



Трансмиссивная антибиотикоустойчивость, обусловленная SXT-элементом, у холерных вибрионов, выделенных на территории России

Селянская Н.А.✉, Водопьянов С.О., Рыкова В.А., Соколова Е.П.

ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, 344019, Ростов-на-Дону, Россия

Цель. Детекция SXT-элементов в холерных вибрионах O1 и nonO1/nonO139 серогрупп и исследование эффективности их конъюгативной передачи в клетки *Escherichia coli*.

Материалы и методы. В опытах конъюгации в качестве доноров использовали штаммы *Vibrio cholerae* O1 EI Tor ($n = 3$) и *V. cholerae* nonO1/nonO139 ($n = 3$). Штаммы (доноры, реципиенты и трансконъюганты) тестировали в полимеразной цепной реакции в формате реального времени на чувствительность к антибиотикам и на наличие генов лекарственной устойчивости и гена интегразы (*int*). Проводили электрофорез в 0,7% геле агарозы с окраской бромистым этидием.

Результаты. Устойчивость к левомицетину, триметоприму/сульфаметоксазолу, стрептомицину передавалась в опытах конъюгации с частотой от $2,1 \times 10^{-9}$ до $7,1 \times 10^{-9}$. У большинства штаммов *V. cholerae* обнаружены гены *int* и *dfrA1* (устойчивость к триметоприму/сульфаметоксазолу), которые стабильно передавались клеткам *E. coli* QD Rif^r и в обратных кроссах *V. cholerae* O1 EI Tor 5879 NaI^r.

Заключение. Обнаружение SXT-элемента в штаммах *V. cholerae* и его успешный горизонтальный перенос подчеркивают необходимость детекции таких мобильных генетических элементов для контроля над распространением антибиотикорезистентности у *V. cholerae*.

Ключевые слова: SXT-элемент; *Vibrio cholerae*; конъюгация.

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

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

Для цитирования: Селянская Н.А., Водопьянов С.О., Рыкова В.А., Соколова Е.П. Трансмиссивная антибиотикоустойчивость, обусловленная SXT-элементом, у холерных вибрионов, выделенных на территории России. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2020; 97(3): 258–264.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-3-8>

Поступила 15.11.2019

Принята в печать 18.12.2019

Transmissible Antibiotic Resistance, Associated with the SXT Element, in Cholera Vibrios Isolated in the Territory of Russia

Nadejda A. Selyanskaya✉, Sergey O. Vodop'yanov, Violetta A. Rykova, Elena P. Sokolova

Rostov-on-Don Research Institute for Plague Control, Russia, 344019, Rostov-on-Don

Aim. Detection of SXT elements in cholera vibrios O1 and nonO1/nonO139 serogroups and study of the effectiveness of their conjugative transmission to *Escherichia coli* cells.

Materials and methods. In conjugation experiments, *Vibrio cholerae* O1 EI Tor (3) and *V. cholerae* nonO1/nonO139 (3) strains were used as donors. Donor strains, recipients, and transconjugants were tested in real-time PCR for sensitivity to antibiotics and for the presence of drug resistance genes and integrase gene (*int*). Electrophoresis was carried out on a 0.7% agarose gel with ethidium bromide staining.

Results. Resistance to chloramphenicol, trimethoprim/sulfamethoxazole, streptomycin was transmitted in conjugation experiments with a frequency of 2.1×10^{-9} – 7.1×10^{-9} . The genes *int* and *dfrA1* (resistance to trimethoprim/sulfamethoxazole) were found in most *V. cholerae* strains, and were stably transmitted to *E. coli* QD Rif^r cells and in reverse crosses of *V. cholerae* O1 EI Tor 5879 NaI^r.

Conclusion. The detection of the SXT element in *V. cholerae* strains and its successful horizontal transfer emphasize the need to detect such mobile genetic elements to control the spread of antibiotic resistance in *V. cholerae*.

Keywords: SXT element; *Vibrio cholerae*; conjugation.

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

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

For citation: Selyanskaya N.A., Vodop'yanov S.O., Rykova V.A., Sokolova E.P. Transmissible antibiotic resistance, associated with the SXT element, in cholera vibrios isolated in the territory of Russia. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii*. 2020; 97(3.): 258–264. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-3-8>

Received 15 November 2019

Accepted 18 December 2019

Введение

В настоящее время во всем мире выделяются штаммы холерных вибрионов, обладающие множественной устойчивостью к антибактериальным препаратам [1, 2]. Исследования, направленные на изучение роли отдельных элементов генома в устойчивости к антибиотикам у бактерий, показали, что гены антибиотикорезистентности у *Vibrio cholerae* могут входить в состав трансмиссивных плазмид и интегративных конъюгативных элементов [3].

Важную роль в формировании множественной устойчивости возбудителя холеры к антимикробным соединениям играют SXT-элементы, содержащие гены, ответственные за антибиотикорезистентность и другие адаптивные проявления у бактерий и способные интегрироваться в бактериальный геном и передаваться посредством конъюгации [4, 5]. SXT-элементы широко распространены у холерных вибрионов различных серогрупп [6–8]. При этом наблюдаются различия как в их структуре, так и в характере локализации генов антибиотикорезистентности [9]. В связи с этим актуально изучение процессов приобретения и утраты генетических элементов, ответственных за устойчивость *V. cholerae* к различным антибактериальным препаратам [10].

