

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАММА
VIBRIO CHOLERAЕ NONO1/NONO139 – ВОЗБУДИТЕЛЯ НОВОГО
СЛУЧАЯ ОСТРОЙ КИШЕЧНОЙ ИНФЕКЦИИ
В РОСТОВЕ-НА-ДОНУ**

Монахова Е. В.¹;

Кругликов В. Д.¹;

Водопьянов А. С.¹;

Селянская Н. А.¹;

Ежова М. И.¹;

Носков А. К.¹

¹ ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора.

**MOLECULAR GENETIC CHARACTERISTICS OF *VIBRIO CHOLERAЕ*
NONO1/NONO139 STRAIN, THE CAUSATIVE AGENT OF A NEW CASE
OF ACUTE INTESTINAL INFECTION IN ROSTOV-ON-DON**

Monakhova E. V.^a;

Kruglikov V. D.^a;

Vodop'yanov A. S.^a;

Selyanskaya N. A.^a;

Ezhova M. I.^a;

Noskov A. K.^a

^a Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute

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, цифпрофлоксацину, ампициллину, амикацину и промежуточную устойчивость к тетрациклину, доксициклину, фуразалидону, 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

Н₁уА, 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 за их образование кластера были на 99% идентичны прототипу. Из детерминант антибиотикорезистентности выявлен только ген β-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.

Abstract

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 by using designed

software; BioEdit 7.2.5, Vector NTI Advance 11 package, CARD database were used to identify and analyze genes and relevant putative products.

Results. The isolated cultures with identical phenotypic features, PCR-genotypes and results of SNP analysis, were identified as a non-toxicogenic NAG. The agent showed sensitivity to chloramphenicol, ceftriaxone, streptomycin, gentamicin, nalidixic acid, ciprofloxacin, ampicillin, amikacin and intermediate resistance to tetracycline, doxycycline, furazalidon 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 found at all, 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 β -lactamase VarG gene was found.

Conclusion. The NAG strain under examined here contains a sufficient set of intact virulence-associated genetic determinants, which expression could contribute to developing disease.

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

1 **Введение.** Как известно, холерные вибрионы неO1/неO139 серогрупп (НАГ-
2 вибрионы) являются естественными обитателями поверхностных водоемов и
3 в большинстве своем не содержат генетических детерминант ключевых
4 факторов патогенности *Vibrio cholerae* – холерного токсина и токсин-
5 корегулируемых пилей (TCP). Они не склонны к эпидемическому
6 распространению, но в определенных условиях могут выступать в роли
7 этиологических агентов спорадических случаев и даже локальных вспышек
8 острых кишечных инфекций (ОКИ), реже – внекишечных форм заболеваний
9 [7]. В Ростовской области Российской Федерации (РФ) более 50 лет (с конца
10 1960х гг.) существует довольно гетерогенная популяция НАГ-вибрионов,
11 представители которой периодически, с перерывами от 1 до 4 лет, вызывают у
12 людей ОКИ [1,2], хотя из водоемов выделяются постоянно. Последний
13 больной был выявлен в области в 2018 г., после чего (в период пандемии
14 COVID-19) клинические штаммы НАГ-вибрионов на территории России не
15 регистрировались. Однако в июне 2022 г. в Ростове снова был выявлен
16 больной ребенок, от которого были выделены две субкультуры НАГ-
17 вибриона. Поскольку представители этой группы крайне гетерогенны по
18 количественному и качественному составу детерминант факторов
19 патогенности [7], представлял интерес вопрос о том, какие именно из них
20 могли явиться причиной реализации возбудителем патогенетического
21 потенциала.

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

26 **Материалы и методы**

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

29 Штаммы идентифицировали бактериологическим методом и в ПЦР в режиме
30 реального времени в соответствии с МУК 4.2.3745-22 [6] с использованием

31 набора «АмплиСенс® *Vibrio cholerae*-FL» (Регистр. удостоверение № ФСР
32 2011/11139). Чувствительность к антибиотикам определяли согласно этим же
33 методическим указаниям [6].

