

Оригинальное исследование
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-779>



Генетические особенности штаммов *Vibrio cholerae* неO1/неO139 и *Vibrio paracholerae*, циркулирующих в реке Волге в районе Саратова

Заднова С.П., Челдышова Н.Б., Кусмарцева Д.Л., Рыбальченко Д.А., Сергутин Д.А., Бойко А.В., Казанцев А.В., Корешкова О.А., Федоров А.В., Краснов Я.М., Портенко С.А., Щербакова С.А.

ФКУН «Российский противочумный институт “Микроб”» Роспотребнадзора, Саратов, Россия

Аннотация

Актуальность. Актуальность работы определяется критической необходимостью молекулярно-генетического мониторинга крупнейших речных систем для контроля распространения патогенных нетоксигенных вибрионов, включая недавно обнаруженный на территории России вид *Vibrio paracholerae*, на фоне усиления климатических и антропогенных рисков.

Цель — изучение генетических особенностей штаммов *V. cholerae* неO1/неO139 и *V. paracholerae*, выделенных из реки Волги в районе г. Саратова.

Материалы и методы. Исследовали 21 штамм вибрионов, изолированных в 2024 г. Биохимические свойства изучали с применением набора *ap1* 20 E. Секвенирование проводили на платформе MGI DNBSEQ-G50. Для биоинформатического анализа применяли алгоритмы Blast v. 2.15.0, BioEdit v. 7.0.9.0. Филогенетическое древо на основе выравнивания коровых генов строили методом максимального правдоподобия с помощью iqtree v. 2.4.0.

Результаты. При филогенетическом анализе 5 изучаемых изолятов вошли в один кластер с представителями *V. paracholerae*, что указывает на их отношение к данному виду. Штаммы *V. cholerae* неO1/неO139 и *V. paracholerae* не содержат профаги CTXφ и RSIφ, TLC-элемент, остров патогенности VPI-1, остров пандемичности VSP-I, а также ICE SXT-элемент. В то же время в их геноме выявлены гены *toxR/toxS*, ответственные за биосинтез регуляторных белков, контролирующих продукцию основных факторов патогенности; локусы системы секреции 6-го типа; токсина MARTX; маннозочувствительных пилей адгезии; белка внешней мембраны OmpW; гемолизина HlyA. У единичных штаммов обнаружены изменённые гены системы секреции 3-го типа; ген *vc0496* из острова пандемичности VSP-II; система CRISPR-cas 1-го класса; *nanH* острова патогенности VPI-2. При анализе специфических генов подтверждено отношение 5 выделенных штаммов к виду *V. paracholerae*.

Заключение. В р. Волге в районе г. Саратова циркулируют не только штаммы *V. cholerae* неO1/неO139, но и штаммы *V. paracholerae*. Обе группы штаммов имеют сходные биохимические свойства и генетическое строение. В их геномах отсутствуют гены патогенности и ряд генов пандемичности, но выявлены локусы дополнительных токсинов, присутствие которых характерно для водных вибрионов. Необходимо дальнейшее сравнительное фенотипическое и молекулярно-генетическое изучение *V. paracholerae*.

Ключевые слова: *Vibrio cholerae* неO1/неO139 серогрупп; *V. paracholerae*; генетические особенности; филогенетический анализ

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Заднова С.П., Челдышова Н.Б., Кусмарцева Д.Л., Рыбальченко Д.А., Сергутин Д.А., Бойко А.В., Казанцев А.В., Корешкова О.А., Федоров А.В., Краснов Я.М., Портенко С.А., Щербакова С.А. Генетические особенности штаммов *Vibrio cholerae* неO1/неO139 и *Vibrio paracholerae*, циркулирующих в реке Волге в районе Саратова. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2026;103(1):44–57.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-779>

EDN: <https://www.elibrary.ru/KMSWSY>

Genetic characteristics of *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 and *Vibrio paracholerae* strains circulating in the Volga River near Saratov

Svetlana P. Zadnova, Nadezhda B. Cheldyshova, Daria L. Kusmartseva, Darya A. Rybalchenko, Danil A. Sergutin[✉], Andrey V. Boyko, Andrey V. Kazantsev, Oksana A. Koreshkova, Andrey V. Fedorov, Yaroslav M. Krasnov, Svetlana A. Portenko, Svetlana A. Shcherbakova

Research Anti-Plague Institute «Microbe», Saratov, Russia

Abstract

Introduction. The relevance of this study is determined by the critical necessity for molecular genetic monitoring of major river systems to control the spread of pathogenic non-toxicogenic vibrios, including the recently discovered *Vibrio paracholerae* species in the Russian Federation, against the backdrop of increasing climatic and anthropogenic risks.

Objective. To study the genetic characteristics of *V. cholerae* non-O1/non-O139 and *V. paracholerae* strains isolated from the Volga River near Saratov.

Materials and methods. Twenty-one strains of vibrios isolated in 2024 were studied. Biochemical properties were assessed using the api 20 E kit. Sequencing was performed on the MGI DNBSEQ-G50 platform. Blast v. 2.15.0 and BioEdit v. 7.0.9.0 algorithms were used for bioinformatics analysis. A phylogenetic tree based on the alignment of core genome was constructed using maximum likelihood method with iqtree v. 2.4.0 software.

Results. Phylogenetic analysis revealed that five isolates were included in the same cluster as representatives of *V. paracholerae*, indicating their belonging to this species. *V. cholerae* non-O1/non-O139 and *V. paracholerae* strains do not contain the CTX ϕ and RSI ϕ prophages, the TLC element, the VPI-1 pathogenicity island, the VSP-I pandemic island, and the ICE SXT element. At the same time, their genomes were found to contain the *toxR/toxS* genes responsible for the biosynthesis of regulatory proteins that control the production of the main pathogenicity factors; the loci of the type 6 secretion system; the MARTX toxin; mannose-sensitive adhesion pili; the outer membrane protein OmpW; and the hemolysin HlyA. In some strains, altered genes of the type 3 secretion system, the *vc0496* gene from the VSP-II pandemicity island, the class 1 CRISPR-cas system, and *nanH* of the VPI-2 pathogenicity island were detected. Analysis of specific genes confirmed that 5 isolated strains belong to the *V. paracholerae* species.

Conclusion. Not only *V. cholerae* non-O1/non-O139 strains but also *V. paracholerae* strains circulate in the Volga River near Saratov. Both groups of strains have similar biochemical properties and genetic makeup. Their genomes lack pathogenicity genes and several pandemic genes, but loci for additional toxins, the presence of which is characteristic of aquatic vibrios, have been identified. Further comparative phenotypic and molecular genetic studies of *V. paracholerae* are necessary.

Keywords: *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 serogroups; *V. paracholerae*; genetic features; phylogeny analysis

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Zadnova S.P., Cheldyshova N.B., Kusmartseva D.L., Rybalchenko D.A., Sergutin D.A., Boyko A.V., Kazantsev A.V., Koreshkova O.A., Fedorov A.V., Krasnov Ya.M., Portenko S.A., Shcherbakova S.A. Genetic characteristics of *Vibrio cholerae* nonO1/nonO139 and *Vibrio paracholerae* strains circulating in the Volga River near Saratov. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2026;103(1):44–57.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-779>

EDN: <https://www.elibrary.ru/KMSWSY>

Введение

Vibrio cholerae неO1/неO139-серогрупп (НАГ-вибрионы) являются естественными обитателями водных экосистем и широко распространены в разных странах мира. При попадании в организм человека они не способны вызывать опасную инфекционную болезнь — холеру, но могут быть причиной

спорадических случаев и вспышек острых кишечных инфекций, а также отитов, раневых инфекций и септицемии. Высказывается предположение, что отличия в клиническом проявлении болезни обусловлены присутствием различных факторов патогенности в указанных штаммах [1–3]. В последние годы в связи с изменением климатических и эколо-

гических условий, а также активным водопользованием отмечается рост болезней, вызванных данными вибрионами. Считается, что, поскольку эти болезни не подлежат обязательной регистрации, количество незарегистрированных случаев инфекций, вызванных НАГ-вибрионами, является значительным и в последнее десятилетие превышает число официально зарегистрированных случаев холеры, обусловленных вибрионами O1- и O139-серогрупп. При этом настораживающим является факт увеличения бактериемий, вызванных штаммами *V. cholerae* неO1/неO139-серогрупп, у пожилых граждан, людей с ослабленным иммунитетом и хроническими заболеваниями [2–5].

НАГ-вибрионы повсеместно встречаются на территории России и ежегодно выделяются из открытых водоёмов при проведении мониторинговых исследований на холеру, изредка от больных людей [6–9]. При изучении генетической организации штаммов *V. cholerae* неO1/неO139, выявляемых в России, установлено, что большинство изолятов не содержат профага СТХф с генами *ctxAB*, кодирующими биосинтез холерного токсина, а также *preCTX*, не имеющий данных генов, но содержащий другие гены профага СТХф. Отсутствует также остров патогенности VPI-1, включающий локус *tcpA-F*, ответственный за биосинтез токсин-регулируемых пилей (основной фактор колонизации вибрионами кишечника), и острова пандемичности VSP-I, VSP-II, необходимые для пандемического распространения штаммов *V. cholerae*. В то же время НАГ-вибрионы обладают достаточным количеством детерминант факторов патогенности, участвующих в развитии инфекционного процесса. В том числе они могут содержать гены кластера токсина MARTX, cholix-токсина, контакт-зависимых систем секреции 6-го (T6SS) и 3-го (T3SS) типов, гемолизина, протеаз, цитотоксического токсина Cef, а также гены термостабильного прямого и родственного гемолизина (*tdh*, *trh*) *V. parahaemolyticus* [8, 10]. Необходимо отметить, что по генетической организации штаммы, циркулирующие в России, подобны штаммам, выделяемым в других странах [11, 12]. Изредка на территории России изолируются токсигенные штаммы *V. cholerae* неO1/неO139, а также изоляты, имеющие ICE SXT-элемент без генов антибиотикорезистентности [9, 13]. По мнению ряда исследователей, НАГ-вибрионы являются природными резервуарами генов факторов вирулентности, антибиотикорезистентности и могут передавать их другим бактериям, в том числе возбудителю холеры [4, 6, 14–16]. Несмотря на активное выделение в различных регионах нашей страны штаммов *V. cholerae* неO1/неO139 и их изучение, сведения о генетической организации данных вибрионов, циркулирующих в реке Волге в районе города Саратова, отсутствуют.

