

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-1-6-16

УДК 616.98:579.842.23

Г.А. Ерошенко, Л.М. Куклева

## Эволюция *Yersinia pestis* как возбудителя трансмиссивной болезни, переносимой с помощью артропод

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

В обзоре обобщены данные современных отечественных и зарубежных исследований по механизмам эволюционной адаптации возбудителя чумы к трансмиссивному распространению с помощью артропод. Приведены сведения по молекулярным основам быстрого образования высокопатогенной бактерии за счет приобретения новой генетической информации; структурно-функциональным изменениям генома, вызвавшим нарушение функциональности некоторых генов, препятствующих выживанию в переносчике. Рассматривается стадия сложного жизненного цикла возбудителя, связанная с особенностями пребывания в организме переносчика и выработанной им тактикой уклонения от действия образуемых блохой антибактериальных веществ. Обсуждается значение образования биопленки для эффективной трансмиссии возбудителя. Рассматривается сложный каскад транскрипционных регуляторов биопленки у *Yersinia pestis*, включающих активаторы и репрессоры образования биопленок, а также регуляторы синтеза или модификации/транспортировки экзополисахарида. Подробно описан *hms*-зависимый механизм образования биопленки у *Y. pestis*, а также воздействие на образование биопленки через регуляцию генов, связанных с липополисахаридом, и его роли в модификации и транспортировке экзополисахарида биопленки. Приводятся данные собственных исследований по вариативности генов, участвующих в образовании биопленки, у основного подвида в сравнении с неосновными подвидами возбудителя чумы, а также по способности штаммов разных подвигов образовывать биопленку не только в преджелудке блохи, но и на кутикуле почвенных нематод отрядов Tylenchida и Rhabditida, рода *Panagrolaimus*. Последнее позволяет предположить возможное участие почвенных и энтомопаразитических нематод в выносе биопленок *Y. pestis* из почвенного в наземный биоценоз природного очага чумы.

**Ключевые слова:** чума, возбудитель, блохи, трансмиссия, эволюция, биопленка.

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

Для цитирования: Ерошенко Г.А., Куклева Л.М. Эволюция *Yersinia pestis* как возбудителя трансмиссивной болезни, переносимой с помощью артропод. Проблемы особо опасных инфекций. 2024; 1:6–16. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-1-6-16

Поступила 05.03.2024. Принята к публ. 11.03.2024.

G.A. Eroshenko, L.M. Kukleva

## Evolution of *Yersinia pestis* as the Causative Agent of a Vector-Borne Disease Transmitted by Arthropods

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

**Abstract.** The review summarizes the data of modern domestic and foreign studies on the mechanisms of evolutionary adaptation of the plague pathogen to transmissible spread by arthropods. The data on the molecular basis of the rapid formation of a highly pathogenic bacterium due to the acquisition of new genetic information; structural and functional changes in the genome, causing the disruption of functionality of some genes that prevent survival in the vector are presented. The stage of the complex life cycle of the pathogen associated with the peculiarities of its stay in the vector's organism and its tactics of evasion from the action of antibacterial substances formed by the flea is considered. The importance of biofilm formation for effective transmission of the pathogen is discussed. A complex cascade of transcriptional regulators of biofilm in *Yersinia pestis* is considered, which includes activators and repressors of biofilm formation, as well as regulators of synthesis or modification/transport of exopolysaccharide. The *hms*-dependent mechanism of biofilm formation in *Y. pestis* is described in detail, as well as the impact on biofilm formation through the regulation of LPS-related genes and its role in the modification and transport of biofilm exopolysaccharide. The data from our own studies on the variability of genes involved in biofilm formation in the main subspecies of the plague pathogen in comparison with non-main subspecies of the plague pathogen, as well as on the ability of strains of different subspecies to form biofilm not only in the proventriculus of the flea, but also on the cuticle of soil nematodes of the Tylenchida and Rhabditida orders and the genus *Panagrolaimus* are presented. The latter allows us to assume the possible participation of soil and entomoparasitic nematodes in the removal of *Y. pestis* biofilms from the soil to the above-ground biocoenosis of the natural plague focus.

**Key words:** plague, causative agent, fleas, transmission, evolution, biofilm.

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

**Funding:** The authors declare no additional financial support for this study.

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

Citation: Eroshenko G.A., Kukleva L.M. Evolution of *Yersinia pestis* as the Causative Agent of a Vector-Borne Disease Transmitted by Arthropods. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2024; 1:6–16. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-1-6-16

Received 05.03.2024. Accepted 11.03.2024.

Eroshenko G.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5403-989X>

Kukleva L.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2438-8364>

Чума – природно-очаговая особо опасная инфекционная болезнь с трансмиссивным механизмом передачи возбудителя. Природные очаги чумы расположены на большинстве континентов на территории более чем 50 государств. Возбудитель чумы патогенен для 363 видов животных (грызуны, дикие и домашние животные, человек), а также для 5 видов птиц. Переносчиками чумы в природе являются 280 видов и подвидов блох, другие кровососущие артроподы, такие как клещи и вши [1].

**Происхождение и эволюция *Yersinia pestis*.** Возбудитель чумы – бактерия *Yersinia pestis*, отнесенная недавно вместе с другими патогенными иерсиниями к семейству *Yersiniaceae* [2]. *Y. pestis* – ветвь эволюции псевдотуберкулезного микроба, от которого возбудитель чумы отделился несколько тысяч лет назад. Предшественник возбудителя чумы – повсеместно распространенная в почве и воде сапрофитная бактерия *Yersinia pseudotuberculosis*, некоторые штаммы которой могут вызывать заболевания желудочно-кишечного тракта человека и животных. Патогенность штаммов *Y. pseudotuberculosis* связывают в первую очередь с наличием плазмиды кальцийзависимости pCad (синонимы pCD, pYV), кодирующей мощный фактор патогенности – систему секреции третьего типа (ССЗТ) с генами синтеза эффекторных белков внешней мембраны Yop (от англ. *Yersinia outer proteins*), способных разрушать клетки фагоцитов теплокровного организма. Возбудитель чумы произошел от ветви псевдотуберкулезного микроба, штаммы которой содержали плазмиду pCad.

В процессе эволюции из энтеропатогенной бактерии в возбудителя особо опасной системной инфекции чумной микроб пережил значительные изменения генома, вызванные приобретением относительно небольшого количества новой генетической информации, с последовавшими за этим внутригеномными перестройками и утратой функций многих генов, что характерно для бактерий, вступивших на паразитический путь [3, 4].

Ключевым событием в становлении возбудителя чумы было получение двух внехромосомных элементов – плазмид pPst (синонимы pPla, pPCP) и pFga (pMT), которые кодируют ряд важнейших факторов патогенности. Приобретение этих двух видоспецифических плазмид в сочетании с геномом предшественника открыло возможность образовавшейся бактерии освоить новые экологические ниши – пищеварительный тракт насекомого и кровяное русло млекопитающего. Процесс адаптации *Y. pestis* к новой среде обитания – организм хозяина и переносчика – сопровождался потерей функциональности многих генов. В процессе редуктивной эволюции

произошло образование большого числа псевдогенов, которые составляют до 10 % генома бактерии [3, 5]. В результате произошедших эволюционных событий сформировался новый высокопатогенный микроорганизм с уникальным набором факторов вирулентности, которые позволили ему перейти в новую среду обитания, заражать блох и с их помощью переноситься в организм млекопитающих и успешно подавлять иммунные реакции хозяина.

**Изменения генома, обеспечившие трансмиссию *Y. pestis* с помощью артропод.** Относительно небольшие изменения генома по сравнению с *Y. pseudotuberculosis* привели к формированию трансмиссивности *Y. pestis* с помощью артропод (рис. 1). Принципиальным шагом на этом пути было приобретение гена *ymt* (от англ. *Yersinia murine toxin*), обеспечившего возможность стабильно колонизировать новую экологическую нишу с обильными ресурсами и низкой бактериальной конкуренцией в средней кишке блох. Ген *ymt* расположен на плазмиде pFga и кодирует субъединицу (61 кДа) белка Ymt размером около 120–240 кДа. Этот белок обладает свойствами экзо-

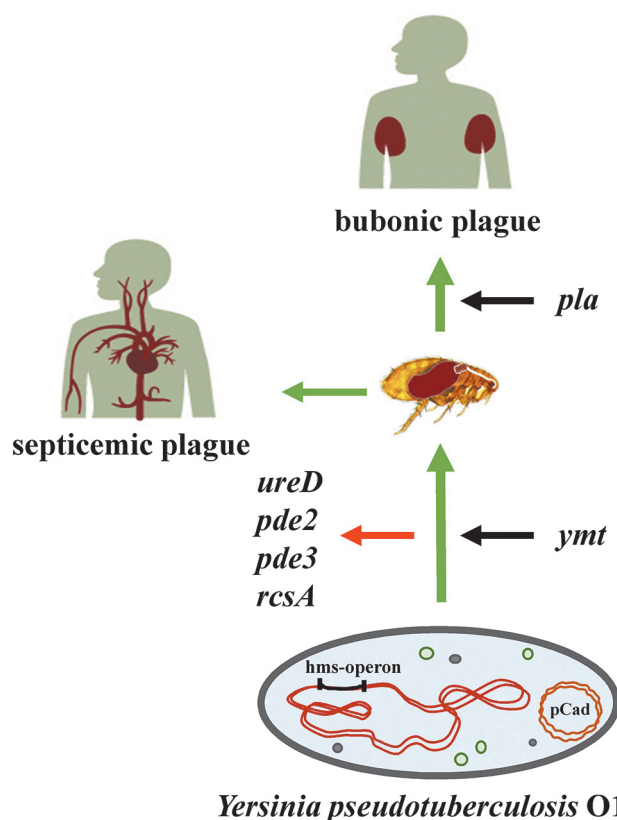


Рис. 1. Эволюция трансмиссивного пути передачи *Y. pestis* с помощью артропод. Черными стрелками отмечено приобретение генов, красной – потеря функции генов

Fig. 1. Evolution of the vector-borne route of transmission of *Y. pestis* by arthropods. Black arrows indicate the acquisition of genes, red arrow – loss of gene function

и эндотоксина, токсичен для мышей и крыс, но не для морских свинок, кроликов, собак, обезьян. Синтез белка происходит при 28 °C и ниже. Установлено, что *Ymt* обладает активностью фосфолипазы D [6].

