

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ
ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА
Федеральное казенное учреждение здравоохранения
«Иркутский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский
противочумный институт Сибири и Дальнего Востока»

На правах рукописи

ЯРЫГИНА МАРИНА БОРИСОВНА

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА *YERSINIA PESTIS*
В ТРАНСГРАНИЧНОМ САЙЛЮГЕМСКОМ ПРИРОДНОМ ОЧАГЕ
ЧУМЫ**

1.5.11 – микробиология

Диссертация
на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук,
профессор С.В. Балахонов

Иркутск – 2023

СОДЕРЖАНИЕ

	Стр.
ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1.1 Общие сведения о природной очаговости чумы.....	13
1.2 Характеристика Сайлюгемского природного очага чумы	17
1.2.1 Российская часть Сайлюгемского природного очага чумы (Горно-Алтайский высокогорный природный очаг чумы).....	18
1.2.2 Монгольская часть трансграничного Сайлюгемского при- родного очага чумы	23
1.2.3 Эпидемические проявления чумы в Сайлюгемском при- родном очаге	26
1.3 Современные методы идентификации и внутривидовой диф- ференциации штаммов чумного микроба.....	27
1.4 Генотипическое разнообразие чумного микроба.....	32
СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ	37
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	37
2.1 Используемые штаммы <i>Y. pestis</i> , условия культивирования...	37
2.2 Изучение культурально-морфологических, биохимических свойств, чувствительности к антибактериальным препаратам и виру- лентности исследуемых штаммов <i>Y. pestis</i>	38
2.3 Определение плазмидного профиля штаммов <i>Y. pestis</i>	42
2.4 MLVA-типирование.....	43
2.5 Статистическая обработка результатов.....	46
ГЛАВА 3 ФЕНОТИПИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ПЛАЗМИДНЫЙ ПРОФИЛЬ ШТАММОВ <i>Y. PESTIS</i> ИЗ САЙ- ЛЮГЕМСКОГО ПРИРОДНОГО ОЧАГА ЧУМЫ	47
ГЛАВА 4 МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИ- СТИКА ШТАММОВ <i>Y. PESTIS</i> SSP. <i>CENTRAL ASIATICA</i> АЛ-	

ТАЙСКОГО БИОВАРА ПРИ MLVA25-ТИПИРОВАНИИ.....	54
4.1 MLVA25 структура <i>Y. pestis</i> ssp. <i>central asiatica</i> алтайского биовара в трансграничном Сайлюгемском природном очаге чумы.....	54
4.2 Частота встречаемости аллелей в переменных VNTR локусах <i>Y. pestis</i> ssp. <i>central asiatica</i> алтайского биовара	77
ГЛАВА 5 ГЕНОТИПИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА <i>Y. PESTIS</i> SSP. <i>PESTIS</i> ПРИ MLVA25-ТИПИРОВАНИИ.....	81
5.1 Результаты MLVA25-типирования <i>Y. pestis</i> ssp. <i>pestis</i> в трансграничных природных очагах чумы России и Монголии.....	82
5.2 MLVA25 структура <i>Y. pestis</i> ssp. <i>pestis</i> в Сайлюгемском природном очаге чумы.....	84
5.2.1 Кластерный анализ штаммов <i>Y. pestis</i> ssp. <i>pestis</i> , изолированных в Сайлюгемском природном очаге чумы.....	87
5.2.2 Анализ частот аллелей в изменчивых локусах штаммов <i>Y. pestis</i> ssp. <i>pestis</i> , выделенных в трансграничном Сайлюгемском природном очаге чумы	99
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	106
ВЫВОДЫ.....	111
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	113
СПИСОК ЛИТЕРАТУРНЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	115
ПРИЛОЖЕНИЕ 1.....	141
ПРИЛОЖЕНИЕ 2.....	142
ПРИЛОЖЕНИЕ 3.....	143

ВВЕДЕНИЕ

Чума в современном мире, несмотря на успехи медицины в диагностике, лечении и профилактике этой болезни, остается одной из социально значимых инфекций. За последние 10 лет в мире зарегистрировано 5836 случаев чумы у людей. Наибольшее число заболевших за этот период наблюдалось в Республике Мадагаскар в 2017 г. – 2417, из них летальных – 229. В 2022 г. эпидемические проявления чумы официально зарегистрированы на территории трех государств, при этом общее число случаев заболевания составило 620, из них 12 закончились летальным исходом. Вместе с тем, в горных очагах, где носителями инфекции являются различные виды сурков, этот показатель может быть значительно выше. Проведение профилактических, а также собственно карантинных и противоэпидемических мероприятий при чуме связано со значительными экономическими и временными затратами [Butler, 2009; Piarroux et al, 2013; Попова и др., 2017; Popova et al, 2018; Campbell et al, 2019; Andrianaivoarimanana et al., 2019; Попов и др., 2021, 2022]. Существование природных очагов чумы на обширных территориях является основной причиной возможности эпидемических осложнений; как правило, этому предшествует активизация эпизоотического процесса среди носителей возбудителя. В настоящее время сохраняется высокая степень опасности возникновения спорадических и групповых случаев заболевания людей чумой, в том числе и в Российской Федерации. Именно на фоне резкого увеличения эпизоотической активности Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы в 2014-2016 гг. в Кош-Агачском районе Республики Алтай, зарегистрированы три случая заболевания людей чумой [Кутырев и др., 2014а, 2014б; Балахонов и др., 2016а, 2016б; Попова и др., 2016; Корзун и др., 2017]. До этих событий последний случай заболевания человека чумой на территории России отмечен в 1979 г. в Республике Калмыкия (п. Артезиан), и был связан с высокой эпизоотической активностью в Прикаспийском песчаном природном очаге чумы [Попов и др., 2015]. Кроме того, остается постоянная угроза завоза чумы в Россию из соседних стран (Монголия, Китай, Киргизия,

Казахстан), на территории которых расположены активные природные очаги, и в настоящее время периодически регистрируют заболеваемость людей [Адъяасурэн и др., 2010, 2014; Wang et. al., 2018].

В Российской Федерации существует 11 природных очагов чумы, из которых Горно-Алтайский высокогорный природный очаг в настоящее время является наиболее активным [Кутырев и др., 2014а; Балахонов и др., 2014; Попова и др., 2018]. Эпизоотии разной интенсивности в поселениях монгольской пищухи в нем регистрируются ежегодно, начиная с 1961 года. На долю этого зверька и его эктопаразитов приходится более 80 % выделенных культур чумного микроба центральноазиатского подвида [Балахонов и др., 2014]. В 2012 г. впервые был выделен высоковирулентный штамм чумного микроба основного подвида от трупа длиннохвостого суслика. [Балахонов и др., 2013]. Широкое распространение в поселениях серого сурка этого варианта возбудителя привело к ухудшению эпидемиологической ситуации в очаге в 2014-2016 гг. [Корзун и др., 2017]. Все это определяет необходимость изучения широкого круга вопросов, касающихся современной эпизоотологической ситуации, оценки эпидемиологических рисков для населения эндемичных по чуме территорий России и Монголии, а также молекулярно-генетического мониторинга возбудителя чумы.

Степень разработанности проблемы

Изучение генотипических особенностей штаммов чумного микроба, изолированных в российской части трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы (Горно-Алтайский очаг), началось в 80-х годах прошлого столетия, проведены первые исследования гомологии ДНК, плазмидного состава *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica*, особенностей фенотипической экспрессии отдельных генов чумного микроба [Балахонов и др., 2002]. С помощью VNTR-анализа по (5'-CAAA-3')_n установлено, что штаммы *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica*, изолированные в Уландрыкском, Тархатинском и Курайском мезоочагах, относятся к отдельным аллельным вариантам, которые отличаются по количеству повторов тетрануклеотидной последова-

тельности СААА [Балахонов и др., 2009]. С помощью ПЦР и SNP-типирования изучена современная популяционная структура *Y. pestis*, были идентифицированы филогенетические ветви античного (0.ANT3, 0.ANT5, 2.ANT3, 4.ANT), средневекового (2.MED0, 2.MED1) биоваров основного и неосновных подвидов (0.PE2, 0.PE4a, 0.PE4h, 0.PE4t) [Cui et al., 2013; Kutyrev et. al., 2018]. Тем не менее, вопросы изменения генотипического состава *Y. pestis* в пределах природного очага остаются малоисследованными. Совместная циркуляция двух вариантов возбудителя чумы (*Y. pestis* ssp. *pestis* и *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica*), широкая распространенность за короткое время чумного микроба основного подвида в трансграничном Сайлюгемском природном очаге, его высокая вирулентность и эпидемическая значимость, а также недостаточность информации по популяционной структуре *Y. pestis* в данном природном очаге вызывают необходимость дальнейшего углубленного изучения этого аспекта с применением современных молекулярно-генетических методов, в частности, пространственно-временной трансформации генотипической структуры *Y. pestis* на современном этапе развития очага.

Цель работы: изучить генетическое разнообразие и динамику пространственно-временной генотипической структуры *Y. pestis* в трансграничном Сайлюгемском природном очаге чумы методом MLVA25-типирования.

Для реализации поставленной цели последовательно решались следующие **задачи:**

1. Провести анализ генотипической структуры возбудителя чумы *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* в российской части трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы с использованием метода MLVA25-типирования.

2. Оценить частоту встречаемости аллелей наиболее вариабельных VNTR локусов *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* между Уландрыкским, Тархатинским и Курайским мезоочагами российской части Сайлюгемского природного очага чумы.

3. Изучить генотипическую структуру *Y. pestis ssp. pestis* в российской и монгольской частях Сайлюгемского природного очага чумы с помощью MLVA25 анализа.

4. Провести сравнительную оценку частоты встречаемости tandemных повторов в варибельных VNTR локусах *Y. pestis ssp. pestis* между пространственными группами штаммов в трансграничном Сайлюгемском природном очаге чумы.

Научная новизна. По результатам MLVA25-типирования 330 штаммов установлены основные особенности современной пространственной структуры *Y. pestis ssp. central asiatica* bv. altaica в российской части Сайлюгемского природного очага чумы. Показано, что в трех мезоочагах (Уландрыкском, Тархатинском, Курайском), расположенных в границах популяций монгольской пищухи, циркулируют относительно независимые совокупности чумного микроба центральноазиатского подвида алтайского биовара. Установлено, что MLVA25-структура этого варианта возбудителя в Уландрыкском и Курайском мезоочагах характеризуется постоянством во времени, а в Тархатинском мезоочаге наблюдаются выраженные изменения.

В трансграничном Сайлюгемском природном очаге чумы циркуляция *Y. pestis ssp. pestis* выявлена в российской части с 2012 г., в монгольской – с 2017 г. Данный подвид чумного микроба за этот период распространился практически по всей территории очага, при этом не обнаружено выраженного генетического разнообразия по MLVA25, выполненного методами UPGMA и MST. Новыми являются данные, полученные при анализе частоты встречаемости числа tandemных повторов по трем варибельным локусам у штаммов *Y. pestis ssp. pestis*, которые показывают значимые различия между изученными выборками.

Получены новые данные о генетической изменчивости 25 VNTR локусов: у *Y. pestis ssp. central asiatica* bv. altaica наблюдается значительное разнообразие по шести локусам (*yp2916ms07*, *yp1814ms20*, *yp0581ms40*, *yp1335ms46*, *yp4280ms62*, *yp1925ms71*), у *Y. pestis ssp. pestis* – по трем

(*yp2769ms06*, *yp1335ms46*, *yp4280ms62*). Установлено, что локус *yp4280ms62* является ключевым для пространственной дифференциации *Y. pestis* внутри трансграничного Сайлюгемского природного очага.

Теоретическая значимость. Показана пространственная неоднородность *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica*, связанная с субвидовой хорологической структурой монгольской пищухи. С помощью MLVA25 метода подтверждено, что распространение этого варианта возбудителя в Юго-Восточном Алтае произошло из Уландрыкского мезоочага сначала в Тархатинский, а затем в Курайский. Результаты MLVA25-типирования *Y. pestis* ssp. *pestis* демонстрируют низкую генотипическую изменчивость локусов в пространственных группах, на основании этого сформулирована гипотеза, что возбудитель чумы основного подвида в очаге циркулирует относительно недавно. Полученные данные дают обоснование комплексного использования филогенетических, эпизоотолого-эпидемиологических подходов для определения закономерности циркуляции чумного микроба в Сайлюгемском природном очаге чумы.

Практическая значимость. Полученные результаты способствуют оптимизации системы эпидемиологического надзора за чумой в трансграничном Сайлюгемской природном очаге. На основе выполненных исследований подготовлены и внедрены в работу методические документы: МР 4.2.0090-14 «Использование методов полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (рибопринтинг, электрофорез в пульсирующем поле) для идентификации возбудителей I-II групп патогенности», утверждены руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации 13.05.2014, федеральный уровень; МР «Эпизоотологическое обследование Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы», одобрены Ученым советом ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора 06.02.2017, протокол № 2 и утверждены заместителем директора института, учрежденческий уровень; МР

«Обеззараживание биологического материала, полученного от млекопитающих, добытых на территории сибирских природных очагов чумы», одобрены Ученым советом ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора 27.09.2020, протокол № 6 и утверждены директором института, учрежденческий уровень); база данных «Штаммы возбудителя чумы, изолированные в Горно-Алтайском природном очаге» (Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2018621221), «Учебно-методическое пособие к практическим занятиям по лабораторной диагностике чумы: для врачей-бактериологов (биологов) и преподавателей» (Иркутск, 2022).

Научные и практически значимые материалы исследований внедрены в практику научно-исследовательской работы ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора и ФКУЗ «Алтайская противочумная станция» Роспотребнадзора при проведении эпидемиологического надзора за чумой, включены в лекционные курсы при подготовке кадров учреждений Роспотребнадзора и других ведомств по программам дополнительного профессионального образования при ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора.

Методология и методы исследования

В работе использованы частные и общенаучные методы исследования (биологические, микробиологические, биохимические, молекулярно-генетические, биоинформационные и статистические). Биологическим методом определяли вирулентность и LD_{50} . Микробиологическими методами изучали культуральные свойства, ферментативную активность, пигмент-сорбцию, зависимость роста штаммов чумного микроба от ионов кальция, питательные потребности в факторах роста штаммов *Y. pestis*. Молекулярно-генетические методы включали определение плазмидного профиля и MLVA25 типов *Y. pestis*. Все полученные материалы статистически обработаны стандартными методами вариационной статистики.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Установлено значительное разнообразие штаммов *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* из трансграничного Сайлюгемского природного очага по шести вариабельным локусам (*yp2916ms07*, *yp1814ms20*, *yp0581ms40*, *yp1335ms46*, *yp4280ms62*, *yp1925ms71*).

2. В Уландрыкском, Тархатинском и Курайском мезоочагах российской части трансграничного Сайлюгемского природного очага распространен возбудитель чумы алтайского биовара центральноазиатского подвида, обладающий своим VNTR-профилем при филогенетическом анализе, выполненном методами UPGMA и MST. Частота встречаемости аллелей по шести вариабельным локусам в этих мезоочагах существенно различается.

3. У штаммов *Y. pestis* ssp. *pestis*, изолированных в трансграничном Сайлюгемском природном очаге чумы, отсутствует выраженная географическая структурированность при филогенетическом анализе, выполненном методами UPGMA и MST. Сравнение частоты встречаемости аллелей в трех изменчивых локусах (*yp2769ms06*, *yp1335ms46*, *yp4280ms62*) показывает четкую пространственную дифференциацию между штаммами, полученными на монгольской и российской территориях очага.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность результатов работы подтверждается достаточным объемом собранного материала, выполнением исследований с помощью современных методов и технологий, статистическим анализом полученных данных.

Материалы, изложенные в диссертации, представлены и обсуждены на научно-практических конференциях, конгрессах, съездах: «Основные проблемы охраны окружающей среды и обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Сибирском федеральном округе, перспективы их решения» (Горно-Алтайск, 2013); «Вклад государственных участников Содружества Независимых Государств в обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия населения в современных условиях» (Саратов, 2014); «Диагностика и профилактика инфекционных болезней на

современном этапе» (Новосибирск, 2016); «Биоразнообразии, проблемы экологии Горного Алтая и сопредельных регионов: настоящее, прошлое, будущее» (Горно-Алтайск, 2016); «Состояние и тенденции развития лабораторной диагностики инфекционных болезней в современных условиях» (Санкт-Петербург, 2016); «V Национальный конгресса бактериологов» (Москва, 2016); «XI съезд Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов (ВНОЭМП)» (Москва, 2017); «Актуальные проблемы болезней, общих для человека и животных» (Ставрополь, 2017); «Молекулярная диагностика» (Москва, 2017); «Current issues on zoonotic diseases» (Ulaanbaatar, 2017); «Обеспечение эпидемиологического благополучия: вызовы и решения» (Москва, 2017); «V Национальный конгресс бактериологов» (Москва, 2019); Current issues on zoonotic diseases: 23rd International Scientific Conference (Ulaanbaatar, 2019.); XV Межгосударственная научно-практическая конференция «Актуальные вопросы обеспечения эпидемиологического благополучия в трансграничных природных очагах чумы и других опасных инфекционных болезней» (Иркутск, 2021); «Актуальные проблемы зоонозных инфекций, посвященные 90-й годовщине Национального центра зоонозных инфекций (NCZD)» (Монголия, 2021); Молекулярная диагностика и биобезопасность-2022 (Москва, 2022); XVI Межгосударственная научно-практическая конференция по вопросам санитарной охраны территории и снижения риска распространения чумы (Санкт-Петербург, 2022); Материалы международного симпозиума «*Yersinia 14*» (Санкт-Петербург, 2022); VII Национальный конгресс бактериологов (Санкт-Петербург, 2022); «Актуальные вопросы обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения Сибири и Дальнего Востока» (Иркутск, 2022).

В основу диссертационной работы положены исследования, проведенные в рамках четырех тем НИР ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора: «Природная очаговость чумы в Сибири: структурированность компонентов и динамика эпизоотического процесса» 2011-2015 гг. (001-1-11, № гос. регистрации 01201068219);

«Структурно-функциональные особенности природной очаговости чумы в Сибири и обеспечение эпидемиологического благополучия населения» 2016-2020 гг. (001-1-16, № гос. регистрации АААА-А16-116042710047-5; «Изучение современного состояния трансграничных с Россией природных очагов чумы Монголии для обеспечения эпидемиологического благополучия населения» 2020-2022 гг. (003-1-20, № гос. регистрации АААА-А20-1200204900-1); «Совершенствование системы эпидемиологического надзора за чумой в сибирских природных очагах в условиях активизации их эпизоотической активности» 2021-2025 гг. (001-1-21, № гос. регистрации АААА-А21-121011190040-6).

Место выполнения работы и личный вклад диссертанта. Работа выполнена в ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора. Диссертантом сформулированы цель работы, задачи исследования, положения, выносимые на защиту. Автором лично подобрана и проанализирована литература, проведено планирование, осуществлены исследования, сделана статистическая обработка данных, анализ, обобщение результатов и подготовка публикаций. Автор принимал непосредственное участие в эпизоотологическом мониторинге Сайлюгемского природного очага чумы в 2012-2021 гг.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 27 работ, в том числе 11 статей в научных журналах, рекомендованных ВАК для публикации основных материалов кандидатских диссертаций.

Объем и структура работы. Диссертация состоит из введения, одной главы обзора литературы, четырёх глав собственных исследований, заключения, выводов и списка литературных источников. Работа изложена на 143 страницах машинописного текста, иллюстрирована 11 таблицами и 17 рисунками. Список литературных источников содержит 199 наименований, в том числе 68 – на английском языке.

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Общие сведения о природной очаговости чумы

Чума – зооантропонозная особо опасная инфекция, природные очаги которой расположены по всему миру, кроме Австралии и Антарктиды, и в настоящее время представляет угрозу человечеству, ежегодно вызывая спорадические, групповые случаи заболеваний или вспышки в природных очагах [Онищенко и др., 2004; Попова и др., 2017; Попов и др., 2021, 2022]. С 2012 по 2022 гг. заболеваемость чумой людей в мире составила 5643 случая, из которых 768 (13,6 %) закончилась летальным исходом. Наиболее высокие показатели отмечаются в странах Африки – 5519, из них летальных 741. Групповая и спорадическая заболеваемость регистрируется в Америке – 93 из них 13 летальных и странах Азии – 31, из них 14 летальных [Попов и др., 2020; 2021; 2022]

На территории стран бывшего СССР находится 45 природных очагов чумы, расположенных в равнинных и горных ландшафтах Кавказа и Закавказья, Северо-Западного и Северного Прикаспия, Средней Азии и Казахстана, Сибири; они различаются по размерам, биоценотической и пространственной структуре, эпизоотической и эпидемической активности [Онищенко и др., 2004; Кутырев и др., 2016]. В настоящее время в России выделяют 11 природных очагов чумы [Онищенко и др., 2004; Кутырев и др., 2016]. В течение текущего столетия одни из них отличаются высокой эпизоотической активностью (Горно-Алтайский, Тувинский, Прикаспийский песчаный), другие характеризуются значительным её снижением, вплоть до глубокой депрессии. Это наблюдается в равнинных, предгорных и низкогорных природных очагах чумы в Предкавказье, Прикаспии и Сибири [Попов и др., 2012, 2016, 2017, 2019, 2020, 2021; 2022], хотя в прошлом их эпидемический потенциал был высок [Онищенко и др., 2004; Кутырев, Попова, 2016].

Еще Д.К. Заболотный (1899) предположил, что чума – прежде всего болезнь диких грызунов, через их блох или непосредственно при контакте с

млекопитающими может заразиться человек. Работы российских исследователей чумы начала XX в. (Д.К. Заболотный, И.А. Деминский, Н.Н. Клодницкий, Н.Ф. Гамалея, А.М. Скородумов и др.) позволили Е.Н. Павловскому сформировать учение о природной очаговости болезней. Он первый дал определение понятия «природный очаг», которое постепенно совершенствовалось [Павловский, 1939, 1946] и выглядит следующим образом: «Природным очагом является участок территории определенного ландшафта, на котором эволюционно сложились определенные межвидовые взаимоотношения между возбудителем болезни, животными-донорами и реципиентами возбудителя, и его переносчиками при наличии факторов внешней среды, благоприятствующих или, во всяком случае, не препятствующих циркуляции возбудителя» [Павловский, 1955].

Природные очаги существуют благодаря циркуляции в них возбудителя, основанной на биоценотических связях. Все взаимодействия в биоценозе между возбудителем болезни и его донорами, переносчиками и реципиентами сложились в процессе эволюции организмов и межвидовых отношений на определенном фоне внешней среды без какой-либо зависимости или связи с человеком [Ралль, 1958; Кучерук, 1972; Наумов, 1972]. В.В. Кучерук внес весьма важный вклад в развитие учения о природной очаговости чумы. В его понимании, «очаг природный – наименьшая территория одного или нескольких ландшафтов, где в современных геобиоценозах циркуляция возбудителя осуществляется без заноса его извне неопределенно долгий срок (много следующих друг за другом эпизоотических циклов). Природный очаг явление индивидуальное. Его границы могут быть определены на местности и очерчены на карте» [Кучерук, Росицкий, 1984].

Э.И. Коренберг [2010, 2013] считает, что «границы природного очага инфекционной болезни определяются пространственным расположением популяции возбудителя». По мнению В.В. Кучерука [1972], каждый природный очаг «населяет обычно несколько независимых популяций возбудителя», которые располагаются на участках относительно устойчивого сохранения ин-

фекции. При выделении моногостального природного очага чумы основываются на том, что он территориально и функционально совпадает с популяцией основного носителя возбудителя [Кучерук, Дубровский, 1984; Слудский и др., 2003, 2019].

Следует обратить внимание на то, что территория любого природного очага по своей пространственной структуре неоднородна. Очаг как цельная экосистема может состоять из нескольких относительно самостоятельных мезоочагов (участков очаговости) [Кучерук, 1972; Ротшильд, 1978], которые территориально совпадают с отдельными популяциями носителя [Кучерук, Бибииков, 1980; Балахонов и др., 2014; Вержуцкий, Балахонов, 2016].

Паразитарные контакты между особями из различных внутривидовых группировок создают надлежащие условия для перемещения чумного микроба в пределах популяции носителей. В соответствии с пространственно-структурно-иерархической организацией последних определяется пространственно-структурная организация у микроба чумы [Чумакова, Козлов, 2008].

Классическая схема циркуляции чумного микроба основана на трансмиссивном пути передачи, с помощью которого возбудитель чумы сохраняется как биологический вид в ходе эпизоотического процесса [Ралль, 1958]. Природные очаги чумы – динамичные сложные паразитарные системы, в которых активность эпизоотических проявлений существенно меняется как во времени, так и в пространстве. Взаимодействие популяций носителей, переносчиков и возбудителя в конкретных экологических условиях обеспечивает их функционирование. Здесь уместно отметить, что «под структурой паразитарной системы природного очага чумы мы понимаем количественный и качественный состав носителей, переносчиков и возбудителя. Носитель (хозяин) – теплокровное животное, способное в естественных условиях заразиться и болеть чумой, а переносчик – кровососущие членистоногие, способные в естественных условиях передавать возбудителя от донора к реципиенту» [Онищенко и др., 2004].

Существование природных очагов чумы на обширных территориях является основной причиной возможности эпидемических осложнений; как правило, этому предшествует активизация эпизоотического процесса среди носителей возбудителя. На территории России в последние 10 лет эпизоотии выявлены в пяти природных очагах. В 2012-2013 гг. в Восточно-Кавказском высокогорном природном очаге получены культуры *Y. pestis* ssp. *caucasica*. В Прикаспийском песчаном очаге в 2013-2015 гг. – 60 штаммов *Y. pestis* ssp. *pestis*. В 2021 г., после 14 летнего перерыва в Центрально-Кавказском высокогорном природном очаге выделено 11 штаммов чумного микроба основного подвида. В Тувинском горном очаге чумы *Y. pestis* ssp. *pestis* эпизоотии регистрировались ежегодно, кроме 2017 года, за этот период изолировано 239 штаммов. В Горно-Алтайском высокогорном очаге в 2012-2021 гг. получено 268 штаммов чумного микроба, из них *Y. pestis* ssp. *pestis* – 163, *Y. pestis* ssp. *central asiatica* biovar (bv.) *altaica* – 105. Именно на фоне резкого увеличения эпизоотической активности Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы в 2014-2016 гг. в Кош-Агачском районе Республики Алтай зарегистрированы три случая заболевания людей чумой [Кутырев и др., 2014а, 2014б; Балахонов и др., 2016а, 2016б; Попова и др., 2016; Корзун и др., 2017]. Всего в 2012-2021 гг. на энзоотичной по чуме территории Российской Федерации выделено 582 штамма чумного микроба. Общая площадь выявленных эпизоотий чумы составляет 21028,6 км² [Попов и др., 2021; 2022].

Кроме того, остается постоянная угроза завоза чумы в Россию из соседних стран (Монголия, Китай, Киргизия, Казахстан), на территории которых расположены активные природные очаги и в настоящее время периодически регистрируют заболеваемость людей [Адьяасурэн и др., 2010, 2014; Цэрэнноров и др., 2014; Wang et al., 2018; Вержуцкий, Адьяасурэн, 2019]. Протяженность Государственной границы России с Монголией и Китаем составляет 7694 км, из них с Монголией 3485 км, с Китаем – 4209 км [Попова и др., 2018]. В 2012-2021 гг. в Китайской Народной Республике было за-

регистрировано 15 случаев заболевания чумой у людей, из которых 6 закончились летальным исходом, и 12 случаев в Монголии, из них 7 летальных [Попов и др., 2022]. Значительная часть энзоотичной по чуме территории находится в районах приграничных с этими государствами [Онищенко и др., 2004].

Широко известно, что в природных очагах чумы часто наблюдается перемещение эпизоотий по территории, они проявляются не только в местах стойкого сохранения возбудителя, но и на прилежащих и даже значительно отдаленных участках. Наименьшей структурной единицей эпизоотии является «очажок» (группа) зараженных колоний. Территориальное перемещение эпизоотии осуществляется двумя путями. Первый – передача чумы на соседние колонии со скоростью 100-150 м за 10 дней (минимально необходимый срок очередного пассажа), то есть рост очажка по типу расползания масляного пятна. Второй путь – дальний (до 1-2 км) занос зараженных блох или забег зараженного зверька, являющийся основным способом перемещения эпизоотии [Наумов и др., 1972].

1.2 Характеристика Сайлюгемского природного очага чумы

Сайлюгемский природный очаг чумы расположен на территории России и Монголии. Северная (российская) часть очага по номенклатуре природных очагов чумы Российской Федерации носит название Горно-Алтайский высокогорный природный очаг чумы. Он административно расположен в Кош-Агачском районе Республики Алтай. Южная (монгольская) часть находится в Баян-Улгийском аймаке Монголии (Цагаануур, Ногооннуур, Улаанхус, Бугат, Цэнгел сомоны). Общая площадь составляет 28570 км²: на монгольской – 17000 км², на российской – 11570 км² (рисунок 1). Природно-климатические условия, географический ландшафт в обеих частях очага практически одинаковый. В очаге циркулирует чумной микроб двух подвидов: центральноазиатского подвида алтайского биовара *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* филогенетической ветви 0.PE4a (классификация *Y. pestis* приводится по [Kutyrev et al., 2018; Попов и др., 2020], ранее использовали наименование *Y.*

pestis ssp. *altaica* [Тимофеева, 1972]) и основного подвида *Y. pestis* ssp. *pestis* античного биовара филогенетической ветви 4.ANT.

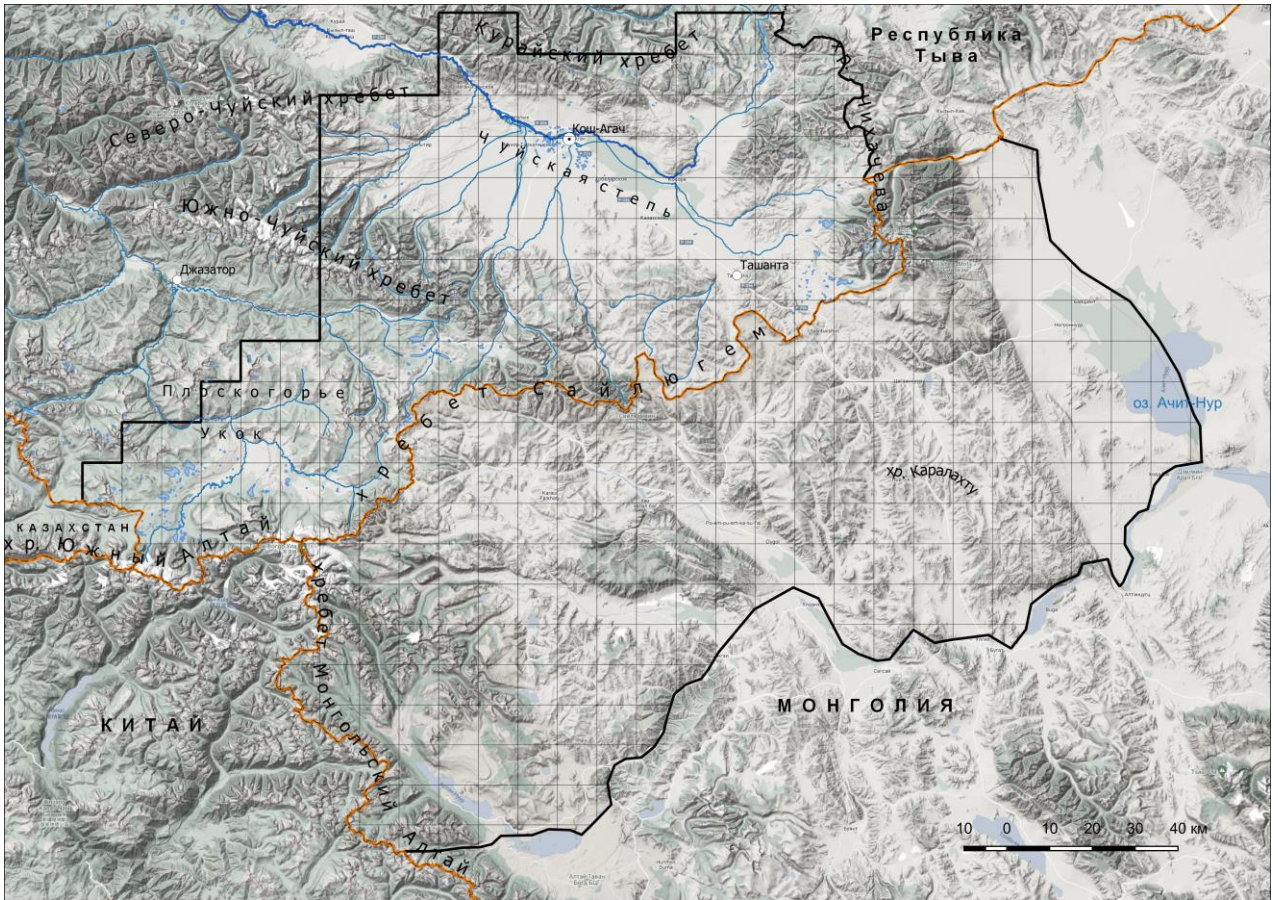


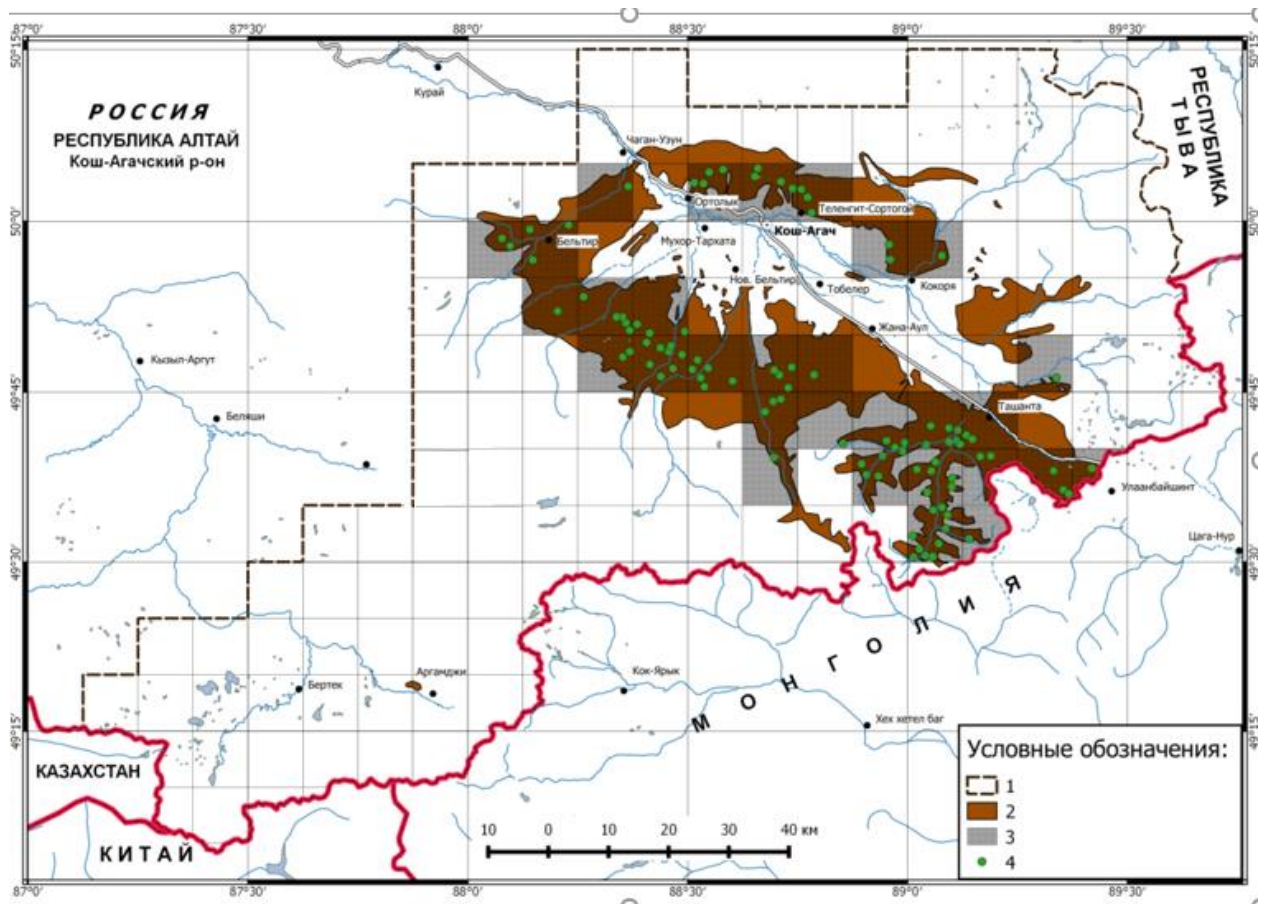
Рисунок 1 – Трансграничный Сайлюгемский природный очаг чумы. Красная линия – государственная граница, черная линия – граница очага.

1.2.1 Российская часть Сайлюгемского природного очага чумы (Горно-Алтайский высокогорный природный очаг чумы)

Российская часть Сайлюгемского природного очага чумы расположена на склонах хребтов, окружающих Чуйскую степь: на юге – Сайлюгема и Южно-Чуйского, на севере – Курайского, на северо-западе – Северо-Чуйского, с востока его ограничивает хребет Чихачева. В территорию очага включена также степная (юго-восточная) часть плоскогорья Укок. Общая площадь очага – 11570 км².

Энзоотичная по чуме территория при циркуляции *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* находится на высотах от 1800 до 2600 м над у.м. В поддержании эпизоотического процесса в российской части Сайлюгемского природного очага чумы основная роль принадлежит монгольской пищухе (*Och-*

otona pallasi) [Балахонов и др., 2014]. В очаге при циркуляции чумного микроба центральноазиатского подвида алтайского биовара выделены три мезо-очага: Уландрыкский, Тархатинский, Курайский, которые территориально и функционально связаны с соответствующими популяциями основного носителя [Балахонов и др., 2014]. Впервые возбудитель чумы алтайского биовара в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге выделен в 1961 г. [Балабкин и др., 1962]. С 1961 по 2021 г. в очаге выделено 2438 штаммов возбудителя чумы алтайского биовара, на долю основного носителя и ее эктопаразитов приходится более 80 % изолированных штаммов (рисунок 2).



1 – граница очага, 2 – ареал монгольской пищухи, 3 – сектора изоляции возбудителя чумы, 4 – точки выделения чумного микроба.

Рисунок 2 – Места выделения *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* и область распространения монгольской пищухи в российской части Сайлюгемского природного очага чумы в 2012-2020 годах.

В российской части трансграничного Сайлюгемского природного очага возбудителя чумы алтайского биовара центральноазиатского подвида, изоли-

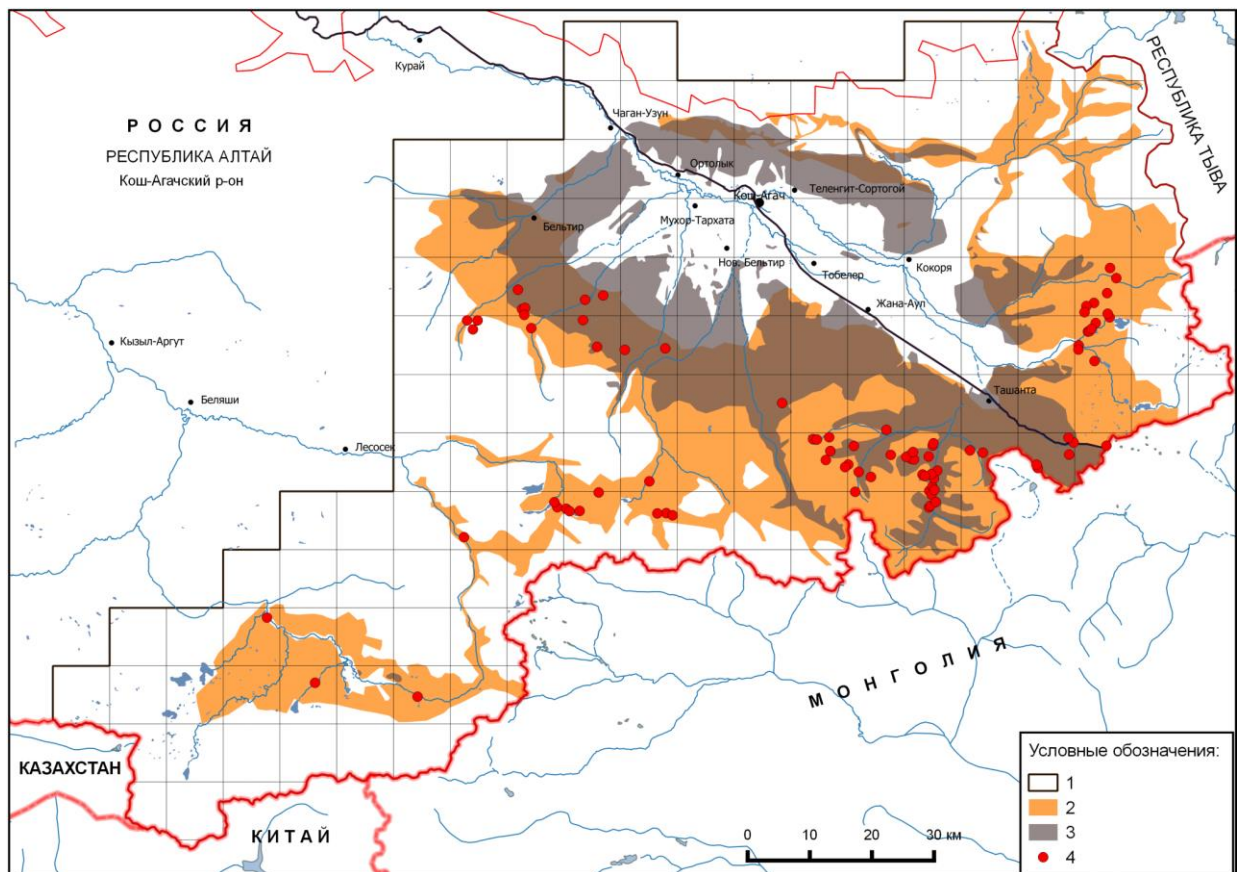
ровали в разные сезоны года, что связано с особенностями жизнедеятельности монгольской пищухи и ее блох [Балахонов и др., 2014]. Внутригодовая активизация эпизоотических проявлений наблюдается в апреле-июне и сентябре-октябре. Весной она связана с жизнедеятельностью следующих видов блох – *Amphalius runatus*, *Frontopsylla hetera*, *Stenophyllus hirticrus*, *Amphipsylla primaris* [Иннокентьева и др., 2004]. Осенью – сезонным повышением численности монгольской пищухи, осенними индексами обилия имаго блох массовых видов, в первую очередь эффективного переносчика – *Paradoxopsyllus scorodumovi* и вовлечением его в трансмиссию возбудителя, активно участвуют в передаче возбудителя *Rhadinopsylla dahurica* и два других вида рода *Paradoxopsyllus* [Машковский, 1986; Иннокентьева и др., 2004]. «В российской части Сайлюгемского природного очага наблюдается долговременная трансформация структуры многовидовых сообществ блох монгольской пищухи, также установлена и их неоднородность в разных мезоочагах» [Корзун и др., 2012; Ярыгина и др., 2014].

