10.15789/2220-7619-NVC-17787

НЕТОКСИГЕННЫЕ ШТАММЫ *VIBRIO CHOLERAE* O1, ВЫЗВАВШИЕ ГАСТРОЭНТЕРОКОЛИТЫ В ЗАПОРОЖСКОЙ И ХЕРСОНСКОЙ ОБЛАСТЯХ: ОПИСАНИЕ СЛУЧАЕВ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ

Монахова Е. В. [1],

Кругликов В. Д. [1],

Водопьянов А. С. [1],

Гаевская Н. Е. [1]

[1] ФКУЗ Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора.

ISSN 2220-7619 (Print)
ISSN 2313-7398 (Online)

10.15789/2220-7619-NVC-17787

NON-TOXIGENIC *VIBRIO CHOLERAE* O1 STRAINS CAUSED GASTROENTEROCOLITIS IN THE ZAPORIZHIA AND KHERSON REGIONS: CASE REPORTS AND PATHOGEN MOLECULAR GENETIC CHARACTERISTICS

Monakhova E. V. [a],
Kruglikov V. D. [a],
Vodop'yanov A. S. [a],
Gaevskaya N. E. [a]

[a] Rostov-on-Don, Research Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don, Russian Federation.

ISSN 2220-7619 (Print)
ISSN 2313-7398 (Online)

 10.15789/2220-7619-NVC-17787

Резюме

В 2023- 2024 гг. в Запорожской и Херсонской областях зарегистрированы 2 случая гастроэнтероколитов, вызванные нетоксигенными *Vibrio cholerae* O1. До этого в России заболевания такой этиологии не выявлялись в течение последних 18 лет, хотя CTX$^-$ штаммы выделялись из водоемов. **Цель** исследования: молекулярно-генетическая характеристика клинических штаммов *V.cholerae* O1, изолированных в России, и сравнительный биоинформационный анализ их полногеномных сиквенсов (WGSs). **Материалы и методы.** Штаммы идентифицировали в соответствии с МУК 4.2.3745-22, секвенирование проводили на платформе MiSeq Illumina, биоинформационный анализ – с использованинм BioEdit, Vector NTI, CARD и авторского программного обеспечения. **Результаты.** Пациент из Запорожской области заболел после употребления продуктов с рынка, из Херсонской области – после купания в море. У обоих был диагностирован острый гастроэнтероколит, во втором случае наряду с вибрионом обнаружен ротавирус. Выделенные культуры, имеющие идентичные ПЦР-генотипы, были идентифицированы как нетоксигенные *V. cholerae* O1. Первый возбудитель отнесен к серовару Огава, второй – к Инаба. В WGSs обоих отсутствовали профаги CTX, preCTX, острова VPI и VSP-II, гены термостабильного и cholix-токсинов, белков OmpT и OmpU, но присутствовали кластеры RTX, *msh*, гены гемолизина, металло- и сериновых протеаз; цитотонического фактора Cef, представленные у двух возбудителей разными аллелями. Существенные различия состояли в наличии у возбудителя 2024 года острова VSP-I, кластера T3SS в составе VPI-3, генов *ompW* и β-лактамазы *varG*, которые отсутствовали у штамма 2023 года. Последний содержал неполный VPI-2 и существенно измененные гены *rtxA*, протеаз VesC и VchC. На дендрограмме изоляты образовали 2 удаленных кластера, в состав которых вошли также штаммы из водоемов, выделенные на других Российских территориях в разные годы, в каждом все гены имели одинаковые

 ISSN 2220-7619 (Print)
ISSN 2313-7398 (Online)

 10.15789/2220-7619-NVC-17787

наборы генетических детерминант и аллели генов. Эти данные свидетельствует о возможности их длительного сохранения в водоемах и отсутствии заносов из-за рубежа. **Заключение.** На территории РФ выявлены два новых клональных комплекса *V. cholerae* O1. Нетоксигенные штаммы обычно не вызывают масштабных эпидосложнений, и заболевания, вызванные представителями каждого комплекса, могли быть связаны с ослабленным иммунитетом пациентов.

Ключевые слова: *Vibrio cholerae* O1, нетоксигенные штаммы, острые кишечные инфекции, факторы патогенности, полногеномное секвенирование, биоинформационный анализ, клональные комплексы.

 ISSN 2220-7619 (Print)
ISSN 2313-7398 (Online)

