

DOI: 10.21055/0370-1069-2026-1-165-173

УДК 616.932:579.25

А.В. Федоров¹, Н.Б. Челдышова¹, Т.А. Кульшань², С.П. Заднова¹

Изучение структуры генов белков-регуляторов в штаммах геновариантов *Vibrio cholerae* O1 биовара Эль Тор, изолированных в разные годы седьмой пандемии холеры

¹Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация;²Институт фармации, профилактической медицины и биомедицины, Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского, Саратов, Российская Федерация

Цель работы – сравнительный анализ структуры генов, кодирующих регуляторные белки в штаммах геновариантов *Vibrio cholerae* O1 биовара Эль Тор, выделенных на эндемичных и неэндемичных по холере территориях в разные годы седьмой пандемии холеры, и их филогенетический анализ. **Материалы и методы.** Использовали нуклеотидные последовательности полных геномов 75 токсигенных геновариантов *V. cholerae* O1 Эль Тор с аллелями *ctxB1* и *ctxB7*, представленных в NCBI GenBank, ENA, VGARus. Биоинформационный анализ проводили с применением алгоритма Blast (<http://blast.ncbi>), MEGA X. Филогенетический анализ осуществляли с использованием сервера REALPHY. **Результаты и обсуждение.** Изучена структура 13 локусов (*toxT*, *aphA*, *aphB*, *luxO*, *luxT*, *gntR*, *hapR*, *lysR_vc2383*, *lysR_vc1617*, *hns*, *vieA*, *carR*, *carS*). Установлено стабильное сохранение в геноме всех штаммов генов *aphB* и *carS*, у 99 % – *toxT*, *aphA* и *luxT*. У всех геновариантов присутствует измененный ген *gntR* (G565A), кодирующий белок, репрессирующий ферментацию глюконата. Большинство геновариантов имеют интактный ген *hapR*, в отличие от референтного штамма N16961, у которого в этом гене делетирован тимин в позиции 219. Некоторые зарубежные штаммы включают дополнительные мутации в данном гене. Выявлена высокая вариабельность гена *luxO*. Мутации в других регуляторных генах накапливались постепенно и стабильно сохранялись. При филогенетическом анализе все изученные штаммы, выделенные в разных эндемичных странах и завезенные в РФ и сопредельные страны, четко разделились на четыре кластера в соответствии со структурой регуляторных генов. Таким образом, высоковирулентные геноварианты, выделяемые в настоящее время на эндемичной территории и завозимые в РФ, имеют генотип *hapR* (insT219), *lysR_vc2383* (C110T), *hns* (G319A), *lysR_vc1617* (A650C), *vieA* (C235T), *carR* (G265A).

Ключевые слова: *Vibrio cholerae* O1 Эль Тор, структура регуляторных генов, филогенетический анализ.

Корреспондирующий автор: Федоров Андрей Витальевич, e-mail: rusrap1@microbe.ru.

Для цитирования: Федоров А.В., Челдышова Н.Б., Кульшань Т.А., Заднова С.П. Изучение структуры генов белков-регуляторов в штаммах геновариантов *Vibrio cholerae* O1 биовара Эль Тор, изолированных в разные годы седьмой пандемии холеры. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2026; 1:165–173. DOI: 10.21055/0370-1069-2026-1-165-173

Поступила 17.06.2025. Отправлена на доработку 08.07.2025. Принята к публикации 06.11.2025.

A.V. Fedorov¹, N.B. Cheldyshova¹, T.A. Kul'shan' ², S.P. Zadnova¹

Assessing the Structure of Regulatory Protein Genes in Strains of Genovariants of *Vibrio cholerae* O1 Biovar El Tor, Isolated in Different Years of the Seventh Cholera Pandemic

¹Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation;²Institute of Pharmacy, Preventive Medicine and Biomedicine of V.I. Razumovsky Saratov State Medical University, Saratov, Russian Federation

Abstract. The aim of the work was to conduct a comparative analysis of the structure of genes encoding regulatory proteins in strains of *Vibrio cholerae* O1 biovar El Tor genovariants isolated in cholera endemic and non-endemic territories in different years of the seventh cholera pandemic, and their phylogenetic analysis. **Materials and methods.** Nucleotide sequences of complete genomes of 75 toxigenic genovariants of *V. cholerae* O1 El Tor with *ctxB1* and *ctxB7* alleles listed in NCBI GenBank, ENA, VGARus were used. Bioinformatics analysis was performed using the Blast algorithm (<http://blast.ncbi>), MEGA X. Phylogenetic analysis was carried out using the REALPHY server. **Results and discussion.** The structure of 13 loci (*toxT*, *aphA*, *aphB*, *luxO*, *luxT*, *gntR*, *hapR*, *lysR_vc2383*, *lysR_vc1617*, *hns*, *vieA*, *carR*, *carS*) was studied. Stable preservation of the *aphB* and *carS* genes in the genome of all strains has been established, and *toxT*, *aphA*, and *luxT* have been found in 99 % of them. All genovariants have an altered *gntR* gene (G565A) encoding a protein that represses gluconate fermentation. The majority of genovariants have an intact *hapR* gene, unlike the reference strain N16961, which has a thymine deletion at the position 219 in this gene. Some foreign strains include additional mutations in this gene. High variability of the *luxO* gene has been revealed. Mutations in other regulatory genes have been piling up gradually and stably persisted. During phylogenetic analysis, all the studied strains isolated in different endemic countries and imported to the Russian Federation and neighboring states fell under four clusters in accordance with the structure of regulatory genes. Thus, highly virulent genovariants currently isolated in the endemic territory and imported to the Russian Federation have the genotype *hapR* (insT219), *lysR_vc2383* (C110T), *hns* (G319A), *lysR_vc1617* (A650C), *vieA* (C235T), *carR* (G265A).

Key words: *Vibrio cholerae* O1 El Tor, structure of regulatory genes, phylogenetic analysis.

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

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

Corresponding author: Andrey V. Fedorov, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Fedorov A.V., Cheldyshova N.B., Kul'shan' T.A., Zadnova S.P. Assessing the Structure of Regulatory Protein Genes in Strains of Genovariants of *Vibrio cholerae* O1 Biovar El Tor, Isolated in Different Years of the Seventh Cholera Pandemic. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*, 2026; 1:165–173. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2026-1-165-173

Received 17.06.2025. Revised 08.07.2025. Accepted 06.11.2025.

Fedorov A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7190-4427>
Cheldyshova N.B., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5759-3765>

Kul'shan' T.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0904-1186>
Zadnova S.P., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4366-0562>

Особо опасная инфекционная болезнь – холера – до сих пор остается угрозой для общественного здравоохранения всего мира, продолжается седьмая пандемия, вызванная токсигенными штаммами *Vibrio cholerae* O1 серогруппы биовара Эль Тор. За 2024 г. Всемирной организацией здравоохранения зарегистрировано 762 830 случаев заболевания холерой в 42 странах мира с 5448 летальными исходами. Неблагополучная эпидемиологическая ситуация по холере в эндемичных странах способствует завозу возбудителя туристами и трудовыми мигрантами в различные страны, в том числе и РФ [1, 2].

