DOI: 10.20953/2500-1027-2018-2-57-63

Бактериология, 2018, том 3, №2, с. 57–63
Bacteriology, 2018, volume 3, No 2, p. 57–63

Филогенетика, эволюция и филогеография *Bacillus anthracis*

Е.И.Еременко, С.В.Писаренко, Л.Ю.Аксенова, А.Г.Рязанова, А.М.Жиров, О.В.Семенова, О.В.Бобрышева, Д.А.Ковалев, А.Н.Куличенко

ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора, Ставрополь, Российская Федерация

Цель. Эволюционный и филогеографический анализ штаммов *Bacillus anthracis*, выделенных на территории России и некоторых сопредельных стран.
Материалы и методы. Полные геномные последовательности 20 секвенированных в Ставропольском противочумном институте штаммов и 161 штамма, полученных из GenBank. Множественное выравнивание геномов 181 штамма *B. anthracis* и поиск SNP в коровом геноме провели с помощью программы REALPHY 1.10. Для байесовского MCMC филогенетического анализа молекулярных последовательностей и модели General Time Reversible (GTR) использовали программный пакет BEAST. Оценку результатов анализа и статистической достоверности выполнили в программе Tracer v1.6. Визуализацию полученных результатов провели в программах Figtree v1.4 (филогенетическое дерево) и Photoshop CC.
Результаты. Подтверждено высокое молекулярное разнообразие штаммов, выделенных на территории России и ряда сопредельных стран. В филогенетической структуре глобальной популяции *B. anthracis* эти штаммы относятся к трансевразийской группе, субкладе Aust94 основной клады А и составляют кластер в основной кладе В. Хронология формирования главных филогенетических линий возбудителя сибирской язвы позволяет впервые постулировать предположение о происхождении и распространении *B. anthracis* с территории азиатской части России.
Заключение. Предполагается в дальнейшем определить региональные генетические маркеры, анализ которых в сопоставлении с соответствующей базой данных даст возможность в ходе эпидемиологического расследования установить происхождение штаммов, вызвавших вспышку сибирской язвы.
Ключевые слова: Bacillus anthracis, филогенетическая структура, филогеография, эволюция

Для цитирования: Еременко Е.И., Писаренко С.В., Аксенова Л.Ю., Рязанова А.Г., Жиров А.М., Семенова О.В., Бобрышева О.В., Ковалев Д.А., Куличенко А.Н. Филогенетика, эволюция и филогеография *Bacillus anthracis*. Бактериология. 2018; 3(2): 57–63. DOI: 10.20953/2500-1027-2018-2-57-63

Phylogenetics, evolution and phylogeography of *Bacillus anthracis*

E.I.Eremenko, S.V.Pisarenko, L.Yu.Aksenova, A.G.Ryazanova, A.M.Zhirov, O.V.Semenova, O.V.Bobrysheva, D.A.Kovalev, A.N.Kulichenko

Stavropol Plague Control Research Institute Rospotrebnadzor, Stavropol, Russian Federation

Objective. Evolutionary and phylogeographical analysis of the strains of *B. anthracis* isolated from territories of Russia and some adjacent countries.
Materials and methods. The full genomic sequences of 20 strains of *B. anthracis* sequenced in Stavropol Plague Control Research Institute and of 161 strains from the GenBank database. Multiple alignement of 181 *B. anthracis* strains' genomes and core genome SNP search were performed using REALPHY 1.10. program. For Baesian MCMC phylogenetic analysis of molecular sequences and General Time Reversible (GTR) model program pack BEAST was used. Estimation of analysis results and statistic reliability were performed using Tracer v1.6. program. Visualization of results by Figtree v1.4 (phylogenetic tree) and Photoshop CC programs was achieved.
Results. The high molecular variety of strains isolated in Russia and some adjacent countries is confirmed. In phylogenetic structure of global population of *B. anthracis* those strains are mainly belonging to the trans-euroasian group and Aust94 subclade of the main clade of A and also forming a small cluster in a main B. The chronology of formation of the main phylogenetic lines of the causative agent of anthrax is established and the assumption of initial origin and distribution of *B. anthracis* from the territory of an Asian part of Russia is postulated for the first time.
Conclusions. It is supposed to define further regional genetic markers which analysis in comparison to the corresponding database will give the chance during epidemiological investigation to establish origin of the strains which have caused the outbreak of anthrax.
Keywords: Bacillus anthracis, phylogenetic structure, phylogeography, evolution

For citation: Eremenko E.I., Pisarenko S.V., Aksenova L.Yu., Ryazanova A.G., Zhirov A.M., Semenova O.V., Bobrysheva O.V., Kovalev D.A., Kulichenko A.N. Phylogenetics, evolution and phylogeography of *Bacillus anthracis*. Bacteriology. 2018; 3(2): 57–63. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2018-2-57-63

Для корреспонденции:

Еременко Евгений Иванович, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории сибирской язвы ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора

Адрес: 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13-15
Телефон: (865-2) 26-0312
E-mail: ejer@mail.ru

Статья поступила 12.04.2018 г., принята к печати 27.06.2018 г.

