendrogram

№	Генотип, обозначенный на дендрограмме The genotype indicated on the dendrogram	№ штамма (особое название) Strain number (special name)	Место и источник выделения штамма Location and source of strain isolation	Год выделения штамма Year of strain isolation
1	2	3	4	5
1	A	463	РО, Целинский район, мышь домовая Rostov Region (RR), house mouse	2022
2	A	464	РО, Целинский район, мышь домовая RR, Tselinsky district, house mouse	2022
3	A	465	РО, Целинский район, белозубка RR, Tselinsky district, white toothed shrew	2022
4	A	466	РО, Целинский район, полевка обыкновенная RR, Tselinsky district, common vole	2022
5	A	257	РО, Сальский район, полевка обыкновенная RR, Sal'sky district, common vole	2020
6	A	792	РО, Целинский район, полевка обыкновенная RR, Tselinsky district, common vole	2022
7	A	794	РО, Целинский район, мышь домовая RR, Tselinsky district, house mouse	2022
8	A	795	РО, Целинский район, полевка обыкновенная RR, Tselinsky district, common vole	2022
9	B	13(9)	ДНР, Тельмановский район, вода Donetsk People's Republic (DPR), Tel'manovsky district, water	2023
10	C	249	РО, Сальский район, полевка обыкновенная (павшая особь) RR, Sal'sky district, common vole (corpse)	2020
11	C	251	РО, Сальский район, полевка обыкновенная (павшая особь) RR, Sal'sky district, common vole (corpse)	2020
12	D	566	ДНР, Новоазовский район, <i>R. rossicus</i> DPR, Novoazovsky district, <i>R. rossicus</i>	2023
13	D	567	ДНР, Новоазовский район, <i>R. rossicus</i> DPR, Novoazovsky district, <i>R. rossicus</i>	2023
14	D	568	ДНР, Новоазовский район, <i>R. rossicus</i> DPR, Novoazovsky district, <i>R. rossicus</i>	2023
15	D	569	ДНР, Новоазовский район, <i>R. rossicus</i> DPR, Novoazovsky district, <i>R. rossicus</i>	2023
16	D	570	ДНР, Новоазовский район, <i>R. rossicus</i> DPR, Novoazovsky district, <i>R. rossicus</i>	2023
17	D	626	ЛНР, Краснодонский район, <i>H. marginatum</i> Luhansk People's Republic, Krasnodonsky district, <i>H. marginatum</i>	2023
18	D	799	РО, Целинский район, мышь домовая RR, Tselinsky district, house mouse	2022
19	D	1-23	РО, Ремонтненский район, заяц-русак RR, Remontnensky district, brown hare	2023
20	D	7-23	РО, Ремонтненский район, белозубка малая RR, Remontnensky district, white toothed shrew	2023
21	D	22-23	РО, Ремонтненский район, белозубка малая RR, Remontnensky district, small white toothed shrew	2023
22	D	740	ДНР, Новоазовский район, мышь домовая DPR, Novoazovsky district, house mouse	2022
23	D	742	ДНР, Новоазовский район, мышь домовая DPR, Novoazovsky district, house mouse	2022
24	D	279-286	ДНР, Новоазовский район, мышь лесная DPR, Novoazovsky district, wood mouse	2022
25	D	739/1	ДНР, Новоазовский район, белозубка DPR, Novoazovsky district, white toothed shrew	2022

Окончание табл. 2 / Ending of table 2

1	2	3	4	5
26	D	783	ПО, Неклиновский район, мышь курганчиковая RR, Neklinovsky district, mound mouse	2022
27	D	256	ПО, Сальский район, полевка обыкновенная RR, Sal'sky district, common vole	2020
28	E	210	ПО, Ремонтненский район, общественная полевка (павшая особь) RR, Remontnensky district, social vole (corpse)	2020
29	E	211	ПО, Ремонтненский район, общественная полевка (павшая особь) RR, Remontnensky district, social vole (corpse)	2020
30	F	140-23	ПО, Орловский район, <i>D. reticulatus</i> RR, Orlovsky district, <i>D. reticulatus</i>	2023
31	F	141-23	ПО, Орловский район, <i>D. reticulatus</i> RR, Orlovsky district, <i>D. reticulatus</i>	2023

ка в Тельмановском районе ДНР, обладали уникальными генотипами F и B соответственно.

