Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet
2021, vol. 11, no. 4, pp. 701–706

Инфекция и иммунитет
2021, Т. 11, № 4, с. 701–706

ГЕОГРАФИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ШТАММОВ *HELICOBACTER PYLORI*, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ В ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РФ

В.М. Сорокин[1], А.В. Сварваль[2], А.С. Водопьянов[1], Р.В. Писанов[1]

[1] ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт, г. Ростов-на-Дону, Россия
[2] ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Цель исследования — выявление INDEL-маркеров и изучение географического происхождения региональных штаммов *H. pylori*, циркулирующих в европейской части РФ. В исследование включены 56 штаммов *H. pylori*, выделенные в трех регионах РФ: Санкт-Петербурге, Астраханской и Ростовской области. Геномную ДНК выделяли с использованием набора «Проба НК» (ДНК-Технология, Россия) согласно инструкции производителя. Выявление INDEL-маркеров hp5605, hp6405, hp340, hp1390, hp3660 проводили с помощью ПЦР. Кластеризацию выявленных INDEL-генотипов и построение филогенетического дерева проводили с помощью пакета программ BioNumerics 7.6 и GrapeTree. В качестве референтных штаммов использовали 21 штамм из базы данных GenBank с известным географическим происхождением. У 20 штаммов из Санкт-Петербурга выявлено 13 индивидуальных генотипов, при этом 17 штаммов относятся к европейскому кластеру (hpEurope), 2 штамма к кластеру hspEAsia и один штамм — к кластеру hspWAfrica. Самый распространенный генотип, выявленный в европейском кластере, включает в себя шесть штаммов из Санкт-Петербурга и два штамма из базы данных GenBank. Для дальнейшей дифференциации этих штаммов применен метод VNTR-типирования, позволивший выявить у восьми штаммов восемь индивидуальных генотипов. Пятьдесят шесть изученных российских штаммов представлены тридцатью индивидуальными генотипами, что отражает высокую гетерогенность штаммов, циркулирующих на территории европейской части РФ. Наиболее частый генотип представлен двумя штаммами hpEurope, одним штаммом из Астраханского региона, а также 5 и 6 штаммами из Ростовской области и Санкт-Петербурга соответственно. Подавляющее большинство российских штаммов (52/56) относится к популяции hpEurope, тогда как два штамма из Санкт-Петербурга входят в популяцию hspEAsia и по одному штамму из Санкт-Петербурга и Астраханской области — в популяцию hspWAfrica. Всего 77 штаммов *H. pylori* представлены 37 индивидуальными генотипами с высоким индексом разнообразия (DI = 0,95), что позволяет рассматривать предлагаемый метод INDEL-типирования в качестве самостоятельного для генотипирования штаммов *H. pylori*. Учитывая сложность проблемы точного определения географического происхождения штаммов *H. pylori*, весьма актуальным становится предлагаемый нами простой и удобный метод INDEL-типирования штаммов *H. pylori*, основанный на доступном методе ПЦР и позволяющий проводить адекватный первичный анализ географического происхождения российских штаммов *H. pylori*.

Ключевые слова: *Helicobacter pylori, ПЦР, INDEL, MST-дендрограмма, VNTR-типирование, географическое происхождение.*

Адрес для переписки:
Сварваль Алена Владимировна
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера.
Тел.: 8 911 223-14-11.
E-mail: alenasvar@rambler.ru

Contacts:
Alena V. Svarval
197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14,
St. Petersburg Pasteur Institute.
Phone: +7 911 223-14-11.
E-mail: alenasvar@rambler.ru

Для цитирования:
Сорокин В.М., Сварваль А.В., Водопьянов А.С., Писанов Р.В. Географическое разнообразие штаммов Helicobacter pylori, циркулирующих в европейской части РФ // Инфекция и иммунитет. 2021. Т. 11, № 4. С. 701–706. doi: 10.15789/2220-7619-GDO-1590

Citation:
Sorokin V.M., Svarval A.V., Vodop'janov A.S., Pisanov R.V. Geographical diversity of Helicobacter pylori strains circulating in the European Part of the Russian Federation // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2021, vol. 11, no. 4, pp. 701–706. doi: 10.15789/2220-7619-GDO-1590

© Сорокин В.М. и соавт., 2021

DOI: http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-GDO-1590

GEOGRAPHICAL DIVERSITY OF *HELICOBACTER PYLORI* STRAINS CIRCULATING IN THE EUROPEAN PART OF THE RUSSIAN FEDERATION

Sorokin V.M.[a], Svarval A.V.[b], Vodop'janov A.S.[a], Pisanov R.V.[a]

[a] *Rostov-on-Don Research Institute for Plague Control, Rostov-on-Don, Russian Federation*
[b] *St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation*