После заражения блох попавшие в преджелудок эритроциты быстро перевариваются, образующийся побочный бактерицидный продукт накапливается в течение первых нескольких часов до уровня проявления цитотоксичного эффекта. Считается, что фосфолипаза D нейтрализует антибактериальные факторы в пищеварительной системе блох и тем самым обеспечивает длительное выживание *Y. pestis* в переносчиках [7, 8]. Клетки *Y. pestis*, лишенные функционального белка *Ymt*, в пищеварительном тракте блохи принимают сферическую форму из-за потери целостности внешней мембраны и быстро элиминируются из средней кишки блох. *Y. pestis* может оставаться в сгустках крови в пищеварительном тракте блохи до 8 месяцев, тогда как *Y. pseudotuberculosis* способен сохраняться в умеренных количествах в задней кишке блох и вызывать хроническую инфекцию в течение по крайней мере пяти недель, постоянно выделяясь с блошиными экскрементами. *Y. pestis*, напротив, колонизирует преджелудок и среднюю кишку, но никогда – заднюю кишку блох [9]. Однако недавнее исследование показало, что важность гена *ymt* для выживания в кишечнике блох зависит от происхождения кровяной пищи [8].

Реконструкция геномов древних штаммов *Y. pestis* периода позднего неолита и бронзового века (более 5000 лет назад) показала, что штаммы линии LNBA (от англ. Late Neolithic Bronze Age) были лишены гена *ymt*, который приобретен *Y. pestis* позже, в эпоху поздней бронзы. LNBA-штаммы еще не были адаптированы к трансмиссии с помощью блох ввиду отсутствия гена *ymt*, а также из-за наличия функционального гена уреазы *ureD*, продукт которого токсичен для блох, и функционального гена *rcaA* – отрицательного регулятора образования биопленки (чумной блок) в блохах [10]. Приобретение гена *ymt* обеспечило выживание, размножение, длительное сохранение *Y. pestis* в переносчике и способность вызывать септицемическую чуму при попадании блохи при укусе в кровеносный сосуд. Такой путь заражения был, вероятно, малоэффективен. Эффективность заражения существенно повысилась с приобретением гена *pla*, кодирующего протеазу Pla – активатор плазминогена. Ее наличие обеспечило возможность диссеминации *Y. pestis* в тканях хозяина с быстрым достижением ближайшего регионального узла. Это привело к появлению бубонной формы чумы и существенно повысило эффективность заражения и эпидемическую значимость инфекции.

Реализация пути трансмиссии возбудителя с помощью блох потребовала утраты функций генов *rcaA*, *pde2* и *pde3*, участвующих в негативной регуляции образования биопленки. Эта последовательная потеря функций данных генов, связанных с регуляцией

циклического c-di-GMP, повысила эффективность трансмиссии за счет увеличения образования биопленки и блока преджелудка блохи. Потеря функций этих генов была результатом инсерции, точечной мутации и сдвига рамки считывания на ранней стадии эволюции *Y. pestis* [9, 11].

В процессе эволюционной адаптации к организму блох у возбудителя чумы также произошло нарушение ряда генов, продукты которых вредны для переносчика. Так, при заражении блох клетками *Y. pseudotuberculosis* наблюдается высокая смертность блох, вызванная уреазной активностью. Важным событием в эволюции трансмиссивного пути передачи чумы была потеря *Y. pestis* функции гена *ureD*, продукт которого необходим для сборки комплекса активации уреазы [12]. Бактериальные уреазы связаны с проявлением вирулентности, поскольку их активность защищает энтеропатогенные бактерии от кислой среды, с которой они сталкиваются во время прохождения через желудок. Уреаза представляет собой белок, фермент с атомом никеля в активном центре, который катализирует гидролиз мочевины до CO<sub>2</sub> и аммиака. Предположительно, аммиак, который выделяется в результате гидролиза мочевины, присутствующей в кровяной массе, достигает цитотоксического уровня и является причиной заболеваемости и смертности блох. Кластер генов уреазы состоит из семи генов. Гены *ureA*, *ureB* и *ureC* кодируют структурные субъединицы, а *ureE*, *ureF*, *ureG* и *ureD* детерминируют синтез вспомогательных белков, необходимых для включения ионов никеля в каталитический центр. В гене *ureD* у возбудителя чумы произошла мутация – вставка гуанина, вызвавшая сдвиг рамки считывания, образование стоп-кодона и преждевременное прекращение считывания последовательности гена с укорочением белка на 54 аминокислоты [13].

Активность уреазы была утрачена на очень раннем этапе эволюционного перехода патогенной иерсинии от фекально-орального пути передачи к трансмиссии с помощью блох. Сравнение гена *ureD* у всех изученных штаммов *Y. pseudotuberculosis* и *Y. pestis* показало, что все штаммы *Y. pestis*, в том числе относящиеся к древним ветвям эволюции, несут мутацию в гене *ureD* [10]. В то же время все секвенированные штаммы возбудителя псевдотуберкулеза содержат интактный ген *ureD* [12]. Эволюционная потеря активности уреазы не повлияла на вирулентность возбудителя или патогенез бубонной чумы, а также на способность *Y. pestis* заражать или блокировать блох. Таким образом, наличие уреазы полезно для кишечных патогенов и нейтрально для *Y. pestis* в период нахождения в организме млекопитающих, но являлось препятствием для развития трансмиссивного пути передачи инфекции через блох, поскольку фермент вызывает высокую смертность вектора, от которого зависит распространение патогена. Ввиду этого возникшая мутация в гене *ureD* была эволюционно закреплена в геноме *Y. pestis*.

Секвенирование геномов патогенных иерсиний выявило наличие в хромосоме *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis* гомологов бактериальных генов *tca* и *tcc* комплекса инсектицидных токсинов. Это высокомолекулярные энтомоцидные вещества белковой природы, названные токсинами комплексами (Tc's). Участок генома, содержащий эти локусы, консервативен у обеих бактерий и состоит из генов *tcaABC – tccC* [14]. Функции энтомоцидных белков у двух иерсиний остаются малопонятными, хотя для *Y. pseudotuberculosis* они могут быть полезны, поскольку микроб широко распространен во внешней среде, где должен защищаться от поедания беспозвоночными хищниками и сам уничтожать их для получения доступа к питательным ресурсам. В то же время сохранение активности белков Tc's может быть невыгодно для *Y. pestis*, поскольку инсектицидные токсины могут оказывать негативное воздействие на блох, которые являются переносчиками возбудителя. На основе выявленной вариабельности генов Tc's сделано предположение о том, что приспособление чумного микроба к организму блохи и тканям теплокровного хозяина сопровождалось изменением функций генов комплекса инсектицидных токсинов в сторону повышения токсичности их продуктов для макроорганизма, но не деградацией самих генов [15].

#### **Возбудитель чумы в организме переносчиков.**

После попадания в организм блохи с зараженной кровью млекопитающего возбудитель *Y. pestis* должен преодолеть иммунитет насекомых, переключить экспрессию своих генов в соответствии с изменениями условий существования, чтобы обеспечить выживание и размножение бактерий, передачу инфекции [11, 16, 17]. Первичным иммунным ответом блох на заражение является выработка антимикробных пептидов и сериновой протеазы. Однако транскриптомный анализ показал, что в целом в ответ на оральное заражение *Y. pestis* у блохи происходит дифференциальная регуляция достаточно небольшого количества транскриптомов (23 охарактеризованных и 11 неохарактеризованных генов). Это позволяет предположить, что возбудитель в процессе эволюции выработал механизмы уклонения от обнаружения и элиминации насекомым, как он сделал это и в своей стратегии патогенеза в организме млекопитающего. После попадания в пищеварительный тракт блохи отдельные планктонные клетки *Y. pestis* начинают слипаться с образованием плотных многоклеточных агрегатов. Агрегаты покрыты аморфным вязким материалом коричневого цвета, вероятно полученным из компонентов крови, включая белки и липиды, а также из компонентов блох. Этот материал предотвращает прямое взаимодействие бактерий с эпителием пищеварительного тракта блох и маскирует бактериальные сигналы, которые могут вызвать реакцию блох на инфекцию [18]. Быстрая агрегация клеток *Y. pestis* представляет собой начальную стадию образования биопленки, необходимой для эффективной

трансмиссии возбудителя. Болеют ли блохи чумой? Бактериальная инфекция потенциально вредна для здоровья блохи. Однако с точки зрения эволюции было бы контрпродуктивно, если бы возбудитель вызывал значительную заболеваемость и смертность у переносчиков – блох, используемых для передачи инфекции между грызунами. Экспериментально показано, что заражение средней кишки *Y. pestis* не приносит значительного вреда блохам, и они могут оставаться инфицированными и жизнеспособными в течение нескольких месяцев [11].

Эффективными переносчиками чумы являются заблокированные блохи, хотя возможен перенос чумы и на ранней фазе инфекции без образования чумного блока. Феномен чумного блока впервые описали A.W. Vacot и C.J. Martin [19]. Позже с открытием явления биопленки выяснилось, что чумной блок – это массивная бактериальная биопленка, образованная на акантах преджелудка блохи. По определению биопленка является сообществом бактерий, окруженных внеклеточным матриксом, который синтезируют сами бактерии. В состав матрикса биопленки могут входить различные полимерные соединения: полисахариды, белки, нуклеиновые кислоты, липиды. Биопленка служит способом защиты, в том числе и от антибактериальных пептидов блох, что позволяет бактериям выживать и размножаться в неблагоприятных условиях. Кроме того, вполне вероятно, что белки блох или побочные продукты переваривания крови включаются в биопленку и могут играть важную роль на начальных стадиях колонизации [16, 20, 21]. Показано, что штаммы *Y. pestis* как основного, так и неосновных подвидов обладают способностью к образованию биопленки не только в преджелудке блохи, но и на кутикуле почвенных нематод отрядов Tylenchida и Rhabditida, рода *Panagrolaimus* [22–24]. Сформулирована гипотеза «вертикальной» трансмиссии, которая предполагает участие почвенных и энтомопаразитических нематод в выносе биопленок *Y. pestis* из почвенного в наземный биоценоз путем транслярального заражения личинок блох личинками инфицированных паразитических нематод с инициацией эпизоотического процесса в природном очаге чумы [25].