Целью данной работы явилась детекция SXT-элементов в холерных вибрионах O1 и nonO1/nonO139 серогрупп и исследование эффективности их конъюгативной передачи из клеток *V. cholerae* в клетки *Escherichia coli*.

Материалы и методы

В работе использовали множественно устойчивые штаммы *V. cholerae* O1 El Tor ($n = 3$) и *V. cholerae* nonO1/nonO139 ($n = 3$), выделенные на территории России, а также *V. cholerae* O1 El Tor 5879 и *E. coli* QD5003 Rif. Все штаммы получены из Музея живых культур ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт».

Чувствительность/устойчивость штаммов к 22 антибактериальным препаратам определяли методом серийных разведений в плотной питательной среде в соответствии с МУК 4.2.2495-09 [11].

Конъюгативную передачу г-детерминант резистентности в составе SXT от штаммов-доноров

клеткам штаммов-реципиентов осуществляли путем совместного культивирования 18-часовых бульонных культур штамма-донора и штамма-реципиента (в соотношении 1:2) в течение 3–4 ч при 37°C с последующим высевом на плотные питательные среды, содержащие антибактериальные препараты для селекции трансконъюгантов (ТК) и контрселекции донора и реципиента. Частоту передачи выражали как отношение числа выросших ТК к общему числу живых бактерий, использованных для посева.

Выделение ДНК, ПЦР и учет результатов проводили, как описано ранее [12]. В качестве маркера для обнаружения SXT в штаммах использовали ген интегразы (*int*) [13]. Для подтверждения факта переноса генов отобранные ТК тестировали на чувствительность к антибиотикам и на наличие генов лекарственной устойчивости к тетрациклинам (*tetR*), фторхинолонам (*qnrVC1*), триметоприму (*dfrA1*) и хлорамфениколу (*floR*), которые выявляли с помощью ПЦР в формате реального времени [14].

Для анализа автономных мобильных генетических элементов с помощью электрофореза ДНК из клеток выделяли по методике [15], электрофорез проводили в 0,7% геле агарозы с последующей окраской бромистым этидием. Контролем в этих экспериментах служили клетки вакцинного штамма *Yersinia pestis EV*, содержащие 3 плазмиды с молекулярной массой 6, 47 и 65 МДа.

Результаты

Все штаммы холерных вибрионов были устойчивы к триметоприму/сульфаметоксазолу (табл. 1). Устойчивостью к налидиксовой кислоте и фуразолидону обладали 4 штамма из 6, к стрептомицину — 5 штаммов. Один штамм (*V. cholerae* O1 El Tor 3265/80) имел промежуточную устойчивость к левомицетину: минимальная подавляющая концентрация (МПК) 8 мг/л.

Сравнительное изучение антибиотикограмм доноров, реципиентов, ТК показало отсутствие передачи устойчивости к налидиксовой кислоте и фуразолидону. По данным литературы, гены устойчивости к этим антибактериальным препаратам локализованы на хромосоме [16, 17].

Маркеры устойчивости к левомицетину, триметоприму/сульфаметоксазолу, стрептомицину ока-

Таблица 1. Значения МПК (мг/л) штаммов *V. cholerae*
Table 1. MICs (mg/l) of strains of *V. cholerae*

Антибактериальный препарат Antimicrobial agent	Пограничные значения МПК, мг/л MIC breakpoints, mg/l		<i>V. cholerae</i> nonO1/nonO139			<i>V. cholerae</i> O1 El Tor		
	S	R	372	375	117	301	6878	3265/80
Доксициклин Doxycycline	≤2,0	>8,0	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Тетрациклин Tetracycline	≤4,0	>8,0	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Левомецетин Chloramphenicol	≤4,0	≥16,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	8,0
Налидиксовая кислота Nalidixic acid	≤4,0	≥16,0	512,0	2,0	4,0	512,0	512,0	512,0
Ципрофлоксацин Ciprofloxacin	<0,1	≥1,0	0,001	0,002	0,001	0,005	0,005	0,02
Стрептомицин Streptomycin	≤16,0	>32,0	2,0	128,0	64,0	128,0	64,0	128,0
Гентамицин Gentamicin	≤4,0	>8,0	1,0	1,0	2,0	1,0	1,0	1,0
Ампициллин Ampicillin	≤4,0	≥16,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
Цефтриаксон Ceftriaxone	<1,0	≥8,0	0,5	0,25	0,5	0,5	0,5	0,5
Рифампицин Rifampicin	≤4,0	≥16,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Фуразолидон Furazolidone	≤4,0	≥16,0	4,0	16,0	16,0	16,0	64,0	4,0
Триметоприм/сульфаметоксазол Trimethoprim/sulfamethoxazole	≤2,0/3	≥8,0/152,0	128,0/640,0	64,0/320,0	64,0/320,0	128,0/640,0	128,0/640,0	128,0/640,0

Примечание. S — чувствительный; R — устойчивый.
Note. S — sensitive; R — resistant.

