



# МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАММА *VIBRIO CHOLERAЕ* nonO1/nonO139 — ВОЗБУДИТЕЛЯ НОВОГО СЛУЧАЯ ОСТРОЙ КИШЕЧНОЙ ИНФЕКЦИИ В РОСТОВЕ-НА-ДОНУ

Е.В. Монахова, В.Д. Кругликов, А.С. Водопьянов, Н.А. Селянская, М.И. Ежова,  
А.К. Носков

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия

**Резюме.** В Ростовской области России более 50 лет существует гетерогенная популяция холерных вибрионов неO1/неO139 (НАГ-вибрионов), представители которой периодически вызывают у людей острые кишечные инфекции; последний случай зарегистрирован в 2018 г., а 2022 г. в Ростове был снова выявлен больной ребенок, от которого выделили 2 субкультуры НАГ-вибриона. Цель исследования: биоинформационный анализ полногеномных сиквенсов (WGSs) выделенного в 2022 г. клинического штамма НАГ-вибриона, генетических детерминант факторов патогенности и продуктов их трансляции *in silico*. *Материалы и методы.* Выделение, идентификацию культур, определение антибиотикочувствительности осуществляли согласно МУК 4.2.3745-22, SNP-анализ WGSs, полученных на платформе MiSeq Illumina, — с помощью авторского программного обеспечения, для идентификации и анализа генов и продуктов их трансляции использовали программы BioEdit 7.2.5, Vector NTI Advance 11, базу данных CARD. *Результаты.* Выделенные культуры, идентичные по фенотипическим признакам и ПЦР-генотипам, результатам SNP-анализа, были идентифицированы как нетоксигенный НАГ-вибрион. Возбудитель проявлял чувствительность к левомицетину, цефтриаксону, стрептомицину, гентамицину, налидиксовой кислоте, ципрофлоксацину, ампициллину, амикацину и промежуточную устойчивость к тетрациклину, доксициклину, фуразолидону, ко-тримоксазолу. В WGSs отсутствовали профаги CTX, *preCTX*, остров патогенности VPI, гены термостабильного и *cholix*-токсинов, острова пандемичности VSP-I и VSP-II. Детерминанты системы секреции б типа (T6SS) были представлены не в полном составе, что свидетельствовало в пользу утраты ее функциональности. Выявлен интактный кластер T3SS, к которому прилежала область *nan-nag* острова патогенности VPI-2 при отсутствии проксимальной и дистальной частей последнего. Обнаружены кластер RTX, ответственный за синтез цитотоксина MARTX, гены гемолизина HlyA, цитотонического токсина Cef, нескольких сериновых и металлопротеаз. Большинство детерминант отличались по нуклеотидному составу от прототипов, но их продукты сохраняли характерные активные домены. Адгезивную активность могли обеспечивать не чувствительные к маннозе MSHA-подобные пили, поскольку *msh*-кластер содержал все необходимые для их продукции гены, а также жгутики, оба ответственных

**Адрес для переписки:**

Монахова Елена Владимировна  
344002, Россия, г. Ростов-на-Дону, ул. М. Горького, 117/40,  
Ростовский-на-Дону научно-исследовательский  
противочумный институт.  
Тел.: 8 (863) 240-91-33.  
E-mail: monakhova\_ev@antiplague.ru

**Contacts:**

Elena V. Monakhova  
344002, Russian Federation, Rostov-on-Don, M. Gorkogo str., 117/40,  
Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute.  
Phone: +7 (863) 240-91-33.  
E-mail: monakhova\_ev@antiplague.ru

**Для цитирования:**

Монахова Е.В., Кругликов В.Д., Водопьянов А.С., Селянская Н.А.,  
Ежова М.И., Носков А.К. Молекулярно-генетическая характеристика  
штамма *Vibrio cholerae* nonO1/nonO139 — возбудителя нового  
случая острой кишечной инфекции в Ростове-на-Дону // Инфекция  
и иммунитет. 2022. Т. 12, № 6. С. 1156–1162. doi: 10.15789/2220-7619-  
MGC-2022

**Citation:**

Monakhova E.V., Kruglikov V.D., Vodop'yanov A.S., Selyanskaya N.A.,  
Ezhova M.I., Noskov A.K. Molecular genetic characteristics of *Vibrio cholerae*  
nonO1/nonO139 strain, the causative agent of a new case of acute intestinal  
infection in Rostov-on-Don // Russian Journal of Infection and Immunity =  
Infektsiya i immunitet, 2022, vol. 12, no. 6, pp. 1156–1162. doi: 10.15789/2220-  
7619-MGC-2022

за их образование кластера были на 99% идентичны прототипу. Из детерминант антибиотикорезистентности выявлен только ген  $\beta$ -лактамазы VarG. **Заключение.** Исследуемый штамм НАГ-вибриона содержит достаточное количество интактных детерминант факторов патогенности, экспрессия которых могла внести свой вклад в развитие заболевания.

