

УДК 616.988:576.3:519.254

DOI: 10.14427/jipai.2025.2.53

Разработка алгоритма внутривидового типирования штаммов вируса бешенства на основе полиморфизма N гена

А.А. Герасименко, А.М. Горох, Р.В. Писанов, А.С. Водопьянов

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону

Development of an algorithm for intraspecific typing of *lyssavirus rabies* strains based on N gene polymorphism

A.A. Gerasimenko, A.M. Gorokh, R.V. Pisanov, A.S. Vodopyanov

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

Аннотация

Существует несколько классификаций вируса бешенства, но все они предполагают построение филогенетических деревьев. Это затрудняет изучение вновь выделяемых вирусов другими авторами, так как при этом требуется повторное построение дендрограмм. Целью работы явилась разработка алгоритма типирования и разделения штаммов вируса бешенства, исходя из строения их N гена, нахождение маркерных мутаций для кластеризованных штаммов и автоматическое определение групповой принадлежности анализируемой пробы с помощью компьютерной программы (<<https://github.com/artiman16/rabiesAnalyzerWorld>>).

Для этого из базы данных NCBI была произведена загрузка геномов. С помощью авторской программы, написанной на языке Java, из геномов выделены последовательности N гена. Далее они были выравнены и был проведен филогенетический анализ с визуализацией полученного дерева. Были выделены кластеры штаммов по географической привязке и введённому порогу мутаций. Также средствами языка Python и табличных редакторов найдены маркерные мутации в найденных кластерах. Затем была разработана авторская компьютерная программа на языке Python для автоматического анализа получаемых геномов вируса.

По итогам проведённой работы разработан алгоритм внутривидового типирования штаммов вируса бешенства на основе полиморфизма N гена; найдены маркерные мутации для типированных групп штаммов; создана программа для идентификации группы исследуемых штаммов.

Ключевые слова

Бешенство, *Lyssavirus rabies*, N ген, секвенирование, типирование, классификация.

Бешенство – вирусное зооантропонозное природно-очаговое заболевание с контактным механизмом передачи, характеризующееся тяжёлым прогрессирующим поражением централь-

Summary

Several rabies virus classifications are known, but all of them imply phylogenetic trees construction. This makes it difficult for other authors to study newly isolated viruses, since it requires repeated construction of dendrograms. The aim of the study was to develop an algorithm for typing and dividing rabies virus strains based on N gene structure, finding marker mutations for clustered strains and automatically determining the group affiliation of the analyzed sample using computer software.

For these purposes the genomes were downloaded from the NCBI database. N genes were isolated using the author's program written in Java. Next, sequence alignment and phylogenetic analysis were performed with visualization of the resulting tree. Clusters of strains have been identified by geographical reference and mutation threshold. Marker mutations in the discovered clusters were also found using Python and tabular editors. Then, a Python script was developed to automatically analyze the resulting virus genomes.

In conclusion, the algorithm for intraspecific typing of rabies virus strains based on the polymorphism of N gene has been developed; marker mutations for typed groups of strains have been found; a program for identification a group of studied strains has been created.

Keywords

Rabies, *Lyssavirus rabies*, N gene, sequencing, typing, classification.

ной нервной системы. Типичным возбудителем инфекции является *Lyssavirus rabies* (RABV) – представитель рода *Lyssavirus*. Все лиссавирусы являются нейротропными инфекционными

агентами, вызывающими необратимые поражения центральной нервной системы человека и теплокровных животных.

Ежегодно в мире регистрируется от 30 до 45 тыс. случаев бешенства у животных [1]. Бешенство относится к числу наиболее опасных заболеваний вирусной этиологии, обнаруживается на всех континентах, кроме Австралии и Антарктиды и, по оценке ВОЗ, входит в пятёрку инфекций, общих для человека и животных, наносящих наибольший социальный и экономический ущерб, поэтому требует постоянного широкомасштабного мониторинга – неотъемлемой части системы противоэпизоотических и противоэпидемических мероприятий [2].

Геном RABV кодирует пять белков, разделённых межгенными областями: нуклеопротеин (N), фосфопротеин (P), матриксный белок (M), гликопротеин (G) и РНК-зависимую РНК-полимеразу (L).

