

Пробл. особо опасных инф. 2017; 4:45–49. DOI: 10.21055/0370-1069-2017-4-45-49

УДК 616.98:579.842.23(597)

Л.М.Куклева, К.А.Никифоров, Ж.В.Альхова, Н.И.Романов, Н.Ю.Носов, А.В.Фадеева,  
А.Н.Малахаева, Н.А.Шарапова, З.Л.Девдариани, Ю.А.Попов, Г.А.Ерошенко

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ШТАММОВ ВОЗБУДИТЕЛЯ ЧУМЫ, ВЫДЕЛЕННЫХ ВО ВЬЕТНАМЕ

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

**Цель работы** состояла в изучении фенотипических, молекулярно-генетических особенностей и полногеномном секвенировании штаммов *Y. pestis*, выделенных во Вьетнаме. **Материалы и методы.** В работе изучены фенотипические и генотипические особенности 20 штаммов возбудителя чумы, выделенных в разных провинциях Вьетнама. Проведен SNP-анализ этих штаммов, секвенированы геномы 8 штаммов *Y. pestis*. **Результаты и выводы.** По результатам изучения дифференциальных биохимических признаков все изученные штаммы отнесены к восточному биовару основного подвида возбудителя чумы, что подтверждено наличием маркерной для восточного биовара indel мутации – делеции размером 93 п.н. в гене *glpD*. Изучен плазмидный состав штаммов. На основании проведенного секвенирования геномов и SNP-анализа установлена принадлежность 19 из 20 изученных штаммов к филогенетической линии 1.ORI2v, родственной штаммам, выделенным в провинции Юньнань в Китае, что свидетельствует об их общем происхождении. Найден маркерный SNP и разработан способ SNP-типирования штаммов 1.ORI2v из Вьетнама.

**Ключевые слова:** возбудитель чумы, очаги чумы Вьетнама, штаммы, филогения.

Корреспондирующий автор: Куклева Любовь Михайловна, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

L.M.Kukleva, K.A.Nikiforov, Zh.V.Al'khova, N.I.Romanov, N.Yu.Nosov, A.V.Fadeeva, A.N.Malakhaeva,  
N.A.Sharapova, Z.L.Devdariani, Yu.A.Popov, G.A.Eroshenko

## Molecular-Genetic and Phenotypic Peculiarities of Plague Agent Strains Isolated in Vietnam

Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation

**Objective** of the study is to investigate phenotypic and molecular-genetic features and perform whole genome sequencing of *Y. pestis* strains isolated in Vietnam. **Materials and methods.** Studied were phenotypic and genotypic peculiarities of 20 plague agent strains isolated in different prefectures of Vietnam. Carried out was SNP-analysis of the strains, sequenced were genomes of 8 *Y. pestis* strains. **Results and conclusions.** Based on the results of studies of differential biochemical characteristics all the investigated strains were attributed to oriental biovar of the main subspecies of plague agent, which was confirmed by the presence of marker indel mutation – deletion of 93 bps in *glpD* gene. Investigated was also the plasmid composition of the strains. On the basis of the conducted genome sequencing and SNP-analysis appurtenance of 19 out of 20 strains under examination was determined. They belong to 1.ORI2v phylogenetic branch, relative to the strains isolated in Yunnan Province, China, which points to their common origin. Identified was a marker SNP and developed the method of SNP-typing for 1.ORI2v strains from Vietnam.

**Key words:** plague agent, plague foci of Vietnam, strains, phylogeny.

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

**Funding:** The authors received no specific funding for this work.

**Corresponding author:** Lubov M. Kukleva, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

**Citation:** Kukleva L.M., Nikiforov K.A., Al'khova Zh.V., Romanov N.I., Nosov N.Yu., Fadeeva A.V., Malakhaeva A.N., Sharapova N.A., Devdariani Z.L., Popov Yu.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. (In Russ.). DOI: 10.21055/0370-1069-2017-4-45-49

Третья пандемия чумы началась в Китае в провинции Юньнань в 1855 г. и к концу XIX – началу XX веков охватила более 80 крупнейших морских и речных портов мира, а во многих странах проникла вглубь континентов [11]. Хотя Вьетнам имеет на севере границу с провинцией Юньнань в Китае, все же предполагается, что во Вьетнам возбудитель чумы попал морским путем с синантропными крысами. Впервые чума была зарегистрирована во Вьетнаме в 1898 г. в порту г. Нячанга. Далее происходило распространение чумы вдоль морского побережья и закрепление ее в глубинных районах страны [11, 18]. В 1943 г. возбудитель проник вглубь страны на плато

Тайнгуен, расположенном в центральном высокогорном районе.

