

DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-112-119

УДК 616.932:579.25

С.П. Заднова¹, Н.А. Плеханов¹, А.Ю. Спирина¹, И.Г. Швиденко¹, В.Н. Савельев²**Выявление фагоиндуцируемых мобильных генетических элементов в штаммах *Vibrio cholerae* O1 биовара Эль Тор**¹ФКУН «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация;²ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт», Ставрополь, Российская Федерация

Приобретение новых мобильных генетических элементов способствует генетическому разнообразию штаммов *Vibrio cholerae*. Важная роль в данном процессе принадлежит генетическому материалу, получаемому от фагов. **Цель** работы – выявление фагоиндуцируемых PLE-островов в штаммах *V. cholerae* O1-серогруппы и определение устойчивости изолятов, содержащих и не имеющих данные мобильные генетические элементы, к литическому действию бактериофага холерного диагностического эльтор. **Материалы и методы.** Использовали нуклеотидные последовательности полных геномов токсигенных и нетоксигенных штаммов *V. cholerae* O1, представленных в NCBI GenBank. Биоинформационный анализ проводили с применением алгоритма BLAST, MEGA X (или BioEdit v. 7.0.9.0). Тест с фагами ставили по методу А. Грация. **Результаты и обсуждение.** При анализе 39 токсигенных штаммов, завезенных на территорию РФ и сопредельных стран, выявлен штамм *V. cholerae* O1 классического биовара, содержащий остров PLE5, и 13 штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, включающих остров PLE4. В нетоксигенных штаммах PLE-острова не обнаружены. Показано, что штаммы с PLE4 относятся к геновариантам *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор и имеют аллель гена *ctxB1*. Изоляты с данным мобильным элементом вызвали единичные случаи (1994–1999 гг.), а также вспышки холеры на территории РФ (1993–1994 гг., 1998 г. – Дагестан; 1993 г. – Татарстан) и Украины (1994–1995 гг.). Высказано предположение, что, возможно, присутствие острова PLE4 вносит определенный вклад в обеспечение устойчивости штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор к холерному диагностическому фагу эльтор (выявлено 55,6 % фагоустойчивых изолятов), но существуют и другие, пока не выявленные, механизмы. Таким образом, получены данные о присутствии новых мобильных генетических элементов в геноме ранее завезенных токсигенных штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, что расширяет сведения об их генетической организации.

Ключевые слова: *Vibrio cholerae*, PLE-острова, лизабельность диагностическим холерным фагом эльтор.

Корреспондирующий автор: Заднова Светлана Петровна, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Для цитирования: Заднова С.П., Плеханов Н.А., Спирина А.Ю., Швиденко И.Г., Савельев В.Н. Выявление фагоиндуцируемых мобильных генетических элементов в штаммах *Vibrio cholerae* O1 биовара Эль Тор. Проблемы особо опасных инфекций. 2023; 2:112–119. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-112-119

Поступила 22.03.2023. Принята к публ. 26.04.2023.

S.P. Zadnova¹, N.A. Plekhanov¹, A.Yu. Spirina¹, I.G. Shvidenko¹, V.N. Savel'ev²**Detection of Phage-Induced Mobile Genetic Elements in Strains of *Vibrio cholerae* O1 Biovar El Tor**¹Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation;²Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation

Abstract. The acquisition of new mobile genetic elements contributes to the genetic diversity of *Vibrio cholerae* strains. An important role in this process belongs to the genetic material obtained from phages. **The aim** of this work was to identify phage-induced PLE islands in strains of *V. cholerae* O1 serogroup and to determine the resistance of isolates with and without those mobile genetic elements to the lytic activity of the diagnostic cholera El Tor bacteriophage. **Materials and methods.** Whole genomes nucleotide sequences of toxigenic and non-toxigenic *V. cholerae* O1 strains presented in the NCBI GenBank were used for the work. Bioinformatic analysis was performed using the BLAST algorithm, MEGA X (or BioEdit v. 7.0.9.0). The test with phages was carried out according A. Gratia technique. **Results and discussion.** The analysis of 39 toxigenic strains imported to the territory of the Russian Federation and neighboring countries has revealed one strain of *V. cholerae* O1 of the classical biovar containing the PLE5 island, and 13 strains of *V. cholerae* O1 of the El Tor biovar containing the PLE4 island. PLE islands have not been found in non-toxigenic strains. It is shown that strains with PLE4 belong to *V. cholerae* O1 genovariants of the El Tor biovar and have the *ctxB1* gene allele. Isolates with this mobile element caused sporadic cases of the disease in 1994–1999, as well as cholera outbreaks in the Russian Federation (in 1993–1994, in 1998 – Dagestan, and 1993 – Tatarstan) and Ukraine (1994–1995). It has been suggested that, perhaps, the presence of the PLE4 island makes a certain contribution to the resistance of *V. cholerae* O1 strains of the El Tor biovar to the diagnostic cholera El Tor phage (55.6 % of phage-resistant isolates were detected), but there are other mechanisms that have not yet been identified. Thus, the data on the presence of new mobile genetic elements in the genome of earlier imported toxigenic strains of *V. cholerae* O1, biovar El Tor have been obtained, which expands information about their genetic organization.

Key words: *Vibrio cholerae*, PLE islands, lysis by diagnostic cholera El Tor phage.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Funding: The authors declare no additional financial support for this study.

Corresponding author: Svetlana P. Zadnova, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Zadnova S.P., Plekhanov N.A., Spirina A.Yu., Shvidenko I.G., Savelev V.N. Detection of Phage-Induced Mobile Genetic Elements in Strains of *Vibrio cholerae* O1 Biovar El Tor. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; 2:112–119. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-112-119

Received 22.03.2023. Accepted 26.04.2023.