Современные методы молекулярно-генетического анализа могут обозначить источник, а также указать пути распространения возбудителя и его циркуляцию на различных территориях. Описаны опыты использования полногеномного секвенирования (WGS) в эпидемиологическом расследовании вспышек холеры [3], туберкулёза [4] и эшерихиоза (диареи с гемолитико-уремическим синдромом), обусловленного энтерогеморрагическим штаммом *E. coli* O104:H4 [5].

N ген широко используется для проведения филогенетических исследований и дифференциации вариантов вируса бешенства, особенно потому, что его структура обладает консервативностью и сравнение различных геновариантов может дать ключевую информацию для понимания эпидемиологии бешенства, что предоставляет ценную информацию для разработки эффективной стратегии борьбы с вирусом. Это на своём примере показывает молекулярно-генетический анализ штаммов, исследованных в Центральной Африке, где было показано разнообразие геновариантов, циркулирующих на данной территории [6,7].

На основе структуры N гена возможно устанавливать филогенетические связи между различными изолятами возбудителя и его хозяев. В настоящее время существует несколько классификаций вируса бешенства, основанных на изменчивости его генома. Например, отечественные учёные предложили систему классификации, которая предполагает разделение всех вариантов вируса на шесть групп. Они провели анализ и разместили исследованные варианты на филогенетическом дереве, основываясь на структуре N

гена [8,9]. Международная группа исследователей [10] (6 институтов из Франции, Африки, Австралии, США), в свою очередь, провела глубокий анализ 321 генома вируса бешенства, используя аналогичные методы. В результате они классифицировали изоляты на 60 различных кластеров.

При определении принадлежности штамма возбудителя к тому или иному кластеру данные классификации предполагают построение филогенетических деревьев, что затрудняет изучение вновь выделяемых вирусов другими авторами.

Вместе с тем для ряда возбудителей разработаны классификации, предусматривающие выявление SNP, характерных для каждого кластера.

Например, в работе зарубежных учёных было исследовано 133 штамма *Yersinia pestis*, в которых они обнаружили 2326 SNP. С помощью построения минимально связующего (MST) и максимально правдоподобного (ML tree) деревьев стало возможным диверсифицировать генеалогические ветви штаммов возбудителя, но конкретный алгоритм разделения изолятов по географии, порог разделения и маркерные мутации для отдельных групп описаны не были [11]. В другом исследовании были проанализированы 359 штаммов чумного микроба и с помощью SNP-типирования и определения INDEL-маркеров разработана классификация с выделением семи подвидов *Y. pestis*. С помощью построения деревьев максимального правдоподобия (Maximum likelihood tree) и максимальной экономии (Maximum parsimony tree) уточнена филогеография штаммов возбудителя чумы на территориях СНГ и определены маркерные последовательности для различных подвидов и филогенетических групп [12].

Также ещё в 2014 году [13] была разработана компьютерная программа – CanSNPer, позволяющая проводить быстрое определение генетической линии генома возбудителя туляремии. Аналогичная работа по возбудителю туляремии проведена в 2020 году. В исследовании были идентифицированы 120 SNP, позволяющие определять генетическую линию *F. tularensis* без построения дендрограммы [14].

В отношении возбудителя бешенства сведения о подобных работах / программах отсутствуют. Цель работы – разработка алгоритма типирования и разделения штаммов вируса бешенства, исходя из строения их N гена, нахождение маркерных мутаций для кластеризованных штаммов и автоматическое определение групповой принадлежности анализируемой пробы с помощью компьютерной программы.

Материалы и методы

Анализируемые геномы загружены из базы данных NCBI с помощью NCBI Batch Entrez. Авторской программой Fragment Extractor v.4.0, написанной на языке Java, выделены последовательности N гена, присутствующие у всех штаммов. Во всех генах путём выравнивания пакетом mafft [15] вычислены нуклеотидные мутации. По матрице количества отличающихся мутаций среди изолятов с помощью библиотеки языка Python networkx построено «минимальное связывающее дерево» (minimal spanning tree). Визуализация полученного дерева проведена в программе Cytoscape v.3.10.1 [16]. На языке Python с графической библиотекой Tkinter создана программа RabiesAnalyzer, позволяющая определять по загруженной последовательности принадлежность пробы к тому или иному кластеру с расшифровкой по предполагаемому географическому происхождению. В табличном редакторе Libre Office Calc составлена таблица уникальных нуклеотидных мутаций в N гене для представителей каждого кластера (географии возбудителя).

