

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-107-114

УДК 579.842.23:616-07

М.Г. Мелоян¹, А.С. Водопьянов¹, Е.А. Воскресенская², Р.В. Писанов¹, М.В. Чеснокова³,
В.Т. Климов³, Г.И. Кокорина², Е.А. Богумильчик², Н.П. Перетолчина^{3,4}, А.Л. Трухачев¹

Генотипирование штаммов *Yersinia pseudotuberculosis*, выделенных на территории России, с помощью MLST

¹ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт», Ростов-на-Дону, Российская Федерация;
²ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера»,
Санкт-Петербург, Российская Федерация; ³ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири
и Дальнего Востока», Иркутск, Российская Федерация; ⁴ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Иркутск, Российская Федерация

Цель исследования – генотипирование штаммов *Yersinia pseudotuberculosis*, выделенных в России, с помощью мультилокусного сиквенс-типирования (MLST), сравнительный анализ результатов MLST с результатами INDEL-типирования. **Материалы и методы.** В работе анализировали 348 штаммов различных серотипов, выделенных в разных регионах мира, включая 59 российских штаммов. Из базы данных NCBI использовано 302 штамма. Определение нуклеотидных последовательностей штаммов проводили при использовании технологической платформы MiSeq. Для MLST-анализа применена авторская программа MLSTtyper. **Результаты и обсуждение.** Выяснено, что на территории России циркулируют штаммы как минимум 2, 9, 19, 26, 32, 42, 43 ST-типов. Большинство изученных российских штаммов относились к ST2-типу (58 %). Филогенетический анализ, проведенный с помощью данных MLST, показал, что ряд кластеров содержат штаммы, которые циркулируют на территории России долгое время, а штаммы этих генотипов не встречаются за рубежом. Часть российских штаммов вошла в кластеры, содержащие штаммы, выделенные в различных регионах мира, и может быть отнесена к штаммам либо «азиатского», либо «европейского» типов. Данные, полученные с помощью программы MLSTtyper, совпали с данными зарубежных авторов при анализе методом MLST тех же самых штаммов. Сравнение результатов генетической дифференциации штаммов *Y. pseudotuberculosis* с помощью MLST и INDEL-типирования свидетельствует о том, что MLST обладает большей дискриминационной способностью, однако в ряде случаев INDEL-генотипирование позволяет дифференцировать те штаммы, которые имели один ST-генотип.

Ключевые слова: *Yersinia pseudotuberculosis*, псевдотуберкулез, генотипирование, MLST.

Корреспондирующий автор: Мелоян Мисак Геворгович, e-mail: meloyan_mg@antiplague.ru.

Для цитирования: Мелоян М.Г., Водопьянов А.С., Воскресенская Е.А., Писанов Р.В., Чеснокова М.В., Климов В.Т., Кокорина Г.И., Богумильчик Е.А., Перетолчина Н.П., Трухачев А.Л. Генотипирование штаммов *Yersinia pseudotuberculosis*, выделенных на территории России, с помощью MLST. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 4:107–114. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-107-114

Поступила 30.01.2024. Отправлена на доработку 15.03.2024. Принята к публ. 23.04.2024.

M.G. Meloyan¹, A.S. Vodop'yanov¹, E.A. Voskresenskaya², R.V. Pisanov¹, M.V. Chesnokova³,
V.T. Klimov³, G.I. Kokorina², E.A. Bogumil'chik², N.P. Peretolchina^{3,4}, A.L. Trukhachev¹

Genotyping of *Yersinia pseudotuberculosis* Strains Isolated in Russia Using MLST

¹Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don, Russian Federation;

²Pasteur St. Petersburg Research Institute of Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg, Russian Federation;

³Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and the Far East, Irkutsk, Russian Federation;

⁴Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russian Federation

Abstract. The aim of this study was the genotyping of *Yersinia pseudotuberculosis* strains isolated in Russia using multilocus sequence typing (MLST), a comparative analysis of MLST results with INDEL typing results. **Materials and methods.** 348 strains of various serotypes isolated in different regions of the world, including 59 Russian strains, were analyzed. 302 strains from the NCBI database were used. The nucleotide sequences of the strains were determined using the MiSeq technology platform. The author MLSTtyper program was used for MLST analysis. **Results and discussion.** It has been found out that strains of at least, 2, 9, 19, 26, 32, 42, 43 ST-types circulate in Russia. The majority of the studied Russian strains belong to the ST2 type (58 %). Phylogenetic analysis conducted using MLST data showed that a number of clusters contains strains that have been circulating in Russia for a long time, and strains of these genotypes are not found abroad. Some of the Russian strains are included in clusters containing strains isolated in various regions of the world and can be attributed to strains of either “Asian” or “European” types. The data obtained using the MLSTtyper program coincided with the data of foreign authors when analyzing the same strains using the MLST method. Comparison of the results of genetic differentiation of *Y. pseudotuberculosis* strains using MLST and INDEL typing indicates that MLST has a greater discriminatory ability; however, in some cases INDEL genotyping allows differentiating those strains that had the same ST genotype.

Key words: *Yersinia pseudotuberculosis*, pseudotuberculosis, genotyping, MLST.

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

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

Corresponding author: Misak G. Meloyan, e-mail: meloyan_mg@antiplague.ru.