Abstract. The aim of the study was to identify INDEL markers and study geographical origin of regional *H. pylori* strains circulating in the European part of the Russian Federation. The study included 56 strains of *H. pylori* isolated in three regions of the Russian Federation: Saint Petersburg, Astrakhan and Rostov Regions. Genomic DNA was isolated using a set of Probe NA (DNA Technology, Russia), according to the manufacturer's instructions. Detection of INDEL markers hp5605, hp6405, hp340, hp1390, hp3660 was performed using PCR. Clustering of the identified INDEL genotypes and building a phylogenetic tree were performed using the BioNumerics 7.6 and GrapeTree software packages. 21 strains from the GenBank database with known geographical origin were used as reference strains. In 20 strains from Saint Petersburg, 13 individual genotypes were identified, while 17 strains belong to the European cluster (hpEurope), 2 strains belong to the hspEAsia cluster and one strain belongs to the hspWAfrica cluster. The most common genotype identified in the European cluster includes six strains from Saint Petersburg and two strains from the GenBank database. For further differentiation of these strains, the VNTR typing method was used, which allowed identifying eight individual genotypes in eight strains. Fifty-six studied russian strains are represented by thirty individual genotypes, which reflects the high heterogeneity of strains circulating in the European part of the Russian Federation. The most frequent genotype is represented by two hpEurope strains, one strain from the Astrakhan region, as well as 5 and 6 strains from the Rostov Region and Saint Petersburg, respectively. The vast majority of Russian strains (52/56) belong to the hpEurope population, while two strains from Saint Petersburg are included in the hspEAsia population, and one strain from Saint Petersburg and the Astrakhan Region is included in the hspWAfrica population. Total, 77 *H. pylori* strains are represented by 37 individual genotypes with a high diversity index (DI = 0.95), which allows us to consider the proposed INDEL typing method as an independent method for genotyping *H. pylori* strains. Taking into consideration the complexity of the problem of accurately determining the geographical origin of *H. pylori* strains, the proposed simple and convenient method of INDEL typing of *H. pylori* strains, based on an available PCR method becomes very relevant and allows us to conduct an adequate primary analysis of the geographical origin of Russian *H. pylori* strains.

Key words: *Helicobacter pylori, PCR, INDEL, MST dendrogram, VNTR typing, geographical origin.*

Введение

В последние годы различия последовательностей ДНК многих микроорганизмов из различных географических зон мира все чаще связывают с миграцией популяций человека. Бактерия *Helicobacter pylori* как возбудитель гастрита и язвы желудка [18, 19] является одним из уникальных кандидатов для реконструкции миграции древнего человека. *H. pylori* обычно приобретается в раннем детстве, и после этого бактериальная колонизация часто продолжается в течение большей части жизни хозяина. Изначально было показано, что доминирующим фактором является внутрисемейная передача от родителей к детям [15, 30], однако позже была доказана частая горизонтальная передача инфекции между людьми, проживающими на одной территории [5]. Рекомбинация между неродственными штаммами происходит во время смешанной колонизации [8, 14, 22, 29], что приводит к многочисленным изменениям в бактериальном геноме. Необычно высокая частота мутаций [4, 7, 24] и скорость рекомбинации [8, 28] определяют разнообразие последовательностей ДНК *H. pylori*, которое намного больше, чем у других бактерий. Как следствие, штаммы *H. pylori* очень разнообразны и почти каждый изолят обладает уникальным типом последовательностей ДНК в схеме мультилокусного сиквенс-типирования (Multilocus Sequence Typing — MLST) последовательностей ДНК семи генов жизнеобеспечения *H. pylori* [9, 17]. Это необычно высокое разнообразие последовательностей привело к первоначальному предположению, что популяционная структура *H. pylori* является панмиктической [10, 23]. Генетическое разнообразие *H. pylori* было подтверждено, помимо метода MLST, и с помощью других методических подходов [3, 11, 12, 13, 25, 27].

В 2003 г. Falush и соавт. [9] при анализе 370 штаммов *H. pylori* методом MLST-типирования выделили четыре группы штаммов с различным географическим происхождением: hpEurope, hpAfrica 1 (позже разделенная на hspWAfrica и hspSAfrica), hpAfrica 2 и hpEastAsia (состоящая из hspAmerind, hspEAsia и hspMaori). Позднее было проведено MLST-типирование расширенного набора 769 изолятов *H. pylori*, выделенных у представителей 51 различной этнической группы населения всего мира [17, 20]. Было определено шесть основных бактериальных популяций, обозначенных по географическим регионам, в которых они выделялись наиболее часто. Пять из шести популяций оказались очень тесно связанными друг с другом, и к ним относились hpEurope, изолированные от европейцев, а также из стран Ближнего Востока

и из Индии [1, 6, 9, 17]; hpAfrica1 из Марокко, Сенегала, Буркина-Фасо и Южной Африки; hpNEAfrica, изолированный в Эфиопии, Сомали, Судане и в Северной Нигерии; hpAsia2, обнаруженный преимущественно в Северной Индии, а также в изолятах из Бангладеш, Таиланда и Филиппин; и hpEastAsia — из континентальной Восточной Азии, Океании и Америки. Далее внутрирегиональная кластеризация разделяет популяцию hpAfrica1 на западную (hspWAfrica) и южную (hspSAfrica) субпопуляции, а также hpEastAsia на материковую восточноазиатскую (hspEAsia), океаническую (hspMaori) и аборигенную американскую (hspAmerind) субпопуляции [9, 17]. Была также определена шестая и более отдаленно связанная популяция, hpAfrica2, которая не только сильно отличается от всех других популяций *H. pylori*, но и обнаружена только в Южной Африке, у людей как с африканским, так и европейским происхождением. Происхождение hpAfrica2 до сих пор остается неясным. И, наконец, в Новой Гвинее и Австралии обнаружена новая седьмая популяция *H. pylori* — hpSahul [21].

