

DOI: 10.21055/0370-1069-2026-2-131-139

УДК 579.843.1:579

А.Ю. Кураташвили, Н.Б. Челдышова, А.В. Федоров, Д.А. Сергутин, Е.А. Нарышкина,
К.А. Никифоров, С.П. Заднова

Анализ системы секреции 6-го типа нетоксигенных штаммов *Vibrio cholerae* O1 биовара Эль Тор и их конкурентные особенности

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

Цель работы – изучение структуры генов системы секреции 6-го типа нетоксигенных штаммов *Vibrio cholerae* O1-серогруппы биовара Эль Тор и выявление их конкурентных особенностей. **Материалы и методы.** Исследования проведены на нетоксигенных штаммах, выделенных на территории РФ от больных или из внешней среды с 1981 по 2017 г., хранящихся в Государственной коллекции патогенных бактерий ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора. Для биоинформатического анализа применяли алгоритмы BLAST v.2.15.0 и BioEdit v.7.0.9.0. Использовали нуклеотидные последовательности полных геномов, представленные в NCBI GenBank. Конкурентную пробу ставили в автоклавированной речной воде по методу R. Freter et al. (1981). **Результаты и обсуждение.** Установлено, что состав кластеров системы секреции 6-го типа *ctxA tcpA*⁺-изолятов идентичен токсигенным штаммам *V. cholerae* O1 Эль Тор и включает большой кластер и три дополнительных – Aux-1, 2, 3. При этом Aux-3 по размеру и составу генов соответствует типу Aux-3^P, характерному для токсигенных изолятов. Структура 88,9 % изученных локусов также является прототипной. Исключение составили три штамма, имеющие однонуклеотидную замену в гене, кодирующем эффектор VgrG-3. В штаммах *ctxAB tcpA*⁺ выявлен большой кластер и Aux-2. Кластер Aux-1 отсутствует в геноме 22 % штаммов, а в оставшихся присутствует только краевой ген, кодирующий гемолизин. Только два штамма *ctxAB tcpA*⁺ содержат Aux-3, который соответствует типу Aux-3^E, характерному для водных вибрионов. Выявлена вариабельность структуры большинства изученных генов данных штаммов. При совместном культивировании штаммов *ctxAB tcpA*⁺ и *ctxAB tcpA*⁺ конкурентным преимуществом обладали практически все *ctxAB tcpA*⁺-изоляты. Исключение составил *ctxAB tcpA*⁺-штамм *V. cholerae* M1337, продуцирующий повышенное количество экзополисахарида, что усиливало его конкурентные свойства. Показано сосуществование *ctxAB tcpA*⁺-изолятов и *Aeromonas hydrophila* 401, имеющего функциональную систему секреции 6-го типа.

Ключевые слова: нетоксигенные штаммы *Vibrio cholerae* O1 Эль Тор, система секреции 6-го типа, конкурентная проба.

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

Для цитирования: Кураташвили А.Ю., Челдышова Н.Б., Федоров А.В., Сергутин Д.А., Нарышкина Е.А., Никифоров К.А., Заднова С.П. Анализ системы секреции 6-го типа нетоксигенных штаммов *Vibrio cholerae* O1 биовара Эль Тор и их конкурентные особенности. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2026; 2:131–139. DOI: 10.21055/0370-1069-2026-2-131-139

Поступила 10.02.2026. Отправлена на доработку 05.03.2026. Принята к публикации 11.03.2026.

A.Yu. Kuratashvili, N.B. Cheldyshova, A.V. Fedorov, D.A. Sergutin, E.A. Naryshkina,
K.A. Nikiforov, S.P. Zadnova

Study of Type 6 Secretion System in Non-Toxigenic Strains of *Vibrio cholerae* O1 Biovar El Tor and Their Competitive Features

Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, Saratov, Russian Federation

Abstract. The aim of the work was to study the structure of the genes of type 6 secretion system in non-toxigenic strains of *Vibrio cholerae* O1 serogroup, biovar El Tor and to identify their competitive features. **Materials and methods.** The studies were conducted on non-toxigenic strains isolated in the Russian Federation from patients or environment between 1981 and 2017, stored in the State Collection of Pathogenic Bacteria of the Russian Anti-Plague Institute “Microbe” of the Rospotrebnadzor. For bioinformatics analysis, the BLAST v.2.15.0 and BioEdit v.7.0.9.0 algorithms were applied. The nucleotide sequences of complete genomes presented in NCBI GenBank were utilized. The competitive test was set in autoclaved river water according to the method of R. Freter et al. (1981). **Results and discussion.** It has been established that the composition of type 6 secretion system clusters of in *ctxA tcpA*⁺ isolates is identical to that of toxigenic *V. cholerae* O1 El Tor strains and includes a large cluster and three additional – Aux-1, 2, and 3. Moreover, Aux-3 corresponds to the Aux-3^P type, characteristic of toxigenic isolates, in terms of size and gene composition. The structure of 88.9 % of the studied loci is also prototypical. The exception is three strains with a single nucleotide substitution in the gene encoding the VgrG-3 effector. A large cluster and Aux-2 have been detected in *ctxAB tcpA*⁺ strains. The Aux-1 cluster is absent in the genome of 22 % of the strains, and in the remaining ones only the marginal gene encoding hemolysin is present. Only two *ctxAB tcpA*⁺ strains contain Aux-3, which corresponds to the Aux-3^E type, characteristic of aquatic vibrios. Variability in the structure of the majority of the studied genes of these strains has been revealed. When *ctxAB tcpA*⁺ and *ctxAB tcpA*⁺ strains were co-cultivated, almost all *ctxAB tcpA*⁺ isolates exhibited a competitive advantage. The exception was the *ctxAB tcpA*⁺ strain of *V. cholerae* M1337, which produced increased amounts of exopolysaccharide, enhancing its competitive properties. The coexistence of *ctxAB tcpA*⁺ isolates and *Aeromonas hydrophila* 401, which has a functional type 6 secretion system, has been demonstrated.

Key words: non-toxigenic strains of *Vibrio cholerae* O1 El Tor, type 6 secretion system, competitive test.

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

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

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

Citation: Kuratashvili A.Yu., Cheldyshova N.B., Fedorov A.V., Sergutin D.A., Naryshkina E.A., Nikiforov K.A., Zadnova S.P. Study of Type 6 Secretion System in Non-Toxigenic Strains of *Vibrio cholerae* O1 Biovar El Tor and Their Competitive Features. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2026; 2:131–139. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2026-2-131-139

Received 10.02.2026. Revised 05.03.2026. Accepted 11.03.2026.

