

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-94-106

УДК 616.98:579.842.23

Л.А. Карапетян, А.Н. Балыкова, Н.С. Червякова, А.В. Федоров, Г.А. Ерошенко,
Е.Г. Абрамова, В.Г. Германчук, Е.В. Куклев, В.П. Топорков**Ретроспективная молекулярная экспертиза вспышек чумы
в Северном Приаралье в середине XX века**

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

Цель работы – ретроспективная молекулярная экспертиза вспышек чумы, произошедших на северном побережье Аральского моря в середине прошлого века, и филогенетический анализ вызвавших их штаммов *Yersinia pestis*. **Материалы и методы.** Использованы полногеномные последовательности 39 штаммов *Y. pestis* из очагов Северного Приаралья, выделенных в 1945–1974 гг. Полногеномное секвенирование выполняли в системе Ion S5 XL System (Thermo Fischer Scientific, США). Обработку данных и сборку последовательностей проводили с помощью Ion Torrent Suite software package, v5.12, FastQC v0.12.0, unicycler v0.5.0. Филогенетическую реконструкцию проводили методом полногеномного SNP-анализа, построение дендрограммы осуществляли алгоритмом Maximum Likelihood с применением программы PhyML v3.1. Молекулярное типирование штаммов осуществляли методом MLVA25. **Результаты и обсуждение.** Штаммы *Y. pestis*, выделенные в Северном Приаралье с 1945 по 1974 г., относятся к филогенетической ветви 2.MED1 средневекового биовара основного подвида. Вспышки чумы в Северном Приаралье в 1945, 1955, 1966 и 1969 гг. вызваны штаммами каспийской подветви 2.MED1, а вспышка 1967 г. – штаммами центральноазиатской подветви, последовательно достигшими этого региона из Северного Прикаспия и Прибалхашья. Показано, что источниками заражения людей были эпизоотии, протекавшие на северном побережье Аральского моря. Установлено, что в 1960-е гг. на территории Северного Приаралья одновременно циркулировали штаммы *Y. pestis* каспийской и центральноазиатской подветвей 2.MED1 средневекового биовара. Характерной особенностью вспышки чумы 1945 г. было наличие большого числа специфических для каждого штамма SNPs, возможно обусловленных процессом быстрой адаптации штаммов каспийской подветви 2.MED1 к условиям природного биоценоза Северного Приаралья. В дальнейшем скорость эволюции возникшей северо-приаральской популяции 2.MED1 значительно снизилась, что сопровождалось формированием отдельных кластеров штаммов с небольшим количеством индивидуальных SNPs.

Ключевые слова: чума, природные очаги Северного Приаралья, штаммы *Yersinia pestis*, вспышки, молекулярная экспертиза.

Корреспондирующий автор: Карапетян Левон Александрович, e-mail: rusrap1@microbe.ru.

Для цитирования: Карапетян Л.А., Балыкова А.Н., Червякова Н.С., Федоров А.В., Ерошенко Г.А., Абрамова Е.Г., Германчук В.Г., Куклев Е.В., Топорков В.П. Ретроспективная молекулярная экспертиза вспышек чумы в Северном Приаралье в середине XX века. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2024; 4:94–106. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-94-106

Поступила 21.05.2024. Принята к публ. 06.06.2024.

L.A. Karapetyan, A.N. Balykova, N.S. Chervyakova, A.V. Fedorov, G.A. Eroshenko, E.G. Abramova,
V.G. Germanchuk, E.V. Kuklev, V.P. Toporkov**Retrospective Molecular Investigation of Plague Outbreaks in the Northern Aral Sea Region
in the Mid-20th Century**

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

Abstract. The aim of the work is a retrospective molecular examination of plague outbreaks that occurred on the northern coast of the Aral Sea in the middle of the past century, and a phylogenetic analysis of the *Yersinia pestis* strains that caused them. **Materials and methods.** Whole-genome sequences of 39 *Y. pestis* strains from foci of the Northern Aral Sea region, isolated in 1945–1974, were used. Whole-genome sequencing was performed in the Ion S5 XL System (Thermo Fischer Scientific, USA). Data processing and sequence assembly were carried out using the Ion Torrent Suite software package, v5.12, FastQC v0.12.0, unicycler v0.5.0. Phylogenetic reconstruction was carried out using the whole-genome SNP analysis method, the dendrogram was constructed using the Maximum Likelihood algorithm using the PhyML v3.1 program. Molecular typing of strains was performed using the MLVA25 method. **Results and discussion.** *Y. pestis* strains isolated in the Northern Aral Sea region between 1945 and 1974 belong to the phylogenetic branch 2.MED1 of the medieval biovar of the main subspecies. Plague outbreaks in the Northern Aral Sea region in 1945, 1955, 1966, and 1969 were caused by strains of the Caspian subbranch 2.MED1, and the outbreak of 1967 – by strains of the Central Asian subbranch, which successively reached this region from the Northern Caspian and Balkhash regions. It is shown that the sources of human infection were epizootics occurring on the northern coast of the Aral Sea. It is established that in the 1960s, *Y. pestis* strains of the Caspian and Central Asian subbranches 2.MED1 medieval biovar circulated simultaneously in the Northern Aral Sea region. A characteristic feature of the plague outbreak of 1945 was the presence of a large number of SNPs specific to each strain, possibly due to the process of rapid adaptation of the Caspian subbranch 2.MED1 strains to the conditions of the natural biocenosis of the Northern Aral Sea region. Subsequently, the rate of evolution of the emerging Northern Aral population 2.MED1 significantly decreased, which was accompanied by the formation of individual clusters of strains with a small number of individual SNPs.

Key words: plague, natural foci of the Northern Aral Sea, *Yersinia pestis* strains, outbreaks, molecular investigation.

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

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

Corresponding author: Levon A. Karapetyan, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Karapetyan L.A., Balykova A.N., Chervyakova N.S., Fedorov A.V., Eroshenko G.A., Abramova E.G., Germanchuk V.G., Kuklev E.V., Toporkov V.P. Retrospective Molecular Investigation of Plague Outbreaks in the Northern Aral Sea Region in the Mid-20th Century. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 4:94–106. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-94-106

Received 21.05.2024. Accepted 06.06.2024.

Karapetyan L.A., ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-5532-1521>
Balykova A.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3766-7979>
Chervyakova N.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3133-3820>
Fedorov A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7190-4427>
Eroshenko G.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5403-989X>

Abramova E.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8798-1547>
Germanchuk V.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8986-3640>
Kuklev E.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9686-9020>
Toporkov V.P., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9512-7415>

В начале XX в. многочисленные вспышки чумы с высокими показателями летальности произошли в Северном и Северо-Западном Прикаспии [1]. Причиной появления чумы в Российской империи после долгих лет ее отсутствия с середины XIX в. стали, по-видимому, занос чумы из Персии морским путем через Каспийское море и образование устойчивых природных очагов чумы в Прикаспийской низменности. Ранее нами на основе изучения большого числа штаммов *Yersinia pestis*, полученных в период с 1912 по 1950 г., показано, что вспышки в Северном Прикаспии в начале XX в. вызваны штаммами *Y. pestis* средневекового биовара, его филогенетическими ветвями 2.MED1 и 2.MED4 [2, 3]. В дальнейшем, в первой половине XX в. штаммы 2.MED1 получили беспрецедентное распространение в Прикаспии, на Кавказе и в Центральной Азии с образованием устойчивых природных очагов, многие из которых проявляют постоянную эпизоотическую и эпидемическую активность и в XXI в. Однако в середине XX в. в связи с потеплением климата, снижением количества осадков и падением уровня Каспийского моря (ухудшение кормовой базы, снижение численности носителей чумы – грызунов и переносчиков – блох) вспышки чумы прекратились, очаги Прикаспия вступили в длительный межэпизоотический период.

В то же время, в 1945 г. впервые вспышки чумы произошли на северном побережье Аральского моря, хотя ранее чума здесь не регистрировалась и сведения о ней в этом регионе в исторических документах отсутствуют. В августе – октябре 1945 г. в Аральском районе Кызыл-Ординской области Казахстана произошла большая вспышка чумы, в ходе которой заболели 175 человек и 121 из них умер. Еще одна вспышка случилась на станции Саксаульская Кызыл-Ординской области в августе 1955 г., а другая – в г. Аральске этой же области в августе 1967 г. В 1960-е гг. в Северном Приаралье были зарегистрированы еще две вспышки чумы. Одна из них произошла в поселке Казалинск Кызыл-Ординской области в августе 1966 г., вторая – в июне 1969 г. в урочище (ур.) Костам поселка Аралсульфат, в 21 км от г. Аральска. Единичные случаи происходили в Кызыл-Ординской области летом – осенью 1959, 1990, 1991, 1999, 2001 гг., а также в соседней Актюбинской области в 1966, 1999 гг. [1]. Этиологический агент вспышек чумы в Северном Приаралье в середине прошлого века и его происхождение остаются малоисследованными.

Целью работы явились ретроспективная молекулярная экспертиза вспышек чумы, произошедших на северном побережье Аральского моря в середи-

не прошлого века, и филогенетический анализ вызвавших их штаммов *Y. pestis*. Эти данные важны для выяснения источников заражения людей чумой в Северном Приаралье, а также закономерностей распространения штаммов *Y. pestis* в этом регионе Каспийско-Аральских пустынь Центральной Азии в XX в.