Как известно, основными факторами вирулентности возбудителя холеры являются холерный токсин (ХТ) и токсин-корегулируемые пили адгезии (ТКПА). Возникновение геновариантов *V. cholerae* O1 Эль Тор, содержащих аллель гена *ctxB* классического типа – *ctxB1* из оперона *ctxAB*, кодирующего биосинтез холерного токсина, – еще больше обострило эпидемиологическую ситуацию по холере. Появление геновариантов с аллелем *ctxB7*, быстрое (взрывное) распространение данных штаммов при завозе на новую территорию, способность вызывать тяжелое течение болезни с выраженной степенью обезвоживания, высокая продукция холерного токсина как *in vivo*, так и *in vitro* привели к тому, что данные штаммы стали обозначать как «гипервирулентные» [3–7].

Необходимо отметить, что кроме ХТ и ТКПА у возбудителя холеры выявлено еще более 200 белков, функционально связанных с вирулентностью. Экспрессия генов, кодирующих данные белки, так же как и генов *ctxAB* и *tcpA-F*, контролируется на транскрипционном и трансляционном уровнях посредством сложных регуляторных сетей с участием как положительных, так и отрицательных факторов транскрипции, зависит от взаимодействия этих факторов, способности реагировать на сигналы внешней среды и т.д. [8–10]. Высказывается предположение, что повышение вирулентности геновариантов *V. cholerae* O1 Эль Тор происходило постепенно и было связано с мутациями не только в генах *ctxB* и *tcpA*, но и в генах, ответственных за биосинтез регуляторных белков, в том числе: белка H-NS, который является негативным регулятором транскрипции генов *ctxAB* и *tcpA*; GntR, репрессирующего ферментацию глюконата в клетках и снижающего продукцию ХТ и ТКПА; белков семейства LysR транскрипционных регуляторов (*vc2383*, *vc1617*), регулирующих процесс колонизации; VieA, контролирующего содержание сигнальной молекулы – 3',5'-циклического дигуанинмонофосфата (c-di-GMP), который блокирует биосинтез основных

факторов вирулентности [6, 11]. При этом структура генов *ctxB* и *tcpA*, кодирующих основные факторы вирулентности у геновариантов *V. cholerae* O1 Эль Тор, выделенных в разные годы текущей пандемии холеры на территории эндемичных и неэндемичных по холере стран, изучена достаточно детально, в то же время организация регуляторных белков, контролирующих не только биосинтез факторов вирулентности, но и другие процессы в клетках возбудителя, исследована фрагментарно.

Цель работы – сравнительный анализ структуры генов, кодирующих регуляторные белки в штаммах геновариантов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, выделенных на эндемичных и неэндемичных по холере территориях в разные годы седьмой пандемии холеры, и их филогенетический анализ.

Материалы и методы

В работе использовали нуклеотидные последовательности полных геномов 75 геновариантов *V. cholerae* O1 Эль Тор, завезенных и выделенных на территории РФ и сопредельных стран, а также изолированных в эндемичных странах Азии (Индия, Бангладеш, Непал, Йемен), Африки (Мозамбик, Демократическая Республика Конго (ДРК, DRC), Южно-Африканская Республика (SAR), Замбия, Зимбабве) и на Гаити с 1988 по 2025 г., представленных в базах данных NCBI GenBank, ENA и VGARus (табл. 1). Для последовательностей штаммов, которые были депонированы только в виде прочтений, проводился контроль качества прочтений с помощью программы *fastp* v.0.24.0 и сборка с помощью алгоритма *unicycler* v.0.4.7. Для анализа структуры генов применяли алгоритм Blast (<http://blast.ncbi>) и программу UGENE. В качестве референтного использовали геном *V. cholerae* N16961 (AE003852.1). Для проведения филогенетического анализа использовали сервер REALPHY (<http://realphy.unibas.ch>). Визуализацию полученных результатов осуществляли на платформе iTOL.

Результаты и обсуждение

Анализ структуры регуляторных генов. Проведено исследование структуры 13 регуляторных генов: *toxT*, *aphA*, *aphB*, *luxO*, *luxT*, *gntR*, *hapR*, семейства *lysR* транскрипционных регуляторов (*vc2383*, *vc1617*), *hns*, *vieA*, *carR*, *carS* – у 75 штаммов холерных вибрионов. В результате определены аллели указанных локусов и частота их встречаемости (табл. 1). Среди изученных генов наибольшая стабильность отмечена для генов

Таблица 1 / Table 1

Аллели регуляторных генов, обнаруженные в исследуемых штаммах *V. cholerae* O1 Эль Тор
 Alleles of regulatory genes detected in the studied strains of *V. cholerae* O1 El Tor

Ген Gene	Позиция в геноме Position in the genome of <i>V. cholerae</i> N16961 (GenBank NCBI No. AE003852.1)	Аллель / Allele		Количество штаммов, содержащих аллель гена The number of strains containing a gene allele	
		Число Number	Характеристика Feature	абс. / abs.	%
<i>gntR</i> <i>vc0289</i>	298752–299750	1	G565A	75	100,00
<i>aphB</i> <i>vc1049</i>	1119081–1119980	1	int	75	100,00
<i>luxT</i> <i>vcA0917</i>	870338–870823 (AE003853.1)	1	int	74	98,67
			н/д / n/a	1	1,33
<i>carS</i> <i>vc1319</i>	1402325–1403647	1	int	75	100,00
<i>toxT</i> <i>vc0838</i>	899896–900726	2	int	63	84
			G436A	1	1,33
			н/д / n/a	11	14,67
<i>aphA</i> <i>vc2647</i>	2821501–2822040	2	int	74	98,67
			T275G	1	1,33
<i>hns</i> <i>vc1130</i>	1198167–1198580	2	G319A	62	82,67
			int	13	17,33
<i>vieA</i> <i>vc1652</i>	1780981–1782735	2	C235T	43	57,33
			int	32	42,67
<i>lysR</i> <i>vc1617</i>	1729989–1730879	2	A650C	58	77,33
			int	17	22,67
<i>carR</i> <i>vc1320</i>	1403673–1404377	2	int	55	73,33
			G265A	20	26,67
<i>lysR</i> <i>vc2383</i>	2547605–2548465	3	C110T	62	82,67
			int	12	16
			C92T, C110T	1	1,33
<i>hapR</i> <i>vc0583</i>	612566–613176	7	int	69	92
			ΔT219	1	1,33
			G349A	1	1,33
			insGCAGAT127	1	1,33
			Δ550GGTG	1	1,33
			G353A	1	1,33
			G113A	1	1,33
<i>luxO</i> <i>vc1021</i>	1090250–1091617	16	int	55	73,33
			T62A	1	1,33
			T98C	1	1,33
			T176A	1	1,33
			insCGTGTTTATGACCGCTCA213	1	1,33
			G268T	1	1,33
			G271A	1	1,33
			T287G	4	5,33
			C302T	1	1,33
			T323C	1	1,33
			G331A	1	1,33
			G424T	3	4
			C527T	1	1,33
			C656T	1	1,33
			G956A	1	1,33
			T958G	1	1,33

Примечания: int – последовательность интактная; н/д – изучить последовательность не удалось из-за наличия разрыва в контигах.

Notes: int – the sequence is intact; n/a – the sequence could not be analyzed due to a gap in the contigs.

gntR, *aphB*, *luxT*, *carS* – образование только одного аллеля, *gntR* характеризуется наличием единичной мутации, а *aphB*, *luxT*, *carS* имеют последовательность, полностью идентичную таковой референс-штамма. По два аллеля имели гены *toxT*, *aphA*, *hns*, *vieA*, *lysR* *vc1617*, *carR*, три аллеля – ген *lysR* *vc2383*. У гена *hapR* обнаружено семь аллелей, и наиболее вариabельным оказался ген *luxO*, у которого обнаружено 16 аллелей (табл. 1).

