

Оригинальное исследование
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-388>



Молекулярно-генетический мониторинг возбудителей холеры

Водопьянов А.С.[✉], Водопьянов С.О., Писанов Р.В., Олейников И.П., Носков А.К.

Ростовский-на-Дону противочумный институт, Ростов-на-Дону, Россия

Аннотация

Актуальность. Продолжающаяся пандемия холеры определяет актуальность разработки и совершенствования методик анализа данных полногеномного секвенирования (WGS) возбудителя холеры. Особую значимость это приобретает в свете стоящих задач по импортозамещению зарубежной продукции, в том числе программного обеспечения.

Цель исследования состояла в разработке методики молекулярно-генетического мониторинга возбудителей холеры с использованием онлайн-геоинформационной системы (ГИС) и анализе с её помощью штаммов, выделенных на территории России ранее.

Материалы и методы. В работе использованы данные WGS 2598 токсигенных (ctxAB*tcpA*) штаммов *Vibrio cholerae* O1 El Tor, полученные непосредственно авторами на платформе «MiSeq» («Illumina»), и из базы данных NCBI. Программное обеспечение для анализа однонуклеотидных полиморфизмов (single nucleotide polymorphism, SNP) разрабатывали на языках программирования Java и Python. Для визуализации дендрограммы использовали программу «Cytoscape». Разработку онлайн-ГИС осуществляли с использованием языков программирования HTML, JavaScript и PHP. В качестве ядра использовали свободно распространяемую библиотеку Leaflet, написанную на языке JavaScript. В качестве картографических данных использовали карты, полученные от сообщества OpenStreetmap.

Результаты и обсуждение. Созданы универсальный набор SNP и программное обеспечение для анализа данных WGS штаммов холерных вибрионов. Показано, что большинство штаммов распределяются между несколькими большими кластерами. Установлены наиболее близкородственные штаммы холерных вибрионов, изолированные на территории России с 2001 г. Создана онлайн-ГИС «Молекулярно-генетический мониторинг *V. cholerae*», позволяющая проводить выборку близкородственных штаммов непосредственно на электронной карте.

Заключение. Разработанная методика SNP-типирования и построенная на её основе ГИС являются полезными инструментами для анализа филогенетических связей между штаммами холерных вибрионов.

Ключевые слова: *Vibrio cholerae*, холера, однонуклеотидный полиморфизм, генотипирование, геоинформационная система, полногеномное секвенирование, разработка программного обеспечения

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Водопьянов А.С., Водопьянов С.О., Писанов Р.В., Олейников И.П., Носков А.К. Молекулярно-генетический мониторинг возбудителей холеры. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2023;100(6):462–471.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-388>

EDN: <https://www.elibrary.ru/vofcpd>

Original Study Article
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-388>

Development of a methodology for molecular genetic monitoring for the cholera causative agent

Alexey S. Vodopyanov[✉], Sergey O. Vodopyanov, Ruslan V. Pisanov, Igor P. Oleinikov, Aleksey K. Noskov

Rostov-on-Don Antiplague Scientific Research Institute, Rostov-on-Don, Russia

Abstract

Background. The ongoing cholera pandemic determines the relevance of the development and improvement of methods for analysis of data on genome-wide sequencing of the cholera pathogen. This is of particular importance in the light of the challenges of import substitution of foreign products, including software.

The aim of the study was to develop a methodology for molecular genetic monitoring for the cholera causative agent using online geographic information system (GIS) and analysis with its help of strains isolated in Russia earlier.

Materials and methods. Data from genome-wide sequencing of 2598 toxigenic (ctxAB+tcpA+) strains of *V. cholerae* O1 El Tor, both obtained by the authors on the MiSeq (Illumina) platform, and retrieved from the NCBI database were used in the study. The SNP analysis software was developed in the Java and Python programming languages. Cytoscape program was used to visualize the dendrogram. The development of online GIS was carried out using the programming languages HTML, JavaScript and PHP. The freely distributed Leaflet library written in JavaScript was used as the core. Maps obtained from the OpenStreetMap community were used as cartographic data.

Results and discussion. A universal set of SNPs and software have been developed to analyze the data of genome-wide sequencing of cholera vibrio strains. It was shown that the majority of strains were distributed among several large clusters. The most closely related strains for cholera vibrios isolated in Russia since 2001 have been identified. An online GIS "Molecular genetic monitoring for *V. cholerae*" has been created, which allows the recognition of closely related strains directly on an electronic map.

Keywords: *Vibrio cholerae*, cholera, SNP, genotyping, GIS, genome-wide sequencing, software development

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Vodopyanov A.S., Vodopyanov S.O., Pisanov R.V., Oleinikov I.P., Noskov A.K. Development of a methodology for molecular genetic monitoring for the cholera causative agent. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2023;100(6):462–471.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-388>

EDN: <https://www.elibrary.ru/vofcpcd>

Введение

Седьмая пандемия холеры, вызванная эпидемиологически значимыми штаммами *Vibrio cholerae* O1 El Tor, началась в 1961 г. и продолжается до сих пор, её эндемичные очаги сформированы на территории многих стран Азии и Африки. Индийский субконтинент является местом формирования нескольких вариантов *V. cholerae*, впоследствии распространившихся по всему миру. Территория России не является эндемичной по холере, все зарегистрированные случаи холеры имели завозное происхождение.

Геном возбудителя холеры чрезвычайно пластичен, что приводит к формированию штаммов с повышенной вирулентностью, где, помимо точечных мутаций в различных генах, отмечены различные виды делеций [1–3].

Интенсивное развитие молекулярно-генетических технологий значительно увеличило возможности секвенирования полных геномов бактериальных патогенов с параллельным созданием баз данных, в связи с чем филогенетический анализ является одним из часто используемых методов получения эпидемиологических интерпретаций на основе геномных данных патогенов [4]. Однако нет единого подхода к проведению анализа. Так, данные полногеномного секвенирования (WGS) были использованы при анализе крупной вспышки холеры в Йемене в 2016–2017 гг., что позволило отнести выделяемые штаммы к одной из подлиний

7-й пандемической линии 7PET, которая произошла из Южной Азии и первоначально вызвала вспышки в Восточной Африке [5].