Второстепенными носителями возбудителя чумы *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* в очаге являются даурская пищуха (*Ochotona daurica*), длиннохвостый суслик (*Citellus undulatus*) и плоскочерепная полевка (*Alticola strelzovi*), случайными – серый (алтайский) сурок (*Marmota baibacina*), тушканчик-прыгун (*Allactaga saltator*), степной хорь (*Mustela eversmanni*), хомячок Кэмпбелла (*Phodopus campbelli*), алтайская пищуха (*Ochotona alpine*) [Балахонов и др., 2014].

Основным носителем *Y. pestis* ssp. *pestis* является серый сурок (*Marmota baibacina*). При циркуляции чумного микроба основного подвида выделение крупных структурных элементов очага – мезоочагов делать еще преждевременно, так как популяционная структура серого сурка – основного носителя данного подвида изучена еще недостаточно. С 2012 по 2022 г. в российской части Сайлюгемского природного очага чумы выделено 84 штамма *Y. pestis* ssp. *pestis*, на долю основного носителя и основного переносчика – блохи *Oropsylla silantiewi* приходится более 86 % изолированных штаммов.

«Пространственная структура населения носителей возбудителей чумы в российской части трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы, их уровень вовлеченности в эпизоотический процесс на разных территориях очага, анализ эпизоотических проявлений на отдельных точках эпизоотологического обследования» подробно рассмотрены в работе А.В. Денисова [Денисов, 2018].

Сначала обнаружения первых эпизоотических проявлений и по настоящее время эпизоотии различной интенсивности регистрируют в очаге ежегодно. Области распространения *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* и *Y. pestis* ssp. *pestis* на большой территории Юго-Восточного Алтая перекрываются (рисунки 3).



1 – граница очага, 2 – ареал серого сурка, 3 – ареал монгольской пищухи, 4 – точки выделения чумного микроба основного подвида.

Рисунок 3 – Места выделения *Y. pestis* ssp. *pestis* и область распространения носителей возбудителя чумы в российской части Сайлюгемского природного очага чумы в 2012-2020 годах.

В пределах очага, занимающего большую часть территории Юго-Восточного Алтая, «на монгольской пище зарегистрировано 44 вида блох, входящих в 21 род и 5 семейств, 3 вида представлены подвидами, в каждом случае (всего 47 форм). На монгольской пище обнаружено 38 видов (41 форма)» [Корзун и др., 2015]. Количественная характеристика некоторых видов блох за время наблюдения очага сильно менялась, кроме того, в разных мезоочагах она также значительно отличается [Ярыгина и др., 2012]. Сведения о естественной зараженности блох чумным микробом в очаге приводились неоднократно [Васильев, Лазарева, 1968; Асташин и др., 1974; Машковский, Елистратова, 1984; Голубинский и др., 1987; Иннокентьева и др., 2004]. Все блохи массовых видов в разной степени способны заражаться и передавать чумной микроб [Иннокентьева, 1997]. Относительное количество штаммов возбудителя чумы, изолированных от блох отдельных видов, в разных мезоочагах российской части трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы значительно отличается, кроме того, этот показатель изменяется и во времени. Первое обусловлено различием в структуре многовидовых сообществ эктопаразитов на данных территориях, а второе – их долговременной трансформацией. Ранее считалось, что в трансмиссию возбудителя чумы алтайского биовара постоянно вовлечены шесть видов блох: *A. runatus*, *P. scorodumovi*, *C. hirticrus*, *F. hetera*, *R. dahurica*, *A. primaris* [Машковский, 1986; Голубинский и др., 1987]. В настоящее время во всех трех мезоочагах в этот процесс широко вовлечены три вида, которые отнесены к основным переносчикам: *P. scorodumovi*, *A. runatus*, *C. hirticrus*. На каждом из участков очаговости к ним присоединяются блохи других видов, которые отнесены к дополнительным переносчикам: на Курайском – *P. kalabukhovi*, *P. scalonae*; на Тархатинском – *Paradoxopsyllus kalabukhovi*, *R. dahurica*, *F. hetera*, *Paramonopsyllus scalonae*; на Уландрыкском – *A. primaris*, *R. dahurica*; [Корзун и др., 2014].

До 2012 г. в очаге отмечалась циркуляция только *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica*. В 2012 г. от трупа длиннохвостого суслика (*Spermophilus*

undulatus, Pallas, 1778) в урочище Большие Сары-Гобо в нескольких километрах от государственной границы с Монголией впервые изолирован высоковирулентный штамм возбудителя чумы основного подвида [Балахонов и др., 2013].

Основным носителем *Y. pestis* ssp. *pestis* является серый сурок (*Marmota baibacina*), основным переносчиком – специфичная блоха сурков (*Oropsylla silantiewi*). Возбудитель чумы также выделяли от специфичных эктопаразитов сурков – иксодовых клещей *Ixodes crenulatus* и вшей *Linognathoides palearcticus*, блох *Citellophilus tesquorum*, *R. li transbaikalica*, *O. alaskensis*, *P. scalloniae* (с длиннохвостого суслика и монгольской пищухи) и вшей длиннохвостого суслика. О степени вовлеченности в эпизоотический процесс, вызванный *Y. pestis* ssp. *pestis*, отдельных видов эктопаразитов имеющиеся материалы не позволяют сделать обоснованных выводов.

1.2.2 Монгольская часть трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы

Монгольская часть Сайлюгемского природного очага чумы, находящаяся на территории Северо-Западной Монголии (Цагаануур, Ногооннуур, Уланхус, Бугат сомоны Баян-Улгийского аймака), приурочена к южному макросклону хребта Сайлюгем, южному окончанию хребта Чихачева и горным системам, находящимся к югу от них, с юга и востока очаг ограничен р. Ховд и р. Бухэ-Мурен, с запада хребтом Монгольский Алтай (абсолютные высоты 2000-2800 м н.у.м.), занимает площадь около 17000 км². Культура чумного микроба впервые выделена в 1953 г. от трупа сурка в урочище Заг [Некипелов, 1959]. В сентябре 1955 г. в урочище Борхаг возбудитель чумы выделен от монгольской пищухи. С 1958 по 1990 год изоляты получали регулярно, пока осуществлялось эпизоотологическое обследование данной территории [Демина и др., 1961; Щекунова и др., 1963; Логачев и др., 1978; Сотникова и др., 1980; Батсух и др., 1988]. Здесь было выделено три участка очаговости: западный – в урочищах Жалпак, Зуслан-Булаг, Ортен-Булаг, Бага-Булаг, Шар-Булаг, Худаг; восточный, который расположен в урочищах Шинэ-Дава,

Борхаг, Кок-Сай, Хунтен-Сай, Бухан-Талгай; северный – в урочищах Хаг-Нур, Жаргалант, Бурат, Заг, Харалдай, Маслозавод, Холбо-Нур, Дурбет-Даба, Харамандай [Солдатов и др., 1978; Лазарев и др., 1988]. За этот период было изолировано около 500 штаммов *Y. pestis*, большинство из которых относилось к алтайскому биовару и в редких случаях к ульгийскому подвиду [Логачев и др., 1978; Сотникова и др., 1980; Батсух и др., 1988]. Эпизоотии преимущественно проходили в поселениях монгольской пищухи – основного носителя чумы данного подвида и 70 % выделенных штаммов приходилось на долю этого зверька и ее блох.

В летне-осенний период основным переносчиком является блоха монгольской пищухи *P. scorodumovi*. В настоящее время, наблюдается депрессия численности монгольской пищухи, в результате чего снизилась эпизоотическая активность. При эпизоотологическом обследовании монгольской части трансграничного Сайлюгемского природного очага в 2017-2021 гг. на значительной его территории выявлена циркуляция возбудителя чумы основного подвида в популяции серого сурка [Балахонов и др., 2018; Корзун и др., 2021].

Монгольская пищуха является основным носителем алтайского и улэгейского подвидов чумного микроба [Сотникова и др. 1974а]. Среднемноголетняя численность в очаге по данным 1959-1983 гг. составляла 2,3 жилой норы на 1 га. В 2017 и 2018 гг. на обследованной территории очага уровень численности равнялся 3,7 и 5,3 жилой норы на 1 га.

Второстепенными носителями возбудителя чумы в очаге являются даурская пищуха (*Ochotona daurica*), длиннохвостый суслик (*Citellus undulatus*) и плоскочерепная полевка (*Alticola strelzovi*). Среднемноголетняя численность даурской пищухи в очаге (1959-1983 гг.) составляла 1,2 жилой норы на 1 га. По результатам обследования очага в 2017 и 2018 гг. численность даурской пищухи в оптимальных биотопах находилась на этом же уровне и составила 1,2 и 0,9 жилой норы на 1 га [Попова и др., 2018]. Уровень среднемноголет-

ней (1958-1983 гг.) численности по очагу длиннохвостого суслика равнялся 3,5 особи на 1 га, в 2017-2018 гг. в – 6,2 особи на 1 га.

Серый сурок распространен по всей территории очага, является основным носителем возбудителя чумы основного подвида. Его среднесуточная численность в очаге в 1959-1983 гг. составляла 0,8 жилого бутана на 1 га. В 2017 и 2018 гг. на обследованной территории плотность равнялась 1,8 и 3,0 жилых бутана на 1 га соответственно.

На территории монгольской части Сайлюгемского природного очага в 1959-1983 гг. на монгольской пище паразитировало 47 видов и подвигов блох. Наиболее массовыми из них являются *A. runatus*, *C. hirticrus*, *P. scordumovi*, *P. scalonae*, *F. hetera*, *Paradoxopsyllus dashidorzhii*, *R. dahurica* [Кошкин, Хумархан, 1974; Лазарева, Кошкин, 1975]. От этих видов блох за анализируемый период изолировано более 85 % штаммов возбудителя чумы. В настоящее время также отмечено доминирование перечисленных видов на монгольской пище [Корзун и др., 2018].

На сером сурке в 1953-1983 гг. отмечено паразитирование 18 видов блох. Индекс доминирования специфичной блохи серого сурка *O. silantiewi* равнялся 75,6 %, в 2017-2018 гг. – 100 %.

С 2017 г. при поддержке Правительства Российской Федерации реализуется Программа по снижению эпидемиологических рисков на территории трансграничных природных очагов чумы и приказов Руководителя Роспотребнадзора № 1289 от 29.12.2016 г. и № 266 от 07.05.2020 г. для обеспечения эпидемиологического благополучия населения по чуме. В рамках данной Программы совместно со специалистами Национального центра зоонозных инфекций МЗ Монголии, Баян-Ульгийского аймачного центра зоонозных инфекций, организованы российско-монгольские эпидотряды, которые осуществляли мониторинг эпизоотической ситуации в трансграничном Сайлюгемском природном очаге чумы в летние сезоны 2017-2022 гг.

При возобновлении эпизоотологического мониторинга монгольской части Сайлюгемского природного очага чумы в 2017 г. впервые было установ-

лено, что здесь наблюдается циркуляция эпидемически значимого варианта возбудителя чумы основного подвида. Эпизоотии регистрируются ежегодно в поселениях серого сурка [Корзун и др., 2018].

1.2.3 Эпидемические проявления в Сайлюгемском природном очаге чумы

Эпидемический потенциал российской части трансграничного Сайлюгемского природного очага значительно изменился после того, как в поселениях серого сурка с 2012 г. начал циркулировать высоко патогенный эпидемически значимый возбудитель чумы основного подвида [Балахонов и др., 2013; Корзун и др., 2015, 2017]. Впервые, более чем за 60 лет мониторинга этой части очага, в 2014-2016 гг. зарегистрированы три случая заболевания бубонной формой чумы у людей [Кутырев и др., 2014; Балахонов и др., 2016]. Заболевшими были местные жители, относящиеся к коренному населению Алтая. Сурки добыты в Тархатинском мезоочаге: в первом случае (2014 г.) в Урочище Сербисту, в 2015 г. – Урочищах Анаяк и Сазын-Кель в долине р. Елангаш, в 2016 г. – в верхней части долины р. Ирбисту. Во всех случаях заражение чумой произошло через поврежденные кожные покровы рук при разделке серых сурков. Чумной микроб выделен в первом случае из пунктата чумного бубона, во втором – из изъятых у заболевших добытых сурков, в третьем – смывов из ротоглотки контактировавшего.

На монгольской территории трансграничного Сайлюгемского природного очага в 2019 г. Цагаануур сомоне (Баян-Улгийского аймака) было зарегистрировано 2 случая заболевания чумой людей. Заболели женщина 37 лет и мужчина 38 лет. Чума протекала в бубонной форме, течение болезни осложнилось развитием вторичной септической формы и полиорганной недостаточностью, что привело к летальному исходу в обоих случаях. Источником инфекции послужил сурок, заражение произошло при разделке тушек и при употреблении в пищу термически необработанных органов сурков.

Ранее чума среди населения регистрировалась в соседних сомонах Баян-Улгийского аймака. Впервые в 1989 г. в Толбо сомоне, граничащем с энде-

мичным Ховдоским аймаком. В последующем случаи заболеваемости среди людей зафиксированы в Толбо (1990, 1993 гг.), Дэлуун (1991 г.), Буянт (1998 г.), Улаанхус (1999 г.), Бугат (2002 г.), Сагсай (2009 г.), Цэнгэл (2010 г.) сомонах Баян-Улгийского аймака; в последние годы в соседних аймаках – Ховдском – в Алтай (2013, 2020 г.), Булган (2015 г.), Жаргалант (2017, 2020 г.) и Цэцэг (2020 г.) сомонах; в Завханском в Тосонцэнгэл сомоне (2020 г.), а также в Тугруг сомоне (2020 г.) Гоби-Алтайского аймака. Всего с 1989 по 2019 год в семи из 14 сомонов Баян-Улгийского аймака зарегистрировано девять больных чумой, у шестерых болезнь закончилась летальным исходом. В 2020 г. заболевание отмечено в шести случаях, из которых три – летальных (Тугруг, Жаргалант и Тосонцэнгэл сомонах). Источником инфекции во всех случаях послужил сурок тарбаган.

Необходимо отметить, что сезон, источник, путь заражения и клиническая картина у больных чумой на российской части Сайлюгемского очага весьма схожи с таковыми на монгольской территории очага [Кутырев и др., 2014а, 2014б; Балахонов и др., 2016а, 2016б].

1.3 Современные методы идентификации и внутривидовой дифференциации штаммов чумного микроба

Геном *Y. pestis* представлен кольцевой хромосомной ДНК размером 4,65 м.п.н. и тремя плазмидами: родоспецифической плазмидой кальцийзависимости pCad (pYV, pCD1) и двумя видоспецифическими – фракционной pFra (pYT, pMT1) и пестициногенности pPst (pYP, pPCP1). Эти три плазмиды играют важную роль в развитии инфекционного процесса и трансмиссии возбудителя чумы эктопаразитами (блохами, клещами) теплокровным животным или человеку [Попов и др., 1980; Балахонов и др. 1991; Филиппов и др., 1992; Perry, Fetherston, 1997; Hinnebusch et al., 2002]. В некоторых природных очагах у штаммов выявлены дополнительные плазмиды: в Тувинском горном природном очаге обнаружена плазида pTP33, содержащая гены двухкомпонентной системы белков токсин-антитоксин YoeB/YefM; в Центрально-Кавказском – pСКF, включающая гены системы секреции IV типа; на о. Ма-

дагаскар – плазмиды pIP1202 и pIP1203, которые ассоциированы с антибиотикорезистентностью; в Китае – pYC, участвующая в процессах активации репликации и поддержании стабильности ДНК [Dong et al., 2000; Galimand et al., 2006; Оглодин и др., 2015 а, б; Афанасьев и др., 2016]. В геноме алтайских штаммов, в том числе свежевыделенных, иногда наблюдается отсутствие плазмиды pPst и, как следствие, это сопровождается отсутствием амплификационного ответа в полимеразной цепной реакции (ПЦР) на соответствующие гены и отличием от типовых фенотипических свойств, детерминированных данной плазмидой. Элиминация двух других плазмид встречается редко [Балахонов, 1987, 2000].

Для осуществления эпидемиологического надзора за чумой в природных очагах чумы внедрены современные методы молекулярной диагностики и типирования *Y. pestis* в полевом и клиническом материале, которые позволяют идентифицировать генетические группы возбудителя чумы в составе подвидов/биоваров на территории очага.

К молекулярно-генетическим методам для типирования возбудителя чумы относятся такие как ПЦР, изучение плазмидного профиля, анализ длин рестрикционных фрагментов (пульс-гельэлектрофорез, рибо- и IS-типирование), ПЦР-типирование (RAPD – random amplification of polymorphic, случайно амплифицируемых фрагментов; REP – repetitive extragenic palindromic sequences, повторяющихся внегенных полиндромных последовательностей, анализ отличающихся участков – DFR (different regions), MLST и полногеномное секвенирование, анализ полиморфизма единичных нуклеотидов (SNPs, от англ. single nucleotide polymorphism), анализ переменного числа tandemных повторов (VNTR, от англ. variable-number tandem repeat), CRISPRs анализ [Achtman et al., 2004; Zhou et al., 2004; De Gregorio et al., 2005; Pourcel et al., 2005; Tacao et al., 2005; Онищенко и др., 2006; Khushiramani et al., 2006; Ерошенко и др., 2007; Kingston et al., 2009; Morelli et al., 2010; Sauer et al., 2010; Афанасьев и др., 2013; Платонов и др., 2013; Cui et al., 2013; Vogler et al., 2016].

ПЦР метод основан на многократной амплификации целевого участка ДНК *in vitro*, с последующим электрофоретическим (ПЦР-ЭФ) и гибридизационно-флуоресцентным (ПЦР-РВ) учетом результатов [Higuchi et al., 1993; Gabitzsch et al., 2008]. ПЦР-РВ является высокочувствительным, специфичным экспресс методом и в настоящее время широко используется при проведении эпизоотологического обследования природных очагов чумы и расследовании эпидемических случаев заболевания чумой [Афанасьев и др., 2013; Кутырев и др., 2014б; Балахонов и др., 2016б]. Выпускаются коммерческие тест-системы для индикации и идентификации возбудителя чумы в пробах полевого и клинического материала [Куклев и др., 2007; 2013; Никифоров и др., 2021].

Методы анализа длин рестрикционных фрагментов ранее широко использовались при проведении эпидемиологического расследования с целью выявления близкородственных вариантов возбудителя чумы [Huang et al., 2002; Torrea et al., 2006; Гаева и др., 2010; Barros et al., 2013; Cabanel et al., 2013; Vogler et al., 2016;]. С помощью IS-типирования было доказано, что *Y. pestis* произошел от *Y. pseudotuberculosis*, а некоторые штаммы биоваров *medievalis* и *antiqua* относятся к одной генетической группе, однако данный метод не используется для типирования, так как, по мнению исследователей, частота пропущенных данных высока [Motin et al., 2002; Achtman et al., 2004; Lindler, 2009]. Риботипирование позволило разделить основной и неосновные подвиды штаммов *Y. pestis*, а также дифференцировать большинство штаммов восточного биовара от античного и средневекового биоваров [Guiyoule et al., 1994, 1997; Павлова, 2012]. Штаммы неосновных подвидов имеют одинаковый риботип, что также характерно для большей части штаммов средневекового и античного биоваров, циркулирующих в очагах Евразии [Guiyoule et al., 1994, 1997; Eroshenko et al., 2012; Павлова и др., 2012]. Данный метод использовали при расследовании вспышек чумы в Алжире (2003), Ливии (2009) и описании штаммов, циркулирующих в природных очагах Китая [Wei et al., 2003; Cabanel et al., 2013]. В виду своей низкой разрешающей способности,

громоздкости данные методы в последние годы не применяются для долгосрочных эпидемиологических исследований и для определения филогенетических связей между подвидами штаммов.

Метод DFR-типирования (different region – DFR) основан на анализе отличающихся участков генома. Относительно чумного микроба было обнаружено 23, 32 и 52 DFR-типа штаммов *Y. pestis*. При использовании данного метода возможно провести дифференциацию некоторых подвигов штаммов возбудителя чумы из конкретных природных очагов чумы [Li et al., 2008; Mateo et al., 2009; Yang et al., 2014; Vogler et al., 2016].

MLST (multilocus sequence typing – мультилокусное секвенирование) – метод, основанный на изучении вариабельности последовательности генов домашнего хозяйства, которые характеризуются относительно низкой скоростью накопления мутаций [Maiden et al., 1998; Jolley et al., 2014]. Широкое применение в лабораторной практике полногеномного секвенирования позволило расширить метод MLST за счет появления возможности сравнения сотен и тысяч различных локусов: типирование последовательности корового (cgMLST) и полного (wgMLST) геномов [Kotetishvili et al., 2005; Kingry et al., 2016; Savin et al., 2019]. Преимуществом MLST-типирования является воспроизводимость и доступность.

CRISPR-Cas анализ – это набор коротких палиндромных повторов, разделенных спейсерными последовательностями и *cas*-генов [Pourcel et al. 2005; Cui et al., 2008]. Основная роль CRISPR-системы – защита бактерии от внедрения мобильных генетических элементов (МГЭ). Кассета является наиболее вариабельной частью, так как в её состав интегрированы спейсеры или короткие последовательности нуклеиновых кислот бактериофагов и плазмид, с которыми данный штамм когда-либо встречался. Учитывая, что в разных регионах мира циркулируют различные типы МГЭ с отличиями в геноме, для штаммов, изолированных в определенных природных очагах, спейсерные последовательности являются специфичными. CRISPR-анализ является эффективным методом внутривидовой дифференциации штаммов *Y.*

pestis и описания микроэволюционных процессов [Платонов и др., 2013; Cui et al., 2014]. Данный метод позволяет провести внутривидовую дифференцировку штаммов и описать микроэволюционные процессы, происходящие внутри вида [Платонов и др., 2013].

Одним из лучших методов молекулярного типирования является полногеномное секвенирование. Данный метод используется для анализа как древних, так и современных геномов *Y. pestis* из разных природных очагов чумы [Wagner et al., 2014; Rasmussen et al., 2015].

Один из эффективных подходов к молекулярному типированию чумного микроба – SNP-типирование – анализ полиморфизма единичных нуклеотидных замен [Achtman et al., 2004; Morelli et al., 2010; Cui et al., 2013; Vogler et al., 2016]. Применение этого метода обеспечивает возможность обнаружения однонуклеотидных полиморфизмов в геноме чумного микроба и сравнение полученных результатов с геномными базами данных. Высокая информативность полногеномного SNP-типирования показана при изучении эволюционной истории возбудителя чумы [Achtman et al., 2012; Sabat et al., 2013], совершенствовании подвидовой классификации патогена [Cui et al., 2013; Kutyrev et al., 2018; Попов и др., 2020].

Пиросеквенирование – метод, основанный на секвенировании путем синтеза и детекции включения нуклеотидов при высвобождении пирофосфатов в реальном времени [Ronaghi et al., 1996]. Некоторые исследователи показали, что пиросеквенирование может быть использовано для SNP-типирования, определения генов антибиотикоустойчивости и мутаций, приводящих к резистентности, и других исследований [Haanperä et al., 2005; Bravo et al., 2009].

VNTR (от англ. Variable number tandem repeats) анализ и его мультилокусный вариант MLVA (от англ. Multiple-Locus Variable number tandem repeat Analysis, мультилокусный анализ переменного числа tandemных повторов) обладают высокой эффективностью в отношении возбудителя чумы. MLVA-типирование основано на определении числа прямых tandemных повторяю-

щихся нуклеотидных последовательностей, расположенных в разных частях генома. Предложены варианты 7, 25 и 42 MLVA-типирования, включающих различные локусы и их комбинации [Klevytska et al., 2001; Le Flèche et al., 2001; Pourcel et al., 2004; Li et al., 2009], которые позволяют дифференцировать небольшие подкластеры в составе крупных кластеров, сформированных штаммами, принадлежащими к одному биовару/подвиду, изолированными на определенной территории одного или разных природных очагов чумы. Результаты кластеризации, полученные при MLVA25, хорошо соотносятся с данными других методов типирования, в частности, основанных на SNP-типировании, что позволяет рассматривать этот подход в качестве инструмента филогенетического и эволюционного анализа [Sabat et al., 2013].

1.4 Генотипическое разнообразие чумного микроба

В проблеме природной очаговости чумы среди широкого спектра вопросов по изучению возбудителя чумы, проводимого молекулярно-генетическими методами, особый интерес уделяется рассмотрению его пространственного генетического разнообразия. Эти исследования включают три основных направления, отражающих иерархическую организацию чумного микроба как биологического вида. Первое – анализ генетической изменчивости внутри подвидов/биоваров, циркулирующих в определенных регионах. Показано, что географическое распространение определенных геновариантов и генотипов соответствует конкретным природным очагам чумы [Pourcel et al., 2004; Сучков и др., 2004; Li et al., 2008, 2009; Cui et al., 2008, 2013; Zhang et al., 2009; Morelli et al., 2010; Vogler et al., 2011; Riehm et al., 2012; Oliveira et al., 2012; Платонов и др., 2012, 2015; Куклева и др., 2013, 2015, 2017; Носов и др., 2016; Wang et al., 2018; Ерошенко и др., 2019а, 2019б, 2019в]. Второе – анализ пространственной генотипической гетерогенности чумного микроба, циркулирующего в автономном природном очаге. Генотипическое разнообразие *Y. pestis* в конкретном природном очаге и качественная неоднородность возбудителя чумы в его отдельных мезоочагах отражена в немногочисленных работах [Балахонов и др., 2009, 2014, 2019; Платонов и

др., 2012; Евченко и др., 2013; Евсеева и др., 2016]. Третье – оценка генетической variability подвидов/биоваров *Y. pestis*, циркулирующих в природных очагах чумы, что позволяет установить генотипические особенности и филогенетические связи возбудителя [Adair et al., 2000; Klevytska et al., 2001; Pourcel et al., 2004; Achtman et al., 2004; Morelli et al., 2010; Cui et al., 2013; Одинокоев и др., 2013]. Такие исследования в подавляющем большинстве известных природных очагов чумы еще не получили должного развития. Следует отметить, что они важны для глубокого изучения вопроса пространственной структуры очага и выявления закономерностей его функционирования, связанных с особенностями циркуляции *Y. pestis*.

Значительный интерес в проблеме эпизоотологии чумы представляет вопрос изменения генотипического состава *Y. pestis* в пределах природного очага во времени. В нескольких очагах такие преобразования связаны с эпизоотической активностью. В Центрально-Кавказском высокогорном природном очаге установлена взаимосвязь MLVA25-типов *Y. pestis* с участками и временем выделения штаммов, потребностью в пролине. Группы штаммов приурочены к ландшафтно-эпизоотологическим районам, которые периодически распространяются в другие районы очага. Подгруппы штаммов относятся к поселениям горных сусликов, генетические варианты которых меняются с течением времени, что является косвенным свидетельством действия механизма микроэволюции [Евченко и др., 2013].

В 1924-1926 гг. в Прикаспийском Северо-Западном степном природном очаге на Ергенинской возвышенности циркулировали штаммы филогенетических ветвей 2.MED4 и 2.MED1 средневекового биовара основного подвида, которые в дальнейшем исчезли с этой территории. После длительного межэпизоотического периода с 1938 г., эпизоотические проявления в 1972 г. на Ергенинской возвышенности вызваны заносом штаммов *Y. pestis* из низкогорных природных очагов чумы Кавказа и Закавказья. Распространение кавказских штаммов носило кратковременный характер, и с 1974 г. (включая и современный период) зараженных чумой животных на данной территории не

регистрировали. Предполагается, что в Прикаспийском Северо-Западном степном природном очаге каждый эпизоотический период (1913-1938 гг. и 1972-1973 гг.) завершался элиминацией чумного микроба и оздоровлением очаговой территории [Ерошенко и др., 2019а].

В Волго-Уральском песчаном и сопредельных очагах чумы в начале XX в. были распространены штаммы средневекового биовара двух филогенетических линий 2.MED4 и 2.MED1. Штаммы, изолированные в этом очаге в 1963-2003 гг., и штаммы, выделявшиеся в 1912-1945 гг., не ведут происхождения друг от друга, а представляют близкородственные, но независимые ветви эволюции, отходящие от общего ствола ветви 2.MED1. Современные изоляты образуют отдельный кластер дендрограммы, в основании которого лежат штаммы из Северо-Приаральского пустынного очага 1945 г. Это позволило предположить повторный занос близкородственных штаммов из Северного Приаралья в Волго-Уральский песчаный очаг после перерыва эпизоотической активности в 50-е годы XX века [Ерошенко и др., 2019б].

По результатам полногеномного SNP анализа штаммы чумного микроба из очагов Северного, Северо-Западного Прикаспия и Предкавказья образуют две группы близкородственных штаммов (1923-1945 гг. и 1962-2003 гг.), относящихся к филогенетической ветви 2.MED1 средневекового биовара возбудителя чумы. Штаммы из Северо-Приаральского пустынного очага 1945 г. являются предшественниками штаммов 1962-2003 гг. Это подтверждает, что одновременная активизация природных очагов Прикаспийской низменности и Предкавказья в 1975-1979 гг., после длительных межэпизоотических периодов, могла быть вызвана распространением штаммов из Северного Приаралья. Эпизоотическая активность Волго-Уральского песчаного очага чумы в 60-х годах XX века предшествовала началу регистрации эпизоотий чумы на территории природных очагов сусликового типа в Северном, Северо-Западном Прикаспии и в Предкавказье [Ерошенко и др., 2019в].

Анализ 262 штаммов *Y. pestis*, с использованием SNP- и MLVA-методов, изолированных из 25 районов на Мадагаскаре с 1939 по 2005 гг. показал

очень высокий уровень генетического разнообразия (226 MLVA-типа из 262 изолятов). Эти генотипы распределены в двух основных группах (I и II), которые впоследствии подразделяются на 11 и 4 подгруппы соответственно и отражают значительное географическое разнообразие чумы на Мадагаскаре. Сохранение и распространение *Y. pestis* на Мадагаскаре является динамичным и высокоактивным процессом, основанным на естественном цикле между первичным хозяином, черной крысой и ее блохами, а также деятельностью человека [Vogler et al., 2011].

Э.И. Коренберг [2010, 2015] подчеркивает, что изучение динамического полиморфизма генетической структуры популяций возбудителя в настоящее время является одним из приоритетных аспектов проблемы природной очаговости инфекционных болезней. Очевидно, для ее решения важное значение имеет выбор адекватного метода. После того как метод MLVA-типирования был предложен для оценки генетического разнообразия *Y. pestis* [Klevytska et al., 2001; Le Fleche et al., 2001], он стал широко применяться как при изучении генотипической структуры чумного микроба внутри отдельных природных очагов, так и в сравнительном филогенетическом анализе штаммов, изолированных в разных очагах. Li Y. с соавторами [2009], изучив более 500 штаммов *Y. pestis* из всех природных очагов мира, выявили 350 различных генотипов. Исследователи обнаружили однородные изоляты из отдаленных друг от друга очагов, и, напротив, очень большое разнообразие штаммов между соседними очагами.

MLVA-анализ 100 штаммов возбудителя чумы, выделенных в Монголии из 37 участков показал шесть основных кластеров. Самый большой кластер состоит из 78 изолятов с уникальными и новыми генотипами, которые были обнаружены только в Монголии [Riehm et al., 2012].

Анализ полученных данных в Забайкальском степном природном очаге чумы свидетельствует о стойкости сохранения комплекса фенотипических и генетических свойств *Y. pestis*. Эти результаты на генетическом уровне подтверждают принадлежность штаммов *Y. pestis* из данного очага, выделенных

до и после смены основного носителя, к античному биовару. Смена носителя в Забайкальском очаге не привела к изменению основных свойств штаммов возбудителя чумы, что позволяет сделать заключение об отсутствии тесной взаимосвязи между внутривидовой принадлежностью (античный или средневековый биовары) штаммов *Y. pestis* и типом основного носителя (переносчика) в природном очаге чумы. Полученные данные могут быть использованы при проведении типизации энзоотичных по чуме территорий, а также при генотипировании штаммов возбудителя чумы [Куклева и др., 2013].

В настоящее время в трансграничном Сайлюгемском природном очаге чумы наблюдается совместная циркуляция двух подвидов чумного микроба *Y. pestis* ssp. *pestis* и *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica*.

В связи с этим сохраняется необходимость как в совершенствовании имеющихся методов индикации чумного микроба, так и в разработке и внедрении принципиально новых способов, что позволит повысить эффективность изучения трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы. Указанная задача требует проведения подробного анализа характеристик генотипической популяционной структуры штаммов возбудителя чумы.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Используемые штаммы *Y. pestis*, условия культивирования

Материалы собраны при эпизоотологическом мониторинге трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы в 2012-2021 гг. на базе полевой мобильной лаборатории ФКУЗ «Алтайская противочумная станция» Роспотребнадзора, пос. Ташанта, Республика Алтай, Россия и в 2017-2019 гг. на базе Центра по изучению зоонозных инфекций Баян-Улгийского аймака, Улгий, Монголия. Используются данные отчетной документации ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора и ФКУЗ «Алтайская противочумная станция» Роспотребнадзора с 1961 по 2021 год. Исследования выполнены в отделе эпидемиологии и отделе микробиологии чумы ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора.

Работа выполнена на 490 штаммах *Y. pestis*, изолированных на российской и монгольской территориях Сайлюгемского природного очага чумы при проведении эпизоотологического обследования. Из них 160 *Y. pestis* ssp. *pestis*, выделенных в 2012-2019 гг. и 330 *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* – 1961-2019 гг., что составляет 13,7 % от их общего количества за этот период.

Для сравнения в анализ взяты штаммы из приграничных природных очагов чумы России и Монголии: 7 – из Тувинского горного, 4 – из Забайкальского степного, 3 – из Хуух-Серх-Мунх-Хаирханского и 1 – из Хархиро-Тургенского. В качестве контроля в исследование был включен штамм *Y. pestis* EV линии НИИЭГ. Все штаммы получены из отдела коллекции патогенных бактерий (ОКПБ) ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора.

Лабораторные исследования проводили согласно действующим нормативно-методическим документам, регламентирующим деятельность противочумных учреждений (Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности): СанПиН 3.3686-21 раздел IV «Санитарно-

эпидемиологические требования к обеспечению безопасности работы с ПБА»; Лабораторная диагностика опасных инфекционных болезней: Практическое руководство [Онищенко и др., 2013].

Для культивирования чумного микроба использовали агар и бульон Хоттингера (рН 7,2) производства ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, агар Мюллера-Хинтона, среду Хигучи-Смита. Качество питательных сред определяли согласно методическим указаниям (Методические указания. МУ 3.3.2.2124-06, 2007), учитывая чувствительность и скорость роста. Выращивание культур проводили при температуре 28 ± 1 °С и 37 ± 1 °С. Результат учитывали через 18, 24 и 48 час. Колонии просматривали с помощью светового микроскопа (окуляр 7, объектив 10) и невооруженным глазом.

2.2 Изучение культурально-морфологических, биохимических свойств, чувствительности к антибактериальным препаратам и вирулентности исследуемых штаммов *Y. pestis*

У штаммов *Y. pestis* изучали культурально-морфологические свойства, ферментативную активность в отношении глицерина, рамнозы и арабинозы, чувствительность к чумным (Покровской и Л-413 С) и псевдотуберкулезному фагам, способность восстанавливать нитраты в нитриты, потребность в факторах роста, продукцию фракции I и сорбция гемина, чувствительность к антибактериальным препаратам и плазмидный профиль.

Изучение культур *Y. pestis* проводили согласно предлагаемым для этих целей методическим рекомендациям и указаниям, санитарным правилам и практическим руководствам [Апарин и др., 1989; Онищенко и др., 2013; МУК 4.2.2495-09].

Ферментативная активность

Ферментативные свойства штаммов чумного микроба изучали в пробирках на жидких средах Гисса, содержащих в своем составе 1 % индикатор Андресе и по 0,5 % одного из следующих углеводов: арабинозу, сахарозу, мальтозу, маннит, глюкозу и рамнозу, глицерин. В каждую пробирку засеивали по

0,1 мл суспензии двухсуточной агаровой культуры в физиологическом растворе, в концентрации 10^9 м.к. в 1 мл. Посевы инкубировали при 28 ± 1 °С, 24-72 часа. Учет результатов проводили визуально по покраснению исходной окраски среды [Онищенко и др., 2013]. Все штаммы *Y. pestis* ферментируют с образованием кислоты без газа глюкозу, мальтозу, маннит; не ферментируют сахарозу. Штаммы основного подвида негативны к рамнозе, но расщепляют арабинозу. Возбудитель чумы восточного биовара основного подвида не ферментирует глицерин, в то время как штаммы средневекового и античного биоваров обладают такой способностью.

Определение признака пигментсорбции

Определение признака пигментации проводили на среде Джексона-Берроуза с добавлением гемина. Пигментация колоний связана с усвоением гемина микробными клетками, имеющих высокую вирулентность. Исследуемую культуру штамма *Y. pestis* инкубировали при 28 ± 1 °С 48 ч. На чашки засеивали по 0,1 мл суспензии двухсуточной агаровой культуры в физиологическом растворе, в концентрации 500 м.к. Учет результатов проводили по наличию выросших пигментированных (P^+) и непигментированных колоний (P^-) колоний через 4-10 суток. В качестве контроля использовали *Y. pestis* EV НИИЭГ, который образует (P^-) колонии [Онищенко и др., 2013].

Определение нитрифицирующей и денитрифицирующей активности

Способность чумного микроба восстанавливать нитраты является дифференциальным критерием для определения биоваров. Штаммы биовара *medievalis*, в отличие от двух других биоваров (*orientalis* и *antiqua*), не образуют нитриты. Для определения денитрифицирующей активности в 1 мл бульона Хоттингера с 0,1 % азотнокислого калия (KNO_3) засеивали одну петлю двухсуточной агаровой культуры исследуемых штаммов. Посевы помещали в термостат при 28 ± 1 °С и через 72 часа к ним добавляли 0,5 мл реактива Грисса. При положительной реакции сразу же появлялось окрашивание среды в малиновый цвет, что указывало на наличие в посевах нитритов [Онищенко и др., 2013].

*Зависимость роста штаммов *Y. pestis* от ионов кальция*

Вирулентные и вакцинные штаммы не способны расти при 37 ± 1 °C на среде, не содержащей в своем составе солей кальция, в то время как авирулентные штаммы на данной среде растут. Это является фенотипическим признаком вирулентных и авирулентных штаммов. Для проверки зависимости роста *Y. pestis* от присутствия в среде ионов кальция использовали среду Хигучи-Смита (магниево-оксалатный агар). На чашки засеивали по 0,1 мл суспензии двухсуточной агаровой культуры в физиологическом растворе, в концентрации 200 м.к. Учет проводили через 72 часа инкубации при 37 ± 1 °C выросших Са-независимых колоний. Затем посева переставляли в термостат при 28 ± 1 °C на 48 ч. и делали последующий учет Са-зависимых колоний после инкубации в течение суток. В качестве контрольного образца использовался штамм *Y. pestis* EV НИИЭГ [Онищенко и др., 2013].

Определение чувствительности к антибиотикам

Антибиотикочувствительность проводили согласно МУК 4.2.2495-09 «Определение чувствительности возбудителей опасных бактериальных инфекций (чума, сибирская язва, холера, туляремия, бруцеллез, сап, мелиоидоз) к антибактериальным препаратам».

