

DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-55-61

УДК 616.98:579.842.23

Г.А. Ерошенко, Н.В. Попов, Ж.В. Альхова, А.Н. Балыкова, Л.М. Куклева, В.В. Кутырев

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ШТАММОВ *YERSINIA PESTIS* СРЕДНЕВЕКОВОГО БИОВАРА, ВЫДЕЛЕННЫХ В ПРИКАСПИЙСКОМ СЕВЕРО-ЗАПАДНОМ СТЕПНОМ ОЧАГЕ ЧУМЫ В XX СТОЛЕТИИ

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

Цель работы. Выполнение сравнительного филогенетического анализа штаммов *Yersinia pestis*, выделенных в Прикаспийском Северо-Западном степном очаге в 1924–1926 гг., 1972 г. и в 1986–1990 гг., для выяснения причин его реактивизации в различные периоды XX в. **Материалы и методы.** В работе использованы 30 штаммов *Y. pestis* из Прикаспийского Северо-Западного степного природного очага и сопредельных очагов чумы. Проведено полногеномное секвенирование восьми штаммов *Y. pestis* из этого очага, а также использованы полногеномные последовательности еще 16 штаммов из сопредельных природных очагов. Полногеномное секвенирование штаммов *Y. pestis* выполняли в Ion PGM system (Life technologies). Поиск SNPs в коровом геноме проводили с использованием программы Wombac 2.0. Для анализа филогенетических связей штаммов строили дендрограмму Maximum Likelihood, модель НКУ85. **Результаты и обсуждение.** Установлено, что в начале XX в. (1924–1926 гг.) на Ергенинской возвышенности в Прикаспийском Северо-Западном степном природном очаге циркулировали штаммы филогенетических ветвей 2.MED4 и 2.MED1 средневекового биовара основного подвида, которые в дальнейшем исчезли с этой территории. Показано, что штаммы, полученные на Ергенинской возвышенности в 1972 г., составили единый подкластер дендрограммы со штаммами из низкогорных и предгорных очагов чумы Кавказа и Закавказья этого же временного периода. Сделан вывод о том, что эпизоотические проявления на Ергенинской возвышенности в 1972 г., после длительного перерыва с 1938 г., вызваны заносом штаммов *Y. pestis* из низкогорных природных очагов чумы Кавказа и Закавказья. Отмечено, что «экспансия» кавказских штаммов носила кратковременный характер, и с 1974 г. (включая и современный период) зараженных чумой животных на Ергенинской возвышенности не регистрировали. Определено, что штаммы *Y. pestis*, выделенные в 1986–1990 гг. в восточной части Прикаспийского Северо-Западного степного очага, не имеют близкого генетического родства со штаммами, циркулировавшими на Ергенинской возвышенности в 1924–1926 гг. и 1972 г. Установлено, что каждый эпизоотический период (1913–1938 гг. и 1972–1973 гг.) в Прикаспийском Северо-Западном степном природном очаге завершился элиминацией циркулирующих штаммов *Y. pestis* и оздоровлением очаговой территории.

Ключевые слова: штаммы *Y. pestis*, Прикаспийский Северо-Западный степной очаг, филогенетический анализ, реактивизация очага.

Корреспондирующий автор: Ерошенко Галина Александровна, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Для цитирования: Ерошенко Г.А., Попов Н.В., Альхова Ж.В., Балыкова А.Н., Куклева Л.М., Кутырев В.В. Филогенетический анализ штаммов *Yersinia pestis* средневекового биовара, выделенных в Прикаспийском Северо-Западном степном очаге чумы в XX столетии. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019; 2:55–61. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-55-61

G.A. Eroshenko, N.V. Popov, Zh.V. Al'khova, A.N. Balykova, L.M. Kukleva, V.V. Kutyrev

Phylogenetic Analysis of *Yersinia pestis* Strains of Medieval Biovar, Isolated in Precaspian North-Western Steppe Plague Focus in the XX Century

Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation

Abstract. Objective of the study – comparative phylogenetic analysis of *Yersinia pestis* strains, isolated in Precaspian North-Western steppe focus in 1924–1926, 1972, and 1986–1990 to understand the causes of focal reactivation during different time periods of the XX century. **Materials and methods.** The work included 30 strains of *Yersinia pestis* from Precaspian North-Western steppe natural focus and adjacent plague foci. Whole genome sequencing of eight *Y. pestis* strains from the former was carried out. Also whole-genome sequences of 16 strains from neighboring natural foci were used. Whole-genome sequencing of *Y. pestis* strains was conducted in Ion PGM system (Life technologies). SNPs search across the core genome was performed using software package Wombac 2.0. Tree diagram Maximum Likelihood, HKU85 model, was constructed to analyze phylogenetic relations. **Results and discussion.** It is established that in early XX century (1924–1926), strains of phylogenetic branches 2.MED4 and 2.MED1, belonging to medieval biovar, main subspecies, circulated on Ergenin Upland in the Precaspian North-Western steppe natural focus. Later on they became extinct in the territory. It is shown that the strains, isolated on Ergenin Upland in 1972, constituted a common sub-cluster on the dendrogram with the strains from low-mountain and piedmont plague foci of Caucasus and Transcaucasia, dated the same time period. It was inferred that epizootic manifestations on Ergenin upland in 1972, after a long recess since 1938, were caused by importation of *Y. pestis* strains from low-mountain natural plague foci of Caucasus and Transcaucasia. It was noted that expansion of Caucasian strains was of short-term character, and plague infected animals have not been found on Ergenin Upland since 1974 (including modern period). It is established that *Y. pestis* strains isolated in the eastern part of Precaspian North-Western steppe focus between 1986 and 1990, do not have close genetic relation to the strains that circulated on Ergenin Upland in 1924–1926 and 1972. It is determined that each epizootic

period (1913–1938 and 1972–1973) in Precaspian North-Western steppe natural focus culminated in the elimination of the circulating *Y. pestis* strains and rehabilitation of the focal territory.