**Генетические механизмы регуляции образования биопленки *Y. pestis*.** Гены, ответственные за образование биопленки, расположены в хромосомной области пигментации, которую чумной микроб получил от своего предка *Y. pseudotuberculosis*. Хромосомная область пигментации (*pgm*-область) имеет размер 102 т.п.н. и содержит два важных участка: остров высокой патогенности HPI (от англ. high pathogenicity island) и *hms*-оперон (от англ. hemin storage). Остров HPI включает гены сидерофорзависимой системы потребления железа, экспрессия которых необходима для выживания бактерий в условиях дефицита ионов железа в макроорганизме. Гены *hmsHFRS* оперона отвечают за проявление трех фенотипических признаков: образование пигменти-

рованных колоний на среде с геминем (фенотипы Hms<sup>+</sup> или Pgm<sup>+</sup>) [26], образование блока в преджелудке блохи и образование биопленки на различных типах поверхностей.

Кроме оперона *hmsHFRS* за проявление этих признаков отвечают регуляторные гены *hmsT* и *hmsP*, расположенные за пределами *pgm*-области. Оперон *hmsHFRS* кодирует синтез экзополисахарида поли- $\beta$ -1,6-п-ацетил-D-глюкозамина, ключевого компонента матрикса, необходимого для образования биопленок и блокирования блох, а также для проявления фенотипа Pgm<sup>+</sup> *Y. pestis*. HmsH и HmsF являются белками внешней мембраны, тогда как HmsR и HmsS расположены во внутренней мембране. HmsR представляет собой основной белок внутренней мембраны с гликозилтрансферазным доменом и четырьмя трансмембранными доменами. HmsS – самый маленький из этих белков и содержит два трансмембранных домена. HmsS и HmsR образуют ферментативный комплекс, который необходим для биосинтеза экзополисахарида биопленок. HmsH функционирует как порин, участвующий в экспорте экзополисахарида на поверхность клеток. HmsF обладает доменами полисахарид-деацетилазы и гликозилгидролазы, обеспечивает модификацию/экспорт экзополисахарида на поверхность бактерии [27, 28].

Важную роль в регуляции вирулентности бактерий, клеточном цикле, подвижности и образовании биопленок играет молекула вторичного мессенджера – 3,5'-циклическая дигуаниловая кислота c-di-GMP. Молекула c-di-GMP у *Y. pestis* участвует в биосинтезе экзополисахарида биопленок на посттранскрипционном уровне. Высокая концентрация внутриклеточного c-di-GMP способствует образованию биопленок и подавляет проявление вирулентности [29]. Циклический c-di-GMP аллостерически

активирует синтез поли- $\beta$ -1,6-N-ацетилглюкозамина (поли-GlcNAc), напрямую связываясь с комплексом белков HmsR-HmsS (рис. 2).

Синтез c-di-GMP осуществляют две дигуанилатциклазы – HmsT и HmsD, входящие в состав внутренней мембраны, экспрессия которых максимальна в кишечнике блох при температуре 26 °С. HmsT играет более заметную роль в формировании биопленок *in vitro*, тогда как HmsD, по-видимому, участвует в образовании биопленок у блох-переносчиков [30]. Единственный фермент, отвечающий за деградацию c-di-GMP, – фосфодиэстераза HmsP, которая оказывает ингибирующее действие на образование биопленок [31, 32].

Установлено, что для формирования биопленки *Y. pestis* необходимы также гены, входящие в оперон *hmsCDE*. HmsE представляет собой липопротеин, расположенный в наружной мембране, HmsC – цитоплазматический белок, а HmsD является белком внутренней мембраны с цитоплазматическим каталитическим доменом. В ответ на понижение температуры (при попадании в организм блохи) HmsE связывает HmsC, ослабляя его ингибирующее действие на HmsD и, таким образом, усиливая дигуанилатциклязную активность HmsD и индуцируя синтез c-di-GMP. HmsC-зависимое ингибирование и HmsE-зависимая активация HmsD присутствуют у всех биофаров и подвидов *Y. pestis* [33]. В условиях организма блох активность HmsT превышает фосфодиэстеразную активность HmsP, что приводит к повышению уровня c-di-GMP, активации HmsR, продукции поли- $\beta$ -1,6-GlcNAc и формированию биопленки. В организме млекопитающего (37 °С) уровни c-di-GMP снижаются за счет повышения активности HmsP и деградации HmsT специфическими протеазами (Lon, ClpP и/или ClpX) [31, 32]. Периплазматический бе-

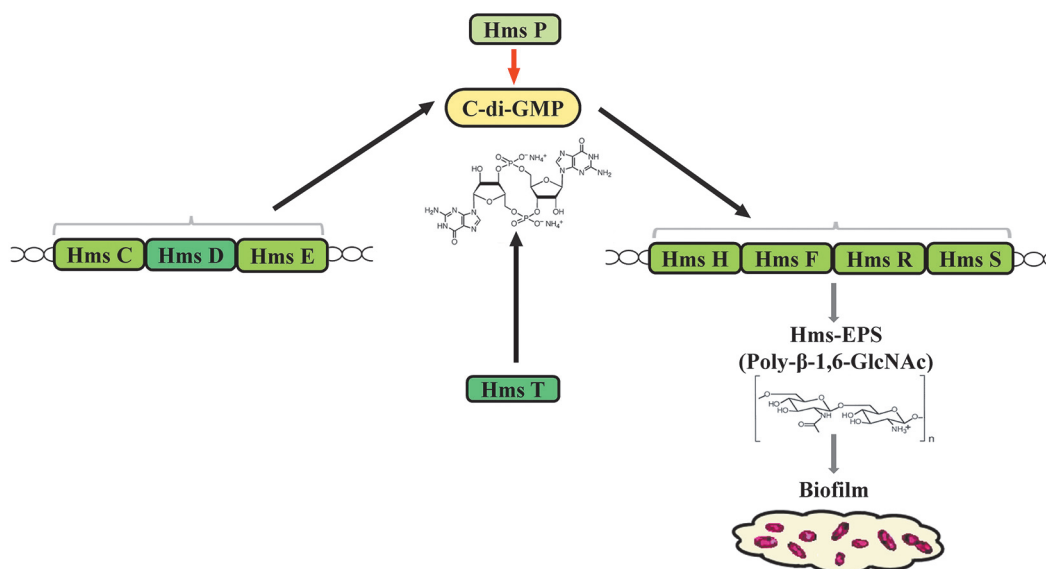


Рис. 2. Модель регуляции *hms*-зависимого механизма образования биопленки. Черными стрелками указана позитивная регуляция, красной – негативная. Hms-EPS – экзополисахарид

Fig. 2. Model of regulation of *hms*-dependent biofilm formation mechanism. Black arrows indicate positive regulation, red – negative regulation. Hms-EPS – exopolysaccharide

лок HmsC стабилизирует HmsD, тем самым регулирует клеточные уровни c-di-GMP.

Большую роль в образовании биопленки *Y. pestis* играет липополисахарид (ЛПС). Ключевыми факторами, участвующими в синтезе ЛПС выступают белки GmhA, YrbH и WaaA. Утрата этих ферментов приводит к резкому снижению продукции биопленки *Y. pestis* [34, 35].

Существует целый комплекс белков, осуществляющих транскрипционную регуляцию образования биопленки в ответ на сигналы, поступающие из внешней среды. В качестве активаторов транскрипции описаны PhoP-PhoQ, CRP, CsrA, OxyR-EnvZ, RovM, BfvR, YfbA (рис. 3). PhoP-PhoQ представляет собой двухкомпонентную регуляторную систему, которая состоит из сенсора PhoQ – белка внутренней мембраны – и цитоплазматического регулятора PhoP. Эта система обычно индуцируется в ответ на стресс окружающей среды, такой как низкий уровень  $Mg^{2+}$  или pH, катионные антимикробные пептиды. У *Y. pestis* система PhoP/PhoQ в ответ на снижение pH, характерное для кишечника блох, опосредует модификацию липида A (составной части ЛПС), защищающую бактерию от антимикробных пептидов и способствующую выживанию возбудителя в блохах. Одновременно PhoP/PhoQ усиливает образование биопленок *Y. pestis*. Показано, что система PhoP/PhoQ регулирует образование биопленок *Y. pestis*, контролируя транскрипцию не генов *hms*, а оперона *waaAE-coaD*, участвующего в синтезе ЛПС [36–38]. У штаммов *Y. pseudotuberculosis* с функциональным белком PhoP снижается экспрессия дигуанилатцик-

лазы HmsT, которая положительно регулирует образование биопленки. Консенсусные последовательности PhoP расположены в промоторной области *hmsT*, что указывает на то, что этот ген может служить прямой мишенью PhoP.

CRP (от англ. cyclic AMP receptor protein) представляет собой регулятор рецептора цАМФ, участвующего в метаболизме источников углерода у *Y. pestis*. CRP стимулирует образование биопленок, напрямую стимулируя транскрипцию гена *gmhA* и косвенно усиливая транскрипцию генов *waaAE-coaD*; однако он не оказывает регуляторного влияния на гены *hms*. Образование биопленок у *Y. pestis* может быть усилено РНК-связывающим белком CsrA, но потеря CsrA не меняет транскрипцию генов *hms* [39, 40]. Еще один белок, OxyR (от англ. oxidative stress regulator), является регулятором окислительного стресса, который действует в отношении устойчивости к активным формам кислорода у *Y. pestis* и увеличивает эффективную колонизацию во время передачи блохами [41, 42]. Кроме того, возможно, что *hmsT* напрямую зависит от OxyR, стимулирующего образование биопленок у *Y. pestis* [43]. RovM представляет собой регулятор транскрипции типа LysR, необходимый для нормального образования биопленок у *Y. pestis* в организме блох. RovM может способствовать образованию биопленок, напрямую воздействуя на *hmsT* и *hmsCDE* и опосредованно воздействуя на *hmsHFRS* и *hmsP*. Еще один регулятор, BfvR семейства AraC, усиливает образование биопленок и подавляет транскрипцию генов антигена pH6 у *Y. pestis* посредством BfvR-зависимой стиму-

