

DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-138-147

УДК 616.98:579.842.23(571.15)

М.Б. Ярыгина<sup>1</sup>, В.М. Корзун<sup>1</sup>, С.В. Балахонов<sup>1</sup>, Е.Н. Рождественский<sup>2</sup>, А.В. Денисов<sup>2</sup>

## ГЕНОТИПИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА *YERSINIA PESTIS* SSP. *CENTRAL ASIATICA* BIOVAR *ALTAICA* В ГОРНО-АЛТАЙСКОМ ВЫСОКОГОРНОМ ПРИРОДНОМ ОЧАГЕ ЧУМЫ ПРИ MLVA25-ТИПИРОВАНИИ

<sup>1</sup>ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока», Иркутск, Российская Федерация; <sup>2</sup>ФКУЗ «Алтайская противочумная станция», Горно-Алтайск, Российская Федерация

**Цель работы** – изучить генетическое разнообразие и пространственно-временную генотипическую структуру *Yersinia pestis* subspecies *central asiatica* biovar *altaica* в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге чумы при MLVA25-типировании. **Материалы и методы.** Проведено MLVA25-типирование 330 штаммов *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica*, изолированных в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге чумы в 1961–2015 гг. Построение филогенетического древа осуществляли методами UPGMA и MST. **Результаты и выводы.** На основе кластерного анализа исследованные штаммы дифференцированы на 34 MLVA-типа. Сформированные крупные группы штаммов имеют выраженную пространственную приуроченность. Выявлены три хорологические группировки возбудителя чумы, обладающие своеобразием генотипических характеристик, каждая из которых распространена в пределах популяции основного носителя – монгольской пищухи (Уландрынской, Тархатинской, Курайской) – и, соответственно, в одноименном мезоочаге. MLVA25-структура чумного микроба в Уландрыском и Курайском мезоочагах характеризуется стабильностью во времени; существенные изменения не обнаруживаются с начала их выявления в 1961 и 1999 гг. соответственно. В Тархатинском мезоочаге, известном с 1972 г., наблюдаются кардинальные изменения MLVA25-структуры. Здесь с начала 1990-х гг. произошло массовое распространение MLVA25-типов, до этого периода встречавшихся с небольшой частотой, и элиминация таковых, абсолютно доминирующих до 1980 г. Наиболее вероятно, что смена доминирующих генотипов обусловлена эффектом «бутылочного горлышка», произошедшим в результате резкого снижения эпизоотической активности очага в середине 1980-х гг.

**Ключевые слова:** *Yersinia pestis*, MLVA25-типирование, пространственно-временная структура, Горно-Алтайский природный очаг чумы.

Корреспондирующий автор: Ярыгина Марина Борисовна, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.

Для цитирования: Ярыгина М.Б., Корзун В.М., Балахонов С.В., Рождественский Е.Н., Денисов А.В. Генотипическая структура *Yersinia pestis* ssp. *central asiatica* biovar *altaica* в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге чумы при MLVA25-типировании. Проблемы особо опасных инфекций. 2021; 2:138–147. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-138-147

Поступила 28.01.2021. Отправлена на доработку 08.02.2021. Принята к публ. 08.04.2021.

M.B. Yarygina<sup>1</sup>, V.M. Korzun<sup>1</sup>, S.V. Balakhonov<sup>1</sup>, E.N. Rozhdestvensky<sup>2</sup>, A.V. Denisov<sup>2</sup>

## MLVA25-Typed *Yersinia pestis* ssp. *central asiatica* biovar *altaica* Genotype Structure in Gorno-Altai Mountain Natural Plague Focus

<sup>1</sup>Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East, Irkutsk, Russian Federation;

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

**Abstract.** The aim of the work was to study the genetic diversity and spatial-temporal genotype structure of *Yersinia pestis* subspecies *central asiatica* biovar *altaica* in the Gorno-Altai natural plague focus, using MLVA25-typing. **Materials and methods.** MLVA25-typing of 330 strains of *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica*, isolated in the Gorno-Altai mountain natural plague focus during 1961–2015 was carried out. The phylogenetic tree was constructed with the help of UPGMA and MST algorithms. **Results and discussion.** The analyzed strains have been differentiated into 34 MLVA types based on cluster analysis. The formed major groups of strains show pronounced spatial confinedness. Three chorological groupings of the plague agent with peculiar genotype characteristics have been identified. Each of the groupings is circulating among the main carrier (*Ochotona pallasii*) population and within the limits of the similarly-named mesofocus, respectively (Ulandryksky, Tarkhatynsky and Kuraisky). MLVA25 structure of *Y. pestis* in Ulandryksky and Kuraisky mezofoci show stability over time; there are no significant changes from the time of their first detection in 1961 and 1999, respectively. The dramatic changes in MLVA25 structure are observed in Tarkhatynsky mesofocus, which is known from 1972. Mass expanding of the MLVA25 types which were very rare before took place there from the beginning of 1990-s, along with elimination of the types absolutely dominant up to 1980s. Most likely the changing of dominating genotypes is attributable to the bottleneck effect, arising from the sharp decline of the focal epizootic activity in the mid 1980s.

**Key words:** *Yersinia pestis*, MLVA25-typing, spatial-temporal structure, Gorno-Altai natural plague focus.

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

Corresponding author: Marina B. Yarygina, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.

Citation: Yarygina M.B., Korzun V.M., Balakhonov S.V., Rozhdestvensky E.N., Denisov A.V. MLVA25-Typed *Yersinia pestis* ssp. *central asiatica* biovar *altaica* Genotype Structure in Gorno-Altai Mountain Natural Plague Focus. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2021; 2:138–147. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-138-147

Received 28.01.2021. Revised 08.02.2021. Accepted 08.04.2021.

Yarygina M.B., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7665-4367>  
Korzun V.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1947-5252>  
Balakhonov S.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4201-5828>

Rozhdestvensky E.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6005-3783>  
Denisov A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4678-2453>

В проблеме природной очаговости чумы среди широкого спектра вопросов по оптимизации системы эпидемиологического надзора и изучению чумного микроба, проводимому на молекулярно-генетическом уровне, большое внимание уделяется рассмотрению внутривидового генетического разнообразия *Yersinia pestis* и его изменению в пространстве. Эти исследования, выполняемые с использованием различных методов и подходов, включают три основных направления. Первое – анализ генетической изменчивости подвидов и/или биоваров, приуроченных к обширным территориям различных регионов мира, на которых они циркулируют. Установлены генотипические особенности данных таксономических единиц и достаточно полно отражены их филогенетические связи [1–5]. Второе – анализ генетической вариативности внутри подвидов и/или биоваров *Y. pestis*, циркулирующих в определенных регионах. Исследования, выполняемые в этом направлении, проводятся во многих частях ареала *Y. pestis*. Показано, что географическое распространение определенных геновариантов и генотипов соответствует конкретным природным очагам чумы или их группам [3–16]. Третье – оценка пространственного генотипического разнообразия чумного микроба, циркулирующего в автономном природном очаге. В немногочисленных работах, посвященных разработке данного вопроса, продемонстрирована широкая генотипическая гетерогенность чумного микроба внутри конкретного природного очага и неоднородность *Y. pestis* в его отдельных частях [11, 17–19]. Такие исследования безусловно важны для углубления представлений о пространственной структуре очага и выявления закономерностей его функционирования, связанных с особенностями циркуляции чумного микроба. Особый интерес в рамках проблемы природной очаговости чумы представляет вопрос, касающийся изменения генотипического состава *Y. pestis* в пределах природного очага во времени. В нескольких очагах выявлены такие преобразования и отмечена их связь с эпизоотической активностью [10, 15, 16].

