

DOI: 10.21055/0370-1069-2019-3-34-42

УДК 616.98:579.842.23(517.3)

С.В. Балахонов<sup>1</sup>, М.Б. Ярыгина<sup>1</sup>, А.С. Гладких<sup>1</sup>, Л.В. Миронова<sup>1</sup>, С.И. Феранчук<sup>1</sup>, Н.О. Бочалгин<sup>1</sup>,  
Е.Н. Рождественский<sup>2</sup>, С.А. Витязева<sup>1</sup>, Б. Нацагдорж<sup>3</sup>, Д. Цэрэнноров<sup>3</sup>, Н. Цогбадрах<sup>3</sup>, С.А. Косилко<sup>1</sup>,  
В.М. Корзун<sup>1</sup>

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАММОВ *YERSINIA PESTIS*, ВЫДЕЛЕННЫХ НА МОНГОЛЬСКОЙ ТЕРРИТОРИИ ТРАНСГРАНИЧНОГО САЙЛЮГЕМСКОГО ПРИРОДНОГО ОЧАГА ЧУМЫ

<sup>1</sup> ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт», Иркутск, Российская Федерация;

<sup>2</sup> ФКУЗ «Алтайская противочумная станция», Горно-Алтайск, Российская Федерация;

<sup>3</sup> Национальный центр по изучению зоонозных инфекций, Улаанбаатар, Монголия

**Цель** – изучение филогенетической принадлежности и родственных связей штаммов чумного микроба, изолированных из полевого материала в ходе эпизоотологического обследования монгольской части трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы. **Материалы и методы.** MLVA25-типирование проведено на 81 штамме чумного микроба, 55 из которых изолированы в 2017–2018 гг. на территории монгольской части трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы. В качестве группы сравнения использованы штаммы возбудителя чумы, выделенные в природных очагах Северо-Западной Монголии и Южной Сибири в разные годы. Проведено полногеномное секвенирование 21 штамма чумного микроба основного подвида, выделенных в Монголии в 2018 и 1988–1990 гг. и в Российской Федерации (Горный Алтай) в 2012–2016 гг. SNP-типирование выполнялось на основании анализа полных геномов штаммов *Yersinia pestis*, определенных в настоящем исследовании, а также геномов, размещенных в международной базе данных GenBank. Поиск однонуклеотидных полиморфизмов в геномах чумного микроба осуществлялся двумя способами: с помощью программы snippy v. 4.3.5 и с использованием пакета mummer v. 3.1 и ряда авторских скриптов. Филогенетическая реконструкция выполнялась с использованием метода RAxML. **Результаты и обсуждение.** По результатам MLVA25 *Y. pestis* subsp. *pestis* выявлено, что штаммы, изолированные в монгольской и российской частях Сайлюгемского и Хуух-Сэрх-Мунх-Хаирханского природных очагов, входят в один кластер. При SNP-типировании изученные изоляты с монгольской и российской территорий группируются с высоким уровнем достоверности в филогенетическую линию 4.ANT, что свидетельствует о генетическом сходстве указанных групп патогена. Данные MLVA- и SNP-типирования показывают незначительную вариабельность возбудителя чумы на территории монгольской части трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы. На основании проведенного исследования и результатов эпизоотологического мониторинга приграничных территорий России и Монголии можно сделать предположение о постепенном широком проникновении *Y. pestis* subsp. *pestis* в поселения, преимущественно, серого сурка в Юго-Восточном Алтае из Северо-Западной Монголии.

**Ключевые слова:** *Yersinia pestis*, MLVA25-типирование, SNP-типирование, трансграничный Сайлюгемский природный очаг чумы.

Корреспондирующий автор: Балахонов Сергей Владимирович, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.

Для цитирования: Балахонов С.В., Ярыгина М.Б., Гладких А.С., Миронова Л.В., Феранчук С.И., Бочалгин Н.О., Рождественский Е.Н., Витязева С.А., Нацагдорж Б., Цэрэнноров Д., Цогбадрах Н., Косилко С.А., Корзун В.М. Молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Yersinia pestis*, выделенных на монгольской территории трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019; 3:34–42. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-3-34-42

S.V. Balakhonov<sup>1</sup>, M.B. Yarygina<sup>1</sup>, A.S. Gladkikh<sup>1</sup>, L.V. Mironova<sup>1</sup>, S.I. Feranchuk<sup>1</sup>, N.O. Bochalgin<sup>1</sup>,  
E.N. Rozhdestvensky<sup>2</sup>, S.A. Vityazeva<sup>1</sup>, B. Natsagdorzh<sup>3</sup>, D. Tserennorov<sup>3</sup>, N. Tsogbadrakh<sup>3</sup>,  
S.A. Kosilko<sup>1</sup>, V.M. Korzun<sup>1</sup>

## Molecular-Genetic Characteristics of *Yersinia pestis* Strains Isolated in the Mongolian Territory of Transboundary Sailyugem Natural Plague Focus

<sup>1</sup> Irkutsk Research Anti-Plague Institute, Irkutsk, Russian Federation;

<sup>2</sup> Altai Plague Control Station, Gorno-Altai, Russian Federation;

<sup>3</sup> National Centre for Zoonotic Infections, Ulaanbaator, Mongolia

**Abstract. Objective:** investigation of phylogenetic origin and affinity of *Yersinia pestis* strains isolated from field material collected during the epizootologic survey of the Mongolian part of trans-boundary Sailyugem natural plague focus. **Materials and methods:** MLVA25-typing of 81 *Y. pestis* strains, including 55 isolates from the Mongolian part of transboundary Sailyugem natural plague focus, collected in 2017–2018 was carried out. The plague agent strains isolated in different years in the natural foci of Northwest Mongolia and Southern Siberia were used as comparison group. Whole genome sequencing was performed for 21 *Y. pestis* subspecies *pestis* isolated in Mongolia in 2018 and 1988–1990 and in Gorny Altai of the Russian Federation in 2012–2016. SNP-typing was conducted on the basis of whole genomes

of *Y. pestis* strains identified in the current research and also genomes from GenBank international database. Search of single nucleotide polymorphisms in *Y. pestis* genomes was carried out in two ways: by means of snippy v. 4.3.5 software and using mummer v. 3.1 package and a set of the author's scripts. Phylogenetic reconstruction was conducted with the help of RAxML method. **Results and discussion:** Results of MLVA25 typing of *Y. pestis* subsp. *pestis* demonstrated that the strains isolated in Mongolian and Russian parts of the Sailyugem and Khuukh-Serkh-Munkh-Khairkhan natural foci belong to one common cluster. SNP-typing placed the studied isolates from the Mongolian and Russian territories into 4.ANT phylogenetic line with high level of reliability which testifies to the genetic similarity of the specified pathogen groups. The data of MLVA- and SNP-typing showed insignificant variability of the plague agent in the territory of the Mongolian part of trans-boundary Sailyugem natural plague focus. On the basis of the conducted research and results of epizootiological monitoring of Russia and Mongolia border territories it is possible to draw a conclusion on gradual wide penetration of *Y. pestis* subsp. *pestis* mainly into grey marmot settlements in Southeast Altai from Northwest Mongolia.