Citation: Meloyan M.G., Vodop'yanov A.S., Voskresenskaya E.A., Pisanov R.V., Chesnokova M.V., Klimov V.T., Kokorina G.I., Bogumil'chik E.A., Peretolchina N.P., Trukhachev A.L. Genotyping of *Yersinia pseudotuberculosis* Strains Isolated in Russia Using MLST. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 4:107–114. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-107-114

Received 30.01.2024. Revised 15.03.2024. Accepted 23.04.2024.

Meloyan M.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7268-9298>
Vodop'yanov A.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9056-3231>
Voskresenskaya E.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6380-1153>
Pisanov R.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7178-8021>
Chesnokova M.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5489-9363>

Klimov V.T., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0036-0017>
Kokorina G.I., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1973-3138>
Bogumil'chik E.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3181-4328>
Peretolchina N.P., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9426-5197>
Trukhachev A.L., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3531-1146>

Псевдотуберкулез является природно-очаговым инфекционным заболеванием, которое регистрируется в различных климатических зонах мира. В нашей стране периодически регистрируют вспышки этого заболевания, чаще всего у детей. В 2022 г. псевдотуберкулезом переболело 318 человек, при этом чаще заболевания регистрировали в Новосибирской, Ленинградской областях и г. Санкт-Петербурге [1], а наибольшее число выделенных культур отмечали в Северо-Западном, Сибирском и Дальневосточном федеральных округах. Эти данные говорят о том, что стоящая перед лабораторной службой задача систематического мониторинга псевдотуберкулеза остается актуальной. Одним из этапов изучения выделенных штаммов возбудителя псевдотуберкулеза (*Yersinia pseudotuberculosis*) является их генотипирование и определение генетического разнообразия штаммов, выделенных на различных территориях. Зарубежными исследователями для этих целей широко используется метод мультилокусного сиквенс-типирования (MLST). Метод основан на сравнительном анализе нуклеотидных последовательностей 7 генов «домашнего хозяйства» и установления генотипа штамма, который определяется исходя из набора генотипов каждого гена, представленных в микробной клетке [2]. Исследование этим методом ряда штаммов *Y. pseudotuberculosis*, выделенных на территории России, проводилось в 2011 г. [3]. Авторами установлено, что в России циркулируют в основном штаммы 2, 26, 32, 42, 43 ST-типов. Также обнаружены единичные штаммы 3, 9, 14 типов. Российские штаммы, выделенные после 2011 г., не изучались с помощью MLST. Нами ранее проводилась внутри-видовая генетическая дифференциация российских штаммов возбудителя псевдотуберкулеза, выделенных из клинического материала и из внешней среды с помощью метода INDEL-типирования [4]. Всего было проанализировано более 300 штаммов *Y. pseudotuberculosis*, выделенных в различных странах, и показано, что все исследованные штаммы с помощью INDEL-типирования разделяются на 30 генетических групп. Среди российских обнаружены 1, 2, 3, 4, 5, 9 INDEL-типы штаммов *Y. pseudotuberculosis*. **Целью** настоящей работы стало генотипирование штаммов *Y. pseudotuberculosis*, выделенных в России, с помощью MLST, сравнительный анализ результатов MLST с результатами INDEL-типирования.

Материалы и методы

Для анализа геномов штаммов *Y. pseudotuberculosis* в работе использовали нуклеотидные

последовательности 348 штаммов различных серотипов, выделенных в разных регионах мира, включая 59 российских штаммов. Из базы данных NCBI использовано 302 штамма, среди которых были данные о 13 российских штаммах. Из коллекции патогенных микроорганизмов ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора получены 46 штаммов, выделенных в России. Эти 46 штаммов секвенированы ранее либо в ходе настоящего исследования. Определение нуклеотидных последовательностей штаммов проведено методом высокопроизводительного секвенирования при использовании технологической платформы MiSeq (Illumina, www.illumina.com). В реакции использовали 20 нг ДНК каждого из исследованных штаммов. Библиотеки готовили с помощью коммерческого набора Nextera DNA Library Preparation Kit (Illumina) согласно прилагаемой инструкции. Для секвенирования полученных библиотек использовали набор картриджей MiSeq v.2 Reagents Kit 300 Cycles PE (Illumina). Сборку геномов, представленных в виде ридов, проводили с использованием программы Spades (github.com). В качестве референс-штамма при анализе использовался первый секвенированный штамм *Y. pseudotuberculosis* IP32953 либо проводили сборку *de novo*. Для MLST-анализа применена авторская программа MLSTtyper (<http://antiplague.ru/mlst-typer>). Программа позволяет проводить типирование большого количества штаммов одновременно при анализе нуклеотидных последовательностей генов «домашнего хозяйства» различных возбудителей. Совокупность генотипов отдельных генов «домашнего хозяйства» и предопределяет ST-тип штамма. Результат достигается сравнением нуклеотидных последовательностей 7 генов «домашнего хозяйства», полученных при секвенировании, и этих же генов, находящихся в базах данных генотипов (pubmlst.org и bigsd.b.pasteur.fr), заложенных в программу. Филогенетические связи использованных в работе штаммов *Y. pseudotuberculosis* определены путем построения филогенетического дерева на основе сравнительного анализа их INDEL-маркеров с помощью авторской программы «Астролябия». Способ распределения штаммов основан на методе UPGMA (метод невзвешенного попарного среднего – Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Averages). Наличие плазмидных генов у секвенированных штаммов выявляли с помощью авторской программы ContigSearcher [5], в которой проводили поиск фрагментов ДНК, характерных для плазмиды pVM82 (*Y. pseudotuberculosis* IP31758 plasmid p_153kb, complete sequence, ID: CP000719.1). Серо-

генотипирование проводили в соответствии с данными, полученными в работе Т. Bogdanovich *et al.* [6]. Для анализа и идентификации различных штаммов иерсиний использована авторская программа YersiniaPestisAnalyzer.

