

DOI: 10.21055/0370-1069-2022-3-61-69

УДК 616.98:579.842.23

П.А. Горюнова, Г.А. Ерошенко, Л.М. Куклева, Е.А. Нарышкина, Е.А. Соседова,
Н.С. Червякова, В.В. Кутырев

Прикаспийский песчаный природный очаг: филогенетическая история и происхождение штаммов *Yersinia pestis*

ФКУН «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация

Цель работы – анализ филогенетического родства и происхождения штаммов *Yersinia pestis*, выделенных в разные периоды эпизоотической активности Прикаспийского песчаного природного очага (ПППО) чумы в XX–XXI вв. **Материалы и методы.** В работе использованы 40 штаммов *Y. pestis* из ПППО и сопредельных очагов чумы, выделенных в 1922–2015 гг. Проведено полногеномное секвенирование 19 штаммов *Y. pestis* из ПППО. Филогенетический анализ выполнен по данным полногеномного SNP-анализа на основе 1914 выявленных SNPs. Поиск маркерных SNPs выполняли с помощью программы Snippy 4.6. Построение филогенетического дерева осуществляли с использованием алгоритма Maximum Likelihood, модель нуклеотидных замен GTR. **Результаты и обсуждение.** По данным полногеномного SNP-анализа установлено, что штаммы *Y. pestis* средневекового био-вара из ПППО относятся к филогенетической линии 2.MED1 и делятся на две основные ветви. Одна из них циркулировала в очаге в первой половине XX в., а другая – во второй половине XX – начале XXI в. Показано, что штаммы первой ветви являлись причиной вспышек и отдельных случаев чумы в ПППО в первой половине XX в. Они близкородственны штаммам из Прикаспийского Северо-Западного степного и Волго-Уральского песчаного природных очагов чумы, которые в этот же период вызывали многочисленные вспышки с высоким процентом летальности. Штаммы *Y. pestis* из ПППО второй половины XX и начала XXI в. относятся ко второй филогенетической ветви линии 2.MED1, в основании которой лежат штаммы из Северного Приаралья 1945 г. Последние были предшественниками всех штаммов, выделенных в ПППО после длительного межэпизоотического периода, произошедшего в середине XX в. Также прослеживается генетическое родство штаммов из ПППО и Дагестанского равнинно-предгорного очага.

Ключевые слова: чума, штаммы, Прикаспийский песчаный природный очаг, филогения *Yersinia pestis*.

Корреспондирующий автор: Горюнова Полина Александровна, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Для цитирования: Горюнова П.А., Ерошенко Г.А., Куклева Л.М., Нарышкина Е.А., Соседова Е.А., Червякова Н.С., Кутырев В.В. Прикаспийский песчаный природный очаг: филогенетическая история и происхождение штаммов *Yersinia pestis*. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022; 3:61–69. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-3-61-69

Поступила 30.06.2022. Принята к публ. 21.07.2022.

P.A. Goryunova, G.A. Eroshenko, L.M. Kukleva, E.A. Naryshkina, E.A. Sosedova,
N.S. Chervyakova, V.V. Kutyrev

Caspian Sandy Natural Focus: Phylogenetic History and Origin of *Yersinia pestis* Strains

Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, Saratov, Russian Federation

Abstract. The purpose of the work was to analyze the phylogenetic relations and origin of *Yersinia pestis* strains isolated in different periods of epizootic activity of the Caspian sandy natural focus (CSNF) of plague in the XX–XXI centuries. **Materials and methods.** We used 40 *Y. pestis* strains from CSNF and adjacent plague foci, isolated in 1922–2015. Carried out was whole genome sequencing of 19 *Y. pestis* strains from CSNF. Phylogenetic analysis was performed using whole genome SNP analysis based on 1914 identified SNPs. The search for marker SNPs was conducted using the Snippy 4.6 software. The phylogenetic tree was constructed using the Maximum Likelihood algorithm, the GTR nucleotide substitution model. **Results and discussion.** The whole genome SNP analysis has revealed that *Y. pestis* strains of the medieval biovar from CSNF belong to 2.MED1 phylogenetic lineage and fall into two major branches. One of them circulated in the focus in the first half of the XX century, and the other – in the second half of the XX – early XXI centuries. It is shown that strains of the first branch were the cause of outbreaks and individual cases of plague in the CSNF in the first half of the XX century. They are closely related to strains from the Caspian North-Western steppe and Volga-Ural sandy natural plague foci, which caused numerous outbreaks with high mortality rate in the same period. *Y. pestis* strains from the CSNF of the second half of the XX and early XXI centuries belong to the second phylogenetic branch of the 2.MED1 line, at the node of which the strains from the Northern Aral Sea region of 1945 lay. The latter were the predecessors of all strains isolated in the CSNF after a long inter-epizootic period that occurred in the middle of the XX century. There can also be traced a genetic relation between the strains from CSNF and the Dagestan plain-foothill focus.

Key words: plague, strains, Caspian sandy natural focus, phylogeny of *Yersinia pestis*.

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

Corresponding author: Goryunova Polina Aleksandrovna, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Goryunova P.A., Eroshenko G.A., Kukleva L.M., Naryshkina E.A., Sosedova E.A., Chervyakova N.S., Kutyrev V.V. Caspian Sandy Natural Focus: Phylogenetic History and Origin of *Yersinia pestis* Strains. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; 3:61–69. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2022-3-61-69

Received 30.06.2022. Accepted 21.07.2022.

Goryunova P.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6522-2606>
Eroshenko G.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5403-989X>
Kukleva L.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2438-8364>

Naryshkina E.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9190-099X>
Chervyakova N.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3133-3820>
Kutyrev V.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3788-3452>

Прикаспийский песчаный природный очаг (ПППО) (43) расположен на территории России в западной части Прикаспийской низменности. Заболевания чумой человека в ПППО известны с 1907 г. Эпидемические проявления регистрировали в очаге в 1923–1924, 1935–1936, 1947–1948 гг. и в 1979 г. Всего чумой заболело 82 человека в 12 населенных пунктах. В современных границах ПППО эпизоотии чумы регистрируют с 1923 г. В последующем они происходили в 1924–1925, 1929–1931, 1935–1938, 1946–1954 гг. [1].

