ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

Бактериология, 2026, том 11, №3, с. 8–18
Bacteriology, 2026, volume 11, No 3, p. 8–18

DOI: 10.20953/2500-1027-2026-3-8-18

IS-генотипирование штаммов *Yersinia pseudotuberculosis*

А.Л.Трухачев[1], И.Н.Вострова[1], А.С.Водопьянов[1], М.Г.Мелоян[1], Е.А.Воскресенская[2], М.В.Чеснокова[3], В.Т.Климов[4], Г.И.Кокорина[2], Е.А.Богумильчик[2], Р.В.Писанов[1], С.Ю.Темякова[1], А.А.Ковалевич[1], В.А.Рыкова[1], О.Н.Подладчикова[1]

[1]ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Российская Федерация;
[2]ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Роспотребнадзора, Санкт-Петербург, Российская Федерация;
[3]ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация;
[4]ФКУЗ «Иркутский противочумный институт» Роспотребнадзора, Иркутск, Российская Федерация

Возбудитель псевдотуберкулеза *Yersinia pseudotuberculosis* является микроорганизмом, способным вызывать тяжелое инфекционное заболевание у людей. При выделении штаммов возбудителя псевдотуберкулеза из клинического материала или из объектов окружающей среды возникает необходимость определения их генотипа. Расширение спектра методов генотипирования штаммов позволяет наиболее полно оценить генетическое разнообразие *Y. pseudotuberculosis* и эффективно использовать эти данные при проведении эпидемиологического анализа. В настоящем исследовании в качестве специфических мишеней для дифференциации разных групп штаммов возбудителя псевдотуберкулеза мы использовали данные о локализации в геномах пяти IS-элементов (IS100, IS285, IS1541, IS1617, IS630). Целью работы стала разработка способа IS-генотипирования *Y. pseudotuberculosis* в полимеразной цепной реакции (ПЦР) *in vitro* и *in silico* и анализ с помощью этого метода штаммов, выделенных в разные годы на территории России. Для IS-генотипирования *Y. pseudotuberculosis* был разработан набор праймеров, выявляющих в геномах различных штаммов возбудителя псевдотуберкулеза 13 IS-маркеров. Результаты ПЦР при использовании этих праймеров и ДНК 360 штаммов *Y. pseudotuberculosis* позволили разделить все штаммы на 76 генетических групп (IS-генотипов). При этом российские штаммы попали в семь геногрупп (IS2, IS3, IS4, IS5, IS9, IS10, IS13), четыре из которых (IS2, IS3, IS5, IS10) также включали штаммы, выделенные по всему миру, а группы IS4, IS9 и IS13 состояли только из российских штаммов. Предложенный способ IS-генотипирования, обладающий высоким дискриминационным потенциалом (индекс Симпсона 0,921), может быть использован в комплексе с уже известными методами генотипирования *Y. pseudotuberculosis*.

Ключевые слова: Yersinia pseudotuberculosis, возбудитель псевдотуберкулеза, генотипирование, IS-элементы, IS-генотипирование, генетическое разнообразие

Для цитирования: Трухачев А.Л., Вострова И.Н., Водопьянов А.С., Мелоян М.Г., Воскресенская Е.А., Чеснокова М.В., Климов В.Т., Кокорина Г.И., Богумильчик Е.А., Писанов Р.В., Темякова С.Ю., Ковалевич А.А., Рыкова В.А., Подладчикова О.Н. IS-генотипирование штаммов *Yersinia pseudotuberculosis*. Бактериология. 2026; 11(3): 8–18. DOI: 10.20953/2500-1027-2026-3-8-18

IS-genotyping of *Yersinia pseudotuberculosis* strains

A.L.Trukhachev[1], I.N.Vostrova[1], A.S.Vodopyanov[1], M.G.Meloyan[1], E.A.Voskresenskaya[2], M.V.Chesnokova[3], V.T.Klimov[4], G.I.Kokorina[2], E.A.Bogumilchik[2], R.V.Pisanov[1], S.Yu.Temyakova[1], A.A.Kovalevich[1], V.A.Rykova[1], O.N.Podladchikova[1]

[1]Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor, Rostov-on-Don, Russian Federation;
[2]Pasteur Saint Petersburg Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Rospotrebnadzor, Saint Petersburg, Russian Federation;
[3]Pirogov Russian National Research Medical University of the Ministry of Health of Russia, Moscow, Russian Federation;
[4]Irkutsk Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor, Rostov-on-Don, Russian Federation

Для корреспонденции:

Трухачев Алексей Леонидович, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории природно-очаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора

Адрес: 344002, Ростов-на-Дону, ул. Максима Горького, 117/40
Телефон: (863) 240-9113
E-mail: trukhachev_al@antiplague.ru
ORCID: 0000-0002-3531-1146

For correspondence:

Aleksey L. Trukhachev, MD, PhD, Leading Researcher at the Laboratory of Natural Focal and Zoonotic Infections of the Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor

Address: 117/40 Maxim Gor'ky str., Rostov-on-Don, 344002, Russian Federation
Phone: (863) 240-9113
E-mail: trukhachev_al@antiplague.ru

Статья поступила 06.03.2026, принята к печати 30.09.2026

The article was received 06.03.2026, accepted for publication 30.09.2026

The causative agent of pseudotuberculosis, *Yersinia pseudotuberculosis*, is a microorganism capable of causing severe infectious disease in humans. When conducting laboratory studies and isolating *Y. pseudotuberculosis* strains from clinical material or from environmental objects, it becomes necessary to determine their genotype. Expanding the range of strain genotyping methods allows for a more comprehensive assessment of the genetic diversity of *Y. pseudotuberculosis* and the effective use of this data in epidemiological analysis. In this study, we used data on the localization of five IS elements (IS100, IS285, IS1541, IS1617, and IS630) in the genomes as specific targets for differentiating of pseudotuberculosis agent strains. The aim of this study was to develop a method for IS-genotyping of *Y. pseudotuberculosis* in PCR *in vitro* and *in silico*, and to use this method to analyze strains isolated in different years in Russia. For IS-genotyping of *Y. pseudotuberculosis*, a set of primers was developed that detect 13 IS-markers in the genomes of various strains of the pseudotuberculosis pathogen. The PCR results using these primers and DNA from 360 strains of *Y. pseudotuberculosis* allowed all the strains to be divided into 76 genetic groups (IS-genotypes). At the same time, Russian strains were included in 7 genogroups (IS2, IS3, IS4, IS5, IS9, IS10, IS13), four of which (IS2, IS3, IS5, IS10) also contained strains isolated worldwide, while the IS4, IS9, and IS13 groups consisted only of Russian strains. The proposed method of IS-genotyping, which has a high discriminatory potential (Simpson index of 0.921), can be used in combination with already known methods of *Y. pseudotuberculosis* genotyping.
Key words: Yersinia pseudotuberculosis, the causative agent of pseudotuberculosis, genotyping, IS elements, IS-genotyping, genetic diversity

For citation: Trukhachev A.L., Vostrova I.N., Vodopyanov A.S., Meloyan M.G., Voskresenskaya E.A., Chesnokova M.V., Klimov V.T., Kokorina G.I., Bogumilchik E.A., Pisanov R.V., Temyakova S.Yu., Kovalevich A.A., Rykova V.A., Podladchikova O.N. IS-genotyping of *Yersinia pseudotuberculosis* strains. Bacteriology. 2026; 11(3): 8–18. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2026-3-8-18

Молекулярно-генетическая характеристика вновь выявленных штаммов является одним из этапов лабораторной диагностики *Yersinia pseudotuberculosis*. Определение генетического разнообразия штаммов необходимо для характеристики природных очагов псевдотуберкулеза, установления филогенетических связей вновь выделенных штаммов, а также для эпидемиологического анализа. В настоящее время наиболее часто применяемым методом для изучения генетического разнообразия штаммов *Y. pseudotuberculosis* является выявление с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) генов вирулентности, что позволяет также оценить потенциальную опасность выделяемых штаммов. С помощью этого метода разными авторами [1–4] было выявлено от 6 до 14 генотипов возбудителя псевдотуберкулеза. Большее количество вариантов (30) было выявлено с помощью INDEL-типирования при использовании в ПЦР семи пар праймеров [5]. Более тонкая дифференциация штаммов достигается применением метода анализа мультилокусных вариабельных тандемных повторов (MLVA) [6–9], который позволяет различать даже близкородственные штаммы внутри одного очага.