**Key words:** *Yersinia pestis*, MLVA25-typing, SNP-typing, trans-boundary Sailyugem natural plague focus.

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

**Corresponding author:** Sergey V. Balakhonov, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.

**Citation:** Balakhonov S.V., Yarygina M.B., Gladikh A.S., Mironova L.V., Feranchuk S.I., Bochalgin N.O., Rozhdestvensky E.N., Vityazeva S.A., Natsagdorzh B., Tserennorov D., Tsogbadrakh N., Kosilko S.A., Korzun V.M. Molecular-Genetic Characteristics of *Yersinia pestis* Strains Isolated in the Mongolian Territory of Transboundary Sailyugem Natural Plague Focus. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2019; 3:34–42. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2019-3-34-42

Received 17.06.19. Revised 05.07.19. Accepted 12.08.19.

Трансграничный Сайлюгемский природный очаг чумы располагается по обе стороны государственной границы Российской Федерации (РФ) и Монголии на севере Центрально-Азиатской зоны природной очаговости чумы. Общая суммарная площадь очага составляет около 28600 км<sup>2</sup>, из которых примерно 17 тыс. км<sup>2</sup> приходится на территорию Монголии. Эпизоотическая активность по чуме в очаге впервые зарегистрирована в 1953 г. на монгольской части очага, позднее – в 1961 г. на территории РФ. Однако эпидпотенциал данного очага оценивался длительное время как невысокий, так как при микробиологическом мониторинге регистрировалось выделение штаммов чумного микроба только алтайского и в редких случаях улэгейского подвидов, обладающих избирательной вирулентностью и, соответственно, низкой эпидемиологической значимостью [1]. С 2012 г. на российской части Сайлюгемского очага обнаружены, преимущественно в популяциях серого сурка, эпизоотии чумы, вызванные *Yersinia pestis* основного подвида [2]. Дальнейшее распространение на очаговой территории данного высоковирулентного таксона возбудителя вызвало появление манифестных спорадических случаев чумы среди людей в Кош-Агачском районе Республики Алтай [3].

**Цель работы** – изучение филогенетической принадлежности и родственных связей штаммов чумного микроба, изолированных из полевого материала в ходе эпизоотологического обследования монгольской части трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы.

## Материалы и методы

MLVA25-типирование проведено на 81 штамме чумного микроба, 55 из которых изолированы в 2017–2018 гг. на территории монгольской части трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы (таблица). В качестве группы сравнения использованы штаммы возбудителя чумы, выделенные в при-

родных очагах чумы Северо-Западной Монголии и Южной Сибири в разные годы и хранящиеся в коллекции музея живых культур Иркутского научно-исследовательского противочумного института. Для контроля использовался штамм *Y. pestis* EV НИИЭГ.

**MLVA25-типирование.** Для MLVA25-типирования (Multiple-Locus variable number tandem repeat analysis, мультилокусный анализ варибельного числа tandemных повторов по 25 варибельным локусам) экстракцию ДНК осуществляли с помощью набора реагентов «Рибо-преп» (Россия). Анализ проводили, как описано ранее [4–6]. На основании полученных данных методом попарного невзвешенного кластрирования с арифметическим усреднением (Unweighted pair-group method using arithmetic averages, UPGMA)

Количество, происхождение и год выделения использованных в работе штаммов *Y. pestis* subsp. *pestis*

The number, origin, and the year of isolation of *Y. pestis* subsp. *pestis* strains utilized in the study

Природный очаг чумы Natural plague focus	Год выделения Year of isolation	Кол-во штаммов Number of strains
Монгольская часть Сайлюгемского очага Mongolian part of the Sailyugem focus	2017	8
	2018	47
Российская часть Сайлюгемского очага (Горно-Алтайский высокогорный очаг) Russian part of the Sailyugem focus (Gorno-Altai high-mountain focus)	2012	1
	2014	2
	2015	2
	2016	3
	2017	5
	2018	3
Хуух-Сэрх-Мунх-Хаирханский очаг Khuukh-Serkh-Munkh-Khairkhan focus	1988	3
	1990	1
Тувинский горный очаг Tuva mountain focus	1967	1
	1994	1
	2015	1
	2016	3

с помощью компьютерной программы Bionumerics 7.6 построена дендрограмма, показывающая филогенетические связи штаммов возбудителя чумы.

**Полногеномное SNP-типирование.** Для проведения полногеномного секвенирования геномная ДНК 21 штамма *Y. pestis* выделена с помощью набора «Dneasy Blood & Tissue Kit» (Германия) согласно инструкции производителя. Геномные библиотеки созданы по протоколу для приготовления ДНК-библиотек с реагентами Nextera XT DNA Library preparation kit (США). Секвенирование произведено на приборе Illumina MiSeq™ system (США) с использованием набора V3, дающего прочтения 2x300 нуклеотидов.

Первичный процессинг исходных данных произведен программно-аппаратным комплексом Illumina MiSeq. Сборку контигов *de novo* осуществляли с помощью программы SPAdes 3.13.0 [7] с выставлением строгих параметров для максимальной корректности сборок.

