

DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-87-93

УДК 616.98:579.842.23(575.2)

А.К. Джапарова<sup>1</sup>, Г.А. Ерошенко<sup>2</sup>, К.А. Никифоров<sup>2</sup>, Л.М. Куклева<sup>2</sup>, Ж.В. Альхова<sup>2</sup>,  
С.К. Бердиев<sup>1</sup>, В.В. Кутырев<sup>2</sup>**ХАРАКТЕРИСТИКА И ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ШТАММОВ  
YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS ИЗ САРЫДЖАЗСКОГО ВЫСОКОГОРНОГО ОЧАГА  
В ТЯНЬ-ШАНЕ**<sup>1</sup>Республиканский центр карантинных и особо опасных инфекций, Бишкек, Кыргызская Республика;  
<sup>2</sup>ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация

**Цель** исследования – характеристика и молекулярно-генетическая идентификация штаммов *Yersinia pseudotuberculosis*, выделенных в Сарыджазском высокогорном очаге Тянь-Шаня. **Материалы и методы.** Дифференциацию культур *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis* проводили по чувствительности к диагностическим бактериофагам, подвижности, ферментации мочевины, продукции пестицина. Полногеномное секвенирование выполняли с помощью Ion S5 XL System (Thermo Fischer Scientific). Для обработки данных и сборки последовательностей сырых ридов *de novo* использовали Ion Torrent Suite software package, 5.12 и Newbler gsAssembler 2.6. Дендрограмму строили методом Maximum Likelihood с применением программы PhyML 3.1. **Результаты и обсуждение.** Из смешанных с *Y. pestis* музейных культур, полученных от сурков в Сарыджазском высокогорном очаге, выделены штаммы *Y. pseudotuberculosis*. По данным полногеномного SNP-анализа они относятся к филогенетической группе O:3 серовара, широко распространенной по всему миру. *Y. pseudotuberculosis* часто присутствует в смешанных с *Y. pestis* культурах, выделяемых от грызунов, что следует учитывать при проведении лабораторной диагностики чумы в природных очагах.

**Ключевые слова:** возбудители псевдотуберкулеза и чумы, Тянь-Шаньский высокогорный очаг, филогенетический анализ штаммов, патогенность.

Корреспондирующий автор: Джапарова Айгуль Кулубековна, e-mail: ai\_moon74@mail.ru.

Для цитирования: Джапарова А.К., Ерошенко Г.А., Никифоров К.А., Куклева Л.М., Альхова Ж.В., Бердиев С.К., Кутырев В.В. Характеристика и филогенетический анализ штаммов *Yersinia pseudotuberculosis* из Сарыджазского высокогорного очага в Тянь-Шане. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2021; 2:87–93. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-87-93

Поступила 09.06.2021. Принята к публ. 18.06.2021.

А.К. Dzharparova<sup>1</sup>, G.A. Eroshenko<sup>2</sup>, K.A. Nikiforov<sup>2</sup>, L.M. Kukleva<sup>2</sup>, Zh.V. Al'khova<sup>2</sup>, S.K. Berdiev<sup>1</sup>,  
V.V. Kutyrev<sup>2</sup>**Characteristics and Phylogenetic Analysis of *Yersinia pseudotuberculosis* Strains  
from the Sarydzhas High-Mountain Focus in the Tien-Shan**<sup>1</sup>Republican Center of Quarantine and Particularly Dangerous Infections, Bishkek, Kyrgyz Republic;<sup>2</sup>Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation

**Abstract.** The aim of the study was to characterize and carry out molecular-genetic identification of *Yersinia pseudotuberculosis* strains isolated in the Sarydzhas high-mountain focus of the Tien-Shan. **Materials and methods.** The *Y. pestis* and *Y. pseudotuberculosis* cultures were differentiated according to their sensitivity to diagnostic bacteriophages, motility, urea fermentation, and pesticin production. Whole genome sequencing was performed using the Ion S5 XL System (Thermo Fischer Scientific). Ion Torrent Suite software package, 5.12 and Newbler gsAssembler 2.6 were used for data processing and *de novo* assembly of raw read sequences. The dendrogram was constructed using the Maximum Likelihood method applying the PhyML 3.1 software. **Results and discussion.** Strains of *Y. pseudotuberculosis* were isolated from museum mixed with *Y. pestis* cultures obtained from marmots in the Sarydzhas high-mountain focus. According to whole genome SNP analysis, they belong to the phylogenetic group O:3 serovar, which is widespread throughout the world. *Y. pseudotuberculosis* is often present in mixed with *Y. pestis* cultures, isolated from rodents, which should be taken into account when carrying out laboratory diagnostics of plague in natural foci.

**Key words:** causative agents of pseudotuberculosis and plague, Tien-Shan high-mountain focus, phylogenetic analysis of strains, pathogenicity.