Отмечается, что в настоящее время изучение динамического полиморфизма генетической структуры популяций возбудителя является одной из наиболее важных задач в обширной проблеме природной очаговости инфекционных болезней [20]. Несомненно, для ее решения существенным аспектом является выбор адекватного метода. После того как метод MLVA-типирования (Multiple-locus variable number tandem repeat analysis, мультилокусный анализ вариативного числа tandemных повторов) был предложен для оценки генетического разнообразия *Y. pestis* [2, 21], эта технология стала широко использоваться как при изучении неоднородности чумного микроба внутри отдельных природных очагов, так и в сравни-

тельном филогенетическом анализе штаммов, изолированных в разных очагах [8–10, 12, 13, 17–19, 22]. При изучении больших выборок штаммов *Y. pestis* и проведении популяционно-генетических исследований данный инструмент по сравнению с другими методами генотипирования обладает несомненными преимуществами и информативностью [3, 8, 23].

Следует акцентировать внимание на том, что основным условием для корректной оценки генотипической структуры популяции возбудителя природно-очаговой болезни является наличие репрезентативной выборки штаммов, полученных в природном очаге от всех его компонентов (различных видов теплокровных животных – носителей и членистоногих – переносчиков возбудителя инфекции) [20] и, добавим, изолированных на всей территории природного очага в течение продолжительного времени. В полной мере этим требованиям отвечают материалы, полученные в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге чумы, расположенном в Юго-Восточном Алтае. В данном очаге циркулирует чумной микроб двух подвидов: центральноазиатского алтайского биовара (*Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica*) и основного (*Y. pestis* ssp. *pestis*). Штаммы *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* изолируют с 1961 г., основной носитель – монгольская пищуха (*Ochotona pallasi*) [17]; штаммы *Y. pestis* ssp. *pestis* – с 2012 г., основной носитель – серый сурок (*Marmota baibacina*) [24]. При циркуляции чумного микроба центральноазиатского подвида алтайского биовара в очаге выделены три мезоочага: Уландрыкский (эпизоотии регистрируют с 1961 г.), Тархатинский (с 1972 г.) и Курайский (с 1999 г.), которые территориально и функционально связаны с одноименными популяциями монгольской пищухи [17]. Всего в Юго-Восточном Алтае выделены четыре популяции этого животного, их географическое позиционирование представлено на рис. 1. Эпизоотии различной интенсивности, вызванные *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica*, отмечают в очаге ежегодно [17]. С 1961 по 2019 г. изолировано 2430 штаммов этого варианта возбудителя.

**Цель работы** – изучить генетическое разнообразие и пространственно-временную генотипическую структуру *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге чумы при MLVA25-типировании.

## Материалы и методы

Работа выполнена на 330 штаммах *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica*, выделенных в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге чумы при проведении эпизоотологического обследования в 1961–2015 гг. (в 2016–2019 гг. выделяли единичные штаммы), что составляет 13,7 % от их общего

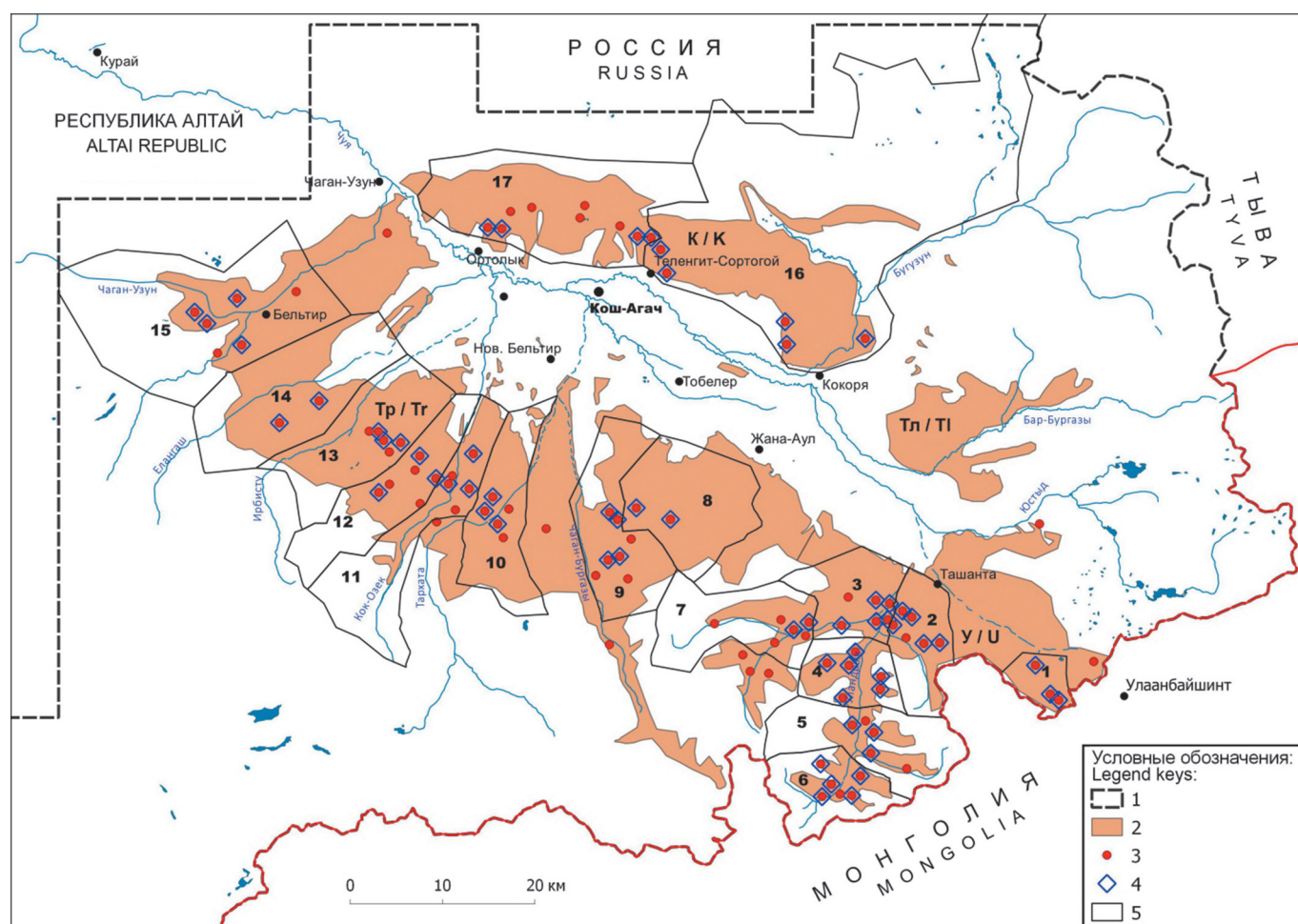


Рис. 1. Пространственная структура населения монгольской пищухи и места изоляции *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге:

1 – граница Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы; 2 – область распространения монгольской пищухи; 3 – точки изоляции *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica*; 4 – точки изоляции штаммов *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica*, использованных при MLVA25-типировании; 5 – границы эпизоотических участков.

На карте буквами обозначены популяции монгольской пищухи: У – Уландрыкская; Тр – Тархатинская; К – Курайская; Тл – Талдуирская.