Результаты и обсуждение

В ходе работы из международной базы NCBI были отобраны 2103 фрагментарных и 1778 полных геномов вируса бешенства *Lyssavirus rabies*. С помощью NCBI Batch Entrez из них были выбраны те, для которых указано место происхождения или выделения. В итоге были загружены 1178 геномов, происходивших из 85 стран, каждый файл и название последовательности в multifasta файле названы по месту изоляции возбудителя, указанной в метаданных к скачанному геному. В каждом из этих геномов с помощью авторской программы, написанной на языке Java, с подстановкой референсной последовательности N гена (KY860612.1) была найдена последовательность минимальной длины в 1353 нуклеотида (данная последовательность в дальнейшем использовалась как референсная для N гена), присутствующая у всех штаммов; все последовательности сохранены в multifasta формат.

Путём выравнивания и сравнения нуклеотидных последовательностей N гена, использованных в работе штаммов вируса бешенства, с референсной последовательностью были выявлены нуклеотидные мутации для каждого изолята (табл. 1).

Далее последовательность гена каждого штамма сравнивалась с аналогичными последовательностями других штаммов, и находились парные

отличия в SNP (однонуклеотидных полиморфизмах) для каждого варианта. Строилась матрица отличий (Проба:Проба – количество SNP) по количеству однонуклеотидных полиморфизмов в N гене (табл. 2). Для разделения штаммов по кластерам был введён порог отличия в 5% от длины гена ($1353 \text{ п.н.} \cdot 5\% = 68$): для штаммов, у которых различия составляли более 68 п.н. или для пары одинаковых образцов, графы в матрице заменялись нулями.

Затем с помощью средств языка Python значения данной матрицы были отфильтрованы по порогу $x \geq 68$, соответственно, если значение превышало данный порог, в ячейке проставлялся нуль. По готовой матрице с помощью библиотеки языка Python networkx строилось «минимальное связывающее дерево» (minimal spanning tree) алгоритмом «kruskal», сохранялось в формате gml и визуализировалось в программе Cytoscape.

При выборе стратегии построения дендрограммы мы опирались на возможности Cytoscape для визуализации филогении в виде графа, с удобством рассмотрения отличия строения генов у каждого из штаммов, где на рёбрах обозначены SNP. Данный метод визуализации филогенетических деревьев был применён ранее как зарубежными исследователями [17], так и отечественными [18].

Штаммы, содержащие не более 68 SNP в N гене, образовывали группы. В итоге образцы, которые последовательно соединены рёбрами на рис. 1, образовали 10 крупных кластеров, обозначенных римскими цифрами, которые в свою очередь были разбиты на более мелкие подкластеры/субкластеры (нумерованные в дальнейшем по типу I.1/I.1a). В общей сумме штаммы разделились на 47 номенклатурных единиц.

При проведении филогенетического анализа и построения дендрограммы были получены кластеры, содержащие в своем составе менее четырех штаммов. Данные группы были исключены из дальнейшего анализа для лучшей верификации и исключения получения некорректных результатов. При увеличении выборки изолятов возможно включение данных кластеров в общую классификацию. На текущем этапе исследования данные изоляты не рассматривались из-за возможных проблем с качеством и ошибок в секвенировании искомым последовательностей у этих штаммов.

Стоит также отметить, что многие кластеры были образованы из штаммов одного или близкого географического происхождения (например,

Таблица 1. Нуклеотидные мутации в N гене для каждого изолята (фрагмент таблицы)