**Ключевые слова:** холерные вибрионы неO1/неO139 (НАГ-вибрионы), острые кишечные инфекции, факторы патогенности, антибиотикочувствительность, полногеномное секвенирование, биоинформационный анализ.

## MOLECULAR GENETIC CHARACTERISTICS OF *VIBRIO CHOLERAE* nonO1/nonO139 STRAIN, THE CAUSATIVE AGENT OF A NEW CASE OF ACUTE INTESTINAL INFECTION IN ROSTOV-ON-DON

Monakhova E.V., Kruglikov V.D., Vodop'yanov A.S., Selyanskaya N.A., Ezhova M.I., Noskov A.K.

Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don, Russian Federation

**Abstract.** During more than 50 years, a heterogeneous population of *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 (NAGs) exists in Rostov region of Russia, whose representatives periodically cause acute human intestinal infections; the last case was registered in 2018. In 2022, a sick child was again revealed in Rostov, from whom 2 NAG subcultures were isolated. Aim of the study: bioinformatics analysis of whole genome sequences (WGSs) of the 2022 clinical NAG isolates, genetic determinants of pathogenicity factors and relevant products. **Materials and methods.** Isolation, identification of cultures, as well as antibiotic sensitivity were carried out according to the MUK 4.2.3745-22. SNP analysis of WGSs obtained on the MiSeq Illumina platform were analyzed by means of designed software; BioEdit 7.2.5, Vector NTI Advance 11 package, CARD database were used to identify and analyze genes and relevant deduced products. **Results.** The isolated cultures with identical phenotypic features, PCR-genotypes and results of SNP analysis, were identified as a non-toxigenic NAG. The agent showed sensitivity to chloramphenicol, ceftriaxone, streptomycin, gentamicin, nalidixic acid, ciprofloxacin, ampicillin, amikacin and intermediate resistance to tetracycline, doxycycline, furazolidon and co-trimoxazole. WGSs lacked CTX and preCTX prophages, pathogenicity island VPI, thermostable and cholix toxin genes, pandemic islands VSP-I and VSP-II. The determinants of the type 6 secretion system (T6SS) were not presented completely, which evidenced in favor of the loss of its functionality. An intact T3SS cluster was revealed, which was adjacent to the *nan-nag* region of the VPI-2 pathogenicity island in the absence of the proximal and distal parts of the latter. Other determinants of pathogenicity factors were revealed: RTX cluster responsible for synthesis of MARTX cytotoxin, genes for hemolysin HlyA, cytotoxic toxin Cef, several serine and metalloproteases. The nucleotide compositions of most determinants differed from the prototypes, but their putative products preserved characteristic active domains. The adhesive activity might be provided by mannose-insensitive MSHA-like pili, since the *msh*-cluster included all the genes necessary for their production, as well as flagella, as both clusters responsible for their assembling were 99% identical to the prototype. From antibiotic resistance determinants only  $\beta$ -lactamase VarG gene was found. **Conclusion.** The NAG strain examined here contains a sufficient set of intact virulence-associated genetic determinants, expression of which could contribute to the development of the disease.

**Key words:** *Vibrio cholerae* nonO1/nonO139 (NAGs), acute intestinal infections, pathogenicity factors, antibiotic susceptibility, whole genome sequencing, bioinformatics analysis.

## Введение

Как известно, холерные вибрионы неO1/неO139 серогрупп (НАГ-вибрионы) являются естественными обитателями поверхностных водоемов и в большинстве своем не содержат генетических детерминант ключевых факторов патогенности *Vibrio cholerae* — холерного токсина и токсин-корегулируемых пилей (ТСП). Они не склонны к эпидемическому распространению, но в определенных условиях могут выступать в роли этиологических агентов спорадических случаев и даже локальных вспышек острых кишечных инфекций (ОКИ), реже — внекишечных форм заболеваний [7]. В Ростовской области Российской Федерации (РФ) более 50 лет (с конца 1960-х гг.) существует довольно гетерогенная популяция НАГ-вибрионов, представители которой периодически, с перерывами от 1 до 4 лет, вызывают у людей ОКИ [1, 2], хотя

из водоемов выделяются постоянно. Последний больной был выявлен в области в 2018 г., после чего (в период пандемии COVID-19) клинические штаммы НАГ-вибрионов на территории России не регистрировались. Однако в июне 2022 г. в Ростове снова был выявлен больной ребенок, от которого были выделены две субкультуры НАГ-вибриона. Поскольку представители этой группы крайне гетерогенны по количественному и качественному составу детерминант факторов патогенности [7], представлял интерес вопрос о том, какие именно из них могли явиться причиной реализации возбудителем патогенетического потенциала.

