

DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-114-122

УДК 616.98:579.842.23(575.2)

Л.М. Куклева¹, А.К. Джапарова², Е.Г. Оглодин¹, Е.А. Нарышкина¹, Я.М. Краснов¹, А.А. Кузнецов¹,
А.В. Фадеева¹, Г.А. Ерошенко¹, С.К. Бердиев², В.В. Кутырев¹

КОМПЛЕКСНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАММОВ *YERSINIA PESTIS*, ВЫДЕЛЕННЫХ В САРЫДЖАЗСКОМ И ВЕРХНЕНАРЫНСКОМ ВЫСОКОГОРНЫХ ОЧАГАХ В 2019–2020 гг.

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

²Республиканский центр карантинных и особо опасных инфекций Министерства здравоохранения Кыргызской Республики, Бишкек, Кыргызская Республика

Цель исследования – комплексный анализ фенотипических и генетических свойств штаммов *Yersinia pestis*, выделенных в Сарыджазском и Верхненарынском высокогорных очагах Тянь-Шаня в 2019–2020 гг.; определение современной популяционной структуры и ареала этих высоковирулентных штаммов возбудителя чумы. **Материалы и методы.** Проведены исследования биохимических свойств (ферментация углеводов, питательные потребности), вирулентности (*in vitro* и на лабораторных животных); молекулярно-генетический анализ и полногеномное секвенирование штаммов *Y. pestis*, выделенных в Сарыджазском и Верхненарынском высокогорных очагах в 2019–2020 гг. Для сравнения использованы штаммы *Y. pestis* из очагов Тянь-Шаня и Памиро-Алая 1928–2016 гг. Полногеномное секвенирование проводили в системе Ion S5 XL System. Филогенетический анализ выполнен на основе 1443 выявленных коровых SNPs у 36 включенных в анализ штаммов *Y. pestis* различных филогенетических линий. Построение дендрограмм проводили с использованием алгоритма Maximum Likelihood, программы PHYLML, модели HKY85. **Результаты и обсуждение.** Установлена принадлежность всех штаммов *Y. pestis*, выделенных в Сарыджазском и Верхненарынском высокогорных очагах в 2019–2020 гг., к филогенетической ветви 0.ANT5 античного биовара основного подвида. По данным полногеномного секвенирования выявлено наличие двух клонов 0.ANT5, первый из которых состоит из штаммов 2020 г. из бассейна р. Коойлу в Сарыджазском очаге. Второй мощный клон включает штаммы 2012–2020 гг., выделенные в Сарыджазском и Верхненарынском очагах. Показана высокая вирулентность выделенных штаммов. Сделан вывод о необходимости дальнейшего исследования территорий высокогорных очагов Тянь-Шаня и Памиро-Алая для установления современных границ ареала 0.ANT5, а также выявления участков циркуляции *Y. pestis* других филогенетических линий.

Ключевые слова: возбудитель чумы, штаммы, очаги чумы Тянь-Шаня.

Корреспондирующий автор: Куклева Любовь Михайловна, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Для цитирования: Куклева Л.М., Джапарова А.К., Оглодин Е.Г., Нарышкина Е.А., Краснов Я.М., Кузнецов А.А., Фадеева А.В., Ерошенко Г.А., Бердиев С.К., Кутырев В.В. Комплексная характеристика штаммов *Yersinia pestis*, выделенных в Сарыджазском и Верхненарынском высокогорных очагах в 2019–2020 гг. Проблемы особо опасных инфекций. 2021; 2:114–122. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-114-122
Поступила 02.03.2021. Принята к публ. 15.03.2021.

L.M. Kukleva¹, A.K. Dzhaparova², E.G. Oglodin¹, E.A. Naryshkina¹, Ya.M. Krasnov¹,
A.A. Kuznetsov¹, A.V. Fadeeva¹, G.A. Eroshenko¹, S.K. Berdiev², V.V. Kutyrev¹

Complex Characteristics of *Yersinia pestis* Strains Isolated in the Sarydzhas and Upper-Naryn High-Mountain Foci in 2019–2020

¹Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, Saratov, Russian Federation;

²Republican Center of Quarantine and Particularly Dangerous Infections of the Ministry of Health of the Kyrgyz Republic, Bishkek, Kyrgyz Republic

Abstract. The aim of the study was a comprehensive analysis of the phenotypic and genetic properties of *Yersinia pestis* strains isolated in the Sarydzhas and Upper-Naryn high-mountain foci of the Tien Shan in 2019–2020; determination of the present-day population structure and areal of these highly virulent strains of the plague pathogen. **Materials and methods.** Studies of biochemical properties (fermentation of carbohydrates, nutritional requirements), virulence (*in vitro* and in laboratory animals), molecular-genetic analysis and whole genome sequencing of *Y. pestis* strains isolated in the Sarydzhas and Upper-Naryn high-mountain foci in 2019–2020 have been carried out. We used *Y. pestis* strains from the foci of the Tien Shan and Pamir-Alai dated 1928–2016 for the comparison. Whole genome sequencing was performed using the Ion S5 XL System. Phylogenetic analysis was performed on the basis of 1443 identified core SNPs in 36 *Y. pestis* strains of various phylogenetic lines included in the analysis. The construction of dendrograms was carried out using the Maximum Likelihood algorithm, PHYLML program, HKY85 model. **Results and discussion.** It is established that all *Y. pestis* strains isolated in the Sarydzhas and Upper-Naryn high-mountain foci in 2019–2020 belong to the 0.ANT5 phylogenetic branch of the ancient biovar of the main subspecies. Genome-wide sequencing revealed the presence of two 0.ANT5 clones, the first of which consists of strains from the basin of the river Kooylu in the Sarydzhas focus, dated 2020. The second powerful clone includes the strains of 2012–2020 isolated in the Sarydzhas and Upper-Naryn foci. The high virulence of the isolated strains has been shown. It was concluded that further study of the territories of the high-mountain foci of the Tien Shan and Pamir-Alai is necessary to establish the current boundaries of the 0.ANT5 areal, as well as to identify the circulation areas of *Y. pestis* of other phylogenetic lineages.

Key words: plague agent, strains, plague foci of the Tien Shan.

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

Corresponding author: Lubov M. Kukleva, e-mail: rusrapl@microbe.ru.

Citation: Kukleva L.M., Dzhaparova A.K., Oglozin E.G., Naryshkina E.A., Krasnov Ya.M., Kuznetsov A.A., Fadeeva A.V., Eroshenko G.A., Berdiev S.K., Kuttyrev V.V. Complex Characteristics of *Yersinia pestis* Strains Isolated in the Sarydzhas and Upper-Naryn High-Mountain Foci in 2019–2020. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2021; 2:114–122. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-114-122

Received 02.03.2021. Accepted 15.03.2021.

