

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-132-139

УДК 616.932:579.61

Е.В. Монахова¹, В.Д. Кругликов¹, А.С. Водопьянов¹, Я.М. Краснов², С.Д. Катышев²,
Н.А. Шарапова², Л.П. Алексеева¹, Е.А. Меньшикова¹, В.В. Евдокимова¹, М.И. Ежова¹, **А.К. Носков¹**

Характеристика CTX⁺ штамма *Vibrio cholerae* O1, выделенного в 2023 г. из реки Темерник в Ростове-на-Дону

¹ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт», Ростов-на-Дону, Российская Федерация;

²ФКУН «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация

Цель работы – определение фено- и генотипических особенностей CTX⁺ штамма *Vibrio cholerae*, выделенного в 2023 г. из пробы воды, и сравнительный биоинформационный анализ данных полногеномного секвенирования. **Материалы и методы.** Полногеномное секвенирование выполняли на платформах MiSeq (Illumina) и MinIon (Oxford Nanopore Technologies), гибридную сборку полного генома проводили с использованием алгоритма TruSeq, устранение ошибок сборки – с помощью алгоритма Medaka и программы Pilon. Построение дендрограммы и биоинформационный анализ осуществляли с использованием пакетов SciPy и Graphviz, программ BioEdit, BLASTN, BLASTP, CARD, ICE Genotyper, Vector NTI. Способность к токсинопродукции проверяли с помощью иммуноферментного анализа GM₁ИФА. **Результаты и обсуждение.** Выделенный штамм идентифицирован как *V. cholerae* O1 Огава, чувствительный к большинству антибиотиков. По совокупности генетических свойств он отнесен к первым геновариантам, отличающимся от типовых штаммов Эль Тор только наличием гена *ctxB1* классического типа вместо *ctxB3* типа Эль Тор. Установлено, что он содержит tandemно дублицированный профаг CTX в составе малой хромосомы и tandem из двух копий профага RS1 в составе большой. При этом ген *rstR* профага CTX относился к классическому типу, а профага RS1 – к типу Эль Тор. Остальные критерии эпидемической опасности – *tcpA^{elt}*, *rtxA1* и интактный VSP-II – не отличались от прототипов. В геноме штамма обнаружен ICE-элемент VchBan11, содержащий ген устойчивости к триметоприму *dfrA1*, и фенотипически штамм устойчив к этому антибиотику. В условиях *in vitro* штамм не продуцировал холерный токсин, как показали результаты ИФА. Возможно, это связано с наличием делеции в регуляторном гене *toxR*. Штаммы, подобные изоляту 2023 г., относят в основном ко второй волне седьмой пандемии. В настоящее время они практически вытеснены новыми геновариантами, но изредка могут встречаться и даже вызывать заболевания. Поэтому их заносы на территорию России потенциально могут представлять угрозу здоровью населения.

Ключевые слова: *Vibrio cholerae*, полногеномное секвенирование, гибридная сборка, биоинформационный анализ, профаг CTX, профаг RS1, ICE-элемент, GM₁ИФА.

Корреспондирующий автор: Монахова Елена Владимировна, e-mail: monakhova_ev@antiplague.ru.

Для цитирования: Монахова Е.В., Кругликов В.Д., Водопьянов А.С., Краснов Я.М., Катышев С.Д., Шарапова Н.А., Алексеева Л.П., Меньшикова Е.А., Евдокимова В.В., Ежова М.И., Носков А.К. Характеристика CTX⁺ штамма *Vibrio cholerae* O1, выделенного в 2023 г. из реки Темерник в Ростове-на-Дону. Проблемы особо опасных инфекций. 2024; 2:132–139. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-132-139

Поступила 23.11.2023. Отправлена на доработку 11.01.2024. Принята к публ. 31.01.2024.

E.V. Monakhova¹, V.D. Kruglikov¹, A.S. Vodop'yanov¹, Ya.M. Krasnov², S.D. Katyshev²,
N.A. Sharapova², L.P. Alekseeva¹, E.A. Men'shikova¹, V.V. Evdokimova¹, M.I. Ezhova¹, **A.K. Noskov¹**

Characteristics of *Vibrio cholerae* O1 CTX⁺ Strain Isolated from the Temernik River in Rostov-on-Don in 2023

¹Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don, Russian Federation;

²Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation

Abstract. The aim of the work was to determine the pheno- and genotypic features of the aquatic CTX⁺ strain of *Vibrio cholerae* isolated in 2023 and a comparative bioinformatic analysis of whole-genome sequencing data. **Materials and methods.** Whole-genome sequencing was performed on MiSeq (Illumina) and MinIon Oxford Nanopore Technologies (ONT) platforms; hybrid assembly of the whole genome was carried out using the TruSeq algorithm; assembly errors were eliminated by means of the Medaka algorithm and the Pilon program. Dendrogram construction and bioinformatics analysis were carried out with the help of the scipy and Graphviz packages, BioEdit, BLASTN, BLASTP, CARD, ICE Genotyper, and Vector NTI programs. The ability to produce cholera toxin was tested using the GM₁ELISA. **Results and discussion.** The isolated strain was identified as *V. cholerae* O1 Ogawa, sensitive to most antibiotics. Based on the totality of genetic properties, it was classified as the first genovariant, distinct from the typical El Tor strains only by the presence of *ctxB1* gene of classical type instead of *ctxB3* of the El Tor type. It has been established that it contains a tandemly duplicated CTX prophage on the small chromosome and a tandem of two copies of RS1 prophage on the large chromosome. Thereat, the *rstR* gene of the CTX prophage belonged to the classical type, and the RS1 prophage – to the El Tor type. The remaining criteria of epidemic hazard – *tcpA^{elt}*, *rtxA1* and intact VSP-II did not differ from the prototypes. The genome of the strain carries the ICE element VchBan11, which contains the trimethoprim resistance gene *dfrA1*, and phenotypically the strain is resistant to this antibiotic. Under *in vitro* conditions, the strain did not produce cholera toxin, as shown by ELISA results. This may be due to the presence of a deletion within the *toxR* regulatory gene. Strains similar to the 2023 isolate are mainly attributed to the second wave of the seventh pandemic. Currently, they are almost replaced by new genovariants, but occasionally can emerge and even cause diseases. Therefore, their importation into Russian territory potentially pose a threat to public health.

Key words: *Vibrio cholerae*, whole genome sequencing, hybrid assembly, bioinformatics analysis, CTX prophage, RS1 prophage, ICE element, GM₁ELISA assay.

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

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

Corresponding author: Elena V. Monakhova, e-mail: monakhova_ev@antiplague.ru.

Citation: Monakhova E.V., Kruglikov V.D., Vodop'yanov A.S., Krasnov Ya.M., Katyshev S.D., Sharapova N.A., Alekseeva L.P., Men'shikova E.A., Evdokimova V.V., Ezhova M.I., Noskov A.K. Characteristics of *Vibrio cholerae* O1 CTX⁺ Strain Isolated from the Temernik River in Rostov-on-Don in 2023. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2024; 2:132–139. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-132-139
Received 23.11.2023. Revised 11.01.2024. Accepted 31.01.2024.