Для проведения полногеномного SNP-типирования использовано два подхода. Первый включал в себя выравнивание прочтений на геном референсного штамма *Y. pestis* CO92 и поиск полиморфизмов с помощью программы snippy v. 4.3.5 [8], разработанной специально для поиска SNP в геноме гаплоидных организмов. Второй подход заключался в картировании собранных *de novo* контигов на геном референсного штамма *Y. pestis* CO92 с помощью пакета mummer v. 3.1 [9] и ряда авторских скриптов, разработанных на bash, python и C++. Для реализации подхода сначала составляли промежуточные файлы со списками полиморфизмов для каждого штамма, которые далее преобразовывали в единое выравнивание. Из общего списка исключены 28 гомоплазийных полиморфизмов а также те, расстояние между которыми в геноме составляло менее 200 нуклеотидов. Таким образом, алгоритм позволил избежать включения в анализ как ошибок секвенирования, так и рекомбинантных событий, фильтруя близко расположенные друг к другу SNP. В анализ, помимо полученных в ходе данной работы геномов штаммов чумного микроба, включены 28 геномов *Y. pestis*, депонированных в GenBank [10]. Авторские скрипты депонированы в хранилище открытого доступа Zenodo (DOI: 10.5281/zenodo.3264013).

Филогенетическая реконструкция выполнялась с использованием метода RAxML в программе RAxML v. 8.2.4 [11] с использованием модели GTR с учетом гамма-распределения. Оценку достоверности узлов ветвления проводили путем запуска бутстреп-анализа с 1000х итераций. Визуализация проводилась в программе FigTree 1.4.2 [12], для укоренения дерева использовали штамм *Y. pestis* Pestoides F как максимально дистанцированный вариант в выборке.

### Результаты и обсуждение

MLVA25-типирование проведено на 81 изоляте чумного микроба, их филогенетическое

родство представлено на дендрограмме (рис. 1). Исследованные штаммы делятся на два кластера. Кластер А сформирован исключительно штаммами *Y. pestis* subsp. *pestis*, изолированными в Тувинском природном очаге России. Кластер В образован двумя ветвями. Первая из них – ВI – представлена 10 штаммами чумного микроба основного, эпидемически значимого подвида, из которых 8 – выделены в монгольской части в 2017 г. и 2 – в 2014 г. в российской части Сайлюгемского природного очага. Вторая ветвь – ВII – состоит из двух групп. В группу ВII<sub>1</sub> входят три изолята *Y. pestis* subsp. *pestis*, выделенные в 1988 г. из природного очага чумы Хуух-Сэрх-Мунх-Хаирхан, расположенного в Северо-Западной Монголии в отрогах хребта Монгольского Алтая (Дэлуун-сомон, Баян-Улгийский аймак Монголии). Группа ВII<sub>2</sub> включает 61 штамм *Y. pestis* subsp. *pestis*, изолированный в монгольской (2018 г.) и российской (2012, 2015–2018 гг.) частях Сайлюгемского природного очага чумы.

Кластер В представляет собой однородный комплекс MLVA25-генотипов штаммов чумного микроба, изолированных как на монгольской, так и на российской частях трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы в разные годы. Следует акцентировать внимание на том, что в него входят и штаммы, изолированные в 1988 г. в Хуух-Сэрх-Мунх-Хаирханском природном очаге, который расположен примерно в 200 км от энзоотичной территории Сайлюгемского природного очага и относится к группе очагов Монгольского Алтая. Между штаммами, входящими в кластер В, проявляются минимальные различия по трем локусам: *yp2769ms06* (7 и 8 повторов), *yp1335ms46* (16–18) и *yp4280ms62* (7–17).

Между кластерами А и В выявлены различия по семи локусам: *yp2769ms06* (7 и 8 повторов), *yp3057ms09* (9 и 37), *yp0559ms15* (9 и 10), *yp1335ms46* (16–18), *yp3060ms56* (8 и 9), *yp4280ms62* (7–17) и *yp1580ms70* (6 и 7).

Таким образом, кластер А включает только штаммы чумного микроба из Тувинского, а кластер В – только из Сайлюгемского и Хуух-Сэрх-Мунх-Хаирханского природных очагов. Это свидетельствует о наличии определенных генетических различий между возбудителем чумы основного подвида, циркулирующим с одной стороны в Тувинском, а с другой – в Сайлюгемском и Хуух-Сэрх-Мунх-Хаирханском очагах.

При проведении SNP-типирования для установления филогенетического положения штаммов из Сайлюгемского природного очага чумы применен подход, описанный ранее [13]. Получена матрица полиморфизмов длиной 636 нуклеотидов. При этом не выявлено SNP, дифференцирующих штаммы чумного микроба основного подвида, выделенные в Монголии в 2018 г. и в Российской Федерации (Горный Алтай) в 2012–2016 гг., в том числе и изоляты, полученные в период эпидемических