Кроме *V. cholerae* неO1/неO139-серогрупп, в водной среде обитают другие представители рода *Vibrio*, в том числе *V. paracholerae*. Данный новый вид официально зарегистрирован в 2022 г. [17]. Интересным является факт, что впервые данные вибрионы были выделены еще в 1916 г. в Египте от британского солдата с холероподобной диареей. В 1935 г. A.D. Gardner и соавт. предложили обозначать указанные вибрионы как *V. paracholerae*, а вызванную ими болезнь — парахолера [18]. В 2019 г. штамм NCTC30, изолированный в 1916 г., был секвенирован [19]. В память об учёных, впервые предложивших термин *V. paracholerae*, решено было оставить данное обозначение для нового вида [20]. В настоящее время в базе данных NCBI GenBank присутствуют 63 нуклеотидные последовательности (НП) полных геномов *V. paracholerae*, при этом самым древним изолятом является штамм NCTC30. Показано, что данные вибрионы циркулируют совместно с возбудителем холеры в таких эндемичных по холере странах, как Бангладеш, Мозамбик, Республика Гаити, а также выделяются на неэндемичных территориях (Сербия, США, Бразилия, Германия, Китай, Таиланд) [5, 20, 21].

Парахолерные вибрионы характеризуются как подвижные, содержащие один полярно расположенный жгутик, оксидазоположительные, изогнутые грамотрицательные бактерии. Растут при температуре 30°C в диапазоне присутствия NaCl от 0 до 6,0%, при концентрации соли 10% рост отсутствует. Штаммы *V. paracholerae*, как и *V. cholerae*, ферментируют D-глюкозу, D-фруктозу, сахарозу, мальтозу, D-галактозу, мальтотриозу, D-маннит, D-трегалозу, D-глюкозо-6-фосфат, N-ацетил-D-глюкозамин, глицерин, янтарную кислоту, L-молочную кислоту, L-глутаминовую кислоту, фумаровую кислоту, уксусную кислоту, L-пролин, D-аланин, L-аспарагин, 2-дезоксиаденозин, аденозин, инозин и L-серин, декстрин, желатин, гликоген, D-глюкозамин и метиловый эфир D-молочной кислоты, но не расщепляют N-ацетил-D-галактозамин и D-глюкуроновую кислоту. Образуют ацетонин из глюкозы в реакции Фогеса–Проскауэра. Около 60% штаммов обладают β-лактамазной активностью. Образуют жёлтые колонии на TCBS-агаре [20]. Таким образом, по большинству биохимических свойств штаммы *V. paracholerae* соответствуют *V. cholerae*. Отличия включают способность *V. paracholerae* продуцировать амилазу и пектиназу, расщепляющие, соответственно, α-циклодекстрин и пектин, биосинтез которых не выявлен у *V. cholerae*. Только 25% изученных штаммов *V. paracholerae* способны использовать для роста D-маннозу, которую ферментируют практически все штаммы *V. cholerae*. Между этими двумя видами имеется и ряд генетических отличий. Так, значения средней нуклеотидной идентичности (ANI) между *V. cholerae* и *V. paracholerae*

варьируют от 95 до 96%, в то же время ANI внутри группы *V. paracholerae* составляет 97–100%. При проведении филогенетического анализа штаммы *V. paracholerae* образуют отдельную от *V. cholerae* ветвь [20]. Несмотря на активное изучение штаммов *V. paracholerae*, выделяемых в разных странах, сведения об обнаружении данных вибрионов на территории России в литературе отсутствуют.

Цель работы — изучение генетических особенностей штаммов *V. cholerae* неO1/неO139-серогрупп и *V. paracholerae*, выделенных из р. Волги в районе г. Саратова.

Материалы и методы

В качестве объекта исследования использовали 21 штамм вибрионов, изолированных в 2024 г. при проведении мониторинговых исследований на холеру проб воды р. Волги в районе г. Саратова. Штаммы выращивали на щелочном агаре 18–24 ч при 37°C.

Отбор проб проводили с 1 июля по 30 августа 2024 г. 1 раз в неделю в утренние часы. С каждого участка р. Волги брали 1 л воды в стерильные бутылки, помещали в ящик из нержавеющей стали и транспортировали в лабораторию. Сбор и исследование проб воды проводили согласно МУК 4.2.3745-22 «Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Методы лабораторной диагностики холеры» (утв. 12.05.2022).

Подозрительные на *V. cholerae* колонии исследовали стандартными серологическими тестами с сыворотками производства Российского противочумного института «Микроб»: «Сыворотка диагностическая холерная O1 адсорбированная сухая для реакции агглютинации (РА)» (диагностический титр 1 : 2000, с.113, годен до 02.2025); «Сыворотка диагностическая холерная Огава адсорбированная сухая для реакции агглютинации (РА)» (диагностический титр 1 : 400, с.115, годен до 03.2025); «Сыворотка диагностическая холерная Инаба адсорбированная сухая для реакции агглютинации (РА)» (диагностический титр 1 : 400, с.115, годен до 03.2025); «Сыворотка диагностическая холерная RO адсорбированная сухая для реакции агглютинации (РА)» (диагностический титр 1 : 800, с.120, годен до 03.2025); «Сыворотка диагностическая холерная не O1 группы, O139 адсорбированная кроличья для реакции агглютинации на стекле» (диагностический титр 1 : 2000, с.121, годен до 03.2025).

Для изучения биохимических свойств применяли «ari 20 E — Набор для идентификации *Enterobacteriaceae*» («bioMerieux»). Гемолитическую активность определяли при посеве изолированных колоний изучаемых штаммов на щелочной агар, содержащий 1% взвеси эритроцитов баранов, при учёте результатов измеряли размер зоны гемолиза эритроцитов вокруг колонии.

Методом MALDI-TOF-масс-спектрометрии подтверждали выделение *V. cholerae*. Регистрацию масс-спектров осуществляли в автоматическом режиме на масс-спектрометре «Microflex LT» («Bruker Daltonics»).

Для выделения ДНК из бактериальной суспензии применяли коммерческий набор «Axy Prep Bacterial Genomic DNA Miniprep Kit» («Axygen Biosciences»). Предварительно бактерии обрабатывали мертиолятом натрия до конечной концентрации 1 : 10 000 (0,01%) и прогревали при 56°C в течение 30 мин.

Штаммы *V. cholerae* выявляли по присутствию гена *hly* методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с использованием набора «АмплиСенс *Vibrio cholerae*-FL» (регистрационное удостоверение № ФСР 2011/11139), вирулентность определяли по наличию/отсутствию генов *ctxA*, *tcpA*, принадлежность к O1- и O139-серогруппам — по тестированию генов *wbeT* и *wbfR* соответственно.

Секвенирование проводили на платформе «MGI DNBSEQ-G50» («MGI»). Библиотеки готовили по стандартному протоколу с применением наборов «DNBSEQ-G50RS» (FCLPE150) и «MGI EasyFastPCR-FREE FS Library PrepSet» («MGI»). В результате секвенирования для каждого образца были получены парноконцевые прочтения длиной 150 п. н. Контроль качества полученных прочтений осуществляли с помощью программы fastp v. 0.23, контиги собирали с использованием unicycler v. 0.4.7. Для дальнейшего анализа использовали собранные геномы со средней глубиной прочтения не меньше 50 и значением N50 > 80 тыс. п. н.

Для биоинформатического анализа использовали находящиеся в свободном доступе программы BLAST v. 2.15.0, BioEdit v. 7.0.9.0, наличие ряда генов в изучаемых штаммах определяли, применяя программу «SeqAnalyzer» (Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт).

Аннотацию собранных геномов проводили с помощью программы prokka v. 1.15.6. Пангеномный анализ осуществляли с помощью программы panaroo v. 1.5.2. В работе были использованы 64 нуклеотидные последовательности (НП) полных геномов штаммов, из которых 21 НП штаммов *V. cholerae* неO1/неO139, выделенных из воды р. Волги в 2024 г., 43 НП, депонированные в базе данных NCBI GenBank и представленные 23 изолятами *V. paracholerae*, 13 штаммами *V. cholerae* неO1/неO139, выделенными в России и ряде эндемичных стран, 3 нетоксигенными штаммами *V. cholerae* O1 El Tor, токсигенным референс-штаммом *V. cholerae* N16961 O1 El Tor, а также 3 штаммами *V. metoecus*, добавленными в качестве внешней группы. Для поиска коровых SNP исполь-

зовали программу snippy v. 4.6.0, удаление рекомбинационных сайтов из выравнивания проводили с помощью программы gubbins v. 3.4.1

Филогенетические деревья строили методом максимального правдоподобия с помощью программы iqtree v. 2.4.0. и визуализировали на платформе iTOL (<https://itol.embl.de>). Для вычисления ANI между изучаемыми геномами использовали программу fastANI v. 1.34.

