

Опыт проведения полногеномного секвенирования штаммов чумного микроба в полевых условиях за пределами Российской Федерации (Монголия)

Г.Х.Базарова, Е.Е.Бжитских, А.А.Киреев, А.А.Оплеухин, А.Ю.Югушев, Е.Н.Рождественский

ФКУЗ «Алтайская противочумная станция» Роспотребнадзора, Горно-Алтайск, Российская Федерация

В 2023 г. было проведено испытание мобильной лаборатории для проведения комплексной оценки эпизоотической ситуации на территории Монголии (за пределами Российской Федерации) с проведением генетического анализа выделенных штаммов. Автономность мобильной лаборатории послужила основанием эффективности ее использования при эпизоотологическом обследовании природных очагов чумы, в т.ч. трансграничных, в условиях труднодоступного высокогорья (2300–2800 м над уровнем моря) и отдаленности от лаборатории (560–700 км). Работа мобильной лаборатории (2018, 2019, 2021–2023 гг.) в полевых условиях исключила проблему транспортировки образцов, тем самым повысила сохранность возбудителя от губительного воздействия прямой солнечной радиации и сложного ветрового режима (высушивание). Полученные результаты позволили уточнить и выявить новые эпизоотические участки. Отработанный алгоритм проведения выявления генетических маркеров возбудителя методом полимеразной цепной реакции и дальнейшего выполнения бактериологического анализа положительных проб с целью выделения культуры возбудителя позволил сократить объем и сроки бактериологических исследований. Для проведения комплексного анализа ситуации в 2023 г. выделенные штаммы (20) основного подвида были исследованы методом полногеномного секвенирования, тем самым была продемонстрирована циркуляция генетически отличающихся штаммов чумы основного подвида в пределах одного участка.

Ключевые слова: *Yersinia pestis*, мобильная лаборатория, Сайлюгемский природный очаг чумы, секвенирование, генетическое типирование

Для цитирования: Базарова Г.Х., Бжитских Е.Е., Киреев А.А., Оплеухин А.А., Югушев А.Ю., Рождественский Е.Н. Опыт проведения полногеномного секвенирования штаммов чумного микроба в полевых условиях за пределами Российской Федерации (Монголия). Бактериология. 2025; 10(3): 33–36. DOI: 10.20953/2500-1027-2025-3-33-36

Experience of conducting whole genome sequencing of plague microbes strains in field conditions outside the Russian Federation (Mongolia)

G.Kh.Bazarova, E.E.Bzhitskikh, A.A.Kireev, A.A.Opleukhin, A.Yu.Yugushev, E.N.Rozhdestvensky

Altai Anti-Plague Station of Rospotrebnadzor, Gorno-Altaysk, Russian Federation

In 2023, a mobile laboratory underwent testing to conduct a comprehensive assessment of the epizootic situation in Mongolia (outside the Russian Federation) and perform genetic analysis on isolated strains. The laboratory's autonomy facilitated its effective use in epizootological examinations of natural plague foci, including transboundary ones, within challenging highland environments (2,300–2,800 meters above sea level) and at significant distances from established laboratories (560–700 kilometers). Field deployments of the mobile laboratory between 2018 and 2023 eliminated the need for sample transportation, thereby improving pathogen preservation by mitigating the harmful effects of direct solar radiation and complex wind conditions (drying). The obtained results enabled the clarification and identification of new epizootic sites.

The developed algorithm for identifying the pathogen's genetic markers using the PCR method, followed by bacteriological analysis of positive samples to isolate the pathogen culture, significantly reduced both the volume and duration of bacteriological studies. For a comprehensive analysis of the situation in 2023, twenty isolated strains of the main plague subspecies underwent whole-genome sequencing, demonstrating the circulation of genetically distinct plague strains within a single geographical area.

Key words: *Yersinia pestis*, mobile laboratory, Saylyugem natural plague focus, sequencing, genetic typing

For citation: Bazarova G.Kh., Bzhitskikh E.E., Kireev A.A., Opleukhin A.A., Yugushev A.Yu., Rozhdestvensky E.N. Experience of conducting whole genome sequencing of plague microbes strains in field conditions outside the Russian Federation (Mongolia). Bacteriology. 2025; 10(3): 33–36. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2025-3-33-36

Для корреспонденции:

Оплеухин Алексей Александрович, кандидат биологических наук, биолог бактериологической лаборатории ФКУЗ «Алтайская противочумная станция» Роспотребнадзора

Адрес: 649002, Республика Алтай, Горно-Алтайск, ул. Заводская, 2

Статья поступила 16.01.2025, принята к печати 30.09.2025

For correspondence:

