



Выявление штаммов *Vibrio cholerae* «гаитянской» группы с помощью полимеразной цепной реакции на основе INDEL-типирования

Водопьянов А.С.✉, Водопьянов С.О., Олейников И.П., Писанов Р.В.

ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, 344019, Ростов-на-Дону, Россия

Цель работы состояла в целенаправленном поиске генетического INDEL-маркера «гаитянской» группы штаммов холерных вибрионов, позволяющего проводить их идентификацию методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Материалы и методы. Для поиска INDEL-маркеров использованы полученные из системы GenBank данные полногеномного секвенирования штаммов *Vibrio cholerae* El Tor, изолированных на разных континентах в различные годы. Для анализа применяли авторское программное обеспечение, написанное на языке программирования Java. Для картографирования использована система NextGIS.

Результаты и обсуждение. Установлено, что делеция 8 нуклеотидов в гене *VCA1095*, расположенном на малой хромосоме и кодирующем chemotaxis protein CheA, является характерным генетическим признаком «гаитянской» группы штаммов. Разработаны праймеры для выявления данной делеции в ПЦР.

Заключение. Разработана методика выявления штаммов холерных вибрионов «гаитянской» группы на основе анализа INDEL-маркеров и показано распределение таких штаммов в мире до и после 2010 г.

Ключевые слова: холера; генотипирование; холерный токсин; CTX; полимеразная цепная реакция; INDEL.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии 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., Олейников И.П., Писанов Р.В. Выявление штаммов *Vibrio cholerae* «гаитянской» группы с помощью полимеразной цепной реакции на основе INDEL-типирования. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2020; 97(3): 265–270. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-3-9>

Поступила 22.12.2019
Принята в печать 18.03.2020

Identification of *Vibrio cholerae* Strains of the «Haitian» Group by PCR Based on INDEL-Typing

Alexey S. Vodop'yanov✉, Sergey O. Vodop'yanov, Igor P. Oleynikov, Ruslan V. Pisanov

Rostov-on-Don Research Institute for Plague Control, Russia, 344019, Rostov-on-Don

The aim of the work was to find a genetic INDEL-marker of the Haitian group of *Vibrio cholerae* strains, what allow carrying out their identification by means PCR.

Materials and methods. For searching INDEL-markers we used the data from GenBank database on complete genomic sequences of *V. cholerae* strains El Tor isolated in different continents in different years. For the analysis we used the author's software written in the Java programming language. The NextGIS system was used for mapping.

Results and discussion. We found that the deletion of 8 nucleotides in the gene *VCA1095* located on a small chromosome and encoding chemotaxis protein CheA is a characteristic genetic feature of the «Haitian» group strains. Primers have been developed to detect this deletion in PCR.

Conclusion. The method of detection of strains of cholera vibriions «Haitian group» on the basis of INDEL-markers was developed and the distribution of such strains in the world before and after 2010 was shown.

Keywords: cholera; genotyping; cholera toxin; CTX; PCR; INDEL.

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

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

For citation: Vodop'yanov A.S., Vodop'yanov S.O., Oleynikov I.P., Pisanov R.V. Identification of *Vibrio cholerae* strains of the «Haitian» group by PCR based on INDEL-typing. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii*. 2020; 97(3): 265–270. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-3-9>

Received 22 December 2019
 Accepted 18 March 2020

Расследование вспышек опасных инфекционных заболеваний требует разработки эффективных методик внутривидовой дифференцировки возбудителей и поиска генетических маркеров групп штаммов, имеющих большое эпидемиологическое значение. Так, полногеномное секвенирование штаммов *Vibrio cholerae*, вызвавших масштабную вспышку холеры на о. Гаити в 2010 г., позволило выявить единичные нуклеотидные замены (SNP) в гене *ctxB*, что привело к появлению штаммов с уникальным генотипом B7, характеризующихся повышенной вирулентностью [1, 2]. Впоследствии для выявления штаммов, несущих холерный токсин «гаитянского» типа (B7), была разработана аллель-специфичная полимеразная цепная реакция (ПЦР) [3]. Однако использование для дифференциации штаммов лишь нескольких SNP в гене *ctxB*, на наш взгляд, является ненадежным методом ввиду возможности появления новых нуклеотидных замен в гене холерного токсина.