Цель настоящего исследования состояла в биоинформационном анализе полногеномных сиквенсов выделенного в 2022 г. клинического штамма *V. cholerae* nonO1/nonO139, генетических детерминант факторов патогенности и продуктов их трансляции.

## Материалы и методы

Объектами исследования служили 2 штамма *V. cholerae* nonO1/nonO139, выделенные от одного и того же больного ребенка с интервалом в 3 дня.

Штаммы идентифицировали бактериологическим методом и в ПЦР в режиме реального времени в соответствии с МУК 4.2.3745-22 [6] с использованием набора «АмплиСенс® *Vibrio cholerae*-FL» (Регистр. удостоверение № ФСР 2011/11139). Чувствительность к антибиотикам определяли согласно этим же методическим указаниям [6].

Полногеномное секвенирование на платформе MiSeq Illumina и SNP-анализ проводили как описано ранее [4]. Для идентификации 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>) и последовательности других найденных в NCBI генов, встречающихся у холерных вибрионов. Трансляцию генов, анализ их нуклеотидных последовательностей и аминокислотных (aa) последовательностей их продуктов осуществляли с использованием пакета программ Vector NTI Advance 11 (Invitrogen). Прототипами служили WGSs референс-штамма *V. cholerae* N16061 (AE003852, AE003853) и *V. cholerae* O37 AM-19226 (AATY0200000000). Для определения наличия и локализации активных доменов в белках выполняли BLASTP-анализ (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>).

## Результаты и обсуждение

### Выделение, идентификация и фенотипические свойства возбудителя

Больная N., 10 лет, жительница Ростова-на-Дону, была осмотрена на дому врачом скорой помощи, прибывшим 16.06.2022 г. по вызову в связи с жалобами ребенка на желудочно-кишечное расстройство, боль в животе и слабость, и поставлен предварительный диагноз «неуточненный гастроэнтерит и колит инфекционного происхождения». Помимо оральной регидратационной терапии был назначен препарат антибиотика амоксициллина. Из отобранного материала (feces) в Городской лаборатории клинической микробиологии на третий день был выделен штамм № 46, идентифицированный как нетоксигенный *V. cholerae* nonO1/nonO139. Он был передан в референс-центр по мониторингу за холерой (ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора), где его видовая и серогрупповая принадлежность была подтверждена. Параллельно были переданы трехкратно повторно отобранные пробы клинического материала от этой же больной,

а также от контактного лица (матери девочки, 38 лет). В результате бактериологического исследования клинического материала от больной был выделен нетоксигенный штамм *V. cholerae* nonO1/nonO139 № 19, а в материале от матери НАГ-вибрионов обнаружено не было. На шестой день от начала заболевания в институт вновь поступили трехкратно отобранные пробы от больной, результат бактериологического исследования на наличие холерных вибрионов на этот раз оказался отрицательным. За ребенком проводилось ежедневное наблюдение в течение 7 дней, до полной нормализации состояния.

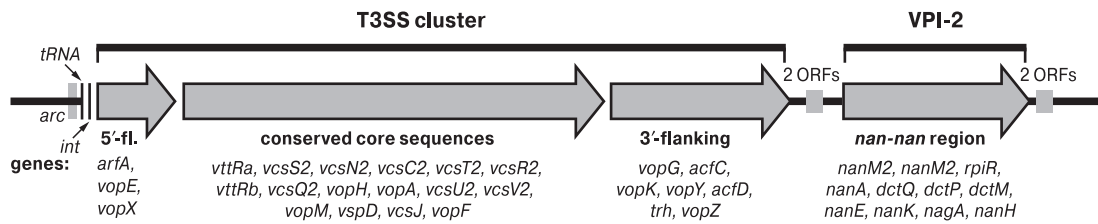
Выделенные культуры были идентичными по морфологическим и биохимическим признакам, характерным для вида *V. cholerae*, не агглютинировались сыворотками O1, Огава, Инаба, O139, RO. По результатам ПЦР они имели генотип *ctxA*<sup>-</sup>, *tcpA*<sup>-</sup>, *hly*<sup>+</sup>, *wbeO1*<sup>-</sup>, *wbf O139*<sup>-</sup>, что подтвердило их принадлежность к НАГ-вибрионам. Обе культуры проявляли чувствительность к левомицетину, цефтриаксону, стрептомицину, гентамицину, налидиксовой кислоте, ципрофлоксацину, ампициллину, амикацину и промежуточную устойчивость к тетрациклину, доксициклину, фуразолидону и ко-тримоксазолу.