До настоящего времени MLST-типирование остается наиболее используемым методом для определения географического происхождения штаммов *H. pylori*, тем не менее он не лишен некоторых недостатков. Метод включает в себя секвенирование семи амплифицированных фрагментов ДНК общим размером 3850 нуклеотидов с дальнейшим определением однонуклеотидных замен (SNP) в последовательностях ДНК размером более 1400 нуклеотидов для каждого штамма и, следовательно, требует применения дорогостоящего высокотехнологичного оборудования и сложного программного обеспечения.

Нами недавно предложен способ дифференциации штаммов *Helicobacter pylori*, основанный на INDEL-типировании [2], и проведено исследование региональных клинических изолятов *H. pylori* для первичного анализа их географического происхождения [27].

Цель исследования — выявление INDEL-маркеров и изучение географического происхождения региональных штаммов *H. pylori*, циркулирующих в европейской части Российской Федерации.

Материалы и методы

В исследование включены 56 штаммов *H. pylori*, выделенные в трех регионах РФ: Санкт-Петербурге, Астраханской и Ростовской области. Геномную ДНК выделяли с использованием набора «Проба НК» (ДНК-Технология, Россия), согласно инструкции производителя. Выявление INDEL-маркеров проводили с помощью ПЦР, как описано ранее [27]. Кластеризацию выявленных INDEL-генотипов и построение филогенетического дерева проводили с помощью пакета программ BioNumerics 7.6 и GrapeTree [33]. В качестве референтных штаммов использовали 21 штамм из базы данных GenBank с известным географическим происхождением. VNTR-генотипирование проводили с помощью ПЦР, как описано ранее [25, 26]. Исследование одобрено независимым локальным этическим комитетом ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера (протокол № 50/04-2019, 22.06.2020).

Результаты

Методом ПЦР проведено выявление пяти INDEL-маркеров в ДНК 20 штаммов *H. pylori*, выделенных в Санкт-Петербурге (табл.).

Проведена кластеризация выявленных INDEL-генотипов и построено филогенетическое дерево методом MST (minimal spanning tree) с помощью пакета программ BioNumerics 7.6 (рис. 1, II обложка).

У 20 штаммов из Санкт-Петербурга выявлено 13 индивидуальных генотипов, при этом 17 штаммов относятся к европейскому кластеру (hpEurope), 2 штамма к кластеру hspEAsia (SP980,

Таблица. Распределение INDEL-маркеров в геноме 20 штаммов *H. pylori*

Table. Distribution of INDEL markers in genome of 20 *H. pylori* strains

Штамм Strain	hp5605	hp6405	hp340	hp1390	hp3660
SP100	102*	100	79	76	96
SP98	0	100	0	0	0
SP97	102	100	79	76	96
SP96	102	100	79	76	96
SP95	102	100	79	76	0
SP1002	102	106	79	64	96
SP984	0	100	79	0	96
SP983	102	106	79	76	96
SP982	102	100	79	76	96
SP700	102	100	79	76	96
SP707	102	106	79	76	0
SP755	102	106	79	76	96
SP782	102	100	79	76	96
SP786	0	100	79	0	0
SP956	102	100	79	76	0
SP958	102	106	79	0	0
SP967	102	100	79	0	96
SP980	0	100	79	64	108
SP981	102	106	85	64	96
SP994	102	100	79	64	108

Примечание. * — размер ампликона в п.н., 0 — отсутствие ампликона.

Note. * — amplified fragment in bp, 0 — absence of amplified fragment.

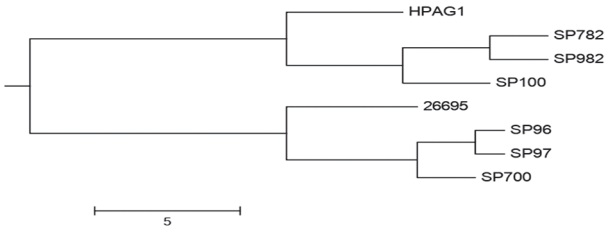

Рисунок 2. Дендрограмма VNTR-генотипов 8 штаммов *H. pylori* из кластера hpEurope
Figure 2. Dendrogram of VNTR genotypes of 8 strains from the hpEurope cluster

SP994) и один штамм — к кластеру hspWAfrica (SP981). Самый распространенный генотип, выявленный в европейском кластере, включает в себя шесть штаммов из Санкт-Петербурга и два штамма из базы данных GenBank. Для дальнейшей дифференциации этих штаммов применен метод VNTR-типирования, описанный нами ранее [25, 26] (рис. 2).

Таким образом, дополнительное применение метода VNTR-типирования позволяет выделить из штаммов с общим INDEL-генотипом индивидуальные VNTR-генотипы.