 10.15789/2220-7619-NVC-17787

Abstract

In 2023-2024, two cases of gastroenterocolitis caused by non-toxigenic *Vibrio cholerae* O1 were documented in Zaporizhzhya and Kherson regions. Previously, diseases of this etiology had not been detected in Russia over the last 18 years, although CTX^- strains were isolated from water bodies. **Aim** of the study: molecular genetic characterization of clinical *V.cholerae* O1 strains isolated in Russia and comparative bioinformatics analysis of their whole genome sequences (WGSs). **Materials and methods.** The strains were identified in accordance with MUK 4.2.3745-22, sequencing was performed on the MiSeq Illumina platform, bioinformatics analysis – using BioEdit, Vector NTI, CARD and author's software. **Results.** A patient from Zaporizhzhya region fell ill after consumption of market foods, and from the Kherson region – after bathing in the sea. Both were diagnosed with acute gastroenterocolitis, in the second case rotavirus was detected along with vibrio. The isolated cultures with identical PCR genotypes were identified as non-toxigenic *V. cholerae* O1. The first pathogen belonged to Ogawa serotype, the second to Inaba. The WGSs of both strains lacked prophages CTX, preCTX, islands VPI and VSP-II, genes of heat-stable and cholix toxins, proteins OmpT and OmpU, but shared RTX and *msh* clusters, genes of hemolysin, metallo- and serine proteases; cytotonic factor Cef, represented in two pathogens by different alleles. Significant differences included the presence in the 2024 pathogen of VSP-I island, T3SS cluster integrated into VPI-3, *ompW* and β-lactamase *varG* genes which were absent in the 2023 one. The latter contained an incomplete VPI-2 and significantly altered genes *rtxA*, as well as genes encoding proteases VesC and VchC . On the dendrogram, the isolates formed 2 distant clusters, which also included environmental waterborne strains isolated in other Russian territories in different years; in each cluster all genes had the same repertoires of genetic determinants and gene alleles. These data evidence an opportunity for their long-term preservation in water reservoirs and the absence of importations from abroad. **Conclusion.** Two new clonal complexes of CTX^- *V. cholerae* O1 have been identified in the territory of Russian Federation.

 ISSN 2220-7619 (Print)
ISSN 2313-7398 (Online)

10.15789/2220-7619-NVC-17787

Non-toxigenic strains usually do not cause large-scale epidemiological complications, and the diseases caused by representatives of each complex could be associated with compromised immunity of patients.

Keywords: *Vibrio cholerae* nonO1, non-toxigenic strains, acute intestinal infections, pathogenicity factors, whole genome sequencing, bioinformatics analysis, clonal complexes.

ISSN 2220-7619 (Print)
ISSN 2313-7398 (Online)

 10.15789/2220-7619-NVC-17787

1 **Введение**

Кроме возбудителей эпидемической холеры, содержащих гены ключевого фактора патогенности холерного токсина *ctxAB* в составе профага CTX, существует большая достаточно гетерогенная группа штаммов *Vibrio cholerae*, лишенных этих генов, но способных к экспрессии целого ряда других токсических субстанций [5]. В большинстве своем они являются естественными обитателями поверхностных водоемов, где могут сохраняться в течение продолжительных периодов времени благодаря наличию генетических детерминант факторов персистенции, многие из которых могут выступать и в роли факторов патогенности [12,14]. В определенных условиях такие штаммы способны вызывать спорадические случаи и локальные вспышки острых кишечных инфекций (ОКИ), как легкой и средней степени тяжести, так и тяжелых форм холероподобных заболеваний. Так, в Китае с 2015 по 2021 гг. нетоксигенные штаммы выделялись в 9 провинциях в основном от спорадических больных с диагнозом «холера» [11], а в 2021 г. были выявлены штаммы, относящиеся к двум генетическим линиям (L3b и L9), которые авторы даже называют «эпидемическими» и связывают с ними риски распространения и потенциальную угрозу здоровью населения [10]. На территории Российской Федерации (РФ) ОКИ, обусловленные нетоксигенными штаммами холерных вибрионов O1 серогруппы, регистрируются крайне редко. За последние 25 лет было выявлено лишь 2 случая в Адлере (1999 г.) и Сочи (2004 г.) [9], а также вспышка в 2005 г. в Каменском районе Ростовской области, связанная с завозом возбудителя трудовыми мигрантами из Таджикистана [6]. В дальнейшем о выделении нетоксигенных штаммов *V.cholerae* O1 от людей в каком-либо регионе РФ не сообщалось.

Только спустя 18 лет, в 2023 г., в Мелитопольском районе Запорожской области был выявлен больной ОКИ, от которого получен изолят *V.cholerae* O1 [8], а в 2024 г. – еще один в г. Геническе Херсонской области. В связи с

 ISSN 2220-7619 (Print)
ISSN 2313-7398 (Online)

территориальной близостью этих городов возник вопрос о том, имеются ли родственные связи между двумя возбудителями, а также со штаммами, циркулирующими в водных объектах окружающей среды (ООС) на этих и других территориях РФ. Кроме того, известно, что нетоксигенные штаммы содержат и экспрессируют разные наборы детерминант факторов патогенности [5], поэтому возникла необходимость определить, какие именно из них могли явиться причиной реализации возбудителями патогенного потенциала.

Цель настоящего исследования состояла в молекурно-генетической характеристике клинических штаммов *V.cholerae* O1, изолированных в РФ, и в сравнительном биоинформационном анализе результатов их полногеномного секвенирования.

Материалы и методы

Объектами исследования служили штаммы *V. cholerae* O1, выделенные от больных ОКИ в Мелитопольском районе в 2023 г. и в г. Геническе в 2024 г. В сравнительный филогенетический анализ были также включены изоляты из ООС других сроков и мест выделения.

Идентификацию штаммов, включавшую бактериологический метод и ПЦР в режиме реального времени с использованием набора «АмплиСенс® *Vibrio cholerae*-FL» (Регистрационное удостоверение № ФСР 2011/11139), а также определение чувствительности к антибиотикам проводили в соответствии с МУК 4.2.3745-22 [4].

