

DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-54-59

УДК 616.98:579.852.11(571.1/6)

Е.В. Кравец, З.Ф. Дугаржапова, В.Е. Такайшвили, Т.А. Иванова, М.В. Чеснокова, С.В. Балахонов

ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ШТАММОВ *BACILLUS ANTHRACIS*, ИЗОЛИРОВАННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ СИБИРИ И ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА (1959–2013 гг.)*ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока», Иркутск, Российская Федерация*

Цель работы – изучение биологических и молекулярно-генетических свойств культур *Bacillus anthracis*, выделенных на курируемой территории Сибири и Дальнего Востока с 1959 по 2013 год. **Материалы и методы.** В исследование отобрано 39 музейных штаммов *B. anthracis*, изолированных из материалов различного происхождения в 11 субъектах Сибири и Дальнего Востока во время эпизоотических и эпидемических осложнений по сибирской язве и мониторинга почвенных очагов. Штаммы изучены по 16 культурально-морфологическим и 23 биохимическим тестам, вирулентности, плазмидному составу, 15 вариабельным VNTR- и 13 SNP-локусам. **Результаты и обсуждение.** Показана фенотипическая неоднородность и значительная генотипическая гетерогенность популяции штаммов сибиреязвенного микроба на курируемой территории. Типичными культурально-морфологическими и биохимическими свойствами обладают 87,2 % изолятов. По результатам молекулярно-генетического типирования выявлено 20 VNTR-профилей и три канонических SNP кластера, которые отнесены к двум глобальным генетическим линиям А и В. Полученные результаты могут служить в качестве генетического маркера при расследовании случаев сибирской язвы, возможных актов биотерроризма и оценке эпизоотической активности СНП на определенной административной территории. На основе систематизации и анализа сведений о происхождении, биологических и молекулярно-генетических свойств штаммов создана база данных «Биологические свойства штаммов *Bacillus anthracis*, изолированных на территории Сибири и Дальнего Востока», а также получено свидетельство о государственной регистрации. Структура базы данных пополняема и может быть расширена по результатам применения новых технологий и методов.

Ключевые слова: сибирская язва, *Bacillus anthracis*, Сибирь, Дальний Восток, биологические свойства, молекулярно-генетические свойства.

Корреспондирующий автор: Кравец Елена Владимировна, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.

Для цитирования: Кравец Е.В., Дугаржапова З.Ф., Такайшвили В.Е., Иванова Т.А., Чеснокова М.В., Балахонов С.В. Изучение биологических и молекулярно-генетических свойств штаммов *Bacillus anthracis*, изолированных на территории Сибири и Дальнего Востока (1959–2013 гг.). *Проблемы особо опасных инфекций.* 2018; 3:54–59. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-54-59

E.V. Kravets, Z.F. Dugarzhapova, V.E. Takaishvili, T.A. Ivanova, M.V. Chesnokova, S.V. Balakhonov

Biological and Molecular-Genetic Properties of *Bacillus anthracis* Strains Isolated in Siberia and Far East Regions (1959–2013)*Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East, Irkutsk, Russian Federation*

Abstract. Objective – study of biological and molecular-genetic properties of *Bacillus anthracis* cultures isolated in the supervised Siberian and Far Eastern territory between 1959 and 2013. **Materials and methods.** 39 *B. anthracis* strains isolated from different specimens in 11 Siberian and Far Eastern constituent entities during epizootic and epidemic complications in terms of anthrax and monitoring of the soil foci were studied. The strains were examined using 16 cultural-morphological and 23 biochemical tests, for virulence, plasmid content, 15 VNTR- and 13 SNP-loci. **Results and conclusions.** Phenotypic and considerable genotypic heterogeneity of *B. anthracis* strains found in the supervised territory was demonstrated. It was determined that 87.2 % of the isolates possessed typical cultural-morphological and biochemical properties. Twenty VNTR-profiles and three canonical SNP-clusters belonging to two global genetic branches A and B were revealed by means of molecular-genetic typing. The data can serve as a genetic marker in the investigation of anthrax cases, potential bioterrorist acts and evaluation of epizootic activity of stationary hazardous as regards anthrax areas in the specified administrative territory. The database «Biological properties of *Bacillus anthracis* strains isolated in Siberia and Far East» was generated on the basis of systematization and analysis of the data concerning the origin, biological, molecular-genetic properties of the isolates. The Certificate of State Registration was also received. The database structure is replenishable and can be expanded if new technologies and methods are applied.