For correspondence:

Evgeniy I. Eremenko, ScD (Medicine), professor, chief researcher anthrax laboratory Stavropol Plague Control Research Institute

Address: 13-15 Sovetskaya str., Stavropol, 355035, Russian Federation
Phone: (865-2) 26-0312
E-mail: ejer@mail.ru

The article was received 12.04.2018, accepted for publication 27.06.2018

Возбудитель сибирской язвы *Bacillus anthracis* вызывает особо опасную зоонозную инфекцию и является агентом биологического оружия и терроризма. Сибирская язва глобально распространена и представляет проблему для ветеринарии и здравоохранения многих стран, включая Россию. Обширная территория, исторические факты прохождения через нее важных торговых путей и проявлений сибирской язвы предполагают достаточно высокий уровень молекулярного разнообразия штаммов *B. anthracis*, выделенных на территории России, установленный предыдущими работами по MLVA-генотипированию [1–3].

Филогенетическая структура глобальной популяции *B. anthracis*, полученная на основе молекулярного типирования методами MLVA и SNP-анализа, представлена тремя основными генетическими линиями – A, B и C с несколькими MLVA кластерами и 12 «каноническими» SNP группами [4–6]. Выделенные на территории России и ряда сопредельных стран штаммы *B. anthracis* входят в MLVA кластеры A1.a, A3.a, A4 линии A и B1 линии B [2, 3], но положение в структуре глобальной популяции на основе данных полногеномного секвенирования определено только для 10 штаммов [7]. В зарубежных работах, посвященных филогенетике и филогеографии *B. anthracis*, упоминаются только 3 вакцинных штамма российского происхождения.

Эволюция возбудителя сибирской язвы определяется изменениями генома, происходящими, прежде всего, в процессе инфекции в организме животных за счет мутационных событий [8]. Замены нуклеотидов имеют самую низкую скорость возникновения среди других мутаций, мало подвержены гомоплазии и эволюционно стабильны, поэтому SNP-анализ на основе полногеномного секвенирования стал основным методом изучения эволюции *B. anthracis*.

Историю эволюции и распределения штаммов возбудителя сибирской язвы можно представить на основе метода филогеографии, которую определяют как область исследования, касающуюся принципов и процессов, управляющих географическими распределениями генеалогических линий, особенно в пределах и среди близкородственных видов [9]. Ввиду отсутствия данных об эволюции и филогеографии штаммов возбудителя сибирской язвы российского происхождения проведение таких исследований представляется актуальным.

Целью данной работы был эволюционный и филогеографический анализ штаммов *B. anthracis*, выделенных на территории России и некоторых сопредельных стран.

Материалы и методы

Всего в работе использовали 181 штамм *B. anthracis*. Геномы 20 штаммов были секвенированы во ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора – СтавНИПЧИ (таблица). Данные о геномных последовательностях остальных 161 штамма получены из международной базы данных GenBank. Полные геномные последовательности двух штаммов, *Bacillus cereus* ATCC14579 и *Bacillus thuringiensis* 97-27, были использованы в качестве внешней группы. Эволюционно-филогеографический анализ на основе данных SNP полных геномов выполнен с использованием программного пакета BEAST методом байесовского MCMC филогенетического анализа молекулярных последовательностей и модели General Time Reversible (GTR) [10]. Множественное выравнивание геномов 181 штамма *B. anthracis* и поиск SNP в коровом геноме проводили с помощью программы REALPHY 1.10 [11]. Поиск оптимальной модели замещения нуклеотидов проводили путем оценки работы 88 различных моделей замещения на матрице корового генома в программе jModelTest 2.1.1 [12].

Оценка результатов анализа и проверка статистической достоверности выполнена в программе Tracer v1.6. Визуализация полученных результатов выполнена с помощью программ Figtree v1.4 (филогенетическое дерево) и Photoshop CC.

Результаты и обсуждение

Коровый геном 181 штамма *B. anthracis* состоит из 2765322 п.н., общее количество SNP, обнаруженных в коровом геноме, составляет 6041.

Дендрограмма кластерного анализа коровых SNP 181 штамма *B. anthracis* приведена на рисунке 1. Она отражает принятую структуру глобальной популяции *B. anthracis* с делением на три основные генетические линии (A, B, C) и 12 групп canSNP. Штаммы из коллекции СтавНИПЧИ распределялись в 5 кластеров линии A и 1 кластер линии B. Штамм

Таблица. **Штаммы *B. anthracis* из коллекции СтавНИПЧИ, использованные в работе**

№№	Штамм *B. anthracis*	Место выделения	Год выделения	Источник выделения
1	1051/35	Россия, г. Уфа	1935	Труп лошади
2	12/16	Россия, Республика Дагестан	1957	Человек
3	14/41	Россия, Республика Дагестан	1963	Человек
4	1	Украина, г. Львов	1967	Человек
5	1(СО)	Россия, РСО-А	1968	Труп КРС
6	228/269	Россия, КБР	1977	Блохи горного суслика
7	312/163	Азербайджан	1978	Почва
8	140П	Россия, Тверская область	1979	Почва
9	И-271	Россия, Якутская АССР	1980	Почва
10	737/10	Грузия	1984	Человек
11	1266	Россия, Ставропольский край	2006	Почва
12	1269	Россия, РСО-А	2007	Человек
13	1284	Россия, г. Омск	2010	Пельмени
14	1307	Россия, Ставропольский край	2013	Человек
15	1322	Россия, Ставропольский край	2013	Труп овцы
16	1342/12	Россия, Ямало-Ненецкий автономный округ	2016	Человек
17	1339/24	Россия, Ямало-Ненецкий автономный округ	2016	Труп оленя
18	140Псар-б/м	Россия, г. Ставрополь, Научно-исследовательский противочумный институт Кавказа и Закавказья	1990	Производный от штамма 140П
19	81/1	Россия, Ставропольский край	1969	Человек
20	СТИ-1	СССР, Санитарно-технический институт (СТИ)	1940	Вакцинный штамм