Результаты и обсуждение

Метод MLST часто используется для генотипирования различных возбудителей. С его помощью также проводят генотипирование штаммов

Y. pseudotuberculosis. Для MLST-анализа возбудителя псевдотуберкулеза используют нуклеотидные последовательности 7 housekeeping генов: *adhA*, *argA*, *aroA*, *glnA*, *thrA*, *tmk*, *trpE* [2, 3]. Определение ST-типов проводили с помощью авторской программы MLSTtyper с использованием данных нуклеотидных последовательностей 348 штаммов. Особое внимание было обращено на российские штаммы. В анализе использовались также два штамма, выделенные на Украине, и один штамм из Туркменистана. Результаты MLST-анализа представлены в табл. 1.

Таблица 1 / Table 1

Результаты MLST-анализа российских штаммов *Y. pseudotuberculosis*, использованных в работе
Results of MLST analysis of Russian *Y. pseudotuberculosis* strains used in this work

Номер штамма или количество штаммов Strain number or number of strains	Место выделения Site of isolation	Год выделения Year of isolation	Источник Source	Серотип Serotype	ST	pVM82
1	2	3	4	5	6	7
IP31758	Россия Russia	1966	Человек Human	O:1b	2	+
1231	Россия Russia	1985	н/д n/d	O:4b	2	н/д n/d
IP33228	Россия, г. Горно-Алтайск Russia, Gorno-Altai	1993	Человек Human	O:1b	2	–
IP33255	Россия Russia	н/д n/d	н/д n/d	O:1	2	н/д n/d
3 штамма 3 strains	Россия, г. Санкт-Петербург Russia, Saint-Petersburg	2000	Человек Human	O:1b	2	+
3 штамма 3 strains	Россия, г. Владивосток Russia, Vladivostok	1965	Человек Human	O:1	2	+
3 штамма 3 strains	Россия, г. Санкт-Петербург Russia, Saint-Petersburg	2000	Картофель Potato	O:1b	2	+
1193	Украина, Хмельницкая обл. Ukraine, Khmel'nitskaya Region	2005	Полевка обыкновенная Common vole	O:1	2	+
4 штамма 4 strains	Россия, г. Новый Уренгой Russia, New Urengoy	2007	Человек Human	O:1	2	–
8 штаммов 8 strains	Россия, г. Томск Russia, Tomsk	2021	Человек Human	O:1b	2	–
8 штаммов 8 strains	Россия, г. Красноярск Russia, Krasnoyarsk	2021	Человек Human	O:1b	2	+
IP33163	Россия, г. Зима Russia, Zima	н/д n/d	Человек Human	O:1a	9	–
B-6796	Россия, Ставропольский край Russia, Stavropol Territory	1957	Малый суслик Little ground squirrel	O:3	19	н/д n/d
B-6863	Россия, Ставропольский край Russia, Stavropol Territory	1961	Малый суслик Little ground squirrel	O:3	19	н/д n/d
B-6864	Россия, Ставропольский край Russia, Stavropol Territory	1940	Малый суслик Little ground squirrel	O:3	19	н/д n/d
2 штамма 2 strains	Россия, Ленинградская область Russia, Leningrad Region	1955	Домовая мышь House mouse	O:3	19	н/д n/d
IP33177	Россия, г. Зима Russia, Zima	1998	Капуста Cabbage	O:1b	26	–
10 штаммов 10 strains	Россия, г. Зима Russia, Zima	1998–2000	Человек Human	O:1b	26	–

Окончание табл. 1 / Ending of the table 1

1	2	3	4	5	6	7
2 штамма 2 strains	Россия Russia	2001	Человек Human	O:3	32	н/д n/d
IP33122	Россия, г. Великий Новгород Russia, Novgorod the Great	н/д n/d	н/д n/d	O:1a	42	–
IP33111	Россия, г. Санкт-Петербург Russia, Saint-Petersburg	н/д n/d	Грызун Rodent	O:1a	42	–
1212	Украина, Хмельницкая обл. Ukraine, Khmelnytskaya Region	2005	Рыжая полевка Bank vole	O:1	42	–
B-7194	Россия Russia	н/д n/d	Крыса Rat	O:1b	43	н/д n/d
B-7195	Россия Russia	1975	Мышь Mouse	O:1b	43	н/д n/d
IP33290	Россия, г. Ростов-на-Дону Russia, Rostov-on-Don	н/д n/d	н/д n/d	O:1	43	н/д n/d
B-6862	Туркменистан Turkmenistan	1961	Большая песчанка Great gerbil	O:3	50	н/д n/d

Примечание: н/д – нет данных.

Note: n/d – no data.