В геноме всех изученных геновариантов, как выделенных в РФ и сопредельных странах, так и циркулирующих на эндемичных территориях, выявлена мутация (G565A) в гене *gntR*, кодирующем регуляторный белок семейства GntR, который репрессирует ферментацию глюконата в клетках. Известно, что в результате продукции мутантного белка GntR с измененным лиганд-связывающим участком (замена аминокислот A189T) у геновариантов не только увеличивается транскрипция генов, участвующих в ферментации глюконата, но и повышаются колонизирующие свойства и продукция холерного токсина [6].

Установлено, что в геноме большинства штаммов нуклеотидная последовательность гена *toxT* интактна. Исключение составил штамм *V. cholerae* M-3210, выделенный в 2023 г. из речной воды г. Ростова-на-Дону, у которого присутствие несинонимичной замены G436A привело к продукции мутантного белка ToxT с заменой валина на изолейцин в позиции 146. Согласно литературным данным, указанная мутация не влияет на функциональную активность этого белка [12].

У большинства изученных штаммов не изменяется структура генов *aphA* и *aphB*. Обнаружен только один штамм *V. cholerae* NALMLE19 (Бангладеш, 2016), имеющий в гене *aphA* мутацию T275G. Стабильное сохранение структуры данных генов может указывать на важную роль кодируемых ими белков в биологии возбудителя холеры. Так, белок AphA контролирует не только биосинтез ХТ и ТКПА, но и процесс формирования биопленки, а также ферментацию глюкозы до ацетона, имеющего нейтральный рН, что способствует активному росту вибрионов Эль Тор в условиях присутствия данного углевода (в том числе в тонком кишечнике человека) [13–15].

Во всех изученных штаммах, за исключением одного, не изменяется структура *luxT*. Белок LuxT выполняет те же функции, что и LuxO – репрессирует транскрипцию *hapR*, непосредственно связываясь с его промоторной областью, что приводит к блокированию продукции негативного регулятора транскрипции основных факторов вирулентности – белка HapR [16]. Обнаружен только один штамм *V. cholerae* 89 (Украина, Ялта, 2010), в котором ген *luxT* не выявлен.

При сравнительном анализе структуры гена *luxO* выявлена его значительная вариabельность, как у штаммов *V. cholerae* O1 Эль Тор, выделенных в РФ и сопредельных странах, так и циркулирующих на эндемичных территориях, порядка 28 % изученных штаммов имели различные мутации в данном гене. Мутации в этом гене, как правило, уникальны, встречаются однократно (табл. 2), за исключением замены

Таблица 2 / Table 2

Характеристика штаммов *V. cholerae* O1 Эль Тор, использованных в работе, и структура их регуляторных геновCharacteristics of *V. cholerae* O1 El Tor strains used in the work and the structure of some regulatory genes

№	Штамм Strain	GenBank assembly / SRA run / VGArus id	Год и место выделения* The year and site of isolation*	Аллель гена <i>ctxB</i> <i>ctxB</i> gene allele	Структура гена / Gene structure					
					<i>hapR</i> <i>vc0583</i>	<i>lysR</i> <i>vc2383</i>	<i>hns</i> <i>vc1130</i>	<i>vieA</i> <i>vc1652</i>	<i>lysR</i> <i>vc1617</i>	<i>carR</i> <i>vc1320</i>
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	N16961**	GCA_003063785.1	1975, Bangladesh	<i>ctxB3</i>	ΔT219	int	int	int	int	int
2	P13762	GCA_000006745.1	1988, Uzbekistan	<i>ctxB1</i>	int	int	int	int	int	int
3	V212-1	ERR018125	1991, India	<i>ctxB1</i>	int	int	int	int	int	int
4	PRL64	GCA_001261075.1	1992, India	<i>ctxB1</i>	int	C110T	G319A	int	A650C	int
5	M1270	GCA_008632395.1	1993, RF, Tatarstan	<i>ctxB1</i>	int	int	int	int	int	int
6	M1275	GCA_001517845.1	1993, RF, Dagestan	<i>ctxB1</i>	ΔT219	int	int	int	int	int
7	MJ-1236	GCA_000022585.1	1994, Bangladesh	<i>ctxB1</i>	int	int	int	int	int	int
8	M-1293	GCA_000705295.1	1994, RF, Dagestan	<i>ctxB1</i>	int	int	int	int	int	int
9	20-A-11	GCA_003056705.1	1995, Ukraine	<i>ctxB1</i>	int	int	int	int	int	int
10	R17644	GCA_000965285.1	1997, RF, Achinsk	<i>ctxB1</i>	int	C110T	G319A	int	int	int
11	M1327	GCA_001641765.1	1998, RF, Dagestan	<i>ctxB1</i>	int	C110T	int	int	int	int
12	CP1033	GCA_000304755.1	2000, Mexico	<i>ctxB1</i>	int	int	int	int	int	int
13	G4222	GCA_000338075.1	2001, SAR	<i>ctxB1</i>	int	int	int	int	int	int
14	M1344	GCA_002196275.1	2001, RF, Tatarstan	<i>ctxB1</i>	int	C110T	G319A	int	A650C	int
15	MQ1795	GCA_018073345.1	2001, Bangladesh	<i>ctxB1</i>	int	C110T	G319A	C235T	A650C	int
16	KS493	SRR1944502	2001, Bangladesh	<i>ctxB1</i>	int	C110T	G319A	C235T	A650C	int
17	CIRS101	GCA_000175695.1	2002, Bangladesh	<i>ctxB1</i>	int	C110T	G319A	C235T	A650C	int
18	CP1038	GCA_000279325.1	2003, Zimbabwe	<i>ctxB1</i>	int	C110T	G319A	C235T	A650C	int
19	M1429	GCA_000960915.1	2004, RF, Bashkortostan	<i>ctxB1</i>	int	C110T	G319A	C235T	A650C	int
20	CP1041	GCA_000279245.1	2004, Zambia	<i>ctxB1</i>	int	C110T	G319A	int	int	int