Цифрами обозначены эпизоотические участки: 1 – Кызыл-Капчал; 2 – Большие и Малые Сары-Гобо; 3 – Низовье р. Уландрык; 4 – стационар и Большой Кочкор-Бас; 5 – середина р. Уландрык; 6 – вершина р. Уландрык; 7 – середина р. Большие Шибеты; 8 – Оюм и Шибе; 9 – правый берег р. Чаган-Бургазы; 10 – низовье р. Тархата; 11 – Кок-Озек; 12 – Сербисту; 13 – середина р. Ирбисту; 14 – середина р. Елангаш; 15 – середина р. Чаган-Узун; 16 – восточная часть Курайского хребта; 17 – центральная часть Курайского хребта

Fig. 1. The spatial structure of Mongolian pika population, and the sites of isolation of *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* in the Gorno-Altai mountain natural plague focus:

1 – the border of the Gorno-Altai mountain natural plague focus; 2 – the Mongolian pika areal; 3 – the sites of *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* isolation; 4 – the isolation sites of MLVA25-typed *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* strains; 5 – the epizootic area boundaries.

Letter symbols on the map stand for Mongolian pika populations: U – Ulandryksky; Tr – Tarkhatynsky; K – Kuraisky; Tl – Talduirsky.

Numeral symbols: 1 – Kyzyl-Kapchal; 2 – Greater and Small Sary-Gobo; 3 – downstream of Ulandryk river; 4 – the Station and Large Kochkor-Bas; 5 – midstream of Ulandryk river; 6 – upper Ulandryk river; 7 – midstream of Bolshie Shibety river; 8 – Oyum and Shibe; 9 – right bank of Chagan-Burgazy river; 10 – downstream of Tarkhata river; 11 – Kok-Ozek; 12 – Serbistu; 13 – middle of Irbistu river; 14 – middle of Elangash river; 15 – middle of Chagan-Uzun river; 16 – eastern part of Kuraisky Range; 17 – central part of Kuraisky Range

количества за этот период. Места изоляции штаммов *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica*, использованных в работе, представлены на рис. 1; они приурочены к большей части энзоотичной территории и получены на 17 эпизоотических участках из 24 известных. При этом на семи последних, откуда штаммы не взяты в исследование, были только единичные находки *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica*. Используемые в статье наименования участков соответствуют названию рек или урочищ, в районе которых они расположены.

Из Уландрыкского мезоочага исследовано

184 штамма (12,7 % от всех выделенных в нем), из Тархатинского – 110 (13,9 %), из Курайского – 36 (20,1 %). Изученные штаммы достаточно равномерно распределены по времени их изоляции: 1961–1981 гг. – 116 (13,2 % от полученных за данный период), 1982–2001 гг. – 70 (9,2 %), 2002–2015 г. – 144 (18,6 %). По объектам выделения штаммы распределялись следующим образом: от монгольской пищухи изучено 73 штамма (22,1 % от всего числа исследованных), от других млекопитающих семи видов – 30 (9,1 %), от основных переносчиков – блох *Paradoxopsyllus scorodumovi* – 71 (21,5 %), *Ctenophyllus hirticrus* – 42



(12,7 %), *Amphalius runatus* – 35 (10,6 %), от других эктопаразитов 17 видов – 79 (23,9 %). Такое разделение количества изолятов по объектам хорошо соответствует характеру распределения всех полученных в очаге штаммов *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* по источникам выделения [17].

В работе использовали штаммы *Y. pestis* ssp. *asiatica* bv. *altaica*, хранящиеся в коллекции музея живых культур Иркутского научно-исследовательского противочумного института Сибири и Дальнего Востока. Чумной микроб культивировали на агаре Хоттингера (pH 7,2) при температуре 28 °C 48 часов.

Препараты ДНК получали с применением лизиса 3 % SDS с 50 mM EDTA с последующей депротеинизацией смесью хлороформ-изоамиловый спирт (24:1) и осаждением этанолом. MLVA-типирование проводили, как описано ранее [3, 21]. Размер полученных ампликонов определяли методом капиллярного электрофореза на ДНК-анализаторе ABIPrism® 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США; Hitachi, Япония) путем сравнения с маркером молекулярного веса GeneScan™ 500 LIZ™ Size Standard. Исходя из размера (в п.о.) получаемого ампликона, определяли число tandemных повторов в каждом из исследованных локусов. Построение филогенетического древа осуществляли методами UPGMA (Unweighted pair group method with arithmetic mean, попарного невзвешенного кластирования с арифметическим усреднением) и MST (Minimum spanning tree, минимального остовного дерева) при помощи программного комплекса Bionumerics v 7.6 (Applied Maths, Бельгия).

Сравнение распределений проводили по критерию согласия [25]. Географическое позиционирование мест выделения возбудителя чумы, границ поселений монгольской пищевухи выполнено в программе QGIS 2.12.0.

## Результаты и обсуждение

На основе кластерного анализа 25 VNTR локусов 330 исследованных штаммов *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* дифференцированы на 34 MLVA-типа, названных GA1-GA34 (рис. 2). Из них 11 уникальны и обнаружены только у одного штамма из исследуемой выборки, 17 небольших по объему типов объединяли от 2 до 8 штаммов, в состав трех средних входили 14, 15 и 19 штаммов, три наиболее крупных включали 56, 57 и 91 штамм (таблица).

При анализе изменчивости оказалось, что 16 локусов не вариабельны (рис. 2). По трем изменчивость очень низка; редкими аллелями по локусу *yp0120ms01* оказались 8 повторов, *yp1108ms45* – 6 и 9 повторов, *yp1580ms70* – 6 повторов. По шести локусам (*yp2916ms07*, *yp1814ms20*, *yp0581ms40*, *yp1335ms46*, *yp4280ms62*, *yp1925ms71*) наблюдается выраженное разнообразие.

Результаты кластерного анализа показывают,

что в исследуемой выборке выделяются два кластера (*A* и *B*), примерно сходных по количеству входящих в них штаммов (186 и 144 соответственно) (рис. 2). Кластер *A* включает в себя два больших подкластера (*A1* и *A2*). В *A1* вошли 70 штаммов, из них 67 изолированы в Уландрыкском мезоочаге и 3 – в Тархатинском. Подкластер *A2* включает 116 штаммов, из которых 110 выделены в Уландрыкском мезоочаге, 5 – в Тархатинском, 1 – в Курайском. В кластере *B* один штамм, изолированный в Тархатинском мезоочаге, расположен отдельно (генотип GA34). Остальные штаммы образуют два крупных подкластера (*B1* и *B2*). Подкластер *B1* содержит 79 штаммов, 78 из которых выделены в Тархатинском мезоочаге и 1 – в Курайском. Во вторую ветвь *B2*, состоящую из 64 штаммов, попали 7 изолятов из Уландрыкского мезоочага, 23 – из Тархатинского и 34 – из Курайского (рис. 2, таблица). Значения бутстреп-анализа при формировании кластеров и подкластеров колеблются в пределах 40–75, ветвей внутри подкластеров – 67–88. Слабая бутстреп-поддержка кластеризации в целом характерна для MLVA, что определяется высокой скоростью мутирования VNTR-локусов и обусловленной этим гомоплазией [2, 10, 13].

Обращает на себя внимание, что сформированные крупные группы – подкластеры – преимущественно состоят из штаммов, выделенных на территории определенного мезоочага. В подкластерах *A1* и *A2* штаммы из Уландрыкского мезоочага составляют суммарно 96,2 % от объема всей выборки с этой территории. Наиболее гомогенный по месту выделения штаммов подкластер *B1* представлен преимущественно штаммами из Тархатинского мезоочага, при этом в него вошли 70,1 % изолятов от всех выделенных в нем. В наиболее гетерогенный по составу подкластер *B2* входят штаммы, изолированные главным образом в Курайском (94,4 % от общего количества штаммов из этой части очага), а также Тархатинском (20,1 %) мезоочагах. Сравнение распределений штаммов по принадлежности к мезоочагам в четырех основных группах (*A1*, *A2*, *B1*, *B2*) свидетельствует, что оно неслучайно и с высокой достоверностью определяется местом их выделения ( $\chi^2=397,25$ ;  $df=6$ ;  $p<0,001$ ).