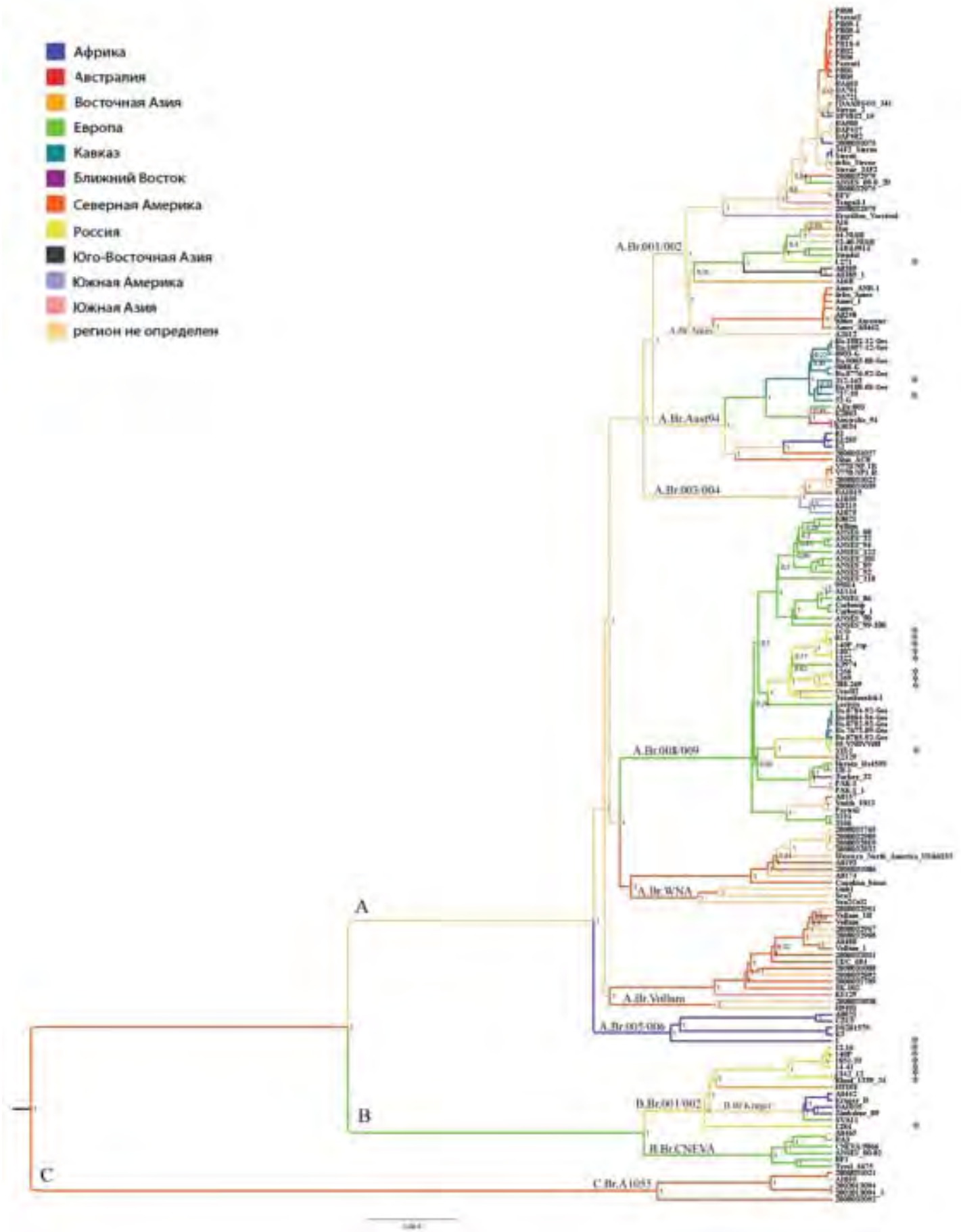

Рис. 1. **Филогенетическое дерево 181 изолята *B. anthracis*. В узлах указаны индексы статистической достоверности вероятности расхождения ветвей дерева.** Символом * отмечены штаммы, геномы которых были секвенированы в ходе выполнения данного исследования.

И-271, выделенный в Якутии, единственный в группе A.Br.001/002, кластеризовался со штаммами, происходящими из Восточной, Южной, Юго-Восточной Азии и Европы. Штаммы, выделенные в Грузии и Азербайджане, входили наряду с другими грузинскими штаммами и штаммами из Индии и Австралии в группу A.Br.Aust94. Семь штаммов, выделенных на территории европейской части России, входили в один кластер с российским вакцинным штаммом первой вакцины Ценковского (Tziankovskii-I), китайским вакцинным штаммом Cvac02 и штаммом из Словакии. В другой кластер, также принадлежащий к группе A.Br.008/009, вместе с грузинскими штаммами входили два российских вакцинных штамма, СТИ-1 и 55-ВНИИВИМ. Семь штаммов, выделенных в Сибири и Дагестане, и корейский штамм HYU01 входили вместе с субкластером B.Br.Kruger в группу B.Br.001/002.