Zadnova S.P., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4366-0562>
Plekhanov N.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2355-7018>

Spirina A.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9779-166X>
Savelev V.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6458-3725>

Холера – особо опасная инфекционная болезнь, способная к быстрому распространению, поражению большого количества людей с высокой вероятностью развития летального исхода. Возбудителями текущей, седьмой, пандемии холеры явились типичные токсигенные штаммы *Vibrio cholerae* O1 серогруппы биовара Эль Тор, которые быстро распространились по миру, вытеснив возбудителя предыдущей, шестой, пандемии – *V. cholerae* O1 серогруппы классического биовара. Штаммы двух биоваров имеют как фенотипические, так и генетические различия, которые используются для дифференциации биоваров. В том числе они отличаются по чувствительности к диагностическим холерным бактериофагам. Штаммы *V. cholerae* O1 классического биовара лизируются классическим бактериофагом, а вибрионы Эль Тор – бактериофагом эльтор (МУК 4.2.3745-22). Одним из генетических отличий является присутствие разных аллелей гена *ctxB* из оперона *ctxAB*, кодирующего биосинтез холерного токсина. Классические вибрионы имеют аллель *ctxB1*, а вибрионы Эль Тор – *ctxB3*. В результате эволюционных преобразований в 90-х гг. прошлого столетия возникли и получили широкое распространение высоковирулентные генетически измененные штаммы *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор (геноварианты), содержащие аллель *ctxB1* и продуцирующие холерный токсин классического типа. В результате дальнейших генетических изменений появились геноварианты с новым аллелем гена *ctxB* – *ctxB7*, а также рядом других генетических различий, отличающих их от первых появившихся геновариантов [1–3]. Проведенный молекулярно-генетический анализ нуклеотидных последовательностей полных геномов штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, выделенных в разные годы в различных регионах, позволил установить, что распространение вибрионов Эль Тор по миру происходило в виде трех независимых, но перекрывающихся волн из одного региона – территории Бенгальского залива. Считается, что именно здесь происходит формирование штаммов возбудителя холеры с новыми свойствами, которые затем заносятся в другие регионы [4]. При этом установлено, что важная роль в формировании генетического разнообразия и появлении новых штаммов холерного вибриона принадлежит холерным литическим бактериофагам (фагам) [5–7]. На эндемичной территории фаги постоянно выделяются вместе со штаммами возбудителя холеры от больных, но еще в большем количестве они обнаруживаются в воде открытых водоемов. Самым распространенным является литический фаг ICP1 (International Centre for Diarrhoeal Disease Research, Bangladesh cholera phage 1) [6, 8, 9]. Показано, что для защиты от действия данного фага холерный вибрион

использует фагоиндуцируемые PLE-острова (phage inducible chromosomal island-like elements). Данные мобильные генетические элементы размером около 19 kb включают гены, способствующие функционированию их как мобильных элементов (*int* – кодирует интегразу, *repA* – фактор инициации репликации); консервативные гены, характерные для всех типов PLE-островов (*capR* – подавляет морфогенез капсида фага; *nixI* – кодирует никазу, препятствующую репликации фага; *lidI* – способствует лизису клеток холерного вибриона); гены с неизвестной функцией, а также вариабельные участки, характерные для определенного типа PLE-острова [10, 11]. Первоначально было выявлено пять типов PLE-островов, в настоящее время известно 10. Показано, что каждый тип PLE доминировал в штаммах *V. cholerae*, выделенных в определенный период времени, а появление его новых вариантов коррелировало с изменением структуры генома фага ICP1. Наиболее древним является остров PLE5, присутствующий в штаммах *V. cholerae* O1 классического биовара, а также в штаммах *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, выделенных до 1990 г. Наиболее распространенным является PLE4, обнаруженный в штаммах *V. cholerae*, циркулировавших в 1994–2005 гг. В штаммах, изолированных в 2009 г. и позже, обнаруживается остров PLE1 [10–12]. Установлено, что при контакте фага ICP1 с клетками холерного вибриона запускается процесс образования репликативных форм PLE-элемента и последующее формирование фаговых частиц, содержащих генетический PLE-материал. Зараженные фагом ICP1 клетки в итоге лизируются, но в результате образования фаговых частиц с PLE-элементом процесс распространения фага на другие бактерии останавливается, что способствует сохранению популяции возбудителя холеры [10, 12, 13]. Стоит отметить, что наличие PLE-островов в штаммах *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, завезенных на территорию РФ и сопредельных стран, изучено не в полной мере. Кроме того, не установлено, влияет ли присутствие данного мобильного генетического элемента на устойчивость штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор к холерному диагностическому бактериофагу эльтор. **Цель** работы – выявление фагоиндуцируемых PLE-островов в штаммах *V. cholerae* O1-серогруппы и определение устойчивости изолятов, содержащих и не имеющих данные мобильные генетические элементы, к литическому действию бактериофага холерного диагностического эльтор.

Материалы и методы

В работе использовали нуклеотидные последовательности полных геномов 39 токсигенных изо-

лятов *V. cholerae* O1-серогруппы, завезенных с 1942 по 2014 г. в Российскую Федерацию и сопредельные страны (Украину, Азербайджан, Туркменистан, Грузию), а также 21 нетоксигенного штамма *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, выделенных с 1965 по 2019 г. на данных территориях и представленных в свободном доступе в NCBI GenBank. В анализ также были взяты нуклеотидные последовательности полных геномов 16 токсигенных штаммов *V. cholerae* O1 Эль Тор, занесенных с 1972 по 1997 г. на территорию РФ. Штаммы секвенированы в лаборатории геномного и протеомного анализа ФКУН Российский противочумный институт «Микроб». Для анализа нуклеотидных последовательностей использовали алгоритм BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) и программу MEGA X (или BioEdit v. 7.0.9.0). При определении типа PLE-острова в изучаемых штаммах использовали референс-штаммы, представленные в работе [11].

Для изучения чувствительности штаммов к холерному диагностическому фагу эльтор использовали штаммы *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, полученные из Государственной коллекции патогенных бактерий ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» и коллекции ФКУЗ Ставропольский противочумный институт. Определение литической активности штаммов проводили по методу А. Грация в соответствии с инструкцией по применению коммерческого препарата «Бактериофаги диагностические холерные классический и эльтор, лиофилизат для диагностических целей» (ФКУН Российский противочумный институт «Микроб»). Диагностический рабочий титр (ДРТ) фага составлял 10^{-2} . Учет результатов проводили по приведенной в инструкции к набору условной четырехкрестовой шкале (4 креста – полный лизис культуры с прозрачным дном литического пятна, 3 – прозрачное пятно с единичными колониями вторичного роста или множество изолированных литических пятен, 2 – прозрачное пятно лизиса со значительным вторичным ростом или единичные изолированные пятна лизиса, 1 – слабозаметное пятно лизиса культуры).