Для верификации результатов, полученных методом MST, нами был использован другой алгоритм кластеризации, а именно метод «ближайших соседей» (NJ), наиболее часто применяемый в процедуре MLST и реализованный в программе GrapeTree [33] (рис. 3, II обложка).

Состав кластеров практически не изменился, за исключением попадания в группу hspEAsia еще одного штамма из Санкт-Петербурга (SP98). Таким образом, подтверждается возможность применения метода INDEL-типирования для определения географического происхождения российских штаммов *H. pylori*.

Для расширения географического состава штаммов в исследование были добавлены 15 штаммов *H. pylori*, выделенных в Ростовской области, и 21 штамм с ранее определенными INDEL-генотипами из Астраханской области [27]. Таким образом, в процедуру построения филогенетического дерева методом MST включены 77 штаммов *H. pylori*, из них 56 российских (рис. 4, II обложка).

Как видно из рис. 4, 30 из 56 российских штаммов *H. pylori*, выделенных на территории европейской части РФ, представлены индивидуальными генотипами, что отражает высокую гетерогенность штаммов. Наиболее частый генотип представлен двумя штаммами hpEurope, одним штаммом из Астраханского региона, а также 5 и 6 штаммами из Ростовской области и Санкт-Петербурга соответственно. Подавляющее большинство российских штаммов (52/56) относится к популяции hpEurope, тогда как два штамма из Санкт-Петербурга входят в популяцию hspEAsia и по одному штамму из Санкт-Петербурга и Астраханской области — в популяцию hspWAfrica. Один референтный штамм, hspEAsia F32, неожиданно оказывается в популяции hpEurope. Всего 77 штаммов *H. pylori* представлены 37 индивидуальными генотипами с высоким индексом разнообразия (DI = 0,95), что позволяет рассматривать предлагаемый метод INDEL-типирования в качестве самостоятельного для генотипирования штаммов *H. pylori*.

Обсуждение

Внедрение в широкую практику методов полногеномного секвенирования (WGS) позволило разработать новые подходы для дифференциации штаммов *H. pylori* и определения их географического происхождения. Tsang A.K.L. и соавт. [31] провели полногеномное секвенирование штаммов бактерий десяти видов, включая *H. pylori*, и доказали, что MLST-типирование не способно полностью отразить геномную филогению потому, что семь используемых для MLST генов содержат всего около 0,5% информации полного генома. Кроме того, MLST не способен учитывать события рекомбинации во всем геноме. Таким образом, WGS- и SNP-типирование полного генома гораздо более эффективны для изучения филогенетических связей между штаммами разных видов бактерий. На основе метода NGS (next generation sequencing) были изучены последовательности двух профагов в геноме *H. pylori*, выявлены филогеографические связи между штаммами, и впервые было показано, что европейская популяция *H. pylori* (hpEurope) разделяется на две различные популяции (hpNEurope и hpSWEurope) [32], и это подтверждается и нашими данными INDEL-типирования (рис. 4). Следует отметить, что штамм India7, относящийся по классификации MLST к hpAsia2, по фаговому типированию входит в популяцию hpEurope, что соответствует результатам INDEL-типирования (данные не приведены). Примечательно, что российские штаммы наряду с общими генотипами с европейскими штаммами (6 генотипов), обладают гораздо большим количеством индивидуальных генотипов (17 генотипов), что подтверждает высокую гетерогенность штаммов, циркулирующих на территории европейской части РФ. Наконец, недавно предложен новый метод отбора таксонов, который направлен на минимизацию проблем дифференциации видов бактерий с высокой частотой рекомбинации, таких как *H. pylori* [16]. Авторы исследовали 185 штаммов *H. pylori*, из них 177 было секвенировано, а информация о 8 референтных штаммах была взята из литературных

источников. MLST-типирование обычно выявляет большое количество смешанных популяций, например hpEurope с hpNEAfrica, hpEurope с hpAsia2 и т. д., обусловленное высокой частотой событий рекомбинации. В итоге авторами из 185 штаммов было отобрано только 93, характеризующихся минимальной частотой рекомбинантных событий и обозначенных как quintessents («основные»). В частности, из 89 штаммов hpEurope было выбрано как quintessents только 16, что связано с длительной миграцией человека через Европу и, следовательно, большим количеством рекомбинантных событий. Также оба штамма hpAsia2 (один из них India7) не смогли сформировать отдельную субпопуляцию. Таким образом, пять из восьми референтных штаммов не были включены в категорию quintessents. Данная «очистка» позволила создать структуру из 7 «чистых» популяций, не перекрещивающихся друг с другом. Приведенные данные позволяют объяснить такие факты, как попадание в популяцию hpEurope штамма F32 (рис. 4), а также штамма India7. Таким образом, проблема точного определения географического происхождения штаммов окончательно не решена из-за наличия большого количества «гибридных» штаммов, а новые способы ее решения требуют применения дорогостоящего высокотехнологичного оборудования и сложного программного обеспечения.

