

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

Монахова Е. В. <sup>1</sup>,

Кругликов В. Д. <sup>1</sup>,

Водопьянов А. С. <sup>1</sup>,

Гаевская Н. Е. <sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФКУЗ Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора.

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

Monakhova E. V. <sup>a</sup>,

Kruglikov V. D. <sup>a</sup>,

Vodop'yanov A. S. <sup>a</sup>,

Gaevskaya N. E. <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Rostov-on-Don, Research Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don, Russian Federation.

## 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 СТХ- 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 использованием 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 СТХ, 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  $\beta$ -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

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.

## 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<sup>-</sup> 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; cytotoxic 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  $\beta$ -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<sup>-</sup> *V. cholerae* O1 have been identified in the territory of Russian Federation.

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.

## 1 Введение

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

27 Только спустя 18 лет, в 2023 г., в Мелитопольском районе Запорожской  
28 области был выявлен больной ОКИ, от которого получен изолят *V.cholerae* O1  
29 [8], а в 2024 г. – еще один в г. Геническе Херсонской области. В связи с

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

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

#### 42 **Материалы и методы**

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

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

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

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

## 64 **Результаты и обсуждение**

### 65 **Описание случаев, выделение и идентификация возбудителей**

66 1. Больной А, 16,5 лет, житель с. Вознесенка Мелитопольского района  
67 Запорожской области, заболел остро 21.06.2023 г., наблюдались тошнота,  
68 многократная рвота, температура до 37°C, жидкий стул до 2 раз в день.  
69 26.06.2023 г. обратился в амбулаторию самостоятельно с теми же жалобами.  
70 Был поставлен диагноз «острый гастроэнтероколит». 30.06.2023 г. повторно  
71 обратился в амбулаторию. Состояние – без положительной динамики  
72 (обильная рвота, слабость, недомогание, температура 36,9°C). Пациента  
73 направили в инфекционное отделение Мелитопольской областной больницы,  
74 где было произведено промывание желудка и кишечника, взят материал на  
75 проведение лабораторной диагностики. 04.07.2023 г. в бактериологической  
76 лаборатории была выделена культура *V. cholerae* O1 Ogawa. От  
77 госпитализации больной отказался, на момент обследования очага оставался  
78 дома, в контакте с ним находились 2 человека (отец и мать), симптомы ОКИ у  
79 них отсутствовали. Сам пациент связывал заболевание с употреблением  
80 консервов кильки, купленной на оптовом рынке, а также лапши быстрого  
81 приготовления, вареной колбасы, растворимого напитка, который разводил  
82 бутилированной питьевой водой. Купание в водоемах, употребление воды из-  
83 под крана, контакты с больными с симптоматикой ОКИ отрицал. По  
84 состоянию на 04.07.2023 г. у больного и контактных лиц никаких симптомов  
85 и жалоб не было. В материале от контактных лиц по месту проживания и при  
86 обращении в медучреждение, а также в пробах воды из разводящей сети  
87 возбудитель холеры обнаружен не был, однако штамм *V. cholerae* O1 Ogawa

88 был выделен из содержимого надворного туалета по месту жительства.

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

100 Выяснилось, что ребенок купался в Азовском море на неорганизованном  
101 пляже в пределах города. В биоматериале от родителей и родственницы  
102 патогенов не обнаружено. Поскольку ребенок посещал ясли, обследованы  
103 были также дети из его группы и все сотрудники учреждения, а также соседи  
104 по палате и медперсонал больницы, все результаты были отрицательными. По  
105 месту жительства ребенок не употреблял пищевых продуктов повышенного  
106 эпидриска и сырую воду, поэтому наиболее вероятным источником его  
107 заражения послужила морская вода. По результатам контрольных  
108 лабораторных исследований проб от ребенка, отобранных после лечения с  
109 18.07 по 20.07.2024 г., холерный вибрион не был выявлен ни в ПЦР, ни  
110 бактериологически, и 23.07.2024 г. пациент был выписан из больницы.