Key words: anthrax, *Bacillus anthracis*, Siberia, Far East, biological properties, molecular-genetic features.

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

Corresponding author: Elena V. Kravets, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.

Citation: Kravets E.V., Dugarzhapova Z.F., Takaishvili V.E., Ivanova T.A., Chesnokova M.V., Balakhonov S.V. Biological and Molecular-Genetic Properties of *Bacillus anthracis* Strains Isolated in Siberia and Far East Regions (1959–2013). *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; 3:54–59. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-54-59

Received 12.04.18. Revised 18.05.18. Accepted 03.07.18.

Сибирская язва встречается во многих странах мира. Источником инфицирования людей обычно являются больные и павшие сельскохозяйственные животные (СХЖ) [8]. Основными факторами передачи сибиреязвенного микроба служат материалы животного происхождения – мясо, мясопродукты вынужденного убоя и трупы животных.

Болезнь на территории Сибири имеет давнюю историю. За период 1860–1967 гг. только в Восточной Сибири насчитывалось 1486 стационарно неблагополучных по сибирской язве пунктов (СНП). В статистических материалах «Состояние народного здоровья и организация медицинской помощи в СССР за 1921–1933 гг.» в Восточно-Сибирском регионе зарегистрировано 13769 случаев заболевания СХЖ и 228 – среди людей. В 1943–1967 гг. число заболевших животных снизилось в 2,4 раза (5640 голов), а людей возросло в 2,0 (454 человека). За 1985–2017 гг. зафиксировано 3303 случая сибирской язвы среди непривитых СХЖ в 132 СНП 12-ти субъектов Сибири и Дальнего Востока и 120 случаев заболевания людей в 35 СНП восьми субъектов этих же регионов страны [3]. Крупнейшая эпизоотия сибирской язвы среди оленей (2650 голов), повлекшая заболевания людей (36 чел.), произошла в 2016 г. на Ямале [7]. Вспышки и спорадические случаи болезни подтверждены выделением возбудителя – *Bacillus anthracis*.

В мировой практике также известно применение сибиреязвенного микроба в качестве оружия биотерроризма. Разработка и внедрение молекулярно-генетического типирования в лабораторную диагностику сибирской язвы позволили установить происхождение и источник распространения спор штамма сибиреязвенного микроба в 2001 г. при почтовых рассылках в США [10].

Таким образом, одним из актуальных направлений в эпидемиологическом надзоре за сибирской язвой в РФ является сбор и систематизация данных по биологическим и молекулярно-генетическим свойствам штаммов *B. anthracis* различных регионов с комплексной характеристикой изолируемых культур.

Цель работы – изучение биологических и молекулярно-генетических свойств культур *B. anthracis*, выделенных на курируемой территории Сибири и Дальнего Востока с 1959 по 2013 год.

Материалы и методы

В исследование взято 39 музейных штаммов *B. anthracis*, изолированных из клинического материала больных, продуктов животного происхождения и объектов окружающей среды во время вспышек, спорадических случаев сибирской язвы, мониторинга состояния СНП и сибиреязвенных захоронений в период с 1959 по 2013 год на территории 11 субъектов Сибири и Дальнего Востока (таблица). Обновлено и оформлены паспорта изученных штаммов.

Биологические свойства штаммов сибиреяз-

венного микроба изучали в соответствии с требованиями МУК 4.2.2413-08 «Лабораторная диагностика и обнаружение возбудителя сибирской язвы» и МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности». При работе с лабораторными животными руководствовались приложением к приказу № 755 МЗ СССР от 12.08.1977 г. «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных», Приказом № 708н от 23.08.2010 г. «Об утверждении Правил лабораторной практики» (утратил силу в 2016 г.) и Приказом № 199н от 01.04.2016 г. «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики».