В настоящее время для генетической дифференциации штаммов *Y. pseudotuberculosis* все чаще используются высокотехнологичные методы, которые требуют качественного полногеномного или фрагментарного секвенирования: типирование по единичным нуклеотидным полиморфизмам (SNP) [10, 11] и мультилокусное секвенирование-типирование (MLST) [12, 13]. Для метода MLST создана компьютерная программа (https://antiplague.ru/scientific-activity/publication/mlst), которая в режиме offline определяет ST-тип штамма путем сравнения нуклеотидных последовательностей семи генов «домашнего хозяйства» исследуемого штамма с нуклеотидными последовательностями этих генов в референтных штаммах известных ST-типов.

Расширение спектра ДНК-мишеней, используемых в различных методах, позволяет значительно повысить дискриминирующие возможности генотипирования штаммов возбудителя псевдотуберкулеза. В нескольких исследованиях в разные годы в качестве таких мишеней было предложено использовать IS-элементы. В первых работах генотипирования иерсиний проводили с помощью оценки распределения IS-элементов в хромосоме иерсиний с помощью сложного и трудновоспроизводимого метода – IS-дактилоскопии [14, 15]. Простой и доступный способ IS-генотипирования с помощью ПЦР был предложен Motin et al. [16]. В этой работе для разделения по биоварам штаммов *Yersinia pestis* и их дифференциации от штаммов *Y. pseudotuberculosis* авторы использовали данные о различных местах внедрения одного инсерционного элемента (IS100). Для усовершенствования этого способа нами предложено использовать четыре IS-элемента (IS100, IS285, IS1541, IS1661), что позволило на основе IS-маркеров провести внутривидовую дифференциацию штаммов *Y. pestis* не только по биоварам, но и по различным подвидам [17].

В настоящем исследовании мы применили аналогичный способ, при котором в качестве специфических мишеней для дифференциации разных групп штаммов возбудителя псевдотуберкулеза использовались данные о локализации в геномах пяти IS-элементов (IS100, IS285, IS1541, IS1617, IS630). Целью работы стала разработка способа IS-генотипирования *Y. pseudotuberculosis* в ПЦР *in vitro* и *in silico* и анализ с помощью этого метода штаммов, выделенных в разные годы на территории России.

Материалы и методы

Штаммы и нуклеотидные последовательности

В работе использованы 55 штаммов *Y. pseudotuberculosis*, из которых 43 выделены в различное время в России и 12 зарубежных (табл. 1). Штаммы иерсиний культивировали на плотной и жидкой среде Хоттингера (pH 7,2) и проверяли на соответствие паспортным данным по различным дифференциально-диагностическим тестам.

Все 55 штаммов были ранее секвенированы, что позволило использовать их полногеномные последовательности при биоинформатическом анализе. Применялись также сведения о 305 полных нуклеотидных последовательностях *Y. pseudotuberculosis* из различных баз данных, в которых содержалась информация о 17 штаммах, выделенных в России.

Анализ геномов *Y. pseudotuberculosis* с помощью методов биоинформатики для выявления IS-маркеров

Биоинформатический анализ проводили с помощью компьютерных программ BLAST (https://www.ncbi.nlm.nih.gov.) и Fragment Extractor 4.2.4. (https://antiplague.ru/scientific-activity/publication). Программа Fragment Extractor позволяет определять в контигах, полученных при секвенировании, наличие любых последовательностей ДНК (в т.ч. и IS-мутаций). Для филогенетического анализа различных штаммов *Y. pseudotuberculosis* были использованы компьютерные программы Mega 11 (https://www.megasoftware.net), Cytoscape v.3.10.4 (cytoscape.org) и авторская программа LocusTree. Способ анализа кластеров был основан на методе минимального остовного дерева MST (minimum spanning tree). Серопринадлежность большинства штаммов, полные нуклеотидные последовательности которых имеются в базах данных, не была известна. Для ее определения в настоящей работе использовали гено-серотипирование (ПЦР *in silico*) с праймерами, которые были разработаны для выяснения серотипов путем анализа хромосомного локуса, кодирующего синтез липополисахарида у различных штаммов псевдотуберкулезного микроба [18, 19]. При этом для части штаммов определить серотипы с помощью этого метода не удалось, поэтому для оценки связи выявленных генотипов с серопринадлежностью использовали 180 штаммов, серотип которых либо был известен, либо определен с помощью гено-серотипирования. Для филогеографического анализа из всех использованных штаммов отобраны 114, место выделения которых было известно.

Конструирование праймеров для ПЦР

Конструирование олигонуклеотидных праймеров проводилось на основе данных полногеномных нуклеотидных последовательностей разных штаммов с помощью специализированных компьютерных программ Vector NTI11 (Invitrogen) и BLAST (https://www.ncbi.nlm.nih.gov). Праймеры были синтезированы в ЗАО «Синтол» (Москва, Россия) и «Евроген» (Москва, Россия) и использованы для ПЦР *in vitro* с ДНК различных штаммов *Y. pseudotuberculosis*. Режимы постановки ПЦР с праймерами были определены в соответствии с характеристиками сконструированных олигонуклеотидов.

Таблица 1. **Штаммы *Y. pseudotuberculosis*, использованные в работе**
Table 1. ***Y. pseudotuberculosis strains used in the work***

Место выделения / *Place of isolation*	Год выделения / *Year of isolation*	Количество штаммов / *Number of strains*
Владивосток / *Vladivostok*	1965	3
Томск / *Tomsk*	2021	7
Красноярск / *Krasnoyarsk*	2021	7
Санкт-Петербург / *St. Petersburg*	2000	7
Новый Уренгой / *Novy Urengoy*	2007	5
Зима / *Zima*	1998–2000	11
Великий Новгород / *Veliky Novgorod*	Н.д.	1
Горно-Алтайск / *Gorno-Altaysk*	1993	2
Зарубежные штаммы / *Foreign strains*	1972–1990	12

Н.д. – нет данных / *Н.д. – no data*

Оценка индекса биоразнообразия при проведении IS-генотипирования

Оценку биоразнообразия при использовании IS-генотипирования проводили с помощью индекса Симпсона [20], который определяли по формуле:

$$D = 1 - \frac{1}{N\,(N-1)} \sum_{j>1}^{S} n_j\,(n_j - 1),$$

где N – всего штаммов, n_j – количество штаммов, принадлежащих n_j группе, j = 1, 2, …, S. S – число генетических групп.

Результаты исследования и их обсуждение

Для выявления IS-маркеров штаммов возбудителя псевдотуберкулеза был проведен сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей трех штаммов *Y. pseudotuberculosis* различных серотипов: *Y. pseudotuberculosis* IP32953 (серотип O:1b), *Y. pseudotuberculosis* YPIII (серотип O:3), *Y. pseudotuberculosis* PB1/+ (серотип O:1a). В исследованных локусах изучалось наличие пяти мобильных генетических элементов (IS100, IS285, IS1541, IS1617, IS630) или их остатков. В результате было обнаружено 15 локусов, содержащих IS-мутации, которые при анализе 300 штаммов из базы данных NCBI с помощью программы BLAST были специфичны для отдельных групп штаммов *Y. pseudotuberculosis*. На основании этих исследований были определены 15 IS-маркеров и сконструированы пары олигонуклеотидных праймеров для их детекции в ПЦР. Один из каждой пары праймеров был комплементарен последовательности гена, а другой – последовательности IS-элемента. При отсутствии у отдельных групп штаммов IS-элемента в анализируемом гене сконструированы праймеры, комплементарные интактному гену. Наличие IS-элемента в выявленных локусах определялось по амплификации специфического фрагмента ДНК определенной длины, синтез которого направлялся сконструированными праймерами в ПЦР (табл. 2).

Тестирование 55 штаммов в ПЦР *in vitro* и *in silico* с помощью 15 пар праймеров показало, что результаты ПЦР *in vitro* у нескольких штаммов с двумя парами праймеров (PsdT2 и PsdT12), в отличие от остальных 13, не совпадают с результатами ПЦР *in silico*. В итоге этого сравнения две пары праймеров PsdT2 и PsdT12, показавшие неоднозначные результаты, были исключены из набора праймеров.

Тестирование геномов 360 штаммов *Y. pseudotuberculosis* с помощью выбранных 13 пар праймеров в ПЦР in silico разделило штаммы по спектру амплифицированных фрагментов на 76 генетических групп. Набор 13 ПЦР-амплификатов позволял определять для каждого тестируемого штамма *Y. pseudotuberculosis* генетическую группу (IS-генотип), к которой он относится. Включение исследуемого штамма в одну из генетических групп свидетельствовало о его родстве со штаммами, находящимися в этой группе. Наибольшее число штаммов входили в генетические IS-группы 3 и 7, в которых находилось 69 и 62 штамма соответственно. Остальные 74 генетические группы включали от 23 до 1 штамма.