Для дополнительной оценки особенностей MLVA25-генотипической структуры *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* в Горно-Алтайском природном очаге чумы проведен анализ методом MST (рис. 3). Очевидно наличие трех оформленных групп, сформированных в зависимости от места выделения штаммов и соответствующих данным, полученным методом UPGMA. Уландрыкская и Тархатинская группы преимущественно состоят из штаммов, изолированных в соответствующих мезоочагах, между ними расположена группа, в которую вошли штаммы из Курайского и Тархатинского мезоочагов.

Рассмотрим зависимость выделяющихся отдельных групп изолятов от времени получения штаммов и приуроченности их к отдельным эпизоотическим

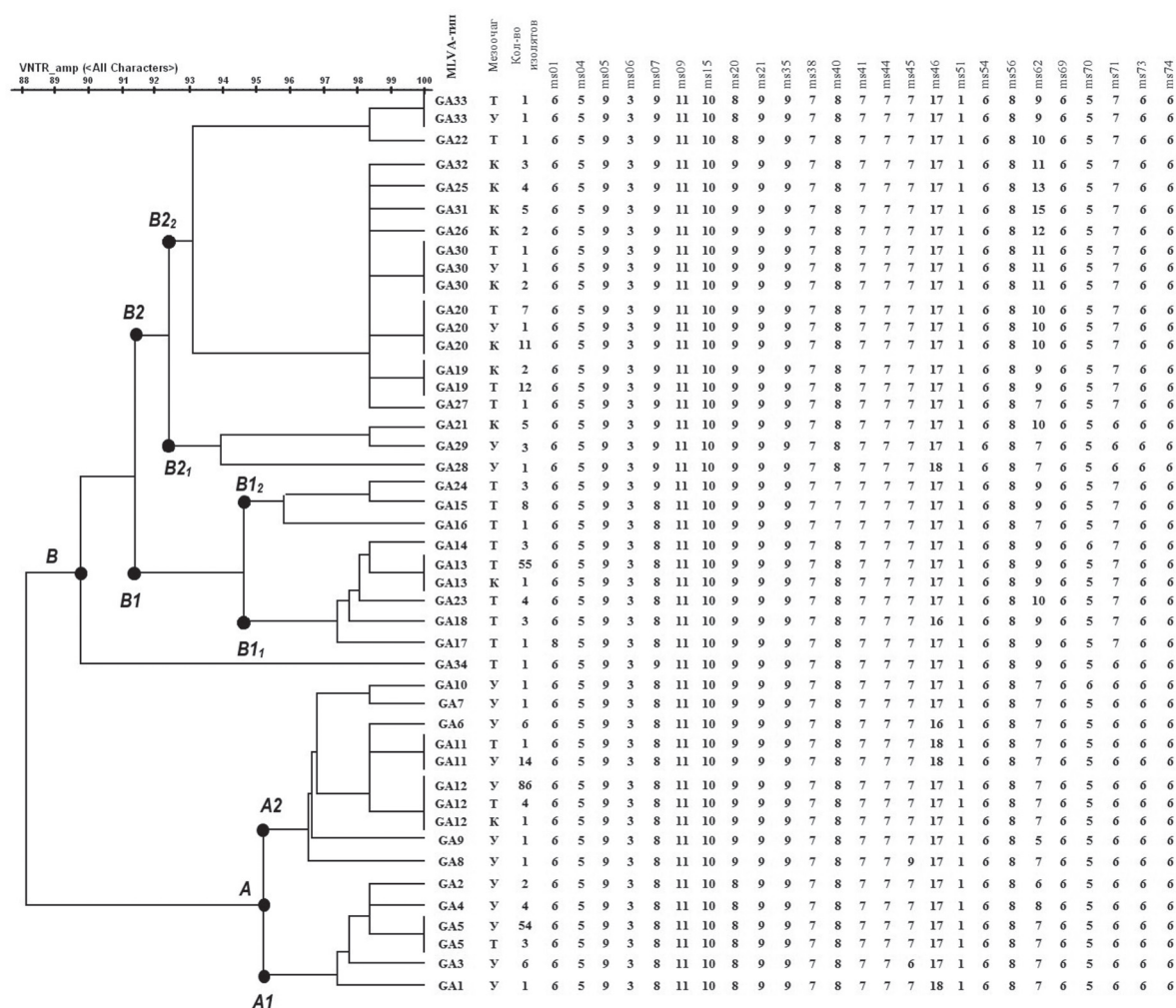


Рис. 2. UPGMA-дендрограмма MLVA25-типов, обнаруженных у 330 штаммов *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica*, изолированных в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге чумы. Буквами обозначены мезоочаги, в которых изолированы штаммы: Y – Уландрыкский; T – Тархатинский; K – Курайский

Fig. 2. UPGMA dendrogram of MLVA25 types, detected in 330 *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* strains, isolated in Gorno-Altai high-mountain natural plague focus. Mesofooci, where the strains were isolated, are designated: Y – Ulandryksky; T – Tarkhatynsky; K – Kuraisky

участкам внутри мезоочагов. Распределение штаммов из Уландрыкского мезоочага в двух ветвях кластера A в целом не связано со временем и участками их выделения. Изоляты в подкластерах A1 и A2 получены, начиная от обнаружения очага в 1961 г. и по настоящее время, и на всех эпизоотических участках (таблица, рис. 2). Такая картина выражена у двух крупных MLVA25-типов – GA5 и GA12, в основном определяющих количественный состав кластера A. Напротив, небольшие по объему MLVA25-типы сформированы штаммами, изолированными в пределах одного эпизоотического участка (GA2, GA3, GA4) или на граничащих между собой участках (GA6) и в близкие годы.

В подкластере B1 штаммы из Тархатинского мезоочага образуют две ветви B1<sub>1</sub> (5 MLVA25-типов) и B1<sub>2</sub> (3 MLVA25-типа). В первую из них вошли 67 штаммов, полученных в 1990–2007 гг. на большинстве эпизоотических участков этой части очага, во вторую – 12 изолятов, выделенных в 2003–2014 гг. на трех участках (таблица, рис. 2).

Самая разнородная совокупность штаммов по месту выделения – подкластер B2; в нем сформированы две обособленные группы – B2<sub>1</sub> и B2<sub>2</sub>. В группе B2<sub>1</sub> два MLVA25-типа (GA28 и GA29) представлены 4 штаммами из Уландрыкского мезоочага, весьма разнородными по времени выделения (таблица). Еще в один MLVA25-тип (GA21) попали 5 штаммов из Курайского мезоочага. В ветвь B2<sub>2</sub>, образованную 10 MLVA25-типами, входят 29 штаммов из Курайского мезоочага, полученные с 1999 (год обнаружения мезоочага) по 2015 г. на большей части его территории, и три штамма из Уландрыкского мезоочага. Кроме того, в ее составе 23 штамма из Тархатинского мезоочага, из них 20 выделены с 1972 (год обнаружения мезоочага) по 1979 г. и только три получены в 2002, 2003 и 2005 гг.