Полногеномное секвенирование осуществляли на платформе MiSeq Illumina, SNP-анализ проводили по 55 тыс. SNP как описано ранее [1]. Для поиска в полных геномах (WGSs) отдельных генов и их кластеров использовали программу BioEdit 7.2.5 (http://www.mbio.ncsu.edu/bioedit), генетических детерминант лекарственной устойчивости – базу CARD (https://card.mcmaster.ca). Трансляцию генов, анализ их нуклеотидных последовательностей и аминокислотных последовательностей их продуктов

осуществляли с помощью пакета программ Vector NTI Advance 11 (Invitrogen). Прототипами служили WGSs референс-штамма *V. cholerae* N16061 (AE003852, AE003853) и *V. cholerae* O37 AM-19226 (AATY0200000000). Потенциальные активные домены в белках идентифицировали on-line с использованием программы BLASTP (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov).

Результаты и обсуждение

Описание случаев, выделение и идентификация возбудителей

1. Больной А, 16,5 лет, житель с. Вознесенка Мелитопольского района Запорожской области, заболел остро 21.06.2023 г., наблюдались тошнота, многократная рвота, температура до 37°С, жидкий стул до 2 раз в день. 26.06.2023 г. обратился в амбулаторию самостоятельно с теми же жалобами. Был поставлен диагноз «острый гастроэнтероколит». 30.06.2023 г. повторно обратился в амбулаторию. Состояние – без положительной динамики (обильная рвота, слабость, недомогание, температура 36,9°С). Пациента направили в инфекционное отделение Мелитопольской областной больницs, где было произведено промывание желудка и кишечника, взят материал на проведение лабораторной диагностики. 04.07.2023 г. в бактериологической лаборатории была выделена культура *V. cholerae* O1 Ogawa. От госпитализации больной отказался, на момент обследования очага оставался дома, в контакте с ним находились 2 человека (отец и мать), симптомы ОКИ у них отсутствовали. Сам пациент связывал заболевание с употреблением консервов кильки, купленной на оптовом рынке, а также лапши быстрого приготовления, вареной колбасы, растворимого напитка, который разводил бутилированной питьевой водой. Купание в водоемах, употребление воды из-под крана, контакты с больными с симптоматикой ОКИ отрицал. По состоянию на. 04.07.2023 г. у больного и контактных лиц никаких симптомов и жалоб не было. В материале от контактных лиц по месту проживания и при обращении в медучреждение, а также в пробах воды из разводящей сети возбудитель холеры обнаружен не был, однако штамм *V. cholerae* O1 Ogawa

был выделен из содержимого надворного туалета по месту жительства.

2. Больной Б, 3 года, житель г. Геническа Херсонской области, выявлен при обращении за медпомощью 13.07.2024 г. и направлен в педиатрическое отделение Генической центральной районной больницы с предварительным диагнозом «ОКИ». В первые дни болезни симптомы включали насморк, общую слабость, повышенную температуру (38,6 ºС), на 3-4-день присоединились рвота и понос. При исследовании клинического материала (ректальный мазок) методом ПЦР обнаружены РНК ротавируса и ДНК нетоксигенного ($ctxA^{-}tcpA^{-}$) штамма *V.cholerae* O1 Inaba и поставлен окончательный диагноз «острый гастроэнтероколит смешанной этиологии». Присутствие холерного вибриона было подтверждено бактериологическим методом.

Выяснилось, что ребенок купался в Азовском море на неорганизованном пляже в пределах города. В биоматериале от родителей и родственницы патогенов не обнаружено. Поскольку ребенок посещал ясли, обследованы были также дети из его группы и все сотрудники учреждения, а также соседи по палате и медперсонал больницы, все результаты были отрицательными. По месту жительства ребенок не употреблял пищевых продуктов повышенного эпидриска и сырую воду, поэтому наиболее вероятным источником его заражения послужила морская вода. По результатам контрольных лабораторных исследований проб от ребенка, отобранных после лечения с 18.07 по 20.07.2024 г., холерный вибрион не был выявлен ни в ПЦР, ни бактериологически, и 23.07.2024 г. пациент был выписан из больницы.

Идентификация генетических детерминант факторов патогенности в полногеномных сиквенсах и их характеристика

В Ростовский-на-Дону противочумный институт в 2023 г. поступили штаммы из Мелитопольского района: (2 субкультуры от больного (№№32 и 32а) и изолят (№201) из содержимого туалета, а в 2024 г. – 2 субкультуры клинического штамма (№№286 и 291) из. Геническа. Все они обладали

 10.15789/2220-7619-NVC-17787

фенотипическими свойствами, типичными для *V. cholerae* O1, штаммы из Мелитопольского района относились к серовару Огава, из Геническа – Инаба. Все были чувствительны почти ко всем использованным антибиотикам (тетрациклину, азитромицину, гентамицину, левомицетину, левофлоксацину, триметоприму, моксифлоксацину, ципрофлоксацину), устойчивы к фуразолидону; различия состояли в устойчивости штаммов из Мелитопольского района к стрептомицину, из Геническа – к ампициллину. По результатам первичной идентификациии в ПЦР те и другие имели один и тот же генотип $wbe^{+}wbf^{-}ctxA^{-}tcpA^{-}hly^{+}$, т.е. явились нетоксигенными холерными вибрионами O1 серогруппы.