34 Полногеномное секвенирование на платформе MiSeq Illumina и SNP-анализ
35 проводили как описано ранее [4]. Для идентификации в полных геномах
36 (WGSs) отдельных генов и их кластеров использовали программу BioEdit 7.2.5
37 (<http://www.mbio.ncsu.edu/bioedit>), генетических детерминант лекарственной
38 устойчивости – базу CARD (<https://card.mcmaster.ca>) и последовательности
39 других найденных в NCBI генов, встречающихся у холерных вибрионов.
40 Трансляцию генов, анализ их нуклеотидных последовательностей и
41 аминокислотных (aa) последовательностей их продуктов осуществляли с
42 использованием пакета программ Vector NTI Advance 11 (Invitrogen).
43 Прототипами служили WGSs референс-штамма *V. cholerae* N16061
44 (AE003852, AE003853) и *V. cholerae* O37 AM-19226 (AATY0200000000). Для
45 определения наличия и локализации активных доменов в белках выполняли
46 BLASTP-анализ (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>).

47 **Результаты и обсуждение**

48 **Выделение, идентификация и фенотипические свойства возбудителя**

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

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

71 Выделенные культуры были идентичными по морфологическим и
72 биохимическим признакам, характерным для вида *V. cholerae*, не
73 агглютинировались сыворотками O1, Огава, Инаба, O139, RO. По результатам
74 ПЦР имели генотип *ctxA*⁻, *tcpA*⁻, *hly*⁺, *wbeO1*⁻, *wbf* O139⁻, что подтвердило их
75 принадлежность к НАГ-вибрионам. Обе культуры проявляли
76 чувствительность к левомецетину, цефтриаксону, стрептомицину,
77 гентамицину, налидиксовой кислоте, ципрофлоксацину, ампициллину,
78 амикацину и промежуточную устойчивость к тетрациклину, доксициклину,
79 фуразалидону и ко-тримоксазолу.

80 **Анализ генов и их продуктов**

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

85 Особый интерес представляло определение наличия и состояние
86 генетических детерминант факторов патогенности, которые могли быть
87 причастными к возникновению заболевания. С помощью программы BioEdit
88 было подтверждено отсутствие генов холерного токсина *ctxAB* и всех
89 остальных генов профага CTX, кодирующих дополнительные факторы –
90 адгезин Ser, токсины Ace и Zot, что также указывало и на отсутствие профага

91 *preCTX*, содержащего те же гены, кроме *ctxAB*. Остров патогенности VPI, в
92 состав которого входит *tcp*-кластер, ответственный за продукцию TCP, также
93 полностью отсутствовал. Не было обнаружено генов термостабильного
94 токсина (*stn*), гемолизинов TDH и TRH, cholix-токсина (*chxA*), а также
95 островов пандемичности VSP-I и VSP-II. Вместе с тем, в WGSs были
96 идентифицированы детерминанты целого ряда факторов патогенности.
97 В первую очередь это кластер генов контакт-зависимой системы секреции 3
98 типа (T3SS), способствующей колонизации кишечника, а на моделях
99 лабораторных животных вызывающей тяжелую фатальную диарею [13].
100 Считается, что T3SS⁺ штаммы более вирулентны, чем T3SS⁻ [15]. У штамма-
101 возбудителя все гены структурных компонентов, эффекторов и регуляторов
102 T3SS были интактными, хотя многие из них отличались от таковых «референс-
103 штамма» AM-19226. Впрочем, этот штамм, у которого данная система
104 секреции была обнаружена впервые, может считаться типовым лишь условно,
105 поскольку кластер T3SS холерных вибрионов в значительной степени
106 вариабелен по числу и структуре входящих в его состав генов, что можно
107 наблюдать при анализе этого кластера в WGSs штаммов разных серогрупп,
108 представленных в NCBI. Интересно, что сразу после последнего гена T3SS-
109 кластера *vorZ* находились 2 неизвестные открытые рамки считывания (*orf*)
110 длиной 1191 и 819 п.н., а за ними следовала группа из 11 генов,
111 представляющая собой область *nan-nag* острова патогенности VPI-2, тогда
112 как проксимальная и дистальная части этого острова полностью
113 отсутствовали. Область *nan-nag* ответственна за утилизацию сиаловых кислот
114 как источника углерода и обеспечение таким образом конкурентных
115 преимуществ не только во внешней среде, но и в кишечнике [9]. Ранее
116 аналогичная структура была выявлена Chen et al. [10] у штамма O31
117 серогруппы NRT36S. На рисунке 1 показана схема фрагмента генома
118 исследуемого штамма, включающая кластер T3SS (консервативный
119 центральный коровый участок и 2 вариабельных, фланкирующих его с обеих
120 сторон), и область *nan-nag*. Находящиеся между этими участками два гена не