Одним из простых и удобных методов при учете результатов генотипирования с помощью ПЦР является изучение полиморфизма INDEL-маркеров. Так, разработаны схемы INDEL-генотипирования возбудителя туляремии [4] и холеры [5, 6]. Недавно предложена схема генотипирования штаммов *Y. pestis* на основе INDEL-маркеров, позволяющая быстро определять биовар с помощью ПЦР [7]. В связи с этим **цель** настоящего исследования состояла в целенаправленном поиске INDEL-маркера «гаитянской» группы штаммов, позволяющего проводить надежную идентификацию этих штаммов в биологическом материале методом ПЦР с электрофоретическим учетом результатов.

Материалы и методы

Для поиска INDEL-маркеров использованы геномы «гаитянских» штаммов *V. cholerae* El Tor HC-38A1, HC-06A1, HC-23A1, HC-28A1, HC-43A1, HC-61A1, HC-48B2 и геномы штаммов, изолированных на разных континентах ранее (*V. cholerae* El Tor N16961, O395, A186, A60, A217, CRC1106, E506, E1162, M2140, E9120, 16241D, 41D, 169D, 1270D). Наименования генов и позицию INDEL-маркера указывали по референсному геному штамма *V. cholerae* N16961 (GenBank Accession Number NC002505.1 и NC002506.1). Сборку геномов, представленных в виде ридов, проводили с использованием программы «Spades» [8]. Для анализа применяли авторское программное обеспечение

GeneExpert, PrimerM и VirtualPCR, написанное на языке программирования Java, для картографирования — систему NextGIS. Встречаемость маркера в популяции *V. cholerae* оценивали по локальной базе данных, содержащей 900 геномов.

ДНК выделяли с использованием коммерческих наборов реагентов «Проба НК» («ДНК-технология») и «ДНК-Сорб-В» («АмплиСенс»).

ПЦР проводили в объеме 15 мкл в полистироловых микроцентрифужных пробирках на программируемом многоканальном термоциклере «Терцик» («ДНК-технология»). Инкубационная смесь (15 мкл) для ПЦР содержала 20 mM трис-HCl, pH 8,6; 7 mM MgCl₂, 10 mM (NH₄)₂SO₄, 0,5 mM ЭДТА, 100 мкг/мл бычьего сывороточного альбумина, по 250 мкМ каждого из дезоксинуклеозидтрифосфатов, 0,1–1,0 мкМ соответствующего праймера, 2 ед. Taq-полимеразы и 1–10 нг хромосомальной ДНК исследуемого штамма. Режим амплификации после внесения минерального масла: денатурация — 94°C, 35 с, отжиг — 60°C, 25 с, синтез — 72°C, 35 с (всего 40 циклов).

Валидацию размера ампликонов INDEL-маркера «1095» проводили с помощью автоматической электрофорезной станции «Experion™» («Bio-Rad») с применением набора «Experion DNA 1K reagent and Supplies for 10 chips» согласно инструкции производителя.

Детекцию ампликонов и разделение аллелей по заданному локусу осуществляли в неденатурирующем 11% полиакриламидном геле (ПААГ) (2 мкл постреакционной смеси на дорожку геля, длина геля 15 см, 15–20 В/см). В качестве аллельного ладдера использовали смесь всех выявленных аллелей анализируемого локуса. Генотип штамма определяли путем сопоставления длины пробега полученных ампликонов аллелей с ладдерной ДНК после окрашивания геля бромистым этидием (1 мкг/мл) и визуализации в проходящем ультрафиолете (220 нм) трансиллюминатора «ViberLaurmat» («ЛКВ»).

Результаты и обсуждение

Первый этап работы выполняли в программе «GeneExpert», сравнивая попарно все INDEL-маркеры в открытых рамках считывания в геномах штаммов, обусловивших эпидемические осложнения по холере на о. Гаити и имеющих «гаитянский» вариант (B7) гена *ctxB* [2]. Это позволило оставить для дальнейшего анализа только стабильные INDEL-полиморфизмы, которые были одинаковы у всех изученных «гаитянских» штаммов.

Второй этап работы заключался в сравнительном анализе INDEL-маркеров, отобранных на первом этапе, и аналогичных маркеров токсигенных штаммов *V. cholerae*, выделенных до 2010 г. Это позволило установить, что делеция 8 нуклеотидов в гене *VCA1095* (в позиции 422–429), расположенном на малой хромосоме и кодирующем chemotaxis protein CheA, присутствует у всех «гаитянских» и отсутствует у других токсигенных (*ctxAB*+) штаммов.