Key words: *Y. pestis* strains, Precaspian North-Western steppe natural focus, phylogenetic analysis, reactivation of the focus.

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

Corresponding author: Galina A. Eroshenko, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Eroshenko G.A., Popov N.V., Al'khova Zh.V., Balykova A.N., Kukleva L.M., Kuttyrev V.V. Phylogenetic Analysis of *Yersinia pestis* Strains of Medieval Biovar, Isolated in Precaspian North-Western Steppe Plague Focus in the XX Century. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019; 2:55–61. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-55-61

Received 20.05.19. Accepted 22.05.19.

Для природных очагов чумы Российской Федерации и других стран СНГ характерно чередование периодов высокой и низкой эпизоотической активности, вплоть до полного прекращения регистрации эпизоотических проявлений на 10–40 и более лет [1]. Длительное отсутствие находок зараженных животных на территории очагов получило название межэпизоотических периодов. Для объяснения механизмов сохранения чумного микроба на территории очагов и их реактивизации привлекались многочисленные гипотезы отечественных и зарубежных исследователей [2, 3]. Однако выяснить причины активизации природных очагов после длительного отсутствия эпизоотических проявлений так и не удалось. В связи с этим значительный интерес представляет сравнительный анализ штаммов *Y. pestis*, циркулировавших на территории отдельных природных очагов на протяжении XX столетия, в первую очередь, в периоды новых подъемов их эпизоотической активности. Данные полногеномного секвенирования и анализа филогенетического родства этих штаммов позволяют выявить закономерности их распространения на территориях отдельных очагов, а также установить общие механизмы циркуляции штаммов на обширных пространствах различных зон природной очаговости чумы стран СНГ и сопредельных государств.

Прикаспийский Северо-Западный степной природный очаг (ПСЗСПО) находится в юго-восточных районах Восточно-Европейской равнины, занимая в основном Ергенинскую возвышенность, северо-западную часть Прикаспийской низменности, лоцину Даван с примыкающей западной кромкой Черных земель. Административно очаг расположен на территории Республики Калмыкии и прилегающих районов Астраханской, Волгоградской, Ростовской областей. Общая площадь очага составляет 51152 км². Основным носителем – малый суслик, основные переносчики – его специфические паразиты. Находки зараженных чумой грызунов и их паразитов имели место в 1913–1937 гг., 1972–1973 гг., 1986–1990 гг. Эпидемические осложнения неоднократно регистрировали в 1878–1935 гг. В результате выполненных в 1933–1960 гг. истребительных мероприятий ПСЗСПО был оздоровлен [4, 5]. Новая волна эпизоотий отмечена здесь только после длительного перерыва в 1972–1973 гг. [6].

Для штаммов возбудителя чумы характерно генетическое разнообразие, которое связано с их распро-

странением в различных ландшафтно-климатических зонах [7–13]. На территории ПСЗСПО, как и в других очагах Прикаспия, циркулируют штаммы *Y. pestis* средневекового биовара, являющиеся высоко вирулентными и эпидемически значимыми. Местом их возникновения является, по-видимому, регион между Каспийским и Черным морями. Ранее считалось, что штаммы средневекового биовара возникли на берегах Каспийского моря и вызвали вторую пандемию чумы под названием «Черная смерть» 1347–1353 гг., уничтожившую третью часть населения средневековой Европы. Однако данные реконструкции нескольких геномов из захоронений жертв «Черной смерти» на территории Европы показали, что они относятся к античному биовару основного подвида ветви 1.ANT, которая впоследствии дала начало штаммам *Y. pestis* восточного биовара, вызвавшим третью пандемию чумы [14–16]. Штаммы средневекового биовара (филогенетическая ветвь 2.MED) получили распространение, по-видимому, позже – в XVIII–XX столетиях. Наиболее древние из них обнаружены в Центрально-Кавказском высокогорном очаге Российской Федерации и по генетической классификации филогенетических ветвей обозначаются как 2.MED0 [12, 17]. Штаммы 2.MED2 и 2.MED3 обнаружены в очагах Китая [11]. Наибольшее распространение в современный период получили штаммы более молодой ветви 2.MED1, которые занимают обширные пространства России, стран СНГ, а также встречаются в других очагах Евразии (Иран, Китай).

Целью настоящего исследования явилось выполнение сравнительного филогенетического анализа штаммов *Y. pestis*, выделенных в Прикаспийском Северо-Западном степном очаге в 1924–1926 гг., 1972 г. и в 1986–1990 гг. на смежных территориях Прикаспийской низменности, для выяснения путей формирования в XX столетии в регионах Прикаспия, Предкавказья, Кавказа и Закавказья ареалов разных филогенетических линий *Yersinia pestis* основного подвида средневекового биовара, а также причин активизации природных очагов после длительных периодов отсутствия регистрации зараженных животных.

Материалы и методы

Штаммы *Y. pestis*, условия культивирования, биохимический анализ. В работе использованы

штаммы *Y. pestis*, полученные из Государственной коллекции патогенных бактерий РосНИПЧИ «Микроб». Штаммы культивировали на агаре и в бульоне Хоттингера при 28 °С в течение 24–48 ч. Способность штаммов *Y. pestis* к ферментации сахаров, глицерина и к редукции нитратов определяли в соответствии со стандартными методами лабораторной диагностики [18].

Полногеномное секвенирование, идентификация SNPs, построение дендрограмм. ДНК штаммов *Y. pestis* выделяли с помощью набора PureLink Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen, США). Полногеномное секвенирование штаммов *Y. pestis* выполняли в Ion PGM system (Life technologies). 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, используя программу Wombac 2.0, затем удаляли 28 гомоплазий SNPs. Дендрограмму Maximum Likelihood строили с использованием программы PHYLML-3.1. В программе jMODELTEST 2.1.7 [19] была определена модель нуклеотидных замещений: модель НКУ85 (500 бутстрэп-реплик).