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

Corresponding author: Aigul K. Dzharparova, e-mail: ai\_moon74@mail.ru.

Citation: Dzharparova A.K., Eroshenko G.A., Nikiforov K.A., Kukleva L.M., Al'khova Zh.V., Berdiev S.K., Kutyrev V.V. Characteristics and Phylogenetic Analysis of *Yersinia pseudotuberculosis* Strains from the Sarydzhas High-Mountain Focus in the Tien-Shan. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2021; 2:87–93. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-87-93

Received 09.06.2021. Accepted 18.06.2021.

Eroshenko G.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5403-989X>

Nikiforov K.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4115-9486>

Kukleva L.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2438-8364>

Al'khova Zh.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7681-5773>

Kutyrev V.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3788-3452>

*Yersinia pseudotuberculosis* – распространенная повсеместно в почве грамотрицательная бактерия семейства *Enterobacteriaceae*. Некоторые представители *Y. pseudotuberculosis* способны вызывать псевдотуберкулез – острое инфекционное заболевание, характеризующееся лихорадкой, интоксикацией, поражением тонкого кишечника, печени, нередко скарлатиноподобной сыпью. Заболевание возникает после приема зараженной пищи или воды. В род *Yersinia* входят еще два патогенных для человека вида – *Y. enterocolitica* и *Y. pestis*. *Y. enterocolitica* вызывает энтеропатогенную инфекцию – кишечный иерсиниоз, сходный по симптомокомплексу с псевдотуберкулезом. Другой патогенный вид – *Y. pestis* – передается через кровь, способен паразитировать на насекомых и вызывать особо опасное системное заболевание – чуму, которая при отсутствии лечения может привести к летальному исходу. По данным генетических исследований, *Y. pestis* – одна из молодых ветвей эволюции *Y. pseudotuberculosis* [1–6].

Обе бактерии близки по свойствам, и нередки случаи их одновременного выделения от переносчиков – грызунов, что затрудняет дифференциальную лабораторную диагностику при проведении эпидемиологического мониторинга природных очагов чумы. В настоящее время известен 21 серологический вариант псевдотуберкулезного микроба, из которых в патологии человека существенное значение имеют одиннадцать сероваров – O:1a, O:1b, O:1c, O:2a, O:2b, O:2c, O:3, O:4a, O:4b, O:5a, O:5b [7]. Важной детерминантой патогенности всех трех иерсиний является родоспецифическая плазмида кальцийзависимости pCad (синонимы pYV, pCD1) с м.м. 42–47 МДа [8–11]. Она кодирует комплекс белков, объединенных в единую систему III типа секреции, позволяющую нейтрализовать клетки, участвующие в иммунном ответе хозяина, и блокирует синтез цитокинов.

При исследовании штаммов *Y. pestis*, полученных от носителей чумы – серых сурков *Marmota baibacina* в Сарыджазском высокогорном очаге, нами выявлены смешанные культуры, содержащие также и клетки *Y. pseudotuberculosis*. Для разделения клеток этих двух патогенных иерсиний использованы такие признаки, как чувствительность к диагностическим чумным и псевдотуберкулезным бактериофагам, подвижность, способность ферментировать мочевины, наличие пестициногенной активности, выявление с помощью метода флуоресцирующих антител. Выделенные из совместных с *Y. pestis* 1710 и 1701 культур чистые культуры псевдотуберкулезного микроба обозначены как *Y. pseudotuberculosis* 1710 и 1701. Ранее нами был проведен комплексный анализ свойств штаммов *Y. pestis* из Сарыджазского высокогорного очага и установлена их принадлежность к филогенетической линии O.ANT античного биовара основного подвида [12–14]. Однако поскольку сведения по патогенным штаммам *Y. pseudotuberculosis* из Сарыджазского и других высокогорных очагов Тянь-

Шаня отсутствуют, нами исследованы их фенотипические и генетические свойства и проведена молекулярная идентификация по данным сравнительного полногеномного SNP-анализа.

## Материалы и методы

Изучение культурально-морфологических, биохимических свойств использованных штаммов *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis* проводили в соответствии с традиционными методами лабораторной диагностики чумы и патогенных иерсиний [15]. Для дифференциации использовали диагностические бактериофаги – диагностический чумной Покровской, диагностический чумной Л-413С и диагностический псевдотуберкулезный; иммуноглобулины чумные флуоресцирующие производства РосНИПЧИ «Микроб», продукцию пестицина и чувствительность к нему. Штаммы выращивали при температуре 28 °С в течение 24–48 часов на LB-бульоне и агаре. Выделение ДНК штаммов *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis* проводили с помощью набора PureLink Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen, США). Для полногеномного секвенирования штаммов использовали Ion S5 XL System (Thermo Fischer Scientific). Для обработки данных и сборки последовательностей сырых ридов *de novo* применяли Ion Torrent Suite software package, 5.12 и Newbler gsAssembler 2.6. Поиск маркерных SNPs проводили с использованием программы Wombac 2.0 на базе операционной системы BioLinux 8.0. Дендрограмму строили методом Maximum Likelihood с применением программы PhyML 3.1 и модели НКY85. Визуализацию дендрограммы выполняли в программе FigTree 1.4.3.