Особенностью чумы во Вьетнаме было проявление болезни в виде спорадических случаев или острых кратковременных вспышек, причем в подавляющем большинстве случаев болезнь протекала в бубонной форме. Редко отмечали вторично-легочную и септическую формы. Вспышки чумы во Вьетнаме регистрировали с некоторыми перерывами с 1898 по 2002 год [2, 5]. Случаи легочной чумы отмечали в 1911, 1915, 1925 и 1965 гг. [5, 18]. В северной части страны спорадические заболевания и вспышки чумы отмечали с 1909 по 1922 год. После 1922 г. информации о новых

заболеваниях на севере страны не поступало.

С 1997 по 2002 год в стране зарегистрировано 472 случая заболевания чумой, из которых 24 (5,1 %) – летальные. В это время основной очаг чумы был в Центральном высокогорном районе [16]. Пики заболеваемости наблюдали во время сухих сезонов, 63 % случаев происходило с февраля по апрель. Начиная с 2003 г. данные о заболеваемости чумой во Вьетнаме отсутствуют.

Изучение чумных эпизоотий во Вьетнаме позволило сделать заключение, что очаги чумы Вьетнама относятся к антропогенным, сформировавшимся в населенных пунктах в процессе хозяйственной деятельности людей. Сельскохозяйственная зона вокруг населенных пунктов является тем местом, где может происходить перенос возбудителя блохами *Xenopsylla cheopis* из популяции синантропных крыс диким млекопитающим [7].

Штаммы возбудителя чумы, изолированные на территории Вьетнама, принадлежат к восточному биовару основного подвида *Y. pestis*, к филогенетической ветви 1.ORI, которая появилась более 200 лет назад. Ветвь 1.ORI получила широкое распространение в результате многочисленных независимых волн иррадиации во время третьей пандемии чумы [14]. В процессе эволюции ветвь 1.ORI, ведущая свое начало от более древней ветви античного биовара 1.ANT, разделилась на три подветви: 1.ORI1, 1.ORI2 и 1.ORI3. Штаммы 1.ORI1 достигли США. Штаммы 1.ORI2 посредством множественных иррадиаций достигли Европы, Южной Америки, Африки, Юго-Восточной Азии. Третья подветвь 1.ORI3 сформировалась на о. Мадагаскар. Недавно было высказано предположение, что ветвь античного биовара 1.ANT во время второй пандемии чумы «Черная смерть» могла прокатиться по Европе до Азии и дать начало штаммам *Y. pestis* 1.ORI, вызвавшим текущую пандемию чумы [17].

Отличительной особенностью штаммов восточного биовара является отсутствие у них ферментации глицерина, что вызвано делецией в гене *glpD* глицерол-3-фосфатдегидрогеназы [15]. Следует отметить, что есть сведения о выделении на территории Вьетнама штаммов, ферментирующих глицерин, а также лишенных денитрифицирующей активности [2, 3, 6]. При изучении питательных потребностей вьетнамских штаммов установлено, что, помимо потребностей в фенилаланине, метионине и цистеине, характерных для подавляющего большинства штаммов основного подвида, они дополнительно нуждаются в глицине, аргинине и валине [2, 6]. Для вьетнамских штаммов *Y. pestis* свойственна высокая вирулентность: LD<sub>50</sub> для белых мышей составляла от 3 до 32 КОЕ, для морских свинок – 10<sup>6</sup> КОЕ [2]. Показано, что эти штаммы имеют типичный плазмидный состав, хотя у ряда изолятов выявлены криптические плазмиды различной молекулярной массы [9, 10]. A.Guiyoule *et al.* [12] установили принадлежность штаммов к двум разным риботипам. Штаммы,

выделенные до 1956 г., имели риботип E, а более поздние изоляты (1963–1996 гг.) принадлежали риботипу G независимо от региона и источника выделения (человек, грызуны, блохи). Авторы высказали предположение, что наличие двух различных риботипов у этих штаммов может свидетельствовать о нескольких эпидемических этапах распространения инфекции.