Aleksey A. Opleukhin, PhD in Biological Sciences, biologist of the bacteriological laboratory, Altai Anti-Plague Station of Rospotrebnadzor

Address: 2 Zavodskaya str., Gorno-Altaysk, Altai Republic, 649002, Russian Federation

The article was received 16.01.2025, accepted for publication 30.09.2025

В современном мире чума остается одной из социально значимых эпидемических угроз. Способность чумы к быстрому распространению (легочная форма) и сложности организации противоэпидемических мероприятий, с учетом существования активных природных очагов чумы, требуют постоянного мониторингирования эпизоотической и эпидемической ситуации. Трансграничный Сайлюгемский природный очаг чумы расположен на российской и монгольской территориях. В Кош-Агачском районе Республики Алтай находится Горно-Алтайский высокогорный природный очаг чумы, уникальностью которого является одновременная циркуляция двух филогенетических линий чумного микроба (с 2012 г.). Высокая эпизоотическая активность Сайлюгемского очага, значимое увеличение его эпидемического потенциала на российской (2014–2016 гг.) и монгольской территориях (2010–2023 гг.) [1] вызвали необходимость создания эффективной системы мониторинга путем реализации международных программ российско-монгольского сотрудничества [2, 3]. Интенсивность эпизоотии на монгольской части трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы выше, чем на российской, тем самым проведение постоянного мониторинга эпизоотологического состояния монгольской части трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы необходимо для снижения риска завоза заболевания и его распространения на сопредельных территориях двух стран.

Применение автономной мобильной лаборатории мониторинга и диагностики (МЛМД) на базе автомобиля «КамАЗ» в непосредственной близости от обследуемых участков с ежедневной доставкой материала обеспечило качественное и оперативное выполнение в полевых условиях лабораторных исследований, что позволило повысить эффективность мониторинга и внести коррективы в тактику эпизоотологического обследования с целью контроля, а также прогноза эпидемиологической и эпизоотологической ситуации по чуме [4].

Цель исследования: оценить эффективность применения автономной МЛМД на базе автомобиля «КамАЗ» для повышения качества и оперативности лабораторных исследований в полевых условиях, а также для улучшения мониторинга и прогнозирования эпидемиологической и эпизоотологической ситуации по чуме.

Материалы и методы

Биологический материал (серый сурок, мелкие млекопитающие, остатки стола хищных птиц, эктопаразиты) отобран и исследован в рамках распоряжения правительства Российской Федерации №973-р от 18.04.2023 и приказа Роспотребнадзора №324 от 30.05.2023 совместного российско-монгольского эпизоотологического обследования монгольской части трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы. Площадь обследования составила 2747,48 км². Использование МЛМД в полевых условиях обеспечило качественное и оперативное проведение лабораторных исследований специалистами ФКУЗ «Алтайская ПЧС» Роспотребнадзора всего полевого материала (100%) методами полимеразной цепной реакции (ПЦР) («АмплиСенс® *Yersinia pestis*-FL») с последующим бактериологическим анализом с

целью выделения возбудителя и молекулярно-филогенетической оценкой родства изолятов (MinION Mk 1B).

Результаты исследования и их обсуждение

В результате исследований выявлена циркуляция эпидемиологически значимых возбудителей чумного микроба основного подвида (*Yersinia pestis* ssp. *pestis*), что свидетельствует о высокой активности очага. Сохранение его эпидемического потенциала на монгольской территории способствует созданию риска международного распространения на территорию России. Работа мобильной лаборатории в 2018, 2019, 2021–2023 гг. в полевых условиях исключила проблему транспортировки образцов, тем самым повысив сохранность возбудителя от губительного воздействия прямой солнечной радиации и сложного ветрового режима (высушивание) (рис. 1). Полученные результаты позволили уточнить и выявить новые эпизоотические участки. В 2020 г. обследования не состоялись из-за закрытия государственной границы по причине пандемии COVID-19.

Прогноз ситуации по полученным результатам: эпизоотическая активность монгольской части продолжится, так как существует тенденция к расширению эпизоотической территории.

Сопоставляя степень родства изолированных штаммов выявлено, что на одном участке циркулируют генетически отличающиеся штаммы в монгольской части Сайлюгемского природного очага чумы основного подвида (рис. 2).