121 были найдены в имевшихся в нашем распоряжении WGSs T3SS-негативных
122 штаммов НАГ-вибрионов, как и *V.cholerae* O1. Программа BLASTP
123 идентифицировала их продукты как белки, содержащие Ig-подобный домен
124 (Ig-like domain-containing protein), но этот и другие потенциальные домены
125 находились в большем белке, а в меньшем отсутствовали. Как оказалось, у
126 других T3SS⁺ штаммов O1 и неO1/неO139 серогрупп в этом месте находится
127 один ген с такими же доменами, имеющий высокую степень гомологии с
128 двумя описанными, но у исследуемого штамма в результате вставки T-815 и
129 сдвига рамки образовался преждевременный стоп-кодон, а ниже образовалась
130 вторая, более короткая *orf*, но все домены остались в первой. Несмотря на
131 присутствие потенциальных доменов, функции этого белка неизвестны, как и
132 «история» попадания его гена в указанную позицию. То же можно сказать и о
133 двух *orf*, следующих за *nanH* и не имеющих отношения к продолжению VPI-2
134 – первая (330 п.н.) кодирует белок с неизвестной функцией, вторая (807 п.н.)
135 – белок, содержащий 2 домена – WYL и YafY, предположительно причастный
136 к регуляции защитных систем микроорганизма и транскрипции.

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

142 По всей видимости, приведенная на рисунке 1 структура могла образоваться в
143 результате обмена проксимального участка VPI-2 на кластер T3SS и утраты
144 дистальной части VPI-2. Как и у других T3SS⁺ холерных вибрионов, кластер
145 интегрирован в хромосому рядом с геном *tPHK* (еще один критерий
146 мобильного генетического элемента), как и полный VPI-2 T3SS⁻ штаммов.
147 Более того, перед геном *tPHK* в обоих случаях находится один и тот же ген
148 транспортного белка семейства *AscB/D/F*, что свидетельствует в пользу
149 нашего предположения о генетическом обмене.

150 Что касается другой контакт-зависимой системы секреции – T6SS, то несмотря
151 на присутствие основного кластера с генами структурных компонентов
152 (*vipAB*, *hsiF*, *vasABCDEFG*, *clpV*, *vasHIJKLM*) и эффектора *vgrG3*, продукт
153 которого сохранил пептидогликан-связывающий домен PBD, способность к ее
154 экспрессии исследуемым штаммом-возбудителем сомнительна. Во-первых,
155 находящийся в этом кластере ген *vasK* усечен, следовательно, его продукт,
156 крайне важный для секреции эффекторов [5], вряд ли является полноценным
157 белком. Во-вторых, в геноме отсутствовали гены и самих эффекторов *vgrG1*,
158 *vasX*, *tseL*, *tseH*, входящие в состав дополнительных кластеров AUX1, 2, 3 и 4;
159 последние сохранили лишь гены структурных компонентов T6SS *hcp* и *vgrG2*.
160 Мощными факторами патогенности нетоксигенных штаммов принято считать
161 высомолекулярный самопроцессирующийся токсин-актиномодулятор
162 MARTX и порообразующий растворимый гемолизин/цитолозин HlyA [7].
163 Кластер RTX содержал все необходимые для продукции MARTX гены
164 (*rtxACBDE*, *chp*), а продукт трансляции гена собственно токсина *rtxA* имел
165 такую же длину, что и прототип (4545 aa) и содержал все типичные активные
166 домены (ACD, RID, ab/H, CPD) несмотря на то, что сам ген отличался от
167 прототипа 419 мутациями (заменами от 1 до 4 нуклеотидов), большинство
168 которых, правда, оказались молчащими. Ген гемолизина содержал 39 SNP, ни
169 одна из которых также не привела к появлению преждевременного стоп-
170 кодона. Фенотипически обе культуры были гемолитичными по отношению к
171 бараньим эритроцитам.