Оценку биоразнообразия 360 штаммов *Y. pseudotuberculosis* при IS-генотипировании проводили с помощью индекса

Таблица 2. **Праймеры, использованные для выявления IS-маркеров штаммов *Y. pseudotuberculosis*, и длина амплифицируемых фрагментов ДНК в ПЦР**
Table 2. ***Primers used to detect IS markers of Y. pseudotuberculosis strains and the length of amplified DNA fragments in PCR***

N	Пары праймеров / *Primer pairs*	Нуклеотидная последовательность праймеров (5'-3') / *Nucleotide sequence of primers (5'-3')*	Ген-мишень для праймеров (согласно *Y. pseudotuberculosis* IP32953) / *Primer target gene (according to Y. pseudotuberculosis IP32953)*	Длина фрагмента (п.н.) / *Fragment length (bp)*
1	PsdT1	F: GTTGTTCCGCGAATAAGTGT	rsoS	282
		R: TTATTATCGAGTTCGGTGACC	IS285 (транспозаза / *transposase*)	
2	PsdT2	F: CGAAACACAGAAGTTACGCG	М.п.	338
		R: CAGCCTGTTTGAGTGCAAAA	YPTB0301 (IS1617)	
3	PsdT3	F: AAAACGGTGGATCAATATTGG	YPTB1586 (IS100)	319
		R: CATGGATGAATAACCTGCTCA	М.п. до YPTB1587	
4	PsdT4	F: AAATTGTCAGTTTTGATGGCAG	Интеграза/ Integrase	366
		R: GCACGATATGATCGGAAAATAA	YPTB1877 (псевдоген / *pseudogene*)	
5	PsdT5	F: GGGCACCATGGAAAATAGTC	интеграза	140
		R: TTCACCCTCCACAAAACATG	YPTB1877 (псевдоген / *pseudogene*)	
6	PsdT6	F: AACGCAAAAACTAGCCACAC	интеграза	204
		R: CGGCGGTTAACGATATACTC	YPTB1877 (псевдоген / *pseudogene*)	
7	PsdT7	F: TGGCTGTCATACTACATGTGC	YPTB1881	138
		R: GTCACGACAGACGCGAAACT	IS1541 (транспозаза / *transposase*)	
8	PsdT8	F: CCGTACAGTCATACGTATAGTCAAA	YPTB1892	137
		R: TGACATTAAATCCAGAGCGG	М.п. после YPTB1891	
9	PsdT9	F: GGTGAGCAACTCTCGATCCC	YPTB2003 (IS1541)	259
		R: AGCCAGGGTGAAGCCAATTT	ychM	
10	PsdT10	F: CTAAGGTATAATTCTTCTCCCTCAG	YPTB2523	203
		R: ACTGAAAAAATGCAGGGGAG	YPTB2524	
11	PsdT11	F: GAAGCTAACGCGAATGATTC	YPTB2751 (IS630)	218
		R: TACTAATTCGTGCCACCGAT	YPTB2752 (IS630)	
12	PsdT12	F: CTGATAAGTGTAGGTCAGTTGGA	YPTB3255 (insA)	267
		R: CCTTGTTTAGTAGTGCAGATAATGT	YPTB3256	
13	PsdT13	F: CAATACAGAGCGCATTAGCC	YPTB3310	264
		R: AGAGAAGGCAAGGAAAACGG	М.п. до YPTB3311	
14	PsdT14	F: TTGCTAAATAACGGCTTTACTG	YPTB3934	266
		R: GCTAAGTTCAGTGGCGTTATATAA	YPTB3934	
15	PsdT15	F: GTTAGCGATGAGCCGTTTTA	YPTB3311 (IS285)	164
		R: GCCTCCTCTTTAAATGAGGA	YPTB3312	

F (Forward) – прямой праймер; R (Reverse) – обратный праймер; п.н. – пар нуклеотидов; М.п. – межгенное пространство. / *F (Forward) – forward primer; R (Reverse) – reverse primer; bp – nucleotide pairs; Mp – intergenic space*.

Симпсона, показывающего вероятность, с которой любые два случайно взятых штамма из исследуемой популяции будут иметь различные генотипы. Индекс Симпсона вычисляли для каждой пары праймеров, а также определяли для метода IS-генотипирования при использовании 13 пар праймеров (табл. 3).

Индекс Симпсона для IS-генотипирования оказался высоким – 0,921, что свидетельствует о хорошем дискриминационном потенциале метода. Величина индекса Симпсона >0,9 указывает также на достоверность полученных результатов, которая основывается на использовании для анализа достаточно большого количества объектов. При этом каждая пара праймеров разделяла все исследуемые штаммы на две группы, дающие либо положительный, либо отрицательный результат. Все полученные группы при вычислении индекса биоразнообразия для каждой пары праймеров отдельно содержали не менее трех штаммов. Значение индекса >0 отмечается при наличии в каждой из двух групп более чем одного штамма.

Филогенетические связи 360 штаммов были установлены с помощью матрицы кластеров (спектр результатов ПЦР по каждой паре праймеров) и программы LocusTree с использованием алгоритма MST. При этом программа формировала кластеры филогенетического дерева, в которые объединялись штаммы, имеющие один IS-генотип или различающиеся по одному IS-маркеру. На рис. 1 представлена MST-дендрограмма, построенная на основе анализа IS-маркеров в геномах 360 штаммов *Y. pseudotuberculosis*. Анализ распределения штаммов по генетическим кластерам с помощью программы LocusTree показал, что 48 из 60 российских

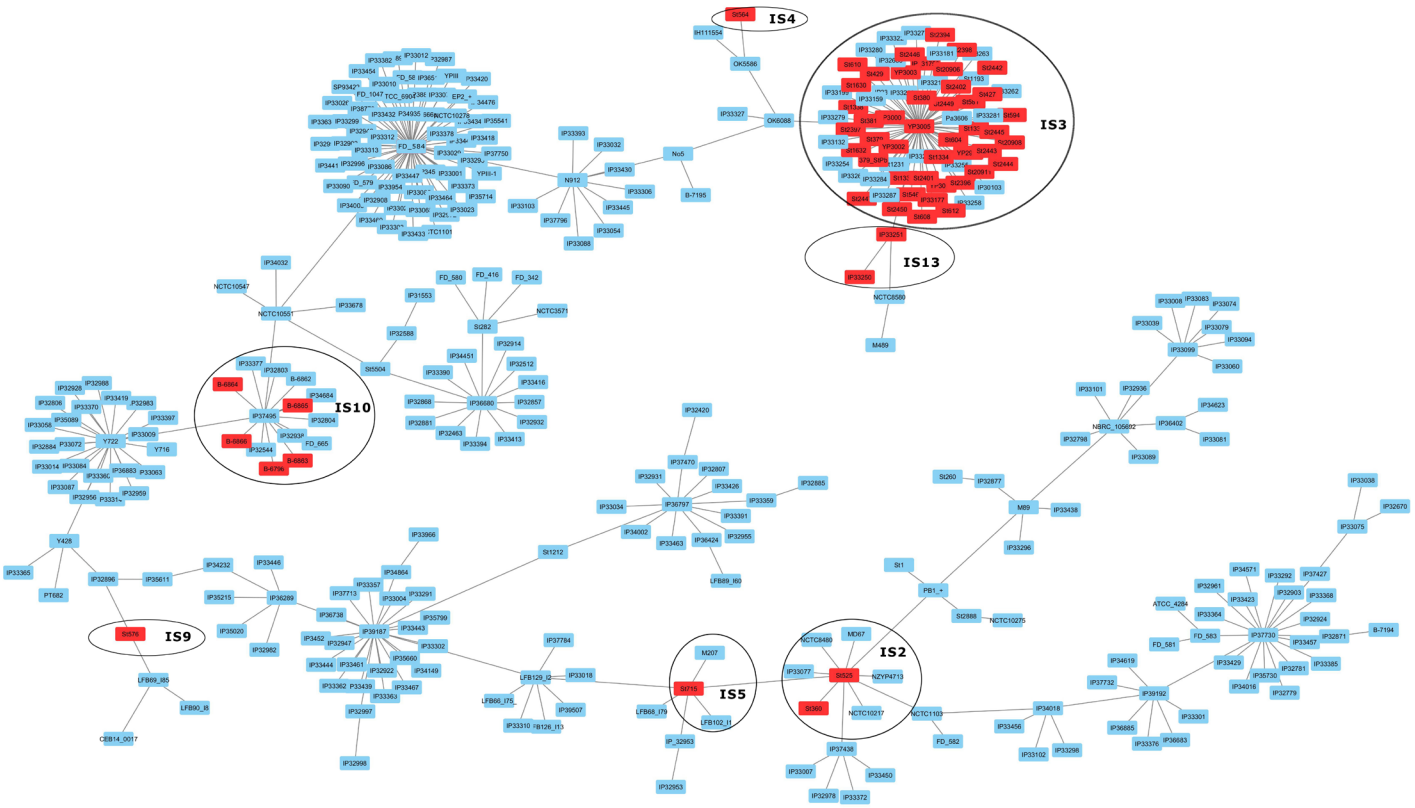


Рис. 1. **MST-дендрограмма филогенетических связей 360 штаммов *Y. pseudotuberculosis*, построенная на основе различий по IS-маркерам. Красным цветом отмечены штаммы, выделенные в России. На рисунке выделены генетические группы с российскими штаммами.**
*Fig. 1. **MST dendrogram of phylogenetic relationships of 360 Y. pseudotuberculosis strains, constructed based on differences in IS markers. Strains isolated in Russia are highlighted in red. Genetic groups containing Russian strains are highlighted in the figure.***