Для определения антибиотикограмм *Y. pestis* диско-диффузионным методом (ДДМ) использовали диски с антибактериальными препаратами производства НИЦФ Санкт-Петербург, Россия, относящиеся к антибактериальным препаратам первого и второго ряда: 1) стрептомицин – 30 мкг, амикацин – 30 мкг, цефотаксим – 30 мкг, доксициклин – 10 мкг, гентамицин – 10 мкг, ципрофлоксацин – 5 мкг, рифампицин – 5 мкг; 2) канамицин – 30 мкг, левомицетин – 30 мкг, цефиксим/цефалексин – 30 мкг, тетрациклин – 30 мкг, нетилмицин – 30 мкг, тобрамицин – 10 мкг, ампициллин – 10 мкг, а также МИК-тесты (Е-тест, Liofilchem, Italy) со стрептомицином, ципрофлоксацином, цефтриаксоном, гентамицином, рифампицином, ампициллином, азтреонамом, цефотаксимом, амикацином, доксициклином, амоксициллином с клавулановой кислотой, имеющие градиент концентрации.

Культуральные взвеси чумного микроба, включая *Y. pestis* EV НИИЭГ, и *E. coli* ATCC 25922, приготовленные по отраслевому стандарту (ОСО) мутности 5 ЕД – 5×10^8 м.к./мл, высевали в объеме 0,2 мл на чашки с агаром Хоттингера (рН 7,2) – контроль, и агара Мюллера-Хинтона (рН 7,2), подсушивали 15 мин, затем стерильным пинцетом наносили диски с антибактериальными препаратами первого и второго ряда – не более 6 на одну чашку (в наших исследованиях 5), центр диска слегка прижимали к поверхности агара. Расстояние от края чашки до диска было не менее 15-20 мм. Посевы чумного микроба инкубировали при 28 ± 1 °С 24-48 ч, культуры контрольного штамма III-IV групп патогенности – при 37 ± 1 °С 24 ч. Предварительные результаты учитывали через 24 ч, окончательные – через 48 ч при появлении сливного роста на контрольных чашках без дисков согласно МУК 4.2.2495-09.

Исследование антибиотикочувствительности культур методом Е-теста проводили в соответствии с инструкцией фирмы-изготовителя (Liofilchem, Italy). Взвеси микроорганизмов в объеме 0,2 мл наносили на агаровые пластинки, равномерно распределяли стерильным шпателем по поверхности и подсушивали в течение 15 мин при закрытых крышках. На середину чашки Петри с пластинчатым агаром Мюллера-Хинтона (рН 7,2) помещали стрип, содержащий антибиотик, концентрации которого указаны на стрипе и упаковке к стрипам. В зависимости от вида микроорганизмов посевы инкубировали при 28 ± 1 °С и 37 ± 1 °С в течение 48 ч, проводя учет через 24 и 48 ч.

Вирулентность для лабораторных животных

Для определения вирулентности штаммов *Y. pestis* использовали беспородных, но стандартных по условиям содержания и массе лабораторных животных – белых мышей (18–19 г) и морских свинок (220–250 г), которых заражали подкожно в правую заднюю лапу в дозах: для белых мышей от 5 до 500 м.к. в 0,5 мл; для морских свинок от 10 до 1000 м.к. в 1,0 мл. Эксперименты на животных проводили в соответствии с «Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986 г.), согласно «Правилам проведения

работ с использованием экспериментальных животных» (приказ МЗ СССР №755 от 12.08.1987 г.), Федеральному закону о защите животных от жестокого обращения от 01.01.1997 г. и приказа МЗ РФ № 199 Н от 01.04.2016 г. Расчет LD₅₀ выполняли по Ашмарину [Ашмарин, 1962].

2.3 Определение плазмидного профиля штаммов *Y. pestis*

Определение плазмидного профиля штаммов *Y. pestis* проводили согласно Т. Kieser [1984] в нашей модификации (Методические рекомендации по определению плазмидного состава патогенных штаммов бактерий семейства Enterobacteriaceae, Иркутск, 2018 г.).

*Получение плазмидной ДНК *Y. pestis**

Одну полную бактериологическую петлю микробов суточной культуры анализируемого штамма суспензировали в 500 мкл лизоцимного раствора (лизоцим, сахароза, 0,1М Tris основной, 0,25М EDTA, бромкрезоловый зеленый) и помещали в кювету со льдом на 30 мин. Через 30 мин содержимое пробирок осторожно, тщательно перемешивали, затем в каждую пробирку добавляли по 250 мкл щелочного раствора (додецилсульфат Na, 0,3М NaOH) и инкубировали на водяной бане при температуре 56 °С 30 мин. После чего во все пробирки добавляли по 120 мкл смеси фенол-хлороформ (фенол, хлороформ, 8-гидроксихинолин) для дальнейшей депротеинизации. Содержимое пробирок тщательно перемешивали на встряхивателе типа «Vortex» и центрифугировали при 12-14000 об/ мин. в течение 5 мин.

Проведение горизонтального электрофореза и интерпретация результатов

Сначала готовили раствор 5-кратного трис-боратного буфера (Tris основной, борная кислота, ЭДТА), из него разводили 1-кратный раствор. Для приготовления 0,7 % агарозного геля размером 20×20 см взвешивали навеску агарозы 2,45 г и заливали 350 мл 1-кратного р-ра трис-боратного буфера. Растапливали, нагревая (в микроволновой печи 2 мин при высокой мощности или 6 мин при средней), до полного расплавления агарозы, размешивали и охлаждали до температуры, комфортной для дальнейшей работы.

Гелевую рамку камеры для горизонтального электрофореза устанавливали на заливочный столик вместе с гребенкой, выливали охлажденную агарозу, и ожидали, пока гель полностью полимеризуется (происходит его помутнение и уплотнение в течение 10-15 мин), затем, осторожно вытаскивали гребенку. Гель помещали в камеру электрофорезного аппарата, заливали 1-кратным трис-боратным буфером, так, чтобы слой буфера доходил только до краёв геля со стороны электродов, но при этом не покрывал гель. Далее в лунки агарозного геля вносили супернатант из пробирок в объеме 35-40 мкл. Последним вносили молекулярный маркер ДНК. На первом этапе проведения электрофореза осуществляли «вхождение» плазмидной ДНК из образца в гель при величине напряжения постоянного тока 95-105 В в течение 10-15 мин, пока визуально не станет видно, что бромкрезоловый краситель не вошел в гель. Источник питания выключали, в камеру электрофорезного аппарата аккуратно доливали 1-кратный трис-боратный буфер, чтобы весь гель был полностью покрыт тонким слоем буфера. Снова подключали источник питания и продолжали электрофорез при напряжении постоянного тока 95-105 В в течение 300 минут. По истечении заявленного времени гель помещали в кювету с раствором этидиума бромидом для окрашивания плазмидной ДНК (0,5 мкг/мл) на 15-20 мин.

После окрашивания гель просматривали на трансиллюминаторе в проходящем ультрафиолетовом (УФ) свете и фотографировали.

2.4 MLVA-типирование

Для проведения MLVA25-типирования в качестве праймеров использованы 25 пар локус-специфичных олигонуклеотидных последовательностей, входящих в состав информативных VNTR-маркеров с различной локализацией в геноме *Y. pestis* EV, обладающих высокой степенью аллельного полиморфизма [Le Fleche et al., 2001; Klevytska et al. 2001; Li et al., 2009]: *yp0120ms01*, *yp1290ms04*, *yp1935ms05*, *yp2769ms06*, *yp2916ms07*, *yp3057ms09*, *yp0559ms15*, *yp1814ms20*, *yp1895ms21*, *yp4042ms35*, *yp4425ms38*, *yp0581ms40*,

yp0718ms41, yp1018ms44, yp1108ms45, yp1335ms46, yp2058ms51, yp2612ms54, yp3060ms56, yp4280ms62, yp1118ms69, yp1580ms70, yp1925ms71, yp3236ms73 и yp3245ms74.

Подвидовую идентификацию штаммов чумного микроба проводили с использованием двух локусов, размер которых превышает 500 п.о. (локусы *yp2769ms06* и *yp3057ms09*), с помощью гель-электрофореза.

Тотальную ДНК выделяли согласно методическим указаниям МУ 1.3. 2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности». Организацию работ при использовании метода ПЦР осуществляли согласно требованиям действующих методических указаний [МУ, 2009].

Получение геномной ДНК Y. pestis осуществляли модифицированным нами методом J. Marmur [1961]. Выращивание культур *Y. pestis* проводили на агаре Хоттингера (рН 7,8) при температуре 28 ± 1 °С в течение 2 суток. В пробирку объемом 1500 мкл вносили 240 мкл физиологического раствора (0,15 М NaCl), суспензировали одну полную петлю культуры и добавляли 240 мкл лизирующего раствора (6 % SDS; 0,15 М NaCl), выдерживали при комнатной температуре в течение 10 мин для получения лизата. К лизату добавляли 82 мкл 5 М NaCl и 800 мкл смеси хлороформ-изоамиловый спирт (24:1), перемешивали на вортексе дважды. Центрифугировали в течение 5 мин при 13000 об/мин. Отбирали в чистую пробирку водную фазу (примерно 500 мкл) и добавляли 1000 мкл 96 % этанола, перемешивали до появления преципитата ДНК. Осаждали ДНК центрифугированием в течение 5 мин при 13000 об/мин, удаляли раствор этанола, осадок ДНК подсушивали и растворяли в 300 мкл буфера TE (10 mM Tris, 1 mM EDTA·Na₂). Качество и количество полученных препаратов ДНК оценивали по их спектрофотометрическим характеристикам с помощью спектрофотометра «NanoVue» при длинах волн 230, 260, 280 и 320 нм.

Суспензирование осуществляли в стерильных стеклянных центрифужных градуированных пробирках объемом 15 мл над кюветой с дезинфицирующим раствором. Верхнюю часть каждой пробирки после суспензирования обжигали в пламени спиртовки, пробковали ватно-марлевыми пробками, помещали в кювету со льдом и инкубировали в течение 30 мин.

Процедуру ПЦР осуществляли с использованием набора реагентов для проведения ПЦР «ПЦР-Комплект» производства «Синтол» в объеме 15 мкл. ПЦР-смесь включала в себя: 10x буфер для ПЦР (1,5 мкл), 2 mM растворы дНТФ (1,5 мкл), 25 mM раствор MgCl₂ (1,5 мкл), 10 - 20 пМ растворов праймеров (0,5 мкл), 1 ед. Taq-полимераза (5 ед/мкл 0,2 мкл), 7,5 мкл деионизированной воды, 2 мкл ДНК исследуемых штаммов. Амплификацию выполняли с применением ДНК-амплификатора GeneAmp 2720 Thermal Cycler (Applied Biosystems): предварительная денатурация – 94 °С, 2 мин; далее 35 циклов: денатурация – 94 °С, 20 сек, отжиг – 60 °С, 30 сек, элонгация – 72 °С, 1 мин; заключительная элонгация – 72 °С, 5 мин.

Полученные ампликоны по локусам *ур2916ms06* и *ур3057ms09* в силу их большой длины и молекулярной массы детектировали путем электрофореза в 1,5 % агарозном геле. Размер полученных фрагментов устанавливали с помощью маркера молекулярного веса ДНК – GeneRuler™ 100 bp DNA Ladders (Fermentas, Литва). Просматривали гель в УФ-свете на трансиллюминаторе и фотографировали.

Ампликоны по 23 локусам сразу после процедуры ПЦР разбавляли в планшетах и смешивали согласно их флуоресцентным меткам по 3 локусам одного штамма. Брали 8-канальным дозатором по 3 мкл FAM- и R6G-меченных ПЦР-продуктов, добавляли к 180 мкл dH₂O в восемь пробирок или один ряд планшеты для разведения, тщательно перемешивали, из этой смеси отбирали 3 мкл и переносили в новый ряд с 180 мкл dH₂O, сюда же добавляли ROX-меченный ПЦР продукт в объеме 3 мкл, тщательно перемешивали и переносили в плашку для секвенирования. После процедуры разбавления ПЦР-продукта в каждую пробирку добавляли 7 мкл раствора формамида и

0,5 мкл раствора Applied Biosystems GeneScan Liz 500, закрывали планшеты покрывным силиконовым матом и помещали в генетический анализатор.

Размер полученных ампликонов определяли методом капиллярного электрофореза на ДНК-анализаторе ABIPrism® 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США; Hitachi, Япония) путем сравнения с маркером молекулярного веса GeneScan™ 500 LIZ™ SizeStandard. Исходя из размера (в п.о.) получаемого ампликона, определяли число tandemных повторов в каждом из 23 исследованных локусов. Полученный таким образом 23-символьный цифровой паттерн исследуемых штаммов сравнивался с аналогичными паттернами штаммов *Y. pestis*, выделенных в сибирских и монгольских природных очагах чумы. Построение филогенетического дерева осуществляли методом попарного невзвешенного кластрирования с арифметическим усреднением (Unweighted pair-group method using arithmetic averages, UPGMA) и минимальное остовное дерево (MST) при помощи программного комплекса BioNumerics v 7,6 (AppliedMaths, Бельгия).

2.5 Статистическая обработка результатов

Обработку результатов исследований проводили стандартными методами вариационной статистики. Использовали критерий согласия хи-квадрат (χ^2) [Закс, 1976].

ГЛАВА 3 ФЕНОТИПИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ПЛАЗМИДНЫЙ ПРОФИЛЬ ШТАММОВ *Y. PESTIS* ИЗ САЙЛЮГЕМСКОГО ПРИРОДНОГО ОЧАГА ЧУМЫ

Изучение фенотипических свойств чумного микроба проводится широко распространенными методами типирования и диагностики. К одной из основных схем типирования штаммов *Y. pestis* относится определение их принадлежности к античному, средневековому или восточному биовару основного подвида по способности к ферментации глицерина и редукции нитратов. Также применяются методы, включающие изучение штаммов по питательным потребностям (лейцин, аргинин, метионин, триптофан и т.д.), по способности к ферментации сахаров (рамнозы, арабинозы, мелибиозы и т.д.), по продукции пестицина 1, по уреазной, фибринолитической и коагуляционной активностям, которые применяются для внутривидовой идентификации основного и неосновных подвигов чумного микроба из стран СНГ и Монголии [Домарадский, 1998]. Серо- и фаготипирование также относятся к числу фенотипического анализа возбудителя чумы [Anisimov et. al., 2004; Zhao, Skurnik, 2016]. Все вышеперечисленные методы не потеряли своего значения в настоящее время и включены в перечень методов, используемых в лабораторной диагностике штаммов возбудителя чумы [Кутырев, 2013].

Штаммы чумного микроба, выделенные в трансграничном Сайлюгемском природном очаге чумы с 1953 по 2011 гг. во время эпизоотологического обследования, по ряду биологических особенностей отнесены к алтайскому подвиду *Y. pestis* ssp. *altaica* [Щекунова и др., 1961, 1963; Тимофеева, 1972; Апарин и др., 1987]. Этот подвид согласно генетической номенклатуре ветвей эволюции чумного микроба, относят к филогенетической ветви O.PE4 [Achtman et al., 1999; Cui et al., 2013; Morelli et al., 2010]. В 2019 г. на Межведомственном совещании по санитарной охране территории Российской Федерации «одобрена новая усовершенствованная классификация возбудителя чумы, по которой алтайский подвид получил обозначение алтайского биовара центральноазиатского подвида – *Y. pestis* ssp. *central asiatica* biovar (bv.)

altaica и отнесен к филогенетической ветви 0.PE4a» [Kutyrev et. al., 2018; Попов и др., 2020].

Фенотипические свойства Y. pestis ssp. central asiatica bv. altaica

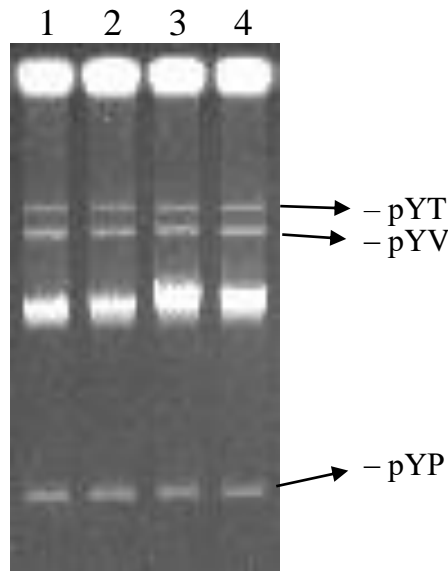
При эпизоотологическом обследовании российской части Сайлюгемского природного очага чумы (2012-2022 гг.) выделено 73 штамма *Y. pestis ssp. central asiatica bv. altaica*, у всех изучены фенотипические свойства.

Возбудитель в мазках с плотной питательной среды при окраске по Граму представляет собой биполярные, грамтрицательные с закругленными краями палочки, неподвижен, спор не образует. При культивировании на плотных питательных средах при $28 \pm$ °C через 10-12 ч появляются нежные, прозрачные, неправильной формы колонии (стадия «битого стекла»). Через 18-24 ч они сливаются в плоские прозрачные колонии с фестончатым краем («кружевные платочки»). Через 24-48 ч превращаются в зрелые колонии с бурым зернистым, слегка возвышенным центром с постепенно уплотняющейся прозрачной фестончатой периферией. На жидких питательных средах отмечается рост в виде рыхлого хлопьевидного осадка в прозрачном бульоне.

По биохимическим свойствам изученные штаммы имели ряд биологических особенностей: ферментировали рамнозу и глицерин в течение первых суток, не ферментировали арабинозу, расщепляли до кислоты без газа на 1-3 сутки глюкозу, мальтозу, маннит, галактозу; на 1-4 сутки – ксилозу. Сахарозу, сорбит, раффинозу, дульцит не ферментировали. На среде Джексона и Берроуза с геминном вырастали не пигментированные колонии. Чувствительны к чумным фагам Л-413 и Покровской. По микробиологическим характеристикам изученные штаммы относятся к центральноазиатскому подвиду алтайского биовара чумного микроба *Y. pestis ssp. central asiatica bv. altaica*.

Все исследуемые изоляты чувствительны к антибактериальным препаратам, которые используются для экстренной профилактики чумы. Чумной микроб алтайского биовара вирулентен для белых мышей и слабо- или авирулентен для морских свинок, то есть обладает избирательной вирулентностью для лабораторных животных.

По результатам плазмидного анализа все исследуемые штаммы чумного микроба центральноазиатского подвида содержат три характерные для данного очага плазмиды: 6, 45, 65 МДа (pYP, pYV, pYT) (рисунок 4).



1 – *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* 95 Алтай, Курайский хребет; 2 – *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* 99 Алтай, Курайский хребет; 3 – *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* 109 Алтай, Курайский хребет; 4 – *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* 115 Алтай, Курайский хребет

Рисунок 4 – Электрофореграмма с результатами плазмидного анализа свежевыделенных штаммов *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* из Сайлюгемского природного очага чумы (2019 г.)

Таким образом, изученные штаммы относятся к центральноазиатскому подвиду алтайского биовара с характерными культурально-морфологическими, биохимическими свойствами, обладают избирательной вирулентностью для лабораторных животных. Следует отметить, что фенотипические свойства проанализированных штаммов абсолютно идентичны таковым у штаммов, изолированных в очаге с 1953 по 2011 гг. [Тимофеева и др., 1966; Тимофеева, 1975; Логачев, 1975; Иннокентьева, 1997].

Основной фенотипической особенностью штаммов центральноазиатского подвида алтайского биовара является ферментация рамнозы и не расщепление арабинозы, что отличает их от возбудителя чумы других подвидов. Арабинозонегативные штаммы *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* иден-

тифицируются по гену *aspA* (аспартатаммониумлиаза), который кодирует аминокислоту валин в положении 363 белка *AspA* [Ерошенко и др., 2010]. Рамнозопозитивные штаммы в нуклеотидной последовательности в позиции 671 п.н. гена *rhaS* содержат гуанин, в отличие от рамнозонегативных, содержащих в этой позиции аденин [Куклева и др., 2008].

Потребность в определенных аминокислотах является специфической особенностью этих штаммов – для их роста необходимо наличие в питательной среде лейцина, фенилаланина, цистеина, аргинина и триптофана [Тимофеева и др., 1971; Логачев и др., 1993]. Зависимость от триптофана является стабильным признаком в том числе и при хранении штаммов в лабораторных условиях [Логачев и др., 2004].

Фенотипические свойства Y. pestis ssp. pestis

При эпизоотологическом обследовании Сайлюгемского природного очага чумы выделено 294 штамма *Y. pestis ssp. pestis*, из них 165 в российской части (2012-2022 гг.) и 129 в монгольской (2017-2022 гг.). Фенотипические свойства изучены у 226 штаммов, в том числе у штаммов, выделенных от людей.

В результате микробиологической идентификации штаммов чумного микроба установлено, что все они на агаре Хоттингера растут в виде колоний R-формы, бугристые, возвышающиеся в центре, с плоским прозрачным фестончатым краем. В бульоне Хоттингера – агглютинативный рост в виде хлопьевидного осадка на дне, бульон оставался прозрачным. В течение первых суток ферментировали глицерин, арабинозу, мальтозу, маннит, глюкозу и не ферментировали рамнозу; восстанавливали нитраты в нитриты; неподвижные. На среде Джексона и Берроуза с гемином вырастали только пигментированные (P⁺) колонии. Штаммы лизируются бактериофагами: чумным Покровской, чумным Л-413, псевдотуберкулезным. По микробиологическим характеристикам изученные штаммы относятся к основному подвиду чумного микроба *Y. pestis ssp. pestis*.

Все исследуемые изоляты чувствительны к антибактериальным препаратам разных групп – стрептомицину, цефотаксиму, ципрофлоксацину, цефтазидиму, доксициклину, гентамицину, офлоксацину, используемым для экстренной профилактики и лечения чумы. Среднее значение минимальной ингибирующей концентрации (МИК) представлена в таблице 1.

Таблица 1 – Среднее значение минимальной ингибирующей концентрации (МИК)

Наименование антибактериального препарата	ДДМ		МИК тесты	
	Среднее значение	Стандартная ошибка	Среднее значение	Стандартная ошибка
гентамицин	27,11	0,51	-	-
ципрофлоксацин	41,0	0,44	0,05	0,002
офлоксацин	36,44	0,55	-	-
цефтазидим	28,11	0,84	-	-
стрептомицин	28,19	0,61	9,27	0,52
цефотаксим	-	-	0,04	0,003
амоксциллин	-	-	0,28	0,02

Наибольшая эффективность в отношении чумного микроба наблюдается у ципрофлоксацина и цефалоспоринов III поколения – цефтазидима и цефотаксима. Стрептомицин устойчивых штаммов не выявлено.

Вирулентность исследовали в двух независимых экспериментах у штаммов *Y. pestis*, изолированных из разных участков трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы. Результаты первого представлены в таблице 2. Они свидетельствуют о высокой вирулентности штаммов как для белых мышей, так и для морских свинок, LD₅₀ для белых мышей составила от 1,6 до 16,2 м.к., для морских свинок – от 4,7 до 31,6 м.к. При вскрытии обнаружена патологоанатомическая картина септической формы чумы. При бактериологическом исследовании у всех павших животных отмечали интенсивное обсеменение органов, крови и лимфатических узлов.

Таблица 2 – Вирулентность штаммов *Y. pestis*, выделенных в трансграничном Сайлюгемском природном очаге чумы, в тесте на лабораторных животных

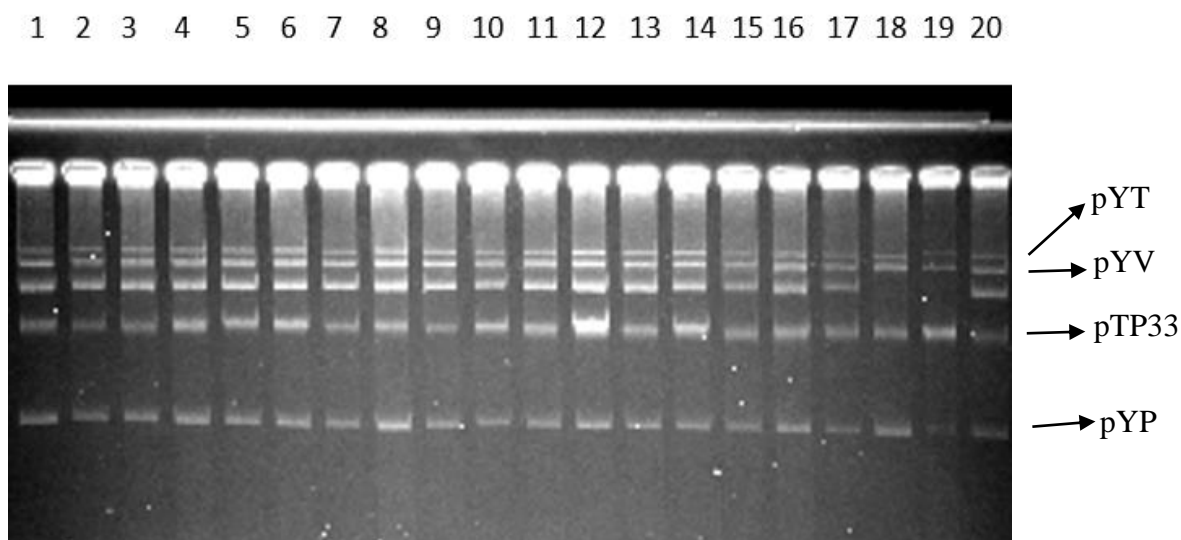
Вид животного	Доза, м.к.	<i>Y. pestis</i> 19				<i>Y. pestis</i> 88		
		Кол-во животных		СПЖ	LD ₅₀ м.к.	Кол-во павших животных	СПЖ	LD ₅₀ м.к.
		зараженных	павших	(сут.)			(сут.)	
б/м	5	6	4	10,3	3,5	3	12,8	5,0
	50	6	6	3,8		6	5	
	500	6	6	4		6	3,3	
м/св	10	6	6	8,3	4,7	3	15	10,0
	100	6	6	10,3		6	10	
	1000	6	5	11,3		6	8,2	
Вид животного	Доза, м.к.	<i>Y. pestis</i> 24				<i>Y. pestis</i> 154		
		Кол-во животных		СПЖ	LD ₅₀ м.к.	Кол-во павших животных	СПЖ	LD ₅₀ м.к.
		зараженных	павших	(сут.)			(сут.)	
б/м	5	6	6	6,2	1,6	2	15,6	16,2
	50	6	6	4,3		4	9,6	
	500	6	6	4,5		6	5,1	
м/св	10	6	3	12	10,2	6	21	31,6
	100	6	6	13,3		6	8,8	
	1000	6	6	7,5		6	10,5	

Примечание: СПЖ – средняя продолжительность жизни.

Схожие результаты получены и в другом эксперименте (заражающая доза 10^2 - 10^4 м.к.) – LD₅₀ для белых мышей составила от 3,2 до 5,6 м.к., для морских свинок – 63 м.к. Животные погибали со 2 суток после введения заражающих доз.

Анализ плазмидного профиля всех изученных штаммов показал наличие у них четырех плазмид – рУР, рТР33, рУV, рУТ (рисунок 5). Дополнительная плазида рТР33 характерна для изолятов чумного микроба в Тувинском природном очаге [Балахонов и др. 2000; Афанасьев и др., 2016] и некоторых очагах Монгольского Алтая [Балахонов и др. 1991; Erdenebat и др. 2001].

Штаммы чумного микроба с аналогичным набором плазмид выделяли в российской части Сайлюгемского природного очага чумы [Балахонов и др. 2013, 20166].



1 – *Y. pestis* ssp. *pestis* И-2638 (референтный) Тыва, Монгун-Тайга, 1977 г.; 2 – *Y. pestis* ssp. *pestis* И-3664, Монголия, Хундий; 3 – *Y. pestis* ssp. *pestis* И-3642, Монголия, Хар-Жамат; 4 – *Y. pestis* ssp. *pestis* И-3648, Монголия, Хар-Жамат; 5 – *Y. pestis* ssp. *pestis* И-3667, Монголия, Шар-Булаг; 6 – *Y. pestis* ssp. *pestis* И-3639, Монголия, Шар-Булаг; 7 – *Y. pestis* ssp. *pestis* И-3633, Монголия, Терсагкан; 8 – *Y. pestis* ssp. *pestis* И-3673, Монголия, Бухан-Толгой; 9 – *Y. pestis* ssp. *pestis* И-3662, Монголия, Хундий; 10 – *Y. pestis* ssp. *pestis* И-3637, Монголия, Шар-Булаг; 11 – *Y. pestis* ssp. *pestis* И-3649, Монголия, Жалпак; 12 – *Y. pestis* ssp. *pestis* И-3647, Монголия, Хар-Жамат; 13 – *Y. pestis* ssp. *pestis* И-3635, Монголия, Баян-Улга, Терсагкан; 14 – *Y. pestis* ssp. *pestis* И-3640, Монголия, Терсагкан; 15 – *Y. pestis* ssp. *pestis* И-3671, Монголия, Хар-Жамат; 16 – *Y. pestis* ssp. *pestis* И-3659, Монголия, Хагнур; 17 – *Y. pestis* ssp. *pestis* И-3674, Монголия, Бухан-Толгой; 18 – *Y. pestis* EV НИЕГ 229, Мадагаскар, 1926 г.; 19 – *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* 1139 Алтай, Курайский хребет; 20 – *Y. pestis* ssp. *pestis* 1276, Тыва, Кургак-Сай, 2018 г.

Рисунок 5 – Плазмидный анализ штаммов *Y. pestis*, выделенных на территории Сайлюгемского природного очага чумы.

Таким образом, изученные штаммы относятся к основному подвиду чумного микроба с характерными культурально-морфологическими, биохимическими свойствами, набором основных детерминант вирулентности и обладают высокой универсальной вирулентностью для лабораторных животных. Проанализированные штаммы по исследованным характеристикам полностью идентичны штаммам *Y. pestis* ssp. *pestis*, изолированным в российской части очага (Горно-Алтайский высокогорный природный очаг).

ГЛАВА 4 МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАММОВ *Y. PESTIS SSP. CENTRAL ASIATICA BV. ALTAICA* ПРИ MLVA25-ТИПИРОВАНИИ

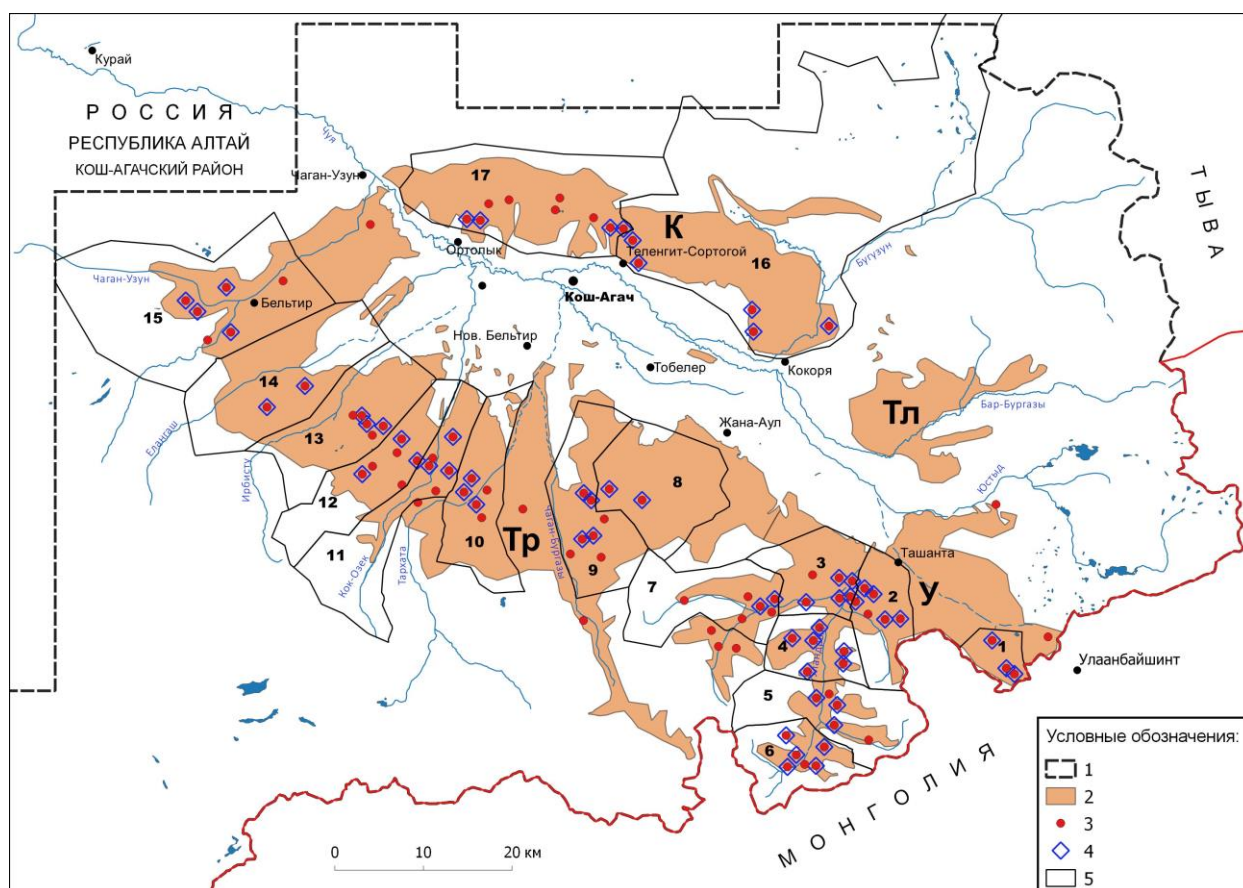
4.1 MLVA25 структура *Y. pestis ssp. central asiatica bv. altaica* в трансграничном Сайлюгемском природном очаге чумы

В проблеме эпизоотологии чумы в настоящее время особое внимание уделяется вопросам генотипического разнообразия по MLVA25 возбудителя чумы в пределах природного очага. Такие изменения описаны в нескольких очагах, при этом наблюдается их связь с эпизоотической активностью [Vogler et al., 2011; Евченко и др., 2013; Ерошенко и др., 2019а, 2019б, 2019в].

Наличие репрезентативной выборки штаммов, выделенных в конкретном природном очаге от различных видов носителей возбудителя инфекции и их эктопаразитов, является важным условием для оценки генотипической структуры популяции возбудителя [Коренберг, 2010, 2015] и, дополним, на всей территории природного очага в течение длительного времени. Материалы, полученные в российской части Сайлюгемского природного очага чумы, в полной мере отвечают вышеперечисленным требованиям.

Исследования проведены на 330 штаммах чумного микроба центрально-азиатского подвида, изолированных в российской части трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы при проведении эпизоотологического мониторинга в 1961-2015 гг.

Места изоляции штаммов *Y. pestis ssp. central asiatica bv. altaica* приурочены к большей части энзоотичной территории и получены на 17 эпизоотических участках из 24 известных (рисунок 6). При этом на семи последних, откуда штаммы не взяты в исследование, были только единичные находки этого варианта возбудителя.



1 – граница природного очага чумы; 2 – ареал монгольской пищухи; 3 – точки изоляции *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica*; 4 – точки изоляции штаммов *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica*, использованных при MLVA25-типировании, 5 – границы эпизоотических участков. На карте буквами обозначены популяции монгольской пищухи: У – Уландрыкская, Тр – Тархатинская, К – Курайская, Тл – Талдуайрская. Цифрами обозначены эпизоотические участки: 1 – Кызыл-Капчал, 2 – Большие и Малые Сары-Гобо, 3 – Низовье р. Уландрык, 4 – Стационар и Большой Кочкор-Бас и Большой Кочкор-Бас, 5 – Середина р. Уландрык, 6 – Вершина р. Уландрык, 7 – Середина р. Большие Шибеты, 8 – Оюм и Шибе, 9 – Правый берег р. Чаган-Бургазы, 10 – Низовье р. Тархата, 11 – Кок-Озёк, 12 – Сербисту, 13 – Середина р. Ирбисту, 14 – Середина р. Елангаш, 15 – Середина р. Чаган-Узун, 16 – Восточная часть Курайского хребта, 17 – Центральная часть Курайского хребта.

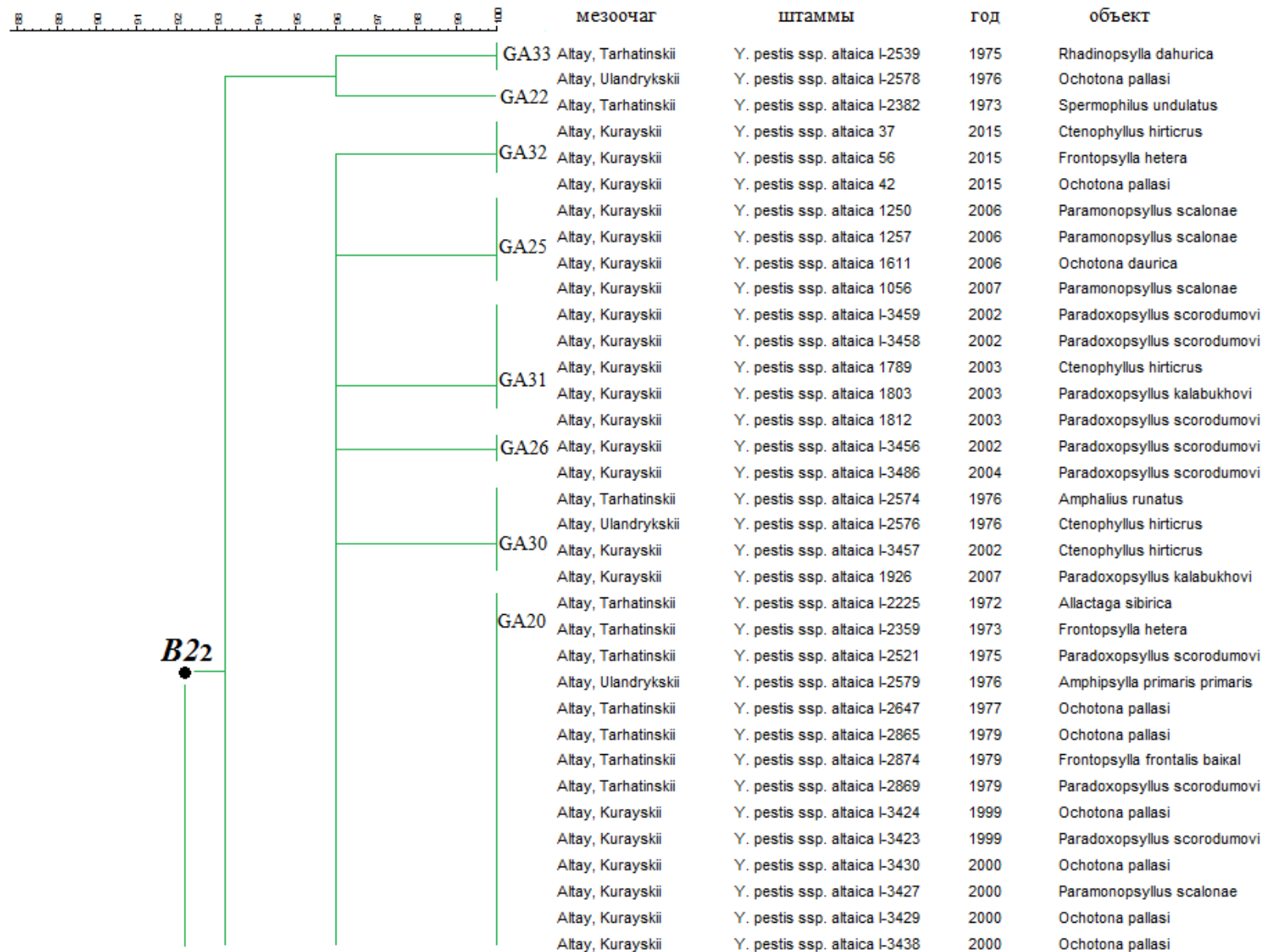
Рисунок 6 – Пространственная структура населения монгольской пищухи и места изоляции *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* в российской части Сайлюгемского природного очага.