Материалы и методы

В работе использованы полногеномные последовательности штаммов *Y. pestis* из очагов Северного Приаралья, сопредельных очагов чумы Прикаспия и Центральной Азии (табл. 1). Для филогенетического анализа использованы также полногеномные последовательности штаммов *Y. pestis* других филогенетических ветвей, таких как 620024 (0.PE7), Pestoides F (0.PE2), Pestoides A (0.PE4a), Antiqua (1.ANT), CO92 (1.ORI), C627 (2.MED0), 91 (2.MED2), KIM (2.MED1) из базы данных NCBI GenBank. ДНК штаммов *Y. pestis* для полногеномного секвенирования получали с использованием набора PureLink Genomic DNA Mini Kit (Thermo Fisher Scientific, США). Полногеномное секвенирование выполняли в системе Ion S5 XL System (Thermo Fischer Scientific, США) в соответствии с инструкцией производителя. Обработку данных, контроль качества и сборку последовательностей сырых ридов *de novo* проводили с помощью Ion Torrent Suite software package v5.12, FastQC v0.12.0, unicycler v0.5.0. Полученные риды собирали в контиги со средним покрытием на геном 98,56 % (50x глубина прочтения). Средний размер собранного генома составил 4,55 м.п.н. Коровые SNPs выявляли путем выравнивания контигов штаммов *Y. pestis* на геноме CO92 (номер доступа в NCBI GenBank NC_003143) с помощью программы Snippy 4.6, затем удаляли 28 гомоплазий SNPs. Полученный набор SNPs содержал только коровую область генома (1753 SNPs). Дендрограмму строили по алгоритму Maximum Likelihood с применением программы PhyML v3.1, встроенной в SeaView v5.0.5; модели GTR, подобранной в программе Jmodeltest2 с учетом AIC-критерия; использовали 500 бутстреп-реплик. Визуализацию филогенетического дерева выполняли в программе FigTree v1.4.4. Типирование штаммов проводили методом мультилокусного VNTR-анализа – MLVA25, с исключением трудно детектируемого локуса ms09 [4]. Праймеры для локусов ms46 и ms62 использовали согласно [5]. Поиск VNTR осуществляли в полногеномных последовательностях с применением авторского скрипта, принцип которого

Таблица 1 / Table 1

Штаммы *Yersinia pestis* из природных очагов Северного Приаралья и других очагов чумы
***Yersinia pestis* strains from natural foci of the Northern Aral Sea region and other plague foci**

Штамм Strain	Природный очаг (место выделения) Natural focus (site of isolation)	Источник, год выделения Source, year
1	2	3
578	Северо-Приаральский пустынный, Казахстан, Кызыл-Ординская обл., Аральский р-н, о. Куг-Арал, п. Авань North-Aral desert, Kazakhstan, Kzyl-Orda Region, Aral district, Kug-Aral Island, Avan settlement	Человек, бубонная форма, 1945 Human, bubonic form, 1945
582	Северо-Приаральский пустынный, Казахстан, Кызыл-Ординская обл., Аральский р-н, о. Куг-Арал, п. Авань North-Aral desert, Kazakhstan, Kzyl-Orda Region, Aral district, Kug-Aral Island, Avan settlement	Человек, бубонная форма, 1945 Human, bubonic form, 1945
592	Северо-Приаральский пустынный, Казахстан, Кызыл-Ординская обл., Аральский р-н, о. Куг-Арал, п. Авань North-Aral desert, Kazakhstan, Kzyl-Orda Region, Aral district, Kug-Aral Island, Avan settlement	Человек, легочно-септическая форма, 1945 Human, pulmonary-septic form 1945
609	Северо-Приаральский пустынный, Казахстан, Кызыл-Ординская обл., Аральский р-н, Ак-Басты North-Aral desert, Kazakhstan, Kzyl-Orda Region, Aral district, Ak-Basty	Человек, бубонно-легочная форма, 1945 Human, bubonic-pulmonary form, 1945
580	Северо-Приаральский пустынный, Казахстан, Кызыл-Ординская обл., Аральский р-н, о. Бигорунди North-Aral desert, Kazakhstan, Kzyl-Orda Region, Aral district, Bigorundi Island	Человек, первично-легочная форма, 1945 Human, primary pulmonary form, 1945
600	Северо-Приаральский пустынный, Казахстан, Кызыл-Ординская обл., Аральский р-н, о. Куг-Арал, п. Авань North-Aral desert, Kazakhstan, Kzyl-Orda Region, Aral district, Kug-Aral Island, Avan settlement	Человек, бубонная форма, 1945 Human, bubonic form, 1945
602	Северо-Приаральский пустынный, Казахстан, Кызыл-Ординская обл., Аральский р-н, о. Куг-Арал, п. Авань North-Aral desert, Kazakhstan, Kzyl-Orda Region, Aral district, Kug-Aral Island, Avan settlement	Человек, бубонная форма, 1945 Human, bubonic form, 1945
605	Северо-Приаральский пустынный, Казахстан, Кызыл-Ординская обл., Аральский р-н, о. Куг-Арал, п. Авань North-Aral desert, Kazakhstan, Kzyl-Orda Region, Aral district, Kug-Aral Island, Avan settlement	Человек, первично-легочная форма, 1945 Human, primary pulmonary form, 1945
621	Северо-Приаральский пустынный, Казахстан, Кызыл-Ординская обл., Аральский р-н, побережье Аральского моря North-Aral desert, Kazakhstan, Kzyl-Orda Region, Aral district, the coast of the Aral Sea	<i>Captopsylla</i> , 1945
617	Северо-Приаральский пустынный, Казахстан, Кызыл-Ординская обл., Аральский р-н, Гемушкуль North-Aral desert, Kazakhstan, Kzyl-Orda Region, Aral district, Gemushkul	<i>Pallasiomys meridianus</i> , 1945
928	Северо-Приаральский пустынный, Казахстан, Оренбургская ж.д., разъезд 88 North-Aral desert, Kazakhstan, Orenburg railroad, passing loop 88	Человек, бубонная форма, 1955 Human, bubonic form, 1955
927	Северо-Приаральский пустынный, Казахстан, Оренбургская ж.д., станция Саксаульская North-Aral desert, Kazakhstan, Orenburg railroad, Saksaulskaya station	Человек, бубонно-септическая форма, 1955 Human, bubonic-septic form, 1955
929	Северо-Приаральский пустынный, Казахстан, ур. Жаир-Там North-Aral desert, Kazakhstan, Zhair-Tam area	<i>Rhombomys opimus</i> , 1955
247	Северо-Приаральский пустынный, Казахстан, г. Аральск North-Aral desert, Kazakhstan, Aralsk	<i>Camelus species</i> , 1967
241	Северо-Приаральский пустынный, Казахстан, г. Аральск North-Aral desert, Kazakhstan, Aralsk	Человек, 1967 Human, 1967
242	Северо-Приаральский пустынный, Казахстан, г. Аральск North-Aral desert, Kazakhstan, Aralsk	Человек, 1967 Human, 1967
244	Северо-Приаральский пустынный, Казахстан, г. Аральск North-Aral desert, Kazakhstan, Aralsk	Человек, 1967 Human, 1967
246	Северо-Приаральский пустынный, Казахстан, г. Аральск North-Aral desert, Kazakhstan, Aralsk	Человек, 1967 Human, 1967
M-2301	Северо-Приаральский пустынный, Казахстан, Кызыл-Ординская обл., Аральский р-н, г. Аральск North-Aral desert, Kazakhstan, Kzyl-Orda Region, Aral district, Aralsk	Человек, 1969 Human, 1969
M-2294	Северо-Приаральский пустынный, Казахстан, Кызыл-Ординская обл., Аральский р-н North-Aral desert, Kazakhstan, Kzyl-Orda Region, Aral district	1955
615	Приаральско-Каракумский пустынный, Казахстан, Кызыл-Ординская обл., Ак-Басты Aral-Karakum desert, Kazakhstan, Kzyl-Orda Region, Ak-Basty	<i>Rhombomys opimus</i> , 1945