Для оценки степени генетического родства штаммов возбудителя чумы, выделенных на территории Вьетнама в 1985–1987 гг., проведено изучение их генетического полиморфизма методом MLVA [8]. Штаммы исследовали по девяти VNTR-локусам и выявили наличие среди них 16 геновариантов. Полученные данные послужили основанием для предположения о близком родстве штаммов, вызвавших эпизоотию синантропных грызунов и болезни людей во Вьетнаме в 1985–1987 гг.

В целом сведения о генетических и фенотипических особенностях штаммов *Y. pestis* из Вьетнама остаются фрагментарными. В международных генетических базах данных отсутствуют полногеномные последовательности штаммов *Y. pestis* из Вьетнама, что значительно осложняет проведение филогенетического анализа этих штаммов.

Цель настоящей работы состояла в изучении фенотипических, молекулярно-генетических особенностей и полногеномном секвенировании штаммов *Y. pestis*, выделенных во Вьетнаме.

## Материалы и методы

В работе изучено 20 штаммов *Y. pestis*, выделенных в 1964–1988 гг. на территории Вьетнама. Все штаммы получены из Государственной коллекции патогенных бактерий РосНИПЧИ «Микроб», где их хранили в лиофильно высушенном состоянии. Культивирование штаммов проводили в бульоне и на агаре LB (pH 7,2) при 28 °C в течение 24–48 ч.

Изучение культурально-морфологических и биохимических свойств штаммов, а также признаков, ассоциируемых с вирулентностью возбудителя чумы (пигментсорбция, зависимость от ионов Ca<sup>2+</sup> при 37 °C), проводили в соответствии с методами лабораторной диагностики возбудителя чумы [4]. Плазмидный состав определяли по методу S.Kado, S.Liu [13].

Выделение ДНК штаммов осуществляли с помощью набора AxyPrep bacterial genomic DNA kit (AXYGEN Biosciences, China) по инструкции производителя. Секвенирование ПЦР-фрагментов штаммов *Y. pestis* выполняли на генетическом анализаторе ABI PRISM 3500XL (Applied Biosystems, США). Полногеномное секвенирование проводили в системе Ion PGM System (Life technologies, США). Обработку данных полногеномного секвенирования осуществляли с помощью пакета программ Ion Torrent Suite software версии 5.2 и Newbler gsAssembler версии 2.6. В анализ брали нуклеотидные последо-

вательности штаммов с не менее чем 30-кратной средней глубиной прочтения.

Полногеномный SNP-анализ и поиск маркерных SNPs осуществляли в программе Wombac 2.0 на базе операционной системы BioLinux 8.0. Специфичность найденных мишеней определяли при помощи алгоритма BLAST по базе данных полногеномных последовательностей NCBI GenBank. Расчет праймеров на специфические SNPs проводили, используя программу Vector NTI v.10. Построение филогенетических деревьев по алгоритму Maximum Likelihood выполняли в программе PhyML 3.1 с использованием модели HKY85. Визуализацию результатов построения осуществляли в программе FigTree 1.4.3.

### Результаты и обсуждение

**Фенотипические особенности штаммов *Y. pestis*.** Всего в работе использовано 20 штаммов, выделенных в 1964–1988 гг. на территории Вьетнама. Изученные штаммы выделены преимущественно от людей и грызунов, а также от блох в провинциях Южного Вьетнама (Кхань Хоа, Дак Лак, Лам Донг, Кыу Лонг, Донг Най) и г. Хошимин (таблица).

Для всех использованных в работе штаммов *Y. pestis* получена характеристика по дифференциальным биохимическим признакам, что позволило определить их систематическую принадлежность в соответствии с используемыми фенотипическими схемами классификации. У всех изученных штаммов выявлено отсутствие способности к ферментации рамнозы и глицерина. Эти данные, наряду с наличием у изученных штаммов *Y. pestis* денитри-

фицирующей активности, свидетельствуют об их принадлежности к восточному биовару основного подвида. Среди изученных штаммов не выявлено изолятов, способных к ферментации глицерина и лишенных денитрифицирующей активности. У всех исследованных штаммов установлена зависимость роста от ионов кальция при 37 °С (кроме штаммов *Y. pestis* P-13229 и 78054) и способность к синтезу пестицина (за исключением штамма 78054). Все штаммы были также способны к формированию пигментированных колоний на среде с геминном, хотя гетерогенность популяций исследованных изолятов по признаку пигментсорбции варьировала от 10 до 100 % клеток. Таким образом, определение факторов вирулентности методами *in vitro* подтвердило вирулентность вьетнамских штаммов, за исключением двух изолятов, которые могли утратить признак кальцийзависимости, кодируемый плазмидой pCad, в процессе их хранения.