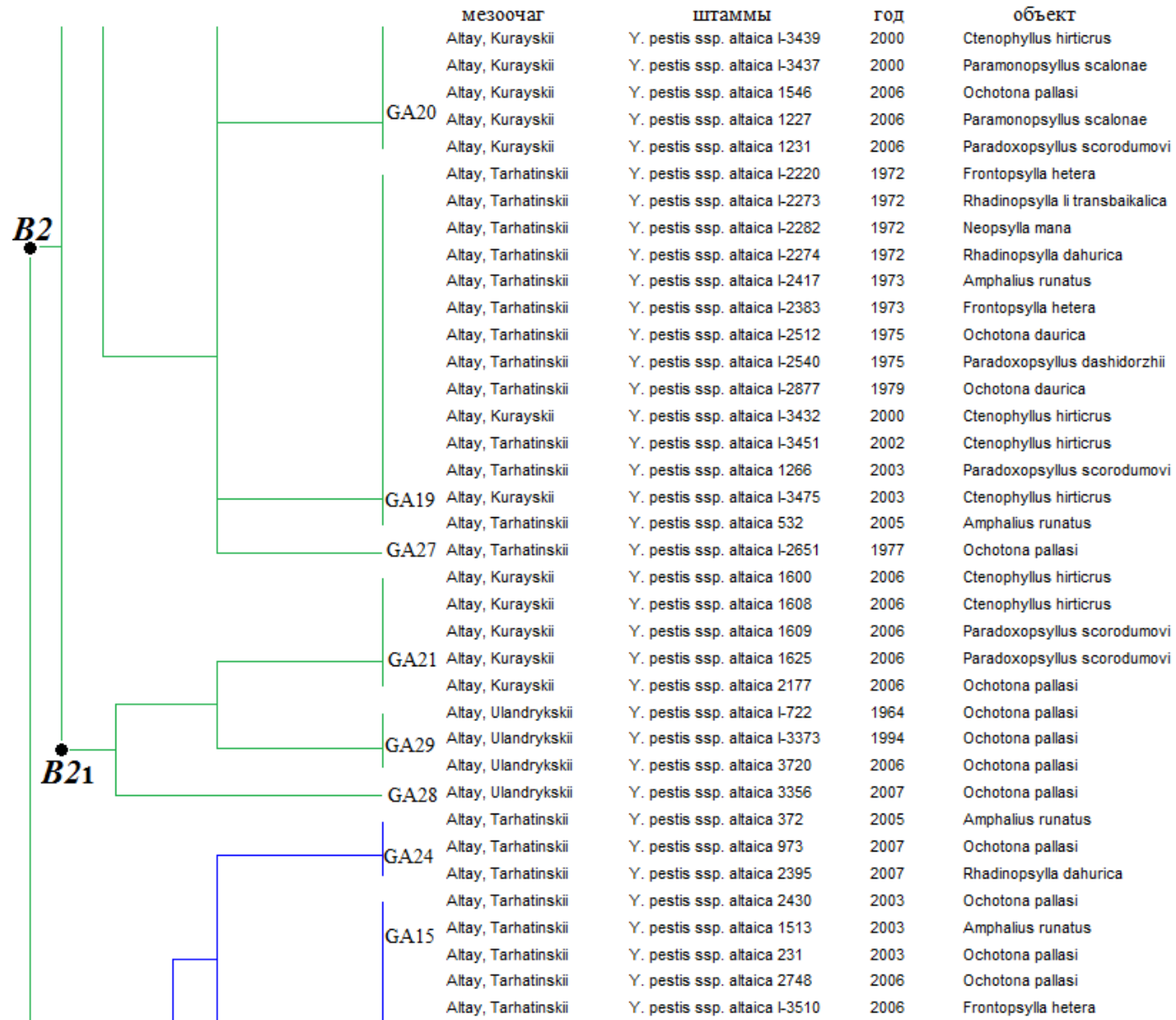
Из Уландрыкского мезоочага изучено 184 штамма (12,7 % от всех выделенных в нем), из Тархатинского – 110 (13,9 %), из Курайского – 36 (20,1 %). Исследованные штаммы достаточно равномерно распределены по времени их изоляции: 1961-1981 гг. – 116 (13,2 % от полученных за данный период), 1982-2001 гг. – 70 (9,2 %), 2002-2015 г. – 144 (18,6 %). По объектам выделения штаммы распределялись следующим образом: от блох *P. scorodumovi*

изучен 71 штамм (21,5 %), *C. hirticrus* – 42 (12,7 %), *A. runatus* – 35 (10,6 %), от других эктопаразитов 17 видов – 79 (23,9 %), от монгольской пищухи 73 штамма (22,1 % от всего числа исследованных), от других млекопитающих семи видов – 30 (9,1 %).

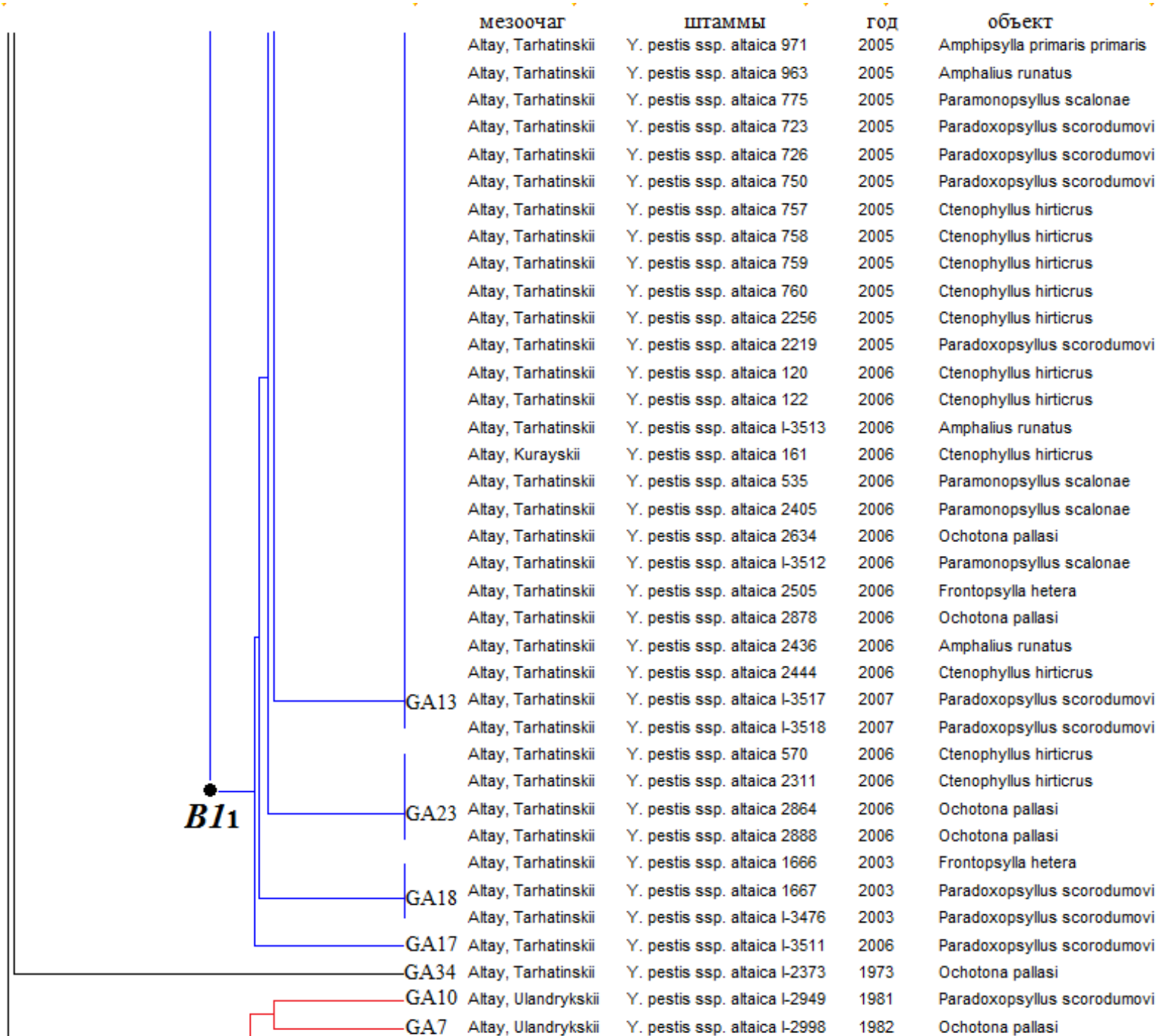
В результате MLVA анализа 25 переменных локусов 330 проанализированных штаммов чумного микроба центральноазиатского подвида дифференцированы на 34 VNTR генотипа (GA1-GA34), из них: три крупных объединяли 56, 57 и 91 штамм, в состав трех средних вошли 14, 15 и 19 штаммов, 17 небольших по объему VNTR-профилей включали от двух до восьми штаммов и 11 были уникальными, т.е. выявлены только у одного штамма в изученной выборке (таблица 3, рисунки 7 и 8).

VNTRamp (<All Characters>)





Мезоочаг	ШТАММЫ	ГОД	ОБЪЕКТ
Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica 2286	2006	<i>Paradoxopsyllus kalabukhovi</i>
Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica 2385	2006	<i>Ctenophyllus hirticrus</i>
Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica 1313	2014	<i>Paradoxopsyllus scorodumovi</i>
Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica 2391	2006	<i>Amphalius runatus</i>
Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-3516	2007	<i>Allicola strelzovi</i>
Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica 1659	2007	<i>Ctenophyllus hirticrus</i>
Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica 1970	2007	<i>Ochotona pallasi</i>
Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-3273	1990	<i>Paradoxopsyllus kalabukhovi</i>
Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-3274	1990	<i>Frontopsylla hetera</i>
Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-3296	1990	<i>Rhadinopsylla dahurica</i>
Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-3297	1990	<i>Ochotona pallasi</i>
Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-3455	2002	<i>Paradoxopsyllus scorodumovi</i>
Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-3474	2003	<i>Amphalius runatus</i>
Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-3478	2003	<i>Ochotona pallasi</i>
Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica 2318	2003	<i>Paradoxopsyllus scorodumovi</i>
Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica 2349	2003	<i>Amphalius runatus</i>
Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica 2368	2003	<i>Paradoxopsyllus scorodumovi</i>
Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica 2370	2003	<i>Paradoxopsyllus scorodumovi</i>
Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica 2371	2003	<i>Paradoxopsyllus scorodumovi</i>
Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica И-3477	2003	<i>Paradoxopsyllus scorodumovi</i>
Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica 184	2005	<i>Paramonopsyllus scalonae</i>
Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica 1393	2005	<i>Ochotona pallasi</i>
Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica 1445	2005	<i>Ochotona pallasi</i>
Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-3492	2005	<i>Ctenophyllus hirticrus</i>
Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-3493	2005	<i>Paradoxopsyllus kalabukhovi</i>
Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica 1188	2005	<i>Paradoxopsyllus scorodumovi</i>
Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica 1116	2005	<i>Ctenophyllus hirticrus</i>
Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica 1112	2005	<i>Amphalius runatus</i>
Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica 1113	2005	<i>Amphalius runatus</i>
Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica 1114	2005	<i>Ctenophyllus hirticrus</i>
Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica 1124	2005	<i>Paramonopsyllus scalonae</i>
Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica 1146	2005	<i>Paramonopsyllus scalonae</i>
Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica 1142	2005	<i>Paramonopsyllus scalonae</i>
Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica 1638	2005	<i>Ctenophyllus hirticrus</i>
Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica 1641	2005	<i>Frontopsylla hetera</i>
Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica 1677	2005	<i>Wagnerina tuvensis</i>
Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-3495	2005	<i>Frontopsylla hetera</i>



мезоочаг	штаммы	год	объект
Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-3414	1998	<i>Ochotona pallasii</i>
Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-3447	2001	<i>Paradoxopsyllus scorodumovi</i>
Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-3442	2001	<i>Amphalius runatus</i>
Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica 1436	2003	<i>Paradoxopsyllus scorodumovi</i>
Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica 1443	2003	<i>Ctenophyllus hirticrus</i>
Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica 1444	2003	<i>Ctenophyllus hirticrus</i>
Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-3278	1990	<i>Rhadinopsylla dahurica</i>
Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-3300	1991	<i>Paradoxopsyllus scorodumovi</i>
Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-3301	1991	<i>Paradoxopsyllus scorodumovi</i>
Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-3304	1991	<i>Ochotona pallasii</i>
Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-3334	1992	<i>Ochotona pallasii</i>
Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-3347	1992	<i>Paradoxopsyllus scorodumovi</i>
Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-3337	1992	<i>Amphalius runatus</i>
Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-3387	1995	<i>Ochotona pallasii</i>
Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-3467	2002	<i>Ctenophyllus hirticrus</i>
Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-3466	2002	<i>Paradoxopsyllus scorodumovi</i>
Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica 241	2003	<i>Amphipsylla primaris primaris</i>
Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica 245	2003	<i>Amphipsylla primaris primaris</i>
Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-3514	2006	<i>Ctenophyllus hirticrus</i>
Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-3515	2007	<i>Amphalius runatus</i>
Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-3519	2007	<i>Paradoxopsyllus scorodumovi</i>
Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-579	1961	<i>Mustela eversmanni</i>
Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-580	1961	<i>Amphalius runatus</i>
Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-587	1961	<i>Spermophilus undulatus</i>
Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-588	1961	<i>Ochotona pallasii</i>
Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-586	1961	<i>Amphipsylla primaris primaris</i>
Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-645	1962	<i>Spermophilus undulatus</i>
Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-678	1963	<i>Amphalius runatus</i>
Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-677	1963	<i>Ochotona pallasii</i>
Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-723	1964	<i>Ochotona pallasii</i>
Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-724	1964	<i>Frontopsylla hetera</i>
Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-810	1964	<i>Frontopsylla elata</i>
Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-1021	1965	<i>Ochotona pallasii</i>
Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-1024	1965	<i>Marmota baibacina</i>
Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-1023	1965	<i>Marmota baibacina</i>
Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-1014	1965	<i>Frontopsylla hetera</i>
Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-1034	1965	<i>Ochotona pallasii</i>

	Мезоочаг	Штаммы	год	объект
GA12	Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-1043	1965	<i>Marmota baibacina</i>
	Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-1166	1965	<i>Ochotona pallasi</i>
	Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-1467	1966	<i>Amphalius runatus</i>
	Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-1468	1966	<i>Oropsylla silantiewi</i>
	Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-1469	1966	<i>Oropsylla silantiewi</i>
	Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-1445	1966	<i>Ochotona pallasi</i>
	Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-1446	1966	<i>Spermophilus undulatus</i>
	Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-1495	1967	<i>Amphalius runatus</i>
	Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-1492	1967	<i>Ctenophyllus hirticrus</i>
	Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-1672	1968	<i>Ochotona pallasi</i>
	Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-1674	1968	<i>Ochotona pallasi</i>
	Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-1726	1969	<i>Ochotona pallasi</i>
	Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-1727	1969	<i>Ochotona pallasi</i>
	Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-2020	1970	<i>Ochotona pallasi</i>
	Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-2007	1970	<i>Paradoxopsyllus scorodumovi</i>
	Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-2023	1970	<i>Ochotona pallasi</i>
	Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-2454	1974	<i>Rhadinopsylla dahurica</i>
	Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-2451	1974	<i>Paradoxopsyllus scorodumovi</i>
	Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-2496	1975	<i>Ochotona pallasi</i>
	Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-2493	1975	<i>Ochotona pallasi</i>
	Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-2494	1975	<i>Mustela eversmanni</i>
	Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-2583	1976	<i>Ochotona pallasi</i>
	Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-2572	1976	<i>Ochotona pallasi</i>
	Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-2642	1977	<i>Amphipsylla primaris primaris</i>
	Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-2649	1977	<i>Ochotona pallasi</i>
	Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-2741	1978	<i>Paradoxopsyllus scorodumovi</i>
	Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-2744	1978	<i>Rhadinopsylla li transbaikalica</i>
	Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-2750	1978	<i>Paradoxopsyllus scorodumovi</i>
	Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-2875	1979	<i>Mustela eversmanni</i>
	Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-2879	1979	<i>Ochotona pallasi</i>
	Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-2819	1979	<i>Ochotona pallasi</i>
	Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-2871	1979	<i>Paradoxopsyllus scorodumovi</i>
	Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-3028	1980	<i>Ochotona pallasi</i>
	Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-3029	1980	<i>Ochotona pallasi</i>
	Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-2894	1980	<i>Rhadinopsylla dahurica</i>
	Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-2934	1980	<i>Paradoxopsyllus scorodumovi</i>
	Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. altaica I-2937	1981	<i>Ochotona pallasi</i>

Мезоочаг	Штаммы	Год	Объект
Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. altaica I-2945	1981	Ochotona pallasi
Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. altaica I-2950	1981	Paradoxopsyllus scorodumovi
Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. altaica I-2958	1981	Paradoxopsyllus scorodumovi
Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. altaica I-2959	1981	Rhadinopsylla li transbaikalica
Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. altaica I-2999	1982	Ochotona pallasi
Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. altaica I-3002	1982	Paradoxopsyllus scorodumovi
Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. altaica I-3001	1982	Paradoxopsyllus scorodumovi
Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. altaica I-3181	1985	Paradoxopsyllus scorodumovi
Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. altaica I-3202	1986	Rhadinopsylla li transbaikalica
Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. altaica I-3238	1988	Alticola strelzovi
Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. altaica I-3259	1989	Amphipsylla primaris primaris
Altay, Tarhatinskii	Y. pestis ssp. altaica I-3330	1990	Oropsylla alaskensis
Altay, Tarhatinskii	Y. pestis ssp. altaica I-3331	1990	Pediculus
Altay, Tarhatinskii	Y. pestis ssp. altaica I-3332	1990	Citellophilus tesquorum
Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. altaica I-3328	1990	Paradoxopsyllus scorodumovi
Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. altaica I-3276	1990	Ochotona pallasi
Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. altaica I-3386	1995	Amphalius runatus
Altay, Tarhatinskii	Y. pestis ssp. altaica I-3385	1995	Alticola strelzovi
Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. altaica I-3407	1998	Amphalius runatus
Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. altaica I-3421	1999	Ctenophyllus hirticrus
Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. altaica 593	2000	Amphalius runatus
Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. altaica I-3436	2000	Ochotona pallasi
Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. altaica I-3433	2000	Rhadinopsylla dahurica
Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. altaica 1330	2000	Paradoxopsyllus scorodumovi
Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. altaica 1336	2000	Ctenophyllus hirticrus
Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. altaica I-3446	2001	Paradoxopsyllus scorodumovi
Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. altaica I-3440	2001	Paradoxopsyllus scorodumovi
Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. altaica I-3444	2001	Ctenophyllus hirticrus
Altay, Kurayskii	Y. pestis ssp. altaica 2228	2002	Paradoxopsyllus scorodumovi
Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. altaica 1564	2003	Ochotona daurica
Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. altaica 1614	2003	Ochotona pallasi
Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. altaica 912	2003	Amphalius runatus
Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. altaica 1413	2003	Paradoxopsyllus scorodumovi
Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. altaica 1414	2003	Paradoxopsyllus scorodumovi
Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. altaica 1417	2003	Paradoxopsyllus scorodumovi
Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. altaica 1438	2003	Amphalius runatus
GA12 Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. altaica 1462	2003	Ctenophyllus hirticrus
Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. altaica 2839	2006	Rhadinopsylla dahurica

мезоочаг	штаммы	год	объект
GA9	Altay, Ulandrykskii Y. pestis ssp. altaica I-1040	1965	Ochotona pallasi
GA8	Altay, Ulandrykskii Y. pestis ssp. altaica I-2006	1970	Rhadinopsylla li li
GA2	Altay, Ulandrykskii Y. pestis ssp. altaica I-3441	2001	Paradoxopsyllus scorodumovi
	Altay, Ulandrykskii Y. pestis ssp. altaica I-3488	2004	Frontopsylla hetera
GA4	Altay, Ulandrykskii Y. pestis ssp. altaica I-3298	1990	Rhadinopsylla li transbaikalica
	Altay, Ulandrykskii Y. pestis ssp. altaica 558	2000	Amphalius runatus
	Altay, Ulandrykskii Y. pestis ssp. altaica 1432	2003	Paradoxopsyllus scorodumovi
GA5	Altay, Ulandrykskii Y. pestis ssp. altaica 1435	2003	Paradoxopsyllus scorodumovi
	Altay, Ulandrykskii Y. pestis ssp. altaica I-1011	1965	Spermophilus undulatus
	Altay, Ulandrykskii Y. pestis ssp. altaica I-1026	1965	Ochotona pallasi
	Altay, Ulandrykskii Y. pestis ssp. altaica I-1031	1965	Spermophilus undulatus
	Altay, Ulandrykskii Y. pestis ssp. altaica I-2021	1970	Ctenophyllus hirticus
	Altay, Ulandrykskii Y. pestis ssp. altaica I-2099	1971	Ochotona pallasi
	Altay, Ulandrykskii Y. pestis ssp. altaica I-2098	1971	Ochotona pallasi
	Altay, Ulandrykskii Y. pestis ssp. altaica I-2101	1971	Rhadinopsylla li transbaikalica
	Altay, Tarhatinskii Y. pestis ssp. altaica I-2271	1972	Phodopus campbelli
	Altay, Tarhatinskii Y. pestis ssp. altaica I-2266	1972	Paradoxopsyllus scorodumovi
	Altay, Tarhatinskii Y. pestis ssp. altaica I-2384	1973	Ochotona pallasi
	Altay, Ulandrykskii Y. pestis ssp. altaica I-2499	1975	Spermophilus undulatus
	Altay, Ulandrykskii Y. pestis ssp. altaica I-2501	1975	Rhadinopsylla li li
	Altay, Ulandrykskii Y. pestis ssp. altaica I-2602	1976	Amphalius runatus
	Altay, Ulandrykskii Y. pestis ssp. altaica I-2580	1976	Ochotona pallasi
	Altay, Ulandrykskii Y. pestis ssp. altaica I-2597	1976	Rhadinopsylla dahirica
	Altay, Ulandrykskii Y. pestis ssp. altaica I-2742	1978	Amphalius runatus
Altay, Ulandrykskii Y. pestis ssp. altaica I-2752	1978	Paradoxopsyllus scorodumovi	
Altay, Ulandrykskii Y. pestis ssp. altaica I-2811	1979	Rhadinopsylla li transbaikalica	
Altay, Ulandrykskii Y. pestis ssp. altaica I-2880	1979	Ochotona daurica	
Altay, Ulandrykskii Y. pestis ssp. altaica I-2878	1979	Paradoxopsyllus scorodumovi	
Altay, Ulandrykskii Y. pestis ssp. altaica I-2884	1979	Paradoxopsyllus scorodumovi	
Altay, Ulandrykskii Y. pestis ssp. altaica I-2885	1980	Ochotona pallasi	
Altay, Ulandrykskii Y. pestis ssp. altaica I-2888	1980	Ochotona pallasi	
Altay, Ulandrykskii Y. pestis ssp. altaica I-2890	1980	Ctenophyllus hirticus	
Altay, Ulandrykskii Y. pestis ssp. altaica I-2898	1980	Paradoxopsyllus scorodumovi	
Altay, Ulandrykskii Y. pestis ssp. altaica I-3030	1980	Paradoxopsyllus scorodumovi	
Altay, Ulandrykskii Y. pestis ssp. altaica I-2893	1980	Paradoxopsyllus scorodumovi	
Altay, Ulandrykskii Y. pestis ssp. altaica I-2935	1981	Amphalius runatus	

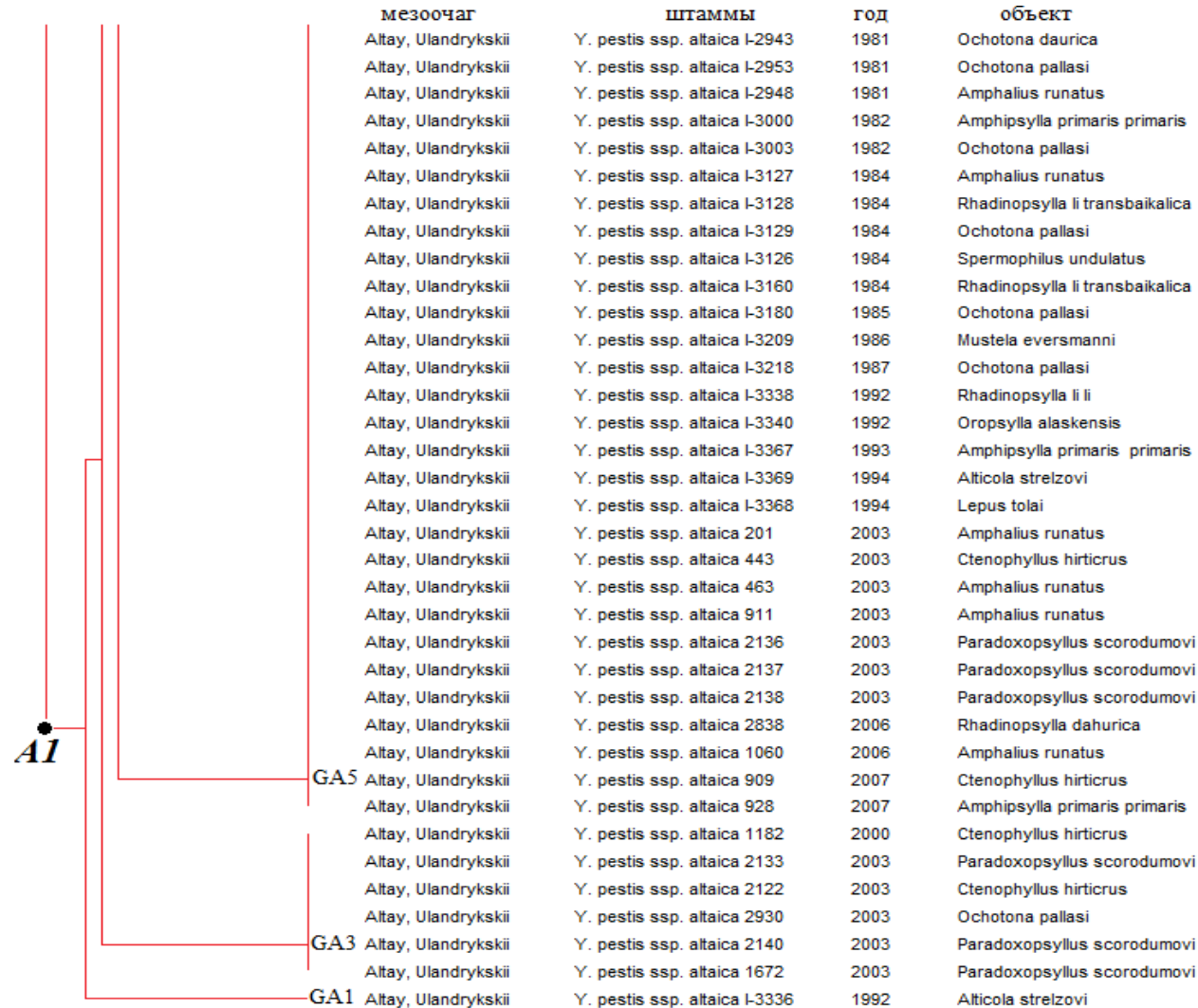
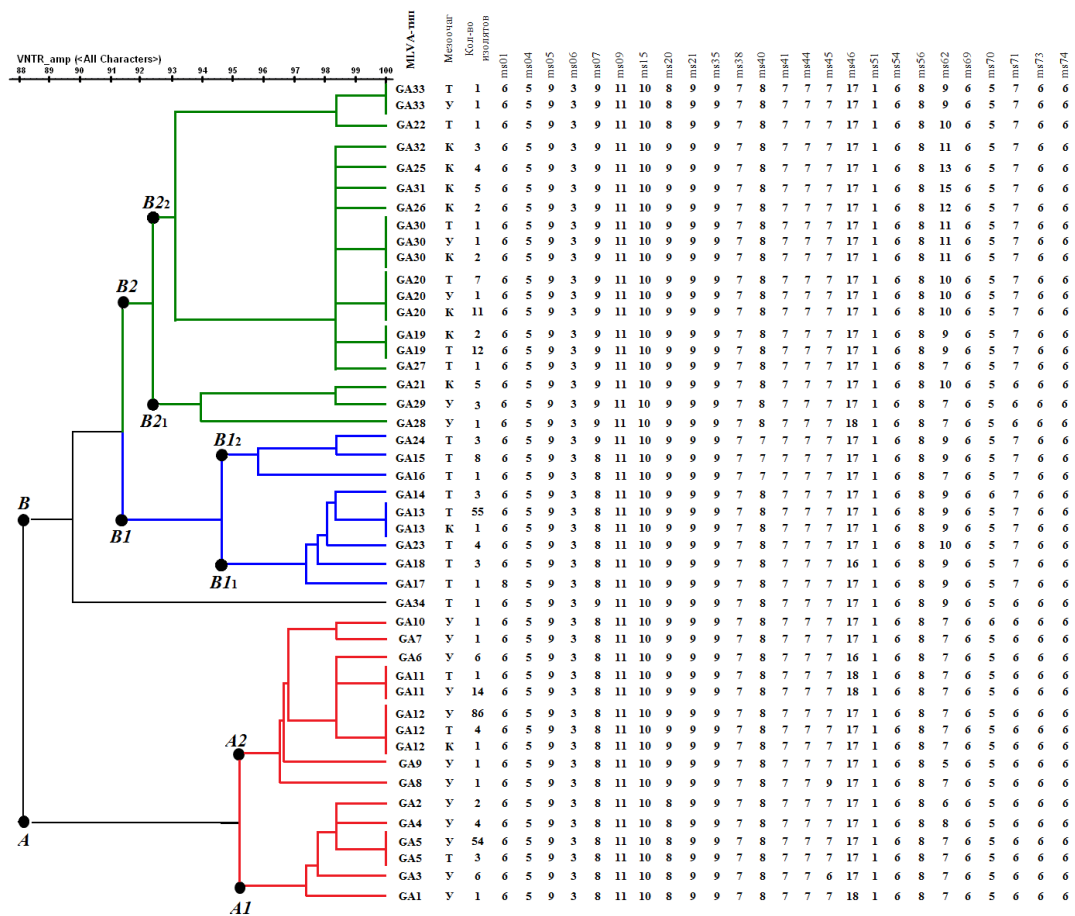


Рисунок 7 – Дендрограмма, иллюстрирующая степень родства исследованных штаммов *Y. pestis ssp. central asiatica* bv. altaica, изолированных в российской части Сайлюгемского природного очага чумы.



Буквами обозначены мезоочаги, в которых изолированы штаммы: У – Уландрыкский, Т – Тархатинский, К – Курайский.

Рисунок 8 – Схема MLVA25 типов, обнаруженных у 330 штаммов *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica*, изолированных в российской части Сайлюгемского природного очага чумы.

Таблица 3 – Характеристика MLVA25-типов *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* в Горно-Алтайском природном очаге чумы по месту и времени изоляции штаммов

MLVA25-тип	Мезоочаг (число штаммов)	Участок	Год выделения
GA1	У (1)	Стационар и Большой Кочкор-Бас	1992
GA2	У (2)	Большие и Малые Сары-Гобо	2001, 2004
GA3	У (6)	Середина р. Уландрык	2000, 2003
GA4	У (4)	Низовье р. Уландрык	1990, 2000, 2003

GA5	У (54), Т (3)	Низовье р. Уландрык, Середина р. Уландрык, Вершина р. Уландрык, Стационар и Большой Кочкор-Бас, Большие и Малые Сары-Гобо, Кызыл-Капчал, Низовье р. Тархата, Сербисту	1965, 1970-1973, 1975, 1976, 1978-1982, 1984-1987, 1992-1994, 2003, 2006, 2007
GA6	У (6)	Большие и Малые Сары-Гобо, Низовье р. Уландрык, Середина р. Большие Шибеты	1998, 2001, 2003
GA7	У (1)	Стационар и Большой Кочкор-Бас	1982
GA8	У (1)	Стационар и Большой Кочкор-Бас	1970
GA9	У (1)	Низовье р. Уландрык	1965
GA10	У (1)	Кызыл-Капчал	1981
GA11	У (14), Т (1)	Стационар и Большой Кочкор-Бас, Большие и Малые Сары-Гобо, Низовье р. Уландрык, Кок-Озёк	1990-1992, 1995, 2002, 2003, 2006, 2007
GA12	У (86), Т (4), К (1)	Низовье р. Уландрык, Середина р. Уландрык, Вершина р. Уландрык, Стационар и Большой Кочкор-Бас, Большие и Малые Сары-Гобо, Кызыл-Капчал, Середина р. Большие Шибеты, Сербисту, Правый берег р. Чаган-Бургазы, Восточная часть Курайского хребта	1961-1970, 1974-1982, 1985, 1986, 1988-1990, 1995, 1998-2003, 2006
GA13	Т (55), К (1)	Низовье р. Тархата, Кок-Озёк, Сербисту, Середина р. Ирбисту, Середина р. Елангаш, Середина р. Чаган-Узун, Восточная часть Курайского хребта	1990, 2002, 2003, 2005, 2006, 2007
GA14	Т (3)	Сербисту	2007
GA15	Т (8)	Сербисту, Середина р. Ирбисту	2003, 2006, 2014
GA16	Т (1)	Середина р. Ирбисту	2006
GA17	Т (1)	Сербисту	2006
GA18	Т (3)	Середина р. Чаган-Узун	2003

GA19	Т (12), К (2)	Урочища Оюм, Шибе, Низовье р. Тархата, Правый берег р. Чаган-Бургазы, Сербисту, Восточная часть Курайского хребта, Центральная часть Курайского хребта	1972, 1973, 1975, 1979, 2000, 2002, 2003, 2005
GA20	У (1), Т (7), К (11)	Кызыл-Капчал, Правый берег р. Чаган-Бургазы, Урочища Оюм, Шибе, Восточная часть Курайского хребта, Центральная часть Курайского хребта	1972, 1973, 1975-1977, 1979, 1999, 2000, 2006
GA21	К (5)	Центральная часть Курайского хребта	2006
GA22	Т (1)	Сербисту	1973
GA23	Т (4)	Сербисту, Середина р. Ирбисту	2006
GA24	Т (3)	Правый берег р. Чаган-Бургазы, Середина р. Ирбисту	2005, 2007
GA25	К (4)	Центральная часть Курайского хребта	2006, 2007
GA26	К (2)	Восточная часть Курайского хребта, Центральная часть Курайского хребта	2002, 2004
GA27	Т (1)	Урочища Оюм, Шибе	1977
GA28	У (1)	Стационар и Большой Кочкор-Бас	2007
GA29	У (3)	Низовье р. Уландрык, Стационар и Большой Кочкор-Бас	1964, 1994, 2006
GA30	У (1), Т (1), К (2)	Кызыл-Капчал, Правый берег р. Чаган-Бургазы, Восточная часть Курайского хребта	1976, 2002, 2007
GA31	К (5)	Восточная часть Курайского хребта	2002, 2003
GA32	К (3)	Центральная часть Курайского хребта	2015
GA33	У (1), Т (1)	Стационар и Большой Кочкор-Бас, Правый берег р. Чаган-Бургазы	1975, 1976
GA34	Т (1)	Сербисту	1973

При анализе изменчивости оказалось, что из 25 VNTR локусов 16 не варибельны (таблица 4). Наблюдается выраженное разнообразие по шести локусам (*yp2916ms07*, *yp1814ms20*, *yp0581ms40*, *yp1335ms46*, *yp4280ms62*,

ур1925ms71). По трем локусам изменчивость очень низкая: по локусу ур0120ms01 редкими аллелями оказались 8 повторов, ур1108ms45 – 6 и 9 повторов, ур1580ms70 – 6 повторов.

Таблица 4 – Характеристика 25 VNTR локусов при исследовании 330 штаммов *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica*, изолированных в российской части Сайлюгемского природного очага чумы

Локус	Число аллелей	Число повторов	Индекс разнообразия Nei
ур0120ms01	2	6, 8	0,01
ур1290ms04	1	5	0
ур1935ms05	1	9	0
ур2769ms06	1	3	0
ур2916ms07	2	8, 9	0,33
ур3057ms09	1	11	0
ур0559ms15	1	10	0
ур1814ms20	2	8, 9	0,34
ур1895ms21	1	9	0
ур4042ms35	1	9	0
ур4425ms38	1	7	0
ур0581ms40	2	7, 8	0,07
ур0718ms41	1	7	0
ур1018ms44	1	7	0
ур1108ms45	3	6, 7, 9	0,04
ур1335ms46	3	16-18	0,15
ур2058ms51	1	1	0
ур2612ms54	1	6	0
ур3060ms56	1	8	0
ур4280ms62	10	5-13, 15	0,60
ур1118ms69	1	6	0
ур1580ms70	2	5, 6	0,02
ур1925ms71	2	6, 7	0,48
ур3236ms73	1	6	0
ур3245ms74	1	6	0

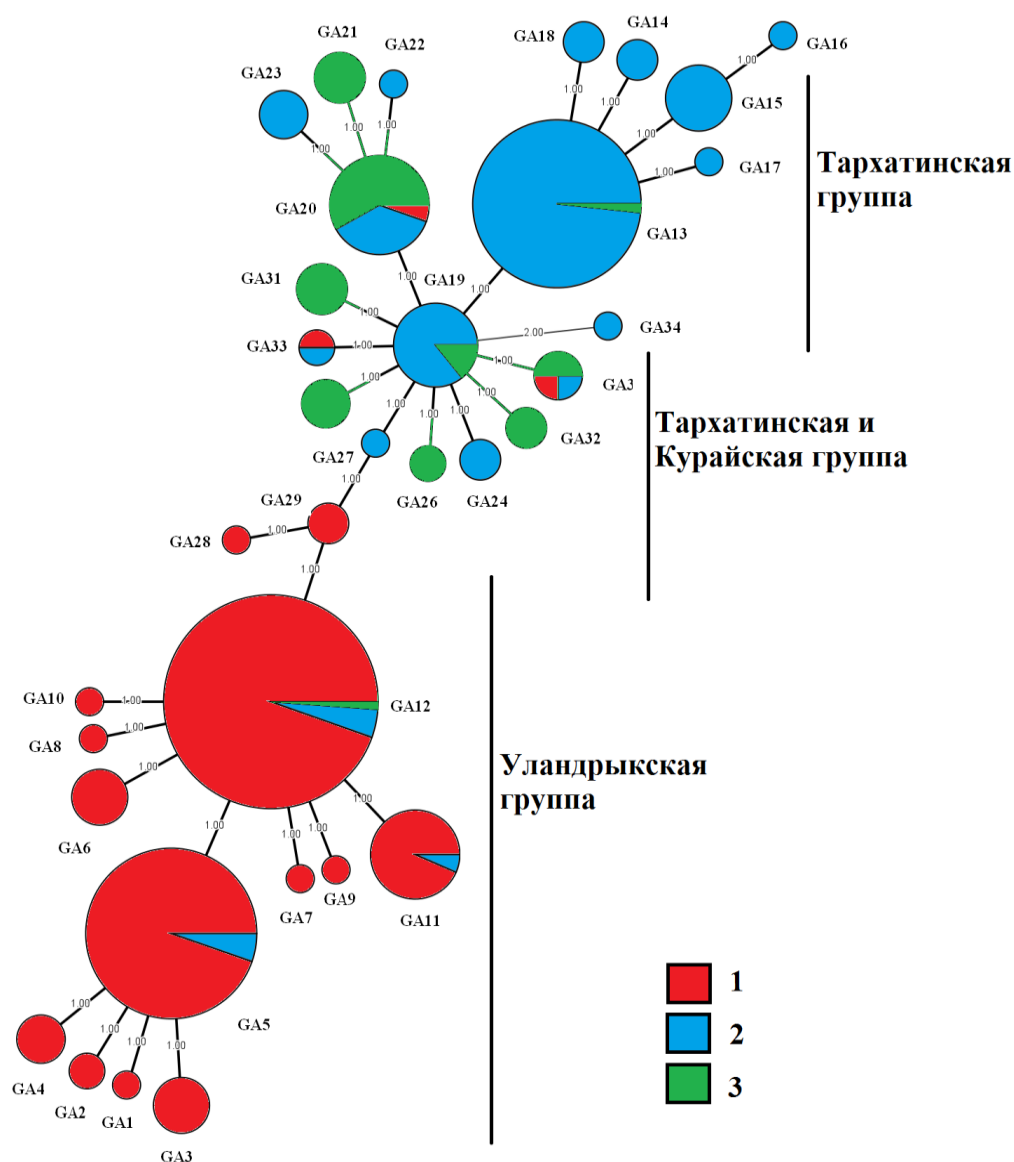
Результаты MLVA25 анализа показывают, что в изученной выборке выделяются два кластера: кластер *A*, включающий 186 штаммов и кластер *B* – 144 штамма. (рисунок 6 и 7). Кластер *A* делится на два крупных подкластера

(A1 и A2). Подкластер A1 включает 70 штаммов, большая часть которых изолирована в Уландрыкском мезоочаге 67 (95,7 %) и только 3 (4,3 %) – в Тархатинском. В A2 вошли 116 штаммов, из которых 110 (94,8 %) изолированы в Уландрыкском мезоочаге, 5 (4,3 %) – в Тархатинском, 1 (0,9 %) – в Курайском. В кластере B один штамм, изолированный в Тархатинском мезоочаге, расположен отдельно (генотип GA34). Остальные 143 – образуют ветви B1 и B2. Ветвь B1 включает 79 штаммов, 78 (98,7 %) из которых выделено в Тархатинском мезоочаге и 1 (1,3 %) – в Курайском. Подкластер B2 содержит 64 штамма, из них 34 (53,2 %) из Курайского мезоочага, 23 (35,9 %) – в Тархатинского и семь (10,9 %) из Уландрыкского (рисунок 7 и 8, таблица 3).

Значения бутстрэп анализа при формировании кластеров и подкластеров колеблются в пределах 40-75, ветвей внутри подкластеров – 67-88. Слабая бутстрэп поддержка кластеризации в целом характерна для MLVA, что определяется высокой скоростью мутирования VNTR локусов и обусловленной этим гомоплазией [Klevytska et al., 2001; Vogler et al., 2011; Riehm et al., 2012].