Результаты и обсуждение

Выявление и изучение структуры PLE-островов в штаммах *V. cholerae* O1-серогруппы. В 2022 г. А. Angermeyer *et al.* при анализе нуклеотидных последовательностей полных геномов штаммов *V. cholerae* O1, выделенных на территории различных стран и представленных в базе данных NCBI GenBank, выявили фагоиндуцируемые PLE-острова в геноме 22 токсигенных штаммов, завезенных на территорию РФ, Украины и Узбекистана [11]. У штамма *V. cholerae* M29 O1-серогруппы классического биовара был обнаружен остров PLE5, у 21 штамма *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор – PLE4 (таблица). Мы продолжили исследования по выявлению PLE-островов и проанализировали еще 39 токсигенных изолятов, завезенных на террито-

рию РФ и сопредельных стран. В результате обнаружен еще один штамм, содержащий остров PLE5, – *V. cholerae* Дакка 35 O1 классического биовара. Среди токсигенных штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор выявлено 13 изолятов, включающих остров PLE4 (таблица). Другие типы PLE-островов среди изученных штаммов не найдены. Остров PLE4 присутствует в изолятах, завезенных с 1993 по 2014 г., которые относятся к геновариантам *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор и имеют аллель *ctxB1*. Самое раннее присутствие данного мобильного генетического элемента установлено в штамме *V. cholerae* P13762, выделенном от больного в 1988 г. в Узбекистане (г. Ташкент). Геноварианты, привезенные в последние годы и имеющие аллель *ctxB7*, не содержат данный мобильный генетический элемент (таблица). В типичных штаммах *V. cholerae* O1 Эль Тор биовара (1970–1991 гг.), имеющих аллель *ctxB3*, PLE-острова также отсутствуют (таблица).

Штаммы, включающие остров PLE4, вызвали вспышки холеры в 1993 г. в Татарстане, в 1993–1994 гг. и 1998 г. в Дагестане. Кроме того, они явились причиной единичных случаев холеры в 1994 г. в Кисловодске (*V. cholerae* 8048), Краснодаре (*V. cholerae* 286), Новосибирске (*V. cholerae* I-1181), Магнитогорске (*V. cholerae* M1268); в 1999 г. – в Южно-Сахалинске (*V. cholerae* I-1298). В сопредельные государства штаммы с PLE4 были завезены в 1988 г. в Узбекистан (*V. cholerae* P13762), в 1993 г. в Таджикистан (*V. cholerae* M1283), а в 1994–1995 гг. вызвали эпидемические осложнения на Украине (таблица). Завоз штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, содержащих остров PLE4, на территорию РФ и сопредельных государств совпадает с их активным распространением на эндемичной территории в указанные годы [11].

В нетоксигенных штаммах (21) *V. cholerae* O1 Эль Тор, выделенных как от больных, так и из воды открытых водоемов на территории РФ и сопредельных стран, PLE-острова не обнаружены. Полученные нами сведения подтверждают данные А. Angermeyer *et al.*, которые также не выявили указанные мобильные генетические элементы в нетоксигенных изолятах, выделенных на эндемичной территории, что позволило им высказать предположение, что PLE-острова присутствуют только в геноме токсигенных штаммов *V. cholerae* [11].

Необходимо отметить, что среди штаммов *V. cholerae* O1 Эль Тор, содержащих остров PLE4, большинство являются клиническими (88,2 %) и только 4 штамма (11,7 %) выделены из внешней среды. Можно высказать предположение, что остров PLE4 может утрачиваться штаммами холерного вибриона при их нахождении во внешней среде. Подтверждением данного предположения могут служить данные по изучению токсигенных штаммов *V. cholerae* 89 и 147, изолированных в одном месте (Ялта, 2010 г.) и имеющих схожий генотип, что было установлено ранее другими исследователями [14]. Данные штаммы отличаются по содержанию остро-

Присутствие PLE-островов в штаммах *V. cholerae* O1-серогруппы и определение чувствительности штаммов к диагностическому холерному фагу эльтор

The presence of PLE islands in strains of *V. cholerae* O1 serogroup and the determination of sensitivity of the strains to the diagnostic cholera El Tor phage