Monakhova E.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9216-7777>
Kruglikov V.D., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6540-2778>
Vodop'yanov A.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9056-3231>
Krasnov Ya.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4909-2394>
Katyshev S.D., ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-7575-653X>
Sharapova N.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5289-7783>

Alekseeva L.P., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9866-3579>
Men'shikova E.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6003-4283>
Evdokimova V.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5522-9097>
Ezhova M.I., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4254-3313>
Noskov A.K., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0550-2221>

В текущем столетии выделение токсигенных (CTX⁺) штаммов *Vibrio cholerae* из объектов окружающей среды (ООС) в Российской Федерации стало крайне редким событием, возможно, в связи с отсутствием эпидемических вспышек, когда возбудители попадали в открытые водоемы и сохранялись в них в течение непродолжительного времени. На фоне эпидблагополучия заносы CTX⁺ штаммов в ООС имели единичный характер, а завозные спорадические случаи холеры благодаря своевременной изоляции больных не сопровождались дальнейшим распространением инфекции. Последняя локальная вспышка холеры имела место в Казани в 2001 г., в это же время возбудители обнаруживались в сточных водах и открытых водоемах. С 2000 г. токсигенные изоляты встречались в ООС изредка на фоне ежегодного выделения нетоксигенных штаммов [1].

В частности, в Ростове-на-Дону из речной воды было выделено всего шесть CTX⁺ штаммов *V. cholerae*: три – в 2001 г. и по одному – в 2000, 2003 и 2014 гг. В Ростовской области (г. Таганрог) из морской воды был изолирован один штамм в 2011 г. Из всех остальных регионов РФ только в Санкт-Петербурге из речной воды был выделен единственный токсигенный штамм в 2005 г. [2]. Эти изоляты различались по наборам основных критериев эпидемической опасности (аллели генов *ctxB*, *tcpA*, *rtxA*, структура острова пандемичности VSP-II): штамм 2000 г. являлся «прототипным» Эль Тор (*ctxB3 tcpA^{elt}*, *rtxA1*, интактный VSP-II); штаммы 2001, 2003 и 2005 гг. были представителями «первых геновариантов», отличавшихся от прототипных только заменой аллеля *ctxB3* на *ctxB1*, тогда как штаммы 2011 и 2014 гг. относились к «предгаитянской» группе (*ctxB1 tcpA^{CIRS}*, *rtxA4*, VSP-IIΔ0495-0512 п.н.) [2, 3]. В последующие девять лет CTX⁺ штаммы в ООС РФ не встречались. Однако в 2023 г. в Ростове-на-Дону выделен токсигенный штамм из воды реки Темерник. Изучение его биологических свойств и структуры генома представляло не только научный, но и практический интерес с точки зрения определения степени потенциальной эпидемической опасности.

Цель работы состояла в определении фенотипических особенностей CTX⁺ штамма *V. cholerae*, выделенного в 2023 г. из пробы воды, и сравнительном биоинформационном анализе данных полногеномного секвенирования.

Материалы и методы

Выделение и первичную идентификацию штамма, а также определение его чувствительности к антибактериальным препаратам осуществляли согласно МУК 4.2.3745-22 «Методы лабораторной диагностики холеры».

Для определения способности к продукции холерного токсина (СТ) *in vitro* использовали жидкие питательные среды АК1, LB и бульон Мартена. Культивирование проводили по способу, предложенному М. Iwanaga и Т. Kuuyakanond [4]. Исходным материалом для определения уровня продукции СТ служили обеззараженные супернатанты бульонных культур, которые получали в результате удаления бактериальных клеток центрифугированием. Количество синтезируемого СТ определяли с помощью иммуноферментного анализа GM₁ИФА по стандартной методике [5]. В качестве детектирующих антител использовали моноклональные анти-токсические иммуноглобулины, направленные к субъединице В. Отрицательным контролем служил супернатант нетоксигенного штамма, а положительным – раствор очищенного СТ.

Полногеномное секвенирование выполнено на платформах MiSeq (Illumina) и MinIon (Oxford Nanopore Technologies, ONT). Гибридную сборку полного генома провели, используя данные секвенирования двух технологий и алгоритм TruSeq [6, 7]. Исправления ошибок сборки проводили в два этапа: картированием на сборку длинных прочтений ONT, используя алгоритм Medaka [8], после чего с помощью программы Pilon [9] и коротких прочтений Illumina устраняли оставшиеся ошибки.

Идентификацию генетических детерминант факторов патогенности и лекарственной устойчивости в полногеномных сиквенсах (WGSs) осуществляли с использованием пакета программ BioEdit 7.2.5 (<http://www.mbio.ncsu.edu/bioedit>) и базы CARD (<https://card.mcmaster.ca>), как описано ранее [10]. Анализ нуклеотидных последовательностей генов и аминокислотных (aa) последовательностей продуктов их трансляции (*in silico*) проводили с помощью пакета программ Vector NTI Advance 11 (Invitrogen), также использовали онлайн BLASTN и BLASTP-анализ (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>). Прототипами служили генетические детерминанты

референс-штамма *V. cholerae* N16061 (AE003852, AE003853).

При проведении филогенетического анализа использовали «черновые» полные геномы (WGSs) *ctxAB⁺tcpA⁺* штаммов *V. cholerae* O1 Эль Тор, полученные как непосредственно авторами на платформе MiSeq Illumina, так и из баз данных NCBI и ENA (European nucleotide archive). Сборку геномов из полученных единичных прочтений (ридов) осуществляли с помощью программы Spades [11], поиск SNP – по методике, описанной ранее [12].

Построение минимального остоного дерева проводили с использованием модуля minimum spanning tree, разбиение на кластеры – с помощью модуля connected components из пакета SciPy [13]. Для визуализации дендрограммы использовали пакет Graphviz [14], для визуальной обводки кластеров – модуль ConvexHull из пакета SciPy [13].

Поиск ICE-элементов осуществляли с помощью разработанной нами программы *V. cholerae* ICE Genotyper [15].

Результаты и обсуждение

Выделение и первичная идентификация штамма. Штамм *V. cholerae* 83 выделен 05.07.2023 в рамках мониторинга за холерой из воды р. Темерник на территории Ботанического сада Ростова-на-Дону (точка забора № 5 у моста, место неорганизованного рекреационного водопользования, дата отбора пробы 03.07.2023). Следует отметить, что ранее в этой же точке на фоне выделения нетоксигенных (CTX⁻) штаммов дважды обнаруживались токсигенные (2003 и 2014 гг.), один из которых был представителем первых геновариантов, а второй относился к «предгаитянской» группе [2].

Изолят 83 обладал всеми фенотипическими признаками *V. cholerae* O1 Эль Тор, агглютинировался диагностическими сыворотками O1 и Огава до титра. По результатам ПЦР в режиме реального времени имел генотип *wbe⁺wbf ctxA⁺tcpA⁺hly⁺* (тест-система «АмплиСенс *V. cholerae*-FL», серия 30.05.2023, годна до 01.03.2024).