В ряде случаев, несмотря на наличие полных геномов, для проведения анализа используется ограниченное число генов. Так, при изучении штаммов холерных вибрионов O1-серогруппы, циркулирующих в Таиланде, было проведено типирование по однонуклеотидным полиморфизмам (single nucleotide polymorphism, SNP) 7 генов «домашнего хозяйства» (*adk*, *gyrB*, *metE*, *mdh*, *pntA*, *purM* и *pyrC*), что позволило провести дифференциацию клинических и водных изолятов O1 и O139, а также выявить вибрионы, относящиеся к другим серологическим группам [6]. При изучении генетического профиля штаммов *V. cholerae* O1, выделенных от больных холерой в Дакке и Бангладеш, был проведён филогенетический анализ на основе 4141 SNP, который позволил выявить близкое родство с эпидемическими клонами *V. cholerae* O1, выделенными в 2010 г. от больных холерой в Пакистане [7]. Т. Ramamurthy и соавт. проведено исследование 136 штаммов *V. cholerae* El Tor, выделенных в различных регионах мира, по 20 тыс. SNP, что позволило показать существование 8 филогенетических линий [8]. Анализ данных WGS широко используется и отечественными исследователями для выявления клональных связей между различными штаммами *V. cholerae* [9–11].

Большое значение имеет набор SNP, используемых для анализа. Как правило, он составляется во время проведения исследования для определённой группы анализируемых изолятов *V. cholerae*. Так, большинство работ посвящено одномоментному изучению ограниченных наборов штаммов [6, 7, 9, 11]. Это, с одной стороны, может являться причиной расхождения результатов даже при изучении геномов одних и тех же штаммов, с другой стороны, такой подход ограничивает возможности проведения постоянного мониторинга с оперативным включением в анализ выделяемых штаммов *V. cholerae* [12]. На наш взгляд, это делает актуальным разработку методик, основанных на использовании единого перечня SNP, что позволит повысить оперативность проведения анализа при выделении свежих штаммов. Стоит отметить, что подобный подход, предусматривающий анализ по заранее определённому перечню SNP, уже с успехом реализован для возбудителя сибирской язвы [13–15] и туляремии [16, 17].

Одной из задач исследователей в нашей стране является импортозамещение, что предусматривает преодоление зависимости от импортных поставок программных средств и использование преимущественно отечественного программного обеспечения¹. Это подчёркивает актуальность разработки отечественных программных продуктов. Не менее актуальными проблемами являются анализ и визуализация получаемых результатов. Одним из наиболее часто используемых методов анализа является построение дендрограммы, отражающей филогенетические связи между различными штаммами *V. cholerae*. Однако, чем больше штаммов взято в исследование, тем более громоздкой получается итоговая дендрограмма, что осложняет проведение её анализа. Вместе с тем одним из универсальных инструментов анализа являются геоинформационные системы (ГИС), позволяющие комбинировать пространственные, временные и эпидемиологические данные. В настоящее время широко распространение получили онлайн-ГИС и интерактивные базы данных, размещаемые в сети Интернет, что обеспечивает возможность работы с ними широкому кругу исследователей [18–21].

В связи с этим **цель** настоящего исследования состояла в разработке методики молекулярно-генетического мониторинга за возбудителем холеры с использованием онлайн-ГИС и анализе с её помощью штаммов, выделенных ранее на территории России.

Материалы и методы

В работе использованы 220 токсигенных (*ctxAB⁺tcpA⁺*) штаммов *V. cholerae* O1 El Tor из коллекции Музея живых культур Ростовского-на-Дону противочумного института, секвенирование которых проведено на платформе «Illumina MiSeq». Для сравнительного анализа в работу были взяты 1848 геномов из базы данных NCBI и 530 геномов из базы ENA (European Nucleotide Archive), представленных в виде ридов, сборку которых проводили с использованием программы «Spades» [22].

Программное обеспечение для составления перечня SNP, проведения SNP-типирования и построения дендрограммы (минимальное остовное дерево) разрабатывали на языках программирования Java и Python.

Для визуализации дендрограммы использовали программу «Cytoscape» [23]. Геокодирование мест выделения штаммов проводили с использованием API-сервиса Nominatum. Разработку онлайн-ГИС осуществляли с использованием языков программирования HTML, JavaScript и PHP. В качестве ядра использовали свободно распространяемую библиотеку «Leaflet», написанную на языке JavaScript. В качестве картографических данных использовали карты, полученные от сообщества «OpenStreetmap».

Результаты и обсуждение

Первый этап работы заключался в создании коллекции геномов токсигенных (*ctxAB⁺tcpA⁺*) штаммов *V. cholerae* O1 El Tor. Для этой цели все имеющиеся данные WGS были проверены на наличие генов *wbe* (*rbfN*), *tcpA*, *ctxA*, *ctxB*, что позволило отобрать 2598 геномов, выделенных с 1941 по 2022 г. (см. приложение в дополнительных файлах к статье на сайте журнала: DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-388-1>). При этом некоторые геномы *V. cholerae* O1 были дублированы в случае проведения секвенирования разными авторами на разных технологических платформах. Существенной сложностью на данном этапе явилось отсутствие полноценных данных о месте выделения штаммов. Для дальнейшего анализа были оставлены штаммы, для которых указаны год и место выделения.

Следующий этап работы состоял в составлении универсального перечня SNP, позволяющего проводить анализ данных WGS штаммов возбудителя холеры. Одной из значимых проблем при проведении подобных исследований является существенное возрастание требований производительности вычислительной мощности при увеличении количества исследуемых штаммов. С этой целью нами ранее был разработан алгоритм последовательного анализа геномов, при котором перечень SNP изучаемого штамма сохраняется в отдельном файле [12]. Это обеспечивает линейную зависимость времени

¹ Указ Президента РФ от 13.05.2017 № 208 «О Стратегии экономической безопасности Российской Федерации на период до 2030 года» и Указ Президента РФ от 07.05.2018 № 204 «О национальных целях и стратегических задачах развития Российской Федерации на период до 2024 года»

работы от количества изучаемых штаммов, а также позволяет организовать многопоточность, т.е. проведение одновременного анализа сразу нескольких геномов. Помимо этого данный приём в совокупности с универсальным перечнем SNP даёт возможность экономить время при необходимости добавления новых штаммов в анализ.

Для составления перечня SNP в рамках настоящей работы был проведён анализ случайной выборки из 50 геномов *V. cholerae* из базы данных NCBI, выделенных в период с 2016 по 2020 г., что позволило составить единый перечень, включающий данные о 54 858 SNP.

Следующий этап заключался в построении матрицы различий, основанной на попарном сравнении изучаемых штаммов. При этом каждый вариант SNP учитывался для дальнейшего анализа только в случае наличия такого же аллеля как минимум у 3 штаммов, что позволяет исключать ошибки секвенирования. Сложностью данного этапа является квадратичная зависимость времени от количества штаммов. В зависимости от мощности используемого компьютера данный этап составлял 12–72 ч.

