

DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-98-107

УДК 616.98:579.842.23(597)

К.А. Никифоров¹, Л.М. Куклева¹, Ж.В. Альхова¹, Е.Г. Оглодин¹, М.А. Макашова¹, Е.А. Нарышкина¹,
Н.П. Гусева¹, Г.А. Ерошенко¹, Dang Hong Chien², Lyong Thi Mo³, Vo Viet Kyong², В.В. Кутырев¹

ФИЛОГЕНИЯ И ИСТОРИКО-ГЕОГРАФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ШТАММОВ *YERSINIA PESTIS* ИЗ ВЬЕТНАМА

¹ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация;

²Российско-Вьетнамский Тропический научно-исследовательский и технологический центр, Ханой, Вьетнам; ³Российско-Вьетнамский Тропический научно-исследовательский и технологический центр (Южное отделение), Хо Ши Мин, Вьетнам

Цель работы – выявление молекулярно-генетических особенностей, полногеномное секвенирование и филогенетический анализ штаммов *Yersinia pestis*, выделенных во Вьетнаме в период 1962–1989 гг. **Материалы и методы.** Проведено изучение свойств 50 штаммов *Y. pestis*, полногеномное секвенирование 18 и фрагментное секвенирование 32 штаммов из Вьетнама. Филогенетический анализ выполнен по данным полногеномного SNP-анализа на основе 1391 выявленного SNP. Полногеномный SNP-анализ и поиск маркерных SNPs выполняли с помощью программы Wombac 2.0. Построение филогенетического дерева проводили с использованием алгоритма Maximum Likelihood. **Результаты и обсуждение.** Определено наличие нескольких филогенетических ветвей и популяций *Y. pestis*, соответствующих географическому и историческому распространению штаммов. Основная часть штаммов из Вьетнама относится к ветви, обозначенной нами 1.ORI2v. Два штамма составляют отдельную ветвь вместе со штаммом из Индии линии 1.ORI2, еще один штамм 55-801 Saigon располагается обособленно среди штаммов линии 1.ORI1. На основании полученных данных и литературных источников можно предположить, что проникновение чумы во Вьетнам происходило несколько раз: в город Нячанг в 1898 г. морским путем, в северные провинции страны – в 1908 г. Вторая волна распространения штаммов *Y. pestis* по территории Вьетнама началась с 60-х годов XX в. с появлением штаммов из природного очага чумы в провинции Юньнань в Китае.

Ключевые слова: чума, популяционная структура, филогения, восточный биовар, Вьетнам.

Корреспондирующий автор: Никифоров Константин Алексеевич, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Для цитирования: Никифоров К.А., Куклева Л.М., Альхова Ж.В., Оглодин Е.Г., Макашова М.А., Нарышкина Е.А., Гусева Н.П., Ерошенко Г.А., Dang Hong Chien, Lyong Thi Mo, Vo Viet Kyong, Кутырев В.В. Филогения и историко-географический анализ штаммов *Yersinia pestis* из Вьетнама. Проблемы особо опасных инфекций. 2020; 2:98–107. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-98-107

Поступила 29.01.20. Принята к публ. 27.02.20.

К.А. Nikiforov¹, L.M. Kukleva¹, Zh.V. Al'khova¹, E.G. Oglodin¹, M.A. Makashova¹, E.A. Naryshkina¹,
N.P. Guseva¹, G.A. Eroshenko¹, Dang Hong Chien², Lyong Thi Mo³, Vo Viet Kyong², V.V. Kutyrev¹

Phylogeny and Historical-Geographical Analysis of *Yersinia pestis* Strains from Vietnam

¹Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation; ²Russian-Vietnamese Tropical Research and Technology Center, Hanoi, Vietnam; ³Russian-Vietnamese Tropical Research and Technology Center (Southern Branch), Ho Chi Minh, Vietnam

Abstract. Objective of the work was to identify molecular-genetic peculiarities, to conduct whole genome sequencing and phylogenetic analysis of *Yersinia pestis* strains isolated in Vietnam between 1962 and 1989. **Materials and methods.** We have studied the properties of 50 *Y. pestis* strains, carried out whole genome sequencing of 18 and fragment sequencing of 32 strains from Vietnam. Phylogenetic analysis was performed on the basis of whole genome SNP-analysis by 1391 identified SNPs. Whole genome SNP-analysis and search for marker SNPs were conducted applying Wombac 2.0 software package. Phylogenetic diagram construction was done using Maximum Likelihood algorithm. **Results and discussion.** Several phylogenetic branches and *Y. pestis* populations coinciding with geographical and historical dissemination of the strains have been distinguished. The major part of the strains from Vietnam falls under the branch designated by us as 1.ORI2v. Two strains form a separate branch together with the strain from India belonging to 1.ORI2 line, one more strain, 55-801 Saigon, is set among the strains of 1.ORI1 line. Based on the data obtained and evidence from the literature sources it can be assumed that introduction of plague into Vietnam occurred through several waves: Nha Trang city in 1898, by sea; north provinces of the country – 1908. The second wave of *Y. pestis* dissemination across the territory of Vietnam began in 1960s with the emergence of the strains from the natural plague focus in Yunnan province, China.

Key words: plague, population structure, phylogeny, oriental biovar, Vietnam.

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

Corresponding author: Konstantin A. Nikiforov, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Nikiforov K.A., Kukleva L.M., Al'khova Zh.V., Oglodin E.G., Makashova M.A., Naryshkina E.A., Guseva N.P., Eroshenko G.A., Dang Hong Chien, Lyong Thi Mo, Vo Viet Kyong, Kutyrev V.V. Phylogeny and Historical-Geographical Analysis of *Yersinia pestis* Strains from Vietnam. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2020; 2:98–107. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-98-107

Received 29.01.20. Accepted 27.02.20.

Бактерия *Yersinia pestis* – возбудитель особо опасной инфекционной зоонозной болезни – чумы.

Штаммы основного подвида возбудителя *Y. pestis* subspecies *pestis* делят на три биовара – античный,

средневековый и восточный. Эти штаммы высоко вирулентны и имеют высокую эпидемическую значимость. Последняя, третья, пандемия чумы началась в провинции Юньнань в Китае в 1855 г. и была вызвана восточным биоваром (генетическое обозначение 1.ORI) *Y. pestis*. В дальнейшем пандемия распространилась на территории нескольких континентов с возникновением трех ветвей эволюции восточного биовара: 1.ORI1, 1.ORI2 и 1.ORI3 [1, 2]. Штаммы 1.ORI1 укоренились в США. Штаммы 1.ORI2 получили распространение в Европе, Южной Америке, Африке и Юго-Восточной Азии. Третья линия – 1.ORI3, закрепилась на о. Мадагаскар [3]. В настоящее время штаммы восточного биовара циркулируют преимущественно на Мадагаскаре, в Северной Америке и Юго-Восточной Азии. В частности, вспышка легочной чумы на о. Мадагаскар в 2017 г., где зарегистрировано около 2417 случаев, 209 смертей (летальность 8,6 %), вызвана штаммами восточного биовара (<https://www.afro.who.int/health-topics/plague/plague-outbreak-situation-reports>).

Впервые во Вьетнам чума проникла, по-видимому, морским путем с синантропными крысами с территории Китая. Первоначально болезнь поразила прибрежный г. Нячанг в 1898 г., а затем начала захватывать прибрежные территории и распространилась вглубь страны [4, 5]. К 1943 г. чума достигла плато Тай Нгуен в центре Вьетнама [6], а затем поразила крупные города, в частности Хошимин, Далат, Камрань и Фантхьет. Вспышки чумы во Вьетнаме регистрировали с некоторыми перерывами с 1898 по 2002 год [4]. Сформировавшиеся очаги были антропогенными, действовали в населенных пунктах. Территории, используемые для сельского хозяйства рядом с населенными пунктами, стали местом, где был возможен перенос возбудителя блохами из популяции синантропных крыс диким млекопитающим [7]. Основная часть случаев заражения чумой произошла в южном Вьетнаме. В северных провинциях заболеваемость чумой отмечали лишь с 1908 по 1922 год, с изначальным обнаружением чумы в г. Ханой в 1908 г. [8]. К особенностям чумы во Вьетнаме следует отнести то, что болезнь проявлялась в виде кратковременных вспышек и спорадических случаев, подавляющее большинство которых относилось к бубонной форме чумы. Последние случаи зарегистрированы во Вьетнаме в 1997–2002 гг. За это время произошло 472 случая заражения человека чумой. После 2003 г. заражений чумой не зарегистрировано.