Гибридная сборка полного генома. Изучение подходов к гибридной сборке полного бактериального генома различными алгоритмами показало эффективность программного пакета TruSeq. Алгоритм TruSeq описан в работах R.R. Wick *et al.* [6, 7]. Данный подход предполагает сборку генома из длинных прочтений Oxford Nanopore с помощью алгоритма TruSeq и дальнейшее исправление мелких ошибок в полученной сборке алгоритмом Medaka с помощью длинных прочтений ONT и алгоритмом Pilon с помощью коротких прочтений Illumina. Таким образом, сборка геномов проводилась только из длинных прочтений, что позволяет наиболее точно установить структуру генома, а короткие прочтения использовались только для исправления мелких ошибок сборки. Нами проведена гибридная сборка генома штамма *V. cholerae* 83 из данных секвениро-

вания по технологиям Oxford Nanopore и Illumina. В результате получены полные нуклеотидные последовательности двух хромосом, замкнутые в кольцо (3111291 и 1093860 п.н. соответственно), GC-состав – 47,4 %.

Филогенетический анализ. Для проведения филогенетического анализа составлена коллекция геномов штаммов холерных вибрионов, выделенных на территориях РФ, а также в других регионах мира в период 1994–2023 гг., включая данные NCBI GenBank. Анализ по 59 тыс. SNP позволил построить дендрограмму, отражающую генетическую близость между различными штаммами (рис. 1).

Как видно из рис. 1, изучаемый штамм оказался наиболее генетически близок первым геновариантам из Ростова-на-Дону (2003 г.), Дагестана и Мариуполя (1994 г.), Владивостока и Сахалина (1999 г.), Санкт-Петербурга (2005 г.), Ялты (2010 г.); в этот же кластер попали и штаммы из Южной Кореи и Тайваня (2016 г.), а также, как ни странно, возбудители локальной вспышки холеры в Ставрополе (1990 г.), которые представляли собой прототипные штаммы Эль Тор, хотя они образовали наиболее отдаленную ветвь. Другие кластеры включали, наряду с первыми геновариантами, штаммы всех групп («предгаитянской», «гаитянской») и «постгаитянской», а также отдельных представителей прототипных Эль Тор [2]. Таким образом, исследуемый штамм, скорее всего, относился к первым геновариантам. Для подтверждения мы провели идентификацию отдельных маркеров эпидемического потенциала.

Идентификация генетических детерминант основных маркеров эпидемического потенциала в геноме выделенного штамма. В результате анализа нуклеотидных последовательностей двух хромосом, полученных с помощью гибридной сборки, установлено, что исследуемый штамм содержит в составе большой хромосомы тандем из двух идентичных друг другу профагов RS1, между которыми находится сайт специфической интеграции *attRS*. В обоих копиях ген *rstR* представлен аллелем Эль Тор (*rstR^{elit}*). Рядом с тандемом локализован кластер RTX, ответственный за продукцию высокомолекулярного цитотоксина-актимодулятора MARTX, с интактным аллелем гена собственно токсина *rtxA1*. Таким образом, тандем RS1 занимает позицию, характерную для профага CTX, однако последний на большой хромосоме отсутствует (рис. 2, А). В то же время CTX обнаружен в составе малой хромосомы, также в виде тандема их двух профагов, разделенных *attRS* (рис. 2, В). Интересно, что *rstR* профага RS1 относился к типу Эль Тор, а в элементе RS2 профага CTX – к классическому типу. Однако в промоторной области гена *ctxA* присутствовало четыре повтора TTTTGAT, как у вибрионов Эль Тор, а не семь-восемь, обычно обнаруживаемых у классических штаммов.

Такие профаги CTX относятся к типу CTX-2 [16, 17], также обозначаемому как CTX^{Moz}, поскольку

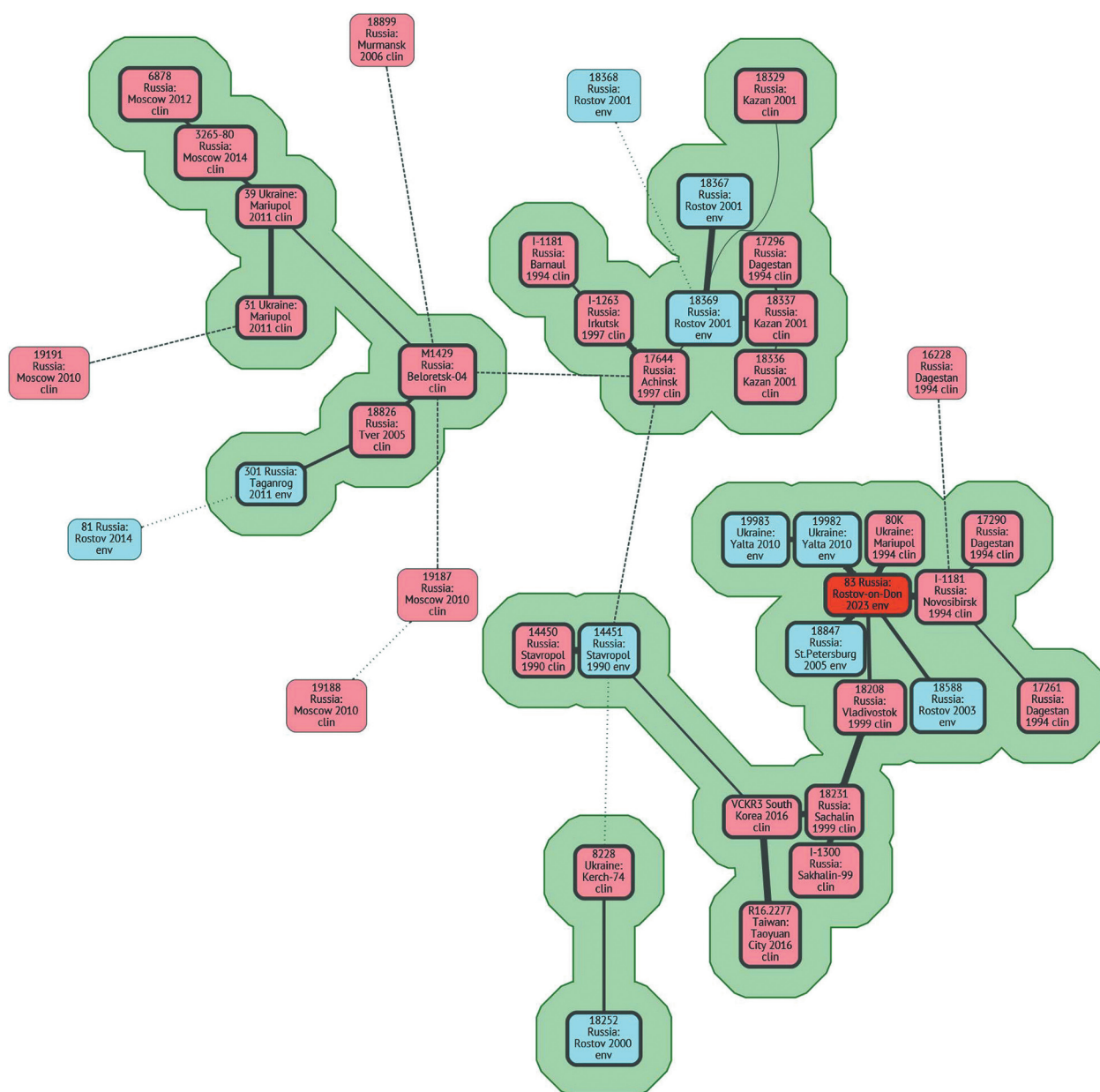


Рис. 1. Дендрограмма, построенная по итогам анализа WGSs токсигенных (CTX⁺) штаммов *V. cholerae* O1: красный цвет – штамм 83; розовый – штаммы, изолированные от людей; голубой – из объектов окружающей среды