#### 111 **Идентификация генетических детерминант факторов патогенности** 112 **в полногеномных сиквенсах и их характеристика**

113 В Ростовский-на-Дону противочумный институт в 2023 г. поступили  
114 штаммы из Мелитопольского района: (2 субкультуры от больного (№№32 и  
115 32а) и изолят (№201) из содержимого туалета, а в 2024 г. – 2 субкультуры  
116 клинического штамма (№№286 и 291) из. Геническа. Все они обладали

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

126 В WGSs всех штаммов отсутствовали профаги СТХ, preСТХ и RS1,  
127 остров патогенности VPI-1, остров пандемичности VSP-II, дополнительные  
128 кластеры системы секреции шестого типа (Т6SS) AUX-1 и AUX-4, гены cholix-  
129 токсина *chxA*, термостабильного токсина *stn*, белков наружной мембраны  
130 *ompT* и *ompU*, но присутствовали кластеры RTX и *msh*, основной кластер Т6SS  
131 и дополнительный AUX-2, интактные гены гемолизина *hlyA*, металлопротеаз  
132 – PrtV из *hly*-локуса, гемагглютинин/протеазы *hapA*, коллагеназы *vchC*, а также  
133 сериновых протеаз: *vesA*, *vesB*, *vesC*, *ivaP*, *rssP*; цитотонического фактора *cef*,  
134 компонентов эффлюкс-помп CRP, VC1634, *vcrM*, *vcm-B*, *-D*, *-H*, *-N*. При этом  
135 перечисленные гены у двух групп исследуемых изолятов в большинстве своем  
136 существенно различались по нуклеотидному составу, т.е. были представлены  
137 разными аллелями, но их продукты сохраняли характерные для них активные  
138 домены (кроме продукта укороченного гена *rtxA* штаммов 2023 г.).

139 Также у штаммов из Геническа присутствовал ген β-лактамазы *varG*,  
140 который, возможно, обусловил устойчивость к амипициллину, а у  
141 стрептомицин-резистентных штаммов из Мелитопольского района никаких  
142 известных детерминант устойчивости к этому антибиотику не обнаружено.  
143 Предположительно резистентность могла быть связана с еще не известным  
144 геном либо с работой эффлюкс-помп. Чувствительность обоих возбудителей к  
145 остальным антибиотикам совпала с отсутствием соответствующих генов в их

146 геномах.

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

149 Приведенные данные свидетельствуют о глубоких различиях между  
150 исследуемыми штаммами из двух близко расположенных регионов. Тем не  
151 менее, те и другие вызвали у людей одну и ту же клиническую картину острого  
152 диарейного синдрома, что еще раз подтверждает предложенную нами ранее  
153 концепцию взаимозаменяемости факторов патогенности холерных вибрионов  
154 [5]. Так, возбудитель из Геническа обладал островом патогенности VPI-3 с  
155 кластером системы секреции третьего типа (Т3SS), экспрессия которой  
156 значительно повышает вирулентность холерных вибрионов [15]. Он также  
157 имел интактный ген *rtxA* такой же длины, как у прототипа, но с множеством  
158 SNP, никак не повлиявших на сохранение продуктом его трансляции всех  
159 характерных активных доменов. В данном случае оценить вклад этого штамма  
160 в патогенез затруднительно, поскольку в клиническом материале  
161 присутствовала и РНК ротавируса, однако такие же штаммы ранее вызвали  
162 ОКИ у двух больных в РФ [9]. В то же время возбудитель из Мелитопольского  
163 района, лишенный Т3SS и имеющий укороченный за счет делеций *rtxA*, в  
164 продукте которого отсутствовал ключевой домен ACD, вызвал у конкретного  
165 больного такие же клинические проявления. То же можно сказать и о гене  
166 протеазы, обозначенном здесь как *vesC-like*, существенно отличающегося от  
167 прототипного *vesC* по длине и нуклеотидному составу: продукт его  
168 трансляции сохранил активные домены трипсиноподобных сериновых  
169 протеаз и приобрел новый домен «choice\_anch\_D», характерный для  
170 некоторых экстрацеллюлярных белков, но его функция у холерных вибрионов  
171 неясна. Прототипный белок VesC известен как мощный фактор патогенности,  
172 способный вызывать воспаление и геморрагическую диарею [13]. Что касается  
173 измененного белка VesC-like, его биологическая активность не изучена, но  
174 вполне возможно, что он вносит в патогенез более или менее значимый вклад.

175 Ген *cef* был отнесен к новому аллелю, который мы обозначили как E7, тогда  
176 как у возбудителя из Геническа он был представлен уже известным аллелем  
177 E4.