Сведения о штаммах *Y. pestis*, выделенных во Вьетнаме, ограничены. Известно, что они относятся к восточному биовару, филогенетической ветви 1.ORI. Отличительным признаком восточного биовара является наличие делеции размером 93 п.н. в гене *glpD*, вследствие чего штаммы не способны ферментировать глицерин [9]. Однако в литературе встречается информация о выделении на территории Вьетнама штаммов, ферментирующих глицерин [4, 10].

Молекулярно-генетические особенности штаммов *Y. pestis* из Вьетнама остаются недостаточно исследованными. Показано, что они имеют типичный набор плазмид, но у некоторых изолятов обнаружены дополнительные криптические плазмиды [11, 12]. А. Guiyole *et al.* в 1994 г. установили существование двух разных риботипов у штаммов из Вьетнама [13]. И.Ю. Сучков и соавт. в 2003 г. методом мультилокусного анализа вариативности числа tandemных повторов выявили среди них 16 MLVA генотипов [14].

Ранее нами показано, что штаммы *Y. pestis*, полученные на территории Вьетнама, относятся к отдельному кластеру, входящему в филогенетическую ветвь 1.ORI2. Этот кластер мы обозначили как 1.ORI2v [15]. Штаммы, образующие этот кластер, выделены в разных частях страны: на восточном побережье (города Камрань и Нячанг), в расположенной рядом с ним провинции Донгнай, в г. Хошимин и провинции Лонган, а также на плато Тай Нгуен. Установлено, что эти штаммы родственны штаммам 1.ORI2 из китайской провинции Юньнань, что согласуется с литературными сведениями о заносе чумы во Вьетнам морским путем из этой провинции Китая [3]. Один штамм – *Y. pestis* KM761, выделенный в провинции Донгнай в 1971 г., вошел в другой кластер линии 1.ORI2 вместе со штаммом *Y. pestis* India 195 (Индия, 1898 г.), что предполагает занос штамма KM761 во Вьетнам морским путем из Индии. Кластер, образованный двумя штаммами *Y. pestis* KM761 и India 195, мы условно обозначили как 1.ORI2vi (в связи с обособленным расположением кластера на дендрограмме).

Для этих двух кластеров 1.ORI2v и 1.ORI2vi найдены маркерные SNPs (в позиции 260529 и 1192040 – для ветви 1.ORI2vi, в позиции 2133712 – для ветви 1.ORI2v) и рассчитаны праймеры для выявления этих SNPs методом ПЦР с последующим секвенированием полученных ПЦР-фрагментов [15]. С их помощью показано, что большинство штаммов, выделенных на территории Вьетнама за период 1964–1988 гг., принадлежали к филогенетическому кластеру 1.ORI2v.

Следует отметить, что полногеномные последовательности штаммов *Y. pestis* из Вьетнама до сих пор не представлены в международных базах данных, что значительно усложняет филогеографический анализ этой группы штаммов.

Цель этой работы – полногеномное секвенирование и филогенетический анализ штаммов *Y. pestis*, выделенных во Вьетнаме в период 1962–1989 гг.

Материалы и методы

Штаммы, изучение культурально-морфологических и биохимических свойств. Все использованные в работе штаммы *Y. pestis* получены из Государственной коллекции патогенных бактерий РосНИПЧИ «Микроб». Культивирование штаммов, изучение культурально-морфологических и биохимических

мических свойств штаммов, а также признаков, ассоциируемых с вирулентностью возбудителя чумы (пигментсорбция, зависимость от ионов Ca^{2+} при 37 °C), проводили в соответствии с методами лабораторной диагностики возбудителя чумы [16]. Плазмидный состав определяли по методу С. Kado, S. Liu [17].

Полногеномное секвенирование, поиск SNPs, филогенетический анализ, построение дендрограмм. Полногеномное секвенирование штаммов *Y. pestis* проводили в системе Ion PGM (Life technologies). Обработку данных секвенирования и сборку генома *de novo* выполняли с использованием программ Ion Torrent Suite software 4.2 и Newbler gsAssembler 2.6. Последовательности ридов собирали в геномы, покрытие которых по геному референсного штамма CO92 (номер доступа в GenBank NC_003143.1) составило не менее 95 % с 48-кратным прочтением.

Филогенетический анализ и построение дендрограммы осуществляли на основе обнаружения коровых SNPs в полногеномных последовательностях штаммов *Y. pestis*. Полногеномный SNP-анализ и поиск маркерных SNPs выполняли с помощью программы Wombac 2.0 на базе операционной системы BioLinux 8.0. Построение филогенетического дерева с использованием алгоритма Maximum Likelihood проводили в программе PhyML 3.1. Визуализацию результатов построения выполняли в программе FigTree 1.4.3.

Поиск ДНК-мишеней, конструирование праймеров, проведение ПЦР. Поиск ДНК-мишеней – SNPs, маркерных для отдельных кластеров штаммов, проводили, анализируя коровые SNPs с применением программы Mega 6.0 (<http://www.megasoftware.net/>). Оценку специфичности найденных SNPs осуществляли с использованием алгоритма BLAST по базе данных полногеномных последовательностей штаммов *Y. pestis* из базы данных NCBI GenBank. Расчет праймеров выполняли помощью программы Vector NTI 10 (<http://www.thermofisher.com>).

Проведение фрагментного секвенирования. Ампликоны, полученные в ПЦР на матрице ДНК исследуемых штаммов *Y. pestis*, секвенировали на генетическом анализаторе Applied Biosystems 3500xL (Thermo Fisher Scientific Inc., США). Анализ последовательностей выполняли при помощи программы MEGA 6.0 и алгоритма BLAST на основе нуклеотидных последовательностей из базы данных NCBI GenBank.

Результаты и обсуждение

Культурально-морфологические и биохимические свойства штаммов. В работе использовано 50 штаммов *Y. pestis*, выделенных на территории Вьетнама в период с 1962 по 1989 год. При исследовании их биохимических свойств установлено, что они не ферментируют рамнозу и глицерин, но способны к редукции нитратов и ферментации арабинозы и

по этим признакам относятся к восточному биовару основного подвида *Y. pestis*. Все изученные штаммы из Вьетнама характеризуются зависимостью роста от ионов кальция при 37 °C и способностью синтезировать пестицин (кроме штамма 78054). Также все штаммы формировали пигментированные колонии на среде с гемом. Эти данные свидетельствуют в пользу вирулентности исследованных штаммов. Исключение составили *Y. pestis* P-13229 и *Y. pestis* 78054, которые, вероятно, утратили признаки кальцийзависимости и пестициногенности в процессе хранения.

У всех взятых в исследование штаммов из Вьетнама методом ПЦР обнаружено наличие маркерной делеции в 93 п.н. в гене *glpD* глицерол-3-фосфатдегидрогеназы, что подтверждает их принадлежность к восточному биовару. Плазмидный состав большинства штаммов оказался типичным. Они содержали три резидентные плазмиды – pFra, pCad и pPst. Исключение составил штамм *Y. pestis* KM761, не имеющий плазмиды pFra, а также штаммы P-13229 и 78054, у которых не было плазмиды pCad. У штамма 78054 также не имелось плазмиды pPst. Отсутствие плазмид у этих штаммов соотносилось с отсутствием у них фенотипических признаков, кодируемых этими репликонами.

Популяционная структура штаммов *Y. pestis* из Вьетнама. Для анализа популяционной структуры и филогенетических связей штаммов *Y. pestis*, выделенных на территории Вьетнама, использованы полногеномные последовательности 18 штаммов, секвенированных в РосНИПЧИ «Микроб», и 22 генома штаммов *Y. pestis* разных филогенетических линий из международной базы данных NCBI GenBank.

