

DOI: 10.21055/0370-1069-2026-2-113-122

УДК 579.842.23:579.25

А.В. Коврижников, А.Н. Балыкова, А.В. Федоров, Н.С. Червякова, Г.А. Ерошенко, В.В. Кутырев

## Молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Yersinia pestis* из Волго-Уральского песчаного очага чумы

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

**Цель** работы – определение филогенетического разнообразия субпопуляций штаммов *Yersinia pestis* из Волго-Уральского песчаного природного очага чумы (ВУППО) за периоды эпизоотической и эпидемической активности с 1912 по 2002 г. и определение их географического распространения. **Материалы и методы.** В работе исследовано 103 штамма, выделенных на территории ВУППО с 1912 по 2002 г. Высокопроизводительное секвенирование проводили на платформе MGI (секвенатор DNBSEQ-G50RS, Китай) с использованием наборов реактивов MGIEasy Fast FS Library Prep Set и MGIEasy UDB Primers Adapter Kit A. Для обработки данных и сборки необработанных коротких прочтений генома *de novo* использовали Unicycler v0.4.9, FastQC v0.11.9. Анализ VNTR-локусов осуществляли с помощью программы TandemRepeatFinder, для иерархической кластеризации использовался метод агломеративной кластеризации (AgglomerativeClustering, библиотека scikit-learn v1.7.0). SNP-типирование осуществляли с помощью программы Snippy v4.6.0. Построение филогенетического дерева выполняли методом Maximum Likelihood с применением программы PhyML 3.1 с 500 бутстреп-репликами. **Результаты и обсуждение.** По данным полногеномного SNP-анализа и филогенетической реконструкции популяционной структуры выявлены основные распространенные в ВУППО субпопуляции, установлены SNP-генотипы штаммов *Y. pestis*, определены их маркерные SNPs. На основании полученных данных предположено, что причиной вспышки в 1945 г. на территории ВУППО в Казахстане могли быть штаммы *Y. pestis*, относящиеся к SNP-генотипу Pricasp 2. По данным анализа локусов VNTR выявлены 57 MLVA25-генотипов, определены наиболее вариабельные локусы (ms46 и ms62) для штаммов возбудителя чумы с территорий ВУППО. Результаты SNP- и MLVA25-типирования штаммов, выделенных в ВУППО с 1912 по 2002 г., указывают на активное изменение внутриочаговых зон циркуляции штаммов *Y. pestis*, а также на последовательную эволюцию штаммов средневекового биовара филогенетической ветви 2.MED1 возбудителя чумы в этом очаге.

**Ключевые слова:** *Yersinia pestis*, природные очаги, MLVA25-типирование, SNP-типирование.

Корреспондирующий автор: Коврижников Александр Викторович, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Для цитирования: Коврижников А.В., Балыкова А.Н., Федоров А.В., Червякова Н.С., Ерошенко Г.А., Кутырев В.В. Молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Yersinia pestis* из Волго-Уральского песчаного очага чумы. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2026; 2:113–122. DOI: 10.21055/0370-1069-2026-2-113-122

Поступила 09.12.2025. Отправлена на доработку 19.01.2026. Принята к публикации 18.03.2026.

A.V. Kovrizhnikov, A.N. Balykova, A.V. Fedorov, N.S. Chervyakova, G.A. Eroshenko, V.V. Kuttyrev

## Molecular-Genetic Characteristics of *Yersinia pestis* Strains from the Volga-Ural Sandy Plague Focus

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

**Abstract.** The aim of the work was to establish the phylogenetic diversity of subpopulations of *Yersinia pestis* strains from the Volga-Ural sandy natural plague focus during the period of epizootic and epidemic activity between 1912 and 2002 and to determine their geographic distribution. **Material and methods.** One hundred and three samples from Volga-Ural sandy focus (1912–2002) were studied. High-throughput sequencing was performed on the MGI platform (DNBSEQ-G50RS, China) using MGIEasy Fast FS Library Prep Set and MGIEasy UDB Primers Adapter Kit A. To process the data and carry out the assembly of obtained raw short reads, Unicycler v0.4.9, FastQC v0.11.9 software was used. The analysis of VNTR loci was conducted using the TandemRepeatFinder program; the agglomerative clustering method was applied for hierarchical clustering (AgglomerativeClustering, scikit-learn v1.7.0 library). The SNP-typing was performed via Snippy v4.6.0. To construct phylogenetic tree we used the method of Maximum Likelihood in PhyML 3.1 (500 bootstrap replicas). **Results and discussion.** Whole-genome SNP-analysis and phylogenetic reconstruction of the population structure have identified the main subpopulations common in the Volga-Ural sandy focus; the SNP genotypes of *Y. pestis* strains have been established, and their marker SNPs determined. It has been suggested that the cause of plague outbreak in 1945 could be genotype Pricasp 2. VNTR-analysis has revealed 57 MLVA25-genotypes and the most variable VNTR-loci (ms46 и ms62). Results of conducted SNP- and VNTR-analysis indicate active changes in the zones of intra-focal circulation as well as the consistent evolution of the medieval biovar of *Y. pestis* strains, the phylogenetic branch 2.MED1 in Volga-Ural sandy focus.

**Key words:** *Yersinia pestis*, natural foci, MLVA25 typing, SNP typing.

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

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

Corresponding author: Alexander V. Kovrizhnikov, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Kovrizhnikov A.V., Balykova A.N., Fedorov A.V., Chervyakova N.S., Eroshenko G.A., Kuttyrev V.V. Molecular-Genetic Characteristics of *Yersinia pestis* Strains from the Volga-Ural Sandy Plague Focus. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2026; 2:113–122. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2026-2-113-122

Received 09.12.2025. Revised 19.01.2026. Accepted 18.03.2026.

Kovrizhnikov A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7752-6321>  
Balykova A.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3766-7979>  
Fedorov A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7190-4427>

Chervyakova N.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3133-3820>  
Eroshenko G.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5403-989X>  
Kutyrev V.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3788-3452>

Волго-Уральский песчаный природный очаг (ВУППО) является трансграничным очагом, занимает по площади 73 504 км<sup>2</sup> и располагается в границах административных субъектов Российской Федерации (РФ, Астраханская область) и Республики Казахстан (РК, Западно-Казахстанская и Атырауская области). В первой половине прошлого века на территории очага неоднократно регистрировались массовые заболевания людей, а культуры *Yersinia pestis* в ВУППО впервые выделены в 1912 г., первая документально зарегистрированная эпизоотия датируется 1922 г. В период с 1922 по 2007 г. индекс эпизоотичности составил 0,76. В прошлом столетии Волго-Уральский песчаный очаг являлся одним из наиболее эпизоотически и эпидемически активных природных очагов чумы РФ и сопредельных стран, в его истории выделяют 12 крупных эпизоотий. Важной особенностью очага являются различия в интенсивности эпизоотических проявлений в разных его частях. В конце XX – начале XXI в. эпизоотические проявления регистрировали в основном в северной и центральной частях очага. С 2008 г. в очаге наблюдается межэпизоотический период: отсутствуют случаи заболевания человека и находки зараженных чумой грызунов, не выделяются культуры возбудителя [1, 2]. Наступление затяжного межэпизоотического периода связывают с экологическими факторами: потеплением климата и понижением уровня Каспийского моря [3, 4].