Для VNTR-анализа использовалось 15 локусов тандемных повторов в геноме *B. anthracis* [11, 14]: *vrrA*, *vrrB1*, *vrrB2*, *vrrC1*, *vrrC2*, *CG3*, *pX01aat*, *pX02at*, *VNTR12*, *VNTR16*, *VNTR17*, *VNTR19*, *VNTR23*, *VNTR32* и *VNTR35*. Размер полученных ампликонов определяли методом капиллярного электрофореза на ДНК-анализаторе ABI Prism® 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США; Hitachi, Япония) путем сравнения с маркером молекулярного веса GeneScan™ 500 LIZ™ Size Standard (кат. № 4322682 Applied Biosystems, США). В SNP-анализе изучали 13 ранее описанных однонуклеотидных полиморфизмов (SNP-локусов) [14], условно обозначенных как ABr001, ABr002, ABr003, ABr004, ABr006, ABr007, ABr008, ABr009, BBr001, BBr002, BBr003, BBr004 и ABBr001. Детекцию однонуклеотидных полиморфизмов осуществляли методом прямого секвенирования при помощи набора SNaPshot Multiplex Kit (кат. № 4323159, Applied Biosystems, США) в соответствии с инструкцией по применению. Регистрацию ампликонов проводили на масс-спектрометре Microflex™ LT MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight, MALDI-ToF) (BrukerDaltonics, Германия).

Результаты и обсуждение

Изученные штаммы *B. anthracis* выделены из 14 проб объектов окружающей среды (почва – 13, экскременты лисицы – 1), 11 проб клинического материала больных и патологического материала умерших людей (карбункул – 4, кровь – 3, смыв с кожи – 2, по одной – рвотные массы и проба печени трупа), 14 проб материала от животных (мясо КРС – 8, материалы от больных и павших животных – 6: по три от крупного и мелкого рогатого скота). Наибольшее количество исследованных штаммов (30,7 %) изолированы на территории Республики Бурятия (РБ) с 2004 по 2009 год, что обусловлено выраженным эпизоотолого-эпидемиологическим неблагополучием республики, спорадическими случаями и вспышками сибирской язвы в 1999–2008 гг.

Способность спор сибиреязвенного микроба длительное время сохраняться в окружающей среде

Штаммы *B. anthracis*, выделенные на территории Сибири и Дальнего Востока 1959–2013 гг.*B. anthracis* strains isolated in the territory of Siberia and Far East between 1959 and 2013

№ штамма	Год выделения	Материал (объект) выделения	Место выделения
И-9	1959	Содержимое карбункула человека	Тувинская АССР, г. Кызыл
И-19	1959	Труп коровы	Читинская область, Борзинский район, с. Кайластуй
И-23	1959	Кожа барана	Читинская область, Борзинский район, к-з «Красный Великан»
И-25	1959	Ухо павшей телки	Читинская область, Борзинский район, база «Аршантуй», скотоимпорт
И-29	1961	Содержимое карбункула человека	Горно-Алтайская АО, Элекмонарский район, с. Чепош
И-34	1965	Кожа трупа человека	Хабаровский край, Вяземский район, с. Лермонтовка
И-35		Кровь человека	
И-36		Рвотные массы человека	
И-45	1966	Почва места падежа СХЖ	Тувинская АССР, Эрзинский район, окрестности озера Торе-Холь
И-47	1966	Экскременты лисицы	
И-63	1967	Почва скотомогильника	Красноярский край, Краснотуранский район, с. Байкалово
И-217	1981	Содержимое карбункула человека	Тюменская область, г. Тобольск, Тобольская биофабрика
И-271	1980	Почва с места стоянки стада оленей	Якутская АССР, Жиганский район, стоянка на р. Муна
И-274	1977	Содержимое карбункула человека	Приморский край, Яковлевский район, с. Ново-Сысоевка
И-275	1979	Печень трупа человека	Приморский край, Кавалеровский район, с. Устиновка
И-319	1983	Кровь человека	Омская область, г. Омск
И-321		Смыв с мяса	
И-323		Мясо	
И-356	2004	Почва силосной ямы	Р. Бурятия, Кяхтинский район, урочище Гуджертуй
И-357	2006	Почва пастбища	Р. Бурятия, Кяхтинский район, пастбище СНП Гуджертуй
И-358	2006	Почва	
И-359	2006	Почва	
И-360	2006	Смыв с кожи больного	Алтайский край, Краснощековский район, с. Маралиха
И-361	2007	Мясо КРС	Р. Бурятия, Тункинский район, п. Кырен
И-362	2008	Мясо КРС	Р. Бурятия, Баргузинский район, заимка Тогсохо
И-363		Биопроба мяса	
И-364		Ухо павшей овцы	
И-365		Ноздря павшей овцы	
И-366		Почва	
И-367	2008	Почва скотомогильника	Р. Бурятия, Кяхтинский район, СНП Гуджертуй
И-374	2009	Почва	Р. Бурятия, Баргузинский район, заимка Тогсохо
И-368	2010	Кровь человека	Омская область, Тюкалинский район, с. Павловка
И-369	2012	Почва с места выпаса КРС	Алтайский край, Быстроистокский район, с. Быстрый Исток
И-370	2012	Почва с подворья	Алтайский край, Целинный район, с. Дружба
И-371	2012	Биопроба мяса	Алтайский край, Быстроистокский район, с. Быстрый Исток
И-372		Мясо КРС	
И-373		Мясо КРС	
И-375	2013	Почва предполагаемого сибирезвонного захоронения	Приморский край, Ханкайский район, с. Астраханка