В результате проведения полногеномного SNP-анализа найден 1391 коровый полиморфный нуклеотид, с использованием которого проведено построение дендрограммы Maximum Likelihood (рис. 1). На этой дендрограмме штаммы, выделенные на территории Вьетнама в разные годы, вошли в разные ветви эволюции восточного биовара. Большинство штаммов, выделенных во Вьетнаме, вошли в ветвь 1.ORI2v, представленную штаммами из различных провинций Вьетнама, что согласуется с ранее полученными нами данными [15]. Два штамма расположились на дендрограмме за пределами этой ветви. Один из них – *Y. pestis* KM761 (провинция Донгнай, 1971 г.), составил отдельный кластер 1.ORI2vi вместе со штаммом India 195 (Индия, 1898 г.). Еще один штамм – *Y. pestis* 55-801 Saigon, выделенный на территории г. Хошимин в 1955 г., составил на дендрограмме восточного биовара отдельную ветвь 1.ORI1. Мы обозначили эту ветвь как 1.ORI1v. Ранее для ветвей 1.ORI2v и 1.ORI2vi нами найдены маркерные SNPs (мишени 1.ORI2v и 1.ORI2vi/1, 1.ORI2vi/2) [15] (табл. 1). В данной работе они использованы для исследования еще 19 штаммов из разных районов Вьетнама методом фрагментного секвенирования

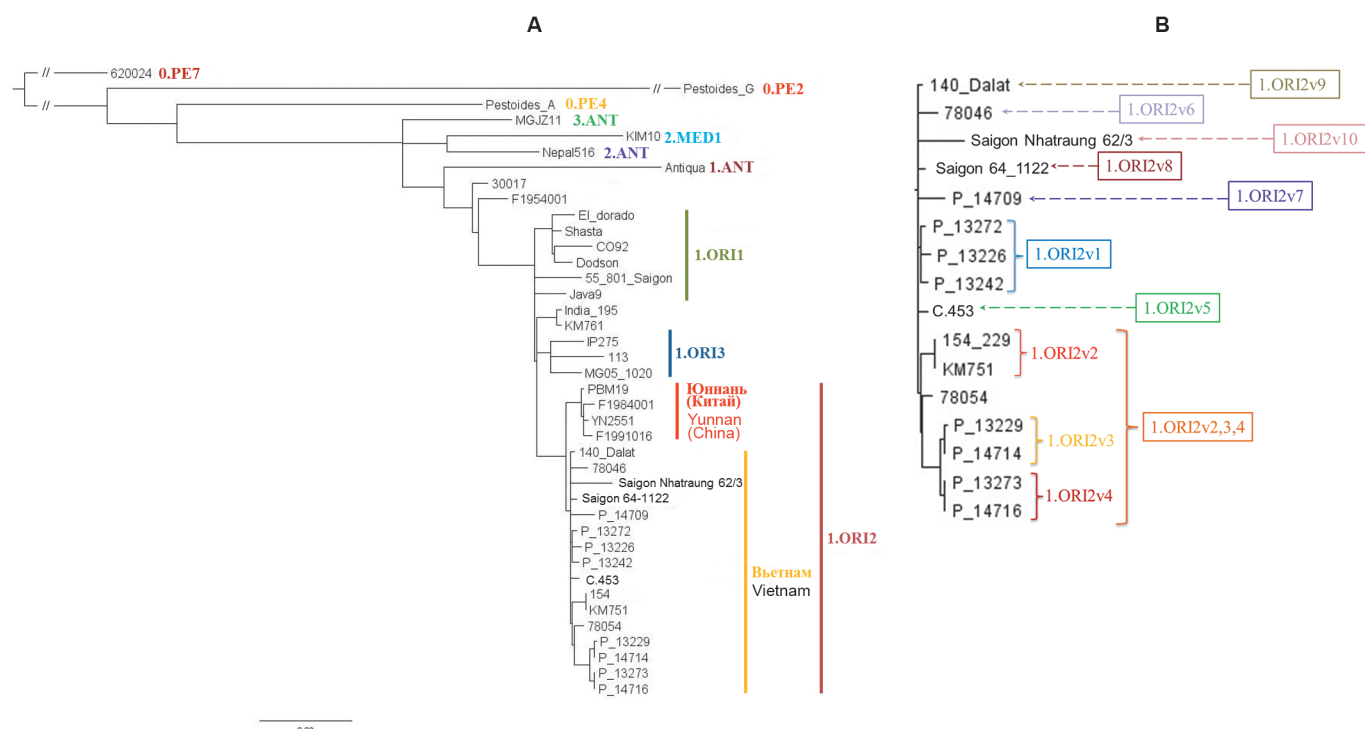


Рис. 1. Филогенетический анализ штаммов *Yersinia pestis*, выделенных на территории Вьетнама в 1962–1989 гг., по данным анализа 1391 корового SNPs в полногеномных последовательностях 40 штаммов разных филогенетических ветвей:

A – дендрограмма Maximum Likelihood, программа PhyML 3.1, модель НКУ85. **B** – фрагмент дендрограммы с кластером 1.ORI2v

Fig. 1. Phylogenetic analysis of *Yersinia pestis* strains isolated in the territory of Vietnam between 1962 and 1989, based on the data from investigation of 1392 core SNPs in whole genome sequences of 40 strains of different phylogenetic branches:

A – Maximum Likelihood Dendrogram, PhyML 3.1 software, model HKY85. **B** – fragment of the Dendrogram depicting 1.ORI2v cluster

ампликонов, полученных на матрице ДНК изучаемых штаммов (табл. 2).

В результате установлено, что штамм KM762, выделенный в 1981 г. в провинции Донгнай, обладает SNPs 1.ORI2vi/1 и 1.ORI2vi/2 (G→A в позиции 260529 гена *YPO0258* и G→A в позиции 1192040 гена *YPO1051* по геному референсного штамма CO92), характерными для ветви 1.ORI2vi. Эта ветвь образована штаммами *Y. pestis* KM761 и India 195 и не имеет SNP, специфичного для ветви 1.ORI2v (G→A в позиции 2133712 гена *YPO1896*). Оставшиеся 18 штаммов, изученные методом фрагментного секвенирования, содержат SNP, специфичный для ветви 1.ORI2v, и принадлежат к этой ветви.

Как показано на дендрограмме, вьетнамские штаммы ветви 1.ORI2v в свою очередь разделились с формированием двух субветвей, представленных группами штаммов (1.ORI2v1, 1.ORI2v2,3,4) и нескольких субветвей (1.ORI2v5-10), образованных единичными штаммами. Нами проведен поиск SNPs, специфичных для субветвей штаммов, принадлежащих к ветви 1.ORI2v, для выяснения пространственно-временных закономерностей распространения штаммов *Y. pestis* на территории Вьетнама. Установлено, что ветвь 1.ORI2v1, образованная штаммами P-13226, P-13272 и P-13242, обладает специфической заменой нуклеотида G→A в позиции 2896910 в гене *YPO2577* (табл. 1). На этот локус рассчитаны праймеры (табл. 2) и для 31 штам-

ма получены ампликоны, которые в дальнейшем секвенировали. В результате установлено наличие этой нуклеотидной замены у штаммов P-13227, P-13228 и P-13234. Все три штамма, как и штамм P-13226, выделены в г. Камрань в 1985–1986 гг. Таким образом, эта ветвь представлена преимущественно штаммами, выделенными на территории портовых городов Камрань и Нячанг в 1985–1987 гг. Оба города расположены на восточном побережье Вьетнама на расстоянии 45 км друг от друга. Исключение составил штамм P-13272, выделенный на территории плато Тай Нгуен в 1986 г., который был, по-видимому, занесен на эту территорию.