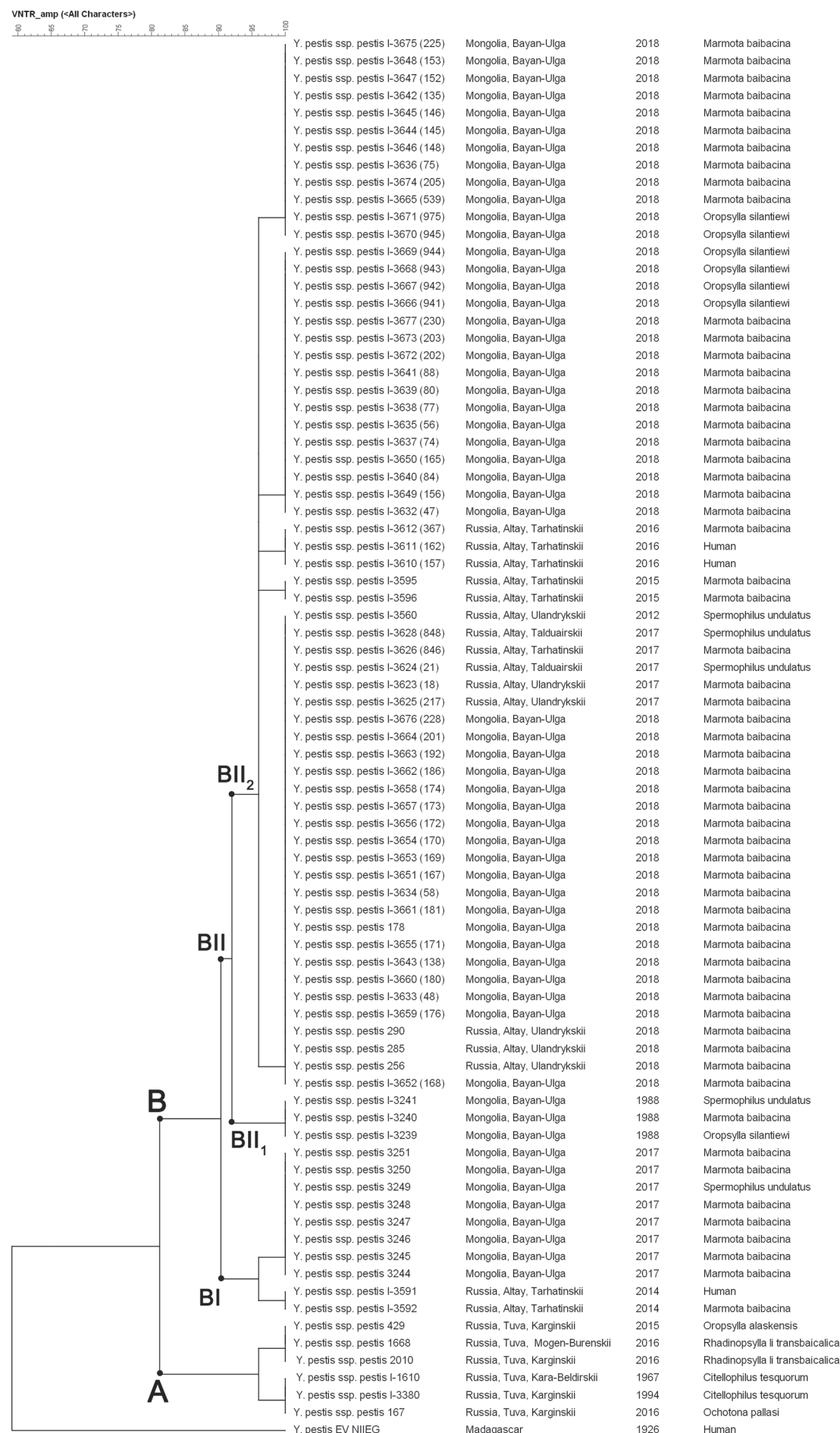


Рис. 1. Дендрограмма, иллюстрирующая степень родства исследованных штаммов *Y. pestis* subsp. *pestis*, изолированных в Тувинском (кластер А) и Сайлюгемском (кластер В) природных очагах чумы, построенная на основании MLVA25-типирования методом попарного невзвешенного кластрирования с арифметическим усреднением (UPGMA)

Fig. 1. Dendrogram demonstrating the degree of affinity between the investigated *Y. pestis* subsp. *pestis* strains isolated in Tuva (cluster A) and Sailyugem (cluster B) natural plague foci, constructed on the basis of MLVA25-typing using paired unweighted clustering with arithmetic mean (UPGMA)

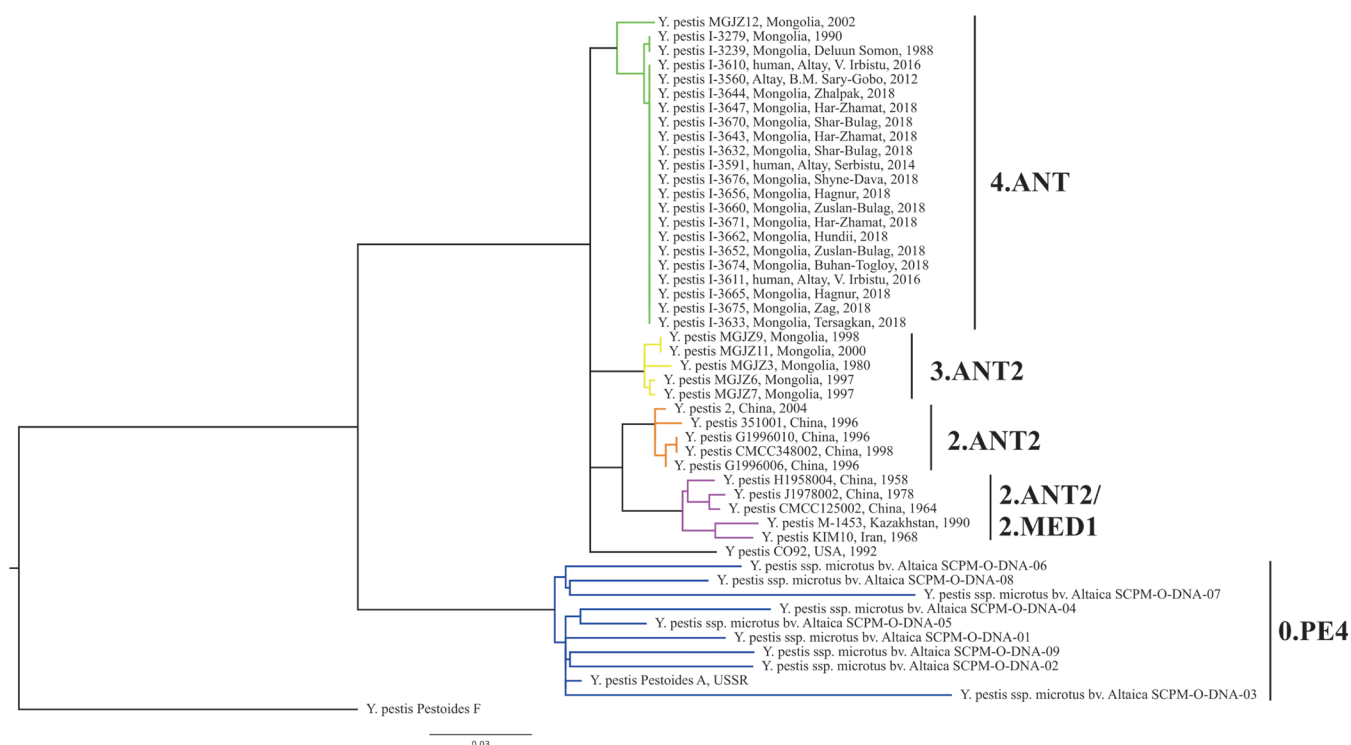


Рис. 2. Филогенетический анализ штаммов *Y. pestis* на основании 636 коровых SNP с применением опубликованных ранее алгоритмов. Дендрограмма построена методом RaxML с использованием модели GTR с учетом гамма-распределения. Цветом выделены ветви, принадлежащие к разным филогенетическим линиям. В качестве базальной ветви выбран штамм *Y. pestis* Pestoides F