Несмотря на то, что очаг характеризуется полигостальностью и поливекторностью, более 90 % культур, полученных от грызунов, выделены от двух основных носителей: полуденной и гребенщиковой песчанок (*Meriones meridianus* и *Meriones tamariscinus* соответственно). Среди изолятов от паразитов более 70 % получены от блох песчанок: *Nosopsyllus laeviceps* и *Xenopsylla conformis*. Общее количество случаев заболевания человека на территории данного очага за весь период наблюдений составляет 2450 (из 214 населенных пунктов), с преобладанием бубонной формы, но также встречались легочная, септическая и кишечная формы [1].

Штаммы *Y. pestis*, выделенные в ВУППО, – это высоковирулентные и эпидемически значимые штаммы, относящиеся к линии 2.MED и обладающие типичными для средневекового биовара биохимическими свойствами: они ферментируют глицерин и арабинозу, а также негативны по редукции нитратов и утилизации рамнозы (Gly<sup>+</sup> | Nit<sup>–</sup> | Rha<sup>–</sup> | Ara<sup>+</sup>) [5–7].

Нами показано, что на территории ВУППО циркулируют штаммы, которые относятся к двум филогенетическим ветвям: 2.MED1 и 2.MED4. При исследовании генетической структуры субпопуляций возбудителя чумы определены шесть генотипов (Prispasp 1–6), выделенных на территории очага, и два геноварианта генотипа Prispasp 2 (геноварианты 1 и 2) [7].

Исследованы некоторые генетические характеристики субпопуляций *Y. pestis*, циркулирующих на территории ВУППО [6–8]. Тем не менее детальной оценки внутриочаговых связей штаммов *Y. pestis* из ВУППО до сих пор не проводилось, а также не проведено масштабной филогенетической реконструкции популяционной структуры штаммов *Y. pestis* из этого региона по данным полногеномного секвенирования. С учетом трансграничного характера очага и высокой вирулентности выделенных в нем штаммов, а также периодичности эпидемических и эпизоотических проявлений на его территории актуальным является изучение молекулярно-генетических характеристик субпопуляций *Y. pestis* из ВУППО для детализации молекулярно-генетической паспортизации очага и совершенствования методов проведения молекулярно-эпидемиологического надзора. **Целью** этой работы явилось определение филогенетического разнообразия субпопуляций штаммов *Yersinia pestis* из Волго-Уральского песчаного природного очага чумы за периоды эпизоотической и эпидемической активности с 1912 по 2002 г. и определение их географического распространения.

## Материалы и методы

Штаммы *Y. pestis* выращивали при температуре 28 °C в течение 24–48 ч на среде LB. Анализ биохимических свойств исследованных штаммов проводили в соответствии со стандартными методами лабораторной диагностики возбудителя чумы [9]. ДНК штаммов *Y. pestis* выделяли с помощью набора PureLink Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen, США). Высокопроизводительное секвенирование выполняли на платформе MGI (секвенатор DNBSEQ-G50RS, Китай) с использованием наборов реактивов MGIEasy Fast FS Library Prep Set и MGIEasy UDB Primers Adapter Kit A. Контроль качества полученных прочтений проводили в программе FastQC v0.11.9. Для обработки данных и сборки необработанных коротких прочтений генома *de novo* использовали программу Unicycler v0.4.9 [10]. Средний размер собранных геномов составил ~4,5 м.п.н., средняя глубина покрытия была 50x, среднее содержание %GC равнялось 47,5 %.

Анализ VNTR-локусов осуществляли с помощью программы TandemRepeatFinder [11]. Для иерархической кластеризации использовали метод агломеративной кластеризации (AgglomerativeClustering, библиотека scikit-learn v1.7.0) с последующей визуализацией с использованием библиотеки scipy v1.16.0 (dendrogram) [12]. Параметры кластеризации подбирали с помощью библиотеки Optuna v4.2 (1000 итераций) [13], в качестве метрики оптимизации применяли усредненный силуэт-

коэффициент (Silhouette Score) [14], оценивающий внутрикластерную однородность и различия кластеров между собой. Однонуклеотидные полиморфизмы выявляли путем выравнивания контигов на штамм CO92 (NCBI AL590842.1) с помощью программы snippy 4.6 с последующим удалением 28 гомоплазий. Филогенетическую реконструкцию на основе 2780 SNPs, идентифицированных в коровом геноме 112 штаммов *Y. pestis*, осуществляли методом Maximum Likelihood (модель нуклеотидных замен GTR, 500 бутстреп-реплик), укоренение дерева проводили по штамму 620024 ветви 0.PE4 [15]. Для визуализации вариативности локусов путем построения тепловой карты использовали пакет seaborn v0.13.2 (heatmap) [16].

### Результаты и обсуждение

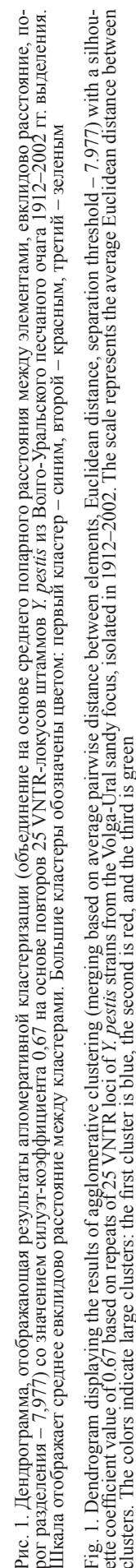
В работе исследовано 103 штамма *Y. pestis*, выделенных от носителей, переносчиков и человека на территории ВУППО с 1912 по 2002 г. в различные периоды эпизоотической активности: 36 штаммов выделены от гребенщиковой песчанки (*M. tamariscinus*), 34 – от блох, 19 – от человека, 3 – от домового мыши (*Mus musculus*), по 2 – от верблюда (*Camelus* sp.) и малого суслика (*Spermophilus pygmaeus*) и по 1 штамму – от серой крысы (*Rattus norvegicus*), желтого суслика (*S. fulvus*), степной пеструшки (*Lagurus lagurus*), зайца-толая (*Lepus tolai*), серого хомячка (*Cricetulus migratorius*), мохноногого тушканчика (*Dipus sagitta*) и пегего поторака (*Diplomesodon pulchellum*), – а также относящиеся к различным филогенетическим линиям 9 штаммов из разных очагов мира, которые использованы в качестве группы сравнения для филогенетического анализа: Pestoides A (0.PE4a, NZ\_ACNT00000000), Pestoides F (0.PE2, NC\_009381), 620024 (0.PE7, ADPM00000000), CO92 (1.OR11, AL590842.1), 351001 (2.ANT2, ADPF00000000), 91 (2.MED2, ADPU00000000), CMCC125002 (2.MED3, ADQN00000000), KIM10 (2.MED1, AE009952.1), C 627 (2.MED0, ASM307427v1). Анализ биохимических свойств 103 исследованных штаммов *Y. pestis*, выделенных в ВУППО с 1912 по 2002 г., показал, что все они ферментировали глицерин и арабинозу и негативны по редукции нитратов и утилизации рамнозы, то есть проявляли типичный фенотип средневекового биовара основного подвида возбудителя чумы.