Для анализа полученной информации было построено минимальное остовное дерево, отражающее генетическую близость между различными группами штаммов (рис. 1). Для облегчения визуального анализа штаммы *V. cholerae* O1, изолированные в России, отмечены красным цветом, на Украине — зелёным.

Технологические платформы секвенирования различаются по характеру генерируемых ошибок. Например, при использовании технологии «MiSeq» («Illumina») ошибки секвенирования чаще всего проявляются в виде единичных нуклеотидных замен, в то время как для «Ion Torrent» больше были характерны делеции-вставки [24]. Это может являться существенной проблемой при сравнительном анализе данных, полученных разными авторами. Для решения этой проблемы ранее нами был предложен метод «контрольных геномов», заключающийся в добавлении в анализ одних и тех же штаммов, сиквенс которых проведён на различных типах секвенаторов [24]. В рамках настоящего исследования в анализ были включены пары геномов штаммов *V. cholerae* O1 El Tor № 81 и № 18899,

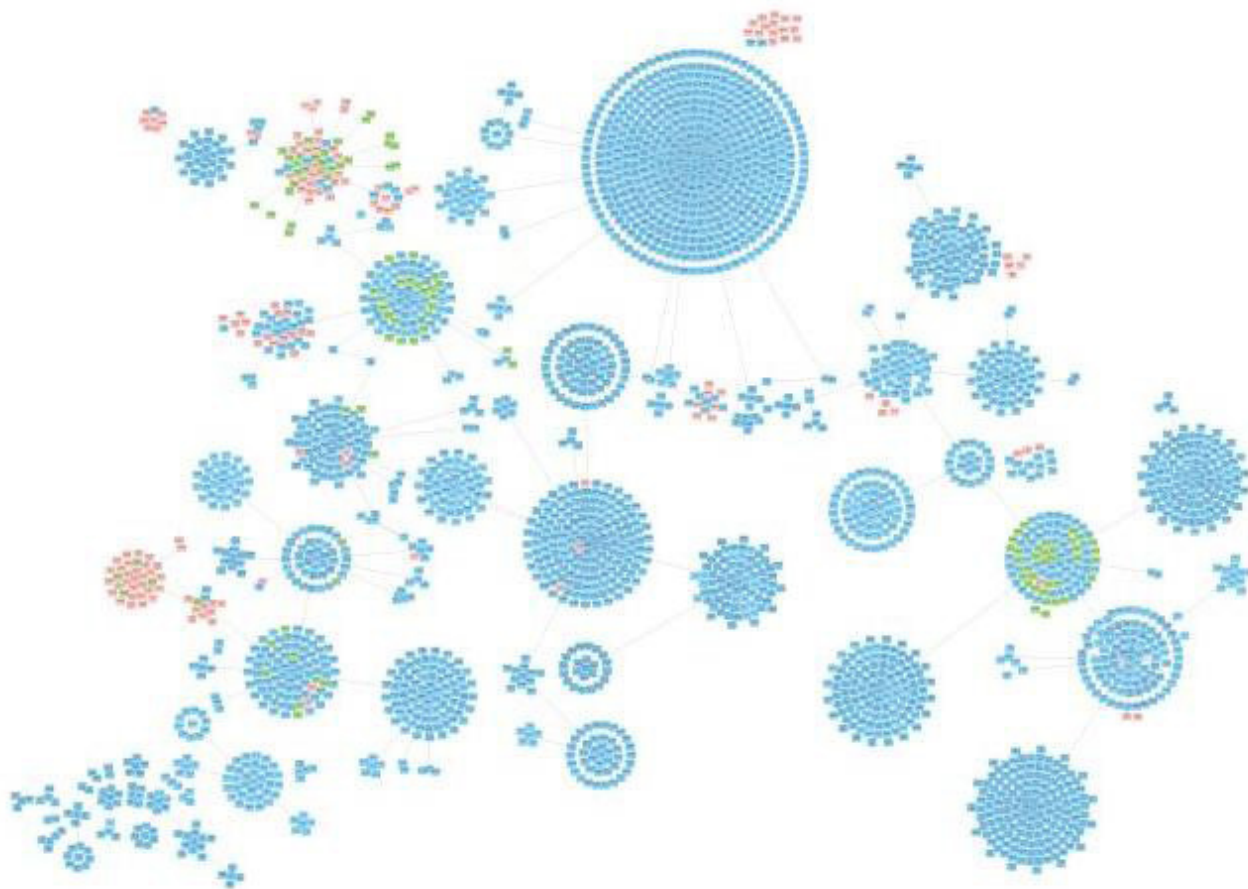


Рис. 1. Дендрограмма, отражающая генетическую близость между 2598 геномами токсигенных штаммов *V. cholerae* O1-серогруппы.

Fig. 1. Dendrogram reflecting the genetic affinity between 2598 genomes of toxigenic strains of *V. cholerae* O1 serogroup.