Штамм <i>V. cholerae</i> Strains of <i>V. cholerae</i>	Год, место и источник выделения The year, site and source of isolation	Аллель гена <i>ctxB</i> <i>ctxB</i> gene allele	Присутствие и тип PLE-острова Presence and type of PLE island	Лизабельность диагностическим холерным бактериофагом эльтор Lysis by diagnostic cholera El Tor bacteriophage
1	2	3	4	5
Штаммы <i>V. cholerae</i> O1-серогруппы классического биовара Strains of <i>V. cholerae</i> O1 serogroup, classical biovar				
M29 ^{JFGR01}	1942, РФ, Астрахань, больной 1942, RF, Astrakhan, patient	ctxB1*	PLE5**	не лиз. (not lysed)
Dakka35 ^{LAED01}	1958, Пакистан, больной 1958, Pakistan, patient	ctxB1*	PLE5	не лиз. (not lysed)
Штаммы <i>V. cholerae</i> O1-серогруппы биовара Эль Тор Strains of <i>V. cholerae</i> O1 serogroup, El Tor biovar				
M1062 ^{SSAB01}	1970, РФ, Астрахань, больной 1970, RF, Astrakhan, patient	ctxB3*	—**	лиз. (lysed) (4+)
M888 ^{LRBH01}	1970, РФ, Астрахань, больной 1970, RF, Astrakhan, patient	ctxB3*	—**	лиз. (lysed) (4+)
M818 ^{LAHM01}	1970, РФ, Балаково, больной 1970, RF, Balakovo, patient	ctxB3*	—**	лиз. (lysed) (4+)
M1011 ^{SSAC01}	1972, РФ, Башкортостан, больной 1972, RF, Bashkortostan, patient	ctxB3*	—**	лиз. (lysed) (4+)
M1030 ^{NEDX01}	1972, Туркменистан, больной 1972, Turkmenistan, patient	ctxB3	—	лиз. (lysed) (4+)
123AZ ^{SMZB01}	1977, Азербайджан, больной 1977, Azerbaijan, patient	ctxB3	—**	лиз. (lysed) (4+)
P13762 ^{LQYD001}	1988, Узбекистан, больной 1988, Uzbekistan, patient	ctxB1*	PLE4**	не лиз. (not lys.)
223 ^{NDXS01}	1991, Украина, вн. ср. 1991, Ukraine, environment	н/о (n/d)	—	лиз. (lysed) (4+)
M1283	1993, Таджикистан, больной 1993, Tajikistan, patient	ctxB1	PLE4	лиз. (lysed) (3+)
M1270 ^{VXC01}	1993, РФ, Татарстан, больной 1993, RF, Tatarstan, patient	ctxB1*	PLE4**	не лиз. (not lysed)
M1275 ^{LRAF01}	1993, РФ, Дагестан, больной 1993, RF, Dagestan, patient	ctxB1*	PLE4**	не лиз. (not lysed)
157D ^{SMZC01}	1993, РФ, Дагестан, больной 1993, RF, Dagestan, patient	ctxB1	PLE4**	лиз. (lysed) (3+)
169D ^{QFKZ01}	1993, РФ, Дагестан, больной 1993, RF, Dagestan, patient	ctxB1*	PLE4**	лиз. (lysed) (3+)
S-618 ^{JAEFFZ01}	1993, РФ, Дагестан, больной 1993, RF, Dagestan, patient	ctxB1	PLE4	лиз. (lysed) (3+)
S-619 ^{JACTGQ01}	1993, РФ, Дагестан, больной 1993, RF, Dagestan, patient	ctxB1	PLE4	лиз. (lysed) (3+)
10213D ^{QFGC01}	1994, РФ, Дагестан, больной 1994, RF, Dagestan, patient	ctxB1	PLE4**	не лиз. (not lysed)
17332 ^{WNZR01}	1994, РФ, Дагестан, больной 1994, RF, Dagestan, patient	ctxB1	PLE4**	не лиз. (not lysed)
M1293 ^{JFFW01}	1994, РФ, Дагестан, больной 1994, RF, Dagestan, patient	ctxB1*	PLE4**	не лиз. (not lysed)
16241D ^{QFLB01}	1994, РФ, Дагестан, больной 1994, RF, Dagestan, patient	ctxB1	PLE4**	лиз. (lysed) (3+)
4 ^{WNZH01}	1994, РФ, Дагестан, больной 1994, RF, Dagestan, patient	ctxB1	PLE4**	лиз. (lysed) (3+)
S-616 ^{JACTGO01}	1994, РФ, Дагестан, больной 1994, RF, Dagestan, patient	ctxB1	PLE4	лиз. (lysed) (3+)

Продолжение таблицы / Continuation of the table

1	2	3	4	5
S-617 ^{JACTGP01}	1994, РФ, Дагестан, больной 1994, RF, Dagestan, patient	ctxB1	PLE4	лиз. (lysed) (3+)
752 ^{JACTGL01}	1994, РФ, Дагестан, больной 1994, RF, Dagestan, patient	ctxB1	PLE4	н/о (n/d)
8048 ^{WNZQ01}	1994, РФ, Кисловодск, больной 1994, RF, Kislovodsk, patient	ctxB1	PLE4**	н/о (n/d)
286 ^{SMZD01}	1994, РФ, Краснодар, больной 1994, RF, Krasnodar, patient	ctxB1	PLE4**	н/о (n/d)
I-1181 ^{LUCN01}	1994, РФ, Новосибирск, больной 1994, RF, Novosibirsk, patient	ctxB1*	PLE4**	н/о (n/d)
I-1187 ^{LYXT01}	1994, РФ, Барнаул, больной 1994, RF, Barnaul, patient	ctxB1*	_**	н/о (n/d)
M1266	1994, РФ, Пермь, вн. ср. 1994, RF, Permian, environment	ctxB1*	PLE4	не лиз. (not lysed)
M1268	1994, РФ, Магнитогорск, больной 1994, RF, Magnitogorsk, patient	ctxB1*	PLE4	лиз. (lysed) (1+)
155 ^{NDXT01}	1994, Украина, больной 1994, Ukraine, patient	ctxB1*	PLE4	не лиз. (not lysed)
28 ^{NDXN01}	1994, Украина, больной 1994, Ukraine, patient	ctxB1*	PLE4**	не лиз. (not lysed)
43 ^{LJFH01}	1994, Украина, больной 1994, Ukraine, patient	ctxB1*	PLE4**	не лиз. (not lysed)
56 ^{LJFI01}	1994, Украина, вн. ср. 1994, Ukraine, environment	ctxB1*	PLE4**	не лиз. (not lysed)
80K ^{JACTGK01}	1994, Украина, больной 1994, Ukraine, patient	ctxB1*	PLE4	н/о (n/d)
20-a-11 ^{PYAR01}	1995, Украина, больной 1995, Ukraine, patient	ctxB1*	PLE4**	не лиз. (not lysed)
676 ^{JAEFFY01}	1996, РФ, Дагестан, вн. ср. 1996, RF, Dagestan, environment	ctxB1	PLE4	не лиз. (not lysed)
P17644 ^{RTW01}	1997, РФ, Ачинск, больной 1997, RF, Achinsk, patient	ctxB1*	_**	лиз. (lysed) (3+)
P17645	1997, РФ, Иркутск, больной 1997, RF, Irkutsk, patient	ctxB1*	–	лиз. (lysed) (3+)
41D ^{QFKY01}	1998, РФ, Дагестан, больной 1998, RF, Dagestan, patient	ctxB1	PLE4**	лиз. (lysed)
M1327 ^{LRFE01}	1998, РФ, Дагестан, больной 1998, RF, Dagestan, patient	ctxB1	PLE4**	не лиз. (not lysed)
S-567 ^{JACTGN01}	1998, РФ, Дагестан, больной 1998, RF, Dagestan, patient	ctxB1	PLE4	не лиз. (not lysed)
I-1298 ^{RHND01}	1999, РФ, Южно-Сахалинск, больной 1999, RF, Yuzhno-Sakhalisk, patient	ctxB1*	PLE4**	н/о (n/d)
I-1300 ^{JZCC01}	1999, РФ, Южно-Сахалинск, больной 1999, RF, Yuzhno-Sakhalisk, patient	ctxB1*	_**	н/о (n/d)
I-1316 ^{RHDM01}	1999, РФ, Южно-Сахалинск, вн. ср. 1999, RF, Yuzhno-Sakhalisk, environment	ctxB1*	–	н/о (n/d)
I-1330 ^{RHDL01}	1999, РФ, Владивосток, вн. ср. 1999, RF, Vladivostok, environment	ctxB1*	_**	н/о (n/d)
I-1344 ^{RHDJ01}	1999, РФ, Владивосток, больной 1999, RF, Vladivostok, patient	ctxB1*	–	н/о (n/d)
M1344 ^{NEDY01}	2001, РФ, Татарстан, больной 2001, RF, Tatarstan, patient	ctxB1*	–	лиз. (lysed) (2+)
M1429 ^{LAEM01}	2004, РФ, Башкортостан, больной 2004, RF, Bashkortostan, patient	ctxB1*	_**	лиз. (lysed) (1+)
RND18826 ^{AYOM01}	2005, РФ, Тверь, больной 2005, RF, Tver, patient	ctxB1*	–	лиз. (lysed) (2+)