Следующая ветвь, представленная группой из семи штаммов, получила обозначение 1.ORI2v2,3,4 и состоит из трех кластеров. Для штаммов этой ветви установлено наличие характерной мутации – замены G→A в позиции 2592628 в гене *YPO2305*. Методом фрагментного секвенирования выявлено наличие этой мутации в геномах девяти штаммов *Y. pestis* 190, 190B, 215, 79052, C.373, C.562, KM715, KM753, P-14713 (табл. 3). Все эти штаммы выделены в 1981–1982 гг. в г. Хошимин и провинции Донгнай. Это говорит о том, что в то время на этой территории существовала популяция штаммов 1.ORI2v2,3,4, которая в дальнейшем иррадиировала на территорию г. Нячанг и плато Тай Нгуен, образовав кластеры 1.ORI2v2, 1.ORI2v3 и 1.ORI2v4. Кроме того, в субветвь 1.ORI2v2,3,4 входит штамм 78054,

Таблица 1 / Table 1

Перечень SNPs, специфичных для ветвей штаммов *Y. pestis*, выделенных на территории Вьетнама
List of SNPs specific for the branches of *Y. pestis* strains isolated in the territory of Vietnam

Позиция от начала генома* Position from the head of the genome*	Мутация Mutation	Ген Gene	Функция гена Function of the gene	Ветвь <i>Y. pestis</i> , у которой присутствует мутация <i>Y. pestis</i> branch that has mutation
2133712	G→A	YPO1896	Pseudogene	1.ORI2v
260529	G→A	YPO0258	Type-III secretion protein	1.ORI2vi
1192040	G→A	YPO1051	Zinc metalloproteinase RseP	1.ORI2vi
2896910	G→A	YPO2577	Aldehyde dehydrogenase	1.ORI2v1
1723761	C→T	YPO1516	Hypothetical protein	1.ORI2v2
3296601	T→G	YPO2949	Hypothetical protein	1.ORI2v2
1707224	G→A	YPO1503–YPO1504**	-	1.ORI2v3
3974099	C→T	YPO3559-sspB**	-	1.ORI2v4
3087850	C→T	mmC	5-methylaminomethyl-2-thiouridine methyltransferase	1.ORI2v5
3875199	G→A	YPO3469	Sugar ABC transporter ATP-binding protein	1.ORI2v5
1865245	T→G	YPO1639	Hypothetical protein	1.ORI2v6
2839029	C→T	menF	Menaquinone-specific isochorismate synthase	1.ORI2v6
2128697	G→T	YPO1890	GntR family transcriptional regulator	1.ORI2v3, 1.ORI2v4
3409393	C→A	YPO3050	Hypothetical protein	1.ORI2v3, 1.ORI2v4
2592628	G→A	YPO2305	Hypothetical protein	1.ORI2v2, 1.ORI2v3, 1.ORI2v4
623437	T→C	uxaC	Glucuronate isomerase	1.ORI2v7
2956447	C→T	glnS	Glutamyl-tRNA synthetase	1.ORI2v7
3968300	C→T	gltB	Glutamate synthase subunit alpha	1.ORI2v7
2418621	C→T	YPO2149	Hypothetical protein	1.ORI2v8
3074669	C→T	fadL	Long-chain fatty acid outer membrane transporter	1.ORI2v8
129253	G→C	glpR	DNA-binding transcriptional repressor GlpR	1.ORI2v9
441176	A→G	YPO0421	Multi-drug efflux protein	1.ORI2v9
83657	A→G	cpxR	DNA-binding transcriptional regulator CpxR	1.ORI2v10
883030	C→T	cheD	Methyl-accepting chemotaxis protein	1.ORI2v10
4189423	A→G	nudC	NADH pyrophosphatase	1.ORI2v10

*Указана позиция по геному референсного штамма *Y. pestis* CO92 (номер доступа в NCBI Genbank № NC_003143.1).

**Указано межгенное пространство.

*Position is given based on the genome of the reference *Y. pestis* strain CO92 (access No to NCBI GenBank NC_003143.1).

**Intergenic space is indicated.

выделенный на территории г. Фантхьет в 1978 г. Этот город располагается по направлению предполагаемого пути распространения штаммов ветви 1.ORI2v2,3,4 из провинции Лонган через г. Хошимин в Нячанг (рис. 2).

Первый кластер 1.ORI2v2 образован штаммами KM751 и 154, выделенными в провинциях Лонган и Донгнай в 1978 и 1981 гг. соответственно. Он имеет шесть специфических маркерных SNPs, два из которых (C→T в позиции 1723761 в гене *YPO1516* и T→G в позиции 3296601 в гене *YPO2949*) выбраны нами для расчета праймеров (табл. 1, 2). В ПЦР с использованием этих праймеров получены ампликоны на матрице ДНК 31 штамма из Вьетнама. В результате секвенирования образованных ампликонов установлено, что ни один из 31 штамма не имел в своем геноме этих специфических замен нуклеотидов. Таким образом, этот кластер представлен только двумя штаммами – KM751 и 154, выделенными на территории провинций, граничащих с крупным г. Хошимин (Лонган с юго-запада, Донг Най с востока). Возможно, штаммы этой группы распространи-

лись с территории провинции Лонган на территорию провинции Донгнай.

Для поиска принадлежности штаммов к субветви 1.ORI2v3,4 ветви 1.ORI2v2,3,4 найдены две специфические нуклеотидные замены, расположенные в позиции 2128697 гена *YPO1890* и в позиции 3409393 гена *YPO3050*. В результате проведенного анализа установлено наличие первой замены в геноме штаммов KM753 (г. Хошимин, 1979 г.) и P-14713 (г. Нячанг, 1988 г.), а второй замены – у штаммов KM753, P-14713 и 79052 (г. Хошимин, 1979 г.). Таким образом, субветвь 1.ORI2v3,4 берет свое начало из г. Хошимин, откуда она в дальнейшем irradiровала в г. Нячанг (рис. 2).

Кластер 1.ORI2v3 образован штаммами P-13229 и P-14714, выделенными в 1985 и 1989 гг. в г. Нячанг. Эта ветвь обладает одной специфической заменой нуклеотида G→A в позиции 1707224 в межгенном пространстве *YPO1503–YPO1504*. Однако среди 31 изученного штамма ни один не обладал таким характерным SNP. В итоге этот кластер представлен только двумя штаммами, выделенными в разных провин-

Таблица 2 / Table 2

Последовательности праймеров, использованных в работе
Sequences of primers utilized for the study