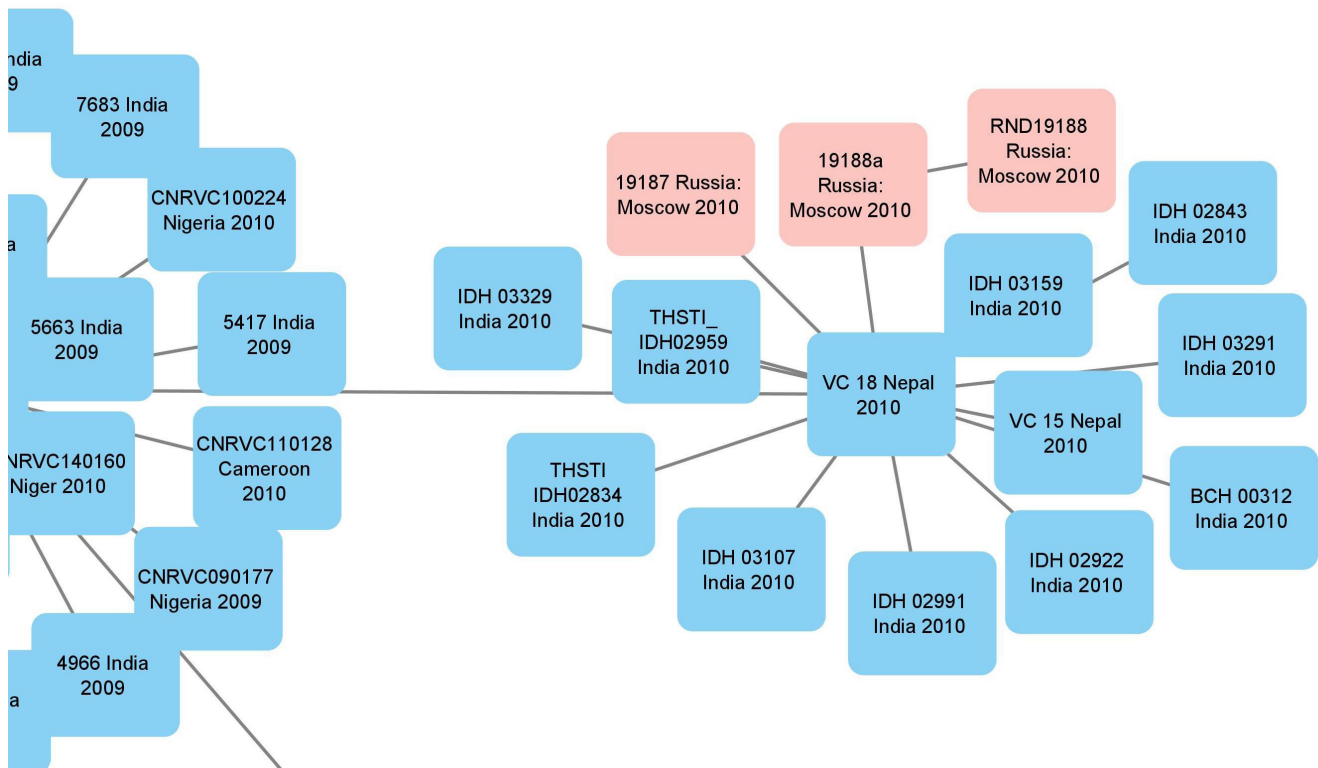


Рис. 2. Фрагмент дендрограммы, отражающей близость штаммов *V. cholerae*, выделенных в Москве, к штаммам из Индии и Непала. Для каждого штамма указаны номер штамма, место и год выделения.

Fig. 2. Fragment of a dendrogram reflecting the relatedness of *V. cholerae* strains isolated in Moscow to strains from India and Nepal. For each strain, the strain number, place and year of isolation are indicated.

секвенирование каждого из которых проведено на платформах «MiSeq» («Illumina») и «IonTorrent» («Thermo Fisher»). Парная группировка таких штаммов, на наш взгляд, доказывает корректность построенной дендрограммы.

Анализ дендрограммы показывает, что основная масса токсигенных изолятов *V. cholerae* распределяется между несколькими большими кластерами. Наибольший интерес, на наш взгляд, представляет анализ штаммов, изолированных в России. Геномы токсигенных штаммов *V. cholerae* № 19187, 19188 и 19188a, выделенные в Москве в 2010 г., оказались генетически близки штаммам, циркулировавшим в это же время в Индии и Непале (**рис. 2**). В то время как изоляты *V. cholerae* O1-серогруппы № 19191 и 19191a, также выделенные в Москве, оказались близки «гаитянской» группе штаммов, циркулировавших на о. Гаити в 2010 г., что согласуется с данными, полученными ранее [24].

Особый интерес представляют штаммы *V. cholerae*, вызвавшие вспышку холеры на Украине в 2011 г. Данные штаммы имеют «гаитянский» тип гена *ctxB* (*ctxB-7* по классификации [25]) и, по мнению ряда авторов, образуют общий кластер со штаммами, вызвавшими вспышку холеры на о. Гаити в 2010 г. [26]. Однако, по данным настоящего исследования, «украинские» штаммы образовали

отдельный кластер со штаммами, изолированными в Индии в 2010–2016 гг. В этот же кластер попал изолят *V. cholerae* № 6878, выделенный в Москве в 2012 г. (**рис. 3**). Примечательно, что данный кластер является дочерним от кластера штаммов, выделенных непосредственно на о. Гаити в 2010–2013 гг., что согласуется с данными, полученными К.В. Kuleshov и соавт. [27]. Это позволяет сделать вывод о продолжающихся мутационных изменениях в данной группе штаммов.

Весьма интересным представлялось изучение токсигенных штаммов, выделенных в Ростовской области в 2011 и 2014 гг., ввиду того что ранее проведенное исследование не позволило выявить близкородственные геномы [24]. В рамках настоящего исследования данные изоляты попали в общий кластер со штаммами, циркулировавшими в Мозамбике на протяжении более 10 лет. Кроме того, в этот же кластер вошли штаммы, изолированные в 2005 г. в Твери и Москве (**рис. 4**).

В ходе эпидемиологического расследования вспышки холеры (52 больных и 18 вибрионосителей) в Казани в 2001 г. было высказано предположение о завозе возбудителя из-за рубежа [28]. В рамках настоящего исследования установлено, что штаммы *V. cholerae*, выделенные во время вспышки в 2001 г., оказались генетически близки