Окончание таблицы / Ending of the table

1	2	3	4	5
P-18899 ^{LAKM01}	2006, РФ, Мурманск, больной 2006, RF, Murmansk, patient	<i>ctxB1</i> *	—**	лиз. (lysed) (2+)
L3226 ^{IDVX01}	2010, РФ, Москва, больной 2010, RF, Moscow, patient	<i>ctxB7</i> *	—**	лиз. (lysed) (3+)
RND19187 ^{AYNM01}	2010, РФ, Москва, больной 2010, RF, Moscow, patient	<i>ctxB7</i> *	—	н/о (n/d)
RND19188 ^{JNGU01}	2010, РФ, Москва, больной 2010, RF, Moscow, patient	<i>ctxB7</i> *	—	н/о (n/d)
RND19191 ^{JNGT01}	2010, РФ, Москва, больной 2010, RF, Moscow, patient	<i>ctxB7</i> *	—	лиз. (lysed) (1+)
147 ^{NDXQ01}	2010, Украина, вн. ср. 2010, Ukraine, environment	<i>ctxB1</i> *	PLE4**	лиз. (lysed) (2+)
89 ^{NDXR01}	2010, Украина, вн. ср. 2010, Ukraine, environment	<i>ctxB1</i> *	—**	лиз. (lysed) (2+)
76 ^{MPVL01}	2011, Украина, больной 2011, Ukraine, patient	<i>ctxB7</i> *	—**	лиз. (lysed) (3+)
153 ^{MWRE01}	2011, Украина, больной 2011, Ukraine, patient	<i>ctxB7</i> *	—**	лиз. (lysed) (1+)
186 ^{PYBQ01}	2011, Украина, вн. ср. 2011, Ukraine, environment	<i>ctxB7</i> *	—**	лиз. (lysed) (2+)
2011EL-301 ^{AJFN01}	2011, РФ, Таганрог, вн. ср. 2011, RF, Taganrog, environment	<i>ctxB1</i> *	—**	лиз. (lysed) (2+)
M1509 ^{NEDZ01}	2012, РФ, Москва, больной 2012, RF, Moscow, patient	<i>ctxB7</i> *	—	лиз. (lysed) (1+)
3265/80 ^{JRQL01}	2014, РФ, Москва, больной 2014, RF, Moscow, patient	<i>ctxB7</i> *	—**	лиз. (lysed) (1+)
81 ^{JRQM01}	2014, РФ, Ростов, вн. ср. 2014, RF, Rostov, environment	<i>ctxB1</i> *	—**	лиз. (lysed) (3+)
77N ^{WNZJ01}	н/д, РФ, н/д, больной no data, RF, no data, patient	<i>ctxB1</i>	PLE4	н/о (n/d)

Примечания: в надстрочном индексе штаммов указан сокращенный код доступа в GenBank; н/д – нет данных; вн. ср. – внешняя среда; * аллель гена *ctxB* указана согласно данным [15–18]; ** тип PLE-острова или его отсутствие (–) установлены ранее [11]; не лиз. – штамм не лизируется фагом эльтор, лиз. – штамм лизируется фагом эльтор, в скобках указана степень лизиса, определенная согласно инструкции к набору «Бактериофаги диагностические холерные классический и эльтор, лиофилизат для диагностических целей»; н/о – не определено.

Notes: in the superscript, the abbreviated access code to GenBank is specified; * allele of the *ctxB* gene is indicated according to the data [15–18]; ** PLE island type or lack of it (–) was established previously [11]; not lysed – the strain is not lysed by the El Tor phage, lysed – the strain is lysed by the El Tor phage, the degree of lysis is indicated in brackets, determined according to the instructions for the kit “Classical and El Tor diagnostic cholera bacteriophages, lyophilizate for diagnostic purposes”; n/d – not determined.

ва PLE4 (таблица). В штамме *V. cholerae* 89 остров PLE4 отсутствует, возможно, он был утерян при его нахождении в речной воде.

На следующем этапе работы у взятых в анализ штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор изучена структура пяти генов острова PLE4 с установленной функцией (*capR*, *nixI*, *lidI*, *int*, *repA*). В результате выявлено, что практически все штаммы имели интактную структуру данных генов. Исключение составил штамм *V. cholerae* 41D, у которого выявлена делеция одного нуклеотида (G p:145) в гене *nixI*, кодирующем никазу, что привело к сдвигу рамки считывания, а также большая делеция (p:166–237) в гене *lidI*, ответственном за синтез белка, провоцирующего лизис клеток-хозяев. Стоит отметить, что подобные изменения способствуют появлению чувствительных к фагу ICP1 штаммов *V. cholerae* O1 Эль Тор [10].

Таким образом, в результате проведенной работы выявлен штамм *V. cholerae* O1-серогруппы

классического биовара, включающий остров PLE5, и 13 штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, содержащих остров PLE4. Установлено, что все штаммы *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, содержащие остров PLE4, относятся к генетически измененным вариантам, имеющим аллель *ctxB1*. Полученные результаты дополняют новыми знаниями сведения о генетической организации ранее завезенных штаммов возбудителя холеры.