Kuratashvili A.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9779-166X>

Cheldyshova N.B., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5759-3765>

Fedorov A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7190-4427>

Sergutin D.A., ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-7525-9682>

Naryshkina E.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9190-099X>

Nikiforov K.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4115-9486>

Zadnova S.P., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4366-0562>

Холерный вибрион – распространенная по всему миру бактерия, способная хорошо адаптироваться как в воде открытых водоемов, так и в макроорганизме. При попадании в кишечник человека токсигенные штаммы *Vibrio cholerae* O1-серогруппы биовара Эль Тор, продуцирующие холерный токсин и токсин-корегулируемые пили, кодируемые соответственно генами *ctxAB* и *tcpA-F*, вызывают особо опасную инфекционную болезнь – холеру. Нетоксигенные изоляты *V. cholerae* O1 Эль Тор, лишенные генов *ctxAB* (*ctxAB-tcpA*⁺, *ctxAB-tcpA*⁻) и выделяемые из окружающей среды (изредка от больных острыми кишечными инфекциями – ОКИ), могут быть причиной единичных случаев или небольших вспышек ОКИ [1–5]. Важным фактором патогенности как токсигенных, так и нетоксигенных изолятов является система секреции 6-го типа, T6SS (Type VI Secretion System). С помощью данного контакт-зависимого механизма холерный вибрион транслоцирует внутрь клеток-мишеней токсичные белки-эффекторы и гемолизин и уничтожает как прокариотические (неродственные штаммы *V. cholerae*, бактерии разных видов), так и эукариотические (инфузории, нематоды, фагоцитирующие амебы, макрофаги и т.д.) организмы. Установлено, что система T6SS необходима возбудителю как для инфекционного процесса (уничтожая микробиоту хозяина, освобождает место для колонизации), так и адаптации в водной среде [6].

Структурные элементы T6SS расположены на двух хромосомах *V. cholerae* O1 Эль Тор и входят в состав «большого» (Large Cluster) и трех вспомогательных (дополнительных) кластеров Auh-1, 2, 3. Токсигенные и циркулирующие в водной среде вибрионы отличаются по структуре кластера Auh-3. В токсигенных штаммах *V. cholerae* O1 Эль Тор присутствует короткий (6 kb), но более стабильный элемент типа Auh-3^P. У обитающих в водной среде вибрионов размер данного элемента, обозначенного как Auh-3^E, более 40 kb, он нестабилен и часто утрачивается ими [6–8].

В состав большого элемента включены гены, кодирующие структурные компоненты комплекса, шапероны, белки-эффекторы, иммунные белки и т.д. На данном элементе находится ген *vasH*, ответственный за биосинтез белка-регулятора, контролирующего транскрипцию генов T6SS [9–11]. Важно отметить,

что гены, кодирующие эффекторы, располагаются рядом с генами, ответственными за биосинтез иммунных белков, нейтрализующих действие соответствующего эффектора при его нахождении в цитоплазме собственных клеток. Эффектор и иммунный белок составляют эффекторный модуль (ЭМ).

При изучении функциональных свойств белков-эффекторов установлено, что некоторые из них воздействуют только на прокариотические или эукариотические клетки, другие поражают оба вида организмов [10, 11]. Так, на большом кластере расположен ген *vgrG-3*, ответственный за биосинтез эффектора VgrG-3, на карбоксильном конце которого находится домен с лизоцимной активностью, разрушающий пептидогликановый слой бактерий. К данному локусу примыкает *tsiV-3*, кодирующий иммунный белок [12, 13]. В кластер Auh-1 включен ген *tseL*, кодирующий биосинтез липазы, а на Auh-2 расположен *vasX*, ответственный за порообразующий токсин. Данные эффекторы фрагментируют цитоплазматическую мембрану бактерий и оболочку эукариотических организмов [11, 12, 14]. Гидролаза TseH, лизирующая пептидогликановый слой прокариот, кодируется соответствующим геном, входящим в состав кластера Auh-3. Только на данном элементе присутствует ген *paar*, ответственный за продукцию белка PAAR (пролин-аланин-аланин-аргинин), образующего наконечник, прокалывающий клетку-мишень [8].

Согласно данным литературы, в токсигенных штаммах *V. cholerae* O1 Эль Тор T6SS является неактивной при их культивировании в лабораторных условиях. В то же время в изолятах *V. cholerae*, выделенных из внешней среды, указанная система конститутивно функциональна [14]. Однако в окружающей среде обитают как штаммы *ctxAB-tcpA*⁺, так и *ctxAB-tcpA*⁻, а также *V. cholerae* неO1/неO139. При этом основные исследования по анализу T6SS проведены именно на последних вибрионах [6, 12, 14]. Несмотря на активное изучение T6SS зарубежными учеными, наличие и структура генов данной системы в нетоксигенных штаммах *V. cholerae* O1 Эль Тор, циркулирующих на территории РФ, а также их конкурентные свойства исследованы фрагментарно.

Цель работы – изучение структуры генов системы секреции 6-го типа нетоксигенных штаммов *V. cholerae* O1 серогруппы биовара Эль Тор и выявление их конкурентных особенностей.

Материалы и методы

Использованные в работе штаммы. Исследования проведены на 13 нетоксигенных штаммах *ctxAB-tcpA⁺* и *ctxAB-tcpA⁻* *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, выделенных от больных и из внешней среды с 1981 по 2017 г. на территории Российской Федерации. Использовали также штамм *Aeromonas hydrophila* 401. Штаммы хранятся в лиофильно высушенном виде в Государственной коллекции патогенных бактерий ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора (Саратов).

Постановка конкурентной пробы. Конкурентные способности штаммов определяли по методу R. Freter et al. [15]. Предварительно для идентификации бактерий в пробе были получены клоны, устойчивые к рифампицину (Rif^R) и стрептомицину (Str^R). Для получения таких клонов штаммы культивировали на питательном агаре, содержащем антибиотик, начиная с минимальной концентрации (25–50 мкг/мл), постепенно пересевая выросшие колонии на агар с более высокой концентрацией антибиотика (конечная концентрация – 250 мкг/мл).

Для постановки конкурентной пробы из бактериальных культур тестируемых штаммов, выращенных на LB-агаре при температуре 37 °С, готовили суспензии одинаковой оптической плотности, определяя ее на спектрофотометре Biowave DNA (США). Полученные суспензии разводили до концентрации 1·10⁸ м.к./мл. Взвеси сравниваемых штаммов вносили по 0,25 мл в 4,5 мл стерилизованной речной воды. Кроме того, параллельно по 0,5 мл каждого из сравниваемых штаммов помещали в отдельную пробирку со стерильной речной водой (4,5 мл) для учета характера роста и выживаемости. Через определенные промежутки времени делали высевы на чашки с LB-агаром, содержащим соответствующий антибиотик, и подсчитывали число выросших колоний каждого штамма.

Проведение электрофореза. Одномерный электрофорез проводили по методу U.K. Laemmli [16], используя 15% полиакриламидный гель, содержащий додецилсульфат натрия. Пластины после электрофореза фиксировали в течение ночи в растворе 25% изопропанола, окрашивали раствором азотнокислого серебра и проявляли в растворе с 0,05% формалина.

Анализ нуклеотидных последовательностей. Исследовали нуклеотидные последовательности полных геномов штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, представленные в свободном доступе в базе данных NCBI GenBank. Для анализа использовали алгоритм BLAST v.2.15.0 и BioEdit v.7.0.9.0.