Следует обратить внимание, что сформированные подкластеры в основном состоят из штаммов, изолированных на территории определенного мезоочага. Ветви A1 и A2 преимущественно представлены штаммами, полученными в Уландрыкском мезоочаге, что суммарно составляет более 95 % от объема всей выборки с данной территории. Ветвь B1 наиболее однородна по месту выделения изолятов, в основном в нее вошли тархатинские штаммы (70,1 % от всех выделенных в нем). Ветвь B2 гетерогенна по своему составу, она включает, главным образом, курайские (94,4 % от общего количества штаммов из этой части очага), а также тархатинские (20,1 %) штаммы. Сравнение распределений штаммов по принадлежности к мезоочагам в подкластерах A1, A2, B1, B2 свидетельствует о высокой степени достоверности и определяется местом их выделения ($\chi^2 = 397,25$; $df = 6$; $p < 0,001$).

Для дополнительной оценки особенностей генотипической MLVA25-структуры возбудителя чумы центральноазиатского подвида проведен анализ методом MST (рисунок 9).



Каждый MLVA25-тип представлен кругом, его размер показывает число штаммов. Цвет указывает на штаммы, выделенные в разных мезоочагах: красный – Уландрыкский (1), синий – Тархатинский (2), зеленый – Курайский (3).

Рисунок 9 – Минимальное остовное дерево (MST), построенное на основании данных MLVA25-типирования 330 штаммов *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica*, изолированных в российской части Сайлюгемского природного очага чумы.

В результате исследования установлено, что проанализированные штаммы образуют три оформленные изолированные группы в зависимости

от места выделения в пределах очага и соответствуют данным, полученным методом UPGMA. В Уландрыкскую и Тархатинскую группы преимущественно вошли штаммы, выделенные в данных мезоочагах, между ними расположена Курайско-Тархатинская группа, включающая изоляты из соответствующих мезоочагов.

При анализе зависимости сформированных отдельных групп штаммов от времени и места получения внутри мезоочагов установлено, что распределение штаммов из Уландрыкского мезоочага в подкластерах *A1* и *A2* не связано со временем и участками их выделения. В кластер *A* вошли штаммы, изолированные со всех эпизоотических участков, начиная с момента обнаружения очага в 1961 г. и по настоящее время (рисунки 7 и 8, таблица 3). Это наглядно показано у двух крупных MLVA25 типов – GA5 и GA12, в основном определяющих количественный состав кластера *A*. Наоборот, небольшие по объему MLVA25 типы (GA2, GA3, GA4) образованы штаммами, полученными в пределах одного эпизоотического участка или на граничащих между собой участках (GA6) и в близкие годы.

Подкластер *B1* состоит из ветви *B1₁*, включающей пять MLVA25 типов, и *B1₂* – три MLVA25 типа, в которые вошли тархатинские штаммы. Ветвь *B1₁* включает 67 штаммов, изолированных с 1990 по 2007 гг. на большинстве эпизоотических участков Тархатинского мезоочага, ветвь *B1₂* – 12 штаммов, выделенных с 2003 по 2014 гг. на трех участках (таблица 3, рисунок 7 и 8).

Подкластер *B2* сформирован двумя ветвями (*B2₁* и *B2₂*) и представляет самую гетерогенную совокупность по месту выделения штаммов. В группе *B2₁* MLVA25 типы GA28 и GA29 представлены четырьмя изолятами из Уландрыкского мезоочага, отличающимися по времени выделения (таблица 3). Генотип GA21 включает пять курайских штаммов.

Ветвь *B2₂* образована 10 VNTR-профилями, в которую вошли 29 курайскими штаммами, изолированными с 1999 г. по 2015 г. на большей части его территории, и тремя уландрыкскими. Вместе с тем, она содержит 23 изолята из Тархатинского мезоочага, из них 20 выделены с 1972 по 1979 гг. на четы-

рех эпизоотических участках данной части очага, и только три получены в 2002, 2003 и 2005 гг.

В кластере *B* шесть генотипов (GA14, GA18, GA21, GA25, GA31, GA32) образованы штаммами, изолированными в один или близкие годы в пределах одного эпизоотического участка, и три генотипа (GA15, GA23, GA26) – в пределах двух расположенных рядом эпизоотических участков. Однако есть и исключения: генотип GA24 выявлен на двух разделенных значительным расстоянием участках, GA29 – на граничащих между собой участках, но с большим разрывом во времени, GA30 – в трех мезоочагах через большие промежутки времени (таблица 3). Генотипы GA13, GA19, GA20 состоят из штаммов, выделенных на многих эпизоотических участках и в разных мезоочагах за длительные периоды времени.

Штаммы, представленные одним MLVA25 типом, распределяются в группах случайным образом, то есть не зависят от объектов выделения (млекопитающие или эктопаразиты).

Полученные результаты показывают генотипическую неоднородность по MLVA типам изученной выборки и выраженную пространственную структуру *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* в российской части Сайлюгемского природного очага чумы. На территории очага в пределах популяции основного носителя – монгольской пищухи сформированы три (Уландрыкская, Тархатинская, Курайская) четко разграниченные группы чумного микроба центральноазиатского подвида алтайского биовара, обладающие своеобразием генотипических характеристик.

Результаты исследования хорошо согласуются с данными полногеномного SNP-анализа штаммов *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica*, выделенных на территории России и Монголии в 1965-2020 гг., показывающими наличие нескольких ветвей эволюции, соответствующих пространственному распространению возбудителя в мезоочагах Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы [Никифоров и др., 2022].

Некоторые исследователи считают, что пространственная генетическая неоднородность штаммов чумного микроба при MLVA25-типировании, изолированных на различных эпизоотических участках очага, позволяет выделять их в отдельные мезоочаги [Платонов и др., 2012; Евсеева и др., 2016]. Иногда это связывают с субвидовой хорологической структурой основных носителей. Прослеживаются выраженные различия между группами изолятов, выявленных при анализе MLVA структуры *Y. pestis* в природном очаге чумы в Аризоне [Girard et al., 2004]. В четырех изолированных поселениях луговой собачки (*Synomys gunnisoni*) преобладали разные MLVA43 профили чумного микроба. На Мадагаскаре возбудитель обнаруживается в нескольких географически разделенных субпопуляциях. В каждой из них *Y. pestis* по результатам SNP и MLVA43 анализов характеризуется генотипической неоднородностью и циркулирует в отдельной относительно независимой популяции черной крысы (*Rattus rattus*) [Vogler et al., 2011].

Представленные в этом разделе работы собственные результаты и данные, полученные другими исследователями [Girard et al., 2004; Vogler et al., 2011], являются веским доводом того, что основным фактором, определяющим внутривидовую пространственную генетическую дифференциацию *Y. pestis* в очаге является популяционная структура основного носителя патогена.

Следует акцентировать внимание на том, что преобладающие MLVA25 типы сохраняются в каждом из мезоочагов продолжительное время, а некоторые аллели встречаются преимущественно только на их обширных территориях. Такая ситуация хорошо прослеживается в Уландрыкском мезоочаге генотипы GA5 и GA12 MLVA25 обнаруживаются на всей его территории в нем около 50 лет. Эти данные указывают на то, что между поселениями зверька, занимающими отдельные лога, урочища, долины рек внутри популяции возбудитель чумы распространяется беспрепятственно. В тоже время обнаружение одного MLVA25 типа, хотя и с существенно различающейся частотой, в разных популяциях носителя показывает определенную связь

между этими совокупностями и свидетельствует о тесном родстве *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* на территории очага. Это наблюдается в генотипе GA20, включающим большинство штаммов из Тархатинской и Курайской популяций и лишь один из Уландрыкской, в то время как, GA5, GA11, GA12 типы содержат штаммы из Уландрыкской популяции и только несколько изолятов из двух других. Вместе с этим, MLVA25 типы, представленные небольшим количеством штаммов, выявляются, за небольшим исключением, на определенных эпизоотических участках и, следовательно, приурочены к отдельным поселениям носителей в пределах одной популяции. Кроме того, для них характерно то, что они регистрируются в небольшие временные интервалы.

Важно отметить, что гипотеза, высказанная на основании анализа популяционно-экологических закономерностей распространения *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* в Юго-Восточном Алтае, о вероятном заносе этого варианта возбудителя из Уландрыкской популяции монгольской пищухи сначала в Тархатинскую, а затем в Курайскую [Балахонов и др., 2014], нашла подтверждение при MLVA25-типировании штаммов. Действительно, группа штаммов, выделенных преимущественно в Уландрыкской популяции носителя, лежит в основании групп штаммов, изолированных в двух других популяциях (рисунки 7 и 9). Возможность быстрого образования нового очага (или мезоочага) со специфичной генетической структурой *Y. pestis*, в результате заноса возбудителя из активного природного очага продемонстрирована также на Мадагаскаре [Vogler et al., 2013].

В результате проведенного анализа установлено, что генотипическая структура *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* в Тархатинском мезоочаге во времени. На этой территории выявлены две обособленные группы штаммов. Первая содержит изоляты, преимущественно выделенные с 1972 по 1979 гг. (83 % от общего количества тархатинских штаммов в этой группе), во вторая – полученные с 1990 по 2014 гг. Это указывает на то, что в мезоочаге произошла элиминация генотипов, доминирующих до 1980 г., а после 80-х годов

прошлого столетия – массовое распространение генотипов, ранее встречавшихся с небольшой частотой. Вероятно, процессы, связанные с закономерным изменением эпизоотической активности, явились главным фактором, определившим изменение генотипической структуры чумного микроба в Тархатинском мезоочаге. В Горно-Алтайском природном очаге чумы отмечаются периодические колебания этого параметра, связанные с циклами динамики численности монгольской пищухи [Балахонов и др., 2014]. В 1985-1989 гг. изолировали единичные культуры возбудителя на ограниченной территории в связи с низкой интенсивностью эпизоотических проявлений. С 1990 г. в Тархатинском мезоочаге протекали активные разлитые эпизоотии, соответственно, энзоотичная по чуме территория значительно увеличилась [Балахонов и др., 2014]. Наиболее вероятно, что смена доминирующих генотипов обусловлена эффектом «бутылочного горлышка» (дрейфом генов), произошедшим в результате резкого уменьшения распространенности чумного микроба в поселениях носителей. Интересно отметить, что MLVA25 типы чумного микроба, которые были в Тархатинской популяции носителя до 1980-х годов и затем элиминировали из нее, широко представлены в Курайской популяции, где циркуляция *Y. pestis ssp. central asiatica* bv. *altaica* впервые была установлена в 1999 г. Трансформация генотипической структуры возбудителя в пределах Уландрыкского мезоочага за рассмотренный период не произошла.

В отличие от обнаруженных резких изменений MLVA-типического состава возбудителя во времени в некоторых очагах показана постепенная трансформация. В очаге чумы на Мадагаскаре отдельные генотипы исчезают или их встречаемость уменьшается, тогда как другие вновь возникают и получают распространение [Vogler et al., 2011]. Принципиально другой механизм трансформации генотипического состава чумного микроба выявлен в ряде природных очагов европейской части России и Казахстана при проведении филогенетического анализа SNP [Ерошенко и др., 2019а, б]. После длительных межэпизоотических периодов в них произошли резкие изменения

генотипических характеристик возбудителя, который вновь распространился в очаге в результате заноса с другой энзоотичной по чуме территории.

Таким образом, можно сделать вывод, что в российской части Сайлюгемского природного очага чумы в Тархатинском, Уландрыкском и Курайском мезоочагах, расположенных в границах популяций основного носителя, *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* обладает высоко специфичной генотипической структурой, оцениваемой при MLVA25-типировании, то есть в каждом из них циркулируют относительно независимые совокупности возбудителя. При попадании *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* в самостоятельную популяцию хозяина такие хорологические группировки формируются за относительно короткое время. Впоследствии одни из них в течение длительного времени остаются стабильными по MLVA25 типам, в других происходят значительные трансформации.

4.2 Частота встречаемости аллелей в переменных VNTR локусах *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica*

Результаты кластерного анализа дают общее представление о филогенетическом родстве совокупности изученных штаммов *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* и приуроченности отдельных крупных групп штаммов к определенным обширным территориям внутри природного очага – мезоочагам. Для более глубокого представления об особенностях MLVA25 генотипической структуры чумного микроба алтайского биовара, циркулирующего на территории каждого из трех мезоочагов, рассмотрим различия по частоте встречаемости аллелей в шести наиболее переменных в выборке VNTR локусах.

Ярко выражена неоднородность выборок из разных пространственных группировок по локусу *yp2916ms07* (рисунок 10). У штаммов, изолированных в Уландрыкском мезоочаге абсолютно преобладали 8 повторов, тогда как в Курайском – 9. Совокупность штаммов из Тархатинского мезоочага характеризовалась промежуточным составом по частоте встречаемости этих аллелей.

Различия между анализируемыми выборками высоко достоверны (таблица 5).

Таблица 5 – Результаты оценки различий по критерию согласия между выборками штаммов *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* из разных мезоочагов по частоте встречаемости числа tandemных повторов по шести VNTR локусам

Локус	Сравниваемые совокупности	χ^2	<i>df</i>	<i>P</i>
<i>yp2916ms07</i>	У–Т–К	152,77	2	<0,001
	У–Т	28,96	1	<0,001
	У–К	163,14	1	<0,001
	Т–К	103,57	1	<0,001
<i>yp1814ms20</i>	У–Т–К	53,46	2	<0,001
	У–Т	38,75	1	<0,001
	У–К	19,26	1	<0,001
	Т–К	1,91	1	>0,05
<i>yp0581ms40</i>	У–Т–К	24,91	2	<0,001
	У–Т	20,93	1	<0,001
	У–К	–	–	–
	Т–К	4,28	1	<0,05
<i>yp1335ms46</i>	У–Т–К	12,15	4	<0,05
	У–Т	7,81	2	<0,05
	У–К	4,78	2	>0,05
	Т–К	1,34	2	>0,05
<i>yp4280ms62</i>	У–Т–К	458,32	18	<0,001
	У–Т	243,32	6	<0,001
	У–К	194,29	9	<0,001
	Т–К	84,10	7	<0,001
<i>yp1925ms71</i>	У–Т–К	262,77	2	<0,001
	У–Т	244,94	1	<0,001
	У–К	157,64	1	<0,001
	Т–К	2,12	1	>0,05

Примечание: *df* – число степеней свободы, *P* – доверительный интервал. У – Уландрыкский мезоочаг, Т – Тархатинский мезоочаг, К – Курайский мезоочаг.

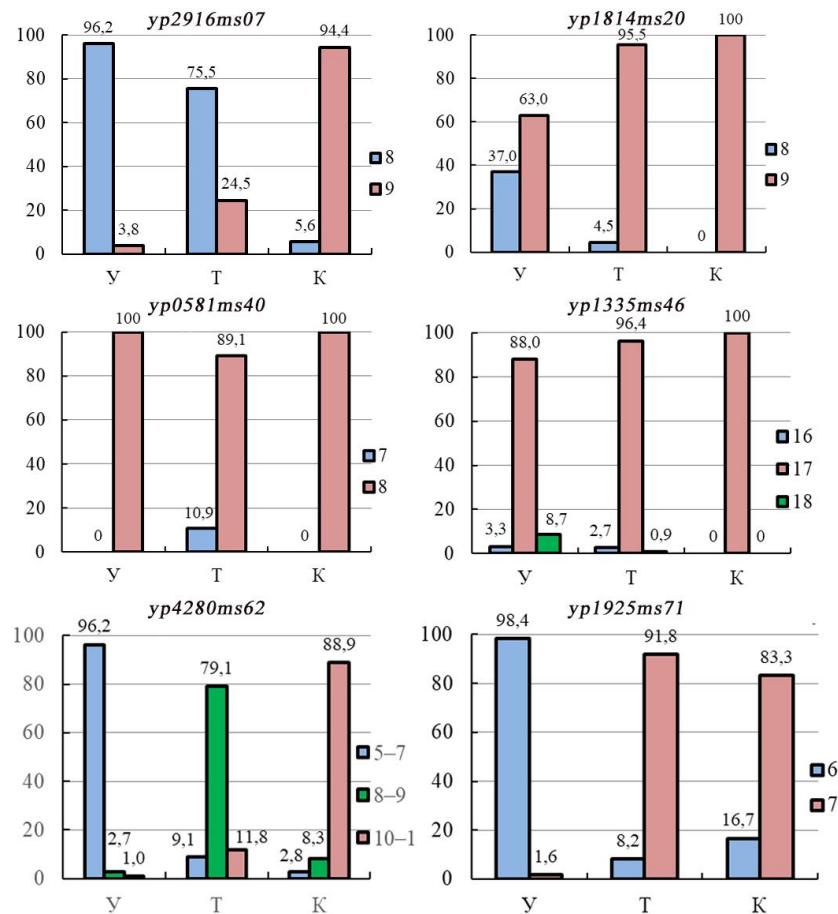


Рисунок 10 – Частота встречаемости числа tandemных повторов по шести варибельным локусам у штаммов *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* из Уландрыкского (У), Тархатинского (Т) и Курайского (К) мезоочагов. По оси абсцисс – мезоочаги, по оси ординат – частоты (%).

В локусе *yp1814ms20* во всех трех мезоочагах преимущественно обнаруживается 9 tandemных повторов. При этом 8 повторов с относительно высокой частотой наблюдалось у уландрыкских и с низкой – у тархатинских штаммов, а у курайских они не встречались (рисунок 10). Высоко значимые отличия проявляются между уландрыкскими изолятами и штаммами из двух других мезоочагов (таблица 5).

Наиболее слабые различия между сравниваемыми выборками наблюдаются по локусам *yp0581ms40* и *yp1335ms46* (рисунок 10, таблица 5). В первом случае у всех штаммов, выделенных в Уландрыкском и Курайском мезоочагах, имелось 8 повторов и лишь у относительно небольшого количества тархатинских изолятов выявлялось 7 повторов. Во втором случае в изучаемых

совокупностях, главным образом, представлены генотипы с 17 тандемными повторами, при этом среди уландрыкских и тархатинских штаммов встречается небольшое количество аллелей в 16 и 18 повторов. Различия между анализируемыми выборками по локусу *ур0581ms40* высоко достоверны, по локусу *ур1335ms46* штаммы, включенные в выборки Уландрыкский-Курайский и Тархатинский-Курайский мезоочаги, статистически значимо не различаются.

Наиболее рельефные различия между выборками штаммов из трех мезоочагов просматриваются по самому варибельному локусу *ур4280ms62*. Сравнение распределений частот аллелей выявило высокую степень их неоднородности (таблица 5). Для наглядности у этого локуса на рисунке частоты аллелей в 5-7, 8-9 и 10-15 тандемных повторов объединены (рисунок 10). В Уландрыкском мезоочаге преимущественно обнаруживаются генотипы с 5-7 повторами, модальный класс 7 повторов (94,6 %), в Тархатинском – модальный класс 9 (79,1 %), а в Курайском большая часть штаммов содержит 10-15 повторов, модальный класс представлен 10 повторами (44,4 %).

Кардинальные отличия проявляются у уландрыкских штаммов от изолятов из двух других мезоочагов по локусу *ур1925ms71* (рисунок 10, таблица 5). У первых подавляющее большинство повторов 6, тогда как у курайских и тархатинских штаммов – 7. При этом штаммы, включенные в две последние исследуемые выборки, статистически значимо не различаются.

Сравнение частот аллелей по шести локусам, обладающим наибольшей изменчивостью, показало, что по каждому из них отличия между выборками штаммов из разных мезоочагов характеризуются своими индивидуальными особенностями. При этом локус *ур4280ms62* является ключевым для пространственной дифференциации *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* внутри Горно-Алтайскороссийской части Сайлюгемского природного очага при MLVA25-типировании.

ГЛАВА 5 ГЕНОТИПИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА *YERSINIA PESTIS* SSP. *PESTIS* ПРИ MLVA25-ТИПИРОВАНИИ

Повышение эпизоотической активности природных очагов чумы может приводить к возникновению эпидемических осложнений по этой особо опасной болезни среди населения. В течение текущего столетия отмечается активизация ряда природных очагов чумы Центральной Азии [Zhao et al., 2017; Wang et al., 2018; Вержуцкий, 2018], в том числе и трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы, что описано нами ранее [Корзун и др., 2017; Балахонов и др., 2018]. Эпизоотические проявления, обусловленные *Y. pestis* ssp. *pestis*, в поселениях серого сурка (*M. baibacina*) – основного носителя данного подвида обнаружены недавно (в российской части трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы с 2012 г., а в монгольской части – с 2017 г., когда было возобновлено обследование этой территории).

Для осуществления эпидемиологического надзора за чумой в данном очаге совместно с монгольскими специалистами внедрены и применяются современные молекулярно-генетические методы диагностики и типирования в полевом и клиническом материале.

С помощью полногеномного секвенирования стало возможным проведение филогенетического анализа и определение микроэволюции и путей распространения чумного микроба [Achtman et al., 2004, Morelli, 2010]. Результаты филогенетического анализа штаммов возбудителя чумы основного подвида с помощью SNP-типирования, изолированных в приграничных природных очагах чумы России и Монголии: Тувинском, Сайлюгемском (российская и монгольская части), Хуух-Сэрх-Мунх-Хаирханском, свидетельствуют о их близком генетическом родстве и относят к линии 4.ANT античного биовара [Ерошенко и др., 2018; Балахонов и др., 2019]. Применение MLVA-типирования позволяет выявить особенности пространственной генотипической структуры *Y. pestis* как между разными природными очагами чумы, так и внутри одного очага.

5.1 Результаты MLVA25-типирования *Y. pestis* ssp. *pestis* в трансграничных природных очагах чумы России и Монголии

Мы провели оценку своеобразия генотипической структуры по MLVA25 *Y. pestis*, циркулирующего в трансграничных и приграничных природных очагах России и Монголии: Сайлюгемском (Россия, Монголия), Хуух-Серх-Мунх-Хаирханском (Монголия), Хархиро-Тургенском (Монголия), Забайкальском (Россия), Тувинском (Россия).

Для исследования взято 37 изолятов чумного микроба основного подвида, из них 22 выделены в Сайлюгемском природном очаге чумы, 3 – в Хуух-Серх-Мунх-Хаирханском, 1 – Хархиро-Тургенском, 4 – Забайкальском, 7 – Тувинском (рисунок 11).

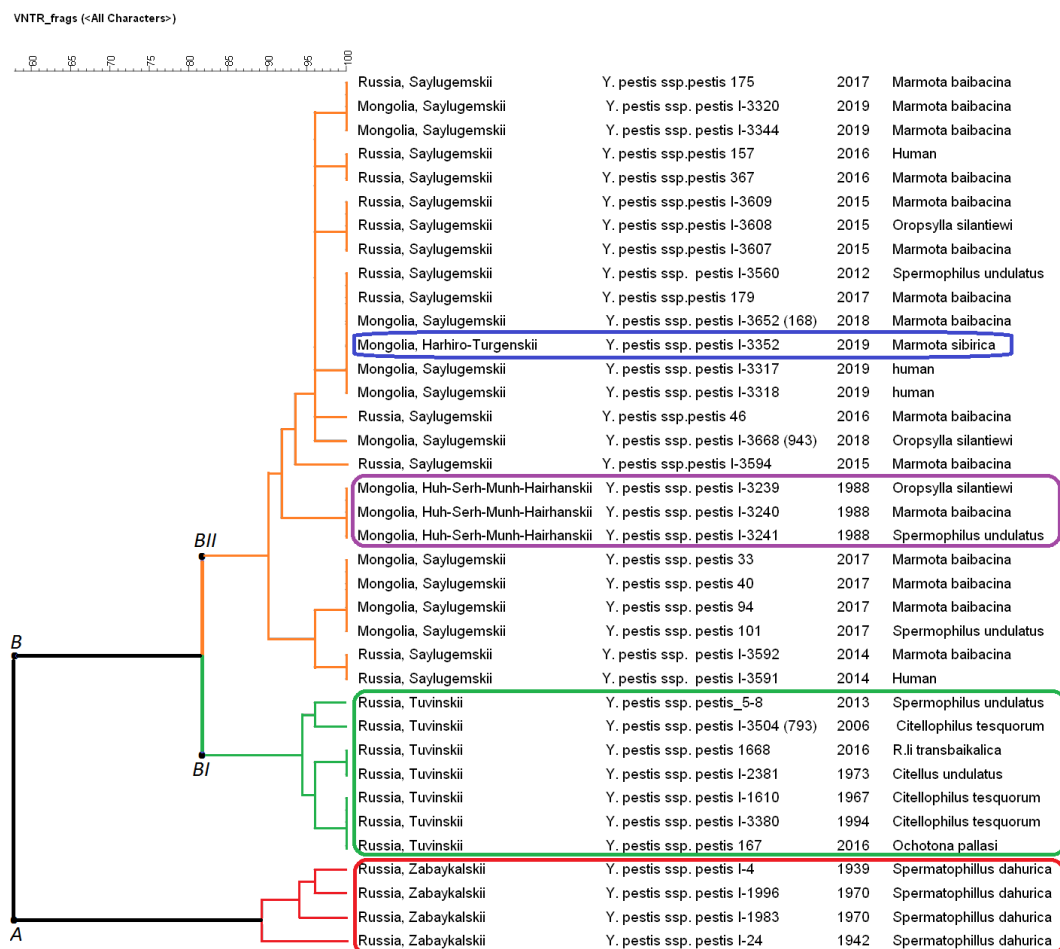


Рисунок 11 – Дендрограмма, иллюстрирующая степень родства исследованных штаммов *Y. pestis* ssp. *pestis*, изолированных в трансграничных и приграничных природных очагах чумы России и Монголии, построенная на основании MLVA25-типирования методом попарного невзвешенного кластерирования с арифметическим усреднением (UPGMA).

Полученные результаты показали, что исследованные штаммы *Y. pestis* ssp. *pestis* делятся на два кластера. Кластер А сформирован исключительно штаммами, изолированными в Забайкальском природном очаге России, которые, как показано В.В. Кутыревым с соавторами, относятся к филогенетической линии 2.ANT3 [Kutyrev et al., 2018]. Между кластерами А и В выявлены различия по двенадцати вариабельным локусам (таблица 6).

Таблица 6 – Характеристика 12 вариабельных локусов кластеров А и В при MLVA25 исследовании 37 штаммов *Y. pestis* ssp. *pestis*, изолированных в природных очагах чумы России и Монголии

Локусы	Число повторов	
	кластер А	кластер В
<i>yp0120ms01</i>	7	8
<i>yp2769ms06</i>	3	7, 8
<i>yp3057ms09</i>	23	9, 37
<i>yp0559ms15</i>	10	9, 10
<i>yp1814ms20</i>	8	9
<i>yp0581ms40</i>	7	8
<i>yp0718ms41</i>	5	7
<i>yp1335ms46</i>	19	17, 18
<i>yp3060ms56</i>	9, 10	8, 9
<i>yp4280ms62</i>	12, 13, 14	7, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17
<i>yp1580ms70</i>	5	6, 7
<i>yp3245ms74</i>	7	6

Кластер В образован двумя ветвями. Первая из них – VI – представлена семью изолятами, выделенными в разные годы в Тувинском природном очаге России. Вторая ветвь – VII – представляет собой однородный комплекс MLVA25-типов штаммов чумного микроба, изолированных как на монгольской, так и на российской частях трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы. Следует акцентировать внимание на том, что в него входят и штаммы, изолированные в 1988 г. в Хуух-Сэрх-Мунх-Хаирханском природном очаге, который расположен примерно в 200 км от энзоотичной территории Сайлюгемского природного очага и относится к группе очагов Монгольского Алтая. Интересные сведения получены по штамму *Y. pestis* ssp. *pestis*,

выделенному при эпизоотологическом обследовании Хархиро-Тургенского природного очага от монгольского сурка (*M. sibirica*) в 2019 г. [Шаракшанов и др., 2019; Холин и до., 2020]. При MLVA25-типировании удалось установить наибольшее сходство этого штамма со штаммами, изолированными в Сайлюгемском и в Хуух-Сэрх-Мунх-Хаирханском природных очагах чумы (рисунок 9). Приграничный Хархира-Тургенский природный очаг чумы на севере граничит с Тувинским горным природным очагом, на западе – с Сайлюгемским. Между штаммами, входящими в кластер *B*, проявляются минимальные различия по семи локусам (таблица 7)

Таблица 7 – Характеристика семи вариабельных локусов кластеров *BI* и *BII* при MLVA25 исследовании 37 штаммов *Y. pestis ssp. pestis*, изолированных в природных очагах чумы России и Монголии

Локусы	Число повторов	
	кластер <i>BI</i>	кластер <i>BII</i>
<i>yp2769ms06</i>	8	7
<i>yp3057ms09</i>	9, 37	37
<i>yp0559ms15</i>	9	10
<i>yp1335ms46</i>	17	17, 18
<i>yp3060ms56</i>	8	8, 9
<i>yp4280ms62</i>	12, 13, 14	7, 8, 10, 11, 15, 16,17
<i>yp1580ms70</i>	6	7

Таким образом, выявлено наличие определенных генетических различий между возбудителем чумы основного подвида, циркулирующим в разных очагах чумы на приграничной территории России и Монголии. При этом штаммы *Y. pestis ssp. pestis*, изолированные в Сайлюгемском очаге входят в одну группу. Детально MLVA25 структуру чумного микроба из этого очага мы проанализируем в следующем разделе.

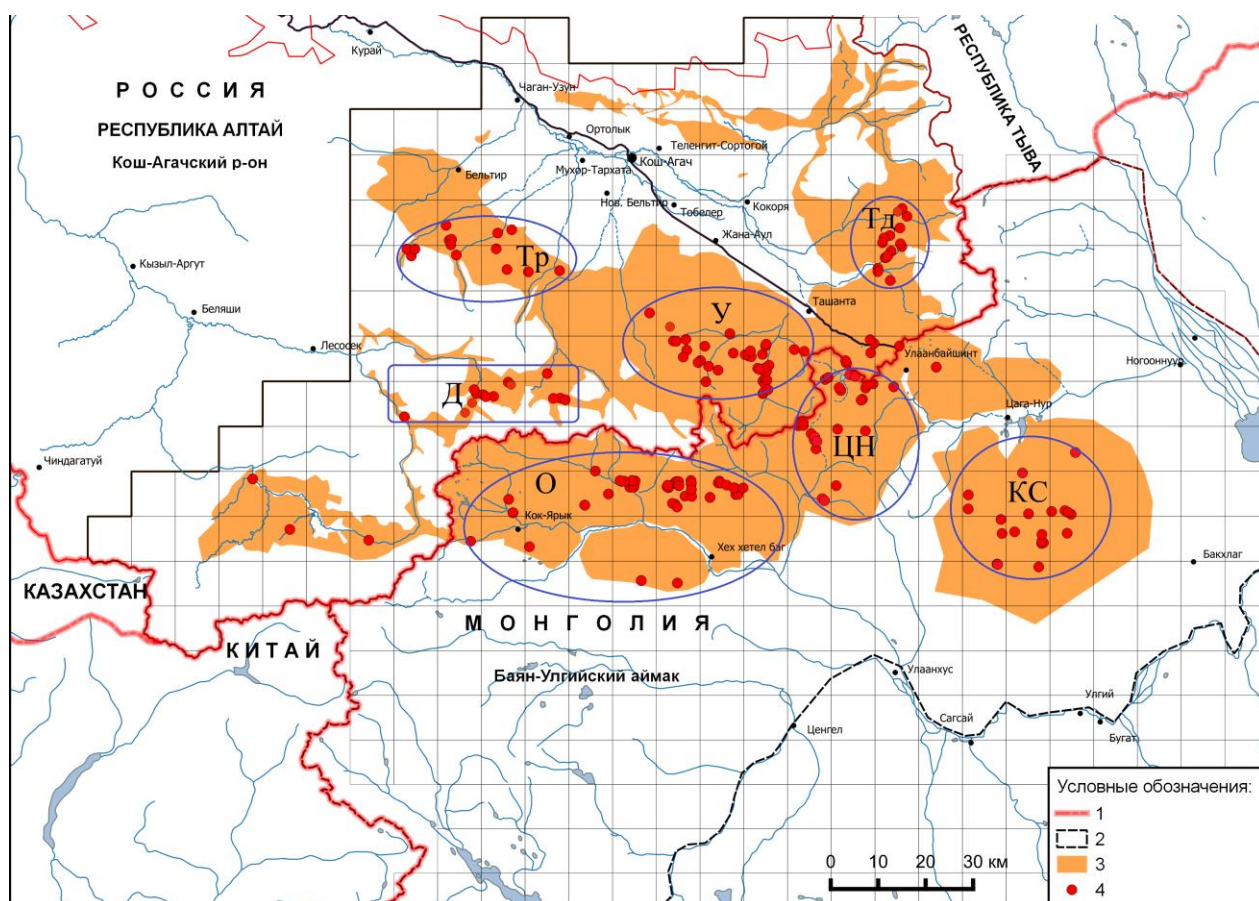
5.2 MLVA25 структура *Y. pestis ssp. pestis*, циркулирующего в Сайлюгемском природном очаге чумы

Работа выполнена на 160 штаммах *Y. pestis ssp. pestis*, выделенных в Сайлюгемском природном очаге чумы при проведении эпизоотологического

обследования в 2012-2022 гг. и эпидемиологического расследования эпидемиологических случаев в 2014-2016, 2019 годах, что составляет 58,6 % от их общего количества за этот период. Места изоляции штаммов *Y. pestis ssp. pestis* представлены на рисунке 12.

Как было описано выше, серый сурок (*M. baibacina*) является основным носителем *Y. pestis ssp. pestis* в Сайлюгемском природном очаге, но его популяционная структура еще изучена недостаточно, обоснованное заключение о выделении крупных структурных элементов очага – мезоочагов при циркуляции данного варианта возбудителя делать еще преждевременно. Учитывая особенности пространственного распространения серого сурка и географической приуроченности изолированных штаммов, для анализа пространственной структуры *Y. pestis ssp. pestis* условно выделили семь хронологических групп чумного микроба основного подвида на территории Сайлюгемского природного очага чумы, из них четыре в российской части очага – Уландрыкская, Тархатинская, Талдуайрская, Джазаторская и три в монгольской – Кок-Сайская, Цаган-Нуурская и Ойгорская (рисунок 12).

Уландрыкская группа штаммов чумного микроба включает в себя следующие участки: Большие и Малые Сары-Гобо и Большой Кочкор-Бас, Стационар и Большой Кочкор-Бас, Вершина р. Большие Шибеты, Арка, Середина р. Уландрык, Кызыл-Капчал, Урочище Ташанта. Тархатинская группа – Сербисту, Середина р. Елангаш, Вершина р. Елангаш, Кок-Озёк, Середина р. Ирбисту, Низовье р. Тархата, Вершина р. Елангаш. Талдуайрская группа – Окрестности Окрестности озёр Караколь-Нур и Зерлюколь-Нур, Вершина р. Бар-Бургазы, Богуты. Джазаторская группа – Окрестности оз. Караколь-Нур и Зерликюль-Нур, Вершина р. Тархата, Жумалы. Кок-Сайская группа – Шинэ-Дава, Заг, Бухан-Толгой, Хундий. Цаган-Нуурская группа – Талын-Толгойн, Зуслан-Булаг, Жаргалант, Хагнур. Ойгорская группа – Шар-Булаг, Хар-Ямат, Жалпак Ойгор, Терсагкан.



На карте буквами обозначены пространственные группы возбудителя чумы: У – Уландрыкская, Тр – Тархатинская, Тл – Талдуаирская, Д – Джззаторская, КС – Кок-Сайская, ЦН – Цаган-Нуурская, О – Ойгорская. 1 – государственная граница; 2 – граница российской части Сайлюгемского природного очага чумы; 3 – граница монгольской части Сайлюгемского природного очага чумы; 4 – область распространения серого сурка; 5 – точки изоляции *Y. pestis* ssp. *pestis*.

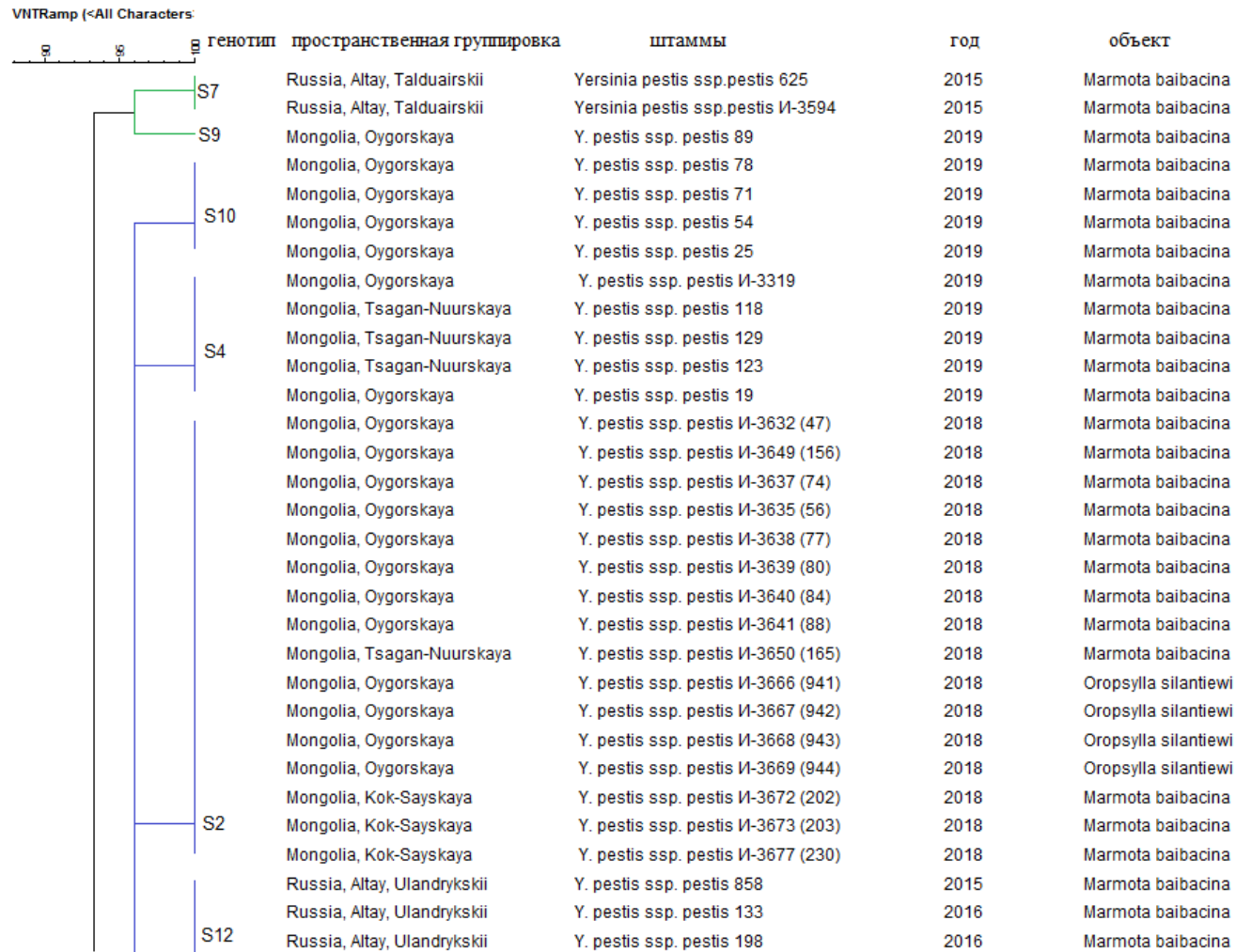
Рисунок 12 – Места изоляции чумного микроба основного подвида в российской и монгольской частях трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы.

В монгольской части трансграничного Сайлюгемского природного очага за исследуемый период выделено 129 штаммов чумного микроба, в российской – 165. Из них MLVA-типирование проведено для 76 из монгольской (58,6 % от всех выделенных в нем) и 84 (50,9 %) – из российской. По годам количество изученных штаммов распределено следующим образом: 2012 г. – 1, 2014 г. – 2, 2015 г. – 17, 2016 г. – 36, 2017 г. – 25, 2018 г. – 57, 2019 г. – 22. Из Уландрыкской группы исследовано 45 штаммов (46,9 % от всех выделенных в ней), из Тархатинской – 22 (84,6 %), из Талдуаирской – 10 (41,6 %), из Джззаторской – 7 (50 %), из Цаган-Нуурской – 19 (67,8 %), из Кок-Сайской –

16 (69,5 %), из Ойгорской – 41 (69,5 %). По объектам выделения штаммы распределялись следующим образом: от основного носителя *Y. pestis* ssp. *pestis* – серого сурка (*M. baibacina*) изучено 128 штаммов (80 % от всего числа исследованных), от других млекопитающих (длиннохвостый суслик, степной хорь) – 5 (3,1 %), от основного переносчика – блохи *O. silantiewi* – 17 (10,6 %), от других эктопаразитов (*O. alaskensis*, *P. scalonae*, вши) – 5 (3,1 %), от людей – 5 (3,1 %).

5.2.1 Кластерный анализ штаммов *Y. pestis* ssp. *pestis*, изолированных в Сайлюгемском природном очаге чумы

Результаты филогенетического анализа, выполненного методами попарного невзвешенного кластрирования с арифметическим усреднением (Unweighted pair-group method using arithmetic averages, UPGMA) и минимальное остовное дерево (MST), представлены в виде дендрограмм на рисунках 13, 15 соответственно. На рисунке 14 – схема дендрограммы, на которой показаны генотипы, локусы и количество повторов в них.