Kukleva L.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2438-8364>
Oglozin E.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2955-3034>
Naryshkina E.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9190-099X>
Krasnov Ya.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4909-2394>

Kuznetsov A.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0677-484>
Eroshenko G.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5403-989X>
Kuttyrev V.V., ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-3788-3452>

Сарыджазский и Верхнеларынский высокогорные очаги являются автономными очагами в составе Тянь-Шаньского высокогорного очага чумы. Сарыджазский очаг (площадь 5000 кв. км) находится на территории двух государств – Кыргызской Республики и Республики Казахстан. Верхнеларынский очаг (около 10000 кв. км) расположен в Кыргызской Республике. Очаги открыты в 40-х гг. XX столетия. Заболеваемость чумой регистрировалась в Верхнеларынском очаге в 1907, 1914, 1928, 1957, 1962 гг., в Сарыджазском – в 1942, 1947, 1952, 1958, 1981 гг. [1, 2]. Основным носителем чумы – серый сурок *Marmota baibacina* [3]. В 1950–1989 гг. в результате проведенных здесь широкомасштабных профилактических мероприятий эпизоотическая активность очагов резко снизилась. Однако в начале XXI в. в очагах вновь возобновились эпизоотии среди сурков, что связано с восстановлением высокой численности сурочьих блох. В результате активизации эпизоотий в 2013 г. в Сарыджазском очаге произошел случай заражения человека бубонной формой чумы с летальным исходом [4]. В 2012–2020 гг. в Сарыджазском и Верхнеларынском очагах сотрудниками Республиканского центра карантинных и особо опасных инфекций Кыргызской Республики (РЦКиООИ) после длительного перерыва были вновь выделены штаммы возбудителя чумы *Yersinia pestis*. Проведенная совместно с РосНИПЧИ «Микроб» идентификация 12 культур *Y. pestis*, полученных в 2012–2016 гг. в Сарыджазском (10 штаммов) и Верхнеларынском (2 штамма) высокогорных очагах, показала, что они относятся к античному биовару основного подвида *Y. pestis*, филогенетической ветви 0.ANT5. Все штаммы отличались единообразием свойств, и по данным полногеномного секвенирования определено, что все они принадлежат к одному клону 0.ANT5, который получил распространение на фоне благоприятных условий, связанных с потеплением климата [5]. Данные ретроспективного молекулярно-генетического исследования штаммов *Y. pestis*, выделенных в Сарыджазском и Верхнеларынском высокогорных очагах ранее, в 1948–1983 гг., показали, что большинство из них также относятся к филогенетической ветви 0.ANT5 [6, 7]. Штаммы 0.ANT5 наиболее близки штаммам *Y. pestis*, вызвавшим первую пандемию чумы, начавшуюся с эпидемии чумы Юстиниана (543–546 гг.). Это подчеркивает историческую важность изучения штаммов из очагов Тянь-Шаня для выяснения направлений

эволюции и распространения высоковирулентных штаммов возбудителя чумы [8–12].

Целью исследования являлся комплексный анализ фенотипических и генетических свойств штаммов *Y. pestis*, выделенных в Сарыджазском и Верхнеларынском высокогорных очагах Тянь-Шаня в 2019–2020 гг.; определение современной популяционной структуры и ареала этих высоковирулентных штаммов возбудителя чумы.

Материалы и методы

Штаммы *Y. pestis*, определение биохимических характеристик. В работе использованы штаммы *Y. pestis* из Государственной коллекции патогенных бактерий РосНИПЧИ «Микроб». Штаммы 2012–2020 гг. получены из РЦКиООИ Кыргызской Республики. Видовые и диагностические признаки штаммов определяли в соответствии с практическим руководством по лабораторной диагностике особо опасных инфекций [13]. Плазмидный состав штаммов изучали по методу C.I. Kado, S.-T. Liu [14]. Питательные потребности устанавливали по методу, изложенному в [15]. Вирулентность штаммов *Y. pestis* определяли методами *in vitro* и *in vivo*. Вирулентность *in vitro* оценивали по наличию признаков зависимости роста от ионов кальция при 37 °C и способности к сорбции красителя конго красного. Вирулентность *in vivo* определяли на морских свинках.

Животных заражали подкожно испытуемыми штаммами в дозах 10, 30, 90 КОЕ. Статистическую обработку результатов проводили с использованием стандартных методов [16]. Биомодели содержали в соответствии с ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными». Все протоколы экспериментов с животными одобрены комитетом по биоэтике РосНИПЧИ «Микроб».

Полногеномное секвенирование, идентификация SNPs, построение дендрограммы, VNTR-анализ. ДНК штаммов *Y. pestis* выделяли с использованием набора PureLink Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen, США). Полногеномное секвенирование выполняли с помощью Ion S5 XL System (Thermo Fischer Scientific) в соответствии с инструкцией производителя. Для приготовления библиотек образцов использовали наборы Ion Xpress™ Plus Fragment Library Kit и Ion Xpress™ Barcode Adapter 1-16 Kit. Для автоматизированной подготовки матрицы применяли Ion Chef System с наборами Ion 520™ & Ion 530™ Kit-Chef и Ion 530™ Chip Kit. Обработку

данных и сборку последовательностей сырых ридов *de novo* проводили с помощью Ion Torrent Suite software package, 5.12 и Newbler gsAssembler 2.6. Секвенированные риды собирали в контиги со средним покрытием на геном 98,56 % (50x глубина прочтения). Средний размер собранного генома составил 4,55 м.п.н. Коровые SNPs выявляли путем выравнивания контигов штаммов *Y. pestis* на геноме CO92 с помощью программы Snippy 4.6, затем удаляли 28 гомоплазий SNPs. Полученный набор SNPs содержал только коровую область генома (1443 SNPs). Дендрограмму строили по алгоритму Maximum Likelihood с применением программы PhyML 3.1, модели HKY85 с 500 bootstrap подкреплением.

VNTR-анализ проводили путем сравнения нуклеотидных последовательностей штаммов *Y. pestis* по локусам VNTR-повторов с использованием локусов ms01, ms04, ms06, ms46, ms62, ms70 [17].

Результаты и обсуждение

Проведен комплексный анализ свойств 11 штаммов *Y. pestis*, выделенных в Сарыджазском и Верхненарынском высокогорных очагах в 2019–2020 гг., и выполнено их сравнение с другими 18 штаммами из Тянь-Шаньского и Алайского высокогорных очагов в Кыргызской Республике. Штаммы 2019–2020 гг. выделены от серых сурков *M. baibacina* (5 штаммов), их блох *Oropsylla silantiewi* (4 штамма), эктопаразитов (1 штамм) и через биопробу (1 штамм). Штаммы 1928–2016 гг. из Сарыджазского, Верхненарынского и других очагов Кыргызской Республики, взятые для сравнения, получены преимущественно от серых (*M. baibacina*) и красных (*M. caudata*) сурков (9 штаммов), блох (5 штаммов), эктопаразитов (1 штамм). Три штамма выделены от человека (табл. 1).

Места выделения штаммов *Y. pestis* в Сарыджазском и Верхненарынском высокогорных очагах в 2019–2020 гг. указаны на рис. 1.

Биохимические свойства, питательные потребности. Фенотипический анализ штаммов показал, что все они обладали типичными для штаммов античного биовара биохимическими свойствами: не ферментировали рамнозу и мелибиозу, но утилизировали глицерин и арабинозу, редуцировали нитраты. Установлена зависимость роста этих штаммов от наличия в питательной среде аминокислот фенилаланина, метионина, треонина, цистеина и лейцина, что совпадало с питательными потребностями штаммов 2012–2016 гг.

Изучение вирулентности методами *in vitro* и на лабораторных животных. Штаммы *Y. pestis* 2019–2020 гг. из Сарыджазского и Верхненарынского очагов проверены по вирулентности методами *in vitro* и *in vivo*. Все они экспрессировали признаки, ассоциируемые с вирулентностью: образовывали пигментированные колонии на средах с красителем конго красным, что свидетельствовало о присутствии в их геноме хромосомной области пигментации с остро-

вом высокой патогенности HPI, включающим *ugt* регион с генами сидерофорзависимой системы потребления железа. Гетерогенность популяции исследованных штаммов по этому признаку варьировала от 70 до 100 %. Все штаммы также проявляли признак кальцийзависимости и содержали обязательную детерминанту вирулентности – плазмиду pCD1, а также две другие собственные плазмиды возбудителя чумы – pMT1 и pPCP1. Исследование вирулентности методами *in vivo*, проведенное для двух штаммов – *Y. pestis* 166 и 177, – также подтвердило высокую вирулентность штаммов ветви 0.ANT5. LD₅₀ этих двух штаммов на модели морских свинок составила 10 и 5,1 КОЕ соответственно.