Длительный межэпизоотический период в ПППО начался в 1954 г. и продолжался 25 лет. В 1979 г. отмечена активизация очага, и в последующем, в 1980–2010 гг., эпизоотии чумы происходили здесь ежегодно. В 2011–2012 гг. эпизоотий чумы в очаге не выявлено. После двухлетнего перерыва, осенью 2013 г., в приморской части Прикаспийского песчаного очага изолированы три культуры возбудителя чумы. В 2014–2015 гг. штаммы *Yersinia pestis* выделяли в центральных и восточных районах этого очага. В настоящее время ПППО находится в состоянии депрессии и культуры *Y. pestis* здесь не выделяются [2].

Ранее территория ПППО входила в состав Прикаспийского Северо-Западного степного очага. До 1954 г. большинство культур чумного микроба получали от малых сусликов *Spermophilus pygmaeus* и их специфических блох *Nosopsylla setosa* и *Citellophilus tesquorum*. К 80-м гг. XX в. в связи с возрастанием различий в природных комплексах выделен отдельный – песчаный – очаг чумы. Начиная с 1979 г. возбудитель чумы регистрировали в основном при обследовании полуденной *Meriones meridianus* и гребенщиковой *M. tamariscinus* песчанок, мышевидных грызунов и их блох. Таким образом, в истории ПППО выделяются два разных периода: первой половины XX в. и второй половины XX – начала XXI в. Установлено, что штаммы *Y. pestis*, изолированные в ПППО в современный период от песчанок и их блох, относятся к средневековому биовару основного подвида, филогенетической линии 2.MED1. Это высоковирулентные и эпидемически значимые штаммы [3]. В то же время детальное исследование генетических особенностей штаммов *Y. pestis* из ПППО первой половины XX в. не проводилось. Степень родства штаммов *Y. pestis* из ПППО разных периодов активности очага до сих пор не изучалась, также неясны причины активизации ПППО после длительного межэпизоотического периода середины XX в. Их выяснение важно для выявления закономерностей пространственно-временной циркуляции возбудителя чумы на территории Прикаспийской низменности в XX–XXI вв. и прогнозирования активизации ПППО в дальнейшем.

Цель работы – анализ филогенетического родства и происхождения штаммов *Y. pestis*, выделенных в разные периоды эпизоотической активности Прикаспийского песчаного природного очага чумы в XX–XXI вв.

Материалы и методы

Штаммы *Y. pestis*, условия культивирования, определение биохимических характеристик. Искользованные в работе штаммы *Y. pestis* получены из Государственной коллекции патогенных бактерий на базе Российского противочумного института «Микроб». Штаммы *Y. pestis* выращивали при температуре 28 °С в течение 24–48 ч на агаре LB и в бульоне LB. Анализ культурально-морфологических и биохимических свойств штаммов *Y. pestis* проводили в соответствии со стандартными методами лабораторной диагностики. Ферментацию глицерина, рамнозы, мелибиозы и арабинозы изучали на средах Гисса (1 % пептонная вода, 0,5 % хлорид натрия, 1 % индикатор Андрее, pH 7,2), включавших 1 % соответствующих субстратов. Для выявления денитрифицирующей активности использовали бульон LB с 0,1 % нитратом калия с последующим добавлением реагента Грисса. Малиновое окрашивание среды указывало на наличие соответствующей активности [4].

Полногеномное секвенирование, идентификация SNPs, построение дендрограмм. Выделение ДНК штаммов *Y. pestis* проводили с помощью набора PureLink Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen, США). Полногеномное секвенирование выполняли с помощью Ion S5 XL System (Thermo Fischer Scientific) согласно инструкции производителя. Для обработки данных использовали Ion Torrent Suite software package 3.4.2 и Newbler gsAssembler 2.6. SNPs выявляли путем выравнивания контигов штаммов на геноме CO92, при помощи программы Snippy 4.6, с последующим удалением 28 гомоплазий SNPs [5]. Полученный набор SNPs содержал только коровую область генома. Дендрограмму Maximum Likelihood строили с использованием программы PHYLML-3.1. Подбор модели нуклеотидных замещений проводили в программе jMODELTEST 2.1.7 [6], в результате определена модель GTR (Bootstrap – 500).

Результаты и обсуждения

В работе использованы 40 штаммов *Y. pestis* из ПППО и сопредельных очагов чумы. Из ПППО изучено 23 штамма, в том числе 7 штаммов первой половины XX в. Последние получены от малого суслика *S. pygmaeus* (2 штамма), верблюда (1 штамм) и людей (4 штамма). Штаммы *Y. pestis* второй по-

ловины XX – начала XXI в. выделены от полуденной *M. meridianus* (12 штаммов) и гребенщиковой *M. tamariscinus* (2 штамма) песчанок, малого суслика *S. pygmaeus* (1 штамм), блох (1 штамм). Места и источники выделения штаммов *Y. pestis* указаны в табл. 1. Проведено полногеномное секвенирование 19 штаммов из ПППО за период 1930–2015 гг.

Фенотипический анализ штаммов *Y. pestis*, выделенных в ПППО в первой половине XX в. и во второй половине XX – начале XXI в., показал, что все они обладали типичной для штаммов средне-

векового биовара биохимической активностью: не ферментировали рамнозу и мелибиозу, ферментировали арабинозу и глицерин, неспособны к редукции нитратов.