Статистический анализ. Статистический анализ экспериментальных данных осуществляли с использованием непараметрического U-критерия Манна – Уитни (Mann–Whitney U test). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Анализ присутствия и структуры генов системы секреции 6-го типа. В работе использованы две группы нетоксигенных штаммов. Штаммы первой группы содержат ген *tcpA* (*ctxA-tcpA⁺*), у второй – данный локус отсутствует (*ctxA-tcpA⁻*). Для сравнения в анализ также взят первый клинический нетоксигенный штамм *V. cholerae* ATCC 14033 O1 Эль Тор (табл. 1). Проведен анализ нуклеотидных последовательностей локусов *vgrG3*, *vasX*, *tseL*, *tseH*, кодирующих белки-эффекторы, и *tsiV3*, *tsiV2*, *tsiV1*, *tsiH*, ответственных за биосинтез соответствующих иммунных белков, а также гена *paar*.

На первом этапе изучено присутствие кластеров T6SS. В результате установлено, что *ctxA-tcpA⁺*-изоляты, как и токсигенные штаммы, имеют большой и три дополнительных (Aux-1, 2, 3) кластера. Стоит особенно отметить, что указанные штаммы, в том числе выделенные из внешней среды, содержат Aux-3, идентичный токсигенным штаммам, то есть тип Aux-3^P. Таким образом, по наличию кластеров T6SS *ctxA-tcpA⁺*-изоляты соответствуют токсигенным штаммам *V. cholerae* O1 Эль Тор.

При анализе *ctxAB-tcpA⁻*-изолятов выявлено наличие большого кластера и Aux-2. Блок Aux-1, расположенный на первой хромосоме, отсутствует в штаммах *V. cholerae* 132 и 29, а в геноме остальных изолятов обнаружен только краевой ген – *vc1415*, кодирующий гемолизин. Стоит отметить, что у взятого для сравнения штамма *V. cholerae* ATCC 14033 также отсутствует Aux-1, но выявлен Aux-3, который по размеру и составу генов соответствует Aux-3^P. Среди *ctxAB-tcpA⁻*-изолятов Aux-3 присутствует еще только у *V. cholerae* P18748 и 29, при этом данные штаммы имеют Aux-3^E. Полученные нами результаты согласуются со сведениями других авторов о вариабельном содержании кластеров T6SS в *ctxAB-tcpA⁻*-изолятах, циркулирующих на территории РФ [17, 18].

Далее была изучена структура ЭМ. В результате выявлено, что практически все *ctxA-tcpA⁺*-изоляты имеют прототипную структуру генов, кодирующих эффекторы и иммунные белки, соответствующую генам токсигенного референс-штамма *V. cholerae* N16961 O1 Эль Тор. Исключение составили три штамма (M-1395, P18778, M-1501), включающие локус *vgrG-3* с единичной заменой аденина на тимин в позиции 728, что привело к замене аминокислот в белке VgrG-3 (табл. 1). Влияние данного аллеля на функциональную активность VgrG-3 не установлено. Стоит отметить, что в ранее проведенной работе показано, что *ctxA-tcpA⁺*-штаммы имеют и неизменную структуру гена *vasH*, кодирующего регуляторный белок VasH, который контролирует экспрессию генов T6SS [19].

При исследовании *ctxA-tcpA⁻*-изолятов ряд генов не обнаружен ввиду отсутствия кластеров Aux-1 и Aux-3, а структура других вариабельна (табл. 1). Практически у всех штаммов отмечено изменение

Характеристика, использованных в работе нетоксигенных штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, структура генов, кодирующих белки-эффекторы, иммунные белки и белок PAAR
 Characteristics of the non-toxicogenic *V. cholerae* O1 biovar El Tor strains used in this study, the structure of genes encoding effector proteins, immune proteins, and the PAAR protein

Штамм* <i>V. cholerae</i> <i>V. cholerae</i> strain*	Год, место, источник выделения The site, year and source of isolation	Структура генов (замена аминокислот) / Genes structure (amino acid substitution)									
		Большой кластер Large cluster		Aux-1		Aux-2			Aux-3		
		<i>vgrG-3</i> <i>VCA0123</i>	<i>tsiV-3</i> <i>VCA0124</i>	<i>tseL VCI418</i>	<i>tsiV-1</i> <i>VCI419</i>	<i>vasX</i> <i>VCA0020</i>	<i>tsiV-2</i> <i>VCA0021</i>	<i>paar</i> <i>VCA0284</i>	<i>tseH</i> <i>VCA0285</i>		
Нетоксигенные штаммы <i>ctxA tcpA</i> ⁺ / Non-toxicogenic <i>ctxA tcpA</i> ⁺ strains											
M-1395 ^{LOBY01}	1981, Астрахань, в.с. Astrakhan, env.	A728T (Y243F)	int	int	int	int	int	int	int	int	int
P-18778 ^{NIFH01}	2005, Ростов-на-Дону, человек Rostov-on-Don, patient	A728T (Y243F)	int	int	int	int	int	int	int	int	int
M-1501 ^{LRAE01}	2011, Элиста, человек Elista, patient	A728T (Y243F)	int	int	int	int	int	int	int	int	int
M-1518 ^{LOZR01}	2012, Элиста, в.с. Elista, env.	int	int	int	int	int	int	int	int	int	int
2687	2015, Элиста, в.с. Elista, env.	int	int	int	int	int	int	int	int	int	int
124 ^{PYCD01}	2017, Элиста, в.с. Elista, env.	int	int	int	int	int	int	int	int	int	int
Нетоксигенные штаммы <i>ctxA tcpA</i> ⁻ / Non-toxicogenic <i>ctxA tcpA</i> ⁻ strains											
ATCC 14033 ^{SAMN0197852}	1910, Аравийский п-ов, человек Arabian Peninsula, patient	T106A (C36S) ΔTACT165-168 insCACG57-60 C277T (H93T) A950T (H317L)	Δ18 %	Δ	Δ	G524A (G175N)	int	Δ	T619C (P207L) C268T (L90P) A196G (T66A) C118T (P40S) A103G (A35G) G85T (G29C) G79A (A27T) T61C (T21H)	ΔCATT296-299 ins TATC296-299 (AL99VS) ΔAGACAAAGCAT191-200 ins GGATAAACAC 191-200 (TTSI64TINT)	
M-1337 ^{NEEB01}	2000, Астрахань, человек Astrakhan, patient	Δ38 %	Δ	Δ	Δ	95,5 %	87,5 %	Δ	Δ	Δ	
P-18748 ^{NIFH01}	2004, Сочи, человек Sochi, patient	Δ20 %	Δ 63 %	Δ	Δ	G524A (G175D)	int	T115G (L39V)	int	int	
M-1516 ^{VTZY01}	2013, Элиста, в.с. Elista, env.	Δ21 %	Δ	Δ	Δ	96,9 %	87,5 %	Δ	Δ	Δ	
132 ^{VUAC01}	2013, Элиста, в.с. Elista, env.	Δ20 %	Δ	Δ	Δ	96,9 %	87,4 %	Δ	Δ	Δ	
29 ^{VUAB01}	2013, Элиста, в.с. Elista, env.	Δ38 %	Δ	Δ	Δ	95,5 %	85,7 %	T115G (L39V)	int	int	
3178 ^{PYCH01}	2017, Элиста, в.с. Elista, env.	G258C (L86F) G1100T (C367F)	int	Δ	Δ	Δ	Δ	Δ	Δ	Δ	

Примечания: * в надстрочном индексе штаммов указан сокращенный код доступа в GenBank; в.с. – внешняя среда; int – нуклеотидная последовательность гена идентична подобному гену референс-штамма *V. cholerae* N16961 O1 биовара Эль Тор; ΔX % – X % нуклеотидной последовательности гена; X % – указан процент идентичности нуклеотидной последовательности относительно гена референсного штамма *V. cholerae* N16961; сокращения аминокислот: D – аспарагиновая кислота, V – валин, H – гистидин, G – глицин, L – лейцин, S – серин, Y – тирозин, T – треонин, F – фенилаланин, C – цистеин.