Результаты и обсуждение

Всего исследованы свойства 14 штаммов из ПСЗСПО. Для восьми из них проведено полногеномное секвенирование (таблица). Для изучения филогенетических связей этих штаммов проведено секвенирование еще 16 штаммов из сопредельных очагов, включая 1 штамм из Центрально-Кавказского высокогорного, 2 штамма из Терско-Сунженского низкогорного, 1 штамм из Закавказского высокогорного (Зангезуро-Карабахский мезоочаг), 2 штамма из Приараксинского низкогорного, 3 штамма из Закавказского равнинно-предгорного, 5 штаммов из Волго-Уральского песчаного, 2 штамма из Прикаспийского песчаного природных очагов (таблица).

Все 30 исследованных штаммов (из них 24 секвенированных), включая 14 штаммов из ПСЗСПО, обладали типичными для *Y. pestis* культурально-морфологическими свойствами и были единообразны по биохимическим особенностям. Они не ферментировали рамнозу и мелибиозу, что означало их принадлежность к основному подвиду возбудителя чумы. Они ферментировали глицерин, но не редуцировали нитраты, что свидетельствовало об их принадлежности к средневековому биовару основного подвида *Y. pestis*. Штаммы средневекового биовара высоковирулентные и эпидемически значимые.

Филогения штаммов из Прикаспийского Северо-Западного степного очага. Для построения дендрограммы использовано восемь полногеномных последовательностей штаммов *Y. pestis* из ПСЗСПО, а также полногеномные последовательности еще 16 штаммов из сопредельных очагов чумы. В филогенетический анализ включены также штаммы других

филогенетических линий из разных очагов мира, последовательности которых взяты из базы данных NCBI GenBank. К ним относятся геномы – Pestoides F (кавказский подвид, 0.PE2), Pestoides A (алтайский подвид, 0.PE4), 620024 (тибетский подвид, 0.PE7), CO92 (основной подвид, восточный биовар, 1.ORI), KIM10 (основной подвид, средневековый биовар 2.MED1), 91 (основной подвид, средневековый биовар, 2.MED2), CMCC125002 (основной подвид, средневековый биовар 2.MED3). На основе найденных 1655 полиморфных нуклеотидов (SNPs) в коровом геноме построена дендрограмма филогенетических связей штаммов из ПСЗСПО (рисунок).

Как следует из дендрограммы, штаммы из этого очага разделились на три отдельных кластера, принадлежащих к разным филогенетическим ветвям средневекового биовара. Три штамма *Y. pestis* 27(33), 36(55) и 70(103), выделенные в 1924, 1925, 1926 гг. от малых сусликов и их блох на Ергенинской возвышенности (Заветнинский район Ростовской области), вошли в отдельную ветвь, отделившуюся от ствола средневекового биовара ранее ветви 2.MED1. Мы обозначили эту вновь выявленную ветвь средневекового биовара как 2.MED4. В этот кластер штаммов, кроме штаммов из ПСЗСПО (рисунок, кластер 14-1), вошли два штамма из Волго-Уральского песчаного очага: *Y. pestis* 4, 1917 г., и 31(38), 1924 г. На дендрограмме (рисунок) штамм 4 предшествует всей филогенетической ветви 2.MED4. В эту ветвь также вошел штамм 146(220), 1931 г., из Закавказского высокогорного очага (Зангезуро-Карабахский мезоочаг), выделенный от человека. В настоящее время здесь циркулируют только штаммы кавказского подвида (0.PE2 по генетической классификации ветвей). Возможно, штаммы 2.MED4 встречались ранее в Зангезуро-Карабахском мезоочаге Закавказского высокогорного очага.

Таким образом, в результате полногеномного секвенирования трех штаммов основного подвида средневекового биовара *Y. pestis*, выделенных на территории Ергенинской возвышенности в 1924–1926 гг., установлено, что все они относились к филогенетической ветви 2.MED4, которая циркулировала в этом и Волго-Уральском песчаном очаге, по крайней мере, в период 1917–1926 гг. Не исключено, что с этими штаммами, представляющими более раннюю ветвь эволюции основного подвида средневекового биовара *Y. pestis*, были связаны вспышки чумы в Прикаспии в конце XVIII – начале XX веков.

Еще один штамм *Y. pestis* 9(10) основного подвида средневекового биовара из ПСЗСПО, 1923 г., вошел в другой кластер ветви 2.MED1 совместно со штаммами 2(2), 1912 г., и 15, 1923 г., из Волго-Уральского песчаного очага (рисунок, кластер 14-2). Это означает, что в Прикаспийском Северо-Западном степном очаге в начале XX в. встречались и штаммы ветви 2.MED1, которые также вызывали чуму у людей. Это подтверждается тем, что один из изученных методом фрагментного секвенирования штам-