Таблица 3. **Результаты определения индекса биоразнообразия Симпсона при типировании 360 штаммов *Y. pseudotuberculosis* с помощью IS-маркеров**
*Table 3. **Results of determining the Simpson Biodiversity Index when typing 360 Y. pseudotuberculosis strains using IS markers***

Праймеры / *Primers*	Кол-во штаммов, дающих отрицательный результат с праймерами / *Number of strains giving negative results with primers*	Кол-во штаммов, дающих положительный результат с праймерами / *Number of strains giving a positive result with primers*	Индекс разнообразия (1-D) / *Diversity Index (1-D)*
PsdT1	321	39	0,193
PsdT2*	230	130	0,463
PsdT3	220	140	0,475
PsdT4	226	134	0,468
PsdT5	153	207	0,489
PsdT6	209	151	0,487
PsdT7	230	130	0,461
PsdT8	263	97	0,394
PsdT9	353	7	0,038
PsdT10	234	126	0,455
PsdT11	104	256	0,411
PsdT12*	50	310	0,239
PsdT13	329	31	0,157
PsdT14	63	297	0,289
PsdT15	357	3	0,017
Индекс Симпсона для метода IS-типирования / *Simpson index for the IS typing method*			**0,921**

*Результаты по праймерам в общей оценке метода IS-типирования не использовались. / **The results for primers were not used in the overall evaluation of the IS typing method.*

штаммов, используемых в работе, попали в один генетический кластер, включающий штаммы серотипа O:1b и генотипа IS3. В этот же кластер входят еще два российских штамма IS13-генотипа (IP33250 и IP33251), которые отличались от штаммов IS3-группы по одному IS-маркеру (рис. 1). Пять штаммов *Y. pseudotuberculosis*, выделенных в Ставропольском крае и имеющих серотип O:3 и генотип IS10, входили в отдельный кластер. Остальные пять штаммов были распределены по четырем IS-группам (2, 4, 5, 9) и формировали четыре различных генетических кластера (рис. 1).

Интересно отметить, что три из этих пяти штаммов были выделены в сибирском городе Зиме в 1988–1989 гг. Большинство штаммов из очагов инфекции в Зиме имели серотип O:1b и ST26. Среди необычных для этой вспышки трех штаммов, которые были использованы в работе, два штамма (564 и 576) серотипа O:1b имели ST26, а один штамм (525) серотипа O:1a был отнесен к ST9-генотипу [21]. Типирование этих трех штаммов (564, 576, 525) с помощью IS-маркеров показало, что все они имеют различные IS-генотипы (IS2, IS4, IS9) (табл. 3, 4), которые отличались от IS-генотипа (IS3) всех остальных использованных в работе штаммов, выделенных в Зиме в 1998–2000 гг.

О факте выделения в Зиме штаммов, имеющих три различных риботипа, было известно и ранее [22]. Однако в настоящей работе мы с помощью IS-генотипирования обна-

Таблица 4. **Генетическое разнообразие штаммов *Y. pseudotuberculosis*, выделенных в 1998–2000 гг. в г. Зиме**
*Table 4. **Genetic diversity of Y. pseudotuberculosis strains isolated in 1998–2000 in Zima***

Характеристика / *Characteristics*	Название или количество штаммов / *Name or number of strains*					
	564	576	525	604	3 штамма / *strains*	4 штамма / *strains*
Серотип* / *Serotype*	O:1b	O:1b	O:1a	O:1b	O:1b	O:1b
Генетическая группа* / *Genetic group*	1a: YPM A+ HPI+	1a: YPM A+ HPI+	1a: YPM A+ HPI+	3d: YPM A+, pVM82+	3a: YPM A+	3a: YPM A+
Риботип* / *Ribotype*	9	9	9	32	30	32
2IS-генотип** / *2IS genotype*	80	80	80	87	87	87
ST***	26	26	9	26	26	26
IS-генотип**** / *IS genotype*	4	9	2	3	3	3

* сведения из паспорта штамма и данных [22]; ** сведения из паспорта штамма, согласно «геномной дактилоскопии» с использованием мишеней для двух IS-элементов [15]; *** сведения из статьи [21]; **** данные настоящего исследования. / ** information from the strain passport and data [22]; ** information from the strain passport, according to "genomic fingerprinting" using targets for two IS elements [15]; *** information from the article [21]; **** data from the present study.*

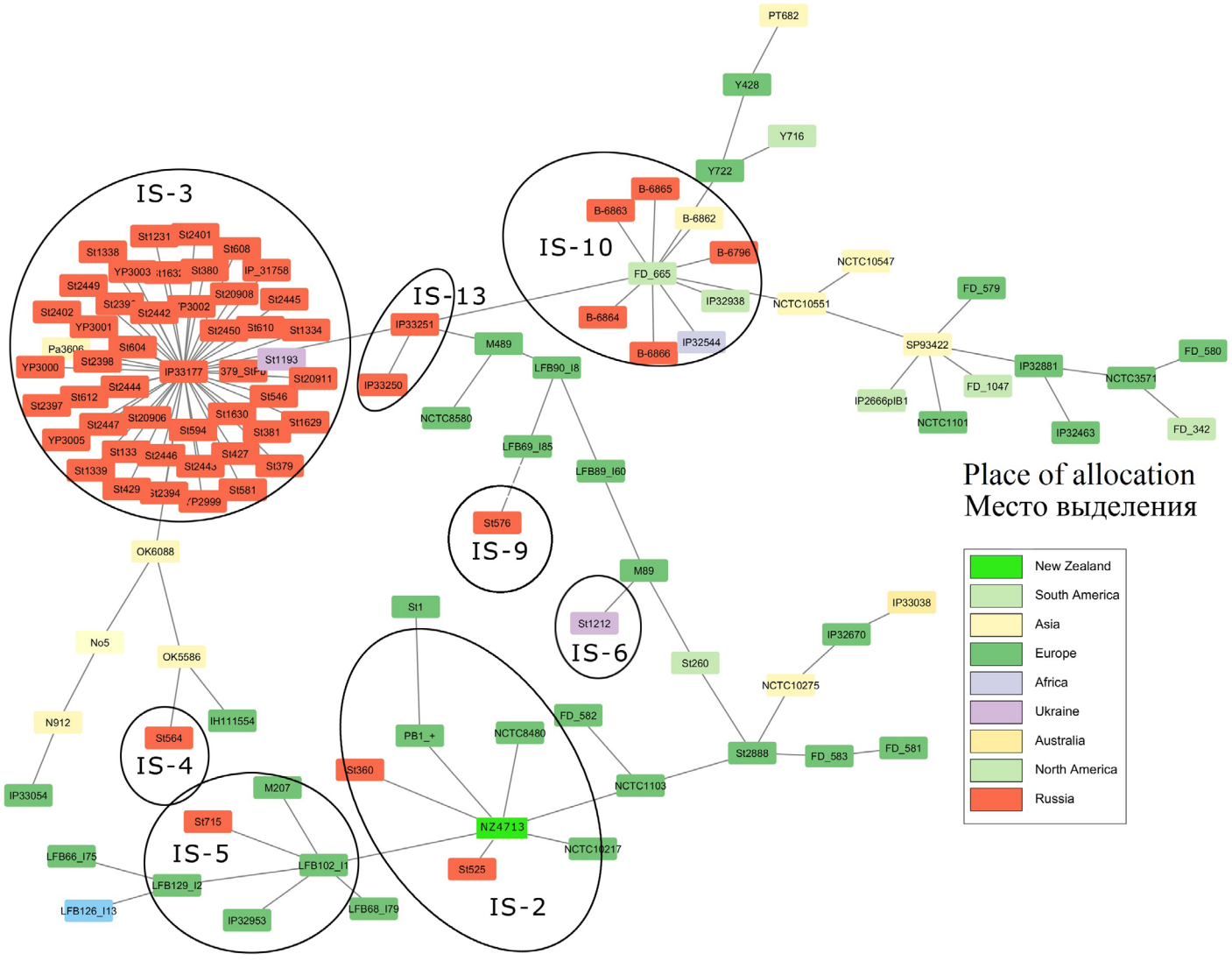


Рис. 2. **MST-дендрограмма, построенная на основе различий IS-маркеров, 114 штаммов *Y. pseudotuberculosis* с известным местом выделения. На рисунке выделены генетические группы с российскими и украинскими штаммами.**
*Fig. 2. **MST dendrogram constructed based on differences in IS markers for 114 Y. pseudotuberculosis strains with known isolation sites. The figure highlights genetic groups with Russian and Ukrainian strains.***