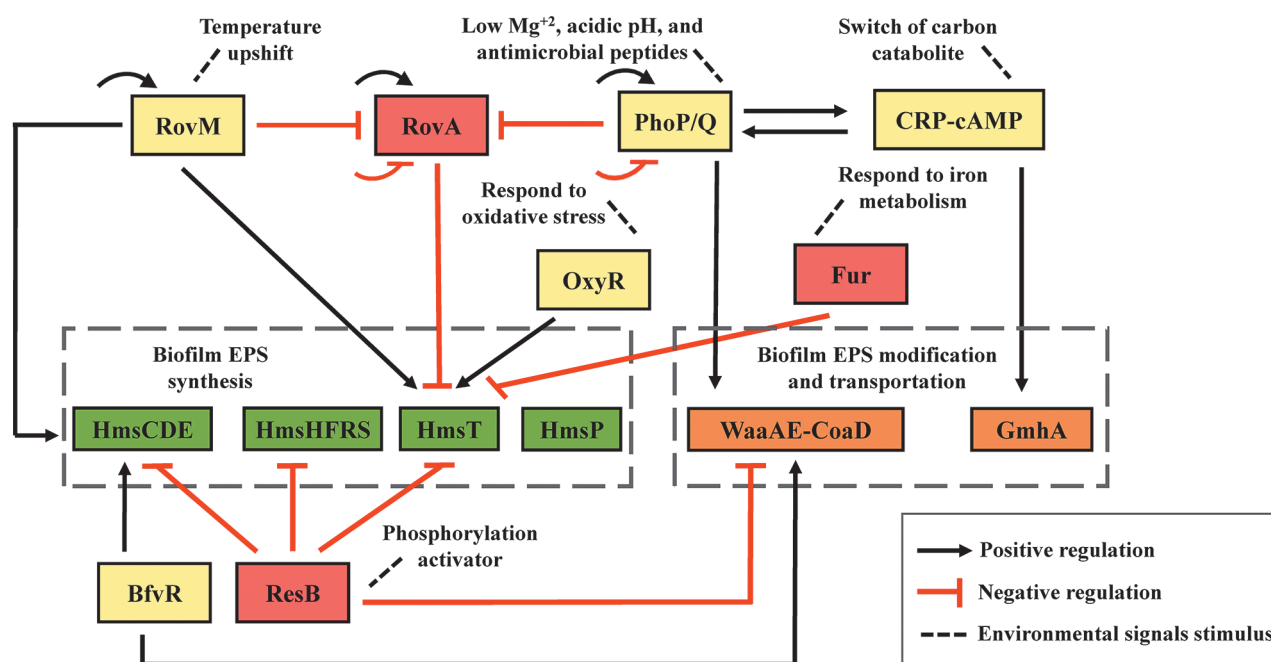


Рис. 3. Каскад транскрипционных регуляторов образования биопленки у *Y. pestis*. Желтым и красным цветом отмечены регуляторы, которые являются активаторами или репрессорами биопленок соответственно. Зеленым и оранжевым цветом выделены регуляторы, участвующие в синтезе или модификации и транспортировке экзополисахарида соответственно [43]

Fig. 3. Cascade of transcriptional regulators of biofilm formation in *Y. pestis*. Regulators that are activators or repressors of biofilms are marked in yellow and red, respectively. Green and orange colors indicate regulators involved in the synthesis or modification and transport of exopolysaccharide, respectively [43]

ляции *hmsHFRS*, *hmsCDE* и *waaAE-coaD* и ингибирования *psaABC* и *psaEF* [44].

Двухкомпонентная система передачи сигнала Rcs состоит из сенсорной киназы RcsC, фосфопереносящего белка RcsD и регулятора ответа RcsB. RcsB может действовать как регулятор транскрипции отдельно или в сочетании со вспомогательным белком RcsA [45, 46]. RcsB репрессирует образование биопленок *Y. pestis* путем прямого ингибирования транскрипции *hmsHFRS*, *hmsT* и *hmsCDE* и косвенно репрессирует транскрипцию *hmsP* [47]. Функциональный RcsA в комплексе с RcsB способен ингибировать образование биопленки *Y. pseudotuberculosis*, отчасти путем подавления экспрессии генов синтеза c-di-GMP – *hmsT* и *hmsD*. У *Y. pestis* ген *rcsA* был разрушен в результате инсерции (~30 п.н.), что привело к усилению способности образования биопленок. Ген *rcsD* у *Y. pestis*, предположительно, также является псевдогеном из-за делеции одного нуклеотида, но он сохраняет ограниченную способность модулировать образование биопленок *in vitro* [36, 48, 49].

Установлено, что у *Y. pestis* всех подвидов присутствуют основные структурные гены, транскрипционные и посттранскрипционные регуляторы образования биопленки. У штаммов основного подвида в отличие от всех неосновных подвидов выявлены мутации – единичные нуклеотидные замены в генах *waaA*, *hmsT*, *rcsC* и *phoP*, которые могут отвечать за различия у них в регуляции этого свойства. У беспигментных природных штаммов *Y. pestis* и у мутантов, дефектных по образованию биопленки, идентифицированы новые типы мутаций, такие как делеция единичного нуклеотида (-A) в гене *hmsH*, вставка четырех нуклеотидов (+ATGA) в гене *hmsS*, протяженная делеция участка *upo1969-upo1926* хромосомной области пигментации, включающая *ast*, *hms* и прилегающие к ним гены [50, 51].

Fur (от англ. ferric uptake regulator) преимущественно контролирует метаболизм железа у *Y. pestis* и отрицательно регулирует образование биопленок посредством прямой репрессии транскрипции *hmsT* [52]. В регуляции образования биопленок *Y. pestis* также участвуют некоторые РНК-связывающие белки, такие как CsrA и Hfq [40, 53]. В последние годы стало известно, что малые некодирующие РНК (sРНК) служат важными компонентами разнообразных регуляторных цепей у бактерий. Для возбудителя чумы установлена роль в регуляции образования биопленок таких sРНК, как RyhB, HmsA и HmsB [54, 55].

Вышеперечисленные регуляторные факторы обычно контролируют образование биопленок, регулируя экспрессию основных генов, связанных с биопленками, таких как *hmsCDE*, *hmsT*, *hmsHFRS* и *hmsP*. Однако у *Y. pestis* также выявлена реципрокная и положительная регуляция между PhoP/Q и CRP, а также репрессия RovA, PhoP/Q и RovM, которая связывает разные регулоны, образуя таким образом сложные регуляторные цепи [56]. Регуляторы транс-

крипции главным образом регулируют образование биопленок *Y. pestis*, влияя на синтез экзополисахарида биопленки и/или влияя на его модификацию и транспортировку. Такие регуляторы, как OxyR, BfvR, RovM, RovA, RcsB и Fur, могут влиять на уровень синтеза c-di-GMP, непосредственно контролируя экспрессию *hmsT* и/или *hmsCDE* с последующим влиянием на синтез экзополисахарида биопленок [41, 44, 47, 52, 57]. В то же время регуляторы CRP и PhoP не влияют на синтез c-di-GMP и экзополисахарида биопленки *Y. pestis*, хотя их потеря приводит к заметным дефектам в формировании биопленок [38, 57]. Воздействие этих регуляторов на формирование биопленок объясняется регуляцией генов, связанных с ЛПС. Продукты, кодируемые генами *gmhA* и *waaAE-coaD*, необходимы для синтеза ЛПС и его нормальной биологической функции. Более того, полный ЛПС и его структурные гены могут играть решающую роль в модификации и транспортировке экзополисахарида биопленки. Соответственно, CRP- и PhoP-зависимая регуляция образования биопленок *Y. pestis* может преимущественно зависеть от модуляции модификации и/или транспортировки экзополисахарида биопленки.

**Механизмы трансмиссии *Y. pestis*.** Заражение возбудителем чумы может происходить различными путями: алиментарным, контактным (через поврежденные кожные покровы), респираторным и трансмиссивным [11]. Хотя *Y. pestis* иногда может передаваться при прямом контакте, проглатывании или аэрозоле, возбудитель чумы эволюционно адаптирован к передаче через блох. Передача через укус блохи может происходить различными способами. Возможна передача бактерий чумы в ранние сроки (в течение первой недели после заражения) без образования блока в преджелудке блохи после питания на млекопитающем с высоким уровнем бактериемии, когда при повторном кормлении вымываются бактерии, оставшиеся на поверхности ротового аппарата блох. Эффективность этого способа передачи низка и зависит от уровня бактериемии в крови хозяина [58, 59]. Этот способ передачи первоначально назывался массовой передачей, поскольку он не наблюдается, если на хозяине питаются менее 5–10 инфицированных блох. В последнее время его стали называть передачей на ранней фазе [16, 60]. Этот способ передачи малоэффективен, чтобы вызвать эпизоотию. Вместо этого он способствует уменьшению числа восприимчивых особей в популяции.

Другие способы передачи реализуются после того, как *Y. pestis* образует бактериальную биопленку в преджелудке, клапане между пищеводом и средней кишкой. Вскоре после проглатывания крови кишечник блох начинает перистальтику, смешивая кровяную массу, свободно плавающие планктонные клетки чумы, ферменты или противомикробные вещества, вырабатываемые блохами. Изменение температуры при переходе возбудителя от организма млекопитающего к блохе-хозяину приводит к тому, что бактерии

начинают агрегировать, и вскоре после кормления в пищеварительном тракте образуется большая плотная масса, которая прилипает к выростам, выстилающим желудочковый клапан в передней кишке, способствуя начальной колонизации [16]. По мере роста биопленки она постепенно ограничивает прохождение крови через желудочек и затрудняет функцию клапанов. В этом частично заблокированном состоянии блохи могут проглотить некоторое количество крови, но поскольку преджелудочный клапан не может полностью закрыться, кровь, загрязненная бактериями из пищеварительного тракта блохи, может обратно течь в место укуса [16, 58].

В конечном итоге биопленка может заполнить желудок блох, создавая физический барьер для проглатывания. У полностью заблокированных блох свежая кровь не может достичь средней кишки (желудка), в связи с чем заблокированные блохи увеличивают частоту кровососания, вызывая вытеснение бактерий из биопленки. Отрывание фрагментов биопленки с кровью в место укуса приводит к заражению млекопитающего. Образование блока преджелудка блохи наступает через 1–2 недели после инфицирования переносчика в зависимости от количества бактерий, попавших в организм с инфекционной кровью, частоты кормления блох и других факторов [16].