Fig. 2. The phylogenetic analysis of *Y. pestis* strains on the basis of 636 core SNPs with application of the algorithms published earlier. Dendrogram is constructed by RaxML method using GTR model, taking into account the  $\gamma$ -distribution. The branches belonging to different phylogenetic lines are colored. *Y. pestis* Pestoides F strain is selected as a basal branch

осложнений. При филогенетической реконструкции указанные штаммы группируются вместе с изолятами *Y. pestis* subsp. *pestis* I-3239 и *Y. pestis* subsp. *pestis* I-3279, формирующими на древе параллельный кластер с дистанцией в 2 SNP, а также с *Y. pestis* MGJZ12, выделенным в 2002 г. на территории Баян-Улгийского аймака (Монголия), образуя филогенетическую линию 4.ANT (рис. 2). Штаммы *Y. pestis* subsp. *pestis* I-3239 и *Y. pestis* subsp. *pestis* I-3279 изолированы специалистами Иркутского НИПЧИ и Алтайской ПЧС на фоне разлитой эпизоотии чумы в 1988 и 1990 гг. соответственно. Изолят 1988 г. (*Y. pestis* subsp. *pestis* I-3239) выделен в Хуух-Сэрх-Мунх-Хаирханском природном очаге, примерно в 200 км от энзоотичной территории трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы. Штамм *Y. pestis* subsp. *pestis* I-3279 изолирован в 1990 г. примерно в 150 км от озера Толбо-Нуур. В эти же годы в данной местности отмечались эпидемические осложнения по чуме среди населения Баян-Улгийского аймака, в том числе с летальным исходом. Выделенные ранее на территории Средней Азии, Монголии и Китая штаммы основного подвида *Y. pestis* формируют на древе филогенетические линии 3.ANT, 2.ANT, 2.MED, что согласуется с полученными ранее данными инфравидовой дифференциации возбудителя чумы [10, 14]. Штаммы неосновных подвигов образуют удаленный кластер с высокой вариабельностью вну-

три него (рис. 2). Все кластеры имеют высокую достоверность в ключевых узлах бифуркации.

Для уточнения клональной идентичности исследуемых штаммов *Y. pestis* и подтверждения филогенетических взаимосвязей применен авторский подход для выявления SNP. Сформированная матрица полиморфизмов составила 1363 нуклеотида. На дендрограмме, построенной с использованием данного подхода, прослеживаются те же закономерности топологии – все штаммы выборки дифференцируются на филогенетические линии 0.PE, 2.MED, 2.ANT, 3.ANT и 4.ANT. При этом распределение на генотипы выделенных ранее на территории Средней Азии, Монголии и Китая штаммов *Y. pestis* основного подвида согласуется с данными Y. Cui *et al.* [10].

Штаммы с монгольской территории трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы, выделенные в 2018 г. из Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы РФ (2012, 2014, 2016 гг.), а также *Y. pestis*, изолированные на территории Монголии ранее (*Y. pestis* MGJZ12, 2002; *Y. pestis* I-3239 и I-3279, 1988 и 1990 гг.), группируются с высоким уровнем достоверности в филогенетическую линию 4.ANT. Однако, в отличие от предыдущего подхода к типированию, при данном варианте анализа изоляты 2018 г. с территории Монголии и России, отнесенные к группе I (рис. 3), демонстрируют внутригрупповую вариабельность с