В кластере B, так же как и в кластере A, большинство небольших по объему MLVA25-типов сформированы штаммами, изолированными в один или близкие годы в пределах одного (GA14, GA18, GA21, GA25, GA31, GA32) или двух расположенных рядом

Характеристика MLVA25-типов *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* в Горно-Алтайском природном очаге чумы по месту и времени изоляции штаммов

 Characterization of the *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* MLVA25-types from the Gorno-Altai natural plague focus by the site and time of the strain isolation

MLVA25-тип MLVA25-type	Мезоочаг* (число штаммов) Mesofocus* (number of strains)	Участок** Region**	Год выделения Years of isolation
GA1	У/У (1)	4	1992
GA2	У/У (2)	2	2001, 2004
GA3	У/У (6)	5	2000, 2003
GA4	У/У (4)	3	1990, 2000, 2003
GA5	У/У (54), Т (3)	1, 2, 3, 4, 5, 6, 10, 12	1965, 1970–1973, 1975, 1976, 1978–1982, 1984–1987, 1992–1994, 2003, 2006, 2007
GA6	У/У (6)	2, 3, 7	1998, 2001, 2003
GA7	У/У (1)	4	1982
GA8	У/У (1)	4	1970
GA9	У/У (1)	3	1965
GA10	У/У (1)	1	1981
GA11	У/У (14), Т/Т (1)	2, 3, 4, 11	1990–1992, 1995, 2002, 2003, 2006, 2007
GA12	У/У (86), Т/Т (4), К/К (1)	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 12, 16	1961–1970, 1974–1982, 1985, 1986, 1988–1990, 1995, 1998–2003, 2006
GA13	Т/Т (55), К/К (1)	10, 11, 12, 13, 14, 15, 16	1990, 2002, 2003, 2005, 2006, 2007
GA14	Т/Т (3)	12	2007
GA15	Т/Т (8)	12, 13	2003, 2006, 2014
GA16	Т/Т (1)	13	2006
GA17	Т/Т (1)	12	2006
GA18	Т/Т (3)	15	2003
GA19	Т/Т (12), К/К (2)	8, 9, 10, 12, 16, 17	1972, 1973, 1975, 1979, 2000, 2002, 2003, 2005
GA20	У/У (1), Т/Т (7), К/К (11)	1, 8, 9, 16, 17	1972, 1973, 1975–1977, 1979, 1999, 2000, 2006
GA21	К (5)	17	2006
GA22	Т/Т (1)	12	1973
GA23	Т/Т (4)	12, 13	2006
GA24	Т/Т (3)	9, 13	2005, 2007
GA25	К/К (4)	17	2006, 2007
GA26	К/К (2)	16, 17	2002, 2004
GA27	Т/Т (1)	8	1977
GA28	У (1)	4	2007
GA29	У (3)	3, 4	1964, 1994, 2006
GA30	У (1), Т/Т (1), К/К (2)	1, 9, 16	1976, 2002, 2007
GA31	К/К (5)	16	2002, 2003
GA32	К/К (3)	16	2015
GA33	У (1), Т/Т (1)	4, 9	1975, 1976
GA34	Т/Т (1)	12	1973

Примечание: \* – У/У – Уландрыкский, Т/Т – Тархатинский, К/К – Курайский; \*\* – номера участков, как на рис. 1.

Note: \* – У/У – Ulandrytsky, Т/Т – Tarkhatynsky, К/К – Kuraisky; \*\* – region numbers as in Fig. 1.

(GA15, GA23, GA26) эпизоотических участков. Но проявляются и исключения из этой закономерности: тип GA24 выявлен на двух разделенных большим расстоянием участках, GA29 – на граничащих между собой участках, но через большие промежутки времени – в течение 42 лет, GA30 обнаружен в трех мезоочагах с большим разрывом во времени (таблица). Крупный (GA13) и средние (GA19, GA20) по объему MLVA25-типы представлены штаммами, изолированными на многих эпизоотических участках и в разных мезоочагах за большие промежутки времени.

При анализе связи штаммов, представленных одним MLVA25-типом, с объектами, из которых они были выделены, не обнаружено зависимости от видов млекопитающих и эктопаразитов, т.е. по этому фактору штаммы распределяются в группах случайным образом.

Изложенные результаты MLVA25-типирования показывают качественную неоднородность изученной совокупности и выраженную пространственную структурированность *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* в Горно-Алтайском природном очаге

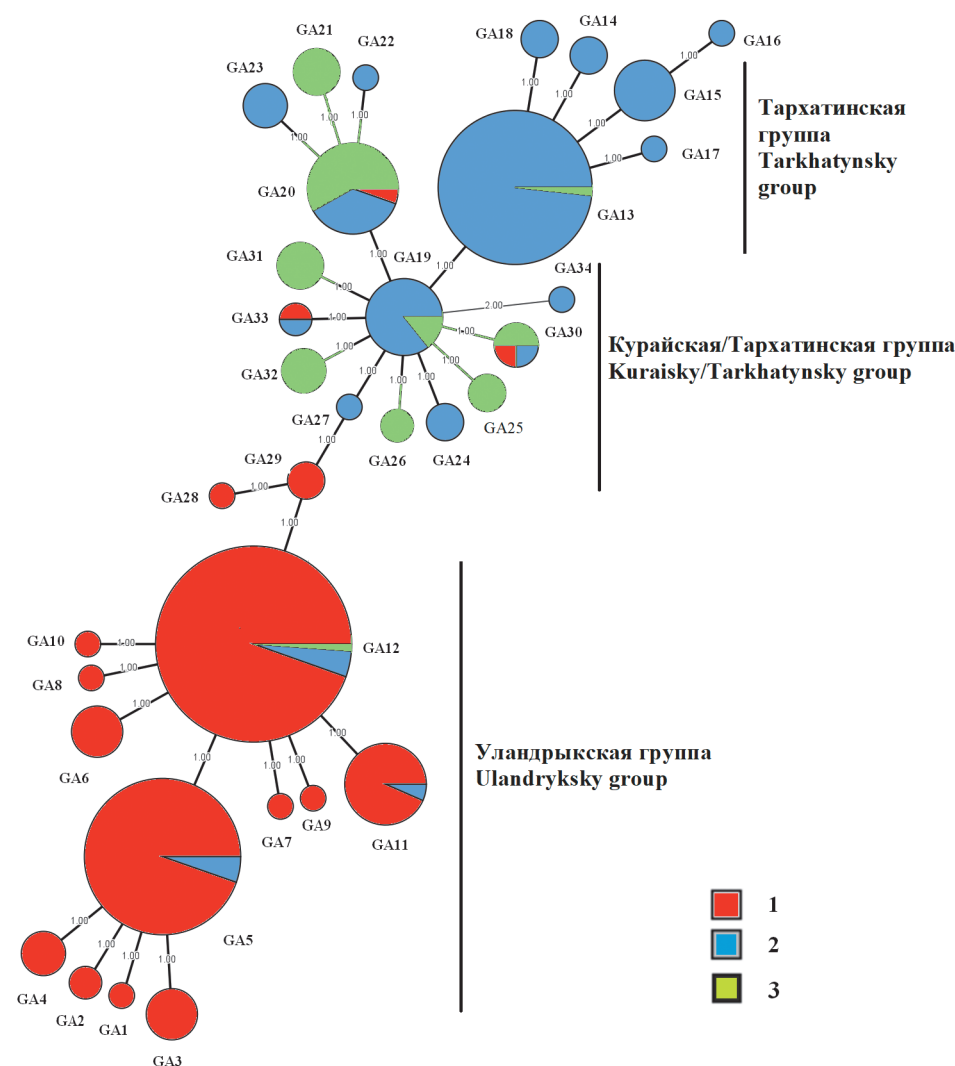


Рис. 3. Минимальное остовное дерево (MST), построенное на основании данных MLVA25-типирования 330 штаммов *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica*, изолированных в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге чумы:

Каждый MLVA25-тип представлен кругом, его размер показывает число штаммов.

