

УДК 616.98:579.842.23(470)

Г.А. Ерошенко<sup>1</sup>, Н.В. Попов<sup>1</sup>, Ж.В. Альхова<sup>1</sup>, А.Н. Балькова<sup>1</sup>, Л.М. Куклева<sup>1</sup>, Н.С. Червякова<sup>1</sup>,  
Н.С. Майканов<sup>2</sup>, А.Х. Сармулдина<sup>2</sup>, В.В. Кутырев<sup>1</sup>

## ПРОСТРАНСТВЕННО-ВРЕМЕННОЙ АНАЛИЗ ЦИРКУЛЯЦИИ *YERSINIA PESTIS* В ВОЛГО-УРАЛЬСКОМ ПЕСЧАНОМ ОЧАГЕ

<sup>1</sup>ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация;

<sup>2</sup>РГУ «Уральская противочумная станция» Комитета контроля качества безопасности товаров и услуг  
Министерства здравоохранения Республики Казахстан, Уральск, Республика Казахстан

**Цель работы** – сравнительный анализ филогенетического родства штаммов *Yersinia pestis*, выделенных в периоды 1912–1945 и 1963–2003 гг. с различной эпидемической активностью в Волго-Уральском песчаном природном очаге, для выявления пространственно-временных закономерностей циркуляции возбудителя чумы в регионах Северного Прикаспия. **Материалы и методы.** Проведено исследование свойств и полногеномное секвенирование 18 штаммов *Y. pestis* из Волго-Уральского песчаного очага и 12 штаммов из других очагов Северного Прикаспия и Северного Приаралья, выделенных с 1912 по 2003 год. Филогенетический анализ выполнен по данным полногеномного SNP-анализа на основе 2188 выявленных SNPs. Поиск SNPs в коровом геноме проведен с помощью программы Wombac 2.0. Для анализа филогенетических связей штаммов использована дендрограмма Maximum Likelihood, модель GTR. **Результаты и обсуждение.** Все исследованные штаммы из очагов Северного Прикаспия относятся к средневековому биовару основного подвида возбудителя чумы. Это высоковирулентные и эпидемически опасные штаммы. По данным полногеномного секвенирования и филогенетического анализа 30 штаммов из Волго-Уральского песчаного и сопредельных очагов чумы установлено, что в начале XX в. на территории очага были распространены штаммы двух филогенетических ветвей средневекового биовара – 2.MED4 и 2.MED1. Доказано, что штаммы 2.MED1 являлись этиологическими агентами вспышек чумы в Волго-Уральском песчаном очаге в этот период. Выявлено наличие параллельных линий эволюции в ветви 2.MED1, связанных со вспышками чумы в первой половине прошлого века. Во второй половине XX в. и начале XXI столетия в Волго-Уральском песчаном очаге получила распространение современная линия эволюции ветви 2.MED1, штаммы которой тесно сгруппированы, что свидетельствует о близком генетическом родстве этих штаммов. В этот период зарегистрированы лишь спорадические случаи заболевания людей чумой. Современные штаммы из Волго-Уральского песчаного очага (1963–2003 гг.) и ранее выделявшиеся штаммы (1912–1945 гг.) не ведут происхождения друг от друга, а представляют близкородственные, но независимые ветви эволюции, отходящие от общего ствола ветви 2.MED1. Современные штаммы образуют отдельный кластер дендрограммы, в основании которого лежат штаммы из Северо-Приаральского пустынного очага 1945 г. Это позволяет сделать предположение о повторном заселении территории Волго-Уральского песчаного очага после перерыва активности в 50-е годы прошлого столетия близкородственными штаммами из Северного Приаралья.

**Ключевые слова:** штаммы *Yersinia pestis*, Волго-Уральский песчаный очаг, филогенетический анализ, циркуляция возбудителя чумы.

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

Для цитирования: Ерошенко Г.А., Попов Н.В., Альхова Ж.В., Балькова 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; 3:51–57. (Англ. яз.). DOI: 10.21055/0370-1069-2019-3-51-57

В Российской Федерации находятся 11 природных очагов чумы, которые расположены в Прикаспии, Сибири и на Кавказе [1, 2]; общая площадь энзоотичной по чуме территории составляет 222377 км<sup>2</sup>. В регионе Северного Прикаспия расположен Волго-Уральский песчаный природный очаг чумы (ВУППО), который занимает песчаные ландшафты южной части Волго-Уральского междуречья и является трансграничным [3]. Административно очаг расположен в Астраханской области Российской Федерации, Уральской и Атырауской областях Республики Казахстан. Общая площадь очага составляет 61 тыс. км<sup>2</sup> (в том числе 8625 км<sup>2</sup> на территории России). Очаг полигостальный и поливекторный. Основными носителями чумы являются малые песчанки – полуденная (*Meriones meridianus*) и гребенщикова (*M. tamariscinus*), от которых получено 93 % от общего количества выделенных с 1926 г.