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

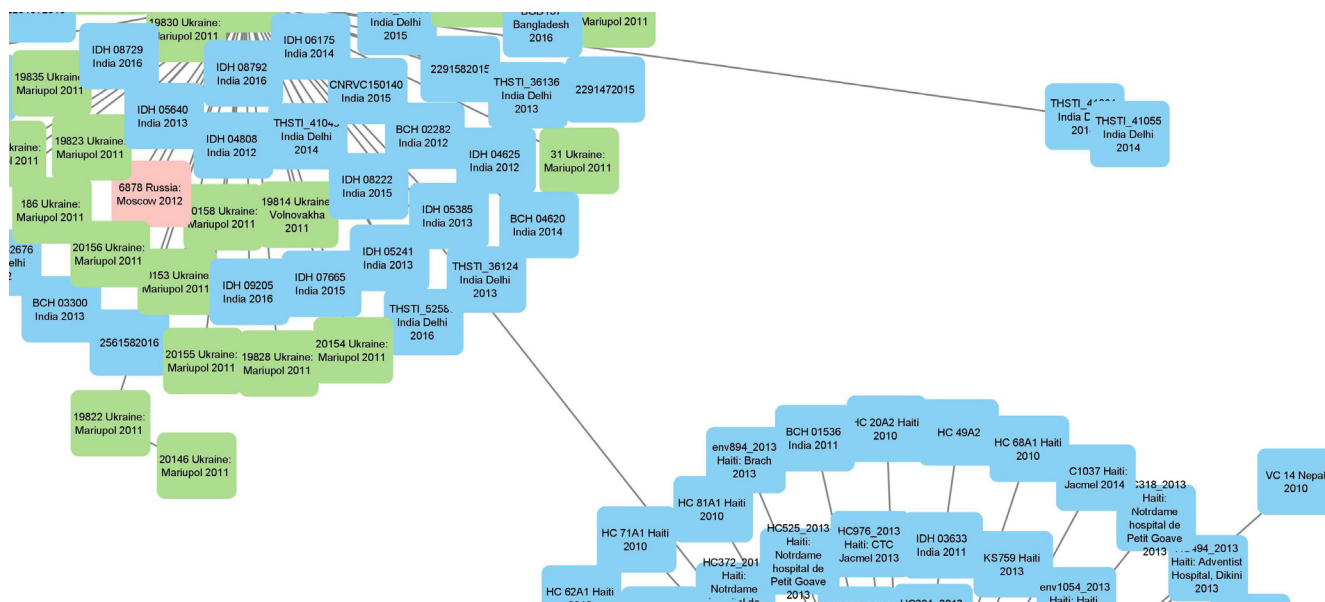


Рис. 3. Фрагмент дендрограммы, содержащий штаммы, изолированные во время вспышки холеры в Мариуполе в 2011 г.

Для каждого штамма указаны номер штамма, место и год выделения.

Fig. 3. A fragment of a dendrogram containing strains isolated during a cholera outbreak in Mariupol in 2011.

For each strain, the strain number, place and year of isolation are indicated.

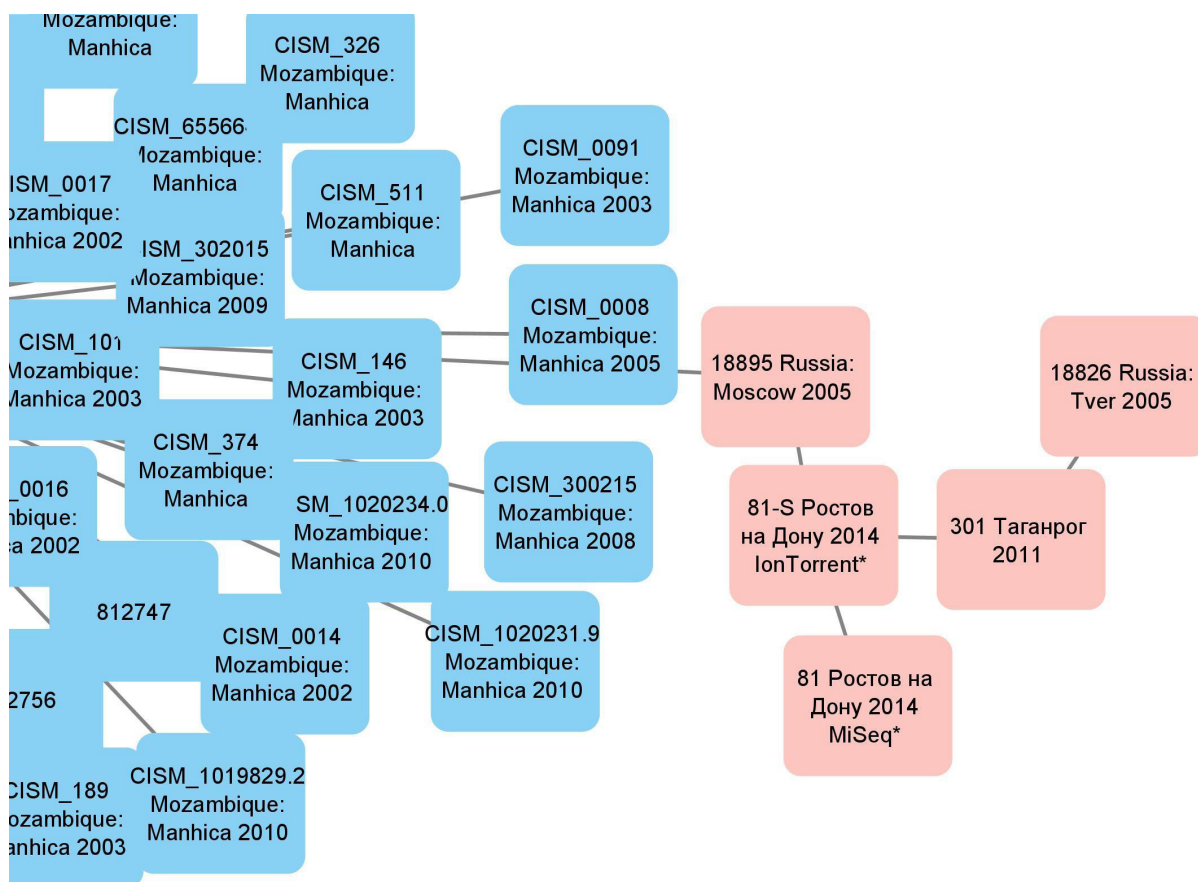


Рис. 4. Фрагмент дендрограммы, содержащий штаммы, изолированные в России в 2005–2014 гг.

Для каждого штамма указаны номер штамма, место и год выделения.

Fig. 4. A fragment of a dendrogram containing strains isolated in Russia in 2005–2014.

For each strain, the strain number, place and year of isolation are indicated.