Таким образом, формирование механизма передачи инфекции с помощью блох по классическому механизму «грызун – блоха – грызун» было результатом приобретения относительно небольшого количества новой генетической информации с помощью горизонтального переноса двух плазмид – pFga и pPst. Содержащийся во фракционной плазмиде ген *ymt* (фосфолипаза Д) обеспечил выживание в блохах и, как следствие, возможность вызывать септическую форму чумы. Однако этот способ передачи возбудителя был, вероятно, малоэффективен. Приобретение плазмиды пестициногенности с геном протеазы *pla* позволило возбудителю распространяться от места укуса до региональных лимфоузлов и вызывать бубонную чуму, что существенно повысило эффективность заражения и эпидемическую значимость заболевания. Процесс адаптации к новой среде обитания – пищеварительному тракту блох – сопровождался потерей функции ряда генов, а также формированием сложной каскадной сети регуляции метаболических процессов на этой стадии жизненного цикла возбудителя чумы.

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

**Финансирование.** Авторы заявляют об отсутствии дополнительного финансирования при проведении данного исследования.

## Список литературы

1. Попова А.Ю., Кутырев В.В., редакторы. Атлас природных очагов чумы России и зарубежных государств. Калининград: ПА Полиграфичъ; 2022. 348 с.

2. Adeolu M., Alnajjar S., Naushad S., Gupta R.S. Genome-based phylogeny and taxonomy of the 'Enterobacteriales': proposal for Enterobacterales ord. nov. divided into the families Enterobacteriaceae, Erwiniaceae fam. nov., Pectobacteriaceae fam. nov., Yersiniaceae fam. nov., Hafniaceae fam. nov., Morganellaceae fam. nov., and Budviciaceae fam. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2016; 66(12):5575–99. DOI: 10.1099/ijsem.0.001485.
3. Parkhill J., Wren B.W., Thomson N.R., Titball R.W., Holden M.T., Prentice M.B., Sebahia M., James K.D., Churcher C., Mungall K.L., Baker S., Basham D., Bentley S.D., Brooks K., Cerdeño-Tarraga A.M., Chillingworth T., Cronin A., Davies R.M., Davis P., Dougan G., Feltwell T., Hamlin N., Holroyd S., Jagels K., Karlyshev A.V., Leather S., Moule S., Oyston P.C., Quail M., Rutherford K., Simmonds M., Skelton J., Stevens K., Whitehead S., Barrell B.G. Genome sequence of *Yersinia pestis*, the causative agent of plague. *Nature.* 2001; 413(6855):523–7. DOI: 10.1038/35097083.
4. Wren B.D. The yersiniae – a model genus to study the rapid evolution of bacterial pathogen. *Nat. Rev. Microbiol.* 2003; 1(1):55–64. DOI: 10.1038/nrmicro730.
5. McNally A., Thomson N.R., Reuter S., Wren B.W. 'Add, stir and reduce': *Yersinia* spp. as model bacteria for pathogen evolution. *Nat. Rev. Microbiol.* 2016; 14(3):177–90. DOI: 10.1038/nrmicro.2015.29.
6. Проценко О.А., Анисимов П.И., Можаров О.Т., Коннов Н.П., Попов Ю.А., Кокушкин А.М. Выявление и характеристика плазмид чумного микроба, детерминирующих синтез пестицина I и экзотоксина «мышинного» токсина. *Генетика.* 1983; 19:1081–90.
7. Hinnebusch J., Cherepanov P., Du Y., Rudolph A., Dixon J.D., Schwan T., Forsberg A. Murine toxin of *Yersinia pestis* shows phospholipase D activity but is not required for virulence in mice. *J. Med. Microbiol.* 2000; 290(4-5):483–7. DOI: 10.1016/S1438-4221(00)80070-3.
8. Bland D.M., Miarinjar A., Bosio C.F., Calarco J., Hinnebusch B.J. Acquisition of yersinia murine toxin enabled *Yersinia pestis* to expand the range of mammalian hosts that sustain flea-borne plague. *PLoS Pathog.* 2021; 17(10):e1009995. DOI: 10.1371/journal.ppat.1009995.
9. Sun Y.C., Jarrett C.O., Bosio C.F., Hinnebusch B.J. Retracing the evolutionary path that led to flea-borne transmission of *Yersinia pestis*. *Cell Host Microbe.* 2014; 15(5):578–86. DOI: 10.1016/j.chom.2014.04.003.
10. Andrades Valtueña A., Neumann G.U., Spyrou M.A., Musralina L., Aron F., Beisenov A., Belinskiy A.B., Bos K.I., Buzhilova A., Conrad M., Djansugurova L.B., Dobeš M., Ernée M., Fernández-Erao J., Frohlich B., Furmanek M., Hałuszko A., Hansen S., Harney E., Hiss A.N., Hübner A., Key F.M., Khussainova E., Kitov E., Kitova A.O., Knipper C., Kühnert D., Lalueza-Fox C., Littleton J., Massy K., Mittnik A., Mujika-Alustiza J.A., Olalde I., Papac L., Penske S., Peška J., Pinhasi R., Reich D., Reinhold S., Stahl R., Stäuble H., Tukhbatova R.I., Vasilyev S., Veselovskaya E., Warinner C., Stockhammer P.W., Haak W., Krause J., Herbig A. Stone Age *Yersinia pestis* genomes shed light on the early evolution, diversity, and ecology of plague. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2022; 119(17):e2116722119. DOI: 10.1073/pnas.2116722119.
11. Hinnebusch B.J., Jarrett C.O., Bland D.M. Molecular and genetic mechanisms that mediate transmission of *Yersinia pestis* by fleas. *Biomolecules.* 2021; 11(2):210. DOI: 10.3390/biom11020210.
12. Chouikha I., Hinnebusch B.J. Silencing urease: a key evolutionary step that facilitated the adaptation of *Yersinia pestis* to the flea-borne transmission route. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2014; 111(52):18709–14. DOI: 10.1073/pnas.1413209111.
13. Sebbane F., Devalckenaere A., Foulon J., Carniel E., Simonet M. Silencing and reactivation of urease in *Yersinia pestis* is determined by one G residue at a specific position in the ureD gene. *Infect. Immun.* 2001; 69(1):170–6. DOI: 10.1128/IAI.69.1.170-176.2001.
14. Waterfield N., Hares M., Hinchliffe S., Wren B., French-Constant R. The insect toxin complex of *Yersinia*. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2007; 603:247–57. DOI: 10.1007/978-0-387-72124-8\_22.
15. Одинокоев Г.Н., Ерошенко Г.А., Краснов Я.М., Гусева Н.П., Кутырев В.В. Анализ варибельности генов комплекса инсектицидных токсинов у штаммов *Yersinia pestis* и *Yersinia pseudotuberculosis*. *Генетика.* 2011; 47(1):10–7.
16. Hinnebusch B.J., Jarrett C.O., Bland D.M. "Fleaing" the plague: adaptations of *Yersinia pestis* to its insect vector that lead to transmission. *Annu. Rev. Microbiol.* 2017; 71:215–32. DOI: 10.1146/annurev-micro-090816-093521.
17. Chouikha I., Sturdevant D.E., Jarrett C., Sun Y.C., Hinnebusch B.J. Differential gene expression patterns of *Yersinia pestis* and *Yersinia pseudotuberculosis* during infection and biofilm formation in the flea digestive tract. *mSystems.* 2019; 4(1):e00217-18. DOI: 10.1128/mSystems.00217-18.
18. Bland D.M., Martens C.A., Virtaneva K., Kanakabandi K., Long D., Rosenke R., Saturday G.A., Hoyt F.H., Bruno D.P., Ribeiro J.M., Hinnebusch B.J. Transcriptomic profiling of the digestive tract of the rat flea, *Xenopsylla cheopis*, following blood feeding and infection with *Yersinia pestis*. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2020; 14(9):e0008688. DOI: 10.1371/journal.pntd.0008688.