Для обеспечения задач эпидемиологического благополучия целесообразно применение новых технологий, позволяющих провести комплексную оценку полученных результатов и, таким образом, дающих возможность: предупредить социально-экономические последствия; обеспечить ограничительные меры и поддержание жизненного уровня населения. Испытание мобильной лаборатории с проведением молекулярно-филогенетического анализа выделенных

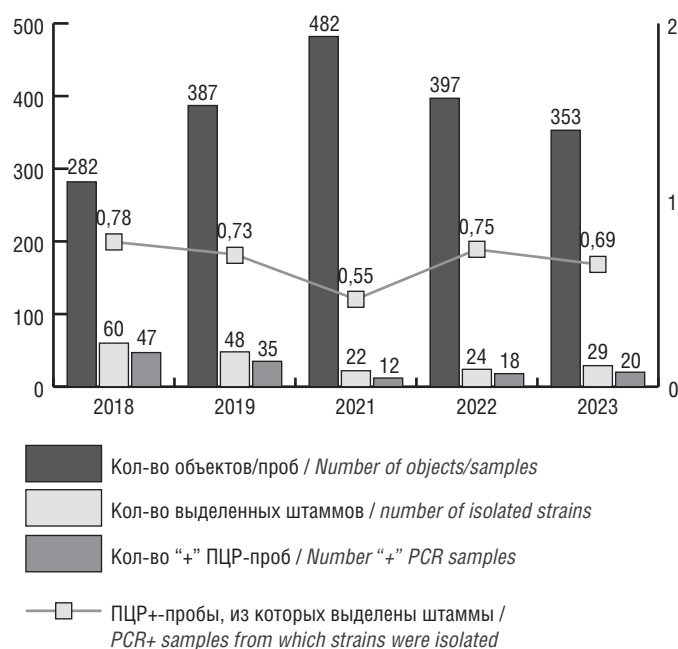


Рис. 1. Объем исследований полевого материала в очаге.
Fig. 1. Volume of studies of field material in the outbreak.

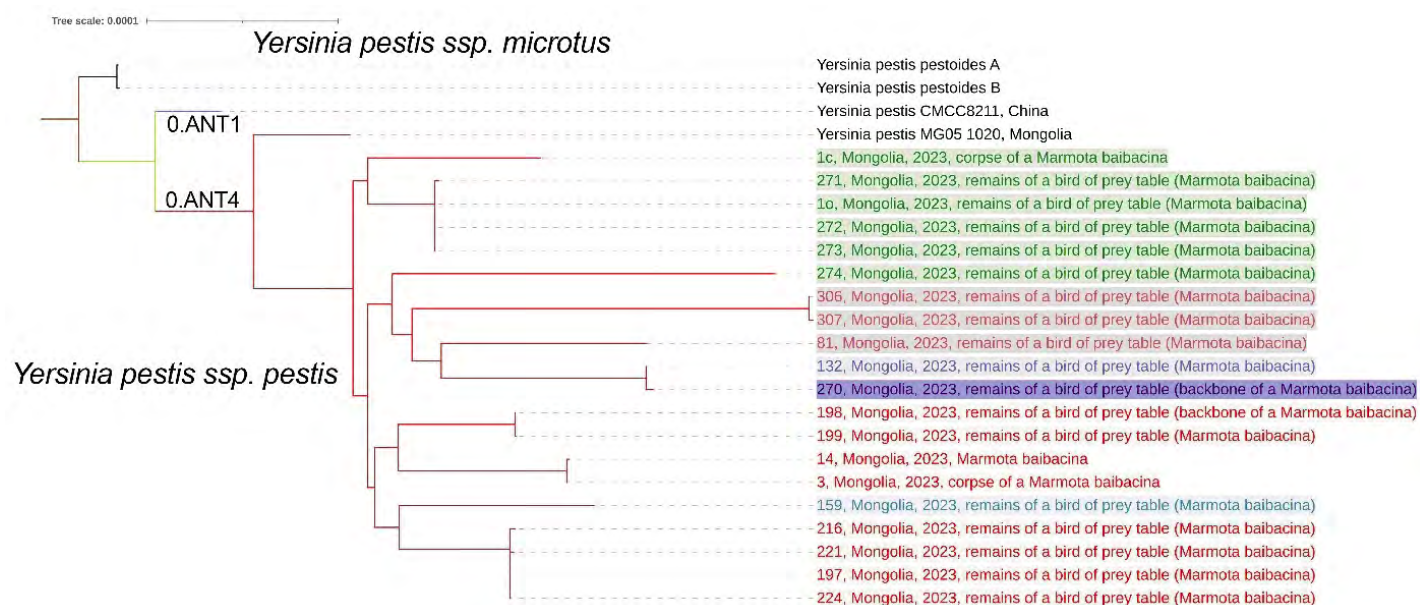


Рис. 2. Дендрогамма филогенетического родства выделенных штаммов [5] (участки эпизоотий представлены цветом) в пределах монгольской части Сайлюгемского природного очага чумы (2023 г.).