Продолжение табл. 1 / Continuation of the table 1

1	2	3
930	Приаральско-Каракумский пустынный, Казахстан, станция Бай-Хожа Aral-Karakum desert, Kazakhstan, Bai-Khozha station	<i>Plassiomys meridianus</i> , 1955
932	Приаральско-Каракумский пустынный, Казахстан, гора Хан Турт-Куль Aral-Karakum desert, Kazakhstan, Khan Turt-Kul mountain	<i>Xenopsylla skrjabini</i> , 1955
4635	Приаральско-Каракумский пустынный, Казахстан, 38 км с.-в. г. Аральска, расщелина Арапкют Aral-Karakum desert, Kazakhstan, 38 km to the north-east of Aral'sk, Arapkut cleft	<i>Rhombomys opimus</i> , 1959
550	Приаральско-Каракумский пустынный, Казахстан, ур. Биртомор, уч. № 4 (99 км севернее Казалинска, аз. 38°30') Aral-Karakum desert, Kazakhstan, Birtomor area, site No. 4 (99 km northward of Kazalinsk, az. 38°30')	<i>Rhombomys opimus</i> , 1966
6661	Приаральско-Каракумский пустынный, Казахстан, окр. могильника Кульжан (в 78 км ю.-ю.-в. г. Аральска) Aral-Karakum desert, Kazakhstan, vicinity of Kulzhan (78 km to the south-south-east of Aral'sk)	<i>Spermophilus pygmaeus</i> , 1966
1065	Приаральско-Каракумский пустынный, Казахстан, Казалинский р-н, ур. Жаманбай (130 км ю.-з. Аральска, аз. 194°) Aral-Karakum desert, Kazakhstan, Kazalinskiy district, Zhamanbai area (130 km to the south-west of Aral'sk, az. 194°)	<i>Rhombomys opimus</i> , 1966
1252	Приаральско-Каракумский пустынный Казахстан, Аральский р-н, ю.-з. побережье оз. Чуншкуль Aral-Karakum desert Kazakhstan, Aral district, south-west coast of Lake Chunshkul	<i>Spermophilus fulvus</i> , 1965
A-1763	Приаральско-Каракумский пустынный, Казахстан, Приаральско-Каракумский мезоочаг Aral-Karakum desert, Kazakhstan, Aral-Karakum meso-focus	<i>Rhombomys opimus</i> , 1974
A-1764	Приаральско-Каракумский пустынный, Казахстан, Приаральско-Каракумский мезоочаг Aral-Karakum desert, Kazakhstan, Aral-Karakum meso-focus	<i>Xenopsylla skrjabini</i> , 1973
КМ 938	Приаральско-Каракумский пустынный, Каракалпакская АССР Aral-Karakum desert, Kara-Kalpak ASSR	Человек, 1966 Human, 1966
M-2300	Приаральско-Каракумский пустынный, Казахстан, Кзыл-Ординская обл., Казалинский р-н, п. Айтеке-Би (Новоказалинск) Aral-Karakum desert, Kazakhstan, Kzyl-Orda Region, Kazalinsk district, Aiteke-Bi (Novokazalinsk) settlement	<i>Rhombomys opimus</i> , 1969
M-2306	Приаральско-Каракумский пустынный, Казахстан, Кзыл-Ординская обл., Казалинский р-н, п. Айтеке-Би (Новоказалинск) Aral-Karakum desert, Kazakhstan, Kyzylorda region, Kazalinsk district, Aiteke-Bi (Novokazalinsk) settlement	<i>Rhombomys opimus</i> , 1969
M-2307	Приаральско-Каракумский пустынный, Казахстан, Кзыл-Ординская обл., Казалинский р-н, п. Айтеке-Би (Новоказалинск) Aral-Karakum desert, Kazakhstan, Kzyl-Orda Region, Kazalinsk district, Aiteke-Bi (Novokazalinsk) settlement	Грызун (вид не определен), 1969 Rodent (species not determined), 1969
M-2280	Приаральско-Каракумский пустынный, Казахстан, Кзыл-Ординская обл., Аральский р-н, г. Аральск Aral-Karakum desert, Kazakhstan, Kzyl-Orda Region, Aral'sk district, Aral'sk city	<i>Rhombomys opimus</i> , 1966
M-2281	Приаральско-Каракумский пустынный, Казахстан, Кзыл-Ординская обл., Аральский р-н, г. Аральск Aral-Karakum desert, Kazakhstan, Kzyl-Orda Region, Aral'sk district, Aral'sk city	<i>Xenopsylla skrjabini</i> , 1969
M-2285	Приаральско-Каракумский пустынный, Казахстан, Кзыл-Ординская обл., Казалинский р-н, п. Айтеке-Би (Новоказалинск) Aral-Karakum desert, Kazakhstan, Kzyl-Orda Region, Kazalinsk district, Aiteke-Bi (Novokazalinsk) settlement	<i>Rhombomys opimus</i> , 1969
M-2286	Приаральско-Каракумский пустынный, Казахстан, Кзыл-Ординская обл., Казалинский р-н, п. Айтеке-Би (Новоказалинск) Aral-Karakum desert, Kazakhstan, Kzyl-Orda Region, Kazalinsk district, Aiteke-Bi (Novokazalinsk) settlement	<i>Rhombomys opimus</i> , 1969
M-2287	Приаральско-Каракумский пустынный, Казахстан, Кзыл-Ординская обл., Казалинский р-н, п. Айтеке-Би (Новоказалинск) Aral-Karakum desert, Kazakhstan, Kzyl-Orda Region, Kazalinsk district, Aiteke-Bi (Novokazalinsk) settlement	<i>Rhombomys opimus</i> , 1969
505	Прибалхашский пустынный, Казахская ССР, Алма-Атинская обл., Джаркентский р-н, совхоз Айдарлы Balkhash desert, Kazakh SSR, Alma-Ata Region, DzharKent district, state farm Aidarly	<i>Rhombomys opimus</i> , 1939
40	Прибалхашский пустынный, Киргизская ССР, Талды-Курганское ПЧО, Косчинграуский эпидотряд Balkhash desert, Kyrgyz SSR, Taldy-Kurgan plague control department, Koschingrausk sanitary-epidemiological squad	<i>Rhombomys opimus</i> , 1961

Окончание табл. 1 / Ending of the table 1

1	2	3
19	Кызылкумский пустынный, Туркестан, ур. Ак Камыш Kyzylkum desert, Turkestan, Ak Kamysh area	Человек легочная форма, 1924 Human, pulmonary form, 1924
1001	Мойынкумский пустынный, Казахская ССР, Джамбульская обл., 32 км с.-з. от Хан-Тая Moiynkum desert, Kazakh SSR, Dzhambul Region, 32 km to the north-west of Khan-Tau	<i>Meriones erythrourus</i> , 1965
M-2352	Мойынкумский пустынный, Казахская ССР, Джамбульская обл., Мойынкумский р-н, Зачуйская саксауловая дача в 50 км к западу от ж/д ст. Сары-Булак Moiynkum desert, Kazakh SSR, Dzhambul Region, Moiynkum district, Zachuysk saksaul, 50 km westward of Sary-Bulak railway station	Блохи (вид не определен), 1966 Fleas (species not identified), 1966
9	Прикаспийский Северо-Западный степной, Ростовская обл., Заветнинский р-н, с. Качкино Caspian North-Western steppe, Rostov Region, Zavetninsky district, Kachkino village	Человек, 1923 Human, 1923
174	Волго-Уральский песчаный, Казахстан, Джанчаминский р-н, Черкеш-Чагыл Volga-Ural sandy, Kazakhstan, Dzhaichaminsky district, Cherkesh-Chagyl	Человек, легочная форма, 1932 Human, pulmonary form, 1932
626	Волго-Уральский песчаный, Западный Казахстан, Гурьевская обл., Забуруинский сельсовет, колхоз Амангельды Volga-Ural sandy, Western Kazakhstan, Guryev Region, Zaburuinsky rural council, Amangeldy farm	Человек, 1945 Human, 1945
106	Волго-Уральский песчаный, левый берег р. Волги Уральской губернии, Джангалинский р-н, ур. Кундерген Volga-Ural sandy, left bank of the Volga river, Ural province, Dzhan-Galinsky district, Kundergen area	<i>Pallasiomys meridianus</i> , 1928
261	Кобыстанский равнинно-предгорный, Азербайджанская ССР Kobystan plain-piedmont, Azerbaijan SSR	<i>Meriones erythrourus</i> , 1955

основан на поиске фланкирующих VNTR-локусов последовательностей с дальнейшим сохранением в multi-FASTA-файлах. Подсчет количества тандемных повторов проводили в программе TRF [6]. Тепловую карту VNTR-повторов в геномах штаммов *Y. pestis* из очагов Северного Приаралья визуализировали с помощью языка программирования python 3.10 с использованием библиотеки Seaborn v0.13.2.

Результаты и обсуждение

В Северном Приаралье расположено два природных пустынных очага чумы: Северо-Приаральский (№ 21) и Приаральско-Каракумский (№ 24), – открытых в 1945 г. Основным носителем чумы в них является большая песчанка, а переносчиками – ее блохи [7]. В данной работе нами проведен филогенетический анализ 39 штаммов *Y. pestis* из Северного Приаралья, включая 20 штаммов из Северо-Приаральского (1945–1969 гг.) и 19 штаммов из Приаральско-Каракумского (1945–1973 гг.) пустынных очагов. Для установления родственных связей северо-приаральских штаммов в филогенетическом анализе использованы штаммы *Y. pestis* из очагов чумы Прикаспия и Центральной Азии: 1 штамм из Прикаспийского Северо-Западного (1923 г.), 3 штамма из Волго-Уральского песчаного (1928, 1932, 1945 гг.), 1 штамм из Кобыстанского (1955 г.), 2 штамма из Прибалхашского (1939, 1961 гг.) и 2 штамма из Мойынкумского (1965, 1966 гг.) очагов (табл. 1). Для построения дендрограммы использованы также полногеномные последовательности штаммов *Y. pestis* других филогенетических ветвей из базы данных NCBI GenBank (0.PE7: 620024, ADPU000000000; 0.PE2: Pestoides F, NC_009381; 0.PE4a: Pestoides_A, NZ_ACNT000000000; 1.ANT:

Antiqua, NC_008150; 1.ORI1: CO92, NC_003143; 2.MED2: 91, ADPU000000000; 2.MED1: KIM10, AE009952.1) и штамма *Y. pestis* 4 филогенетической ветви 2.MED4, секвенированного нами (рис. 1).