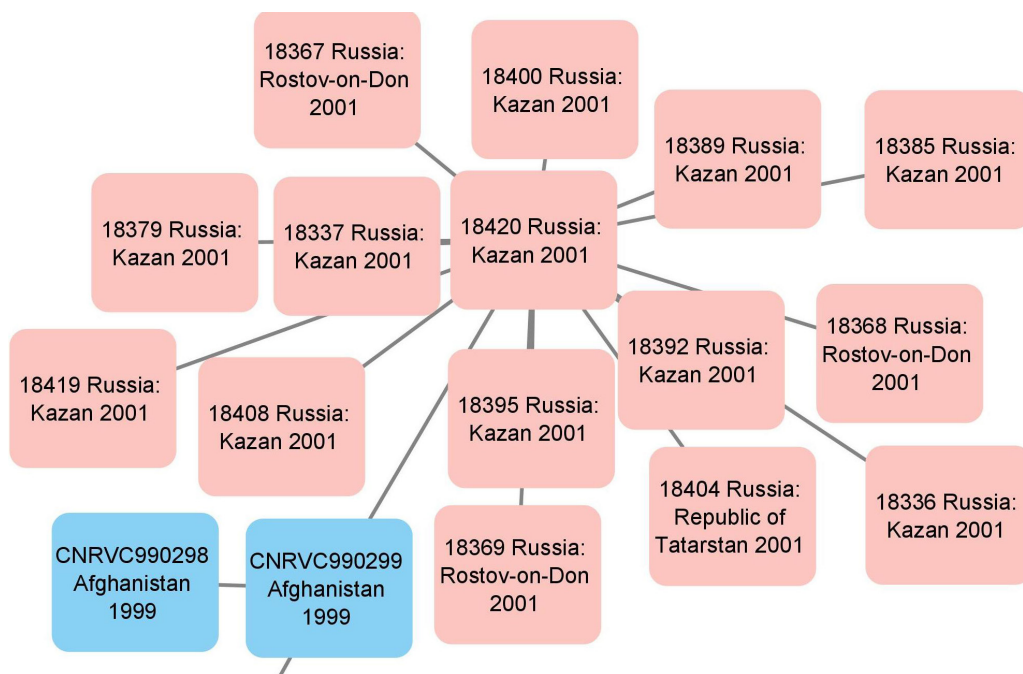


Рис. 5. Фрагмент дендрограммы, содержащей штаммы, изолированные в России в 2001 г.

Для каждого штамма указаны номер штамма, место и год выделения.

Fig. 5. Fragment of a dendrogram containing strains isolated in Russia in 2001.

For each strain, the strain number, place and year of isolation are indicated.

изолятам из Афганистана (**рис. 5**), а также штаммам, изолированным в Ростове-на-Дону (2001 г.). Примечательно, что близость между штаммами из Ростова-на-Дону и Казани уже была показана ранее по итогам VNTR-анализа [29, 30]

Актуальным, на наш взгляд, является сопоставление результатов изучения геномов *V. cholerae*, полученных различными авторами. В этом плане весьма интересна работа F.X. Weill и соавт., посвящённая изучению геномов вибрионов, изолированных на африканском континенте [31]. На основе байесовского анализа авторы выделили 12 волн

распространения холеры в Африке. Нам удалось сопоставить данные о принадлежности штамма к той или иной волне для 237 изолятов, взятых в наше исследование. При этом каждая из волн занимает от 1 до 4 кластеров, при этом отсутствуют кластеры, в который попадали бы штаммы из разных волн. На наш взгляд, это может свидетельствовать о хорошей сходимости результатов, полученных различными методами.

Следующий этап работы состоял в разработке онлайн-ГИС, содержащей данные о геномах токсигенных штаммов *V. cholerae* O1. С этой целью на-



Рис. 6. Внешний вид разработанной ГИС «Молекулярно-генетический мониторинг за *V. cholerae*».

Fig. 6. The appearance of the developed GIS "Molecular genetic monitoring for *V. cholerae*".



Рис. 7. Фрагмент ГИС «Молекулярно-генетический мониторинг *V. cholerae*» — штаммы, генетически близкородственные штамму *V. cholerae* № I-1330.

Fig. 7. The fragment of GIS "Molecular genetic monitoring for *V. cholerae*" — strains genetically closely related to *V. cholerae* strain I-1330.

ми были отобраны геномы вибрионов, для которых имелась информация о месте и дате их выделения (2598 геномов). После геокодирования с использованием сервиса Nominatum данные были нанесены на электронную карту (рис. 6). В случае изоляции нескольких штаммов в одной точке они автоматически группируются в единый пространственный кластер с отображением их количества. При нажатии на него отображаются все штаммы, входящие в такой кластер. Для фильтрации по времени выделения штаммов предусмотрена кнопка «Выборка по годам», позволяющая указать необходимый временной диапазон.

Для выборки и фильтрации штаммов на основе их генетической близости был создан серверный программный модуль, позволяющий выявлять генетически близкие варианты с помощью матрицы, построенной на предыдущем этапе. При нажатии на маркер штамма отображается диалоговое окно, содержащее краткую информацию о геноме и кнопку «Найти похожие», позволяющую выбрать все геномы, отличающиеся не более чем на 5 SNP. Для облегчения визуального анализа размер маркера отражает генетическую близость. Например, результат поиска близкородственных геномов штамма *V. cholerae* № I-1330, выделенного во Владивостоке в 1999 г., представлен на рис. 7. Стоит отметить, что наиболее генетически близкими данному штамму являются изоляты, выделенные в Китае, Камбодже

и Лаосе, что, в свою очередь, коррелирует с данными, полученными другими авторами [32].

Выводы

В ходе проведенного исследования отобраны 54 858 SNP, позволяющие дифференцировать эпидемиологически значимые штаммы, и создано программное обеспечение для проведения пакетного филогенетического анализа токсигенных штаммов *V. cholerae* на основе данных WGS.

Построена дендрограмма, отражающая филогенетические связи между 2598 геномами токсигенных изолятов *V. cholerae*. Показано, что большинство штаммов распределяются между несколькими большими кластерами. Установлено, что штаммы из Ростовской области (2011 и 2014 гг.) оказались близки к группе штаммов, длительно циркулировавших в Мозамбике. Изоляты *V. cholerae*, выделенные в Москве в 2010 г., представлены двумя разными кластерами, один из которых образован штаммами из Непала и Индии, в то время как второй представлен штаммами, вызвавшими вспышку холеры на о. Гаити в 2010 г. Установлено, что эпидемические осложнения вспышки холеры в г. Казани в 2001 г. вызваны штаммами, генетически близкородственными штаммам из Афганистана.

Создана онлайн-ГИС «Молекулярно-генетический мониторинг *V. cholerae*», позволяющая проводить выборку близкородственных штаммов непо-

средственно на электронной карте. ГИС расположена на сервере Ростовского-на-Дону противочумного института и доступна для работы сотрудникам учреждений Роспотребнадзора и других заинтересованных ведомств.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