Филогеографический анализ штаммов *Y. pestis* филогенетической ветви 0.ANT5 по данным полногеномного SNP-анализа. Для проведения филогеографического анализа использованы нуклеотидные последовательности 25 штаммов *Y. pestis* ветви 0.ANT, секвенированных нами, в том числе 9 штаммов 2019–2020 гг. и 16 штаммов 1928–2016 гг. (табл. 1). Из них 14 штаммов выделены в Сарыджазском высокогорном очаге, 9 штаммов – в Верхненарынском, 1 – в Аксайском и 1 – в Алайском высокогорных очагах. При построении филогенетического дерева использованы также нуклеотидные последовательности 11 штаммов *Y. pestis* из других очагов мира. Они включают: 620024 (№ доступа ADPM00000000), Pestoides G (№ CP010247), Pestoides A (№ NZ_ACNT00000000), 91001 (№ NC_005810), 945 (№ ADPV00000000), 42013 (№ NZ_ADPG00000000), Antiqua (№ NC_008150), Nepal516 (№ NZ_ACNQ00000000), CO92 (№ NC_003143), KIM10 (№ NC_004088), MGJZ12 (№ ADSV00000000) из базы данных NCBI GenBank (рис. 2).

На дендрограмме штаммы *Y. pestis* 0.ANT5 составили отдельную филогенетическую ветвь линии 0.ANT. В нее вошли штаммы из Сарыджазского и Верхненарынского высокогорных очагов. Штаммы из Аксайского и Алайского высокогорных очагов вошли в другую ветвь линии 0.ANT античного биовара – 0.ANT3 (рис. 2). В основании ветви 0.ANT5 лежит штамм *Y. pestis* A-1694 из Верхненарынского очага (блохи, 1971). Базальная позиция этого штамма была показана нами и ранее [5]. Остальные штаммы 0.ANT5, выделенные в 1948–1983 гг. в Сарыджазском и Верхненарынском очагах, вошли в три отдельные подветви.

Первая подветвь (рис. 2, филогенетический узел 1; табл. 2, 4 SNPs в кодирующих последовательностях) состоит из двух штаммов – 680 (сурок, 1968) и 2077 (блохи, 1971), выделенных в центральной части Верхненарынского очага. На этом же участке получен и штамм A-1694, лежащий в основании всех взятых в исследование штаммов 0.ANT5. Это подтверждает ранее выдвинутое предположение о происхождении современных штаммов ветви 0.ANT5 в Верхненарынском высокогорном очаге.

Таблица 1/ Table 1

Штаммы *Y. pestis* филогенетической ветви 0.ANT из Тянь-Шаньского и Алайского высокогорных очагов чумы, использованные в работе
Strains of *Y. pestis* of phylogenetic branch 0.ANT from Tien Shan and Alai high-mountain plague foci utilized for the study

Штамм Strain	Природный очаг, место выделения Natural focus, site of isolation	Источник, год Source, year	Филогенетическая ветвь Phylogenetic branch
A-1694	Верхненарынский, Пржевальское ПЧО Upper-Naryn, Przhevalsky Plague Control Department	блохи серого сурка, 1971 fleas of the gray marmot, 1971	0.ANT5
680	Верхненарынский, Киргизская ССР, Джеты-Огузские Сырты, ур. Бешмойнок Upper-Naryn, Kyrgyz SSR, Dzhety-Oguz Syrty, Beshmoinok area	серый сурок, 1968 gray marmot, 1968	0.ANT5
KM2077	Верхненарынский, Пржевальское ПЧО Upper-Naryn, Przhevalsky Plague Control Department	блохи серого сурка, 1971 fleas of the gray marmot, 1971	0.ANT5
1564	Сарыджазский, Казахстан, Алма-Атинская обл., Нарынкольский р-н Sarydzhaz, Kazakhstan, Almaty Region, Narynkolsky district	серый сурок, 1960 gray marmot, 1960	0.ANT5
915	Сарыджазский, Алма-Атинская обл., Нарынкольский р-н, Б. Кок-Пак, Дзегаланский перевал Sarydzhaz, Almaty Region, Narynkolsky district, Kok-Pak, Dzhegalansky Pass	блохи сурка, 1948 marmot fleas, 1948	0.ANT5
5M	Верхненарынский, Киргизская ССР, Джеты-Огузские Сырты, Пржевальское ПЧО Upper-Naryn, Kyrgyz SSR, Dzhety-Oguz Syrty, Przhevalsky Plague Control Department	блохи, 1958 fleas, 1958	0.ANT5
KM2078	Сарыджазский, Киргизская ССР, верховье р. Энилчек, 174 км от г. Пржевальска Sarydzhaz, Kyrgyz SSR, Upstream of Enilchek river, 174 km from the town Przhevalsk	серый сурок, 1983 gray marmot, 1983	0.ANT5
KM2065	Сарыджазский, верховье р. Энилчек Sarydzhaz, Upstream of the river Enilchek	серый сурок, 2012 gray marmot, 2012	0.ANT5
KM2066	Сарыджазский, Ак-Суйский р-н, с. Ичке-Жерсу, р. Оттук Sarydzhaz, Ak-Su district, Ichke-Zhersu settlement, Ottuk river	человек, подчелюстной бубон, 2013 patient, submaxillary bubo, 2013	0.ANT5
KM2067	Сарыджазский, Ак-Суйский р-н, с. Ичке-Жерсу, Каракольское отделение Sarydzhaz, Ak-Su district, Ichke-Zhersu settlement, Karakol Department	человек, подмышечный бубон, 2013 patient, axillary bubo, 2013	0.ANT5
KM2068	Сарыджазский, Каракольское отделение, ур. Кашкасуу Sarydzhaz, Karakol Department, Kashkasuu mountain area	эктопаразит трупа сурка, 2014 ectoparasite from marmot carcass, 2014	0.ANT5
KM2079	Верхненарынский, Иссyk-Кульская обл., Джеты-Огузский р-н Upper-Naryn, Issyk-Kul Region, Dzhety-Oguz district	сурок, 2015 marmot, 2015	0.ANT5
KM2080	Верхненарынский, Иштык-Акшийракский уч., Иссyk-Кульская обл., Джеты-Огузский р-н Upper-Naryn, Ishtyk-Akshiyarak territory, Issyk-Kul Region, Dzhety-Oguz district	серые сурки, 2015 gray marmots, 2015	0.ANT5
KM2073	Сарыджазский, ур. Караколтор Sarydzhaz, Karakoltor mountain area	серые сурки, 2016 gray marmots, 2016	0.ANT5
KM2071	Сарыджазский, Иштык-Акшийрак Sarydzhaz, Ishtyk-Akshiyarak	блоха, 2016 flea, 2016	0.ANT5
12	Сарыджазский, Аксуйский р-н, ур. Сарыголот Sarydzhaz, Aksu district, Sarygolot mountain area	серый сурок, 2019 gray marmot, 2019	0.ANT5
15	Сарыджазский, Аксуйский р-н, ур. Сарыголот Sarydzhaz, Aksu district, Sarygolot mountain area	биопроба, 2019 biological sample, 2019	0.ANT5
49-50	Сарыджазский, Сары-Ийлек, Каралды Добе Sarydzhaz, Sary-Iylek, Karaldy Dobe	блохи серого сурка, 2019 fleas of the gray marmot, 2019	0.ANT5
177	Верхненарынский, Каракольское отделение, ур. Батыр-Бешик Upper-Naryn, Karakol Department, Batyr-Beshik area	серый сурок, 2019 gray marmot, 2019	0.ANT5
209	Верхненарынский, Каракольское отделение, ур. Батыр-Бешик Upper-Naryn, Karakol Department, Batyr-Beshik area	эктопаразиты сурка, 2019 ectoparasites of the marmot, 2019	0.ANT5
80	Сарыджазский, Ак-Суйский р-н, бас. р. Коойлу, ур. Оройсуу Sarydzhaz, Ak-Su district, Kooylu river basin, Oroysuu area	блохи <i>Oropsylla silantiewi</i> , 2020 fleas <i>Oropsylla silantiewi</i> , 2020	0.ANT5
81	Сарыджазский, Ак-Суйский р-н, бас. р. Коойлу, ур. Оройсуу Sarydzhaz, Ak-Su district, Kooylu river basin, Oroysuu area	блохи <i>O. silantiewi</i> , 2020 fleas <i>O. silantiewi</i> , 2020	0.ANT5
91	Сарыджазский, Ак-Суйский р-н, бас. р. Коойлу, ур. Борду-Тор Sarydzhaz, Ak-Su district, Kooylu river basin, Bordu-Tor area	блохи <i>O. silantiewi</i> , 2020 fleas <i>O. silantiewi</i> , 2020	0.ANT5
165	Сарыджазский, Ак-Суйский р-н, бас. р. Коойлу, ур. Борду-Тор Sarydzhaz, Ak-Su district, Kooylu river basin, Bordu-Tor area	серый сурок, 2020 gray marmot, 2020	0.ANT5
166	Сарыджазский, ур. Борду-Тор Sarydzhaz, Bordu-Tor mountain area	серый сурок, 2020 gray marmot, 2020	0.ANT5
188	Сарыджазский, ур. Малый Талды Суу Sarydzhaz, Lesser Taldy Suu area	сурок, 2020 marmot, 2020	0.ANT5
120	Верхненарынский, Киргизская ССР, Центральный Тянь-Шань, Нарынский контон, с. Баш-Кайынды Upper-Naryn, Kyrgyz SSR, Central Tien Shan, Naryn konton, Bash-Kaiyndy village	человек, 1928 human, 1928	0.ANT3
A-1486	Алайский, Киргизская ССР, Сырты-Алайский р-н, ур. Шорт, левый берег р. Шорт Alai, Kyrgyz SSR, Syrty-Alai district, Short mountain area, left bank of the river Short	красный сурок, 1966 long-tailed marmot, 1966	0.ANT3
231	Аксайский, Киргизская ССР, Восточный Аксай, правый берег р. Балы-Су Aksai, Kyrgyz SSR, Eastern Aksai, right bank of the river Baly-Su	алтайский сурок, 1947 Altai marmot, 1947	0.ANT3