ружили большее разнообразие генотипов у штаммов из этого региона. Было установлено, что все штаммы *Y. pseudotuberculosis*, выделенные в Зиме, разделялись по наличию различных факторов вирулентности на три генетические группы, на три риботипа, на два ST-типа, на два 2IS-типа. По IS-маркерам эти же штаммы разделялись на четыре генотипа (табл. 3), что свидетельствует о большей эффективности способа IS-генотипирования. Таким образом, было под-

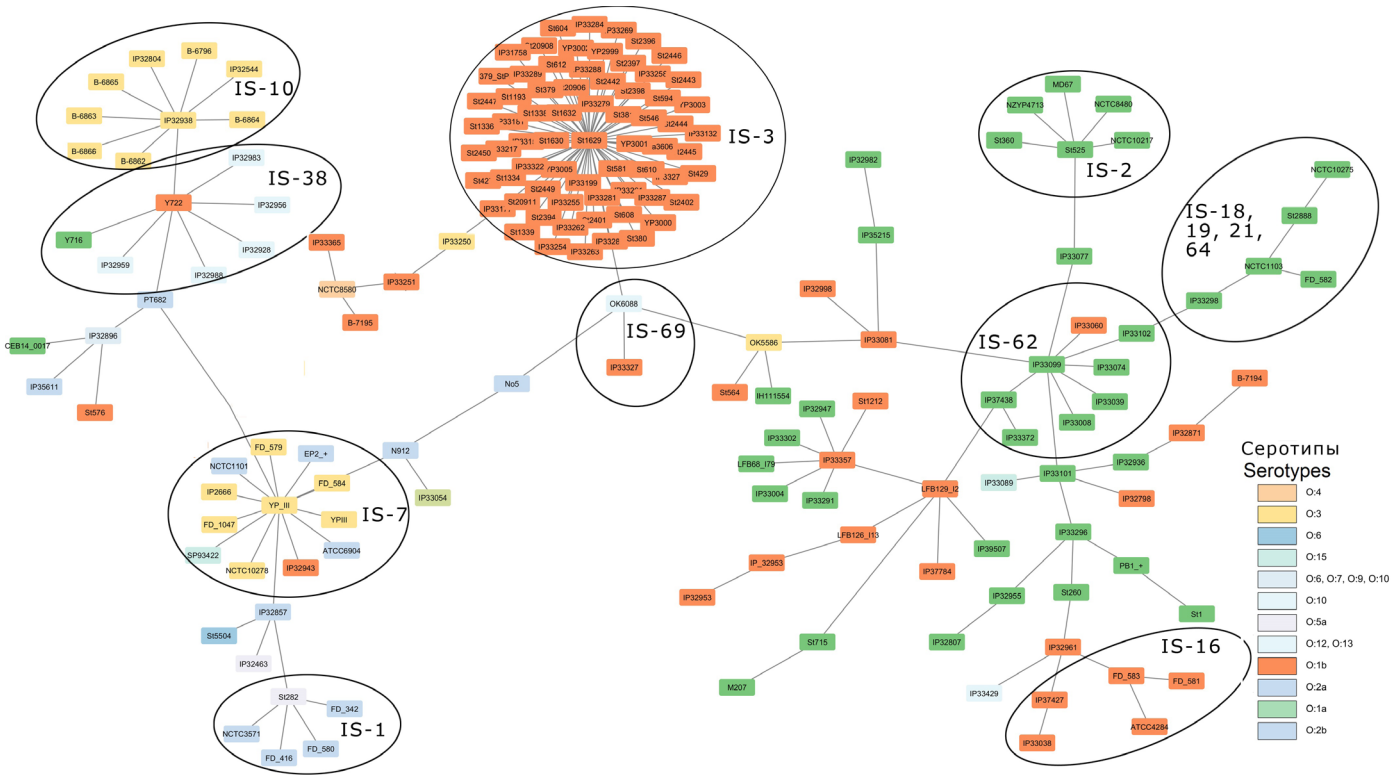


Рис. 3. **MST-дендрограмма филогенетических связей 180 штаммов *Y. pseudotuberculosis* с известным серотипом.**
*Fig. 3. **MST dendrogram of phylogenetic relationships of 180 Y. pseudotuberculosis strains with a known serotype.***

тверждено, что в одном очаге, на одной территории в России могут циркулировать штаммы, существенно отличающиеся по своему генотипу. Это, скорее всего, произошло вследствие заноса штаммов из других регионов. Филогеографический анализ 114 штаммов *Y. pseudotuberculosis* показал, что российские штаммы распределялись как в «азиатские», так и в «европейские» кластеры (рис. 2). Так, два штамма из Зимы (576 и 525, генотипы IS2 и IS9 соответственно) принадлежат к кластерам штаммов «европейского» типа, тогда как большинство штаммов из Сибири и Дальнего Востока входили в кластер IS3, содержащий «азиатские» штаммы. К «европейским» штаммам *Y. pseudotuberculosis*, выделенным в европейской части России, можно также отнести штаммы 360 серотипа O:1a (Санкт-Петербург) и 715 серотипа O:1a (Великий Новгород), которые попали в кластеры штаммов из Европы IS2 и IS5 соответственно (рис. 2). В дальнейшем будем обозначать кластеры по названию генетических групп, штаммы которых преобладают в кластере.

Два штамма из Украины, выделенные от грызунов в 2005 г. в Хмельницкой области, оказались штаммами различных генотипов. Один украинский штамм – *Y. pseudotuberculosis* 1193 – попал в кластер IS3 и был охарактеризован как штамм «азиатского» типа, а другой, 1212, имея генотип IS6, является штаммом «европейского» типа (рис. 2). Российские штаммы *Y. pseudotuberculosis*, выделенные в Северо-Западном регионе, принадлежат в основном к «азиатскому» типу и имеют генотип IS3. Еще один кластер (IS10), содержащий российские штаммы из Ставрополя и Санкт-Петербурга, включает штаммы, выделенные на различных континентах. В одной из работ по генотипированию с использованием CRISPR [23] штаммы такого типа были обозначены как «промежуточные», а в другой работе [24], использующей метод SNP-типирования, – как «межконтинентальные».

Филогенетический анализ штаммов *Y. pseudotuberculosis* с известным серотипом показал, что большинство штаммов, входящих в одну генетическую группу при IS-генотипировании, имеют одинаковый серотип (рис. 3). Однако эта закономерность соблюдается не всегда. Так, в кластере генотипа IS7, в котором большинство составляют штаммы серотипа O:3, содержатся и штаммы с серотипами O:1b, O:2a, O:3 и O:15, выделенные на различных континентах. В кластере IS38 при доминировании штаммов серотипов O:12 и O:13 присутствуют штаммы серотипа O:1a, а в кластере IS1 среди штаммов серотипа O:2b оказался один штамм O:5a, так же как и среди штаммов серотипа O:1a в кластере IS-62 был обнаружен один штамм серотипа O:1b. Кластер IS69 составляют два штамма (IP33327 и OK6088), имеющие серотипы O:1b и O:10 соответственно. Отсутствие подобной закономерности было отмечено ранее и при использовании других методов типирования: MLVA [9], CRISPR [22], MLST [25], INDEL [5] и SNP [24]. Причиной отсутствия строгой корреляции между серотипом и IS-генотипом штаммов *Y. pseudotuberculosis* может быть возникновение отдельных клонов измененных серотипов у штаммов одной генетической группы в результате мутагенеза и рекомбинационных процессов в опероне, отвечающих за формирование серотипа [25].

Таким образом, проведенные исследования показали, что генотипирование, основанное на анализе с помощью ПЦР *in silico* и *in vitro* мест расположения в геноме маркерных IS-элементов, позволяет выявить генетическое разнообразие штаммов *Y. pseudotuberculosis*. IS-генотипирование российских штаммов возбудителя псевдотуберкулеза распределило их по семи генетическим группам (IS2, IS3, IS4,

IS5, IS9, IS10 и IS13), причем группы IS4, IS9 и IS13 включали только штаммы из России. Наибольшее количество российских штаммов (48), которые можно отнести к «азиатскому» типу, содержалось в генетической группе IS3. Анализ штаммов *Y. pseudotuberculosis* с помощью IS-генотипирования дает возможность проводить эффективную генетическую внутривидовую дифференциацию штаммов, выделенных в одном очаге или в одной географической зоне. Этот способ генотипирования имеет высокий дискриминационный потенциал (индекс Симпсона – 0,921) и может быть использован в комплексе с другими методами молекулярно-генетического анализа штаммов возбудителя псевдотуберкулеза.