Цвет указывает на штаммы, выделенные в разных мезочагах: 1 – Уландрыкский; 2 – Тархатинский; 3 – Курайский

Fig. 3. Minimal spanning tree (MST), built on the basis of data of MLVA25 typing of 330 *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* strains, isolated in Gorno-Altai mountain natural plague focus:

Every MLVA25-type is represented by a circle with the size corresponding to the number of strains.

The color distinguishes the strains from different mesofoci: 1 – Ulandryksky; 2 – Tarkhatynsky; 3 – Kuraisky

чумы. На его территории выявляются три четко разграниченные хронологические группировки возбудителя чумы алтайского биовара центральноазиатского подвида, обладающие своеобразием генотипических характеристик. Каждая из них распространена в пределах популяции основного носителя – монгольской пищухи (Уландрыкской, Тархатинской, Курайской) – и, соответственно, в одноименном мезочаге.

Некоторые исследователи считают, что своеобразие генетического состава групп штаммов чумного микроба при MLVA25-типировании, изолированных на различных территориях очага, позволяет выделять эти пространственные группировки в отдельные мезочаги [11, 19]. Необходимо обратить внимание на то, что в отдельных работах проиллюстрирована пространственная неоднородность *Y. pestis*, связанная с субвидовой хронологической структурой основных носителей. Четко выраженные различия между группами изолятов выявлены при исследовании генотипической структуры *Y. pestis* в природном очаге чумы в Аризоне [22]. В четырех крупных изолированных поселениях луговой собачки (*Synomys gunnisoni*) – основного носителя возбудителя – преобладали разные MLVA43-типы *Y. pestis*. Строгих доказательств популяционной са-

мостоятельности пространственных группировок этих животных не приводится, но, исходя из занимаемой ими площади, их географической разобщенности, можно полагать, что они представляют собой отдельные популяции. На Мадагаскаре возбудитель обнаруживается в нескольких географически разделенных субпопуляциях. В каждой из них *Y. pestis* по результатам SNP- и MLVA43-анализов характеризуется генотипической неоднородностью и циркулирует в отдельной относительно независимой популяции черной крысы (*Rattus rattus*) [10].

Представленные в настоящем сообщении результаты и данные, полученные разными авторами [10, 22], являются весомым аргументом в пользу того, что основным фактором, определяющим внутривидовую пространственную генетическую дифференциацию *Y. pestis* в очаге (или группе родственных очагов), является популяционная структура основного носителя патогена.

Обращает на себя внимание, что доминирующие MLVA25-типы сохраняются в каждом из мезочагов продолжительное время, а некоторые аллели встречаются преимущественно только на их обширных территориях. Такая ситуация хорошо прослеживается в Уландрыкском мезочаге, известном с 1961 г.;



GA5 и GA12 MLVA25-типы выявляются в нем около 50 лет и на всей территории. Эти данные указывают на то, что между поселениями зверька, занимающими отдельные лога, урочища, долины рек, внутри популяции возбудитель чумы распространяется беспрепятственно. В то же время обнаружение одного MLVA25-типа, хотя и с существенно различающейся частотой, в разных популяциях носителя показывает определенную связь между этими совокупностями и свидетельствует о тесном родстве *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* на территории очага. Такая картина отмечается для GA5, GA11, GA12-типов, которые широко распространены в Уландрыкской популяции и очень редки в двух других, или, наоборот, в типе GA20 большинство штаммов из Тархатинской и Курайской популяций и лишь один из Уландрыкской. Вместе с этим MLVA25-типы, представленные небольшим количеством штаммов, выявляются, за небольшим исключением, на определенных эпизоотических участках и, следовательно, приурочены к отдельным поселениям носителей в пределах одной популяции. Другая их характерная черта – это небольшие временные интервалы, в течение которых они регистрируются.

В результате проведенных исследований установлен факт, заключающийся в кардинальном изменении MLVA25-структуры *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* в Тархатинском мезоочаге во времени. В выборке изолятов с этой территории выявлены две обособленные группы. В первую из них вошли штаммы, преимущественно выделенные в 1972–1979 гг. (83 % от общего количества тархатинских штаммов в этой группе), во вторую – полученные в 1990–2014 гг. Это однозначно показывает, что в мезоочаге после 1980-х гг. произошло массовое распространение генотипов, до этого периода встречавшихся с небольшой частотой, и элиминация генотипов, абсолютно доминирующих до 1980 г. По-видимому, основой причиной, определившей трансформацию генотипической структуры чумного микроба в Тархатинском мезоочаге, явились процессы, связанные с закономерным изменением эпизоотической активности. В Горно-Алтайском природном очаге чумы отмечаются периодические колебания этого параметра, связанные с циклами динамики численности монгольской пищухи [17]. В 1985–1989 гг. эпизоотические проявления характеризовались очень низкой интенсивностью – выделяли только единичные культуры возбудителя на ограниченной территории. В последующие годы в Тархатинском мезоочаге наблюдались активные разлитые эпизоотии, энзоотичная по чуме территория существенно возросла [17]. Наиболее вероятно, что смена доминирующих генотипов обусловлена эффектом «бутылочного горлышка» (дрейфом генов), произошедшим в результате резкого уменьшения распространенности чумного микроба в поселениях носителей. Интересно отметить, что MLVA25-типы чумного микроба, которые были в Тархатинской популяции носителя до 1980-х гг. и за-

тем элиминировали из нее, широко представлены в Курайской популяции, где циркуляция *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* впервые была установлена в 1999 г. Преобразования же генотипической структуры возбудителя в пределах Уландрыкской популяции монгольской пищухи за рассмотренный промежуток времени не произошло.

В отличие от обнаруженных резких изменений MLVA-типического состава возбудителя во времени в некоторых очагах показана постепенная трансформация. В очаге чумы на Мадагаскаре отдельные генотипы исчезают или их встречаемость уменьшается, тогда как другие вновь возникают и получают распространение [10]. Принципиально другой механизм трансформации генотипического состава чумного микроба выявлен в ряде природных очагов европейской части России и Казахстана при проведении филогенетического анализа SNP [15, 16]. После многолетних перерывов эпизоотической активности в них произошли резкие изменения генотипических характеристик возбудителя, вновь получившего здесь распространение в результате заноса с другой энзоотичной по чуме территории.

Таким образом, представленные данные демонстрируют, что в трех отдельных мезоочагах Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы, расположенных в границах популяций основного носителя, *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* обладает высокоспецифичной генотипической структурированностью, выявляемой при MLVA25-типировании, и, следовательно, в каждом из них циркулируют относительно независимые совокупности возбудителя инфекции. При попадании *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* в самостоятельную популяцию хозяина такие хорологические группировки формируются за относительно короткое время. Впоследствии одни из них характеризуются долговременной стабильностью по MLVA25-типам, в других могут происходить существенные хронологические трансформации.