На следующем этапе работы нами по данным полногеномного секвенирования проведен анализ 25 VNTR-локусов у взятых в исследование штаммов для определения циркулирующих на территории ВУППО VNTR-генотипов и выявления вариативности этих локусов. Определение генотипов осуществлялось методом агломеративной кластеризации с автоматизированным подбором параметров, для чего использовалась библиотека Optuna на основе максимизации силуэт-коэффициента. В результате агломерация осуществлялась методом объединения на основе среднего попарного расстояния между элемента-

ми (average), в качестве метрики расстояния использовалось евклидово расстояние (*euclidean*), порог разделения – 7,977. Значение силуэт-коэффициента составило 0,63, что свидетельствует о хорошем качестве разделения и подтверждает наличие четкой структуры популяции. Полученная дендрограмма представлена на рис. 1.

По результатам проведенного анализа штаммов *Y. pestis* из ВУППО определены 57 MLVA25-генотипов, которые разделяются на три группы: в I группу входят штаммы, имеющие генотип MLVA25-1, ко II группе относятся штаммы с генотипами MLVA25-2 – MLVA25-28 и III группу составляют штаммы, относящиеся к генотипам MLVA25-29 – MLVA25-57. Интересная особенность первого кластера заключается в том, что он состоит из единственного генотипа MLVA25-1, который включает в себя три штамма, выделенных в 1980–1981 гг. в части очага, расположенной на территории Атырауской и Западно-Казахстанской областей РК. Отличительной чертой этих трех штаммов, по-видимому, объединяющей их в один кластер, является отсутствие у них локуса ms09 по данным полногеномного секвенирования. Кроме того, такое обособление небольшой группы штаммов может свидетельствовать об их генетических отличиях от всех остальных штаммов из выборки и может быть объяснено случайным заносом с сопредельных территорий или наличием изолированной субпопуляции возбудителя в данном очаге в 1980-х гг.

Группа II, выделяемая на дендрограмме, включает в себя 27 генотипов. За исключением единственного штамма 1763, полученного в 2002 г. (генотип MLVA25-23), все штаммы из этой группы были выделены в первой половине XX в. (1922–1946 гг.). Важно отметить, что большинство штаммов, полученных от человека, относятся именно к этой группе: из 17 штаммов, взятых для анализа в рамках этой работы, 14 штаммов вошли в группу II. Группа III включает в себя наибольшее количество штаммов – 71, которые представляют 29 MLVA25-генотипов. Данная группа преимущественно циркулировала на территории очага во второй половине XX в., однако некоторые генотипы были выделены ранее. Несмотря на то, что это самая большая группа, количество штаммов, выделенных от человека (3 штамма), в ней намного меньше по сравнению с группой первой половины века, что может быть объяснено как эффективностью проведенных на этой территории профилактических мероприятий, так и общим снижением численности грызунов и блох в жилье человека [1]. Выявленные MLVA25-генотипы различаются количеством представленных в них штаммов, а также периодом, на протяжении которого они выделялись. Так, наибольшее количество штаммов включает в себя генотип MLVA25-31 – 13 штаммов, выделенных от гребенщиковой песчанки и блох. Данный генотип был распространен в части очага, расположенной на территории РК, где циркулировал



на протяжении двух лет, с 1990 по 1992 г. Еще один генотип, включающий большое количество штаммов, MLVA25-54, циркулировал в российской части очага (Астраханская область) на протяжении четырех лет (1998–2002 гг.). Другой генотип, MLVA25-43, представлен 6 штаммами, выделенными от блох. Особенность этого генотипа, в отличие от вышеописанных, состоит в том, что впервые он выделен в 1962 г. в РФ, а затем выделялся только в РК с 1971 по 1980 г., что свидетельствует об экспансии данного генотипа на новые территории в пределах очага. Другим генотипом, встречающимся в разных частях очага, является MLVA25-52, представленный 5 штаммами (от блох и гребенщиковых песчанок). Впервые два штамма с этим генотипом получены в 1963 г. на российской территории ВУППО, затем с 1966 по 1974 г. он выделялся в РК. Еще один генотип, MLVA25-42, включает 2 штамма, полученных в 1936 г. в казахстанской части очага от домовых мыши и в 1937 г. – от человека в российской части очага. Остальные генотипы представлены меньшим количеством штаммов и выделены на территории одной из стран: генотип MLVA25-32 включает 4 штамма от тамарисковых песчанок и блох (2001–2002 гг., РК), MLVA25-55 состоит из 4 штаммов (1977, РК), по 3 штамма включают в себя MLVA25-1 (1980–1981, РК), MLVA25-44 (1980, РК), MLVA25-47 (1979, РК), MLVA25-49 (1980, РК); по 2 штамма – MLVA25-8 (1945, РК), MLVA25-13 (1945, РК), MLVA25-30 (1989, РК). Остальные 43 генотипа представлены единичными штаммами, что указывает на высокую дискриминирующую способность VNTR-локусов для дифференциации близкородственных штаммов и отслеживания внутриочаговых связей. Учитывая количество установленных VNTR-генотипов, некоторые из которых включают большое количество штаммов, можно сделать вывод о существовании независимых субпопуляций штаммов на территории ВУППО. Кроме того, факты выявления одного и того же генотипа в разных частях очага в различные эпизоотические периоды свидетельствуют о распространении штаммов и изменении их внутриочаговых зон циркуляции. По проведенной оценке вариабельности VNTR-локусов наиболее вариабельными оказались локусы ms46 и ms62, включающие 13 и 9 аллелей соответственно. Также вариабельными оказались локусы ms01, ms05, ms06, ms07, ms09, ms15, ms21, ms41, ms56, ms70, ms74, включающие от 2 до 5 аллелей. В то же время 12 из 25 проанализированных локусов оказались полностью консервативными и у всех штаммов представлены одним аллелем. Вариабельность локусов VNTR отражена на тепловой карте (seaborn v0.13.2), представленной на рис. 2. Интенсивность цветовой шкалы соответствует количеству повторов в локусе, что позволяет визуально определить вариабельность или консерватизм конкретного локуса.