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

176 Гены металлопротеаз – гемагглютинин/протеазы HA/P (*hapA*), коллагеназы
177 VchC, входящей в состав *hly*-локуса протеазы PrtV, а также сериновых протеаз
178 VesA VesB, VesC, IvaP, RssP были интактными, хотя содержали большое
179 число молчащих и миссенс-мутаций по сравнению с прототипами. Их

180 продукты обеспечивают конкурентоспособность за белковые источники
181 питания в разных экологических нишах, однако многие из них одновременно
182 могут быть факторами патогенности. В этом плане наиболее хорошо
183 охарактеризовано актиномодулирующее действие НА/Р [3] и диареегенное –
184 VesC [12].

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

191 Способность вызвать ОКИ зависит не только от токсических субстанций, но
192 от адгезивных свойств возбудителей, обеспечивающих колонизацию
193 кишечника. Как отмечено выше, детерминанты ключевого фактора адгезии –
194 пилей TSP и дополнительного – пилина Ser – в геноме отсутствовали. Однако
195 в данном случае функцию фактора колонизации могли взять на себя MSHA-
196 подобные пили. У токсигенных штаммов маннозочувствительные пили за счет
197 механизмов регуляции экспрессируются только во внешней среде, играя роль
198 фактора персистенции, но при попадании в организм человека их продукция
199 репрессируется. Однако исследуемые штаммы, как и многие НАГ-вибрионы,
200 содержали в составе *msh*-кластера измененные гены мажорной и минорной
201 субъединиц этих пилей, ранее обозначенные нами как *mshA-like* и *mshC-like*.

202 Нуклеотидные последовательности этих генов и, соответственно, aa
203 последовательности их продуктов у разных штаммов существенно
204 различаются, консервативность сохраняют лишь проксимальные участки.

205 MshA-like могут иметь разную длину, в нашем случае она составляла 148 aa,
206 MshC-like чаще всего состоят из 170 aa. Такие пили являются
207 «маннозонечувствительными», поэтому их продукция в кишечнике не
208 подвержена репрессии. Как было установлено при изучении других
209 клинических НАГ-вибрионов, обладающие ими штаммы сохраняют

210 адгезивную активность по меньшей мере *in vitro* [11]. Адгезии также могли
211 способствовать жгутики [14], т.к. оба ответственных за их образование
212 кластера (*flaCA-flgLM* и *flaEGDB*) были на 99% идентичны прототипу.
213 Генов антибиотикорезистентности практически не обнаружено, что совпадало
214 с чувствительностью к нескольким препаратам по фенотипу. В то же время
215 программой CARD выявлен ген β -лактамазы *varG*, ответственной за
216 устойчивость к пенициллинам, карбапенемам и цефалоспорином. Возможно,
217 это отчасти повлияло на замедленную элиминацию возбудителя, поскольку
218 ребенка лечили амоксициллином — полусинтетическим антибиотиком
219 группы пенициллинов, аналогом ампициллина. К ампициллину возбудитель
220 был чувствителен и не содержал генов других β -лактамаз (*blaP1/carb2*, *carb7*,
221 *carb9*, *blaVCC*), но мы не исключаем небольшой активности VarG по
222 отношению к амоксициллину, хотя это предположение требует
223 экспериментальной проверки. Что касается пониженной чувствительности к
224 тетрациклину, ко-тримоксазолу, и фуразолидону, то она могла быть
225 результатом действия эффлюкс-помп, поскольку генов *tetA*, *tetR*, *dfrA/sul2* в
226 геноме не выявлено, а причастность гена *nfsA*, гомолог которого (с 21 SNP)
227 присутствовал, к резистентности к фуразолидону для холерных вибрионов не
228 доказана. Штаммы НАГ-вибрионов с нулевой антибиотикорезистентностью
229 выделялись от людей в Ростовской области и раньше, хотя в нынешнем
230 столетии их число уменьшилось, также отмечалось повышение МПК
231 тетрациклина [8]. Во всяком случае, выделенный в 2022 г. возбудитель не мог
232 служить донором генов устойчивости для передачи другим штаммам
233 популяции.