На третьем этапе работы с помощью авторской программы «PrimerM» нами были сконструированы праймеры (прямой 5'-ccatcagctgcctctgacac-3', обратный 5'-ttcgacaatcgctagtagcg-3'), фланкирующие INDEL-маркер «1095», что дало возможность выявлять его в ПЦР *in silico*. Для этой цели нами были получены данные полногеномного секвенирования из базы данных GenBank. Обращает на себя внимание, что геномы некоторых штаммов, выделенных в последние годы, представлены только в виде первичных данных секвенирования (ридов), что побудило нас самостоятельно провести их сборку в контиги. В локальной базе полных геномов, использованных на этом этапе работы, была информация о 900 геномах штаммов *V. cholerae*, 520 из которых содержали профаг CTX (гены *ctxAB*).

Анализ локальной базы данных с помощью программы «VirtualPCR» позволил выявить делецию 8 п.о. (INDEL-маркер «1095») в гене *VCA1095*

Таблица 1. Штаммы *V. cholerae*, выделенные до 2010 г. и содержащие «гаитянский вариант» INDEL-маркера «1095»

Table 1. *Vibrio cholerae* strains, isolated before 2010 year, which contain «Haitian» variant of INDEL-marker «1095»

| Штамм Strain | Год Year | Место выделения штамма Place of strain isolation | Тип <i>ctxB</i> [2] Type of <i>ctxB</i> [2] |
|-----------------|-------------|---|--|
| 2009V-1085 | 2009 | США, завоз из Шри-Ланка USA, import from Sri Lanka | B7 |
| 2009V-1096 | 2009 | США, завоз из Индии USA, import from India | B7 |
| 2009V-1131 | 2009 | США, завоз из Индии USA, import from India | B7 |
| 2011EL-1137 | 2009 | Южная Африка South Africa | B1 |
| 3554-08 | 2008 | США, завоз из Непала USA, import from Nepal | B7 |
| IDHO1_726 | 2009 | Индия India | B7 |
| 4519 | 2005 | Индия India | B7 |
| MBN17 | 2004 | Индия India | B1 |
| 4538 | 2007 | Индия India | B7 |

(«гаитянский вариант») у 184 штаммов, причем ее наличие четко коррелировало с генотипом B7 гена холерного токсина *ctxB*. При этом нетоксигенные (*ctxAB*-) штаммы *V. cholerae* и штаммы nonO1/nonO139 серогруппы имели «дикий» аллель гена *VCA1095* (не содержащий делецию 8 п.о.). На наш взгляд, использование сконструированных нами праймеров является более простым и надежным методом выявления штаммов «гаитянской» группы по сравнению с известными приемами секвенирования или аллель-специфичной ПЦР [2, 3].

Большой интерес вызвало происхождение штаммов с «гаитянским вариантом» INDEL-маркера «1095». Изучение геномов штаммов *V. cholerae*, представленных в базе GenBank, с помощью программы «VirtualPCR» позволило выявить его присутствие у 9 штаммов, изолированных до возникновения вспышки на о. Гаити в 2010 г. (табл. 1). Примечательно, что у всех штаммов (кроме 2011EL-1137 и MBN17) обнаружен ген *ctxB* именно «гаитянского генотипа» (B7). Важно отметить, что ранее уже описано обнаружение штаммов, выделенных до 2010 г. и имеющих аллель B7 гена *ctxB* [3], что косвенно подтверждает наши данные. Полученные нами результаты позволяют рассматривать штаммы 2011EL-1137 и MBN17 как своего рода «прегаитянские».

Не менее интересным является анализ штаммов *V. cholerae*, выделенных после 2010 г. на о. Гаити. Использование программы «VirtualPCR» позволило выявить 74 штамма *V. cholerae*, несущих «гаитянский вариант» гена *VCA1095* с наличием INDEL-маркера «1095» (примеры приведены в табл. 2). Обращает на себя внимание, что именно эти штаммы были занесены в города Мариуполь (2011 г.) и Москва (2012 г.). Именно в этот период в Ростове-на-Дону были выделены токсигенные штаммы, не содержащие INDEL-маркер «1095» в локусе *VCA1095* и имеющие *ctxB* генотипа B3, что подтверждает циркуляцию в настоящее время штаммов «гаитянского» и других генотипов. Также необходимо отметить, что штаммы, ежегодно выделяемые от людей в округе Дели (Индия) и полученные при вспышке холеры в Республике Йемен, тоже несут «гаитянский вариант» гена *VCA1095* с наличием INDEL-маркера «1095» и *ctxB*, несущих аллель B7 [9].