При однотипных фенотипических свойствах молекулярно-генетические методы позволили выявить разнообразие генотипов выделенных штаммов, что может быть обусловлено различными экологическими нишами и условиями персистенции микробов. Нельзя исключить, что особенности паразитарных систем (в частности, разные носители инфекции), вносят свой вклад в генетическое разнообразие *F. tularensis*.

Таким образом, результаты проведенного исследования показали, что эффективность и информативность лабораторных методов диагностики туляремии зависят от объекта исследования. Например, наибольшее количество положительных находок в образцах погадок птиц и ГНС, а также мелких млекопитающих и клещей зарегистрировано при использовании серологических методов. В то же время для проб из объектов окружающей среды (сено, зерно, солома, фураж, вода и др.) более показательными оказались результаты молекулярно-генетических исследований (ПЦР).

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

- Добровольский О.П., Пичурина Н.Л., Орехов И.В., Полонский А.В., Гончаров А.Ю., Баташев В.В., Карпущенко Г.В., Ковалев Е.В., Киреев Ю.Г., Носков А.К. Сравнительный анализ биоценологической структуры носителей возбудителя туляремии в очагах степного типа приграничных территорий Ростовской области. *Пест-Менеджмент*. 2020; (3):13–9. DOI: 10.25732/PM.2020.115.3.002.
- Трунова О.А., Скрипка Л.В., Багрий А.Э., Прохоров Е.В., Резниченко Н.А. Иммунологическая и эпидемиологическая эффективность вакцинопрофилактики туляремии в регионе Донбасса. *Медицинский вестник Юга России*. 2023; 14(4):66–76. DOI: 10.21886/2219-8075-2023-14-4-66-76.
- Мокриевич А.Н., Кравченко Т.Б., Фирстова В.В., Титарева Г.М., Дятлов И.А., Тимофеев В.С. Туляремия: состояние проблемы и методы исследования. М.: Династия; 2019. 264 с.
- Забашта М.В., Пичурина Н.Л., Хаметова А.П., Забашта А.В., Орехов И.В., Добровольский О.П., Стахеев В.В., Фомина

Е.С., Ковалев Е.В., Федченко А.В., Носков А.К. Эпизоотия туляремии в популяции обыкновенной полевки в природном очаге степного типа на юго-востоке Ростовской области в 2020 году. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022; (3):75–81. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-3-75-81.

5. Кудрявцева Т.Ю., Попов В.П., Мокриевич А.Н., Куликалова Е.С., Холин А.В., Мазепа А.В., Борзенко М.А., Пичурина Н.Л., Павлович Н.В., Носков А.К., Транквиловский Д.В., Храмов М.В., Дятлов И.А. Множественная лекарственная устойчивость клеток *F. tularensis* subsp. *holarctica*, анализ эпизоотологической и эпидемиологической ситуации по туляремии на территории Российской Федерации в 2022 г. и прогноз на 2023 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; (1):37–47. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-37-47.

6. Copur B., Surme S. Water-borne oculoglandular tularemia: Two complicated cases and a review of the literature. *Travel. Med. Infect. Dis.* 2023; 51:102489. DOI: 10.1016/j.tmaid.2022.102489.

7. Derya K.Y., Fatih B., Malal E.M., Salahuddin S.M., Asma A. Tracking the footsteps of *Francisella tularensis*: Bacteriological and serological monitoring in epidemic areas in Ankara. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 2023; 92:101921. DOI: 10.1016/j.cimid.2022.101921.

8. Vivekananda J., Kiel J.L. Anti-*Francisella tularensis* DNA aptamers detect tularemia antigen from different subspecies by Aptamer-Linked Immobilized Sorbent Assay. *Lab. Invest.* 2006; 86(6):610–8. DOI: 10.1038/labinvest.3700417.

9. Сорокин В.М., Водопьянов А.С., Цимбалистова М.В., Павлович Н.В. Дифференциация подвидов *Francisella tularensis* методом INDEL-типирования. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2022; 99(2):193–202. DOI: 10.36233/0372-9311-189.