Филогенетический анализ штаммов *Y. pestis* из Прикаспийского песчаного очага чумы. Для проведения филогенетического анализа использованы нуклеотидные последовательности 23 штаммов *Y. pestis* из ПППО, а также последовательности 17 штаммов из сопредельных очагов Северного Прикаспия, Предкавказья и Северного Приаралья,

Таблица 1 / Table 1

Штаммы *Y. pestis* из Прикаспийского песчаного и сопредельных очагов чумы, использованные в работе
Y. pestis stains from the Precaspian sandy and adjacent plague foci, used in this study

Штамм Strain	Природный очаг, место выделения Natural focus, site of isolation	Источник, год Source, year
1	2	3
258	Прикаспийский песчаный, г. Астрахань Caspian sandy, Astrakhan	человек, 1930 human, 1930
177	Прикаспийский песчаный, Ставропольский край, с. Мирное Caspian sandy, Stavropol Territory, Mirnoe village	человек, 1933 human, 1933
469	Прикаспийский песчаный, Ставропольский край, Левокумский р-н Caspian sandy, Stavropol Territory, Levokumsky district	<i>S. pygmaeus</i> , 1935
226	Прикаспийский песчаный, Республика Калмыкия, с. Нарын Худук Caspian sandy, Republic of Kalmykia, Naryn Khuduk village	человек, 1936 human, 1936
228	Прикаспийский песчаный, Республика Калмыкия, с. Нарын Худук Caspian sandy, Republic of Kalmykia, Naryn Khuduk village	человек, 1936 human, 1936
248	Прикаспийский песчаный, Республика Калмыкия, с. Нарын Худук Caspian sandy, Republic of Kalmykia, Naryn Khuduk village	верблюд, 1936 camel, 1936
664	Прикаспийский песчаный, Астраханская обл. Caspian sandy, Astrakhan Region	<i>S. pygmaeus</i> , 1946
М-593	Прикаспийский песчаный, Республика Калмыкия, Черноземельский р-н Caspian sandy, Republic of Kalmykia, Chernozemelsky district	<i>M. meridianus</i> , 1979
М-635	Прикаспийский песчаный, Республика Калмыкия, ст. Артезиан Caspian sandy, Republic of Kalmykia, Artezian station	<i>M. meridianus</i> , 1980
М-690	Прикаспийский песчаный, Астраханская обл. Caspian sandy, Astrakhan Region	<i>S. pygmaeus</i> , 1980
М-768	Прикаспийский песчаный, Республика Калмыкия, Приморский р-н Caspian sandy, Republic of Kalmykia, Primorsky district	<i>M. meridianus</i> , 1983
М-821	Прикаспийский песчаный, Республика Калмыкия, Черноземельский р-н Caspian sandy, Republic of Kalmykia, Chernozemelsky district	<i>M. meridianus</i> , 1985
М-871	Прикаспийский песчаный, Республика Калмыкия, Каспийский р-н, Caspian sandy, Republic of Kalmykia, Caspian region	<i>M. meridianus</i> , 1987
М-972	Прикаспийский песчаный, Республика Калмыкия, Каспийский р-н Caspian sandy, Republic of Kalmykia, Caspian region	<i>M. meridianus</i> , 1990
С-748	Прикаспийский песчаный, Республика Дагестан, ст. Бирюзак Caspian sandy, Republic of Dagestan, Biryuzak station	<i>M. meridianus</i> , 1999
С-755	Прикаспийский песчаный, Республика Дагестан, Ногайский р-н Caspian sandy, Republic of Dagestan, Nogai district	<i>M. meridianus</i> , 1999
М-1268	Прикаспийский песчаный, Республика Калмыкия, Черноземельский р-н Caspian sandy, Republic of Kalmykia, Chernozemelsky district	<i>N. laeviceps</i> , 2001
С-789	Прикаспийский песчаный, Республика Дагестан, Ногайский р-н Caspian sandy, Republic of Dagestan, Nogai district	<i>M. tamariscinus</i> , 2003
М-1814	Прикаспийский песчаный, Астраханская область, Лиманский р-н Caspian sandy, Astrakhan Region, Limansky district	<i>M. tamariscinus</i> , 2006
М-1864	Прикаспийский песчаный, Республика Калмыкия Caspian sandy, Republic of Kalmykia	<i>M. meridianus</i> , 2009