В WGSs всех штаммов отсутствовали профаги CTX, preCTX и RS1, остров патогенности VPI-1, остров пандемичности VSP-II, дополнительные кластеры системы секреции шестого типа (T6SS) AUX-1 и AUX-4, гены cholix-токсина *chxA*, термостабильного токсина *stn*, белков наружной мембраны *ompT* и *ompU*, но присутствовали кластеры RTX и *msh*, основной кластер T6SS и дополнительный AUX-2, интактные гены гемолизина *hlyA*, металлопротеаз – PrtV из *hly*-локуса, гемагглютинин/протеазы *hapA*, коллагеназы *vchC*, а также сериновых протеаз: *vesA, vesB, vesC, ivaP, rssP*; цитотонического фактора *cef*, компонентов эффлюкс-помп CRP, VC1634, *vcrM, vcm-B,-D,-H, -N*. При этом перечисленные гены у двух групп исследуемых изолятов в большинстве своем существенно различались по нуклеотидному составу, т.е. были представлены разными аллелями, но их продукты сохраняли характерные для них активные домены (кроме продукта укороченного гена *rtxA* штаммов 2023 г.).

Также у штаммов из Геническа присутствовал ген β-лактамазы *varG*, который, возможно, обусловил устойчивость к амипициллину, а у стрептомицин-резистентных штаммов из Мелитопольского района никаких известных детерминант устойчивости к этому антибиотику не обнаружено. Предположительно резистентость могла быть связана с еще не известным геном либо с работой эффлюкс-помп. Чувствительность обоих возбудителей к

 ISSN 2220-7619 (Print)
ISSN 2313-7398 (Online)

остальным антибиотикам совпала с отсутствием соответствующих генов в их геномах.

Наиболее существенные различия между генетическими детерминантами изолятов 2023 и 2024 гг. показаны в таблице 1.

Приведенные данные свидетельствуют о глубоких различиях между исследуемыми штаммами из двух близко расположенных регионов. Тем не менее, те и другие вызвали у людей одну и ту же клиническую картину острого диарейного синдрома, что еще раз подтверждает предложенную нами ранее концепцию взаимозаменяемости факторов патогенности холерных вибрионов [5]. Так, возбудитель из Геническа обладал островом патогенности VPI-3 с кластером системы секреции третьего типа (T3SS), экспрессия которой значительно повышает вирулентность холерных вибрионов [15]. Он также имел интактный ген *rtxA* такой же длины, как у прототипа, но с множеством SNP, никак не повлиявших на сохранение продуктом его трансляции всех характерных активных доменов. В данном случае оценить вклад этого штамма в патогенез затруднительно, поскольку в клиническом материале присутствовала и РНК ротавируса, однако такие же штаммы ранее вызвали ОКИ у двух больных в РФ [9] . В то же время возбудитель из Мелитопольского района, лишенный T3SS и имеющий укороченный за счет делеций *rtxA*, в продукте которого отсутствовал ключевой домен ACD, вызвал у конкретного больного такие же клинические проявления. То же можно сказать и о гене протеазы, обозначенном здесь как *vesC-like*, существенно отличающегося от прототипного *vesC* по длине и нуклеотидному составу: продукт его трансляции сохранил активные домены трипсиноподобных сериновых протеаз и приобрел новый домен «choice_anch_D», характерный для некоторых экстрацеллюлярных белков, но его функция у холерных вибрионов неясна. Прототипный белок VesC известен как мощный фактор патогенности, способный вызывать воспаление и геморагическую диарею [13]. Что касается измененного белка VesC-like, его биологическая активность не изучена, но

 10.15789/2220-7619-NVC-17787

вполне возможно, что он вносит в патогенез более или менее значимый вклад. Ген *cef* был отнесен к новому аллелю, который мы обозначили как E7, тогда как у возбудителя из Геническа он был представлен уже известным аллелем E4.

Детерминанты прототипной T6SS представлены основным и дополнительными кластерами [2], а у обоих исследуемых возбудителей присутствовали только основной и AUX-2, у штаммов из Геническа – также AUX-3, который может служить одним их отличительных маркеров, но достоверно оценить функциональное состояние этой системы секреции на данном этапе невозможно, для этого требуются дополнительные исследования.

Для выяснения степени родства исследуемых штаммов между собой, а также с другими штаммами, выделенными на территории РФ, мы провели филогенетический анализ их геномов в сравнении с множеством таковых других нетоксигенных *V.cholerae* O1. Как и следовало ожидать, на полученной дендрограмме штаммы из Мелитопольского района и из Геническа вошли в состав двух совершенно различных и удаленных друг от друга кластеров (рисунок 1). При этом первые сгруппировались также с изолятами из водных ООС Мелитополя (2024 г.), Республики Калмыкия (Элиста, 2010, 2013), а вторые – с большой группой штаммов, выделенных в 2024 г. в Краснодарском крае (Сочи) из воды рек Мацеста и Агура, близко родственными оказались также 3 водных штамма 2023 г. из Республики Крым, один из Херсонской области (2024), один их Приморского края (2024), 3 – из Ростова-на-Дону (2008, 2016), и 2 клинических (Адлер, 1999 и Сочи, 2004).