Название мишени Target name	Филогенетическая ветвь, у которой присутствует маркерный SNP Phylogenetic branch that has marker SNP	Последовательность праймеров Primer sequence
1.ORI2v	1.ORI2v	1.ORI2v-S – CCATCGGGTTGTGGCAAA 1.ORI2v-AS – AACACCATCGCCACACCA
1.ORI2vi/1	1.ORI2vi	1.ORI2vi/1-S – GGATTAATGGTGCACAGC 1.ORI2vi/1-AS – GCCATACCAATAAAGGGA
1.ORI2vi/2	1.ORI2vi	1.ORI2vi/2-S – TACTCTGGAGCCTGGCTGCGTT 1.ORI2vi/2-AS – ACACGGACACCACAGCGC
1.ORI2v1	1.ORI2v1	1.ORI2v1-S – GTTGCGGCAACAGTGTCA 1.ORI2v1-AS – TTGTTGTGCCGCCGTGAT
1.ORI2v2/1	1.ORI2v2	1.ORI2v2/1-S – TCTCTTCGGCAAAACGGG 1.ORI2v2/1-AS – ATATGCGGCTGATTGGTCAC
1.ORI2v2/2	1.ORI2v2	1.ORI2v2/2-S – CCAACAGCGTCAAGCGGT 1.ORI2v2/2-AS – TCTCGCACCTCTATAAGCCG
1.ORI2v3	1.ORI2v3	1.ORI2v3-S – TTTGAAGGAACGCGGTGC 1.ORI2v3-AS – TGCCTGCCTATCTGTTACGG
1.ORI2v4	1.ORI2v4	1.ORI2v4-S – CCGCCCTGAAGAGATAGAGC 1.ORI2v4-AS – GCGTTGAGCAGGATGATGACA
1.ORI2v5/1	1.ORI2v5	1.ORI2v5/1-S – CAGAATCTCGGCCACCAAT 1.ORI2v5/1-AS – CTGCAACACTGGCTCAATATCA
1.ORI2v5/2	1.ORI2v5	1.ORI2v5/2-S – CGCCCTCTTGTACCACCG 1.ORI2v5/2-AS – ATCGTGGTCTCGTGAAG
1.ORI2v6/1	1.ORI2v6	1.ORI2v6/1-S – TGTGTTGGCAGTTGGGCG 1.ORI2v6/1-AS – TCAGGCAGCAGAACGCGAGT
1.ORI2v6/2	1.ORI2v6	1.ORI2v6/2-S – TCTGTTAGTTGCCCGAATACCA 1.ORI2v6/2-AS – GCTCAGACTCACTTCTCTCAAT
1.ORI2v3,4/1	1.ORI2v3, 1.ORI2v4	1.ORI2v3/1-S – AGTCGCGATCACAGCCAA 1.ORI2v3/1-AS – CAGCATCAGTAAGACGGGTTCA
1.ORI2v3,4/2	1.ORI2v3, 1.ORI2v4	1.ORI2v3/2-S – CAGGAAGAGTGGTTAATGCCG 1.ORI2v3/2-AS – CGAGCGACATCACAAAATAGGA
1.ORI2v2,3,4	1.ORI2v2, 1.ORI2v3, 1.ORI2v4	1.ORI2v2,3,4-S – GGTTTCTCCGTAGCCAA 1.ORI2v2,3,4-AS – TCCGGGCTTTGTACGAGA
1.ORI2v7/1	1.ORI2v7	1.ORI2v7/1-S – TCTGCGCCACCACAAAGC 1.ORI2v7/1-AS – ACTTTACAACCGTGGGCG
1.ORI2v7/2	1.ORI2v7	1.ORI2v7/2-S – TATGCGGTTATGTTTGTGCG 1.ORI2v7/2-AS – AGATTTTGATGGCCGAT
1.ORI2v7/3	1.ORI2v7	1.ORI2v7/3-S – CAAACTGATTACCTGTGCTCG 1.ORI2v7/3-AS – ATACGGGTGGCGGCTTTT
1.ORI2v8/1	1.ORI2v8	1.ORI2v8/1-S – TGGAATAGCCTCACGACG 1.ORI2v8/1-AS – CGGGTGATGTGCAATGGA
1.ORI2v8/2	1.ORI2v8	1.ORI2v8/2-S – AGCAATACCGACATCAACAGAG 1.ORI2v8/2-AS – GTATTGCGTTAGGGACCACC
1.ORI2v9/1	1.ORI2v9	1.ORI2v9/1-S – CGCCTTTCTTCCGACCA 1.ORI2v9/1-AS – GCAAACCATTCGGCGTGA
1.ORI2v9/2	1.ORI2v9	1.ORI2v9/2-S – TGCAGCGGTGATGGTCCG 1.ORI2v9/2-AS – ATAATCGCCTGTTCCGCCTGGG
1.ORI2v10/1	1.ORI2v10	1.ORI2v10/1-S – GCACCATCAGCACTAGCA 1.ORI2v10/1-AS – TCTGGGGAAACGATTGACC
1.ORI2v10/2	1.ORI2v10	1.ORI2v10/2-S – CGCAATCATCCAACGGGT 1.ORI2v10/2-AS – TCTTTGACGTGCCTATCCAG
1.ORI2v10/3	1.ORI2v10	1.ORI2v10/3-S – ATTCCGTCCGGCTGGCAT 1.ORI2v10/3-AS – TGGTGAATGGCAAGGGCA

циях с крупными портовыми городами.

Штаммы P-13273, P-14716, выделенные в 1986 и 1988 гг. от людей на территории Тай Нгуен и г. Винь, образовали кластер 1.ORI2v4. Для этого кластера выявлен один маркерный полиморфный нуклеотид, представляющий собой замену С→Т в межгенном пространстве *YPO3559-sspB* в позиции 3974099. Из 31 изученного штамма ни один не обладал таким характерным SNP. Очевидно, эта линия эволюции циркулировала на территории плато Тай Нгуен и была

занесена на территорию провинции Нгеан.

Остальные субветви, также входящие в ветвь 1.ORI2v, представлены одиночными штаммами. Субветвь 1.ORI2v5 образовал штамм С.453, выделенный в 1981 г. в г. Хошимин. Для этой субветви найдены два локуса, содержащих специфические SNPs: замена С→Т в гене *mmC* в позиции 3087850 и замена G→А в гене *YPO3469* в позиции 3875199. Обнаружено наличие обоих специфических для субветви 1.ORI2v5 замен нуклеотидов у штамма *Y. pestis*

Таблица 3 / Table 3

Штаммы *Y. pestis* из Вьетнама, использованные в работе*Y. pestis* strains from Vietnam, used in the work

Штамм / Strains	Очаг, регион выделения / Focus, area of isolation	Год, источник выделения / Year, source
P-14713	Нячанг, провинция Кханьхоа / Nha Trang, Khanh Hoa province	1988 г., н/д / 1988, no data
190	10 р-н г. Хошимин / 10 th district, Ho Chi Minh	1981 г., от <i>R. rattus</i>
KM753	5 р-н г. Хошимин / 5 th district, Ho Chi Minh	1979 г., от человека / human
79052	11 р-н г. Хошимин / 11 th district, Ho Chi Minh	1979 г., от человека / human
C.373	Колхоз Кам Дуонг, провинция Донгнай / Collective farm Cam Duong, Dong Nai province	1982 г., от <i>S. murinus</i>
190B	Колхоз Кам Дуонг II / Collective farm Cam Duong II	1982 г., от человека / human
215	Куби II, провинция Донгнай / Kubi II, Dong Nai province	1981 г., от человека / human
P-13227	Камрань, провинция Кханьхоа / Cam Ranh, Khanh Hoa province	1985 г., от человека / human
P-13228	Камрань, провинция Кханьхоа / Cam Ranh, Khanh Hoa province	1987 г., от <i>R. exulans</i>
P-13234	Камрань, провинция Кханьхоа / Cam Ranh, Khanh Hoa province	1986 г., от человека / human
296E	Деревня Онг, провинция Донгнай / Ong village, Dong Nai province	1981 г., от человека / human
RN-69	Провинция Донгнай / Dong Nai province	1981 г., от <i>R. norvegicus</i>
P-14719	5 р-н г. Хошимин / 5 th district, Ho Chi Minh	1988 г., от человека / human
Saigon 64-1198	Хошимин / Ho Chi Minh	1964 г., н/д / no data
P-13223	Провинция Кханьхоа / Khanh Hoa province	1985 г., от <i>R. exulans</i>
P-13270	Хошимин / Ho Chi Minh	1987 г., от блохи / flea
P-14720	Хошимин / Ho Chi Minh	1989 г., от человека / human
P-13250	Хошимин / Ho Chi Minh	1987 г., от человека / human
129	6 р-н г. Хошимин / 6 th district, Ho Chi Minh	1981 г., от человека / human
1328 Saigon	Хошимин / Ho Chi Minh	1968 г., н/д / no data
XC 84	Провинция Донгнай / Dong Nai province	1981 г., от блохи <i>X. cheopis</i> / flea
C.562	Куби II, провинция Донгнай / Kubi II, Dong Nai province	1981 г., от <i>S. murinus</i>
124 Dalat	Далат, провинция Ламдонг / Dalat, Lamdong province	1967 г., н/д / no data
Nhatraung 64/307	Нячанг, провинция Кханьхоа / Nha Trang, Khanh Hoa province	1964 г., н/д / no data
Nhatraung 64/300	Нячанг, провинция Кханьхоа / Nha Trang, Khanh Hoa province	1964 г., н/д / no data
65/2 Nhatraung	Нячанг, провинция Кханьхоа / Nha Trang, Khanh Hoa province	1965 г., н/д / no data
Nhatraung 65/63	Нячанг, провинция Кханьхоа / Nha Trang, Khanh Hoa province	1965 г., н/д / no data
KM 762	Деревня Онг, провинция Донгнай / Ong village, Dong Nai province	1981 г., от <i>S. murinus</i>
KM 715	Куби II, провинция Донгнай / Kubi II, Dong Nai province	1981 г., от <i>R. exulans</i>
164A	Деревня Онг, провинция Донгнай / Ong village, Dong Nai province	1981 г., от человека / human
203	Р-н Тан Бинь, провинция Донгнай / Tan Binh area, Dong Nai province	1981 г., от человека / human
371	Деревня Онг, провинция Донгнай / Ong village, Dong Nai province	1981 г., от человека / human
140 Dalat	Далат, провинция Ламдонг / Dalat, Lamdong province	1967 г., н/д / no data
78046	Далат, провинция Ламдонг / Dalat, Lamdong province	1977 г., от человека / human
Saigon Nhatraung 62/3	Нячанг, провинция Кханьхоа / Nha Trang, Khanh Hoa province	1962 г., н/д / no data
Saigon 64-1122	Хошимин / Ho Chi Minh	1964 г., н/д / no data
P-14709	Хошимин / Ho Chi Minh	1988 г., от <i>R. exulans</i>
P-13272	Плато Тай Нгуен / Plateau Thai Nguyen	1986 г., от <i>M. musculus</i>
P-13226	Камрань, провинция Кханьхоа / Cam Ranh, Khanh Hoa province	1985 г., от человека / human
P-13242	Нячанг, провинция Кханьхоа / Nha Trang, Khanh Hoa province	1987 г., от человека / human
C.453	6 р-н г. Хошимин / 6 th district, Ho Chi Minh	1981 г., от <i>R. exulans</i>
154	Деревня Онг, провинция Донгнай / Ong village, Dong Nai province	1981 г., от человека / human
KM751	Провинция Лонган / Longan province	1978 г., от человека / human
78054	Провинция Биньтхуан / Binh Thuan province	1978 г., от человека / human
P-13229	Нячанг, провинция Кханьхоа / Nha Trang, Khanh Hoa province	1985 г., от <i>R. exulans</i>
P-14714	Нячанг, провинция Кханьхоа / Nha Trang, Khanh Hoa province	1988 г., от <i>R. rattus</i>
P-13273	Плато Тай Нгуен / Plateau Thai Nguyen	1986 г., от человека / human
P-14716	Винь, провинция Нгеан / Vinh, Nghe An province	1988 г., от человека / human
55-801 Saigon	Хошимин / Ho Chi Minh	1955 г., н/д / no data
KM761	Провинция Донгнай / Dong Nai province	1981 г., от <i>R. rattus</i>