По результатам полногеномного SNP-анализа 103 штаммов *Y. pestis* из ВУППО и 9 штаммов из

разных очагов мира и проведенной филогенетической реконструкции, представленной на рис. 3, определены 10 SNP-генотипов, циркулирующих на территории ВУППО, 6 из которых описаны нами ранее (Pricasp 1–6) [7]. По данным филогенетического анализа можно установить, что SNP-генотип Pricasp 1, в который входят штаммы ветви 2.MED4, циркулировал на территории этого очага до 1925 г. Поскольку один из штаммов этой ветви выделен от человека, можно сделать вывод о том, что штаммы ветви 2.MED4 также являлись этиологическим агентом вспышек чумы в этом очаге, что ранее не было показано. Помимо ВУППО, штаммы генотипа Pricasp 1 выделялись в других очагах: Прикаспийском Северо-Западном степном природном очаге (ПСЗСПО), Волго-Уральском степном (ВУСПО), Зангезуро-Карабахском горном природном очаге (ЗКГПО) и на Шри-Ланке [7].

Следующие выделенные нами методом SNP-генотипирования генотипы относятся к филогенетической ветви 2.MED1 средневекового биовара и расположены на основном стволе дендрограммы, имеющем политомичный характер ветвления (рис. 3). В первый выделяющийся на дереве кластер входят два штамма: 87 от человека и 90\_133, полученный в 1926 г. от *L. tolai*, – однако они не имеют общих SNP, а их объединение происходит на основе общей схожести коровых полиморфизмов. Следующий кластер на дереве обозначен нами как VU 1 (Volgo-Ural 1) и включает в себя два штамма (34 и 7-40), оба выделены от человека в 1925 и 1922 гг. соответственно на территории РК. Этот генотип имеет 14 уникальных SNPs, информация о которых приведена в таблице. Для кластера еще одного генотипа – VU 2 – характерны 2 SNPs. В структуре этого генотипа выделяются два субкластера: штаммы первого субкластера (411\_305, 413, 487\_14) получены в 1938 г. и имеют одну уникальную SNP, штаммы второго – в 1936–1937 гг. и также имеют одну уникальную SNP. Далее на политомии расположены описанные ранее кластеры генотипов Pricasp 6 и Pricasp 2, в которые входят штаммы *Y. pestis* из очагов Прикаспия первой половины XX в. Pricasp 6 распространен в ПСЗСПО и Прикаспийском песчаном природном очаге чумы (ПППО), а также выявлен в Шри-Ланке, г. Коломбо [7].

К генотипу Pricasp 2 относятся 15 штаммов, выделенных в период с 1938 по 1947 г., при этом большая часть штаммов (10 шт.) получены в 1945 г. преимущественно от человека (6 шт.). По данным литературных источников, в этом году была зарегистрирована эпизоотия на песчанках в Атырауской области РК и в Астраханской области РФ [1]. Впервые в Прикаспии штамм этого генотипа выделили в 1930 г. на территории Каракумского пустынного очага, а впоследствии – в очагах Северного Прикаспия [7]. Первый штамм генотипа Pricasp 2 – 484 был получен в ВУППО на территории РК от *S. pygmaeus* в 1938 г., затем несколько лет он не выделялся, пока не вызвал

## Вариабельность VNTR-локусов / VNTR-loci variability

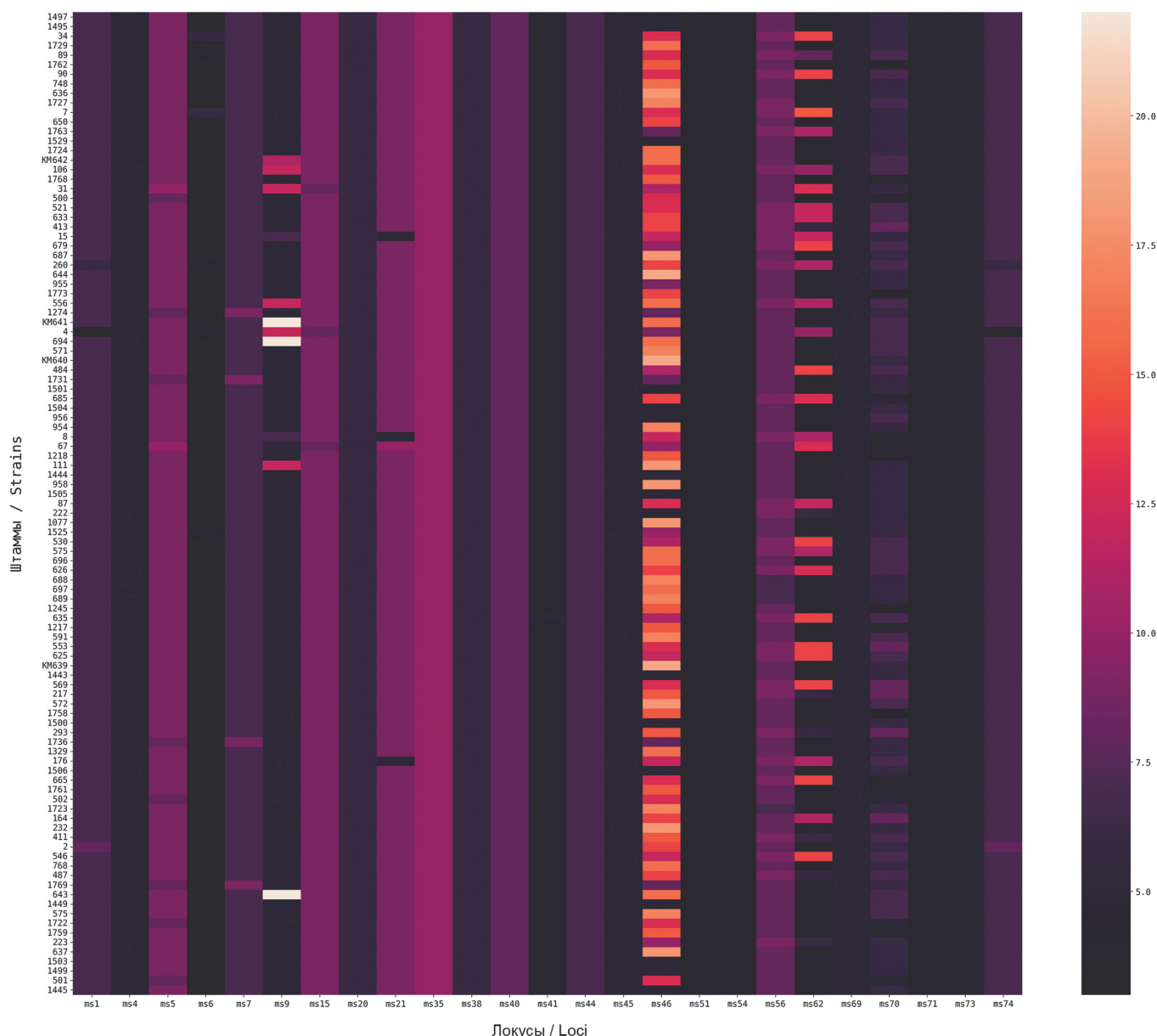


Рис. 2. Тепловая карта, отображающая вариабельность VNTR-локусов 103 штаммов *Y. pestis* из Волго-Уральского песчаного очага 1912–2002 гг. выделения. Цветовая шкала отражает количество повторов в локусе. У трех штаммов (643, KM641, 694) отсутствует локус ms09

Fig. 2. Heat map showing the variability of VNTR loci in 103 *Y. pestis* strains from the Volga-Ural sandy focus, isolated in 1912–2002. The color scale reflects the number of repeats in the locus. Three strains (643, KM641, 694) lack the ms09 locus

эпизоотию в популяции мышевидных грызунов в Волго-Ахтубинской пойме и локальные вспышки заболевания людей в 1945 г. (32 заболевших, 20 умерших) и затем распространился по всему очагу. Последний раз штаммы генотипа Pricasp 2 получены в 1947 г. в российской части очага. Кроме ВУППО штаммы этого генотипа встречались в ПСЗСПО, ВУСПО, Урало-Эмбенском пустынном природном очаге (УЭППО) и ПППО.