### Анализ генов и их продуктов

Результаты кластерного анализа по 3682 SNP (однонуклеотидные полиморфизмы) показали, что оба штамма, 46 и 19, были практически идентичными друг другу, различаясь всего по двум SNP. Это указывает на то, что заболевание было вызвано одним, а не двумя разными клонами.

Особый интерес представляло определение наличия и состояния генетических детерминант факторов патогенности, которые могли быть причастными к возникновению заболевания. С помощью программы BioEdit было подтверждено отсутствие генов холерного токсина *ctxAB* и всех остальных генов профага СТХ, кодирующих дополнительные факторы — адгезин Сер, токсины Ace и Zot, что также указывало и на отсутствие профага preСТХ, содержащего те же гены, кроме *ctxAB*. Остров патогенности VPI, в состав которого входит *tcp*-кластер, ответственный за продукцию TCP, также полностью отсутствовал. Не было обнаружено генов термостабильного токсина (*stn*), гемолизина TDH и TRH, cholix-токсина (*chxA*), а также островов пандемичности VSP-I и VSP-II. Вместе с тем в WGSs были идентифицированы детерминанты целого ряда факторов патогенности.

В первую очередь это кластер генов контактно-зависимой системы секреции 3 типа (Т3SS), способствующей колонизации кишечника, а на моделях лабораторных животных вызывающей тяжелую фатальную диарею [13]. Считается,



**Рисунок 1. Схема участка генома штамма 46, включающего полный кластер T3SS и область *nan-nag* VPI-2**

Figure 1. Scheme of the strain 46 genome fragment including the full T3SS cluster and the *nan-nag* region of VPI-2

**Примечание.** Перечислены только гены с известными функциями.

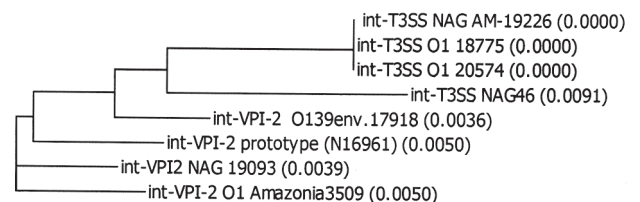
Note. Only genes with known functions are listed.

что T3SS<sup>+</sup> штаммы более вирулентны, чем T3SS<sup>-</sup> [15]. У штамма-возбудителя все гены структурных компонентов, эффекторов и регуляторов T3SS были интактными, хотя многие из них отличались от таковых «референс-штамма» AM-19226. Впрочем, этот штамм, у которого данная система секреции была обнаружена впервые, может считаться типовым лишь условно, поскольку кластер T3SS холерных вибрионов в значительной степени вариабелен по числу и структуре входящих в его состав генов, что можно наблюдать при анализе этого кластера в WGSs штаммов разных серогрупп, представленных в NCBI. Интересно, что сразу после последнего гена T3SS-кластера *vopZ* находились 2 неизвестные открытые рамки считывания (orf) длиной 1191 и 819 п.н., а за ними следовала группа из 11 генов, представляющая собой область *nan-nag* острова патогенности VPI-2, тогда как проксимальная и дистальная части этого острова полностью отсутствовали. Область *nan-nag* ответственна за утилизацию сиаловых кислот как источника углерода и обеспечение таким образом конкурентных преимуществ не только во внешней среде, но и в кишечнике [9]. Ранее аналогичная структура была выявлена Chen и соавт. [10] у штамма O31 серогруппы NRT36S. На рис. 1 показана схема фрагмента генома исследуемого штамма, включающая кластер T3SS (консервативный центральный коровый участок и 2 переменных, фланкирующих его с обеих сторон), и область *nan-nag*. Находящиеся между этими участками два гена не были найдены в имевшихся в нашем распоряжении WGSs T3SS-негативных штаммов НАГ-вибрионов, как и *V. cholerae* O1. Программа BLASTP идентифицировала их продукты как белки, содержащие Ig-подобный домен (Ig-like domain-containing protein), но этот и другие потенциальные домены находились в большем белке, а в меньшем отсутствовали. Как оказалось, у других T3SS<sup>+</sup> штаммов O1 и неO1/неO139 серогрупп в этом месте находится один ген с такими же доменами, имеющий высокую степень гомологии с двумя