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

185 Для выяснения степени родства исследуемых штаммов между собой, а  
186 также с другими штаммами, выделенными на территории РФ, мы провели  
187 филогенетический анализ их геномов в сравнении с множеством таковых  
188 других нетоксигенных *V.cholerae* O1. Как и следовало ожидать, на полученной  
189 дендрограмме штаммы из Мелитопольского района и из Геническа вошли в  
190 состав двух совершенно различных и удаленных друг от друга кластеров  
191 (рисунок 1). При этом первые сгруппировались также с изолятами из водных  
192 ООС Мелитополя (2024 г.), Республики Калмыкия (Элиста, 2010, 2013), а  
193 вторые – с большой группой штаммов, выделенных в 2024 г. в Краснодарском  
194 крае (Сочи) из воды рек Мацеста и Агура, близко родственными оказались  
195 также 3 водных штамма 2023 г. из Республики Крым, один из Херсонской  
196 области (2024), один их Приморского края (2024), 3 – из Ростова-на-Дону  
197 (2008, 2016), и 2 клинических (Адлер, 1999 и Сочи, 2004).

198 Таким образом, два удаленных друг от друга кластера могут  
199 рассматриваться как отдельные клональные комплексы, существующие на  
200 нескольких территориях РФ в водных ООС, они также включали и отдельные  
201 клинические изоляты. В пределах каждого из этих комплексов все штаммы не  
202 только имели, согласно данным программы BioEdit, одинаковые наборы  
203 генетических детерминант, но и содержали практически идентичные (99-

204 100%) аллели генов, имеющиеся у представителей обоих кластеров, но  
205 отличных по структуре от таковых другого кластера.

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

#### 214 **Заключение**

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

230 На основе многолетних наблюдений мы полагаем, что нетоксигенные  
231 штаммы обычно не вызывают масштабных эпидосложнений, хотя и обладают  
232 множеством различных генетических детерминант факторов патогенности и

- 233 потенциальной способностью к их экспрессии. Это свидетельствует об  
234 актуальности обследования на холерные вибрионы больных ОКИ и водных  
235 ООС в рамках мониторинга за холерой на территории РФ.

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, 32а, 201 Ogawa, 2023 Мелитопольский район Melitopol region	286, 291 Inaba, 2024 Геническ Genichesk
VSP-I	-	+
VPI-2	Неполный, Incomplete 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	-	+
<i>rtxA</i> (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
<i>cef</i> (2391 bp)	2391 bp, аллель E7 (новый) - “ - allele E7 (new)	2394 bp, аллель E4 - “ - allele E4
<i>vchC</i> (2457 bp)	2448 bp, Δ 9 bp	2457 bp
<i>vesC</i> (1647 bp)	vesC-like, 1617 bp	1647 bp
<i>ivaP</i> (1608 bp)	1617 bp	1641 bp
<i>ompW</i> (654 bp)	-	+
<i>varG</i> 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.

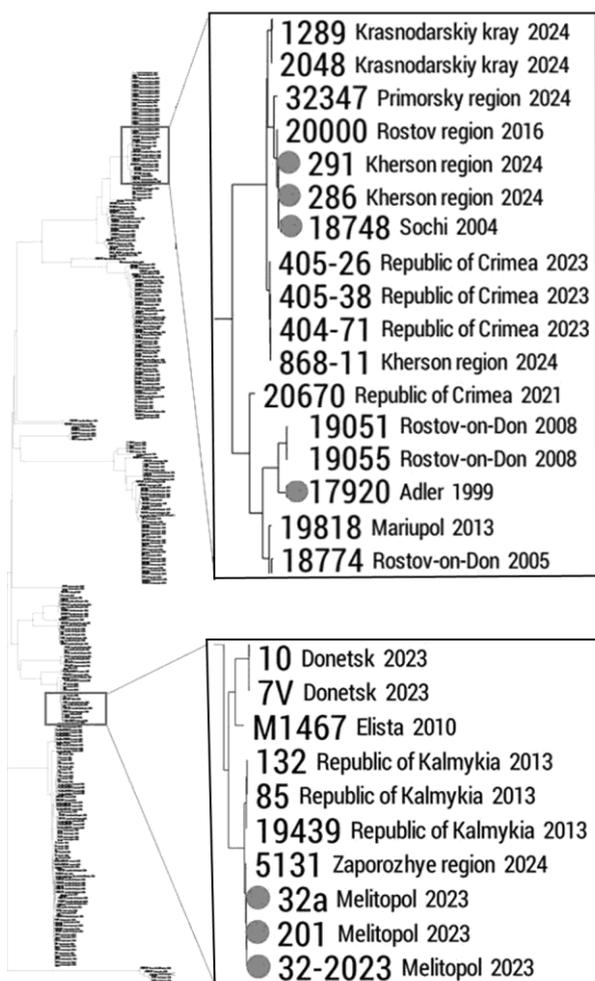
**Note:** The table shows the determinants that have the most noticeable differences

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.