Расположенные на филогенетическом дереве (рис. 3) генотипы относятся ко второй волне распространения средневекового биовара в очагах Прикаспия, пришедшей из очагов Северного

Приаралья в начале второй половины XX в. и вызванной изменением климатических условий в Северном Прикаспии [4]. После Pricasp 2 на дереве располагается генотип Pricasp 4, который циркулировал в ВУППО в 2001–2002 гг. Он был также распространен в ПСЗСПО, ПППО, Дагестанском равнинно-предгорном и Джейранчельском равнинно-предгорном очагах чумы. В дополнение к трем ранее описанным SNPs [7] Pricasp 4 имеет еще две характерные мутации для штаммов из ВУППО: 2066194 A → T, 2448252 C → T. Следует отметить, что мутация 2448252 C → T ранее была описана и для штаммов, выделенных на территории ПСЗСПО, что может

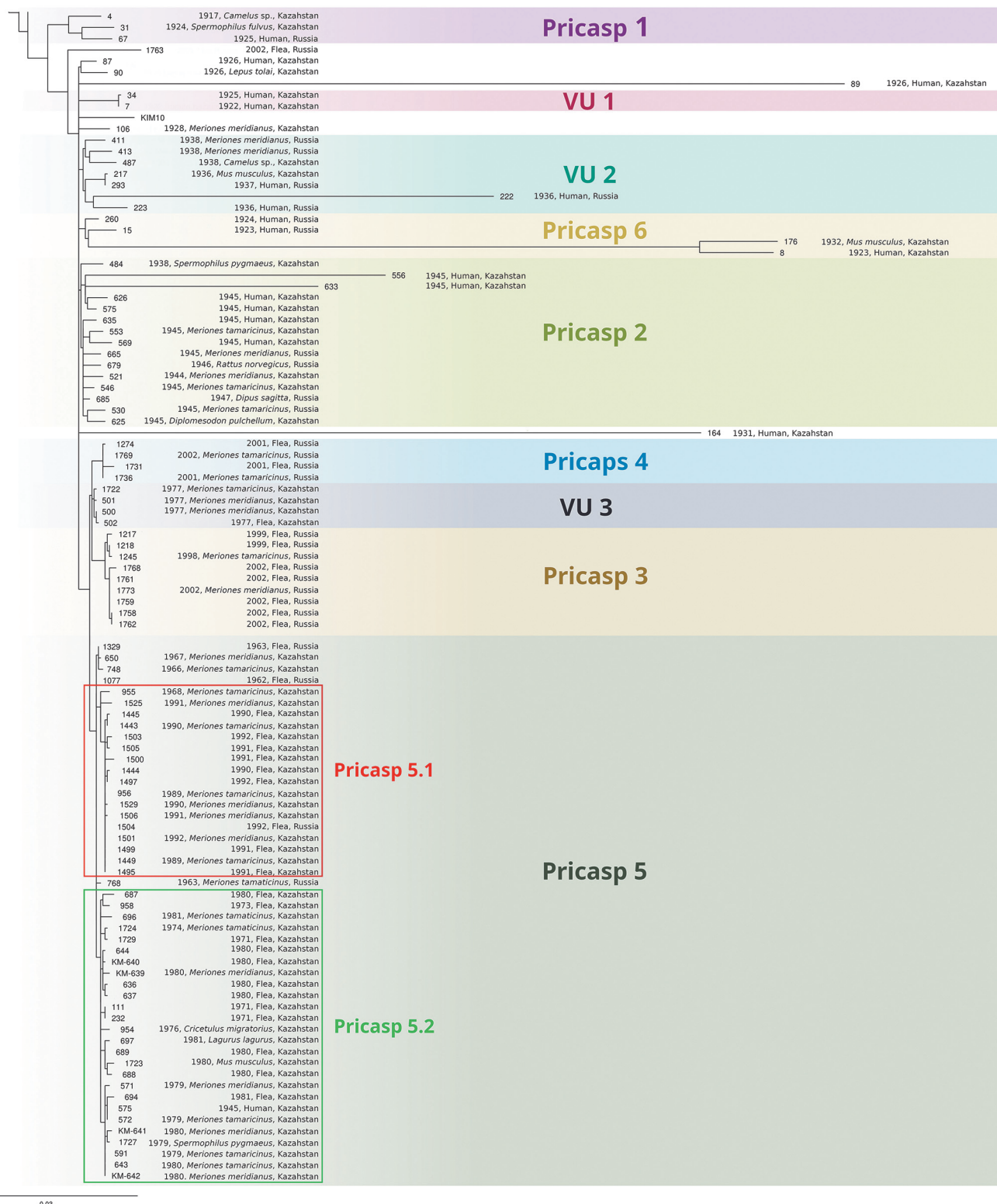


Рис. 3. Филогенетическая реконструкция популяционной структуры 103 штаммов *Y. pestis* из ВУНСПО и 9 штаммов из разных очагов мира, относящихся к различным филогенетическим линиям, на основе коровых SNPs методом Maximum Likelihood (модель нуклеотидных замен GTR, 500 бутстреп-реплик)

Fig. 3. Phylogenetic reconstruction of the population structure of 103 strains from VUNSPF and 9 strains from different foci of the world, belonging to different phylogenetic lines, based on core SNPs using the Maximum Likelihood method (GTR nucleotide substitution model, 500 bootstrap replicates)

свидетельствовать о генетической близости штаммов из этих очагов.