подтверждена обнаружением культуры *B. anthracis* в пробах почвенных очагов сибирской язвы трех субъектов Сибири и Дальнего Востока. В Республике Бурятия в течение пяти лет возбудитель сибирской язвы выделяли из почвы урочища Гуджертуй Кяхтинского района, после эпизоотии с эпидемическими осложнениями, произошедшей в 1999 г. [2]. Из почвы скотомогильника, перенесенного из зоны затопления ложа водохранилища Красноярской ГЭС, изолирована культура *B. anthracis* (И-63), которая сохранила свои биологические свойства в пес-

чаной материнской породе даже спустя 19 лет после вспышки, зарегистрированной в 1947 г. Изучение данного штамма в 2017 г. показало, что его вирулентность для белых мышей ($LD_{50}=26,27$) за 70 лет не изменилась [3]. В Приморском крае из пробы почвы предполагаемого сибирезвонного захоронения СНП Астраханка выделен авирулентный штамм с атипичными свойствами (И-375).

В материалах животного происхождения культуры *B. anthracis* выделяли как бактериологическим методом, так и через биопробу. Метод биопробы

позволяет восстановить основные биологические свойства возбудителя сибирской язвы и провести достоверную идентификацию выделенной культуры. Например, во время эпизоотии 2012 г. в с. Быстрый Исток Быстроистокского района Алтайского края из пробы мяса вынужденно забитого бычка путем прямого посева методом отпечатков на агар Хоттингера и заражением биопробных белых мышей взвесью нативного материала выделены две субкультуры *B. anthracis*. По результатам трех экспресс-методов индикации и десяти основных идентификационных бактериологических тестов лабораторной диагностики, выделенный путем прямого посева штамм (И-372) не имел генов, локализованных в составе обеих плазмид вирулентности (pXO1-/pXO2-), обладал неспецифическим свечением при люминесцентной микроскопии (++) и нехарактерными морфологическими и культуральными свойствами. У штамма, выделенного биопробным методом (И-373), отмечались типичные культурально-морфологические свойства и классический плазмидный набор.

Предполагаемыми причинами вышеизложенного может являться низкая эффективность амплификации генов-мишеней из-за большого количества ингибиторов полимеразной цепной реакции (ПЦР) в исследуемом материале (белковый фон, сопутствующая микрофлора, автолиз мяса в процессе длительной транспортировки и т.п.).

Атипичными культурально-морфологическими и молекулярно-генетическими свойствами обладают пять штаммов: И-275, И-323, И-369, И-370, И-375. Все атипичные штаммы объединяет нетипичный рост на плотной (сглаженная «львиная грива») и жидкой (мутный бульон, без выраженного осадка в виде «комочка ваты») питательных средах, недостаточный (со вторичным ростом в зоне воздействия) лизис видоспецифичным бактериофагом («Гамма А-26»), переменная биохимическая активность, отсутствие капсулы *in vivo* и *in vitro*, а также отсутствие патогенности для белых мышей и морских свинок, отрицательный результат ПЦР на наличие генов плазмид вирулентности.

Остальные 34 штамма демонстрируют типичные для сибиреязвенного микроба свойства с незначительными вариациями – некоторые свежесделанные почвенные изоляты кроме осадка в виде «комочка ваты» дают помутнение при росте в бульоне Хоттингера, на плотной среде диссоциируют и проявляют переменные культуральные признаки (например, наличие лецитиназной или гемолитической активности, отсутствие пенициллиназной активности). Биохимическая активность большинства штаммов практически одинакова и типична.