от грызунов культур. Переносчиками чумы являются специфические паразиты песчанок – *Nosopsyllus laeviceps* и *Xenopsylla conformis*, от которых получено 74,7 % от общего количества выделенных с 1926 г. от блох культур. ВУППО являлся одним из наиболее эпизоотически и эпидемически активных в прошлом столетии природных очагов чумы Российской Федерации и других стран Содружества Независимых Государств (СНГ). Эпизоотии чумы документально зарегистрированы здесь с 1922 г. Регулярное наблюдение за очагом ведется с 1926 г. С 1922 по 2007 год (85 лет) эпизоотии зарегистрированы на протяжении 65 лет (индекс эпизоотичности 0,76). Наиболее крупные обострения эпизоотической обстановки имели место в 1937–1941 гг., 1945–1946 гг., 1951–1952 гг., 1962–1963 гг., 1966 г., 1971–1972 гг., 1979–1980 гг., 1989–2002 гг. Продолжительность регистрации зараженных животных в разных частях

очага варьировала от 1 до 13 лет. На территории отдельных ландшафтных районов очага перерывы между находками зараженных животных достигали от 2–6 до 10–38 лет. В 1989–2007 гг. эпизоотические проявления регистрировали, в основном, в северной и центральной части очага. С 2008 по 2019 год зараженных животных на территории очага не обнаружено. Длительные перерывы в регистрации эпизоотических проявлений чумы на территории ВУППО получили название межэпизоотических периодов [4, 5]. Механизм последующих реактивизаций очага остался невыясненным [6–8]. Существенно, что длительные перерывы регистрации эпизоотических проявлений чумы характерны и для других равнинных природных очагов Северного Прикаспия и Северного Приаралья. В частности, прекращение эпизоотий в 2002–2019 гг. имело также место на смежной с ВУППО, энзоотичной по чуме территории Урало-Эмбенского междуречья, равно как и в других ландшафтных районах северной подзоны пустынной зоны Российской Федерации и Республики Казахстан [9, 10]. В 1899–2019 гг. в ВУППО отмечено 38 эпидемиологических лет, зарегистрировано 117 вспышек, большинство из которых связано с работой животноводов в песках. Наиболее крупные вспышки отмечались в 1905 г. в ур. Бекетай – 659 больных (621 умерло), в 1911 г. в ур. Кулькене – 148 больных (148 умерло), в 1923 г. в ур. Кунберген – 80 больных (76 умерло), в 1937–1938 гг. в Волго-Ахтубинской пойме – 61 больной [11]. Общее число заболевших составило 2450 человек в 214 населенных пунктах. Развитию эпидемических вспышек способствовали социально-экономические условия местного населения, миграция при смене пастбищ, проживание в землянках, обилие блох в жилье человека, охотопромысел. Преобладали бубонные формы болезни, хотя часто регистрировались и легочные формы чумы.

В современный период в связи с усилением контактов населения с природно-очаговыми комплексами (сельскохозяйственные работы, добыча нефти и газа, рост миграционной активности населения, охотпромысел и др.) возрастают риски заражения чумой. В соответствии с долгосрочным эколого-эпидемиологическим прогнозом на 2019–2020 гг. сохраняется высокая вероятность активизации равнинных природных очагов Северного и Восточного Прикаспия [12, 13]. В этих условиях для обеспечения эпидемиологического благополучия на территории ВУППО необходимо значительно усилить эпидемиологический надзор за чумой, расшифровать механизмы активизации природных очагов этой особо опасной инфекции на трансграничной энзоотичной по чуме территории Российской Федерации и Республики Казахстан [14–16].

Как показано ранее с помощью традиционных микробиологических методов и подтверждено данными молекулярно-генетического анализа и полногеномного секвенирования, штаммы *Y. pestis* из природных очагов Прикаспия относятся к средневеко-

вому биовару основного подвида, то есть являются высоковирулентными и эпидемически значимыми. Штаммы *Y. pestis* средневекового биовара (по генетической номенклатуре это линия 2.MED) – одна из наиболее молодых линий эволюции, которая включает ветви 2.MED0 (штаммы из Центрально-Кавказского высокогорного очага РФ), 2.MED1 (большинство очагов РФ и других стран СНГ, Ирана, Китая), 2.MED2 и 2.MED3 (очаги Китая) [17–19].

За долгий период мониторинга ВУППО в Государственной коллекции патогенных бактерий на базе РосНИПЧИ «Микроб» собрана большая коллекция штаммов *Y. pestis* с 1912 по 2003 год, выделенных от больных, носителей и переносчиков, которая хронологически отражает историю очага. Современные технологии молекулярно-генетического анализа и полногеномного секвенирования дают уникальную возможность исследования эволюции *Y. pestis* за период около 100 лет в ВУППО в сочетании с анализом эпизоотологических и эпидемиологических данных. Ранее нами опубликована аналогичная работа по филогенетическому анализу штаммов *Yersinia pestis* средневекового биовара, выделенных в Прикаспийском Северо-Западном степном очаге чумы [20].

**Цель** – сравнительный анализ филогенетического родства штаммов *Y. pestis*, выделенных в периоды 1912–1945 и 1963–2003 гг. с различной эпидемической активностью в Волго-Уральском песчаном природном очаге, для выявления пространственно-временных закономерностей циркуляции возбудителя чумы в регионах Северного Прикаспия.