Таким образом, два удаленных друг от друга кластера могут рассматриваться как отдельные клональные комплексы, существующие на нескольких территориях РФ в водных ООС, они также включали и отдельные клинические изоляты. В пределах каждого из этих комплексов все штаммы не только относились к одному серовару (Огава либо Инаба) и имели, согласно

 ISSN 2220-7619 (Print)
ISSN 2313-7398 (Online)

 10.15789/2220-7619-NVC-17787

данным программы BioEdit, одинаковые наборы генетических детерминант, но и содержали практически идентичные (99-100%) аллели генов, имеющиеся у представителей обоих кластеров, но отличных по структуре от таковых другого кластера.

Присутствие в каждом клональном комплексе штаммов, выделенных в разных регионах РФ в разные годы из разных объектов, свидетельствует о близком родстве нетоксигенных клинических и водных изолятов, о возможности их длительного сохранения в ООС, а также о вероятности водного фактора передачи инфекции. По всей видимости, клинические штаммы не связаны с заносами из-за рубежа, хотя такая возможность не может быть исключена полностью, поскольку клональные комплексы обнаруживаются и в других странах, например, в Китае, США, Франции [6,7].

Заключение

В результате проведенных исследований на территории РФ были выявлены два новых клональных комплекса *V. cholerae* O1, отличающихся по фено- и генотипическим признакам друг от друга и от таковых, обнаруженных ранее в ООС Ростовской области [6,9], Республики Калмыкия [3] , Краснодарского края (р.Агура, 2015) [9], Сибири и Дальнего Востока [7]. Однако за все время их циркуляции о выделении вибрионов O1 серогруппы от людей до 2023 г. не сообщалось. Два последних случая гастроэнтероколита могли возникнуть на фоне ослабленного иммунитета у заболевших, обусловленного возрастными особенностями, возможным наличием сопутствующих хронических болезней, а также стрессом в условиях ЧС. Если в первом случае по анамнестическим данным водный путь заражения не очивиден, и скорее всего имел место пищевой путь передачи инфекции, то во втором случае трехлетний ребенок мог заразиться при купании в море, причем симптоматику могло утяжелить присутствие ротавируса, что позволяет предположить микст-инфекцию.

 ISSN 2220-7619 (Print)
ISSN 2313-7398 (Online)

 10.15789/2220-7619-NVC-17787

На основе многолетних наблюдений мы полагаем, что нетоксигенные штаммы обычно не вызывают масштабных эпидосложнений, хотя и обладают множеством различных генетических детерминант факторов патогенности и потенциальной способностью к их экспрессии. Это свидетельствует об актуальности обследования на холерные вибрионы больных ОКИ и водных ООС в рамках мониторинга за холерой на территории РФ.

 ISSN 2220-7619 (Print)
ISSN 2313-7398 (Online)

 10.15789/2220-7619-NVC-17787

ТАБЛИЦЫ

Таблица 1. Генетические маркеры, существенно различающиеся у штаммов, выделенных в Геническе и в Мелитопольском районе

Table. Genetic markers, significantly differing in strains isolated in Genichesk and Melitopol region

	32, 32a, 201 Ogawa, 2023 Мелитопольский район Melitopol region	286, 291 Inaba, 2024 Геническ Genichesk
VSP-I	-	+
VPI-2	Неполный, Incopmlete ΔVC1760-1771, 1775-1806	-
VPI-3	-	Полный: кластер T3SS + дистальные гены VPI-2: Complete T3SS cluster + distal genes of VPI-2: VC1786,1786, 1789,1790, 1804-1806
T6SS-AUX3	-	+
rtxA (13677 bp)	13110 bp, нуклеотидный состав отличен от прототипа, продукт утратил домен ACD nucleotide composition differs from prototype, the product lacks ADD domain	13677 bp, нуклеотидный состав отличен от прототипа, но продукт имеет все активные домены nucleotide composition differs from prototype, but the product has all active domains
cef (2391 bp)	2391 bp, аллель E7 (новый) - “ - allele E7 (new)	2394 bp, аллель E4 - “ - allele E4
vchC (2457 bp)	2448 bp, Δ 9 bp	2457 bp
vesC (1647 bp)	vesC-like, 1617 bp	1647 bp
ivaP (1608 bp)	1617 bp	1641 bp
ompW (654 bp)	-	+
varG β-lactamase	-	+

Примечания: В таблице показаны детерминанты, имеющие наиболее заметные различия между двумя группами штаммов. Остальные гены, перечисленные в тексте, также представлены неидентичными аллелями. В скобках приведена длина прототипных генов, bp = п.н.

Note: The table shows the determinants that have the most noticeable differences

 ISSN 2220-7619 (Print)
ISSN 2313-7398 (Online)

 10.15789/2220-7619-NVC-17787

between the two groups of strains. The remaining genes listed in the text are also represented by non-identical alleles. The length of the prototype genes, bp, is given in brackets.