Размер описываемой делеции в гене *VCA1095* составляет 8 нуклеотидов, что некратно стандартному кодирующему триплету, ее появление в геноме «гаитянских» штаммов приводит к сдвигу рамки считывания и формированию стоп-кодона (рис. 1). Таким образом, согласно данным биоинформационного анализа, делеция 8 п.о. приводит к синтезу трунктированного протеина размером 626 аминокислот против 720 аминокислот у штаммов «дикого» варианта. Судя по широкому распространению данной делеции, в популяции она, возможно, способствует выживанию вибрионов.

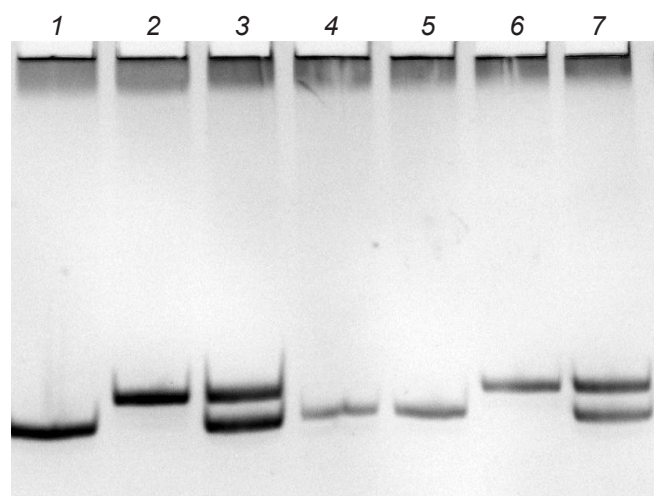


Рис. 2. Результат электрофореза в 11% ПААГ продуктов амплификации образцов ДНК *V. cholerae* со специфическими праймерами, фланкирующими INDEL-маркер «1095».

3 и 7 — маркеры молекулярного веса, содержащие смесь ампликонов размером 95 и 87 п.о.; 2 и 6 — результат амплификации гена *VCA1095*, не содержащего INDEL-маркер «1095» (95 п.о.); 1, 4 и 5 — результат амплификации гена *VCA1095* «гаитянского» типа (87 п.о.) с наличием INDEL-маркера «1095».

Fig. 2. Results of electrophoresis in 11% PAAG of fragments of *V. cholerae* DNA amplified with specific primers flanking the INDEL-marker «1095».

3 and 7 — markers of molecular weight, containing a mixture of amplicons of size alleles 95 and 87 nucleotides; 2 and 6 — the result of amplification of gene *VCA1095* not containing the INDEL-marker «1095» (95 nucleotides); 1, 4 and 5 — the result of amplification of gene *VCA1095* «Haitian» type (87 nucleotides) with the presence of the INDEL-marker «1095».

правомочности такого результата свидетельствует наличие у данных штаммов аллеля В7 гена *ctxB*, что также является признаком «гаитянских» штаммов.

Заключение

В ходе исследования апробирована методика целенаправленного поиска INDEL-маркеров для выявления заранее известной группы штаммов. Обнаружен «гаитянский» вариант гена *VCA1095*, содержащий INDEL-маркер «1095», являющийся отличительным признаком штаммов, обусловивших эпидемические осложнения по холере на о. Гаити в 2010 г. и в Республике Йемен в 2016–2017 гг. Сконструированы праймеры и подобраны условия для выявления делеции 8 п.о. методом ПЦР, что позволило подтвердить принадлежность штаммов *V. cholerae* O1 № 19187 и 19188, выделенных в 2010 г. в Москве, к «гаитянской» группе. Показано мировое распространение штаммов, несущих «гаитянский вариант» гена *VCA1095* с наличием INDEL-маркера «1095», до и после 2010 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ghosh P., Sinha R., Samanta P., Saha D.R., Koley H., Dutta S., et al. Haitian variant *Vibrio cholerae* O1 strains manifest higher

virulence in animal models. *Front. Microbiol.* 2019; (10): 111. DOI: <http://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00111>