Notes: * the superscript index of the strains indicates the abbreviated GenBank access code; env. – environment; int – the nucleotide sequence of the gene is identical to a similar gene of the reference strain *V. cholerae* N16961 O1 biovar El Tor; ΔX % – X % of the nucleotide sequence of the gene is deleted; X % – the percentage of nucleotide sequence identity relative to the gene of the reference strain *V. cholerae* N16961 is indicated; amino acid abbreviations: D – aspartic acid, V – valine, H – histidine, G – glycine, L – leucine, S – serine, Y – tyrosine, T – threonine, F – phenylalanine, C – cysteine.

гена *vgrG-3* – делетировано от 20 до 38 % нуклеотидной последовательности. В результате белок VgrG3 (1017 аминокислот) в данных штаммах укорочен: у штамма *V. cholerae* M-1516 включает 994 аминокислоты, у *V. cholerae* 132 и P18748 – 803, у *V. cholerae* 29 и M-1337 – 732 аминокислоты. Исключение составили *V. cholerae* ATCC 14033, у которого, несмотря на делеции, инсерции, SNP в гене *vgrG-3*, количество аминокислот в белке VgrG3 не изменилось, а также *V. cholerae* 3178, имеющий две несинонимичные замены в гене *vgrG3*. Структура гена *tsiV-3*, кодирующего иммунный белок TsiV-3, сохранена только у штамма *V. cholerae* 3178. У остальных изолятов данный ген отсутствует или делетирован (у штамма ATCC 14033 отсутствует 18 %, у P18748 – 63 %) (табл. 1). Дефицит иммунного белка TsiV-3 практически у всех *ctxAB-tcpA*⁻-изолятов способствует их уязвимости при действии эффектора VgrG3 других штаммов *V. cholerae*.

При анализе гена *vasX*, расположенного на кластере Auh-2, выявлено, что штаммы ATCC 14033 и P-18748 имеют идентичную несинонимичную SNP в данном гене, что привело к замене глицина на аспарагиновую кислоту в позиции 175 белка VasX. В геноме *V. cholerae* 3178 данный ген отсутствует. В остальных изолятах делеция 95,5 и 96,9 % последовательности ДНК данного локуса способствовала укорочению белка VasX до 900 аминокислот у *V. cholerae* M1337 и 29, а также до 1023 аминокислот – у *V. cholerae* M1516 и 132. При этом стоит отметить, что колициновый домен, расположенный с 775-й по 915-ю аминокислоты, присутствует практически у всех изолятов, за исключением M1332. Учитывая, что данный белок участвует в защите от эукариотических организмов, биосинтез функционального белка VasX важен для нетоксигенных штаммов *ctxAB-tcpA*⁻, так как при отсутствии у данной группы эффектора TseL с подобной функцией (табл. 1) продукция VasX будет способствовать защите указанных штаммов от эукариотических организмов, в том числе амёб.

В результате отсутствия Auh-3 эффектор TseH, иммунный белок TsiH и белок PAAR, образующий наконечник прокалывающего механизма, обнаружены только в штаммах *V. cholerae* P-18748 и 29. При этом в белке PAAR у данных штаммов лейцин заменен на валин в положении 39 (табл. 1). Сведения о влиянии данного аллеля на функциональную роль белка PAAR в литературе отсутствуют. Стоит отметить, что эффектор TseH не действует на штаммы кишечной палочки, а также на штаммы холерного вибриона, у которых нет родственного гена иммунитета *tsiH*, но активно поражает бактерии *Aeromonas* и *Edwardsiella*, являющиеся патогенами рыб. Высказывается предположение, что TseH обеспечивает конкурентные преимущества холерного вибриона при колонизации указанных водных организмов [8]. В штамме ATCC 14033 ген *paar* отсутствует, а количество аминокислот в белках TseH и TsiH,

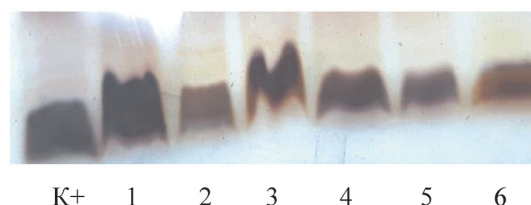
несмотря на делеции и инсерции в генах *tseH* и *tsiH*, не изменено.

Таким образом, у большинства нетоксигенных *ctxA-tcpA*⁺-штаммов строение T6SS соответствует токсигенным изолятам *V. cholerae* O1 Эль Тор, у *ctxA-tcpA*⁻-штаммов состав и структура локусов данной системы варьируемы.

Изучение конкурентных особенностей штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор с разной структурой генов системы секреции 6-го типа. Для исследования конкурентных свойств были подобраны 7 пар штаммов, включающих изоляты *ctxAB-tcpA*⁺ и *ctxAB-tcpA*⁻, предпочтительно выделенные на одной территории (табл. 2). Стоит отметить, что для изучения T6SS зарубежные исследователи используют изогенные штаммы *V. cholerae* O1 Эль Тор [9, 12]. При отсутствии указанных штаммов мы использовали природные изоляты, включающие мутации в различных генах (табл. 1).

В результате установлено, что при культивировании в речной воде при температуре 22–25 °C как штаммы *ctxAB-tcpA*⁺, так и *ctxAB-tcpA*⁻ по отдельности выживали более 70 суток (время наблюдения). В то же время в совместных пробах доминировали практически все *ctxAB-tcpA*⁺, на 7–14-е сутки подавляя рост *ctxAB-tcpA*⁻-изолятов *V. cholerae* O1 Эль Тор (табл. 2). Исключение составили пробы № 6 (M1395/M1337) и № 7 (M1501/M1337). В пробе № 6 штаммы сосуществовали и вытеснения одного изолята другим не наблюдалось, а в пробе № 7 *ctxAB-tcpA*⁻-штамм *V. cholerae* M1337 обладал конкурентным преимуществом над *V. cholerae* M1501 на всех сроках наблюдения (табл. 2).