Окончание табл. 2 / Ending of table 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
21	MBN17	GCA_001250795.1	2004, India	<i>ctxB1</i>	G349A	C110T	G319A	C235T	A650C	int
22	4339	GCA_001260335.1	2004, India	<i>ctxB1</i>	int	C110T	G319A	int	A650C	int
23	RND18826	GCA_000500735.1	2005, RF, Tver	<i>ctxB1</i>	int	C110T	G319A	C235T	A650C	int
24	1362	GCA_001260295.1	2005, Mozambique	<i>ctxB1</i>	int	int	int	int	int	int
25	KS406	SRR1944203	2005, Bangladesh	<i>ctxB1</i>	int	C110T	G319A	int	A650C	int
26	P-18899	GCA_000966395.1	2006, RF, Murmansk	<i>ctxB1</i>	int	C110T	G319A	C235T	A650C	int
27	4488	ERR025369	2006, India	<i>ctxB1</i>	int	C110T	G319A	int	A650C	int
28	4585	GCA_001252895.1	2007, India	<i>ctxB1</i>	int	C110T	G319A	int	A650C	int
29	4600	GCA_001253055.1	2007, India	<i>ctxB1</i>	insGCAGAT127	C110T	G319A	int	A650C	int
30	BGD109	DRR189279	2009, Bangladesh	<i>ctxB1</i>	int	C110T	G319A	int	A650C	int
31	IDH-01728	DRR069032	2009, India	<i>ctxB7</i>	int	C110T	G319A	C235T	A650C	int
32	2011EL-1939	SRR892295 SRR892292	2009, India	<i>ctxB7</i>	int	C110T	G319A	C235T	A650C	int
33	L3226	GCA_000600255.1	2010, RF, Moscow	<i>ctxB7</i>	int	C110T	G319A	C235T	A650C	int
34	RND19191	GCA_000710455.1	2010, RF, Moscow	<i>ctxB7</i>	int	C110T	G319A	C235T	A650C	int
35	89	GCA_002196135.1	2010, Ukraine	<i>ctxB1</i>	int	int	int	int	int	int
36	VC-20	SRR308723	2010, Nepal	<i>ctxB1</i>	int	C110T	G319A	int	A650C	int
37	VC-26	SRR308727	2010, Nepal	<i>ctxB7</i>	int	C110T	G319A	C235T	A650C	int
38	HC-19A1	GCA_000234965.1	2010, Haiti	<i>ctxB7</i>	int	C110T	G319A	C235T	A650C	int
39	IDH-03291	DRR069047	2010, India	<i>ctxB7</i>	int	C110T	G319A	C235T	A650C	int
40	2011EL-301	GCA_000257415.2	2011, RF, Taganrog	<i>ctxB1</i>	int	C110T	G319A	C235T	A650C	int
41	76	GCA_001899465.1	2011, Ukraine	<i>ctxB7</i>	int	C110T	G319A	C235T	A650C	int
42	153	GCA_023488285.1	2011, Ukraine	<i>ctxB7</i>	int	C110T	G319A	C235T	A650C	int
43	BGD117	DRR189285	2011, Bangladesh	<i>ctxB1</i>	int	C110T	G319A	int	A650C	int
44	IDH-03997	DRR069059	2011, India	<i>ctxB7</i>	int	C110T	G319A	C235T	int	G265A
45	IDH-04808	GCA_015741645.1	2012, India	<i>ctxB7</i>	int	C110T	G319A	C235T	A650C	int
46	M1509	GCA_002196325.1	2012, RF, Moscow	<i>ctxB7</i>	int	C110T	G319A	C235T	A650C	G265A
47	IDH-04986	GCA_018036965.1	2013, India	<i>ctxB7</i>	int	C110T	G319A	C235T	A650C	G265A
48	3265/80	GCA_000786345.1	2014, RF, Moscow	<i>ctxB7</i>	int	C110T	G319A	C235T	A650C	G265A
49	81	GCA_000786335.1	2014, RF, Rostov	<i>ctxB1</i>	int	C110T	G319A	C235T	A650C	int
50	BCH-04818	GCA_018036845.1	2014, India	<i>ctxB7</i>	int	C110T	G319A	C235T	A650C	G265A
51	HC1763_2014	GCA_015793035.1	2014, Haiti	<i>ctxB7</i>	int	C110T	G319A	C235T	A650C	int
52	NALMLE45	GCA_009858375.1	2015, Bangladesh	<i>ctxB1</i>	int	C110T	G319A	int	A650C	int
53	BGD126	GCA_018074485.1	2015, Bangladesh	<i>ctxB7</i>	int	C110T	G319A	C235T	A650C	int
54	IDH-07665	GCA_015748765.1	2015, India	<i>ctxB7</i>	int	C110T	G319A	C235T	A650C	int
55	IDH-08148	GCA_004309765.1	2015, India	<i>ctxB7</i>	int	C110T	G319A	C235T	A650C	G265A
56	NALMLE41	GCA_009858355.1	2016, Bangladesh	<i>ctxB1</i>	int	C110T	G319A	int	A650C	int
57	NALMLE19	GCA_013414485.1	2016, Bangladesh	<i>ctxB7</i>	int	C110T	G319A	C235T	A650C	G265A
58	IDH-09473	GCA_015748685.1	2016, India	<i>ctxB7</i>	G113A	C92T, C110T	G319A	C235T	A650C	G265A
59	IDH-09620	GCA_015748665.1	2016, India	<i>ctxB7</i>	int	C110T	G319A	C235T	A650C	G265A
60	THSTI_56650	ERR2270660	2016–2017, Yemen	<i>ctxB7</i>	G353A	C110T	G319A	C235T	A650C	G265A
61	THSTI_56695	ERR2270661	2016–2017, Yemen	<i>ctxB7</i>	int	C110T	G319A	C235T	A650C	G265A
62	BFS019	GCA_020796745.1	2017, Bangladesh	<i>ctxB1</i>	int	C110T	G319A	int	A650C	int
63	NALMLE37	GCA_009858475.1	2017, Bangladesh	<i>ctxB1</i>	int	C110T	G319A	int	A650C	int
64	CTMA_1402	GCA_015750885.2	2017, DRC	<i>ctxB1</i>	int	C110T	G319A	int	int	int
65	KOL18B3-1	GCA_013378485.1	2018, India	<i>ctxB7</i>	int	C110T	G319A	C235T	A650C	G265A
66	NALMLE31	GCA_009858595.1	2018, Bangladesh	<i>ctxB7</i>	int	C110T	G319A	C235T	A650C	G265A
67	BFS475	GCA_020796565.1	2018, Bangladesh	<i>ctxB1</i>	int	C110T	G319A	int	A650C	int
68	BFS495	GCA_020799065.1	2019, Bangladesh	<i>ctxB1</i>	int	C110T	G319A	int	A650C	int
69	BFS496	GCA_020799045.1	2019, Bangladesh	<i>ctxB7</i>	Δ550GGTG	C110T	G319A	C235T	A650C	G265A
70	BFS1	GCA_020796785.1	2019, Bangladesh	<i>ctxB7</i>	int	C110T	G319A	C235T	A650C	G265A
71	DMAVC22	GCA_025220695.1	2022, Bangladesh	<i>ctxB7</i>	int	C110T	G319A	C235T	A650C	G265A
72	G20253094	ERR12207951	2022, India	<i>ctxB7</i>	int	C110T	G319A	C235T	A650C	G265A
73	M3210	micr026579	2023, RF, Rostov	<i>ctxB1</i>	int	int	int	int	int	int
74	M3208	micr026578	2023, RF, Tambov	<i>ctxB7</i>	int	C110T	G319A	C235T	A650C	G265A
75	M-4919	–	2025, RF, Moscow	<i>ctxB7</i>	int	C110T	G319A	C235T	A650C	G265A
76	M-4912	–	2025, RF, Voronezh	<i>ctxB7</i>	int	C110T	G319A	C235T	A650C	G265A

Примечания: * жирным шрифтом обозначены штаммы, выделенные на территории РФ и сопредельных стран; ** референс-штамм *V. cholerae* O1 Эль Тор; ins – инсерция; int – последовательность гена соответствует референс-штамму.

Notes: * strains isolated in the Russian Federation and neighboring countries are shown in bold; ** reference strain *V. cholerae* O1 El Tor; ins – insertion; int – gene sequence corresponds to the reference strain.