Fig. 1. Dendrogram constructed based on the results of WGSs analysis of toxigenic (CTX⁺) *V. cholerae* O1 strains: red – strain 83; pink – strains isolated from humans; blue – isolated from environment

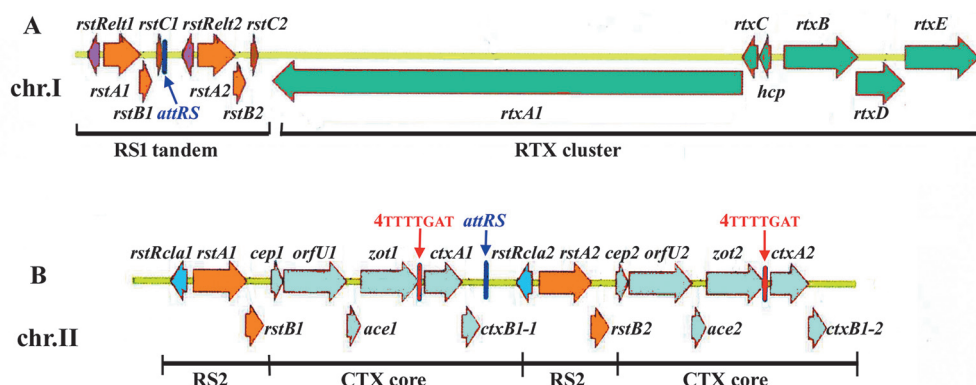


Рис. 2. Структура тандемно дуплицированных профагов:

A – RS1, локализованные в составе большой хромосомы рядом с кластером RTX; B – CTX в составе малой хромосомы

Fig. 2. Structure of tandemly duplicated prophages:

A – RS1, localized on the large chromosome near the RTX cluster; B – CTX on the small chromosome

ку были выявлены вначале у мозамбикских штаммов 2004 г. [18], хотя в литературе имеются указания на их распространение и в других странах и на принадлежность ко второй волне седьмой пандемии [16, 17]. При этом у разных штаммов данной группы наблюдается некоторая вариабельность: помимо тандема из двух CTX^{Moz} на малой хромосоме, они могут содержать в составе большой хромосомы тандем CTX^{Moz}-RS1^{cla}, CTX^{Moz}-RS1^{env}-RS1^{env} либо, как в нашем случае, RS1^{elt}-RS1^{elt} и др., тогда как у некоторых на большой хромосоме оба профага отсутствуют [18]. Сравнение нашего тандема с таковым одного из мозамбикских штаммов (IB1482, GQ466612) с помощью программы AlignX из пакета Vector NTI показало почти полную их идентичность (не считая одного полиморфизма в дистальной части обоих *rstB*, что, впрочем, наблюдается и среди других изолятов мозамбикской группы).

Как отмечено выше, геном штамма *V. cholerae* 83 содержит остров патогенности VPI с геном *tcpA*^{elt}, RTX-кластер с интактным аллелем гена *rtxA1*, а также полный остров пандемичности VSP-II без делеций.

Таким образом, новый изолят 2023 г. действительно принадлежал к первым геновариантам, что было для нас неожиданным, поскольку основная масса токсигенных штаммов холерных вибрионов, циркулирующих в мире в настоящее время, относятся к «гаитянской» либо «постгаитянской» группе. Тем не менее такие штаммы изредка продолжали встречаться среди как клинических, так и водных изолятов по меньшей мере до 2016 г., когда в Южной Корее вызвали три случая холеры, не связанные с завозами. Заболевшие накануне употребляли морепродукты, и в это же время еще один штамм с идентичным генотипом был выделен из морской воды [19]. По данным проведенного нами анализа, эти штаммы, по всей вероятности, содержали и профаг CTX (*rstR*^{cla}-*ctxB1*), и RS1 (*rstR*^{elt}), однако установить их копийность и локализацию не представляется возможным, поскольку в NCBI депонированы только WGSs, а не последовательности двух хромосом. Кроме того, такие штаммы были обнаружены в 2015–2018 гг. среди возбудителей сезонных вспышек холеры в Бангладеш наряду с «гаитянскими» и «постгаитянскими» изолятами [20]. В их WGSs, имеющихся в NCBI, мы идентифицировали тандем RS1(*rstR*^{elt})-CTX (*rstR*^{elt}-*ctxB1*) прямо перед кластером RTX, что свидетельствует о его локализации на большой хромосоме. Следовательно, штаммы из Бангладеш отличались от мозамбикских, но все равно принадлежали к первым геновариантам. Позднее о таких штаммах не сообщалось, но занос одного из них в 2023 г. свидетельствует о том, что они еще сохраняются на каких-то зарубежных территориях.

Определение токсинопродукции и анализ регуляторных генов. Результаты иммуноферментного анализа GM₁ИФА показали полное отсутствие СТ в супернатантах штамма 83, выращенного на всех трех питательных средах. Ранее аналогичное явление выявлено Н.И. Смирновой и соавт. [21] для