## Результаты и обсуждение

Штаммы *Y. pestis* 1710 и 1701 выделены в разных участках Сарыджазского высокогорного очага в составе Тянь-Шаньского высокогорного очага от сурков *Marmota* в 1971 г. При их изучении выявлено, что штаммы неоднородны по составу клеток. Каждый штамм был разделен на две субпопуляции – 1710/1 и 1710/2; 1701/1 и 1701/2. Сравнение субпопуляций проводили по диагностическим признакам, используемым для дифференциации *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis* [15]. Полученные данные приведены в табл. 1.

В итоге по комплексу проведенных исследований получены чистые культуры псевдотуберкулезного микроба, которые обозначены как *Y. pseudotuberculosis* 1710 и *Y. pseudotuberculosis* 1701. Штаммы являются прототрофами и растут на минимальном агаре без добавления аминокислот. Поскольку данные по штаммам *Y. pseudotuberculosis*, циркулирующим в Сарыджазском и других Тянь-Шаньских высокогорных очагах, в литературе отсутствуют, нами проведены исследования по их молекулярно-генетической идентификации в срав-

Таблица 1 / Table 1

**Сравнительный анализ свойств клеток разных субпопуляций в смешанных культурах *Y. pestis* 1710 и 1701**  
**Comparative analysis of the properties of cells of different subpopulations in mixed cultures of *Y. pestis* 1710 and 1701**

Диагностические признаки Diagnostic properties	Штаммы <i>Yersinia</i> Strains of <i>Yersinia</i>			
	1710/1	1710/2	1701/1	1701/2
Лизис диагностическим чумным бактериофагом Покровской Lysis by the diagnostic plague bacteriophage of Pokrovskaya	+	–	+	–
Лизис диагностическим чумным бактериофагом Лариной Л-413С Lysis by the diagnostic plague bacteriophage of Larina L-413S	+	–	+	–
Лизис диагностическим псевдотуберкулезным бактериофагом Lysis by diagnostic pseudotuberculosis bacteriophage	+	+	+	+
Выявление в мазках с помощью чумных флуоресцирующих иммуноглобулинов Detection in smears using plague fluorescent immunoglobulins	+	–	+	–
Наличие подвижности Mobility	–	+	–	+
Ферментация мочевины Fermentation of urea	–	+	–	+
Продукция пестицина Pesticine production	+	–	+	–
Чувствительность к пестицину Pesticin sensitivity	–	+	–	+
Рост на минимальном агаре Growth on minimal agar	–	+	–	+
Наличие плазмид The presence of plasmids	pCad, pFra, pPst	–	pCad, pFra, pPst	–
Установление видовой принадлежности и обозначение полученной чистой культуры Species identification and designation of the resulting pure culture	<i>Y. pestis</i> 1710	<i>Y. pseudotuberculosis</i> 1710	<i>Y. pestis</i> 1701	<i>Y. pseudotuberculosis</i> 1701

нении со штаммами псевдотуберкулеза из других регионов мира. Выделена ДНК штаммов *Y. pseudotuberculosis* 1710 и 1701 и определена их полногеномная нуклеотидная последовательность.

Для проведения молекулярно-генетической идентификации полученных штаммов *Y. pseudotuberculosis* и установления их филогенетических связей были использованы полногеномные последовательности 30 других штаммов *Y. pseudotuberculosis* из базы данных NCBI GenBank, выделенных на протяжении XX в. в разных регионах мира (табл. 2). Данные по штаммам *Y. pseudotuberculosis* В-6862-6866 и В-6796 приведены в соответствии с паспортами, полученными из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур ФБУН ГНЦ ПМБ [16].

Филогенетическое дерево взятых в работу штаммов *Y. pseudotuberculosis* представлено на рисунке.

На дендрограмме видна четкая кластеризация штаммов *Y. pseudotuberculosis* по степени их филогенетического родства. Отдельные ветви составили штаммы разных сероваров. Так, отдельную ветвь составили штаммы О:1 серовара, которые разделились на два подветви. В первую подветвь вошли штаммы О:1а серовара из Италии, Финляндии и Канады, время выделения которых в NCBI GenBank указано как 1900–2008 гг. Другая подветвь состоит преимущественно из штаммов О:1b серовара, выделенных в Англии в 1983 г., или с неизвестным происхождением. В целом представители этой ветви О:1 серовара

выделены в Европе, Северной Америке, Австралии, что свидетельствует об их глобальном распространении. Также на филогенетическом дереве псевдотуберкулеза тесно сгруппировались штаммы О:2 серовара, полученные в разных странах (Италия, Франция, Китай) (рисунок).