зались трансмиссивны. Они передавались в опытах конъюгации от *V. cholerae* к *E. coli* QD5003 Rif^r и обратно к *V. cholerae* O1 El Tor 5879 Nal^r с частотой $2,1 \times 10^{-9}$ – $7,1 \times 10^{-9}$. Степень устойчивости к триметоприму/сульфаметоксазолу и стрептомицину была идентичной как у доноров, так и у ТК. Однако ТК, полученные при использовании в качестве донора штамма *V. cholerae* O1 El Tor 3265/80, имели значения МПК левомицетина более высокие (32 мг/л), чем донорский штамм (8 мг/л). Аналогичные факты дифференциальной экспрессии механизмов устойчивости к тетрациклину и хлорамфениколу между *V. cholerae* и *E. coli* были описаны A. Sarkar и соавт. [18]. Авторы предположили связь данного явления с эффектом «дозировки генов» или отсутствием репрессора в новой генетической среде реципиента. Этот факт может быть связан с различиями в строении клеточной стенки *E. coli* и *V. cholerae*, у которых может отсутствовать барьер проницаемости или активный механизм оттока лекарств, усиливаю-

щий поступление антибиотика в клетку. В работах некоторых зарубежных авторов описаны ТК, демонстрирующие более высокую лекарственную устойчивость к цефалоспорином и карбапенемам в сравнении со штаммами-донорами [19, 20].

Таким образом, множественно устойчивые штаммы *V. cholerae* O1 и *V. cholerae* nonO1/nonO139 содержат в своем геноме как трансмиссивные (стрептомицин, левомицетин, триметоприм/сульфаметоксазол), так и нетрансмиссивные (налидиксовая кислота, фуразолидон) г-детерминанты резистентности к препаратам, применяемым для экстренной профилактики и этиотропной терапии холеры.

При электрофоретическом разделении суммарных ДНК штаммов-доноров, реципиентов и ТК на электрофореграмме отсутствовали полосы внехромосомальной ДНК, за исключением донорского штамма *V. cholerae* nonO1/nonO139 372, имеющего плазмиду молекулярной массой около 4 МДа, пере-

дачи которой не зафиксировано (**рисунок**). Однако положительные результаты конъюгативного переноса генов резистентности позволяют предположить их интеграцию в хромосому, что подтвердилось наличием у большинства штаммов *V. cholerae*, взятых в исследование, гена *int*, который стабильно передавался клеткам *E. coli* QD Rif^r и в обратных кроссах *V. cholerae* O1 El Tor 5879 Nal^r.

Детекция генов антибиотикорезистентности выявила, что фенотипическая устойчивость штам-

мов к триметоприму/сульфаметоксазолу коррелировала с наличием в них генов устойчивости *dfrA1* (**табл. 2**).

Среди изученных штаммов фенотипом левомицетинорезистентности обладал лишь штамм *V. cholerae* O1 El Tor 3265/80. Однако ген устойчивости к левомицетину (*floR*) был обнаружен во всех исследованных штаммах *V. cholerae* O1 El Tor и в одном штамме *V. cholerae* nonO1/nonO139. Гены *floR* передавались в опытах конъюгации клеткам

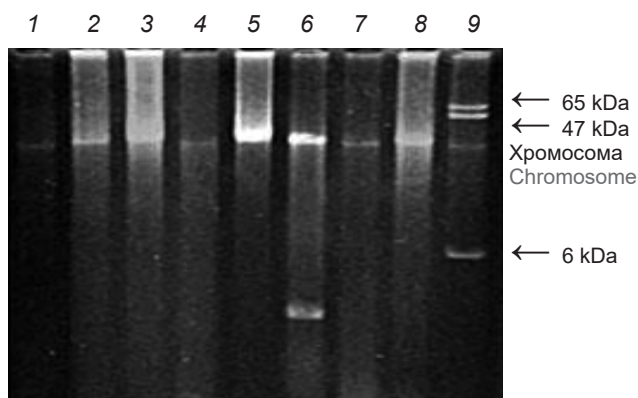
Таблица 2. Способность маркеров резистентности штаммов *V. cholerae* O1 El Tor и *V. cholerae* nonO1/nonO139 к трансмиссивной передаче *E. coli* QD5003 Rif^r

Table 2. Ability of markers of resistance of *V. cholerae* O1 El Tor and *V. cholerae* nonO1/nonO139 strains to transmission of *E. coli* QD5003 Rif^r