Филогенетический анализ показал, что все 39 штаммов из двух очагов Северного Приаралья принадлежат к ветви 2.MED1 средневекового биоценоза основного подвида возбудителя чумы, однако относятся к разным подветвям этой ветви: каспийской и центральноазиатской, – распространение которых в Прикаспии и Центральной Азии в XX в. происходило разными путями. На основе полученных данных по филогенетическому родству взятых в исследование штаммов *Y. pestis* проведена ретроспективная молекулярная экспертиза вспышек чумы, произошедших в Северном Приаралье в середине XX в.

Ретроспективная молекулярная экспертиза Аваньской вспышки чумы в Аральском районе Кызыл-Ординской области Казахстана в 1945 г. В августе – октябре 1945 г. в Северо-Приаральском очаге чумы на территории Кызыл-Ординской области Казахстана в п. Ак-Басты, Авань и Ак-Кудук Аральского района произошла большая вспышка чумы (175 заболевших, 121 умерший) (рис. 1). Отличительной особенностью этой вспышки был «...необычайно большой процент септических форм заболевания (33 человека), которые обычно встречаются чрезвычайно редко... Смертность до госпитализации составляла 83,5 %» [8]. По эпидемиологическому заключению работавшего на вспышке противочумного отряда, первичным источником заражения стали больной верблюд, в прирезке которого участвовало несколько семей, и употребление в пищу зараженного мяса в п. Ак-Басты с последующим распространением чумы от больных людей с помощью зараженных человеческих блох *Pulex irri-*

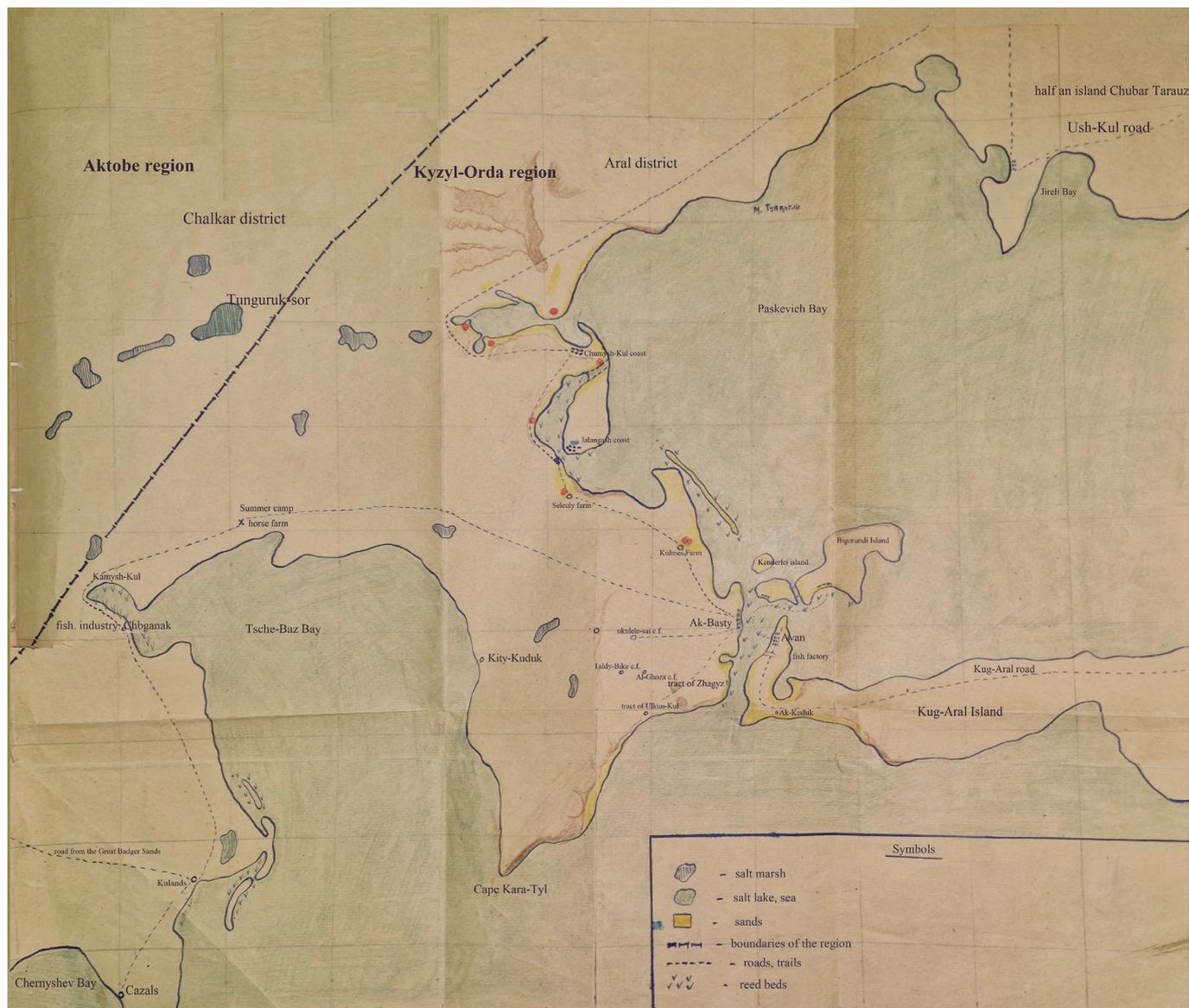


Рис. 1. Карта территории, охваченной вспышкой чумы в августе – октябре 1945 г. на северном побережье Аральского моря в п. Ак-Басты, Авань, Ак-Кудук и на о. Бюуркунды Аральского района Кзыл-Ординской области Казахстана, из архивного отчета противочумного отряда, участвовавшего в ликвидации этой вспышки [8]

Fig. 1. Map of the territory covered by the plague outbreak in August-October, 1945 on the northern coast of the Aral Sea in Ak-Basty, Avan, Ak-Kuduk settlements and on Byuurkunduy Island, Aralask District, Kzyl-Orda Province, Kazakhstan, from the archival report of the anti-plague unit that participated in the elimination of that outbreak [8]

tans в п. Авань и Ак-Кудук, на о. Бюуркунды (рис. 1). Ярким свидетельством участия блох, по мнению специалистов, служат «...10–15–20-дневные разрывы между отдельными, но несомненно связанными между собой заболеваниями» [8]. В архивном отчете сообщается, что «этот факт заражения людей от верблюда хотя и не подтвержден медработниками бактериологически, но все же не может быть исключен как источник заражения группы людей». Заражение верблюда произошло в окрестностях п. Ак-Басты, где в это время протекали интенсивные эпизоотии чумы на больших песчанках *Rhombomys opimus* с обилием блох на них. Зараженность блохами больших песчанок была высокой [1, 8, 9].

В нашем распоряжении было 11 штаммов *Y. pestis*, выделенных от больных людей и от но-

сителей на разных участках охваченной вспышкой территории в 1945 г. В том числе 8 штаммов получено от людей (п. Ак-Басты, 1 штамм [609]; п. Авань, 6 штаммов [578, 582, 592, 600, 602, 605] и о. Бюуркунды, 1 штамм [580]). Кроме них два штамма получены от носителей и переносчиков: 1 штамм (617) от полуденной песчанки *Pallasiomys meridianus*, 1 штамм (621) от блох *Captopsylla* большой песчанки. Еще один штамм (615) выделен в 1945 г. на сопредельной территории Приаральско-Каракумского очага от большой песчанки. Все клинические штаммы получены во второй половине Аваньской вспышки, с 29 сентября по 28 октября 1945 г., в то время как прирезка верблюда произошла 2 августа. Штаммов *Y. pestis* от верблюда и заразившихся непосредственно от него людей не по-

лучено, поскольку противочумный отряд прибыл позже. Штаммы 621 и 617 от большой песчанки изолированы чуть позже клинических штаммов – 20 и 27 ноября 1945 г., а штамм 615 получен в начале декабря 1945 г.

Филогенетический анализ показал, что все выделенные в 1945 г. в Северном Приаралье штаммы *Y. pestis* относятся к филогенетической ветви 2.MED1 средневекового биовара и происходят от ее каспийской подветви (рис. 2). Ветвь с северо-приаральскими штаммами ведет свое происхождение непосредственно от каспийской подветви, и их разделяют две мутации единичных нуклеотидов SNPs в генах YPO_RS04355 (замена C>T в позиции 105 последовательности гена) и YPO_RS13470 (C>T в позиции 1012 гена со сменой аминокислоты в кодируемом белке Arg>Cys) (рис. 2, филогенетический узел MN3, табл. 2). На дендрограмме штаммам из Северного Приаралья 1945 г. предшествуют преимущественно штаммы 1923–1945 гг. из Северного Прикаспия. Это свидетельствует в пользу того, что штаммы 2.MED1 достигли Северного Приаралья в 1945 г. из этих очагов, что согласуется с ранее полученными данными [2].

Все 8 штаммов (578, 580, 582, 592, 600, 602, 605, 609), полученных от людей во время Аваньской вспышки в 1945 г., отходят непосредственно от ствола вновь образовавшейся северо-приаральской подветви (рис. 2). При проведении полногеномного выравнивания установлено наличие общей SNP для этих штаммов с координатой 2495569 по геному референсного штамма CO92 (NC_003143): C>T в позиции 224 гена гипотетического белка YPO_RS12105, вызвавшей замену Ala>Val в позиции 75 аминокислотной последовательности белка.