Примечание: н/д – нет данных об источнике выделения штаммов.

Note: no data – no available data on the source of isolation.

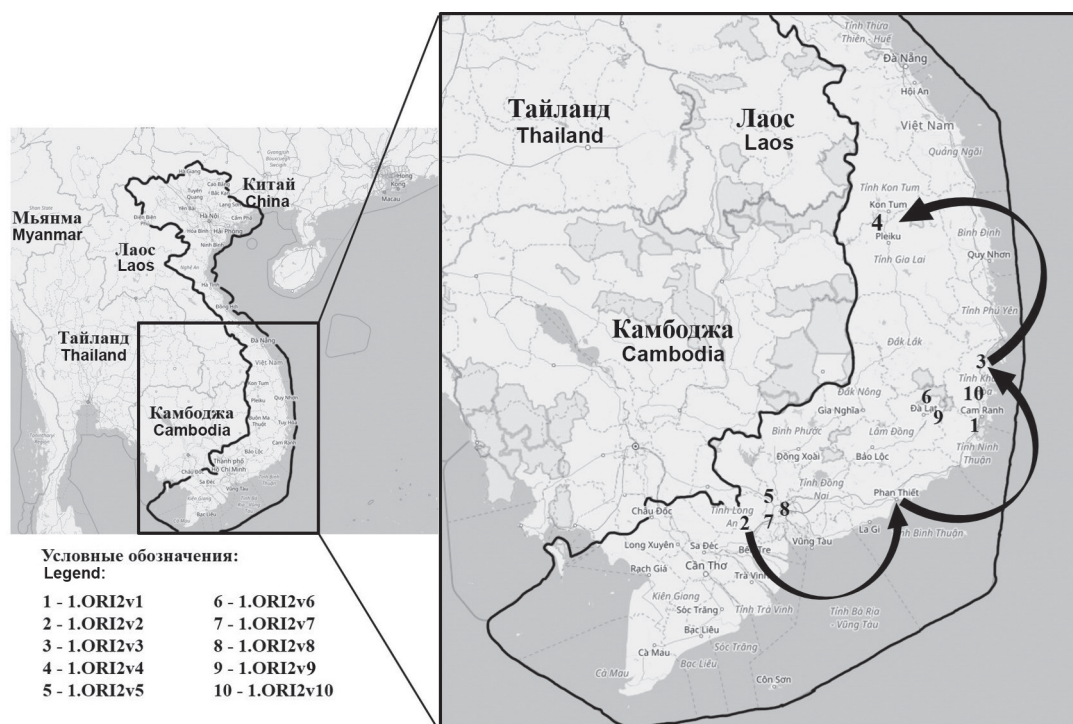


Рис. 2. Карта расположения и предполагаемого распространения штаммов *Y. pestis* различных генетических субветвей во Вьетнаме в 1962–1989 гг. Стрелками обозначено предполагаемое направление распространения штаммов субветви 1.ORI2v2,3,4

Fig. 2. The map of location and perceived dissemination of *Y. pestis* strains of various genetic sub-branches in Vietnam, 1962–1989. The arrows indicate the alleged direction of the spread of 1.ORI2v2,3,4 sub-branch strains

129 (г. Хошимин, 1981 г.) и штаммов, изолированных в провинции Донгнай – 164А (1981 г.), 203 (1981 г.), 296Е (1981 г.), 371 (1981 г.). Таким образом, этот кластер представлен пятью штаммами, выделенными на территории крупного г. Хошимин и в расположенной восточнее провинции Донгнай (рис. 2).

Штамм 78046 образовал субветвь 1.ORI2v6. Он выделен в 1977 г. в г. Далат. Для этой субветви найдены две специфические замены нуклеотидов: Т→Г в гене *YPO1639* в позиции 1865245 и замена С→Т в гене *menF* в позиции 2839029. Эти замены не обнаружены ни у одного из исследованных штаммов. Скорее всего, эта субветвь была распространена в провинции Ламдонг до 1981 г., а в дальнейшем ее сменили субветви 1.ORI2v234 и 1.ORI2v9.

Штамм Р-14709, выделенный от больного в 1988 г. в одном из районов г. Хошимин, составил отдельную субветвь 1.ORI2v7, для которой нами найдены 3 маркерные SNPs, расположенные в позициях 623437, 2956447 и 3968300 (гены *uxaC*, *glnS* и *gltB*) и являющиеся заменами Т→С, С→Т и С→Т соответственно. В результате проведенного анализа обнаружено наличие этих маркерных замен нуклеотидов у штаммов Р-13250, Р-13270, Р-14719 и Р-14720, выделенных в нескольких кварталах г. Хошимин в 1987–1989 гг. Таким образом, эти штаммы также вошли в субветвь 1.ORI2v7, которая состоит из хронологически более молодых штаммов, чем штаммы субветвей 1.ORI2v6 и 1.ORI2v234, циркулировавшие на территории Хошимина ранее в 1977 г. и 1985–1987 гг. со-

ответственно.

Штамм Saigon 64-1122, выделенный в г. Хошимине в 1964 г., также образовал отдельную субветвь 1.ORI2v8, для которой обнаружены две маркерные мутации в позициях 2418621 и 3074669 (гены *YPO2149* и *fadL*) – замены С→Т. В результате анализа ни у одного штамма не выявлено наличие этих маркерных мутаций в структуре генома, что, видимо, указывает на то, что эта субветвь не получила широкого распространения.

Отдельная субветвь 1.ORI2v9 включает штамм *Y. pestis* 140 Dalat, выделенный в провинции Ламдонг. Для нее обнаружены два маркерных полиморфных локуса в позициях 129253 и 441176 (гены *glpR* и *YPO0421*) замены Г→С и А→Г соответственно. Нами установлено, что эти специфические маркеры есть у еще двух штаммов – *Y. pestis* 124 Dalat и RN-69, выделенных на территории провинции Ламдонг в 1981–1982 гг. Таким образом, эта субветвь представлена тремя штаммами из одной провинции.

Штамм Saigon Nhatraung 62/3, выделенный в 1962 г. в г. Нячанг, образовал на дендрограмме субветвь 1.ORI2v10, для которой выявлены три маркерных полиморфных локуса в позициях 83657, 883030 и 4189423 (в генах *cpxR*, *cheD* и *nudC*) – замены А→Г, С→Т и С→Г соответственно. В дальнейшем ни одна из этих трех маркерных мутаций не обнаружена у других штаммов и, по-видимому, штаммы этой субветви не получили широкого распространения на этой и других территориях Вьетнама.