Штамм	Мутации
DQ886070 USA WestVirginia	G7A, G15A, T36C, G42T, T49C, G51A, A53G, G54A, G60A, C66T, G69A, G87A, T93G, ...
DQ886073 USA WestVirginia	G7A, G15A, T36C, G42T, T49C, G51A, G54A, G60A, C66T, G69A, G87A, T93G, T105C, ...
DQ886076 USA WestVirginia	G7A, G15A, T36C, G42T, T49C, G51A, G54A, G60A, C66T, G69A, G87A, T93G, T105C, ...
AB284511 Zambia	G51A, A135G, A153G, G162A, T169C, A171G, A186C, T195A, C213T, T220C, T231A, T240C, G252A, ...
AB284516 Zambia	G51A, C90T, T118A, A135G, A153G, G162A, T169C, A171G, A186C, T195A, C213T, T220C, T231A, ...
EF437215 India	C24T, A102G, T105C, A111G, T118A, A123C, C141A, C144T, A147G, A178T, G180A, A186T, C189T, ...
EF508139 USA Pennsylvania	G7A, G15A, T36C, G42T, T49C, G51A, G54A, G60A, C66T, G69A, G87A, T93G, T105C, ...
EF508140 USA Pennsylvania	G7A, G15A, T36C, G42T, T49C, G51A, G54A, G60A, C66T, G69A, G87A, T93G, T105C, ...
EF556197 China	A21G, T48C, T57A, G69T, G81A, C84T, T93A, T106C, A111G, G114A, T118A, A123C, A124T, ...
EF611081 China	A21G, T48C, T57A, C66T, G69T, G81A, C84T, T93A, T106C, A111G, G114A, T118A, A123C, ...

Таблица 2. Матрица парных отличий количества SNP в N гене (фрагмент)

	Sample1	Sample2	Sample3	Sample4	Sample5
Sample1	0	0	26	11	12
Sample2	0	0	0	0	0
Sample3	26	0	0	20	21
Sample4	11	0	20	0	2
Sample5	12	0	21	2	0

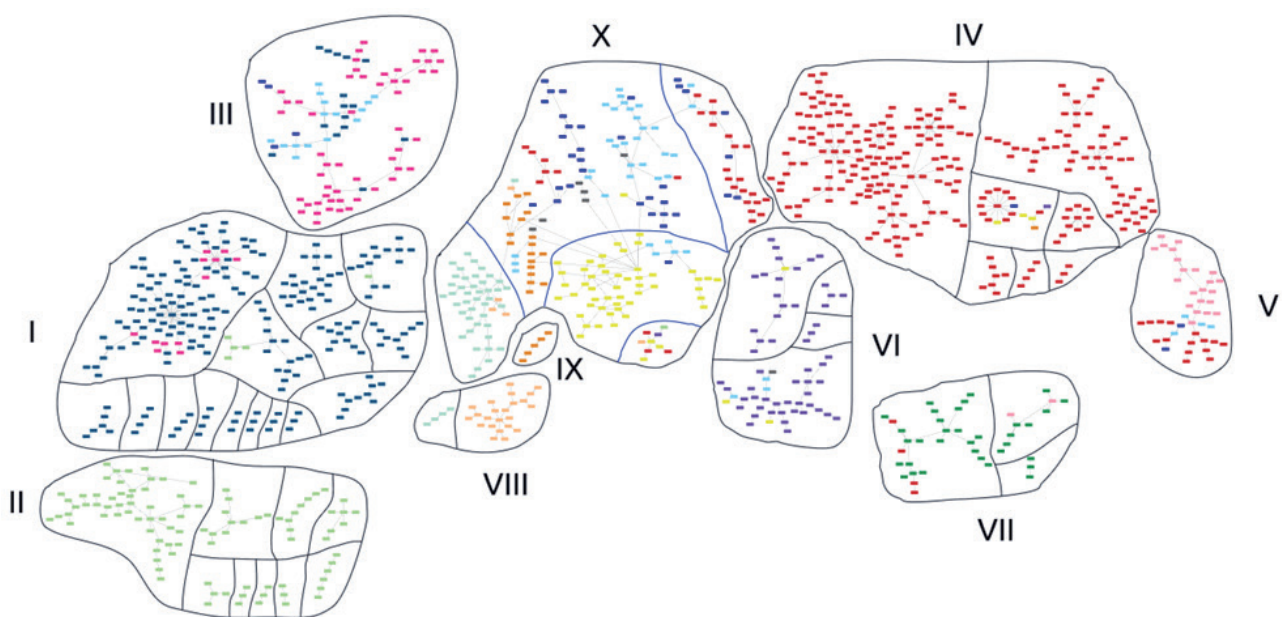


Рис. 1. Дендрограмма, отражающая степень генетической близости между различными образцами вируса бешенства на основе N гена