Для каждого штамма из вспышки 1945 г. характерно наличие большого количества индивидуальных SNPs, инсерций и делеций, отсутствующих у других штаммов *Y. pestis* из Северного Приаралья:
Y. pestis 580: инсерции – 50, SNPs – 8, делеции – 8;
Y. pestis 605: инсерции – 14, SNPs – 105, делеции – 74;
Y. pestis 600: инсерции – 70, SNPs – 7, делеции – 25;
Y. pestis 592: инсерции – 1, SNPs – 8, делеции – 1;
Y. pestis 578: инсерции – 5, SNPs – 7, делеции – 44;
Y. pestis 609: инсерции – 2, SNPs – 4, делеции – 2;
Y. pestis 602: инсерции – 30, SNPs – 177, делеции – 40;
Y. pestis 582: инсерции – 0, SNPs – 17, делеции – 3;
Y. pestis 615: инсерции – 3, SNPs – 17, делеции – 19.

Делеции и инсерции у этих штаммов в большинстве случаев состояли из 1–2 нуклеотидов.

Как следует из дендрограммы, клинические штаммы *Y. pestis* периода вспышки 1945 г. не имеют между собой тесного родства, не ведут своего происхождения друг от друга и между ними не наблюдается преемственности. Из этого следует, что заражение людей происходило не в результате последовательного переноса штаммов от человека к человеку с помощью блох. Наиболее вероятен путь независимого заражения людей блохами от грызунов в полевых

условиях, поскольку в это время в окрестностях поселков протекали интенсивные эпизоотии на больших песчанках, на которых отмечалось большое количество блох. Эта версия поддерживается тем фактом, что параллельно с клиническими штаммами от ствола образовавшейся северо-приаральской подветви отходит штамм, полученный в этом регионе от большой песчанки (штамм 615). Кроме того, в пользу этой версии свидетельствует и высокий процент септической чумы у заболевших, что может объясняться большим числом укусов блох и заражением больных из полевых источников.

Маловероятен вариант, что все полученные от людей в период Аваньской вспышки 1945 г. штаммы *Y. pestis* были производными одного природного штамма, вызвавшего гибель верблюда и заражение участвующих в его разделке людей с последующим распространением инфекции с помощью блох. В этом случае на дендрограмме вспышечные штаммы должны были образовать кластер родственных изолятов. По-видимому, структура вспышки в п. Авань в 1945 г. более сложная. Возможно, что часть заболеваний в начале вспышки была вызвана одним штаммом, от которого погиб верблюд и заразились люди. Эти штаммы на дендрограмме не представлены. Однако это лишь часть заболеваний. Данные филогенетического анализа свидетельствуют в пользу того, что от людей в период второй половины вспышки выделялись не родственные друг другу штаммы, что говорит о независимом заражении людей из полевых источников. В отчете по Аваньской вспышке сообщается: «Не исключена возможность наличия отдельных случаев заражения от блох грызунов. Однако прямые доказательства этого отсутствуют» [8]. Данные генетического анализа свидетельствуют о том, что это были не единичные, а множественные случаи заражения чумой людей.

Также нами проведен анализ штаммов *Y. pestis* из Аваньской вспышки 1945 г. с помощью мультилокусного анализа варибельного числа tandemных повторов MLVA25 (рис. 3). Все клинические штаммы и штамм 615 от песчанки имели идентичный MLVA25 профиль, за исключением штамма 609, у которого в локусе ms46 присутствовало 13 повторов, в то время как у всех других штаммов этой группы их было 14. Еще у одного клинического штамма – 578 – в другом локусе ms62 содержалось 15 повторов, в то время как у всех других штаммов было 14. По остальным 22 локусам VNTR все штаммы идентичны (рис. 3). Еще два штамма – 617 (полуденная песчанка) и 621 (блохи *Captosylla*) из Северо-Приаральского очага – отличались от штаммов 1945 г. по локусу ms62 и имели в нем 4 повтора, в то время как другие штаммы 1945 г. несли 14 повторов.

Таким образом, штаммы, выделенные во время Аваньской вспышки 1945 г., имели практически идентичные MLVA25-профили. Это свидетельствует о том, что эти штаммы прошли адаптацию к Северо-Приаральскому региону, поскольку известна взаимо-

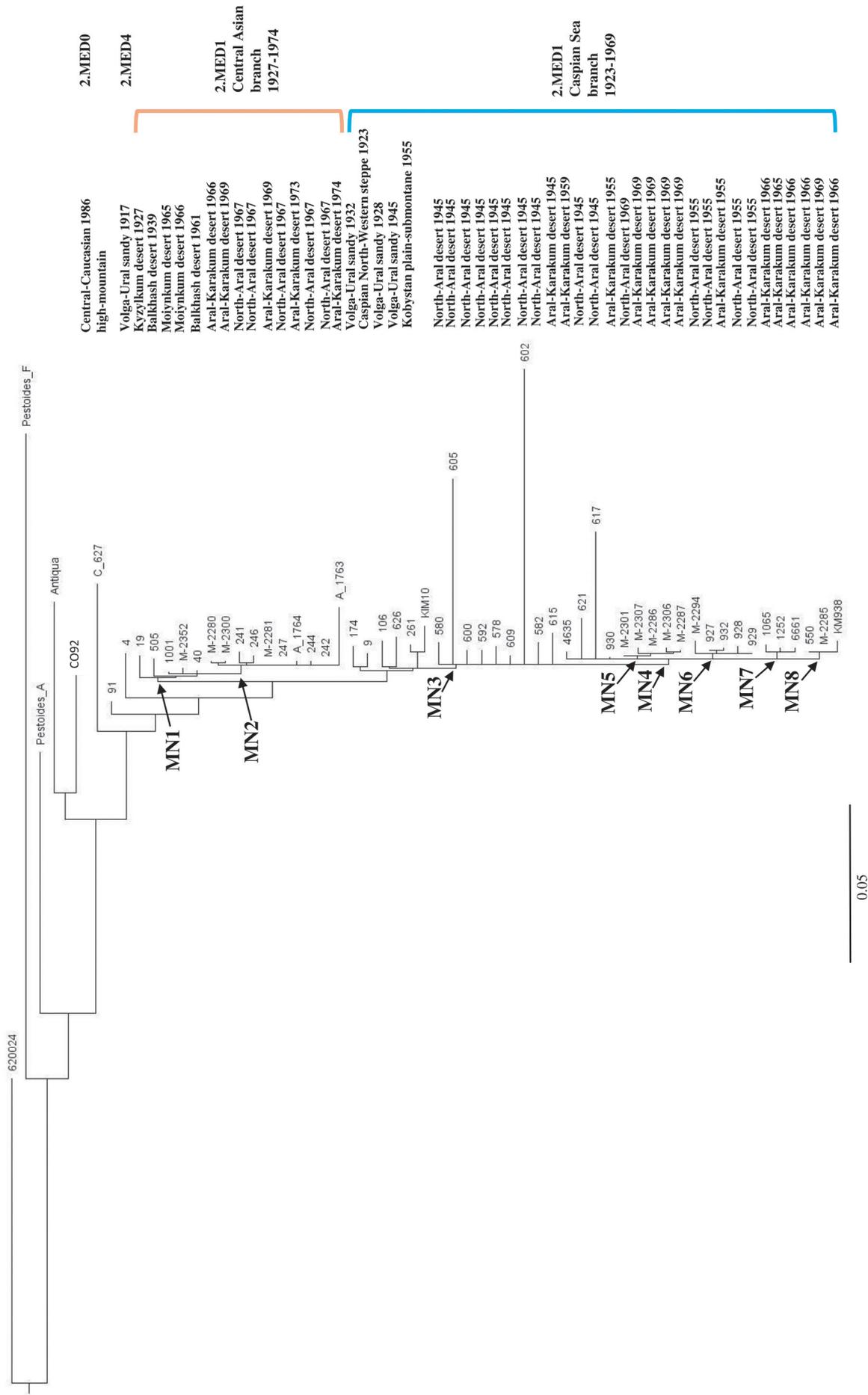


Рис. 2. Дендрогрaмa филогенетического родства штаммов *Y. pestis*, вызвавших вспышки чумы в Северном Приаралье в середине XX в. по данным полногеномного SNP-анализа на основе выявленных 1753 SNPs в коровом геноме. Алгоритм Maximum Likelihood с применением программы PhyML v3.1, встроенной в SeaView v5.0.5, модели GTR, 500 бутстреп-реплик. Визуализацию филогенетического дерева выполняли в программе FigTree v1.4.4

Fig. 2. Dendrogram of phylogenetic relations of *Y. pestis* strains that caused outbreaks of plague in the Northern Aral Sea region in mid-20th century, according to the whole-genome SNP analysis based on the identified 1753 SNPs in the core genome. Maximum Likelihood algorithm and PhyML v3.1 program embedded in SeaView v5.0.5, GTR model, 500 bootstrap replicates. The phylogenetic tree was visualized in FigTree v1.4.4 software

Таблица 2 / Table 2

SNPs, маркерные для филогенетических узлов дендрограммы (рис. 2) штаммов *Y. pestis* из очагов чумы Северного Приаралья
SNPs, marker ones for phylogenetic nodes of the dendrogram (Fig. 2) of *Y. pestis* strains from the plague foci in the Northern Aral Sea region