**Генетические особенности штаммов *Y. pestis*.** Для подтверждения принадлежности изученных штаммов к восточному биовару проведено определение наличия у них маркерной indel мутации – делеции размером 93 п.н. в гене *glpD* глицерол-3-фосфатдегидрогеназы с использованием ранее рассчитанных праймеров [1]. Выявление маркерной делеции в гене *glpD* у всех изученных нами штаммов подтвердило их принадлежность к восточному биовару.

При изучении плазмидного состава вьетнамских штаммов возбудителя чумы установлено, что подавляющее большинство из них (85 %) содержали три типичные для возбудителя чумы плазмиды – pFra (синтез капсульного антигена и мышино-

Штаммы возбудителя чумы из Вьетнама, изученные в работе

Штамм	Источник, год выделения	Филогенетическая принадлежность
P-14720 [P-27]	Человек (бубон), г. Хошимин, 7 р-н, 1989	1.ORI2v
Saigon 64-1198	Получен от проф. А. Молляре, 1964	1.ORI2v
78046	Провинция Лам Донг, г. Далат, 1977	1.ORI2v
KM 751 (79005)	Человек, провинция Лонг Ань, 1978	1.ORI2v
78054	Человек, Тхан Най, 1978	1.ORI2v
79052	Человек, г. Хошимин, 11 р-н, 1979	1.ORI2v
KM761 (76RR)	Черная крыса ( <i>R. rattus</i> ), провинция Донг Най, Ан Кунс, 1981	1.ORI1
164A	Человек, провинция Донг Най, деревня Онг, 1981	1.ORI2v
KM 715 (R.ex. 490)	Малая крыса ( <i>R. exulans</i> ), провинция Донг Най, Куби, 1981	1.ORI2v
371	Человек, провинция Донг Най, Ан Кунс, 1981	1.ORI2v
XC 84	Блоха <i>X. cheopi</i> , s1981	1.ORI2v
129 (745)	Человек (бубон), г. Хошимин, 6 р-н, 1981	1.ORI2v
203 (706)	Человек (бубон), Гекуан, 1981	1.ORI2v
C-453	Малая крыса ( <i>R. exulans</i> ), г. Хошимин, 6 р-н, 1981	1.ORI2v
RN 69	Серая крыса ( <i>R. norvegicus</i> ), 1981	1.ORI2v
P-13229	Малая крыса ( <i>R. exulans</i> ), провинция Кхань Хоа, г. Нячанг, 1985	1.ORI2v
P-13226	Человек, провинция Кхань Хоа, уезд Камрань, 1985	1.ORI2v
P-13273 [Tn770]	Человек, провинция Дак Лак, плато Тай Нгуен, 1986	1.ORI2v
140 Dalat	Провинция Лам Донг, г. Далат	1.ORI2v
P-14713 [C-778]	Серая крыса ( <i>R. norvegicus</i> ), провинция Кыу Лонг, 1988	1.ORI2v

токсина), рCad (синтез V-антигена, белков YOPs) и рPst (синтез пестицина и активатора плазминогена). Исключение составил штамм *Y. pestis* KM761, лишенный плазмиды рFra, и штаммы P-13229 и 78054, у которых отсутствовала плазида рCad. В штамме *Y. pestis* 78054 отсутствовала также плазида пестициногенности. Утрата плазмид коррелирует с отсутствием фенотипических признаков, детерминированных этими репликационными элементами.

Для установления филогенетического положения штаммов из Вьетнама нами проведено полногеномное секвенирование восьми из 20 исследованных штаммов – *Y. pestis* 78046, KM751, 78054, KM761, C-453, P-13229, P-13226 и P-13273, выделенных в разных провинциях Вьетнама в период 1977–1986 гг. преимущественно от больных людей, а также от крыс. В филогенетический анализ при построении дендрограммы включены также 22 штамма восточного биовара из различных регионов мира, полногеномные последовательности которых находятся в NCBI GenBank (рисунок).