19. Bacot A.W., Martin C.J. LXVII. Observations on the mechanism of the transmission of plague by fleas. *J. Hyg. (Lond)*. 1914; 13(Suppl.):423–39. PMID: 20474555.
20. Jarrett C.O., Deak E., Isherwood K.E., Oyston P.C., Fischer E.R., Whitney A.R., Kobayashi S.D., DeLeo F.R., Hinnebusch B.J. Transmission of *Yersinia pestis* from an infectious biofilm in the flea vector. *J. Infect. Dis.* 2004; 190(4):783–92. DOI: 10.1086/422695.
21. Darby C. Uniquely insidious: *Yersinia pestis* biofilms. *Trends Microbiol.* 2008; 16(4):158–64. DOI: 10.1016/j.tim.2008.01.005.
22. Eroshenko G.A., Vidyayeva N.A., Kuttyrev V.V. Comparative analysis of biofilm formation by main and non-main subspecies *Yersinia pestis* strains. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2010; 59(3):513–20. DOI: 10.1111/j.1574-695X.2010.00719.x.
23. Кошель Е.И., Ерошенко Г.А., Видяева Н.А., Анисимова Л.В., Новичкова Л.А., Кутырев В.В. Особенности образования биопленки у штаммов *Yersinia pestis* основного и не основных подвидов. *Инфекционные болезни*. 2012; 10(S1):201.
24. Макашова М.А., Оглодин Е.Г., Шарапова Н.А., Самойлов А.Е., Ерошенко Г.А., Кутырев В.В. Влияние *Yersinia pestis* на почвенных нематод *Panagrolaimus* sp. из Горно-Алтайского высокогорного очага чумы. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 2:127–33. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-127-133.
25. Кутырев В.В., Ерошенко Г.А., Попов Н.В., Видяева Н.А., Коннов Н.П. Молекулярные механизмы взаимодействия возбудителя чумы с беспозвоночными животными. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2009; 4:6–13.
26. Kuttyrev V.V., Filippov A.A., Oparina O.S., Protchenko O.A. Analysis of *Yersinia pestis* chromosomal determinants Pgm<sup>+</sup> and Pst<sup>+</sup> associated with virulence. *Microb. Pathog.* 1992; 12(3):177–86. DOI: 10.1016/0882-4010(92)90051-o.
27. Bobrov A.G., Kirillina O., Forman S., Mack D., Perry R.D. Insights into *Yersinia pestis* biofilm development: topology and co-interaction of Hms inner membrane proteins involved in exopolysaccharide production. *Environ. Microbiol.* 2008; 10(6):1419–32. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2007.01554.x.
28. Abu Khweek A., Fetherston J.D., Perry R.D. Analysis of HmsH and its role in plague biofilm formation. *Microbiology (Reading)*. 2010; 156(Pt. 5):1424–38. DOI: 10.1099/mic.0.036640-0.
29. Hengge R. Principles of c-di-GMP signalling in bacteria. *Nat. Rev. Microbiol.* 2009; 7(4):263–73. DOI: 10.1038/nrmicro2109.
30. Sun Y.C., Koumoutsis A., Jarrett C., Lawrence K., Gherardini F.C., Darby C., Hinnebusch B.J. Differential control of *Yersinia pestis* biofilm formation *in vitro* and in the flea vector by two c-di-GMP diguanylate cyclases. *PLoS One*. 2011; 6(4):e19267. DOI: 10.1371/journal.pone.0019267.
31. Kirillina O., Fetherston J.B., Bobrov A.G., Abney J., Perry R.D. HmsP, a putative phosphodiesterase, and HmsT, a putative diguanylate cyclase, control Hms-dependent biofilm formation in *Yersinia pestis*. *Mol. Microbiol.* 2004; 54(1):75–88. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2004.04253.x.
32. Bobrov A.G., Kirillina O., Ryjenkov D.A., Waters C.M., Price P.A., Fetherston J.D., Mack D., Goldman W.E., Gomelsky M., Perry R.D. Systematic analysis of cyclic di-GMP signaling enzymes and their role in biofilm formation and virulence in *Yersinia pestis*. *Mol. Microbiol.* 2011; 79(2):533–51. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2010.07470.x.
33. Bobrov A.G., Kirillina O., Vadyvaloo V., Koestler B.J., Hinz A.K., Mack D., Waters C.M., Perry R.D. The *Yersinia pestis* HmsCDE regulatory system is essential for blockage of the oriental rat flea (*Xenopsylla cheopis*), a classic plague vector. *Environ. Microbiol.* 2015; 17(4):947–59. DOI: 10.1111/1462-2920.12419.
34. Darby C., Ananth S.L., Tan L., Hinnebusch B.J. Identification of *gmhA*, a *Yersinia pestis* gene required for flea blockage, by using a *Caenorhabditis elegans* biofilm system. *Infect. Immun.* 2005; 73(11):7236–42. DOI: 10.1128/IAI.73.11.7236-7242.2005.
35. Tan L., Darby C. *Yersinia pestis* YrbH is a multifunctional protein required for both 3-deoxy-D-manno-oct-2-ulosonic acid biosynthesis and biofilm formation. *Mol. Microbiol.* 2006; 61(4):861–70. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2006.05265.x.
36. Liu L., Fang N., Sun Y., Yang H., Zhang Y., Han Y., Zhou D., Yang R. Transcriptional regulation of the *waaAE-coaD* operon by PhoP and RcsAB in *Yersinia pestis* biovar Microtus. *Protein Cell.* 2014; 5(12):940–4. DOI: 10.1007/s13238-014-0110-8.
37. Reibel R., Jarrett C.O., Driver J.D., Ernst R.K., Oyston P.C., Hinnebusch B.J. Induction of the *Yersinia pestis* PhoP-PhoQ regulatory system in the flea and its role in producing a transmissible infection. *J. Bacteriol.* 2013; 195(9):1920–30. DOI: 10.1128/JB.02000-12.
38. Zhang Y., Wang L., Han Y., Yan Y., Tan Y., Zhou L., Cui Y., Du Z., Wang X., Bi Y., Yang H., Song Y., Zhang P., Zhou D., Yang R. Autoregulation of PhoP/PhoQ and positive regulation of the cyclic AMP receptor protein-cyclic AMP complex by PhoP in *Yersinia pestis*. *J. Bacteriol.* 2013; 195(5):1022–30. DOI: 10.1128/JB.01530-12.
39. Willias S.P., Chauhan S., Lo C.C., Chain P.S., Motin V.L. CRP-mediated carbon catabolite regulation of *Yersinia pestis* biofilm formation is enhanced by the carbon storage regulator protein, CsrA. *PLoS One*. 2015; 10(8):e0135481. DOI: 10.1371/journal.pone.0135481.
40. Silva-Rohwer A.R., Held K., Yakhnin H., Babitzke P., Vadyvaloo V. CsrA-mediated translational activation of the *hmsE* mRNA enhances HmsD-dependent c-di-GMP-enabled biofilm production in *Yersinia pestis*. *J. Bacteriol.* 2023; 205(6):e0010523. DOI: 10.1128/jb.00105-23.
41. Earl S.C., Rogers M.T., Keen J., Bland D.M., Houppert A.S., Miller C., Temple I., Anderson D.M., Marketon M.M. Resistance to innate immunity contributes to colonization of the insect gut by *Yersinia pestis*. *PLoS One*. 2015; 10(7):e0133318. DOI: 10.1371/journal.pone.0133318.
42. Zhou W., Russell C.W., Johnson K.L., Mortensen R.D., Erickson D.L. Gene expression analysis of *Xenopsylla cheopis* (Siphonaptera: Pulicidae) suggests a role for reactive oxygen species in response to *Yersinia pestis* infection. *J. Med. Entomol.* 2012; 49(2):364–70. DOI: 10.1603/me11172.
43. Liu L., Zheng S. Transcriptional regulation of *Yersinia pestis* biofilm formation. *Microb. Pathog.* 2019; 131:212–7. DOI: 10.1016/j.micpath.2019.04.011.
44. Fang H., Liu L., Zhang Y., Yang H., Yan Y., Ding X., Han Y., Zhou D., Yang R. BfrR, an AraC-family regulator, controls biofilm formation and pH6 antigen production in opposite ways in *Yersinia pestis* biovar microtus. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2018; 8:347. DOI: 10.3389/fcimb.2018.00347.
45. Guo X.P., Sun Y.C. New insights into the non-orthodox two component Rcs phosphorelay system. *Front. Microbiol.* 2017; 8:2014. DOI: 10.3389/fmicb.2017.02014.
46. Wall E., Majdalan N., Gottesman S. The complex Rcs regulatory cascade. *Annu. Rev. Microbiol.* 2018; 72:111–39. DOI: 10.1146/annurev-micro-090817-062640.
47. Fang N., Yang H., Fang H., Liu L., Zhang Y., Wang L., Han Y., Zhou D., Yang R. RcsAB is a major repressor of *Yersinia* biofilm development through directly acting on hmsCDE, hmsT, and hmsH-FRS. *Sci. Rep.* 2015; 5:9566. DOI: 10.1038/srep09566.
48. Sun Y.C., Hinnebusch B.J., Darby C. Experimental evidence for negative selection in the evolution of a *Yersinia pestis* pseudogene. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2008; 105(23):8097–101. DOI: 10.1073/pnas.0803525105.
49. Guo X.P., Yan H.Q., Yang W., Yin Z., Vadyvaloo V., Zhou D., Sun Y.C. A frameshift in *Yersinia pestis* *rdsD* alters canonical Rcs signalling to preserve flea-mammal plague transmission cycles. *Elife*. 2023; 12:e83946. DOI: 10.7554/eLife.83946.
50. Ерошенко Г.А., Кошель Е.И., Одинокоев Г.Н., Шавинга Н.Ю., Краснов Я.М., Гусева Н.П., Кутырев В.В. Вариативность нуклеотидных последовательностей генов *phoP/phoQ* и *rovA* – глобальных регуляторов жизненного цикла возбудителя чумы. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2012; 2:25–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2012-2(112)-25-28.
51. Ерошенко Г.А., Видяева Н.А., Куклева Л.М., Кошель Е.И., Одинокоев Г.Н., Шавина Н.Ю., Князева Т.В., Мокроусова Т.В., Краснов Я.М., Анисимова Л.В., Новичкова Л.А., Ерохин П.С., Бойко А.В., Кутырев В.В. Изучение образования биопленки у беспиgmentных и бесплазмидных мутантов штамма *Yersinia pestis* на биотических поверхностях в условиях *in vitro* и *in vivo*. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2012; 3:45–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2012-3-45-49.
52. Sun F., Gao H., Zhang Y., Wang L., Fang N., Tan Y., Guo Z., Xia P., Zhou D., Yang R. Fur is a repressor of biofilm formation in *Yersinia pestis*. *PLoS One*. 2012; 7(12):e52392. DOI: 10.1371/journal.pone.0052392.
53. Rempe K.A., Hinz A.K., Vadyvaloo V. Hfq regulates biofilm gut blockage that facilitates flea-borne transmission of *Yersinia pestis*. *J. Bacteriol.* 2012; 194(8):2036–40. DOI: 10.1128/JB.06568-11.
54. Liu Z., Gao X., Wang H., Fang H., Yan Y., Liu L., Chen R., Zhou D., Yang R., Han Y. Plasmid pPCP1-derived sRNA HmsA promotes biofilm formation of *Yersinia pestis*. *BMC Microbiol.* 2016; 16(1):176. DOI: 10.1186/s12866-016-0793-5.
55. Ni B., Wu H.S., Xin Y.Q., Zhang Q.W., Zhang Y.Q. Reciprocal regulation between fur and two RyhB homologs in *Yersinia pestis*, and roles of RyhBs in biofilm formation. *Biomed. Environ. Sci.* 2021; 34(4):299–308. DOI: 10.3967/bes2021.039.
56. Zhang Y., Gao H., Wang L., Xiao X., Tan Y., Guo Z., Zhou D., Yang R. Molecular characterization of transcriptional regulation of *rovA* by PhoP and *rovA* in *Yersinia pestis*. *PLoS One*. 2011; 6(9):e25484. DOI: 10.1371/journal.pone.0025484.
57. Liu L., Fang H., Yang H., Zhang Y., Han Y., Zhou D., Yang R. CRP is an activator of *Yersinia pestis* biofilm formation that operates via a mechanism involving *gmhA* and *waaAE-coaD*. *Front. Microbiol.* 2016; 7:295. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00295.
58. Eisen R.J., Dennis D.T., Gage K.L. The role of early-phase transmission in the spread of *Yersinia pestis*. *J. Med. Entomol.* 2015; 52(6):1183–92. DOI: 10.1093/jme/tjv128.
59. Mitchell C.L., Schwarzer A.R., Miarinjar A., Jarrett C.O., Luis A.D., Hinnebusch B.J. A role for early-phase transmission in the enzootic maintenance of plague. *PLoS Pathog.* 2022; 18(12):e1010996. DOI: 10.1371/journal.ppat.1010996.
60. Eisen R.J., Wilder A.P., Bearden S.W., Monteneri J.A., Gage K.L. Early-phase transmission of *Yersinia pestis* by unblocked *Xenopsylla cheopis* (Siphonaptera: Pulicidae) is as efficient as trans-

mission by blocked fleas. *J. Med. Entomol.* 2007; 44(4):678–82. DOI: 10.1603/0022-2585(2007)44[678:etoypb]2.0.co;2.