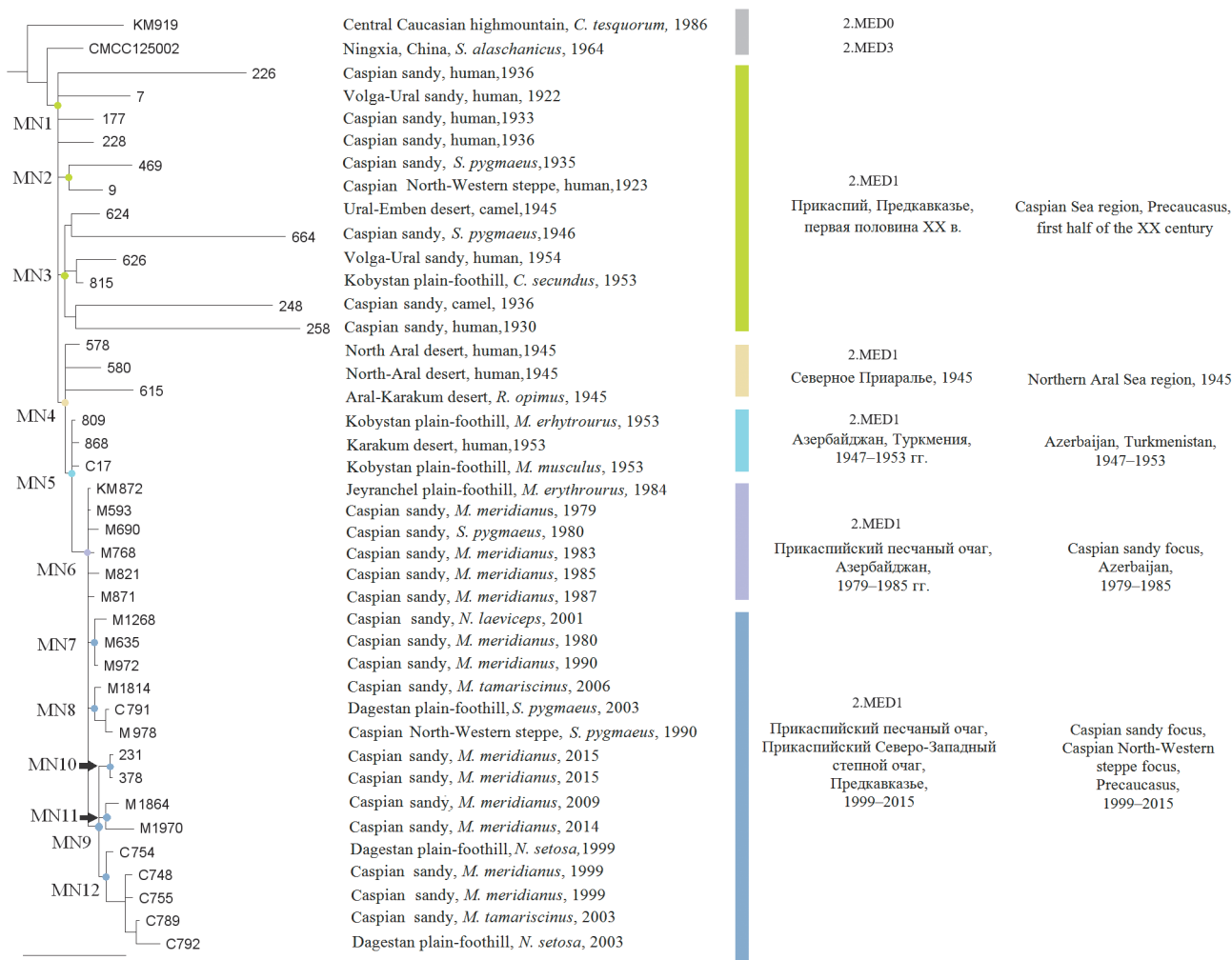
Окончание табл. 1 / Ending of table 1

1	2	3
M-1970	Прикаспийский песчаный, Республика Калмыкия, Лаганский р-н Caspian sandy, Republic of Kalmykia, Lagansky district	<i>M. meridianus</i> , 2014
231	Прикаспийский песчаный, Республика Калмыкия, Черноземельский р-н Caspian sandy, Republic of Kalmykia, Chernozemelsky district	<i>M. meridianus</i> , 2015
378	Прикаспийский песчаный, Республика Калмыкия, Черноземельский р-н Caspian sandy, Republic of Kalmykia, Chernozemelsky district	<i>M. meridianus</i> , 2015
KM 919	Центрально-Кавказский высокогорный, Кабардино-Балкарская Республика Central Caucasian high-mountain, Kabardino-Balkaria	<i>C. tesquorum</i> , 1986
C-754	Дагестанский равнинно-предгорный, Республика Дагестан, с. Герменчик Dagestan plain-foothill, Republic of Dagestan, Germenchik village	<i>N. setosa</i> , 1999
C-791	Дагестанский равнинно-предгорный, Республика Дагестан Dagestan plain-foothill, Republic of Dagestan	<i>S. pygmaeus</i> , 2003
C-792	Дагестанский равнинно-предгорный, Республика Дагестан, Dagestan plain-foothill, Republic of Dagestan	<i>N. setosa</i> , 2003
809	Кобыстанский равнинно-предгорный, Азербайджан Kobystan plain-foothill, Azerbaijan	<i>M. erhytrourus</i> , 1953
815	Кобыстанский равнинно-предгорный, Азербайджан Kobystan plain-foothill, Azerbaijan	<i>C. secundus</i> , 1953
C-17	Кобыстанский равнинно-предгорный, Азербайджан Kobystan plain-foothill, Azerbaijan	<i>M. musculus</i> , 1953
KM 872	Джейранчельский равнинно-предгорный, Азербайджан, г. Мулсартане Jeyranchel plain-foothill, Azerbaijan, Mulsartane city	<i>M. erythrourus</i> , 1984
9	Прикаспийский Северо-Западный степной, Ростовская обл., с. Качкино Caspian North-Western steppe, Rostov Region, Kachkino village	человек, 1923 human, 1923
M-978	Прикаспийский Северо-Западный степной, Республика Калмыкия Caspian North-Western steppe, Republic of Kalmykia	<i>S. pygmaeus</i> , 1990
7	Волго-Уральский песчаный, Западный Казахстан, ур. Каныш-Чагал Volga-Ural sandy, Western Kazakhstan, Kanysh-Chagal tract	человек, 1922 human, 1922
626	Волго-Уральский песчаный, Западный Казахстан, Гурьевская обл. Volga-Ural sandy, Western Kazakhstan, Guriev Region	человек, 1954 human, 1954
624	Урало-Эмбенский пустынный, Казахстан, Гурьевская обл. Ural-Emben desert, Kazakhstan, Guriev Region	верблюд, 1945 camel, 1945
578	Северо-Приаральский пустынный, Казахстан, Аральский р-н North Aral desert, Kazakhstan, Aral district	человек, 1945 human, 1945
580	Северо-Приаральский пустынный, Казахстан, Аральский р-н North-Aral desert, Kazakhstan, Aral district	человек, 1945 human, 1945
615	Приаральско-Каракумский пустынный, Казахстан, Кзыл-Ординская обл. Aral-Karakum desert, Kazakhstan, Kzyl-Ordinsk Region	<i>R. opimus</i> , 1945
868	Каракумский пустынный, Туркмения Karakum desert, Turkmenistan	человек, 1953 human, 1953