Полученные с помощью программы MLST-типер данные совпадали с данными зарубежных авторов при анализе одних и тех же штаммов. Ранее ряд российских штаммов тестировали с помощью MLST и все ST-типы совпали с теми, которые были получены в настоящем исследовании. Совпадали ST-типы таких штаммов, как *Y. pseudotuberculosis* IP31758, 1231, IP33177, IP33250, IP33251, IP33255, IP33254, использованные и в настоящей работе, и в исследовании R. Laukkanen-Ninios *et al.* [3]. Штаммы, выделенные в Ставропольском крае и Ленинградской области, были нами отнесены к ST19, так же как и в ранее выполненном исследовании [7]. Два штамма *Y. pseudotuberculosis*, выделенные в 1975 г., и штамм из Ростова-на-Дону имели генотип ST43, как и в работе других авторов [8]. Программа MLST-типер корректно работала также и по отношению к зарубежным штаммам, сиквенс-тип которых был известен. Также отмечено, что на территории России как минимум циркулируют штаммы 2, 9, 19, 26, 32, 42, 43 ST-типов. В более раннем исследовании описаны также штаммы, имеющие ST 3, 14, 48, 64 [3].

Для выяснения филогенетических связей исследованных штаммов полученные в MLST результаты проанализированы с помощью авторской программы «Астролябия» при использовании метода UPGMA. В результате анализа 80 штаммов, которые включали все штаммы, выделенные в России, а также зарубежные штаммы со сходными ST-типами, построено филогенетическое дерево (рис. 1). При изучении филогенетических связей, представленных в дендрограмме, выявлены определенные закономерности.

Большинство российских штаммов распределились в кластер, объединяющий штаммы ST2-типа. Кроме российских штаммов в этот генотип вошли штаммы из Украины, Германии и Японии. Один

из кластеров содержал штаммы двух генетических групп ST26- и ST32-типов. Штаммы, относящиеся к ST-типам 26, 32, встречаются в основном на территории России, а штаммы ST2-типа кроме России еще выделены в Японии, Германии и на Украине. ST42 был представлен штаммами из Франции, Англии, Канады, Украины и двумя штаммами из России. Группа генотипа ST43 включала штаммы в основном серотипа O:1b и состояла, так же как и предыдущая, из штаммов, выделенных в Европе. Можно сказать, что в группах ST42 и ST43 находятся штаммы «европейского» типа, тогда как в кластере ST2 объединены штаммы, выделенные преимущественно в азиатской части России. Последние в дендрограмме кластеры содержали штаммы трех MLST-генотипов. Один кластер ST9 содержал один штамм российского происхождения, а также штаммы, выделенные в Италии, Германии, Турции, Японии. Все штаммы из этого кластера имели серотип O:1a. Другой кластер содержал генотипы ST19 и ST50. Генетическая группа ST19 состояла из штаммов O:3 или неизвестных серотипов из России, а также из штаммов, выделенных в ЮАР, Северной и Южной Америке. Вторая группа этого кластера включала штаммы ST50-типа. Она содержала один штамм из Туркменистана и один из Индии.

Полученные результаты генетической дифференциации штаммов *Y. pseudotuberculosis* с помощью MLST сравнили с результатами INDEL-типирования, которое было проведено при использовании тех же штаммов [4]. Сравнение результатов показало, что штаммы одного INDEL-типа могли быть разделены с помощью MLST-анализа на два или три ST-генотипа (рис. 2). Примером генетической дифференциации с помощью двух методов может служить сравнение результатов генотипирования двух штам-