С целью оценить временные рамки формирования генотипов и подгенотипов мы осуществили датировку филогенетического дерева. Для датировки были использованы известные данные о времени изоляции штаммов *B. anthracis*. Нуклеотидные последовательности штаммов, для которых нам не удалось достоверно установить год изоляции, были исключены из матрицы выравнивания корового генома и в дальнейшем анализе не использовались. Из дальнейшего анализа также были исключены последовательности вакцинных и лабораторных штаммов.

Провели эволюционно-филогеографический анализ 97 природных штаммов *B. anthracis*, включая 17 из коллекции СтавНИПЧИ, секвенированных в институте (таблица, №№1–17).

Распределение штаммов возбудителя сибирской язвы в масштабах планеты связано с двумя процессами. Первым является историческое расселение и миграция людей. Второй процесс связан с развитием торговли, в частности, продуктами животноводства, контаминированными спорами *B. anthracis*, между отдаленными географическими областями [4]. Сегодняшняя привязка некоторых MLVA-генотипов *B. anthracis* к определенным регионам была продемонстрирована во многих работах, но проследить эволюционную историю возбудителя сибирской язвы, в частности в Северной Америке, удалось только на основе анализа нескольких тысяч SNP в геномах сотен штаммов, однако разными авторами получены противоречивые данные [13, 14].

Сопоставив данные о географических регионах изоляции штаммов, мы попытались описать историческую модель распространения возбудителя.

По данным проведенного анализа, первая дивергенция предков штаммов произошла в середине X тысячелетия (9643 г.) до нашей эры, завершившись формированием генетической линии C и предковой ветви линий A и B (рис. 2).

Полученные результаты не противоречат моделям «молекулярных часов», основанным на синонимичных заменах в масштабах всего генома, которые показывают, что в среднем голоцене (6127–3064 гг. до н.э.) произошло массивное распространение линии A [14], хотя по другим данным это произошло в более раннем периоде [13].

Вторая дивергенция произошла в середине V тысячелетия (4643 г.) до н.э. и завершилась формированием линий A и B, дальнейшая эволюция которых происходила параллельно. В начале X века до н.э. произошло формирование группы A.Br.005/006, штаммы которой были выделены в странах Африки.

В конце VIII века до н.э. сформировалась подгруппа A.Br.Vollum. В нашем исследовании она представлена штаммами, выделенными в Пакистане и США.

В середине III столетия до н.э. произошло разделение линии B с формированием двух групп: B.Br.CNEVA – штаммы из Франции, Австрии, Германии и группы B.Br.001/002, штаммы которой были выделены преимущественно в России, а также субкластера B.Br.Kruger. География изоляции штаммов этой линии довольно обширна: Башкирия (1935), Дагестан (1957, 1963), Тверская область (1979), Ямало-Ненецкий автономный округ (2016), а также Южная Корея (2009).

В середине II в. до н.э. сформировалась группа A.Br.008/009. Штаммы этой линии были изолированы в Европе (Англия, Франция, Германия, Италия, Греция), в странах Азии (Турция, Пакистан), на Кавказе (Россия, Грузия) и в США.

В то же время (середина II в. до н.э.) произошло формирование группы A.Br.WNA, в нашем исследовании она представлена одним штаммом, выделенным в США (New Mexico, 1956).

Группа A.Br.003/004 сформировалась во второй половине II в. до н.э. Она включает штаммы из Северной и Южной Америки.

Во второй половине первого столетия нашей эры произошло формирование двух групп линии A возбудителя: A.Br.001/002 и A.Br.Aust94.

Штаммы группы A.Br.001/002 имеют широкое географическое распространение. Использовавшиеся в исследовании штаммы были выделены в США, Бразилии, странах Европы, Восточной и Юго-Восточной Азии и в России (Якутия, 1980).

Штаммы группы A.Br.Aust94 были выделены в Австралии, Индии, ЮАР, США и на Кавказе (Грузия, Азербайджан).

Штаммы, изолированные на территории России, принадлежат к группе B.Br.001/002 линии B и группам A.Br.001/002 и A.Br.008/009 линии A. Штаммы, принадлежащие к линии B.Br.001/002, были выделены в Башкирии, Дагестане, Тверской области, Тюменской области и Ямало-Ненецком автономном округе. Штаммы из Ставропольского края, Северной Осетии и Кабардино-Балкарии принадлежат к группе A.Br.008/009. Регионы изоляции штаммов линии A.Br.008/009 расположены довольно близко друг к другу (Ставропольский край и республики Северного Кавказа), в отличие от регионов изоляции штаммов линии B.Br.001/002. Штамм И-271, изолированный в Якутии в 1980 г., относится к линии A.Br.001/002, которая сформировалась во второй половине I в. н.э. Примечательно, что лишь один из исследуемых нами российских штаммов был отнесен к этой линии. К ней также принадлежат штаммы, циркулирующие в Европе, Восточной Азии и США. Можно предположить, что проникновение представителей линии A.Br.001/002 на территорию России происходило из Восточной Азии; для подтверждения этого предположения, а также определения путей проникновения в Россию штаммов двух других линий требуется изучение полных геномов бóльшего количества (100 и более) штаммов возбудителя сибирской язвы, изолированных в России и странах СНГ. Согласно данным SNP и VNTR типирования, в России на территории Дагестана, Ингушетии, Кабардино-Балкарской, Северной Осетии-

Алании и Чеченской республики были выделены штаммы, принадлежащие, как и штаммы из Грузии и Азербайджана, к группе A.Br.Aust94, а на территории Туркменистана – штаммы группы A.Br.Vollum, однако для них отсутствуют данные о полных геномных последовательностях.