Результаты

Отбор проб

Отбор проб из р. Волги производили из 6 точек: № 1 — с. Пристанное (200 м выше по течению от нового моста); № 2 — овраг Маханний, место сброса сточных вод; № 3 — пляж «Затон»; № 4 — набережная г. Саратова (на 50 м ниже сброса сточных вод Глубучева оврага); № 5 — набережная г. Саратова (на 50 м ниже сброса сточных вод Белоглинского оврага); № 6 — «Пляж покорителей Волги», зона рекреационного использования (рис. 1).

В результате проведенных исследований была выделена 21 культура, для обозначения штаммов использовали номер точки отбора проб и время выделения (например: № 3 3007 — штамм выделен в районе пляжа «Затон» 30 июля).

По характеру роста на питательных средах, подвижности и биохимическим тестам штаммы были отнесены к виду *V. cholerae* (продукция β -галактозидазы, лизиндекарбоксилазы, орнитинде-

карбоксилазы, желатиназы, ферментация цитратов, глюкозы, маннита, сахарозы, восстановление нитратов до нитритов, образование индола, продукция цитохромоксидазы, окисление глюкозы в среде Хью–Лейфсона, отсутствие ферментации мочевины, инозита, рамнозы, арабинозы, сорбита). При использовании MALDI-ToF-масс-спектрометрии подтверждена принадлежность выделенных штаммов к *V. cholerae*. Штаммы не агглютинировались O1- и O139-антисыворотками. При проведении ПЦР гены *wbeT*, *wbfR*, *ctxA*, *tcpA* не выявлены. В итоге при комплексном анализе изолированные штаммы были идентифицированы как нетоксигенные *V. cholerae* неO1/неO139.

Пангеномный и филогенетический анализы

На первом этапе работы были проведены исследования по выявлению среди выделенных изолятов штаммов *V. paracholerae*. Согласно данным литературы, *V. paracholerae*, изолированные в разных странах, образуют отдельную от токсигенных и нетоксигенных штаммов *V. cholerae* O1 El Tor, а также *V. cholerae* неO1/неO139 филогенетическую ветвь [19, 20].

Для формирования выравнивания коровых генов и построения филогенетического дерева на его основе был проведен пангеномный анализ. Полученное в результате выравнивание длиной порядка 2,7 млн нуклеотидов включало 2506 генов, присутствующих не менее чем в 99% (63) геномах выборки. Для построения филогенетического дерева

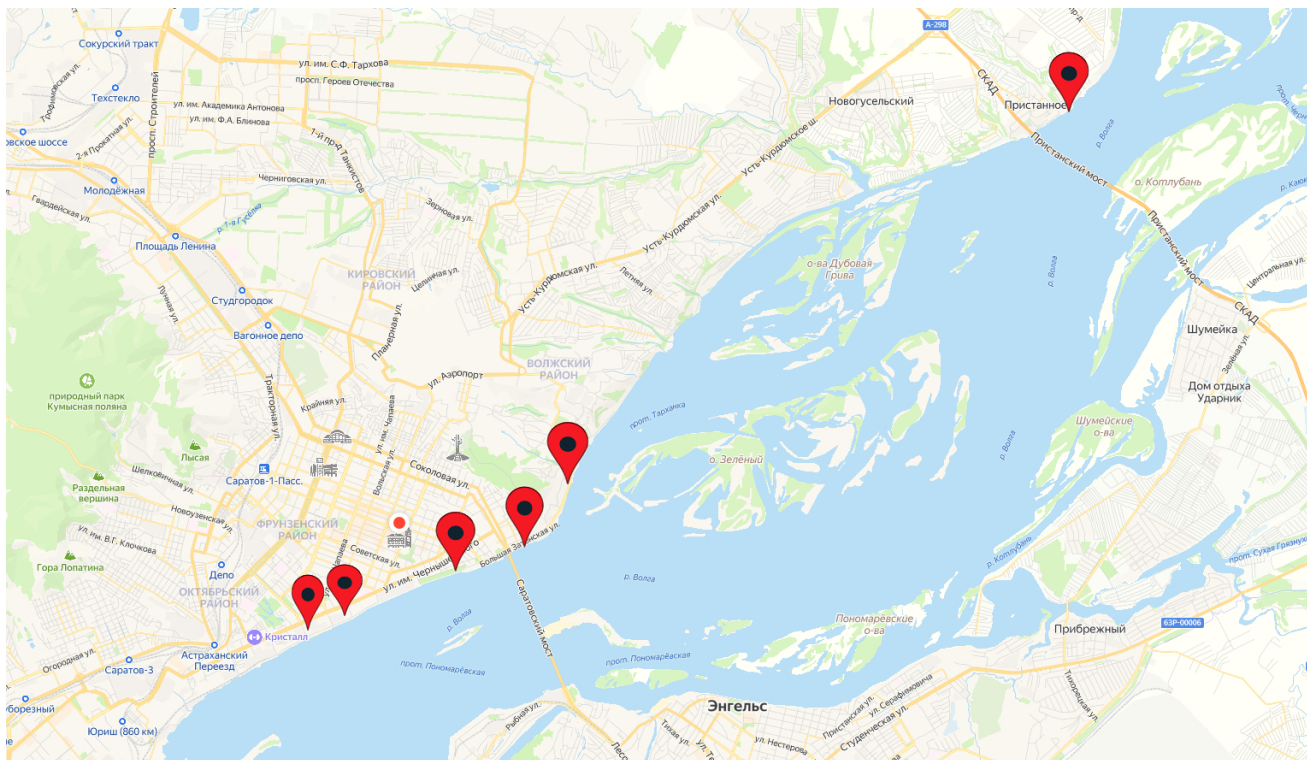


Рис. 1. Места забора проб из р. Волги в 2024 г. при проведении мониторинговых исследований на холеру.

методом Maximum Likelihood использовали модель GTR+G+F. В качестве внешней группы для укоренения древа применяли *V. metoecus*. В результате геномы *V. cholerae* и *V. paracholerae* образовали на древе две отдельных ветви, сестринские по отношению друг к другу. При этом ветвь *V. paracholerae* включала также 5 изучаемых штаммов *V. cholerae* неO1/неO139, выделенные из р. Волги в 2024 г. — № 5-2 0207, № 3 1808, № 6 2207, № 5 2207, № 5 3007 (рис. 2). Полученные данные могут указывать на их отношение к виду *V. paracholerae*. Штаммы

были изолированы в районе стихийного пляжа «Затон» (точка № 3), из сточных вод Белоглинского оврага (точка № 5), а также в зоне рекреационного использования — «Пляж покорителей Волги» (точка № 6). Стоит отметить, что выявленные *V. paracholerae* были родственны штаммам *V. paracholerae*, выделенным в Бангладеш (2016), США (2017), Мозамбике (2008), Таиланде (1992) и на Гаити (2010) (рис. 2).

Остальные анализируемые НАГ-вибрионы формировали кластер с другими изолятами

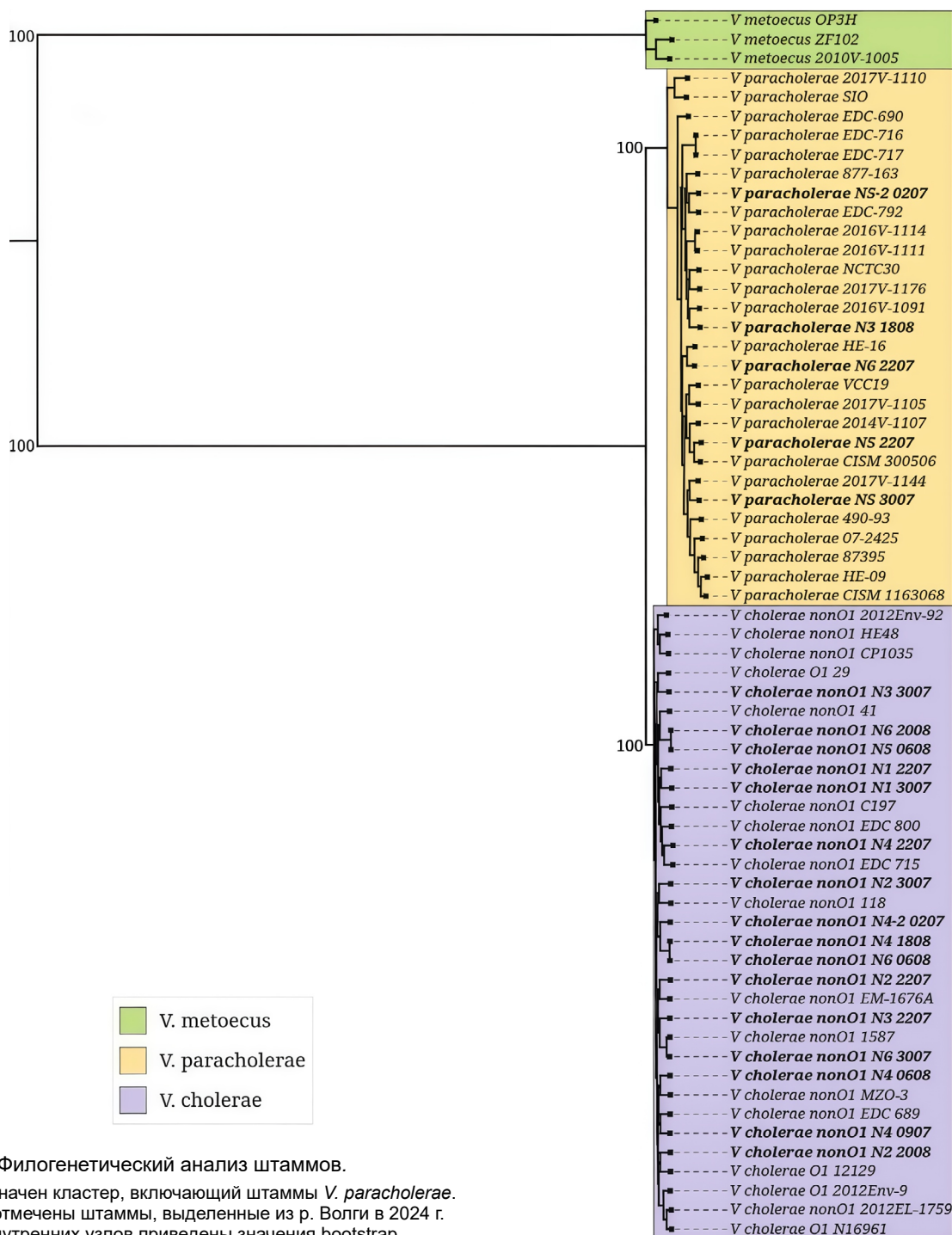


Рис. 2. Филогенетический анализ штаммов.