234 **Заключение**

235 Полученные результаты позволяют заключить, что исследуемый штамм НАГ-
236 вибриона содержит достаточный набор детерминант факторов патогенности,
237 экспрессия которых могла внести свой вклад в развитие заболевания. Штаммы
238 с аналогичными наборами встречались и раньше как на территории
239 Ростовской области, так и в других регионах РФ [2]. В то же время все они

240 различались по генотипам, и это касалось не только качественного и
241 количественного состава генов и их кластеров, но и существования множества
242 аллелей одних и тех же генов. Это связано с чрезвычайной пластичностью
243 генома, превосходящей таковую нетоксигенных штаммов O1 серогруппы. В
244 настоящее время, в отличие от прошлого столетия, НАГ-инфекции возникают
245 у людей довольно редко и носят спорадический характер. Чаще они поражают
246 детей, иммунная система которых еще полностью не сформирована, а также
247 взрослых с ослабляющими иммунитет хроническими заболеваниями. НАГ-
248 вибрионы постоянно присутствуют в окружающей среде и, возможно,
249 персистируют в организме бессимптомных носителей. Их популяции в
250 совокупности содержат еще более широкий спектр детерминант, что создает
251 условия для процессов генетического обмена и формирования новых,
252 возможно, более вирулентных клонов, поэтому данная группа
253 микроорганизмов заслуживает внимания при мониторинге холерных
254 вибрионов на территории РФ, в том числе в плане дальнейшего изучения на
255 уровне генома.

РИСУНКИ

Рисунок 1. Схема участка генома штамма 46, включающего полный кластер T3SS и область *nan-nag* VPI-2. Перечислены только гены с известными функциями.

Figure 1. Scheme of the strain 46 genome fragment including the full T3SS cluster and the *nan-nag* region of VPI-2. Only genes with known functions are listed.

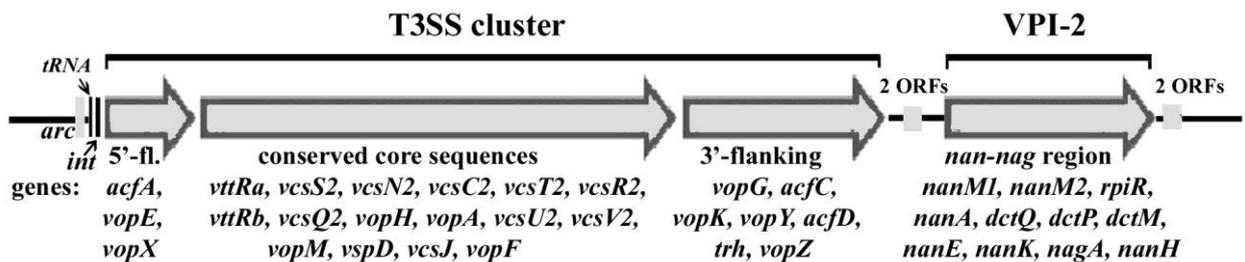
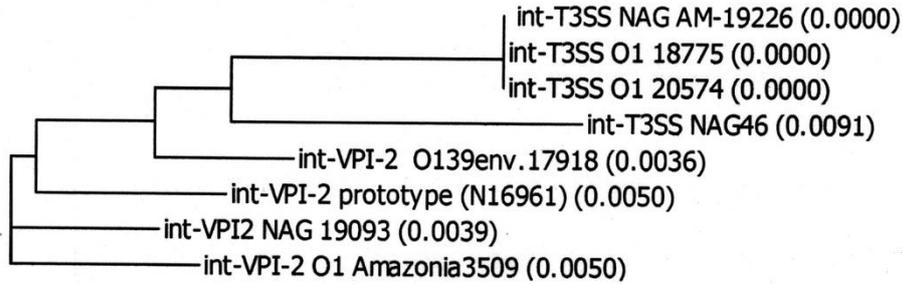