В результате проведенной работы впервые получено представление о филогеографии штаммов возбудителя сибирской язвы, выделенных на территории России и некоторых стран СНГ. Подтверждено высокое молекулярное разнообразие изолятов из этих географических областей и показано распределение штаммов в филогенетической структуре глобальной популяции *B. anthracis.* Распределение штаммов возбудителя сибирской язвы в масштабах планеты связано с двумя процессами. Первым является историческое расселение и миграция людей. Второй процесс связан с развитием торговли, в частности, продуктами животноводства, контаминированными спорами *B. anthracis*, между отдаленными географическими областями [4]. Характер распределения штаммов из России и некоторых стран СНГ в филогенетической структуре глобальной популяции *B. anthracis*, преимущественно относящихся к трансевразийской группе (TEA) [6] и субкладе Aust94 основной клады A, представляется закономерным. Он определяется уникальностью территории России, занимающей большую часть евразийского континента и распространяющейся с востока Европы до тихоокеанского побережья Азии и граничащей со странами Восточной, Северной Европы, Восточной, Центральной и Западной Азии, существованием исторических

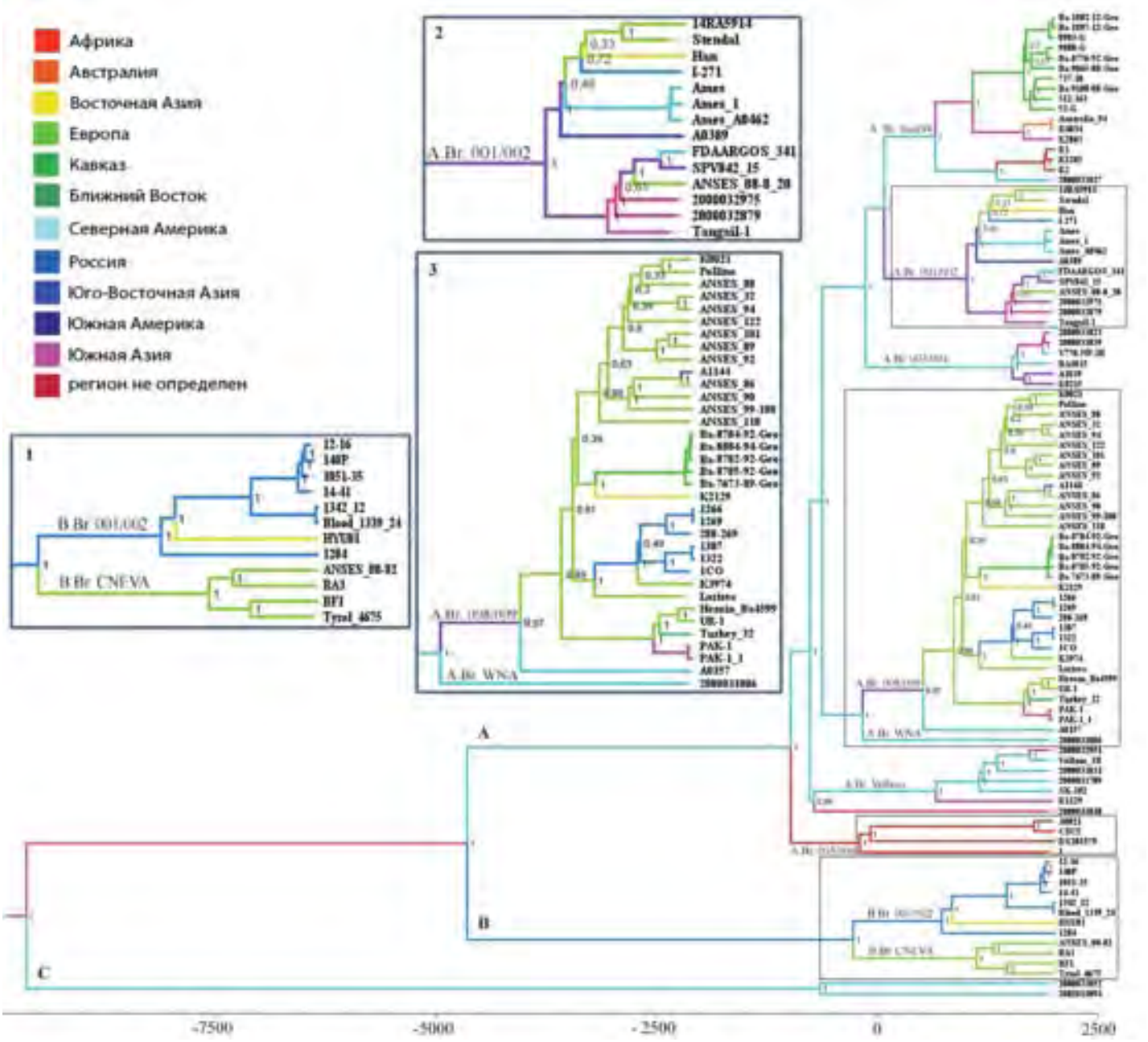

Рис. 2. **Реконструкция эволюции *B. anthracis* на основе SNP филогении корового генома 97 штаммов.** Единицы измерения по шкале времени – годы, отрицательные значения соответствуют времени до нашей эры. В узлах указаны индексы статистической достоверности вероятности расхождения ветвей дерева. В блоках 1, 2, 3 выделены ветви дерева, которым принадлежат штаммы, выделенные в России.