Определение устойчивости штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор к литическому действию диагностического холерного фага эльтор. Учитывая данные литературы о том, что присутствие острова PLE4 может способствовать устойчивости штаммов холерного вибриона не только к фагу ICP1, но и к другим видам фагов [12], мы провели исследования по изучению чувствительности изолятов, имеющих и не имеющих данный мобильный генетический элемент, к литическому действию холерного бактерио-

фага эльтор. Необходимо отметить, что в последние годы отмечается тенденция повышения устойчивости штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор к действию данного фага, что затрудняет его использование в диагностике. В результате активно развивается направление по поиску новых рас диагностических фагов [19–21]. При этом механизмы устойчивости штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор к диагностическому холерному фагу эльтор пока не установлены. В итоге показано, что типичные штаммы *V. cholerae* O1 Эль Тор, выделенные в 1970–1991 гг., лизируются данным фагом, что является общепризнанным фактом. Чувствительными к данному фагу являются и геноварианты, завезенные после 2001 г. и лишенные острова PLE4. Стоит отметить, что среди чувствительных к фагу геновариантов не обнаружено ни одного штамма, полностью (на 4+) лизирующегося данным фагом (таблица). Устойчивыми к фагу эльтор были штаммы, завезенные в Дагестан в 1993–1998 гг., что подтверждает ранее полученные сведения [16, 22]. При этом среди геновариантов, содержащих остров PLE4, присутствуют как чувствительные (44,4 %), так и устойчивые изоляты (55,6 %). На основе полученных данных можно высказать предположение, что наличие острова PLE4, возможно, и вносит определенный вклад в устойчивость штаммов к диагностическому холерному фагу эльтор, но существуют и другие, пока не выявленные механизмы фагоустойчивости. Полученные данные еще раз подтверждают сложные взаимоотношения между патогеном и фагами. Возможно, появление устойчивых к диагностическому холерному фагу эльтор штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор обусловлено несколькими различными причинами и для их выяснения необходимо более детальное исследование их генома. Подтверждением высказанного предположения могут служить сведения, полученные М.Т. Алам *et al.* при анализе токсигенных штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, выделенных в Демократической Республике Конго в 2015–2017 гг. Авторы показали, что устойчивые к ICP1-подобному фагу штаммы периодически возникали в популяции выделяемых штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, при этом механизмы их появления каждый раз были новыми [23]. Кроме того, данные исследователи считают, что фагоустойчивые варианты являются «тупикиком эволюции», в дальнейшем эволюционируют только чувствительные к фагам штаммы возбудителя.

Таким образом, в результате проведенных исследований получены новые сведения о наличии и структуре фагоиндуцируемых PLE-островов в составе генома штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, ранее завезенных на территорию Российской Федерации и сопредельных стран, что расширяет сведения об их генетической организации. Высказано предположение о многообразии механизмов появления устойчивых к диагностическому холерному фагу эльтор штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор. Выявленная неоднородность генетической органи-

зации различных групп изученных штаммов может служить доказательством влияния литических фагов на процессы микроэволюции возбудителя холеры.

Конфликт интересов. Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии дополнительного финансирования при проведении данного исследования.

Список литературы

- Nair G.B., Faruque S.M., Bhuiyan N.A., Kamruzzaman M., Siddique A.K., Sack D.A. New variants of *Vibrio cholerae* O1 biotype El Tor with attributes of the classical biotype from hospitalized patients with acute diarrhea in Bangladesh. *J. Clin. Microbiol.* 2002; 40(9):3296–9. DOI: 10.1128/JCM.40.9.3296-3299.2002.
- Safa A., Nair G.B., Kong R.Y. Evolution of new variants of *Vibrio cholerae* O1. *Trends Microbiol.* 2010; 18(1):46–54. DOI: 10.1016/j.tim.2009.10.003.
- Bhandari M., Jennison A.V., Rathnayake I.U., Huygens F. Evolution, distribution and genetics of atypical *Vibrio cholerae* – A review. *Infect. Genet. Evol.* 2021; 89:104726. DOI: 10.1016/j.meegid.2021.104726.
- Mutreja A., Kim D.W., Thomson N.R., Connor T.R., Lee J.H., Kariuki S., Croucher N.J., Choi S.Y., Harris S.R., Lebens M., Niyogi S.K., Kim E.J., Ramamurthy T., Chun J., Wood J.L., Clemens J.D., Czerkinsky C., Nair G.B., Holmgren J., Parkhill J., Dougan G. Evidence for several waves of global transmission in the seventh cholera pandemic. *Nature.* 2011; 477(7365):462–5. DOI: 10.1038/nature10392.
- Faruque S.M., Naser I.B., Islam M.J., Faruque A.S.G., Ghosh A.N., Nair G.B., Sack D.A., Mekalanos J.J. Seasonal epidemics of cholera inversely correlate with the prevalence of environmental cholera phages. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2005; 102(5):1702–7. DOI: 10.1073/pnas.0408992102.
- Seed K.D., Bodi K.L., Kropinski A.M., Ackermann H.-W., Calderwood S.B., Qadri F., Camilli A. Evidence of a dominant lineage of *Vibrio cholerae*-specific lytic bacteriophages shed by cholera patients over a 10-year period in Dhaka, Bangladesh. *mBio.* 2011; 2(1):e00334-10. DOI: 10.1128/mBio.00334-10.
- Faruque S.M., Mekalanos J.J. Phage-bacterial interactions in the evolution of toxigenic *Vibrio cholerae*. *Virulence.* 2012; 3(7):556–65. DOI: 10.4161/viru.22351.
- Angermeyer A., Das M.M., Singh D.V., Seed K.D. Analysis of 19 highly conserved *Vibrio cholerae* bacteriophages isolated from environmental and patient sources over a twelve-year period. *Viruses.* 2018; 10(6):299–310. DOI: 10.3390/v10060299.
- Boyd C.M., Angermeyer A., Hays S.G., Barth Z.K., Patel K.M., Seed K.D. Bacteriophage ICP1: a persistent predator of *Vibrio cholerae*. *Annu. Rev. Virol.* 2021; 8(1):285–304. DOI: 10.1146/annurev-virology-091919-072020.
- O'Hara B.J., Barth Z.K., McKitterick A.C., Seed K.D. A highly specific phage defense system is a conserved feature of the *Vibrio cholerae* mobilome. *PLoS Genet.* 2017; 13(6):e1006838. DOI: 10.1371/journal.pgen.1006838.
- Angermeyer A., Hays S.G., Nguyen M.H.T., Johura F.T., Sultana M., Alam M., Seed K.D. Evolutionary sweeps of subviral parasites and their phage host bring unique parasite variants and disappearance of a phage CRISPR-Cas system. *mBio.* 2022; 13(1):e03088-21. DOI: 10.1128/mbio.03088-21.
- Barth Z.K., Silvas T.V., Angermeyer A., Seed K.D. Genome replication dynamics of a bacteriophage and its satellite reveal strategies for parasitism and viral restriction. *Nucl. Acids Res.* 2020; 48(1):249–63. DOI: 10.1093/nar/gkz1005.
- McKitterick A.C., Seed K.D. Anti-phage islands force their target phage to directly mediate island excision and spread. *Nat. Commun.* 2018; 9(1):e2348. DOI: 10.1038/s41467-018-04786-5.
- Смирнова Н.И., Агафонов Д.А., Щелканова Е.Ю., Рыбальченко Д.А., Крицкий А.А., Альхова Ж.В., Краснов Я.М., Агафонов Е.Ю., Кутырев В.В. Структурные и функциональные изменения генома авирулентных штаммов *Vibrio cholerae* биовара Эль Тор *ctxA+tcpA+*. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология.* 2020; 38(3):108–19. DOI: 10.17116/molgen202038031108.
- Смирнова Н.И., Заднова С.П., Агафонов Д.А., Шашкова А.В., Челдышова Н.Б., Черкасов А.В. Сравнительный молекулярно-генетический анализ мобильных элементов природных штаммов возбудителя холеры. *Генетика.* 2013; 49(9):1036–47. DOI: 10.7868/SO016675813090087.
- Онищенко Г.Г., Москвитина Э.А., Водопьянов А.С., Монахова Е.В., Писанов Р.В., Водопьянов С.О., Чемисова О.С., Кругликов В.Д., Титова С.В. Ретроспективный молекулярно-эпидемиологический анализ эпидемии холеры в Республике