Жёлтым цветом обозначен кластер, включающий штаммы *V. paracholerae*.

Жирным шрифтом отмечены штаммы, выделенные из р. Волги в 2024 г.

Для крупных внутренних узлов приведены значения bootstrap.

V. cholerae неО1/неО139 (рис. 2). При этом некоторые также были родственны штаммам, циркулирующим на эндемичной территории. Например, *V. cholerae* № 4 2207 образовал подкластер со штаммом *V. cholerae* EDC_715, выделенным из внешней среды в Бангладеш в 2015 г., а *V. cholerae* № 2 2207 — с *V. cholerae* EM-1676A, изолированным в Бангладеш в 2011 г. (рис. 2).

Для подтверждения принадлежности к виду *V. paracholerae* 5 исследуемых геномов с помощью программы fastANI была рассчитана матрица ANI между геномами 21 исследуемого штамма. Среднее значение ANI между группами геномов, определённых как *V. cholerae* неО1/неО139 ($n = 16$) и *V. paracholerae* ($n = 5$), составила 96,18% (95,95–96,46%), а внутри этих групп — 98,07% (97,8–99,9%) и 98,01% (97,71–98,23%) соответственно. Таким образом, исходя из результатов филогенетического анализа и сравнения значения ANI между двумя группами геномов, можно утверждать, что 5 изучаемых изолятов относятся к виду *V. paracholerae*.

Для групп геномов, вошедших в ветви *V. cholerae* ($n = 33$) и *V. paracholerae* ($n = 28$ генома), было рассчитано число генов, встречающихся во всех геномах группы. Для *V. cholerae* оно составило 2858, для *V. paracholerae* — 2675, из которых 2605 генов были общими для обоих видов. Таким образом, число уникальных генов для этих групп составило 328, из которых 253 встречаются только в геномах *V. cholerae*, а 75 — только в геномах *V. paracholerae*.

С целью оценки клональности происхождения полученных изолятов был проведён дополнительный филогенетический анализ. С помощью snippy для групп *V. paracholerae* и *V. cholerae* были получены выравнивания коровых SNP, в качестве референсных геномов использовались *V. paracholerae* EDC-792 (NZ_WYCC00000000.1) и обра-

зец N1_2207 соответственно. Из SNP-выравниваний с помощью инструмента gubbins были удалены рекомбинационные сайты. В результате выравнивания содержали 113 643 (*V. paracholerae*) и 168 889 (*V. cholerae*) полиморфных сайтов, и на их основе были построены два неукоренённых филогенетических дерева методом Maximum Likelihood с моделью GTR+G+F (рис. 3). Также исходя из полученных выравниваний были рассчитаны матрицы попарных дистанций. Для группы изолятов *V. paracholerae* матрица дистанций содержала значения в диапазоне 41 752–56 741 SNP, и, ожидаемо, полученное дерево не содержит групп генетически близких изолятов, а состоит из отдельных примерно равноудалённых узлов (рис. 3, а).

Дерево для группы изолятов *V. cholerae* имеет похожую топологию, однако включает две группы крайне близких последовательностей: N6_0608-N4_1808 и N6_2008-N5_0608 (рис. 3, б), дистанция между которыми составляет 5 и 6 SNP соответственно (в то время как средняя дистанция между всеми изучаемыми геномами *V. cholerae* составляет 48 528 SNP). Также эти изоляты обладают практически идентичными генетическими свойствами (табл. 1), что также говорит в пользу их клонального происхождения. Изолят N4_1808 был выделен на 12 дней позже и более чем на 2,5 км выше по течению, чем N6_0808, что указывает на персистенцию этого клона и возможное существование экологического резервуара, в котором он укоренился.

Изучение генетических особенностей выделенных штаммов *V. cholerae* неО1/неО139 и *V. paracholerae*

При биоинформатическом анализе НП полных геномов изучаемых штаммов не были выявлены следующие мобильные генетические элементы с генами патогенности, пандемичности и антибио-

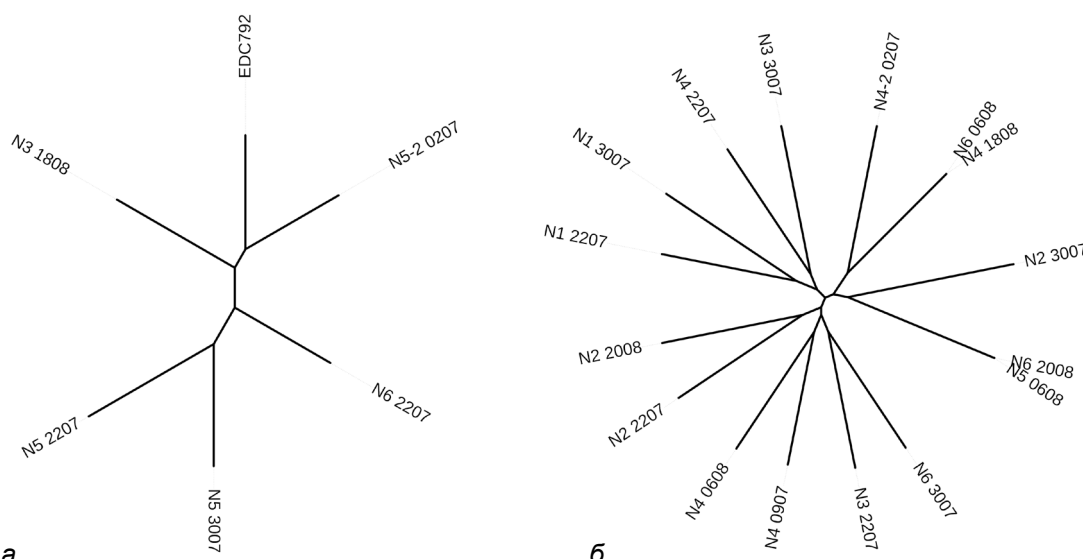


Рис. 3. Внутривидовые филогенетические деревья, построенные по коровым SNP для изолятов *V. paracholerae* (а) и *V. cholerae* (б).

तिकорезистентности: профаги СТХφ (*ctxA*, *ctxB*, *cep*, *ace*, *zot*, *orfU*) и RSIφ (*rstR*, *rstA*, *rstB*, *rstC*), TLC-элемент, остров патогенности VPI-1 (*tcpA*, *toxT*, *aldA*, *acfB*, *mop*), остров пандемичности VSP-I (*vc0175*, *vc0178*, *vc0180*, *vc0183*, *vc0185*), ICE SXT-элемент. Отсутствие СТХφ и VPI-1, содержащих, соответственно, гены *ctxAB* и *tcpA*, кодирующих биосинтез холерного токсина и основную субъединицу токсин-корегулируемых пилей адгезии, указывает на авирулентность штаммов и неспособность вызывать холеру. Однако в геноме всех изучаемых изолятов присутствуют гены *toxR/toxS*, ответственные за биосинтез важных регуляторных белков, контролирующих продукцию основных факторов патогенности возбудителя холеры. Их сходство с генами *toxR/toxS* референс-штамма *V. cholerae* N16961 O1 El Tor составило 88,5–99,8% (табл. 1).

У большинства штаммов отсутствуют гены острова пандемичности VSP-II (*vc0490*, *vc0496*, *vc0502*, *vc0512*), исключение составили два штамма НАГ-вибрионов — № 1 3007 и № 4 0608, а также *V. paracholerae* № 5 2207, имеющие ген *vc0496*, расположенный в центральной части VSP-II (идентичность с аналогичным геном референс-штамма — 97,7–98,8%; табл. 2).

При анализе острова патогенности VPI-2 выявлено, что у всех штаммов присутствуют изменённые краевые гены (*vc1757* и *vc1810*) данного мобильного генетического элемента (идентичность 94,3–98,2 и 94,9–98,5% соответственно), но только у 6 (28,6%) штаммов обнаружен ген *nanH*, кодирующий нейраминидазу и расположенный в центральной части данного острова. Структура данного гена также была варибельной (табл. 1). У штаммов *V. paracholerae* ген *nanH* не выявлен. Как известно, нейраминидаза является важным фактором патогенности и участвует в расщеплении сиаловых кислот, входящих в состав кишечной слизи, что способствует проникновению вибрионов к эпителиоцитам кишечника для последующей их колонизации. Несмотря на то что T3SS является установленным фактором патогенности НАГ-вибрионов, способствующей колонизации [11], изменённые гены данной системы выявлены только у 6 (28,6%) изученных нами штаммов. В ранее проведённых работах также показано её присутствие в геноме лишь некоторых изолятов [8, 20]. В то же время практически во всех штаммах обнаружены 5 проверенных генов (*vasA*, *vasF*, *vasK*, *vgrG3*, *hcp*), входящих в состав T6SS. Исключение составили штаммы *V. paracholerae* № 3 1808 и № 6 2207, у которых, соответственно, присутствовал (один из всех изученных) и отсутствовал локус, кодирующий гемолизин Hcp (табл. 1). Как известно, T6SS является контакт-зависимым механизмом, с помощью которого вибрионы поражают различные прокариотические и эукариотические организмы, транслоцируя

внутри клеток-мишеней токсичные белки-эффекторы. Уничтожение конкурентов повышает выживаемость *V. cholerae* в окружающей среде и макроорганизме [22]. Высказывается предположение о том, что присутствие генов, кодирующих белки ToxR/ToxS, гемолизина, липазы, эффекторы T6SS, обнаруживаемые в геноме многих видов *Vibrio*, указывает на способность данных вибрионов быть потенциальными патогенами, а также на важную роль этих факторов в их экологии [23].