T287G, обнаруженной в четырех штаммах *V. cholerae*. Три из них выделены в 2010 г. в Непале (VC-26), на Украине (89) и в Москве (L3226), и один – в 2003 г. в Зимбабве (CP1038). Еще одна повторяющаяся замена в этом гене – G424T, обнаруженная только у штаммов, выделенных на территории России в различные годы: RND18226 (2005, Тверь), 2011EL-301 (2011, Таганрог) и 81 (2014, Ростов-на-Дону).

Далее нами изучена структура гена *hapR*, кодирующего белок-репрессор продукции основных факторов вирулентности ХТ и ТКПА. В референс-штамме *V. cholerae* N16961 O1 Эль Тор в гене *hapR* в позиции 219 делегирован нуклеотид (тимин), что приводит к сдвигу рамки считывания и биосинтезу функционально неактивного белка НарР данным штаммом [17]. В результате проведенного анализа показано, что большинство изученных штаммов содержат интактный ген *hapR* длиной 612 п.н., и только у одного штамма M1275 (РФ, Дагестан, 1993) в его последовательности присутствует делеция тимина в позиции 219, приводящая к сдвигу рамки считывания и биосинтезу функционально неактивного белка НарР. Такая делеция встречается у некоторых штаммов обоих биоваров, к числу которых относятся референс-штамм *V. cholerae* N16961 Эль Тор и классический O395 [17]. Кроме того, у некоторых зарубежных штаммов присутствуют и другие точечные мутации в данном гене (G113A, G349A, G353A), влияние которых на функциональную роль белка НарР не установлено. У штамма *V. cholerae* BFS496 (Бангладеш, 2019) выявлена делеция четырех нуклеотидов (Δ550GGTG), что привело к сдвигу рамки считывания, изменению аминокислотного состава белка и, вполне вероятно, к потере его функциональной активности. В гене *hapR* штамма *V. cholerae* 4600 (Индия, 2007) присутствует инсерция шести нуклеотидов (insGCAGAT127), что привело к появлению двух дополнительных аминокислот в белке НарР. Стоит отметить, что наличие функционального белка НарР не оказывает заметного влияния на вирулентность штаммов, так как экспериментально полученные штаммы *V. cholerae* O1 Эль Тор с делегированным геном *hapR* были полностью вирулентными [18].

Геновариант *V. cholerae* M1327 (Дагестан, 1998) с измененной структурой транскрипционного регулятора семейства *lysR* *vc2383* (C110T) был завезен в РФ в 1998 г. К сожалению, нам не удалось выявить штаммы с полностью идентичным аллельным профилем среди циркулирующих на эндемичной территории, поэтому ответить на вопрос, когда и на какой территории впервые возникли штаммы с указанной мутацией, пока не представляется возможным. Вполне вероятно, что данные штаммы были немногочисленными и их быстро заменили геноварианты с другой структурой регуляторных генов.

В 1997 г. вспышка холеры в г. Ачинске (завоз из Казахстана) была вызвана штаммами *V. cholerae* R17644, которые наряду с мутациями в генах *gntR* (G565A), *lysR_vc2383* (C110T) включали измененный

hns (G319A). Мутация (G319A) в гене *hns* привела к замене аминокислот (G107S) в ДНК-связывающем участке белка H-NS. Штаммы с подобной структурой регуляторных генов обнаружены в Замбии (2004 г.) и ДРК (2017 г.). Возможно, геноварианты с указанным генотипом впервые возникли на Африканском континенте. В странах Азии геноварианты *V. cholerae* O1 Эль Тор с таким сочетанием измененных регуляторных генов не выявлены. Необходимо отметить, что белок H-NS относится к ксеногенным сайленсерам, которые подавляют экспрессию приобретенных чужеродных генов, расположенных на мобильных генетических элементах, пока продукты данных генов не понадобятся клеткам. У холерного вибриона данный белок в зависимости от фазы роста влияет на экспрессию около 18 % генов. В том числе он репрессирует транскрипцию генов вирулентности, обеспечивающих подвижность и хемотаксис, а также участвующих в формировании биопленки [19, 20]. В том числе установлено, что мутантный белок H-NS теряет способность связываться с ДНК и репрессировать транскрипцию гена *toxT*, что приводит к увеличению продукции белка ТохТ, и вследствие этого возрастает биосинтез ХТ и ТКПА и повышаются вирулентные свойства штаммов [11]. В то же время сведения о том, как изменяются другие свойства геновариантов, синтезирующих мутантный белок H-NS, пока отсутствуют.

Штаммы с интактным геном *hapR* и измененной структурой одновременно четырех генов – *gntR* (G565A), *lysR_vc2383* (C110T), *hns* (G319A) и *lysR_vc1617* (A650C) – циркулировали в Индии в 1992 г. В РФ штаммы *V. cholerae* с указанным генотипом вызвали вспышку холеры в Татарстане в 2001 г. (табл. 2).

Мутация в гене *vieA* (C235T), в результате которой произошла замена аминокислот (L79F) в рецепторном домене белка VieA, впервые выявлена в штаммах *V. cholerae*, выделенных на территории Бангладеш в 2001 г.: KS493 и MQ1795. В 2004 г. штамм с генотипом *gntR* (G565A), *hapR* (int), *lysR_vc2383* (C110T), *hns* (G319A), *lysR_vc1617* (A650C), *vieA* (C235T) был занесен в РФ (M1429, Башкортостан, завоз из Таджикистана). Можно высказать предположение, что в Таджикистан данный штамм попал из Бангладеш, так как в Индии и странах Африки в это время циркулировали изоляты с интактным *vieA*. Однако в Бангладеш и в 2019 г. еще встречались штаммы с неповрежденным геном *vieA* (табл. 2). По данным литературы, штаммы, имеющие мутацию в белке H-NS (G107S), становятся высоковирулентными, но при этом чувствительными к действию стрессовых факторов, в том числе желчи, антимикробных пептидов, присутствующих в кишечнике человека. Однако в результате биосинтеза мутантного белка VieA (L79F) происходит восстановление устойчивости геновариантов *V. cholerae* O1 Эль Тор к повреждающим факторам макроорганизма [7].