Источники финансирования

Работа выполнена в рамках отраслевой научно-исследовательской программы Роспотребнадзора.

Funding

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

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии отношений, деятельности и интересов за последние три года, связанных с третьими лицами (коммерческими и некоммерческими организациями), интересы которых могут быть затронуты содержанием статьи.

Conflict of interest

The authors have no relationships, activities, or interests with third parties (commercial or non-commercial organizations) to declare that could have influenced the work reported in this paper in the last three years.

Вклад авторов

Трухачев А.Л. – общее руководство, формулировка цели работы, конструирование праймеров, создание матрицы результатов для генотипирования, описание и анализ данных; Вострова И.Н. – ПЦР-анализ in vitro, сравнение результатов ПЦР-анализа in vitro и in silico, анализ данных, оптимизация набора праймеров для IS-генотипирования; Водопьянов А.С. – применение авторских компьютерных программ Fragment Extractor и LocusTree, сборка геномов секвенированных штаммов; Мелоян М.Г. – вычисление индекса Симпсона для пар праймеров и для IS-генотипирования, определение гено-серотипа и MLST-типа штаммов; Воскресенская Е.А. –типирование штаммов по генам вирулентности, риботипирование и 2IS-типирование, секвенирование и определение фенотипических свойств штаммов; Чеснокова М.В. – типирование штаммов по генам вирулентности и риботипирование, секвенирование и определение фенотипических свойств штаммов; Климов В.Т. – типирование по генам вирулентности, секвенирование и определение фенотипических свойств штаммов; Кокорина Г.И. – типирование по генам вирулентности и серогенотипирование, секвенирование и определение фенотипических свойств штаммов; Богумильчик Е.А. – типирование по генам вирулентности, секвенирование и определение фенотипических свойств штаммов; Писанов Р.В. – секвенирование и сборка геномов секвенированных штаммов; Темякова С.Ю. – секвенирование штаммов; Ковалевич А.А. – секвенирование штаммов; Рыкова В.А. – изучение свойств штаммов (серотип, отношение к бактериофагам, ферментативные особенности), плазмидный скрининг; Подладчикова О.Н. – консультанции по методам исследования, анализ данных, оформление и редактирование текста статьи.

Все авторы одобрили рукопись (версию для публикации), а также согласились нести ответственность за все аспекты настоящей работы, гарантируют надлежащее рассмотрение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой ее части.

Authors contribution

Trukhachev A.L. – general management, formulation of the study's objectives, primer design, creation of a results matrix for genotyping, data description and analysis; Vostrova I.N. – in vitro PCR analysis, comparison of in vitro and in silico PCR analysis results, data analysis, optimization of the primer set for IS genotyping; Vodopyanov A.S. – use of proprietary software programs Fragment Extractor and LocusTree, assembly of the sequenced strain genomes; Meloyan M.G. – calculation of the Simpson index for primer pairs and for IS genotyping, determination of the genotype, serotype, and MLST type of the strains; Voskresenskaya E.A. – strain typing by virulence genes, ribotyping and 2IS typing, sequencing, and determination of the phenotypic properties of the strains; Chesnokova M.V. – Typing of strains by virulence genes and ribotyping, sequencing, and determination of their phenotypic properties; Klimov V. T. – Typing of strains by virulence genes, sequencing, and determination of their phenotypic properties; Kokorina G.I. – Typing of strains by virulence genes, sero-genotyping, sequencing, and determination of their phenotypic properties; Bogumilchik E.A. – Typing of strains by virulence genes, sequencing, and determination of their phenotypic properties; Pisanov R.V. – Sequencing and assembly of the genomes of sequenced strains; Temyakova S.Yu. – Sequencing of strains; Kovalevich A.A. – Sequencing of strains; Rykova V.A. – Studied the properties of strains (serotype, relation to bacteriophages, enzymatic properties), plasmid screening; Podladchikova O.N. – consultant on research methods, data analysis, design and editing of the article text.

All authors have read and approved the final manuscript and agree to be accountable for all aspects of the work, ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Генеративный искусственный интеллект

При создании настоящей статьи технологии генеративного искусственного интеллекта не использовали.

Generative artificial intelligence

No generative artificial intelligence technologies were used in the preparation of this article.

Литература

1. Fukushima H, Matsuda Y, Seki R, Tsubokura M, Takeda N, Shubin FN, et al. Geographical heterogeneity between Far Eastern and Western countries in prevalence of the virulence plasmid, the superantigen *Yersinia pseudotuberculosis*-derived mitogen, and the high-pathogenicity island among *Yersinia*

pseudotuberculosis strains. J Clin Microbiol. 2001 Oct;39(10):3541-7. DOI: 10.1128/JCM.39.10.3541-3547.2001
2. Чеснокова МВ, Климов ВТ, Марамович АС. Генотипирование *Yersinia pseudotuberculosis*, выделенных в Сибири и на Дальнем Востоке. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2006;6:20-25.
3. Каримова ТВ, Климов ВТ, Чеснокова МВ. Молекулярно-биологическая характеристика *Yersinia pseudotuberculosis* и *Yersinia enterocolitica*, выделенных в Сибири и на Дальнем Востоке. Бюллетень ВСНЦ СО РАМ. 2016;1(3):60-64.
4. Кокорина ГИ, Сайнес ТВ, Трухачев АЛ, Воскресенская ЕА. Генотипы штаммов *Yersinia pseudotuberculosis*, распространенных на территории г. Ленинграда – Санкт-Петербурга. Проблемы медицинской микологии. 2023;25(2):127.
5. Трухачев АЛ, Мелоян МГ, Воскресенская ЕА, Водопьянов АС, Водопьянов СО, Подладчикова ОН, и др. INDEL-типирование штаммов *Yersinia pseudotuberculosis*. Проблемы особо опасных инфекций. 2022;4:102-109. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-4-102-109
6. Le Flèche P, Hauck Y, Onteniente L, Prieur A, Denoeud F, Ramisse V, et al. A tandem repeats database for bacterial genomes: application to the genotyping of *Yersinia pestis* and *Bacillus anthracis*. BMC Microbiol. 2001;1:2. DOI: 10.1186/1471-2180-1-2
7. Halkilahti J, Haukka K, Siitonen A. Genotyping of outbreak-associated and sporadic *Yersinia pseudotuberculosis* strains by novel multilocus variable-number tandem repeat analysis (MLVA). J Microbiol Methods. 2013 Nov;95(2):245-50. DOI: 10.1016/j.mimet.2013.09.007
8. Евсеева ВВ, Платонов МЕ, Дентовская СВ, Анисимов АП. Типирование *Yersinia pseudotuberculosis* с помощью мультилокусного анализа вариабельного числа тандемных повторов. Проблемы особо опасных инфекций. 2015;4:55-57. DOI: 10.21055/0370-1069-2015-4-55-57
9. Sannö A, Rosendal T, Aspán A, Backhans A, Jacobson M. Comparison of Multiple-Locus Variable-Number Tandem Repeat Analysis Profiles of Enteropathogenic *Yersinia* spp. Obtained from Humans, Domestic Pigs, Wild Boars, Rodents, Pork and Dog Food. Animals (Basel). 2023 Sep 29;13(19):3055. DOI: 10.3390/ani13193055
10. Zhgenti E, Hu P, Chanturia G, Tsereteli D, Kekelidze M, Chubinidze S, et al. Investigation of *Yersinia pestis* and *Yersinia pseudotuberculosis* strains from Georgia and neighboring countries in the Caucasus by high-density SNP microarray. Arch Microbiol. 2018 Nov;200(9):1345-1355. DOI: 10.1007/s00203-018-1545-8
11. Savin C, Le Guern AS, Chereau F, Guglielmini J, Heuzé G, Demeure C, et al. First Description of a *Yersinia pseudotuberculosis* Clonal Outbreak in France, Confirmed Using a New Core Genome Multilocus Sequence Typing Method. Microbiol Spectr. 2022 Aug 31;10(4):e0114522. DOI: 10.1128/spectrum.01145-22
12. Duan R, Liang J, Shi G, Cui Z, Hai R, Wang P, et al. Homology analysis of pathogenic *Yersinia* species *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis*, and *Yersinia pestis* based on multilocus sequence typing. J Clin Microbiol. 2014 Jan;52(1):20-9. DOI: 10.1128/JCM.02185-13
13. Laukkanen-Ninios R, Didelot X, Jolley KA, Morelli G, Sangal V, Kristo P, et al. Population structure of the *Yersinia pseudotuberculosis* complex according to multilocus sequence typing. Environ Microbiol. 2011 Dec;13(12):3114-27. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2011.02588.x
14. Odaert M, Berche P, Simonet M. Molecular typing of *Yersinia pseudotuberculosis* by using an IS200-like element. J Clin Microbiol. 1996 Sep;34(9):2231-5. DOI: 10.1128/jcm.34.9.2231-2235.1996
15. Voskresenskaya E, Savin C, Leclercq A, Tseneva G, Carniel E. Typing and clustering of *Yersinia pseudotuberculosis* isolates by restriction fragment length polymorphism analysis using insertion sequences. J Clin Microbiol. 2014 Jun;52(6):1978-89. DOI: 10.1128/JCM.00397-14
16. Motin VL, Georgescu AM, Elliott JM, Hu P, Worsham PL, Ott LL, et al. 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 Feb;184(4):1019-27. DOI: 10.1128/jb.184.4.1019-1027.2002
17. Трухачев АЛ, Мелоян МГ, Водопьянов АС, Подладчикова ОН, Ковалевич АА, Темякова СЮ, и др. IS-генотипирование штаммов *Y. pestis* с помощью ПЦР. Бактериология. 2024;9(1):72-80.
18. 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 Clinical microbiol. 2003;41:5103-12. DOI: 10.1128/JCM.41.11.5103-5112.2003
19. Kenyon JJ, Cunneen MM, Reeves PR. Genetics and evolution of *Yersinia pseudotuberculosis* O-specific polysaccharides: a novel pattern of O-antigen diversity. FEMS Microbiol Rev. 2017 Mar 1;41(2):200-217. DOI: 10.1093/femsre/fux002
20. Hunter PR, Gaston MA. Numerical index of the discriminatory ability of typing systems: an application of Simpson's index of diversity. J Clin Microbiol. 1988 Nov;26(11):2465-6. DOI: 10.1128/jcm.26.11.2465-2466.1988
21. Мелоян МГ, Водопьянов АС, Воскресенская ЕА, Писанов РВ, Чеснокова МВ, Климов ВТ, и др. 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
22. Чеснокова МВ. Псевдотуберкулез в Сибири: Теоретические и прикладные аспекты эпидемиологии, лабораторной диагностики и профилактики. Автореф. дисс. ... докт. мед. наук. 14.00.30. Науч. центр мед. экологии ВСНЦ СО РАМН. Иркутск, 2004.
23. Seecharran T, Kalin-Manttari L, Koskela K, Nikkari S, Dickins B, Coranderet J, et al. Phylogeographic separation and formation of sexually discrete lineages in a global population of *Yersinia pseudotuberculosis*. Microbial Genomics. 2017;3(10):e000133. DOI: 10.1099/mgen.0.000133
24. Meloyan M, Vodopyanov A, Voskresenskaya E, Trukhachev A. SNP genotyping of *Yersinia pseudotuberculosis*. Yersinia 15 Abstract book. Ulaanbaator, Mongolia. 2025;44.
25. Ch'ng SL, Octavia S, Xia Q, Duong A, Tanaka MM, Fukushima H, et al. Population structure and evolution of pathogenicity of *Yersinia pseudotuberculosis*. Appl Environ Microbiol. 2011 Feb;77(3):768-75. DOI: 10.1128/AEM.01993-10