## Материалы и методы

**Штаммы *Y. pestis*, условия культивирования, биохимический анализ.** Использованные в работе штаммы *Y. pestis* получены из Государственной коллекции патогенных бактерий на базе 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 [21].

**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 с помощью программы Wombac 2.0, затем удаляли 28 гомоплазий SNPs [22]. Подбор модели нуклеотидных замен выполняли в программах jMODELTEST 2.1.7 и MEGA X. С учетом AIC и BIC критери-

ев выбрана модель GTR. Филогенетический анализ методом Maximum Likelihood осуществляли с помощью программ Mesquite 3.6 и PhyML-3.1 (500 бутстрэп-реплик).

## Результаты

**Свойства штаммов из Волго-Уральского песчаного очага чумы.** Всего исследовано 18 штаммов *Y. pestis*, выделенных в ВУППО (№ 16, по классификации очагов чумы стран СНГ) в 1912–2003 гг. Для сравнения в исследование взяли также штаммы из других очагов Северного Прикаспия и Северного Приаралья, включая два штамма из Прикаспийского Северо-Западного степного очага (№ 14), один штамм из Волго-Уральского степного очага (№ 15), два штамма из Зауральского степного очага (№ 17), один штамм из Предустюртского пустынного очага (№ 19), три штамма из Северо-Приаральского пустынного очага (№ 21), один штамм из Прикаспийского песчаного очага (№ 43), а также один штамм из Центрально-Кавказского высокогорного очага (№ 1) и один штамм из Зангезуро-Карабахского мезоочага (№ 06) Закавказского высокогорного очага – всего двенадцать штаммов (таблица). Штаммы из ВУППО выделены в разные периоды времени и из разных объектов. Одиннадцать штаммов, полученных в первой половине XX в. в период с 1912 по 1945 год, изолированы преимущественно от человека (7 штаммов), а также от верблюда (1), домашней мыши (1), песчаного суслика (1), полуденной песчанки (1).

Семь других исследованных штаммов *Y. pestis* выделены в ВУППО во второй половине XX в. с 1963 по 2002 год от носителей и переносчиков: от гребенчиковых песчанок *M. tamaricinus* (4 штамма), полуденных песчанок *M. meridianus* (1) и их блох (1), малых сусликов *S. pygmaeus* (1). Двенадцать штаммов, взятых для сравнения из других очагов Северного Прикаспия и Северного Приаралья, выделены в 1923–1992 гг.: от человека (6 штаммов), малых сусликов *S. pygmaeus* (3), большой песчанки *Rhombomys opimus* (2) и блох *Citellophilus tesquorum* (1) (таблица). Проведен комплексный анализ свойств этих штаммов. Изучены фенотипические, генетические свойства, выполнено полногеномное секвенирование 30 штаммов (включая 18 штаммов из ВУППО), проведен их филогенетический анализ.

Все штаммы из ВУППО 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 утилизировали глицерин, но не редуцировали нитраты, что свидетельствовало об их принадлежности к средневековому биовару основного подвида *Y. pestis*. Штаммы, взятые для сравнения из Прикаспийского Северо-Западного степного, Волго-Уральского

степного, Зауральского степного, Предустюртского пустынного, Прикаспийского песчаного и Северо-Приаральского пустынного очагов, обладали таким же комплексом свойств и относились к средневековому биовару основного подвида *Y. pestis*.

**Филогения штаммов из Волго-Уральского песчаного очага.** Для построения филогенетического дерева штаммов ВУППО в анализ включены полногеномные последовательности всех 18 штаммов из этого очага и 10 штаммов из сопредельных очагов Северного Прикаспия и Северного Приаралья, а также 1 штамма из Центрально-Кавказского высокогорного очага и 1 штамма из Зангезуро-Карабахского мезоочага Закавказского высокогорного очага, которые были секвенированы нами. В 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), *Pestoides A* (алтайский подвид), 620024 (тибетский подвид), C092 (основной подвид, восточный биовар), 351001 (основной подвид, античный биовар), KIM10 (основной подвид, средневековый биовар, филогенетическая ветвь 2.MED1), 91 (основной подвид, средневековый биовар, ветвь 2.MED2), CMCC125002 (основной подвид, средневековый биовар, ветвь 2.MED3).

По данным полногеномного SNP анализа этих 38 геномов на основе найденных 2188 полиморфных нуклеотидов (SNPs), построена дендрограмма филогенетических связей штаммов из ВУППО (рисунок). Как следует из дендрограммы, все штаммы из ВУППО разделились на три филогеографические группы (№ 1, № 2, № 3) в соответствии со временем и местом их выделения.