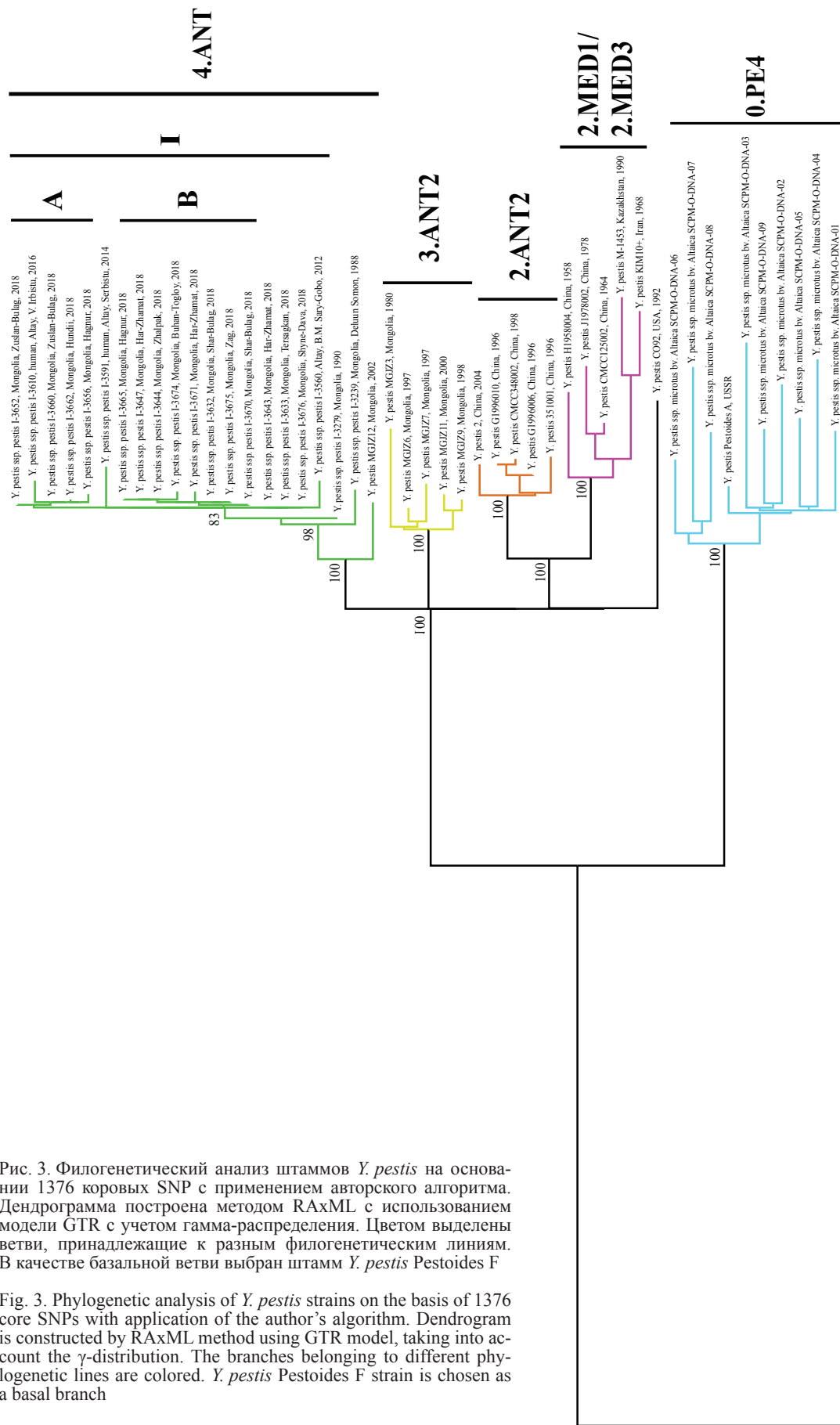


Рис. 3. Филогенетический анализ штаммов *Y. pestis* на основании 1376 коровых SNP с применением авторского алгоритма. Дендрограмма построена методом RAxML с использованием модели GTR с учетом гамма-распределения. Цветом выделены ветви, принадлежащие к разным филогенетическим линиям. В качестве базальной ветви выбран штамм *Y. pestis* Pestoides F

Fig. 3. Phylogenetic analysis of *Y. pestis* strains on the basis of 1376 core SNPs with application of the author's algorithm. Dendrogram is constructed by RAxML method using GTR model, taking into account the  $\gamma$ -distribution. The branches belonging to different phylogenetic lines are colored. *Y. pestis* Pestoides F strain is chosen as a basal branch

межштаммовыми различиями, составляющими от 0 до 20 SNP. Одна из сформированных подгрупп образована тремя штаммами *Y. pestis* с идентичными SNP-профилями (I-3633, I-3643, I-3676), лежащими в основании группы I. Далее прослеживается ветвление дендрограммы с формированием двух подгрупп IA и IB и ряда уникальных генотипов в виде отдельных ветвей. Базальная ветвь линии 4.ANT представлена *Y. pestis* MGJZ12.

Анализ географической приуроченности показал, что штаммы, лежащие в основании группы I, равномерно распределены на обследованной приграничной территории монгольской части Сайлюгемского природного очага и обнаруживаются на восточном (Шине-Дава), центральном (Терсагкан) и западном (Хар-Жамат) участках (рис. 4). Отдельные ветви, отходящие от основания группы, формируют два штамма *Y. pestis* subsp. *pestis*: I-3560 – впервые выделенный в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге чумы в 2012 г. от трупа длиннохвостого суслика, и I-3591 – от больного человека в том же очаге в 2014 г. Различия их с *Y. pestis* из основания группы составляют 10–15 SNP. Что касается идентифицированных подгрупп (IA и IB), то выявлены некоторые особенности географического распределения их на территории монгольской части очага. Так, в западных секторах доминируют штаммы, отнесенные к подгруппе IA, тогда как в центральном и восточном участках обнаруживаются *Y. pestis* subsp. *pestis*, отнесенные к обеим подгруппам.

Таким образом, объединение в линию 4.ANT античного биовара исследованных штаммов чумного микроба *Y. pestis* subsp. *pestis*, выделенных на при-

граничной с Россией территории монгольской части Сайлюгемского природного очага и на фоне обострения эпидемиологической ситуации на российской территории, дает основание сделать заключение о генетическом сходстве указанных вариантов патогена. Выявленная незначительная вариабельность геномов штаммов чумного микроба на территории Сайлюгемского природного очага, по данным MLVA- и SNP-типирования, свидетельствует в пользу определенной гетерогенности возбудителя. Известно, что чумной микроб относится к группе генетически мноморфных патогенов с невысокой скоростью накопления мутаций в популяциях [15]. Увеличение числа генетических событий, как правило, происходит во время эпидемических осложнений при интенсивном пассаже возбудителя через восприимчивый организм [10] или в период активных разлитых эпизоотий с вовлечением различных видов переносчиков и носителей инфекции. Изменения отдельных элементов паразитарной системы очага, происходящие в современный период под действием климатических факторов, может способствовать повышению гетерогенности популяции чумного микроба.

На основании данного исследования и результатов эпизоотологического мониторинга приграничных территорий России и Монголии, полученных в последние годы, можно сделать обоснованное предположение, что спорадические случаи заболеваний людей чумой в Кош-Агачском районе Республики Алтай и обнаружение разлитых эпизоотий, вызванных возбудителем чумы основного подвида, преимущественно в поселениях серого сурка на разных участках трансграничного Сайлюгемского природ-

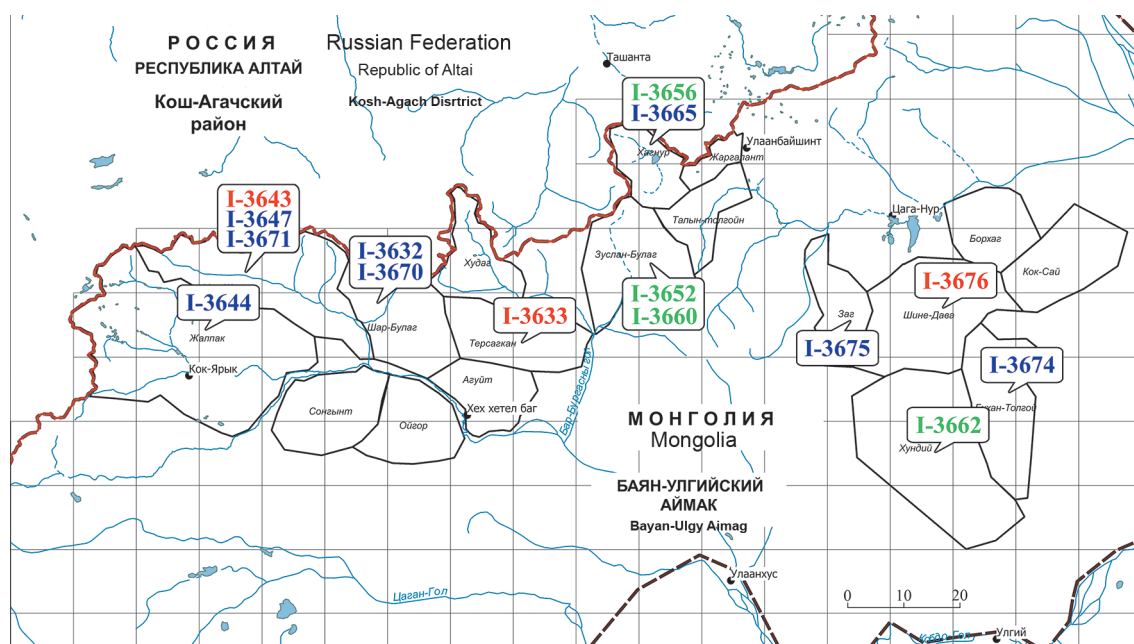


Рис. 4. Географическая приуроченность генотипов штаммов *Y. pestis* линии 4.ANT, выделенных в 2018 г. на монгольской территории Сайлюгемского природного очага чумы (зеленым цветом обозначены штаммы из подгруппы IA, синим – из подгруппы IB, красным – из основания группы I)