включая 1 штамм из Центрально-Кавказского высокогорного, 3 – из Дагестанского равнинно-предгорного, 3 – из Кобыстанского равнинно-предгорного, 1 – из Джейранчельского равнинно-предгорного, 2 – из Прикаспийского Северо-Западного степного, 2 – из Волго-Уральского песчаного, 2 – из Северо-Приаральского пустынного, 1 – из Урало-Эмбенского пустынного, 1 – из Приаральско-Каракумского пустынного, 1 штамм из Каракумского пустынного природных очагов чумы (табл. 1, рисунок). В филогенетический анализ включены также штаммы других филогенетических линий из разных очагов мира, последовательности которых представлены в базе данных NCBI GenBank. К ним относятся следующие геномы: 620024 (номер доступа NZ_ADPM00000000.1), *Pestoides F* (№ NC_009381.1),

Pestoides A (№ NZ_ACNT00000000.1), C092 (№ NC_003143.1), 351001 (№ NZ_ADPF00000000.1), CMCC125002 (№ ADQN00000000.1). Данные по ним на рисунке не приводятся для улучшения наглядности филогенетического дерева средневекового биовара. Дендрограмма построена на основе полногеномного SNP-анализа 46 штаммов *Y. pestis* (рисунок).

Сравнительный филогенетический анализ на основе выявленных 1914 коровых SNPs показал, что все исследованные штаммы *Y. pestis* из ПППО, выделенные за период с 1930 по 2015 год, принадлежат к филогенетической линии 2.MED1 средневекового биовара, включая штаммы первой половины XX в. (рисунок). На дендрограмме штаммы из ПППО разделились на две обособленные филогенетические ветви линии 2.MED1: первой половины XX в. (штам-



Филогенетический анализ штаммов *Y. pestis* из Прикаспийского песчаного и сопредельных очагов чумы по данным полногеномного SNP-анализа. Дендрограмма Maximum likelihood на основе 1914 SNPs построена с помощью PHYML 3.1, модели GTR, 500 бутстрэп-реплик

Phylogenetic analysis of *Y. pestis* strains from the Caspian sandy and adjacent plague foci according to the results of whole genome SNP-analysis. Maximum likelihood dendrogram is constructed based on 1914 SNPs using PHYML 3.1, GTR model, 500 bootstrap replicas

мы 226, 177, 228, 469, 664, 248, 258; 1930–1946 гг.) и второй половины XX – начала XXI в. (16 штаммов; 1979–2015 гг.). Из первых семи штаммов четыре получены от человека, что доказывает участие штаммов 2.MED1 во вспышках и отдельных случаях чумы в ПППО, как это было ранее показано и для очагов Северо-Западного и Северного Прикаспия [7].

Эта заболеваемость в ПППО связана с первой волной распространения линии 2.MED1 в начале прошлого века, когда штаммы средневекового био-вара основного подвида филогенетической ветви 2.MED1 являлись этиологическим агентом вспышек с высоким показателем летальности в Прикаспии. В этот же период штаммы 2.MED1 циркулировали и в ПППО. Они выделялись как от больных, так и от носителей, что доказывает их укоренение в природном биоценозе этого очага. Штаммы 2.MED1 циркулировали здесь до 1954 г., до наступления длительного межэпизоотического периода, который, по-видимому, был вызван резким падением уровня Каспийского моря в середине XX столетия и после-

довавшими изменениями природного биоценоза со сменой основного носителя чумы в ПППО. Начало проявления активности очага после 1979 г., возможно, связано со значительным подъемом уровня Каспия.

Как следует из рисунка, штаммы первой половины прошлого века из ПППО имели общее происхождение со штаммами из очагов чумы Северо-Западного и Северного Прикаспия первой половины XX в. (рисунок, узел MN1; табл. 2). В составе этой ветви 2.MED1 первой половины XX в. выделяются как единичные, отходящие от общего ствола штаммы, так отдельные кластеры. Единичные штаммы получены от людей в ПППО (штаммы 177, 226 и 228; 1933–1936 гг.) и Волго-Уральском песчаном очаге (штамм 7; 1922 г.). Один из кластеров содержит штамм 469 (*S. pygmaeus*, 1935 г.) из ПППО и штамм 9 (человек, 1923 г.) из Прикаспийского Северо-Западного степного очага (рисунок, узел MN2; табл. 2). Второй кластер включает 1 штамм из Волго-Уральского песчаного, 1 – Урало-Эмбенского

Таблица 2 / Table 2

SNPs, маркерные для филогенетических узлов дендрограммы (рисунок) штаммов *Y. pestis* из Прикаспийского песчаного и сопредельных очагов чумы, использованных в работе

SNPs marker for phylogenetic nodes of the dendrogram (Figure) of *Y. pestis* strains from the Precaspian sandy and adjacent plague foci, used in this study