двух *ctxA*⁺*tcpA*⁺ водных изолятов из Ялты (2010 г.), также использованных в настоящей работе (см. выше). Авторами установлена причина отсутствия токсинопродукции – нарушение целостности гена глобального регулятора *toxR* за счет однонуклеотидной делеции T357 и образовавшегося в результате преждевременного стоп-кодона, что привело к укорочению гена с 885 до 358 п.н. и, соответственно, его продукта на 187 аа. В результате были утрачены цитоплазматический, трансмембранный и периплазматический домены, присутствующие в интактном белке ToxR. Мы предположили, что ген *toxR* штамма 83 содержит такую же делецию, поскольку, как показано выше, он близок к ялтинским изолятам 2010 г. Однако оказалось, что в его гене *toxR* присутствует совсем другая делеция 12 п.н. (777–788), но не сопровождающаяся формированием преждевременного стоп-кодона либо сдвигом рамки считывания. Продукт трансляции утратил 4 аа (NNQL 259–262) ближе к С-концу, при этом, в отличие от ялтинских штаммов, сохранив все активные домены, которые локализованы в N-концевой части молекулы. Тем не менее неизвестно, каким образом эта делеция могла повлиять на третичную структуру белка ToxR и его функциональную активность. По всей вероятности, она явилась основной причиной отсутствия продукции СТ, поскольку остальные гены, причастные к регуляции экспрессии *ctxAB* (*toxS*, *toxT*, *tcpH*, *tcpP*, *aphA*), оставались интактными и были на 100 % идентичны прототипам. Таким образом, существуют, видимо, и другие пути «выключения» продукции полноценного белка ToxR. Кроме того, мы не исключаем, что штамм окажется способным к токсинопродукции в других условиях, поскольку в настоящем исследовании ее определяли только методом ИФА в супернатантах культуры, выращенной *in vitro*. С другой стороны, мы обратили внимание на тот факт, что детально изученные ранее два изолята из ООС 2011 и 2014 гг. (штаммы 301 и 81) [22, 23] активно продуцировали СТ на моделях *in vitro* и *in vivo*, несмотря на то, что их ген *toxR* в результате уникальной делеции 5 п.н. (51–55), сдвига рамки и формирования преждевременного стоп-кодона укоротился до 66 п.н., что исключало образование полноценного продукта. Однако ниже этой усеченной рамки считывания образовалась другая (188–880 п.н.) со старт-кодоном GTG длиной 693 п.н. Интересно, что продукт ее трансляции идентифицирован программой BLASTP как ToxR и в нем выявлены такие же потенциальные активные домены, как у интактного белка: ДНК-связывающие CadC1 и PRK10153, трансмембранный *trans_reg_C*, характерные для активаторов транскрипции. Известно, что ToxR может инициировать синтез СТ не только напрямую, связываясь с промотором *ctxA*, но и через активацию при участии TcrHP промотора *toxT* – гена другого позитивного регулятора токсинопродукции [24–27]. Промоторы, как *ctxA*, так и *toxT*, обычно заблокированы в дистальном участке негативным регулятором транскрипции H-NS, и ToxR должен вытеснить

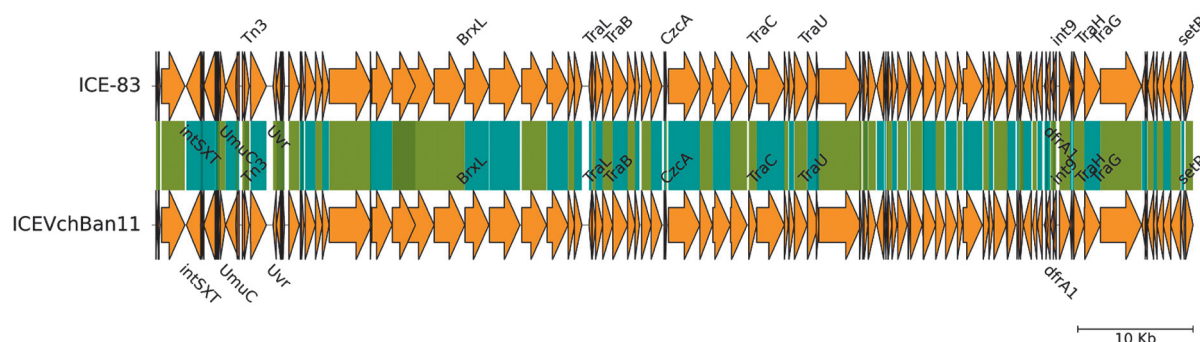

 Рис. 3. Структура ICE-элемента штамма 83 в сравнении с ICEVchBan11 *V. cholerae*

 Fig. 3. Structure of the ICE element of the strain 83 as compared to ICEVchBan11 *V. cholerae*

этот репрессор, заняв его место [27, 28]. При этом связывание с промотором зависит от конфигурации «крыла» домена CadC1 (wHTH – winged helix-turn-helix) [25]. Поэтому мы не исключаем, что в одном случае (штамм 83) при формировании третичной структуры белка этот домен мог за счет делеции 4 аа в дистальной части изменить форму несмотря на идентичность его первичной структуры прототипу, а в другом (штаммы 301 и 81) – напротив, продукт укороченной с N-конца рамки считывания сохранил способность связывания с промоторами регулируемых генов, даже будучи усеченным с N-конца на 52 аа по сравнению с прототипом. Следует иметь в виду, что данное предположение на текущий момент не имеет экспериментального подтверждения.

Антибиотикорезистентность и ее генетические детерминанты. Фенотипически штамм 83 был чувствителен к большинству использованных в исследовании антибиотиков: гентамицину, цефтриаксону, доксициклину, левомицитину, азитромицину, рифампицину, кларитромицину, цефаклору. Эти данные совпадают с результатами поиска детерминант лекарственной устойчивости: в его геноме отсутствовали гены *aar2/aar3* (гентамицин), *blaCTX-M* (цефтриаксон и другие цефалоспорины), *tetA/tetR* (тетрациклин), *floR/catB9* (хлорамфеникол), а также гены резистентности к эритромицину *eryR*, канамицину *aphA1* и фторхинолонам *qnrVC3*. Вместе с тем выявлена устойчивость к нескольким антибактериальным препаратам. Резистентность к ампициллину, по-видимому, обусловлена либо геном *varG* (поскольку в WGS не обнаружено детерминант других бета-лактамаз – *blaP1*, *blaTEM*, *blaOxa-10*, *blaVCC-1*, *carbB7*, *carbB9*), либо работой эффлюкс-помп (MFS, CRP, *VcmABDHMN*); к стрептомицину – геном *aadI* (*strA*, *strB* отсутствовали), к триметоприму – *dhfrA1* (единственным найденным в геноме из нескольких известных вариантов *dhfr*), к сульфаметоксазолу – *sulI*. В то время как выявленные детерминанты находились в разных участках генома (в разных хромосомах), ген *dhfrA1* оказался в составе интегративно-конъюгативного элемента (ICE). Использование программы *V. cholerae* ICE Genotyper позволило

установить, что в геноме изучаемого штамма содержится элемент ICEVchBan11. Сравнительный анализ состава генов показал полное соответствие между ICE-элементом изучаемого штамма и использованным в качестве референсного ICEVchBan11 из WGS *V. cholerae* I-1330 (RHDL00000000) (рис. 3).

Такие же ICE-элементы выявлены ранее сотрудниками Иркутского противочумного института у других первых геновариантов – штаммов I-1298, I-1300, I-1334, I-1344, I-1330, I-1316, выделенных на Дальнем Востоке в конце 1990-х гг. [29], а также нами в рамках настоящего исследования у штаммов 18982, 18983 (Ялта-2010), 18588 (Ростов-2003), 17261, 16228 (Дагестан-94), 18847 (Санкт-Петербург-2005), тогда как у изолятов из Южной Кореи (2016) ICE-элемент не обнаружен, а у некоторых недавних первых геновариантов из Бангладеш выявлен ICE-элемент, сходный с таковым клинического индийского изолята IDH_1986 (MK165649.1) [18, 30].

По всей видимости, обнаружение штамма с указанными генетическими характеристиками связано с новым заносом в РФ с одной из зарубежных территорий, на которой такие штаммы до сих пор сохраняются. Это объясняется известным фактом, что смена геновариантов не происходит одномоментно и «старые» в течение различных по длительности периодов времени сосуществуют с «новыми», которые постепенно занимают доминирующее положение в этиологии холеры. Заболевания, вызываемые холерными вибрионами, подобными штамму 83, зачастую носят спорадический характер и не приводят к эпидемическим вспышкам. Не исключено также, что они кратковременно персистируют в окружающей среде, если находят для этого благоприятные условия. Поэтому их заносы на территорию России потенциально могут представлять угрозу здоровью населения.