Выделенные нами штаммы *Y. pseudotuberculosis* 1710 и 1701 вошли в филогенетическую группу, включающую штаммы О:3 серовара. Отдельную подветвь этой филогенетической группы составили штаммы *Y. pseudotuberculosis* В-6796 и В-6863, выделенные в Ставропольском крае в 1957 и 1961 гг. Также отдельную подветвь О:3 серогруппы образовали штаммы В-6864 (Ставропольский край, 1940), В-6865 и В-6866 (Ленинградская обл., 1955) и два штамма из дальнего зарубежья – IP32938 (Аргентина, 1900/2008) и IP32544 (ЮАР, 1990). Таким образом, штаммы О:3 серовара тоже имеют глобальное распространение и получены на территории Европы, Южной Америки и Южной Африки. Выделенные нами штаммы *Y. pseudotuberculosis* 1710 и 1701 из Сарыджазского высокогорного очага (суслики *Marmota*, 1971) вошли в отдельный кластер совместно со штаммом псевдотуберкулеза В-6862 О:3 серовара, полученным от большой песчанки *Rhombomys opimus* в Туркменской АССР (Марийская обл., 1961). Поскольку эти штаммы выделены на территории трех республик Центральной Азии, но на значительном расстоянии друг от друга, это свидетельствует о широком распространении штаммов этой подветви

Таблица 2 / Table 2

**Штаммы *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis*, использованные в работе**  
***Y. pestis* and *Y. pseudotuberculosis* strains used in the work**

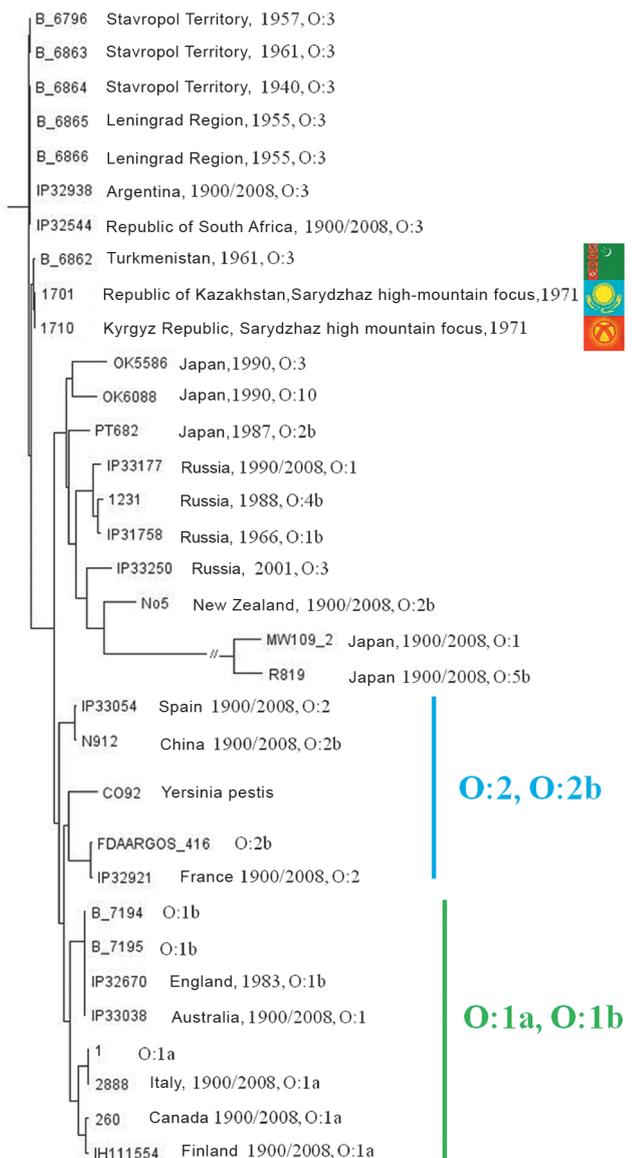
Штамм Strain	Место выделения Site of isolation	Источник, время выделения Source, date of isolation	Серовар Serovar	Наличие плазмид Presence of plasmids
1	2	3	4	5
<i>Y. pestis</i>				
CO92	Колорадо, США Colorado, USA	больной, 1992 patient, 1992		pCad (pYV), pFra, pPst
<i>Y. pseudotuberculosis</i>				
A-1701	Сарыджазский высокогорный очаг, Нарынкольский р-н, Республика Казахстан Sarydzhas high-mountain focus, Narynkol district, Republic of Kazakhstan	сурок <i>Marmota</i> , 1971 <i>Marmota marmot</i> , 1971	н/д n/d	pCad
A-1710	Сарыджазский высокогорный очаг, ур. Кок-Пак, Кокпакский мезоочаг, Киргизская Республика Sarydzhas high mountain focus, Kok-Pak natural landmark, Kokpak meso-focus, Kyrgyz Republic	сурок <i>Marmota</i> , 1971 <i>Marmota marmot</i> , 1971	н/д n/d	pCad
B-6863	Ставропольский край, Благодарненский р-н Stavropol Territory, Blagodatnensky District	малый суслик <i>Spermophilus pygmaeus</i> , 1961 small souslik <i>Spermophilus pygmaeus</i> , 1961	O:3	pCad
B-6865	Ленинградская обл., Тосненский р-н, д. Ям-Ижора Leningrad Region, Tosnensky Distr., Yam-Izhora village	домовая мышь <i>Mus musculus</i> , 1955 house mouse <i>Mus musculus</i> , 1955	O:3	pCad
B-6864	Ставропольский край, Буденновский р-н, с. Прасковья Stavropol Territory, Budenovsky district, Praskoveya village	малый суслик <i>Spermophilus pygmaeus</i> , 1940 г. small souslik <i>Spermophilus pygmaeus</i> , 1940	O:3	pCad
B-6862	Туркменистан, Марийская обл., 15 км ю.-з. ст. Илотань Turkmenistan, Mari Region, 15 km south-west of Ilotan station	большая песчанка <i>Rhombomys opimus</i> , 1961 great gerbil <i>Rhombomys opimus</i> , 1961	O:3	pCad
B-6796	Ставропольский край, Новоселецкий р-н Stavropol Territory, Novoseletsky Distr.	малый суслик <i>Spermophilus pygmaeus</i> , 1957 small souslik <i>Spermophilus pygmaeus</i> , 1957	O:3	pCad
B-6866	Ленинградская обл., Тосненский р-н, д. Ям-Ижора Leningrad Region, Tosnensky Distr., Yam-Izhora village	домовая мышь <i>Mus musculus</i> , 1955 house mouse <i>Mus musculus</i> , 1955	O:3	pCad
IP32938	Аргентина Argentina	1900/2008*	O:3	нет данных (н/д) no data (n/d)
IP32544	ЮАР Republic of South Africa	1900/2008	O:3	н/д n/d
OK5586	Япония Japan	1990	O:3	н/д n/d
OK6088	Япония Japan	1990	O:10	н/д n/d
PT682	Япония Japan	1987	O:2b	н/д n/d
IP33177	РФ RF	1900/2008	O:1	н/д n/d
1231	РФ RF	1985	O:4b	н/д n/d
IP31758	РФ, Приморский р-н RF, Primorsky district	1966	O:1b	н/д n/d
IP33250	РФ RF	2001	O:3	н/д n/d
No5	Новая Зеландия New Zealand	1900/2008	O:2b	н/д n/d
MW109-2	Япония Japan	1900/2008	O:11	н/д n/d
R-819	Япония Japan	1900/2008	O:5b	н/д n/d
IP33054	Испания Spain	1900/2008	O:2	н/д n/d
N912	Китай China	1900/2008	O:2b	н/д n/d
FDAARGOS-416	н/д n/d	н/д n/d	O:2b	н/д n/d