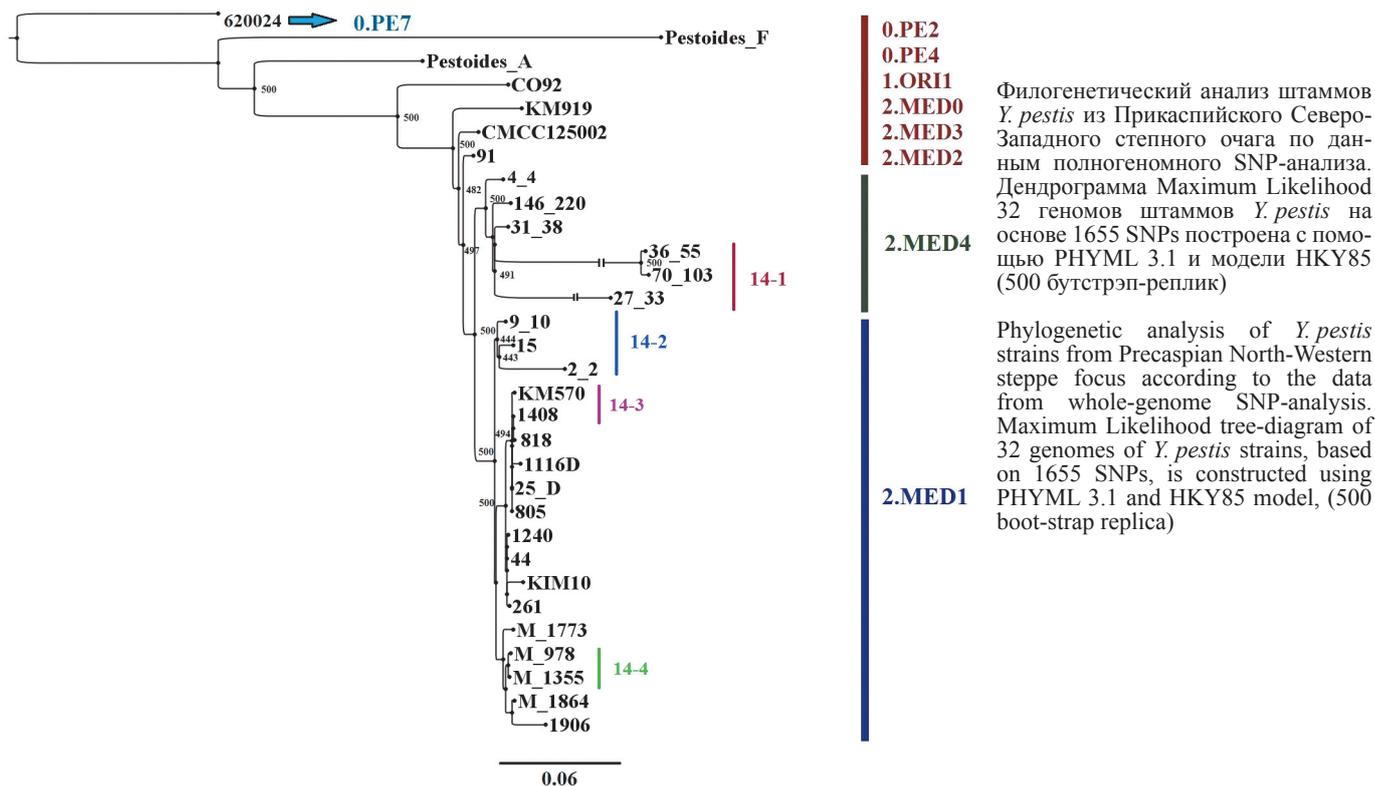
Происхождение и свойства использованных в работе штаммов *Y. pestis* из Государственной коллекции патогенных бактерий РосНИПЧИ «Микроб»Origin and properties of *Y. pestis* strains under the study, obtained from the State Collection of Pathogenic Bacteria at the premises of RusRAPI "Microbe"