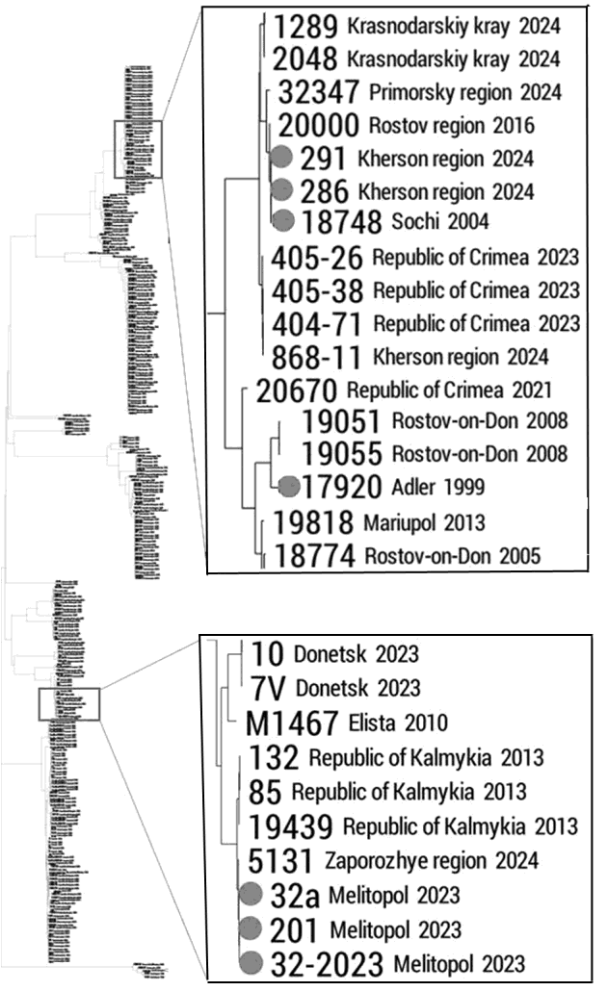
 ISSN 2220-7619 (Print)
ISSN 2313-7398 (Online)

 10.15789/2220-7619-NVC-17787

РИСУНКИ

Рисунок 1. Фрагмент дендрограммы, построенной по итогам анализа данных полногеномного секвенирования нетоксигенных (*ctxAB*$^{-}$) штаммов *V. cholerae* O1.

Figure 1. Fragment of a dendrogram constructed based on the results of analysis of whole-genome sequencing data of non-toxigenic (ctxAB^{-}) V. cholerae O1strains.



Примечания: Клинические изоляты отмечены серыми кружками. На дендрограмме показаны только 2 из 21 идентичного штамма из Краснодарского края 2024 г.

Note: Clinical isolates are marked with grey circles. The dendrogram shows only 2 of 21 identical strains from Krasnodarsky krai in 2024.

 ISSN 2220-7619 (Print)
ISSN 2313-7398 (Online)

 10.15789/2220-7619-NVC-17787

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДАННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Монахова Елена Владимировна, д.б.н., главный научный сотрудник отдела микробиологии холеры и других острых кишечных инфекций;

адрес: 344002, Россия, г. Ростов-на-Дону, ул. М. Горького, 117/40,

Ростовский-на-Дону научно-исследовательский

противочумный институт;

телефон: 8(863)240-91-33;

e-mail: monakhova_ev@antiplague.ru

Elena V. Monakhova, PhD, MD (Biology), Head Researcher, Department

of Microbiology of Cholera and Other Acute Intestinal Infections, Rostov-on-Don, Research Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don, Russian Federation;

address: 344002, Russian Federation, Rostov-on-Don, M. Gorkogo str., 117/40,

Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute;

telephone: 8(863)240-91-33;

e-mail: monakhova_ev@antiplague.ru

Блок 2. Информация об авторах

Кругликов Владимир Дмитриевич, д.м.н., начальник отдела микробиологии холеры и других острых кишечных инфекций

Vladimir D. Kruglikov, PhD, MD (Medicine), Head of the Department of Microbiology of Cholera and Other Acute Intestinal Infections, Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don, Russian Federation;

 ISSN 2220-7619 (Print)
ISSN 2313-7398 (Online)

 10.15789/2220-7619-NVC-17787

Водопьянов Алексей Сергеевич, к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии природно-очаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия;

Aleksey S. Vodop'yanov, PhD (Medicine), Leading Researcher, Laboratory of Molecular Biology of Natural Focal and Zoonotic Infections, Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, Rostov on-Don, Russian Federation;

Гаевская Наталия Евгеньевна, к.м.н., ВРИО директора ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора; г. Ростов-на-Дону, Россия;

Natalia E. Gaevskaya, PhD (Medicine), Acting Director of Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don, Rostov on-Don, Russian Federation

Блок 3. Метаданные статьи

НЕТОКСИГЕННЫЕ ШТАММЫ *VIBRIO CHOLERAE* O1, ВЫЗВАВШИЕ ГАСТРОЭНТЕРОКОЛИТЫ В ЗАПОРОЖСКОЙ И ХЕРСОНСКОЙ ОБЛАСТЯХ: ОПИСАНИЕ СЛУЧАЕВ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ

NON-TOXIGENIC *VIBRIO CHOLERAE* O1 STRAINS THAT CAUSED GASTROENTEROCOLITIS IN THE ZAPORIZHIA AND KHERSON REGIONS: CASE REPORTS AND MOLECULAR GENETIC CHARACTERISTICS OF PATHOGENS

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

 ISSN 2220-7619 (Print)
ISSN 2313-7398 (Online)

 10.15789/2220-7619-NVC-17787

ПАТОГЕННЫЕ CTX^{-} V.CHOLERAE В РОССИИ

CTX^{-} V.CHOLERAE PATHOGENS IN RUSSIA

Ключевые слова: *Vibrio cholerae* O1, нетоксигенные штаммы, острые кишечные инфекции, факторы патогенности, полногеномное секвенирование, биоинформационный анализ, клональные комплексы.