Узел Node	Координаты SNP по геному CO92 SNP position across the genome CO92	Замена нуклеотида Nucleotide substitution	Ген Gene	Кодируемый продукт Encoded product
1	2	3	4	5
MN1	252309	C → T	<i>acs</i>	ацетат-КоА лигаза acetate--CoA ligase
	449523	C → A	<i>rimI</i>	рибосомальный белок S18-аланил-N-трансфераза ribosomal protein S18-alanine N-acetyltransferase
	568345	A → T	<i>sgrR</i>	регулятор транскрипции HTH-типа SgrR HTH-type transcriptional regulator SgrR
	1261149	C → T	intergenic	NA
	1561394	G → A	intergenic	NA
	1586141	C → T	<i>cmoM</i>	тРНК уридин 5-оксиуксусная кислота(34) метилтрансфераза CmoM tRNA uridine 5-oxyacetic acid(34) methyltransferase CmoM
	1996390	C → T	YPO_RS09745	белок S-box домена PAS PAS domain S-box protein
	2444694	C → A	intergenic	NA
	3030163	C → T	YPO_RS14495	белок, содержащий DUF979 домен DUF979 domain-containing protein
	3470222	G → A	<i>rfbH</i>	липополисахарид-связывающий белок RfbH lipopolysaccharide-binding protein RfbH
	3551475	G → A	<i>secD</i>	белковая субъединица транслоказы SecD protein translocase subunit SecD
	3596834	G → A	<i>dinB</i>	ДНК-полимераза IV DNA polymerase IV
	3805148	C → A	intergenic	NA
	3869550	C → A	<i>phnL</i>	белок фосфонат-CP-лиазной системы PhnK phosphonate CP lyase system protein PhnL
	4104673	C → T	YPO_RS19375	белок, содержащий DUF2570 домен DUF2570 domain-containing protein
4258899	C → A	YPO_RS20045	sn-глицерол-3-фосфат-АТФ-связывающий белок UgpC sn-glycerol-3-phosphate-ATP-binding protein UgpC	
4287044	G → T	YPO_RS20180	цинк/кадмий/ртуть/свинец-транспортирующая АТФаза zinc/cadmium/mercury/lead-transporting ATPase	
MN2	394518	G → A	<i>nsrR</i>	NO-чувствительный репрессор NsrR nitric oxide-sensing repressor NsrR
	3760283	C → T	<i>cysJ</i>	субъединица флавопротеина ассимиляционной NADPH-сульфитредуктазы assimilatory NADPH-dependent sulfite reductase flavoprotein subunit
MN3	3395230	C → A	YPO_RS16180	белок-регулятор ответа response regulating protein
MN4	739446	C → T	YPO_RS04355	гипотетический белок hypothetical protein
MN5	512182	G → T	<i>carA</i>	малая субъединица карбамоилфосфатсинтазы, гидролизующая глутамин glutamine-hydrolyzing carbamoyl-phosphate synthase small subunit
MN6	790023	C → T	<i>flgK</i>	крюк-ассоциированный белок FlgK flagellar hook-associated protein FlgK
	1399276	A → G	YPO_RS07200	гипотетический белок hypothetical protein
	1784776	C → T	YPO_RS08810	белок семейства DCC тиол-дисульфид оксидоредуктазы thiol-disulfide oxidoreductase DCC-family protein
MN7	666854	G → T	intergenic	NA

Окончание табл. 2 / Ending of table 2

1	2	3	4	5
MN8	2448252	C → T	<i>hns</i>	ДНК-связывающий регулятор транскрипции H-NS DNA-binding transcription regulator H-NS
	3739402	C → A	YPO_RS17715	эритритол/L-треитол дегидрогеназа erythritol/L-threitol dehydrogenase
MN9	300402	G → T	intergenic	NA
	1687465	T → G	<i>tssG</i>	субъединица базовой пластины системы секреции VI типа TssG type VI secretion system baseplate subunit TssG
MN10	63229	C → T	<i>mutM</i>	бифункциональная ДНК-формамидопиримидин гликозилаза/ДНК-лиаза bifunctional DNA-formamidopyrimidine glycosylase/DNA-lyase
MN11	559860	C → A	intergenic	NA
MN12	2277898	T → A	YPO_RS11020	белок, содержащий DUF4087 домен DUF4087 domain-containing protein

Примечание: NA – неизвестно.

Note: NA – not available.

пустынного, 1 – Кобыстанского равнинно-предгорного и 3 – ПППО (664, *S. pygmaeus*, 1946 г.; 258, человек, 1930 г.; 248, верблюд, 1936 г.) (рисунок, узел MN3; табл. 2). Таким образом, из полученных данных следует, что штаммы из ПППО первой половины XX в. принадлежали к филогенетической линии 2.MED1, вызвали чуму у людей, близкородственны штаммам из Северо-Западного и Северного Прикаспия и получили распространение в ПППО в период первой волны 2.MED1 средневекового биоара в Прикаспии в начале XX в.

Из данных дендрограммы филогенетических связей следует, что штаммы, которые стали выделять в ПППО после 1979 г., не являются прямыми потомками штаммов ветви 2.MED1, которые были распространены здесь в первой половине XX в. Они потомки штаммов *Y. pestis* другой, образовавшейся позже ветви линии 2.MED1, которая в середине XX в. укоренилась в Северном Приаралье (рисунок, узел MN4; табл. 2) и впоследствии вновь достигла Прикаспийского региона, включая ПППО, на фоне благоприятных климатических изменений [8]. Возобновление активности очага совпадает с образованием политомии на филогенетическом дереве *Y. pestis*, на стволе которой вначале расположились единичные штаммы 2.MED1 из ПППО периода 1979–1985 гг. (рисунок, узел MN6; табл. 2). Все они отличаются набором уникальных SNPs, не встречающихся у других штаммов из этого природного очага. Эти штаммы выделены на относительно недалеких друг от друга участках ПППО в Черноземельском и Приморском районах Республики Калмыкия и Астраханской области.

Дальнейшая эволюция возбудителя на территории очага привела к образованию отдельных кластеров конца XX – начала XXI в. Первый кластер образован штаммом M-1814 (*M. tamariscinus*, 2006 г.) из ПППО, M-978 (*S. pygmaeus*, 1990 г.) из Прикаспийского Северо-Западного степного и C-791 (*S. pygmaeus*, 2003 г.) из Дагестанского равнинно-

предгорного очага чумы (рисунок, узел MN7; табл. 2). Штамм M-1814 филогенетически близок двум штаммам: C-791 и M-978, – несмотря на то, что все они выделены на значительном расстоянии друг от друга.