2. Safa A., Nair G.B., Kong R.Y. Evolution of new variants of *Vibrio cholerae* O1. *Trends Microbiol.* 2010; 18(1): 46-54. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.tim.2009.10.003>

3. Naha A., Pazhani G.P., Ganguly M., Ghosh S., Ramamurthy T., Nandy R.K., et al. Development and evaluation of a PCR assay for tracking the emergence and dissemination of Haitian variant *ctxB* in *Vibrio cholerae* O1 strains isolated from Kolkata, India. *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50(5): 1733-6. DOI: <http://doi.org/10.1128/JCM.00387-12>

4. Larsson P., Svensson K., Karlsson L., Guala D., Granberg M., Forsman M., et al. Canonical insertion-deletion markers for rapid DNA typing of *Francisella tularensis*. *Emerg. Infect. Dis.* 2007; 13(11): 1725-32. DOI: <http://doi.org/10.3201/eid1311.070603>

5. Водопьянов А.С., Водопьянов С.О., Олейников И.П., Мишанькин Б.Н., Кругликов В.Д., Архангельская И.В. и др. INDEL- и VNTR-типирование штаммов *Vibrio cholerae*, выделенных в 2013 году из объектов окружающей среды на территории Российской Федерации. *Здоровье населения и среда обитания.* 2015; (5): 41-4.

6. Водопьянов А.С., Водопьянов С.О., Олейников И.П., Мишанькин Б.Н. INDEL-типирование штаммов *Vibrio cholerae*. *Эпидемиология и инфекционные болезни.* 2017; 22(4): 195-200. DOI: <http://doi.org/10.18821/1560-9529-2017-22-4-195-200>

7. Kutyrev V.V., Eroshenko G.A., Motin V.L., Nosov N.Y., Krasnov J.M., Kukleva L.M., 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: <http://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01106>

8. Bankevich A., Nurk S., Antipov D., Gurevich A.A., Dvorkin M., Kulikov A.S., et al. SPAdes: A new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *J. Comput. Biol.* 2012; 19(5): 455-77. DOI: <http://doi.org/10.1089/cmb.2012.0021>

9. Weill F.X., Domman D., Njamkepo E., Almesbahi A.A., Naji M., Nasher S.S., et al. Genomic insights into the 2016–2017 cholera epidemic in Yemen. *Nature.* 2019; 565(7738): 230-3. DOI: <http://doi.org/10.1038/s41586-018-0818-3>

10. Водопьянов А.С., Писанов Р.В., Водопьянов С.О., Мишанькин Б.Н., Олейников И.П., Кругликов В.Д. и др. Молекулярная эпидемиология *Vibrio cholerae* – разработка алгоритма анализа данных полногеномного секвенирования. *Эпидемиология и инфекционные болезни.* 2016; 21(3): 146-52. DOI: <http://doi.org/10.18821/1560-9529-2016-21-3-146-152>

11. Kuleshov K.V., Vodop'ianov S.O., Dedkov V.G., Markelov M.L., Deviatkin A.A., Kruglikov V.D., et al. Travel-associated *Vibrio cholerae* O1 El Tor, Russia. *Emerg. Infect. Dis.* 2016; 22(11): 2006-8. DOI: <http://doi.org/10.3201/eid2211.151727>

REFERENCES

1. Ghosh P., Sinha R., Samanta P., Saha D.R., Koley H., Dutta S., et al. Haitian variant *Vibrio cholerae* O1 strains manifest higher virulence in animal models. *Front. Microbiol.* 2019; (10): 111. DOI: <http://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00111>

2. Safa A., Nair G.B., Kong R.Y. Evolution of new variants of *Vibrio cholerae* O1. *Trends Microbiol.* 2010; 18(1): 46-54. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.tim.2009.10.003>

3. Naha A., Pazhani G.P., Ganguly M., Ghosh S., Ramamurthy T., Nandy R.K., et al. Development and evaluation of a PCR assay for tracking the emergence and dissemination of Haitian variant *ctxB* in *Vibrio cholerae* O1 strains isolated from Kolkata, India. *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50(5): 1733-6. DOI: <http://doi.org/10.1128/JCM.00387-12>