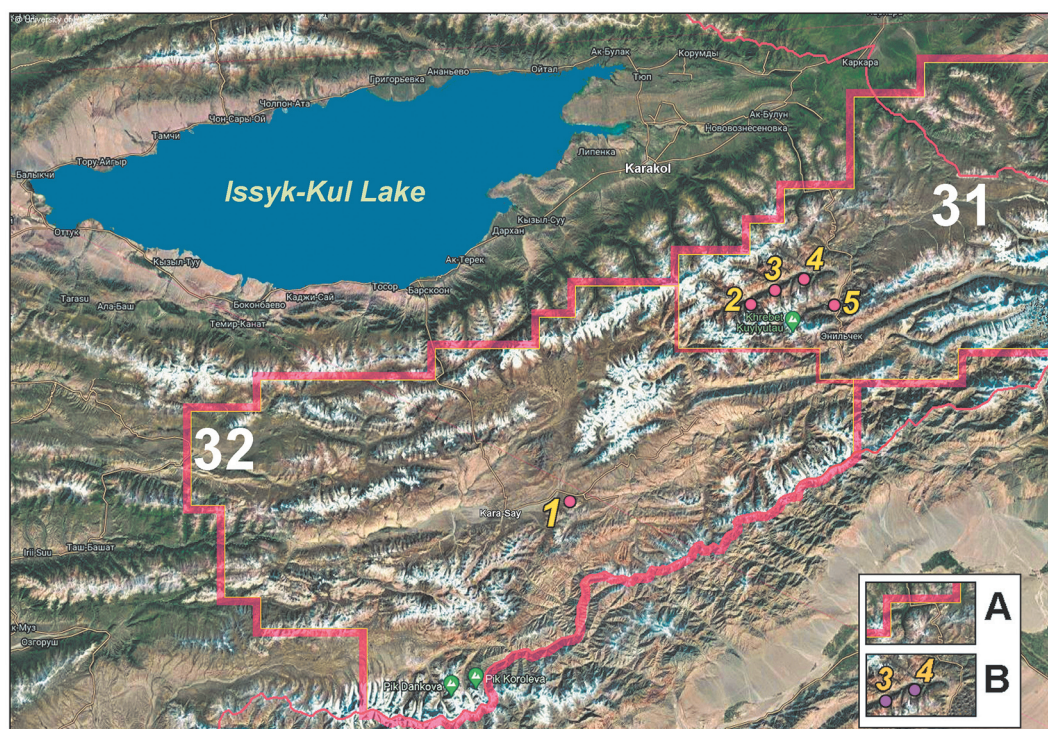


Рис. 1. Места выделения штаммов *Y. pestis* в Сарыджазском (31) и Верхненарынском (32) высокогорных очагах в 2019–2020 гг.:

1 – штаммы 177, 209 (2019 г., ур. Батыр-Бешик); 2 – штаммы 91, 165, 166 (2020 г., бассейн р. Коойлу); 3 – штаммы 80, 81 (2020 г., бассейн р. Коойлу); 4 – штаммы 12, 15 (2019 г., Аксуйский р-н); 5 – штамм 188 (2020 г., ур. Малый Талды Суу); А – границы очагов чумы; В – номера пунктов выделения штаммов

Fig. 1. Sites of isolation of *Y. pestis* strains in the Sarydzhaz (31) and Upper-Naryn (32) high-mountain foci in 2019–2020:

1 – strains 177, 209 (2019, Batyr-Beshik mountain area); 2 – strains 91, 165, 166 (2020, Kooylu river basin); 3 – strains 80, 81 (2020, Kooylu river basin); 4 – strains 12, 15 (2019, Aksu district); 5 – strain 188 (2020, Lesser Taldy Suu area); A – boundaries of plague foci; B – reference numbers of isolation sites

Ниже от ствола 0.ANT5 отходит подветвь, включающая штаммы 1564 (сурок, 1960) и 915 (блохи, 1948), выделенные в Нарынкольском районе Алма-Атинской области Казахстана. В предыдущей работе в эту же подветвь вошел штамм, полученный здесь же в 1971 г. По-видимому, на этом участке Сарыджазского очага, по крайней мере, во второй половине XX века существовала отдельная популяция 0.ANT5 (рис. 2, филогенетический узел 2; табл. 2, 4 SNPs в кодирующих последовательностях).

Далее от ствола 0.ANT5 отходит еще подветвь (рис. 2, филогенетический узел 3; табл. 2, 4 SNPs в кодирующих последовательностях), включающая два единичных штамма 5М (Верхненарынский, 1958, блохи) и КМ2078 (Сарыджазский, 1983, сурок). Штаммы выделены в разные годы в удаленных друг от друга участках Верхненарынского и Сарыджазского очагов, что говорит о широкой распространенности штаммов этой подветви 0.ANT5. К этой же подветви принадлежат и все штаммы XXI в., выделенные в Сарыджазском и Верхненарыньском очагах в 2012–2020 гг. Они делятся на два кластера. Один кластер составлен впервые выявленным клоном (рис. 2, филогенетический узел 4, 3 SNPs) из 4 штаммов (80, 81, 91, 165), выделенных в бассейне р. Коойлу в Сарыджазском очаге в 2020 г. (рис. 1, точки 2 и 3). Второй кластер представлен другим клоном (филогенетический узел 5,

3 SNPs) из 13 штаммов 2012–2020 гг., полученных в Верхненарыньском и Сарыджазском очагах (рис. 1, точки 1, 4, 5) в 2012–2014 и 2016 гг. Этот клон имеет широкий ареал, что свидетельствует о сложившемся благоприятном для его распространения комплексе экологических факторов.