Узел, штаммы <i>Y. pestis</i> Node, <i>Y. pestis</i> strains	Нуклеотидная замена Nucleotide substitution	Позиция нуклеотида в геноме CO92 (NC_003143) Nucleotide position in the CO92 genome (NC_003143)	ID гена Gene ID	Продукт Product
1	2	3	4	5
MN1 Central Asia	T → C	3399782	Межгенный / Intergenic: <i>acrD</i> – YPO_RS16195	Отсутствует Not available
	stop_gained c.593G>A ² p.Trp198 ^{3*}	3437042	<i>tesA</i>	Многофункциональная ацил-КоА-тиоэстераза I/протеаза I/лизофосфолипаза L1 Multifunctional acyl-CoA thioesterase I/protease I/lysophospholipase L1
MN2 M-2280, M2281, M-2300, 241, 246, 244, 247, A1763, A1764	missense_variant c.3460G>A p.Val1154Ile	1812955	<i>rne</i>	Рибонуклеаза E Ribonuclease E
	A → T	2429318	Межгенный / Intergenic: YPO_RS11780 – <i>pncA</i>	Отсутствует Not available
	missense_variant c.149G>T p.Arg50Met	2930750	<i>lptE</i>	Липопротеин, собирающий ЛПС, LptE LPS assembly lipoprotein LptE
	C → T	3217929	Межгенный / Intergenic: <i>pilW</i> – YPO_RS15375	Отсутствует Not available
	missense_variant c.52G>A p.Gly18Arg	3436501	<i>tesA</i>	Многофункциональная ацил-КоА-тиоэстераза I/протеаза I/лизофосфолипаза L1 Multifunctional acyl-CoA thioesterase I/protease I/lysophospholipase L1
MN3 Вместе с Приаральской политомией Together with the Aral polytomy	synonymous_variant c.105C>T p.Phe35Phe	739446	YPO_RS04355	Гипотетический белок Hypothetical protein
	missense_variant c.1012C>T p.Arg338Cys	2803151	YPO_RS13470	Транспортер семейства BCCT BCCT family transporter
MN4	synonymous_variant c.121C>T p.Leu41Leu	2445173	<i>rssB</i>	Регулятор срабатывания двухкомпонентной системы RssB Two-component system response regulator RssB
	missense_variant c.691C>T p.Arg231Cys	2911550	YPO_RS13900	Белок, содержащий трансмембранный домен транспортера ABC ABC transporter transmembrane domain-containing protein
	missense_variant c.76G>T p.Ala25Ser	512181	<i>carA</i>	Малая субъединица карбамоилфосфатсинтазы, гидролизующая глутамин Glutamine-hydrolyzing carbamoyl-phosphate synthase small subunit
MN5 M-2301, M-2307, M-2286 M-2306, M- 2287	synonymous_variant c.603A>G p.Lys201Lys	2507711	<i>fsa</i>	Фруктозо-6-фосфатальдолаза Fructose-6-phosphate aldolase
	synonymous_variant c.615C>T p.Phe205Phe	3565057	<i>brnQ</i>	Белок-носитель II системы транспорта аминокислот с разветвленной цепью Branched-chain amino acid transport system II carrier protein
MN5 Без M-2301 Without M-2301	synonymous_variant c.1242G>A p.Thr414Thr	1848978	<i>mfd</i>	Фактор связи репарации транскрипции Transcription-repair coupling factor
MN6 M-2294, 927, 932, 928, 929	G → A	2708103	Межгенный / Intergenic: <i>rprA-ppsA</i>	Отсутствует Not available
	missense_variant c.133A>G p.Asn45Asp	4104429	YPO_RS22320	Гипотетический белок Hypothetical protein

Окончание табл. 2 / Ending of table 2

1	2	3	4	5
MN7 1252, 1065, 6661	missense_variant c.163G>T p.Val55Phe	584179	<i>ilvI</i>	Большая субъединица ацетолактатсинтазы 3 Acetolactate synthase 3 large subunit
	missense_variant c.869C>T p.Ala290Val	1459945	<i>fruA</i>	Субъединица переносчика фруктозы PTS ИIBC PTS fructose transporter subunit ИIBC
	missense_variant c.5C>T p.Ala2Val	2936507	YPO_RS14030	Аминокислота ABC транспортер пермеаза Amino acid ABC transporter permease
	synonymous_variant c.171C>T p.Ala57Ala	4333237	<i>rffA</i>	dTDP-4-амино-4,6-дидезоксигалактозотрансминаза dTDP-4-amino-4,6-dideoxygalactose transaminase
MN8 550, M-2285, KM938	stop_gained c.1214T>A p.Leu405*	1062044	<i>speF</i>	Орнитиндекарбоксилаза SpeF Ornithine decarboxylase SpeF
	stop_gained c.429T>A p.Tyr143*	1481904	YPO_RS07565	Субстрат-связывающий белок-транспортер ABC семейства MetQ/NlpA MetQ/NlpA family ABC transporter substrate-binding protein
	synonymous_variant c.162A>C p.Ile54Ile	2329406	YPO_RS11255	Семейство MAPEG белков MAPEG family protein
	synonymous_variant c.402G>T p.Ala134Ala	3178310	YPO_RS15200	ABC-транспортер АТФ-связывающий белок ABC transporter ATP-binding protein

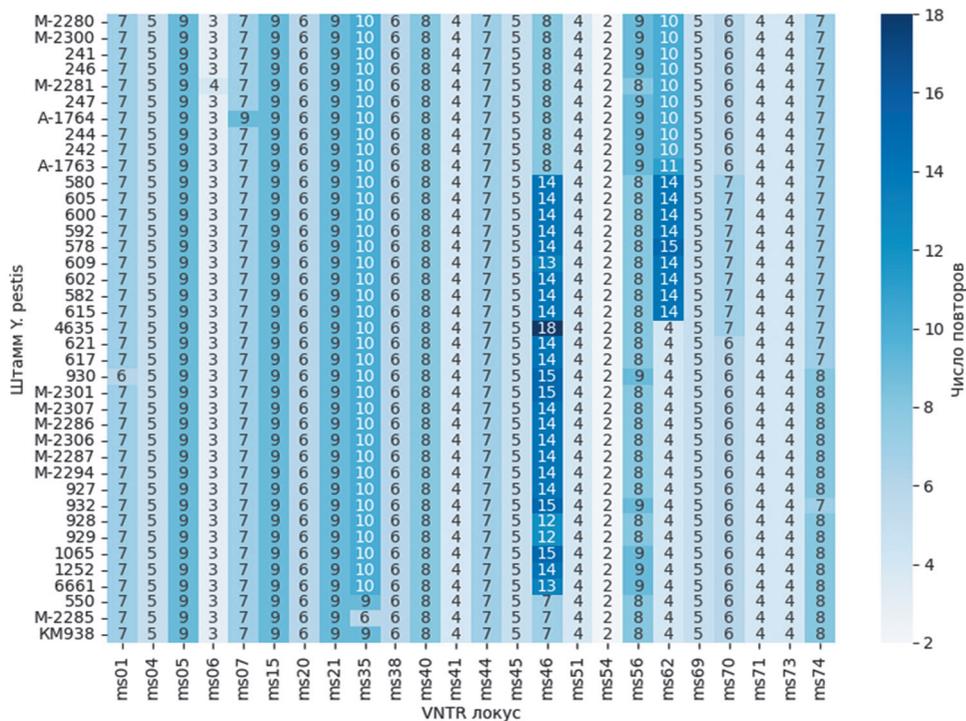


Рис. 3. Тепловая карта VNTR-повторов в геномах штаммов *Y. pestis* из очагов Северного Приаралья (python 3.10 с использованием библиотеки Seaborn 0.13.2)

Fig. 3. Heat map of VNTR repeats in the genomes of *Y. pestis* strains from the Northern Aral Sea region (python 3.10 using the Seaborn 0.13.2 library)

связь между MLVA-генотипами и географическими регионами. В то же время остаются не выясненными причины такого большого количества SNPs, индивидуальных для каждого клинического и эпизоотического штамма *Y. pestis* в период вспышки 1945 г. Практически все штаммы этого года из Северного Приаралья имели в геноме большое число специфических для каждого штамма SNPs. Одной из возможных причин этого явления может быть ускоренная эволюция штаммов, вызванная приходом штаммов из Северного Прикаспия на новые территории с другими ландшафтно-экологическими условиями.

Как видно из дендрограммы, в дальнейшем от сформировавшейся северо-приаральской подветви

образовалась новая политомия 2.MED1, которая отличается от исходной северо-приаральской подветви 3 SNPs-мутациями (рис. 2, MN4, табл. 2). Мутации единичных нуклеотидов содержатся в генах *rssB* (C>T, в позиции 121), YPO_RS13900 (C>T, 691, с заменой Arg>Cys в белке), *carA* (G>T, 76, Ala>Ser). Эта политомия возникла в Северном Приаралье также в 1945 г., поскольку на ней расположены вышеописанные по MLVA25-профилю два штамма – 617 и 621. Отличительной особенностью этих двух природных штаммов было также значительное число индивидуальных SNPs.

Образовавшиеся в результате проникновения в 1945 г. в Северное Приаралье штаммы 2.MED1 за-

крепились здесь на фоне благоприятных климатических условий с формированием стабильных природных очагов. После прохождения периода адаптации скорость эволюции северо-приаральской популяции замедлилась, у штаммов 1955–1974 гг. в геноме присутствует значительно меньшее количество SNPs по сравнению со штаммами 1945 г. Об укоренении и адаптации образовавшейся популяции свидетельствует формирование на стволе возникшего клона отдельных кластеров родственных штаммов, с незначительной диверсификацией внутри этих кластеров (рис. 2). В дальнейшем штаммы этих кластеров послужили причинами вспышек в Кызыл-Ордынской области в 1955, 1966 и 1969 гг.