описанными, но у исследуемого штамма в результате вставки T-815 и сдвига рамки образовался преждевременный стоп-кодон, а ниже образовалась вторая, более короткая orf, но все домены остались в первой. Несмотря на присутствие потенциальных доменов, функции этого белка неизвестны, как и «история» попадания его гена в указанную позицию. То же можно сказать и о двух orf, следующих за *nanH* и не имеющих отношения к продолжению VPI-2 — первая (330 п.н.) кодирует белок с неизвестной функцией, вторая (807 п.н.) — белок, содержащий 2 домена — WYL и YafY, предположительно причастный к регуляции защитных систем микроорганизма и транскрипции.

Ген интегразы находился в начале кластера T3SS и отличался как от таковых других T3SS<sup>+</sup> штаммов (WGSs которых были получены нами ранее либо найдены в NCBI), так и от прототипного гена интегразы VPI-2 (рис. 2), хотя обе эти интегразы имеют одинаковую длину 1236 п.н. и у типовых штаммов идентичны на 98%.

По всей видимости, приведенная на рис. 1 структура могла образоваться в результате обмена проксимального участка VPI-2 на кластер T3SS и утраты дистальной части VPI-2. Как и у других T3SS<sup>+</sup> холерных вибрионов, кластер интегриро-



**Рисунок 2. Дендрограмма, построенная по результатам AlignX-анализа генов интеграз, входящих в состав кластеров T3SS и VPI-2 разных штаммов *V. cholerae***

Figure 2. Dendrogram constructed based on the AlignX analysis data for integrase genes included in T3SS and VPI-2 clusters of various *V. cholerae* strains

ван в хромосому рядом с геном тРНК (еще один критерий мобильного генетического элемента), как и полный VPI-2 T3SS<sup>-</sup> штаммов. Более того, перед геном тРНК в обоих случаях находится один и тот же ген транспортного белка семейства AcrB/D/F, что свидетельствует в пользу нашего предположения о генетическом обмене.

Что касается другой контакт-зависимой системы секреции — T6SS, то несмотря на присутствие основного кластера с генами структурных компонентов (*vipAB*, *hsiF*, *vasABCDEF*, *clpV*, *vasHIJKLM*) и эффектора *vgrG3*, продукт которого сохранил пептидогликан-связывающий домен PBD, способность к ее экспрессии исследуемым штаммом-возбудителем сомнительна. Во-первых, находящийся в этом кластере ген *vasK* усечен, следовательно, его продукт, крайне важный для секреции эффекторов [5], вряд ли является полноценным белком. Во-вторых, в геноме отсутствовали гены и самих эффекторов *vgrG1*, *vasX*, *tseL*, *tseH*, входящие в состав дополнительных кластеров AUX1, 2, 3 и 4; последние сохранили лишь гены структурных компонентов T6SS *hcp* и *vgrG2*.

Мощными факторами патогенности нетоксигенных штаммов принято считать высомолекулярный самопроцессирующий токсин-актиномодулятор MARTX и порообразующий растворимый гемолизин/цитолозин HlyA [7]. Кластер RTX содержал все необходимые для продукции MARTX гены (*rtxACBDE*, *chp*), а продукт трансляции гена собственно токсина *rtxA* имел такую же длину, что и прототип (4545 aa) и содержал все типичные активные домены (ACD, RID, ab/H, CPD) несмотря на то, что сам ген отличался от прототипа 419 мутациями (заменами от 1 до 4 нуклеотидов), большинство которых, правда, оказались молчащими. Ген гемолизина содержал 39 SNP, ни одна из которых также не привела к появлению преждевременного стоп-кодона. Фенотипически обе культуры были гемолитическими по отношению к бараньим эритроцитам.

Ген цитотонического токсина *cef* (CHO cell elongating factor) имел ту же длину, что и прототип, но отличался от него множеством SNPs. Тем не менее его продукт сохранил все характерные активные домены — Куница, лейциновую молнию, a/bH и LIP, а также субстрат-связывающий сайт GHSLG.