References

1. Fukushima H, Matsuda Y, Seki R, Tsubokura M, Takeda N, Shubin FN, et al. Geographical heterogeneity between Far Eastern and Western countries in prevalence of the virulence plasmid, the superantigen *Yersinia pseudotuberculosis*-derived mitogen, and the high-pathogenicity island among *Yersinia pseudotuberculosis* strains. J Clin Microbiol. 2001 Oct;39(10):3541-7. DOI: 10.1128/JCM.39.10.3541-3547.2001
2. Chesnokova MV, Klimov VT, Maramovich AS. Genotyping of *Yersinia pseudotuberculosis* isolated in Siberia and the Far East. Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology. 2006;6:20-25. (In Russian).
3. Karimova TV, Klimov VT, Chesnokova MV. Molecular and biological characteristics of *Yersinia pseudotuberculosis* and *Yersinia enterocolitica* isolated in Siberia and the Far East. Bulletin of the VSNTS SB RAM. 2016;1(3):60-64. (In Russian).
4. Kokorina GI, Saines TV, Trukhachev AL, Voskresenskaya EA. Genotypes of *Yersinia pseudotuberculosis* strains distributed in Leningrad – St. Petersburg. Problems of Medical Mycology. 2023;25(2):127. (In Russian).
5. Trukhachev AL, Meloyan MG, Voskresenskaya EA, Vodopyanov AS, Vodopyanov SO, Podladchikova ON, et al. INDEL-typing of *Yersinia pseudotuberculosis* strains. Problems of Particularly Dangerous Infections. 2022;4:102-109. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-4-102-109 (In Russian).
6. Le Flèche P, Hauck Y, Onteniente L, Prieur A, Denoeud F, Ramisse V, et al. A tandem repeats database for bacterial genomes: application to the genotyping of

Yersinia pestis and *Bacillus anthracis*. BMC Microbiol. 2001;1:2. DOI: 10.1186/1471-2180-1-2

7. Halkilahti J, Haukka K, Siitonen A. Genotyping of outbreak-associated and sporadic *Yersinia pseudotuberculosis* strains by novel multilocus variable-number tandem repeat analysis (MLVA). J Microbiol Methods. 2013 Nov;95(2):245-50. DOI: 10.1016/j.mimet.2013.09.007
8. Evseeva VV, Platonov ME, Dentovskaya SV, Anisimov AP. Typing of *Yersinia pseudotuberculosis* using multilocus analysis of the variable number of tandem repeats. Problems of Particularly Dangerous Infections. 2015;4:55-57. DOI: 10.21055/0370-1069-2015-4-55-57 (In Russian).
9. Sannö A, Rosendal T, Aspán A, Backhans A, Jacobson M. Comparison of Multiple-Locus Variable-Number Tandem Repeat Analysis Profiles of Enteropathogenic *Yersinia* spp. Obtained from Humans, Domestic Pigs, Wild Boars, Rodents, Pork and Dog Food. Animals (Basel). 2023 Sep 29;13(19):3055. DOI: 10.3390/ani13193055
10. Zhgenti E, Hu P, Chanturia G, Tsereteli D, Kekelidze M, Chubinidze S, et al. Investigation of *Yersinia pestis* and *Yersinia pseudotuberculosis* strains from Georgia and neighboring countries in the Caucasus by high-density SNP microarray. Arch Microbiol. 2018 Nov;200(9):1345-1355. DOI: 10.1007/s00203-018-1545-8
11. Savin C, Le Guern AS, Chereau F, Guglielmini J, Heuzé G, Demeure C, et al. First Description of a *Yersinia pseudotuberculosis* Clonal Outbreak in France, Confirmed Using a New Core Genome Multilocus Sequence Typing Method. Microbiol Spectr. 2022 Aug 31;10(4):e0114522. DOI: 10.1128/spectrum.01145-22
12. Duan R, Liang J, Shi G, Cui Z, Hai R, Wang P, et al. Homology analysis of pathogenic *Yersinia* species *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis*, and *Yersinia pestis* based on multilocus sequence typing. J Clin Microbiol. 2014 Jan;52(1):20-9. DOI: 10.1128/JCM.02185-13
13. Laukkanen-Ninios R, Didelot X, Jolley KA, Morelli G, Sangal V, Kristo P, et al. Population structure of the *Yersinia pseudotuberculosis* complex according to multilocus sequence typing. Environ Microbiol. 2011 Dec;13(12):3114-27. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2011.02588.x
14. Odaert M, Berche P, Simonet M. Molecular typing of *Yersinia pseudotuberculosis* by using an IS200-like element. J Clin Microbiol. 1996 Sep;34(9):2231-5. DOI: 10.1128/jcm.34.9.2231-2235.1996
15. Voskresenskaya E, Savin C, Leclercq A, Tseneva G, Carniel E. Typing and clustering of *Yersinia pseudotuberculosis* isolates by restriction fragment length polymorphism analysis using insertion sequences. J Clin Microbiol. 2014 Jun;52(6):1978-89. DOI: 10.1128/JCM.00397-14
16. Motin VL, Georgescu AM, Elliott JM, Hu P, Worsham PL, Ott LL, et al. 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 Feb;184(4):1019-27. DOI: 10.1128/jb.184.4.1019-1027.2002
17. Trukhachev AL, Meloyan MG, Vodopyanov AS, Podladchikova ON, Kovalevich AA, Temyakova SYu, et al. IS genotyping of *Y. pestis* strains using PCR. Bacteriology. 2024;9(1):72-80. (In Russian).
18. 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 Clinical microbiol. 2003;41:5103-12. DOI: 10.1128/JCM.41.11.5103-5112.2003
19. Kenyon JJ, Cunneen MM, Reeves PR. Genetics and evolution of *Yersinia pseudotuberculosis* O-specific polysaccharides: a novel pattern of O-antigen diversity. FEMS Microbiol Rev. 2017 Mar 1;41(2):200-217. DOI: 10.1093/femsre/fux002
20. Hunter PR, Gaston MA. Numerical index of the discriminatory ability of typing systems: an application of Simpson's index of diversity. J Clin Microbiol. 1988 Nov;26(11):2465-6. DOI: 10.1128/jcm.26.11.2465-2466.1988
21. Meloyan MG, Vodopyanov AS, Voskresenskaya EA, Pisanov RV, Chesnokova MV, Klimov VT, et al. Genotyping of *Yersinia pseudotuberculosis* strains isolated in Russia using MLST. Problems of Particularly Dangerous Infections. 2024;4:107-114. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-107-114 (In Russian).
22. Chesnokova MV. Pseudotuberculosis in Siberia: Theoretical and applied aspects of epidemiology, laboratory diagnostics and prevention: abstract of the dissertation... Doctors of Medical Sciences: 14.00.30. Scientific Center of Medical Ecology of the All-Russian Scientific Research Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences. Irkutsk, 2004. (In Russian).
23. Seecharran T, Kalin-Manttari L, Koskela K, Nikkari S, Dickins B, Coranderet J, et al. Phylogeographic separation and formation of sexually discrete lineages in a global population of *Yersinia pseudotuberculosis*. Microbial Genomics. 2017;3(10):e000133. DOI: 10.1099/mgen.0.000133
24. Meloyan M, Vodopyanov A, Voskresenskaya E, Trukhachev A. SNP genotyping of *Yersinia pseudotuberculosis*. Yersinia 15 Abstract book. Ulaanbaator, Mongolia. 2025;44.
25. Ch'ng SL, Octavia S, Xia Q, Duong A, Tanaka MM, Fukushima H, et al. Population structure and evolution of pathogenicity of *Yersinia pseudotuberculosis*. Appl Environ Microbiol. 2011 Feb;77(3):768-75. DOI: 10.1128/AEM.01993-10