Важными факторами патогенности НАГ-вибрионов являются гемолизин HlyA и цитотоксин MARTX [8, 24, 25]. В геноме 10 НАГ-вибрионов и у штамма *V. paracholerae* № 5 2207 обнаружен полноценный ген *hlyA*, соответствующий по структуре локусу референс-штамма *V. cholerae* N16961 O1 биовара El Tor. У остальных изолятов данный ген включает мутации, и его идентичность варьирует от 94,5 до 99,0%. Наличие гена *hlyA* коррелировало с продукцией всеми штаммами β-гемолизина, зоны гемолиза эритроцитов варьировали от 1 до 8 мм. Ген *rtxA*, непосредственно кодирующий токсин MARTX, присутствует у 10 НАГ-вибрионов, но у всех данный ген имеет мутации. В то же время в геноме всех штаммов выявлены другие локусы (табл. 2): *rtxC* (кодирует ацилтрансферазу) и *vc1447* (кодирует транспортер). При этом три НАГ-вибриона имеют интактную последовательность гена *rtxC*, а у остальных штаммов *V. cholerae* и *V. paracholerae* присутствует ген, идентичность которого составляет 98,6–99,6% (табл. 2).

Стоит отметить наличие у 4 штаммов гена *cas3*, входящего в состав системы CRISPR-cas — специфического адаптивного иммунитета бактерий, защищающего их от проникновения чужеродной ДНК (фаги, плазмиды). Ген *cas3* кодирует нуклеазу, фрагментирующую чужеродную ДНК [26]. В результате дальнейшего анализа установлено, что выявленная в штаммах система CRISPR-cas относится к I классу типов I (подтипы I-F, I-C) и III (подтип III-B). Штамм *V. cholerae* неO1/неO139 № 1 2207 имеет две системы подтипов III-B и I-F, CRISPR-кассеты которых включают 33 и 6 спейсеров соответственно. У *V. cholerae* неO1/неO139 № 2 2207 и № 4 0907 присутствует I-F система с 34 и 13 спейсерами соответственно. Штамм *V. paracholerae* № 5-2 0207 содержит систему CRISPR-cas подтипов I-C (35 спейсеров) и I-F (58 спейсеров) (рис. 4). Данные, полученные при изучении системы CRISPR-cas штаммов *V. cholerae* неO1/неO139 и *V. paracholerae*, согласуются с ранее проведёнными исследованиями при анализе циркулирующих во внешней среде нетоксигенных штаммов *V. cholerae* O1 El Tor [27].

Спейсеры — это участки чужеродной ДНК, гомологичные фагам, а также плазмидам, с которыми контактировали бактерии ранее. Присутствие

Таблица 1. Генетические свойства штаммов *V. cholerae* неO1/неO139 и *V. parasholerae*, выделенных в 2024 г. из р. Волги в районе г. Саратова

Обозначение штамма*	Номер доступа в VGARUS	hlyA	cas3	toxR	toxS	MARTX			VPI-2			T3SS				T6SS			MSHA		ompW vca0867
						rxA vc1451	rxC vc1450	vc 1447	nanH vc1784	vc 1757	vcn2	vcsv2	vcsc2	vspD	vgrG3 vca0123	hcp vc1415	vasK vca0120	mshA vc0409	mshD vc0411		
№ 4-2 0207	micr029864	94,5	-	98,4	98,3	97,2	100	98,8	94,4	99,4	99,5	98,8	99,3	97,7	98,2	98,6	-	98,0	99,9		
№ 5-2 0207	micr029869	97,0	96,4	88,5	89,6	-	98,9	98,0	-	96,9	-	-	-	94,7	98,7	98,2	-	97,5	98,5		
№ 4 0907	micr029870	99,0	94,6	98,6	98,5	97,7	99,6	99,1	96,9	98,2	99,4	97,9	99,0	94,6	99,0	99,0	-	95,0	100		
№ 1 2207	micr029871	100	96,5	98,5	100	-	99,8	98,9	-	96,5	-	-	-	97,6	89,2	98,4	-	98,6	88,5		
№ 2 2207	micr029872	94,5	96,4	98,6	98,1	97,6	99,4	97,5	-	96,8	-	-	-	94,1	99,6	98,9	-	94,9	99,9		
№ 3 2207	micr029873	99,0	-	98,6	97,9	97,1	99,4	98,6	-	97,0	-	-	-	85,8	92,1	98,6	-	94,6	99,0		
№ 4 2207	micr029874	100	-	98,1	99,8	-	99,6	99,4	-	98,0	-	-	-	93,4	87,8	98,6	-	97,5	89,1		
№ 5 2207	micr029866	100	-	88,6	98,9	-	98,9	97,9	-	96,6	-	-	-	97,4	99,2	98,1	-	98,0	99,0		
№ 6 2207	micr029865	97,0	-	88,9	89,6	-	98,9	97,2	-	96,6	-	-	-	94,9	-	98,2	-	98,0	97,9		
№ 1 3007	micr029875	100	-	99,21	99,8	-	99,4	97,5	-	97,2	-	-	-	94,4	98,1	98,6	-	94,4	99,5		
№ 2 3007	micr029876	100	-	99,6	99,4	97,1	99,6	98,5	96,9	95,9	99,1	99,2	97,8	99,0	99,0	98,9	-	98,5	99,5		
№ 3 3007	micr029877	94,5	-	98,3	99,0	-	98,7	99,2	96,1	98,0	-	-	-	94,0	98,7	98,7	-	97,7	89,2		
№ 5 3007	micr029867	97,0	-	90,3	89,6	-	98,9	97,2	-	96,6	-	-	-	94,9	96,1	98,6	-	98,0	97,9		
№ 6 3007	micr029878	100	-	98,6	98,5	97,2	99,6	98,7	-	97,1	-	-	-	94,1	98,2	98,7	-	95,0	98,5		
№ 4 0608	micr029879	98,0	-	98,3	98,5	97,6	99,6	98,5	96,1	97,1	99,7	99,5	96,4	99,4	98,6	98,6	99,3	98,5	99,7		
№ 5 0608	micr029880	100	-	99,0	99,2	-	99,1	98,4	-	94,7	-	-	-	93,8	98,7	98,9	-	98,4	99,2		
№ 6 0608	micr029881	100	-	98,3	98,5	97,4	100	98,6	96,7	94,3	99,5	98,6	99,1	94,9	99,0	98,6	99,4	94,3	97,6		
№ 3 1808	micr029868	97,0	-	88,7	89,6	-	99,8	96,7	-	97,0	-	-	-	-	98,5	-	-	93,5	97,9		
№ 4 1808	micr029882	100	-	98,3	98,5	97,4	100	98,6	96,7	94,3	99,5	98,6	99,4	94,9	99,0	98,6	99,4	94,3	97,6		
№ 2 2008	micr029883	100	-	98,1	98,5	97,4	99,6	99,2	-	97,4	-	-	-	97,5	98,3	98,8	99,3	98,5	99,9		
№ 6 2008	micr029884	100	-	99,0	99,2	-	99,1	98,4	-	94,7	-	-	-	93,8	98,7	98,9	-	98,4	99,2		

Примечания: «-» — ген отсутствует; цифры указывают процент идентичности соответствующему гену референс-штамма *V. cholerae* N16961 O1 El Tor; * — штаммы *V. parasholerae* выделены жирным.

Таблица 2. Сравнительный анализ генетических свойств штаммов *V. cholerae* и *V. paracholerae*