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

- Ежова М.И., Левченко Д.А., Архангельская И.В., Кругликов В.Д., Непомнящая Н.Б. Особенности биологических свойств *Vibrio cholerae*, изолированных в процессе мониторинга водных объектов Ростова-на-Дону с 1989 по 2018 год. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2021; 1:148–51. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-1-148-151.
- 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.
- Водопьянов С.О., Водопьянов А.С., Олейников И.П., Монахова Е.В. Разработка схемы типирования токсигенных холерных вибрионов на основе данных биоинформационного анализа. *Здоровье населения и среда обитания*. 2022; 30(7):66–71. DOI: 10.35627/2219-5238/2022-30-7-66-71.
- Iwanaga M., Kuuyakanond T. Large production of cholera toxin by *Vibrio cholerae* O1 in yeast extract peptone water. *J. Clin. Microbiol.* 1987; 25(1):2314–16. DOI: 10.1128/jcm.25.12.2314-2316.1987.
- Sack D.A., Huda S., Neogi P.K., Daniel R.R., Spira W.M. Microtiter ganglioside enzyme linked immunosorbent assay for *Vibrio* and *Escherichia coli* heat labile enterotoxins and antitoxin. *J. Clin. Microbiol.* 1980; 11(1):35–40. DOI: 10.1128/jcm.11.1.35-40.1980.
- Wick R.R., Judd L.M., Cerdeira L.T., Hawkey J., Meric G., Vezina B., Wyres K.L., Holt K.E. Tricycler: consensus long-read assemblies for bacterial genomes. *Genome Biol.* 2021; 22(1):266. DOI: 10.1186/s13059-021-02483-z.
- Wick R.R., Judd L.M., Holt K.E. Assembling the perfect bacterial genome using Oxford Nanopore and Illumina sequencing. *PLoS Comput. Biol.* 2023; 19(3):e1010905. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1010905.
- Sequence correction provided by ONT research. [Электронный ресурс]. URL: <https://github.com/nanoporetech/medaka> (дата обращения 24.10.2023).
- Walker B.J., Abeel T., Shea T., Priest M., Abouelliel A., Sakthikumar S., Cuomo C.A., Zeng Q., Wortman J., Young S.K., Earl A.M. Pilon: an integrated tool for comprehensive microbial variant detection and genome assembly improvement. *PLoS One*. 2014; 9(11):e112963. DOI: 10.1371/journal.pone.0112963.
- Монахова Е.В., Водопьянов А.С., Кругликов В.Д., Селянская Н.А., Писанов Р.В., Носков А.К. Молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Vibrio cholerae* nonO1/nonO139, выделенных от больных отитами на территории Российской Федерации. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2022; 99(4):465–77. DOI: 10.36233/0372-9311-215.
- Bankevich A., Nurk S., Antipov D., Gurevich A.A., Dvorkin M., Kulikov A.S., Lesin V.M., Nikolenko S.I., Pham S., Prjibelski A.D., Pyshkin A.V., Sirotkin A.V., Vyahhi N., Tesler G., Alekseyev M.A., Pevzner P.A. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *J. Comput. Biol.* 2012; 19(5):455–77. DOI: 10.1089/cmb.2012.0021.
- Водопьянов А.С., Писанов Р.В., Водопьянов С.О., Олейников И.П. Совершенствование методики SNP-типирования штаммов *Vibrio cholerae* на основе анализа первичных данных полногеномного секвенирования. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2020; 97(6):587–93. DOI: 10.36233/0372-9311-2020-97-6-9.
- Virtanen P., Gommers R., Oliphant T.E., Haberland M., Reddy T., Cournapeau D., Burovski E., Peterson P., Weckesser W., Bright J., van der Walt S.J., Brett M., Wilson J., Millman K.J., Mayorov N., Nelson A.R.J., Jones E., Kern R., Larson E., Carey C.J., Polat I., Feng Y., Moore E.W., VanderPlas J., Laxalde D., Perktold J., Cimrman R., Henriksen I., Quintero E.A., Harris C.R., Archibald A.M., Ribeiro A.H., Pedregosa F., van Mulbregt P.; SciPy 1.0 Contributors. SciPy 1.0: fundamental algorithms for scientific computing in Python. *Nat. Methods*. 2020; 17(3):261–72. DOI: 10.1038/s41592-019-0686-2.
- Ellson J., Gansner E., Koutsofios L., North S.C., Woodhull G. Graphviz – open source graph drawing tools. In: Mutzel P., Jünger M., Leipert S., editors. Graph Drawing, 9th international symposium, GD 2001, Vienna, Austria, September 23–26, 2001. Berlin, Heidelberg: Springer; 2002. P. 483–85. DOI: 10.1007/3-540-45848-4_57.
- Водопьянов А.С., Водопьянов С.О., Писанов Р.В. «*V. cholerae* ICE Genotyper» – программа для выявления и типирования интегративно-конъюгативного элемента у штаммов *V. cholerae*. Свидетельство о государственной регистрации от 21.06.2023 № 2023663855. [Электронный ресурс]. URL: <https://antiplague.ru/v-cholerae-ice-genotyper-programma-dlya-vyyavleniya-i-tipirovaniya-integrativno-konyugativnogo-elementa-ice-elementa-u-shtammov-v-cholerae>.
- 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.
- Ramamurthy T., Mutreja A., Weill F.-X., Das B., Ghosh A., Nair G.B. Revisiting the global epidemiology of cholera in conjunction with the genomics of *Vibrio cholerae*. *Front. Public Health*. 2019; 7:203. DOI: 10.3389/fpubh.2019.00203.
- Choi S.Y., Lee J.H., Kim E.J., Lee H.R., Jeon Y.S., von Seidlein L., Deen J., Ansaruzzaman M., Lucas G.M.E.S., Barreto A., Songane F.F., Mondlane C., Nair G.B., Czerkinsky C., Clemens J.D., Chun J., Kim D.W. Classical RS1 and environmental RS1 elements in *Vibrio cholerae* O1 El Tor strains harbouring a tandem repeat of CTX prophage: revisiting Mozambique in 2005. *J. Med. Microbiol.* 2010; 59(Pt. 3):302–8. DOI: 10.1099/jmm.0.017053-0.
- Ha S.-M., Chalita M., Yang S.-J., Yoon S.-H., Cho K., Seong W.K., Hong S., Kim J., Kwak H.-S., Chun J. Comparative genomic analysis of the 2016 *Vibrio cholerae* outbreak in South Korea. *Front. Public Health*. 2019; 7:228. DOI: 10.3389/fpubh.2019.00228.
- Baddam R., Sarker N., Ahmed D., Mazumder R., Abdullah A., Morshed R., Hussain A., Begum S., Shahrin L., Khan A.I., Islam M.S., Ahmed T., Alam M., Clemens J.D., Ahmed N. Genome dynamics of *Vibrio cholerae* isolates linked to seasonal outbreaks of cholera in Dhaka, Bangladesh. *mBio*. 2020; 11(1):e03339-19. DOI: 10.1128/mBio.03339-19.
- 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.
- Шашкова А.В., Агафонов Д.А., Черкасов А.В., Заднова С.П., Смирнова Н.И. Фенотипический и молекулярно-генетический анализ генетически измененного токсигенного штамма *Vibrio cholerae* 301 биовара эльтор, изолированного в 2011 году в России. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2012; 4:61–4. DOI: 10.21055/0370-1069-2012-4-61-64.
- Писанов Р.В., Ежова М.И., Монахова Е.В., Черкасов А.В., Краснов Я.М., Водопьянов А.С., Кулышань Т.А., Ливанова Л.Ф., Портенко С.А., Абдрашитова А.С., Кругликов В.Д., Титова С.В. Особенности структуры генома токсигенного штамма *Vibrio cholerae* El Tor Инаба, выделенного в 2014 г. из открытого водоема в Ростове-на-Дону. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2015; 2:63–7. DOI: 10.21055/0370-1069-2015-2-63-67.
- Goss T.J., Morgan S.J., French E.L., Krukonis E.S. ToxR recognizes a direct repeat element in the *toxT*, *ompU*, *ompT*, and *ctxA* promoters of *Vibrio cholerae* to regulate transcription. *Infect. Immun.* 2013; 81(3):884–95. DOI: 10.1128/IAI.00889-12.
- Dorman M.J., Dorman C.J. Regulatory hierarchies controlling virulence gene expression in *Shigella flexneri* and *Vibrio cholerae*. *Front. Microbiol.* 2018; 9:2686. DOI: 10.3389/fmicb.2018.02686.
- Morgan S.J., French E.L., Plecha S.C., Krukonis E.S. The wing of the ToxR winged helix-turn-helix domain is required for DNA binding and activation of *toxT* and *ompU*. *PLoS One*. 2019; 14(9):e0221936. DOI: 10.1371/journal.pone.0221936.
- Stone J.B., Withey J.H. H-NS and ToxT inversely control cholera toxin production by binding to overlapping DNA sequences. *J. Bacteriol.* 2021; 203(18):e0018721. DOI: 10.1128/JB.00187-21.
- Naha A., Withey J.H., Mukherjee P., Saha R.N., Samanta P., Ghosh A., Miyoshi S.I., Dutta S., Mukhopadhyay A.K. Elucidating the correlation between the number of TTTTGTAT heptamer repeats and cholera toxin promoter activity in *Vibrio cholerae* O1 pandemic strains. *FEMS Microbiol. Lett.* 2022; 369(1):fnac041. DOI: 10.1093/femsle/fnac041.
- Gladikh 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.
- Sarkar A., Morita D., Ghosh A., Chowdhury G., Mukhopadhyay A.K., Okamoto K., Ramamurthy T. Altered integrative and conjugative elements (ICEs) in recent *Vibrio cholerae* O1 isolated from cholera cases, Kolkata, India. *Front. Microbiol.* 2019; 10:2072. DOI: 10.3389/fmicb.2019.02072.