Одним из механизмов, защищающим бактерии от действия T6SS, является наличие внеклеточного экзополисахарида, который образует барьер между киллером и мишенью [20]. Мы изучили продукцию экзополисахарида у взятых в исследование штаммов *V. cholerae* и обнаружили, что действительно, в отличие от других, *V. cholerae* M1337 синтезирует больше экзополисахарида (рисунок). Возможно, именно



Определение биосинтеза экзополисахарида нетоксигенными штаммами *V. cholerae* O1 Эль Тор (окраска полиакриламидной пластины азотнокислым серебром):

K+ – положительный контроль (мутные клоны штамма *V. cholerae* Дакка 35 O1 классического биовара); обозначения штаммов: 1 – M1337, 2 – M1395, 3 – M1516, 4 – M1501, 5 – 29, 6 – 132

Determination of exopolysaccharide biosynthesis by non-toxicogenic *V. cholerae* O1 El Tor strains (polyacrylamide plate stained with silver nitrate):

K+ – positive control (turbid clones of the *V. cholerae* strain Dakka 35 O1, classical biovar); strain designations: 1 – M1337, 2 – M1395, 3 – M1516, 4 – M1501, 5 – 29, 6 – 132

Таблица 2 / Table 2

Результаты конкурентной пробы нетоксигенных штаммов *V. cholerae* с разной структурой генов-эффекторовResults of a competitive assay of non-toxicogenic *V. cholerae* strains with different structure of effector genes

№ пробы Assay No.	Штамм Strain	Место и год выделения The site and year of isolation	КОЕ/мл на плотной среде*, определяемое через CFU/ml on a solid medium*, determined on			
			3 сут. Day 3	7–8 сут. Day 7–8	10–11 сут. Day 10–11	14–15 сут. Day 14–15
№ 1	M1518 Rif ^R (<i>ctxAB tcpA</i> ⁺)	Элиста, 2012 Elista, 2012	8,03·10 ⁵ ±120	2,6·10 ⁵ ±80	1,53·10 ⁵ ±92	9,16·10 ⁴ ±64
	M1516 Str ^R (<i>ctxAB tcpA</i> ⁻)	Элиста, 2013 Elista, 2013	1,08·10 ⁴ ±50	9,33±1,0	6,67±1,2	0
№ 2	M1518 Rif ^R (<i>ctxAB tcpA</i> ⁺)	Элиста, 2012 Elista, 2012	2,2·10 ⁵ ±98	1,8·10 ⁵ ±11	1,3·10 ⁵ ±77	1,6·10 ⁵ ±109
	132 Str ^R (<i>ctxAB tcpA</i> ⁻)	Элиста, 2013 Elista, 2013	66,7±1,0	0	0	0
№ 3	124 Str ^R (<i>ctxAB tcpA</i> ⁺)	Элиста, 2017 Elista, 2017	9,38·10 ⁵ ±110	6,27·10 ⁵ ±92	1,5·10 ⁵ ±56	3,2·10 ⁴ ±60
	3178 Rif ^R (<i>ctxAB tcpA</i> ⁻)	Элиста, 2017 Elista, 2017	1,97·10 ⁵ ±130	73,3±2,0	76,6±1,0	0
№ 4	2687 Str ^R (<i>ctxAB tcpA</i> ⁺)	Элиста, 2015 Elista, 2015	3,3·10 ⁵ ±77	1,43·10 ⁵ ±95	2,5·10 ⁴ ±64	2,9·10 ⁴ ±81
	29 Rif ^R (<i>ctxAB tcpA</i> ⁻)	Элиста, 2013 Elista, 2013	2,67·10 ² ±13	0	0	0
№ 5	P18778 Rif ^R (<i>ctxAB tcpA</i> ⁺)	Ростов-на-Дону, 2005 Rostov-on-Don, 2005	4,2·10 ⁵ ±94	1,3·10 ⁶ ±111	3,6·10 ⁶ ±68	5,6·10 ⁶ ±33
	P18748 Str ^R (<i>ctxAB tcpA</i> ⁻)	Сочи, 2004 Sochi, 2004	1,6·10 ⁵ ±32	1,1·10 ⁵ ±94	1,7·10 ⁴ ±66	0,9·10 ⁴ ±54
№ 6	M1395 Rif ^R (<i>ctxAB tcpA</i> ⁺)	Астрахань, 1981 Astrakhan, 1981	3,9·10 ⁵ ±78	4,7·10 ⁴ ±18	3,9·10 ⁴ ±29	3,6·10 ⁴ ±55
	M1337 Str ^R (<i>ctxAB tcpA</i> ⁻)	Астрахань, 2000 Astrakhan, 2000	1,3·10 ⁵ ±91	9,8·10 ⁴ ±44	4,8·10 ⁴ ±92	2,6·10 ⁴ ±59
№ 7	M1501 Rif ^R (<i>ctxAB tcpA</i> ⁺)	Элиста, 2011 Elista, 2011	1,4·10 ⁴ ±38	3,7·10 ³ ±72	1,8·10 ³ ±17	1,0·10 ³ ±29
	M1337 Str ^R (<i>ctxAB tcpA</i> ⁻)	Астрахань, 2000 Astrakhan, 2000	5,3·10 ⁵ ±97	4,6·10 ⁵ ±100	4,1·10 ⁵ ±43	2,3·10 ⁵ ±35

Примечания: * приведены средние значения трех опытов (p<0,05); цветом отмечено большее количество бактерий в пробе, определенное в указанные сутки.

Notes: * average values of three experiments are provided (p<0.05); the color indicates a greater number of bacteria in the sample, determined on the specified day.

наличие дополнительного экзополисахаридного слоя на поверхности клеток способствовало повышению конкурентных свойств данного штамма.

Продукция экзополисахаридов является очень распространенным механизмом защиты и используется многими бактериями для повышения выживаемости. Например, присутствие полисахаридов на поверхности бактерий рода *Klebsiella*, у которых отсутствует Т6SS, способствует их выживанию в кишечнике человека совместно с холерными вибрионами, экспрессирующими токсичные эффекторы Т6SS [21]. Однако нельзя исключить и факт продукции штаммом *V. cholerae* M1337 каких-то других токсических веществ, влияющих на популяцию конкурента. Несмотря на ведущую роль Т6SS в конкуренции, в ряде случаев повышение выживаемости может быть обусловлено увеличенной подвижностью бактерий, скоростью роста и т.д. [22–24].

Повышение конкурентных свойств *ctxAB tcpA*⁺-штаммов *V. cholerae* O1 Эль Тор может быть также связано с присутствием функционально активных дополнительных кластеров Т6SS. Так, в работе С.В. Crisan et al. [10] выявлено наличие в геноме *ctxAB tcpA*⁺-штамма *V. cholerae* 124 (Элиста, 2015) нового кластера Aux-5, содержащего ген *tleV1*, кодирующий липазу TleV1, которая очень токсична для штаммов холерного вибриона.