Штаммы микроорганизмов Microorganism strains		Фенотипы Phenotypes	Гены Genes				
			<i>qnr</i>	<i>dfrA1</i>	<i>floR</i>	<i>tet</i>	<i>int</i>
R	<i>E. coli</i> QD Rif ^r	Rif ^r	–	–	–	–	–
D	<i>V. cholerae</i> nonO1/nonO139 372	Nal ^r Tmp/Smz	–	+	+	–	+
T	<i>E. coli</i> QD Rif ^r + R ₃₇₂	Rif ^r Tmp/Smz	–	+	+	–	+
D	<i>V. cholerae</i> nonO1/nonO139 375	Fur ^r SmTmp/Smz	+	+	–	–	–
T	<i>E. coli</i> QD Rif ^r + R ₃₇₅	Rif ^r SmTmp/Smz	–	+	–	–	–
D	<i>V. cholerae</i> nonO1/nonO139 117	Fur ^r SmTmp/Smz	+	+	–	–	–
T	<i>E. coli</i> QD Rif ^r + R ₁₁₇	Rif ^r SmTmp/Smz	–	+	–	–	–
D	<i>V. cholerae</i> O1 El Tor 6878	Nal ^r Fur ^r SmTmp/Smz	–	+	+	–	+
T	<i>E. coli</i> QD Rif ^r + R ₆₈₇₈	Rif ^r SmTmp/Smz	–	+	+	–	+
D	<i>V. cholerae</i> O1 El Tor 3265/80	Nal ^r Fur ^r SmCmTmp/Smz	–	+	+	–	+
T	<i>E. coli</i> QD Rif ^r + R _{3265/80}	Rif ^r CmSmTmp/Smz	–	+	+	–	+
D	<i>V. cholerae</i> O1 El Tor 301	Nal ^r Fur ^r SmTmp/Smz	–	+	+	–	+
T	<i>E. coli</i> QD Rif ^r + R ₃₀₁	Rif ^r CmTmp/SmzSm	–	+	+	–	+
R	<i>V. cholerae</i> 5879 Nal ^r	Nal ^r	–	–	–	–	–
D	<i>E. coli</i> QD Rif ^r + R ₃₇₂	Rif ^r Tmp/Smz	–	+	+	–	+
T	<i>V. cholerae</i> 5879 Nal ^r + R ₃₇₂	Nal ^r Tmp/Smz	–	+	+	–	+
D	<i>E. coli</i> QD Rif ^r + R ₃₇₅	Rif ^r SmTmp/Smz	–	+	–	–	–
T	<i>V. cholerae</i> 5879 Nal ^r + R ₃₇₅	Nal ^r SmTmp/Smz	–	+	–	–	–
D	<i>E. coli</i> QD Rif ^r + R ₁₁₇	Rif ^r SmTmp/Smz	–	+	–	–	–
T	<i>V. cholerae</i> 5879 Nal ^r + R ₁₁₇	Nal ^r SmTmp/Smz	–	+	–	–	–
D	<i>E. coli</i> QD Rif ^r + R ₆₈₇₈	Rif ^r SmTmp/Smz	–	+	+	–	+
T	<i>V. cholerae</i> 5879 Nal ^r + R ₆₈₇₈	Nal ^r SmTmp/Smz	–	+	+	–	+
D	<i>E. coli</i> QD Rif ^r + R ₃₀₁	Rif ^r SmTmp/Smz	–	+	+	–	+
T	<i>V. cholerae</i> 5879 Nal ^r + R ₃₀₁	Nal ^r SmTmp/Smz	–	+	+	–	+
D	<i>E. coli</i> QD Rif ^r + R _{3265/80}	Rif ^r CmSmTmp/Smz	–	+	+	–	+
T	<i>V. cholerae</i> 5879 Nal ^r + R _{3265/80}	Nal ^r CmSmTmp/Smz	–	+	+	–	+

Примечание. R — реципиент; D — донор; T — ТК. Маркеры устойчивости: Nal^r — к налидиксовой кислоте; Rif^r — к рифампицину; Sm — к стрептомицину; Cm — к левомицетину; Tmp/Smz — к триметоприму/сульфаметоксазолу. Гены: *int* — интегразы; *qnr* — устойчивости к фторхинолонам; *dfrA1* — устойчивости к триметоприму; *floR* — устойчивости к левомицетину; *tet* — устойчивости к тетрациклину; +/- — наличие либо отсутствие признака.

Note. R — recipient; D — donor; T — transconjugant. Markers of resistance: Nal^r — nalidixic acid; Rif^r — rifampicin; Sm — streptomycin; Cm — chloramphenicol; Tmp/Smz — trimethoprim/sulfamethoxazole. Genes: *int* — integrase; *qnr* — resistance to quinolones; *dfrA1* — resistance to trimethoprim; *floR* — resistance to chloramphenicol; *tet* — resistance to tetracycline; +/- — presence or absence of the marker.



Электрофорез по Кадо.

1 — реципиент *E. coli* QD Rif^r; 2 — реципиент *V. cholerae* 5879 NaI^r; 3 — донор *V. cholerae* O1 El Tor 3265/80; 4 — ТК *E. coli* QD Rif^r + R^{3265/80}; 5 — ТК *V. cholerae* 5879 NaI^r + R^{3265/80}; 6 — донор *V. cholerae* nonO1/nonO139 372; 7 — ТК *V. cholerae* nonO1/nonO139 372; 8 — ТК *V. cholerae* 5879 NaI^r + R³⁷²; 9 — *Y. pestis* EV.

Electrophoresis by Kado

1 — recipient *E. coli* QD Rif^r; 2 — recipient *V. cholerae* 5879 NaI^r; 3 — donor *V. cholerae* O1 El Tor 3265/80; 4 — transconjugant *E. coli* QD Rif^r + R^{3265/80}; 5 — transconjugant *V. cholerae* 5879 NaI^r + R^{3265/80}; 6 — donor *V. cholerae* nonO1/nonO139 372; 7 — transconjugant *V. cholerae* nonO1/nonO139 372; 8 — transconjugant *V. cholerae* 5879 NaI^r + R³⁷²; 9 — *Y. pestis* EV.

E. coli QD5003 Rif^r и в обратных кроссах *V. cholerae* O1 El Tor 5879 NaI^r.

Несмотря на сообщения о присутствии детерминант резистентности к тетрациклину в интегративных конъюгативных элементах клинических изолятов, выделенных после 2000 г. в разных регионах мира (Мозамбик, Бангладеш, Вьетнам, Лаос, Гаити) [21–23], у изученных штаммов не обнаружено генов устойчивости к тетрациклину.