Окончание табл. 2 / Ending of the Table 2

1	2	3	4	5
IP32921	Франция France	1900/2008	O:2	н/д n/d
B-7194	н/д n/d	н/д n/d	O:1b	н/д n/d
B-7195	н/д n/d	н/д n/d	O:1b	н/д n/d
IP32670	Англия England	1983	O:1b	н/д n/d
IP33038	Австралия Australia	1900/2008	O:1	н/д n/d
2888	Италия Italy	1900/2008	O:1a	н/д n/d
260	Канада Canada	1900/2008	O:1a	н/д n/d
IH111554	Финляндия Finland	1900/2008	O:1a	н/д n/d

Примечания: н/д – нет данных.  
\*Годы выделения приведены по данным из NCBI GenBank.

Note: n/d – no data.  
\*Years of isolation are based on data from NCBI GenBank



Филогенетическое родство штаммов *Y. pseudotuberculosis* 1710 и 1701 из Сарыджазского высокогорного очага в Тянь-Шане по данным полногеномного секвенирования на основе 11575 выявленных коровых SNPs. Метод Maximum Likelihood с моделью замены HPY85 при помощи программы PhyML 3.1, с 500-бутстреп поддержкой

Phylogenetic relations of *Y. pseudotuberculosis* strains 1710 and 1701 from the Sarydzhaz high-mountain focus in the Tien-Shan according to whole genome sequencing data based on 11575 identified core SNPs. Maximum Likelihood method with HPY85 replacement model using PhyML 3.1 software, with 500 bootstrap support

*Y. pseudotuberculosis* в центральноазиатских природных очагах чумы. Данные филогенетического анализа позволяют предположить, что штаммы *Y. pseudotuberculosis* 1710 и 1701 из Сарыджазского высокогорного очага в Тянь-Шане относятся к O:3 серовару, поскольку входят в филогенетическую группу, состоящую только из штаммов O:3 серовара.