MLVA-анализ по локусам переменных тандемных повторов ms01, ms04, ms06, ms46, ms62, ms70. Для подтверждения клональности происхождения штаммов *Y. pestis* ветви 0.ANT5, выделенных в 2012–2020 гг., проведен их мультилокусный VNTR-анализ по локусам ms01, ms04, ms06, ms46, ms62, ms70. Данные MLVA-анализа подтверждают результаты, полученные с помощью полногеномного секвенирования. Штаммы 2019–2020 гг. разделились на два MLVA-генотипа. Штаммы *Y. pestis* 80, 81, 91, 165 вновь выделенного в 2020 г. клона из бассейна р. Коойлу имеют следующий MLVA-профиль: ms01 – 10,1; ms04 – 6,8; ms06 – 7,5; ms46 – 6; ms62 – 14,3; ms70 – 6,7. Штаммы 2019–2020 гг. – 12, 15, 49-50, 177 и 209, отошедшие к клону 2012–2016 гг., имеют отличный MLVA-профиль: ms01 – 10,1; ms04 – 6,8; ms06 – 5,5; ms46 – 6; ms62 – 10,3; ms70 – 6,7. Идентичный профиль имеют штаммы, выделенные в 2012–2016 гг., что подтверждает клональность их происхождения. Отличия между двумя клонами 2020 г. и 2012–2016 гг. выявлены по двум из этих VNTR-локусов – ms06 и ms62. Первые штаммы име-

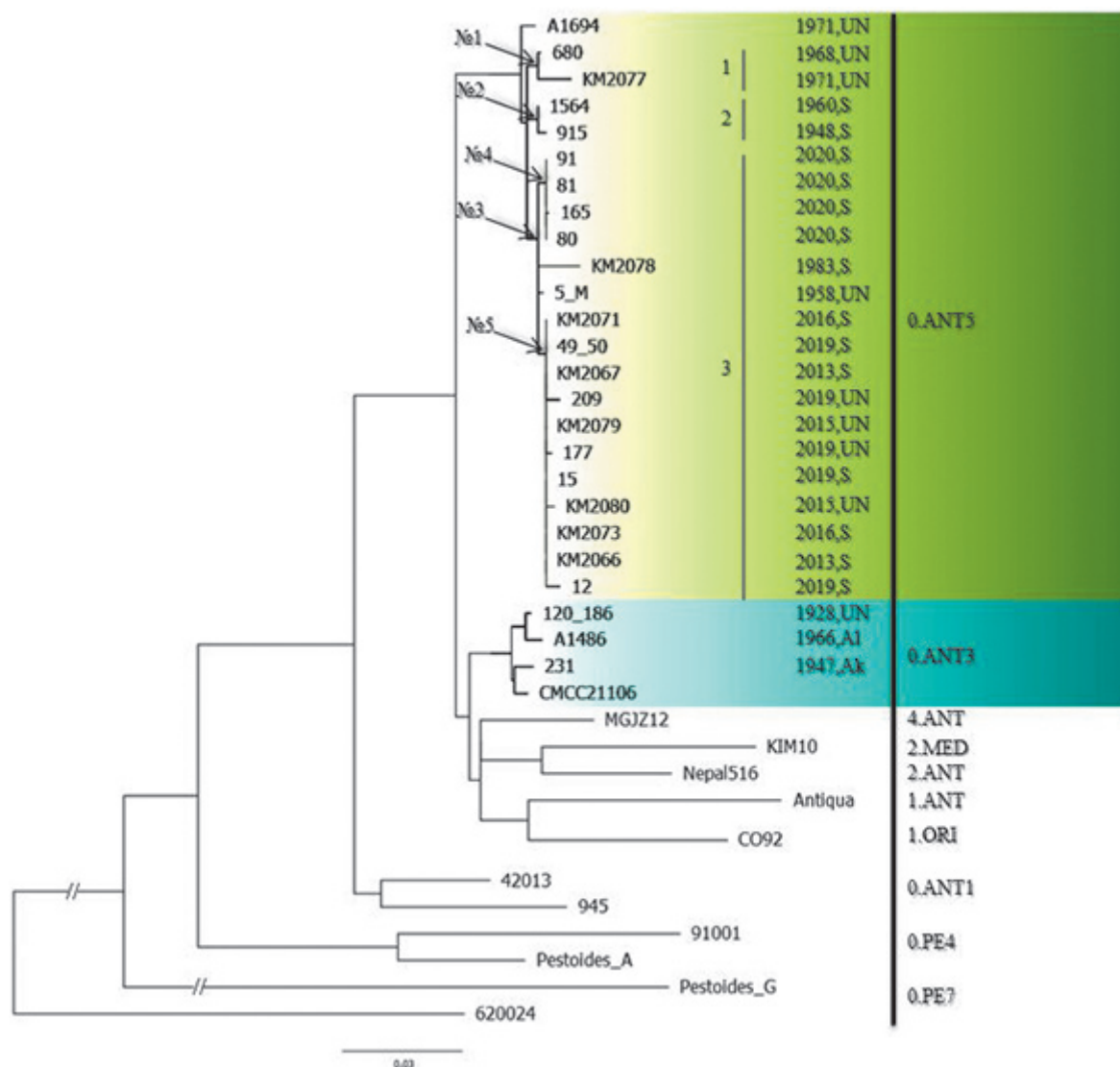


Рис. 2. Филогенетическое родство штаммов *Y. pestis*, выделенных в Сарыджазском и Верхненарынском высокогорных очагах в 2019–2020 гг., по данным полногеномного секвенирования 25 штаммов из очагов Тянь-Шаня на основе 1443 выявленных коровых SNPs. Использованы также полногеномные последовательности 11 штаммов *Y. pestis* различных филогенетических линий из NCBI GenBank. Алгоритм Maximum Likelihood. Программа PhyML 3.1, модель HKY85 с 500 bootstrap подкреплением

Fig. 2. Phylogenetic relation of *Y. pestis* strains isolated in the Sarydzhas and Upper-Naryn high-mountain foci in 2019–2020, according to the data of whole genome sequencing of 25 strains from the foci of Tien Shan, based on 1443 identified core SNPs. The whole genome sequences of 11 *Y. pestis* strains of various phylogenetic lines from NCBI GenBank were also used. Maximum Likelihood algorithm. PhyML 3.1 program, HKY85 model with 500 bootstrap back up

ют 7,5 повтора ms06 и 14,3 повтора ms62, а вторые – 5,5 и 10,3 соответственно.

Таким образом, нами проведено исследование выделенных в Сарыджазском и Верхненарынском высокогорных очагах за период 1948–2020 гг. штаммов *Y. pestis* античного биовара филогенетической ветви 0.ANT5 – одной из наиболее древних филогенетических ветвей *Y. pestis* основного подвида. Известны также доисторические линии *Y. pestis*, геномы которых были реконструированы из археобразцов, насчитывающих 3800–5000 лет, которые также вызывали чуму у людей [18–21]. Однако наиболее ранней из исторически подтвержденных вызванных *Y. pestis* была первая пандемия чумы, продолжавшаяся с 541 по 750 г. Происхождение штаммов, вызвавших эту пандемию, до сих пор остается предметом

дискуссий [22]. Данные полногеномного секвенирования, проведенного нами, показывают, что штаммы 0.ANT5 наиболее близки штаммам Юстиниановой чумы начала первой пандемии. Выполненная недавно реконструкция генома *Y. pestis* из захоронения на Тянь-Шане (186 г. н.э.) показала, что на сегодняшний день этот геном является наиболее базальным геномом филогенетической линии первой пандемии чумы и фактически предшествует пандемии более чем на 300 лет, что подтверждает сделанные нами выводы [23].