Следом за Priscasp 4 на дендрограмме расположена группа штаммов 1977 г., обозначенная нами как VU 3. Этот генотип имеет одну уникальную SNP

в межгенном пространстве между генами *YPO2536* и *YPO2537*: 2847683 С → Т. Ниже следует генотип Priscasp 3, выделенный также в Предустюртском пустынном очаге чумы и включающий 9 штаммов, выделенных в период с 1998 по 2002 г. на территории

Маркерные SNPs для генотипов штаммов *Y. pestis* из Волго-Уральского песчаного очага 1912–2002 гг. выделения, определенные по результатам полногеномного SNP-анализа

Marker SNPs for genotypes of *Y. pestis* strains from the Volga-Ural sandy focus, isolated in 1912–2002, that were determined by the results of genome-wide SNP analysis

| Позиция по хромосоме<br>CO92 (NCBI AL590842.1)<br>Chromosome position<br>in CO92<br>(NCBI AL590842.1) | Ген / Gene       | Нуклеотидная замена<br>Nucleotide substitution |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|------------------------------------------------|
| <b>VU 1</b>                                                                                           |                  |                                                |
| 251189                                                                                                | <i>acs</i>       | C → A                                          |
| 326410                                                                                                | intergenic space | C → T                                          |
| 1252324                                                                                               | <i>gltA</i>      | G → T                                          |
| 1608285                                                                                               | <i>pyrD</i>      | C → T                                          |
| 1624296                                                                                               | YPO1431          | G → A                                          |
| 1715674                                                                                               | <i>sanA</i>      | C → G                                          |
| 2544463                                                                                               | <i>manA</i>      | G → A                                          |
| 2681843                                                                                               | <i>purR</i>      | C → A                                          |
| 2848004                                                                                               | YPO2537          | G → T                                          |
| 2867642                                                                                               | <i>nuoD</i>      | A → C                                          |
| 3021641                                                                                               | <i>ybfA</i>      | C → A                                          |
| 3502305                                                                                               | <i>amtB</i>      | C → T                                          |
| 3613623                                                                                               | <i>hmcwC</i>     | C → G                                          |
| 4071476                                                                                               | YPO3651          | T → G                                          |
| <b>VU 2</b>                                                                                           |                  |                                                |
| 340551                                                                                                | <i>b3904</i>     | G → T                                          |
| 359359                                                                                                | <i>aspA</i>      | G → A                                          |
| <b>VU 2.1</b>                                                                                         |                  |                                                |
| 3245133                                                                                               | intergenic space | T → A                                          |
| <b>VU 2.2</b>                                                                                         |                  |                                                |
| 2127513                                                                                               | YPO1888          | C → T                                          |
| <b>Priscasp 4</b>                                                                                     |                  |                                                |
| 2066194                                                                                               | <i>ftiR</i>      | A → T                                          |
| 2448252                                                                                               | <i>bglY</i>      | C → T                                          |
| <b>VU 3</b>                                                                                           |                  |                                                |
| 2847683                                                                                               | intergenic space | C → T                                          |
| <b>Priscasp 3</b>                                                                                     |                  |                                                |
| 1263789                                                                                               | intergenic space | C → T                                          |
| 1447658                                                                                               | YPO1289          | G → T                                          |
| 2038223                                                                                               | intergenic space | C → A                                          |
| 4256157                                                                                               | <i>yigM</i>      | G → A                                          |
| <b>Priscasp 5</b>                                                                                     |                  |                                                |
| 2082661                                                                                               | intergenic space | C → A                                          |
| 4527936                                                                                               | YPO4015          | A → C                                          |
| <b>Priscasp 5.1</b>                                                                                   |                  |                                                |
| 1947775                                                                                               | intergenic space | G → T                                          |
| 3473665                                                                                               | intergenic space | G → A                                          |
| <b>Priscasp 5.2</b>                                                                                   |                  |                                                |
| 3699641                                                                                               | YPO3317          | C → A                                          |
| 4533001                                                                                               | intergenic space | G → T                                          |

РФ. Ранее для него было описано 2 уникальных SNPs, однако в ВУППО этот генотип имеет 4 уникальные мутации в дополнение к двум описанным ранее: 1263789 C → T, 1447658 G → T, 2038223 C → A, 4256157 G → A. Данный генотип был распространен на российской территории очага в 1999–2002 гг.,

и относящиеся к нему штаммы выделены преимущественно от блох. Далее на филогенетическом дереве встречаются отдельно лежащие штаммы, которые нельзя отнести ни к одному из описанных выше генотипов и которые представляют собой единичные SNP-варианты, не образующие кластеров: M-1763, 89, 106-167, 164.

Далее после генотипа Priscasp 3 на дендрограмме расположены штаммы доминирующего в ВУППО генотипа Priscasp 5, который включает 48 штаммов, выделенных с 1962 по 1991 г. Этот генотип встречается во многих очагах Прикаспийского региона: ВУППО, Урало-Уильском степном природном очаге и УЭППО. Ранее для этого генотипа описана одна маркерная SNP, однако для штаммов из ВУППО для этого генотипа нами выявлено два дополнительных полиморфизма: 2082661 C → A, 4527936 A → C. Полиморфизм 4527936 A → C описан нами ранее и характерен также для штаммов, выделенных в УЭППО [8]. В структуре этого генотипа выделяются три группы. Первая группа состоит из трех штаммов, выделенных в 1963 г. (1329, блоха), 1967 г. (650, *M. meridianus*) и 1966 г. (748, *M. tamariscinus*). У этой группы штаммов нет общих SNPs, а их объединение происходит на основе сходства коровых геномов, тем не менее эти штаммы относятся к генотипу Priscasp 5 и имеют общие для него маркерные SNPs. Две следующие группы мы обозначили как Priscasp 5.1 и Priscasp 5.2. Они содержат штаммы, относящиеся к одному генотипу, но делящиеся на две устойчивые группы. Priscasp 5.1 циркулировал в ВУППО с 1968 по 1992 г., Priscasp 5.2 выделен от человека в 1945 г. и затем активно выделялся с 1971 по 1981 г. Их маркерные SNPs представлены в таблице. Отдельно стоит упомянуть штамм 575 – это единственный штамм, относящийся к генотипу Priscasp 5 и выделенный от человека в 1945 г. в этом очаге, что свидетельствует о наличии данного генотипа в первой половине XX в. и последующей его активизации во второй половине. В некоторые периоды геноварианты Priscasp 5.1 и Priscasp 5.2 циркулировали на территории ВУППО одновременно, что предполагает совместную социркуляцию двух независимых субпопуляций одного генотипа. Также в структуре данного генотипа встречаются отдельные штаммы, которые нельзя отнести ни к одной из описанных групп: 1077, 768\_593, – они располагаются на стволе дерева и представляют собой единичные SNP-варианты.

Всего по данным полногеномного SNP-анализа и филогенетической реконструкции установлено 9 основных циркулировавших на территории ВУППО SNP-генотипов, определены их маркерные SNPs. Большинство SNP-генотипов выделялись на протяжении непродолжительного периода, при этом их представители могли быть выделены в различных частях очага. Например, генотип Priscasp 1 впервые выделен в Атырауской области (РК) в 1917 г., а в 1925 г. – уже на территории Астраханской области (РФ). Похожая ситуация наблюдается и с ге-

нотипом Pricasp 2: впервые выделенный в 1938 г. в Атырауской области, через 7 лет, в 1945 г., вызвал вспышку заболевания и распространился на территорию Астраханской области. Наиболее долго персистирующим генотипом является Pricasp 5: штаммы возбудителя чумы этого генотипа выделялись в различные эпизоотические периоды с 1945 по 1998 г. на территории Атырауской и Западно-Казахстанской областей, а также несколько штаммов получены в Астраханской области.