Гены металлопротеаз — гемагглютинин/протеазы НА/Р (*hapA*), коллагеназы VchC, входящей в состав *hly*-локуса протеазы PrtV, а также сериновых протеаз VesA, VesB, VesC, IvaP, RssP были интактными, хотя содержали большое число молчащих и миссенс-мутаций по сравнению с прототипами. Их продукты обеспечивают конкурентоспособность за белковые источники питания в разных экологи-

ческих нишах, однако многие из них одновременно могут быть факторами патогенности. В этом плане наиболее хорошо охарактеризовано актиномодулирующее действие НА/Р [3] и диареогенное — VesC [12].

Существенные отличия первичной структуры всех вышеперечисленных белков как от прототипа, так и от других штаммов НАГ-вибрионов, вероятно, оказывают влияние на их активность, усиливая ее либо ослабляя. Однако наличие большого числа интактных детерминант позволяет думать, что экспрессии хотя бы некоторых из них может быть достаточно для реализации патогенетического потенциала.

Способность вызвать ОКИ зависит не только от токсических субстанций, но от адгезивных свойств возбудителей, обеспечивающих колонизацию кишечника. Как отмечено выше, детерминанты ключевого фактора адгезии — пилей TSP и дополнительного — пилина Ser — в геноме отсутствовали. Однако в данном случае функцию фактора колонизации могли взять на себя MSHA-подобные пили. У токсигенных штаммов маннозочувствительные пили за счет механизмов регуляции экспрессируются только во внешней среде, играя роль фактора персистенции, но при попадании в организм человека их продукция репрессирована. Однако исследуемые штаммы, как и многие НАГ-вибрионы, содержали в составе *msh*-кластера измененные гены мажорной и минорной субъединиц этих пилей, ранее обозначенные нами как *mshA-like* и *mshC-like*. Нуклеотидные последовательности этих генов и, соответственно, aa-последовательности их продуктов у разных штаммов существенно различаются, консервативность сохраняют лишь проксимальные участки. MshA-like могут иметь разную длину, в нашем случае она составляла 148 aa, MshC-like чаще всего состоят из 170 aa. Такие пили являются «маннозонечувствительными», поэтому их продукция в кишечнике не подвержена репрессии. Как было установлено при изучении других клинических НАГ-вибрионов, обладающие ими штаммы сохраняют адгезивную активность по меньшей мере *in vitro* [11]. Адгезии также могли способствовать жгутики [14], так как оба ответственных за их образование кластера (*flaCA-flgLM* и *flaEGDB*) были на 99% идентичны прототипу.

Генов антибиотикорезистентности практически не обнаружено, что совпадало с чувствительностью к нескольким препаратам по фенотипу. В то же время программой CARD выявлен ген β-лактамазы *varG*, ответственной за устойчивость к пенициллинам, карбапенемам и цефалоспорином. Возможно, это отчасти повлияло на замедленную элиминацию возбудителя, поскольку ребенка лечили амоксицил-

лином — полусинтетическим антибиотиком группы пенициллинов, аналогом ампициллина. К ампициллину возбудитель был чувствителен и не содержал генов других  $\beta$ -лактамаз (*blaP1/carb2*, *carb7*, *carb9*, *blaVCC*), но мы не исключаем небольшой активности VarG по отношению к амоксициллину, хотя это предположение требует экспериментальной проверки. Что касается пониженной чувствительности к тетрациклину, ко-тримоксазолу и фуразолидону, то она могла быть результатом действия эффлюкс-помп, поскольку генов *tetA*, *tetR*, *dfrA/sul2* в геноме не выявлено, а причастность гена *nfsA*, гомолог которого (с 21 SNP) присутствовал, к резистентности к фуразолидону для холерных вибрионов не доказана. Штаммы НАГ-вибрионов с нулевой антибиотикорезистентностью выделялись от людей в Ростовской области и раньше, хотя в нынешнем столетии их число уменьшилось, также отмечалось повышение МПК тетрациклина [8]. Во всяком случае, выделенный в 2022 г. возбудитель не мог служить донором генов устойчивости для передачи другим штаммам популяции.

## Заключение

Полученные результаты позволяют заключить, что исследуемый штамм НАГ-вибриона содержит достаточный набор детерминант фак-

торов патогенности, экспрессия которых могла внести свой вклад в развитие заболевания. Штаммы с аналогичными наборами встречались и раньше как на территории Ростовской области, так и в других регионах РФ [2]. В то же время все они различались по генотипам, и это касалось не только качественного и количественного состава генов и их кластеров, но и существования множества аллелей одних и тех же генов. Это связано с чрезвычайной пластичностью генома, превосходящей таковую нетоксигенных штаммов O1 серогруппы. В настоящее время, в отличие от прошлого столетия, НАГ-инфекции возникают у людей довольно редко и носят спорадический характер. Чаше они поражают детей, иммунная система которых еще полностью не сформирована, а также взрослых с ослабляющими иммунитет хроническими заболеваниями. НАГ-вибрионы постоянно присутствуют в окружающей среде и, возможно, персистируют в организме бессимптомных носителей. Их популяции в совокупности содержат еще более широкий спектр детерминант, что создает условия для процессов генетического обмена и формирования новых, возможно более вирулентных клонов, поэтому данная группа микроорганизмов заслуживает внимания при мониторинге холерных вибрионов на территории РФ, в том числе в плане дальнейшего изучения на уровне генома.