торговых путей (Великий шелковый путь, путь «из варяг в греки»), проходивших через территорию России.

Субклада Aust94 получила свое название по штамму *B. anthracis*, выделенному в Австралии в 1994 г. В нее входит, кроме него и штаммов из Грузии и Азербайджана, изолят из Индии. Это соответствует предположению о завозе *B. anthracis* в Австралию существовавшим торговым морским путем из Индии и данным о принадлежности многих штаммов из Грузии к этой группе [15].

В кластер B.Br.001/002 основной клады B вошло несколько штаммов, выделенных в Сибири, на Северном Кавказе и в европейской части России, а также штамм из Южной Кореи. Интересно происхождение штамма *B. anthracis* 1, выделенного на Украине от больного, заразившегося сибирской язвой в результате контакта с шерстью, импортированной из Эфиопии, который входит в один кластер с еще 4 штаммами африканского происхождения в группе A.Br.005/006.

Таким образом, установлена хронология формирования главных филогенетических линий возбудителя сибирской язвы и постулировано предположение об происхождении и распространении штаммов с территории азиатской части России. Линия C является самой малочисленной линией *B. anthracis*. Штаммы, вошедшие в нее, были изолированы на территории США. Согласно историческим данным, период около 9700 (+/- 99) лет до н.э. относят к позднему дриасу – границе между плейстоценом и голоценом. По мнению историков, в это время практически завершилась миграция предков современных индейцев из Азии в Америку. Международная группа исследователей (в которую входили сотрудники Института цитологии и генетики СО РАН) пришла к выводу, что генетической родиной первых американцев следует считать Алтай [16]. Оттуда, по всей видимости, вышли предки индейцев (а также, вероятно, чукчей, коряков и др.), расселившиеся по Сибири и в конечном итоге добравшиеся до Америки. Одним из предполагаемых путей переселения считается так называемый «Берингийский мост» – древний широкий перешеек между Америкой и Азией на месте нынешнего Берингова пролива, исчезнувший более 12 тыс. лет назад. Вероятно, что предки нынешних штаммов *B. anthracis*, принадлежащих к линии C, были занесены на территорию Северной Америки именно в этот период. Причина того, что эта линия не получила распространения, остается не выясненной.

Полученные данные позволяют также в дальнейшем определить региональные генетические маркеры, анализ которых в сопоставлении с соответствующей базой данных даст возможность в ходе эпидемиологического расследования установить происхождение штаммов, вызвавших вспышку сибирской язвы.