Fig. 2. Dendrogram of phylogenetic relationship of isolated strains [5] (epizootic areas are shown in color) within the Mongolian part of the Saylyugem natural plague focus (2023).

штаммов на территории Монголии (за пределами России) позволило провести комплексную оценку эпизоотической ситуации по чуме.

Заключение

Автономность МЛМД послужила основанием эффективности ее использования при эпизоотологическом обследовании природных очагов чумы, в т.ч. трансграничных, в условиях труднодоступного высокогорья (2300–2800 м над уровнем моря) и отдаленности от лаборатории (560–700 км). Отработанный алгоритм проведения выявления генетических маркеров возбудителя методом ПЦР и дальнейшего выполнения бактериологического анализа положительных проб с целью выделения культуры возбудителя позволил сократить количество и сроки бактериологических исследований, тем самым давая возможность обеспечить качественное и оперативное выполнение в полевых условиях лабораторных исследований в полном объеме. Для проведения комплексного анализа ситуации в 2023 г. выделенные штаммы (20) основного подвида были исследованы методом полногеномного секвенирования. Короткие сроки диагностики позволили повысить эффективность мониторинга и внести коррективы в тактику обследуемых участков с целью контроля и прогноза эпидемиологической и эпизоотологической ситуации по чуме.

Проведенное генетическое типирование позволило провести комплексную оценку природного очага чумы с геномной паспортзацией и определением филогенетического родства выделенных штаммов.

Для обеспечения российской биологической безопасности генетическая информация выгружена на национальную платформу VGARus и передана в Референс-Центр ФКУН «Российский противочумный институт «Микроб» для дальнейшего углубленного изучения.

Информация о финансировании

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Funding information

The work was carried out within the framework of the industry program of Rospotrebnadzor.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest.

Литература

1. Трансграничный Сайлюгемский природный очаг чумы. Под ред. Балахонова СВ, Корзуна ВМ. Новосибирск, 2022.
2. Обеспечение эпидемиологического благополучия в природных очагах чумы на территории стран СНГ и Монголии в современных условиях. Под ред. Поповой АЮ, Кутырева ВВ. Ижевск: изд-во ООО «Принт», 2018.
3. Балахонов СВ, Корзун ВМ, Денисов АВ, Ярыгина МБ, Рождественский ЕН, Базарова ГХ, и др. Особенности эпизоотического процесса, вызванного возбудителем чумы основного подвида, в трансграничном Сайлюгемском природном очаге чумы. Национальные приоритеты России. 2021;3(42):108–111.
4. Рождественский ЕН, Базарова ГХ, Красавина НЮ, Киреев АА. Особенности использования мобильной лаборатории мониторинга и диагностики при проведении лабораторной диагностики. Проблемы особо опасных инфекций на Северном Кавказе: материалы региональной научно-практической конференции с международным участием, посвященной 70-летию со дня основания ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора. Ставрополь, 17 мая 2022 г. Ставрополь: ООО «Экспо-Медиа», 2022; 127–128.
5. Page AJ, Cummins CA, Hunt M, Wong VK, Reuter S, Holden MT, et al. Roary: rapid large-scale prokaryote pan genome analysis. Bioinformatics. 2015 Nov 15;31(22):3691–3. DOI: 10.1093/bioinformatics/btv421

References

1. Transgranichnyi Sailyugemskii prirodnyi ochag chumy. Pod red. Balakhonova SV, Korzuna VM. Novosibirsk, 2022. (In Russian).
2. Obespechenie epidemiologicheskogo blagopoluchiya v prirodnykh ochagakh chumy na territorii stran SNG i Mongolii v sovremennykh usloviyakh. Pod red. Popovoi AYU, Kutyreva VV. Izhevsk: izd-vo OOO «Print», 2018. (In Russian).
3. Balakhonov SV, Korzun VM, Denisov AV, Yarygina MB, Rozhdestvensky EN, Bazarova GH, et al. The epizootic process caused by plague causative agent of main subspecies' specific traits in transboundary Sailyugem natural focus. Natsional'nye priority Rossii. 2021;3(42):108-111. (In Russian).
4. Rozhdestvenskii EN, Bazarova GK, Krasavina NYu, Kireev AA. Osobennosti ispol'zovaniya mobil'noi laboratorii monitoringa i diagnostiki pri provedenii laboratornoi diagnostiki. Problemy osobo opasnykh infektsii na Severnom Kavkaze: materialy regional'noi nauchno-prakticheskoi konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem, posvyashchennoi 70-letiyu so dnya osnovaniya FKUZ «Stavropol'skii protivochumnyi institut» Rospotrebnadzora. Stavropol', 17 maya 2022 g. Stavropol': OOO «Ekspo-Media», 2022;127-128. (In Russian).
5. Page AJ, Cummins CA, Hunt M, Wong VK, Reuter S, Holden MT, et al. Roary: rapid large-scale prokaryote pan genome analysis. Bioinformatics. 2015 Nov 15;31(22):3691-3. DOI: 10.1093/bioinformatics/btv421