Цифрами обозначены кластеры, отражающие регионы происхождения изолятов; цветом — страны

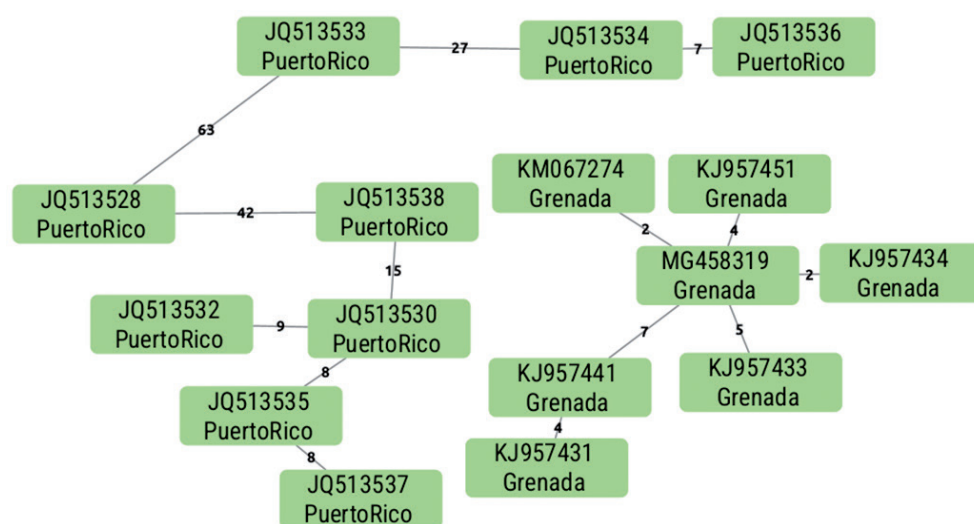
Южная Америка). Тем не менее, некоторые группы включали штаммы с различной географией (Китай+Европа+др.) (рис. 2).

По результатам типирования составлены таблицы соответствия Штамм – Группа, а затем Группа – Преимущественное распространение. Далее с помощью средств языка Python вычислены уникальные маркерные мутации для большинства кластеров разработанной классификации и дано описание каждого кластера по его географии (табл. 3). Данные мутации находились с помощью аналогичной вышеприведённой матрицы отличий с приведением в ячейках не количества SNP, а самих нуклеотидных мутаций. Далее для каждого кластера находились мутации, которые были обнаружены как минимум у трёх

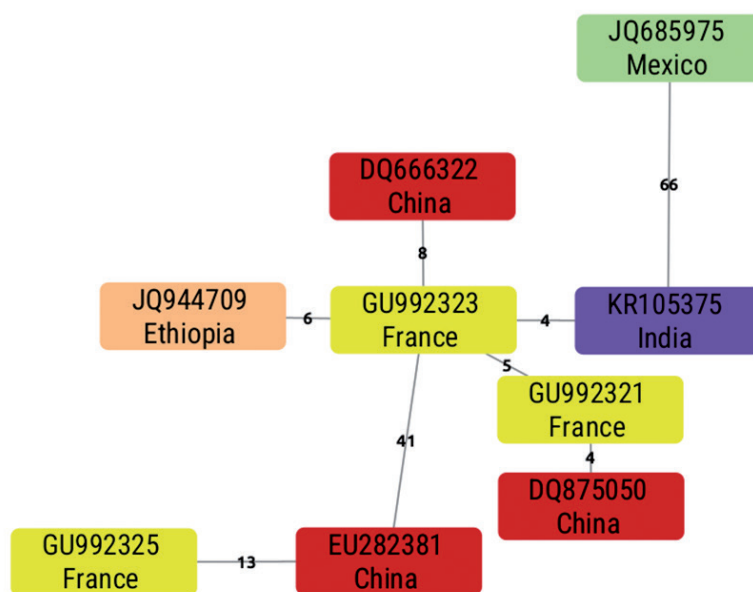
представителей группы и по которым они отличаются от представителей других кластеров одновременно.