Ранее нами установлена принадлежность штаммов 0.ANT5, выделенных в Сарыджазском и Верхненарынском очагах в 2012–2016 гг., к одному клону, распространение которого послужило причиной активизации эпизоотической активности и эпидемиче-

Таблица 2 / Table 2

SNPs, маркерные для филогенетических узлов дендрограммы (рис. 2) штаммов *Y. pestis* 0.ANT5, использованных в этой работеMarker SNPs for phylogenetic nodes of the dendrogram (Fig. 2) showing *Y. pestis* strains of 0.ANT5 used for this study

Узел Node	SNP	Координаты SNP по геному CO92 SNP position across the genome CO92	Ген Gene	Продукт гена Gene product
1	G → A	713729	<i>glnE</i>	glutamate-ammonia-ligase adenyltransferase
	A → T	1229106	<i>dasF</i>	ribonuclease HI
	C → T	1512947	YPO1348	putative membrane protein
	G → T	3560680	<i>malZ</i>	putative maltodextrin glucosidase
2	A → G	2466250	YPO2189	hypothetical protein
	G → A	3827098	<i>ampE</i>	putative membrane-bound sensory transducer in beta-lactamase regulation
	G → A	3847853	<i>holC</i>	DNA polymerase III, chi subunit
	G → A	4293796	<i>glpA</i>	anaerobic glycerol-3-phosphate dehydrogenase subunit A
3	G → A	1395069	YPO1235	conserved hypothetical protein
	G → A	1407962	YPO1250	putative bacteriophage protein
	C → T	1484483	<i>dacC</i>	D-alanyl-D-alanine carboxypeptidase
	G → T	4356050	YPO3879	putative outer membrane usher protein
4	T → C	747841	intergenic	–
	G → T	4266271	YPO3798	putative exported protein
	T → G	4433179	YPO3943	putative membrane protein
5	G → A	94792	intergenic	–
	C → A	933717	<i>lacI</i>	lactose operon repressor
	G → A	971421	intergenic	–

ского осложнения в этих очагах. Из 9 вновь секвенированных штаммов 2019–2020 гг. 5 штаммов также принадлежат к этому мощному клону. В то же время по данным молекулярно-генетического анализа выявлено наличие еще одного клона 0.ANT5, циркулирующего в бассейне р. Коойлу. Штаммы этого клона выделены в 2020 г. на одной территории и идентичны друг другу по профилю маркерных SNPs и MLVA-генотипу. Данные о выявлении еще одного клона 0.ANT5 подтверждают активизацию Сарыджазского и Верхненаарынского очагов Тянь-Шаня в текущем столетии. Выделение штаммов филогенетической ветви 0.ANT5 на разных участках природных очагов Тянь-Шаня свидетельствует о расширении ареала этой популяции античного биовара, вызванного потеплением климата. В других регионах мира штаммы 0.ANT5 не встречаются. Необходимо дальнейшее исследование территорий высокогорных очагов Тянь-Шаня и Памиро-Алая для установления современных границ ареала 0.ANT5, а также выявления участков циркуляции штаммов *Y. pestis* других филогенетических линий, таких как 0.ANT3, ранее широко распространенных в Аксайском и Алайском высокогорных очагах чумы.

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. 191 с.
2. Кутырев В.В., Попова А.Ю., редакторы. Кадастр эпи-

демических и эпизоотических проявлений чумы на территории Российской Федерации и стран ближнего зарубежья (с 1876 по 2016 год). Саратов: ООО «Амирит»; 2016. 248 с.

3. Sariyeva G., Bazarkanova G., Maimulov R., Abdikarimov S., Kurmanov B., Abdirasilova A., Shabunin A., Sagiyeu Z., Dzharapova A., Abdel Z., Mussagaliyeva R., Morand S., Motin V., Kosoy M. Marmots and *Yersinia pestis* strains in two plague endemic areas of Tien Shan mountains. *Front. Vet. Sci.* 2019; 6:207. DOI: 10.3389/fvets.2019.00207.
4. Абдикаримов С.Т., Ибрагимов Э.Ш., Эгембергенов Ч.Э. Современное эпизоотическое состояние природных очагов чумы Кыргызской Республики и мероприятия, направленные на обеспечение эпидемиологического благополучия по чуме. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2018; 2:45–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-2-45-48.
5. Ерошенко Г.А., Джапарова А.К., Оглодин Е.Г., Альхова Ж.В., Куклева Л.М., Кузнецов А.А., Краснов Я.М., Абдикаримов С.Т., Кутырев В.В. Филогенетическая структура штаммов *Yersinia pestis* ветви 0.ANT, выделенных в Тянь-Шане и Памиро-Алае в XX–XXI веках. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2020; 1:76–84. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-1-76-84.
6. Eroshenko G.A., Nosov N.Y., Krasnov Y.M., Oglodin Y.G., Kukleva L.M., Guseva N.P., Kuznetsov A.A., Abdikarimov S.T., Dzharapova A.K., Kutyrev V.V. *Yersinia pestis* strains of ancient phylogenetic branch 0.ANT are widely spread in the high-mountain plague foci of Kyrgyzstan. *PLoS One.* 2017; 12(10):e0187230. DOI: 10.1371/journal.pone.0187230.
7. 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., 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.
8. Harbeck M., Seifert L., Hänsch S., Wagner D.M., Birdsell D., Parise K.L., Wiechmann I., Grupe G., Thomas A., Keim P., Zöller L., Bramanti B., Riehm J.M., Scholz H.C. *Yersinia pestis* DNA from skeletal remains from the 6(th) century AD reveals insights into Justinian plague. *PLoS Pathog.* 2013; 9(5):e1003349. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003349.
9. Wagner D.M., Klunk J., Harbeck M., Devault A., Wagglechner N., Sahl J.W., Enk J., Birdsell D.N., Kuch M., Lumibao C., Poinar D., Pearson T., Fourment M., Golding B., Riehm J.M., Earn D.J., Dewitte S., Rouillard J.M., Grupe G., Wiechmann I., Bliska J.B., Keim P.S., Scholz H.C., Holmes E.C., Poinar H. *Yersinia pestis* and the plague of Justinian 541–543 AD: a genomic analysis. *Lancet Infect. Dis.* 2014; 14(4):319–26. DOI: 10.1016/S1473-3099(13)70323-2.
10. Feldman M., Harbeck M., Keller M., Spyrou M.A., Rott A., Trautmann B., Scholz H.C., Paffgen B., Peters J., McCormick