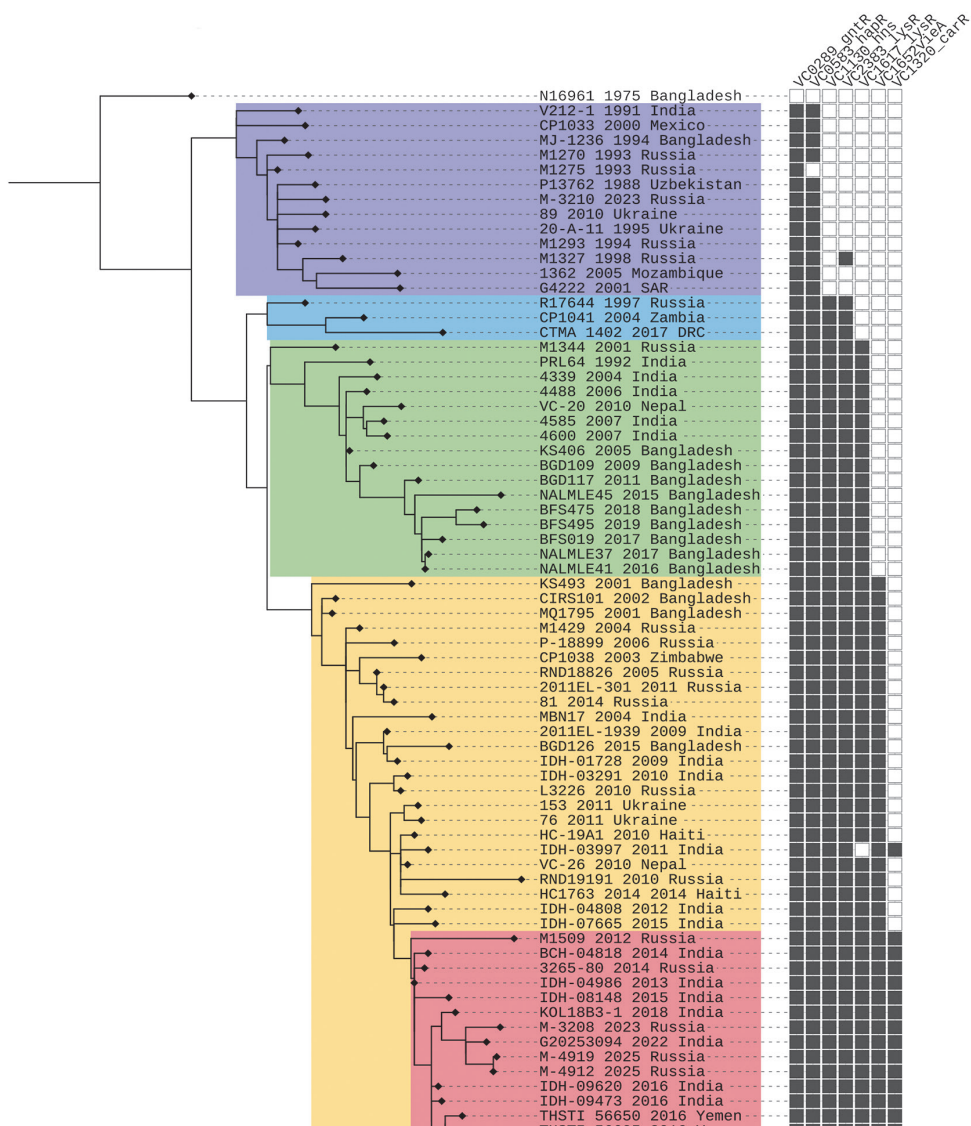
Стоит отметить, что в ранее проведенной работе при анализе «гипервирулентного» штамма *V. chole-*

rae MQ1795 (Бангладеш, 2001) установлено, что его высокая вирулентность обусловлена генотипом *hapR* (*int*), *hns* (G319A), *vieA* (C235T), *luxO* (C656T) [4, 11]. Однако штаммы с данной структурой регуляторного гена *luxO* (C656T) не были обнаружены ни среди *V. cholerae* O1 Эль Тор, выделенных на эндемичной территории, ни при исследовании изолятов, завезенных в РФ и сопредельные страны.

Далее была исследована структура генов *carRS* оперона. В ранее проведенной работе показано, что белок CarR повышает вирулентность возбудителя *in vivo* и способствует устойчивости патогена в кишечнике хозяина. Данный белок, действующий совместно с CarS, увеличивает способность *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор к колонизации эпителиоцитов. Кроме того, в присутствии катионных антимикробных пептидов (HD-5, α -дефензин, β -дефензин), продуцируемых эпителиальными клетками хозяина, CarR регулирует экспрессию генов *almEFG* оперона, продукты которого участвуют в модификации липида А липополисахарида клеточной стенки, что придает бактериям устойчивость к действию катионных пептидов [21]. В результате проведенного анали-

за установлено, что нуклеотидная последовательность гена *carS* сохраняется интактной у всех изученных штаммов, в то же время в гене *carR* штамма *V. cholerae* IDH-03997, выделенного в Индии в 2011 г., обнаружена мутация (G265A), приводящая к смене аминокислот D89N и биосинтезу функционально неактивного белка CarR. В РФ геноварианты с мутацией в шести генах, включая и *carR*, были завезены уже в 2012 г. [22]. При этом роль измененного белка CarR в вирулентности геновариантов пока не изучена. В Бангладеш штаммы с мутированным геном *carR* обнаруживались в 2016 г. Однако как в Индии, так и Бангладеш в последующие годы выделялись штаммы с интактной структурой данного гена. Геноварианты *V. cholerae* O1 Эль Тор, завезенные в 2025 г., также имели изученные гены с мутациями.

Филогенетический анализ. На заключительном этапе работы проведен филогенетический анализ последовательностей полных геномов исследуемых штаммов. В результате геноварианты, завезенные на территорию РФ и сопредельных стран, а также выделенные на эндемичных террито-



риях, распределились по кластерам согласно структуре регуляторных генов (рисунок). В I кластер вошли штаммы с генотипом *gntR* (G565A), *hapR*, *lysR_vc2383*, *hns*, *lysR_vc1617*, *vieA*, *carR*. Вторую кладу (II) составили штаммы со следующими аллельными вариантами генов: *gntR* (G565A), *hapR*, *lysR_vc2383* (C110T), *hns* (G319A), *lysR_vc1617*, *vieA*, *carR*. Третий кластер (III) включал штаммы с генотипом *gntR* (G565A), *hapR*, *lysR_vc2383* (C110T), *hns* (G319A), *lysR_vc1617* (A650C), *vieA*, *carR*. Четвертая группа (IV) состояла из штаммов с генотипом *gntR* (G565A), *hapR*, *lysR_vc2383* (C110T), *hns* (G319A), *lysR_vc1617* (A650C), *vieA* (C235T), *carR*, в этой группе отдельный подкластер образовали штаммы с аллелем *ctxB7* и генотипом *gntR* (G565A), *hapR*, *lysR_vc2383* (C110T), *hns* (G319A), *lysR_vc1617* (A650C), *vieA* (C235T), *carR* (G265A). Стоит отметить также, что штаммы RND18226 (2005, Тверь), 2011EL-301 (2011, Таганрог) и 81 (2014, Ростов-на-Дону), с не повторяющейся больше заменой G424T в гене *luxO*, формируют отдельную маленькую ветвь, имеющую общего предка со штаммом CP1038, выделенным в Зимбабве в 2003 г.

Таким образом, мутации в регуляторных генах в геноме геновариантов *V. cholerae* O1 Эль Тор накапливались постепенно, и в итоге высоковирулентные штаммы, выделяемые в настоящее время на эндемичной территории и завозимые в РФ, имеют генотип *hapR* (int), *lysR_vc2383* (C110T), *hns* (G319A), *lysR_vc1617* (A650C), *vieA* (C235T), *carR* (G265A). Замещение геновариантов с одним генотипом на другой в эндемичных странах происходило не одновременно, и некоторое время штаммы с неизменной структурой и с мутациями циркулировали совместно. Завоз штаммов геновариантов *V. cholerae* O1 Эль Тор с мутациями в регуляторных генах в РФ и сопредельные страны совпадает с их появлением на эндемичной территории. Мутации в генах *gntR* (G565A) и *carR* (G265A) являются генетическими метками геновариантов *V. cholerae* O1 Эль Тор и позволяют их идентифицировать (*gntR*) и выявлять современные высоковирулентные штаммы (*carR*). При филогенетическом анализе все изученные штаммы, выделенные в разных эндемичных странах и завезенные в РФ и сопредельные страны, четко разделялись на кластеры в соответствии со структурой регуляторных генов.