Для некоторых подкластеров определение маркерных мутаций не представлялось возможным ввиду схожести их последовательностей с таковыми у изолятов других кластеров. Данная проблема может быть решена в дальнейшем с увеличением выборки штаммов, относящихся к данным группам.

Также в ходе решения задач исследования создана программа RabiesAnalyzer, позволяющая определять по загруженной последовательности N гена принадлежность пробы к тому или иному кластеру с расшифровкой по предполагаемому географическому происхождению (рис. 3).



а – изоляты одной географической области



б – изоляты с различным географическим происхождением

Рис. 2. Пример представленности штаммов в различных кластерах

Таблица 3. Маркерные мутации в N гене штаммов вируса бешенства

Группа	Уникальные мутации	Описание кластеров
I.1	G546T, G732C, A908G, A1104C, T1173G	США, Канада
I.2	T168G	США
I.3	T319A, C558G	США, Чили, Бразилия
I.4	A335T	США, Коста-Рика
I.5		США
I.6		США
I.7	A765C	США
I.8		США
I.9	G450T	США(Джорджия, Техас)
I.10	A467T, T987A	США
I.11		США(Калифорния)
I.12		США
I.13	G67A, A738T, C1120G	США(Нью-Джерси)
I.14	G246T	США
I.15	G285T, A1248T	США
II.1	C138G, G222T, T363G, A567T, A1267C	Южная и Латинская Америка
II.2	A1306G	Аргентина
II.3		Пуэрто-Рико
II.4	T48G	Гренада
II.5		Мексика, Коста-Рика
II.6	T204A, T1180A	Аргентина, Бразилия, Чили
II.7	T570A, G1154C	Бразилия
II.8	A600C, A1326T	Мексика(Юкатан)
II.9	A465T	Мексика
III	G618T, A760G, T960A	Арктика(Север США, Канада, Аляска, Гренландия)
IV.1	T57G, A75C, A111T, C140G, T157G, G223C, G237T, A271G, G349A, G611A, A1252G	Китай
IV.2	T50C, A934G, G958A	Китай
IV.3	T76C, C283G	Преимущественно Китай
IV.4		Китай
IV.5	A171T	Китай
IV.6	A329C, A1295C	Китай
IV.7	C117G	Китай(Тайвань)
V	T63A, C141G, T240A, G325T, G384T, T477G, T545C, G603T, G994C	Восточная Азия (Дальний Восток, Япония, Южная Корея)
VI.1	G180A, C995G	Индия, Непал, Пакистан, Бангладеш, Бутан, Афганистан
VI.2		Шри-Ланка
VI.3		Индия
VI.4		Непал
VII.1	A354T, C621G, C1197G, T1215A	Индокитай, Филиппины, Малайзия
VII.2		Малайзия, Индонезия
VIII.1	A610C, A1059C, T1242G	Западная и Центральная Африка
VIII.2	C751T	Южная Африка
IX		Египет, Израиль
X.1	T321A, C402A, T448G, A487C, A514G, C558A, G654T, G1122C	Повсеместно(космополит)
X.1a		Южная и Восточная Африка
X.1b		Европа
X.1c		Сибирь
X.2	C528A	Преимущественно Франция и Китай

Алгоритм работы программы состоит в сравнении загруженной последовательности с референсной N гена, нахождении нуклеотидных мутаций, подстановке в таблицу Проба - Мутации - Кластер, которую принимает на вход программа в ходе работы и которая была составлена для всех исследованных штаммов. Кластер, к которому принадлежит штамм в таблице («референсные» 1178 штаммов), имеющий наибольшее количество совпадений по определённым мутациям с исследуемой пробой, признаётся кластером, к которому и относится исследуемая проба.

При определении принадлежности к кластеру у некоторых штаммов в ходе испытаний, которые фактически были выделены, например, в Европе, программа может выдавать результат определения группы неверно – Китай, Азия и т.п. Данную проблему предполагается решить в дальнейшем увеличением выборки штаммов и более подробной дифференцировкой кластеров.