На этом фоне весьма актуальным становится предлагаемый нами простой и удобный метод INDEL-типирования штаммов *H. pylori*, основанный на доступном методе ПЦР, позволяющий проводить адекватный первичный анализ географического происхождения штаммов *H. pylori*. Проведенный с помощью метода INDEL-типирования филогенетический анализ российских штаммов *H. pylori* позволил определить гетерогенность структуры популяции, в которой, помимо преобладающих штаммов европейской (hpEurope) группы, были впервые на территории РФ выявлены штаммы популяций hspEAsia и hspWAfrica.

Список литературы/References

1. Момыналиев К.Т., Челышева В.В., Акопиан Т.А., Селезнева О.В., Линц Б., Ахтман М., Говорун В.М. Популяционная идентификация российских изолятов Helicobacter pylori // Генетика. 2005. Т. 41, № 10. С. 1434–1437. [Momynaliev K.T., Chelysheva V.V., Akopian T.A., Selezneva O.V., Lints B., Akhtman M., Govorun V.M. Population identification of Russian Helicobacter pylori isolates. *Genetika = Genetics, 2005, vol. 41, no. 10, pp. 1434–1437. (In Russ.)*]
2. Патент RU 2688434C1. Российская Федерация, МПК C12Q 1/68 (2006.01), C12N 15/10 (2006.01), G01N 33/53 (2006.01), A61K 39/02 (2006.01). Способ дифференциации штаммов Helicobacter pylori путем молекулярно-генетического типирования: № 2011154058/10; заявлено 28.12.2011: опубликовано: 20.05.2013 / Сорокин В.М., Писанов Р.В. Патентообладатель: ФКУЗ «Ростовский-на-Дону ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. 7 с. [Patent No. 2688434C1 Russian Federation, Int. Cl. C12Q 1/68 (2006.01), C12N 15/10 (2006.01), G01N 33/53 (2006.01), A61K 39/02 (2006.01). Method for differentiation of strains Helicobacter pylori by multilocal VNTR-typing: No. 2011154058/10; application: 2011.12.28: date of publication 2013.05.20 / Sorokin V.M., Pisanov R.V. Proprietors: Federal'noe kazennoe uchrezhdenie zdravookhranenija "Rostovskij-na-Donu ordena Trudovogo Krasnogo Znameni nauchnoissledovatel'skij protivochumnyj institut" Federal'noj sluzhby po nadzoru v sfere zashchity prav potrebitelej i blagopoluchija cheloveka. 7 p.]
3. Achtman M., Azuma T., Berg D.E., Ito Y., Morelli G., Pan Z.J., Suerbaum S., Thompson S.A., van der Ende A., van Doorn L.J. Recombination and clonal groupings within Helicobacter pylori from different geographical regions. *Mol. Microbiol., 1999, vol. 32, pp. 459–470. doi: 10.1046/j.1365-2958.1999.01382.x*
4. Björkholm B., Sjölund M., Falk P.G., Berg O.G., Engstrand L., Andersson D.I. Mutation frequency and biological cost of antibiotic resistance in Helicobacter pylori. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2001, vol. 98, pp. 14607–14612. doi: 10.1073/pnas.241517298*
5. Delport W., Cunningham M., Olivier B., Preisig O., Van Der Merwe S.W. A population genetics pedigree perspective on the transmission of Helicobacter pylori. *Genetics, 2006, vol. 174, pp. 2107–2118. doi: 10.1534/genetics.106.057703*
6. Devi S.M., Ahmed I., Francalacci P., Hussain M.A., Akhter Y., Alvi A., Sechi L.A., Mégraud F., Ahmed N. Ancestral European roots of Helicobacter pylori in India. *BMC genomics, 2007, vol. 8, no. 1: 184. doi: 10.1186/1471-2164-8-184*
7. Eppinger M., Baar C., Linz B., Raddatz G., Lanz C., Keller H., Morelli G., Gressmann H., Achtman M., Schuster S.C. Who ate whom? Adaptive Helicobacter genomic changes that accompanied a host jump from early humans to large felines. *PLoS Genet., 2006, vol. 2, no. 7: e120. doi: 10.1371/journal.pgen.0020120.eor*
8. Falush D., Kraft C., Taylor N.S., Correa P., Fox J.G., Achtman M., Suerbaum S. Recombination and mutation during long-term gastric colonization by Helicobacter pylori: estimates of clock rates, recombination size, and minimal age. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2001, vol. 98, no. 26, pp. 15056–15061. doi: 10.1073/pnas.251396098*
9. Falush D., Wirth T., Linz B., Pritchard J.K., Stephens M., Kidd M., Blaser M.J., Graham D.Y., Vacher S., Perez-Perez G.I., Yamaoka Y. Traces of human migrations in Helicobacter pylori populations. *Science, 2003, vol. 299, no. 5612, pp. 1582–1585. doi: 10.1126/science.1080857*
10. Go M.F., Kapur V., Graham D.Y., Musser J.M. Population genetic analysis of Helicobacter pylori by multilocus enzyme electrophoresis: extensive allelic diversity and recombinational population structure. *J. Bacteriol., 1996, vol. 178, pp. 3934–3938. doi: 10.1128/jb.178.13.3934-3938.1996*
11. Guo C., Liao Y., Li Y., Duan J., Guo Y., Wu Y., Cui Y. Genotyping analysis of Helicobacter pylori using multiplelocus variable-number tandem-repeats analysis in five regions of China and Japan. *BMC Microbiol., 2011, vol. 11: 197. doi: 10.1186/1471-2180-11-197*
12. Han S.R., Zschausch H.C., Meyer H.G., Schneider T., Loos M., Bhakdi S., Maeurer M.J. Helicobacter pylori: clonal population structure and restricted transmission within families revealed by molecular typing. *J. Clin. Microbiol., 2000, vol. 38, pp. 3646–3651. doi: 10.1128/JCM.38.10.3646-3651.2000*