По плазмидному профилю подавляющее большинство штаммов (76,9 %) содержат гены обеих плазмид вирулентности (pXO1+/pXO2+), четыре штамма – И-25, И-47, И-217, И-356 – только плазмиды токсинообразования (pXO1+/pXO2-), пять бесплазмидных (pXO1-/pXO2-) атипичных штамма,

pXO2+ моноплазмидных штаммов не выявлено.

Большинство изученных штаммов, за исключением девяти (25 %, 5 атипичных и 4 моноплазмидных), патогенны для белых мышей и морских свинок. У штаммов Сибирского и Дальневосточного регионов, в связи с длительными сроками их хранения в коллекционных фондах института, отмечается умеренная вирулентность (LD₅₀ 20–100 спор) для белых мышей по Э.Н.Шляхову и Е.В.Груз [6].

VNTR-анализ 30 штаммов *B. anthracis*, выделенных на территории Сибири и Дальнего Востока (1959–2010 гг.) и штаммов *B. anthracis* СТИ-1, Ihtiman, Stern 34F₂, ВНИИВВиМ 55 из музея живых культур института показал, что, в целом, популяция изучаемых штаммов весьма гетерогенна. Идентифицированы 20 VNTR-профилей, при этом 12 (60 %) из них уникальны – встречаются только у одного штамма в выборке. Двадцать профилей группируются в восемь кластеров, которые формируют три главных клоновых комплекса. Штаммы, изолированные во время и после эпизоотий с эпидемическими осложнениями, образуют отдельные кластеры, самый крупный из них включает шесть изолятов из Республики Бурятия (2008, 2009 гг.). Аллельный полиморфизм VNTR-локусов варьировал в широких пределах – от 0,33 до 0,76. Три локуса (pXO2at, VaVNTR16 и VaVNTR17) демонстрировали наибольший полиморфизм (0,76, 0,71 и 0,66 соответственно). Дискриминирующая способность 15-локусного VNTR-анализа составила 0,957. Сравнение полученных результатов с некоторыми мировыми данными [9, 11, 12, 13, 14] выявило, что возбудитель *B. anthracis*, выделенный в Сибири и на Дальнем Востоке, относится к двум глобальным генетическим линиям – А и В. Большая часть генотипов (85 %) входит в группу А (подгруппы А1 и А3). К группе В (подгруппе В1) отнесено три варианта генотипа десяти штаммов, выделенных в 2008–2012 гг. в Республике Бурятия, Омской области, Алтайском крае и в 1961 г. на территории Республики Алтай. Ранее описано, что генотипы штаммов сибиреязвенного микроба из Республики Бурятия и Омской области максимально близки к генотипу G17 штаммов из Грузии и Республики Дагестан [5]. Семь наборов ампликонов отличаются от известных генотипов по одному или более локусам и не встречаются в литературных источниках – изоляты из Алтайского края (2012), Республики Бурятия (2004, 2006) и штаммы *B. anthracis* Ihtiman, Stern 34F₂, 55 ВНИИВВиМ из музея живых культур института.

Результаты, полученные методом масс-спектрометрического анализа и прямым секвенированием, согласуются с результатами MLVA-генотипирования – выявлено основное разделение на ветви А и В. Изученные штаммы преимущественно относятся к трем каноническим SNP кластерам А.Br.001/002 (Республики Бурятия, Тыва, Саха (Якутия), Омский, Забайкальский и Хабаровский края), А.Br.008/009 (Республика Бурятия, Красноярский и Приморский

края, Тюменская область) и В.Вг.001/002 (Республики Бурятия и Алтай, Алтайский и Омский края), при этом распределение штаммов по кластерам, примерно, одинаковое. Примечательно, что штаммы, выделенные на территории Республики Бурятия, представлены во всех трех кластерах, но преимущественно в В.Вг.001/002, к которому относятся и изоляты из ЯНАО 2016 г. [7].

Ранее штаммы *B. anthracis* 55 ВНИИВВиМ и СТИ-1 были отнесены к одному генотипу по 18 вариабельным локусам хромосомной локализации [4], однако, примененный нами расширенный протокол исследования 28 локусов сибиреязвенного микроба позволил дифференцировать их [1], что еще раз доказывает необходимость применения расширенного протокола типирования *B. anthracis*.