## Список литературы/References

1. Архангельская И.В., Кругликов В.Д., Левченко Д.А., Монахова Е.В., Непомнящая Н.Б., Подойницына О.А., Ежова М.И. Клинические штаммы холерных вибрионов неO1/неO139 серогрупп в России: динамика выделения, серологическая принадлежность, генетические особенности // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. 2021. Т. 11, № 1. С. 52–56. [Arkhangelskaya I.V., Kruglikov V.D., Levchenko D.A., Monakhova E.V., Nepomnyaschaya N.B., Podoinitsyna O.A., Ezhova M.I. Clinical strains of *Vibrio cholerae* nonO1/ nonO139 serogroups in Russia: isolation dynamics, serological belonging, genetic features. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni. Aktual'nye voprosy = Epidemiology and Infectious Diseases. Current Items*, vol. 11, no. 1, pp. 52–54. (In Russ.)] doi: 10.18565/epidem.2021.11.1.52-6
2. Архангельская И.В., Непомнящая Н.Б., Монахова Е.В., Водопьянов А.С., Водопьянов С.О., Кругликов В.Д. Генетическая неоднородность популяции *Vibrio cholerae* nonO1/non O139, циркулирующих в Ростовской области // Здоровье населения и среда обитания. 2015. № 3 (264). С. 25–28. [Arkhangelskaya I.V., Nepomnyaschaya N.B., Monakhova E.V., Vodopyanov A.S., Vodopyanov S.O., Kruglikov V.D. Genetic diversity of the population of *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 circulating in Rostov region. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya = Public Health and Life Environment*, 2015, no. 3 (264), pp. 25–28. (In Russ.)]
3. Бардахчян Э.А., Монахова Е.В., Харланова Н.Г., Саямов С.Р., Писанов Р.В. Ультраструктурные изменения тонкой кишки мышей-сосунков, вызванные действием гемагглютинин/протеазы холерных вибрионов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2008. Т. 145, № 4. С. 475–480. [Bardakchian E.A., Monakhova E.V., Kharlanova N.G., Sayamov S.R., Pisanov R.V. Ultrastructural changes in the small intestine of suckling mice, caused by *Vibrio cholerae* hemagglutinin/protease. *Byulleten' ekperimental'noi biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2008, vol. 145, no. 4, pp. 475–480. (In Russ.)]
4. 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. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni = Epidemiology and Infectious Diseases*, 2016, vol. 21, no. 3, pp. 146–152. (In Russ.)] doi: 10.17816/EID40917
5. Заднова С.П., Плеханов Н.А., Кульшань Т.А., Швиденко И.Г., Крицкий А.А. Система секреции шестого типа *Vibrio cholerae* // Проблемы особо опасных инфекций. 2022. № 2. С. 27–35. [Zadnova S.P., Plekhanov N.A., Kul'shan' T.A., Shvidenko I.G., Kritsky A.A. *Vibrio cholerae* secretion system of the type VI. *Problemy osobo opasnykh infektsii = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2022, no. 2, pp. 27–35. (In Russ.)] doi: 10.21055/0370-1069-2022-2-27-35