На следующем этапе работы поставлены конкурентные пробы со штаммом *Aeromonas hydrophila* 401. Штаммы *A. hydrophila* обитают совместно с холерными вибрионами в водной среде и часто выделяются вместе при мониторинговых исследованиях. Показано, что аэромонады содержат полностью функциональную Т6SS [25, 26]. В работу были взяты *ctxAB tcpA*⁺-штаммы *V. cholerae* O1 Эль Тор. В результате установлено, что только штамм

Таблица 3 / Table 3

Результаты конкурентной пробы *ctxAB-tcpA*⁺-штаммов *V. cholerae* O1 Эль Тор с *A. hydrophila* 401Results of the competitive assay of *ctxAB-tcpA*⁺ strains of *V. cholerae* O1 El Tor with *A. hydrophila* 401

Номер пробы Assay No.	Штаммы Strains	КОЕ/мл на плотной среде*, определяемое через CFU/ml on a solid medium*, determined by			
		3 сут. / Day 3	8 сут. / Day 8	11 сут. / Day 11	16 сут. / Day 16
№ 1	<i>V. cholerae</i> M1518	2,6·10 ⁶ ±250	3,9·10 ⁵ ±160	1,8·10 ⁵ ±195	1,0·10 ⁵ ±111
	<i>A. hydrophila</i> 401	7,3·10 ⁴ ±180	4,0·10 ⁴ ±100	1,7·10 ⁴ ±37	0,3·10 ⁴ ±56
№ 2	<i>V. cholerae</i> M1395	2,0·10 ² ±110	3,3·10 ⁴ ±90	2,3·10 ⁵ ±99	1,04·10 ³ ±87
	<i>A. hydrophila</i> 401	1,1·10 ⁴ ±117	4,0·10 ⁴ ±120	4,0·10 ⁴ ±115	4,4·10 ² ±13
№ 3	<i>V. cholerae</i> P18778	3,9·10 ⁶ ±211	4,1·10 ⁶ ±200	7,5·10 ⁶ ±89	8,0·10 ⁶ ±79
	<i>A. hydrophila</i> 401	2,1·10 ⁶ ±310	5,2·10 ⁶ ±172	1,8·10 ⁷ ±98	9,3·10 ⁶ ±34

Примечания: * приведены средние значения трех опытов (p<0,05); цветом выделено большее количество бактерий в пробе, определенное в указанные сутки.

Notes: * average values of three experiments are provided (p<0.05); the color indicates a greater number of bacteria in the sample, determined on the specified day.

V. cholerae M1518 (проба № 1), несмотря на постепенное снижение количества бактерий в пробе, доминировал на всех сроках наблюдения (табл. 3). В образце № 2 штамм *V. cholerae* M1395 преобладал на 11–16-е сутки, а в пробе № 3 штамм *V. cholerae* P18778 вообще не имел конкурентного преимущества.

Таким образом, в результате проведенных исследований получены данные о составе и структуре локусов T6SS в нетоксигенных штаммах *V. cholerae* O1 Эль Тор, циркулирующих на территории РФ. Установлено наличие в геноме *ctxAB-tcpA*⁺-изолятов, выделенных как от больных, так и из внешней среды, кластеров T6SS, характерных для токсигенных штаммов, в том числе и блока A_{ux}-3 типа A_{ux}-3^R. При анализе конкурентных свойств выявлено преимущество *ctxAB-tcpA*⁺-штаммов *V. cholerae* O1 Эль Тор, имеющих полноценную систему T6SS, над *ctxAB-tcpA*-изолятами, у которых ряд локусов, ответственных за продукцию эффекторов, отсутствует или редуцирован, а структура имеющихся ЭМ изменена. Установлено, что одной из причин повышенной выживаемости штаммов *V. cholerae* O1 Эль Тор в конкурентной пробе может быть увеличенная продукция экзополисахарида. Показана возможность сосуществования *ctxAB-tcpA*⁺-изолятов *V. cholerae* O1 Эль Тор с неродственными видами бактерий, имеющими функциональную систему T6SS. Не вызывает сомнений, что для окончательного установления роли T6SS в конкуренции необходимо проведение исследований с использованием изогенных штаммов. Также следует продолжить работу по выявлению и анализу других кластеров T6SS в нетоксигенных штаммах *V. cholerae* O1 Эль Тор.

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. Зубкова Д.А., Кругликов В.Д., Архангельская И.В., Водопьянов А.С., Непомнящая Н.Б., Водопьянов С.О. Генетические особенности штаммов холерных вибрионов O1 серогруппы *ctxA-tcpA*⁺, выделенных из водных объектов Российской Федерации, охарактеризованные с помощью новой геоинформационной системы. *Здоровье населения и среда обитания*. 2014; (9):32–4.
2. Агафонова Е.Ю., Смирнова Н.И., Альхова Ж.В., Краснов Я.М., Ливанова Л.Ф., Лозовский Ю.В., Кутырев В.В. Нетоксигенные штаммы *Vibrio cholerae* биовара Эль Тор, выделенные на территории России: молекулярно-генетические особенности и патогенные свойства. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2019; (2):13–24. DOI: 10.36233/0372-9311-2019-2-13-24.
3. Левченко Д.А., Кругликов В.Д., Гаевская Н.Е., Водопьянов А.С., Непомнящая Н.Б. Фено- и генотипические особенности нетоксигенных штаммов холерных вибрионов различного происхождения, изолированных на территории России. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; (3):89–96. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-89-96.
4. Крицкий А.А., Смирнова Н.И., Каляева Т.Б., Оброткина Н.Ф., Грачева И.В., Катышев А.Д., Кутырев В.В. Сравнительный анализ молекулярно-генетических свойств нетоксигенных штаммов *Vibrio cholerae* O1 биовара Эль Тор, изолированных в России и на эндемичных по холере территориях. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2021; (3):72–82. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-3-72-82.
5. Banerjee R., Das B., Nair G.B., Basak S. Dynamics in genome evolution of *Vibrio cholerae*. *Infect. Genet. Evol.* 2014; 23:32–41. DOI: 10.1016/j.meegid.2014.01.006.
6. Pukatzki S., Ma A.T., Sturtevant D., Krastins B., Sarracino D., Nelson W.C., Heidelberg J.F., Mekalanos J.J. Identification of a conserved bacterial protein secretion system in *Vibrio cholerae* using the *Dictyostelium* host model system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2006; 103(5):1528–33. DOI: 10.1073/pnas.0510322103.
7. Santoriello F.J., Michell L., Unterweger D., Pukatzki S. Pandemic *Vibrio cholerae* shuts down site-specific recombination to retain an interbacterial defence mechanism. *Nat. Commun.* 2020; 11(1):6246. DOI: 10.1038/s41467-020-20012-7.
8. Santoriello F.J., Pukatzki S. When the pandemic opts for the lockdown: secretion system evolution in the cholera bacterium. *Microbial. Cell*. 2021; 8(3):69–72. DOI: 10.15698/mic2021.03.744.
9. Unterweger D., Miyata S.T., Bachmann V., Brooks T.M., Mullins T., Kostiuik B., Provenzano D., Pukatzki S. The *Vibrio cholerae* type VI secretion system employs diverse effector modules for intraspecific competition. *Nat. Commun.* 2014; 5:3549. DOI: 10.1038/ncomms4549.
10. Crisan C.V., Chande A.T., Williams K., Raghuram V., Rishishwar L., Steinbach G., Watve S.S., Yunker P., Jordan I.K., Hammer B.K. Analysis of *Vibrio cholerae* genomes identifies new type VI secretion system gene clusters. *Genome Biol.* 2019; 20(1):163. DOI: 10.1186/s13059-019-1765-5.
11. Crisan C.V., Hammer B.K. The *Vibrio cholerae* type VI secretion system: toxins, regulators and consequences. *Environ. Microbiol.* 2020; 22(10):4112–22. DOI: 10.1111/1462-2920.14976.
12. Zheng J., Ho B., Mekalanos J.J. Genetic analysis of anti-amoebae and anti-bacterial activities of the type VI secretion system

in *Vibrio cholerae*. *PLoS One*. 2011; 6(8):e23876. DOI: 10.1371/journal.pone.0023876.