Штамм	Место выделения	Источник	Год выделения	Тор оперон		Калиевый насос, регулируемый глутатионом vc2606–vc2607
				vc1692–vc1694	vc1719–vc1720	
<i>V. cholerae</i> N16961 ^{AE003852} O1 El Tor*	Бангладеш	Клиника	1971	+	+	+
Нетоксигенные штаммы <i>V. cholerae</i> O1 El Tor						
2012ENV-9 ^{JSTH01}	Гаити	ООС	2012	+	+	+
12129 ^{ACFQ01}	Австралия	ООС	1985	+	+	+
29 ^{VUAB01}	Россия, Элиста	ООС	2013	+	+	+
Штаммы <i>V. cholerae</i> неO1/неO139						
C197 ^{VUAG01}	Россия, Ставрополь	ООС	1974	+	+	–
1587 ^{AAUR01} O12	Перу	Клиника	2000	+	+	+
MZO-03 ^{AAUU01} O37	Бангладеш	Клиника	2001	+	+	+
CP1035 ^{AJRM01}	Мексика	Клиника	2004	+	+	+
HE48 ^{AFOR01}	Гаити	ООС	2010	+	+	+
EM-1676A ^{APFY01}	Бангладеш	ООС	2011	+	+	+
2012EL-1759 ^{JNEW01} , 2012ENV-92 ^{JSTJ01}	Гаита	ООС	2012	+	+	+
EDC_689 ^{WYCR01} , EDC_715 ^{WYJC01}	Бангладеш	ООС	2015	+	+	+
EDC_800 ^{WYCA01}	Бангладеш	ООС	2016	+	+	+
41 ^{JAJPEH01}	Россия, Москва	Клиника	2018	+	+	+
118 ^{JAJPEC01}	Россия, Челябинск	Клиника	2020	+	+	+
№ 4-2 0207 ^{micr029864} , № 4 0907 ^{micr029870} , № 1 2207 ^{micr029871} , № 2 2207 ^{micr029872} , № 3 2207 ^{micr029873} , № 4 2207 ^{micr029874} , № 1 3007 ^{micr029875} , № 2 3007 ^{micr029876} , № 3 3007 ^{micr029877} , № 6 3007 ^{micr029878} , № 4 0608 ^{micr029879} , № 5 0608 ^{micr029880} , № 6 0608 ^{micr029881} , № 4 1808 ^{micr029882} , № 2 2008 ^{micr029883} , № 6 2008 ^{micr029884}	Россия, Саратов	ООС	2024	+	+	+
Штаммы <i>V. paracholerae</i>						
NCTC30 ^{NZ_LS997867}	Египет	Клиника	1916	–	–	–
490-93 DA89 ^{JIDQ01}	Таиланд	Клиника	1992	–	–	+
VCC19 ^{ADEV02}	Бразилия	Сточные воды	1994	–	–	–
877-163 ^{JLBNV01}	Бангладеш	ООС	2002	–	–	–
SIO ^{MIPJ01}	США	ООС	2003	–	–	–
CISM300506 ^{NZ_MWFL01}	Мозамбик	Клиника	2008	–	–	–
HE-16 ^{ALEB01} , HE-09 ^{AFOP01}	Гаити	ООС	2010	–	–	–
CISM1163068 ^{NZ_MWFO01}	Мозамбик	Клиника	2012	–	–	–
2014V-1107 ^{QKKP01}	США	Клиника	2014	–	–	–
EDC-690 ^{WUWI01} , EDC-716 ^{WYBZ01} , EDC-717 ^{WYBY01}	Бангладеш	ООС	2015	+	–	–
**EDC-792 ^{WYCC01}	Бангладеш	ООС	2016	–	–	–
2016V-1091 ^{QKKQ01} , 2016V-1111 ^{QKKR01} , 2016V-1114 ^{QKKS01}	США	Клиника	2016	–	–	–
2017V-1105 ^{QKKT01} , 2017V-1110 ^{QKKU01}	США	Рана	2017	–	–	–
2017V-1144 ^{QKKV01}	США	Клиника	2017	–	–	–
2017V-1176 ^{QKKW01}	США	Корм животных	2017	–	–	–
07-2425 ^{QKKO01} , 87395 ^{APFL01}	Не известен			–	–	–
№ 5-2 0207 ^{micr029869} , № 5 2207 ^{micr029866} , № 6 2207 ^{micr029865} , № 5 3007 ^{micr029867} , № 3 1808 ^{micr029868}	Россия, Саратов	ООС	2024	–	–	–

Примечание. ООС — объекты окружающей среды. *Токсигенный референс-штамм *V. cholerae* O1 El Tor; **типовой штамм *V. paracholerae*; «+» — ген присутствует; «–» — ген отсутствует.

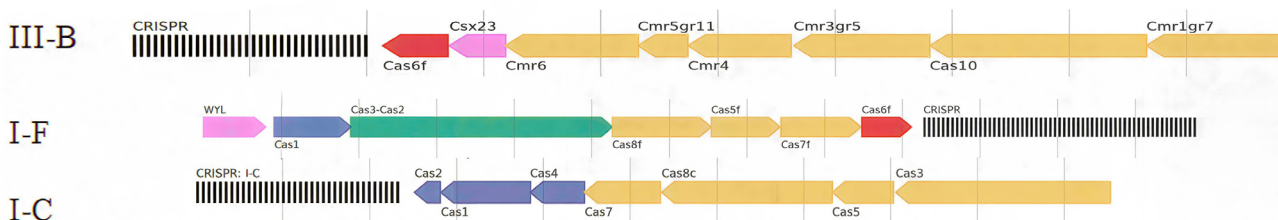


Рис. 4. Структура системы CRISPR-cas 1 класса штаммов *V. cholerae* неO1/неO139 и *V. paracholerae*.

Показаны подтип III-B *V. cholerae* № 1 2207 и подтипы I-F, I-C штамма *V. paracholerae* № 5-2 0207.

спейсеров к литическим холерным фагам обеспечивает защиту клеток от их последующих инфекций. При анализе спейсеров выявлено их соответствие протоспейсерным последовательностям ДНК различных холерных фагов: ICP1, JSF14, JSF1, JSF5, JSF6, JSF2, JSF13, JSF4, VMJ710, JSF17, Rostov M3, CP-T1, vB_VchM-138, vB_VchM_VP-3213, 24, X29, phi 2, Rostov 7, VPUSM 8, Ch457, VcP032, V86, K139, vB_VchM_Kuja, Каппа, K139, а также плазмидам *V. cholerae* pE7G, pSA7G2. Кроме того, обнаружены спейсеры, гомологичные плазмидам *V. vulnificus* 48/10 и *Salinivibrio costicola* GSL5. Полученные данные указывают на то, что, обитая в водной среде, НАГ-вибрионы и *V. paracholerae* подвергаются воздействию различных холерных фагов. Учитывая, что анализируемые штаммы выделены из внешней среды, ожидалось, что у всех будет присутствовать участок ДНК, кодирующий биосинтез маннозочувствительных пилей адгезии (MSHA), способствующих прикреплению вибрионов к биотическим и абиотическим поверхностям при формировании биоплёнки (секреторный оперон — *mshHIJKLMNIJ*, структурный оперон — *mshBACDOPQ*). Как известно, биоплёнка защищает вибрионы от неблагоприятных факторов и повышает их выживаемость в окружающей среде [28]. Однако ген *mshA*, кодирующий основную субъединицу MSHA пилей, обнаружен только у 4 штаммов НАГ-вибрионов, при этом его последовательность была высокогомологична прототипному (процент идентичности 99,3–99,4). В то же время у всех штаммов присутствует ген *mshD*, ответственный за биосинтез минорной субъединицы MSHA пилей (табл. 1). Возможно, изучаемые штаммы продуцируют пили MSHA, но для проверки данного предположения необходимы дополнительные исследования.

Выявление генетических отличий, характерных для штаммов *V. paracholerae*

При проведении генетического анализа установлено, что *V. paracholerae* не отличались от НАГ-вибрионов по наличию и структуре генов, обычно определяемых у *V. cholerae*, выделяемых из внешней среды (табл. 1). В том числе в геноме *V. paracholerae* присутствует ген *ompW*, кодирующий белок внешней мембраны, являющийся специфичным для вида *V. cholerae*. Данный ген ис-

пользуется в зарубежных ПЦР тест-системах для выявления штаммов *V. cholerae* [29]. Также в геноме *V. paracholerae* выявлены гены *toxR/toxS*, *hlyA*, *rtx*, T6SS и T3SS и другие гены, обнаруживаемые и у *V. cholerae* неO1/неO139 [8, 10, 24]. Однако, согласно данным литературы, *V. paracholerae* имеют ряд генетических особенностей, отличающих их от *V. cholerae* [20]. Так, геномными маркерами, дифференцирующими *V. cholerae* и *V. paracholerae*, являются 2 локуса «операона Топ» (*vc1692–1694* и *vc1719–1720*) и гены калиевой помпы, регулируемой глутатионом (*vc2606*, *vc2607*), которые присутствуют у *V. cholerae* и не выявляются у *V. paracholerae* [30]. Исследованные нами 5 штаммов также лишены всех указанных генов (табл. 2).

Таким образом, полученные данные подтверждают принадлежность выделенных штаммов № 5-2 0207, № 5 2207, № 6 2207, № 5 3007, № 3 1808 к виду *V. paracholerae*.

Обсуждение

Проведённый анализ штаммов *V. cholerae* неO1/неO139 и *V. paracholerae*, выделенных из р. Волги в районе г. Саратова, показал, что данные штаммы не содержат ряд мобильных генетических элементов с генами патогенности и пандемичности, в то же время в их геноме выявлены локусы, кодирующие дополнительные факторы патогенности и адаптации, в том числе *hlyA*, ответственный за биосинтез гемолизина. При этом у 52,4% штаммов структура данного локуса соответствует токсигенному референс-штамму *V. cholerae* N16961 O1 E1 Тог. Гемолизин HlyA, обладающий цитотоксической активностью и способностью повреждать клетки кишечного эпителия, является важным фактором патогенности штаммов *V. cholerae* неO1/неO139 [8, 24, 25]. Выявлены также локусы, ответственные за биосинтез порообразующего токсина MARTX, разрушающего актиновый цитоскелет клеток-хозяина, и гены T6SS. Экспериментально доказано, что НАГ-вибрионы, экспрессирующие белки-эффекторы T6SS и продуцирующие гемолизин, подавляли рост токсигенного штамма *V. cholerae* N16961 O1 E1 Тог при их совместном культивировании в водной среде [25].

Выявлены 3 штамма НАГ-вибрионов и 1 изолят *V. paracholerae*, содержащие систему CRISPR-cas 1 класса. Наличие гена *cas*, кодирующего ну-

клеазу, и значительное количество спейсеров (от 6 до 58) служат доказательством того, что данная система в указанных штаммах является функциональной. Кроме того, в CRIPR-кассете штамма № 1 2207 обнаружены спейсеры, соответствующие генетическому материалу различных видов фага ICP1 (ICP1_2001, ICP1_2004, ICP1_2005, ICP1_2006, ICP1_2006_E, ICP1_2006_D, ICP1_2011, ICP1_2011_A, ICP1_2012, ICP1_2017_F_Mathbaria). Данный фаг является самым распространённым на эндемичной территории [31]. На основе полученных сведений можно высказать предположение о том, что в р. Волге в районе г. Саратова могут циркулировать завезённые с эндемичной территории штаммы *V. cholerae* неO1/неO139. Ранее D.Y. Kang и соавт. при изучении штаммов *V. cholerae* неO1/неO139, выделенных из открытых водоёмов Северного Камеруна, показали их тесные связи с изолятами, циркулирующими в Кении, Аргентине, Гаити, высказав предположение о том, что данные вибрионы могут распространяться не только между странами, но и между континентами [32].