генотип	пространственная группировка	штаммы	год	объект вши	
S12	Russia, Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. pestis 486	2016		
	Russia, Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. pestis 181	2017	Marmota baibacina	
	Russia, Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. pestis 183	2017	Marmota baibacina	
	Russia, Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. pestis 184	2017	Marmota baibacina	
	Russia, Altay, Dzhazatorskii	Y. pestis ssp. pestis 175	2017	Marmota baibacina	
	Russia, Altay, Dzhazatorskii	Y. pestis ssp. pestis 235	2018	Marmota baibacina	
	Mongolia, Oygorskaya	Y. pestis ssp. pestis И-3636 (75)	2018	Marmota baibacina	
	Mongolia, Oygorskaya	Y. pestis ssp. pestis И-3646 (148)	2018	Marmota baibacina	
	Mongolia, Oygorskaya	Y. pestis ssp. pestis И-3642 (135)	2018	Marmota baibacina	
	Mongolia, Oygorskaya	Y. pestis ssp. pestis И-3644 (145)	2018	Marmota baibacina	
	Mongolia, Oygorskaya	Y. pestis ssp. pestis И-3645 (146)	2018	Marmota baibacina	
	Mongolia, Oygorskaya	Y. pestis ssp. pestis И-3647 (152)	2018	Marmota baibacina	
	Mongolia, Oygorskaya	Y. pestis ssp. pestis И-3648 (153)	2018	Marmota baibacina	
	Mongolia, Tsagan-Nuurskaya	Y. pestis ssp. pestis И-3665 (539)	2018	Marmota baibacina	
	Mongolia, Oygorskaya	Y. pestis ssp. pestis И-3670 (945)	2018	Oropsylla silantiewi	
	Mongolia, Oygorskaya	Y. pestis ssp. pestis И-3671 (975)	2018	Oropsylla silantiewi	
	Mongolia, Kok-Sayskaya	Y. pestis ssp. pestis И-3674 (205)	2018	Marmota baibacina	
	Mongolia, Kok-Sayskaya	Y. pestis ssp. pestis И-3675 (225)	2018	Marmota baibacina	
	Mongolia, Oygorskaya	Y. pestis ssp. pestis И-3320	2019	Marmota baibacina	
	S11	Mongolia, Oygorskaya	Y. pestis ssp. pestis И-3343	2019	Marmota baibacina
Mongolia, Oygorskaya		Y. pestis ssp. pestis И-3344	2019	Marmota baibacina	
Mongolia, Oygorskaya		Y. pestis ssp. pestis 88	2019	Marmota baibacina	
Mongolia, Oygorskaya		Y. pestis ssp. pestis 93	2019	Marmota baibacina	
Mongolia, Oygorskaya		Y. pestis ssp. pestis 45	2019	Marmota baibacina	
Mongolia, Oygorskaya		Y. pestis ssp. pestis 24	2019	Marmota baibacina	
Russia, Altay, Tarhatinskii		Y. pestis ssp. pestis 157	2016	Human	
Russia, Altay, Tarhatinskii		Y. pestis ssp. pestis 162	2016	Human	
S3		Russia, Altay, Tarhatinskii	Y. pestis ssp. pestis 367	2016	Marmota baibacina
		Russia, Altay, Tarhatinskii	Y. pestis ssp. pestis 368	2016	Marmota baibacina
	Russia, Altay, Tarhatinskii	Y. pestis ssp. pestis 493	2015	Oropsylla silantiewi	
	Russia, Altay, Tarhatinskii	Y. pestis ssp. pestis 624	2015	Marmota baibacina	
	Russia, Altay, Tarhatinskii	Y. pestis ssp. pestis 894	2015	Paramonopsyllus scalonae	
S13	Russia, Altay, Tarhatinskii	Y. pestis ssp. pestis И-3595	2015	Marmota baibacina	
	Russia, Altay, Tarhatinskii	Y. pestis ssp. pestis И-3596	2015	Marmota baibacina	

генотип	пространственные группировки	штаммы	год	объект
S13	Russia, Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. <i>pestis</i> И-3609	2015	<i>Marmota baibacina</i>
	Russia, Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. <i>pestis</i> И-3608	2015	<i>Oropsylla silantiewi</i>
	Russia, Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. <i>pestis</i> И-3607	2015	<i>Marmota baibacina</i>
	Russia, Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. <i>pestis</i> 201	2016	<i>Marmota baibacina</i>
	Russia, Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. <i>pestis</i> 773	2016	<i>Oropsylla silantiewi</i>
	Russia, Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. <i>pestis</i> 568	2016	<i>Oropsylla silantiewi</i>
	Russia, Altay, Talduairskii	<i>Y. pestis</i> ssp. <i>pestis</i> 229	2016	<i>Marmota baibacina</i>
	Russia, Altay, Talduairskii	<i>Y. pestis</i> ssp. <i>pestis</i> 25	2016	<i>Marmota baibacina</i>
	Russia, Altay, Talduairskii	<i>Y. pestis</i> ssp. <i>pestis</i> 45	2016	<i>Marmota baibacina</i>
	Russia, Altay, Talduairskii	<i>Y. pestis</i> ssp. <i>pestis</i> 46	2016	<i>Marmota baibacina</i>
S14	Russia, Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. <i>pestis</i> 37	2016	<i>Marmota baibacina</i>
	Russia, Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. <i>pestis</i> 406	2015	<i>Marmota baibacina</i>
	Russia, Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. <i>pestis</i> 978	2015	<i>Marmota baibacina</i>
	Russia, Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. <i>pestis</i> 44	2016	<i>Marmota baibacina</i>
	Russia, Altay, Talduairskii	<i>Y. pestis</i> ssp. <i>pestis</i> 197	2016	<i>Marmota baibacina</i>
	Russia, Altay, Talduairskii	<i>Y. pestis</i> ssp. <i>pestis</i> 21	2017	<i>Spermophilus undulatus</i>
	Russia, Altay, Talduairskii	<i>Y. pestis</i> ssp. <i>pestis</i> 257	2017	<i>Mustela eversmanni</i>
	Russia, Altay, Talduairskii	<i>Y. pestis</i> ssp. <i>pestis</i> 848	2017	<i>Spermophilus undulatus</i>
	Russia, Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. <i>pestis</i> 337	2015	<i>Marmota baibacina</i>
	Russia, Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. <i>pestis</i> 208	2016	<i>Marmota baibacina</i>
S1	Russia, Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. <i>pestis</i> 780	2016	<i>Oropsylla silantiewi</i>
	Russia, Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. <i>pestis</i> 174	2017	<i>Marmota baibacina</i>
	Russia, Altay, Tarhatinskii	<i>Y. pestis</i> ssp. <i>pestis</i> 846	2017	<i>Marmota baibacina</i>
	Russia, Altay, Dzhazatorskii	<i>Y. pestis</i> ssp. <i>pestis</i> 263	2018	<i>Marmota baibacina</i>
	Russia, Altay, Dzhazatorskii	<i>Y. pestis</i> ssp. <i>pestis</i> 265	2018	<i>Marmota baibacina</i>
	Russia, Altay, Dzhazatorskii	<i>Y. pestis</i> ssp. <i>pestis</i> 266	2018	<i>Marmota baibacina</i>
	Russia, Altay, Dzhazatorskii	<i>Y. pestis</i> ssp. <i>pestis</i> 269	2018	<i>Marmota baibacina</i>
	Russia, Altay, Dzhazatorskii	<i>Y. pestis</i> ssp. <i>pestis</i> 647	2018	<i>Marmota baibacina</i>
	Russia, Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. <i>pestis</i> И-3560	2012	<i>Spermophilus undulatus</i>
	Russia, Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. <i>pestis</i> 764	2015	<i>Marmota baibacina</i>
Russia, Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. <i>pestis</i> 766	2015	<i>Marmota baibacina</i>	
Russia, Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. <i>pestis</i> 839	2015	<i>Marmota baibacina</i>	
Russia, Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. <i>pestis</i> 160	2016	<i>Marmota baibacina</i>	
Russia, Altay, Ulandrykskii	<i>Y. pestis</i> ssp. <i>pestis</i> 142	2016	<i>Marmota baibacina</i>	

генотип	пространственная группировка	штаммы	год	объект
S1	Russia, Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. pestis 145	2016	Marmota baibacina
	Russia, Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. pestis 155	2016	Marmota baibacina
	Russia, Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. pestis 156	2016	Marmota baibacina
	Russia, Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. pestis 159	2016	Marmota baibacina
	Russia, Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. pestis 191	2016	Marmota baibacina
	Russia, Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. pestis 277	2016	вши
	Russia, Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. pestis 322	2016	Oropsylla silantiewi
	Russia, Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. pestis 502	2016	Oropsylla silantiewi
	Russia, Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. pestis 518	2016	Oropsylla silantiewi
	Russia, Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. pestis 511	2016	Oropsylla alaskensis
	Russia, Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. pestis 536	2016	Oropsylla silantiewi
	Russia, Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. pestis 540	2016	Oropsylla silantiewi
	Russia, Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. pestis 560	2016	вши
	Russia, Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. pestis 576	2016	Oropsylla silantiewi
	Russia, Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. pestis 656	2016	Marmota baibacina
	Russia, Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. pestis 179	2017	Marmota baibacina
	Russia, Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. pestis 18	2017	Marmota baibacina
	Russia, Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. pestis 180	2017	Marmota baibacina
	Russia, Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. pestis 188	2017	Marmota baibacina
	Russia, Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. pestis 202	2017	Marmota baibacina
	Russia, Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. pestis 214	2017	Marmota baibacina
	Russia, Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. pestis 216	2017	Marmota baibacina
	Russia, Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. pestis 217	2017	Marmota baibacina
	Russia, Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. pestis 256	2018	Marmota baibacina
	Russia, Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. pestis 276	2018	Marmota baibacina
	Russia, Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. pestis 285	2018	Marmota baibacina
	Russia, Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. pestis 289	2018	Marmota baibacina
	Russia, Altay, Ulandrykskii	Y. pestis ssp. pestis 290	2018	Marmota baibacina
	Mongolia, Oygorskaya	Y. pestis ssp. pestis И-3633 (48)	2018	Marmota baibacina
	Mongolia, Oygorskaya	Y. pestis ssp. pestis И-3643 (138)	2018	Marmota baibacina
	Mongolia, Tsagan-Nuurskaya	Y. pestis ssp. pestis И-3659 (176)	2018	Marmota baibacina
	Mongolia, Tsagan-Nuurskaya	Y. pestis ssp. pestis И-3660 (180)	2018	Marmota baibacina
	Mongolia, Oygorskaya	Y. pestis ssp. pestis И-3634 (58)	2018	Marmota baibacina
	Mongolia, Tsagan-Nuurskaya	Y. pestis ssp. pestis И-3651 (167)	2018	Marmota baibacina

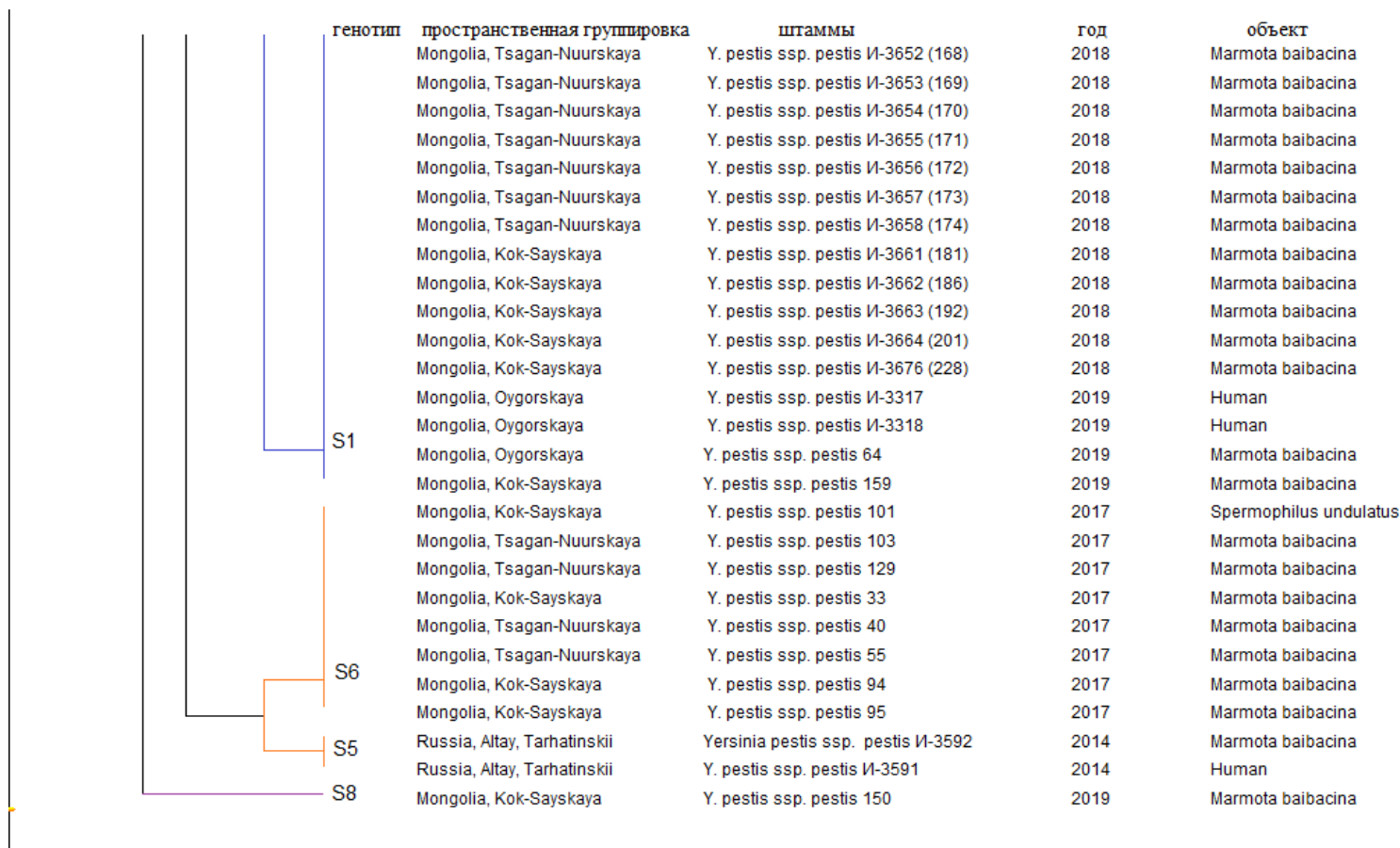
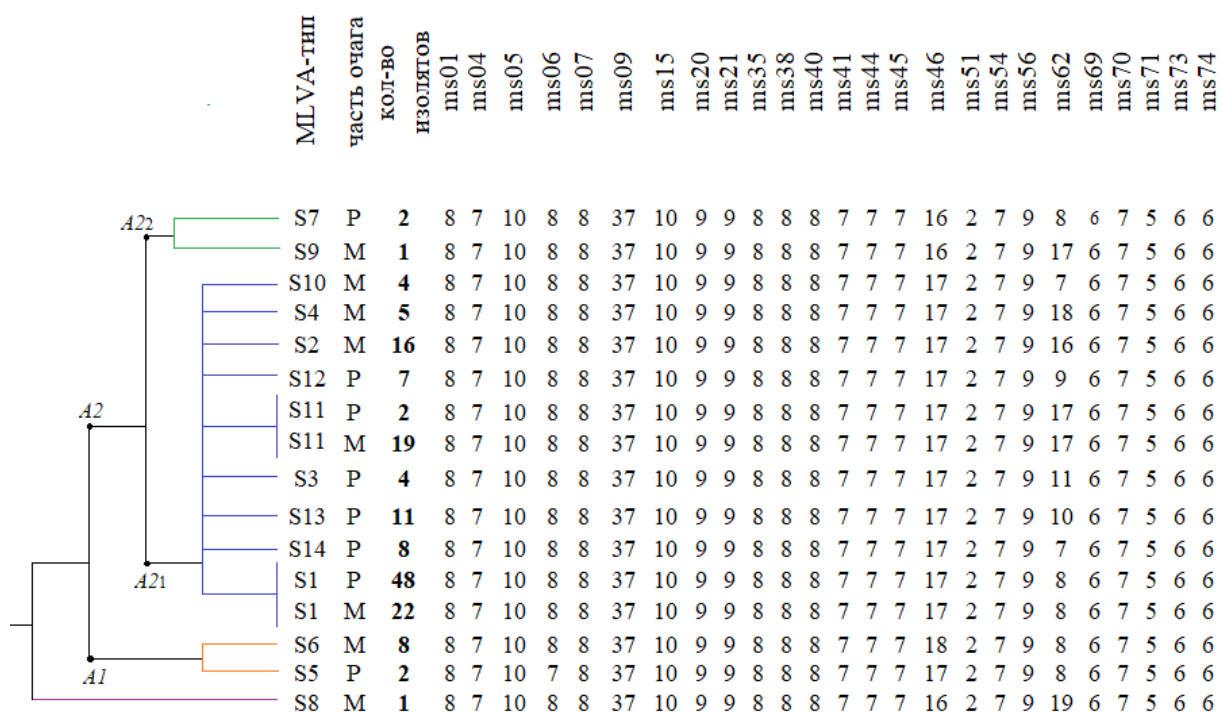


Рисунок 13 – Дендрограмма, иллюстрирующая степень родства исследованных штаммов *Y. pestis* ssp. *pestis*, изолированных в российской и монгольской частях Сайлюгемского природного очага чумы.



Буквами обозначены части очага, в которых изолированы штаммы: P – российская часть, M – монгольская часть.

Рисунок 14 – Схема MLVA25 типов, обнаруженных у 160 штаммов *Y. pestis* ssp. *pestis*, изолированных в Сайлюгемском природном очаге чумы.

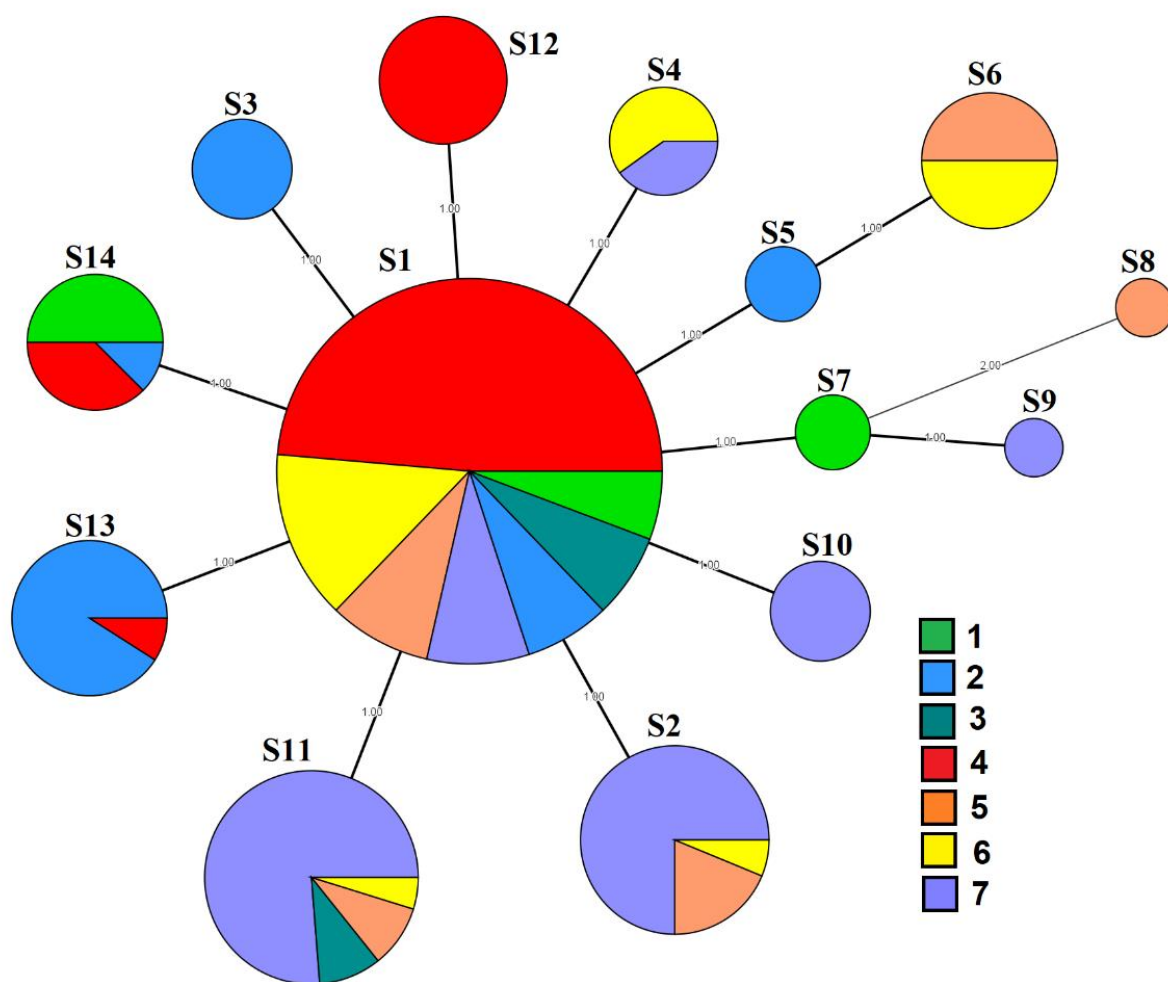
На основе кластерного анализа 25 VNTR локусов, 160 исследованных штаммов *Y. pestis* ssp. *pestis* дифференцированы на 14 MLVA типов. Они названы S1-S14 (рисунки 13, 15). Из них 2 – S8 и S9 были уникальные (т.е. обнаруживались только у одного штамма в изученной выборке), 8 небольших по объему типов объединяли от 2 до 8 штаммов (S3, S4, S5, S6, S7, S10, S12, S14), в состав трех средних входили 11 (S13), 16 (S2) и 21 (S11) штамм, один крупный (S1) включал 70 штаммов (таблица 8).

Таблица 8 – Характеристика MLVA25-типов *Y. pestis* ssp. *pestis* в Сайлюгемском природном очаге чумы по месту и времени изоляции штаммов

MLVA25-тип	Часть Сайлюгемского очага чумы (число штаммов)	Участок	Год выделения
<i>S1</i>	русская (48) и монгольская (22) части	Большие и Малые Сары-Гобо, Стационар и Большой Кочкор-Бас, Сербисту, Середина р. Елангаш, Вершина р. Большие Шибеты, Арка, Середина р. Уландрык, Кызыл-Капчал, Вершина р. Елангаш, Окрестности оз. Киндыктыкуль, Вершина р. Бар-Бургазы, Богуты, Низовье р. Тархата, Вершина р. Тархата, Окрестности оз. Караколь-Нур и Зерликюль-Нур, Жумалы, Терсагкан, Хагнур, Зуслан-Булаг, Хар-Ямат, Бухан-Толгой, Хундий, Шинэ-Дава	2012, 2015-2019
<i>S2</i>	монгольская часть (16)	Шар-Булаг, Жалпак Терсагкан, Зуслан-Булаг, Бухан-Толгой, Хундий	2018
<i>S3</i>	русская часть (1)	Вершина р. Бар-Бургазы	2015
<i>S4</i>	монгольская часть (5)	Жалпак Зуслан-Булаг, Жаргалант, Хагнур,	2019
<i>S5</i>	русская часть (2)	Сербисту	2014
<i>S6</i>	монгольская часть (8)	Заг, Жаргалант, Шинэ-Дава, Хундий, Талын-Толгойн, Зуслан-Булаг	2017
<i>S7</i>	русская часть (1)	Окрестности оз. Киндыктыкуль,	2015
<i>S8</i>	монгольская часть (1)	Хундий	2019
<i>S9</i>	монгольская часть (1)	Хар-Ямат	2019
<i>S10</i>	монгольская часть (4)	Терсагкан, Шар-Булаг	2019
<i>S11</i>	русская (2) и монгольская (19) части	Окрестности оз. Караколь-Нур и Зерликюль-Нур, Шар-Булаг, Хар-Ямат, Жалпак Хагнур, Бухан-Толгой, Заг, Ойгор	2017-2019
<i>S12</i>	русская часть (4)	Вершина р. Ирбисту	2016
<i>S13</i>	русская часть (11)	Середина р. Ирбисту, Середина р. Елангаш, Кок-Озёк, Кызыл-Капчал, Вершина р. Ирбисту	2015, 2016

S14	российская часть (8)	Середина р. Большие Шибеты, Окрестности оз. Киндыктыкуль,, Вершина р. Бар-Бургазы, Середина р. Ирбисту, Большие и Малые Сары-Гобо	2015, 2016
S15	российская часть (7)	Середина р. Большие Шибеты, Урочище Ташанта, Стационар и Большой Кочкор-Бас, Вершина р. Большие Шибеты	2015-2017

Штамм *Y. pestis* ssp. *pestis*_150 (генотип S8), изолированный в 2019 г. в монгольской части очага, расположен отдельно, тогда как остальные 159 – образуют один кластер A (рисунок 13). Кластер A включает в себя два подкластера (A1 и A2). В A1 вошли 10 штаммов возбудителя чумы основного подвида, из них два (S5) изолированы в российской части очага (Тархатинская группа) в 2014 г., выделенные от человека и серого сурка при расследовании эпидслучая, и 8 (S6) – в монгольской (по четыре из Цаган-Нуурской и Кок-Сайской групп) при эпизоотологическом обследовании в 2017 г. (рисунки 12, 14). Подкластер A2 состоит из двух ветвей: A2₁ – включает 146 штаммов *Y. pestis* ssp. *pestis*, из них 66 выделены на территории Монголии (2018, 2019 гг.) и 80 – в России (2012, 2015-2018 гг.); A2₂ – включает три изолята чумного микроба, причем один из них имеет свой уникальный генотип S9, выделенный в Ойгорской группе монгольской части Сайлюгемского очага в 2019 г. Генотип S7, включает штаммы, изолированные в 2015 г. в Талдуаирской группе российской части очага.



Каждый MLVA25-тип представлен кругом (S1-S14), его размер показывает число штаммов. Цвет указывает на штаммы, выделенные в разных пространственных группах, 1-4 – российская часть очага: 1 – Талдуайская, 2 – Тархатинская, 3 – Джазаторская, 4 – Уландрыкская; 5-7 – монгольская часть очага: 5 – Кок-Сайская, 6 – Цаган-Нуурская, 7 – Ойгорская группировки.

Рисунок 15 – Минимальное остовное дерево (MST), построенное на основании данных MLVA25-типирования 160 штаммов *Y. pestis* ssp. *pestis*, изолированных в Сайлюгемском природном очаге чумы.

Ветвь $A2_1$ включает в себя девять генотипов, в том числе два самых крупных по составу генотипа – S1 и S11. Генотип S1 содержит 70 штаммов, из них 48 выделены в российской части очага (в 70 % случаях от основного носителя) и 22 – в монгольской части, включая два штамма, изолированные от людей. Этот генотип наиболее гетерогенный по составу, так как содержит штаммы из всех семи пространственных групп, при этом наибольшее их количество изолировано в российской части – в Уландрыкской группе (48,6 %), в монгольской – в Цаган-Нуурской группе (14,3 %).

Генотип S11 состоит из 21 штамма. Следует отметить, что 19 выделены в трех пространственных группах монгольской части очага в 2018-2019 гг.: из Ойгорской группы 76,2 % от общего количества штаммов этого генотипа, Кок-Сайской – 9,5 % и Цаган-Нуурской (4,8 %). Из российской части (Джазатурская группа) вошли только два штамма (9,5 %).

Генотипы S2, S4 и S10 включают штаммы, полученные в монгольской части трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы. При этом в генотипах S2 и S10 наибольшее количество штаммов из Ойгорской группы (75 % и 100 % соответственно), S4 – из Цаган-Нуурской (60 %).

Генотипы S3, S12-S14 содержат штаммы, выделенные в российской части трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы. Следует отметить, что генотип S3 содержит четыре штамма, выделенные от человека и серого сурка при расследовании эпидслучая в 2016 г. В генотип S12 вошли семь штаммов из Уландрыкской группы, S13 – 10 штаммов, из которых 9 изолированы в Тархатинской группе, S14 – включает пять штаммов из Талдуайрской и три из Уландрыкской групп.

Основные характеристики 25 VNTR локусов в рассмотренной выборке приведены в таблице 9. При анализе изменчивости оказалось, что 22 из них не вариабельны. По двум локусам изменчивость очень низка; редкими аллелями по локусу *yp2769ms06* оказались 7 повторов, *yp1335ms46* – 18 повторов. По локусу *yp4280ms62* наблюдается выраженное разнообразие (рисунок 14).

При этом обращает на себя внимание тот факт, что 12 генотипов состоят либо из штаммов, выделенных на российской территории либо – на монгольской.

Таблица 9 – Характеристика 25 VNTR локусов при исследовании штаммов *Y. pestis* ssp. *pestis*, изолированных в Сайлюгемском природном очаге чумы

Локус	Число аллелей	Число повторов	Индекс разнообразия
yp0120ms01	1	8	0
yp1290ms04	1	7	0
yp1935ms05	1	10	0
yp2769ms06	2	7, 8	0,1
yp2916ms07	1	8	0
yp3057ms09	1	37	0
yp0559ms15	1	10	0
yp1814ms20	1	9	0
yp1895ms21	1	9	0
yp4042ms35	1	8	0
yp4425ms38	1	8	0
yp0581ms40	1	8	0
yp0718ms41	1	7	0
yp1018ms44	1	7	0
yp1108ms45	1	7	0
yp1335ms46	3	16-18	0,1
yp2058ms51	1	2	0
yp2612ms54	1	7	0
yp3060ms56	1	9	0
yp4280ms62	9	7-11, 16-19	0,7
yp1118ms69	1	6	0
yp1580ms70	1	7	0
yp1925ms71	1	5	0
yp3236ms73	1	6	0
yp3245ms74	1	6	0

Таким образом, показано, что в целом наблюдается низкая изменчивость по VNTR локусам и выделяется однородный комплекс MLVA25-типов штаммов чумного микроба и наглядно демонстрирует отсутствие выраженной географической структурированности штаммов по их пространственным группам. Очевидно, что у проанализированных штаммов выявлена незначительная вариабельность геномов чумного микроба на территории очага при MLVA25-типировании, что соответствует данным, полученным методом по всем подходам (UPGMA, MST).

Кластерный анализ дает общее представление о распределении анализируемой выборки штаммов по группам при MLVA25-типировании. Для более детального рассмотрения особенностей генотипической структуры *Y. pestis*

ssp. pestis на территории трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы проведена сравнительная оценка частоты встречаемости аллелей в вариабельных локусах между отдельными пространственными группами изолированных штаммов

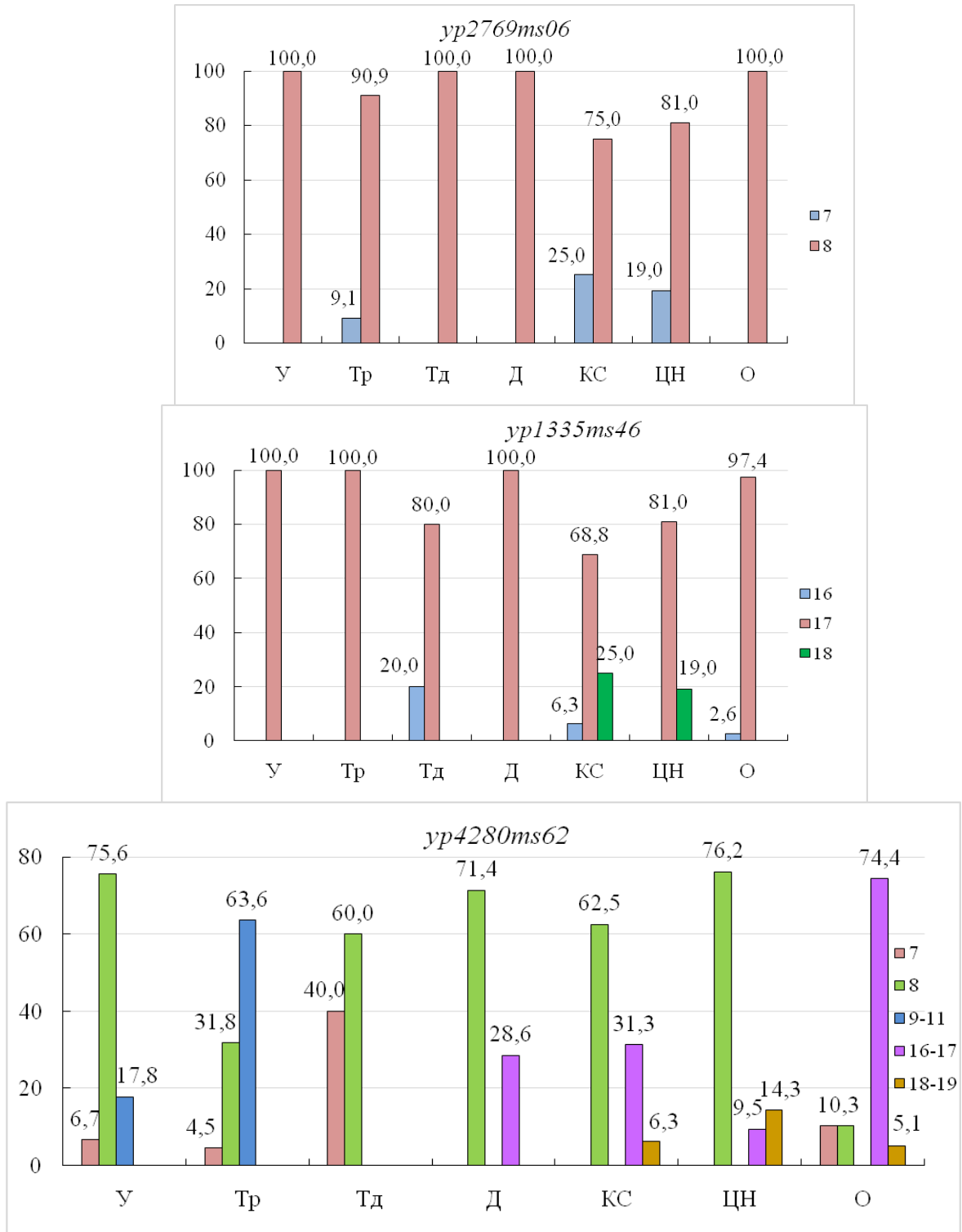
5.2.2 Анализ частот аллелей в изменчивых локусах штаммов *Y. pestis ssp. pestis* из различных территорий трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы

Первоначально проведем сравнение частоты встречаемости аллелей в семи различных пространственных групп, выделенных в очаге.

Наиболее слабые различия между выборками наблюдаются по локусу *yp2769ms06*. У всех штаммов из Уландрыкской, Талдуайрской, Джазаторской и Ойгорской групп выявлено 8 повторов и лишь у небольшого количества изолятов из Тархатинской, Кок-Сайской и Цаган-Нуурской групп выявлялось 7 повторов (рисунок 16). При этом, в целом различия между анализируемыми выборками по локусу *yp2769ms06* высоко достоверны (таблица 10).

Таблица 10 – Результаты оценки различий по критерию согласия между выборками штаммов *Y. pestis ssp. pestis* из разных пространственных групп по частоте встречаемости числа tandemных повторов по трем VNTR локусам

Локус	Сравниваемые совокупности	χ^2	<i>df</i>	<i>P</i>
<i>yp2769ms06</i>	У-Тр-Тд-Д-КС-ЦН-О	22,078	6	< 0,01
<i>yp1335ms46</i>	У-Тр-Тд-Д-КС-ЦН-О	44,764	12	< 0,001
<i>yp4280ms62</i>	У-Тр-Тд-Д-КС-ЦН-О	166,872	24	< 0,01



Буквами обозначены названия пространственных групп чумного микроба: У – Уландрыкская, Тр – Тархатинская, Тд – Талдуайрская, Д – Джазаторская, КС – Кок-Сайская, ЦН – Цаган-Нуурская, О – Ойгорская. По оси абсцисс – пространственные группы штаммов *Y. pestis ssp. pestis*, по оси ординат – частоты (%).

Рисунок 16 – Частота встречаемости числа тандемных повторов по трем переменным локусам у штаммов *Y. pestis ssp. pestis* в разных пространственных группах Сайлюгемского природного очага чумы.

В локусе *yp1335ms46* на территории всего очага преимущественно обнаруживаются генотипы с 17 повторами. При этом 18 повторов с относительно высокой частотой наблюдалось только на Кок-Сайском и Цаган-Нуурском участках монгольской части очага. Низкая встречаемость 16 повторов отмечена в Ойгорской, Кок-Сайской группах, в Талдуайрской количество аллелей несколько выше по сравнению с первыми двумя (рисунок 16). Различия между анализируемыми выборками по данному локусу в целом статистически значимы (таблица 10).

Выраженные различия между выборками штаммов из семи пространственных групп просматриваются по наиболее вариабельному локусу *yp4280ms62*. Сравнение распределений частот аллелей выявило высокую степень их неоднородности (таблица 10). Для наглядности у этого локуса на рисунке частоты аллелей в 9-11, 16-17 и 18-19 tandemных повторов объединены (рисунок 16). Только генотипы с 8 повторами обнаружены на всей территории Сайлюгемского природного очага чумы, при этом наиболее высокая частота встречаемости (76 %) наблюдается в Уландрыкской и Цаган-Нуурской группах, а самая низкая (10 %) – в Ойгорской. Генотипы с 9-11 повторами обнаруживаются только в российской части очага – в Тархатинской и Уландрыкской группах (рисунок 15). Генотипы с 18-19 tandemными повторами, наоборот, выявлены только на монгольской части очага, наибольшее их относительное количество (14,3 %) в Цаган-Нуурской группе (рисунок 15). В Ойгорской группе большая часть штаммов содержит 16-17 повторов, модальный класс 17 повторов (43,6 %). В Уландрыкской, Тархатинской и Талдуайрской группах российской части Сайлюгемского очага 16-17 и 18-19 повторов отсутствуют (рисунок 16).

Сравнение частот аллелей по трем локусам показало, что между выборками штаммов из разных пространственных групп возбудителя чумы отличия достоверны. Это свидетельствует о генотипической неоднородности чумного микроба, циркулирующего в очаге.

Далее сравним частоту встречаемости аллелей в трех изменчивых локусах у штаммов *Y. pestis* ssp. *pestis*, выделенных в российской и монгольской частях трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы (рисунок 17, таблица 11).

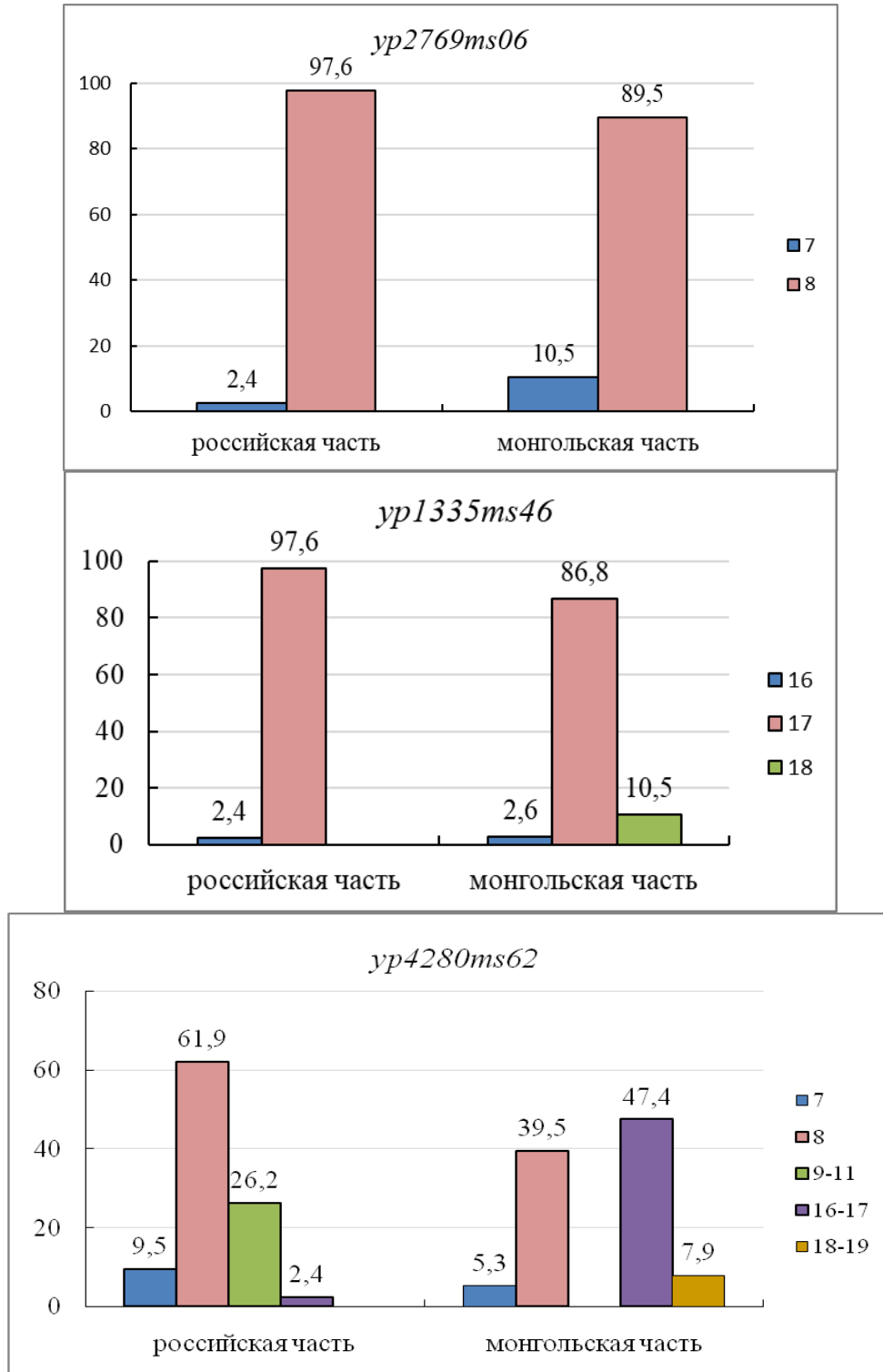


Рисунок 17 – Частота встречаемости числа тандемных повторов по трем переменным локусам у штаммов *Y. pestis* ssp. *pestis* из Сайлюгемского природного очага чумы. По оси ординат – частоты (%).