13. Kirchberger P.C., Unterweger D., Provenzano D., Pukatzki S., Boucher Y. Sequential displacement of type VI secretion system effector genes leads to evolution of diverse immunity gene arrays in *Vibrio cholerae*. *Sci. Rep.* 2017; 7:45133. DOI: 10.1038/srep45133.

14. Santoriello F.J., Pukatzki S. When the pandemic opts for the lockdown: secretion system evolution in the cholera bacterium. *Microb. Cell.* 2021; 8(3):69–72. DOI: 10.15698/mic2021.03.744.

15. Freter R., O'Brien P.C., Macsai M.S. Role of chemotaxis in the association of motile bacteria with intestinal mucosa: *in vivo* studies. *Infect. Immun.* 1981; 34(1):234–40. DOI: 10.1128/iai.34.1.234-240.1981.

16. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 1970; 227(5259): 680–5. DOI: 10.1038/227680a0.

17. Монахова Е.В., Кругликов В.Д., Водопьянов А.С., Гаевская Н.Е. Нетоксигенные штаммы *Vibrio cholerae* O1, вызывавшие гастроэнтероколиты в Запорожской и Херсонской областях: описание случаев и молекулярно-генетическая характеристика возбудителей. *Инфекция и иммунитет*. 2025; 15(3):575–81. DOI: 10.15789/2220-7619-NVC-17787.

18. Куличенко А.Н., Гаевская Н.Е., Васильева О.В., Манин Е.А., Кругликов В.Д., Волынкина А.С., Русанова И.А., Юничева Ю.В., Бодрая П.В., Махова В.В., Водопьянов А.С., Леншин С.В., Заикина И.Н., Казьмина В.С., Егиазарян Л.А., Савина И.В., Потемкина М.А., Ваниева Д.С. Результаты эпидемиологического мониторинга холерных вибрионов O1-серогруппы в поверхностных водоемах г. Сочи в 2024 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2025; (3):122–31. DOI: 10.21055/0370-1069-2025-3-122-131.

19. Заднова С.П., Плеханов Н.А., Спирина А.Ю., Крицкий А.А. Сравнительный анализ структуры и экспрессии регуляторного гена *vasH* системы секреции 6-го типа токсигенных и нетоксигенных штаммов *Vibrio cholerae*. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2022; 99(6):682–91. DOI: 10.36233/0372-9311-255.

20. Toska J., Ho B.T., Mekalanos J.J. Exopolysaccharide protects *Vibrio cholerae* from exogenous attacks by the type 6 secretion system. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2018; 115(31):7997–8002. DOI: 10.1073/pnas.1808469115.

21. Flaughnatti N., Isaac S., Lemos Rocha L.F., Stutzmann S., Rendueles O., Stoudmann C., Vesel N., Garcia-Garcera M., Buffet A., Sana T.G., Rocha E.P.C., Blokesch M. Human commensal gut *Proteobacteria* withstand type VI secretion attacks through immunity protein-independent mechanisms. *Nat. Commun.* 2021; 12(1):5751. DOI: 10.1038/s41467-021-26041-0.

22. Lin H.H., Yu M., Sriramoju M.K., Hsu S.T.D., Liu C.T., Lai E.M. A high-throughput interbacterial competition screen identifies ClpAp in enhancing recipient susceptibility to type VI secretion system-mediated attack by *Agrobacterium tumefaciens*. *Front. Microbiol.* 2020; 10:3077. DOI: 10.3389/fmicb.2019.03077.

23. Mariano G., Trunk K., Williams D.J., Monlezun L., Strahl H., Pitt S.J., Coulthurst S.J. A family of type VI secretion system effector proteins that form ion-selective pores. *Nat. Commun.* 2019; 10(1):5484. DOI: 10.1038/s41467-019-13439-0.

24. Gude S., Pince E., Taute K.M., Seinen A.B., Shimizu T.S., Tans S.J. Bacterial coexistence driven by motility and spatial competition. *Nature*. 2020; 578(7796):588–92. DOI: 10.1038/s41586-020-2033-2.

25. Li J., Wu Z., Wu C., Chen D.D., Zhou Y., Zhang Y.A. *VasH* contributes to virulence of *Aeromonas hydrophila* and is necessary to the T6SS-mediated bactericidal effect. *Front. Vet. Sci.* 2021; 8:93458. DOI: 10.3389/fvets.2021.793458.

26. Wang H., Liu Y., Wang Z., Xia P.Y., Li Z., Liu M., Fu Y. Mechanistic insights into the T6SS of multi-drug-resistant *Aeromonas hydrophila* and its role in competition and pathogenesis. *mLife*. 2025; 4(4):363–77. DOI: 10.1002/mlf2.70018.

References

1. Zubkova D.A., Kruglikov V.D., Arkhangel'skaya I.V., Vodop'yanov A.S., Nepomnyashchaya N.B., Vodop'yanov S.O. [Genetic features of strains of cholera vibrios O1 serogroup *ctxA-tcpA*⁺ isolated from water bodies of the Russian Federation, characterized using a new geographic information system]. *Zdorovie Naseleniya i Sreda Obitaniya [Public Health and Life Environment]*. 2014; (9):32–4.

2. Agafonova E.Yu., Smirnova N.I., Al'khova Zh.V., Krasnov Ya.M., Livanova L.F., Lozovsky Yu.V., Kutyrev V.V. [Non-toxicogenic strains of *Vibrio cholerae* biovar El Tor isolated in Russia: molecular-genetic features and pathogenic properties]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2019; (2):13–24. DOI: 10.36233/0372-9311-2019-2-13-24.

3. Levchenko D.A., Kruglikov V.D., Gaevskaya N.E., Vodop'yanov A.S., Nepomnyashchaya N.V. [Pheno- and genotypic

features of non-toxicogenic strains of cholera vibrios of different origins, isolated in the territory of Russia]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; (3):89–96. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-89-96.

4. Kritsky A.A., Smirnova N.I., Kalyaeva T.B., Obrotkina N.F., Gracheva I.V., Katyshev A.D., Kutyrev V.V. [Comparative analysis of molecular-genetic properties in non-toxicogenic *Vibrio cholerae* O1 strains biovar El Tor, isolated in Russia and on cholera endemic territories]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2021; (3):72–82. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-3-72-82.

5. Banerjee R., Das B., Nair G.B., Basak S. Dynamics in genome evolution of *Vibrio cholerae*. *Infect. Genet. Evol.* 2014; 23:32–41. DOI: 10.1016/j.meegid.2014.01.006.