Как следует из полученной дендрограммы, семь из восьми секвенированных штаммов вошли в подветвь 1.ORI2 восточного биовара, образовав в ней собственный подкластер, отдельный от других штаммов ветви 1.ORI2. Мы обозначили эту отдельную популяцию восточного биовара как 1.ORI2v (Vietnam). Еще один исследованный штамм – *Y. pestis* KM761, выделенный в провинции Донг Най в 1981 г., вошел в подветвь 1.ORI1 вместе со штаммом India 195, нуклеотидная последовательность которого представлена в базе данных NCBI GenBank.

Для выяснения филогенетической принадлежности остальных взятых в исследование 12 штаммов из Вьетнама нами проведен поиск полиморфных нуклеотидов и найден SNP, маркерный для штаммов популяции 1.ORI2v. Выявленный SNP расположен в

гене YPO1896 (G → A в позиции 2133712 по геному референтного штамма CO92). На участок SNP рассчитаны праймеры, имеющие следующий состав: YPO1896-S cca-tcg-ggt-tgt-ggc-aaa-t-S; YPO1896-As aac-acc-ata-gcc-aca-cca-t. Условия проведения ПЦР: 1 цикл 95 °С – 10 мин; 35 циклов: 95 °С – 15 с, 60 °С – 30 с, 72 °С – 15 с. Полученные в ПЦР фрагменты секвенировали и определяли наличие в полученной последовательности нуклеотидной замены. В результате установлено, что все 12 штаммов содержали маркерную SNP, специфичную для популяции 1.ORI2v. Таким образом, из 20 исследованных штаммов, выделенных за период 1964–1988 гг. во Вьетнаме, 19 принадлежали к одной популяции штаммов восточного биовара – 1.ORI2v. Это означает, что в этот временной промежуток в разных провинциях Вьетнама были распространены штаммы одной филогенетической линии 1.ORI2v. Штамм *Y. pestis* KM761, вошедший в подветвь 1.ORI1 вместе со штаммом *Y. pestis* India 95, может представлять однократный завоз чумы из другого региона.

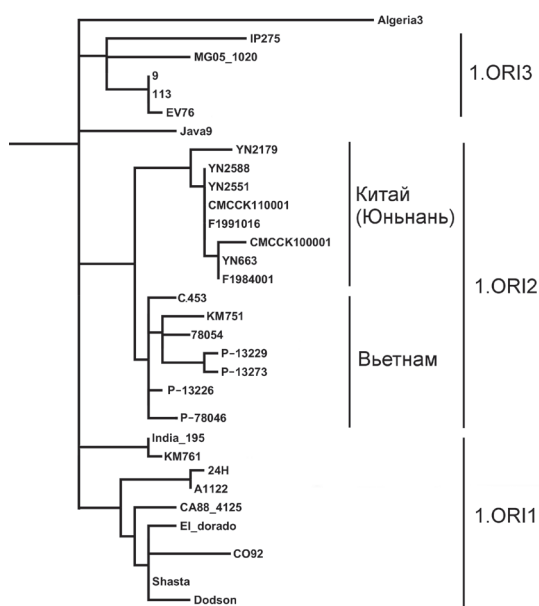
Анализ дендрограммы показал, что штаммы популяции 1.ORI2v филогенетически наиболее близки к штаммам из провинции Юньнань в Китае. Обе популяции представляют два родственных, но отдельных кластера подветви 1.ORI2 и, следовательно, имеют общее происхождение. Это означает, что чума могла быть завезена во Вьетнам в начале третьей пандемии из провинции Юньнань в Китае.

Таким образом, полученные результаты изучения фенотипических и молекулярно-генетических особенностей штаммов *Y. pestis* из Вьетнама свидетельствуют об их принадлежности к восточному биовару основного подвида. Нами впервые проведен филогенетический анализ штаммов *Y. pestis* из Вьетнама, по данным полногеномного секвенирования этих штаммов. Установлено, что штаммы, циркулировавшие во Вьетнаме в 1964–1988 гг., принадлежали к одной филогенетической ветви, обозначенной нами как 1.ORI2v, близкородственной штаммам из провинции Юньнань в Китае. Разработан способ SNP-типирования штаммов этой ветви, который может быть использован при дальнейшем анализе популяционной структуры и филогении штаммов из Вьетнама, а также других штаммов ветви 1.ORI2.