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

#### Список литературы

1. Adair D.M., Worsham P.L., Hill K.K., Klevytska A.M., Jackson P.J., Friedlander A.M., Keim P. Diversity in a variable-number tandem repeat from *Yersinia pestis*. *J. Clin. Microbiol.* 2000; 38(4):1516–9. DOI: 10.1128/jcm.38.4.1516-1519.2000.
2. 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(9):3179–85. DOI: 10.1128/jcm.39.9.3179-3185.2001.
3. 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.
4. Morelli G., Song Y., Mazzoni C.J., Eppinger M., Roumagnac P., Wagner D.M., Feldkamp M., Kusecek B., Vogler A.J., Li Y., Cui Y., Thomson N.R., Jombart T., Leblois R., Lichtner P., Rahalison L., Petersen J.M., Balloux F., Keim P., Wirth T., Ravel J., Yang R., Carniel E., Achtman M. *Yersinia pestis* genome sequencing identifies patterns of global phylogenetic diversity. *Nat. Genet.* 2010; 42(12):1140–3. DOI:10.1038/ng.705.
5. Cui Y., Yu C., Yan Y., Li D., Li Y., Jombart T., Weinert L.A., Wang Z., Guo Z., Xu L., Zhang Y., Zheng H., Qin N., Xiao X., Wu M., Wang X., Zhou D., Qi Z., Du Z., Wu H., Yang X., Cao H., Wang



- H., Wang J., Yao S., Rakin A., Li Y., Falush D., Balloux F., Achtman M., Song Y., Wang J., Yang R. Historical variations in mutation rate in an epidemic pathogen, *Yersinia pestis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2013; 110(2):577–82. DOI: 10.1073/pnas.1205750110.
6. Cui Y., Li Y., Gorgé O., Platonov M.E., Yan Y., Guo Z., Pourcel C., Dentovskaya S.V., Balakhonov S.V., Wang X., Song Y., Anisimov A.P., Vergnaud G., Yang R. Insight into microevolution of *Yersinia pestis* by clustered regularly interspaced short palindromic repeats. *PLoS One*. 2008; 3(7):e2652. DOI: 10.1371/journal.pone.0002652.
7. Li Y., Dai E., Cui Y., Li M., Zhang Y., Wu M., Zhou D., Guo Z., Dai X., Cui B., Qi Z., Wang Z., Wang H., Dong X., Song Z., Zhai J., Song Y., Yang R. Different region analysis for genotyping *Yersinia pestis* isolates from China. *PLoS One*. 2008; 3(5):e2166. DOI: 10.1371/journal.pone.0002166.
8. Li Y., Cui Y., Hauck Y., Platonov M.E., Dai E., Song Y., Guo Z., Pourcel C., Dentovskaya S.V., Anisimov A.P., Yang R., Vergnaud G. Genotyping and phylogenetic analysis of *Yersinia pestis* by MLVA: insights into the worldwide expansion of Central Asia plague foci. *PLoS One*. 2009; 4(6):e6000. DOI: 10.1371/journal.pone.0006000.
9. Zhang X., Hai R., Wei J., Cui Z., Zhang E., Song Z., Yu D. MLVA distribution characteristics of *Yersinia pestis* in China and the correlation analysis. *BMC Microbiol.* 2009; 9:205. DOI: 10.1186/1471-2180-9-205.
10. Vogler A.J., Chan F., Wagner D.M., Roumagnac P., Lee J., Nera R., Eppinger M., Ravel J., Rahalison L., Rasoamanana B.W., Beckstrom-Sternberg S.M., Achtman M., Chanteau S., Keim P. Phylogeography and molecular epidemiology of *Yersinia pestis* in Madagascar. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2011; 5(9):e1319. DOI: 10.1371/journal.pntd.0001319.
11. Платонов М.Е., Евсеева В.В., Светоч Т.Э., Ефременко Д.В., Кузнецова И.В., Дентовская С.В., Куличенко А.Н., Анисимов А.П. Филогеография полевочных штаммов *Yersinia pestis* из природных очагов Кавказа и Закавказья. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2012; 3:18–21.
12. Oliveira M.B.M., Barros M.P.S., Silveira-Filho V.M., Araújo-Nepomuceno M.R., Balbino V.Q., Leal N.C., Almeida A.M.P., Leal-Balbino T.C. Genetic diversity of *Yersinia pestis* in Brazil. *Genet. Mol. Res.* 2012; 11(3):3414–24. DOI: 10.4238/2012.September.25.10.
13. Riehm J.M., Vergnaud G., Kiefer D., Damdindorj T., Dashdavaa O., Khurelsukh T., Zöller L., Wölfel R., Le Flèche P., Scholz H.C. *Yersinia pestis* lineages in Mongolia. *PLoS One*. 2012; 7(2):e30624. DOI: 10.1371/journal.pone.0030624.
14. Wang P., Shi L., Zhang F., Guo Y., Zhang Z., Tan H., Cui Z., Ding Y., Liang Y., Liang Y., Yu D., Xu J., Li W., Song Z. Ten years of surveillance of the Yulung plague focus in China and the molecular typing and source tracing of the isolates. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2018; 12(3):e0006352. DOI: 10.1371/journal.pntd.0006352.
15. Ерошенко Г.А., Попов Н.В., Альхова Ж.В., Балыкова А.Н., Куклева Л.М., Червякова Н.С., Майканов Н.С., Сармудина А.Х., Кутырев В.В. Пространственно-временной анализ циркуляции *Yersinia pestis* в Волго-Уральском песчаном очаге. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019; 3:51–7. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-3-51-57.
16. Ерошенко Г.А., Попов Н.В., Альхова Ж.В., Куклева Л.М., Балыкова А.Н., Гражданов А.К., Аязбаев Т.З., Майканов Н.С., Кутырев В.В. Распространение *Yersinia pestis* средневекового биовара в Северном, Северо-Западном Прикаспии и Предкавказье во второй половине XX века. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019; 4:48–55. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-4-48-55.
17. Балахонов С.В., Корзун В.М., редакторы. Горно-Алтайский природный очаг чумы: Ретроспективный анализ, эпизотологический мониторинг, современное состояние. Новосибирск: Наука-Центр; 2014. 272 с.
18. 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.
19. Евсеева В.В., Платонов М.Е., Говорунов И.Г., Ефременко Д.В., Кузнецова И.В., Дентовская С.В., Куличенко А.Н., Анисимов А.П. Сравнительный анализ MLVA25- и MLVA7-типирования по способности определять очаговую принадлежность штаммов *Yersinia pestis* на примере изолятов из Центрально-Кавказского высокогорного очага чумы. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2016; 1:37–40. DOI: 10.18821/0208-0613-2016-34-1-37-40.
20. Коренберг Э.И. Природная очаговость инфекций: современные проблемы и перспективы исследований. *Зоологический журнал*. 2010; 89(1):5–17.
21. Le Flèche P., Hauck Y., Onteniente L., Prieur A., Denoeud F., Ramière V., Sylvestre P., Benson G., Ramière 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.
22. Girard J.M., Wagner D.M., Vogler A.J., Keys C., Allender C.J., Drickamer L.C., Keim P. Differential plague-transmission dynamics determine *Yersinia pestis* population genetic structure on local, regional, and global scales. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2004; 101(22):8408–13. DOI: 10.1073/pnas.0401561101.
23. Платонов М.Е., Евсеева В.В., Дентовская С.В., Анисимов А.П. Молекулярное типирование *Yersinia pestis*. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2013; 2:3–12.
24. Корзун В.М., Балахонов С.В., Денисов А.В., Чипанин Е.В., Косилко С.А., Рождественский Е.Н., Михайлов Е.П., Мищенко А.И., Базарова Г.Х., Ярыгина М.Б. Интродукция возбудителя чумы основного подвида в поселения серого сурка в Юго-Восточном Алтае. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 2017; 4:20–9.
25. Зак Л. Статистическое оценивание. М.: Статистика; 1976. 598 с.