По данным проведенного анализа локусов VNTR установлены 57 MLVA25-генотипов и определены наиболее вариабельные локусы (ms46 и ms62), характерные для штаммов *Y. pestis* из ВУППО. MLVA-профили считаются более вариабельными, однако даже для них показано несколько случаев выделения одного генотипа в разных частях очага: MLVA25-1 сначала выделялся на территории Атырауской области (1980 г.), а затем – Западно-Казахстанской (1980–1981 гг.). Похожая ситуация наблюдается с генотипом MLVA25-42, который впервые выделен в 1936 г. в РК, затем выделялся в РФ (1937 г.). Генотипы MLVA25-43, появившийся в 1962 г., как и MLVA25-52, выделенный в 1963 г. на территории Астраханской области, затем выделялись на территории РК в Западно-Казахстанской области до 1980 и 1974 г. соответственно. Полученные в настоящей работе результаты свидетельствуют о наличии активной смены как SNP-, так и MLVA25-генотипов в XX – начале XXI в. на территории ВУППО. Они могут быть использованы для детализации молекулярно-генетической паспортизации природных очагов чумы Северного Прикаспия, повышения эффективности молекулярно-эпидемиологического мониторинга очаговых территорий, проведения молекулярной экспертизы вспышек чумы и установления источников заражения людей, а также для выявления закономерностей функционирования очагов чумы и прогнозирования периодов возможной активизации при составлении долгосрочных прогнозов на активность природных очагов этой особо опасной инфекции.

**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. Кутырев В.В., Попова А.Ю., редакторы. Кадастр эпидемических и эпизоотических проявлений чумы на территории Российской Федерации и ближнего зарубежья (с 1876 по 2016 год). Саратов: Амрит; 2016. 248 с.
2. Попова А.Ю., Кутырев В.В., редакторы. Атлас природных очагов чумы России и зарубежных государств. Калининград: РА Полиграфичъ; 2022. 348 с.
3. Попов Н.В., Безсмертный В.Е., Матросов А.Н., Князева Т.В., Кузнецов А.А., Федоров Ю.М., Попов В.П., Вержуцкий Д.Б., Корзун В.М., Косилко С.А., Чипанин Е.В., Дубянский В.М., Малецкая О.В., Григорьев М.П., Зенкевич Е.С., Топорков В.П., Балахонов С.В., Куличенко А.Н., Кутырев В.В. Эпизоотическая активность природных очагов чумы Российской Федерации в

2015 г. и прогноз на 2016 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2016; (1):13–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-13-19.

4. Попов Н.В., Карнаухов И.Г., Кузнецов А.А., Матросов А.Н., Иванова А.В., Марцоха К.С., Магеррамов Ш.В., Поспелов М.В., Корзун В.М., Вержуцкий Д.Б., Чипанин Е.В., Холин А.В., Лопатин А.А., Дубянский В.М., Ашибоков У.М., Газиева А.Ю., Кутырев И.В., Аязбаев Т.З., Бамматов Д.М., Балахонов С.В., Куличенко А.Н., Кутырев В.В. Эпидемиологическая обстановка по чуме в мире и прогноз ее развития на 2025 г. в Российской Федерации. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2025; (1):74–83. DOI: 10.21055/0370-1069-2025-1-74-83.

5. Achtman M., Morelli G., Zhu P., Wirth T., Diehl I., Kusecek B., Vogler A.J., Wagner D.M., Allender C.J., Easterday W.R., Chenal-Francisque V., Worsham P., Thomson N.R., Parkhill J., Lindler L.E., Carniel E., Keim P. Microevolution and history of the plague bacillus, *Yersinia pestis*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2004; 101(51):17837–42. DOI: 10.1073/pnas.0408026101.

6. Cui Y., Yu C., Yan Y., Li D., Li Y., Jombart T., Weinert L.A., Wang Z., Guo Z., Xu L., Zhang Y., Zheng H., Qin N., Xiao X., Wu M., Wang X., Zhou D., Qi Z., Du Z., Wu H., Yang X., Cao H., Wang H., Wang J., Yao S., Rakin A., Li Y., Falush D., Balloux F., Achtman M., Song Y., Wang J., Yang R. Historical variations in mutation rate in an epidemic pathogen, *Yersinia pestis*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2013; 110(2):577–82. DOI: 10.1073/pnas.1205750110.

7. Балыкова А.Н., Куклева Л.М., Горюнова П.А., Шевченко К.С., Коврижников А.В., Краснов Я.М., Червякова Н.С., Ерошенко Г.А., Кутырев В.В. SNP-профили штаммов *Yersinia pestis* средневекового биовара из очагов чумы Прикаспия. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022; (4):41–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-4-41-49.

8. Коврижников А.В., Балыкова А.Н., Куклева Л.М., Нарышкина Е.А., Федоров А.В., Червякова Н.С., Ерошенко Г.А., Кутырев В.В. Молекулярно-генетический анализ штаммов *Yersinia pestis*, выделенных в различные эпизоотические периоды на территории Урало-Эмбенского пустынного природного очага чумы в XX веке. *Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология*. 2023; 23(4):437–46. DOI: 10.18500/1816-9775-2023-23-4-437-446.

9. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Лабораторная диагностика опасных инфекционных болезней. Практическое руководство. Изд. 2-е, перераб. и доп. М.: Шико; 2013. 560 с.

10. Wick R.R., Judd L.M., Gorrie C.L., Holt K.E. Unicycler: resolving bacterial genome assemblies from short and long sequencing reads. *PLoS Comput. Biol.* 2017; 23(4):e1005595. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1005595.

11. 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.

12. Virtanen P., Gommers R., Oliphant T.E., Haberland M., Reddy T., Cournapeau D., Burovski E., Peterson P., Weckesser W., Bright J., van der Walt S.J., Brett M., Wilson J., Millman K.J., Mayorov N., Nelson A.R.J., Jones E., Kern R., Larson E., Carey C.J., Polat I., Feng Y., Moore E.W., VanderPlas J., Laxalde D., Perktold J., Cimman R., Henriksen I., Quintero E.A., Harris C.R., Archibald A.M., Ribeiro A.H., Pedregosa F., van Mulbregt P.; SciPy 1.0 Contributors. SciPy 1.0: fundamental algorithms for scientific computing in Python. *Nat. Methods*. 2020; 17(3):261–72. DOI: 10.1038/s41592-019-0686-2.

13. Akiba T., Sano S., Yanase T., Ohta T., Koyama M. Optuna: a next-generation hyperparameter optimization framework. In: KDD'19: Proceedings of the 25th ACM SIGKDD International Conference on Knowledge Discovery and Data Mining. New York; 2019. P. 2623–31. DOI: 10.1145/3292500.3330701.

14. Rousseeuw P.J. Silhouettes: A graphical aid to the interpretation and validation of cluster analysis. *J. Comput. Appl. Math.* 1987; 20:53–65. DOI: 10.1016/0377-0427(87)90125-7.