Дагестан в 1994 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2016; 4:33–41. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-4-33-41.

17. Gladkikh A.S., Feranchuk S.I., Ponomareva A.S., Bochalgin N.O., Mironova L.V. Antibiotic resistance in *Vibrio cholerae* El Tor strains isolated during cholera complications in Siberia and the Far East of Russia. *Infect. Genet. Evol.* 2020; 78:104096. DOI: 10.1016/j.meegid.2019.104096.

18. Монахова Е.В., Ghosh A., Mutreja A., Weill F.-X., Ramamurthy T. Эндемичная холера в Индии и завозная холера в России: что общего? *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 3:17–26. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-17-26.

19. Гаевская Н.Е., Македонова Л.Д. Использование бактериофагов в лабораторной диагностике холеры. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2016; 61(12):849–52. DOI: 10.1882/0869-2084-2016-61-12-849-852.

20. Погожова М.П., Гаевская Н.Е., Водопьянов А.С., Писанов Р.В., Аноприенко А.О., Романова Л.В., Тюрина А.В. Биологические свойства и генетическая характеристика экспериментальных диагностических бактериофагов *Vibrio cholerae*. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2021; 98(3):290–7. DOI: 10.36233/0372-9311-39.

21. Гумаюнова К.С., Зинина О.С., Овчинникова М.В., Гаевская Н.Е., Снягина Ю.В., Никифоров А.К. Оценка результатов испытаний экспериментального фага для диагностики холеры эльтор. *Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова*. 2021; 17(4):34–40.

22. Савельев В.Н., Ковалев Д.А., Савельева И.В., Таран Т.В., Подопригора Е.И., Васильева О.В., Шапаков Н.А., Алехина Ю.А., Куличенко А.Н. Эволюция фенотипических свойств и молекулярно-генетической организации геномов штаммов *Vibrio cholerae* O1 биовара Эль Тор, выделенных от больных и из объектов окружающей среды на Кавказе с 1970 по 1998 год. *Здоровье населения и среда обитания*. 2020; 12:56–61. DOI: 10.35627/2219-5238/2020-333-12-56-61.

23. Alam M.T., Mavian C., Paisie T.K., Tagliamonte M.S., Cash M.N., Angermeyer A., Seed K.D., Camilli A., Maisha F.M., Senga R.K.K., Salemi M., Morris J.G. Jr, Ali A. Emergence and evolutionary response of *Vibrio cholerae* to novel bacteriophage, Democratic Republic of the Congo. *Emerg. Infect. Dis.* 2022; 28(12):2482–90. DOI: 10.3201/eid2812.220572.

References

1. Nair G.B., Faruque S.M., Bhuiyan N.A., Kamruzzaman M., Siddique A.K., Sack D.A. New variants of *Vibrio cholerae* O1 biotype El Tor with attributes of the classical biotype from hospitalized patients with acute diarrhea in Bangladesh. *J. Clin. Microbiol.* 2002; 40(9):3296–9. DOI: 10.1128/JCM.40.9.3296-3299.2002.

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

3. Bhandari M., Jennison A.V., Rathnayake I.U., Huygens F. Evolution, distribution and genetics of atypical *Vibrio cholerae* – A review. *Infect. Genet. Evol.* 2021; 89:104726. DOI: 10.1016/j.meegid.2021.104726.

4. Mutreja A., Kim D.W., Thomson N.R., Connor T.R., Lee J.H., Kariuki S., Croucher N.J., Choi S.Y., Harris S.R., Lebens M., Niyogi S.K., Kim E.J., Ramamurthy T., Chun J., Wood J.L., Clemens J.D., Czerkinsky C., Nair G.B., Holmgren J., Parkhill J., Dougan G. Evidence for several waves of global transmission in the seventh cholera pandemic. *Nature*. 2011; 477(7365):462–5. DOI: 10.1038/nature10392.

5. Faruque S.M., Naser I.B., Islam M.J., Faruque A.S.G., Ghosh A.N., Nair G.B., Sack D.A., Mekalanos J.J. Seasonal epidemics of cholera inversely correlate with the prevalence of environmental cholera phages. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2005; 102(5):1702–7. DOI: 10.1073/pnas.0408992102.

6. Seed K.D., Bodi K.L., Kropinski A.M., Ackermann H.-W., Calderwood S.B., Qadri F., Camilli A. Evidence of a dominant lineage of *Vibrio cholerae*-specific lytic bacteriophages shed by cholera patients over a 10-year period in Dhaka, Bangladesh. *mBio*. 2011; 2(1):e00334-10. DOI: 10.1128/mBio.00334-10.