Рисунок 2. Дендрограмма, построенная по результатам AlignX-анализа генов интеграз, входящих в состав кластеров T3SS и VPI-2 разных штаммов *V.cholerae*

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



ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДААННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Монахова Елена Владимировна – доктор биол. наук, с.н.с., главный научный сотрудник отдела микробиологии холеры и других острых кишечных инфекций ФКУЗ Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора
Ростов-на-Дону 344002, ул. М.Горького, 117/40,
тел. 8(863)-240-91-33

e-mail: monakhova_ev@antiplague.ru

Scopus Author ID: 6603368032, ORCID ID: [0000-0002-9216-7777](https://orcid.org/0000-0002-9216-7777)

Elena V. Monakhova – DPhil (Biol.), chief researcher, department of microbiology of cholera and other acute intestinal infections, Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don, ul. M.Gorkogo 117/40, Rostov-on-Don 344002
tel. 8(863)-240-91-33

e-mail: monakhova_ev@antiplague.ru

Scopus Author ID: 6603368032, ORCID ID: [0000-0002-9216-7777](https://orcid.org/0000-0002-9216-7777)

Блок 2. Информация об авторах

Кругликов В. Д. – доктор мед. наук, начальник отдела микробиологии холеры и других острых кишечных инфекций ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора

Kruglikov V. D. – DPhil (Med.), head of the department of microbiology of cholera and other acute intestinal infections, Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute

Водопьянов А. С. – канд. мед. наук, ведущий научный сотр. лаборатории молекулярной биологии природно-очаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора.

Vodop'yanov A. S. – PhD (Med.), leading researcher, laboratory of molecular biology of natural focal and zoonotic infections, Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute

Селянская Н. А. – канд. мед. наук, старший научный сотр. отдела микробиологии холеры и других острых кишечных инфекций ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора

Selyanskaya N. A. – PhD (Med.), senior researcher, department of microbiology of cholera and other acute intestinal infections, Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute

Ежова М. И. – научный сотр. отдела микробиологии холеры и других острых кишечных инфекций ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора

Ezhova M. I. – researcher, department of microbiology of cholera and other acute intestinal infections, Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute

Носков А. К. – канд. мед. наук, директор ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора;

Noskov A. K. – PhD (Med.), Director of Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute

Блок 3. Метаданные статьи

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

НАГ-ВИБРИОН И КИШЕЧНАЯ ИНФЕКЦИЯ

Russian Journal of Infection and Immunity

ISSN 2220-7619 (Print)

ISSN 2313-7398 (Online)

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

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

Краткое сообщение.

Количество страниц текста – 5, количество рисунков – 2.

01.09.2022

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	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 неО1/неО139 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 <i>Vibrio cholerae</i> 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	https://dx.doi.org/10.18565/epidem.2021.11.1.52-6
2	Архангельская И.В., Непомнящая Н.Б., Монахова Е.В., Водопьянов А.С., Водопьянов	Arkhangelskaya I.V., Nepomnyaschaya N.B., Monakhova	eLIBRARY ID: 23327458

	<p>С.О., Кругликов В.Д. Генетическая неоднородность популяции <i>Vibrio cholerae</i> nonO1/non O139, циркулирующих в Ростовской области // Здоровье населения и среда обитания. 2015. №3(264), С. 25-28.</p>	<p>E.V., Vodopyanov A.S., Vodopyanov S.O., Kruglikov V.D. Genetic diversity of the population of <i>Vibrio cholerae</i> non-O1/non-O139 circulating in Rostov region. Zdorov'e naseleniâ i sreda obitaniâ = <i>Public Health and Life Environment</i> 2015; no.3(264), pp.25–28.</p>	
3	<p>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 // Бюл. экперим. биол и медицины. 2008. Т. 145, №4, С.475–480.</p>	<p>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 <i>Vibrio cholerae</i> hemagglutinin/protease. // Bulletin' experimental'noy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2008, vol.145, no.4, pp.475–480.</p>	<p>eLIBRARY ID: 10336725</p>