13. Kang J., Blaser M.J. Bacterial populations as perfect gases: genomic integrity and diversification tensions in Helicobacter pylori. *Nat. Rev. Microbiol., 2006, vol. 4, pp. 826–836. doi: 10.1038/nrmicro1528*
14. Kersulyte D., Chalkauskas H., Berg D.E. Emergence of recombinant strains of Helicobacter pylori during human infection. *Mol. Microbiol., 1999, vol. 31, pp. 31–43. doi: 10.1046/j.1365-2958.1999.01140.x*
15. Kivi M., Tindberg Y., Sörberg M., Casswall T.H., Befrits R., Hellström P.M., Bengtsson C., Engstrand L., Granström M. Concordance of Helicobacter pylori strains within families. *J. Clin. Microbiol., 2003, vol. 41, no. 12, pp. 5604–5608. doi: 10.1128/jcm.41.12.5604-5608.2003*
16. Lamichhane B., Wise M.J., Chua E.G., Marshall B.J., Tay C.Y. A novel taxon selection method, aimed at minimizing recombination, clarifies the discovery of a new sub-population of Helicobacter pylori from Australia. *Evol. Appl., 2020, vol. 13, no. 2, pp. 278–289. doi: 10.1111/eva.12864*
17. Linz B., Balloux F., Moodley Y., Manica A., Liu H., Roumagnac P., Falush D., Stamer C., Prugnolle F., van der Merwe S.W., Yamaoka Y. An African origin for the intimate association between humans and Helicobacter pylori. *Nature, 2007, vol. 445, no. 7130, pp. 915–918. doi: 10.1038/nature05562*
18. Marshall B.J., Armstrong J.A., McGechie D.B., Glancy R.J. Attempt to fulfil Koch's postulates for pyloric Campylobacter. *Med. J. Aust., 1985, vol. 142, pp. 436–439.*
19. Marshall B.J., Warren J.R. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet, 1984, vol. 1, pp. 1311–1315. doi: 10.1016/s0140-6736(84)91816-6*
20. Moodley Y., Linz B. Helicobacter pylori sequences reflect past human migrations. *Genome Dyn., 2009, vol. 6, pp. 62–74. doi: 10.1159/000235763*
21. Moodley Y., Linz B., Yamaoka Y., Windsor H.M., Breurec S., Wu J.Y., Maady A., Bernhöft S., Thiberge J.M., Phuanukoonnon S., Jobb G. The peopling of the Pacific from a bacterial perspective. *Science, 2009, vol. 323, no. 5913, pp. 527–530. doi: 10.1126/science.1166083*
22. Raymond J., Thiberge J.M., Chevalier C., Kalach N., Bergeret M., Labigne A., Dauga C. Genetic and transmission analysis of Helicobacter pylori strains within a family. *Emerg. Infect. Dis., 2004, vol. 10, no. 10, pp. 1816–1821. doi: 10.3201/eid1010.040042*
23. Salaun L., Audibert C., Le Lay G., Burucoa C., Fauchere J.L., Picard B. Panmictic structure of Helicobacter pylori demonstrated by the comparative study of six genetic markers. *FEMS Microbiol. Lett., 1998, vol. 161, pp. 231–239. doi: 10.1111/j.1574-6968.1998.tb12953.x*
24. Schuster S.C., Wittekindt N.E., Linz B. Molecular mechanisms of host-adaptation in Helicobacter. In: Helicobacter pylori: molecular genetics and cellular biology. Ed. by Yamaoka Y. *Wymondham: Horizon Scientific Press, 2008, pp. 193–204.*
25. Sorokin V., Pisanov R., Golubkina E., Bereznyak E., Prozorova L. Comparative multiple-locus variablenumber tandem repeat analysis of Helicobacter pylori Isolates from South of Russia. *IJMB, 2017, vol. 2, no. 3, pp. 135–138. doi: 10.11648.j.ijmb.20170203.15*
26. Sorokin V.M., Pisanov R.V., Vodop'janov A.S. Improvement of multiple-locus VNTR analysis typing scheme for Helicobacter pylori. *Asian J. Biochem. Genet. Mol. Biol., 2018, vol. 1, no. 4, pp. 1–7.*
27. Sorokin V.M., Pisanov R.V., Vodop'janov A.S., Golubkina E.V. New tool for phylogenetic analysis of Helicobacter pylori. *WJARR, 2020, vol. 6, no. 2, pp. 60–67. doi: 10.30574/wjarr.2020.6.2.0128*
28. Suerbaum S., Smith J.M., Bapumia K., Morelli G., Smith N.H., Kunstmann E., Dyrek I., Achtman M. Free recombination within Helicobacter pylori. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1998, vol. 95, no. 21, pp. 12619–12624. doi: 10.1073/pnas.95.21.12619*
29. Taylor N.S., Fox J.G., Akopyants N.S., Berg D.E., Thompson N., Shames B., Yan L., Fontham E., Janney F., Hunter F.M. Long-term colonization with single and multiple strains of Helicobacter pylori assessed by DNA fingerprinting. *J. Clin. Microbiol., 1995, vol. 33, no. 4, pp. 918–923. doi: 10.1128/JCM.33.4.918-923.1995*
30. Tindberg Y., Bengtsson C., Granath F., Blennow M., Nyren O., Granstrom M. Helicobacter pylori infection in Swedish school children: lack of evidence of child-to-child transmission outside the family. *Gastroenterology, 2001, vol. 121, pp. 310–316. doi: 10.1053/gast.2001.26282*
31. Tsang A.K.L., Lee H.H., Yiu S.M., Lau S.K., Woo P.C. Failure of phylogeny inferred from multilocus sequence typing to represent bacterial phylogeny. *Sci. Rep., 2017, vol. 7, no. 1: 4536. doi: 10.1038/s41598-017-04707-4*
32. Vale F.F., Nunes A., Oleastro M., Gomes J.P., Sampaio D.A., Rocha R., Vítor J.M., Engstrand L., Pascoe B., Berthenet E., Sheppard S.K. Genomic structure and insertion sites of Helicobacter pylori prophages from various geographical origins. *Sci. Rep., 2017, vol. 7: 42471. doi: 10.1038/srep42471*
33. Zhou Z., Alikhan N.F., Sergeant M.J., Luhmann N., Vaz C., Francisco A.P., Carriço J.A., Achtman M. GrapeTree: visualization of core genomic relationships among 100,000 bacterial pathogens. *Genome Res., 2018, vol. 28, no. 9, pp. 1395–1404. doi: 10.1101/gr.232397.117*