№ штамма / Strain No	Название очага / Name of the focus	Объект выделения / Object of isolation	Место выделения / Place of isolation	Филогенетическая ветвь / Phylogenetic branch
146 (220)	Закавказский высокогорный (Зангезуро-Карабахский мезоочаг) / Transcaucasia high-mountain (Zangezuro-Karabakh Meso-focus)	Человек (труп), легочная форма, 1931 г. / Human (the body), pneumonic form of plague, 1931	Азербайджанская ССР, Нагорный Карабах / Azerbaïdzhān Soviet Socialist Republic, Nagorny Karabakh	2.MED4
27 (33)	Прикаспийский Северо-Западный степной / Precaspian North-Western steppe focus	Малый суслик, 1924 г. / Little souslik, 1924	Ростовская обл., Заветнинский район / Rostov Region, Zavetninsky District	2.MED4
36 (55)	Прикаспийский Северо-Западный степной / Precaspian North-Western steppe focus	Малый суслик, 1925 г. / Little souslik, 1925	Ростовская обл., Заветнинский район / Rostov Region, Zavetninsky District	2.MED4
70 (103)	Прикаспийский Северо-Западный степной / Precaspian North-Western steppe focus	Блохи малого суслика, 1926 г. / Fleas of the little souslik, 1926	Ростовская обл., с. Заветное / Rostov Region, Zavetnoe village	2.MED4
9 (10)	Прикаспийский Северо-Западный степной / Precaspian North-Western steppe focus	Человек (труп), 1923 г. / Human (the body), 1923	Ростовская обл., Заветнинский район / Rostov Region, Zavetninsky District	2.MED1
1408	Прикаспийский Северо-Западный степной / Precaspian North-Western steppe focus	Блохи малого суслика, 1972 г. / Fleas of the little souslik, 1972	Калмыцкая АССР, Приозерный район, совхоз Ергенинский / Kalmyk Autonomous Soviet Socialist Republic (ASSR), Priozerny District, Ergenin State farm	2.MED1
КМ570	Прикаспийский Северо-Западный степной / Precaspian North-Western steppe focus	Блохи малого суслика, 1972 г. / Fleas of the little souslik, 1972	Калмыцкая АССР, Приозерный район, совхоз Ергенинский / Kalmyk ASSR, Priozerny District, Ergenin State farm	2.MED1
М-1355	Прикаспийский Северо-Западный степной / Precaspian North-Western steppe focus	Блохи <i>Citellophilus tesquorum</i> , 1986 г. / Fleas <i>Citellophilus tesquorum</i> , 1986	Калмыцкая АССР, Ики-Бурульский район / Kalmyk ASSR, Iki-Burul'sky District	2.MED1
М-978 (1109 Астр.)	Прикаспийский Северо-Западный степной / Precaspian North-Western steppe focus	Малый суслик, 1990 г. / Little souslik, 1990	Калмыцкая АССР, Юстинский район, Черные Земли / Kalmyk ASSR, Yustinsky District, Chernye Zemli	2.MED1
КМ919	Центрально-Кавказский высокогорный / Central-Caucasian high-mountain focus	Блохи <i>Citellophilus tesquorum</i> , 1986 г. / Fleas <i>Citellophilus tesquorum</i> , 1986	Кабардино-Балкарская АССР / Kabardino-Balkaria ASSR	2.MED0
805	Приараксинский низкогорный / Priaraksinsky low-mountain focus	Песчанка Виноградова, 1968 г. / Vinogradov's jird, 1968	Нахичеванская АССР, Ильичевский район / Nakhichevanskaya ASSR, Il'ichevsky District	2.MED1
818	Приараксинский низкогорный / Priaraksinsky low-mountain focus	Блохи <i>Ceratophyllus caspius</i> , 1968 г. / Fleas <i>Citellophilus tesquorum</i> , 1968	–	2.MED1
25-Д	Терско-Сунженский низкогорный / Tersko-Sunzhensky low-mountain focus	Блохи <i>Ceratophyllus tesquorum</i> , 1970 г. / Fleas <i>Citellophilus tesquorum</i> , 1970	с. Новый Редан / Novy Redan village	2.MED1
1116-Д	Терско-Сунженский низкогорный / Tersko-Sunzhensky low-mountain focus	Малый суслик, 1970 г. / Little souslik, 1970	с. Ачалуки / Achaluki village	2.MED1
44	Закавказский равнинно-предгорный (Бозчельский мезоочаг) / Transcaucasia lowland-piedmont (Bozchel'sky mesofocus)	Блохи <i>Ceratophyllus laevis</i> , 1966 г. / Fleas, <i>Ceratophyllus laevis</i> , 1966	Азербайджанская ССР / Azerbaïdzhān SSR	2.MED1
1240	Закавказский равнинно-предгорный (Мильско-Карабахский мезоочаг) / Transcaucasia lowland-piedmont (Mil'sko-Karabakhsky mesofocus)	Труп краснохвостой песчанки, 1967 г. / Carcass of red tailed gerbil, 1967	Азербайджанская ССР / Azerbaïdzhān SSR	2.MED1
261	Закавказский равнинно-предгорный (Кобыстанский мезоочаг) / Transcaucasia lowland-piedmont (Kobystansky mesofocus)	Краснохвостая песчанка, 1955 г. / Red tailed gerbil, 1955	Азербайджанская ССР / Azerbaïdzhān SSR	2.MED1
4	Волго-Уральский песчаный / Volga-Ural sandy focus	Верблюд, 1917 г. / Camel, 1917	Западный Казахстан, левый берег р. Волги / West Kazakhstan, left bank of the river Volga	2.MED4
31 (38)	Волго-Уральский песчаный / Volga-Ural sandy focus	Желтый суслик, 1924 г. / Yellow souslik, 1924	Уральская губерния, левый берег р. Волги / Ural government, left bank of the river Volga	2.MED4
2 (2)	Волго-Уральский песчаный / Volga-Ural sandy focus	Человек, 1912 г. / Human, 1912	Западный Казахстан / West Kazakhstan,	2.MED1
15	Волго-Уральский песчаный / Volga-Ural sandy focus	Человек (труп), 1923 г. / Human, (the body), 1923	Уральская губерния / Ural government,	2.MED1
М-1773	Волго-Уральский песчаный / Volga-Ural sandy focus	Полуденная песчанка, 2002 г. / Midday gerbil, 2002	Астраханская область, Красноярский район / Astrakhan Region, Krasnoyarsk District	2.MED1
М-1864	Прикаспийский песчаный / Precaspian sandy focus	Полуденная песчанка, 2009 г. / Midday gerbil, 2009	Калмыкия, Лаганский район / Kalmykia, Lagansky District	2.MED1
1906	Прикаспийский песчаный / Precaspian sandy focus	Труп полуденной песчанки, 2014 г. / Carcass of midday gerbil, 2014	Республика Калмыкия, Лаганский район / Kalmykia, Lagansky District	2.MED1

мов, полученных в восточной части Прикаспийского Северо-Западного степного очага – *Y. pestis* 65(98),

1925 г., также относился к ветви 2.MED1.

Для проведения филогенетического анализа



штаммов возбудителя чумы, выделенных на территории Ергенинской возвышенности в 1972 г. после длительного межэпизоотического периода, нами проведено полногеномное секвенирование двух штаммов *Y. pestis* 1408, 1972 г., и КМ570, 1972 г. По результатам филогенетического анализа установлено, что эти два штамма относились уже к другой филогенетической ветви в составе 2.MED1. Они вошли в один тесно сгруппированный подкластер (рисунок, кластер 14-3), который включал также два штамма *Y. pestis* 25-Д и 1116-Д, выделенные в 1970 г. в Терско-Сунженском низкогорном очаге (таблица). В этот же кластер вошли два штамма 805 и 818, выделенные в 1968 г. в Приараксинском низкогорном очаге. В другой родственный подкластер вошли штаммы из Закавказского равнинно-предгорного очага, включая штамм 44, выделенный в Бозчельском мезоочаге в 1966 г., штамм 1240, выделенный в Мильско-Карабахском мезоочаге в 1967 г., штамм 261, выделенный в Кобыстанском мезоочаге в 1955 г.