References

- Ezhova M.I., Levchenko D.A., Arkhangelskaya I.V., Kругликов В.Д., Непомнящая Н.Б. [Features of the biological properties of *Vibrio cholerae* isolated during the monitoring of water bodies in Rostov-on-Don from 1989 to 2018]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2021; (1):148–51. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-1-148-151.
- 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.

3. Vodopyanov S.O., Vodopyanov A.S., Oleynikov I.P., Monakhova E.V. [Elaboration of a toxigenic *Vibrio cholerae* typing scheme based on bioinformatics analysis data]. *Zdorov'e Naseleniya i Sreda Obitaniya* [Public Health and Life Environment]. 2022; 30(7):66–71. DOI: 10.35627/2219-5238/2022-30-7-66-71.

4. Iwanaga M., Kuyyakanond T. Large production of cholera toxin by *Vibrio cholerae* O1 in yeast extract peptone water. *J. Clin. Microbiol.* 1987; 25(1):2314–16. DOI: 10.1128/jcm.25.12.2314-2316.1987.

5. Sack D.A., Huda S., Neogi P.K., Daniel R.R., Spira W.M. Microtiter ganglioside enzyme linked immunosorbent assay for *Vibrio* and *Escherichia coli* heat labile enterotoxins and antitoxin. *J. Clin. Microbiol.* 1980; 11(1):35–40. DOI: 10.1128/jcm.11.1.35-40.1980.

6. Wick R.R., Judd L.M., Cerdeira L.T., Hawkey J., Meric G., Vezina B., Wyres K.L., Holt K.E. Tricycler: consensus long-read assemblies for bacterial genomes. *Genome Biol.* 2021; 22(1):266. DOI: 10.1186/s13059-021-02483-z.

7. Wick R.R., Judd L.M., Holt K.E. Assembling the perfect bacterial genome using Oxford Nanopore and Illumina sequencing. *PLoS Comput. Biol.* 2023; 19(3):e1010905. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1010905.

8. Sequence correction provided by ONT research. (Cited 24 Oct 2023). [Internet]. Available from: <https://github.com/nanoporetech/medaka>.

9. Walker B.J., Abeel T., Shea T., Priest M., Abouelliel A., Sakthikumar S., Cuomo C.A., Zeng Q., Wortman J., Young S.K., Earl A.M. Pilon: an integrated tool for comprehensive microbial variant detection and genome assembly improvement. *PLoS One.* 2014; 9(11):e112963. DOI: 10.1371/journal.pone.0112963.

10. Monakhova E.V., Vodopyanov A.S., Kruglikov V.D., Selyanskaya N.A., Pisanov R.V., Noskov A.K. [Molecular genetic characteristics of *Vibrio cholerae* nonO1/nonO139 strains isolated on the territory of the Russian Federation from patients with otitis]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii* [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]. 2022; 99(4):465–77. DOI: 10.36233/0372-9311-215.

11. Bankevich A., Nurk S., Antipov D., Gurevich A.A., Dvorkin M., Kulikov A.S., Lesin V.M., Nikolenko S.I., Pham S., Prjibelski A.D., Pyshkin A.V., Sirotkin A.V., Vyahhi N., Tesler G., Alekseyev M.A., Pevzner P.A. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *J. Comput. Biol.* 2012; 19(5):455–77. DOI: 10.1089/cmb.2012.0021.

12. Vodopyanov A.S., Pisanov R.V., Vodopyanov S.O., Oleynikov I.P. [Improvement of the technique of SNP-typing of *Vibrio cholerae* strains on the basis of the analysis of the primary data of whole genome sequencing]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii* [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]. 2020; 97(6):587–93. DOI: 10.36233/0372-9311-2020-97-6-9.

13. Virtanen P., Gommers R., Oliphant T.E., Haberland M., Reddy T., Cournapeau D., Burovski E., Peterson P., Weckesser W., Bright J., van der Walt S.J., Brett M., Wilson J., Millman K.J., Mayorov N., Nelson A.R.J., Jones E., Kern R., Larson E., Carey C.J., Polat I., Feng Y., Moore E.W., VanderPlas J., Laxalde D., Perktold J., Cimrman R., Henriksen I., Quintero E.A., Harris C.R., Archibald A.M., Ribeiro A.H., Pedregosa F., van Mulbregt P.; SciPy 1.0 Contributors. SciPy 1.0: fundamental algorithms for scientific computing in Python. *Nat. Methods.* 2020; 17(3):261–72. DOI: 10.1038/s41592-019-0686-2.