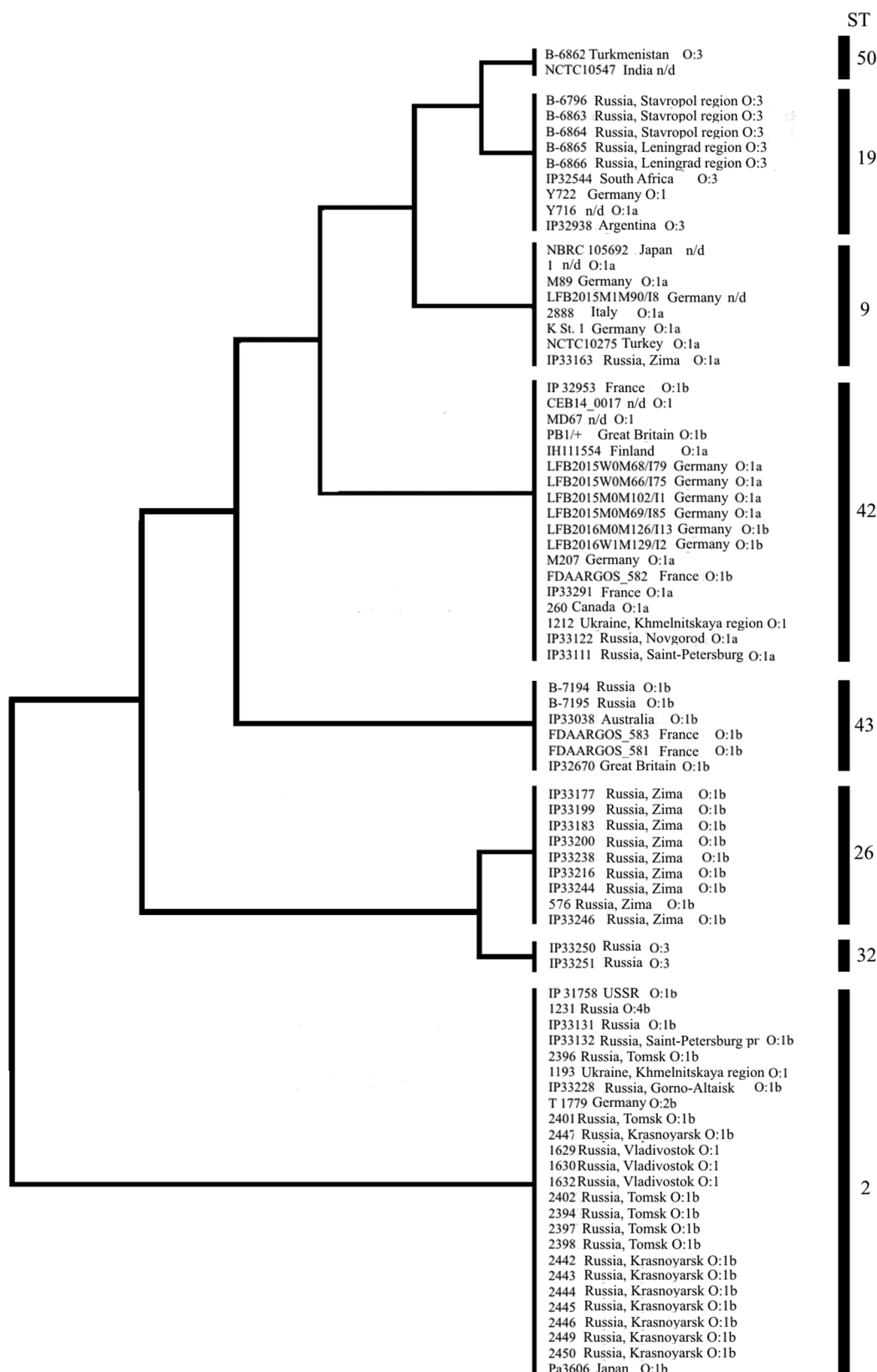


Рис. 1. Филогенетическое дерево, основанное на результатах MLST-анализа 80 штаммов *Y. pseudotuberculosis*, построенное с помощью авторской программы «Астролэбия» при использовании метода невзвешенного попарного среднего

Fig. 1. A phylogenetic tree based on the results of MLST analysis of 80 strains of *Y. pseudotuberculosis*, constructed using the author "Astrolabe" program and the unweighted pairwise mean method

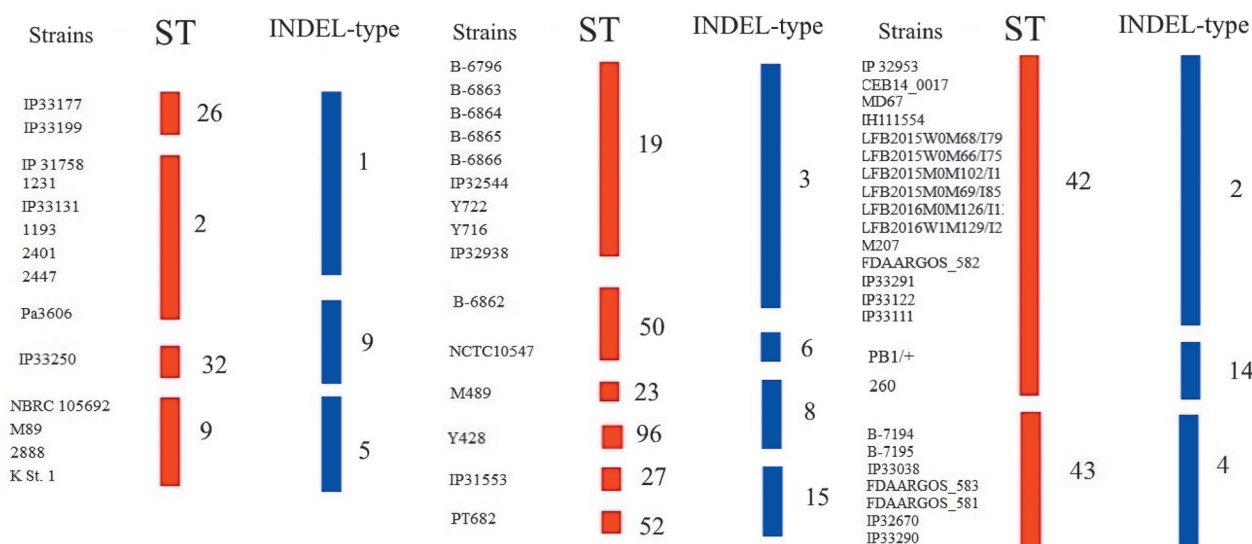


Рис. 2. Сравнение результатов MLST и INDEL-типирования штаммов *Y. pseudotuberculosis* с помощью графического обозначения генотипов. Красным выделены группы штаммов с различным ST, синим цветом – группы штаммов различных INDEL-генотипов. Для наглядности и компактности некоторые геногруппы представлены не всеми использованными штаммами

Fig. 2. Comparison of the results of MLST and INDEL typing of *Y. pseudotuberculosis* strains using graphical genotype notation. Groups of strains with different ST are highlighted in red, and groups of strains of different INDEL genotypes are highlighted in blue. For clarity and compactness, some gene groups are not represented by all the strains used

мов: *Y. pseudotuberculosis* B-6862, выделенного в Туркменистане, и *Y. pseudotuberculosis* NCTC10547, выделенного в Индии.