Таким образом, изучение 39 штаммов, выделенных в 11 субъектах Сибири и Дальнего Востока (1959–2013 гг.), показало незначительную вариабельность их биологических и выраженную гетерогенность молекулярно-генетических свойств. Типичными культурально-морфологическими свойствами обладают 87,2% изолятов. Атипичность 12,8% штаммов проявляется в нехарактерных культурально-морфологических свойствах и отсутствии генов плазмид вирулентности. Все штаммы *B. anthracis* Сибирского и Дальневосточного регионов отнесены к двум глобальным генетическим линиям А и В.

На основе полученных и систематизированных результатов исследований создана база данных «Биологические свойства штаммов *Bacillus anthracis*, изолированных на территории Сибири и Дальнего Востока» (свидетельство о государственной регистрации № 2016620321 в Реестре баз данных от 10.03.2016 г. Федеральной службы по интеллектуальной собственности), состоящая из двух условных модулей. Первый модуль собран из восьми блоков, которые включают данные о происхождении штаммов (номер штамма, вид материала, место и дата выделения, метод выделения, кем и где выделен) и наименования основных индикаторных и идентификационных тестов лабораторной диагностики (обнаружение методом ПЦР фрагментов структурных генов плазмид токсин- (*pXO1*) и капсулообразования (*pXO2*); результаты бактериоскопии и люминесцентной микроскопии; культурально-морфологические свойства по 16 идентификационным тестам; показатели LD_{50} для белых мышей и морских свинок и оценка степени вирулентности; биохимические свойства по 23 дополнительным тестам). Второй модуль содержит молекулярно-генетическую характеристику штаммов *B. anthracis*, изученных методами MLVA и прямого секвенирования по 15 вариабельным VNTR- и 13 SNP-локусам.

Структура базы данных пополняема и может быть расширена по результатам применения новых технологий и методов. Сведения из базы могут служить в качестве генетического маркера при рассле-

довании случаев сибирской язвы, возможных актов биотерроризма и оценке эпизоотической активности СНП на определенной административной территории с использованием ГИС-технологий. Внедрение базы будет способствовать информационному обеспечению при идентификации культур для и совершенствования эпизоотологического и эпидемиологического надзора за сибирской язвой.