Авторы:

Сорокин В.М., к.б.н, старший научный сотрудник лаборатории туляремии ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт, г. Ростов-на-Дону, Россия;
Сварваль А.В., к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории идентификации патогенов ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Водопьянов А.С., к.м.н., зав. группой вирусологии ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт, г. Ростов-на-Дону, Россия;
Писанов Р.В., к.б.н., зав. лабораторией диагностики особо опасных инфекций ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт, г. Ростов-на-Дону, Россия.

Authors:

Sorokin V.M., PhD (Biology), Senior Researcher, Tularemia Laboratory, Rostov-on-Don Research Institute for Plague Control, Rostov-on-Don, Russian Federation;
Svarval A.V., PhD (Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Pathogenes Identification, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Vodop'janov A.S., PhD (Medicine), Head of the Virology Group, Rostov-on-Don Research Institute for Plague Control, Rostov-on-Don, Russian Federation;
Pisanov R.V., PhD (Biology), Head of the Laboratory for Diagnostics of Especially Dangerous Infections, Rostov-on-Don Research Institute for Plague Control, Rostov-on-Don, Russian Federation.

Поступила в редакцию 24.08.2020
Отправлена на доработку 25.02.2021
Принята к печати 18.03.2021

Received 24.08.2020
Revision received 25.02.2021
Accepted 18.03.2021

Иллюстрации к статье «Географическое разнообразие штаммов *Helicobacter pylori*, циркулирующих в европейской части РФ» (авторы: В.М. Сорокин, А.В. Сварваль, А.С. Водопьянов, Р.В. Писанов) (с. 701–706)

Illustrations for the article “Geographical diversity of *Helicobacter pylori* strains circulating in the European Part of the Russian Federation” (authors: Sorokin V.M., Svarval A.V., Vodop’janov A.S., Pisanov R.V.) (pp. 701–706)

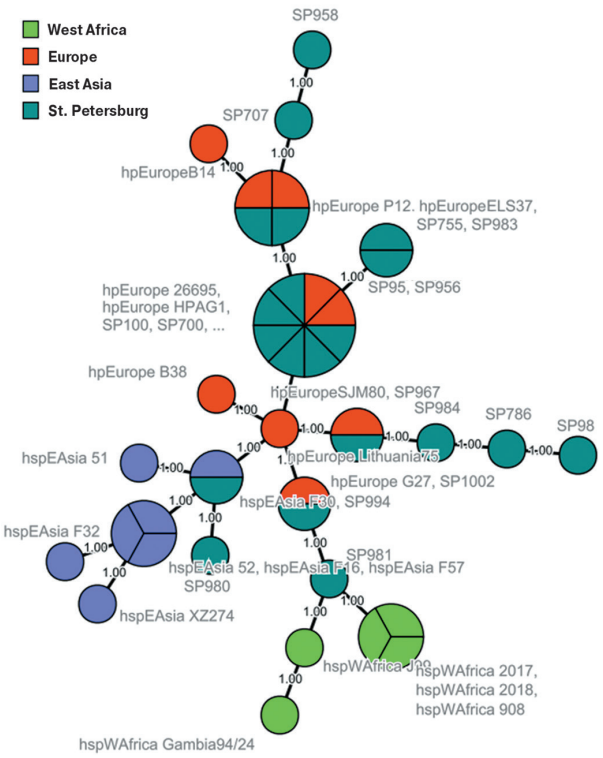

Рисунок 1. Филогенетическое дерево INDEL-генотипов по методу MST

Figure 1. Phylogenetic tree of INDEL genotypes constructed by using the MST method