Таблица 11 – Результаты оценки различий по критерию согласия между выборками штаммов *Y. pestis* ssp. *pestis* из российской и монгольской части трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы в частоте встречаемости числа tandemных повторов по трем VNTR локусам

Локус	χ^2	<i>df</i>	<i>P</i>
<i>yp2769ms06</i>	4,5	1	< 0,05
<i>yp1335ms46</i>	12,9	2	< 0,01
<i>yp4280ms62</i>	65,7	4	< 0,001

Наиболее слабые различия между сравниваемыми выборками наблюдаются по локусу *yp2769ms06* (рисунок 17, таблица 11). В изучаемых совокупностях, в основном, представлены аллели с 8 повторами как на российской, так и на монгольской территории очага. Тем не менее различия между ними статистически значимы (таблица 11).

В локусе *yp1335ms46* в обеих частях Сайлюгемского природного очага чумы преимущественно обнаруживаются 17 tandemных повторов. При этом 18 повторов выявлены только на монгольской части, на российской – они не встречались (рисунок 17). Различия между анализируемыми выборками высоко достоверны (таблица 11)

Ярко выражена неоднородность выборок из двух частей природного очага чумы по локусу *yp4280ms62*. На российской территории очага абсолютно преобладали 8 повторов (61,9 %). На монгольской части природного очага чумы – 16-17 повторов. Следует отметить, что 18-19 повторов выявлялось только на монгольской части Сайлюгемского очага, а на российской они не встречались. Наоборот, 9-11 повторов, обнаруживалось только на российской части очага (рисунок 17). Различия между штаммами из российской и монгольской частей очага высоко достоверны (таблица 11).

Сравнение частот аллелей по трем изменчивым локусам, показало, что по каждому из них отличия между выборками штаммов из разных частей Сайлюгемского природного очага чумы характеризуются своими индивидуальными особенностями. При этом локус *yp4280ms62* является основным для

пространственной дифференциации *Y. pestis* ssp. *pestis* внутри очага при MLVA25-типировании.

Возбудитель чумы основного подвида в очаге циркулирует относительно недавно, поэтому временные особенности на сегодняшний день не представляется возможным проанализировать.

Изложенные результаты MLVA25-типирования показывают низкую изменчивость *Y. pestis* ssp. *pestis* по 25 VNTR локусам в пространственных группировках. Это характерно для «молодых», относительно недавно образовавшихся групп штаммов на определенной географической территории [Vogler et al., 2011]. Girard J.M. и соавторы [2004] предполагают, что кластеризация похожих генотипов в географическом пространстве является первоначальным распространением чумного микроба по всему ландшафту. Данный процесс происходил довольно быстро и, возможно, включал один общий генотип, который позже дифференцировался в пределах локальных популяций [Girard et al., 2004]. Это прослеживается в нашем исследовании, где наибольшее количество штаммов вошли в один генотип (S1) и следует отметить, что он включает изоляты за весь анализируемый период, кроме 2014 г. из всех семи пространственных группировок. Далее с 2014 г. формировались небольшие по количеству штаммов генотипы, но имеющие четкую дифференциацию по месту выделения – в российской или монгольской частях очага.

Возбудитель чумы основного подвида в Сайлюгемском природном очаге на российской части обнаружили в 2012 г., и он в течение короткого времени распространился практически по всей территории очага, кроме Курайского хребта. В монгольской части – эпизоотии регистрируются ежегодно с 2017 г. при возобновлении обследований данной территории. Наоборот, другая ситуация прослеживается при анализе пространственно-временных особенностей распространения возбудителя чумы центральноазиатского подвида алтайского биовара. В Горно-Алтайском высокогорном природном очаге чумы

Y. pestis ssp. *central asiatica* bv. *altaica* впервые был обнаружен в 1961 г. и его распространения по территории очага происходило постепенно.

Если обратимся к сравнению генотипической структуры возбудителя чумы алтайского биовара центральноазиатского подвида за небольшой срок (с 1961 по 1970 годы), то увидим аналогичный процесс как у *Y. pestis* основного подвида – сначала сформировались крупные группы, включающие штаммы выделенные на определенной территории мезоочага. Далее по мере распространения алтайского биовара в очаге, формировались пространственные группировки в Тархатинском и Курайском мезоочагах, как описано в главе 4 данной работы.

При сравнении частоты встречаемости аллелей в локусах четко просматриваются различия у штаммов двух подвигов в трансграничном Сайлюгемском природном очаге чумы. У возбудителя чумы *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica*, циркулирующего в очаге более 60 лет, своеобразие генотипических характеристик в шести вариабельных локусах в трех мезоочагах, тогда как у *Y. pestis* ssp. *pestis*, циркулирующего в очаге девять лет – в трех локусах. При этом у возбудителя чумы основного подвида пространственная дифференциация генотипической структуры пока не выражена, но четко просматривается при сравнении монгольской и российской частей очага.

В обоих случаях локус *ур4280ms62* является ключевым для пространственной дифференциации *Y. pestis* внутри Сайлюгемского природного очага при MLVA25-типировании.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время чума остается одной из реальных угроз для человечества несмотря на высокое качество медицины, внедрение экспресс-методов для диагностики инфекции, применение новых антибактериальных препаратов для лечения. Вспышки и спорадические случаи заболевания людей чумой постоянно регистрируются в странах Африки, Евразии, Америки, в которых находятся природные очаги чумы.

Трансграничный Сайлюгемский природный очаг чумы расположен на севере центральноазиатской зоны природной очаговости чумы, северная часть которого находится на территории России (Горно-Алтайский высокогорный очаг), а южная часть – в Монголии (Сайлюгемский природный очаг). Мониторинг Сайлюгемского природного очага чумы (как российской, так и монгольской частей) проводится на протяжении почти 70-ти лет [Демина и др., 1961; Щекунова и др., 1963; Тимофеева, 1972; Логачев и др., 1978; Сотникова и др., 1980; Апарин и др., 1987; Батсух и др., 1988; Иннокентьева, 1997; Корзун, 2007; Балахонов, 2014].

В последнее десятилетие эпидемический потенциал этого очага значительно изменился, когда в поселениях серого сурка начал циркулировать высокопатогенный эпидемически значимый возбудитель чумы основного подвида. В Сайлюгемском природном очаге едичные случаи заболевания бубонной формой чумы у людей зарегистрированы на территории России в 2014, 2015 и 2016 годах, Монголии в 2019 г.

В настоящее время трансграничный Сайлюгемский природный очаг чумы является сопряженным, в котором циркулируют два подвида чумного микроба: *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* – принадлежит к филогенетической линии 0.PE4a и *Y. pestis* ssp. *pestis* – относится к филогенетической линии 4.ANT.

При эпизоотологическом обследовании Сайлюгемского природного очага чумы выделено 294 штамма *Y. pestis* ssp. *pestis*, из них 165 в российской части (2012-2022 гг.) и 129 в монгольской (2017-2022 гг.). Фенотипические

свойства изучены у 226 штаммов, в том числе выделенных от людей. Изученные штаммы относятся к основному подвиду чумного микроба с характерными культурально-морфологическими, биохимическими свойствами, набором основных детерминант вирулентности и обладают высокой универсальной вирулентностью для лабораторных животных.

Анализ методов и средств комплексной лабораторной диагностики, применяемой в настоящее время для индикации, идентификации и расширенной характеристики *Y. pestis*, показал необходимость исследования возбудителя чумы на молекулярно-генетическом уровне, направленном на изучение его пространственной генотипической структуры.

В данной работе использовали метод MLVA25-типирования, с помощью которого провели анализ генетической вариабельности подвидов *Y. pestis* и показали, что отдельные геноварианты географически соответствуют мезо-очагам внутри природного очага чумы. Данный метод имеет ряд преимуществ и является более информативным по сравнению с другими методами при анализе больших репрезентативных выборок штаммов, что является важным условием для оценки генотипической структуры популяции чумного микроба.

В рамках диссертационной работы нами проведено MLVA25-типирование 330 штаммов *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica*, изолированных в российской части трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы в 1961-2015 гг. для установления пространственно-временной генотипической структуры возбудителя. По результатам проведенного анализа установлено, что 25 VNTR локусов дифференцированы на 34 MLVA типа: три крупных включали 56, 57, 91 штамм, три средних – 14, 15, 19 штаммов, 17 – включали от двух до восьми штаммов и 11 были уникальными. Кроме того, очевидно наличие трех оформленных изолированных групп, сформированных в зависимости от места выделения штаммов в пределах очага и соответствующих данным, полученным методом UPGMA. Уландрыкская и Тархатинская группы преимущественно состоят из штаммов, изолированных в

соответствующих мезоочагах, между ними расположена группа, в которую вошли штаммы из Курайского и Тархатинского мезоочагов. Оценка частоты встречаемости по шести переменным локусам (*yp2916ms07*, *yp1814ms20*, *yp4280ms62*, *yp1925ms71*, *yp0581ms40* и *yp1335ms46*) показала наличие существенных различий между выборками штаммов в трех мезоочагах российской части Сайлюгемского природного очага чумы.

Анализ MLVA25 структуры *Y. pestis* ssp. *pestis*, циркулирующего в природных очагах России (Забайкальский степной, Тувинский горный, российская часть Сайлюгемского) и Монголии (Хуух-Серх-Мунх-Хаирханский, Хархиро-Тургенский, монгольская часть Сайлюгемского) показал, что исследованные штаммы делятся на два кластера (*A* и *B*). Между кластерами *A* и *B* выявлены различия по двенадцати переменным VNTR локусам (*yp0120ms01*, *yp2769ms06*, *yp3057ms09*, *yp0559ms15*, *yp1814ms20*, *yp0581ms40*, *yp0718ms41*, *yp1335ms46*, *yp3060ms56*, *yp4280ms62*, *yp1580ms70*, *yp3245ms74*). Кластер *A* сформирован штаммами, изолированными в Забайкальском природном очаге, которые относятся к филогенетической линии 2.ANT3. Кластер *B* образован двумя ветвями *BI* и *BII*. Ветвь *BI* включает изоляты из Тувинского горного природного очага (линия 4.ANT античного биовара). Ветвь *BII* представляет собой однородный комплекс штаммов чумного микроба основного подвида, выделенных в Сайлюгемском (российской и монгольской частях), Хархиро-Тургенском и Хуух-Серх-Мунх-Хаирханском очагах чумы, относящихся к филогенетической линии 4.ANT. Между штаммами, входящими в кластер *B*, проявляются минимальные различия по семи локусам. Таким образом, нами выявлено наличие генетических различий между *Y. pestis* ssp. *pestis*, циркулирующего в природных очагах на приграничной территории России и Монголии. При этом штаммы *Y. pestis* ssp. *pestis*, изолированные в Сайлюгемском очаге, формируют одну группу.

В 2012-2022 гг., в трансграничном Сайлюгемском природном очаге выделено 273 штамма *Y. pestis* ssp. *pestis* (58,6 % от их общего количества за

этот период), из них 110 штаммов в монгольской части очага и 163 в российской. Для анализа популяционной структуры *Y. pestis ssp. pestis*, циркулирующего в трансграничном Сайлюгемском природном очаге чумы с помощью MLVA25 анализа исследовано 160 штаммов: 76 из монгольской части очага (69,1 % от всех выделенных в нем) и 84 из российской (51,5 %).

Учитывая географическую приуроченность изолированных штаммов на территории Сайлюгемского природного очага, нами условно выделено семь пространственных групп штаммов *Y. pestis ssp. pestis*, в том числе четыре в российской части очага – Уландрыкская, Тархатинская, Талдуайрская, Джазаторская и три в монгольской – Кок-Сайская, Цаган-Нурская и Ойгорская.

На основе кластерного MLVA25 анализа исследованные штаммы *Y. pestis ssp. pestis* дифференцированы на 14 MLVA типов, из них: 2 уникальные, 8 небольших по объему типов объединяли от 2 до 8 штаммов в состав трех средних входили 11, 16 и 21 штамм, один крупный включал 70 штаммов. При этом обращает на себя внимание тот факт, что 12 генотипов состоят либо из штаммов, выделенных на российской территории, либо – на монгольской. При проведении MLVA25-типирования отмечается низкая вариабельность геномов и, как следствие, отсутствие выраженной пространственной структуры штаммов *Y. pestis ssp. pestis* в данных группах. Как правило низкая изменчивость характерна для новых, недавно образовавшихся групп штаммов на территории очага. Такая же ситуация наблюдалась с возбудителем чумы *Y. pestis ssp. central asiatica bv. altaica* в первое десятилетие с момента образования очага и только с течением времени формировались группы штаммов, имеющие определенные генотипические характеристики и соответствующую пространственную дифференциацию.

При анализе изменчивости 25 VNTR локусов штаммов *Y. pestis ssp. pestis* в исследуемой выборке установлено, что 22 из них не вариабельны. По двум локусам изменчивость очень низкая; редкими аллелями по локусу *yp2769ms06* оказались 7 повторов, *yp1335ms46* – 18 повторов. По локусу *yp4280ms62* наблюдается выраженное разнообразие. Сравнение частот алле-

лей по этим локусам показало достоверные отличия между штаммами, выделенными в российской и монгольской частях Сайлюгемского очага. При этом в локусе *ур2769ms06* между выборками наблюдаются слабые различия, в двух других локусах частота встречаемости tandemных повторов наиболее выражена для каждой части Сайлюгемского очага.

Таким образом, с помощью MLVA25-типирования установлено, что локус *ур4280ms62* является основным для пространственной дифференциации штаммов *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* и *Y. pestis* ssp. *pestis* в трансграничном Сайлюгемском природном очаге чумы.

ВЫВОДЫ

1. По данным MLVA25-типирования 330 штаммов *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica*, выделенных в российской части трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы в 1961-2019 гг., дифференцированы на 34 MLVA типа. Установлено, что в трех мезоочагах (Уландрыкском, Тархатинском, Курайском) распространены относительно независимые совокупности возбудителя чумы данного подвида, обладающие своеобразной генотипической структурой.

2. Обнаружено, что MLVA25-структура чумного микроба центрально-азиатского подвида алтайского биовара в Тархатинском мезоочаге характеризуется существенными изменениями во времени, тогда как в Уландрыкском и Курайском она обладает выраженной стабильностью.

3. Показано, что у *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* из 25 VNTR локусов, по шести (*yp2916ms07*, *yp1814ms20*, *yp0581ms40*, *yp1335ms46*, *yp4280ms62*, *yp1925ms71*) наблюдается значительное разнообразие. По этим локусам выявлены различия между выборками штаммов из трех мезоочагов (Уландрыкского, Тархатинского, Курайского) российской части Сайлюгемского природного очага чумы.

4. С помощью MLVA25 анализа 160 изолятов *Y. pestis* ssp. *pestis*, выделенных в российской и монгольской частях трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы в 2012-2022 гг., дифференцированы на 14 MLVA типов. Установлено, что 12 из них состоят из штаммов, изолированных либо в российской части очага, либо в монгольской и только два – из обеих частей очага. В целом наблюдается низкая изменчивость по VNTR локусам и отсутствует выраженная географическая структурированность при филогенетическом анализе, выполненном методами UPGMA и MST.

5. Выявлено три переменных VNTR локуса (*yp2769ms06*, *yp1335ms46*, *yp4280ms62*) у *Y. pestis* ssp. *pestis*, частота встречаемости аллелей которых указывает на наличие генотипической неоднородности чумного микроба и

четкую пространственную дифференциацию между выборками штаммов из российской и монгольской частей Сайлюгемского природного очага.

6. Установлено, что локус *ur4280ms62* является ключевым для пространственной дифференциации *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* и *Y. pestis* ssp. *pestis* в трансграничном Сайлюгемском природном очаге.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АБП	–	антибактериальные препараты
ДДМ	–	диско-диффузионный метод
МГЭ	–	мобильные генетические элементы
МИК	–	минимальная ингибирующая концентрация
м.к.	–	микробные клетки
ОСО	–	отраслевой стандартный образец
п.н.	–	пар нуклеотидов
ПЦР	–	полимеразная цепная реакция
ПЦР-ЭФ	–	полимеразная цепная реакция с электрофоретическим учетом результатов
СПЖ	–	средняя продолжительность жизни
TE	–	буфер, содержащий 10 мМ Tris-HCl, pH 8,0 и 0,1 мМ ЭДТА
т.п.н.	–	тысяч пар нуклеотидов
ЦДС	–	цветная дифференциальная среда
CRISPR	–	кластерные регулярно разделенные короткие палиндромные повторы (от англ. clustered regularly interspaced short palindromic repeats)
ddH ₂ O	–	дедионизированная вода
<i>df</i>	–	число степеней свободы
DFR	–	отличающиеся участки генома (от англ. different regions)
dNTP	–	дезоксинуклеозидтрифосфаты
EtBr	–	этидиум бромид
H ₃ BO ₃	–	борная кислота
IS	–	инсерционные последовательности (от англ. insertion sequences)
MgCl ₂	–	хлорид магния

MLVA	– мультилокусный анализ VNTR (Multi loci VNTR analysis)
MST	– минимальное остовное дерево (от англ. minimum spanning tree)
NaCl	– хлорид натрия
NaOH	– натрий гидроксид
pCad (pYV, pCD1)	– плазида, определяющая кальцийзависимость при температуре 37 °С и синтез VW-антигена (47 МДа) чумного микроба
PFGE	– пульс-гельэлектрофорез (pulsed field gel electrophoresis)
RAPD	– random amplification of polymorphic, повторяющихся внегенных полиндромных последовательностей
pFra (pYT, pMT1)	– плазида, детерминирующая синтез фракции I и мышинового токсина (65 МДа)
pPstI (pYP, PCP1)	– плазида пестициногенности (6 МДа)
pTP33	– плазида <i>Y. pestis</i> с молекулярной массой 22 МДа
REP	– repetitive extragenic palindromic sequences
SNP	– полиморфизм единичных нуклеотидов (от англ. single nucleotide polymorphism)
UPGMA	– метод попарного невзвешенного кластрирования с арифметическим усреднением (от англ. Unweighted pair-group method using arithmetic averages)
VNTR	– переменные тандемные повторы (от англ. variable number tandem repeats)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРНЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Адьяасурэн, З. Клинико-эпидемиологические особенности чумы в Монголии [Текст] / З. Адьяасурэн, Д. Цэрэнноров, Д. Отгонбаатар [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. – 2010. – Вып. 1 (103). – С. 30–33.
2. Адьяасурэн, З. Современная ситуация в природных очагах чумы Монголии [Текст] / З. Адьяасурэн, Д. Цэрэнноров, Ж. Мягмар [и др.] // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. – 2014. – Вып. 25. – С. 22–25.
3. Апарин, Г.П. Нумерический анализ фенотипических свойств и общая геномная характеристика штаммов чумного микроба, относящихся к различным подвидам [Текст] / Г.П. Апарин, С.В. Балахонов, Л.А. Тимофеева, [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 1987. – № 11. – С. 16–20.
4. Апарин, Г.П., Микробиология чумы [Текст] / Г.П. Апарин, Е.П. Голубинский // Иркутск, 1989. – 89 с.
5. Асташин, Ю.М. Новые носители и переносчики в Горно-Алтайском очаге чумы [Текст] / Ю.М. Асташин, А.А. Бондаренко, В.Т. Климов [и др.] // Доклады Иркутского противочумного ин-та. – 1974. – Вып. 10. – С. 178–179.
6. Афанасьев, М.В. Разработка и использование ПЦР-системы в режиме реального времени для детекции *Yersinia pestis* в полевом материале М.В. Афанасьев, Е.В. Чипанин, В.Е. Шестаков [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2013. – № 3. – С. 38–41.
7. Афанасьев, М.В. Анализ нуклеотидной последовательности криптической плазмиды рТР33 *Yersinia pestis* из Тувинского природного очага чумы [Текст] / М.В. Афанасьев, С.В. Балахонов, Е.Г. Токмакова [и др.] // Генетика. – 2016. – № 9. – С.1012–1020.
8. Ашмарин, И.П. Статистические методы в микробиологических исследованиях [Текст] / И.П. Ашмарин, А.А. Воробьёв // Л.: Медгиз., 1962. – 180 с.

9. Балабкин, А.К. О природном очаге чумы в Горном Алтае [Текст] / А.К. Балабкин, А.М. Шамова, В.А. Саржинский [и др.] // Доклады Иркутского противочумного ин-та. – 1962. – Вып. 4. – С. 3–5.
10. Балахонов, С.В. Молекулярно-биологические критерии геномной близости в систематике рода *Yersinia* [Текст]: дис. ... канд. мед. наук. / С.В. Балахонов // Саратов, 1987. – 111 с.
11. Балахонов, С.В. Геномные маркеры возбудителей чумы, псевдотуберкулеза, холеры, бруцеллеза (эпидемиологическое и диагностическое значение) [Текст]: дис. ... доктора медицинских наук: 03.00.07, 14.00.30 / С.В. Балахонов // Иркутск, 2000. – 263с.
12. Балахонов, С.В. Горно-Алтайский природный очаг чумы: Ретроспективный анализ, эпизоотологический мониторинг, современное состояние [Текст] / С.В. Балахонов, В.М. Корзун // Новосибирск: Наука-Центр, 2014. – 272 с.
13. Балахонов, С.В. Молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Yersinia pestis*, выделенных на монгольской территории трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы [Текст] / С.В. Балахонов, М.Б. Ярыгина, А.С. Гладких [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. – 2019. – № 3. – С. 34–42. doi: 10.21055/0370-1069-2019-3-34-42.
14. Балахонов, С.В. Новые плазмидовары штаммов возбудителя чумы, изолированных в Монголии [Текст] / С.В. Балахонов, С. Цэнджав, А. Эрдэнэбат // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 1991. – № 11. – С. 27–29.
15. Балахонов, С.В. Сайлюгемский природный очаг чумы [Текст] / С.В. Балахонов, В.М. Корзун // Новосибирск: Наука, 2022. – 248 с.
16. Балахонов, С.В. Особенности эпизоотического процесса, вызванного возбудителем чумы основного подвида, в трансграничном Сайлюгемском природном очаге чумы [Текст] / С.В. Балахонов, В.М. Корзун, А.В. Денисов [и др.] // Национальные приоритеты России. – 2021. – № 3 (42). – С. 108–111.

17. Балахонов, С.В. Первый случай выделения *Yersinia pestis* subsp. *pestis* в Алтайском горном природном очаге чумы. Сообщение 1. Микробиологическая характеристика, молекулярно-генетическая и масс-спектрометрическая идентификация изолята [Текст] / С.В.Балахонов, М.В.Афанасьев, М.Ю. Шестопапов [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. – 2013. – Вып. 1. – С. 60–65.

18. Балахонов, С.В. Результаты VNTR-анализа по локусу (5'-CAAA-3')*n* штаммов *Yersinia pestis* из активных природных очагов чумы Сибири [Текст] / С.В. Балахонов, М.Ю. Шестопапов, И.Ф. Романова // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2009в. – № 3. – С. 14–17.

19. Балахонов, С.В. Случай заболевания человека чумой в Кош-Агачском районе Республики Алтай в 2015 г. Сообщение 1. Клинико-эпидемиологические и эпизоотологические аспекты [Текст] / С.В. Балахонов, А.Ю. Попова, А.И. Мищенко [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. – 2016 а. – Вып. 1. – С. 55–60.

20. Балахонов, С.В. Случай заболевания человека чумой в Кош-Агачском районе Республики Алтай в 2015 г. Сообщение 2. Микробиологическая и молекулярно-генетическая характеристика изолированных штаммов [Текст] / С.В. Балахонов, М.Б., Ярыгина, Е.Н. Рождественский [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. – 2016 б – Вып. 4. – С. 51–55.

21. Балахонов, С.В. Трансграничные природные очаги чумы Российской Федерации и Монголии: новые угрозы и меры по обеспечению эпидемиологического благополучия [Текст] / С.В. Балахонов, В.М. Корзун, С.А. Косилко [и др.] // Журнал инфекционной патологии. – 2018. – Т. 23, № 1–4. – С. 10.

22. Батсух, Д. Современное состояние природных очагов чумы МНР [Текст] / Д. Батсух, Ж. Дэмбрэл, Б. Дэмбрэл [и др.] // Природная очаговость чумы в Монгольской Народной Республике. – Иркутск, 1988. – С. 3–5.

23. Васильев, Г.И. К паразитологической характеристике Горно-Алтайского чумного очага[Текст] / Г.И. Васильев, Л.А. Лазарева // Известия

Иркутского противочумного ин-та Сибири и ДВ. – 1968. – Т. 27. – С. 279–287.

24. Вержуцкий, Д.Б. Активизация природных очагов чумы в Центральной Азии: беспочвенные опасения или реальная угроза [Текст] / Д.Б. Вержуцкий // Природа Внутренней Азии. – 2018. – № 1 (6). – С. 7–17. doi: 10.18101/2542-0623-2018-1-7-18.

25. Вержуцкий, Д.Б. О некоторых дискуссионных проблемах природной очаговости чумы [Текст] / Д.Б. Вержуцкий, С.В. Балахонов // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 2016. – № 1. – С. 5–12

26. Вержуцкий, Д.Б. Природные очаги чумы в Монголии: аннотированный список [Текст] / Д.Б. Вержуцкий, З. Адъясурэн // Байкальский зоологический журнал. – 2019. – № 2(25). – С. 92–103

27. Гаева, А.В. Внутривидовая дифференциация и определение очаговой принадлежности штаммов чумного микроба методом вычитающего рестрикционного фингерпринтинга [Текст] / А.В. Гаева, Е.Г. Булгакова, М.Н. Киреев [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. – 2010. – Вып. 4 (106). – С. 28–32. doi: 10.21055/0370-1069-2010-4(106)-28-31

28. Голубинский, Е.П. О чуме в Сибири [Текст] / Е.П. Голубинский, И.Ф. Жовтый, Л.Б. Лемешева // Иркутск: Изд-во Иркут. гос. ун-та. – 1987. – 243 с.

29. Демина, Г.И. Эпизоотия чумы на пищуках в Западной Монголии [Текст] / Г.И. Демина, Е.П. Демин, З.И. Щекунова // Доклады Иркутского противочумного ин-та. – 1961. – Вып. 2. – С. 24–25;

30. Денисов, А.В. Пространственная структура населения млекопитающих – носителей возбудителя чумы в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге [Текст]: дис. ... канд. биол. наук: / А.В. Денисов // Иркутск, 2018. – 181 с.

31. Денисов, А.В. Увеличение ареала монгольской пищухи в Горно-Алтайском природном очаге чумы [Текст] / Денисов А.В., Чипанин Е.В.,

Корзун В.М. // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. – 2014. – №25. – С. 15–18.

32. Домарадский, И.В. Чума [Текст] / И.В. Домарадский. – М., 1998. – 175 с.

33. Евсева, В.В., Сравнительный анализ MLVA25- и MLVA7-типирования по способности определять очаговую принадлежность штаммов *Yersinia pestis* на примере изолятов из Центрально-Кавказского высокогорного очага чумы [Текст] / В.В. Евсева, М.Е. Платонов, И.Г. Говорунов [и др.] // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология – 2016. – №1. – С. 37–40. doi: 10.18821/0208-0613-2016-34-1-37-40.

34. Евченко, Ю.М. Изучение генетического разнообразия штаммов *Yersinia pestis* из Центрально-Кавказского высокогорного природного очага чумы [Текст] / Ю.М. Евченко, Д.В. Ефременко, И.В. Кузнецова [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. – 2013. – № 4. – С. 51–55.

35. Ерошенко, Г.А. Стандартный алгоритм молекулярного типирования штаммов *Yersinia pestis* [Текст] / Г.А. Ерошенко, Г.Н. Одинокоев, Л.М. Куклева [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2012. – № 3. – С. 25–35.

36. Ерошенко, Г.А. Генотипирование штаммов *Yersinia pestis* на основе вариабельности генов биосинтеза рРНК [Текст] / Г.А. Ерошенко, А.И. Павлова, Л.М. Куклева [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2007. – № 3. – С. 6–10.

37. Ерошенко, Г.А. Вариабельные локусы генов *parA*, *aspA*, *rhaS*, *zwf* и *tcaB* как эффективные ДНК-мишени для генотипирования штаммов *Yersinia pestis* [Текст] / Г.А. Ерошенко, Г.Н. Одинокоев, Л.М. Куклева [и др.] // Генетика. – 2010. – Т. 46. – № 6. – С. 734–741.

38. Ерошенко, Г.А. Природный мегаочаг основного подвида *Yersinia pestis* античного биовара филогенетической ветви 4.ANT в Горном Алтае [Текст] / Г.А. Ерошенко, Н.В. Попов, Я.М. Краснов [и др.] // Проблемы особо

опасных инфекций. – 2018 – № 2. – С. 49–56. doi: 10.21055/0370-1069-2018-2-49-56

39. Ерошенко, Г.А. Пространственно-временной анализ циркуляции *Yersinia pestis* в Волго-Уральском песчаном очаге [Текст] / Г.А. Ерошенко, Н.В. Попов, Ж.В. Альхова [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. – 2019. – № 3. – С. 51–57. doi: 10.21055/0370-1069-2019-3-51-57

40. Ерошенко, Г.А. Распространение *Yersinia pestis* средневекового биовара в Северном, Северо-Западном Прикаспии и Предкавказье во второй половине XX века [Текст] / Г.А. Ерошенко, Н.В. Попов, Ж.В. Альхова [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. – 2019а. – № 4. – С. 48–55. doi: 10.21055/0370-1069-2019-4-48-55

41. Ерошенко, Г.А. Филогенетический анализ штаммов *Yersinia pestis* средневекового биовара, выделенных в Прикаспийском Северо-Западном степном очаге чумы в XX столетии [Текст] / Г.А. Ерошенко, Н.В. Попов, Ж.В. Альхова [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. – 2019б. – № 2. – С. 55–61. doi: 10.21055/0370-1069-2019-2-55-61.

42. Закс, Л. Статистическое оценивание [Текст] / Л.Закс – М.: Статистика, 1976. – 600 с.

43. Иннокентьева, Т.И. Особенности экологии *Yersinia pestis altaica* [Текст]: дис. в виде науч. докл. ... докт. мед. Наук: / Т.И. Иннокентьева // Саратов, 1997. – 59 с.

44. Иннокентьева, Т.И. Эпизоотологическая роль блох в Горно-Алтайском природном очаге чумы (обзор) [Текст] / Т.И. Иннокентьева, В.М. Корзун, И.К. Машковский [и др.] // Паразитология. – 2004. – Т. 38. – В. 4. – С. 273–287.

45. Кадастр эпидемических и эпизоотических проявлений чумы на территории Российской Федерации и стран ближнего зарубежья (с 1876 по 2016 год) [Текст] / Под редакцией академика РАМН В.В. Кутырева и профессора Поповой А.Ю. – Саратов, ООО «Амирит», 2016. – 248 с.

46. Коренберг, Э.И. Природная очаговость инфекций: современные проблемы и перспективы исследований [Текст] / Э.И. Коренберг // Зоологический журнал. – 2010. – Т. 89. – № 1. – С. 1–13.

47. Коренберг, Э.И. Природноочаговые инфекции, передающиеся иксодовыми клещами [Текст] / Э.И. Коренберг, В.Г. Помелова, Н.С. Осин – М., 2013. – 464 с.

48. Корзун, В.М. Монгольская часть трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы в 2017 г. Сообщение 1. Эпизоотическая ситуация [Текст] / В.М. Корзун, С.В. Балахонов, А.В. Денисов [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. – 2018. – Вып. 1. – С. 79–84. doi: 10.21055/0370-1069-2018-1-79-84

49. Корзун, В.М. Ареал и пространственная структура населения монгольской пищухи (*Ochotona pallasi*, Ochotonidae, Lagomorpha) в Юго-Восточном Алтае [Текст] / В.М. Корзун, Е.В. Чипанин, А.В. Денисов [и др.] // Байкальский зоологический журнал. – 2017. – №1(20). – С. 72–82.

50. Корзун, В.М. Вовлеченность в эпизоотический процесс отдельных видов блох в Горно-Алтайском природном очаге чумы: пространственные и временные особенности [Текст] / В.М. Корзун, М.Б. Ярыгина, Л.А. Фомина [и др.] // Медицинская паразитология и паразитарные болезни – 2014. – № 1. – С. 29–34.

51. Корзун, В.М. Блохи мелких млекопитающих, вовлекающихся в эпизоотический процесс, в Горно-Алтайском природном очаге чумы [Текст] / В.М. Корзун, М.Б. Ярыгина, Л.А. Фомина // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 2015. – № 1. – С. 25–29.

52. Корзун, В.М. Вовлеченность в эпизоотический процесс отдельных видов блох в Горно-Алтайском природном очаге чумы: пространственные и временные особенности [Текст] / В.М. Корзун, М.Б. Ярыгина, Л.А. Фомина [и др.] // Медицинская паразитология и паразитарные болезни – 2014. – № 1. – С. 29–34.

53. Корзун, В.М. Долговременная трансформация структуры многовидовых сообществ блох (*Siphonaptera*) монгольской пищухи на Юго-Восточном Алтае [Текст] / В.М. Корзун, Л.А. Фомина, М.Б. Ярыгина // XIV Съезд Русского энтомологического общества: Материалы съезда. – СПб., 2012. – С. 207.

54. Корзун, В.М. Интродукция возбудителя чумы основного подвида в поселения серого сурка в Юго-Восточном Алтае [Текст] / В.М. Корзун, С.В. Балахонов, Е.В. Чипанин [и др.] // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 2017. – № 4. – С. 20–29.

55. Корзун, В.М. Многолетняя динамика эпизоотической активности Горно-Алтайского природного очага чумы и численности монгольской пищухи [Текст] / В.М. Корзун, Е.В. Чипанин, Т.И. Иннокентьева [и др.] // Актуальные проблемы предупреждения и ликвидации последствий чрезвычайных ситуаций в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения государств – участников СНГ: Матер. X Межгосударственной науч.-практич. конф. государств – участников СНГ. – Ставрополь: Изд-во ООО «Экспо-Медиа», 2010. – С. 68–69.

56. Корзун, В.М. Расселение блохи *Stenophyllus hirticrus* и распространение эпизоотий чумы в Горном Алтае [Текст] / В.М. Корзун, Е.В. Чипанин, Т.И. Иннокентьева [и др.] // Паразитология. – 2007. – Т. 41, Вып. 3. – С. 206–217.

57. Кошкин, С.М. Видовой состав, экология и эпизоотологическое значение блох монгольской пищухи Северо-Западной Монголии [Текст] / С.М. Кошкин, К. Хумархан // Доклады Иркутского противочумного института. – 1974. – Вып. 10. – С. 202–204.

58. Куклев, В.Е. Конструирование тест-систем для выявления ДНК возбудителей чумы, туляремии и сибирской язвы методом мультилокусной ПЦР [Текст]: автореф. дис. ... канд. мед. наук. 03.00.07 и 03.00.15: защищена 7.11.2007 / Куклев Василий Евгеньевич // Саратов, 2007. 20. с. 21.

59. Куклев, В.Е. Патент РФ 2473701 Российская Федерация, МПК C12Q 1/68 Набор и способ для ускоренной идентификации чумного микроба с одновременной дифференциацией вирулентных и авирулентных штаммов *Y. pestis*, определением их плазмидного профиля [Текст] / В.Е. Куклев, Н.А. Осина, Т.В. Бугоркова, В.В. Кутырев, заявитель и патентообладатель Федеральное казенное учреждение здравоохранения РосНИПЧИ "Микроб" Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека N 2011130134/10; заявл. 19.07.2011 Опубликовано: 27.01.2013, Бюл. №3

60. Куклева, Л.М. Сравнение полной нуклеотидной последовательности гена *rhaS* штаммов возбудителя чумы основного и неосновных подвигов [Текст] / Л.М. Куклева, Г.А. Ерошенко, В.Е. Куклев [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. – 2008. – Вып. 3 (97). – С. 38–42. doi: 10.21055/0370-1069-2008-3(97)-38-42

61. Куклева, Л.М. Молекулярно-генетические и фенотипические особенности штаммов возбудителя чумы, выделенных во Вьетнаме [Текст] / Л.М. Куклева, К.А. Никифоров, Ж.В. Альхова [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. – 2017. – № 4. – С. 45–49. doi: 10.21055/0370-1069-2017-4-45-49

62. Куклева, Л.М. Фенотипические и молекулярно-генетические особенности штаммов *Yersinia pestis* из Забайкальского степного очага чумы [Текст] / Л.М. Куклева, Н.Ю. Шавина, Н.А. Виноградова [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. – 2013. – Вып. 3. – С. 44–48. doi: 10.21055/0370-1069-2013-3-44-48

63. Куклева, Л.М. Анализ разнообразия и определение геновариантов штаммов возбудителя чумы из очагов Монголии [Текст] / Л.М. Куклева, Н.Ю. Шавина, Г.Н. Одинокоев [и др.] // Генетика. – 2015. – Т. 51. – № 3. – С. 298–305 doi:10.7868/S0016675815010063.

64. Кутырев, В.В. Заболевание человека чумой в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге в 2014 г. Сообщение 1. Эпидемиологические и

эпизоотологические особенности проявлений чумы в Горно-Алтайском высокогорном (Сайлюгемском) природном очаге чумы [Текст] / В.В. Кутырев, А.Ю. Попова, Е.Б. Ежлова [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. – 2014 а. – Вып. 4. – С. 9–16. doi.10.21055/0370-1069-2014-4-9-16.

65. Кутырев, В.В. Заболевание человека чумой в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге в 2014 г. Сообщение 2. Особенности лабораторной диагностики и молекулярно-генетическая характеристика выделенных штаммов [Текст] / В.В. Кутырев, А.Ю. Попова, Е.Б. Ежлова [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. – 2014б. – Вып. 4. – С. 43–51. doi: 10.21055/0370-1069-2014-4-43-51

66. Кучерук, В.В. Структура, типология и районирование природных очагов болезней человека [Текст] / Кучерук В.В. // Итоги развития учения о природной очаговости болезней человека и дальнейшие задачи. – М.: Медицина. – 1972. – С. 180–212.

67. Кучерук, В.В. Медицинская териология в СССР [Текст] / В.В. Кучерук, Ю.А. Дубровский // Териология в СССР. – М.: Наука, 1984. – С. 198–227.

68. Кучерук, В.В. Природная очаговость инфекций – основные термины и понятия [Текст] / В.В. Кучерук, Б. Росицкий // Мед. паразитол. и паразитарн. болезни. – 1984. – № 2. – С. 7–16.

69. Онищенко, Г.Г. Лабораторная диагностика опасных инфекционных болезней. Практическое руководство [Текст] / Под редакцией академика РАМН Г.Г. Онищенко, академика РАМН В.В. Кутырева. – Издание 2-е переработанное и дополненное. – М.: ЗАО «Шико», 2013. – 560 с.

70. Лазарев, Б.В. Эпизоотическая активность монгольской части Сайлюгемского природного очага чумы [Текст] / Б.В. Лазарев, И.К. Машковский, Ю.М. Асташин [и др.] // Природная очаговость чумы в Монгольской Народной Республике: Материалы советско-монгольского симпозиума по природной очаговости чумы в МНР. – Иркутск, 1988. – С. 49–52.

71. Лазарева, Л.А. Видовой состав блох млекопитающих и птиц в очагах чумы Горного Алтая и Западной Монголии [Текст] / Л.А. Лазарева, С.М. Кошкин // Международные и национальные аспекты эпиднадзора при чуме: Тезисы докладов к научной конференции. – Иркутск, 1975. – Ч. 2. – С. 69–70.

72. Логачев, А.И. Биологические свойства штаммов чумного микроба, выделенных в Горном Алтае [Текст]: автореф. дис. ... канд. мед. Наук / Логачев А.И. // Саратов, 1975. – 19 с.

73. Логачев, А.И. Биологические свойства триптофанзависимых штаммов чумного микроба, изолированных в Горном Алтае [Текст] / А.И. Логачев, С.В. Балахонов, С.А. Белькова [и др.] // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2004. – № 1, Т. 2. – С. 107–111.

74. Логачев, А.И. Особенности штаммов чумного микроба, выделенных в Горном Алтае в 1990-1992 годах на фоне обострения эпизоотического процесса [Текст] / А.И. Логачев, С.В. Балахонов, Н.И. Ивженко [и др.] // Проблемы природно-очаговых и зоонозных инфекций в Сибири и на ДВ: Тез. докл. науч.-практич. конф. – Чита, 1993. – С. 97–99.