Литература

1. Цыганкова ОИ, Еременко ЕИ, Брюханов АФ, Абгарян АГ, Ефременко ВИ, Рязанова АГ. Генотипирование штаммов сибиреязвенного микроба на территории стран СНГ. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2003;1:51-6.
2. Еременко ЕИ, Рязанова АГ, Цыганкова ОИ, Цыганкова ЕА, Буравцева НП, Куличенко АН. Генотипическое разнообразие штаммов *Bacillus anthracis*, выделенных в регионе Кавказа. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2012;2:26-9.
3. Шишкова НА, Мокриевич АН, Платонов МЕ, Светоч ТЭ, Маринин ЛИ. Изучение генетического разнообразия штаммов сибиреязвенного микроба из коллекции ГНЦ ПМБ. Проблемы особо опасных инфекций. 2010;2(104):60-5.
4. Van Ert MN, Easterday WR, Huynh LY, Okinaka RT, Hugh-Jones ME, Ravel J, et al. Global Genetic Population Structure of *Bacillus anthracis*. PLoS One. 2007 May 23;2(5):e461. DOI: 10.1371/journal.pone.0000461
5. Keim P, Price LB, Klevytska AM, Smith KL, Schupp JM, Okinaka R, et al. Multiple-Locus Variable-Number Tandem Repeat Analysis Reveals Genetic Relationships within *Bacillus anthracis*. J Bacteriol. 2000 May;182(10):2928-36.
6. Pilo P, Frey J. *Bacillus anthracis*: Molecular taxonomy, population genetics, phylogeny and patho-evolution. Infect Genet Evol. 2011 Aug;11(6):1218-24. DOI: 10.1016/j.meegid.2011.05.013
7. Куличенко АН, Еременко ЕИ, Рязанова АГ, Аксенова ЛЮ, и др. Биологические свойства и молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Bacillus anthracis*, выделенных во время вспышки сибирской язвы в Ямало-Ненецком автономном округе в 2016 г. Проблемы особо опасных инфекций. 2017;1: 94-9. DOI: 10.21055/0370-1069-2017-1-94-99
8. Keim P, Van Ert MN, Pearson T, Vogler AJ, Huynh LY, Wagner DM. Anthrax molecular epidemiology and forensics: using the appropriate marker for different evolutionary scales. Infect Genet Evol. 2004 Sep;4(3):205-13. DOI: 10.1016/j.meegid.2004.02.005
9. Avise JC. Phylogeography: The History and Formation of Species. Harvard University Press, 2000, 464 p.
10. Bouckaert R, Heled J, Kühnert D, Vaughan T, Wu CH, Xie D, et al. BEAST 2: A Software Platform for Bayesian Evolutionary Analysis. PLoS Computational. Biology.2014;10(4):e1003537. DOI:10.1371/journal.pcbi.1003537
11. Bertels F, Silander OK, Pachkov M, Rainey PB, Nimwegen E. Automated reconstruction of whole genome phylogenies from short sequence reads. Mol Biol Evol. 2014 May;31(5):1077-88. DOI: 10.1093/molbev/msu088
12. Darriba D, Taboada GL, Doallo R, Posada D. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. Nat Methods. 2012 Jul 30;9(8):772. doi: 10.1038/nmeth.2109.
13. Kenefic LJ, Pearson T, Okinaka RT, Schupp JM, Wagner DM, Hoffmaster AR, et al. Pre-Columbian Origins for North American Anthrax. PLoS One. 2009;4(3):e4813. DOI: 10.1371/journal.pone.0004813.
14. Vergnaud G, Girault G, Thierry S, Pourcel C, Madani N, Blouin Y. Comparison of French and Worldwide *Bacillus anthracis* Strains Favors a Recent, Post-Columbian Origin of the Predominant North-American Clade. PLoS One. 2016 Feb 22;11(2):e0146216. DOI: 10.1371/journal.pone.0146216.
15. Khmaladze E, Birdsell DN, Naumann AA, Hochhalter CB, Seymour ML, Nottingham R, et al. Phylogeography of *Bacillus anthracis* in the Country of Georgia Shows Evidence of Population Structuring and Is Dissimilar to Other Regional Genotypes. PLoS One. 2014 Jul 21;9(7):e102651. DOI: 10.1371/journal.pone.0102651.
16. Reich D, Patterson N, Campbell D, Tandon A, Mazieres S, Ray N, et al. Reconstructing Native American population history. Nature. 2012 Aug 16;488(7411): 370-4. DOI: 10.1038/nature11258

References

1. Tsigankova OI, Eremenko EI, Brukhanov AF, Abgaryan AG, Efremenko VI, Ryazanova AG. Genotyping of *Bacillus anthracis* strains isolated on the territory of CIS countries. Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology. 2003;1:51-6. (In Russian).
2. Eremenko EI, Ryazanova AG, Tsygankova OI, Tsygankova EA, Buravtseva NP, Kulitchenko AN. Genotype diversity of *Bacillus anthracis* strains isolated from the Caucasus region. Molecular Genetics, Microbiology and Virology. 2012;2:26-9. (In Russian).
3. Shishkova NA, Mokrievich AN, Platonov ME, Svetoch TE, Marinin LI. Study of the Genetic Diversity of the Anthrax Microbe Strains from the Collection of

SRC AMB. Problems of Particularly Dangerous Infections. 2010;2(104):60-5. (In Russian).

4. Van Ert MN, Easterday WR, Huynh LY, Okinaka RT, Hugh-Jones ME, Ravel J, et al. Global Genetic Population Structure of *Bacillus anthracis*. PLoS One. 2007 May 23;2(5):e461. DOI: 10.1371/journal.pone.0000461
5. Keim P, Price LB, Klevytska AM, Smith KL, Schupp JM, Okinaka R, et al. Multiple-Locus Variable-Number Tandem Repeat Analysis Reveals Genetic Relationships within *Bacillus anthracis*. J Bacteriol. 2000 May;182(10):2928-36.
6. Pilo P, Frey J. *Bacillus anthracis*: Molecular taxonomy, population genetics, phylogeny and patho-evolution. Infect Genet Evol. 2011 Aug;11(6):1218-24. DOI: 10.1016/j.meegid.2011.05.013
7. Kulichenko AN, Eremenko EI, Ryazanova AG, Aksenova LYu, Kovalev DA, Pisarenko SV, et al. Biological properties and molecular-genetic characteristics of bacillus anthracis strains, isolated during the outbreak of anthrax in the yamalo-nenets autonomous district in 2016. Problems of Particularly Dangerous Infections. 2017;1:94-9. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2017-1-94-99
8. Keim P, Van Ert MN, Pearson T, Vogler AJ, Huynh LY, Wagner DM. Anthrax molecular epidemiology and forensics: using the appropriate marker for different evolutionary scales. Infect Genet Evol. 2004 Sep;4(3):205-13. DOI: 10.1016/j.meegid.2004.02.005
9. Avise JC. Phylogeography: The History and Formation of Species. Harvard University Press, 2000, 464 p.
10. Bouckaert R, Heled J, Kühnert D, Vaughan T, Wu CH, Xie D, et al. BEAST 2: A Software Platform for Bayesian Evolutionary Analysis. PLoS Computational. Biology.2014;10(4):e1003537. DOI:10.1371/journal.pcbi.1003537
11. Bertels F, Silander OK, Pachkov M, Rainey PB, Nimwegen E. Automated reconstruction of whole genome phylogenies from short sequence reads. Mol Biol Evol. 2014 May;31(5):1077-88. DOI: 10.1093/molbev/msu088
12. Darriba D, Taboada GL, Doallo R, Posada D. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. Nat Methods. 2012 Jul 30;9(8):772. DOI: 10.1038/nmeth.2109.
13. Kenefic LJ, Pearson T, Okinaka RT, Schupp JM, Wagner DM, Hoffmaster AR, et al. Pre-Columbian Origins for North American Anthrax. PLoS One. 2009;4(3):e4813. DOI: 10.1371/journal.pone.0004813.
14. Vergnaud G, Girault G, Thierry S, Pourcel C, Madani N, Blouin Y. Comparison of French and Worldwide *Bacillus anthracis* Strains Favors a Recent, Post-Columbian Origin of the Predominant North-American Clade. PLoS One. 2016 Feb 22;11(2):e0146216. DOI: 10.1371/journal.pone.0146216.
15. Khmaladze E, Birdsell DN, Naumann AA, Hochhalter CB, Seymour ML, Nottingham R, et al. Phylogeography of *Bacillus anthracis* in the Country of Georgia Shows Evidence of Population Structuring and Is Dissimilar to Other Regional Genotypes. PLoS One. 2014 Jul 21;9(7):e102651. DOI: 10.1371/journal.pone.0102651.
16. Reich D, Patterson N, Campbell D, Tandon A, Mazieres S, Ray N, et al. Reconstructing Native American population history. Nature. 2012 Aug 16;488(7411): 370-4. DOI: 10.1038/nature11258