Штаммы 4[4] (1917 г.) и 31[38] (1924 г.) вошли в отдельную рано дивергировавшую ветвь штаммов средневекового биовара, которую мы обозначили как 2.MED4. Ветвь 2.MED4 на дендрограмме (рисунок, № 1) предшествует большому кластеру штаммов средневекового биовара филогенетической ветви 2.MED1. Во вновь выделенную ветвь 2.MED4, кроме двух штаммов 4[4] и 31[38] из ВУППО, вошел штамм 27[33] (1924 г.) из Прикаспийского Северо-Западного очага и штамм 146[220] (1931 г.) из Зангезуро-Карабахского высокогорного очага. Один штамм 146[220] выделен от человека, один – от верблюда и два – от сусликов, что доказывает циркуляцию *Y. pestis* ветви 2.MED4 в природном биоценозе ВУППО. Таким образом, в этих очагах в начале XX в. выделялись штаммы ранней ветви эволюции средневекового биовара 2.MED4, которые впоследствии исчезли с этой территории.

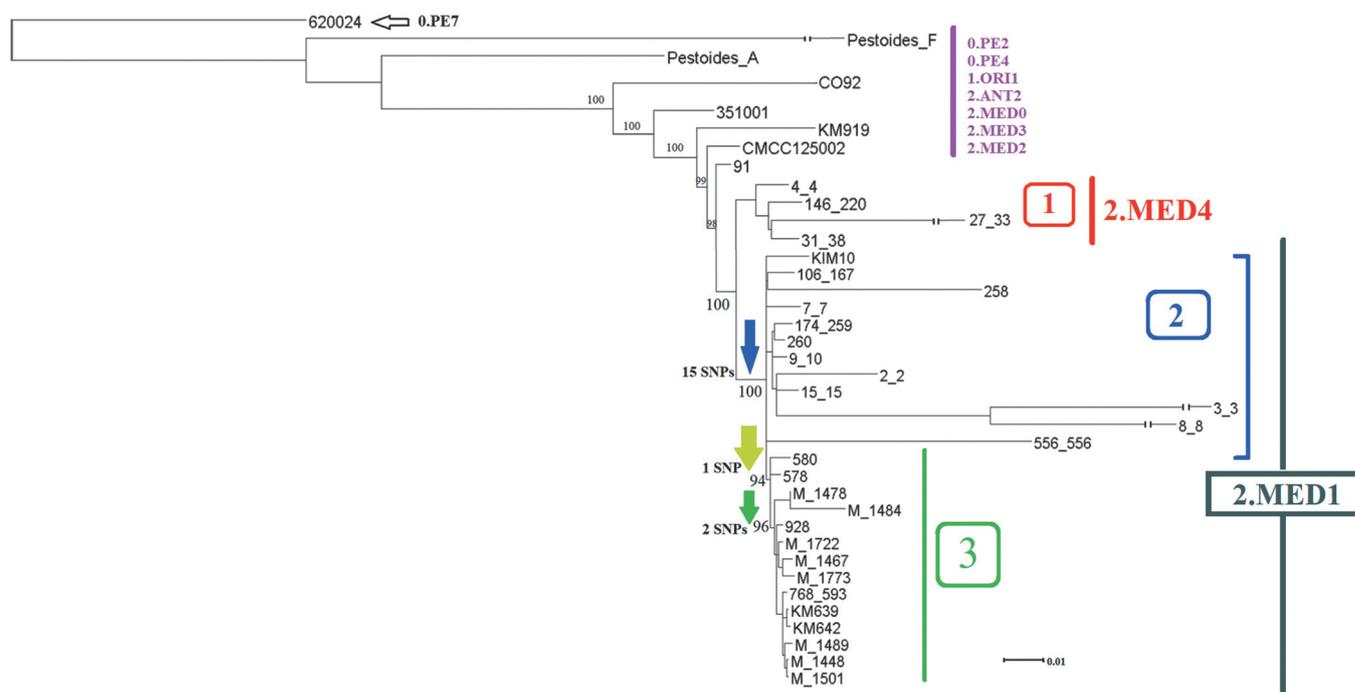
Остальные секвенированные штаммы из ВУППО, полученные в первой половине XX в. в период с 1912 по 1945 год, составили другую группу штаммов, относящихся уже к ветви 2.MED1 (рисунок, № 2). Популяция 2.MED1 этого периода из ВУППО включает ряд отдельных линий эволюции, представ-

Происхождение и характеристика использованных в работе штаммов *Y. pestis* из Государственной коллекции патогенных бактерий РосНИПЧИ «Микроб»