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

Список литературы

1. Афанасьев М.В., Кравец Е.В., Дугаржапова З.Ф., Такайшвили В.Е., Половинкина В.С., Балахонов С.В. Сравнительный мультилокусный VNTR и SNP анализ штаммов *Bacillus anthracis*. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2014; 2: 36–40.
2. Дугаржапова З.Ф., Родзиковский А.В., Чеснокова М.В., Балахонов С.В., Болопинов А.Б., Ханжарев С.С., Болопинова Н.П., Намноева Л.К., Шобоева Р.С., Юзвик Л.Н., Лауль З.Л., Мосорова А. В. Эпизоотолого-эпидемиологический анализ ситуации по сибирской язве в Республике Бурятия (1995–2008 гг.). *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2010; 6:11–5.
3. Дугаржапова З.Ф., Чеснокова М.В., Гольдапель Э.Г., Косилко С.А., Балахонов С.В. Сибирская язва в азиатской части Российской Федерации. Сообщение 2. Современная эпизоотолого-эпидемиологическая ситуация в Сибири и на Дальнем Востоке (1985–2015 гг.). *Проблемы особо опасных инфекций*. 2017; 1:59–64. DOI: 10.21055/0370-1069-2017-1-59-64.
4. Кузнецовский А.В., Мигова Г.В., Федоров Ю.Н., Кибирев Я.А., Воробьев А.А., Дармов И.В., Борисевич И.В., Савиных А.В., Горин О.В. Генетическое типирование вакцинных штаммов *Bacillus anthracis* методом мультилокусного VNTR-анализа. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2009; 4:13–8.
5. Куличенко А.Н., редактор. Сибирская язва на Северном Кавказе. Майкоп: Качество; 2016. 198 с.
6. Маринин Л.И., Дятлов И.А., редакторы. Методы изучения биологических свойств возбудителя сибирской язвы. Учебно-методическое пособие. М.: ЗАО МП «ГИГИЕНА»; 2009. 304 с.
7. Попова А.Ю., Куличенко А.Н., редакторы. Опыт ликвидации вспышки сибирской язвы на Ямале в 2016 году. Ижевск: ООО «Принт-2»; 2017. 313 с. DOI: 10.23648/PRNT.2184.
8. Черкасский Б.Л. Эпидемиология и профилактика сибирской язвы. М.: ИНТЕРСЭН; 2002. 384 с.
9. Aikembayev A.M., Lukhnova L., Temiraliyeva G., Meka-Mechenko T., Pazylov Y., Zakaryan S., Denisov G., Easterday W.R., Van Ert M.N., Keim P., Francesconi S.C., Blackburn J.K., Hugh-Jones M., Hadfield T. historical distribution and molecular diversity of *Bacillus anthracis*, Kazakhstan. *Emerg. Infect. Dis.* 2010; 16(5):789–96. DOI: 10.3201/eid1605.091427.
10. Hoffmaster A.R., Fitzgerald C.C., Ribot E., Mayer L. W., Popovic T. Molecular subtyping of *Bacillus anthracis* and the 2001 bioterrorism-associated anthrax outbreak, United States. *Emerg. Infect. Dis.* 2002; 8(10):1111–7. DOI: 10.3201/eid810.020394.
11. Keim P., Price L.B., Klevytska A.M., Smith K.L., Schupp J.M., Okinawa R., Jackson P.J., Hugh-Jones M.E. Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis reveals genetic relationships within *Bacillus anthracis*. *J. Bacter.* 2000; 182(10):2928–36. DOI: 10.1128/JB.182.10.2928-2936.2000.
12. Okutani A., Tungalag H., Boldbaatar B., Yamada A., Tserenrorov D., Otgonchimeg I., Erdenebat A., Otgonbaatar D., Inoue S. Molecular epidemiological study of *Bacillus anthracis* isolated in Mongolia by multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis for 8 loci (MLVA-8). *Jpn. J. Infect. Dis.* 2011; 64(4):345–8.
13. Simonson T.S., Okinaka R.T., Wang B., Easterday W.R., Huynh L., U'Ren J.M., Dukerich M., Zanecki S.R., Kenefic L.J., Beaudry J., Schupp J.M., Pearson T., Wagner D.M., Hoffmaster A., Ravel J., Keim P. *Bacillus anthracis* in China and its relationship to worldwide lineages. *BMC Microbiol.* 2009; 9:71 DOI: 10.1186/1471-2180-9-71.
14. Van Ert M.N., Easterday W.R., Huynh L.Y., Okinaka R.T., Hugh-Jones M.E., Bolecki S.R., Pearson T., Simonson T.S., U'Ren J.M., Kachur S.M., Leadem-Dougherty R.R., Rhoton S.D., Zinser G., Farlow J., Coker P.R., Smith K.L., Wang B., Kenefic L.J., Fraser-Liggett C.M., Wagner D.M., Keim P. Global genetic population structure of *Bacillus anthracis*. *PLoS ONE*. 2007; 2(5):e461. DOI: 10.1371/journal.pone.0000461.