Второй кластер состоит из трех штаммов: M-635 (*M. meridianus*, 1980 г.), M-972 (*M. meridianus*, 1990), M-1268 (*N. laeviceps*, 2001 г.), – изолированных на территории ПППО на Черных землях и в Ильменном районе Республики Калмыкия от полуденных песчанок и их блох (рисунок, узел MN8; табл. 2). Территориально штаммы выделены недалеко друг от друга, что объясняет их принадлежность к одному филогенетическому кластеру. В третий кластер вошли современные штаммы, изолированные на территории ПППО и Дагестанского равнинно-предгорного природного очага в 1999–2015 гг. (рисунок, узел MN9; табл. 2). Он представлен тремя подкластерами, отходящими от филогенетического дерева в узлах MN10, MN11 и MN12. В первый подкластер входят два штамма: 231 и 378 (рисунок, узел MN10; табл. 2). Они получены от *M. meridianus* в 2015 г. в ПППО в районе Черные земли, что объясняет их филогенетическую близость и принадлежность к одному подкластеру. Второй подкластер представлен штаммами M-1864 (*M. meridianus*, 2009 г.) и M-1970 (*M. meridianus*, 2015 г.) (рисунок, MN11, табл. 2). Эти штаммы выделены на территории ПППО в Республике Калмыкия. Третий подкластер образован пятью штаммами из очагов чумы Прикаспия и Предкавказья (рисунок, MN12; табл. 2). В его основании лежит штамм C-754 (*N. setosa*, 1999 г.), выделенный на территории Дагестанского равнинно-предгорного очага. От него отходит группа штаммов, изолированных от носителей и переносчиков в 1999–2003 гг. в ПППО и Дагестанском равнинно-предгорном очаге.

Распространение волны 2.MED1 во второй половине XX в. из Северного Приаралья не сопровождалось вспышками заболеваемости и значительными изменениями генома, но привело к укоренению

штаммов в природном биоценозе ПППО. Одним из возможных направлений проникновения штаммов *Y. pestis* из Северного Приаралья (1945 г.) в ПППО мог быть путь через Каспийское море в Кобыстанский равнинно-предгорный очаг, а оттуда в ПППО, так как промежуточная ветвь на дендрограмме между штаммами из Северного Приаралья (1945 г.) и ПППО (1980–2015 гг.) включает преимущественно штаммы из Кобыстанского очага 1953 г. (рисунок, узел MN5; табл. 2). Из дендрограммы также следует, что в 1990–2003 гг. штаммы из ПППО уже достигли Прикаспийского Северо-Западного степного и Дагестанского равнинно-предгорного очагов чумы.

Таким образом, штаммы *Y. pestis*, выделенные в ПППО в XX–XXI вв., относятся к филогенетической линии 2.MED1 средневекового биовара основного подвида *Y. pestis*. Штаммы этой линии широко представлены в природных очагах Восточной Европы, Центральной и Восточной Азии [8–10].

По данным проведенного филогенетического анализа, они делятся на две ветви. Одна из них циркулировала в очаге в первой половине XX в., а вторая – во второй половине XX – начале XXI в. Из анализа комплекса филогенетических, эпидемиологических и эпизоотологических данных следует, что штаммы, которые были распространены в ПППО в начале XX в., близкородственны штаммам из Прикаспийского Северо-Западного степного и Волго-Уральского песчаного природных очагов чумы. Это были эпидемически значимые штаммы, которые являлись этиологическими агентами вспышек и отдельных случаев чумы на территории очага в первой половине XX в. Для штаммов этого периода, выделенных от людей, основных и случайных носителей, характерна высокая скорость эволюции и большое число единичных полиморфизмов SNPs. Штаммы *Y. pestis* второй половины XX и начала XXI в. образовали вторую ветвь, в основании которой находятся штаммы из Северного Приаралья. Последние были предшественниками всех штаммов, выделенных в ПППО после длительного межэпизоотического периода, наступившего в середине XX в. Следует отметить, что наступление межэпизоотического периода в ПППО сопровождалось исчезновением штаммов *Y. pestis*, распространенных здесь в первой половине XX в. Активизация ПППО после 1979 г. явилась следствием распространения в ПППО более поздней ветви линии 2.MED1 из Северного Приаралья, достигшей ПППО на фоне сложившихся благоприятных изменений климата и повышения уровня Каспийского моря. Также прослеживается генетическое родство штаммов из ПППО со штаммами из Предкавказья, в частности из Дагестанского равнинно-предгорного очага.

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

Список литературы

1. Кутырев В.В., Попова А.Ю., редакторы. Кадастр эпидемических и эпизоотических проявлений чумы на территории Российской Федерации и ближнего зарубежья (с 1876 по 2016 год). Саратов: Амрит; 2016. 248 с.
2. Попов Н.В., Карнаухов И.Г., Кузнецов А.А., Матросов А.Н., Сафронов В.А., Поршаков А.М., Иванова А.В., Марцоха К.С., Корзун В.М., Вержудский Д.Б., Чипанин Е.В., Лопатин А.А., Дубянский В.М., Ашибокоев У.М., Газиева А.Ю., Зенкевич Е.С., Балахонов С.В., Куличенко А.Н., Кутырев В.В. Совершенствование эпидемиологического надзора в природных очагах чумы Российской Федерации и прогноз их эпизоотической активности на 2022 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022; 1:35–42. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-35-42.
3. Павлова А.И., Ерошенко Г.А., Одинокоев Г.Н., Куклева Л.М., Шавина Н.Ю., Краснов Я.М., Кутырев В.В. Анализ генетической изменчивости штаммов *Yersinia pestis* средневекового биовара из природных очагов чумы Российской Федерации и Монголии. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2012; 4:49–53. DOI: 10.21055/0370-1069-2012-4-49-53.
4. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Лабораторная диагностика особо опасных инфекционных болезней. Практическое руководство. М.: Шико; 2013. 560 с.
5. Cui Y., Yu C., Yan Y., Li D., Li Y., Jombart T., Weinert L.A., Wang Z., Guo Z., Xu L., Zhang Y., Zheng H., Qin N., Xiao X., Wu M., Wang X., Zhou D., Qi Z., Du Z., Wu H., Yang X., Cao H., Wang H., Wang J., Yao S., Rakin A., Li Y., Falush D., Balloux F., Achtman M., Song Y., Wang J., Yang R. Historical variations in mutation rate in an epidemic pathogen, *Yersinia pestis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2013; 2:577–82. DOI: 10.1073/pnas.1205750110.
6. Darriba D., Taboada G.L., Doallo R., Posada D. jModel-Test 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nat. Methods*. 2012; 8:772. DOI: 10.1038/nmeth.2109.
7. Ерошенко Г.А., Попов Н.В., Альхова Ж.В., Балыкова А.Н., Куклева Л.М., Червякова Н.С., Майканов Н.С., Сармулдина А.Х., Кутырев В.В. Пространственно-временной анализ циркуляции *Yersinia pestis* в Волго-Уральском песчаном очаге. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019; 3:51–7. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-3-51-5.
8. Eroshenko G.A., Popov N.V., Al'khova Z.V., Kukleva L.M., Balykova A.N., Chervyakova N.S., Naryshkina E.A., Kutyrev V.V. Evolution and circulation of *Yersinia pestis* in the Northern Caspian and Northern Aral Sea regions in the 20th–21st centuries. *PLoS One*. 2021; 2:e0244615. DOI: 10.1371/journal.pone.0244615.
9. Li J., Wang Y., Liu F., Shen X., Wang Y., Fan M., Peng Y., Wang S., Feng Y., Zhang W., Lv., Zhang H., Lu X., Zhang E., Wei J., Chen L., Kan B., Zhang Z., Xu J., Wang W., Li W. Genetic source tracking of human plague cases in Inner Mongolia-Beijing, 2019. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2021; 8:e0009558. DOI: 10.1371/journal.pntd.0009558.
10. Xu L., Stige L.C., Leirs H., Neerinckx S., Gage K.L., Yang R., Liu Q., Bramanti B., Dean K.R., Tang H., Sun Z., Stenseth N.C., Zhang Z. Historical and genomic data reveal the influencing factors on global transmission velocity of plague during the Third Pandemic. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2019; 24:11833–8. DOI: 10.1073/pnas.1901366116.