№ штамма, название и номер очага	Объект выделения	Место выделения	Филогенетическая ветвь
2[2] Волго-Уральский песчаный (16)	Человек, 1912	Западный Казахстан	2.MED1
3[3] Волго-Уральский песчаный (16)	Домовая мышь <i>Mus musculus</i> , 1917	Западный Казахстан, Букеевская губерния	2.MED1
4[4(4)] Волго-Уральский песчаный (16)	Верблюды, 1917	Западный Казахстан, лев. бер. р. Волги, ур. Марселеу	2.MED4
7[7(40)] Волго-Уральский песчаный (16)	Человек (труп), 1922	Западный Казахстан, Букеевская губерния, ур. Каныш-Чагал	2.MED1
8[8(41)] Волго-Уральский песчаный (16)	Человек (труп), 1922–1923	Западный Казахстан, Букеевская губерния, ур. Джарлы-Канаш	2.MED1
15[15(49)] Волго-Уральский песчаный (16)	Человек (труп), легочная форма 1923	Уральская губерния, ур. Мамай Тю	2.MED1
31[38] Волго-Уральский песчаный (16)	Песчаный суслик, <i>Citellus fulvus</i> , 1924	Уральская губерния, лев. бер. р. Волги, пос. Горский	2.MED4
260 Волго-Уральский песчаный очаг (16)	Человек, 1924	Нет данных	2.MED1
106[16] Волго-Уральский песчаный (16)	Полуденная песчанка <i>Pallasiomys meridianus</i> , 1928	Уральская губерния, лев. бер. р. Волги Джангалинский р-н, ур. Кундерген	2.MED1
174[259] Волго-Уральский песчаный (16)	Человек, 1932	Казахстан, Джачаминский р-н, Черкеш-Чагыл	2.MED1
556 [556(329)] Волго-Уральский песчаный (16)	Человек (труп), 1945	Гурьевская обл., к/х Амангельды, ур. Школ Шушак	2.MED1
768(593) Волго-Уральский песчаный (16)	Гребенщикова песчанка <i>Meriones tamariscinus</i> , 1963	Астраханская обл, Красноярский р-н, н.п. Старый Караузек	2.MED1
M-1722 Волго-Уральский песчаный (16)	8 гребенщикова песчанок <i>Meriones tamariscinus</i> , 1977	Гурьевская обл, Денгизский р-н, ст. Кошалак	2.MED1
KM639 Волго-Уральский песчаный (16)	Гребенщикова песчанка <i>Meriones tamariscinus</i> , 1980	Уральская обл., Джангалинский р-н, ур. Муса-Мола	2.MED1
KM642 Волго-Уральский песчаный (16)	7 гребенщикова песчанок <i>Meriones tamariscinus</i> , 1980	Гурьевская обл., Денгизский р-н, ур. Ак-Мола	2.MED1
M-1478 Волго-Уральский степной (15)	3 малых суслика <i>Citellus pygmaeus</i> , 1992	н.п. Айгыр, Западно-Казахстанская обл., Тайпакский р-н	2.MED1
M-1501 Волго-Уральский песчаный (16)	3 полуденные песчанки <i>Meriones meridianus</i> 1992	н.п. Сары, Западно-Казахстанская обл., Джангалинский р-н	2.MED1
M-1773 Волго-Уральский песчаный (16)	Блохи, полуденная песчанка <i>Meriones meridianus</i> , 2002	Астраханская обл., Красноярский р-н	2.MED1
146(220) Закавказский высокогорный (Зангезуро-Карабахский мезоочаг, 09)	Человек (труп), легочная форма, 1931	Азербайджанская ССР, Нагорный Карабах	2.MED4
27(33) Прикаспийский Северо-Западный степной (14)	Суслик <i>Citellus pygmaeus</i> , 1924	Ростовская обл., Заветинский р-н, хут. Никольский	2.MED4
9[10] Прикаспийский Северо-Западный степной (14)	Человек (труп), 1923	Ростовская обл., Заветинский р-н, с. Кичкино)	2.MED1
M-1484 Волго-Уральский степной (15)	5 малых сусликов <i>Citellus pygmaeus</i> , 1992	н.п. Болтай, Западно-Казахстанская обл., Тайпакский р-н	2.MED1
M-1448 Зауральский степной (17)	Малый суслик <i>Citellus pygmaeus</i> , 1990	Атырауская обл., Индерский р-н	2.MED1
M-1489 Зауральский степной (17)	Большая песчанка <i>Rhombomys opimus</i> , 1992	н.п. Коис, Атырауская обл., Кзылжогинский р-н	2.MED1
M-1467 Предустюртский пустынный (19)	Большая песчанка <i>Rhombomys opimus</i> , 1990	Гурьевская обл., Эббинский р-н	2.MED1
578 Северо-Приаральский пустынный (21)	Человек, бубонная форма, 1945	Казахстан, Кзыл-Ординская обл, Аральский р-н	2.MED1
580 Северо-Приаральский пустынный (21)	Человек, первично-легочная форма, 1945	Казахстан, Кзыл-Ординская обл, Аральский р-н	2.MED1
928 Северо-Приаральский пустынный (21)	Человек, бубонная форма, 1955	Казахская ССР, Оренбургская ж.д., разъезд 88	2.MED1
258 Прикаспийский песчаный (43)	Человек, бубонная форма, 1930	г. Астрахань	2.MED1
KM 919 Центрально-Кавказский высокогорный (1)	Блохи <i>Citellophilus tesquorum</i> с горного суслика <i>Citellus musicus</i> , 1986	Кабардино-Балкарская АССР, г. Кызы-Кол	2.MED1

ленных на дендрограмме единичными штаммами и одним кластером, который состоит из семи штаммов, выделенных в 1912–1932 гг. преимущественно в Западном Казахстане. В состав этого кластера

входят два подкластера, один из которых состоит из двух штаммов – 174[259] (1932 г.) и 260 (1924 г.). Другой подкластер включает штаммы 2[2] (1912 г.) и 15[15] (1923 г.), а также далеко ушедшую ветвь из