10. Цимбалистова М.В., Сорокин В.М., Аронова Н.В., Анисимова А.С., Пичурина Н.Л., Пасюкова Н.И., Селянская Н.А., Водопьянов С.О., Водопьянов А.С., Писанов Р.В., Павлович Н.В., Ковалев Е.В., Носков А.К. Биологические свойства и генетическая характеристика штаммов *Francisella tularensis*, изолированных на территории Ростовской области в 2020 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2021; (3):134–40. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-3-134-140.

11. Farlow J., Smith K.L., Wong J., Abrams M., Lytle M., Keim P. *Francisella tularensis* strain typing using multiple-locus, variable-number tandem repeat analysis. *J. Clin. Microbiol.* 2001; 39(9):3186–92. DOI: 10.1128/JCM.39.9.3186-3192.2001.

12. Johansson A., Farlow J., Larsson P., Dukerich M., Chambers E., Byström M., Fox J., Chu M., Forsman M., Sjöstedt A., Keim P. Worldwide genetic relationships among *Francisella tularensis* isolates determined by multiple-locus variable-number tandem repeat analysis. *J. Bacteriol.* 2004; 186(17):5808–18. DOI: 10.1128/JB.186.17.5808-5818.2004.

13. Johansson A., Göransson I., Larsson P., Sjöstedt A. Extensive allelic variation among *Francisella tularensis* strains in a short-sequence tandem repeat region. *J. Clin. Microbiol.* 2001; 39(9):3140–6. DOI: 10.1128/JCM.39.9.3140-3146.2001.

14. Vogler A.J., Birdsall 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; 48(1):140–4. DOI: 10.1111/j.1472-765-X.2008.02484.x.

15. 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.

16. Zhou Z., Alikhan N.-F., Sergeant M.J., Luhmann N., Vaz C., Francisco A.P., Carriço J.A., Achtman M. GrapeTree: visualization of core genomic relationships among 100,000 bacterial pathogens. *Genome Res.* 2018; 28(9):1395–404. DOI: 10.1101/gr.232397.117.

17. Wilson E.B. Probable inference, the law of succession, and statistical inference. *J. Am. Stat. Assoc.* 1927; 22(158):209–12. DOI: 10.1080/01621459.1927.10502953.

References

1. Dobrovolsky O.P., Pichurina N.L., Orechov I.V., Polonsky A.V., Goncharov A.Yu., Batashev V.V., Karpushchenko G.V., Kovalev E.V., Kireev Yu.G., Noskov A.K. [Comparative analysis of biocenotic structure of tularemia agents in natural foci of steppe type in border areas of the Rostov Region]. *[Pest Management]*. 2020; (3):13–9. DOI: 10.25732/PM.2020.115.3.002.

2. Trunova O.A., Skripka L.V., Bagriy A.E., Prokhorov E.V., Reznichenko N.A. [Immunological and epidemiological effectiveness of tularemia vaccination in the Donbass region]. *Meditsinskii Vestnik Yuga Rossii [Medical Herald of the South of Russia]*. 2023; 14(4):66–76. DOI: 10.21886/2219-8075-2023-14-4-66-76.

3. Mokrievich A.N., Kravchenko T.B., Firstova V.V., Titareva G.M., Dyatlov I.A., Timofeev V.S. [Tularemia: the State of the Problem and Research Methods]. Moscow: “Dynasty”; 2019. 264 p.

4. Zabashta M.V., Pichurina N.L., Khametova A.P., Zabashta A.V., Orekhov I.V., Dobrovolsky O.P., Stakheev V.V., Fomina E.S., Kovalev E.V., Fedchenko A.V., Noskov A.K. [Epizooty of tularemia, detected in the population of the common vole in the natural focus of steppe type in the south-east of the Rostov Region in 2020]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; (3):75–81. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-3-75-81.

5. Kudryavtseva T.Yu., Popov V.P., Mokrievich A.N., Kulikalova E.S., Kholin A.V., Mazepa A.V., Borzenko M.A., Pichurina N.L., Pavlovich N.V., Noskov A.K., Trankvilevsky D.V., Khramov M.V., Dyatlov I.A. [Multidrug resistance of *F. tularensis* subsp. *holarctica*, epizootiological and epidemiological analysis of the situation on tularemia in the Russian Federation in 2022 and forecast for 2023]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; (1):37–47. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-37-47.