Информация о соавторах:

Базарова Галина Хамроевна, кандидат медицинских наук, заведующая бактериологической лабораторией, врач-бактериолог высшей квалификационной категории ФКУЗ «Алтайская противочумная станция» Роспотребнадзора

Бжитских Екатерина Евгеньевна, врач-бактериолог бактериологической лаборатории ФКУЗ «Алтайская противочумная станция» Роспотребнадзора

Киреев Александр Александрович, медицинский лабораторный техник 1-й категории бактериологической лаборатории ФКУЗ «Алтайская противочумная станция» Роспотребнадзора

Югушев Арчин Юрьевич, врач-бактериолог бактериологической лаборатории ФКУЗ «Алтайская противочумная станция» Роспотребнадзора

Рождественский Евгений Николаевич, директор ФКУЗ «Алтайская противочумная станция» Роспотребнадзора

Information about co-authors:

Galina Kh. Bazarova, MD, PhD, head of the bacteriological laboratory, bacteriologist of the highest qualification category, Altai Anti-Plague Station of Rospotrebnadzor

Ekaterina E. Bzhitskikh, bacteriologist of the bacteriological laboratory, Altai Anti-Plague Station of Rospotrebnadzor

Aleksandr A. Kireev, medical laboratory technician of the 1st category, bacteriological laboratory of the Altai Anti-Plague Station of Rospotrebnadzor

Archin Yu. Yugushev, bacteriologist of the bacteriological laboratory, Altai Anti-Plague Station of Rospotrebnadzor

Evgeny N. Rozhdestvensky, Director of the Altai Anti-Plague Station of Rospotrebnadzor

НОВОСТИ НАУКИ

Суперустойчивые бактерии обнаружены у диких птиц в реабилитационном центре на побережье штата Сан-Паулу, Бразилия

Распространение *Enterobacterales*, продуцирующих β-лактамазы расширенного спектра (ESBL), когда-то в основном ограничивавшееся учреждениями здравоохранения, стало растущей проблемой, поскольку эти патогены угрожают разнообразным средам, включая места обитания диких животных. В работе описываются клоны *Enterobacterales*, продуцирующие ESBL, высокого риска у диких животных, проходящих реабилитацию в зоологическом парке на юго-востоке Бразилии. Среди 49 отобранных образцов диких млекопитающих и птиц, два штамма *Escherichia coli*, от полосатой неясыти и черного грифа, дали положительный результат на продукцию ESBL и продемонстрировали профили множественной лекарственной устойчивости. Геномная характеристика идентифицировала эти штаммы как принадлежащие к глобально признанным клонам последовательности типа (ST) ST10 и ST155, которые связаны с широко распространенной устойчивостью к противомикробным препаратам (AMR) и тяжелыми инфекциями в медицине и ветеринарии. Штаммы содержали гены резистентности к нескольким противомикробным препаратам и факторы вирулентности, обычно встречающиеся у внекишечных патогенных *E. coli*. Гены, кодирующие ESBL, были связаны с мобильными генетическими элементами: ген *bla*_{CTX-M-15} был встроен в область множественной лекарственной устойчивости, фланкированную элементами Tn3 и IS26, а ген *bla*_{CTX-M-2} — в сложный интегрон класса 1. Данное исследование выявляет потенциальную роль центров реабилитации диких животных как резервуаров критической устойчивости к противомикробным препаратам (УПП), подчеркивая важность мониторинга таких учреждений на наличие приоритетных патогенов. Исследование подтверждает необходимость микробиологического надзора в центрах реабилитации диких животных для предотвращения распространения УПП в естественные экосистемы и призывает к разработке стандартизированных руководств по реинтродукции животных, чтобы гарантировать, что колонизированные дикие животные не будут способствовать распространению резистентных патогенов в дикой природе.



Garcia BBR, Paiva GE, Silva MUB, Furlan JPR, Fuga B, Lemos PR, et al.
High-risk *Escherichia coli* global clones ST10 and ST155 in wild raptors admitted to a rehabilitation center.
Vet Res Commun. 2025 Jul 1;49(4):241. DOI: 10.1007/s11259-025-10811-y