Анализ с помощью MLST показал, что из всех штаммов только эти два имеют генотип ST50. Если MLST не позволило провести генетическую дифференциацию этих штаммов, то INDEL-типирование разделило эти штаммы на разные генотипы. Штаммы B-6862 и NCTC10547 попали в генетические группы штаммов с INDEL-типом 3 и 6 соответственно. Данный пример говорит о взаимодополняемости INDEL-типирования и MLST, что может помочь исследователям при необходимости дифференциации конкретных изолятов. Сравнивая результаты INDEL- и MLST-типирования штаммов, выделенных во время вспышек 2021 г. в Красноярске и Томске, можно отметить, что все штаммы относятся к одному ST2-типу и одному INDEL1-типу. Различить штаммы двух вспышек с помощью этих методов не представляется возможным.

Ранее было высказано предположение, что штаммы *Y. pseudotuberculosis* ST2-типа имеют в своем составе плазмиду pVM82 [9–11]. При анализе двух вспышек в Красноярске и Томске обнаружено, что отличие штаммов из этих очагов заключалось в отсутствии плазмиды pVM82 у томских штаммов (табл. 1). Этот факт свидетельствовал о том, что не всегда плазмидный состав одинаков у штаммов, имеющих генотип ST2. Ретроспективный анализ штаммов генотипа ST2 показал, что отсутствием плазмиды pVM82 отличались также и штаммы, выделенные в Горно-Алтайске в 1993 г. и Новом Уренгое в 2007 г., тогда как штаммы из Владивостока и Санкт-Петербурга содержали плазмиду в геноме.

Таким образом, результаты исследования показали, что способ MLST может быть использован

для внутривидовой генетической дифференциации штаммов *Y. pseudotuberculosis* российского происхождения, как вновь выделенных, так и штаммов, полученных из коллекций патогенных микроорганизмов для ретроспективного анализа. Данные MLST-типирования российских штаммов возбудителя псевдотуберкулеза, полученные с помощью программы MLSTtyper, совпадают с данными по ряду штаммов, которые были типированы методом MLST в более ранних работах.

MLST-анализ позволил выявить среди использованных в работе штаммов ST-типы, которые циркулировали на территории России. Всего таких генотипов в нашем исследовании и в работе [3] выявлено одиннадцать: 2, 3, 9, 14, 19, 26, 32, 42, 43, 48, 64. Установлено также, что штаммы ST-типов 26 и 32 встречаются только на территории России, штаммы ST2 обнаруживаются в России, на Украине, в Германии и Японии, штаммы других ST-типов распространены и в России, и в Европе и встречаются на других континентах.

Использование программы MLSTtyper позволило также среди штаммов, числящихся в базе данных NCBI как штаммы возбудителя чумы – *Y. pestis*, выявить штамм *Y. pseudotuberculosis*. Этот факт выяснился при типировании 600 штаммов *Y. pestis*, нуклеотидные последовательности которых находятся в интернет-базах данных. Среди всех исследованных штаммов *Y. pestis* выявлен один штамм MGYG-HGUT-02476, имеющий генотип ST2 (табл. 2).

Генотип ST2 может быть только у штаммов *Y. pseudotuberculosis*. Более детальное изучение генетических свойств спорного штамма показало, что при проведении ПЦР *in silico* с использованием специфических праймеров для штаммов возбудителя псевдотуберкулеза “IS” получен положительный ре-

Таблица 2 / Table 2

Результаты генотипирования штаммов *Y. pestis* методом MLST
Results of genotyping of *Y. pestis* strains by MLST method

Название штамма Strain	ST	Типы генов «домашнего хозяйства» Types of housekeeping genes						
		<i>adk</i>	<i>argA</i>	<i>aroA</i>	<i>glnA</i>	<i>thrA</i>	<i>tmk</i>	<i>trpE</i>
MGJZ7	90	1	2	1	2	5	2	10
MGJZ9	90	1	2	1	2	5	2	10
MGYG-HGUT-02476	2	1	2	1	6	8	3	2
NCTC144	90	1	2	1	2	5	2	10
NCTC5923	90	1	2	1	2	5	2	10

зультат, при использовании специфических для чумы праймеров vlm12 [12] результат был отрицательным. Кроме того, проведен анализ нуклеотидных последовательностей исследуемого штамма с помощью программы YersiniaPestisAnalyzer. В базе данных этой программы заложены специфические референсные последовательности штаммов чумы, псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза. Программа позволяет проводить сравнение и идентификацию указанных видов с помощью этих последовательностей. Программа YersiniaPestisAnalyzer определила, что штамм MGYG-HGUT-02476 относится к виду *Y. pseudotuberculosis*.

Паспортные данные штамма *Y. pestis* MGYG-HGUT-02476 (NZ_CABMLZ010000001) нам недоступны, но есть данные при описании штамма в NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/biosample/SAMEA5851981>). В описании указано, что штамм является российским. Это хорошо согласуется с тем, что штаммы генотипа ST2 встречаются преимущественно на территории России. В дальнейшем выяснено, что штамм *Y. pestis* MGYG-HGUT-02476 ранее уже был идентифицирован в качестве штамма *Y. pseudotuberculosis* [13], однако в базе данных NCBI он продолжает числиться как штамм, относящийся к виду *Y. pestis*.

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют, что MLST-типирование штаммов *Y. pseudotuberculosis* обладает большей внутривидовой дифференцирующей способностью по сравнению с методами генотипирования, не требующими определения структуры генома и основанными на использовании ПЦР-анализа. Вместе с тем в ряде случаев способ INDEL-типирования может дополнять другой способ типирования и разделять штаммы одной генетической группы. Для более полной генетической характеристики штаммов необходимо использование нескольких методов генотипирования.

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

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии дополнительного финансирования при проведении данного исследования.