Обсуждение

Наблюдения G.J. Varsak и соавт. [24] свидетельствуют о наличии индуцибельной реверсируемой устойчивости к тетрациклину и хлорамфениколу у *Flexibacter spp.* Известно и о наличии молчащего гена левомицетинорезистентности у *V. cholerae* El Tor [25]. В экспериментах, проведенных нами ранее, показано, что устойчивость к левомицетину и тетрациклину у холерного вибриона может не проявляться фенотипически даже при наличии в геноме генов резистентности к этим препаратам [26].

Также выявлено наличие генов устойчивости к фторхинолонам (*qnr*) в штаммах *V. cholerae* nonO1/nonO139 375 и *V. cholerae* nonO1/nonO139 117, которые не передавались ТК. В литературе описаны трансферабельные гены *qnr*, расположенные в SXT-элементе холерного вибриона [27], однако в нашем эксперименте в этих штаммах не обнаружен ген *int*, что может свидетельствовать об отсутствии SXT либо о наличии нового типа этой генетической структуры, как было показано в предыдущих исследованиях [12, 28].

Таким образом, обнаружение SXT-элемента в изученных штаммах *V. cholerae* и его успешный горизонтальный перенос подчеркивают необходимость детекции таких мобильных генетических элементов для контроля над распространением антибиотикорезистентности у *V. cholerae*.

ЛИТЕРАТУРА

- Егиазарян Л.А., Селянская Н.А., Захарова И.Б., Подшивалова М.В., Березняк Е.А., Веркина Л.М. и др. Антибиотикорезистентность холерных вибрионов Эль Тор, выделенных на территории Российской Федерации в 2006–2015 гг. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2017; 22(1): 25-30. DOI: <http://doi.org/10.18821/1560-9529-2017-22-1-25-30>
- Feglo P.K., Sewurah M. Characterization of highly virulent multidrug resistant *Vibrio cholerae* isolated from a large cholera outbreak in Ghana. *BMC Res. Notes*. 2018; 11(1): 45. DOI: <http://doi.org/10.1186/s13104-017-2923-z>
- Mala W., Faksri K., Samerpitak K., Yordpratum U., Kaewkes W., Tattawasart U., et al. Antimicrobial resistance and genetic diversity of the SXT element in *Vibrio cholerae* from clinical and environmental water samples in northeastern Thailand. *Infect. Genet. Evol.* 2017; 52: 89-95. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.meegid.2017.04.013>
- Фадеева А.В., Ерошенко Г.А., Шавина Н.Ю., Кутырев В.В. Анализ SXT констита антибиотикоустойчивого штамма *Vibrio cholerae* не O1/не O139 серогруппы. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2012; (3): 102-3.
- Никифоров К.А., Анисимова Л.В., Одиноков Г.Н., Фадеева А.В., Новичкова Л.А., Ерошенко Г.А. и др. Конструирование комплекта праймеров для детекции генов антибиотикоустойчивости у возбудителей опасных бактериальных инфекций на примере штаммов *Yersinia pestis*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2014; (3): 57-60.
- Захарова И.Б., Кузютина Ю.А., Подшивалова М.В., Замарин А.А., Топорков А.В., Викторов Д.В. Детекция и анализ интегративных конъюгативных элементов в штаммах *Vibrio spp.*, выделенных на территории Волгоградской области. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2016; 21(6): 347-51. DOI: <http://doi.org/10.18821/1560-9529-2016-21-6-347-351>
- Замарин А.А., Захарова И.Б., Подшивалова М.В., Кузютина Ю.А., Тетерятникова Н.Н., Лопастейская Я.А. и др. Характеристика интегративных конъюгативных элементов штаммов нехолерных вибрионов, выделенных на территории Волгоградской области. *Вестник Волгоградского государственного медицинского университета*. 2016; (2): 104-6.
- Заднова С.П., Смирнова Н.И. Выявление генов антибиотикоустойчивости в штаммах *Vibrio cholerae* O1 и O139 серогрупп. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2015; (3): 3-10.
- Водопьянов С.О., Водопьянов А.С., Олейников И.П., Титова С.В. Распространенность ICE элементов различных типов у *V. cholerae*. *Здоровье населения и среда обитания*. 2018; (1): 33-5. DOI: <http://doi.org/10.35627/2219-5238/2018-298-1-33-35>
- Verma J., Bag S., Saha B., Kumar P., Ghosh T.S., Dayal M., et al. Genomic plasticity associated with antimicrobial resistance in *Vibrio cholerae*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2019; 116(13): 6226-31. DOI: <http://doi.org/10.1073/pnas.1900141116>
- МУК 4.2.2495-09. Определение чувствительности возбудителей опасных бактериальных инфекций (чума, сибирская язва, холера, туляремия, бруцеллез, сеп, мелиоидоз) к антибактериальным препаратам. М.; 2009.
- Водопьянов А.С., Водопьянов С.О., Олейников И.П., Мишанькин Б.Н., Кругликов В.Д., Архангельская И.В. и др.