## References

1. Popova A.Yu., Kuttyrev V.V., editors. [Atlas of Natural Plague Foci in Russia and Foreign Countries]. Kaliningrad: "RA Poligrafykh"; 2022. 348 p.
2. Adeolu M., Alnajjar S., Naushad S., Gupta R.S. Genome-based phylogeny and taxonomy of the 'Enterobacteriales': proposal for Enterobacterales ord. nov. divided into the families Enterobacteriaceae, Erwiniaceae fam. nov., Pectobacteriaceae fam. nov., Yersiniaceae fam. nov., Hafniaceae fam. nov., Morganellaceae fam. nov., and Budviciaceae fam. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2016; 66(12):5575–99. DOI: 10.1099/ijsem.0.001485.
3. Parkhill J., Wren B.W., Thomson N.R., Titball R.W., Holden M.T., Prentice M.B., Sebahia M., James K.D., Churcher C., Mungall K.L., Baker S., Basham D., Bentley S.D., Brooks K., Cerdeño-Tarraga A.M., Chillingworth T., Cronin A., Davies R.M., Davis P., Dougan G., Feltwell T., Hamlin N., Holroyd S., Jagels K., Karlyshev A.V., Leather S., Moule S., Oyston P.C., Quail M., Rutherford K., Simmonds M., Skelton J., Stevens K., Whitehead S., Barrell B.G. Genome sequence of *Yersinia pestis*, the causative agent of plague. *Nature*. 2001; 413(6855):523–7. DOI: 10.1038/35097083.
4. Wren B.D. The yersiniae – a model genus to study the rapid evolution of bacterial pathogen. *Nat. Rev. Microbiol.* 2003; 1(1):55–64. DOI: 10.1038/nrmicro730.
5. McNally A., Thomson N.R., Reuter S., Wren B.W. 'Add, stir and reduce': *Yersinia* spp. as model bacteria for pathogen evolution. *Nat. Rev. Microbiol.* 2016; 14(3):177–90. DOI: 10.1038/nrmicro.2015.29.
6. Protsenko O.A., Anisimov P.I., Mozharov O.T., Konnov N.P., Popov Yu.A., Kokushkin A.M. [Identification and characterization of plague microbe plasmids that determine the synthesis of pesticin I and "murine" toxin exotoxin]. *Genetika [Genetics]*. 1983; (19):1081–90.
7. Hinnebusch J., Cherepanov P., Du Y., Rudolph A., Dixon J.D., Swan T., Forsberg A. Murine toxin of *Yersinia pestis* shows phospholipase D activity but is not required for virulence in mice. *J. Med. Microbiol.* 2000; 290(4-5):483–7. DOI: 10.1016/S1438-4221(00)80070-3.
8. Bland D.M., Miarinara A., Bosio C.F., Calarco J., Hinnebusch B.J. Acquisition of yersinia murine toxin enabled *Yersinia pestis* to expand the range of mammalian hosts that sustain flea-borne plague. *PLoS Pathog.* 2021; 17(10):e1009995. DOI: 10.1371/journal.ppat.1009995.
9. Sun Y.C., Jarrett C.O., Bosio C.F., Hinnebusch B.J. Retracing the evolutionary path that led to flea-borne transmission of *Yersinia pestis*. *Cell Host Microbe*. 2014; 15(5):578–86. DOI: 10.1016/j.chom.2014.04.003.
10. Andrades Valtueña A., Neumann G.U., Spyrou M.A., Musralina L., Aron F., Beisenov A., Belinskiy A.B., Bos K.I., Buzhilova A., Conrad M., Djansugurova L.B., Dobeš M., Ernée M., Fernández-Erao J., Fröhlich B., Furmanek M., Haluszko A., Hansen S., Harney E., Hiss A.N., Hübner A., Key F.M., Khussainova E., Kitov E., Kitova A.O., Knipper C., Kühnert D., Lalueza-Fox C., Littleton J., Massy K., Mittnik A., Mujika-Alustiza J.A., Olalde I., Papac L., Penske S., Peška J., Pinhasi R., Reich D., Reinhold S., Stahl R., Stäuble H., Tukhbatova R.I., Vasilyev S., Veselovskaya E., Warinner C., Stockhammer P.W., Haak W., Krause J., Herbig A. Stone Age *Yersinia pestis* genomes shed light on the early evolution, diversity, and ecology of plague. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2022; 119(17):e2116722119. DOI: 10.1073/pnas.2116722119.
11. Hinnebusch B.J., Jarrett C.O., Bland D.M. Molecular and genetic mechanisms that mediate transmission of *Yersinia pestis* by fleas. *Biomolecules*. 2021; 11(2):210. DOI: 10.3390/biom11020210.
12. Chouikha I., Hinnebusch B.J. Silencing urease: a key evolutionary step that facilitated the adaptation of *Yersinia pestis* to the flea-borne transmission route. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2014; 111(52):18709–14. DOI: 10.1073/pnas.1413209111.
13. Sebbane F., Devalckenaere A., Foulon J., Carniel E., Simonet M. Silencing and reactivation of urease in *Yersinia pestis* is determined by one G residue at a specific position in the ureD gene. *Infect. Immun.* 2001; 69(1):170–6. DOI: 10.1128/IAI.69.1.170-176.2001.
14. Waterfield N., Hares M., Hinchliffe S., Wren B., French-Constant R. The insect toxin complex of *Yersinia*. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2007; 603:247–57. DOI: 10.1007/978-0-387-72124-8\_22.
15. Odinokov G.N., Eroshenko G.A., Krasnov Ya.M., Guseva N.P., Kuttyrev V.V. [Analysis of the gene variability of the insecticidal toxin complex in strains of *Yersinia pestis* and *Yersinia pseudotuberculosis*]. *Genetika [Genetics]*. 2011; 47(1):10–7.
16. Hinnebusch B.J., Jarrett C.O., Bland D.M. "Fleaing" the plague: adaptations of *Yersinia pestis* to its insect vector that lead to transmission. *Annu. Rev. Microbiol.* 2017; 71:215–32. DOI: 10.1146/annurev-micro-090816-093521.
17. Chouikha I., Sturdevant D.E., Jarrett C., Sun Y.C., Hinnebusch B.J. Differential gene expression patterns of *Yersinia pestis* and *Yersinia pseudotuberculosis* during infection and biofilm formation in the flea digestive tract. *mSystems*. 2019; 4(1):e00217-18. DOI: 10.1128/mSystems.00217-18.
18. Bland D.M., Martens C.A., Virtaneva K., Kanakabandi K., Long D., Rosenke R., Saturday G.A., Hoyt F.H., Bruno D.P., Ribeiro J.M., Hinnebusch B.J. Transcriptomic profiling of the digestive tract of the rat flea, *Xenopsylla cheopis*, following blood feeding and infection with *Yersinia pestis*. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2020; 14(9):e0008688. DOI: 10.1371/journal.pntd.0008688.
19. Bacot A.W., Martin C.J. LXVII. Observations on the mechanism of the transmission of plague by fleas. *J. Hyg. (Lond)*. 1914; 13(Suppl.):423–39. PMID: 20474555.
20. Jarrett C.O., Deak E., Isherwood K.E., Oyston P.C., Fischer E.R., Whitney A.R., Kobayashi S.D., DeLeo F.R., Hinnebusch B.J. Transmission of *Yersinia pestis* from an infectious biofilm in the flea vector. *J. Infect. Dis.* 2004; 190(4):783–92. DOI: 10.1086/422695.
21. Darby C. Uniquely insidious: *Yersinia pestis* biofilms. *Trends Microbiol.* 2008; 16(4):158–64. DOI: 10.1016/j.tim.2008.01.005.
22. Eroshenko G.A., Vidyayeva N.A., Kuttyrev V.V. Comparative analysis of biofilm formation by main and non-main subspecies *Yersinia pestis* strains. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2010; 59(3):513–20. DOI: 10.1111/j.1574-695X.2010.00719.x.
23. Koshel' E.I., Eroshenko G.A., Vidyayeva N.A., Anisimova L.V., Novichkova L.A., Kuttyrev V.V. [Features of biofilm formation in *Yersinia pestis* strains of the main and non-main subspecies]. *Infektsionnye Bolezni [Infectious Diseases]*. 2012; 10(S1):201.
24. Makashova M.A., Oglodin E.G., Sharapova N.A., Samoilov A.E., Eroshenko G.A., Kuttyrev V.V. [Effect of *Yersinia pestis* on the soil nematodes *Panagrolaimus* sp. from the Gorno-Altai high-mountain focus of plague]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; (2):127–33. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-127-133.
25. Kuttyrev V.V., Eroshenko G.A., Popov N.V., Vidyayeva N.A., Konnov N.P. [Molecular mechanisms of interaction between the plague pathogen and invertebrate animals]. *Molekulyarnaya Genetika, Mikrobiologiya i Virusologiya [Molecular Genetics, Microbiology and Virology]*. 2009; (4):6–13.
26. Kuttyrev V.V., Filippov A.A., Oparina O.S., Protsenko O.A. Analysis of *Yersinia pestis* chromosomal determinants Pgm<sup>+</sup> and Pst<sup>+</sup> associated with virulence. *Microb. Pathog.* 1992; 12(3):177–86. DOI: 10.1016/0882-4010(92)90051-0.
27. Bobrov A.G., Kirillina O., Forman S., Mack D., Perry R.D. Insights into *Yersinia pestis* biofilm development: topology and co-interaction of Hms inner membrane proteins involved in exopolysaccharide production. *Environ. Microbiol.* 2008; 10(6):1419–32. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2007.01554.x.
28. Abu Khweek A., Fetherston J.D., Perry R.D. Analysis of HmsH and its role in plague biofilm formation. *Microbiology (Reading)*. 2010; 156(Pt. 5):1424–38. DOI: 10.1099/mic.0.036640-0.
29. Hengge R. Principles of c-di-GMP signalling in bacteria. *Nat. Rev. Microbiol.* 2009; 7(4):263–73. DOI: 10.1038/nrmicro2109.
30. Sun Y.C., Koumoutsis A., Jarrett C., Lawrence K., Gherardini F.C., Darby C., Hinnebusch B.J. Differential control of *Yersinia pestis* biofilm formation *in vitro* and in the flea vector by two c-di-GMP diguanylate cyclases. *PLoS One*. 2011; 6(4):e19267. DOI: 10.1371/journal.pone.0019267.
31. Kirillina O., Fetherston J.B., Bobrov A.G., Abney J., Perry R.D. HmsP, a putative phosphodiesterase, and HmsT, a putative diguanylate cyclase, control Hms-dependent biofilm formation in *Yersinia pestis*. *Mol. Microbiol.* 2004; 54(1):75–88. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2004.04253.x.
32. Bobrov A.G., Kirillina O., Ryjenkov D.A., Waters C.M., Price P.A., Fetherston J.D., Mack D., Goldman W.E., Gomelsky M., Perry R.D. Systematic analysis of cyclic di-GMP signaling enzymes and their role in biofilm formation and virulence in *Yersinia pestis*. *Mol. Microbiol.* 2011; 79(2):533–51. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2010.07470.x.
33. Bobrov A.G., Kirillina O., Vadyvaloo V., Koestler B.J., Hinz A.K., Mack D., Waters C.M., Perry R.D. The *Yersinia pestis* HmsCDE regulatory system is essential for blockage of the oriental rat flea (*Xenopsylla cheopis*), a classic plague vector. *Environ. Microbiol.* 2015; 17(4):947–59. DOI: 10.1111/1462-2920.12419.
34. Darby C., Ananth S.L., Tan L., Hinnebusch B.J. Identification of *gmhA*, a *Yersinia pestis* gene required for flea blockage, by using a *Caenorhabditis elegans* biofilm system. *Infect. Immun.* 2005; 73(11):7236–42. DOI: 10.1128/IAI.73.11.7236-7242.2005.
35. Tan L., Darby C. *Yersinia pestis* YrbH is a multifunctional protein required for both 3-deoxy-D-manno-oct-2-ulosonic acid biosynthesis and biofilm formation. *Mol. Microbiol.* 2006; 61(4):861–70. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2006.05265.x.
36. Liu L., Fang N., Sun Y., Yang H., Zhang Y., Han Y., Zhou D., Yang R. Transcriptional regulation of the *waaAE-coaD* operon by PhoP and RcsAB in *Yersinia pestis* biovar Microtus. *Protein Cell*. 2014; 5(12):940–4. DOI: 10.1007/s12338-014-0110-8.