- Mutreja A., Kim D.W., Thomson N.R., et al. Evidence for several waves of global transmission in the seventh cholera pandemic. *Nature*. 2011;477(7365):462–5. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature10392>
- Смирнова Н.И., Агафонов Д.А., Кульшань Т.А. и др. Микроэволюция возбудителя холеры в современный период. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2014;69(7-8): 46–53. Smirnova N.I., Agafonov D.A., Kul'shan' T.A., et al. Microevolution of cholera agent in the modern period. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2014;69(7-8):46–53. DOI: <https://doi.org/10.15690/vramn.v69i7-8.1109> EDN: <https://elibrary.ru/snhyar>
- Monakhova E.V., Ghosh A., Mutreja A., et al. Endemic cholera in India and imported cholera in Russia: What is common? *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2020;(3):17–26. DOI: <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2020-3-17-26> EDN: <https://elibrary.ru/sapflg>
- Didelot X., Siveroni I., Volz E.M. Additive uncorrelated relaxed clock models for the dating of genomic epidemiology phylogenies. *Mol. Biol. Evol.* 2021;38(1):307–17. DOI: <https://doi.org/10.1093/molbev/msaa193>
- Weill F.X., Domman D., Njamkepo E., et al. Genomic insights into the 2016–2017 cholera epidemic in Yemen. *Nature*. 2019;565(7738):230–3. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0818-3>
- Siriphap A., Leekitcharoenphon P., Kaas R.S., et al. Characterization and genetic variation of *Vibrio cholerae* isolated from clinical and environmental sources in Thailand. *PLoS One*. 2017;12(1):e0169324. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169324>
- Hossain Z.Z., Leekitcharoenphon P., Dalsgaard A., et al. Comparative genomics of *Vibrio cholerae* O1 isolated from cholera patients in Bangladesh. *Lett. Appl. Microbiol.* 2018;67(4):329–36. DOI: <https://doi.org/10.1111/lam.13046>
- Ramamurthy T., Mutreja A., Weill F.X., et al. Revisiting the global epidemiology of cholera in conjunction with the genomics of *Vibrio cholerae*. *Front. Public Health*. 2019;7:237. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpubh.2019.00203>
- Челдышова Н.Б., Смирнова Н.И., Заднова С.П. и др. Молекулярно-генетические свойства штаммов *Vibrio cholerae* биовара Эль Тор, циркулирующих на Африканском континенте. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2017;35(1):12–9. Cheldyshova N.B., Smirnova N.I., Zadnova S.P., et al. Molecular-genetic properties of *Vibrio cholerae* El Tor strains circulating in Africa. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*. 2017;32(1):12–20. DOI: <https://doi.org/10.3103/S0891416817010025> EDN: <https://elibrary.ru/prquyj>
- Миронова Л.В., Балахонov С.В. Полногеномный анализ однонуклеотидных полиморфизмов в изучении молекулярной эпидемиологии холеры и эволюционной истории возбудителя. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2014;(4):10–8. Mironova L.V., Balakhonov S.V. Whole-genome analysis of single-nucleotide polymorphisms in study of cholera modular epidemiology and agent evolutionary history. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2014;(4):10–8. EDN: <https://elibrary.ru/sjwhdz>
- Kuleshov K.V., Vodop'ianov S.O., Dedkov V.G., et al. Travel-associated *Vibrio cholerae* O1 El Tor, Russia. *Emerg. Infect. Dis.* 2016;22(11):2006–8. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid2211.151727>
- Водопьянов А.С., Писанов Р.В., Водопьянов С.О., Олейников И.П. Совершенствование методики SNP-типирования штаммов *Vibrio cholerae* на основе анализа первичных данных полногеномного секвенирования. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2020;97(6):587–93. Vodopianov A.S., Pisanov R.V., Vodopianov S.O., Oleynikov I.P. Improvement of the technique of SNP-typing of *Vibrio cholerae* strains on the basis of the analysis of the primary data of whole genome sequencing. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2020;97(6):587–93. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-6-9> EDN: <https://elibrary.ru/ebllnh>
- Wang D., Wang B., Zhu L., et al. Genotyping and population diversity of *Bacillus anthracis* in China based on MLVA and canSNP analysis. *Microbiol. Res.* 2020;233:126414. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126414>
- Zhang E., Zhang H., He J., et al. Genetic diversity of *Bacillus anthracis* Ames lineage strains in China. *BMC Infect. Dis.* 2020;20(1):140. <https://doi.org/10.1186/s12879-020-4867-5>
- Roonie A., Majumder S., Kingston J.J., Parida M. Molecular characterization of *B. anthracis* isolates from the anthrax outbreak among cattle in Karnataka, India. *BMC Microbiol.* 2020;20(1):232. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12866-020-01917-1>
- Kevin M., Girault G., Caspar Y., et al. Phylogeography and genetic diversity of *Francisella tularensis* subsp. holarctica in France (1947–2018). *Front. Microbiol.* 2020;11:287. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00287>
- Schütz S.D., Liechti N., Altpeter E., et al. Phylogeography of *Francisella tularensis* subspecies holarctica and epidemiology of tularemia in Switzerland. *Front. Microbiol.* 2023;14:1151049. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1151049>
- Kamel Boulos M.N., Geraghty E.M. Geographical tracking and mapping of coronavirus disease COVID-19/severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) epidemic and associated events around the world: how 21st century GIS technologies are supporting the global fight against outbreaks and epidemics. *Int. J. Health Geogr.* 2020;19(1):8. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12942-020-00202-8>
- Clarkson M.D. Web-based COVID-19 dashboards and trackers in the United States: survey study. *JMIR Hum. Factors*. 2023;10:e43819. DOI: <https://doi.org/10.2196/43819>
- Schmidt F., Dröge-Rothaar A., Rienow A. Development of a Web GIS for small-scale detection and analysis of COVID-19 (SARS-CoV-2) cases based on volunteered geographic information for the city of Cologne, Germany, in July/August 2020. *Int. J. Health Geogr.* 2021;20(1):40. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12942-021-00290-0>
- Samany N.N., Liu H., Aghataher R., Bayat M. Ten GIS-based solutions for managing and controlling COVID-19 pandemic outbreak. *SN Comput. Sci.* 2022;3(4):269. DOI: <https://doi.org/10.1007/s42979-022-01150-9>
- Bankevich A., Nurk S., Antipov D., et al. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *J. Comput. Biol.* 2012;19(5):455–77. DOI: <https://doi.org/10.1089/cmb.2012.0021>
- Shannon P., Markiel A., Ozier O., et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Res.* 2003;13(11):2498–504. DOI: <https://doi.org/10.1101/gr.1239303>
- Водопьянов А.С., Писанов Р.В., Водопьянов С.О. и др. Молекулярная эпидемиология *Vibrio cholerae* — разработка алгоритма анализа данных полногеномного секвенирования. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2016;21(3):146–52.