4. Larsson P., Svensson K., Karlsson L., Guala D., Granberg M., Forsman M., et al. Canonical insertion-deletion markers for rapid DNA typing of *Francisella tularensis*. *Emerg. Infect. Dis.* 2007; 13(11): 1725-32.
DOI: <http://doi.org/10.3201/eid1311.070603>
5. Vodop'yanov A.S., Vodop'yanov S.O., Oleynikov I.P., Mishan'kin B.N., Kruglikov V.D., Arkhangel'skaya I.V., et al. INDEL- и VNTR-typing *Vibrio cholerae* strains, isolated in 2013 from the environment objects in the Russian Federation. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya*. 2015; (5): 41-4. (in Russian)
6. Vodop'yanov A.S., Vodop'yanov S.O., Oleynikov I.P., Mishan'kin B.N. INDEL-genotyping of *Vibrio cholerae* strains. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni*. 2017; 22(4): 195-200.
DOI: <http://doi.org/10.18821/1560-9529-2017-22-4-195-200> (in Russian)
7. Kutyrev V.V., Eroshenko G.A., Motin V.L., Nosov N.Y., Krasnov J.M., Kukleva L.M., 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: <http://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01106>
8. Bankevich A., Nurk S., Antipov D., Gurevich A.A., Dvorkin M., Kulikov A.S., et al. SPAdes: A new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *J. Comput. Biol.* 2012; 19(5): 455-77.
DOI: <http://doi.org/10.1089/cmb.2012.0021>
9. Weill F.X., Domman D., Njamkepo E., Almesbahi A.A., Naji M., Nasher S.S., et al. Genomic insights into the 2016–2017 cholera epidemic in Yemen. *Nature*. 2019; 565(7738): 230-3.
DOI: <http://doi.org/10.1038/s41586-018-0818-3>
10. Vodop'yanov A.S., Pisanov R.V., Vodop'yanov S.O., Mishan'kin B.N., Oleynikov I.P., Kruglikov V.D., et al. Molecular epidemiology of *Vibrio cholerae* – development of the algorithm for data analysis of whole genome sequencing. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni*. 2016; 21(3): 146-52.
DOI: <http://doi.org/10.18821/1560-9529-2016-21-3-146-152> (in Russian)
11. Kuleshov K.V., Vodop'yanov S.O., Dedkov V.G., Markelov M.L., Deviatkin A.A., Kruglikov V.D., et al. Travel-associated *Vibrio cholerae* O1 El Tor, Russia. *Emerg. Infect. Dis.* 2016; 22(11): 2006-8.
DOI: <http://doi.org/10.3201/eid2211.151727>

Информация об авторах:

Водопьянов Алексей Сергеевич — к.м.н., с.н.с. группы вирусологии ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, 344002, Ростов-на-Дону, Россия.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9056-3231>.
E-mail: alexvod@gmail.com

Водопьянов Сергей Олегович — д.м.н., зав. лаб. биохимии микробов ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, 344002, Ростов-на-Дону, Россия.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4336-0439>.

Олейников Игорь Павлович — н.с. лаб. биохимии микробов ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, 344002, Ростов-на-Дону, Россия.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2390-9773>.

Писанов Руслан Вячеславович — к.б.н., зав. лаб. диагностики особо опасных инфекций ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, 344002, Ростов-на-Дону, Россия.
ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-7178-8021>.

Участие авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Information about the authors:

Alexey S. Vodop'yanov — PhD (Med.), senior researcher, Virology group, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, 344002, Rostov-on-Don, Russia.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9056-3231>.
E-mail: alexvod@gmail.com

Sergey O. Vodop'yanov — D. Sci. (Med.), leading researcher, Head, Department of microbial chemistry, Rostov-on-Don Research Institute for Plague Control, 344019, Rostov-on-Don, Russia.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4336-0439>.
E-mail: serge100v@gmail.com.

Igor P. Oleynikov — researcher, Department of microbial chemistry, Rostov-on-Don Research Institute for Plague Control, 344019, Rostov-on-Don, Russia.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2390-9773>.

Ruslan V. Pisanov — PhD (Biol.), Head, Department of epidemiology of especially targeted infections, Rostov-on-Don Research Institute for Plague Control, 344019, Rostov-on-Don, Russia.
ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-7178-8021>.

Contribution: the authors contributed equally to this article.