75. Логачев, А.И. Совместная циркуляция штаммов чумного микроба различных подвидов на территории МНР [Текст] / А.И. Логачев, Ю.Д. Очилов, П. Жамъянсурен // Эпидемиология и профилактика особо опасных инфекций в МНР и СССР. – Улан-Батор, 1978. – С. 67–69.

76. Машковский, И.К. Естественная зараженность блох возбудителем чумы в Сайлюгемском природном очаге [Текст] / И.К. Машковский, Н.П. Елистратова // Современные аспекты профилактики зоонозных инфекций: Тезисы докладов к Всесоюзной научной конференции специалистов противочумных учреждений – 1984. – Ч. 1. – С. 89–91.

77. Машковский, И.К. Очерк популяционной экологии блох монгольской пищухи в Горно-Алтайском природном очаге чумы в связи с их эпизоотологическим значением [Текст]: дис. ... канд. биол. наук. – / И.К. Машковский // Иркутск, 1986. – 213 с.

78. Методические указания «Контроль диагностических питательных сред по биологическим показателям для возбудителей чумы, холеры, сибирской язвы, туляремии, бруцеллеза, легионеллеза» [Текст]: МУЗ.3.2.2124-06: утв. и введены в действие Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г.Г. Онищенко 17.08.2006 г. – 35 с.

79. Методические указания «Организация работ лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности» [Текст]: МУ 1.3.2569–09: утв. 22.12.2009 г.: ввод в действие с 05.04.2010 г. – 53 с.

80. Наумов, Н.П. Природный очаг чумы в Приаральских Каракумах [Текст] / Н.П. Наумов, В.С. Лобачев, П.П. Дмитриев [и др.] // М.: МГУ, 1972. – 406 с.

81. Некипелов, Н.В. Эпизоотология чумы в Монгольской Народной Республике [Текст] / Н.В. Некипелов // Известия Иркутского противочумного института. – Иркутск, 1959. – Т. 22. – С. 108–243.

82. Никифоров, К.А. Анализ пространственной структуры популяции *Yersinia pestis* алтайского биовара центральноазиатского подвида по данным полногеномного секвенирования [Текст] / К.А. Никифоров, О.А. Морозов, Г.А. Ерошенко [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. – 2022. – № 1. – С. 122–129. doi:10.21055/0370-1069-2022-1-122-129

83. Никифоров, К.А. Конструирование набора реагентов «ГенПест-подвид/алтай-РГФ» [Текст] / К.А. Никифоров, Л.М. Куклева, Д.А. Ситмбетов [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. – 2021. – № 4. – С. 90–95. doi: 10.21055/0370-1069-2021-4-90-95

84. Носов, Н.Ю. Филогенетический анализ штаммов *Yersinia pestis* средневекового биовара из природных очагов чумы Российской Федерации и сопредельных стран [Текст] / Н.Ю. Носов, Е.Г. Оглодин, Я.М. Краснов [и др.]

// Проблемы особо опасных инфекций. – 2016. – № 2. – С. 75–78. doi: 10.21055/0370-1069-2016-2-75-78

85. Оглодин, Е.Г.(а). Анализ нуклеотидной последовательности криптической плазмиды штаммов *Yersinia pestis* из Центрально-Кавказского высокогорного очага чумы [Текст] / Е.Г. Оглодин, А.В. Черкасов, Г.А. Ерошенко [и др.] // Генетика. – 2015. – Т.51. – №7. – С. 754–758.

86. Оглодин, Е.Г.(б). Структурно-функциональный анализ криптических плазмид штаммов *Yersinia pestis* из двух природных очагов чумы России [Текст] / 170 Е.Г. Оглодин, Г.А. Ерошенко, Л.М. Куклева [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. – 2015. – № 4. – С. 82–85. doi.10.21055/0370-1069-2015-4-82-85.

87. Одинокоев, Г.Н. Анализ полногеномной последовательности штаммов *Yersinia pestis* на основе ступенчатого 680–SNP алгоритма [Текст] / Г.Н. Одинокоев, Г.А. Ерошенко, Я.М. Краснов [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. – 2013. – Вып. 3. – С. 49–54. doi.10.21055/0370-1069-2013-3-49-54

88. Онищенко, Г.Г. Специфическая индикация патогенных биологических агентов. Практическое руководство [Текст] / Под редакцией академика РАМН Г.Г. Онищенко. – М.: ЗАО «МП Гигиена». – 2006. – 288 с.

89. Онищенко Г.Г. Природные очаги чумы Кавказа, Прикаспия, Средней Азии и Сибири [Текст] / Под редакцией Г.Г. Онищенко, В.В. Кутырева. – ОАО «Издательство «Медицина», 2004. – 192 с.

90. Онищенко, Г.Г. Лабораторная диагностика опасных инфекционных болезней. Практическое руководство [Текст] / Под редакцией академика РАМН Г.Г. Онищенко, академика РАМН В.В. Кутырева. – Издание 2-е переработанное и дополненное. – М.: ЗАО «Шико», 2013. – 560 с.

91. Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности: Методические рекомендации. МУ 1.3. 2569-09. – М., 2010. – 51 с.

92. Павлова, А.И. Молекулярное типирование штаммов *Yersinia pestis* основного и неосновных подвидов [Текст]: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.02.03 / Алла Ивановна Павлова. – Саратов, 2011. – 24 с.
93. Павловский, Е.Н. Природная очаговость болезней человека и краевая эпидемиология [Текст] / Е.Н. Павловский // Л., 1955, стр. 17.
94. Павловский, Е.Н. Вестн. АН СССР [Текст] / Е.Н. Павловский. – 1939. – № 10. – стр. 98
95. Павловский, Е.Н. Журн. общ. биол. – 1946. – Т. 7. – № 1. – стр. 3.
96. Платонов, М.Е. Молекулярное типирование *Yersinia pestis* [Текст] / М.Е. Платонов, В.В. Евсеева, С.В. Дентовская, А.П. Анисимов // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2013. – № 28(2). – С. 41–45. doi: 10.3103/S0891416813020067
97. Платонов, М. Е. Филогеография полевоочных штаммов из природных очагов Кавказа и Закавказья [Текст] / М.Е. Платонов, В.В. Евсеева, Т.Э. Светоч [и др.] // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2012. – №3. – С. 18–21.
98. Попков, А.Ф. Исследование структурно-функциональных аспектов эпизоотического процесса в сибирских природных очагах чумы [Текст] / А.Ф. Попков, С.В. Балахонов, Д.Б. Вержуцкий [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. – 2013. – Вып. 4. – С. 28–32. doi: 10.21055/0370-1069-2013-4-28-32
99. Попов, Н.В. Эпизоотическая активность природных очагов чумы Российской Федерации в 2014 г. и прогноз на 2015 г. [Текст] / Н.В. Попов, В.Е. Безсмертный, А.Н. Матросов [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. – 2015. – Вып. 1. – С. 10–17. doi: 10.21055/0370-1069-2015-1-10-17
100. Попов, Н.В. Эпидемиологическая и эпизоотическая обстановка по чуме в Российской Федерации и прогноз ее развития на 2020–2025 гг. [Текст] / Н.В. Попов, Г.А. Ерошенко, И.Г. Карнаухов [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. – 2020. – Вып. 1. – С. 43–50. doi: 10.21055/0370-1069-2020-1-43-50

101. Попов, Н.В. Прогноз эпизоотической активности природных очагов чумы Российской Федерации на 2022 г. [5.02.2022] [Текст] / Н.В. Попов, А.А. Кузнецов, А.Н. Матросов [и др.] // <http://www.microbe.ru/files/Plague2022.pdf> (дата обращения 7.02.2022).

102. Попов, Н.В. Эпидемиологическая ситуация по чуме в 2020 г. Прогноз эпизоотической активности природных очагов чумы Российской Федерации и других стран СНГ на 2021 г. [Текст] / Н.В. Попов, Г.А. Ерошенко, И.Г. Карнаухов [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. – 2021. Вып.1. – С. 52–62. doi.10.21055/0370- 1069-2021-1-52-62

103. Попов, Ю.А. Обнаружение плазмид пестициногенности чумного микроба методом электрофореза в агарозном геле [Текст] / Ю.А. Попов, О.А. Проценко, П.И. Анисимов [и др.] // Профилактика особо опасных инфекций. – 1980. – С. 20 – 25. 68

104. Попова, А.Ю. Обеспечение эпидемиологического благополучия в природных очагах чумы на территории стран СНГ и Монголии в современных условиях [Текст] / Под редакцией А.Ю. Поповой, В.В. Кутырева // Ижевск: изд-во ООО «Принт»; 2018. – 336 с.

105. Попова, А.Ю. Вспышка легочной чумы на о. Мадагаскар в 2017 г. [Текст] / А.Ю. Попова, В.В. Кутырев, С.А. Щербакова [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. – 2017. – Вып. 4. – С. 5–14. doi: 10.21055/0370-1069-2017-4-5-14

106. Попова, А.Ю. Координация мероприятий противочумных учреждений Роспотребнадзора по оздоровлению Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы в 2016 г. [Текст] / А.Ю. Попова, В.В.Кутырев, С.В. Балахонов [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. – 2016. – Вып. 4. – С. 5–10. doi.10.21055/0370- 1069-2016-4-5-10.

107. Ралль Ю.М. Лекции по эпизоотологии чумы [Текст] / Ю.М. Ралль //Ставрополь: Ставр. кн. изд-во, 1958. – 244 с.

108. Рокицкий, П.Ф. Биологическая статистика [Текст] / П.Ф. Рокицкий // Минск: Вышэйшая школа – 1973. – 327 с.

109. Ротшильд, Е.В. Пространственная структура природного очага чумы и методы ее изучения [Текст] / Е.В. Ротшильд // М.: Изд-во МГУ. – 1978. – 192 с.

110. СанПин 3.3686-21. Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней: утверждены 28.01.2021: введены в действие 01.09.2021. – Москва: [б, и], 2021– с. 580.

111. Слудский, А.А. Популяционный подход к определению границ и количества природных очагов чумы [Текст] / А.А. Слудский, А.В. Бойко, М.Н. Ляпин, М.А. Тарасов / Поволжский экологический журнал. –2019. – № 4. – С. 493–502. doi: 10.35885/1684-7318-2019-4-493-502

112. Слудский, А.А. Гиссарский природный очаг чумы [Текст] / А.А. Слудский, К.И. Дерлятко, Э.Н. Головкин, В.С. Агеев // Саратов: Изд-во Саратовского университета, 2003. – 248 с.

113. Солдатов, Г.М. К структуре природного очага чумы в Северо-Западной Монголии [Текст] / Г.М. Солдатов, А.Н. Сотникова, М. Саран [и др.] // Эпидемиология и профилактика особо опасных инфекций в МНР и СССР. – Улан-Батор, 1978. – С. 31–33.

114. Соловьева, В.Е. Возможность заноса и укоренения чумы на Алтае [Текст]: автореф. дис. ...канд. мед. наук. / В.Е. Соловьева // Иркутск, 1953. – 25 с.

115. Сотникова, А.Н. Монгольские пищухи – носители чумы в Северо-Западной Монголии [Текст] / А.Н. Сотникова, С.М. Кошкин, Г.М. Солдатов // Докл. Иркут. противочум. ин-та. – 1974 а. – Вып. 10. – С. 181-184.

116. Сотникова, А.Н. О распространении чумного микроба алтайского и улэгейского подвидов в Баян-Улэгейском аймаке МНР [Текст] / А.Н. Сотникова, С.А. Шереметьев, Б.С. Винокур [и др.] // Проблемы природной очаговости чумы: Тезисы докладов к 4 советско-монгольской конференции специалистов противочумных учреждений – Иркутск, 1980. – Ч. 1. – С. 33–34.

117. Сучков, И.Ю. Мультилокусный VNTR-анализ в изучении популяционной структуры *Yersinia pestis* в природных очагах [Текст] / И.Ю. Сучков,

А.С. Водопьянов, С.О. Водопьянов [и др.] // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2004. – № 4. – С. 19–23.

118. Тарасова, В.Е. К вопросу обнаружения чумы среди грызунов в Горном Алтае [Текст] / В.Е. Тарасова // Доклады Иркутского противочумного института. – 1962. – Вып. 3. – С. 11–13.

119. Тимофеева, Л.А. О таксономии чумного микроба [Текст] / Тимофеева Л.А. // Проблемы особо опасных инфекций. – 1972. – Вып. 1. – С. 15–22.

120. Тимофеева, Л.А. Основные итоги изучения штаммов чумного микроба, выделенных в природных очагах Сибири и Монголии [Текст] / Л.А. Тимофеева // Международные и национальные аспекты эпиднадзора при чуме: Тезисы докладов к научной конференции – Иркутск, 1975. – Ч. 1. – С. 130–132.

121. Тимофеева, Л.А. Особенности культур чумного микроба, выделенных в Горном Алтае [Текст] / Л.А. Тимофеева, Г.П. Апарин, В.Я. Головачева [и др.] // Доклады Иркутского противочумного института. – 1966. – Вып. 7. – С. 112–115.

122. Тимофеева, Л.А. Потребности в аминокислотах штаммов чумного микроба, выделенных в очагах Сибири [Текст] / Л.А. Тимофеева, Г.П. Апарин, Н.З. Трофименко // Доклады Иркутского противочумного института. – 1971. – С. 43–44.

123. Филиппов, А.А. Изучение плазмидного состава штаммов возбудителя чумы из различных природных очагов [Текст] / А.А. Филиппов, Н.С. Солодовников, Л.М. Куклева, О.А. Проценко // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1992. – №3. – С. 10–13.

124. Холин, А.В. Результаты эпизоотологического обследования приграничной с Россией части Хархира-Тургенского природного очага чумы Монголии в 2019 г. [Текст] / А.В. Холин., М.Б. Шаракшанов, Д.Б. Вержуцкий, [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. – 2020. – № 2. – С. 129–134. doi: 10.21055/0370-1069-2020-2-129-134.

125. Цэрэнноров, Д. Современная ситуация по чуме в Монголии (2004-2013) [Текст] / Д. Цэрэнноров, Д. Отгонбаяр, Д. Ганболд [и др.] // Материалы юбилейной международной научно-практической конференции Уральской противочумной станции 1914-2014 годы. – Уральск, 2014. – С. 265–267.

126. Чумакова, И.В. Возбудитель чумы как элемент системы эпизоотологического процесса [Текст] / И.В. Чумакова, М.П. Козлов // Ставрополь: ФГУП «Ставропольское книжное издательство», 2008. – 248 с.

127. Шаракшанов, М.Б. Результаты эпизоотологического обследования трансграничного Хархира-Тургенского природного очага чумы в 2019 г. [Текст] / М.Б. Шаракшанов, А.В. Холин, С.В. Балахонов, [и др.] // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. – 2019. – № 37 (37). – С. 56–57.

128. Щекунова, З.И. К характеристике культур чумного микроба, выделенных от пищух и их эктопаразитов [Текст] / З.И. Щекунова, Л.В. Васюхина // Доклады Иркутского противочумного института. – 1961. – Вып. 2. – С. 26–28.

129. Щекунова, З.И. Эпизоотия чумы на пищухах в Западной Монголии [Текст] / З.И. Щекунова, Е.П. Демин, Г.И. Демина // Известия Иркутского противочумного института. – 1963. – Т. 25. – С. 17–24.

130. Ярыгина, М.Б. Сравнительная паразитологическая характеристика монгольской и даурской пищух в Горно-Алтайском природном очаге чумы [Текст] / М.Б. Ярыгина, В.М. Корзун, Л.А. Фомина // Современные проблемы общей паразитологии: Материалы Международной научной конференции – 2012. – С. 408–412.

131. Ярыгина, М.Б. Изменение структуры многовидовых сообществ блох монгольской пищухи в Горно-Алтайском природном очаге чумы [Текст] / М.Б. Ярыгина, В.М. Корзун, Л.А. Фомина, А.В. Денисов // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. – 2014. – № 25. – С. 11–15.

132. Achtman, M. Insights from genomic comparisons of genetically monomorphic bacterial pathogens [Text] / M. Achtman // Philos Trans R. Soc. B. – 2012. – № 367. – P. 860–867.

133. Achtman, M. Microevolution and history of the plague bacillus, *Yersinia pestis* [Text] / M. Achtman, G. Morelli, P. Zhu [et al.] // Proc Natl Acad Sci USA. – 2004. – №101. – P. 17837–17842. doi: 10.1073/pnas.0408026101.
134. Adair, D.M. Diversity in a Variable-Number Tandem Repeat from *Yersinia pestis* [Text] / D.M. Adair, P.L. Worsham, K.K. Hill [et al.] // Journal of Clinical Microbiology – 2000. – Vol. 38(4): – P.1516–1519. doi: 10.1128/JCM.38.4.1516-1519.2000.
135. Andrianaivoarimanana, V. Trends of Human Plague, Madagascar, 1998–2016 [Text] / V. Andrianaivoarimanana, P. Piola, D.M. Wagner [et al.] // Emerging infectious diseases. – 2019. – Vol. 25(2) – P. 220–228. doi:10.3201/eid2502.171974.
136. Anisimov, A.P. Intraspecific diversity of *Yersinia pestis* [Text] / A.P. Anisimov, L.E. Lindler, G.B. Pier // Clin. Microbiol Rev. – 2004. – Vol. 17(2). – P. 434–464. doi:10.1128/CMR.17.2.434-464.2004
137. Barros, M.P. Subtyping Brazilian *Yersinia pestis* strains by pulsed-field gel elec-trophoresis [Text] / M.P.Barros, V.M. Silveira-Filho, R.H. Lins, [et al.] // Genet. Mol. Res. – 2013. – N. 12. – P. 1294–1302. doi: 10.4238/2013.January.4.23
138. Bertelli, C. Rapid bacterial genome sequencing: methods and applications in clinical microbiology [Text] / C. Bertelli, G. Greub // Clin. Microbiol. Infect. – 2013. – Vol. 19(9). – P. 803–813. doi: 10.1111/1469-0691.12217
139. Bravo, L.T. Pyrosequencing for rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* resistance to rifampin, isoniazid, and fluoroquinolones [Text] / L.T. Bravo, M.J. Tuohy, C. Ang [et al.] // Journal of Clinical Microbiology. – 2009. – T. 47. – №. 12. – C. 3985–3990. doi: 10.1128/JCM.01229-09
140. Butler, T. Plague into the 21st century [Text] / T. Butler // Clin. Infect. Dis. – 2009. – № 49. – P. 736–742. doi: 10.1086/604718
141. Cabanel, N. Plague outbreak in Libya, 2009, unrelated to plague in Algeria [Text] / N. Cabanel, A. Leclercq, V. Chenal-Francisque [et al.] // Emerging Infectious Diseases. – 2013. – T. 19. – №. 2. – C. 230-236. doi: 10.3201/eid1902.121031

142. Campbell, S.B. Animal exposure and human plague, United States, 1970– 2017 [Text] / S.B. Campbell, C.A. Nelson, A.F. Hinckley, K.J. Kugeler // *Emerging Infectious Diseases*. – 2019. – Vol. 25(12). – P. 2270–3. doi: 10.3201/eid2512.191081

143. Cornelis, G.R. The virulence plasmid of *Yersinia*, an antihost genome [Text] / G.R. Cornelis, A. Boland, A.P. Boyd [et al.] // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* – 1998. – Vol. 62(4). – P. 1315–1352. doi: 10.1128/MMBR.62.4.1315-1352.1998

144. Cui, Y. Insight into microevolution of *Yersinia pestis* by clustered regularly interspaced palindromic repeats [Text] / Y. Cui, Y. Li, O. Gorge [et al.] // *PLoS One*. – 2008. – Vol. 3(7). – P. e2652. doi: 10.1371/journal.pone.0002652.

145. Cui, Y. Historical variation in mutational rate in an epidemic pathogen *Yersinia pestis* [Text] / Y. Cui, C., Yu, Y. Yan [et al.] // *PNAS*. – 2013. – Vol. 110. – N. 2. – P. 57–582. doi:10.1073/pnas.1205750110

146. De Gregorio, E. Enterobacterial repetitive intergenic consensus sequence repeats in *Yersiniae*: genomic organization and functional properties [Text] / E. De Gregorio, G. Silvestro, M. Petrillo [et al.] // *Journal of bacteriology*. – 2005. – Vol. 187(23). – P. 7945–7954. doi: 10.1128/JB.187.23.7945-7954.2005

147. Didelot, X. Transforming clinical microbiology with bacterial genome sequencing [Text] / X. Didelot, R. Bowden, D.J. Wilson [et al.] // *Nat. Rev. Genet.* – 2012. – Vol. 13(9). – P. 601–612. doi: 10.1038/nrg3226

148. Dong, X.Q. Complete DNA sequence and analysis of an emerging cryptic plasmid isolated from *Yersinia pestis* [Text] / X.Q. Dong, L.E. Lindler, M. C. Chu // *Plasmid*. – 2000. – Vol. 43. – P. 144–148

149. Eppinger, M. Novel plasmids and resistance phenotypes in *Yersinia pestis*: unique plasmid inventory of strain Java 9 mediates high levels of arsenic resistance [Text] / M. Eppinger, L. Radnedge, G. Andersen [et al.] // *PLoS One*. – 2012. – Vol. 7. – P. e32911. doi: 10.1371/journal.pone.0032911.

150. Erdenebat, A. Plasmid content and distribution of *Y. pestis* isolated in Mongolia [Text] / A. Erdenebat, J. Batbold, B. Dashnyam // *Scientific Journal. Center for Infectious Diseases Wit Natural Foci*. – 2001. – N 9. – P. 187–191.

151. Gabitzsch, E.S. Development of a real-time quantitative PCR assay to enumerate *Yersinia pestis* in fleas [Text] / E.S. Gabitzsch, R. Vera-Tudela, R.J. Eisen, S.W. Bearden, K.L. Gage, N.S. Zeidner // Am. J. Trop. Med. Hyg. – 2008. – Vol. 79(1). – P. 99–101.

152. Galimamnd, M. Resistance of *Yersinia pestis* to antimicrobial agents [Text] / M. Galimamnd, E. Carniel, P. Courvalin // J. Antimicrob. Chemother. – 2006. – Vol. 50(10). – P. 3233–3236. doi: 10.1128/AAC.00306-06

153. Girard, J.M. Differential plague-transmission dynamics determine *Yersinia pestis* population genetic structure on local, regional, and global scales [Text] / J.M. Girard, D.M. Wagner, A.J. Vogler [et al.] // Proc Natl Acad Sci USA. – 2004. – Vol. 101(22). – P. 8408–8413. doi: 10.1073/pnas.0401561101.

154. Guiyoule, A. Plague pandemics investigated by ribotyping of *Yersinia pestis* strains [Text] / A. Guiyoule, F. Grimont, I. Iteaman [et al.] // J Clin Microbiol. – 1994. – Vol. 32. – P. 634–641. doi: 10.1128/jcm.32.3.634-641.1994.

155. Guiyoule, A. Recent emergence of new variants of *Yersinia pestis* in Madagascar [Text] / A. Guiyoule, B. Rasoamanana, C. Buchrieser [et al.] // J Clin Microbiol. – 1997. – Vol. 35(11). – P. 2826–2833. doi: 10.1128/jcm.35.11.2826-2833.1997

156. Haanperä, M. Detection and quantification of macrolide resistance mutations at positions 2058 and 2059 of the 23S rRNA gene by pyrosequencing [Text] / Haanperä M., Huovinen P., Jalava J. // Antimicrobial agents and chemotherapy. – 2005. – T. 49. – №. 1. – P. 457–460. doi: 10.1128/AAC.49.1.457-460.2005

157. Higuchi, R. Kinetic PCR analysis: real-time monitoring of DNA amplification reactions [Text] / R. Higuchi, C. Fockler, G. Dollinger, R. Watson // Biotechnology. – 1993. – Vol.11 (9). – P. 1026–1030. doi: 10.1038/nbt0993-1026

158. Hinnebusch, B.J. High-frequency conjugative transfer of antibiotic resistance genes to *Yersinia pestis* in the flea midgut [Text] / B.J. Hinnebusch, M.L. Rosso, J.L. Schwan, E. Carniel // Mol Microbiol. – 2002. – Vol. 46(2) – P. 349–354. doi: 10.1046/j.1365-2958.2002.03159.x.

159. Huang, X.Z. Genotyping of a homogeneous group of *Yersinia pestis* strains isolated in the United States [Text] / X.Z. Huang, M.C. Chu, D.M. Engelthaler, L.E. Lindler // J Clin Microbiol. – 2002. – Vol. 40(4). – P. 1164–1173. doi: 10.1128/JCM.40.4.1164-1173.2002

160. Jolley, K.A. Using multilocus sequence typing to study bacterial variation: prospects in the genomic era [Text] / K.A. Jolley, M.C. Maiden // Future Microbiol. – 2014. – Vol. 9(5). – P. 623–630. doi: 10.2217/fmb.14.24

161. Kieser, T. Factors affecting the isolation of CCC DNA from *Streptomyces lividans* and *Echerichia coli* [Text] / T. Kieser // Plasmid. – 1984. – Vol. 12, N 1. – P. 19–36.

162. Kingry, LC Whole genome multilocus sequence typing as an epidemiologic tool for *Yersinia pestis* [Text] / Kingry L.C., Rowe L.A., Respicio-Kingry L.B. [et al.] // Diagn Microbiol Infect Dis. – 2016. – Vol. 84(4). – P. 275-280. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2015.12.003.

163. Khushiramani, R. *Yersinia* outer-membrane protein B (YopB): a tool for identification of *Yersinia pestis* isolates [Text] / R. Khushiramani, J. Shukla, U. Tuteja [et al.] // Med. Microbiol. – 2006. – № 55(Pt 4). – P. 467–469. doi: 10.1099/jmm.0.46382-0

164. Kingston, J.J. Genotyping of Indian *Yersinia pestis* strains by MLVA and repetitive DNA sequence based PCRs [Text] / J.J. Kingston, U. Tuteja, M. Kapil [et al.] // Antonie Van Leeuwenhoek. – 2009. – Vol. 96(3) – P. 303–312. doi: 10.1007/s10482-009-9347-2.

165. Klevytska, A.M. Identification and characterization of variable number tandem repeats in the *Yersinia pestis* genome [Text] / A.M. Klevytska, L.B. Price, J.M. Schupp [et al.] // J Clin Microbiol. – 2001. – Vol. 39 (9). – P. 3179–3185. doi: 10.1128/JCM.39.9.3179-3185.2001.

166. Kotetishvili, M. Multilocus sequence typing for studying genetic relationships among *Yersinia* species [Text] / M. Kotetishvili, A. Kreger, G. Wauters [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2005. – Vol.43(6). – P. 2674-2684. doi: 10.1128/JCM.43.6.2674-2684.2005.

167. Kutyrev, V.V. Phylogeny and classification of *Yersinia pestis* Through the Lens of Strains From the Plague Foci of Commonwealth of Independent States [Text] / V.V. Kutyrev, G. A. Eroshenko, V.L. Motin [et al.] // Front. Microbiol. – 2018. – 9:1106. doi: 10.3389/fmicb.2018.01106

168. Le Fle`che, P. A. Tandem repeats database for bacterial genomes: application to the genotyping of *Yersinia pestis* and *Bacillus anthracis* [Text] / P. Le Fle`che, Y. Hauck, L. Onteniente [et al.] // BMC. – 2001. – Vol. 1. – P. 2. doi: 10.1186/1471-2180-1-2.

169. Li, Y. Different region analysis for genotyping *Yersinia pestis* isolates from China [Text] / Y. Li, E. Dai, Y. Cui, M. Li [et al.] // PLoS One. – 2008. – Vol. 3(5). – P. e2166. doi:10.1371/journal.pone.0002166.

170. Li, Y. Genotyping and phylogenetic analysis of *Yersinia pestis* by MLVA: in-sights into the worldwide expansion of Central Asia plague foci [Text] / Y. Li, Y. Cui, Y. Hauck [et al.] // PLoS One. – 2009. – Vol. 4(6). – P. e6000. doi: 10.1371/journal.pone.0006000

171. Lindler, L.E. Typing methods for the plague pathogen, *Yersinia pestis* [Text] / Lindler, L.E. // J. AOAC Int. – 2009. – Vol. 92(4). – P. 1174–1183. doi:10.1093/jaoac/92.4.1174

172. Maiden, M. C. Multilocus sequence typing: a portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms [Text] / M.C. Maiden, J.A. Bygraves, E. Feil [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1998. – Vol. 95(6). – P. 3140–3145. doi: 10.1073/pnas.95.6.3140

173. Marmur, J. A procedure for the isolation of deoxyribonucleic acid from microorganisms [Text] / Marmur J. // J. Mol. Biol. – 1961. – Vol. 3. – P. 208–218. doi:10.1016/s0022-2836(61)80047-8

174. Morelli, G. *Yersinia pestis* genome sequencing identifies patterns of global phylogenetic diversity [Text] / G. Morelli, Y. Song, C.J. Mazzoni [et al.] // Nat. Genet. – 2010. – Vol. 42(12). – P. 1140–1143. doi: 10.1038/ng.705

175. Motin, V.L. Genetic variability of *Yersinia pestis* isolates as predicted by PCR– based IS100 genotyping and analysis of structural genes encoding glycerol–

3-phosphate dehydrogenase (glpD) [Text] / V.L. Motin, A.M. Georgescu, J.M. Elliott [et al.] // J. Bacteriol. – 2002. – Vol. 184 (4). – P. 1019–1027. doi: 10.1128/jb.184.4.1019-1027.2002

176. Oliveira, M.B.M. Genetic diversity of *Yersinia pestis* in Brazil [Text] / M.B.M. Oliveira, M.P.S. Barros, V.M. Silveira-Filho [et al.] // Genetics and Molecular Research. – 2012. – Vol. 11. – № 3. – P. 3414–3424. doi: 10.4238/2012.September.25.10

177. Perry, R.D. *Yersinia pestis* — etiologic agent of plague [Text] / R.D. Perry, J.D. Fetherston // Clin Microbiol. – 1997. – Vol. 10. – N 1. – P. 35–66. doi: 10.1128/CMR.10.1.35.

178. Piarroux, R. Plague epidemics and lice, Democratic Republic of the Congo [Text] / R. Piarroux, A.A. Abedi, J.C. Shako // Emerg Infect Dis. – 2013. – Vol. 19(3). – P. 505-506. doi: 10.3201/eid1903.121542

179. Popova, A.Yu. Factors contributing to high frequency of epidemic manifestations of plague on Madagascar [Text] / A.Yu. Popova, S.A. Shcherbakova, Ya.V. Sizova [et al.] // Infect Dis Transl Med. – 2018. – Vol. 4(1). – P. 7–13. doi: 10.11979/idtm.201801004

180. Pourcel, C. Tandem repeats analysis for the high resolution phylogenetic analysis of *Yersinia pestis* [Text] / C. Pourcel, F. André-Mazeaud, H. Neubauer [et al.] // BMC Microbiol. – 2004. – № 4. – P. 22. doi: 10.1186/1471-2180-4-22.

181. Pourcel, C. CRISPR elements in *Yersinia pestis* acquire new repeats by preferential uptake of bacteriophage DNA, and provide additional tools for evolutionary studies [Text] / C. Pourcel, G. Salvignol, G. Vergnaud // Microbiology. – 2005. – Vol. 151 (Pt 3). – P. 653–663. doi: 10.1099/mic.0.27437-0

182. Riehm, J.M. *Yersinia pestis* lineages in Mongolia [Text] / J.M. Riehm, G. Vergnaud, D. Kiefer [et al.] // PLoS One. – 2012. – Vol. 7(2). – P. e30624. doi:10.1371/journal.pone.0030624

183. Sabat, A.J. Overview of molecular typing methods for outbreak detection and epidemiological surveillance [Text] / A.J. Sabat, A. Budimir, D. Nashev

[et al.] // Euro Surveill. – 2013. – Vol. 18(4). – P. 20380. doi: 10.2807/ese.18.04.20380-ru

184. Sauer, S. Mass spectrometry tools for the classification and identification of bacteria [Text] / S. Sauer, M. Kliem // Nature Review. Microbiology. – 2010. – Vol. 8. – P. 74–82. doi: 10.1038/nrmicro2243

185. Savin, C. Genus-wide *Yersinia* core-genome multilocus sequence typing for species identification and strain characterization [Text] / C. Savin, A. Criscuolo, J. Guglielmini // Microb Genom. – 2019. – Vol.5(10). – P. e000301. doi: 10.1099/mgen.0.000301

186. Struelens, M.J. From molecular to genomic epidemiology: transforming surveillance and control of infectious diseases [Text] / M.J. Struelens, S. Brisse // Euro Surveill. – 2013. – Vol. 18(4) – P. 20386. doi: 10.2807/ese.18.04.20386-ru

187. Tacao, M. BOX-PCR is an adequate tool for typing *Aeromonas* spp. [Text] / M. Tacao, A. Alves, M.J. Saavedra [et al.] // Antonie Van Leeuwenhoek. – 2005. – Vol. 88. – P. 173–179. doi: 10.1007/s10482-005-3450-9

188. Torrea, G. Efficient tracing of global isolates of *Yersinia pestis* by restriction fragment length polymorphism analysis using three insertion sequences as probes [Text] / G. Torrea, V. Chenal-Francisque, A. Leclercq [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2006. – Vol. 44. – № 6. – P. 2084–2092.

189. Vogler, A.J. A decade of plague in Mahajanga, Madagascar: insights into the global maritime spread of pandemic plague [Text] / A.J. Vogler, F. Chan, R. Nottingham [et al.] // mBio. – 2013. – Vol. 4(1) P. e00623–12. doi: 10.1128/mBio.00623-12

190. Vogler, A.J. Phylogeography and molecular epidemiology of *Yersinia pestis* in Madagascar [Text] / A.J. Vogler, F. Chan, D.M. Wagner [et al.] // PLoS Negl. Trop. Dis. – 2011. – Vol. 5(9). – P. e1319. doi: 10.1371/journal.pntd.0001319.

191. Vogler, A.J. A review of methods for subtyping *Yersinia pestis*: From phenotypes to whole genome sequencing [Text] / A.J. Vogler, P. Keim, D.M.

Wagner // Infect Genet Evol. – 2016. – Vol. 37. – P. 21–36. doi: 10.1016/j.meegid.2015.10.024.

192. Wang, P. Ten years of surveillance of the Yulong plague focus in China and the molecular typing and source tracing of the isolates [Text] / P. Wang, L. Shi, F. Zhang [et al.] // PLoS Negl Trop Dis. – 2018. – Vol. 12(3). – P. e0006352. doi: 10.1371/journal.pntd.0006352

193. Wei, J.C. The geographical distribution of ribotypes of *Yersinia pestis* in China [Text] / J.C. Wei, D.Z. Yu, R. Hai // Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi. – 2003. – Vol. 24(11). – P. 1027–1030.

194. Westra, E.R. CRISPR–Cas systems: beyond adaptive immunity [Text] / E.R. Westra, A. Buckling, P.C. Fineran // Nature reviews Microbiology. – 2014. – T. 12. – №. 5. – P. 317–326. doi: 10.1038/nrmicro3241

195. Yang, X. Regional genotyping and the geographical distribution regarding *Yersinia pestis* isolates in China [Text] / X. Yang, B. Wei, J. Jin [et al.] // Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi. – 2014. – №35. – P. 943-948.

196. Zhang, X. MLVA distribution characteristics of *Yersinia pestis* in China and the correlation analysis [Text] / X. Zhang, R. Hai, J. Wei [et al.] // BMC Microbiology. – 2009. – Vol. 9. – P. 205. doi: 10.1186/1471-2180-9-205.

197. Zhao, S.S. Wildlife Plague Surveillance Near the China-Kazakhstan Border: 2012-2015 [Text] / S.S. Zhao, Y. Pulati, X.P. Yin [et al.] // Transboundary and Emerging Diseases. – 2017. – Vol. 64(6) – P. e48–e51. doi: 10.1111/tbed.12603

198. Zhao, X. Bacteriophages of *Yersinia pestis* [Text] / X. Zhao, M. Skurnik // Adv. Exp. Med. Biol. – 2016. – Vol. 918. – P. 361–375. doi: 10.1007/978-94-024-0890-4_13

199. Zhou, D. Genetic of metabolic variants between *Yersinia pestis* biovars and preposal of a new biovar microtus [Text] / D. Zhou, Z. Tong, Y. Song [et al.] // J. Bacteriol. – 2004. – Vol. 186(15). – P. 5147–5162. doi: 10.1128/JB.186.15.5147-5152.2004

ОТРЫВНОЙ ЛИСТ
учета эффективности использования
методических рекомендаций

Направить в ФКУЗ «Иркутский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 664047, г. Иркутск, ул. Трилессера, 78.

5. Методические рекомендации «Эпизоотологическое обследование Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы»
6. Утверждены заместителем директора института по общим вопросам и организационно-методической работе, доктором медицинских наук Е.И. Андасевым
7. Учреждение, внедрившее метод, предложенный данным документом

ФКУЗ «Алтайский ПЧС» Ростовской области

8. Результаты применения метода и его эффективность

Методические рекомендации утверждены при проведении эпизоотологического обследования Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы. Выходными являются в каранти-желто. Результаты обследования используются для составления отчетов и прогнозов эпизоотической ситуации в очаге

Замечания и пожелания (текст)

Подпись, должность, Ф.И.О. лица, заполняющего карту

Директор *Рожд.*
Рожественский Е.Н.



ОТРЫВНОЙ ЛИСТ
учета эффективности использования
методических рекомендаций

Направить в ФКУЗ «Иркутский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 664047, г. Иркутск, ул. Триллссера, 78.

1. Методические рекомендации «Обеззараживание биологического материала, полученного от млекопитающих, добытых на территории сибирских природных очагов чумы»
2. Утверждены директором института, д.м.н., проф. С.В. Балаховым
3. Учреждение, внедрившее метод, предложенный данным документом

ФКУЗ «Алтайская ИТС» Роспотребнадзора

4. Результаты применения метода и его эффективность

Метод апробирован в бактериологической лаборатории Алтайской противочумной станции. Метод проработан в установке, апробирован и хорошо воспроизводим

Замечания и пожелания (текст)

Метод может быть использован в научных исследованиях

05.09.2021г.

Подпись, должность
Ф. И. О. лица, заполнившего карту

С.В. Балахов, зав. бак. лабораторией



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

RU 2018621221

ГОСУДАРСТВЕННАЯ РЕГИСТРАЦИЯ БАЗЫ ДАННЫХ, ОХРАНЯЕМОЙ
АВТОРСКИМИ ПРАВАМИ

Номер регистрации (свидетельства):
2018621221

Дата регистрации: 08.08.2018

Номер и дата поступления заявки:
2018620317 15.03.2018

Дата публикации и номер бюллетеня:
08.08.2018 Бюл. № 8

Контактные реквизиты:
adm@chumin.irkutsk.ru

Автор(ы):

Корзун Владимир Михайлович (RU),
Чипанин Евгений Владимирович (RU),
Балахонов Сергей Владимирович (RU),
Денисов Алексей Васильевич (RU),
Ярыгина Марина Борисовна (RU),
Рождественский Евгений Николаевич (RU),
Михайлов Евгений Павлович (RU),
Мищенко Александр Иванович (RU),
Афанасьев Максим Владимирович (RU),
Токмакова Елена Геннадьевна (RU),
Вдовиченко Галина Владимировна (RU),
Абибулаев Дзявер Энверович (RU),
Фомина Любовь Анатольевна (RU),
Шефер Вадим Владимирович (RU),
Базарова Галина Хамроевна (RU),
Белькова Светлана Анатольевна (RU),
Шестопалов Михаил Юрьевич (RU),
Витязева Светлана Александровна (RU),
Хвойнова Ирина Геннадьевна (RU),
Захлебная Ольга Дмитриевна (RU)

Правообладатель(и):

Федеральное казенное учреждение
здравоохранения «Иркутский ордена Трудового
Красного Знамени научно-исследовательский
противочумный институт Сибири и Дальнего
Востока» Федеральной службы по надзору в
сфере защиты прав потребителей и
благополучия человека (RU),
Федеральное казенное учреждение
здравоохранения «Алтайская противочумная
станция» Федеральной службы по надзору в
сфере защиты прав потребителей и
благополучия человека (RU)

Название базы данных:

База данных «Штаммы возбудителя чумы, изолированные в Горно-Алтайском природном очаге»

Реферат:

База данных содержит информацию о штаммах чумного микроба, выделенных в Горно-Алтайском природном очаге чумы с 1961 г (всего 2553 штамма *Yersinia pestis*) и включает

Стр. 1

общие сведения о месте, дате и объекте выделения, эпизоотологические, микробиологические, молекулярно-генетические характеристики штаммов. БД предназначена для: систематизации сведений о характеристиках и свойствах штаммов, выделенных в природном очаге чумы; составления электронных карт мест их выделения, анализа динамики эпизоотической активности природного очага с использованием ГИС-инструментов; информационного обеспечения при проведении разностороннего эпидемиологического анализа; оптимизации системы мониторинга Горно-Алтайского природного очага чумы. Может быть использована специалистами Роспотребнадзора для ретроспективного эпидемиологического анализа и прогнозирования ситуации.

Вид и версия системы управления базой данных: Excel 2007

Объем базы данных: 1,1 МБ