6. Copur B., Surme S. Water-borne oculoglandular tularemia: Two complicated cases and a review of the literature. *Travel. Med. Infect. Dis.* 2023; 51:102489. DOI: 10.1016/j.tmaid.2022.102489.

7. Derya K.Y., Fatih B., Malal E.M., Salahuddin S.M., Asma A. Tracking the footsteps of *Francisella tularensis*: Bacteriological and serological monitoring in epidemic areas in Ankara. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 2023; 92:101921. DOI: 10.1016/j.cimid.2022.101921.

8. Vivekananda J., Kiel J.L. Anti-*Francisella tularensis* DNA aptamers detect tularemia antigen from different subspecies by Aptamer-Linked Immobilized Sorbent Assay. *Lab. Invest.* 2006; 86(6):610–8. DOI: 10.1038/labinvest.3700417.

9. Sorokin V.M., Vodop'yanov A.S., Tsimbalistova M.V., Pavlovich N.V. [Differentiation of the *Francisella tularensis* subspecies by the INDEL typing method]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2022; 99(2):193–202. DOI: 10.36233/0372-9311-189.

10. Tsimbalistova M.V., Sorokin V.M., Aronova N.V., Anisimova A.S., Pichurina N.L., Pasyukova N.I., Selyanskaya N.A., Vodop'yanov S.O., Vodop'yanov A.S., Pisanov R.V., Pavlovich N.V., Kovalev E.V., Noskov A.K. [Biological properties and genetic characteristics of *Francisella tularensis* strains isolated in the territory of the Rostov Region in 2020]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2021; (3):134–40. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-3-134-140.

11. Farlow J., Smith K.L., Wong J., Abrams M., Lytle M., Keim P. *Francisella tularensis* strain typing using multiple-locus, variable-number tandem repeat analysis. *J. Clin. Microbiol.* 2001; 39(9):3186–92. DOI: 10.1128/JCM.39.9.3186-3192.2001.

12. Johansson A., Farlow J., Larsson P., Dukerich M., Chambers E., Byström M., Fox J., Chu M., Forsman M., Sjöstedt A., Keim P. Worldwide genetic relationships among *Francisella tularensis* isolates determined by multiple-locus variable-number tandem repeat analysis. *J. Bacteriol.* 2004; 186(17):5808–18. DOI: 10.1128/JB.186.17.5808-5818.2004.

13. Johansson A., Göransson I., Larsson P., Sjöstedt A. Extensive allelic variation among *Francisella tularensis* strains in a short-sequence tandem repeat region. *J. Clin. Microbiol.* 2001; 39(9):3140–6. DOI: 10.1128/JCM.39.9.3140-3146.2001.

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; 48(1):140–4. DOI: 10.1111/j.1472-765-X.2008.02484.x.

15. Sorokin V.M., Pavlovich N.V., Tsimbalistova M.V., Vodop'yanov A.S., Pisanov R.V., Noskov A.K. [Molecular-genetic characteristics of *Francisella tularensis* strains during the 2022–2023 epizooty 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.

16. Zhou Z., Alikhan N.-F., Sergeant M.J., Luhmann N., Vaz C., Francisco A.P., Carriço J.A., Achtman M. GrapeTree: visualization of core genomic relationships among 100,000 bacterial pathogens. *Genome Res.* 2018; 28(9):1395–404. DOI: 10.1101/gr.232397.117.

17. Wilson E.B. Probable inference, the law of succession, and statistical inference. *J. Am. Stat. Assoc.* 1927; 22(158):209–12. DOI: 10.1080/01621459.1927.10502953.

Authors:

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

Gasanov G.A. Central Research Institute of Epidemiology. 3a Novogireevskaya St., Moscow, 111123, Russian Federation. E-mail: crie@pcr.ru.

Об авторах:

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

Гасанов Г.А. Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии. Российская Федерация, 111123, Москва, ул. Новогиреевская, 3а. E-mail: crie@pcr.ru.