Список литературы

1. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2022 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 2023. 256 с.
2. Duan R., Liang J., Shi G., Cui Z., Hai R., Wang P., Xiao Y., Li K., Qiu H., Gu W., Du X., Jing H., Wang X. Homology analysis of pathogenic *Yersinia* species *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis*, and *Yersinia pestis* based on multilocus sequence typing. *J. Clin. Microbiol.* 2014; 52(1):20–9. DOI: 10.1128/JCM.02185-13.
3. Laukkanen-Ninios R., Didelot X., Jolley K.A., Morelli G., Sangal V., Kristo P., Brehony C., Imori P.F., Fukushima H., Siitonen A., Tseneva G., Voskressenskaya E., Falcao J.P., Korkeala H., Maiden M.C., Mazzoni C., Carniel E., Skurnik M., Achtman M. Population structure of the *Yersinia pseudotuberculosis* complex according to multilocus sequence typing. *Environ. Microbiol.* 2011; 13(12):3114–27. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2011.02588.x.
4. Трухачев А.Л., Мелоян М.Г., Воскресенская Е.А., Водопьянов А.С., Водопьянов С.О., Подладчиков О.Н., Писанов Р.В., Чеснокова М.В., Рыкова В.А., Кузнецова Д.А., Климов В.Т., Кокорина Г.И., Богумильчик Е.А. INDEL-типирование штаммов *Yersinia pseudotuberculosis*. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022; 4:102–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-4-102-109.
5. Водопьянов А.С., Трухачев А.Л., Подладчиков О.Н., Писанов Р.В. ContigSearcher – программа для анализа результатов полногеномного секвенирования, определения наличия последовательностей различных генов в контигах, полученных при секвенировании, выявления INDEL-мутаций. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2018611348 от 01.02.2018.
6. Bogdanovich T., Carniel E., Fukushima H., Skurnik M. Use of O-antigen gene cluster-specific PCRs for the identification and O-genotyping of *Yersinia pseudotuberculosis* and *Yersinia pestis*. *J. Clin. Microbiol.* 2003; 41(11):5103–12. DOI: 10.1128/JCM.41.11.5103-5112.2003.
7. 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):e00122-13. DOI: 10.1128/genomeA.00122-13.
8. Blouin Y., Platonov M.E., Pourcel C., Evseeva V.V., Afanas'ev M.V., Balakhonov S.V., Anisimov A.P., Vergnaud G. Draft genome sequences of two *Yersinia pseudotuberculosis* ST43 (O:1b) strains, B-7194 and B-7195. *Genome Announc.* 2013; 1(4):e00510-13. DOI: 10.1128/genomeA.00510-13.
9. Тимченко Н.Ф., Ермолаева С.А., Адгамов Р.Р., Кузнецова Н.А., Шубин Ф.Н. Возбудитель дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки – клон *Yersinia pseudotuberculosis*. *Национальные приоритеты России*. 2011; 2:176.
10. Сомова Л.М., Тимченко Н.Ф., Ляпун И.Н., Дробот Е.И. Основные итоги изучения дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки как особого клинико-эпидемиологического проявления псевдотуберкулеза (Обзор комплексных исследований). *Здоровье населения и среда обитания – ЗНСО*. 2021; 5:39–45. DOI: 10.35627/2219-5238/2021-338-5-39-45.
11. Timchenko N.F., Adgamon R.R., Popov A.F., Psareva E.K., Sobyatin K.A., Gintsburg A.L., Ermolaeva S.A. Far East scarlet-like fever caused by a few related genotypes of *Yersinia pseudotuberculosis*, Russia. *Emerg. Infect. Dis.* 2016; 22(3):503–6. DOI: 10.3201/eid2203.150552.
12. Трухачев А.Л., Иванова В.С., Арсеньева Т.Е., Лебедева С.А., Гончаренко Е.В. Поиск праймеров на основе хромосомной ДНК *Yersinia pestis* для эффективной ПЦР-идентификации типичных и атипичных штаммов возбудителя чумы. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2008; 12:49–52.

13. Chen G., Lyu Y., Wang D., Zhu L., Cao S., Pan C., Feng E., Zhang W., Liu X., Cui Y., Wang H. Obtaining specific sequence tags for *Yersinia pestis* and visually detecting them was using the CRISPR-Cas12a system. *Pathogens*. 2021; 10(5):562. DOI: 10.3390/pathogens10050562.

References

1. [On the State of Sanitary and Epidemiological Welfare of the Population in the Russian Federation in 2022: State Report]. Moscow: Federal Service for Surveillance on Consumers Rights Protection and Human Well-being; 2023. 256 p.

2. Duan R., Liang J., Shi G., Cui Z., Hai R., Wang P., Xiao Y., Li K., Qiu H., Gu W., Du X., Jing H., Wang X. Homology analysis of pathogenic *Yersinia* species *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis*, and *Yersinia pestis* based on multilocus sequence typing. *J. Clin. Microbiol.* 2014; 52(1):20–9. DOI: 10.1128/JCM.02185-13.

3. Laukkanen-Ninios R., Didelot X., Jolley K.A., Morelli G., Sangal V., Kristo P., Brehony C., Imori P.F., Fukushima H., Siitonen A., Tseneva G., Voskresenskaya E., Falcao J.P., Korkeala H., Maiden M.C., Mazzoni C., Carniel E., Skurnik M., Achtman M. Population structure of the *Yersinia pseudotuberculosis* complex according to multilocus sequence typing. *Environ. Microbiol.* 2011; 13(12):3114–27. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2011.02588.x.