## References

- Adair D.M., Worsham P.L., Hill K.K., Klevytska A.M., Jackson P.J., Friedlander A.M., Keim P. Diversity in a variable-number tandem repeat from *Yersinia pestis*. *J. Clin. Microbiol.* 2000; 38(4):1516–9. DOI: 10.1128/jcm.38.4.1516-1519.2000.
- 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(9):3179–85. DOI: 10.1128/jcm.39.9.3179-3185.2001.
- Pourcel C., André-Mazeaud F., Neubauer H., Ramière 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.
- Morelli G., Song Y., Mazzoni C.J., Eppinger M., Roumagnac P., Wagner D.M., Feldkamp M., Kusecek B., Vogler A.J., Li Y., Cui Y., Thomson N.R., Jombart T., Leblos R., Lichtner P., Rahalison L., Petersen J.M., Balloux F., Keim P., Wirth T., Ravel J., Yang R., Carniel E., Achtman M. *Yersinia pestis* genome sequencing identifies patterns of global phylogenetic diversity. *Nat. Genet.* 2010; 42(12):1140–3. DOI:10.1038/ng.705.
- 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.
- Cui Y., Li Y., Gorgé O., Platonov M.E., Yan Y., Guo Z., Pourcel C., Dentovskaya S.V., Balakhonov S.V., Wang X., Song Y., Anisimov A.P., Vergnaud G., Yang R. Insight into microevolution of *Yersinia pestis* by clustered regularly interspaced short palindromic repeats. *PLoS One*. 2008; 3(7):e2652. DOI: 10.1371/journal.pone.0002652.
- Li Y., Dai E., Cui Y., Li M., Zhang Y., Wu M., Zhou D., Guo Z., Dai X., Cui B., Qi Z., Wang Z., Wang H., Dong X., Song Z., Zhai J., Song Y., Yang R. Different region analysis for genotyping *Yersinia pestis* isolates from China. *PLoS One*. 2008; 3(5):e2166. DOI: 10.1371/journal.pone.0002166.
- Li Y., Cui Y., Hauck Y., Platonov M.E., Dai E., Song Y., Guo Z., Pourcel C., Dentovskaya S.V., Anisimov A.P., Yang R., Vergnaud G. Genotyping and phylogenetic analysis of *Yersinia pestis* by MLVA: insights into the worldwide expansion of Central Asia plague foci. *PLoS One*. 2009; 4(6):e6000. DOI: 10.1371/journal.pone.0006000.
- Zhang X., Hai R., Wei J., Cui Z., Zhang E., Song Z., Yu D. MLVA distribution characteristics of *Yersinia pestis* in China and the correlation analysis. *BMC Microbiol.* 2009; 9:205. DOI: 10.1186/1471-2180-9-205.
- Vogler A.J., Chan F., Wagner D.M., Roumagnac P., Lee J., Nera R., Eppinger M., Ravel J., Rahalison L., Rasoamanana B.W., Beckstrom-Sternberg S.M., Achtman M., Chanteau S., Keim P. Phylogeography and molecular epidemiology of *Yersinia pestis* in Madagascar. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2011; 5(9):e1319. DOI: 10.1371/journal.pntd.0001319.
- Platonov M.E., Evseeva V.V., Svetoch T.E., Efremenko D.V., Kuznetsova I.V., Dentovskaya S.V., Kulichenko A.N., Anisimov A.P. [Phylogeography of *Yersinia pestis* vole strains from natural foci of the Caucasus and Transcaucasia]. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2012; 3:18–21.
- Oliveira M.B.M., Barros M.P.S., Silveira-Filho V.M., Araújo-Nepomuceno M.R., Balbino V.Q., Leal N.C., Almeida A.M.P., Leal-Balbino T.C. Genetic diversity of *Yersinia pestis* in Brazil. *Genet. Mol. Res.* 2012; 11(3):3414–24. DOI: 10.4238/2012.September.25.10.
- Riehm J.M., Vergnaud G., Kiefer D., Damdindorj T., Dashdavaa O., Khurelsukh T., Zöller L., Wölfel R., Le Flèche P.,

- Scholz H.C. *Yersinia pestis* lineages in Mongolia. *PLoS One*. 2012; 7(2):e30624. DOI: 10.1371/journal.pone.0030624.
14. Wang P., Shi L., Zhang F., Guo Y., Zhang Z., Tan H., Cui Z., Ding Y., Liang Y., Liang Y., Yu D., Xu J., Li W., Song Z. Ten years of surveillance of the Yulong plague focus in China and the molecular typing and source tracing of the isolates. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2018; 12(3):e0006352. DOI: 10.1371/journal.pntd.0006352.
15. Eroshenko G.A., Popov N.V., Al'khova Zh.V., Balykova A.N., Kukleva L.M., Chervyakova N.S., Maykanov N.S., Sarmul'dina A.Kh., Kut'yev V.V. [Circulation of *Yersinia pestis* in the Volga-Ural sandy focus: spatiotemporal analysis]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019; (3):51–7. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-3-51-57.
16. Eroshenko G.A., Popov N.V., Al'khova Z.V., Kukleva L.M., Balykova A.N., Grazhdanov A.K., Ayazbaev T.Z., Maikanov N.S., Kut'yev V.V. [Dissemination of *Yersinia pestis* of Medieval Biovar in Northern, North-Western Caspian Sea Region and Fore-Caucasus in the second half of the twentieth century]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019; (4):48–55. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-4-48-55.
17. Balakhonov S.V., Korzun V.M., editors. [Gorno-Altai Natural Plague Focus: Retrospective Analysis, Epizootic Monitoring, Current State]. Novosibirsk: Science Center; 2014. 272 p.
18. 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 trans-boundary Sailyugem natural plague focus]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019; (3):34–42. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-3-34-42.
19. Evseeva V.V., Platonov M.E., Govorunov I.G., Efremenko D.V., Kuznetsova I.V., Dentovskaya S.V., Kulichenko A.N., Anisimov A.P. [Comparative analysis of MLVA25- and MLVA7-typing according to the ability to determine the focal affiliation of *Yersinia pestis* strains by the example of isolates from the Central Caucasian high-mountain plague focus]. *Molekulyarnaya Genetika, Mikrobiologiya i Virusologiya [Molecular Genetics, Microbiology and Virology]*. 2016; 1:37–40. DOI: 10.18821/0208-0613-2016-34-1-37-40.
20. Korenberg E.I. [Natural focality of infections: current problems and research prospects]. *Zoologicheskyy Zhurnal. [Zoological Journal]*. 2010; 89(1):5–17.
21. 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.
22. Girard J.M., Wagner D.M., Vogler A.J., Keys C., Allender C.J., Drickamer L.C., Keim P. Differential plague-transmission dynamics determine *Yersinia pestis* population genetic structure on local, regional, and global scales. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2004; 101(22):8408–13. DOI: 10.1073/pnas.0401561101.
23. Platonov M.E., Evseeva V.V., Dentovskaya S.V., Anisimov A.P. [Molecular typing of *Yersinia pestis*]. *Molekulyarnaya Genetika, Mikrobiologiya i Virusologiya [Molecular Genetics, Microbiology and Virology]*. 2013; 2:3–12.
24. Korzun V.M., Balakhonov S.V., Denisov A.V., Chipanin E.V., Kosilko S.A., Rozhdestvensky E.N., Mikhailov E.P., Mishchenko A.I., Bazarova G.Kh., Yarygina M.B. [Introduction of the plague agent of the main subspecies into the settlements of the gray marmot in the South-Eastern Altai]. *Meditsinskaya Parazitologiya i Parazitarnye Bolezni. [Medical Parasitology and Parasitic Diseases]*. 2017; 4:20–9.
25. Zaks L. Statistical Estimation. Moscow: Statistika; 1976. 598 p.

# Authors:

Yarygina M.B., Korzun V.M., Balakhonov S.V. 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., Denisov A.V. Altai Plague Control Station. 2, Zavodskaya St., Gorno-Altai, 649002, Russian Federation. E-mail: chumagorny@mail.ru

# Об авторах:

Ярыгина М.Б., Корзун В.М., Балахонов С.В. 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., Денисов А.В. Алтайская противочумная станция. Российская Федерация, 649002, Горно-Алтайск, ул. Заводская, 2. E-mail: chumagorny@mail.ru.