- M., Bos K., Herbig A., Krause J. A high-coverage *Yersinia pestis* genome from a sixth-century Justinianic Plague victim. *Mol. Biol. Evol.* 2016; 33(11):2911–23. DOI: 10.1093/molbev/msw170.
11. Keller M., Spyrou M.A., Scheib C.L., Neumann G.U., Kröpelin A., Haas-Gebhard B., Pfüffgen B., Haberstroh J., Ribera I Lacomba A., Raynaud C., Cessford C., Durand R., Stadler P., Nägele K., Bates J.S., Trautmann B., Inskip S.A., Peters J., Robb J.E., Kivisild T., Castex D., McCormick M., Bos K.I., Harbeck M., Herbig A., Krause J. Ancient *Yersinia pestis* genomes from across Western Europe reveal early diversification during the first pandemic (541–750). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2019; 116(25):12363–72. DOI: 10.1073/pnas.1820447116.
 12. Guelli M., Kersten O., Namouchi A., Luciani S., Marota I., Arcini C.A., Iregren E., Lindemann R.A., Warfvinge G., Bakanidze L., Bitadze L., Rubini M., Zaio P., Zaio M., Neri D., Stenseth N.C., Bramanti B. A genomic and historical synthesis of plague in 18th century Eurasia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2020; 117(45):28328–35. DOI: 10.1073/pnas.2009677117.
 13. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Лабораторная диагностика особо опасных инфекционных болезней. Практическое руководство. М.: ЗАО «Шико»; 2013. 560 с.
 14. Kado C.I., Liu S.-T. Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids. *J. Bacteriol.* 1981; 145(3):1365–73. DOI: 10.1128/JB.145.3.1365-1373.1981.
 15. Одинокоев Г.Н., Ерошенко Г.А., Куклева Л.М., Шавина Н.Ю., Краснов Я.М., Кутырев В.В. Определение генетических основ аутоотрофности штаммов *Yersinia pestis* кавказского подвиды. *Генетика*. 2012; 48(4): 457–64.
 16. Плохинский Н.А. Биометрия. М.: Изд-во МГУ; 1970. 367 с.
 17. Le Flèche P., Hauck Y., Onteniente L., Prieur A., Denoeud F., Ramiisse V., Sylvestre P., Benson G., Ramiisse 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.
 18. Rasmussen S., Allentoft M.E., Nielsen K., Orlando L., Sikora M., Sjögren K.G., Pedersen A.G., Schubert M., Van Dam A., Kapel C.M., Nielsen H.B., Brunak S., Avetisyan P., Epimakhov A., Khalyapin M.V., Gnumi A., Kriiska A., Lasak I., Metspalu M., Moiseyev V., Gromov A., Pokutta D., Saag L., Varul L., Yepisikoposyan L., Sicheritz-Pontén T., Foley R.A., Lahr M.M., Nielsen R., Kristiansen K., Willerslev E. Early divergent strains of *Yersinia pestis* in Eurasia 5,000 years ago. *Cell.* 2015; 163(3):571–82. DOI: 10.1016/j.cell.2015.10.009.
 19. Andrades Valtuena A., Mitnik A., Key F.M., Haak W., Allmæ R., Belinskij A., Daubaras M., Feldman M., Jankauskas R., Janković I., Massy K., Novak M., Pfrengle S., Reinhold S., Slaus M., Spyrou M.A., Szécsényi-Nagy A., Törv M., Hansen S., Bos K.I., Stockhammer P.W., Herbig A., Krause J. The Stone Age plague and its persistence in Eurasia. *Curr. Biol.* 2017; 27(23):3683–3691.e8. DOI: 10.1016/j.cub.2017.10.025.
 20. Rascovan N., Sjögren K.G., Kristiansen K., Nielsen R., Willerslev E., Desnues C., Rasmussen S. Emergence and spread of basal lineages of *Yersinia pestis* during the neolithic decline. *Cell.* 2019; 176(1–2):295–305.e10. DOI: 10.1016/j.cell.2018.11.005.
 21. Spyrou M.A., Tukhbatova R.I., Wang C.C., Valtuena A.A., Lankapalli A.K., Kondrashin V.V., Tsybin V.A., Khokhlov A., Kühnert D., Herbig A., Bos K.I., Krause J. Analysis of 3800-year-old *Yersinia pestis* genomes suggests Bronze Age origin for bubonic plague. *Nat. Commun.* 2018; 9(1):2234. DOI: 10.1038/s41467-018-04550-9.
 22. Keller M., Spyrou M.A., McCormick M., Bos K.I., Herbig A., Krause J. Ancient *Yersinia pestis* genomes provide no evidence for the origins or spread of the Justinianic Plague. *bioRxiv.* 2019. DOI: 10.1101/819698.
 23. de Barros Damgaard P., Marchi N., Rasmussen S., Peyrot M., Renaud G., Korneliusen T., Moreno-Mayar J.V., Pedersen M.W., Goldberg A., Usmanova E., Baimukhanov N., Loman V., Hedeager L., Pedersen A.G., Nielsen K., Afanasiev G., Akmatov K., Aldashev A., Alpaslan A., Baimbetov G., Bazaliiskii V.I., Beisenov A., Boldbaatar B., Boldgiv B., Dorzhu C., Ellingvag S., Erdenebaatar D., Dajani R., Dmitriev E., Evdokimov V., Frei K.M., Gromov A., Goryachev A., Hakonarson H., Hegay T., Khachatryan Z., Khaskhanov R., Kitov E., Kolbina A., Kubatbek T., Kukushkin A., Kukushkin I., Lau N., Margaryan A., Merkyte I., Mertz I.V., Mertz V.K., Mijiddorj E., Moiseyev V., Mukhtarova G., Nurmukhanbetov B., Orozbekova Z., Panyushkina I., Pieta K., Smrčka V., Shevnina I., Logvin A., Sjögren K.-G., Stolcová T., Taravella A.M., Tashbaeva K., Tkachev A., Tulegenov T., Voyakin D., Yepisikoposyan L., Undrakhbold S., Varfolomeev V., Weber A., Wilson Sayres M.A., Kradin N., Allentoft M.E., Orlando L., Nielsen R., Sikora M., Heyer E., Kristiansen K., Willerslev E. 137 ancient human genomes from across the Eurasian steppes. *Nature.* 2018; 557:369–74. DOI: 10.1038/s41586-018-0094-2.
 24. and Siberia]. Moscow: “Meditsina”; 2004.191 p.
 25. Kutyrev V.V., Popova A.Yu., editors. [Cadastre of Epidemic and Epizootic Manifestations of Plague in the Territory of the Russian Federation and Former Soviet Union (1876–2016)]. Saratov: LLC “Amirir”; 2016. 248 p.
 26. S. Saryeva G., Bazarkanova G., Maimulov R., Abdikarimov S., Kurmanov B., Abdirasulova A., Shabunin A., Sagiyeu Z., Dzharparova A., Abdel Z., Mussagaliyeva R., Morand S., Motin V., Kosoy M. Marmots and *Yersinia pestis* strains in two plague endemic areas of Tien Shan mountains. *Front. Vet. Sci.* 2019; 6:207. DOI: 10.3389/fvets.2019.00207.
 27. Abdikarimov S.T., Ibragimov E.S., Egembergenov C.E. [Current Epizootic Condition of Natural Plague Foci in Kyrgyz Republic and Measures Aimed at Provision of Epidemiological Welfare as regards Plague]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; (2):45–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-2-45-48.
 28. Eroshenko G.A., Dzharparova A.K., Oglodin E.G., Al'khova Z.V., Kukleva L.M., Kuznetsov A.A., Krasnov Y.M., Abdikarimov S.T., Kutyrev V.V. [Phylogeny of *Yersinia pestis* Strains Belonging to 0.ANT Branch, Isolated in Tien-Shan and Pamir-Alay in XX–XXI Centuries]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; 1:76–84. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-1-76-84.
 29. Eroshenko G.A., Nosov N.Y., Krasnov Y.M., Oglodin Y.G., Kukleva L.M., Guseva N.P., Kuznetsov A.A., Abdikarimov S.T., Dzharparova A.K., Kutyrev V.V. *Yersinia pestis* strains of ancient phylogenetic branch 0.ANT are widely spread in the high-mountain plague foci of Kyrgyzstan. *PLoS One.* 2017; 12(10):e0187230. DOI: 10.1371/journal.pone.0187230.
 30. Kutyrev V.V., Eroshenko G.A., Motin V.L., Nosov N.Y., Krasnov Y.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.
 31. Harbeck M., Seifert L., Hänsch S., Wagner D.M., Birdsell D., Parise K.L., Wiechmann I., Grupe G., Thomas A., Keim P., Zoller L., Bramanti B., Riehm J.M., Scholz H.C. *Yersinia pestis* DNA from skeletal remains from the 6(th) century AD reveals insights into Justinianic plague. *PLoS Pathog.* 2013; 9(5):e1003349. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003349.
 32. Wagner D.M., Klunk J., Harbeck M., Devault A., Wagglechner N., Sahl J.W., Enk J., Birdsell D.N., Kuch M., Lumibao C., Poinar D., Pearson T., Fourment M., Golding B., Riehm J.M., Earn D.J., Dewitte S., Rouillard J.M., Grupe G., Wiechmann I., Bliska J.B., Keim P.S., Scholz H.C., Holmes E.C., Poinar H. *Yersinia pestis* and the plague of Justinian 541–543 AD: a genomic analysis. *Lancet Infect. Dis.* 2014; 14(4):319–26. DOI: 10.1016/S1473-3099(13)70323-2.
 33. Feldman M., Harbeck M., Keller M., Spyrou M.A., Rott A., Trautmann B., Scholz H.C., Pfüffgen B., Peters J., McCormick M., Bos K., Herbig A., Krause J. A high-coverage *Yersinia pestis* genome from a sixth-century Justinianic Plague victim. *Mol. Biol. Evol.* 2016; 33(11):2911–23. DOI: 10.1093/molbev/msw170.
 34. Keller M., Spyrou M.A., Scheib C.L., Neumann G.U., Kröpelin A., Haas-Gebhard B., Pfüffgen B., Haberstroh J., Ribera I Lacomba A., Raynaud C., Cessford C., Durand R., Stadler P., Nägele K., Bates J.S., Trautmann B., Inskip S.A., Peters J., Robb J.E., Kivisild T., Castex D., McCormick M., Bos K.I., Harbeck M., Herbig A., Krause J. Ancient *Yersinia pestis* genomes from across Western Europe reveal early diversification during the first pandemic (541–750). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2019; 116(25):12363–72. DOI: 10.1073/pnas.1820447116.
 35. Guelli M., Kersten O., Namouchi A., Luciani S., Marota I., Arcini C.A., Iregren E., Lindemann R.A., Warfvinge G., Bakanidze L., Bitadze L., Rubini M., Zaio P., Zaio M., Neri D., Stenseth N.C., Bramanti B. A genomic and historical synthesis of plague in 18th century Eurasia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2020; 117(45):28328–35. DOI: 10.1073/pnas.2009677117.
 36. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., editors. [Laboratory Diagnostics of Particularly Dangerous Infectious Diseases]. Practice guidelines. Moscow: CJSC “Shiko”; 2013. 560 p.
 37. Kado C.I., Liu S.-T. Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids. *J. Bacteriol.* 1981; 145(3):1365–73. DOI: 10.1128/JB.145.3.1365-1373.1981.
 38. Odiнокоев Г.Н., Eroshenko G.A., Kukleva L.M., Shavina N.Yu., Krasnov Ya.M., Kutyrev V.V. [Determination of the genetic basis of autotrophy in *Yersinia pestis* strains of subspecies caucasica]. *Genetika [Genetics]*. 2012; 48(4):457–64.
 39. Plokhinsky N.A. [Biometrics]. Moscow: Publishing house of Moscow State University; 1970. 367 p.
 40. Le Flèche P., Hauck Y., Onteniente L., Prieur A., Denoeud F., Ramiisse V., Sylvestre P., Benson G., Ramiisse 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.
 41. Rasmussen S., Allentoft M.E., Nielsen K., Orlando L., Sikora M., Sjögren K.G., Pedersen A.G., Schubert M., Van Dam A., Kapel C.M., Nielsen H.B., Brunak S., Avetisyan P., Epimakhov