6. Pukatzki S., Ma A.T., Sturtevant D., Krastins B., Sarracino D., Nelson W.C., Heidelberg J.F., Mekalanos J.J. Identification of a conserved bacterial protein secretion system in *Vibrio cholerae* using the *Dictyostelium* host model system. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2006; 103(5):1528–33. DOI: 10.1073/pnas.0510322103.

7. Santoriello F.J., Michell L., Unterweger D., Pukatzki S. Pandemic *Vibrio cholerae* shuts down site-specific recombination to retain an interbacterial defence mechanism. *Nat. Commun.* 2020; 11(1):6246. DOI: 10.1038/s41467-020-20012-7.

8. Santoriello F.J., Pukatzki S. When the pandemic opts for the lockdown: secretion system evolution in the cholera bacterium. *Microbial. Cell.* 2021; 8(3):69–72. DOI: 10.15698/mic2021.03.744.

9. Unterweger D., Miyata S.T., Bachmann V., Brooks T.M., Mullins T., Kostiuik B., Provenzano D., Pukatzki S. The *Vibrio cholerae* type VI secretion system employs diverse effector modules for intraspecific competition. *Nat. Commun.* 2014; 5:3549. DOI: 10.1038/ncomms4549.

10. Crisan C.V., Chande A.T., Williams K., Raghuram V., Rishishwar L., Steinbach G., Watve S.S., Yunker P., Jordan I.K., Hammer B.K. Analysis of *Vibrio cholerae* genomes identifies new type VI secretion system gene clusters. *Genome Biol.* 2019; 20(1):163. DOI: 10.1186/s13059-019-1765-5.

11. Crisan C.V., Hammer B.K. The *Vibrio cholerae* type VI secretion system: toxins, regulators and consequences. *Environ. Microbiol.* 2020; 22(10):4112–22. DOI: 10.1111/1462-2920.14976.

12. Zheng J., Ho B., Mekalanos J.J. Genetic analysis of anti-amoebae and anti-bacterial activities of the type VI secretion system in *Vibrio cholerae*. *PLoS One*. 2011; 6(8):e23876. DOI: 10.1371/journal.pone.0023876.

13. Kirchberger P.C., Unterweger D., Provenzano D., Pukatzki S., Boucher Y. Sequential displacement of type VI secretion system effector genes leads to evolution of diverse immunity gene arrays in *Vibrio cholerae*. *Sci. Rep.* 2017; 7:45133. DOI: 10.1038/srep45133.

14. Santoriello F.J., Pukatzki S. When the pandemic opts for the lockdown: secretion system evolution in the cholera bacterium. *Microb. Cell.* 2021; 8(3):69–72. DOI: 10.15698/mic2021.03.744.

15. Freter R., O'Brien P.C., Macsai M.S. Role of chemotaxis in the association of motile bacteria with intestinal mucosa: *in vivo* studies. *Infect. Immun.* 1981; 34(1):234–40. DOI: 10.1128/iai.34.1.234-240.1981.

16. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 1970; 227(5259): 680–5. DOI: 10.1038/227680a0.

17. Monakhova E.V., Kruglikov V.D., Vodop'yanov A.S., Gaevskaya N.E. [Non-toxicogenic strains of *Vibrio cholerae* O1 that caused gastroenterocolitis in the Zaporozhe and Kherson Regions: description of cases and molecular-genetic characteristics of pathogens]. *Infektsiya i Immunitet [Infection and Immunity]*. 2025; 15(3):575–81. DOI: 10.15789/2220-7619-NVC-17787.

18. Kulichenko A.N., Gaevskaya N.E., Vasil'eva O.V., Manin E.A., Kruglikov V.D., Volynkina A.S., Rusanova I.A., Yunicheva Yu.V., Bodraya P.V., Makhova V.V., Vodop'yanov A.S., Lenshin S.V., Zaikina I.N., Kaz'mina V.S., Егиазарян Л.А., Савина И.В., Потемкина М.А., Ваниева Д.С. [Results of epidemiological monitoring of cholera vibrios, serogroup O1 in surface water bodies of Sochi in 2024]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2025; (3):122–31. DOI: 10.21055/0370-1069-2025-3-122-131.

19. Zаднова S.P., Plekhanov N.A., Spirina A.Yu., Kritsky A.A. [Comparative analysis of the structure and expression of the *vasH* regulatory gene of the type 6 secretion system of toxigenic and non-toxicogenic *Vibrio cholerae* strains]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2022; 99(6):682–91. DOI: 10.36233/0372-9311-255.

20. Toska J., Ho B.T., Mekalanos J.J. Exopolysaccharide protects *Vibrio cholerae* from exogenous attacks by the type 6 secretion system. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2018; 115(31):7997–8002. DOI: 10.1073/pnas.1808469115.

21. Flaughnatti N., Isaac S., Lemos Rocha L.F., Stutzmann S., Rendueles O., Stoudmann C., Vesel N., Garcia-Garcera M., Buffet A., Sana T.G., Rocha E.P.C., Blokesch M. Human commensal gut *Proteobacteria* withstand type VI secretion attacks through immunity protein-independent mechanisms. *Nat. Commun.* 2021; 12(1):5751. DOI: 10.1038/s41467-021-26041-0.

22. Lin H.H., Yu M., Sriramoju M.K., Hsu S.T.D., Liu C.T., Lai E.M. A high-throughput interbacterial competition screen identifies ClpAP in enhancing recipient susceptibility to type VI secretion system-mediated attack by *Agrobacterium tumefaciens*. *Front. Microbiol.* 2020; 10:3077. DOI: 10.3389/fmicb.2019.03077.

23. Mariano G., Trunk K., Williams D.J., Monlezun L., Strahl H., Pitt S.J., Coulthurst S.J. A family of type VI secretion system effector proteins that form ion-selective pores. *Nat. Commun.* 2019; 10(1):5484. DOI: 10.1038/s41467-019-13439-0.

24. Gude S., Pınçe E., Taute K.M., Seinen A.B., Shimizu T.S., Tans S.J. Bacterial coexistence driven by motility and spatial competition. *Nature*. 2020; 578(7796):588–92. DOI: 10.1038/s41586-020-2033-2.

25. Li J., Wu Z., Wu C., Chen D.D., Zhou Y., Zhang Y.A. VasH contributes to virulence of *Aeromonas hydrophila* and is necessary to the T6SS-mediated bactericidal effect. *Front. Vet. Sci.* 2021; 8:93458. DOI: 10.3389/fvets.2021.793458.

26. Wang H., Liu Y., Wang Z., Xia P.Y., Li Z., Liu M., Fu Y. Mechanistic insights into the T6SS of multi-drug-resistant *Aeromonas hydrophila* and its role in competition and pathogenesis. *mLife*. 2025; 4(4):363–77. DOI: 10.1002/mlf2.70018.

Authors:

Kuratashvili A.Yu., Cheldyshova N.B., Fedorov A.V., Sergutin D.A., Naryshkina E.A., Nikiforov K.A., Zadnova S.P. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Об авторах:

Кураташвили А.Ю., Челдышова Н.Б., Федоров А.В., Сергутин Д.А., Нарышкина Е.А., Никифоров К.А., Заднова С.П. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.