Молекулярная экспертиза вспышки чумы, произошедшей в Аральском районе Кызыл-Ордынской области Казахстана в 1955 г. Вспышка произошла с 1 по 21 августа 1955 г., заболели 11 человек, из которых 4 умерли. При этом в г. Аральске было два случая заболевания, один из которых закончился смертью. На разъезде 88 Оренбургской железной дороги – два случая, оба из которых закончились смертью. На станции Саксаульская – 7 заболевших с двумя смертями. Появлению заболевших предшествовало заболевание и прирезка трех верблюдов на разъезде 88. Специалистами Среднеазиатского противочумного института, участвовавшими в ликвидации вспышки, сделано эпидемиологическое заключение о том, что вспышка бубонной чумы в Аральском районе в августе 1955 г. носила ярко выраженный характер «верблюжьей чумы» [10]. Заражение чумой верблюдов произошло на эпизоотической территории в окрестностях разъезда 88. От верблюдов культуры *Y. pestis* выделить не удалось. В 7 из 9 несомненных заболеваний установлена бубонная чума, в 6 случаях бубоны были локализованы в левой подмышечной впадине, что характерно для заболевших чумой, участвовавших в разделке зараженного мяса. Нами изучено шесть штаммов *Y. pestis*, полученных в 1955 г. в Северном Приаралье. Четыре штамма происходили из Северо-Приаральского очага, в том числе два штамма *Y. pestis* – 927 (24.08.1955) и 928 (22.08.1955) – получены во время вспышки от человека, один штамм (929) – от носителя – большой песчанки *R. opimus* и один штамм (M-2294, P-1901) был из неизвестного источника. Также в выборке 1955 г. присутствовали два штамма из Приаральско-Каракумского пустынного очага, выделенные от полуденной песчанки *P. meridianus* (930) и переносчика (932) – блохи *Xenopsylla scrjabini*. Пять из шести штаммов 1955 г. образовали на дендрограмме кластер близкородственных штаммов, включая два клинических штамма, штамм от большой песчанки и штамм из неизвестного источника, выделенные в Северо-Приаральском очаге. В этот же кластер вошел штамм, полученный от блохи *X. scrjabini* в Приаральско-Каракумском пустынном очаге. На дендрограмме этот кластер отделяется от других штаммов из Северного Приаралья 2 SNPs (рис. 2, MN6,

табл. 2). В процессе эволюции SNPs образовались в межгенном пространстве *rprA-ppsA* (G>A, в позиции 2708103 генома) и в гене *YPO_RS22320* (A>G, 13, Asn>Asp).

В основании кластера 1955 г. лежит штамм 929 от большой песчанки, который не имеет отличительных SNPs и является представителем того клона, который вызвал вспышку. Таким же штаммом заразился верблюд, а через его посредство заболели люди. От этого штамма происходят два клинических штамма, выделенные от людей на разъезде 88 и станции Саксаульская, а также один штамм от *X. scrjabini* из Приаральско-Каракумского пустынного очага, которые незначительно отличаются от исходного штамма. Наибольшие отличия имеет штамм M-2294 (P-1901) из неизвестного источника. Существенная диверсификация у штаммов из этого кластера отсутствует. Отличия по MLVA25-локусам также невелики (рис. 3). У двух клинических штаммов отличия наблюдаются только по локусу *ms46*, у штамма 927 здесь содержится 14 повторов, а у штамма 928 – 12. Исходный штамм 929 от песчанки, лежащий в основании кластера, идентичен клиническому штамму 928. Еще один штамм – 932 – отличается от других штаммов 1955 г. 15 повторами в локусе *ms46*, 9 повторами в *ms56* и 7 повторами в *ms74*. Штамм M-2294 идентичен клиническому штамму 927. Еще один штамм 1955 г. в кластер с другими штаммами 1955 г. не вошел и отличается от них 6 повторами в локусе *ms01* и 15 повторами в локусе *ms46*.

Данные филогенетического анализа свидетельствуют в пользу сделанного в процессе ликвидации вспышки эпидемиологического заключения о том, что люди заразились непосредственно при уходе, прирезке верблюдов и разделке мяса зараженных животных. Отсутствие существенной диверсификации штаммов *Y. pestis* в кластере 1955 г. связано с тем, что вспышка была короткой и блохи в ее развитии не участвовали.

Молекулярная экспертиза вспышек чумы в Аральском районе Кызыл-Ордынской области в 1960-х гг. В июне 1969 г. в урочище Костам заразились чумой у колодца два человека – жители п. Аралсульфат Кызыл-Ордынской области, расположенного в 21 км от г. Аральска, которые впоследствии быстро умерли. Причиной заражения были предположительно больные зайцы [1, 11]. В контакте с заболевшими людьми находились 33 человека, из которых благодаря принятым мероприятиям никто не заболел. На дендрограмме штамм *Y. pestis* M-2301, выделенный от одного из больных, вошел в один кластер со штаммами M-2306, M-2307, M-2286, M-2287, полученными в мае 1969 г. от больших песчанок в 120 км от п. Новоказалинск Кызыл-Ордынской области. Это подтверждает факт заражения людей из полевых источников. Кластер штаммов 1969 г. отличается от других кластеров этой популяции 2 SNPs (рис. 2, MN5, табл. 2). Мутации образовались в генах *fsa* (A>G, 603) и *brnQ* (C>T, 615). Клинический

штамм М-2301 отличается от других штаммов этого кластера отсутствием мутации в гене *mfd* (G>A, 1242). По профилю MLVA25 все эти штаммы идентичны, за исключением клинического штамма М-2301, который содержит 15 повторов в *ms46*, а другие – 14.

Клинический штамм М-2301 и природные штаммы этого кластера, по данным филогенетического анализа, принадлежали к каспийской подветви 2.MED1; а именно к политомии, возникшей от исходной северо-приаральской подветви 1945 г. Один из клонов этой политомии вызвал вышеописанную вспышку, возникшую на разъезде 88 в 1955 г.

Также в августе (с 13 по 17 августа) 1966 г. в Приаральско-Каракумском очаге в 165 км северо-восточнее п. Новоказалинск произошла вспышка чумы (6 заболевших, 3 умерших). По заключению эпидемиологов, причиной вспышки была прирезка больного верблюда [12]. Выделенный от больного штамм КМ938 на дендрограмме вошел в кластер со штаммами 550 и М-2285, полученными в этом очаге в Казалинском районе Кызыл-Ординской области от больших песчанок в 1966 и 1969 гг. (рис. 2, MN8, табл. 2). Этот кластер также принадлежал к политомии, возникшей от исходной северо-приаральской подветви – потомка каспийской подветви 2.MED1. Кластер отличается от других кластеров политомии 4 SNPs в генах *speF* (T>A, 1214), *YPO_RS07565* (T>A, 429), *YPO_RS11255* (A>C, 162) и *YPO_RS15200* (G>T, 402). По MLVA25 штаммы идентичны, за исключением локуса *ms35*, в котором у штамма М-2285 содержится 6 повторов, а у штаммов 550 и КМ938 – 9.

Этому кластеру на дендрограмме предшествует кластер из трех природных штаммов 1965–1966 гг. из Приаральско-Каракумского очага штаммов *Y. pestis* 1065, 1252, 6661 (1961 г.), выделенных от большой песчанки и сусликов *Spermophilus fulvus* и *S. pygmaeus* (рис. 2, MN7, табл. 2). Этот кластер от ствола общей политомии отделяет 4 SNPs в генах *ilvI* (G>T, 163, Val>Phe), *fruA* (C>T, 869, Ala>Val), *YPO_RS14030* (C>T, 5, Ala>Val), *rffA* (C>T, 171). По MLVA25-профилю штаммы отличаются только по локусу *ms46*, в котором содержится 15, 14 и 13 повторов соответственно (рис. 3).

Молекулярная экспертиза вспышки чумы, произошедшей в ноябре 1967 г. в г. Аральске.

В связи с возникновением вспышки в г. Аральске и ур. Кара-Куль с 22 августа по 3 сентября 1967 г. был наложен карантин. Участвовавшими в ликвидации вспышки специалистами установлено, что 13 августа 1967 г. в ур. Кара-Куль был прирезан больной верблюд. Мясо получили 22 семьи. Всего контактных – 144 человека. В августе 1967 г. возникло шесть случаев заболевания чумой людей. Из мяса верблюда выделен возбудитель чумы. Установлено, что в ур. Кара-Куль происходила в это время интенсивная эпизоотия чумы [13]. В нашем распоряжении было 5 штаммов, полученных в период вспышки, из них 1 культура получена от больного

верблюда (штамм 247) и 4 – от больных людей (241, 242, 244 и 246). В основании кластера вспышечных штаммов на дендрограмме лежит *Y. pestis* 247, выделенный от верблюда. Геном штамма 247 идентичен геному возникшего клона, вызвавшего вспышку. Идентичен ему и геном одного из клинических штаммов *Y. pestis* – 42. Остальные три клинических штамма – 241, 244 и 246 – незначительно отличаются от исходного штамма несколькими SNPs. Все пять штаммов очень близки друг к другу, что свидетельствует в пользу заражения людей от больного верблюда. В этот кластер (рис. 2, MN2, табл. 2) также входят штаммы (М-2280, М-2281, М-2300, 1763, 1764), полученные в Приаральско-Каракумском очаге в период с 1966 по 1974 г. от больших песчанок и блохи *X. skrjabini*, что говорит об устойчивости этой филогеографической популяции на северном побережье Аральского моря. Однако отличительная особенность вспышки чумы 1967 г. состоит в том, что ее штаммы не относятся к прикаспийской подветви 2.MED1, к которой принадлежали все выше обсужденные штаммы из Северного Приаралья. По данным филогенетического анализа, вспышка 1967 г. вызвана штаммами *Y. pestis*, принадлежавшими к центральноазиатской подветви 2.MED1 средневекового биовара. Из дендрограммы следует, что предшественниками этого кластера 1967 г. были штаммы: 40 (1961) из Прибалхашского очага, 1001 (1965) и М-2352 (1966) из Муюнкумского очага, входящие в центральноазиатскую подветвь 2.MED1. Анализ MLVA25-профилей вспышечных штаммов 1967 г. показал, что по локусу *ms06* отличается штамм М-2281 (4 повтора вместо 3), по локусу *ms07* отличен штамм А-1764 (9 вместо 7), а по *ms62* – штамм А-1763 (11 вместо 10) (рис. 3). По остальным локусам все 10 штаммов 1967 г. идентичны.