References

1. Afanas'ev M.V., Kravets E.V., Dugarzhapova Z.F., Takaiashvili V.E., Polovinkina V.S., Balakhonov S.V. [Comparative multi-locus VNTR- and SNP-assays of *Bacillus anthracis* vaccine strains]. *Molekulyarnaya Genetika Mikrobiologiya i Virusologiya*. 2014; 2:36–40.
2. Dugarzhapova Z.F., Rodzikovsky A.V., Chesnokova M.V., Balakhonov S.V., Boloshinov A.B., Khankhareev S.S., Boloshinova N.P., Namnoeva L.K., Shoboeva R.S., Yuzvik L.N., Laul' Z.L., Mosorova A.V. [Epizootiological-epidemiological analysis of the situation on anthrax in the Republic of Buryatia (1995–2008)]. *Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni*. 2010; 6:11–5.
3. Dugarzhapova Z.F., Chesnokova M.V., Gol'dapel' E.G., Kosilko S.A., Balakhonov S.V. [Anthrax in the Asian part of the Russian Federation. Communication 2. Up-to-date epizootiological and epidemiological situation in Siberia and at the Far East (1985–2016)]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2017; 1:59–64. DOI:10.21055/0370-1069-2017-1-59-64.
4. Kuznetsovsky A.V., Migova G.V., Fedorov Yu.N., Kibirev Ya.A., Vorob'ev A.A., Darmov I.V., Borisevich I.V., Savinykh A.V., Gorin O.V. [Genetic typing of *Bacillus anthracis* vaccine strains using multilocus VNTR-analysis]. *Molekulyarnaya Genetika Mikrobiologiya i Virusologiya*. 2009; 4:13–8.
5. Kulichenko A.N., editor. [Anthrax in North Caucasus]. Maikop: "Kachestvo"; 2016. 198 p.
6. Marinin L.I., Dyatlov I.A., editors. [Methods for Studies of Biological Properties of Anthrax Agent (Textbook)]. Moscow: "GIGIENA" CJSC; 2009. 304 p.
7. Popova A.Yu., Kulichenko A.N., editors. [Experience in Anthrax Outbreak Eradication in Yamal in 2016]. Izhevsk: "Print 2" Ltd.; 2017. 313 p.
8. Cherkassky B.L. [Epidemiology and Prophylaxis of Anthrax]. Moscow: "INTERSEN"; 2002. 384 p.
9. Aikembayev A.M., Lukhnova L., Temiraliyeva G., Meka-Mechenko T., Pazylov Y., Zakaryan S., Denissov G., Easterday W.R., Van Ert M.N., Keim P., Francesconi S.C., Blackburn J.K., Hugh-Jones M., Hadfield T. historical distribution and molecular diversity of *Bacillus anthracis*, Kazakhstan. *Emerg. Infect. Dis.* 2010; 16(5):789–96. DOI: 10.3201/eid1605.091427.
10. Hoffmaster A.R., Fitzgerald C.C., Ribot E., Mayer L. W., Popovic T. Molecular subtyping of *Bacillus anthracis* and the 2001 bioterrorism-associated anthrax outbreak, United States. *Emerg. Infect. Dis.* 2002; 8(10):1111–7. DOI: 10.3201/eid0810.020394.
11. Keim P., Price L.B., Klevytska A.M., Smith K.L., Schupp J.M., Okinawa R., Jackson P.J., Hugh-Jones M.E. Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis reveals genetic relationships within *Bacillus anthracis*. *J. Bacter.* 2000; 182(10):2928–36. DOI: 10.1128/JB.182.10.2928-2936.2000.
12. Okutani A., Tungalag H., Boldbaatar B., Yamada A., Tserennorov D., Otgonchimeg I., Erdenebat A., Otgonbaatar D., Inoue S. Molecular epidemiological study of *Bacillus anthracis* isolated in Mongolia by multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis for 8 loci (MLVA-8). *Jpn. J. Infect. Dis.* 2011; 64(4):345–8.
13. Simonson T.S., Okinaka R.T., Wang B., Easterday W.R., Huynh L., U'Ren J.M., Dukerich M., Zanecki S.R., Kenefic L.J., Beaudry J., Schupp J.M., Pearson T., Wagner D.M., Hoffmaster A., Ravel J., Keim P. *Bacillus anthracis* in China and its relationship to worldwide lineages. *BMC Microbiol.* 2009; 9:71 DOI: 10.1186/1471-2180-9-71.
14. Van Ert M.N., Easterday W.R., Huynh L.Y., Okinaka R.T., Hugh-Jones M.E., Ravel J., Zanecki S.R., Pearson T., Simonson T.S., U'Ren J.M., Kachur S.M., Leadem-Dougherty R.R., Rhoton S.D., Zinser G., Farlow J., Coker P.R., Smith K.L., Wang B., Kenefic L.J., Fraser-Liggott C.M., Wagner D.M., Keim P. Global genetic population structure of *Bacillus anthracis*. *PLoS ONE*. 2007; 2(5):e461. DOI: 10.1371/journal.pone.0000461.

Authors:

Kravets E.V., Dugarzhapova Z.F., Takaiashvili V.E., Ivanova T.A., Chesnokova M.V., Balakhonov S.V. Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East. 78, Trilissera St., Irkutsk, 664047, Russian Federation. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.

Об авторах:

Кравец Е.В., Дугаржапова З.Ф., Такайшвили В.Е., Иванова Т.А., Чеснокова М.В., Балахонов С.В. Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока. Российская Федерация, 664047, Иркутск, ул. Трилиссера, 78. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.

Поступила 12.04.18.

Отправлена на доработку 18.05.18.

Принята к публ. 03.07.18.