References

1. Kutyrev V.V., Popova A.Yu., editors. [Cadastre of Epidemic and Epizootic Plague Manifestations in the Territory of the Russian Federation and Former Soviet Union Countries (1876–2016)]. Saratov: LLC “Amirit”; 2016. 248 p.
2. Popov N.V., Karnaukhov I.G., Kuznetsov A.A., Matrosov A.N., Safronov V.A., Porshakov A.M., Ivanova A.V., Martsokha K.S., Korzun V.M., Verzhutsky D.B., Chipanin E.V., Lopatin A.A., Dubyansky V.M., Ashibokov U.M., Gazieva A.Yu., Zenkevich E.S., Balakhonov S.V., Kulichenko A.N., Kutyrev V.V. [Enhancement of epidemiological surveillance in natural plague foci of the Russian Federation and forecast of epizootic activity for 2022]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; (1):35–42. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-35-42.
3. Pavlova A.I., Eroshenko G.A., Odinokov G.N., Kukleva L.M., Shavina N.Yu., Krasnov Y.M., Kutyrev V.V. [Analysis of genetic variability of *Yersinia pestis* strains (medieval biovar) isolated in natural plague foci of the Russian Federation and Mongolia]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2012; (4):49–53. DOI: 10.21055/0370-1069-2012-4-49-53.
4. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., editors. [Laboratory Diagnostics of Particularly Dangerous Infectious Diseases. Practice Guidelines]. Moscow: CJSC “Shiko”; 2013. 560 p.
5. Cui Y., Yu C., Yan Y., Li D., Li Y., Jombart T., Weinert L.A., Wang Z., Guo Z., Xu L., Zhang Y., Zheng H., Qin N., Xiao X., Wu M., Wang X., Zhou D., Qi Z., Du Z., Wu H., Yang X., Cao H., Wang

H., Wang J., Yao S., Rakin A., Li Y., Falush D., Balloux F., Achtman M., Song Y., Wang J., Yang R. Historical variations in mutation rate in an epidemic pathogen, *Yersinia pestis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2013; 2:577–82. DOI: 10.1073/pnas.1205750110.

6. Darriba D., Taboada G.L., Doallo R., Posada D. jModel-Test 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nat. Methods*. 2012; 8:772. DOI: 10.1038/nmeth.2109.

7. Eroshenko G.A., Popov N.V., Al'khova Z.V., Balykova A.N., Kukleva L.M., Chervyakova N.S., Maykanov N.S., Sarmuldina A.K., Kuttyrev V.V. [Circulation of *Yersinia pestis* in the Volga-Ural sandy focus: spatiotemporal analysis]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019; (3):51–7. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-3-51-57

8. Eroshenko G.A., Popov N.V., Al'khova Z.V., Kukleva L.M., Balykova A.N., Chervyakova N.S., Naryshkina E.A., Kuttyrev V.V. Evolution and circulation of *Yersinia pestis* in the Northern Caspian and Northern Aral Sea regions in the 20th–21st centuries. *PLoS One*. 2021; 2:e0244615. DOI: 10.1371/journal.pone.0244615.

9. Li J., Wang Y., Liu F., Shen X., Wang Y., Fan M., Peng Y., Wang S., Feng Y., Zhang W., Lv, Zhang H., Lu X., Zhang E., Wei J., Chen L., Kan B., Zhang Z., Xu J., Wang W., Li W. Genetic source tracking of human plague cases in Inner Mongolia-Beijing, 2019.

PLoS Negl. Trop. Dis. 2021; 8:e0009558. DOI: 10.1371/journal.pntd.0009558.

10. Xu L., Stige L.C., Leirs H., Neerinckx S., Gage K.L., Yang R., Liu Q., Bramanti B., Dean K.R., Tang H., Sun Z., Stenseth N.C., Zhang Z. Historical and genomic data reveal the influencing factors on global transmission velocity of plague during the Third Pandemic. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2019; 24:11833–8. DOI: 10.1073/pnas.1901366116.

Authors:

Goryunova P.A., Eroshenko G.A., Kukleva L.M., Naryshkina E.A., Sosedova E.A., Chervyakova N.S., Kuttyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Об авторах:

Горюнова П.А., Ерошенко Г.А., Куклева Л.М., Нарышкина Е.А., Соседова Е.А., Червякова Н.С., Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.