Полученные результаты позволяют заключить, что штаммы *Y. pestis*, полученные на территории Ергенинской возвышенности в 1972 г., составляют единый подкластер со штаммами из низкогорных и предгорных очагов чумы Кавказа и Закавказья. В частности, они составляют единый подкластер со штаммами из Терско-Сунженского низкогорного природного очага, где эпизоотии чумы впервые зарегистрированы в 1970–1971 гг., и Приараксинского низкогорного природного очага, где эпизоотии чумы впервые зарегистрированы в 1967–1971 гг. Штаммы этого подкластера образуют общий кластер со штаммами из Закавказского равнинно-предгорного очага,

высокая эпизоотическая активность которого зарегистрирована в 1955–1959 и 1965–1971 гг.

Тот факт, что штаммы чумного микроба, выделенные в 1972 г. на территории Ергенинской возвышенности, характеризуются высокой степенью генетического родства со штаммами 1970 г. из Терско-Сунженского и штаммами 1968 г. из Приараксинского низкогорного, а также со штаммами 1955, 1966 и 1967 гг. из Закавказского равнинно-предгорного природных очагов, однозначно подтверждает их происхождение и занос из кавказских низкогорных очагов. По-видимому, они были занесены в ПСЗСПО незадолго до выявления в 1972 г. эпизоотии на Ергенинской возвышенности, т.е. в 1970–1971 гг.

Филогенетический анализ еще двух штаммов – М-1355, 1986 г и М-978, 1990 г., выделенных уже в 1986–1990 гг. в восточной части Прикаспийского Северо-Западного степного очага (на смежной территории с Ергенинской возвышенностью), показал, что они относятся к кластеру современных штаммов ветви 2.MED1. В этот кластер вошли также штаммы 1906 (2014 г.) и М-1864 (2009 г.) из Прикаспийского песчаного очага и штамм М-1773 из Волго-Уральского песчаного очага 2002 г. выделения.

Таким образом, в результате комплексного исследования штаммов *Y. pestis*, выделенных в XX столетии в Прикаспийском Северо-Западном степном очаге, установлено, что все они относятся к средневековому биовару основного подвида. Филогенетический анализ штаммов, выделенных на Ергенинской возвышенности в 20–30-е годы прошлого столетия и в 1972 г., показал, что они относятся к разным филогенетическим линиям средневекового биовара. Три штамма чумного микроба, выделен-

ные на Ергенинской возвышенности в 1924–1926 гг. из 4 секвенированных, относятся к ветви 2.MED4, которая дивергировала от общего ствола эволюции средневекового биовара ранее ветви 2.MED1. Такие же штаммы 2.MED4 циркулировали в этот период в Волго-Уральском песчаном очаге. Один штамм филогенетической линии 2.MED4 также изолирован в 1931 г. в Закавказском равнинно-предгорном очаге (Зангезуро-Карабахский мезоочаг), где в последующие годы циркуляция штаммов средневекового биовара *Y. pestis* более не отмечалась. Результаты секвенирования штаммов, полученных в регионе Северо-Западного Прикаспия в 30-х годах прошлого столетия, также подтверждают циркуляцию здесь штаммов филогенетической ветви 2.MED1 (штаммы, выделенные в 1912 г., 1923 г.).

В период 1939–1971 гг. эпизоотических проявлений на территории Ергенинской возвышенности не зарегистрировано. После длительного перерыва, эпизоотии чумы вновь выявлены здесь только в 1972–1973 гг. Проведенное полногеномное секвенирование двух штаммов *Y. pestis*, выделенных на Ергенинской возвышенности в 1972 г., показало, что они относятся к ветви 2.MED1, но к другому кластеру, удаленному от штаммов, выделенных здесь в 1924–1926 гг. При этом все штаммы, полученные в 1972 г. на Ергенинской возвышенности, вместе со штаммами из Терско-Сунженского и Приараксинского низкогорного очагов, а также штаммами из Закавказского равнинно-предгорного очага, относятся к одному тесно сгруппированному кластеру, что свидетельствует о близком филогенетическом родстве этих штаммов. Это доказывает, что штаммы *Y. pestis*, вызвавшие эпизоотии на Ергенинской возвышенности в 1972–1973 гг., занесены сюда из низкогорных очагов Кавказа. В то же время штаммы чумного микроба, выделенные в 1986–1990 гг. в восточной части ПСЗСПО, имеют другое происхождение и являются близкородственными с группами штаммов, циркулирующих в настоящее время в очагах чумы Северного и Северо-Западного Прикаспия. Следует подчеркнуть, что штаммы *Y. pestis*, выделенные в Прикаспийском Северо-Западном очаге в 1924–1926 гг., 1972 г. и в 1986–1990 гг., не имеют между собой близкого генетического родства. Их смена в этом очаге связана с общими закономерностями циркуляции штаммов *Y. pestis* в зоне Северного и Северо-Западного Прикаспия, которые еще предстоит выяснить в дальнейшем. Полученные результаты позволяют также заключить, что эпизоотии чумы 1913–1938 и 1972–1973 гг. на Ергенинской возвышенности, равно как и в других районах Прикаспийского Северо-Западного степного природного очага, завершались элиминацией циркулирующих штаммов *Y. pestis* и оздоровлением очаговой территории. Последующие эпизоотические проявления в очаге вызваны появлением здесь штаммов чумного микроба, относящихся к другим ветвям филогенетической ветви 2.MED1 средневекового биовара.