Еще одну отдельную подветвь на дендрограмме составили штаммы, выделенные в Японии, России (включая Приморский регион), Новой Зеландии преимущественно в 1966–2001 гг. По-видимому, они представляют штаммы дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки. Эта подветвь включает псевдотуберкулезные штаммы, относящиеся к разным сероварам: O1-O5, O10-O11, – что может быть связано с изменчивостью O-антигена у этой филогенетической группы *Y. pseudotuberculosis*.

Таким образом, нами впервые проведено изучение свойств и молекулярно-генетическая идентификация штаммов псевдотуберкулезного микроба, полученных от грызунов в Сарыджазском высокогорном очаге Тянь-Шаня. Установлено, что они являются прототрофами и вошли в группу штаммов *Y. pseudotuberculosis*, относящихся к O:3 серовару, что позволяет предположить их принадлежность к этому серовару. Штаммы 1710 и 1701 выделены от сурков, а родственный им штамм В-6862 – от большой песчанки в Туркмении. Штаммы патогенны для грызунов и представляют опасность для человека. Штаммы *Y. pseudotuberculosis* часто выделяются от грызунов в очагах чумы совместно с *Y. pestis*, что необходимо учитывать при выполнении дифференциальной лабораторной диагностики патогенных иерсиний при проведении эпидемиологического мониторинга в природных очагах.

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

### Список литературы

1. Parkhill J., Wren B.W., Thomson N.R., Titball R.W., Holden M.T., Prentice M.B., Sebahia M., James K.D., Churcher C., Mungall K.L., Baker S., Basham D., Bentley S.D., Brooks K., Cerdeño-Tarraga A.M., Chillingworth T., Cronin A., Davies R.M., Davis P., Dougan G., Feltwell T., Hamlin N., Holroyd S., Jagels K., Karlyshev A.V., Leather S., Moule S., Oyston P.C., Quail M., Rutherford K., Simmonds M., Skelton J., Stevens K., Whitehead S., Barrell B.G. Genome sequence of *Yersinia pestis*, the causative agent of plague. *Nature*. 2001; 413(6855):523–7. DOI: 10.1038/35097083.
2. Skurnik M., Peippo A., Ervelä E. Characterization of the O-antigen gene clusters of *Yersinia pseudotuberculosis* and the cryptic O-antigen gene cluster of *Yersinia pestis* shows that the plague bacillus is most closely related to and has evolved from *Y. pseudotuberculosis* serotype O:1b. *Mol. Microbiol.* 2000; 37(2):316–30. DOI: 10.1046/j.1365-2958.2000.01993.x.
3. Wren B.W. The *Yersinia* – a model genus to study the rapid evolution of bacterial pathogens. *Nat. Rev. Microbiol.* 2003; 1(1):55–64. DOI: 10.1038/nrmicro730.
4. Chain P.S., Carniel E., Larimer F.W., Lamerdin J., Stoutland P.O., Regala W.M., Georgescu A.M., Vergez L.M., Land M.L., Motin V.L., Brubaker R.R., Fowler J., Hinnebusch J., Marceau M., Medigue C., Simonet M., Chenal-Francois V., Souza B., Dacheux D., Elliott J.M., Derbise A., Hauser L.J., Garcia E. Insights into the evolution of *Yersinia pestis* through whole-genome comparison with *Yersinia pseudotuberculosis*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2004; 101(38):13826–31. DOI: 10.1073/pnas.0404012101.
5. Reuter S., Connor T.R., Barquist L., Walker D., Feltwell T., Harris S.R., Fookes M., Hall M.E., Petty N.K., Fuchs T.M.,

Corander J., Dufour M., Ringwood T., Savin C., Bouchier C., Martin L., Miettinen M., Shubin M., Riehm J.M., Laukkanen-Niinios R., Sihvonen L.M., Siitonen A., Skurnik M., Falcão J.P., Fukushima H., Scholz H.C., Prentice M.B., Wren B.W., Parkhill J., Carniel E., Achtman M., McNally A., Thomson N.R. Parallel independent evolution of pathogenicity within the genus *Yersinia*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2014; 111(18):6768–73. DOI: 10.1073/pnas.1317161111.

6. McNally A., Thomson N.R., Reuter S., Wren B.W. Add, stir and reduce: *Yersinia* spp. as model bacteria for pathogen evolution. *Nat. Rev. Microbiol.* 2016; 14(3):177–90. DOI: 10.1038/nrmicro.2015.29.

7. Tsubokura M., Aleksić S. A simplified antigenic scheme for serotyping of *Yersinia pseudotuberculosis*: phenotypic characterization of reference strains and preparation of O and H factor sera. *Contrib. Microbiol. Immunol.* 1995; (13):99–105.