Keywords: *Vibrio cholerae* nonO1, non-toxigenic strains, acute intestinal infections, pathogenicity factors, whole genome sequencing, bioinformatics analysis, clonal complexes.

Краткие сообщения.

Количество страниц текста – 9,

количество таблиц – 1,

количество рисунков – 1.

28.09.2024

 ISSN 2220-7619 (Print)
ISSN 2313-7398 (Online)

 10.15789/2220-7619-NVC-17787

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи
1	Водопьянов А.С., Писанов Р.В., Водопьянов С.О., Мишанькин Б.Н., Олейников И.П., Кругликов В.Д., Титова С.В. Молекулярная эпидемиология Vibrio cholerae – разработка алгоритма анализа данных полногеномного секвенирования. *Эпидемиология и инфекционные болезни. 2016, №3 С.146-152.*	Vodopyanov A.S., Pisanov R.V., Vodopyanov S.O., Mishankin B.N., Oleynikov I.P., Kruglikov V.D., Titova S.V. Molecular epidemiology of Vibrio cholerae – development of the algorithm for data analysis of whole genome sequencing. *Epidemiology and Infectious Diseases, Russian Journal. 2016, vol. 21, no.3, pp. 146-152. (In Russ.).*	[*doi*: 10.17816/EID40917]
2	Заднова С.П., Плеханов Н.А., Кульшань Т.А., Швиденко И.Г., Крицкий А.А.	Zadnova S.P., Plekhanov N.A., Kul’shan’ T.A., Shvidenko I.G., Kritsky A.A. *Vibrio*	[*doi*: 10.21055/0370-1069-2022-2-27–35]

 ISSN 2220-7619 (Print)
ISSN 2313-7398 (Online)

	Система секреции шестого типа Vibrio cholerae. *Проблемы особо опасных инфекций. 2022, №2, С.27–35.*	*cholerae* secretion system of the Type VI. *Problems of Particularly Dangerous Infections. 2022; no.2, pp. 27–35. (In Russ.).*	
3	Крицкий А.А., Смирнова Н.И., Каляева Т.Б., Оброткина Н.Ф., Грачева И.В., Катышев А.Д., Кутырев В.В. Сравнительный анализ молекулярно-генетических свойств нетоксигенных штаммов *Vibrio cholerae* O1 биовара Эль Тор, изолированных в России и на эндемичных по холере территориях. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2021, №3, С. 72–82.	Kritsky A.A., Smirnova N.I., Kalyaeva T.B., Obrotkina N.F., Gracheva I.V., Katyshev A.D., Kutyrev V.V. Comparative analysis of molecular-genetic properties of non-toxigenic strains of *Vibrio cholerae* O1 biovar El Tor isolated in Russia and in cholera endemic territories. *Problems of Particularly Dangerous Infections.* 2021, no.3, pp. 72–82.	[*doi*: 10.21055/0370-1069-2021-3-72-82]
4	Методические указания МУК 4.2.3745-22 «Методы лабораторной диагностики холеры». М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии	Guidelines MUK 4.2. 3745-22 "Methods of laboratory diagnosis of cholera". Moscow: Federal center for hygiene and epidemiology of Rospotrebnadzor, 2022.	https://docs.cntd.ru/document/350413501

	Роспотребнадзора, 2022.		
5	Монахова Е.В. Стратегия вирулентности холерных вибрионов и пути ее реализации (обзор). *Проблемы особо опасных инфекций, 2013, №4, С.60-68.*	Monakhova E.V. Cholera vibrio virulence strategy and ways of its realization (Scientific Review) *Problems of Particularly Dangerous Infections. 2022; no.4, pp. 60-68. (In Russ.).*	https://doi.org/10.21055/0370-1069-2013-4-60-68
6	Монахова Е.В., Носков А.К., Кругликов В.Д., Водопьянов А.С., Селянская Н.А., Меньшикова Е.А., Ежова М.И., Непомнящая Н.Б., Швиденко И.Г., Подойницына О.А., Писанов Р.В. Генотипическая характеристика клональных комплексов CTX–VPI+ Vibrio cholerae O1, обнаруживаемых в водоемах Ростовской области. *Проблемы особо опасных инфекций, 2023, №3, С.99–107.*	Monakhova E.V., Noskov A.K., Kruglikov V.D., Vodop'yanov A.S., Selyanskaya N.A., Men'shikova E.A., Ezhova M.I., Nepomnyashchaya N.B., Shvidenko I.G., Podoinitsyna O.A., Pisanov R.V. Genotypic characteristics of CTX–VPI+ clonal complexes of Vibrio cholerae O1 found in water bodies of the Rostov Region. *Problems of Particularly Dangerous Infections, 2023, no.3, pp. 99–107. (In Russ).*	[*doi*: 10.21055/0370-1069-2023-3-99-107]