Таким образом, на основании проведенного анализа 50 штаммов *Y. pestis*, выделенных во Вьетнаме в период с 1955 по 1989 год, для 18 из которых проведено полногеномное секвенирование, а 32 исследованы методом фрагментного секвенирования, определена их популяционная структура. Установлено, что штаммы, выделенные на территории Вьетнама, формируют несколько филогенетических ветвей: основная часть штаммов образует ветвь 1.ORI2v, два штамма вместе со штаммом из Индии в составе линии 1.ORI2 образуют отдельную ветвь 1.ORI2vi, еще один штамм – 55-801 Saigon – располагается обособленно в составе 1.ORI1.

Ветвь 1.ORI2v состоит из десяти субветвей 1.ORI2v1-10 (рис. 2), отличающихся местом и временем выделения образующих их штаммов. Штаммы из некоторых ветвей не получили широкого распространения и встречались в определенных географических регионах Вьетнама. Так, на территории провинции Ламдонг с административным центром г. Далат установлена циркуляция двух субветвей – 1.ORI2v6 (1977 г.) и 1.ORI2v7 (1981–1982 гг.), представленных одним и пятью штаммами соответственно. Также обнаружена субветвь 1.ORI2v1, распространенная в г. Камрань в 1985–1987 гг. и состоящая из шести штаммов. В городе Нячанг выявлена циркуляция двух субветвей: более старой 1.ORI2v10 (один штамм, 1962 г.) и более молодой 1.ORI2v3 (два штамма, 1985–1989 гг.). В г. Хошимин выявлена циркуляция четырех субветвей в разные временные промежутки: 1.ORI2v5 (1981 г.) – 6 штаммов, 1.ORI2v7 (1988 г.) – 5, 1.ORI2v8 (1964 г.) – 1, 1.ORI2v2,3,4 (1981–1982 гг.) – 16.

Следует отметить филогенетическое родство субветвей 1.ORI2v2, 1.ORI2v3 и 1.ORI2v4. Ветвь 1.ORI2v2,3,4 берет свое начало в провинции Лонган (1978–1981 гг.) и столице провинции Биньтхуан г. Фантхьет (1978 г.), в дальнейшем получает распространение в г. Хошимин (1981–1982 гг.), после чего иррадирует в столицу провинции Кханьхоа г. Нячанг (1985–1989 гг.), а затем – на плато Тай Нгуен (1986–1988 гг.), после чего заносится на территорию провинции Нгеан (1988 г.).

На основании полученных данных можно предположить, что проникновение чумы во Вьетнам происходило несколько раз путем передачи инфекции синантропными крысами, занесенными кораблями с территории Китая, и сухопутным путем из близлежащего очага чумы на территории провинции Юньнань. Кроме того, два вьетнамских штамма кластеризуются вместе с индийским, что говорит о заносе в 1981 г. с территории Индии, скорее всего, морским путем.

Первоначально чума проникла в прибрежный город Нячанг в 1898 г. из Гонконга морским путем, а затем начала охватывать прибрежные территории вплоть до самой южной части страны. В северные провинции чума занесена в 1908 г., изначально поразив г. Ханой. Позже заболевание достигло не толь-

ко границы с Камбоджей, но и регистрировалось в центральной части Вьетнама. В результате к 1943 г. чума проникла на плато Тай Нгуен, а затем в крупные города – Хошимин, Далат, Камрань и Фантхьет.

Следующая волна распространения штаммов началась с 60-х годов XX в. с появлением во Вьетнаме штаммов из природного очага чумы на территории провинции Юньнань. Об этом свидетельствуют данные по филогенетическому родству выделенных в 1962–1989 гг. штаммов, кластеризующихся со штаммами из провинции Юньнань в Китае в составе линии 1.ORI2, образуя отдельную от китайских штаммов ветвь, состоящую из ряда субветвей.

Кластеризация штаммов, выделенных в разные временные промежутки, внутри ветви 1.ORI2v по субветвям 1.ORI2v1,2,3,4, по-видимому, связана с адаптацией к климатическим условиям южной части страны. В то же время вспышки в начале XX в. в северной части Вьетнама указывают на возможность распространения и адаптации возбудителя чумы в других климатических условиях.

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

Список литературы

1. Cavanaugh D.C., Dangerfield H.G., Hunter D.H., Joy R.J., Marshall Jr J.D., Quy D.V., Vivona S., Winter P.E. Some observations on the current plague outbreak in the Republic of Vietnam. *Amer. J. Public. Health.* 1968; 58(4):42–52. DOI: 10.2105/ajph.58.4.742.
2. Velimirovic B. Investigations on the epidemiology and control of plague in South Vietnam. Part I, II. *Zentralbl. Bakteriол. Orig. A.* 1974; 228(4):482–532. PMID: 4155202.
3. Morelli G., Song Y., Mazzoni C.J., Eppinger M., Roumagnac P., Wagner D.M., Feldkamp M., Kusecek B., Vogler A.J., Li Y., Cui Y., Thomson N.R., Jombart T., Leblois R., Lichtner P., Rahalison L., Petersen J.M., Balloux F., Keim P., Wirth T., Ravel J., Yang R., Carniel E., Achtman M. *Yersinia pestis* genome sequencing identifies patterns of global phylogenetic diversity. *Nat. Genet.* 2010; 42(12):1140–3. DOI: 10.1038/ng.705.
4. Касьян А.Ф., Дао Суан Винь, Бобров А.Г. Характеристика некоторых биологических свойств штаммов возбудителя чумы, циркулирующих во Вьетнаме. В кн.: Корзун Л.П., редактор. Экологические и эпизоотологические аспекты чумы во Вьетнаме. М.: ГЕОС; 2003. С. 96–8.
5. Слудский А.А., Ли Тхи Ви Хыонг, Касьян А.Ф. Данг Туан Дат, Матросов А.Н., Дао Суан Винь, Майоров Н.В., Сунцов В.В. Современная эпидемическая активность антропогенных очагов чумы на плато Тайнгуен. В кн.: Корзун Л.П., редактор. Экологические и эпизоотологические аспекты чумы во Вьетнаме. М.: ГЕОС; 2003. С. 10–2.
6. Pham H., Dang D., Minh N.N.T., Nguyen N.D., Nguyen T.V. Correlates of environmental factors and human plague: an ecological study in Vietnam. *Intern. J. Epidemiol.* 2009; 38(6):1634–41. DOI: 10.1093/ije/dyp244.
7. Сунцов В.В., Сунцова Н.И., Матросов А.Н., Кузнецов А.А., Данг Туан Дат, Лыонг Тхи Мо, Слудский А.А., Куклев Е.В., Тарасов М.А., Касьян И.А., Майоров Н.В., Астахова Т.С. Антропоургические очаги чумы во Вьетнаме: прошлое и настоящее. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2014; 4:29–35. DOI: 10.21055/0370-1069-2014-4-29-35.
8. Акиев А.К., Варшавский С.Н., Козакевич В.П. Природная очаговость чумы в Юго-Восточной Азии (Вьетнам). В кн.: Солдаткин И.С., редактор. Эпидемиология и профилактика чумы и холеры. Саратов; 1983. С. 43–52.
9. Motin V.L., Georgescu A.M., Elliott J.M., Hu P., Worsham P.L., Ott L.L., Slezak T.R., Sokhansanj B.A., Regala W.M., Brubaker R.R., Garcia E. Genetic variability of *Yersinia pestis* isolates as predicted by PCR-based IS100 genotyping and analysis of structural genes encoding glycerol-3-phosphate dehydrogenase (glpD). *J. Bacteriol.* 2002; 184(4):1019–27. DOI: 10.1128/jb.184.4.1019-1027.2002.
10. Куклев Е.В., Куклева Л.М., До Тхунг. Характеристика штаммов чумного микроба, выделенных на плато ТайНгуен (Вьетнам) в 1990 году. В сб. работ: Тропцентр-91. М.: ЮНИФИР;

1992. С. 253–5.

11. Филиппов А.А., Солодовников Н.С., Куклева Л.М., Проценко О.А. Изучение плазмидного состава штаммов возбудителя чумы из разных природных очагов. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 1992; 69(3):10–3.

12. Шведун Г.П., Савостина Е.П., Можаров О.Т., Плотников О.П. Плазмидный спектр штаммов чумного микроба из Вьетнама. В кн.: Актуальные проблемы профилактики особо опасных и природно-очаговых инфекционных болезней. Саратов; 1994. С. 173.