4. Trukhachev A.L., Meloyan M.G., Voskresenskaya E.A., Vodopyanov A.S., Vodopyanov S.O., Podladchikova O.N., Pisanov R.V., Chesnokova M.V., Rykova V.A., Kuznetsova D.A., Klimov V.T., Kokorina G.I., Bogumilchik E.A. [INDEL-typing of *Yersinia pseudotuberculosis* strains]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; (4):102–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-4-102-109.

5. Vodopyanov A.S., Trukhachev A.L., Podladchikova O.N., Pisanov R.V. [ContigSearcher is a program for analyzing the results of genome-wide sequencing, determining the presence of sequences of various genes in the contigs obtained during sequencing, detecting INDEL mutations]. Certificate of state registration of the computer program No. 2018611348 dated 02/01/2018.

6. Bogdanovich T., Carniel E., Fukushima H., Skurnik M. Use of O-antigen gene cluster-specific PCRs for the identification and O-genotyping of *Yersinia pseudotuberculosis* and *Yersinia pestis*. *J. Clin. Microbiol.* 2003; 41(11):5103–12. DOI: 10.1128/JCM.41.11.5103-5112.2003.

7. 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):e00122-13. DOI: 10.1128/genomeA.00122-13.

8. Blouin Y., Platonov M.E., Pourcel C., Evseeva V.V., Afanas'ev M.V., Balakhonov S.V., Anisimov A.P., Vergnaud G. Draft genome sequences of two *Yersinia pseudotuberculosis* ST43 (O:1b) strains, B-7194 and B-7195. *Genome Announc.* 2013; 1(4):e00510-13. DOI: 10.1128/genomeA.00510-13.

9. Timchenko N.F., Ermolaeva S.A., Adgamov R.R., Kuznetsova N.A., Shubin F.N. [The causative agent of Far Eastern scarlet fever is a clone of *Yersinia pseudotuberculosis*]. *Natsional'nye Prioritety Rossii [National Priorities of Russia]*. 2011; (2):176.

10. Somova L.M., Timchenko N.F., Lyapun I.N., Drobot E.I. [Main results of the research on the Far Eastern scarlet-like fever as a specific clinical and epidemic manifestation of pseudotuberculosis: a review of comprehensive studies]. *Zdorov'e Naseleniya i Sreda Obitaniya. [Public Health and Life Environment]*. 2021; (5):39–45. DOI: 10.35627/2219-5238/2021-338-5-39-45.

11. Timchenko N.F., Adgamov R.R., Popov A.F., Psareva E.K., Sobyenin K.A., Gintsburg A.L., Ermolaeva S.A. Far East scarlet-like fever caused by a few related genotypes of *Yersinia pseudotuberculosis*, Russia. *Emerg. Infect. Dis.* 2016; 22(3):503–6. DOI: 10.3201/eid2203.150552.

12. Trukhachev A.L., Ivanova V.S., Arsenyeva T.Ye., Lebedeva S.A., Goncharenko Ye.V. [Search for primers based on *Yersinia pestis* chromosomal DNA for the most effective PCR identification of typical and atypical strains of the plague pathogen]. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika [Clinical Laboratory Diagnostics]*. 2008; (12):49–52.

13. Chen G., Lyu Y., Wang D., Zhu L., Cao S., Pan C., Feng E., Zhang W., Liu X., Cui Y., Wang H. Obtaining specific sequence tags for *Yersinia pestis* and visually detecting them was using the CRISPR-Cas12a system. *Pathogens*. 2021; 10(5):562. DOI: 10.3390/pathogens10050562.

Authors:

Meloyan M.G., Vodopyanov A.S., Pisanov R.V., Trukhachev A.L. Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute. 117/40, M. Gorky St., Rostov-on-Don, 344002, Russian Federation. E-mail: plague@aaanet.ru.

Voskresenskaya E.A., Kokorina G.I., Bogumil'chik E.A. Pasteur St. Petersburg Research Institute of Epidemiology and Microbiology. 14, Mira St., St. Petersburg, 197101, Russian Federation. E-mail: pasteur@pasteurorg.ru.

Chesnokova M.V., Klimov V.T. Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and the Far East. 78, Trilissera St., Irkutsk, 664047, Russian Federation. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.

Peretolchina N.P. Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and the Far East; 78, Trilissera St., Irkutsk, 664047, Russian Federation; e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru. Irkutsk State Medical University; 1, Krasnogo Vosstaniya St., Irkutsk, 664003, Russian Federation.

Об авторах:

Мелоян М.Г., Водопьянов А.С., Писанов Р.В., Трухачев А.Л. Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 344002, Ростов-на-Дону, ул. М. Горького, 117/40. E-mail: plague@aaanet.ru.

Воскресенская Е.А., Кокорина Г.И., Богумильчик Е.А. Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера. Российская Федерация, 197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14. E-mail: pasteur@pasteurorg.ru.

Чеснокова М.В., Климов В.Т. Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока. Российская Федерация, 664047, Иркутск, ул. Трилиссера, 78. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.

Перетолчина Н.П. Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока; Российская Федерация, 664047, Иркутск, ул. Трилиссера, 78; e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru. Иркутский государственный медицинский университет; Российская Федерация, 664003, Иркутск, ул. Красного Восстания, 1.