- Vodopyanov A.S., Pisanov R.V., Vodopyanov S.O., et al. Molecular epidemiology of *Vibrio cholerae* — development of the algorithm for data analysis of whole genome sequencing. *Epidemiology and Infectious Diseases*. 2016;21(3):146–52. DOI: <https://doi.org/10.18821/1560-9529-2016-21-3-146-152> EDN: <https://elibrary.ru/wbgjid>
25. Safa A., Nair G.B., Kong R.Y. Evolution of new variants of *Vibrio cholerae* O1. *Trends Microbiol.* 2010;18(1):46–54. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2009.10.003>
26. Ковалев Д.А., Шапаков Н.А., Писаренко С.В. и др. Генетическое типирование штаммов *Vibrio cholerae* биовара El Tor, выделенных на территории Кавказа в период 1970–1998 гг., с применением MLVA-5 и wgSNP. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2021;98(1):46–58. Kovalev D.A., Sharakov N.A., Pisarenko S.V., et al. Genetic typing of *Vibrio cholerae* strains biovar El Tor isolated from the Caucasus region during the 1970–1998 period using MLVA-5 and wgSNP. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2021;98(1):46–58. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-29> EDN: <https://elibrary.ru/mlvbqj>
27. Kuleshov K.V., Kostikova A., Pisarenko S.V. et al. Comparative genomic analysis of two isolates of *Vibrio cholerae* O1 Ogawa El Tor isolated during outbreak in Mariupol in 2011. *Infect. Genet. Evol.* 2016;44:471–8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2016.07.039>
28. Онищенко Г.Г., Морозов В.В., Трифонов В.А. и др. Мероприятия по локализации и ликвидации вспышки холеры в Республике Татарстан. *Казанский медицинский журнал*. 2002;83(5):390–3. Onishchenko G.G., Morozov V.V., Trifonov V.A., et al. Measures on localization and control of cholera outbreak in Tatarstan Republic. *Kazan Medical Journal*. 2002;83(5):390–3. EDN: <https://elibrary.ru/hrtzsr>
29. Мишанькин Б.Н., Водопьянов А.С., Ломов Ю.М. и др. Мультилокусное VNTR-генотипирование культур холерных вибрионов, выделенных в г. Казань во время вспышки холеры летом 2001 г. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2003;(6):11–5. Mishankin B.N., Vodopyanov A.S., Lomov Yu.M., et al. Multilocus VNTR-genotyping of the cultures of *Vibrio cholerae* isolated in Kazan the outbreak of cholera in summer of 2001. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2003;(6):11–5. EDN: <https://elibrary.ru/wfngif>
30. Онищенко Г.Г., Москвитина Э.А., Водопьянов А.С. и др. Ретроспективный молекулярно-эпидемиологический анализ эпидемии холеры в Республике Дагестан в 1994 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2016;(4):33–41. Onishchenko G.G., Moskvitina E.A., Vodopyanov A.S., et al. Retrospective molecular-epidemiological analysis of cholera epidemic in the Republic of Dagestan in 1994. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2016;(4):33–41. DOI: <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2016-4-33-41> EDN: <https://elibrary.ru/xgsxsb>
31. Weill F.X., Domman D., Njamkepo E., et al. Genomic history of the seventh pandemic of cholera in Africa. *Science*. 2017;358(6364):785–9. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.aad5901>
32. Mironova L.V., Gladkikh A.S., Ponomareva A.S., et al. Comparative genomics of *Vibrio cholerae* El Tor strains isolated at epidemic complications in Siberia and at the Far East. *Infect. Genet. Evol.* 2018;60:80–8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.02.023>

Информация об авторах

Водопьянов Алексей Сергеевич — к.м.н., в.н.с. лаб. молекулярной биологии природно-очаговых и зоонозных инфекций Ростовского-на-Дону научно-исследовательского противочумного института, Ростов-на-Дону, Россия, vodopyanov_as@antiplague.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9056-3231>

Водопьянов Сергей Олегович — д.м.н., г.н.с. лаб. микробиологии холеры Ростовского-на-Дону научно-исследовательского противочумного института, Ростов-на-Дону, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-4336-0439>

Писанов Руслан Вячеславович — к.б.н., зав. лаб. молекулярной биологии природно-очаговых и зоонозных инфекций Ростовского-на-Дону научно-исследовательского противочумного института, Ростов-на-Дону, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-7178-8021>

Олейников Игорь Павлович — н.с. лаб. микробиологии холеры Ростовского-на-Дону научно-исследовательского противочумного института, Ростов-на-Дону, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-2390-9773>

Носков Алексей Кимович — к.м.н., директор Ростовского-на-Дону научно-исследовательского противочумного института, Ростов-на-Дону, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-0550-2221>

Участие авторов: Водопьянов А.С. — автор идеи, разработка методики анализа, биоинформационный анализ, написание текста статьи; Водопьянов С.О. — анализ литературы, написание текста статьи, редактирование; Писанов Р.В. — биоинформационный анализ, написание текста статьи; Олейников И.П., Носков А.К. — написание текста статьи, редактирование. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE, внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 01.10.2023;
принята к публикации 12.11.2023;
опубликована 28.12.2023

Information about the authors

Alexey S. Vodopyanov — Cand. Sci. (Med.), leading researcher, Laboratory of molecular biology of natural focal and zoonotic infections, Rostov-on-Don Antiplague Scientific Research Institute, Rostov-on-Don, Russia, vodopyanov_as@antiplague.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9056-3231>

Sergey O. Vodopyanov — D. Sci. (Med.), main researcher, Laboratory of microbiology of cholera, Rostov-on-Don Antiplague Scientific Research Institute, Rostov-on-Don, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-4336-0439>

Ruslan V. Pisanov — Cand. Sci. (Biol.), Head, Laboratory of molecular biology of natural focal and zoonotic infections, Rostov-on-Don Antiplague Scientific Research Institute, Rostov-on-Don, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-7178-8021>

Igor P. Oleynikov — researcher, Laboratory of microbiology of cholera, Rostov-on-Don Antiplague Scientific Research Institute, Rostov-on-Don, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-2390-9773>

Aleksey K. Noskov — Cand. Sci. (Med.), Director, Rostov-on-Don Antiplague Scientific Research Institute, Rostov-on-Don, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-0550-2221>

Author contribution: Vodopyanov A.S. — author of the idea, development of the analysis methodology, bioinformatic analysis, writing the text of the article; Vodopyanov S.O. — literature analysis, writing the text of the article, editing; Pisanov R.V. — bioinformatic analysis, writing the text of the article; Oleynikov I.P., Noskov A.K. — writing the text of the article, editing. All authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors criteria for authorship, made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 01.10.2023;
accepted for publication 12.11.2023;
published 28.12.2023