8. Gemski O.P., Lazere J.R., Casey T., Wohlhieter J.A. Presence of a virulence-associated plasmid in *Yersinia pseudotuberculosis*. *Infect. Immun.* 1980; 28(3):1044–7. DOI: 10.1128/iai.28.3.1044-1047.1980.

9. Gemski P., Lazere J.R., Casey T. Plasmid associated with pathogenicity and calcium dependency of *Yersinia enterocolitica*. *Infect. Immun.* 1980; 27(2):682–5. DOI: 10.1128/iai.27.2.682-685.1980.

10. Portnoy D.A., Martinez R.J. Role of a plasmid in the pathogenicity of *Yersinia species*. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 1985; 118:29–51. DOI: 10.1007/978-3-642-70586-1\_3.

11. Кутырев В.В., Попов Ю.А., Проценко О.А. Плазмиды патогенности *Yersinia pestis*. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 1986; 6:3–11.

12. Eroshenko G.A., Nosov N.Y., Krasnov Y.M., Oglodin Y.G., Kukleva L.M., Guseva N.P., Kuznetsov A.A., Abdikarimov S.T., Dzharparova A.K., Kutyrev V.V. *Yersinia pestis* strains of ancient phylogenetic branch O:ANT are widely spread in the high-mountain plague foci of Kyrgyzstan. *PLoS One*. 2017; 12(10):e0187230. DOI: 10.1371/journal.pone.0187230.

13. Kutyrev V.V., Eroshenko G.A., Motin V.L., Nosov N.Y., Krasnov J.M., Kukleva L.M., Nikiforov K.A., Al'hoza Zh.V., Oglodin E.G., Guseva N.P. Phylogeny and classification of *Yersinia pestis* through the lens of strains from the plague foci of Commonwealth of Independent States. *Front. Microbiol.* 2018; 9:1106. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01106.

14. Ерошенко Г.А., Джапарова А.К., Оглодин Е.Г., Альхова Ж.В., Куклева Л.М., Кузнецов А.А., Краснов Я.М., Абдикаримов С.Т., Кутырев В.В. Филогеография штаммов *Yersinia pestis* ветви O:ANT, выделенных в Тянь-Шане и Памиро-Алае в XX–XXI веках. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 1:76–84. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-1-76-84.

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

16. Platonov M.E., Blouin Y., Evseeva V.V., Afanas'ev M.V., Pourcel C., Balakhonov S.V., Vergnaud G., Anisimov A.P. Draft genome sequences of five *Yersinia pseudotuberculosis* ST119 isolates and one isolate variant. *Genome Announc.* 2013; 1(2):e0012213. DOI: 10.1128/genomeA.00122-13.

### References

1. Parkhill J., Wren B.W., Thomson N.R., Titball R.W., Holden M.T., Prentice M.B., Sebahia M., James K.D., Churcher C., Mungall K.L., Baker S., Basham D., Bentley S.D., Brooks K., Cerdeño-Tarraga A.M., Chillingworth T., Cronin A., Davies R.M., Davis P., Dougan G., Feltwell T., Hamlin N., Holroyd S., Jagels K., Karlyshev A.V., Leather S., Moule S., Oyston P.C., Quail M., Rutherford K., Simmonds M., Skelton J., Stevens K., Whitehead S., Barrell B.G. Genome sequence of *Yersinia pestis*, the causative agent of plague. *Nature*. 2001; 413(6855):523–7. DOI: 10.1038/35097083.
2. Skurnik M., Peippo A., Ervelä E. Characterization of the O-antigen gene clusters of *Yersinia pseudotuberculosis* and the cryptic O-antigen gene cluster of *Yersinia pestis* shows that the plague bacillus is most closely related to and has evolved from *Y. pseudotuberculosis* serotype O:1b. *Mol. Microbiol.* 2000; 37(2):316–30. DOI: 10.1046/j.1365-2958.2000.01993.x.
3. Wren B.W. The *Yersinia* – a model genus to study the rapid evolution of bacterial pathogens. *Nat. Rev. Microbiol.* 2003; 1(1):55–64. DOI: 10.1038/nrmicro730.
4. Chain P.S., Carniel E., Larimer F.W., Lamerdin J., Stoutland P.O., Regala W.M., Georgescu A.M., Vergez L.M., Land M.L., Motin V.L., Brubaker R.R., Fowler J., Hinnebusch J., Marceau M., Medigue C., Simonet M., Chenal-Francois V., Souza B., Dacheux D., Elliott J.M., Derbise A., Hauser L.J., Garcia E. Insights into the evolution of *Yersinia pestis* through whole-genome comparison with *Yersinia pseudotuberculosis*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2004; 101(38):13826–31. DOI: 10.1073/pnas.0404012101.
5. Reuter S., Connor T.R., Barquist L., Walker D., Feltwell T., Harris S.R., Fookes M., Hall M.E., Petty N.K., Fuchs T.M., Corander J., Dufour M., Ringwood T., Savin C., Bouchier C., Martin