- INDEL- и VNTR-типирование штаммов *Vibrio cholerae*, выделенных в 2013 году из объектов окружающей среды на территории Российской Федерации. *Здоровье населения и среда обитания*. 2015; (5): 41-4.
13. Spagnoletti M., Ceccarelli D., Colombo M.M. Rapid detection by multiplex PCR of Genomic Islands, prophages and Integrative Conjugative Elements in *V. cholerae* 7th pandemic variants. *J. Microbiol. Methods*. 2012; 88(1): 98-102. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.mimet.2011.10.017>
14. Крицкий А.А., Челдышова Л.Б., Заднова С.П., Плеханов Н.А., Смирнова Н.И. Способ одновременного выявления штаммов *Vibrio cholerae* и определения в их геноме генов лекарственной устойчивости с помощью ПЦР в режиме реального времени. *Биотехнология*. 2018; 34(2): 70-9. DOI: <http://doi.org/10.21519/0234-2758-2018-34-2-70-79>
15. Kado C.I., Liu S.T. Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids. *J. Bacteriol.* 1981; 145(3): 1365-73.
16. Martínez-Puchol S., Gomes C., Pons M.J., Ruiz-Roldán L., Torrents de la Peña A., Ochoa T.J., et al. Development and analysis of furazolidone-resistant *Escherichia coli* mutants. *APMIS*. 2015; 123(8): 676-81. DOI: <http://doi.org/10.1111/apm.12401>
17. Marin M.A., Thompson S.C., Freitas F.S., Fonseca E.L., Aboaderin A.O., Zailani S.B., et al. Cholera outbreaks in Nigeria are associated with multidrug resistant atypical El Tor and non-O1/non-O139 *Vibrio cholerae*. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2013; 7(2): e2049. DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002049>
18. Sarkar A., Morita D., Ghosh A., Chowdhury G., Mukhopadhyay A.K., Okamoto K., et al. Altered integrative and conjugative elements (ICEs) in recent *Vibrio cholerae* O1 isolated from cholera cases, Kolkata, India. *Front. Microbiol.* 2019; 10: 2072. DOI: <http://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02072>
19. Petroni A., Corso A., Melano R., Cacace M.L., Bru A.M., Rossi A., et al. Plasmidic extended-spectrum beta-lactamases in *Vibrio cholerae* O1 El Tor isolates in Argentina. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2002; 46(5): 1462-8. DOI: <http://doi.org/10.1128/aac.46.5.1462-1468.2002>
20. Sarkar A., Pazhan G.P., Chowdhury G., Ghosh A., Ramamurthy T. Attributes of carbapenemase encoding conjugative plasmid pNDM-SAL from an extensively drug-resistant *Salmonella enterica* serovar Senftenberg. *Front. Microbiol.* 2015; 6: 969. DOI: <http://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00969>
21. Dalsgaard A., Forslund A., Sandvang D., Arntzen L., Keddy K. *Vibrio cholerae* O1 outbreak isolates in Mozambique and South Africa in 1998 are multiple-drug resistant, contain the SXT element and the aadA2 gene located on class 1 integrons. *J. Antimicrob. Chemother.* 2001; 48(6): 827-38. DOI: <http://doi.org/10.1093/jac/48.6.827>
22. Shah M.R., Nur A.H., Alam M., Sadique A., Sultana M., Hoq M.M., et al. *Vibrio cholerae* O1 with reduced susceptibility to ciprofloxacin and azithromycin isolated from a rural coastal area of Bangladesh. *Front. Microbiol.* 2017; 8: 252. DOI: <http://doi.org/10.3389/fmicb.2017>
23. Ehara M., Nguyen B.M., Nguyen D.T., Toma C., Higa N., Iwanaga M. Drug susceptibility and its genetic basis in epidemic *Vibrio cholerae* O1 in Vietnam. *Epidemiol. Infect.* 2004; 132(4): 595-600. DOI: <http://doi.org/10.1017/s0950268804002596>
24. Barcak G.J., Barchard R.P. Induction of chloramphenicol and tetracycline resistance in *Flexibacter sp.* strain FS-1. *J. Bacteriol.* 1985; 161(2): 810-2.
25. Rowe-Magnus P.A., Guerout A.M., Mazel D. Bacterial resistance evolution by recruitment of super-integron gene cassettes. *Mol. Microbiol.* 2002; 43(6): 1657-69. DOI: <http://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2002.02861.x>
26. Селянская Н.А., Рыжко И.В., Веркина Л.М., Тришина А.В., Миронова А.В. Индукция *in vitro* трансмиссивной устойчивости к тетрациклину, левомицетину и ампициллину у культур *Vibrio cholerae* неO1/неO139 серогрупп, выделенных в 1990–2005 гг. *Антибиотики и химиотерапия*. 2011; 56(7-8): 16-21.
27. Kim H.B., Wang M., Ahmed S., Park C.H., LaRocque R.C., Faruque A.S., et al. Transferable Quinolone Resistance in *Vibrio cholerae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2010; 54(2): 799-803. DOI: <http://doi.org/10.1128/AAC.01045-09>
28. Ceccarelli D., Spagnoletti M., Hasan N.A., Lansingd S., Huqa A., Colwell R.R. A new integrative conjugative element detected in Haitian isolates of *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139. *Res. Microbiol.* 2013; 164(9): 891-3. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.resmic.2013.08.004>