7	Носков А.К., Кругликов В.Д., Москвитина Э.А., Миронова Л.В., Монахова Е.В., Соболева Е.Г., Чемисова О.С., Водопьянов А.С., Лопатин А.А., Иванова С.М., Меньшикова Е.А., Подойницына О.А., Ежова М.И., Евтеев А.В. Холера: анализ и оценка эпидемиологической обстановки в мире и России.Прогноз на 2023 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 1:56–66.	Noskov A.K., Kruglikov V.D., Moskvitina E.A., Mironova L.V., Monakhova E.V., Soboleva E.G., Chemisova O.S., Vodop'yanov A.S., Lopatin A.A., Ivanova S.M., Men'shikova E.A., Podoynitsyna O.A., Ezhova M.I., Evteev A.V. Cholera: analysis and assessment of epidemiological situation around the world and in Russia (2013–2022). Forecast for 2023. *Problems of Particularly Dangerous Infections.* 2023, no.1, pp. 56–66.	[*doi*: 10.21055/0370-1069-2023-1-56-66]
8	Попова А.Ю., Носков А.К., Ежлова Е.Б., Кругликов В.Д., Монахова Е.В., Чемисова О.С., Лопатин А.А., Иванова С.М., Подойницына О.А., Водопьянов А.С., Левченко Д.А., Савина И.В. Эпидемиологическая ситуация по	Popova A.Yu., Noskov A.K., Ezhlova E.B., Kruglikov V.D., Monakhova E.V., Chemisova O.S., Lopatin A.A., Ivanova S.M., Podoynitsyna O.A., Vodop'yanov A.S., Levchenko D.A., Savina I.V. Epidemiological situation on cholera in the	[*doi*: 10.21055/0370-1069-2024-1-76-88]

	холере в Российской Федерации в 2023 г. и прогноз на 2024 г. *Проблемы особо опасных инфекций, 2024, №1, С. 76–88.*.	Russian Federation in 2023 and forecast for 2024. *Problems of Particularly Dangerous Infections, 2024, no.1, pp.76–88. (In Russ.).*	
9	Титова С.В., Москвитина Э.А., Кругликов В.Д., Самородова А.В., Тюленева Е.Г., Монахова Е.В., Писанов Р.В., Водопьянов А.С., Архангельская И.В., Ковалева Т.В., Водопьянов С.О. Холера: оценка эпидемиологической обстановки в мире и России в 2006–2015 гг. прогноз на 2016 г. *Проблемы особо опасных инфекций, 2016; №1, С. 20–27.*	Titova S.V., Moskvitina E.A., Kruglikov V.D., Samorodova A.V., Tyuleneva E.G., Monakhova E.V., Pisanov R.V., Vodop’yanov A.S., Arkhangel’skaya I.V., Ivanova S.M., Kovaleva T.V., Vodop’yanov S.O. Cholera: Analysis of Epidemiological Situation across the World and in Russia within a Period of 2006–2015. Prognosis for 2016. *Problems of Particularly Dangerous Infections, 2016, vol. 1, pp. 20–27. (In Russ.).*	[*doi*: 10.21055/0370-1069-2016-1-20-27]
10	Hao T., Zheng W., Wu Y., Yu H., Qian X., Yang C., Zheng Z., Zhang X., Guo Y., Cui M., Wang H., Pan J., Cui Y. Population		[*doi*:10.1016/j.meegid.2023.105441]

	genomics implies potential public health risk of two non-toxigenic Vibrio cholerae lineages. *Infect. Genet. Evol. 2023, vol.112:105441*.		
11	Huang Y., Jia L., Tian Y., Lyu B., Qu M., Zhang X., Liu B.W., Huo D., Wu X.N., Yan H.Q., Yang P. Etiological and epidemiological characteristics of Vibrio cholerae in Beijing, 2015–2021. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi. 2022, vol.43, no.5, pp.734–738. (In Chinese).*		[*doi*: 10.3760/cma.j.cn112338-20220123-00064]
12	Islam A., Labbate M., Djordjevic S.P., Alam M., Darling A., Melvold J., Holmes A.J., Johura F.T., Cravioto A., Charles I.G., Stokes H.W. Indigenous Vibrio cholerae strains from a non-endemic region		http://dx.doi.org/10.1098/rsob.120181

	are pathogenic. Open Biol., 2013, no.3: 120181.		
13	Mondal A,. Tapader R., Chatterjee N.S., Ghosh A., Sinha R., Koley H., Saha D.R., Chakrabarti M.K., Wai S.N., Pal A. Cytotoxic and inflammatory responses induced by outer membrane vesicle-associated biologically active proteases from Vibrio cholera. *Infect. Immun., 2016, vol.84, no.5, pp.1478 –1490.*		[*doi*:10.1128/IAI.01365-15]
14	Sakib S.N., Reddi G., Almagro-Moreno S. Environmental role of pathogenic traits in Vibrio cholerae. *J. Bacteriol., 2018, vol.200, no.15: e00795-17.*		[*doi*: 10.1128/JB.00795-17]
15	Zeb S., Shah M.A., Yasir M., Awan H.M., Prommeenate P., Klanchui A., Wren B.W., Thomson N., Bokhari H.		[*doi*:10.1016/j.micpath.2019.103645]

10.15789/2220-7619-NVC-17787

	Type III secretion system confers enhanced virulence in clinical non-O1/non-O139 Vibrio cholerae. *Microb. Pathog., 2019, vol.135, article 103645*		

ISSN 2220-7619 (Print)
ISSN 2313-7398 (Online)