- L., Miettinen M., Shubin M., Riehm J.M., Laukkanen-Ninios R., Sihvonen L.M., Siitonen A., Skurnik M., Falcão J.P., Fukushima H., Scholz H.C., Prentice M.B., Wren B.W., Parkhill J., Carniel E., Achtman M., McNally A., Thomson N.R. Parallel independent evolution of pathogenicity within the genus *Yersinia*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2014; 111(18):6768–73. DOI: 10.1073/pnas.1317161111.
6. McNally A., Thomson N.R., Reuter S., Wren B.W. Add, stir and reduce: *Yersinia* spp. as model bacteria for pathogen evolution. *Nat. Rev. Microbiol.* 2016; 14(3):177–90. DOI: 10.1038/nrmicro.2015.29.
7. Tsubokura M., Aleksić S. A simplified antigenic scheme for serotyping of *Yersinia pseudotuberculosis*: phenotypic characterization of reference strains and preparation of O and H factor sera. *Contrib. Microbiol. Immunol.* 1995; (13):99–105.
8. Gemski O.P., Lazere J.R., Casey T., Wohlhieter J.A. Presence of a virulence-associated plasmid in *Yersinia pseudotuberculosis*. *Infect. Immun.* 1980; 28(3):1044–7. DOI: 10.1128/iai.28.3.1044-1047.1980.
9. Gemski P., Lazere J.R., Casey T. Plasmid associated with pathogenicity and calcium dependency of *Yersinia enterocolitica*. *Infect. Immun.* 1980; 27(2):682–5. DOI: 10.1128/iai.27.2.682-685.1980.
10. Portnoy D.A., Martinez R.J. Role of a plasmid in the pathogenicity of *Yersinia species*. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 1985; 118:29–51. DOI: 10.1007/978-3-642-70586-1\_3.
11. Kutyrev V.V., Popov Yu.A., Protsenko O.A. [Plasmids of pathogenicity of *Yersinia pestis*]. *Molekulyarnaya Genetika, Mikrobiologiya i Virusologiya* [Molecular Genetics, Microbiology and Virology]. 1986; 6:3–11.
12. Eroshenko G.A., Nosov N.Y., Krasnov Y.M., Oglodin Y.G., Kukleva L.M., Guseva N.P., Kuznetsov A.A., Abdikarimov S.T., Dzharparova A.K., Kutyrev V.V. *Yersinia pestis* strains of ancient phylogenetic branch 0.ANT are widely spread in the high-mountain plague foci of Kyrgyzstan. *PLoS One*. 2017; 12(10):e0187230. DOI: 10.1371/journal.pone.0187230.
13. Kutyrev V.V., Eroshenko G.A., Motin V.L., Nosov N.Y., Krasnov J.M., Kukleva L.M., Nikiforov K.A., Al'khova Zh.V., Oglodin E.G., Guseva N.P. Phylogeny and classification of *Yersinia pestis* through the lens of strains from the plague foci of Commonwealth of Independent States. *Front. Microbiol.* 2018; 9:1106. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01106.
14. Eroshenko G.A., Dzharparova A.K., Oglodin E.G., Al'khova Zh.V., Kukleva L.M., Kuznetsov A.A., Krasnov Ya.M., Abdikarimov S.T., Kutyrev V.V. [Phylogeny of *Yersinia pestis* Strains Belonging to 0.ANT Branch, Isolated in Tien-Shan and Pamir-Alay in XX–XXI Centuries]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2020; (1):76–84. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-1-76-84.
15. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., editors. [Laboratory Diagnostics of Particularly Dangerous Infectious Diseases. Practice Guidelines]. Moscow: “Shiko”; 2013. 560 p.
16. Platonov M.E., Blouin Y., Evseeva V.V., Afanas'ev M.V., Pourcel C., Balakhonov S.V., Vergnaud G., Anisimov A.P. Draft genome sequences of five *Yersinia pseudotuberculosis* ST19 isolates and one isolate variant. *Genome Announc.* 2013; 1(2):e0012213. DOI: 10.1128/genomeA.00122-13.

**Authors:**

Dzharparova A.K., Berdiev S.K. Republican Center for Quarantine and Particularly Dangerous Infections of the Ministry of Health of the Kyrgyz Republic. 92, Skryabina St., Bishkek, Kyrgyz Republic. E-mail: rckooi@mail.ru.

Eroshenko G.A., Nikiforov K.A., Kukleva L.M., Al'khova Zh.V., Kutyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

**Об авторах:**

Джарпарова А.К., Бердиев С.К. Республиканский центр карантинных и особо опасных инфекций Министерства здравоохранения Кыргызской Республики. Кыргызская Республика, Бишкек, ул. Скрябина, 92. E-mail: rckooi@mail.ru.

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