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

Список литературы

1. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Природные очаги чумы Кавказа, Прикаспия, Средней Азии и Сибири. М.: Медицина; 2004. 192 с.
2. Попов Н.В. Дискретность – основная пространственно-временная особенность проявлений чумы в очагах сусликового типа. Саратов: Изд-во СГУ; 2002. 189 с.
3. Gage K.L., Kosoy M.Y. Natural history of plague: perspective from more than a century of research. *Annu. Rev. Entomol.* 2005; 50:505–28. DOI: 10.1146/annurev.ento.50.071803.130337
4. Бочарников О.Н., Карлузида К.С., Клименко И.З., Тер-Вартанов В.Н., Тинкер И.С., Шишкин А.К., Ширяев Д.Т. Опыт работ по ликвидации энзоотии чумы в очаге Северо-Западного Прикаспия. В кн.: Природная очаговость и эпидемиология особо опасных инфекционных заболеваний. Саратов; 1959. С. 235–46.
5. Калабухов Н.И. Явление длительных перерывов эпизоотической активности природных очагов чумы и его вероятные причины. *Зоологический журнал.* 1969; 48:165–75.
6. Лавровский А.А., Варшавский С.Н., Герасимова Н.Г. и др. Эпизоотии чумы среди малых сусликов в природном очаге Северо-Западного Прикаспия в 1972–1973 гг. *Проблемы особо опасных инфекций.* 1974; 3:5–17.
7. Devignat R. Variétés de l'espèce *Pasteurella pestis*. Nouvelle hypothèse. *Bull. World Health Organ.* 1951; 4(2):241–63. PMID: PMC2554099. PMID: 14859080.
8. Achtman M., Zurth K., Morelli G., Torrea G., Guiyoule A., Carniel E. *Yersinia pestis*, the cause of plague, is a recently emerged clone of *Yersinia pseudotuberculosis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1999; 96(24):14043–8. DOI: 10.1073/pnas.96.24.14043.
9. Li Y., Cui Y., Hauck Y., Platonov M.E., Dai E., Song Y., Guo Z., Pourcel C., Dentovskaya S.V., Anisimov A.P., Yang R., Vergnaud G. Genotyping and phylogenetic analysis of *Yersinia pestis* by MLVA: Insights into the worldwide expansion of Central Asia plague foci. *PLoS ONE.* 2009; 4(6):e6000. DOI: 10.1371/journal.pone.0006000.
10. Morelli G., Song Y., Mazzone C.J., Eppinger M., Roumagnac P., Wagner D.M., Feldkamp M., Kusecek B., Vogler A.J., Li Y., Cui Y., Thomson N.R., Jombart T., Leblois R., Lichtner P., Rahalison L., Petersen J.M., Balloux F., Keim P., Wirth T., Ravel J., Yang R., Carniel E., Achtman M. *Yersinia pestis* genome sequencing identifies patterns of global phylogenetic diversity. *Nat. Genet.* 2010; 42(12):1140–3. DOI: 10.1038/ng.705.
11. 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; 110(2):577–82. DOI: 10.1073/pnas.1205750110.
12. Kutyrev V.V., Eroshenko G.A., Motin V.L., Nosov N.Y., Krasnov J.M., Kukleva L.M., Nikiforov K.A., Al'hova J.V., Oglozin E.G., Guseva N.P. Phylogeny and classification of *Yersinia pestis* through the lens of strains from the plague foci of Commonwealth of Independent States. *Front. Microbiol.* 2018; 9:1106. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01106.
13. Demeure C.E., Dussurget O., Fiol G.M., Le Guern A.-S., Savin C., Pizarro-Cerdá J. *Yersinia pestis* and plague: an updated view on evolution, virulence determinants, immune subversion, vaccination, and diagnostics. *Genes Immun.* 20(5):357–70. DOI: 10.1038/s41435-019-0065-0.
14. Spyrou M. A., Tukhbatova, R. I., Feldman, M., Drath, J., Kacki, S., Beltrán de Heredia J., Arnold S., Sitdikov A.G., Castex D., Wahl J., Gazimzyanov I.R., Nurgaliev D.K., Herbig A., Bos K.I., Krause J. Historical *Y. pestis* genomes reveal the European Black Death as the source of ancient and modern plague pandemics. *Cell Host Microbe.* 2016; 19(6):874–81. DOI: 10.1016/j.chom.2016.05.012.
15. Seifert L., Wiechmann I., Harbeck M., Thomas A., Grupe G., Projahn M., Scholz H.C., Riehm J.M. Genotyping *Yersinia pestis* in historical plague: evidence for long-term persistence of *Y. pestis* in Europe from the 14th to the 17th century. *PLoS ONE.* 2016; 11(1):e0145194. DOI: 10.1371/journal.pone.0145194.
16. Bos K.I., Herbig A., Sahl J., Waglechner N., Fourment M., Forrest S.A., Klunk J., Schuenemann V.J., Poinar D., Kuch M., Golding G.B., Dutour O., Keim P., Wagner D.M., Holmes E.C., Krause J., Poinar H.N. Eighteenth century *Yersinia pestis* genomes reveal the long-term persistence of an historical plague focus. *Elife.* 2016; 5:e12994. DOI: 10.7554/eLife.12994.
17. Жаринова Н.В., Брюханова Г.Д., Еременко Е.И., Брюханов А.Ф., Бейер А.П., Царева Н.С., Зайцев А.А. Свойства штаммов чумного микроба, циркулирующих в Центрально-

Кавказском высокогорном природном очаге чумы. В кн.: Актуальные проблемы эпидемиологии и профилактики инфекционных болезней. Самара; 2004. Т. 2. С. 14.

18. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Лабораторная диагностика особо опасных инфекционных болезней. М.: ЗАО «Шико»; 2013. 560 с.

19. Darriba D., Taboada G.L., Doallo R., Posada D. jModel-Test 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*. 2012; 9(8):772. DOI: 10.1038/nmeth.2109.

References

1. Onishchenko G.G., Kutuyrev V.V., editors. [Natural Plague Foci in the Territory of Caucasus, Caspian-Sea Region, Central Asia, and Siberia]. M.: "Meditsina"; 2004. 192 p.

2. Popov N.V. [Discreteness – main spatial-temporal feature of plague manifestations in the foci of souslik type]. Saratov: Saratov State University Publishing House; 2002. 189 p.