В целом MLVA25-профили у штаммов *Y. pestis* из Северного Приаралья схожи, несмотря на их принадлежность к разным подветвям (каспийской и центральноазиатской) ветви 2.MED1 средневекового биовара. По большинству VNTR-локусов отличия между 39 изученными северо-приаральскими штаммами отсутствуют. Вариабельность выявлена по локусам *ms01* (1 штамм), *ms06* (1), *ms07* (1), *ms35* (3), *ms46* (22), *ms56* (14), *ms62* (19), *ms70* (10), *ms74* (16). Наиболее вариабельными у штаммов из Северного Приаралья оказались пять VNTR-локусов (*ms46*, *ms56*, *ms62*, *ms70*, *ms74*), изменчивость которых по числу копий наблюдалась у 14–22 штаммов.

Полученные данные означают, что в 1945 г. интервенция штаммов 2.MED1 в Северное Приаралье произошла из Северного Прикаспия, с их укоренением и образованием устойчивых очагов, что вызвало вспышки и единичные случаи заболевания чумой. Причиной заболеваемости были эпизоотии, протекавшие на песчанках и паразитирующих на них блохах. Заражение людей происходило либо непосредственно в полевых условиях при контакте с больными носителями или зараженными переносчи-

ками, либо при прирезке и разделке мяса больных верблюдов. Штаммы 1945 г. отличаются большим числом специфических SNPs, что, возможно, связано с их быстрой адаптацией к новым условиям существования в Северном Приаралье. В дальнейшем скорость сформировавшейся северо-приаральской популяции значительно снизилась, и штаммы 1950–1960-х гг. содержат небольшое количество индивидуальных SNPs.

В 1967 г. в Северном Приаралье проникли штаммы *Y. pestis* центральноазиатской подветви 2.MED1. В 1960-е гг. в Северном Приаралье одновременно циркулировали штаммы каспийской и центральноазиатской подветвей 2.MED1, которые вызвали эпизоотии и вспышки чумы на северном побережье Аральского моря.

Полученные в настоящей работе результаты свидетельствуют о том, что данные филогенетического анализа важны для проведения молекулярной экспертизы вспышек чумы, установления источников заражения людей и путей развития чумных вспышек. Выяснение этих механизмов необходимо для определения комплекса и масштаба противоэпидемических и профилактических мер, направленных на ликвидацию вспышек и недопущение их развития.

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. Кадастр эпидемиологических и эпизоотических проявлений чумы на территории Российской Федерации и стран ближнего зарубежья (с 1876 по 2016 год). Саратов: ООО «Амирит»; 2016. 248 с.
2. Eroshenko G.A., Popov N.V., Al'khova Zh.V., Kukleva L.M., Balykova A.N., Grazhdanov A.K., Ayazbaev T.Z., Maikanov N.S., Kutyrev V.V. 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.
3. Eroshenko G.A., Popov N.V., Al'khova Z.V., Kukleva L.M., Balykova A.N., Chervyakova N.S., Naryshkina E.A., Kutyrev V.V. Evolution and circulation of *Yersinia pestis* in the Northern Caspian and Northern Aral Sea regions in the 20th–21st centuries. *PLoS One*. 2021; 16(2):e0244615. DOI: 10.1371/journal.pone.0244615.
4. Le Flèche P., Hauck Y., Onteniente L., Prieur A., Denoeud F., Ramiise V., Sylvestre P., Benson G., Ramiise 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.
5. 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.
6. Benson G. Tandem repeats finder: a program to analyze DNA sequences. *Nucleic Acids Res*. 1999; 27(2):573–80. DOI: 10.1093/nar/27.2.573.
7. Попова А.Ю., Кутырев В.В., редакторы. Атлас природных очагов чумы России и зарубежных государств. Калининград: РА Полиграфичъ; 2022. 348 с.
8. Отчет о работе Аваньского противочумного отряда по ликвидации вспышки чумы в поселке Авань Аральского района Гурьевской области Казахской ССР в 1945 г. Архив института «Микроб». Ед. хран. № 135 на 26 л.
9. Материал о вспышке эпидемии чумы на берегу Аральского моря и принятии меры по ликвидации ее

Араломорской противочумной станцией в 1945 г. Архив института «Микроб». Ед. хран. № 148 на 4 л.

10. Краткий отчет Среднеазиатского ПЧИ о вспышке в Аральском районе в августе 1955 г. Архив института «Микроб». Ед. хран. № 770 на 28 л.

11. Отчет о ликвидации вспышки чумы в Аральском районе Кызыл-Ординской области в июне 1969 г. Архив института «Микроб». Ед. хран. № 721. 101 с.

12. Материалы о заболеваниях особо опасными инфекциями за 1966 г. Отчет о вспышке чумы в Аральском районе Кызыл-Ординской области в комплексе противоэпидемических мероприятий (29/IX – 18/XII – 1966 г.). 29 ноября 1966 г. С. 177–122.

13. Отчет о противоэпидемических мероприятиях, проведенных в г. Аральске в связи с заболеваниями людей чумой в августе 1967 г. Архив института «Микроб». Ед. хран. № 678 на 11 л.

References

1. Popova A.Yu., Kutyrev V.V., editors. [Cadastre of Epidemiological and Epizootic Manifestations of Plague in the Territory of the Russian Federation and Former Soviet Union (1876–2016)]. Saratov: “Amirit” LLC; 2016. 248 p.
2. Eroshenko G.A., Popov N.V., Al'khova Zh.V., Kukleva L.M., Balykova A.N., Grazhdanov A.K., Ayazbaev T.Z., Maikanov N.S., Kutyrev 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.
3. Eroshenko G.A., Popov N.V., Al'khova Z.V., Kukleva L.M., Balykova A.N., Chervyakova N.S., Naryshkina E.A., Kutyrev V.V. Evolution and circulation of *Yersinia pestis* in the Northern Caspian and Northern Aral Sea regions in the 20th–21st centuries. *PLoS One*. 2021; 16(2):e0244615. DOI: 10.1371/journal.pone.0244615.
4. Le Flèche P., Hauck Y., Onteniente L., Prieur A., Denoeud F., Ramiise V., Sylvestre P., Benson G., Ramiise 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.
5. 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.
6. Benson G. Tandem repeats finder: a program to analyze DNA sequences. *Nucleic Acids Res*. 1999; 27(2):573–80. DOI: 10.1093/nar/27.2.573.
7. Popova A.Yu., Kutyrev V.V., editors. [Atlas of Natural Foci of Plague in Russia and Foreign Countries]. Калининград: “Poligrafichъ”; 2022. 348 p.
8. [Report on the work of the Avan anti-plague squad to eliminate a plague outbreak in the Avan village, Aral district, Guryev region, Kazakh SSR in 1945]. Archive of the Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. Unit storage No. 135, 26 p.
9. [Materials about the plague epidemic on the shores of the Aral Sea and the measures taken to eliminate it by the Aral Sea Plague Control Station in 1945]. Archive of the Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. Unit storage No. 148, 4 p.
10. [Brief report of the Central Asian Anti-Plague Institute on the outbreak in the Aral region in August, 1955]. Archive of the Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. Unit storage No. 770, 28 p.
11. [Report on the elimination of plague outbreak in the Aral district of the Kzyl-Orda region in June, 1969]. Archive of the Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. Unit storage No. 721, 101 p.
12. [Materials on cases of particularly dangerous infections for 1966. Report on the outbreak of plague in the Aral district of the Kzyl-Orda region in the complex of anti-epidemic measures (29/IX – 18/XII – 1966)]. November 29, 1966. P. 177–22.
13. [Report on anti-epidemic measures carried out in Aralsk in connection with human cases of plague in August, 1967]. Archive of the Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. Unit storage No. 678, 11 p.

Authors:

Karapetyan L.A., Balykova A.N., Chervyakova N.S., Fedorov A.V., Eroshenko G.A., Abramova E.G., Germanchuk V.G., Kuklev E.V., Toporkov V.P. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Об авторах:

Карпетян Л.А., Балыкова А.Н., Червякова Н.С., Федоров А.В., Ерошенко Г.А., Абрамова Е.Г., Германчук В.Г., Куклев Е.В., Топорков В.П. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.