Дендрограмма филогенетического родства штаммов *Y. pestis* из Волго-Уральского песчаного очага, по данным полногеномного SNP-анализа. Дендрограмма Maximum Likelihood 39 геномов штаммов *Y. pestis* на основе 2188 SNPs построена с помощью PHYML 3.1 и модели GTR

двух штаммов 3[3] (1917 г.) и 8[8] (1922–1923 г.). В этот же кластер вошел один штамм 9[10] (1923 г.) из Прикаспийского Северо-Западного степного очага. Кроме кластера из семи штаммов в филогенетическую группу № 2 вошли штаммы, представляющие отдельные линии эволюции: 7[7] (1922 г., человек), 106 [167] (1928 г., полуденная песчанка), 556[556] (1945 г., человек), а также единичный штамм 258 (1930 г., человек) из Прикаспийского песчаного очага. Таким образом, из 9 штаммов 2.MED1, выделенных в 1912–1945 гг. в ВУППО, 7 штаммов получены от человека. Безусловно, этот кластер представляет эпидемические штаммы – этиологические агенты вспышек чумы в этом очаге.

В целом для штаммов, выделенных в ВУППО в начале XX в. (1912–1945 гг.) и принадлежащих к ветви 2.MED1, характерно наличие отдельных параллельных линий эволюции с большой длиной ветвей, что является свидетельством их быстрой эволюции, обусловленной, возможно, освоением новых территорий и/или изменением климатических условий. Многие штаммы получены от человека. Это доказывает, что вспышки в начале века на данной территории были вызваны *Y. pestis* филогенетической ветви 2.MED1 средневекового биовара, которая циркулировала в природном биоценозе ВУППО. Штаммы филогенетических линий ветви 2.MED1, выделявшиеся здесь в 1912–1945 гг., впоследствии исчезли с этой территории.

Филогению, отличающуюся от штаммов начала XX в., представили штаммы *Y. pestis*, выделенные в ВУППО во второй половине XX и начале XXI вв., которые образуют отдельную филогенетическую груп-

пу в составе ветви 2.MED1 (рисунок, № 3). Штаммы получены от носителей и их блох, в 1963–2003 гг. Всеми кластеру предшествуют штаммы из Северо-Приаральского пустынного очага – *Y. pestis* 578 (1945 г.), 580 (1945 г.). Группа современных штаммов из ВУППО делится на три подкластера, первый из которых, лежащий в основании, включает штаммы M-1478 (1992 г.) и M-1484 (1992 г.) из Волго-Уральского степного очага. Далее штаммы этой филогенетической группы делятся на два подкластера, которым вновь предшествует штамм *Y. pestis* 928 (1955 г.) из Северо-Приаральского очага. В один из них (штаммы 1976–2003 гг.) входит расположенный отдельно штамм M-1722 (1977 г.) из ВУППО и два родственных штамма – M-1773 (2002 г.) из ВУППО и M-1467 (1990 г.) из Предустюртского пустынного очага (19). Второй большой подкластер включает шесть штаммов, преимущественно из ВУППО 1963–1992 гг. Отдельно в составе подкластера расположен штамм 768(593) (1963 г.). Отдельную группу в подкластере образуют также два штамма KM639 (1980 г.) и KM642 (1980 г.). Другая группа состоит из двух штаммов M-1501 (1992 г.) из ВУППО и M-1448 (1990 г.) из Зауральского степного очага. Перед этими двумя штаммами на дендрограмме также расположен штамм M-1489 (1992 г.) из Зауральского степного очага (17).

В целом, у современных штаммов из ВУППО, выделенных от носителей и переносчиков в 1963–2003 гг., наблюдается тесная кластеризация штаммов, что свидетельствует о близком генетическом родстве этих штаммов и постоянстве условий их существования, не связанных с изменениями климата

и/или освоением новых территорий. По-видимому, они хорошо приспособлены к биоценозу ВУППО в современный период. Эти штаммы не связаны со вспышками чумы, что отличает их от штаммов, выделенных в начале XX в. в ВУППО. В целом, штаммы этих двух филогенетических групп не ведут происхождения друг от друга, а представляют близкородственные, но независимые ветви эволюции, отходящие от общего ствола ветви 2.MED1.