REFERENCES

1. Egiazaryan L.A., Selyanskaya N.A., Zakharova I.B., Podshivalova M.V., Bereznyak E.A., Verkina L.M., et al. Antibiotic resistance of *Vibrio cholerae* O1 El Tor isolated on the territory of the Russian Federation in 2006–2015. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni*. 2017; 22(1): 25-30. DOI: <http://doi.org/10.18821/1560-9529-2017-22-1-25-30> (in Russian)
2. Feglo P.K., Sewurah M. Characterization of highly virulent multidrug resistant *Vibrio cholerae* isolated from a large cholera outbreak in Ghana. *BMC Res. Notes*. 2018; 11(1): 45. DOI: <http://doi.org/10.1186/s13104-017-2923-z>
3. Mala W., Faksri K., Samerpitak K., Yordpratum U., Kaewkes W., Tattawasart U., et al. Antimicrobial resistance and genetic diversity of the SXT element in *Vibrio cholerae* from clinical and environmental water samples in northeastern Thailand. *Infect. Genet. Evol.* 2017; 52: 89-95. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.meegid.2017.04.013>
4. Fadeeva A.V., Eroshenko G.A., Shavina N.Yu., Kutryev V.V. Analysis of the SXT constin of antibiotic-sensitive *Vibrio cholerae* strain of Non-O1/ Non-O139 serogroup. *Problemy osobo opasnykh infektsiy*. 2012; (3): 102-3. (in Russian)
5. Nikiforov K.A., Anisimova L.V., Odinokov G.N., Fadeeva A.V., Novichkova L.A., Eroshenko G.A., et al. Development of a set of primers for drug-resistance genes detection in the agents of dangerous bacterial infections as exemplified by *Yersinia pestis*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli* strains. *Problemy osobo opasnykh infektsiy*. 2014; (3): 57-60. (in Russian)
6. Zakharova I.B., Kuzyutina Yu.A., Podshivalova M.V., Zamarin A.A., Toporkov A.V., Viktorov D.V. Detection and analysis of integrative conjugative elements in *Vibrio spp.* strains, isolated in the Volgograd region. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni*. 2016; 21(6): 347-51. DOI: <http://doi.org/10.18821/1560-9529-2016-21-6-347-351> (in Russian)
7. Zamarin A.A., Zakharova I.B., Podshivalova M.V., Kuzyutina Yu.A., Teteryatnikova N.N., Lopasteyskaya Ya.A., et al. Characteristics of integrative conjugative elements of non-cholerae *Vibrio* strains in the Volgograd region. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta*. 2016; (2): 104-6. (in Russian)
8. Zadnova S.P., Smirnova N.I. Isolation of antibiotics resistance genes in *Vibrio cholerae* O1 and O139 serogroup strains. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2015; (3): 3-10. (in Russian)
9. Vodop'yanov S.O., Vodop'yanov A.S., Oleynikov I.P., Titova S.V. Prevalence of ICE elements of different types in *V. cholerae*. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya*. 2018; (1): 33-5. DOI: <http://doi.org/10.35627/2219-5238/2018-298-1-33-35> (in Russian)
10. Verma J., Bag S., Saha B., Kumar P., Ghosh T.S., Dayal M., et al. Genomic plasticity associated with antimicrobial resistance in *Vibrio cholerae*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2019; 116(13): 6226-31. DOI: <http://doi.org/10.1073/pnas.1900141116>
11. Guidelines MU 4.2.2495-09. Identification of the pathogens of dangerous bacterial infections (plague, anthrax, cholera, tularemia, brucellosis, glanders, melioidosis) to antibacterial medicines. Moscow; 2009. (in Russian)