3. Gage K.L., Kosoy M.Y. Natural history of plague: perspective from more than a century of research. *Annu. Rev. Entomol.* 2005; 50:505–28. DOI: 10.1146/annurev.ento.50.071803.130337

4. Bocharnikov O.N., Karpuzidi K.S., Klimchenko I.Z., Ter-Vartanov V.N., Tinker I.S., Shishkin A.K., Shiryaev D.T. [Experience in eradication of plague epizooty in the Precaspian North-Western Focus]. In: [Natural Focality and Epidemiology of Particularly Dangerous Infectious Diseases]. Saratov; 1959. P. 235–46.

5. Kalabukhov N.I. [Phenomenon of long-term recesses in epizootic activity of natural plague foci and its possible causes]. *Zoologicheskyy Zhurnal [Zoological Journal]*. 1969; 48: 165–175.

6. Lavrovsky A.A., Varshavsky S.N., Gerasimova N.G., et al. [Plague epizootics among the little souslik in natural Precaspian North-Western Focus in 1972–1973]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 1974; 3:5–17.

7. Devignat R. Variétés de l'espèce *Pasteurella pestis*. Nouvelle hypothèse. *Bull. World Health Organ.* 1951; 4(2):241–63. PMID: PMC2554099. PMID: 14859080.

8. Achtman M., Zurth K., Morelli G., Torrea G., Guiyoule A., Carniel E. *Yersinia pestis*, the cause of plague, is a recently emerged clone of *Yersinia pseudotuberculosis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1999; 96(24):14043–8. DOI: 10.1073/pnas.96.24.14043.

9. Li Y., Cui Y., Hauck Y., Platonov M.E., Dai E., Song Y., Guo Z., Pourcel C., Dentovskaya S.V., Anisimov A.P., Yang R., Vergnaud G. Genotyping and phylogenetic analysis of *Yersinia pestis* by MLVA: Insights into the worldwide expansion of Central Asia plague foci. *PLoS ONE*. 2009; 4(6):e6000. DOI: 10.1371/journal.pone.0006000.

10. Morelli G., Song Y., Mazzoni C.J., Eppinger M., Roumagnac P., Wagner D.M., Feldkamp M., Kusecek B., Vogler A.J., Li Y., Cui Y., Thomson N.R., Jombart T., Leblois R., Lichtner P., Rahalison L., Petersen J.M., Balloux F., Keim P., Wirth T., Ravel J., Yang R., Carniel E., Achtman M. *Yersinia pestis* genome sequencing identifies patterns of global phylogenetic diversity. *Nat. Genet.* 2010; 42(12):1140–3. DOI: 10.1038/ng.705.

11. 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; 110(2):577–82. DOI: 10.1073/pnas.1205750110.

12. Kutuyrev V.V., Eroshenko G.A., Motin V.L., Nosov N.Y., Krasnov J.M., Kukleva L.M., Nikiforov K.A., Al'hova J.V., Oglodin E.G., Guseva N.P. Phylogeny and classification of *Yersinia pestis* through the lens of strains from the plague foci of Commonwealth of Independent States. *Front. Microbiol.* 2018; 9:1106. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01106.

13. Demeure C.E., Dussurget O., Fiol G.M., Le Guern A.-S., Savin C., Pizarro-Cerdá J. *Yersinia pestis* and plague: an updated view on evolution, virulence determinants, immune subversion, vaccination, and diagnostics. *Genes Immun.* 20(5):357–70. DOI: 10.1038/s41435-019-0065-0.

14. Spyrou M. A., Tukhbatova, R. I., Feldman, M., Drath, J., Kacki, S., Beltrán de Heredia J., Arnold Š., Sittikov A.G., Castex D., Wahl J., Gazimzyanov I.R., Nurgaliev D.K., Herbig A., Bos K.I., Krause J. Historical *Y. pestis* genomes reveal the European Black Death as the source of ancient and modern plague pandemics. *Cell Host Microbe*. 2016; 19(6):874–81. DOI: 10.1016/j.chom.2016.05.012.

15. Seifert L., Wiechmann I., Harbeck M., Thomas A., Grupe G., Projahn M., Scholz H.C., Riehm J.M. Genotyping *Yersinia pestis* in historical plague: evidence for long-term persistence of *Y. pestis* in Europe from the 14th to the 17th century. *PLoS ONE*. 2016; 11(1):e0145194. DOI: 10.1371/journal.pone.0145194.

16. Bos K.I., Herbig A., Sahl J., Waglechner N., Fourment M., Forrest S.A., Klunk J., Schuenemann V.J., Poinar D., Kuch M., Golding G.B., Dutour O., Keim P., Wagner D.M., Holmes E.C., Krause J., Poinar H.N. Eighteenth century *Yersinia pestis* genomes reveal the long-term persistence of an historical plague focus. *Elife*. 2016; 5:e12994. DOI: 10.7554/eLife.12994.

17. Zharinova N.V., Bryukhanova G.D., Eremenko E.I., Bryukhanov A.F., Beyer A.P., Tsareva N.S., Zaitsev A.A. [Properties of plague microbe strains, circulating in Central-Caucasian high-mountain natural plague focus]. In: [Relevant Issues of Epidemiology and Prophylaxis of Infectious Diseases]. Samara; 2004. Vol. 2. P. 14.

18. Onishchenko G.G., Kutuyrev V.V., editors. [Laboratory Diagnostics of Particularly Dangerous Infectious Diseases]. M.: "Shiko"; 2013. 560 p.

19. Darriba D., Taboada G.L., Doallo R., Posada D. jModel-Test 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*. 2012; 9(8):772. DOI: 10.1038/nmeth.2109.

Authors:

Eroshenko G.A., Popov N.V., Al'khova Zh.V., Balykova A.N., Kukleva L.M., Kutuyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Об авторах:

Ерошенко Г.А., Попов Н.В., Альхова Ж.В., Балькова А.Н., Куклева Л.М., Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Поступила 20.05.19.

Принята к публ. 22.05.19.