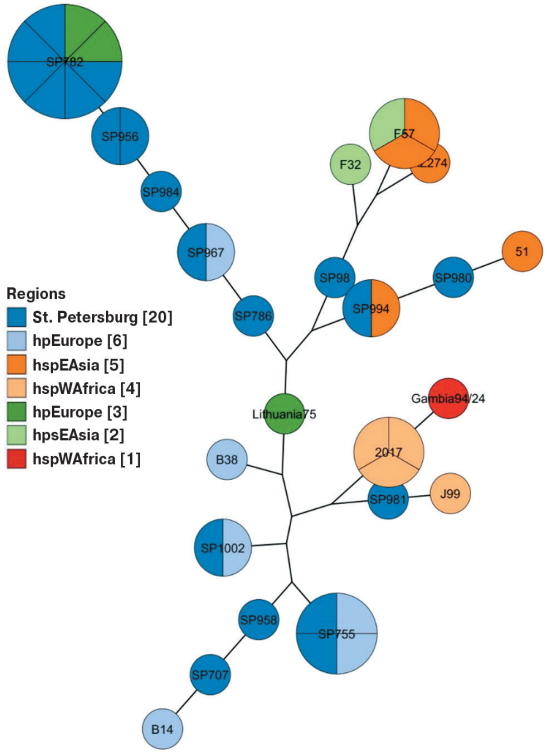

Рисунок 3. Филогенетическое дерево, построенное по методу NJ

Figure 3. Phylogenetic tree of INDEL genotypes constructed by using the NJ method

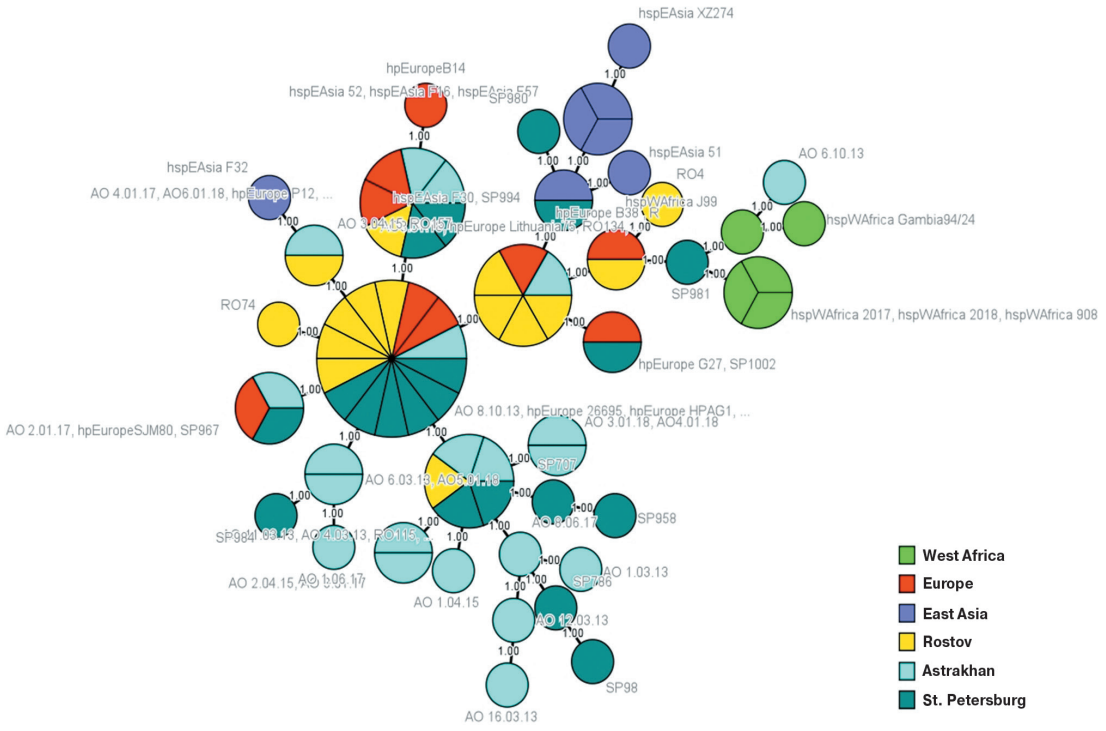

Рисунок 4. Филогенетическое дерево INDEL-генотипов 77 штаммов *H. pylori* по методу MST

Figure 4. Phylogenetic tree of INDEL genotypes of 77 *H. pylori* strains constructed by using the MST method