Информация о соавторах:

Писаренко Сергей Владимирович, кандидат химических наук,
старший научный сотрудник лаборатории биохимии
ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора
Адрес: 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13-15
Телефон: (865-2) 26-0312
E-mail: pisarenko_sv@mail.ru

Аксенова Людмила Юрьевна, кандидат медицинских наук,
врач-бактериолог лаборатории сибирской язвы
ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора
Адрес: 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13-15
Телефон: (865-2) 26-0312

Рязанова Алла Геннадьевна, кандидат медицинских наук,
врач-бактериолог, заведующая лабораторией сибирской язвы
ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора
Адрес: 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13-15
Телефон: (865-2) 26-0312

Жиров Андрей Михайлович, младший научный сотрудник лаборатории биохимии ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора
Адрес: 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13-15
Телефон: (865-2) 26-0312

Семенова Ольга Викторовна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории сибирской язвы ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора
Адрес: 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13-15
Телефон: (865-2) 26-0312

Бобрышева Ольга Викторовна, младший научный сотрудник лаборатории биохимии ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора
Адрес: 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13-15
Телефон: (865-2) 26-0312

Ковалев Дмитрий Анатольевич, кандидат химических наук, заведующий лабораторией биохимии ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора
Адрес: 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13-15
Телефон: (865-2) 26-0312

Куличенко Александр Николаевич, член-корреспондент РАН,
доктор медицинских наук, профессор, директор ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора
Адрес: 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13-15
Телефон: (865-2) 26-0312

Information about co-authors:

Sergey V. Pisarenko, PhD (Chem.), senior researcher laboratory of biochemistry, Stavropol Plague Control Research Institute
Address: 13-15 Sovetskaya str., Stavropol, 355035, Russian Federation
Phone: (865-2) 26-0312
E-mail: pisarenko_sv@mail.ru

Lyudmila Yu. Aksenova, PhD (Med.), doctor-bacteriologist anthrax laboratory, Stavropol Plague Control Research Institute
Address: 13-15 Sovetskaya str., Stavropol, 355035, Russian Federation
Phone: (865-2) 26-0312

Alla G. Ryazanova, PhD (Med.), doctor-bacteriologist, head of anthrax laboratory, Stavropol Plague Control Research Institute
Address: 13-15 Sovetskaya str., Stavropol, 355035, Russian Federation
Phone: (865-2) 26-0312

Andrey M. Zhirov, junior researcher laboratory of biochemistry, Stavropol Plague Control Research Institute
Address: 13-15 Sovetskaya str., Stavropol, 355035, Russian Federation
Phone: (865-2) 26-0312

Olga V. Semenova, PhD (Biol.), researcher anthrax laboratory, Stavropol Plague Control Research Institute
Address: 13-15 Sovetskaya str., Stavropol, 355035, Russian Federation
Phone: (865-2) 26-0312

Olga V. Bobrysheva, junior researcher laboratory of biochemistry, Stavropol Plague Control Research Institute
Address: 13-15 Sovetskaya str., Stavropol, 355035, Russian Federation
Phone: (865-2) 26-0312

Dmitry A. Kovalev, PhD (Chem.), head of laboratory of biochemistry, Stavropol Plague Control Research Institute
Address: 13-15 Sovetskaya str., Stavropol, 355035, Russian Federation
Phone: (865-2) 26-0312

Alexander N. Kulichenko, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, doctor of medical sciences, professor, director, Stavropol Plague Control Research Institute
Address: 13-15 Sovetskaya str., Stavropol, 355035, Russian Federation
Phone: (865-2) 26-0312