Информация о соавторах:

Вострова Ирина Николаевна, младший научный сотрудник отдела профессиональной переподготовки и повышения квалификации специалистов ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора

Водопьянов Алексей Сергеевич, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии природно-очаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0002-9056-3231

Мелоян Мисак Геворгович, научный сотрудник лаборатории природно-очаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0001-7268-9298

Воскресенская Екатерина Александровна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0001-6380-1153

Чеснокова Маргарита Валентиновна, доктор медицинских наук, профессор кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова» Минздрава России
ORCID: 0000-0001-5489-9363

Климов Валерий Тимофеевич, старший научный сотрудник отдела эпидемиологии ФКУЗ «Иркутский противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0003-0036-0017

Кокорина Галина Ивановна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0002-1973-3138

Богумильчик Елена Александровна, научный сотрудник лаборатории медицинской микробиологии ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0002-3181-4328

Писанов Руслан Вячеславович, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией молекулярной биологии природно-очаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0002-7178-8021

Темякова Светлана Юрьевна, научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии природно-очаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0003-4472-0264

Ковалевич Алексей Александрович, научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии природно-очаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0001-6926-0239

Рыкова Виолетта Александровна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории природно-очаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора

Подладчикова Ольга Николаевна, кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории природно-очаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0001-7178-2255

Information about co-authors:

Irina N. Vostrova, Junior Researcher of the Department of Professional Retraining and Advanced Training of Specialists, Rostov-on-Don Antiplague Institute of Rospotrebnadzor

Aleksey S. Vodopyanov, PhD, MD, Leading Researcher at the Laboratory of Molecular Biology Natural Focal and Zoonotic Infections, Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor

Misak G. Meloyan, Researcher at the Laboratory of Natural Focal and Zoonotic Infections, Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor

Ekaterina A. Voskresenskaya, PhD in Biological Sciences, Senior Researcher at the Medical Microbiology Laboratory, Saint-Petersburg Pasteur Research Institute of Rospotrebnadzor

Margarita V. Chesnokova, MD, PhD, DSc, Professor at the Department of Infectious Diseases and Epidemiology, Pirogov Russian National Research Medical University

Valery T. Klimov, PhD, MD, Senior Researcher of the Epidemiology department, Irkutsk Anti-Plague Research Institute of Rospotrebnadzor

Galina I. Kokorina, PhD, MD, Senior Researcher at the Medical Microbiology Laboratory, Saint-Petersburg Pasteur Research Institute of Rospotrebnadzor

Elena A. Bogumilchik, Researcher at the Medical Microbiology Laboratory, Saint-Petersburg Pasteur Research Institute of Rospotrebnadzor

Ruslan V. Pisanov, PhD in Biological Sciences, Head at the Laboratory of Molecular Biology Natural Focal and Zoonotic Infections, Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor

Alexey A. Kovalevich, Researcher at the Laboratory of Molecular Biology Natural Focal and Zoonotic Infections, Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor

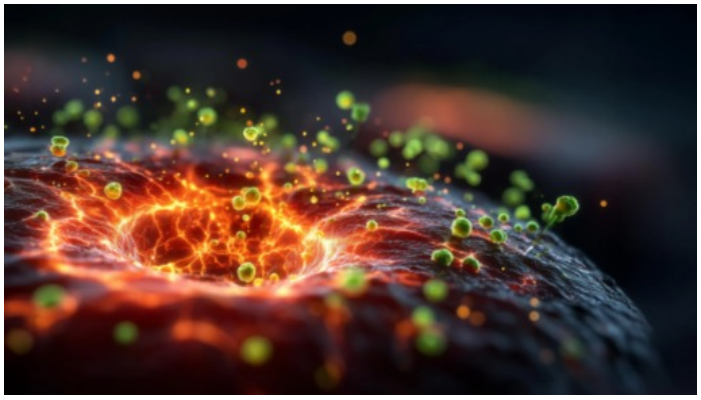
Svetlana Y. Temyakova, Researcher at the Laboratory of Molecular Biology Natural Focal and Zoonotic Infections, Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor

Rykova V. Alexandrovna, PhD in Biological Sciences, Senior Researcher at the Laboratory of Natural Focal and Zoonotic Infections, Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor

Olga N. Podladchikova, PhD in Chemical Sciences, Leading Researcher at the Laboratory of Natural Focal and Zoonotic Infections, Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor

НОВОСТИ НАУКИ

Бактерия уничтожила раковые опухоли у мышей после однократного введения



Использование кишечной микробиоты в терапии рака привлекает значительное внимание как новое перспективное направление. Проведена систематическая оценка противоопухолевых свойств девяти штаммов бактерий, выделенных из кишечника земноводных *Dryophytes japonicus* и **Cynops pyrrhogaster* и рептилии *Takydromus tachydromoides*. Среди изученных изолятов *Ewingella americana* продемонстрировала выраженную цитотоксическую активность, а также способность избирательно воздействовать на опухолевые клетки. *E. americana* действует по двум направлениям: непосредственно уничтожает опухолевые клетки и активирует иммунную систему организма, усиливая атаку на опухоль со стороны Т-лимфоцитов, нейтрофилов и В-лимфоцитов. В экспериментах по регрессии опухолей терапия с применением *E. americana* показала значительно более высокие результаты по сравнению со стандартными методами лечения, включая использование антител к PD-L1 и доксорубицина. Комплексная оценка безопасности на мышиных моделях подтвердила: штамм *E. americana* обладает минимальной патогенностью и в терапевтически эффективных дозах не вызывает значимых побочных эффектов, что выгодно отличает его от генетически модифицированных бактериальных препаратов. Сравнительный анализ продемонстрировал превосходство *E. americana* над традиционными методами лечения при сохранении высокого профиля безопасности. Полученные результаты позволяют предположить, что кишечные микробиомы низших позвоночных содержат множество еще не изученных видов бактерий, обладающих исключительным терапевтическим потенциалом. Это исследование закладывает основу для разработки природных, непатогенных бактериальных препаратов и подчеркивает важнейшую роль микробного биоразнообразия в совершенствовании стратегий лечения рака.

Iwata S, Yamasita N, Asukabe K, Sakari M, Miyako E.
Discovery and characterization of antitumor gut microbiota from amphibians and reptiles: Ewingella americana as a novel therapeutic agent with dual cytotoxic and immunomodulatory properties.
Gut Microbes. 2025 Dec 31;17(1):2599562. DOI: 10.1080/19490976.2025.2599562