Fig. 4. Geographical confinement of the genotypes of *Y. pestis* line 4.ANT strains isolated in 2018 in the Mongolian territory of the Saylueg natural plague focus (green color – the strains of IA subgroup, dark blue – IB subgroup, red – from the basis of I group)



ного очага чумы, представляют собой следствие единого процесса. Последний заключается в постепенном (в конце XX – начале XXI вв.) широком проникновении высоковирулентного эпидемически значимого возбудителя *Y. pestis* subsp. *pestis* в поселения носителей чумы в Юго-Восточном Алтае из Северо-Западной Монголии. Это событие произошло на фоне действия комплекса биотических и абиотических факторов, вызвавших значительную трансформацию в экологической системе Сайлюгемского трансграничного природного очага чумы, однако связанные с этими изменениями закономерности требуют, безусловно, дальнейшего более углубленного изучения.

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

### Список литературы

1. Балахонов С.В., Корзун В.М., редакторы. Горно-Алтайский природный очаг чумы: ретроспективный анализ, эпизоотологический мониторинг, современное состояние. Новосибирск: Наука-Центр; 2014. 272 с.
2. Балахонов С.В., Афанасьев М.В., Шестопалов М.Ю., Остак А.С., Витязева С.А., Корзун В.М., Вержуцкий Д.Б., Михайлов Е.П., Мищенко А.И., Денисов А.В., Ивченко Н.И., Рождественский Е.Н., Висков Е.Н., Фомина Л.А. Первый случай выделения *Yersinia pestis* subsp. *pestis* в Алтайском горном природном очаге чумы. Сообщение 1. Микробиологическая характеристика, молекулярно-генетическая и масс-спектрометрическая идентификация изолята. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2013; 1:60–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-1-60-65.
3. Балахонов С.В., Попова А.Ю., Мищенко А.И., Михайлов Е.П., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Денисов А.В., Рождественский Е.Н., Базарова Г.Х., Щучинов Л.В., Зарубин И.В., Семёнова Ж.Е., Маденова Н.М., Дюсенбаев Д.К., Ярыгина М.Б., Чипанин Е.В., Косилко С.А., Носков А.К., Корзун В.М. Случай заболевания человека чумой в Кош-Агачском районе Республики Алтай в 2015 г. Сообщение 1. Клинико-эпидемиологические и эпизоотологические аспекты. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2016; 1:55–60. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-55-60.
4. Klevytska A.M., Price L.B., Schupp J.M., Worsham P.L., Wong J., Keim P. Identification and characterization of variable-number tandem repeats in the *Yersinia pestis* genome. *J. Clin. Microbiol.* 2001; 39:3179–85. DOI: 10.1128/jcm.39.9.3179-3185.2001
5. Le Flèche P., Hauck Y., Onteniente L., Prieur A., Denoeud F., Ramisse V., Sylvestre P., Benson G., Ramisse F., Vergnaud G. A tandem repeats database for bacterial genomes: application to the genotyping of *Yersinia pestis* and *Bacillus anthracis*. *BMC Microbiol.* 2001; 1:2. DOI: 10.1186/1471-2180-1-2.
6. Pourcel C., André-Mazeaud F., Neubauer H., Ramisse F., Vergnaud G. Tandem repeats analysis for the high resolution phylogenetic analysis of *Yersinia pestis*. *BMC Microbiol.* 2004; 4:22. DOI: 10.1186/1471-2180-4-22.
7. Nurk S., Bankevich A., Antipov D., Gurevich A.A., Korobeynikov A., Lapidus A., Pribelski A.D., Pyshkin A., Sirotkin A., Sirotkin Y., Stepanauskas R., Clingenpeel S.R., Woyke T., McLean J.S., Lasken R., Tesler G., Alekseyev M.A., Pevzner P.A. Assembling Genomes and Mini-metagenomes from Highly Chimeric Reads. *J. Comput Biol.* 2013; 20(10):714–37. DOI: 10.1089/cmb.2013.0084.
8. Seemann T. Snippy: fast bacterial variant calling from NGS reads. 2015. [Электронный ресурс]. URL: <https://github.com/tseemann/snippy> (дата обращения 20.05.2019).
9. Kurtz S., Phillippy A., Delcher A.L., Smoot M., Shumway M., Antonescu C., Salzberg S.L. Versatile and open software for comparing large genomes. *Genome Biol.* 2004; 5(2):R12. DOI: 10.1186/gb-2004-5-2-r12.
10. 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.
11. Stamatakis A. RAxML Version 8: A tool for Phylogenetic Analysis and Post-Analysis of Large Phylogenies. *Bioinformatics.* 2014; 1; 30(9):1312–13. DOI: 10.1093/bioinformatics/btu033.
12. Rambaut A. FigTree v1.4.2. Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh, Computer program distributed by the author. 2010 (cited 21.05.2019). [Internet]. Available from: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>.
13. Eroshenko G.A., Popov N.V., Krasnov Ya.M., Nikiforov K.A., Kuznetsov A.A., Matrosov A.N., Kuttyrev V.V. [Natural