37. Rebeil R., Jarrett C.O., Driver J.D., Ernst R.K., Oyston P.C., Hinnebusch B.J. Induction of the *Yersinia pestis* PhoP-PhoQ regulatory system in the flea and its role in producing a transmissible infection. *J. Bacteriol.* 2013; 195(9):1920–30. DOI: 10.1128/JB.02000-12.
38. Zhang Y., Wang L., Han Y., Yan Y., Tan Y., Zhou L., Cui Y., Du Z., Wang X., Bi Y., Yang H., Song Y., Zhang P., Zhou D., Yang R. Autoregulation of PhoP/PhoQ and positive regulation of the cyclic AMP receptor protein-cyclic AMP complex by PhoP in *Yersinia pestis*. *J. Bacteriol.* 2013; 195(5):1022–30. DOI: 10.1128/JB.01530-12.
39. Willis S.P., Chauhan S., Lo C.C., Chain P.S., Motin V.L. CRP-mediated carbon catabolite regulation of *Yersinia pestis* biofilm formation is enhanced by the carbon storage regulator protein, CsrA. *PLoS One.* 2015; 10(8):e0135481. DOI: 10.1371/journal.pone.0135481.
40. Silva-Rohwer A.R., Held K., Yakhnin H., Babitzke P., Vadyvaloo V. CsrA-mediated translational activation of the *hmsE* mRNA enhances HmsD-dependent c-di-GMP-enabled biofilm production in *Yersinia pestis*. *J. Bacteriol.* 2023; 205(6):e0010523. DOI: 10.1128/jb.00105-23.
41. Earl S.C., Rogers M.T., Keen J., Bland D.M., Houppert A.S., Miller C., Temple I., Anderson D.M., Marketon M.M. Resistance to innate immunity contributes to colonization of the insect gut by *Yersinia pestis*. *PLoS One.* 2015; 10(7):e0133318. DOI: 10.1371/journal.pone.0133318.
42. Zhou W., Russell C.W., Johnson K.L., Mortensen R.D., Erickson D.L. Gene expression analysis of *Xenopsylla cheopis* (Siphonaptera: Pulicidae) suggests a role for reactive oxygen species in response to *Yersinia pestis* infection. *J. Med. Entomol.* 2012; 49(2):364–70. DOI: 10.1603/mel1172.
43. Liu L., Zheng S. Transcriptional regulation of *Yersinia pestis* biofilm formation. *Microb. Pathog.* 2019; 131:212–7. DOI: 10.1016/j.micpath.2019.04.011.
44. Fang H., Liu L., Zhang Y., Yang H., Yan Y., Ding X., Han Y., Zhou D., Yang R. BfvR, an AraC-family regulator, controls biofilm formation and pH6 antigen production in opposite ways in *Yersinia pestis* biovar microtus. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2018; 8:347. DOI: 10.3389/fcimb.2018.00347.
45. Guo X.P., Sun Y.C. New insights into the non-orthodox two component Rcs phosphorelay system. *Front. Microbiol.* 2017; 8:2014. DOI: 10.3389/fmicb.2017.02014.
46. Wall E., Majdalani N., Gottesman S. The complex Rcs regulatory cascade. *Annu. Rev. Microbiol.* 2018; 72:111–39. DOI: 10.1146/annurev-micro-090817-062640.
47. Fang N., Yang H., Fang H., Liu L., Zhang Y., Wang L., Han Y., Zhou D., Yang R. RcsAB is a major repressor of *Yersinia* biofilm development through directly acting on hmsCDE, hmsT, and hmsH-FRS. *Sci. Rep.* 2015; 5:9566. DOI: 10.1038/srep09566.
48. Sun Y.C., Hinnebusch B.J., Darby C. Experimental evidence for negative selection in the evolution of a *Yersinia pestis* pseudogene. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2008; 105(23):8097–101. DOI: 10.1073/pnas.0803525105.
49. Guo X.P., Yan H.Q., Yang W., Yin Z., Vadyvaloo V., Zhou D., Sun Y.C. A frameshift in *Yersinia pestis* *resD* alters canonical Rcs signalling to preserve flea-mammal plague transmission cycles. *Elife.* 2023; 12:e83946. DOI: 10.7554/eLife.83946.
50. Eroshenko G.A., Koshel' E.I., Odnokov G.N., Shavina N.Yu., Krasnov Ya.M., Guseva N.P., Kuttyrev V.V. [Variability of *phoP/phoQ* and *rovA* genes sequences – global regulators of the plague agent life span]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2012; (2):25–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2012-2(112)-25-28.
51. Eroshenko G.A., Vidyayeva N.A., Kukleva L.M., Koshel' E.I., Odnokov G.N., Shavina N.Yu., Knyazeva T.V., Mokrousova T.V., Krasnov Ya.M., Anisimova L.V., Novichkova L.A., Erokhin P.S., Boiko A.V., Kuttyrev V.V. [Studies of biofilm formation in non-pigmented and plasmid-deprived mutants of *Yersinia pestis* on biotic surfaces, *in vivo* and *in vitro* conditions]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2012; (3):45–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2012-3-45-49.
52. Sun F., Gao H., Zhang Y., Wang L., Fang N., Tan Y., Guo Z., Xia P., Zhou D., Yang R. Fur is a repressor of biofilm formation in *Yersinia pestis*. *PLoS One.* 2012; 7(12):e52392. DOI: 10.1371/journal.pone.0052392.
53. Rempe K.A., Hinz A.K., Vadyvaloo V. Hfq regulates biofilm gut blockage that facilitates flea-borne transmission of *Yersinia pestis*. *J. Bacteriol.* 2012; 194(8):2036–40. DOI: 10.1128/JB.06568-11.
54. Liu Z., Gao X., Wang H., Fang H., Yan Y., Liu L., Chen R., Zhou D., Yang R., Han Y. Plasmid pPCP1-derived sRNA HmsA promotes biofilm formation of *Yersinia pestis*. *BMC Microbiol.* 2016; 16(1):176. DOI: 10.1186/s12866-016-0793-5.
55. Ni B., Wu H.S., Xin Y.Q., Zhang Q.W., Zhang Y.Q. Reciprocal regulation between fur and two RyhB homologs in *Yersinia pestis*, and roles of RyhBs in biofilm formation. *Biomed. Environ. Sci.* 2021; 34(4):299–308. DOI: 10.3967/bes2021.039.
56. Zhang Y., Gao H., Wang L., Xiao X., Tan Y., Guo Z., Zhou D., Yang R. Molecular characterization of transcriptional regulation of *rovA* by PhoP and RovA in *Yersinia pestis*. *PLoS One.* 2011; 6(9):e25484. DOI: 10.1371/journal.pone.0025484.
57. Liu L., Fang H., Yang H., Zhang Y., Han Y., Zhou D., Yang R. CRP is an activator of *Yersinia pestis* biofilm formation that operates via a mechanism involving *gmhA* and *waaAE-coaD*. *Front. Microbiol.* 2016; 7:295. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00295.
58. Eisen R.J., Dennis D.T., Gage K.L. The role of early-phase transmission in the spread of *Yersinia pestis*. *J. Med. Entomol.* 2015; 52(6):1183–92. DOI: 10.1093/jme/tjv128.
59. Mitchell C.L., Schwarzer A.R., Miarinjara A., Jarrett C.O., Luis A.D., Hinnebusch B.J. A role for early-phase transmission in the enzootic maintenance of plague. *PLoS Pathog.* 2022; 18(12):e1010996. DOI: 10.1371/journal.ppat.1010996.
60. Eisen R.J., Wilder A.P., Bearden S.W., Monteneri J.A., Gage K.L. Early-phase transmission of *Yersinia pestis* by unblocked *Xenopsylla cheopis* (Siphonaptera: Pulicidae) is as efficient as transmission by blocked fleas. *J. Med. Entomol.* 2007; 44(4):678–82. DOI: 10.1603/0022-2585(2007)44[678:etoypb]2.0.co;2.

#### Authors:

Eroshenko G.A., Kukleva L.M. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

#### Об авторах:

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