### Обсуждение

Штаммы *Y. pestis* основного подвида средневекового биовара широко распространены в природных очагах РФ, других стран СНГ, Ирана, Китая. Это высоковирулентные и эпидемически значимые штаммы. В конце XVII – начале XX в. на Кавказе и в Прикаспии регистрировались многочисленные вспышки чумы, этиологический агент которых неизвестен. Проведенные нами в этой статье исследования, а также ранее опубликованные нами данные [12] доказывают, что, по крайней мере, с начала XX в. (с 1912 г.) вспышки в Северном Прикаспии были вызваны штаммами средневекового биовара. Впервые выявлены штаммы ветви 2.MED4, которые выделялись в начале XX в. в очагах Прикаспия (ВУППО, Прикаспийский Северо-Западный степной) и Закавказском высокогорном очаге. Эта ветвь дивергировала ранее от общего ствола эволюции и, возможно, внесла свой вклад в произошедшие здесь в конце XVIII – начале XX в. вспышки чумы. Более молодая ветвь средневекового биовара 2.MED1 отделилась от общего ствола эволюции средневекового биовара позже ветви 2.MED4. Однако в настоящее время штаммы 2.MED1 широко распространены в очагах РФ и других стран СНГ на Кавказе, в Прикаспии и Средней Азии в очагах различного типа – горных, высокогорных, низкоргорных, степных и пустынных. Причины такой приспособленности средневекового биовара к различным географическим ландшафтам, особенно к очагам с высокоаридным климатом (где не встречаются другие штаммы возбудителя чумы), не известны. Не известно также, когда средневековый биовар занял эти территории. На этот вопрос могут дать ответ палеогенетические исследования, которые стали возможными с развитием высокоразрешающего полногеномного секвенирования. Известно, что в XVI в. на территории Татарстана выделялись штаммы *Y. pestis* античного биовара ветви 1.ANT, которые предположительно вызвали вторую пандемию чумы (а не штаммы средневекового биовара, как считалось ранее) [17]. Мы предполагаем, что средневековый биовар получил широкое распространение позже – в XVII в., на завершении второй пандемии чумы. Полученные в этой работе данные доказывают, что штаммы 2.MED1 в начале XX в. на территории Северного Прикаспия претерпевали интенсивную эволюцию. Здесь возникали независимые параллельные ветви эволюции 2.MED1, которые занимали

новые территории или приспособлялись к изменениям среды обитания. Именно эти штаммы являлись этиологическими агентами большого числа вспышек чумы с высоким процентом летальности в очагах Прикаспия в начале XX в. Широкое распространение этих штаммов в природе, высокая численность носителей в очагах Прикаспия и близость многочисленного в то время населения к поселениям грызунов, обилие блох и низкий социальный уровень привели к массовым вспышкам с высокими показателями летальности. В дальнейшем, после 40-х годов XX столетия, такие штаммы уже не выделялись. Эволюция ветви 2.MED1 продолжалась далее с формированием современной ветви, к которым относятся штаммы, выделенные во второй половине XX в. Между годами выделения штаммов первой и второй половины XX в. в ВУППО существовал временной перерыв, по меньшей мере, в 10 лет (пятидесятые годы), когда штаммы не выделялись, отсутствовали эпизоотические проявления, а также вспышки и спорадические случаи чумы у людей. Последнее косвенно подтверждает наличие эффекта «оздоровления» очаговой территории в результате элиминации штаммов *Y. pestis* различных филогенетических групп под влиянием климатических и антропогенных факторов. В то же время штаммы современной филогенетической группы начали выделять здесь с 1962 г. По данным проведенного филогенетического анализа, они являются близкородственными с ранее изолированными здесь в первой половине XX столетия штаммами, но «напрямую» не ведут своего происхождения от них. В соответствии с дендрограммой современным штаммам из ВУППО предшествуют штаммы из Северо-Приаральского пустынного очага 1945 г. выделения. Это может означать, что после перерыва активности (отсутствие благоприятных климатических условий), территория ВУППО была вновь заселена близкородственными штаммами 2.MED1, пришедшими из северной подзоны пустынь Приаралья. Ранее в Северо-Приаральский пустынный очаг штаммы одной из независимых ветвей эволюции 2.MED1 (предположительно из ВУППО) могли быть занесены в первой половине XX в. Эпидемия чумы зарегистрирована здесь в 1945 г., эпидемические вспышки – в 1947, 1955, 1966, 1967 гг. Это позволяет сделать предположение о повторном заселении территории Волго-Уральского песчаного очага после перерыва в 50-е годы прошлого столетия близкородственными штаммами *Y. pestis*, «вернувшимися» из Северо-Приаральского пустынного очага. Однако для подтверждения филогенетических связей штаммов из Северного Прикаспия и Северного Приаралья необходимо исследование большего числа штаммов из Северо-Приаральского пустынного очага. С этой точки зрения, именно элиминация возбудителя чумы является одной из возможных причин наблюдаемого в настоящее время длительного отсутствия находок зараженных животных на энзоотичной территории северной подзоны пустынной зоны Российской Федерации и Республики Казахстан. В этом плане условия реа-

лизации очередной экспансии чумного микроба на территорию ВУППО будут целиком определяться состоянием эпизоотической активности сопредельных природных очагов чумы Северного Прикаспия и Северного Приаралья.

По вирулентности штаммы средневекового биовара начала и второй половины XX столетия не отличаются друг от друга. Отличия в уровне заболеваемости связаны с разницей в активности эпизоотических процессов, широким распространением штаммов *Y. pestis* в очагах Прикаспия в начале XX в., большей населенностью территорий очагов и более низким социальным уровнем жизни в начале XX столетия.