Ориентировочное время работы программы: 1-3 секунд для одной последовательности (fasta-

файла) (AMD Ryzen 7 4800H 2,9 ГГц, 16 ГБ RAM). По окончании работы в папке программы, в подпапке Results будет находиться файл Probe-{Имя файла}-results.csv, открыв который с помощью табличного редактора, можно посмотреть обнаруженные нуклеотидные мутации в N гене исследуемой пробы.

Для проверки работы программы *RabiesAnalyzer* были использованы последовательности N гена других авторов [8] и загруженные из международной базы данных NCBI, а именно данные штаммов: 743a (AY352488), Komatsugawa (AY352494), RV1596 (AY352474); а также полногеномные последовательности другой группы авторов [10], а именно штаммы 95047HAV (KX148230), 94272PHI (KX148259), 11001NEP (KX148108). По итогам проверки с помощью разработанной программы установлено аналогичное или более точное определение групповой принадлежности штаммов программой и определением группы авторами вышеприведённых статей (табл. 4).

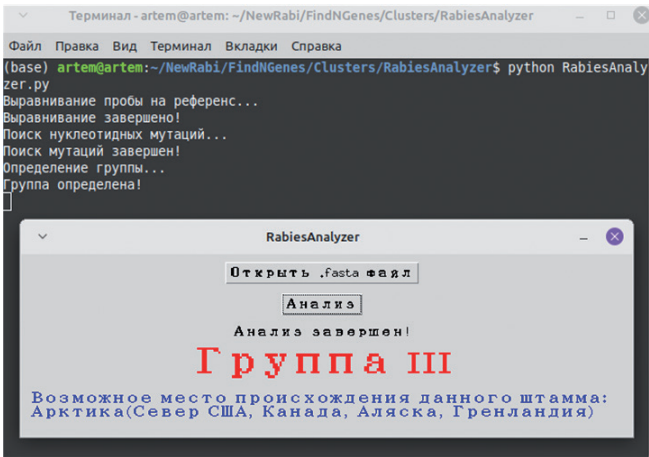


Рис. 3. Внешний вид программы для анализа штаммов бешенства

Таблица 4. Определение групп предлагаемой программой и определение групп другими исследователями

Определение групп по литературным источникам	Определение групп предлагаемой программой
Kuzmin et al., 2004	
703a – Группа А (Арктическая зона Евразии и Северной Америки)	703a – Группа III (Арктика) Komatsugawa
Komatsugawa – Группа В (Дальний Восток, Япония)	Komatsugawa – Группа V (Дальний восток, Япония, Южная Корея)
RV1596 – Группа Е (Северо-Восточная Европа)	RV1596 – Группа X.1b (Европа)
Troupin et al., 2016	
95047HAV – Группа Africa-2 (Буркина-Фасо)	95047HAV – Группа VIII.1 (Западная и Центральная Африка)
94272PHI – Группа Asian - SEA4 (Филиппины)	94272PHI – Группа VII.1 (Индокитай, Филиппины, Малайзия)
11001NEP – Группа Indian Subcontinent (Непал)	1001NEP – Группа VI.4 (Непал)

Заключение

По итогу проделанной работы предложен алгоритм классификации изучаемых штаммов возбудителя бешенства на кластеры с привязкой по географическому происхождению; найдены маркерные мутации для групп разделённых штаммов; создан сервис, определяющий мутации N гена в конкретной пробе и позволяющий идентифицировать штамм вируса бешенства по принадлежности к той или