7. Faruque S.M., Mekalanos J.J. Phage-bacterial interactions in the evolution of toxigenic *Vibrio cholerae*. *Virulence*. 2012; 3(7):556–65. DOI: 10.4161/viru.22351.

8. Angermeyer A., Das M.M., Singh D.V., Seed K.D. Analysis of 19 highly conserved *Vibrio cholerae* bacteriophages isolated from environmental and patient sources over a twelve-year period. *Viruses*. 2018; 10(6):299–310. DOI: 10.3390/v10060299.

9. Boyd C.M., Angermeyer A., Hays S.G., Barth Z.K., Patel K.M., Seed K.D. Bacteriophage ICP1: a persistent predator of *Vibrio cholerae*. *Annu. Rev. Virol.* 2021; 8(1):285–304. DOI: 10.1146/annurev-virology-091919-072020.

10. O'Hara B.J., Barth Z.K., McKitterick A.C., Seed K.D. A highly specific phage defense system is a conserved feature of the *Vibrio cholerae* mobilome. *PLoS Genet.* 2017; 13(6):e1006838. DOI: 10.1371/journal.pgen.1006838.

11. Angermeyer A., Hays S.G., Nguyen M.H.T., Johura F.T., Sultana M., Alam M., Seed K.D. Evolutionary sweeps of subvi-

ral parasites and their phage host bring unique parasite variants and disappearance of a phage CRISPR-Cas system. *mBio*. 2022; 13(1):e03088-21. DOI: 10.1128/mbio.03088-21.

12. Barth Z.K., Silvas T.V., Angermeyer A., Seed K.D. Genome replication dynamics of a bacteriophage and its satellite reveal strategies for parasitism and viral restriction. *Nucl. Acids Res.* 2020; 48(1):249–63. DOI: 10.1093/nar/gkz1005.

13. McKitterick A.C., Seed K.D. Anti-phage islands force their target phage to directly mediate island excision and spread. *Nat. Commun.* 2018; 9(1):e2348. DOI: 10.1038/s41467-018-04786-5.

14. Smirnova N.I., Agafonov D.A., Shchelkanova E.Yu., Rybalchenko D.A., Kritsky A.A., Al'khova Zh.V., Krasnov Ya.M., Agafonova E.Yu., Kutyrev V.V. [Structural and functional changes of the genome in avirulent *Vibrio cholerae* strains biovar El Tor, genotype *ctxA+tcpA+*]. *Molekulyarnaya Genetika, Mikrobiologiya i Virusologiya [Molecular Genetics, Microbiology and Virology]*. 2020; 38(3):108–19. DOI: 10.17116/molgen202038031108.

15. Smirnova N.I., Zadnova S.P., Agafonov D.A., Shashkova A.V., Cheldyshova N.B., Cherkasov A.V. [Comparative molecular-genetic analysis of mobile elements in natural strains of cholera agent]. *Genetika [Russian Journal of Genetics]*. 2013; 49(9):1036–47. DOI: 10.78.68/SOO16675813090087.

16. Onishchenko G.G., Moskvitina E.A., Vodop'yanov A.S., Monakhova E.V., Pisanov R.V., Vodop'yanov S.O., Chemisova O.S., Kruglikov V.D., Titova S.V. [Retrospective molecular-epidemiological analysis of cholera epidemic in the Republic of Dagestan in 1994]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016; (4):33–41. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-4-33-41.

17. Gladkikh A.S., Feranchuk S.I., Ponomareva A.S., Bochalgin N.O., Mironova L.V. Antibiotic resistance in *Vibrio cholerae* El Tor strains isolated during cholera complications in Siberia and the Far East of Russia. *Infect. Genet. Evol.* 2020; 78:104096. DOI: 10.1016/j.meegid.2019.104096.

18. Monakhova E.V., Ghosh A., Mutreja A., Weill F.-X., Ramamurthy T. [Endemic cholera in India and imported cholera in Russia: what is common?] *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; (3):17–26. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-17-26.

19. Gaevskaya N.E., Makedonova L.D. [The application of bacteriophages in laboratory diagnosis of cholera]. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika [Russian Clinical Laboratory Diagnostics]*. 2016; 61(12):849–52. DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-12-849-852.

20. Pogozhova M.P., Gayevskaya N.E., Vodop'yanov A.S., Pisanov R.V., Anoprienko A.O., Romanova L.V., Tyurina A.V. [Biological properties and genetic characteristics of experimental diagnostic *Vibrio cholerae* bacteriophages]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2021; 98(3):290–7. DOI: 10.36233/0372-9311-39.

21. Gumayunova K.S., Zinina O.S., Ovchinnikova M.V., Gaevskaya N.E., Sinyagina Yu.V., Nikiforov A.K. [Evaluation of the test results of an experimental phage for the diagnosis of cholera El Tor]. *[Bulletin of Biotechnology and Physicochemical Biology named after Yu.A. Ovchinnikov]*. 2021; 17(4):34–40.

22. Savel'ev V.N., Kovalev D.A., Savel'yeva I.V., Taran T.V., Podoprigora E.I., Vasilyeva O.V., Shapakov N.A., Alekhina Y.A., Kulichenko A.N. [The evolution of phenotypic properties and molecular-genetic organization of genomes of *Vibrio cholerae* O1 El Tor variant strains isolated from patients and environmental objects in the Caucasus in 1970–1998]. *Zdorov'e Naseleniya i Sreda Obitaniya [Public Health and Life Environment]*. 2020; 12(333):56–61. DOI: 10.35627/2219-5238/2020-333-12-56-61.

23. Alam M.T., Mavian C., Paisie T.K., Tagliamonte M.S., Cash M.N., Angermeyer A., Seed K.D., Camilli A., Maisha F.M., Senga R.K.K., Salemi M., Morris J.G. Jr, Ali A. Emergence and evolutionary response of *Vibrio cholerae* to novel bacteriophage, Democratic Republic of the Congo. *Emerg. Infect. Dis.* 2022; 28(12):2482–90. DOI: 10.3201/eid2812.220572.

Authors:

Zadnova S.P., Plekhanov N.A., Spirina A.Yu., Shvidenko I.G. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Savel'ev V.N. Stavropol Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: stavnipchi@mail.ru.

Об авторах:

Заднова С.П., Плеханов Н.А., Спирина А.Ю., Швиденко И.Г. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Савельев В.Н. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: stavnipchi@mail.ru.