**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. Wang S.B., Sun Y.Z. The geographical distribution and main ecological characteristics of plague natural foci in the Middle Asia, Russian Siberia and Mongolia. *Endem. Dis. Bull.* 1999; 14:83–8.
3. Бурделов Л.А., редактор. Атлас распространения особо опасных инфекций в Республике Казахстан. Алматы; 2012. 232 с.
4. Калабухов Н.И. Явление длительных перерывов эпизоотической активности природных очагов чумы и его вероятные причины. *Зоологический журнал.* 1969; 48(2):165–75.
5. Шевченко В.Л., Каймашиников В.И., Андреева Т.А. О механизме сохранения природной очаговости чумы в Волго-Уральских песках. *Зоологический журнал.* 1969; 48(2):270–81.
6. Бидашко Ф.Г., Пак М.В., Белоножкина Л.Б., Парфенов А.В. К вопросу о цикличности активности очагов чумы, расположенных на северо-западе Казахстана. *Карантинные и зоонозные инфекции в Казахстане.* 2018; 1–2:14–25.
7. Davis S, Begon M, De Bruyn L, Ageyev VS, Klassovskiy NL, Pole SB, Viljugrein H, Stenseth NC, Leirs H. Predictive thresholds for plague in Kazakhstan. *Science.* 2004; 304(5671):736–8. DOI: 10.1126/science.1095854.
8. Samia NI, Kausrud KL, Heesterbeek H, Ageyev V, Begon M, Chan KS, Stenseth NC. Dynamics of the plague-wildlife-human system in Central Asia are controlled by two epidemiological thresholds. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2011; 108(35):14527–32. DOI: 10.1073/pnas.1015946108.
9. Хамзин Е.Х., Сараев Ф.А., Козулина И.Г., Насиханова К.Н., Башмакова А.А., Меллятова И.Б., Башмаков А.А. Активность эпизоотий в Волго-Уральском песчаном очаге чумы на территории Атырауской области в последнее десятилетие и численность основных носителей. *Карантинные и зоонозные инфекции в Казахстане.* 2017; 1–2:34–6.
10. Атшабар Б.Б., Бурделов Л.А., Избанова У.А., Лухнова Л.Ю., Мека-Меченко Т.В., Мека-Меченко В.Г., Куница Т.Н., Садовская В.П., Саптаев С.К., Сармантаева А.Б., Сансызбаев Е.Б., Нурмаханов Т.И., Абдел З.Ж., Кожаметова М.К., Аймаханов Б.К., Кузнецов А.Н., Сагиев З.А., Кульбаева М.М., Альбаев С.Д., Бекшин Ж.М., Есмагаметова А.С., Жумадилова З.Б.; Казаков С.В., Куатбаева А.М. Паспорт регионов Казахстана по особо опасным инфекциям. *Карантинные и зоонозные инфекции в Казахстане.* 2015; 1(31):5–177.
11. Кутырев В.В., Попова А.Ю., редакторы. Кадастр эпизоотических и эпизоотических проявлений чумы на территории Российской Федерации и ближнего зарубежья (с 1876 по 2015 гг.). Саратов: ООО «Амирит»; 2016. 248 с.
12. Сержан О.С., Айкимбаев А.М., Лухнова Л.Ю. Экологический прогноз эпидемической активности природных очагов чумы в начале XXI века. *Карантинные и зоонозные инфекции в Казахстане.* 2000; 2:194–6.
13. Попов Н.В., Топорков В.П., Безсмертный В.Е., Попов В.П., Кузнецов А.А., Матросов А.Н., Слудский А.А., Удовиков А.И., Караваева Г.Б., Меркулова Т.К., Кутырев В.В. Долгосрочный прогноз эпизоотической активности природных очагов чумы в Российской Федерации как основа повышения эффективности профилактических мероприятий. *Жизнь без опасностей. Здоровье. Профилактика. Долголетие.* 2012; 7(3):14–7.
14. Попова А.Ю., Кутырев В.В., редакторы. Обеспечение эпизоотического благополучия в природных очагах чумы на территории стран СНГ и Монголии в современных условиях. Ижевск: изд-во ООО «Принт»; 2018. 336 с.
15. Сулейменов Б.М. Механизм энзоотии чумы. Алматы; 2004. 234 с.
16. Jones S.D., Atshabar B., Schmid B.V., Zuk M., Amramina A., Stenseth N.C. Living with plague: Lessons from the Soviet Union's antiplague system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2019; 116(19): 9155–63. DOI: 10.1073/pnas.1817339116.
17. Kutyrev V.V., Eroshenko G.A., Motin V.L., Nosov N.Y., Krasnov J.M., Kukleva L.M., Nikiforov K.A., Al'hoval 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.
18. 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; 96:14043–8. DOI: 10.1073/pnas.96.24.14043.
19. 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 PMID: 23271803. 5.
20. Eroshenko G.A., 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.
21. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Лабораторная диагностика особо опасных инфекционных болезней». Практическое руководство. М.: ЗАО «Шико»; 2013. 560 с.
22. 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; 19:874–81. DOI: 10.1016/j.chom.2016.05.012.

### Об авторах:

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

Майканов Н.С., Сармудина А.Х. Уральская противочумная станция. Республика Казахстан, Уральск, ул. Чапаева, 36/1. E-mail: rchum@mail.ru.

Поступила 17.07.19.

Отправлена на доработку 02.08.19.

Принята к публ. 09.08.19.