иной географической группе (<<https://github.com/artiman16/rabiesAnalyzerWorld>>). Данные исследования расширяют понимание разнообразия вируса бешенства, а также могут помочь проследить пути распространения и эволюцию исследуемых штаммов, что важно не только для научного сообщества, но и для практического применения.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Макаров В.В., Гулюкин А.М., Гулюкин М.И. Бешенство: естественная история на рубеже столетий. М.: ЗооВетКнига; 2015. 121 с.
2. Третьяков А.М., Черных В.Г., Кирильцов Е.В., и соавт. Эпизоотология бешенства в Забайкальском крае. Вестник Бурятской государственной сельскохозяйственной академии им. В.Р. Филиппова. 2021;(2):56–62. doi: 10.34655/bgsha.2021.63.2.008.
3. Hasan NA, Choi SY, Eppinger M, et al. Genomic diversity of 2010 Haitian cholera outbreak strains. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2012;109(29):210–217. doi: 10.1073/pnas.1207359109.
4. Gardy JL, Johnston JC, Sui SJH, et al. Whole-genome sequencing and social-network analysis of a tuberculosis outbreak. *N Engl J Med*. 2011;364(8):730–739. doi: 10.1056/NEJMoa1003176.
5. Grad YH, Lipsitch M, Feldgarden M, et al. Genomic epidemiology of the Escherichia coli O104:H4 outbreaks in Europe, 2011. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012;109(8):3065–3070. doi: 10.1073/pnas.1121491109.
6. Sadeuh-Mba SA, Momo JB, Besong L, et al. Molecular characterization and phylogenetic relatedness of dog-derived Rabies Viruses circulating in Cameroon between 2010 and 2016. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017;11(10):e0006041. doi: 10.1371/journal.pntd.0006041.
7. Reddy GM, Singh R, Singh RP, et al. Molecular characterization of Indian rabies virus isolates by partial sequencing of nucleoprotein (N) and phosphoprotein (P) genes. *Virus Genes*. 2011;43:13–17. doi: 10.1007/s11262-011-0601-0.
8. Kuzmin IV, Botvinkin AD, McElhinney LM, et al. Molecular epidemiology of terrestrial rabies in the former Soviet Union. *J Wildl Dis*. 2004;40(4):617–631. doi: 10.7589/0090-3558-40.4.617.
9. Девяткин А.А., Лукашев А.Н., Полещук Е.М., и соавт. Молекулярная эпидемиология вируса бешенства на территории Российской Федерации. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2017;16(1):39–42. doi: 10.31631/2073-3046-2017-16-1-39-42.
10. Troupin C, Dacheux L, Tanguy M, et al. Large-scale phylogenomic analysis reveals the complex evolutionary history of rabies virus in multiple carnivore hosts. *PLoS Pathog*. 2016;12(12):e1006041. doi: 10.1371/journal.ppat.1006041.
11. Cui Y, Yu C, Yan Y, et al. Historical variations in mutation rate in an epidemic pathogen, *Yersinia pestis*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110(2):577–582. doi: 10.1073/pnas.1205750110.
12. Kutyrev VV, Eroshenko GA, Motin VL, et al. Phylogeny and classification of *Yersinia pestis* through the lens of strains from the plague foci of Commonwealth of Independent States. *Front Microbiol*. 2018;9:1106. doi: 10.3389/fmicb.2018.01106.
13. Lärkeryd A, Myrtenäs K, Karlsson E, et al. CanSNPer: a hierarchical genotype classifier of clonal pathogens. *Bioinformatics*. 2014;30(12):1762–1764. doi: 10.1093/bioinformatics/btu113.
14. 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: 10.3389/fmicb.2020.00287.
15. Katoh K, Standley DM. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Mol Biol Evol*. 2013;30(4):772–780. doi: 10.1093/molbev/mst010.
16. Shannon P, Markiel A, Ozier O, et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Res*. 2003;13(11):2498–2504. doi: 10.1101/gr.1239303.
17. Grandjean L, Iwamoto T, Lithgow A, et al. The association between *Mycobacterium tuberculosis* genotype and drug resistance in Peru. *PLoS One*. 2015;10(5):e0126271. doi: 10.1371/journal.pone.0126271.
18. Носков А.К., Кругликов В.Д., Москвитина Э.А., и соавт. Холера: анализ и оценка эпидемиологической обстановки в мире и России. Прогноз на 2023 г. Проблемы особо опасных инфекций. 2023;(1):56–66. doi: 10.21055/0370-1069-2023-1-56-66.

Сведения об авторах

Герасименко Артем Александрович – младший научный сотрудник ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия, 344002, ул. М. Горького 117/40. E-mail: gerasimenko_aa@antiplague.ru.

Горох Алевтина Михайловна – младший научный сотрудник ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону. E-mail: gorokh_am@antiplague.ru.

Писанов Руслан Вячеславович – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону. E-mail: risanov_rv@antiplague.ru.

Водопьянов Алексей Сергеевич – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник, ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону. E-mail: vodopyanov_as@antiplague.ru.

Поступила 1.04.2025.