### References

1. Balakhonov S.V., Korzun V.M., editors. [Gorno-Altai Natural Plague Focus: Retrospective Analysis, Epizootiological Monitoring, Current State]. Novosibirsk: "Nauka-Tsentr"; 2014. 272 p.
2. Balakhonov S.V., Afanas'ev M.V., Shestopalov M.Yu., Ostyak A.S., Vityazeva S.A., Korzun V.M., Verzhutsky D.B., Mikhailov E.P., Mishchenko A.I., Denisov A.V., Ivzhenko N.I., Rozhdestvensky E.N., Viskov E.N., Fomina L.A. [The First Case of *Yersinia Pestis* Subsp. *Pestis* Isolation in the Territory of Altai Mountain Natural Plague Focus. Communication 1. Microbiological Characteristics, Molecular-Genetic and Mass-Spectrometric Identification of the Isolate]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2013; 1:60–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-1-60-65.
3. Balakhonov S.V., Popova A.Yu., Mishchenko A.I., Mikhailov E.P., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Denisov A.V., Rozhdestvensky E.N., Bazarova G.Kh., Shchuchinov L.V., Zarubin I.V., Semenova Zh.E., Madenova N.M., Dyusenbaev D.K., Yarygina M.B., Chipanin E.V., Kosilko S.A., Noskov A.K., Korzun V.M. [A Case of Human Infection with Plague in the Kosh-Agach Region of the Republic of Altai in 2015. Communication 1. Clinical-Epidemiological and Epizootiological Aspects]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016; 1:55–60. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-55-60.
4. Klevytska A.M., Price L.B., Schupp J.M., Worsham P.L., Wong J., Keim P. Identification and characterization of variable-number tandem repeats in the *Yersinia pestis* genome. *J. Clin. Microbiol.* 2001; 39:3179–85. DOI: 10.1128/jcm.39.9.3179-3185.2001
5. Le Flèche P., Hauck Y., Onteniente L., Prieur A., Denoeud F., Ramisse V., Sylvestre P., Benson G., Ramisse F., Vergnaud G. A tandem repeats database for bacterial genomes: application to the genotyping of *Yersinia pestis* and *Bacillus anthracis*. *BMC Microbiol.* 2001; 1:2. DOI: 10.1186/1471-2180-1-2.
6. Pourcel C., André-Mazeaud F., Neubauer H., Ramisse F., Vergnaud G. Tandem repeats analysis for the high resolution phylogenetic analysis of *Yersinia pestis*. *BMC Microbiol.* 2004; 4:22. DOI: 10.1186/1471-2180-4-22.
7. Nurk S., Bankevich A., Antipov D., Gurevich A.A., Korobeynikov A., Lapidus A., Pribelski A.D., Pyshkin A., Sirotkin A., Sirotkin Y., Stepanauskas R., Clingenpeel S.R., Woyke T., McLean J.S., Lasken R., Tesler G., Alekseyev M.A., Pevzner P.A. Assembling Genomes and Mini-metagenomes from Highly Chimeric Reads. *J. Comput Biol.* 2013; 20(10):714–37. DOI: 10.1089/cmb.2013.0084.
8. Seemann T. Snippy: fast bacterial variant calling from NGS reads. 2015 (cited 20.05.2019). [Internet]. Available from: <https://github.com/tseemann/snippy>.
9. Kurtz S., Phillippy A., Delcher A.L., Smoot M., Shumway M., Antonescu C., Salzberg S.L. Versatile and open software for comparing large genomes. *Genome Biol.* 2004; 5(2):R12. DOI: 10.1186/gb-2004-5-2-r12.
10. 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.
11. Stamatakis A. RAxML Version 8: A tool for Phylogenetic Analysis and Post-Analysis of Large Phylogenies. *Bioinformatics.* 2014; 1; 30(9):1312–13. DOI: 10.1093/bioinformatics/btu033.
12. Rambaut A. FigTree v1.4.2. Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh, Computer program distributed by the author. 2010 (cited 21.05.2019). [Internet]. Available from: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>.
13. Eroshenko G.A., Popov N.V., Krasnov Ya.M., Nikiforov K.A., Kuznetsov A.A., Matrosov A.N., Kuttyrev V.V. [Natural



Mega-Focus of *Yersinia pestis* Main Subspecies, Antique Biovar, Phylogenetic Line 4.ANT in Gorny Altai]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2018; 2: 49–56. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-2-49-56.

14. Eroshenko G.A., Krasnov Ya.M., Nosov N.Yu., Kukleva L.M., Nikiforov K.A., Oglodin E.G., Kutyrev V.V. [Updating of Intra-Specific *Yersinia pestis* Classification, Based on the Results of Whole-Genome Sequencing of the Strains from the Russian Federation and the Neighboring States]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2015; 4: 58–64. DOI: 10.21055/0370-1069-2015-4-58-64.

15. Achtman M. Insights from genomic comparisons of genetically monomorphic bacterial pathogens. *Philos. Trans. R. Soc. B. Biol. Sci.* 2012; 367(1590):860–7. DOI: 10.1098/rstb.2011.0303.

#### Authors:

Balakhonov S.V., Yarygina M.B., Gladkikh A.S., Mironova L.V., Feranchuk S.I., Bochalgin N.O., Vityazeva S.A., Kosilko S.A., Korzun V.M. Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East. 78, Trilissera St., Irkutsk, 664047, Russian Federation. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.  
Rozhdestvensky E.N. Altai Plague Control Station. 2, Zavodskaya St.,

Gorno-Altai, 649002, Russian Federation. E-mail: chuma@mail.gorny.ru.  
Natsagdorz B., Tserennorov D., Tsogbadrakh N. National Centre for Studies of Zoonotic Infections. 20 хоро, Songinohajrhan mikrorajon, Ulaanbaatar, 18131, Mongolia. E-mail: tsogoo\_0210@yahoo.com.

#### Об авторах:

Балахонов С.В., Ярыгина М.Б., Гладких А.С., Миронова Л.В., Феранчук С.И., Бочалгин Н.О., Витязева С.А., Косилко С.А., Корзун В.М. Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока. Российская Федерация, 664047, Иркутск, ул. Трилиссера, 78. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.

Рождественский Е.Н. Алтайская противочумная станция. Российская Федерация, 649002, Горно-Алтайск, ул. Заводская, 2. E-mail: chuma@mail.gorny.ru.

Нацагдорж Б., Цэрэнноров Д., Цогбадрах Н. Национальный центр по изучению зоонозных инфекций. Монголия, 18131, Улаанбаатар, Сонгинохайрхан микрорайон, 20 хоро. E-mail: tsogoo\_0210@yahoo.com.

Поступила 17.06.19.

Отправлена на доработку 05.07.19.

Принята к публ. 12.08.19.