References

1. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., editors. [Natural Plague Foci in the Territory of Caucasus, Caspian Sea Region, Central Asia

A., Khalyapin M.V., Gnumi A., Kriiska A., Lasak I., Metspalu M., Moiseyev V., Gromov A., Pokutta D., Saag L., Varul L., Yepiskoposyan L., Sicheritz-Pontén T., Foley R.A., Lahr M.M., Nielsen R., Kristiansen K., Willerslev E. Early divergent strains of *Yersinia pestis* in Eurasia 5,000 years ago. *Cell*. 2015; 163(3):571–82. DOI: 10.1016/j.cell.2015.10.009.

19. Andrades Valtueña A., Mitnik A., Key F.M., Haak W., Allmæ R., Belinskij A., Daubaras M., Feldman M., Jankauskas R., Janković I., Massy K., Novak M., Pfrengle S., Reinhold S., Šlaus M., Spyrou M.A., Szécsényi-Nagy A., Törv M., Hansen S., Bos K.I., Stockhammer P.W., Herbig A., Krause J. The Stone Age plague and its persistence in Eurasia. *Curr. Biol.* 2017; 27(23):3683–3691.e8. DOI: 10.1016/j.cub.2017.10.025.

20. Rascovan N., Sjögren K.G., Kristiansen K., Nielsen R., Willerslev E., Desnues C., Rasmussen S. Emergence and spread of basal lineages of *Yersinia pestis* during the neolithic decline. *Cell*. 2019; 176(1–2):295–305.e10. DOI: 10.1016/j.cell.2018.11.005.

21. Spyrou M.A., Tukhbatova R.I., Wang C.C., Valtueña A.A., Lankapalli A.K., Kondrashin V.V., Tsybin V.A., Khokhlov A., Kühnert D., Herbig A., Bos K.I., Krause J. Analysis of 3800-year-old *Yersinia pestis* genomes suggests Bronze Age origin for bubonic plague. *Nat. Commun.* 2018; 9(1):2234. DOI: 10.1038/s41467-018-04550-9.

22. Keller M., Spyrou M.A., McCormick M., Bos K.I., Herbig A., Krause J. Ancient *Yersinia pestis* genomes provide no evidence for the origins or spread of the Justinianic Plague. *bioRxiv*. 2019. DOI: 10.1101/819698.

23. de Barros Damgaard P., Marchi N., Rasmussen S., Peyrot M., Renaud G., Korneliussen T., Moreno-Mayar J.V., Pedersen M.W., Goldberg A., Usmanova E., Baimukhanov N., Loman V., Hedeager L., Pedersen A.G., Nielsen K., Afanasiev G., Akmatov K., Aldashev A., Alpaslan A., Baimbetov G., Bazaliiskii V.I., Beisenov A., Boldbaatar B., Boldgiv B., Dorzhu C., Ellingvag S., Erdenebaatar D., Dajani R., Dmitriev E., Evdokimov V., Frei K.M., Gromov A., Goryachev A., Hakonarson H., Hegay T., Khachatryan Z., Khaskhanov R., Kitov

E., Kolbina A., Kubatbek T., Kukushkin A., Kukushkin I., Lau N., Margaryan A., Merkyte I., Mertz I.V., Mertz V.K., Mijiddorj E., Moiyesev V., Mukhtarova G., Nurmukhanbetov B., Orozbekova Z., Panyushkina I., Pieta K., Smrčka V., Shevnina I., Logvin A., Sjögren K.-G., Stolcová T., Taravella A.M., Tashbaeva K., Tkachev A., Tulegenov T., Voyakin D., Yepiskoposyan L., Undrakhbold S., Varfolomeev V., Weber A., Wilson Sayres M.A., Kradin N., Allentoft M.E., Orlando L., Nielsen R., Sikora M., Heyer E., Kristiansen K., Willerslev E. 137 ancient human genomes from across the Eurasian steppes. *Nature*. 2018; 557:369–74. DOI: 10.1038/s41586-018-0094-2.

Authors:

Kukleva L.M., Oglodin E.G., Naryshkina E.A., Krasnov Ya.M., Kuznetsov A.A., Fadeeva A.V., Eroshenko G.A., Kuttyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrap@microbe.ru.

Dzhaparova A.K., Berdiev S.K. Republican Center for Quarantine and Particularly Dangerous Infections of the Ministry of Health of the Kyrgyz Republic. 92, Skryabina St., Bishkek, Kyrgyz Republic. E-mail: rckooi@mail.ru.

Об авторах:

Куклева Л.М., Оглодин Е.Г., Нарышкина Е.А., Краснов Я.М., Кузнецов А.А., Фадеева А.В., Ерошенко Г.А., Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrap@microbe.ru.

Джапарова А.К., Бердиев С.К. Республиканский центр карантинных и особо опасных инфекций Министерства здравоохранения Кыргызской Республики. Кыргызская Республика, Бишкек, ул. Скрябина, 92. E-mail: rckooi@mail.ru.