Учитывая, что штаммы *V. paracholerae* впервые обнаружены нами на территории России, необходимо дальнейшее более детальное фенотипическое и молекулярно-генетическое изучение представителей данного вида. Не вызывает сомнений, что *V. paracholerae* циркулируют и в других регионах нашей страны и выделяются под видом *V. cholerae* неO1/неO139. Наличие/отсутствие у *V. paracholerae* специфических генов [20] указывает на возможность создания диагностических тест-систем для их выявления и дифференциации от *V. cholerae* неO1/неO139. Стоит отметить, что среди депонированных в NCBI GenBank 38 НП полных геномов штаммов *V. paracholerae* с установленным источником выделения 10 (26%) изолятов выделены из стула больных. Вполне возможно, что штаммы *V. paracholerae*, циркулирующие в волжской воде, также способны вызывать острую кишечную инфекцию, но для подтверждения данного предположения необходимы дополнительные исследования.

Заключение

В р. Волге в районе г. Саратова циркулируют не только штаммы *V. cholerae* неO1/неO139, но и штаммы *V. paracholerae*. Обе группы штаммов имеют сходные биохимические свойства и генетическое строение. В их геномах отсутствуют гены патогенности и ряд генов пандемичности, но выявлены локусы дополнительных токсинов, присутствие которых характерно для представителей НАГ-вибрионов, выделяемых из открытых водоёмов в других регионах нашей страны. Необходимо проведение дальнейших исследований по сравнительному изучению фенотипических и молекулярно-генетических свойств штаммов *V. paracholerae*.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

1. Deshayes S., Daurel C., Cattoir V., et al. Non-O1, non-O139 *Vibrio cholerae* bacteraemia case report and literature review. *Springerplus*. 2015;4:575. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40064-015-1346-3>
2. Li X., Wu Y., Sun X., et al. Non-O1/non-O139 *Vibrio cholerae* bacteraemia in mainland China from 2005 to 2019: clinical, epidemiological and genetic characteristics. *Epidemiol. Infect.* 2020; 148:e186. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0950268820001545>
3. Zhang X., Lu Y., Qian H., et al. Non-O1, Non-O139 *Vibrio cholerae* (NOVC) bacteremia case report and literature review, 2015–2019. *Infect. Drug Resist.* 2020;13:1009–16. DOI: <https://doi.org/10.2147/IDR.S245806>
4. Vezzulli L., Baker-Austin C., Kirschner A., et al. Global emergence of environmental non-O1/O139 *Vibrio cholerae* infections linked with climate change: a neglected research field? *Environ. Microbiol.* 2020;22(10):4342–55. DOI: <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15040>
5. Rehm C., Lippert K., Indra A., et al. First report on the occurrence of *Vibrio cholerae* nonO1/nonO139 in natural and artificial lakes and ponds in Serbia: evidence for a long-distance transfer of strains and the presence of *Vibrio paracholerae*. *Environ. Microbiol. Rep.* 2023;15(2):142–52. DOI: <https://doi.org/10.1111/1758-2229.13136>
6. Монахова Е.В., Архангельская И.В. Холерные вибрионы неO1/неO139 серогрупп в этиологии острых кишечных инфекций: современная ситуация в России и в мире. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2016;(2):14–23. Monakhova E.V., Arkhangelskaya I.V. Cholera Vibrios of nonO1/nonO139 serogroups in etiology of acute intestinal infections: current situation in Russia and around the world. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2016;(2):14–23. DOI: <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2016-2-14-23> EDN: <https://elibrary.ru/wcdorv>
7. Архангельская И.В., Кругликов В.Д., Левченко Д.А. и др. Клинические штаммы холерных вибрионов неO1/неO139 серогрупп в России: динамика выделения, серологическая принадлежность, генетические особенности. *Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы*. 2021;11(1):52–6. Arkhangelskaya I.V., Kruglikov V.D., Levchenko D.A., et al. Clinical strains of *Vibrio cholerae* неO1/неO139 serogroups in Russia: isolation dynamics, serological belonging, genetic features. *Epidemiology and Infectious Diseases. Current Items*. 2021;11(1):52–6. DOI: <https://doi.org/10.18565/epidem.2021.11.1.52-6> EDN: <https://elibrary.ru/ckdjir>
8. Монахова Е.В., Кругликов В.Д., Водопьянов А.С. и др. Молекулярно-генетическая характеристика штамма *Vibrio cholerae* nonO1/nonO139 — возбудителя нового случая острой кишечной инфекции в Ростове-на-Дону. *Инфекция и иммунитет*. 2022;12(6):1156–62. Monakhova E.V., Kruglikov V.D., Vodopyanov A.S., et al. Molecular genetic characteristics of *Vibrio cholerae* nonO1/nonO139 strain, the causative agent of a new case of acute intestinal infection in Rostov-on-Don. *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2022;12(6):1156–62. DOI: <https://doi.org/10.15789/2220-7619-MGC-2022> EDN: <https://elibrary.ru/sqclub>
9. Кругликов В.Д., Гаевская Н.Е., Монахова Е.В. и др. 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. Kruglikov V.D., Gaevskaya N.E., Monakhova E.V., et al. 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. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2025;(1):35–47. DOI: <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2025-1-35-47> EDN: <https://elibrary.ru/edcmmy>

10. Архангельская И.В., Непомнящая Н.Б., Монахова Е.В. и др. Генетическая неоднородность популяции *Vibrio cholerae* nonO1/nonO139, выделенных в Ростовской области. *Здоровье населения и среда обитания – ЗНУСО*. 2015;(3):25–7. Arkhangelskaya I.V., Nepomnyaschaya N.B., Monakhova E.V., et al. Genetic diversity of the population of vibrio cholerae nonO1/nonO139 circulating in Rostov region. *Public Health and Life Environment – PH&LE*. 2015;(3):25–7. EDN: <https://elibrary.ru/tqmitf>
11. Dziejman M., Serruto D., Tam V.C., et al. Genomic characterization of non-O1, non-O139 *Vibrio cholerae* reveals genes for a type III secretion system. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2005;102(9):3465–70. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0409918102>
12. Agyei F.K., Scharf B., Duodu S. *Vibrio cholerae* bacteremia: an enigma in cholera-endemic African countries. *Trop. Med. Infect. Dis*. 2024;9(5):103. DOI: <https://doi.org/10.3390/tropicalmed9050103>
13. Фадеева А.В., Ерошенко Г.А., Шавина Н.Ю., Кутырев В.В. Анализ SXT констина антибиотикочувствительного штамма *Vibrio cholerae* неO1/неO139 серогруппы. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2012;(3):102–3. Fadeeva A.V., Eroshenko G.A., Shavina N.Yu., Kutyrev V.V. Analysis of the SXT constin of antibiotic-sensitive *Vibrio cholerae* strain of non-O1/non-O139 serogroup. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2012;(3):102–3. DOI: <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2012-3-102-103> EDN: <https://elibrary.ru/pekrc1>
14. Takemura T., Murase K., Maruyama F., et al. Genetic diversity of environmental *Vibrio cholerae* O1 strains isolated in Northern Vietnam. *Infect. Genet. Evol.* 2017;54:146–51. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2017.06.017>
15. Селянская Н.А., Тришина А.В., Веркина Л.М. и др. Чувствительность к антибактериальным препаратам штаммов холерных вибрионов не O1/неO139 серогрупп, выделенных из объектов окружающей среды в Ростовской области. *Антибиотики и химиотерапия*. 2014;59(11-12):16–9. Selyanskaya N.A., Trishina A.V., Verkina L.M., et al. Antibiotic susceptibility of *Vibrio cholerae* nonO1/nonO139 serogroups isolated from environment in the Rostov Region. *Antibiotics and Chemotherapy*. 2014;59(11-12):16–9. EDN: <https://elibrary.ru/ucrakp>
16. Тришина А.В., Березняк Е.А., Ежова М.И. и др. Резистентность к антибиотикам экологических изолятов *Vibrio cholerae* nonO1/nonO139. *Здоровье населения и среда обитания – ЗНУСО*. 2022;30(3):66–71. Trishina A.V., Berезnyak E.A., Ezhova M.I., et al. Antibiotic resistance of surface water *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 isolates. *Public Health and Life Environment – PH&LE*. 2022;30(3):66–71. DOI: <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2022-30-3-66-71> EDN: <https://elibrary.ru/ancahe>
17. Munson E., Carella A., Carroll K.C. Valid and accepted novel bacterial taxa derived from human clinical specimens and taxonomic revisions published in 2022. *J. Clin. Microbiol.* 2023; 61(11):e0083823. DOI: <https://doi.org/10.1128/jcm.00838-23>
18. Gardner A.D., Venkatraman K.V. The antigens of the cholera group of vibrios. *J. Hyg. (Lond.)*. 1935;35(2):262–82. DOI: <https://doi.org/10.1017/s0022172400032265>
19. Dorman M.J., Kane L., Domman D., et al. The history, genome and biology of NCTC 30: a non-pandemic *Vibrio cholerae* isolate from World War One. *Proc. Biol. Sci.* 2019;286(1900):20182025. DOI: <https://doi.org/10.1098/rspb.2018.2025>
20. Islam M.T., Nasreen T., Kirchberger P.C., et al. Population analysis of *Vibrio cholerae* in aquatic reservoirs reveals a novel sister species (*Vibrio paracholerae* sp. nov.) with a history of association with humans. *Appl. Environ. Microbiol.* 2021;87(17):e0042221. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.00422-21>
21. Morgado S.M., da Fonseca E.L., Vicente A.C.P. *Vibrio cholerae* and *Vibrio paracholerae* bacteraemia strains encompass lineages that share resistome and virulome profiles. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 2025;120:e240159. DOI: <https://doi.org/10.1590/0074-02760240159>
22. Hussain N.A.S., Kirchberger P.C., Case R.J., Boucher Y.F. Modular molecular weaponry plays a key role in competition within an environmental *Vibrio cholerae* population. *Front. Microbiol.* 2021;12:671092. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.671092>
23. Haley B.J., Grim C.J., Hasan N.A., et al. Comparative genomic analysis reveals evidence of two novel *Vibrio* species closely related to *V. cholerae*. *BMC Microbiol.* 2010;10:154. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2180-10-154>
24. Монахова Е.В. Стратегия вирулентности холерных вибрионов и пути ее реализации (обзор). *Проблемы особо опасных инфекций*. 2013;(4):60–8. Monakhova E.V. Cholera *Vibrio* virulence strategy and ways of its realization (scientific review). *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2013;(4):60–8. DOI: <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2013-4-60-68> EDN: <https://elibrary.ru/rqrgnf>
25. Ruenchit P., Reamtong O., Siripanichgon K., et al. New facet of non-O1/non-O139 *Vibrio cholerae* hemolysin A: a competitive factor in the ecological niche. *FEMS Microbiol. Ecol.* 2017;93(12):fix113. DOI: <https://doi.org/10.1093/femsec/fix113>
26. McDonald N.D., Regmi A., Morreale D.P., et al. CRISPR-Cas systems are present predominantly on mobile genetic elements in *Vibrio* species. *BMC Genomics*. 2019;20(1):105. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12864-019-5439-1>
27. Заднова С.П., Плеханов Н.А., Сергутин Д.А. и др. Анализ генов антифаговых систем нетоксигенных штаммов *Vibrio cholerae* O1 биовара Эль Тор. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2025; 102(4):456–464. Zadnova S.P., Plekhanov N.A., Sergutin D.A. et al. Analysis of the gene structure of antiphage systems of non-toxicigenic strains of *Vibrio cholerae* O1 biovar El Tor. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2025;102(4):456–464. DOI: <http://doi.org/10.36233/0372-9311-640> EDN: <https://elibrary.ru/xnhhrx>
28. Chiavelli D.A., Marsh J.W., Taylor R.K. The mannose-sensitive hemagglutinin of *Vibrio cholerae* promotes adherence to zooplankton. *Appl. Environ. Microbiol.* 2001;67(7):3220–5. DOI: <https://doi.org/10.1128/aem.67.7.3220-3225.2001>
29. Nandi B., Nandy R.K., Mukhopadhyay S., et al. Rapid method for species-specific Identification of *Vibrio cholerae* using primers targeted to the gene of outer membrane protein OmpW. *J. Clin. Microbiol.* 2000;38(11):4145–51. DOI: <https://doi.org/10.1128/jcm.38.11.4145-4151.2000>
30. Lee K.M., Park Y., Bari W., et al. Activation of cholera toxin production by anaerobic respiration of trimethylamine N-oxide in *Vibrio cholerae*. *J. Biol. Chem.* 2012;287(47):39742–52. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.m112.394932>
31. Angermeyer A., Das M.M., Singh D.V., Seed K.D. Analysis of 19 highly conserved *Vibrio cholerae* bacteriophages isolated from environmental and patient sources over a twelve-year period. *Viruses*. 2018;10(6):299. DOI: <https://doi.org/10.3390/v10060299>
32. Kang D.Y., Islam M.T., Bouba R.W., et al. Non-O1/O139 environmental *Vibrio cholerae* from Northern Cameroon reveals potential intra-/inter-continental transmissions. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2025;19(4):e0012890. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0012890>