14. Ellson J., Gansner E., Koutsofios L., North S.C., Woodhull G. Graphviz – open source graph drawing tools. In: Mutzel P., Jünger M., Leipert S., editors. Graph Drawing, 9th international symposium, GD 2001, Vienna, Austria, September 23–26, 2001. Berlin, Heidelberg: Springer; 2002. P. 483–85. DOI: 10.1007/3-540-45848-4_57.

15. Vodopyanov A.S., Vodopyanov S.O., Pisanov R.V. “*V. cholerae* ICE Genotyper – is a program for identifying and typing the integrative-conjugative element in *V. cholerae* strains. Certificate of state registration No. 2023663855 dated June 21, 2023. [Internet]. Available from: <http://antiplague.ru/v-cholerae-ice-genotyper-programma-dlya-vyyavleniya-i-tipirovaniya-integrativno-konyugativnogo-elementa-ice-elementa-u-shtammov-v-cholerae>.

16. 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.

17. Ramamurthy T., Mutreja A., Weill F.-X., Das B., Ghosh A., Nair G.B. Revisiting the global epidemiology of cholera in conjunction with the genomics of *Vibrio cholerae*. *Front. Public Health.* 2019; 7:203. DOI: 10.3389/fpubh.2019.00203.

18. Choi S.Y., Lee J.H., Kim E.J., Lee H.R., Jeon Y.S., von Seidlein L., Deen J., Ansaruzzaman M., Lucas G.M.E.S., Barreto A.,

Songane F.F., Mondlane C., Nair G.B., Czerkinsky C., Clemens J.D., Chun J., Kim D.W. Classical RS1 and environmental RS1 elements in *Vibrio cholerae* O1 El Tor strains harbouring a tandem repeat of CTX prophage: revisiting Mozambique in 2005. *J. Med. Microbiol.* 2010; 59(Pt. 3):302–8. DOI: 10.1099/jmm.0.017053-0.

19. Ha S.-M., Chaita M., Yang S.-J., Yoon S.-H., Cho K., Seong W.K., Hong S., Kim J., Kwak H.-S., Chun J. Comparative genomic analysis of the 2016 *Vibrio cholerae* outbreak in South Korea. *Front. Public Health.* 2019; 7:228. DOI: 10.3389/fpubh.2019.00228.

20. Baddam R., Sarker N., Ahmed D., Mazumder R., Abdullah A., Morshed R., Hussain A., Begum S., Shahrin L., Khan A.I., Islam M.S., Ahmed T., Alam M., Clemens J.D., Ahmed N. Genome dynamics of *Vibrio cholerae* isolates linked to seasonal outbreaks of cholera in Dhaka, Bangladesh. *mBio.* 2020; 11(1):e03339-19. DOI: 10.1128/mBio.03339-19.

21. Smirnova N.I., Agafonov D.A., Shchelkanova E.Yu., Rybal'chenko 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, Microbiologia i Virusologia* [Molecular Genetics, Microbiology and Virology]. 2020; 38(3):108–19. DOI: 10.17116/molgen202038031108.

22. Shashkova A.V., Agafonov D.A., Cherkasov A.V., Zadnova S.P., Smirnova N.I. [Phenotypic and molecular-genetic analysis of genetically modified toxigenic *Vibrio cholerae* El Tor strain 301, isolated in 2011 in Russia]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2012; (4):61–4. DOI: 10.21055/0370-1069-2012-4-61-64.

23. Pisanov R.V., Ezhova M.I., Monakhova E.V., Cherkasov A.V., Krasnov Ya.M., Vodopyanov A.S., Kul'shan' T.A., Livanova L.F., Portenko S.A., Abdrashitova A.S., Kruglikov V.D., Titova S.V. [Peculiarities of genome structure of toxigenic *Vibrio cholerae* El Tor Inaba strain, isolated from a surface water body in the territory of Rostov-on-Don in 2014]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2015; (2):63–7. DOI: 10.21055/0370-1069-2015-2-63-67.

24. Goss T.J., Morgan S.J., French E.L., Krukonis E.S. ToxR recognizes a direct repeat element in the *toxT*, *ompU*, *ompT*, and *ctxA* promoters of *Vibrio cholerae* to regulate transcription. *Infect. Immun.* 2013; 81(3):884–95. DOI: 10.1128/IAI.00889-12.

25. Dorman M.J., Dorman C.J. Regulatory hierarchies controlling virulence gene expression in *Shigella flexneri* and *Vibrio cholerae*. *Front. Microbiol.* 2018; 9:2686. DOI: 10.3389/fmicb.2018.02686.

26. Morgan S.J., French E.L., Plecha S.C., Krukonis E.S. The wing of the ToxR winged helix-turn-helix domain is required for DNA binding and activation of *toxT* and *ompU*. *PLoS One.* 2019; 14(9):e0221936. DOI: 10.1371/journal.pone.0221936.

27. Stone J.B., Withey J.H. H-NS and ToxT inversely control cholera toxin production by binding to overlapping DNA sequences. *J. Bacteriol.* 2021; 203(18):e0018721. DOI: 10.1128/JB.00187-21.

28. Naha A., Withey J.H., Mukherjee P., Saha R.N., Samanta P., Ghosh A., Miyoshi S.I., Dutta S., Mukhopadhyay A.K. Elucidating the correlation between the number of TTTTGTAT heptamer repeats and cholera toxin promoter activity in *Vibrio cholerae* O1 pandemic strains. *FEMS Microbiol. Lett.* 2022; 369(1):fnac041. DOI: 10.1093/femsle/fnac041.

29. 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.

30. Sarkar A., Morita D., Ghosh A., Chowdhury G., Mukhopadhyay A.K., Okamoto K., Ramamurthy T. Altered integrative and conjugative elements (ICEs) in recent *Vibrio cholerae* O1 isolated from cholera cases, Kolkata, India. *Front. Microbiol.* 2019; 10:2072. DOI: 10.3389/fmicb.2019.02072.

Authors:

Monakhova E.V., Kruglikov V.D., Vodopyanov A.S., Alekseeva L.P., Men'shikova E.A., Evdokimova V.V., Ezhova M.I., Noskov A.K. Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute. 117/40, M. Gor'kogo St., Rostov-on-Don, 344002, Russian Federation. E-mail: plague@aaanet.ru.

Krasnov Ya.M., Katyshev S.D., Sharapova N.A. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Об авторах:

Монахова Е.В., Кругликов В.Д., Водопьянов А.С., Алексеева Л.П., Меньшикова Е.А., Евдокимова В.В., Ежова М.И., Носков А.К. Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 344002, Ростов-на-Дону, ул. М. Горького, 117/40. E-mail: plague@aaanet.ru.

Краснов Я.М., Катышев С.Д., Шарпова Н.А. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.