4	<p>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 // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2016, №3 С.146-152.</p>	<p>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 // Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni = Epidemiology and Infectious Diseases, Russian Journal. 2016, vol. 21, no.3, pp.146-152. (In Russ.)</p>	<p>[doi: 10.17816/EID40917]</p>
5	<p>Заднова С.П., Плеханов Н.А., Кульшань Т.А., Швиденко И.Г., Крицкий А.А. Система секреции шестого типа <i>Vibrio cholerae</i> // Проблемы особо опасных инфекций. 2022, №2, С.27–35.</p>	<p>Zadnova S.P., Plekhanov N.A., Kul'shan' T.A., Shvidenko I.G., Kritsky A.A. <i>Vibrio cholerae</i> secretion system of the Type VI. Problemy osobo opasnykh infektsii = Problems</p>	<p>[doi: 10.21055/0370-1069-2022-2-27-35]</p>

		of Particularly Dangerous Infections. 2022; no.2, pp. 27–35. (In Russ.).	
6	Методические указания МУК 4.2.3745-22 «Методы лабораторной диагностики холеры». М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2022.	Guidelines MUK 4.2.2218-07 "Methods of laboratory diagnosis of cholera". Moscow: Federal center for hygiene and epidemiology of Rospotrebnadzor, 2022.	[https://docs.cntd.ru/document/350413501]
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., Arkhangel'skaya 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.).	[https://doi.org/10.2105/5/0370-1069-2016-2-14-23]
8	Селянская Н.А. , Веркина Л.М. , Березняк Е.А. , Титова С.В. , Железняк Н.Г. , Архангельская И.В.	Selyanskaya N.A., Verkina L.M., Bereznyak E.A., Titova S.V.,	[https://doi.org/10.17816/EID40875]

	Сравнительная оценка антибиотикорезистентности штаммов <i>V. cholerae</i> nonO1/nonO139, выделенных от людей в Ростовской области в разные годы // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2015, Т.20, №3, С.32-35	Zheleznyak N.G., Arkhangelskaya I.V. Comparative study of antibiotic resistance of <i>V. cholerae</i> nonO1/nonO139 strains isolated from humans in the Rostov region in various years // Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni. 2015, vol. 20, no.3, pp. 32–35. (In Russ.)	
9	Almagro-Moreno S. , Boyd E.F. Sialic acid catabolism confers a competitive advantage to pathogenic <i>Vibrio cholerae</i> 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 <i>Vibrio cholerae</i> NRT36S demonstrates the presence of pathogenic mechanisms that are distinct from those of O1		[doi: 10.1128/IAI.01317-06]

	<i>Vibrio cholerae</i> // Infect Immun. 2007, vol.75, vol.5, pp.2645-2647.		
11	Monakhova E.V., Arkhangelskaya I.V., Titova S.V., Pisanov R.V. MSHA-like pili of non-toxicogenic <i>Vibrio cholerae</i> strains // Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2019, no.3, pp. 52-57. (In English).		[doi:10.21055/0370-1069-2019-3-75-80]
12	Mondal A, Tapader R, Chatterjee NS, Ghosh A, Sinha R, Koley H, Saha DR, Chakrabarti MK, Wai SN, Pal A. Cytotoxic and inflammatory responses induced by outer membrane vesicle-associated biologically active proteases from <i>Vibrio cholerae</i> // 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		[doi:10.1128/mBio.00106-11]

	diarrheal disease caused by non-O1, non-O139 <i>Vibrio cholerae</i> . MBio 2011, vol. 2, pp. e00106–e00111.		
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 <i>Vibrio cholerae</i> // Microb. Pathog. 2019, vol.135, article 103645		[doi:10.1016/j.micpath. 2019.103645]