## РИСУНКИ

**Рисунок 1.** Фрагмент дендрограммы, построенной по итогам анализа данных полногеномного секвенирования нетоксигенных (*ctxAB*<sup>-</sup>) штаммов *V. cholerae* O1.

**Figure 1.** Fragment of a dendrogram constructed based on the results of analysis of whole-genome sequencing data of non-toxicogenic (*ctxAB*<sup>-</sup>) *V. cholerae* O1 strains.



**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.

## ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ\_МЕТАДААННЫЕ

### **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](mailto: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](mailto: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;

**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 CHOLERAЕ* O1, ВЫЗВАВШИЕ ГАСТРОЭНТЕРОКОЛИТЫ В ЗАПОРОЖСКОЙ И ХЕРСОНСКОЙ ОБЛАСТЯХ: ОПИСАНИЕ СЛУЧАЕВ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ

NON-TOXIGENIC *VIBRIO CHOLERAЕ* 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:**

СТХ- V.CHOLERAЕ 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

## 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 <i>Vibrio cholerae</i> – разработка алгоритма анализа данных полногеномного секвенирования. <i>Эпидемиология и инфекционные болезни</i> . 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 <i>Vibrio cholerae</i> – development of the algorithm for data analysis of whole genome sequencing. <i>Epidemiology and Infectious Diseases, Russian Journal</i> . 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. <i>Vibrio</i>	[doi: 10.21055/0370-1069-2022-2-27–35]

	Система секреции шестого типа <i>Vibrio cholerae</i> . <i>Проблемы особо опасных инфекций</i> . 2022, №2, С.27–35.	<i>cholerae</i> secretion system of the Type VI. <i>Problems of Particularly Dangerous Infections</i> . 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 <i>Vibrio cholerae</i> O1 биовара Эль Тор, изолированных в России и на эндемичных по холере территориях. <i>Проблемы особо опасных инфекций</i> . 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 <i>Vibrio cholerae</i> O1 biovar El Tor isolated in Russia and in cholera endemic territories. <i>Problems of Particularly Dangerous Infections</i> . 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.	<a href="https://docs.cntd.ru/document/350413501">https://docs.cntd.ru/document/350413501</a>

	Роспотребнадзора, 2022.		
5	Монахова Е.В. Стратегия вирулентности холерных вибрионов и пути ее реализации (обзор). <i>Проблемы особо опасных инфекций</i> , 2013, №4, С.60-68.	Monakhova E.V. Cholera vibrio virulence strategy and ways of its realization (Scientific Review) <i>Problems of Particularly Dangerous Infections</i> . 2022; no.4, pp. 60-68. (In Russ.).	<a href="https://doi.org/10.21055/0370-1069-2013-4-60-68">https://doi.org/10.21055/0370-1069-2013-4-60-68</a>
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 СТХ–VPI+ <i>Vibrio cholerae</i> O1, обнаруживаемых в водоемах Ростовской области. <i>Проблемы особо опасных инфекций</i> , 2023, №3, С.99–107.	Monakhova E.V., Noskov A.K., Kruglikov V.D., Vodop'yarov 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 <i>Vibrio cholerae</i> O1 found in water bodies of the Rostov Region. <i>Problems of Particularly Dangerous Infections</i> , 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., Меншикова 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. <i>Проблемы особо опасных инфекций</i> . 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. <i>Problems of Particularly Dangerous Infections</i> . 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. <i>Проблемы особо опасных инфекций</i> , 2024, №1, С. 76–88..	Russian Federation in 2023 and forecast for 2024. <i>Problems of Particularly Dangerous Infections</i> , 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. <i>Проблемы особо опасных инфекций</i> , 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. <i>Problems of Particularly Dangerous Infections</i> , 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 <i>Vibrio cholerae</i> lineages. <i>Infect. Genet. Evol.</i> 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 <i>Vibrio cholerae</i> in Beijing, 2015–2021. <i>Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi.</i> 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 <i>Vibrio cholerae</i> strains from a non-endemic region		<a href="http://dx.doi.org/10.1098/rsob.120181">http://dx.doi.org/10.1098/rsob.120181</a>

	are pathogenic. <i>Open Biol.</i> , 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 <i>Vibrio cholera</i> . <i>Infect. Immun.</i> , 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 <i>Vibrio cholerae</i> . <i>J. Bacteriol.</i> , 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]

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