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

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ерошенко Г.А., Одинокоев Г.Н., Куклева Л.М., Павлова А.И., Краснов Я.М., Шавина Н.Ю., Гусева Н.П., Виноградова Н.А., Кутырев В.В. Стандартный алгоритм молекулярного типирования штаммов *Yersinia pestis*. *Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол.* 2012; 3:25–35.
2. Касьян А.Ф., Дао Суан Винь, Бобров А.Г. Характеристика некоторых биологических свойств штаммов возбудителя чумы, циркулирующих во Вьетнаме. В кн.: Экологические и эпизоотологические аспекты чумы во Вьетнаме. М.-Хошимин-Буонматхуот; 2003. С 96–8.
3. Куклев Е.В., Куклева Л.М., До Тхунг. Характеристика штаммов чумного микроба, выделенных на плато ТайНгуиен (Вьетнам) в 1990 году. В кн.: Тропцентр-91. М.; 1992. С. 253–5.



Филогенетический анализ изученных штаммов *Yersinia pestis*, выделенных на территории Вьетнама

4. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Лабораторная диагностика особо опасных инфекционных болезней. М.: ЗАО «Шико»; 2013. 560 с.
5. Слудский А.А., Ли Тхи Ви Хьонг, 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 Тайнгун. В кн.: Экологические и эпизоотологические аспекты чумы во Вьетнаме. М.-Хошимин-Буонматхуот; 2003. С. 10–2.
6. Сулейменов Б.М., Дао Суан Винь, Касьян А.Ф., До Тхунг, Нгуен Ай Фьонг. Энзоотия и эпизоотия чумы. Алматы: Эверо; 2015. 514 с.
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. *Пробл. особо опасных инф.* 2014; 4:29–35.
8. Сучков И.Ю., Водопьянов А.С., Водопьянов С.О., Арутюнов Ю.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.
9. Филиппов А.А., Солодовников Н.С., Куклева Л.М., Прощенко О.А. Изучение плазмидного состава штаммов возбудителя чумы из разных природных очагов. *Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол.* 1992; 3:10–3.
10. 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 инф. болезней. Саратов; 1994. С. 173.
11. Cavanaugh D., Dangerfield H., Hunter D., Joy J., Marshall J., Quy D., Vivona S., Winter E. Some observations on the current plague outbreak in the Republic of Vietnam. *Amer. J. Public. Health.* 1968; 58(4):42–52.
12. Guiyoule A., Grimont F., Iteman I., Grimont P., Lefèvre M., Carniel E. Plague pandemics investigated by ribotyping of *Yersinia pestis* strains. *J. Clin. Microbiol.* 1994; 32(3):634–41.
13. Kado C., Liu S. Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids. *J. Bacteriol.* 1981; 145(3):365–73.
14. 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.
15. Motin V., Georgescu A., Elliott J., Hu P., Worsham P., Ott L., Slezak T., Sokhansanj B., Regala W., Brubaker 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.
16. Pham H., Dang D., Tran Minh N., Nguyen N., Nguyen T. 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.
17. Spyrou M., Tukhbatova R., Feldman M., Drath J., Kacki S., Beltrán de Heredia J., Arnold S., Sitdikov A., Castex D., Wahl J., Gazimzyanov I., Nurgaliev D., Herbig A., Bos K., Krause J. Historical *Y. pestis* Genomes Reveal the European Black Death as the Source of Ancient and Modern Plague Pandemics. *Cell Host Microbe.* 2016; 19(6):874–81. DOI: 10.1016/j.chom.2016.05.012.
18. Velimirovic B. Investigations on the epidemiology and control of plague in South Vietnam. *Zentralbl. Bakteriolog. Orig. A.* 1974; 228(4):482–532.
2. Kas'yan A.F., Dao Xuan Vinh, Bobrov A.G. [Characteristics of certain biological properties of plague agent strains circulating in Vietnam]. In: [Ecological and Epizootiological Aspects of Plague in Vietnam]. М. - Ho Chi Minh - Buôn Ma Thuôt; 2003. P. 96–8.
3. Kouklev E.V., Kukleva L.M., Do Thung. [Characteristics of plague agent strains isolated on Tây Nguyên Plateau, Vietnam in 1990]. In: [Tropcenter-91]. М.; 1992. P. 253–5.
4. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., editors. [Laboratory diagnostics of particularly dangerous infectious diseases]. М.: “Shiko”; 2013. 560 p.
5. Sludsky A.A., Li Thi Vi Hyong, Kas'yan A.F., Nadg Tuan Dat, Matrosov A.N., Dao Xuan Vinh, Mayorov N.V., Suntsov V.V. [Modern epidemic activity of anthropogenic plague foci on Tây Nguyên Plateau, Vietnam]. In: [Ecological and Epizootiological aspects of Plague in Vietnam]. М. - Ho Chi Minh - Buôn Ma Thuôt; 2003. P. 10–2.
6. Suleimenov B.M., Dao Xuan Vinh, Kas'yan A.F., Do Thung, Nguyen Ai Fyong. [Enzooty and Epizooty of Plague]. Алматы: “Evero”; 2015. 514 p.
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 plague foci in Vietnam: past and present]. *Пробл. Особо Опasn. Инфek.* 2014; 4:29–35.
8. Suchkov I.Yu., Vodopyanov A.S., Vodopyanov S.O., Arutyunov Yu.I., Shishiyanu M.V., Mishan'kin B.N. [VNTR-genotypes in the collection of natural *Yersinia pestis* strains from the Republic of Vietnam]. In: [Advanced Technologies in Diagnostics of Particularly Dangerous Infections]. Saratov; 2003. P. 177–80.
9. Filippov A.A., Solodovnikov N.S., Kukleva L.M., Protsenko O.A. [Studies of plasmid composition of plague agent strains from different natural foci]. *Zh. Mikrobiol., Epidemiol. Immunobiol.* 1992; 3:10–3.
10. Shvedun G.P., Savostina E.P., Mozharov O.T., Plotnikov O.P. [Plasmid spectrum of plague microbe strains from Vietnam]. In: [Relevant Issues of Prophylaxis of Particularly Dangerous and Natural-Focal Infections]. Saratov; 1994. P. 173.
11. Cavanaugh D., Dangerfield H., Hunter D., Joy J., Marshall J., Quy D., Vivona S., Winter E. Some observations on the current plague outbreak in the Republic of Vietnam. *Amer. J. Public. Health.* 1968; 58(4):42–52.
12. Guiyoule A., Grimont F., Iteman I., Grimont P., Lefèvre M., Carniel E. Plague pandemics investigated by ribotyping of *Yersinia pestis* strains. *J. Clin. Microbiol.* 1994; 32(3):634–41.
13. Kado C., Liu S. Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids. *J. Bacteriol.* 1981; 145(3):365–73.
14. 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.
15. Motin V., Georgescu A., Elliott J., Hu P., Worsham P., Ott L., Slezak T., Sokhansanj B., Regala W., Brubaker 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.
16. Pham H., Dang D., Tran Minh N., Nguyen N., Nguyen T. 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.
17. Spyrou M., Tukhbatova R., Feldman M., Drath J., Kacki S., Beltrán de Heredia J., Arnold S., Sitdikov A., Castex D., Wahl J., Gazimzyanov I., Nurgaliev D., Herbig A., Bos K., Krause J. Historical *Y. pestis* Genomes Reveal the European Black Death as the Source of Ancient and Modern Plague Pandemics. *Cell Host Microbe.* 2016; 19(6):874–81. DOI: 10.1016/j.chom.2016.05.012.
18. Velimirovic B. Investigations on the epidemiology and control of plague in South Vietnam. *Zentralbl. Bakteriolog. Orig. A.* 1974; 228(4):482–532.

**Authors:**

Kukleva L.M., Nikiforov K.A., Al'khova Zh.V., Romanov N.I., Nosov N.Yu., Fadeeva A.V., Malakhaeva A.N., Sharapova N.A., Devdariani Z.L., Popov Yu.A., Eroshenko G.A. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

**Об авторах:**

Куклева Л.М., Никифоров К.А., Альхова Ж.В., Романов Н.И., Носов Н.Ю., Фадеева А.В., Малахаева А.Н., Шарাপова Н.А., Девдариани З.Л., Попов Ю.А., Ерошенко Г.А. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

**References**

1. Eroshenko G.A., Odinokov G.N., Kukleva L.M., Pavlova A.I., Krasnov Ya.M., Shavina N.Yu., Guseva N.P., Vinogradova N.A., Kutyrev V.V. [Standard algorithm of molecular typing of *Yersinia pestis* strains]. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 2012; 3:25–35.

Поступила 01.11.17.