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

1. Попова А.Ю., Носков А.К., Ежлова Е.Б., Кругликов В.Д., Монахова Е.В., Чемисова О.С., Лопатин А.А., Иванова С.М., Подойницына О.А., Водопьянов А.С., Левченко Д.А., Савина И.В. Эпидемиологическая ситуация по холере в Российской Федерации в 2023 г. и прогноз на 2024 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; (1):76–88. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-1-76-88.

2. Кругликов В.Д., Гаевская Н.Е., Монахова Е.В., Москвитина Э.А., Агафонова В.В., Савина И.В., Подойницына О.А., Селянская Н.А., Водопьянов А.С., Дуванова О.В., Меньшикова Е.А., Ежова М.И., Шипко Е.С., Евтеев А.В., Казьмина В.С., Бодрая П.В., Сокиркина Е.Н. Анализ особенностей эпидемиологической ситуации по холере в 2024 г. в мире, в Российской Федерации и прогноз ее развития на 2025 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2025; (1):35–47. DOI: 10.21055/0370-1069-2025-1-35-47.

3. 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.

4. Son M.S., Megli C.J., Kovacicova G., Qadri F., Taylor R.K. Characterization of *Vibrio cholerae* O1 El Tor biotype variant clinical isolates from Bangladesh and Haiti, including a molecular genetic analysis of virulence genes. *J. Clin. Microbiol.* 2011; 49:3739–49. DOI: 10.1128/JCM.01286-11.

5. Alam M., Islam A., Bhuiyan N.A., Rahim N., Hossain A., Khan G.Y., Ahmed D., Watanabe H., Izumiya H., Faruque A.S., Akanda A.S., Islam S., Sack R.B., Huq A., Colwell R.R., Cravioto A. Clonal transmission, dual peak, and off-season cholera in Bangladesh. *Infect. Ecol. Epidemiol.* 2011; 1:7273. DOI: 10.3402/iee.v1i0.7273.

6. Satchell K.J., Jones C.J., Wong J., Queen J., Agarwal S., Yildiz F.H. Phenotypic analysis reveals that the 2010 Haiti cholera epidemic is linked to a hypervirulent strain. *Infect. Immun.* 2016; 84(9):2473–81. DOI: 10.1128/IAI.00189-16.

7. Russell R., Wang H., Benitez J.A., Silva A.J. Deletion of gene encoding the nucleoid-associated protein H-NS unmasks hidden regulatory connections in El Tor biotype *Vibrio cholerae*. *Microbiology*. 2018; 164(7):998–1003. DOI: 10.1099/mic.0.000672.

8. Matson J.S., Withey J.H., DiRita V.J. Regulatory networks controlling *Vibrio cholerae* virulence gene expression. *Infect. Immun.* 2007; 75(12):5542–9. DOI: 10.1128/IAI.01094-07.

9. Faruque S.M., Nair G.B., editors. *Vibrio cholerae: Genomics and Molecular Biology*. Norfolk: Caister Academic Press; 2008. 218 p.

10. Ramamurthy T., Nandy R.K., Mukhopadhyay A.K., Dutta S., Mutreja A., Okamoto K., Miyoshi S.-I., Nair G.B., Ghosh A. Virulence regulation and innate host response in the pathogenicity of *Vibrio cholerae*. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2020; 10:572096. DOI: 10.3389/fcimb.2020.572096.

11. Carignan B.M., Brumfield K.D., Son M.S. Single nucleotide polymorphisms in regulator-encoding genes have an additive effect on virulence gene expression in a *Vibrio cholerae* clinical isolate. *mSphere*. 2016; 1(5):e00253-16. DOI: 10.1128/mSphere.00253-16.

12. Childers B.M., Weber G.G., Prouty M.G., Castaneda M.M., Peng F., Klose K.E. Identification of residues critical for the function of the *Vibrio cholerae* virulence regulator ToxT by scanning alanine mutagenesis. *J. Mol. Biol.* 2007; 367(5):1413–30. DOI: 10.1016/j.jmb.2007.01.061.

13. Kovacicova G., Lin W., Skorupski K. Dual regulation of genes involved in acetoin biosynthesis and motility/biofilm formation by the virulence activator AphA and the acetate-responsive LysR-type regulator AlsR in *Vibrio cholerae*. *Mol. Microbiol.* 2005; 57(2):420–33. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2005.04700.x.

14. Yang M., Frey E.M., Liu Z., Bishar R., Zhu J. The virulence transcriptional activator AphA enhances biofilm formation by *Vibrio cholerae* by activating the expression of the biofilm regulator VpsT. *Infect. Immun.* 2010; 78(2):697–703. DOI: 10.1128/IAI.00429-09.

15. Kovacicova G., Lin W., Skorupski K. The LysR-type virulence activator AphB regulates the expression of genes in *Vibrio cholerae* in response to low pH and anaerobiosis. *J. Bacteriol.* 2010; 192(16):4181–91. DOI: 10.1128/JB.00193-10.

16. Li Y., Yan J., Li J., Xue X., Wang Y., Cao B. A novel quorum sensing regulator LuxT contributes to the virulence of *Vibrio cholerae*. *Virulence*. 2023; 14(1):2274640. DOI: 10.1080/21505594.2023.2274640.

17. Kovacicova G., Skorupski K. Regulation of virulence gene expression in *Vibrio cholerae* by quorum sensing: HapR functions at the *aphA* promoter. *Mol. Microbiol.* 2002; 46(4):1135–47. DOI: 10.1046/j.1365-2958.2002.03229.x.

18. Joelsson A., Liu Z., Zhu J. Genetic and phenotypic diversity of quorum-sensing systems in clinical and environmental isolates of *Vibrio cholerae*. *Infect. Immun.* 2006; 74(2):1141–7. DOI: 10.1128/IAI.74.2.1141-1147.2006.

19. Wang H., Ayala J.C., Benitez J.A., Silva A.J. RNA-seq analysis identifies new genes regulated by the histone-like nucleoid structuring protein (H-NS) affecting *Vibrio cholerae* virulence, stress response and chemotaxis. *PLoS One*. 2015; 10(2):e0118295. DOI: 10.1371/journal.pone.0118295.

20. Rakibora Y., Dunham D.T., Seed K.D., Freddolino L. Nucleoid-associated proteins shape the global protein occupancy and transcriptional landscape of a clinical isolate of *Vibrio cholerae*. *mSphere*. 2024; 9(7):e0001124. DOI: 10.1128/msphere.00011-24.

21. Liu Y., Xu T., Wang Q., Huang J., Zhu Y., Liu X., Liu R., Yang B., Zhou K. *Vibrio cholerae* senses human enteric α -defensin 5

through a CarSR two-component system to promote bacterial pathogenicity. *Commun. Biol.* 2022; 5(1):559. DOI: 10.1038/s42003-022-03525-3.

22. Плеханов Н.А., Федоров А.В., Чельдышова Н.Б., Кураташвили А.Ю., Заднова С.П. Сравнительный анализ структуры регуляторных генов штаммов *Vibrio cholerae* O1 серогруппы биовара El Tor. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2024; 101(4):520–9. DOI: 10.36233/0372-9311-527.

References

1. Popova A. Yu., Noskov A.K., Ezhlova E.B., Kruglikov V.D., Monakhova E.V., Chemisova O.S., Lopatin A.A., Ivanova S.M., Podoynitsyna O.A., Vodop'yanov A.S., Levchenko D.A., Savina I.V. [Epidemiological situation on cholera in the Russian Federation in 2023 and forecast for 2024]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; (1):76–88. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-1-76-88.