13. Guiry A., Grimont F., Itean I., Grimont P.A., Lefèvre M., Carniel E. Plague pandemics investigated by ribotyping of *Yersinia pestis* strains. *J. Clin. Microbiol.* 1994; 32(3):634–41. PMID: 8195371. PMCID: PMC263099.

14. Сучков И.Ю., Водопьянов А.С., Водопьянов С.О., Арутюнов О.И., Шишияну М.В., Мишанькин Б.Н. VNTR-генотипы в коллекции природных штаммов *Yersinia pestis* из республики Вьетнам. В кн.: Современные технологии в диагностике особо опасных инфекционных болезней. Саратов; 2003. С. 177–80.

15. Куклева Л.М., Никифоров К.А., Альхова Ж.В., Романов Н.И., Носов Н.Ю., Фадеева А.В., Малахаева А.Н., Шаропова Н.А., Девдариани З.Л., Попов Ю.А., Ерошенко Г.А. Молекулярно-генетические и фенотипические особенности штаммов возбудителя чумы, выделенных во Вьетнаме. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2017; 4:45–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2017-4-45-49.

16. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Лабораторная диагностика особо опасных инфекционных болезней. Практическое руководство. М.: ЗАО «Шико»; 2013. 560 с.

17. Kado C., Liu S. Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids. *J. Bacteriol.* 1981; 145(3):365–73. PMID: 7009583. PMCID: PMC217141.

References

1. Cavanaugh D.C., Dangerfield H.G., Hunter D.H., Joy R.J., Marshall Jr J.D., Quy D.V., Vivona S., Winter P.E. Some observations on the current plague outbreak in the Republic of Vietnam. *Amer. J. Public. Health*. 1968; 58(4):42–52. DOI: 10.2105/ajph.58.4.742.

2. Velimirovic B. Investigations on the epidemiology and control of plague in South Vietnam. Part I. *Zentralbl. Bakteriolog. Orig. A*. 1974; 228(4):482–532. PMID: 4155202.

3. Morelli G., Song Y., Mazzoni C.J., Eppinger M., Roumagnac P., Wagner D.M., Feldkamp M., Kusecek B., Vogler A.J., Li Y., Cui Y., Thomson N.R., Jombart T., Leblois R., Lichtner P., Rahalison L., Petersen J.M., Balloux F., Keim P., Wirth T., Ravel J., Yang R., Carniel E., Achtman M. *Yersinia pestis* genome sequencing identifies patterns of global phylogenetic diversity. *Nat. Genet.* 2010; 42(12):1140–3. DOI: 10.1038/ng.705.

4. Kas'yan A.F., Dao Suan Vinn, Bobrov A.G. [Characteristics of certain biological properties of plague agent strains circulating in Vietnam]. In: Korzun L.P., editor. [Ecological and Epizootiological Aspects of Plague in Vietnam]. M.: "GEOS"; 2003. P. 96–8.

5. Sludsky A.A., Li Thi Vi Khyong, Kas'yan A.F., Dang Tuan Dat, Matrosov A.N., Dao Suan Vinn, Mayorov N.V., Suntsov V.V. [Current epidemic activity of anthropogenic plague foci on the Plateau Thai Nguyen]. In: Korzun L.P., editor. [Ecological and Epizootiological Aspects of Plague in Vietnam]. M.: "GEOS"; 2003. P. 10–2.

6. Pham H., Dang D., Minh N.N.T., Nguyen N.D., Nguyen T.V. Correlates of environmental factors and human plague: an ecological study in Vietnam. *Intern. J. Epidemiol.* 2009; 38(6):1634–41. DOI: 10.1093/ije/dyp244.

7. Suntsov V.V., Suntsova N.I., Matrosov A.N., Kuznetsov A.A., Dang Tuan Dat, Lyong Thi Mo, Sludsky A.A., Kouklev E.V., Tarasov M.A., Kas'yan I.A., Mayorov N.V., Astakhova T.S. [Anthropogenic foci of plague in Vietnam: past and present]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2014; (4):29–35. DOI: 10.21055/0370-1069-2014-4-29-35.

8. Akiev A.K., Varshavsky S.N., Kozakevich V.P. [Natural focality of plague in South-Eastern Asia (Vietnam)]. In: Soldatkin

I.S., editor. [Epidemiology and Prophylaxis of Plague and Cholera]. Saratov; 1983. P. 43–52.

9. Motin V.L., Georgescu A.M., Elliott J.M., Hu P., Worsham P.L., Ott L.L., Slezak T.R., Sokhansanj B.A., Regala W.M., Brubaker R.R., Garcia E. Genetic variability of *Yersinia pestis* isolates as predicted by PCR-based IS100 genotyping and analysis of structural genes encoding glycerol-3-phosphate dehydrogenase (glpD). *J. Bacteriol.* 2002; 184(4):1019–27. DOI: 10.1128/jb.184.4.1019-1027.2002.

10. Kouklev E.V., Kuleva L.M., Do Thuong [Characteristics of plague microbe strains isolated on the Plateau Thai Nguyen (Vietnam) in 1990]. In the Collection of Works: [Tropical Center-91]. M.: "UNIFIR"; 1992. P. 253–55.

11. Filippov A.A., Solodovnikov N.S., Kuleva L.M., Protchenko O.A. [Studies of plasmid composition of plague agent strains from different natural foci]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 1992; 69(3):10–3.

12. Shvedun G.P., Savostina E.P., Mozharov O.T., Plotnikov O.P. [Plasmid specter of plague microbe strains from Vietnam]. In: [Relevant Issues of Prevention of Particularly Dangerous and Natural-Focal Infectious Diseases]. Saratov; 1994. P. 173.

13. Guiry A., Grimont F., Itean I., Grimont P.A., Lefèvre M., Carniel E. Plague pandemics investigated by ribotyping of *Yersinia pestis* strains. *J. Clin. Microbiol.* 1994; 32(3):634–41. PMID: 8195371. PMCID: PMC263099.

14. Suchkov I.Yu., Vodop'yanov A.S., Vodop'yanov S.O., Arutyunov Yu.I., Shishiyau M.V., Mishan'kin B.N. VNTR-genotypes in the collection of natural *Yersinia pestis* strains from the Republic of Vietnam. In: [Modern Technologies in Diagnostics of Particularly Dangerous Infectious Diseases]. Saratov 2003. P. 177–80.

15. Kuleva L.M., Nikiforov K.A., Al'khova Z.V., Romanov N.I., Nosov N.Y., Fadeeva A.V., Malakhaeva A.N., Sharapova N.A., Devdariani Z.L., Popov Y.A., Eroshenko G.A. Molecular-genetic and phenotypic peculiarities of plague agent strains isolated in Vietnam. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2017; 4:45–49. DOI: 10.21055/0370-1069-2017-4-45-49.

16. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., editors. Laboratory Diagnostics of Particularly Dangerous Infectious Diseases. Practice Guidelines. M.: CJSC "Shiko" 2013: 560 p.

17. Kado C., Liu S. Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids. *J. Bacteriol.* 1981; 145(3):365–73. PMID: 7009583. PMCID: PMC217141.

Authors:

Nikiforov K.A., Kuleva L.M., Al'khova Zh.V., Oglodin E.G., Makashova M.A., Naryshkina E.A., Guseva N.P., Eroshenko G.A., Kutyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Dang Hong Chien, Vo Viet Kyong. Russian-Vietnamese Tropical Research and Technology Center. Hanoi, Vietnam.

Lyong Thi Mo. Russian-Vietnamese Tropical Research and Technology Center (Southern Branch). Ho Chi Minh, Vietnam.

Об авторах:

Никифоров К.А., Куклева Л.М., Альхова Ж.В., Оглодин Е.Г., Макашова М.А., Нарышкина Е.А., Гусева Н.П., Ерошенко Г.А., Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Dang Hong Chien, Vo Viet Kyong. Российско-Вьетнамский Тропический научно-исследовательский и технологический центр. Вьетнам, Ханой, СРВ 63 Нгуен Ван Хуен, Кау Зяй.

Lyong Thi Mo. Российско-Вьетнамский Тропический научно-исследовательский и технологический центр (Южное отделение). Вьетнам, Хо Ши Мин, 3, ул. 3/2, район 10.