Информация об авторах

Заднова Светлана Петровна — д-р биол. наук, зав. лаб. патогенных вибрионов отдела микробиологии Российского противочумного института «Микроб», Саратов, Россия, svetlanazadnova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4366-0562>

Челдышова Надежда Борисовна — канд. мед. наук, с. н. с. лаб. патогенных вибрионов отдела микробиологии Российского противочумного института «Микроб», Саратов, Россия, rusrapi@microbe.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5759-3765>

Кусмарцева Дарья Леонидовна — м. н. с. лаб. патогенных вибрионов отдела микробиологии Российского противочумного института «Микроб», Саратов, Россия, rusrapi@microbe.ru, <https://orcid.org/0009-0002-3235-7357>

Рыбальченко Дарья Александровна — н. с. лаб. патогенных вибрионов отдела микробиологии Российского противочумного института «Микроб», Саратов, Россия, arashis@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3117-8229>

Сергутин Данил Александрович — м. н. с. лаб. патогенных вибрионов отдела микробиологии Российского противочумного института «Микроб», Саратов, Россия, sergutin322@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0003-7525-9682>

Бойко Андрей Витальевич — д-р мед. наук, в. н. с. отдела диагностики инфекционных болезней Российского противочумного института «Микроб», Саратов, Россия, rusrapi@microbe.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9576-4959>

Казанцев Андрей Васильевич — н. с. отдела диагностики инфекционных болезней Российского противочумного института «Микроб», Саратов, Россия, rusrapi@microbe.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1790-0411>

Корешкова Оксана Андреевна — м. н. с. отдела диагностики инфекционных болезней Российского противочумного института «Микроб», Саратов, Россия, rusrapi@microbe.ru, <https://orcid.org/0009-0008-2029-0646>

Федоров Андрей Витальевич — м. н. с. лаб. геномного и протеомного анализа отдела микробиологии Российского противочумного института «Микроб», Саратов, Россия, rusrapi@microbe.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7190-4427>

Краснов Ярослав Михайлович — канд. хим. наук, зав. лаб. геномного и протеомного анализа отдела микробиологии Российского противочумного института «Микроб», Саратов, Россия, rusrapi@microbe.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4909-2394>

Портенко Светлана Анатольевна — канд. биол. наук, зав. отделом диагностики инфекционных болезней Российского противочумного института «Микроб», Саратов, Россия, rusrapi@microbe.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8334-9173>

Щербакова Светлана Анатольевна — д-р биол. наук, зам. директора Российского противочумного института «Микроб», Саратов, Россия, rusrapi@microbe.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1143-4069>

Вклад авторов: *Заднова С.П.* — формирование идеи, разработка концепции и дизайна исследования, оформление статьи; *Челдышова Н.Б., Кусмарцева Д.П.* — проведение генетического анализа штаммов; *Рыбальченко Д.А., Сергутин Д.А.* — проведение исследования, интерпретация полученных данных; *Бойко А.В., Казанцев А.В., Корешкова О.А.* — проведение MALDI-TOF и ПЦР-анализа; *Федоров А.В., Краснов Я.М.* — секвенирование, сборка и аннотация геномов; *Портенко С.А., Щербакова С.А.* — утверждение окончательного варианта статьи. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям Международного комитета редакторов медицинских журналов, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 13.11.2025;
принята к публикации 30.01.2026;
опубликована 26.02.2026

Information about the authors

Svetlana P. Zadnova — Dr. Sci. (Biol.), Head, Laboratory of pathogenic vibrios, Microbiology department, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russia, svetlanazadnova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4366-0562>

Nadezhda B. Cheldyshova — Cand. Sci. (Med.), senior researcher, Laboratory of pathogenic vibrios, Microbiology department, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russia, rusrapi@microbe.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5759-3765>

Daria L. Kusmartseva — junior researcher, Laboratory of pathogenic vibrios, Microbiology department, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russia, rusrapi@microbe.ru, <https://orcid.org/0009-0002-3235-7357>

Darya A. Rybalchenko — researcher, Laboratory of pathogenic vibrios, Microbiology department, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russia, arashis@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3117-8229>

Danil A. Sergutin — junior researcher, Laboratory of pathogenic vibrios, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russia, sergutin322@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0003-7525-9682>

Andrey V. Boyko — Dr. Sci. (Med), leading researcher, Department of diagnostics of infectious diseases, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russia, rusrapi@microbe.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9576-4959>

Andrey V. Kazantsev — researcher, Department of diagnostics of infectious diseases, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russia, rusrapi@microbe.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1790-0411>

Oksana A. Koreshkova — junior researcher, Department of infectious disease diagnostics, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russia, rusrapi@microbe.ru, <https://orcid.org/0009-0008-2029-0646>

Andrey V. Fedorov — junior researcher, Laboratory of genomic and proteomic analysis, Microbiology department, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russia, rusrapi@microbe.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7190-4427>

Yaroslav M. Krasnov — Cand. Sci. (Chem.), Head, Laboratory of Genomic and proteomic analysis, Microbiology department, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russia, rusrapi@microbe.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4909-2394>

Svetlana A. Portenko — Cand. Sci. (Biol.), Head, Department of infectious disease diagnostics, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russia, rusrapi@microbe.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8334-9173>

Svetlana A. Shcherbakova — D. Sci. (Biol.), Deputy director, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russia, rusrapi@microbe.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1143-4069>

Author contribution: *Zadnova S.P.* — concept development, research design, and article preparation; *Cheldyshova N.B., Kusmartseva D.L.* — genetic analysis of the strains; *Rybalchenko D.A., Sergutin D.A.* — research implementation, interpretation of the obtained data; *Boyko A.V., Kazantsev A.V., Koreshkova O.A.* — MALDI-TOF and PCR analysis; *Fedorov A.V., Krasnov Ya.M.* — genome sequencing, assembly, and annotation; *Portenko S.A., Shcherbakova S.A.* — approval of the final version of the article. All authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors criteria for authorship, made a final approval of the version to be published.

The article was submitted 13.11.2025;
accepted for publication 30.01.2026;
published 26.02.2026