12. Vodop'yanov A.S., Vodop'yanov S.O., Oleynikov I.P., Mishan'kin B.N., Arkhangel'skaya I.V., et al. INDEL- и VNTR-typing *Vibrio cholerae* strains, isolated in 2013 from the environment objects in the Russian Federation. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya*. 2015; (5): 41-4. (in Russian)
13. Spagnoletti M., Ceccarelli D., Colombo M.M. Rapid detection by multiplex PCR of Genomic Islands, prophages and Integrative Conjugative Elements in *V. cholerae* 7th pandemic variants. *J. Microbiol. Methods*. 2012; 88(1): 98-102. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.mimet.2011.10.017>
14. Kritskiy A.A., Cheldyshova L.B., Zadnova S.P., Plekhanov N.A., Smirnova N.I. A method for simultaneous detection of *Vibrio cholerae* strains and drug resistance genes in their genome by means of real-time PCR. *Biotekhnologiya*. 2018; 34(2): 70-9. DOI: <http://doi.org/10.21519/0234-2758-2018-34-2-70-79> (in Russian)
15. Kado C.I., Liu S.T. Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids. *J. Bacteriol.* 1981; 145(3): 1365-73.
16. Martínez-Puchol S., Gomes C., Pons M.J., Ruiz-Roldán L., Torrents de la Peña A., Ochoa T.J., et al. Development and analysis of furazolidone-resistant *Escherichia coli* mutants. *APMIS*. 2015; 123(8): 676-81. DOI: <http://doi.org/10.1111/apm.12401>
17. Marin M.A., Thompson C.C., Freitas F.S., Fonseca E.L., Aboderin A.O., Zailani S.B., et al. Cholera outbreaks in Nigeria are associated with multidrug resistant atypical El Tor and non-O1/non-O139 *Vibrio cholerae*. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2013; 7(2): e2049. DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002049>
18. Sarkar A., Morita D., Ghosh A., Chowdhury G., Mukhopadhyay A.K., Okamoto K., et al. Altered integrative and conjugative elements (ICEs) in recent *Vibrio cholerae* O1 isolated from cholera cases, Kolkata, India. *Front. Microbiol.* 2019; 10: 2072. DOI: <http://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02072>
19. Petroni A., Corso A., Melano R., Cacace M.L., Bru A.M., Rossi A., et al. Plasmidic extended-spectrum beta-lactamases in *Vibrio cholerae* O1 El Tor isolates in Argentina. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2002; 46(5): 1462-8. DOI: <http://doi.org/10.1128/aac.46.5.1462-1468.2002>
20. Sarkar A., Pazhan G.P., Chowdhury G., Ghosh A., Ramamurthy T. Attributes of carbapenemase encoding conjugative plasmid pNDM-SAL from an extensively drug-resistant *Salmonella enterica* serovar Senftenberg. *Front. Microbiol.* 2015; 6: 969. DOI: <http://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00969>
21. Dalsgaard A., Forslund A., Sandvang D., Arntzen L., Keddy K. *Vibrio cholerae* O1 outbreak isolates in Mozambique and South Africa in 1998 are multiple-drug resistant, contain the SXT element and the aadA2 gene located on class 1 integrons. *J. Antimicrob. Chemother.* 2001; 48(6): 827-38. DOI: <http://doi.org/10.1093/jac/48.6.827>
22. Shah M.R., Nur A.H., Alam M., Sadique A., Sultana M., Hoq M.M., et al. *Vibrio cholerae* O1 with reduced susceptibility to ciprofloxacin and azithromycin isolated from a rural coastal area of Bangladesh. *Front. Microbiol.* 2017; 8: 252. DOI: <http://doi.org/10.3389/fmicb.2017>
23. Ehara M., Nguyen B.M., Nguyen D.T., Toma C., Higa N., Iwanaga M. Drug susceptibility and its genetic basis in epidemic *Vibrio cholerae* O1 in Vietnam. *Epidemiol. Infect.* 2004; 132(4): 595-600. DOI: <http://doi.org/10.1017/s0950268804002596>
24. Barcak G.J., Barchard R.P. Induction of chloramphenicol and tetracycline resistance in *Flexibacter sp.* strain FS-1. *J. Bacteriol.* 1985; 161(2): 810-2.
25. Rowe-Magnus P.A., Guerout A.M., Mazel D. Bacterial resistance evolution by recruitment of super-integron gene cassettes. *Mol. Microbiol.* 2002; 43(6): 1657-69. DOI: <http://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2002.02861.x>
26. Selyanskaya N.A., Ryzhko I.V., Verkina L.M., Trishina A.V., Mironova A.V. *In vitro* induction of transmissible resistance to tetracycline, chloramphenicol and ampicillin in *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 serogroups isolated within 1990-2005. *Antibiotiki i khimioterapiya*. 2011; 56(7-8): 16-21. (in Russian)
27. Kim H.B., Wang M., Ahmed S., Park C.H., LaRocque R.C., Faruque A.S., et al. Transferable Quinolone Resistance in *Vibrio cholerae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2010; 54(2): 799-803. DOI: <http://doi.org/10.1128/AAC.01045-09>
28. Ceccarelli D., Spagnoletti M., Hasan N.A., Lansing S., Huqa A., Colwell R.R. A new integrative conjugative element detected in Haitian isolates of *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139. *Res. Microbiol.* 2013; 164(9): 891-3. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.resmic.2013.08.004>

Информация об авторах:

Селянская Надежда Александровна[✉] — к.м.н., с.н.с., и.о. зав. лаб. экспериментально-биологических моделей ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт», 344002, Ростов-на-Дону, Россия.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0008-4705>.
E-mail: ppdn@inbox.ru

Водопьянов Сергей Олегович — д.м.н., в.н.с., и.о. зав. лаб. биохимии микробов ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт», 344002, Ростов-на-Дону, Россия.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4336-0439>.
E-mail: serge100v@gmail.com

Рыкова Виолетта Александровна — к.б.н., с.н.с. лаб. микробиологии чумы ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт», 344002, Ростов-на-Дону, Россия.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3484-5100>.
E-mail: allet777@yandex.ru

Соколова Елена Петровна — к.б.н., с.н.с. лаб. эпидемиологии особо опасных инфекций ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт», 344002, Ростов-на-Дону, Россия.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3973-6392>.
E-mail: sokolova64@list.ru

Участие авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Information about the authors:

Nadejda A. Selyanskaya[✉] — PhD (Med.), senior researcher, Deputy head, Department of experimental biology models, Rostov-on-Don Research Institute for Plague Control, 344019, Rostov-on-Don, Russia. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0008-4705>.
E-mail: ppdn@inbox.ru

Sergey O. Vodop'yanov — D. Sci. (Med.), leading researcher, Deputy head, Department of microbial chemistry, Rostov-on-Don Research Institute for Plague Control, 344019, Rostov-on-Don, Russia. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4336-0439>.
E-mail: serge100v@gmail.com

Violetta A. Rykova — PhD (Biol.), senior researcher, Department of microbiology of the plague, Rostov-on-Don Research Institute for Plague Control, 344019, Rostov-on-Don, Russia. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3484-5100>.
E-mail: allet777@yandex.ru

Elena P. Sokolova — PhD (Biol.), senior researcher, Department of epidemiology of especially targeted infections, Rostov-on-Don Research Institute for Plague Control, 344019, Rostov-on-Don, Russia. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3973-6392>.
E-mail: sokolova64@list.ru

Contribution: the authors contributed equally to this article.