2. Kruglikov V.D., Gaevskaya N.E., Monakhova E.V., Moskvitina E.A., Agafonova V.V., Savina I.V., Podoynitsyna O.A., Selyanskaya N.A., Vodop'yanov A.S., Duvanova O.V., Men'shikova E.A., Ezhlova M.I., Shipko E.S., Evteev A.V., Kaz'mina V.S., Bodraya P.V., Sokirina E.N. [Analysis of peculiarities of epidemiological situation on cholera in the World and in the Russian Federation in 2024 and forecast of its development in 2025]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2025; (1):35–47. DOI: 10.21055/0370-1069-2025-1-35-47.

3. 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.

4. Son M.S., Megli C.J., Kovacicova G., Qadri F., Taylor R.K. Characterization of *Vibrio cholerae* O1 El Tor biotype variant clinical isolates from Bangladesh and Haiti, including a molecular genetic analysis of virulence genes. *J. Clin. Microbiol.* 2011; 49:3739–49. DOI: 10.1128/JCM.01286-11.

5. Alam M., Islam A., Bhuiyan N.A., Rahim N., Hossain A., Khan G.Y., Ahmed D., Watanabe H., Izumiya H., Faruque A.S., Akanda A.S., Islam S., Sack R.B., Huq A., Colwell R.R., Cravioto A. Clonal transmission, dual peak, and off-season cholera in Bangladesh. *Infect. Ecol. Epidemiol.* 2011; 1:7273. DOI: 10.3402/iee.v1i0.7273.

6. Satchell K.J., Jones C.J., Wong J., Queen J., Agarwal S., Yildiz F.H. Phenotypic analysis reveals that the 2010 Haiti cholera epidemic is linked to a hypervirulent strain. *Infect. Immun.* 2016; 84(9):2473–81. DOI: 10.1128/IAI.00189-16.

7. Russell R., Wang H., Benitez J.A., Silva A.J. Deletion of gene encoding the nucleoid-associated protein H-NS unmasks hidden regulatory connections in El Tor biotype *Vibrio cholerae*. *Microbiology.* 2018; 164(7):998–1003. DOI: 10.1099/mic.0.000672.

8. Matson J.S., Withey J.H., DiRita V.J. Regulatory networks controlling *Vibrio cholerae* virulence gene expression. *Infect. Immun.* 2007; 75(12):5542–9. DOI: 10.1128/IAI.01094-07.

9. Faruque S.M., Nair G.B., editors. *Vibrio cholerae: Genomics and Molecular Biology*. Norfolk: Caister Academic Press; 2008. 218 p.

10. Ramamurthy T., Nandy R.K., Mukhopadhyay A.K., Dutta S., Mutreja A., Okamoto K., Miyoshi S.-I., Nair G.B., Ghosh A. Virulence regulation and innate host response in the pathogenicity of *Vibrio cholerae*. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2020; 10:572096. DOI: 10.3389/fcimb.2020.572096.

11. Carignan B.M., Brumfield K.D., Son M.S. Single nucleotide polymorphisms in regulator-encoding genes have an additive effect on virulence gene expression in a *Vibrio cholerae* clinical isolate. *mSphere.* 2016; 1(5):e00253-16. DOI: 10.1128/mSphere.00253-16.

12. Childers B.M., Weber G.G., Prouty M.G., Castaneda M.M., Peng F., Klose K.E. Identification of residues critical for the function

of the *Vibrio cholerae* virulence regulator ToxT by scanning alanine mutagenesis. *J. Mol. Biol.* 2007; 367(5):1413–30. DOI: 10.1016/j.jmb.2007.01.061.

13. Kovacicova G., Lin W., Skorupski K. Dual regulation of genes involved in acetoin biosynthesis and motility/biofilm formation by the virulence activator AphA and the acetate-responsive LysR-type regulator AlsR in *Vibrio cholerae*. *Mol. Microbiol.* 2005; 57(2):420–33. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2005.04700.x.

14. Yang M., Frey E.M., Liu Z., Bishar R., Zhu J. The virulence transcriptional activator AphA enhances biofilm formation by *Vibrio cholerae* by activating the expression of the biofilm regulator VpsT. *Infect. Immun.* 2010; 78(2):697–703. DOI: 10.1128/IAI.00429-09.

15. Kovacicova G., Lin W., Skorupski K. The LysR-type virulence activator AphB regulates the expression of genes in *Vibrio cholerae* in response to low pH and anaerobiosis. *J. Bacteriol.* 2010; 192(16):4181–91. DOI: 10.1128/JB.00193-10.

16. Li Y., Yan J., Li J., Xue X., Wang Y., Cao B. A novel quorum sensing regulator LuxT contributes to the virulence of *Vibrio cholerae*. *Virulence.* 2023; 14(1):2274640. DOI: 10.1080/21505594.2023.2274640.

17. Kovacicova G., Skorupski K. Regulation of virulence gene expression in *Vibrio cholerae* by quorum sensing: HapR functions at the *aphA* promoter. *Mol. Microbiol.* 2002; 46(4):1135–47. DOI: 10.1046/j.1365-2958.2002.03229.x.

18. Joelsson A., Liu Z., Zhu J. Genetic and phenotypic diversity of quorum-sensing systems in clinical and environmental isolates of *Vibrio cholerae*. *Infect. Immun.* 2006; 74(2):1141–7. DOI: 10.1128/IAI.74.2.1141-1147.2006.

19. Wang H., Ayala J.C., Benitez J.A., Silva A.J. RNA-seq analysis identifies new genes regulated by the histone-like nucleoid structuring protein (H-NS) affecting *Vibrio cholerae* virulence, stress response and chemotaxis. *PLoS One.* 2015; 10(2):e0118295. DOI: 10.1371/journal.pone.0118295.

20. Rakibora Y., Dunham D.T., Seed K.D., Freddolino L. Nucleoid-associated proteins shape the global protein occupancy and transcriptional landscape of a clinical isolate of *Vibrio cholerae*. *mSphere.* 2024; 9(7):e0001124. DOI: 10.1128/msphere.00011-24.

21. Liu Y., Xu T., Wang Q., Huang J., Zhu Y., Liu X., Liu R., Yang B., Zhou K. *Vibrio cholerae* senses human enteric α -defensin 5 through a CarSR two-component system to promote bacterial pathogenicity. *Commun. Biol.* 2022; 5(1):559. DOI: 10.1038/s42003-022-03525-3.

22. Plekhanov N.A., Fedorov A.V., Cheldyshova N.B., Kurataшвили А.Ю., Заднова С.П. [Comparative analysis of the structure of regulatory genes of *Vibrio cholerae* serotype O1 biotype El Tor strains]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2024; 101(4):520–9. DOI: 10.36233/0372-9311-527.

Authors:

Fedorov A.V., Cheldyshova N.B., Zаднова S.P. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapr@microbe.ru.

Kul'shan' T.A. Institute of Pharmacy, Preventive Medicine and Biomedicine of V.I. Razumovsky Saratov State Medical University. 112, Bolshaya Kazachya St., Saratov, 410012, Russian Federation.

Об авторах:

Федоров А.В., Чельдышова Н.Б., Заднова С.П. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapr@microbe.ru.

Кульшань Т.А. Институт фармации, профилактической медицины и биомедицины, Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского. Российская Федерация, 410012, Саратов, ул. Большая Казачья, 112.