6. Методы лабораторной диагностики холеры: Методические указания МУК 4.2.3745-22. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2022. [Methods of laboratory diagnosis of cholera: Guidelines MUK 4.2.2218-07. Moscow: Federal Center for Hygiene and Epidemiology of Rosпотребнадзор, 2022. (In Russ.)]
7. Монахова Е.В., Архангельская И.В. Холерные вибрионы неО1/неО139 серогрупп в этиологии острых кишечных инфекций: современная ситуация в России и в мире // Проблемы особо опасных инфекций. 2016. № 2. С. 14–23. [Monakhova E.V., Arkhangelskaya I.V. Cholera vibrios of nonO1/nonO139 serogroups in etiology of acute intestinal infections: current situation in Russia and around the world. *Problemy osobo opasnykh infektsii = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2016, no. 2, pp. 14–23. (In Russ.)] doi: 10.21055/0370-1069-2016-2-14-23
8. Селянская Н.А., Веркина Л.М., Березняк Е.А., Титова С.В., Железняк Н.Г., Архангельская И.В. Сравнительная оценка антибиотикорезистентности штаммов *V. cholerae* nonO1/nonO139, выделенных от людей в Ростовской области в разные годы // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2015. Т. 20, № 3. С. 32–35. [Selyanskaya N.A., Verkina L.M., Bereznayak E.A., Titova S.V., Zheleznyak N.G., Arkhangelskaya I.V. Comparative study of antibiotic resistance of *V. cholerae* nonO1/nonO139 strains isolated from humans in the Rostov region in various years. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni = Epidemiology and Infectious Diseases*, 2015, vol. 20, no. 3, pp. 32–35. (In Russ.)] doi: 10.17816/EID40875
9. Almagro-Moreno S., Boyd E.F. Sialic acid catabolism confers a competitive advantage to pathogenic *Vibrio cholerae* in the mouse intestine. *Infect. Immun.*, 2009, vol. 77, no. 9, pp. 3807–3816. doi: 10.1128/IAI.00279-09
10. Chen Y., Johnson J.A., Pusch G.D., Morris J.G. Jr., Stine O.C. The genome of non-O1 *Vibrio cholerae* NRT36S demonstrates the presence of pathogenic mechanisms that are distinct from those of O1 *Vibrio cholerae*. *Infect. Immun.*, 2007, vol. 75, no. 5, pp. 2645–2647. doi: 10.1128/IAI.01317-06
11. Monakhova E.V., Arkhangelskaya I.V., Titova S.V., Pisanov R.V. MSHA-like pili of non-toxigenic *Vibrio cholerae* strains. *Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2019, no. 3, pp. 52–57. doi: 10.21055/0370-1069-2019-3-75-80
12. 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 cholerae*. *Infect. Immun.*, 2016, vol. 84, no. 5, pp. 1478–1490. doi: 10.1128/IAI.01365-15
13. Shin O.S., Tam V.C., Suzuki M., Ritchie J.M., Bronson R.T., Waldor M.K., Mekalanos J.J. Type III secretion is essential for the rapidly fatal diarrheal disease caused by non-O1, non-O139 *Vibrio cholerae*. *mBio*, 2011, vol. 2, pp. e00106–e00111. doi: 10.1128/mBio.00106-11
14. Utada A.S., Bennett R.R., Fong J.C.N., Gibiansky M.L., Yildiz F.H., Golestanian R., Wong G.C.L. *Vibrio cholerae* use pili and flagella synergistically to effect motility switching and conditional surface attachment. *Nat. Commun.*, 2014, vol. 5: 4913. doi: 10.1038/ncomms5913
15. Zeb S., Shah M.A., Yasir M., Awan H.M., Prommeenate P., Klanchui A., Wren B.W., Thomson N., Bokhari H. Type III secretion system confers enhanced virulence in clinical non-O1/non-O139 *Vibrio cholerae*. *Microb. Pathog.*, 2019, vol. 135: 103645. doi: 10.1016/j.micpath.2019.103645

**Авторы:**

**Монахова Е.В.**, д.б.н., старший научный сотрудник, главный научный сотрудник отдела микробиологии холеры и других острых кишечных инфекций ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия;

**Кругликов В.Д.**, д.м.н., начальник отдела микробиологии холеры и других острых кишечных инфекций ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия;

**Водопьянов А.С.**, 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;

**Селянская Н.А.**, к.м.н., старший научный сотрудник отдела микробиологии холеры и других острых кишечных инфекций ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия;

**Ежова М.И.**, научный сотрудник отдела микробиологии холеры и других острых кишечных инфекций ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия;

**Носков А.К.**, к.м.н., директор ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия.

**Authors:**

**Monakhova E.V.**, PhD, MD (Biology), Senior Researcher, Head Researcher, Department of Microbiology of Cholera and Other Acute Intestinal Infections, Rostov-on-Don, Russian Federation;

**Kruglikov V.D.**, 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;

**Vodop'yanov A.S.**, 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;

**Selyanskaya N.A.**, PhD (Medicine), Senior Researcher, Department of Microbiology of Cholera and Other Acute Intestinal Infections, Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don, Russian Federation;

**Ezhova M.I.**, Researcher, Department of Microbiology of Cholera and Other Acute Intestinal Infections, Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don, Russian Federation;

**Noskov A.K.**, PhD (Medicine), Director of Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don, Russian Federation.