15. Posada D., editor. Bioinformatics for DNA Sequence Analysis. Totowa, N.J.: Humana Press; 2009. 354 p. DOI: 10.1007/978-1-59745-251-9.

16. Waskom M.L. Seaborn: statistical data visualization. *J. Open Source Softw.* 2021; 6(60):3021. DOI: 10.21105/joss.03021.

## References

1. Kutyrev V.V., Popova A.Yu., editors. [Cadastral of Epidemic and Epizootic Manifestations of Plague in the Territory of the Russian Federation and Former Soviet Union (1876–2016)]. Saratov: LLC “Amirit”; 2016. 248 p.
2. Popova A.Yu., Kutyrev V.V., editors. [Atlas of Natural Plague Foci in Russia and Foreign Countries]. Kaliningrad: LLC “RA Poligrafichъ”; 2022. 348 p.
3. Popov N.V., Bezsmertny V.E., Matrosov A.N., Knyazeva T.V., Kuznetsov A.A., Fedorov Yu.M., Popov V.P., Verzhutsky D.B., Korzun V.M., Kosilko S.A., Chipanin E.V., Dubynsky V.M., Maletskaya O.V., Grigor'ev M.P., Zenkevich E.S., Toporkov V.P., Balakhonov S.V., Kulichenko A.N., Kutyrev V.V. [Epizootic activity of natural plague foci of the Russian Federation in 2015, and

prognosis for 2016]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016; (1):13–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-13-19.

4. Popov N.V., Karnaukhov I.G., Kuznetsov A.A., Matrosov A.N., Ivanova A.V., Martsokha K.S., Magerramov Sh.V., Pospelov M.V., Korzun V.M., Verzhutsky D.B., Chipanin E.V., Kholin A.V., Lopatin A.A., Dubyansky V.M., Ashibokov U.M., Gazieva A.Yu., Kuttyrev I.V., Ayazbaev T.Z., Bamatov D.M., Balakhonov S.V., Kulichenko A.N., Kuttyrev V.V. [The epidemiological situation on plague in the world and the forecast of its development in the Russian Federation for 2025]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2025; (1):74–83. DOI: 10.21055/0370-1069-2025-1-74-83.

5. Achtman M., Morelli G., Zhu P., Wirth T., Diehl I., Kusecek B., Vogler A.J., Wagner D.M., Allender C.J., Easterday W.R., Chenal-Francisque V., Worsham P., Thomson N.R., Parkhill J., Lindler L.E., Carniel E., Keim P. Microevolution and history of the plague bacillus, *Yersinia pestis*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2004; 101(51):17837–42. DOI: 10.1073/pnas.0408026101.

6. Cui Y., Yu C., Yan Y., Li D., Li Y., Jombart T., Weinert L.A., Wang Z., Guo Z., Xu L., Zhang Y., Zheng H., Qin N., Xiao X., Wu M., Wang X., Zhou D., Qi Z., Du Z., Wu H., Yang X., Cao H., Wang H., Wang J., Yao S., Rakin A., Li Y., Falush D., Balloux F., Achtman M., Song Y., Wang J., Yang R. Historical variations in mutation rate in an epidemic pathogen, *Yersinia pestis*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2013; 110(2):577–82. DOI: 10.1073/pnas.1205750110.

7. Balykova A.N., Kukleva L.M., Goryunova P.A., Shevchenko K.S., Kovrizhnikov A.V., Krasnov Ya.M., Chervyakova N.S., Eroshenko G.A., Kuttyrev V.V. [SNP-profiles of *Yersinia pestis* strains of the medieval biovar from the Caspian Sea region plague foci]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; (4):41–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-4-41-49.

8. Kovrizhnikov A.V., Balykova A.N., Kukleva L.M., Naryshkina E.A., Fedorov A.V., Chervyakova N.S., Eroshenko G.A., Kuttyrev V.V. [Molecular-genetic analysis of *Yersinia pestis* strains isolated in different epizootic periods on the territory of the Ural-Emba desert natural plague focus in the twentieth century]. *Izvestiya Saratovskogo Universiteta. Novaya Seriya. Seriya: Khimiya. Biologiya. Ekologiya. [Bulletin of the Saratov University. New series. Series: Chemistry. Biology. Ecology]*. 2023; 23(4):437–46. DOI: 10.18500/1816-9775-2023-23-4-437-446.

9. Onishchenko G.G., Kuttyrev V.V., editors. [Laboratory Diagnostics of Dangerous Infectious Diseases. Practice Guidelines]. 2<sup>nd</sup> edition, revised and updated. Moscow: “Shiko”; 2013. 560 p.

10. Wick R.R., Judd L.M., Gorrie C.L., Holt K.E. Unicycler: resolving bacterial genome assemblies from short and long sequencing reads. *PLoS Comput. Biol.* 2017; 23(4):e1005595. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1005595.

11. 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.

12. Virtanen P., Gommers R., Oliphant T.E., Haberland M., Reddy T., Cournapeau D., Burovski E., Peterson P., Weckesser W., Bright J., van der Walt S.J., Brett M., Wilson J., Millman K.J., Mayorov N., Nelson A.R.J., Jones E., Kern R., Larson E., Carey C.J., Polat I., Feng Y., Moore E.W., VanderPlas J., Laxalde D., Perktold J., Cimrman R., Henriksen I., Quintero E.A., Harris C.R., Archibald A.M., Ribeiro A.H., Pedregosa F., van Mulbregt P.; SciPy 1.0 Contributors. SciPy 1.0: fundamental algorithms for scientific computing in Python. *Nat. Methods*. 2020; 17(3):261–72. DOI: 10.1038/s41592-019-0686-2.

13. Akiba T., Sano S., Yanase T., Ohta T., Koyama M. Optuna: a next-generation hyperparameter optimization framework. In: KDD’19: Proceedings of the 25th ACM SIGKDD International Conference on Knowledge Discovery and Data Mining. New York; 2019. P. 2623–31. DOI: 10.1145/3292500.3330701.

14. Rousseeuw P.J. Silhouettes: A graphical aid to the interpretation and validation of cluster analysis. *J. Comput. Appl. Math.* 1987; 20:53–65. DOI: 10.1016/0377-0427(87)90125-7.

15. Posada D., editor. Bioinformatics for DNA Sequence Analysis. Totowa, N.J.: Humana Press; 2009. 354 p. DOI: 10.1007/978-1-59745-251-9.

16. Waskom M.L. Seaborn: statistical data visualization. *J. Open Source Softw.* 2021; 6(60):3021. DOI: 10.21105/joss.03021.

#### Authors:

Kovrizhnikov A.V., Balykova A.N., Fedorov A.V., Chervyakova N.S., Eroshenko G.A., Kuttyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrap@microbe.ru.

#### Об авторах:

Коврижников А.В., Балькова А.Н., Федоров А.В., Червякова Н.С., Ерошенко Г.А., Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrap@microbe.ru.