

Г.Г.Онищенко<sup>1</sup>, Э.А.Москвитина<sup>2</sup>, А.С.Водопьянов<sup>2</sup>, Е.В.Монахова<sup>2</sup>, Р.В.Писанов<sup>2</sup>, С.О.Водопьянов<sup>2</sup>,  
О.С.Чемисова<sup>2</sup>, В.Д.Кругликов<sup>2</sup>, С.В.Титова<sup>2</sup>

## РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ МОЛЕКУЛЯРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЭПИДЕМИИ ХОЛЕРЫ В РЕСПУБЛИКЕ ДАГЕСТАН В 1994 г.

<sup>1</sup>Российская академия наук, Москва, Российская Федерация; <sup>2</sup>ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт», Ростов-на-Дону, Российская Федерация

**Цель исследования.** Ретроспективная оценка эпидемических проявлений холеры в Республике Дагестан в 1994 г. с учетом VNTR-генотипирования и исследования особенностей генома выделенных *V. cholerae* O1 биовара El Tor. **Материалы и методы.** Использованы данные о распространении инфекции в различные периоды эпидемии в Республике Дагестан в 1994 г. Штаммы исследованы с использованием VNTR-анализа и полногеномного секвенирования. **Результаты и выводы.** Установлена гетерогенность популяции возбудителя по циркулирующим VNTR-генотипам. По данным полногеномного секвенирования выявлено наличие у *V. cholerae* O1 El Tor в профаге CTXφ аллели В-субъединицы *ctxB1*. Штаммы, выделенные на первом и последующих этапах развития эпидемии, оказались генетически близкородственными штаммам из Индии, Бангладеш и Непала. У части штаммов выявлен кластер генов множественной антибиотикорезистентности SXT<sup>ET</sup>: *floR*, *strA*, *strB*, *sul2* – «индийского» типа – SXT-ICE-Ind, а также мобильные элементы ICE, содержащие детерминанты резистентности к антибиотикам тетрациклиновой группы – *tetA*. Филогенетическое родство дагестанских штаммов со штаммами из Азии указывает на происхождение штаммов, а также на имевшие место независимые завозы холеры на разных этапах эпидемии. Роль генетически измененных вариантов *V. cholerae* O1 El Tor с выявленными на молекулярно-генетическом уровне особенностями возбудителя как системообразующего фактора в возникновении и развитии эпидемии в Республике Дагестан была непосредственно связана с социальными условиями.

**Ключевые слова:** холера, завозы, миграция, *V. cholerae* O1 El Tor, VNTR-генотипирование, полногеномное секвенирование, мобильные элементы ICE.

Корреспондирующий автор: Эльза Афанасьевна Москвитина, e-mail: plague@aaanet.ru.

G.G.Onishchenko<sup>1</sup>, E.A.Moskvitina<sup>2</sup>, A.S.Vodop'janov<sup>2</sup>, E.V.Monakhova<sup>2</sup>, R.V.Pisanov<sup>2</sup>,  
S.O.Vodop'janov<sup>2</sup>, O.S.Chemisova<sup>2</sup>, V.D.Kruglikov<sup>2</sup>, S.V.Titova<sup>2</sup>

## Retrospective Molecular-Epidemiological Analysis of Cholera Epidemic in the Republic of Dagestan in 1994

<sup>1</sup>Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation; <sup>2</sup>Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don, Russian Federation

**Objective** of the study is the retrospective evaluation of epidemic cholera manifestations in the Republic of Dagestan in 1994, taking into account VNTR-typing and studies of genome peculiarities in the isolated *V. cholerae* O1, Biovar El Tor. **Materials and methods.** Utilized have been the data on the infection rates in different periods of the epidemic. The strains have been investigated using VNTR-analysis and whole genome sequencing. **Results and conclusions.** Heterogeneity of the agent population has been established on the basis of the circulating VNTR-genotypes. The whole-genome sequencing has revealed the presence of B-subunit allele *ctxB1* in CTXφ prophage of El Tor *V. cholerae* O1 strains. The strains isolated in the early and the following stages of epidemic development have been found to be closely related to strains from India, Bangladesh, and Nepal. Some strains possessed a cluster of multiple antibiotic resistance genes, SXT<sup>ET</sup>: *floR*, *strA*, *strB*, *sul2* – of “Indian” type – SXT-ICE-Ind, as well as ICE mobile elements, containing determinants of resistance to antibiotics of tetracycline group – *tetA*. Phylogenetic relatedness of the Dagestan strains to the strains from Asia indicates to the origin of the strains, as well as to the independent cholera importations that took place at different stages of the epidemic. The role of genetically altered *V. cholerae* O1 El Tor variants with identified peculiarities on molecular-genetic level, as a system-forming factor in the emergence and development of epidemic in the Dagestan Republic, was directly linked to the social conditions.

**Key words:** cholera, importation, migration, *V. cholerae* O1 El Tor, VNTR-genotyping, whole-genome sequencing, ICE mobile elements.

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

Corresponding author: Elza A. Moskvitina, e-mail: plague@aaanet.ru.

Citation: Onishchenko G.G., Moskvitina E.A., Vodop'janov A.S., Monakhova E.V., Pisanov R.V., Vodop'janov S.O., Chemisova O.S., Kruglikov V.D., Titova S.V. Retrospective Molecular-Epidemiological Analysis of Cholera Epidemic in the Republic of Dagestan in 1994. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016; 4:33–41. (In Russ.). DOI: 10.21055/0370-1069-2016-4-33-41

История всех пандемий холеры в России, в том числе 7-й, обусловлена заносами инфекции в основном из стран Азии. При этом многочисленные случаи заноса и распространения холеры свя-

заны с различными видами меж- и внутригосударственной миграции населения [13]. Это правомерно можно отнести к событиям по холере в Республике Дагестан в 1994 г. [6]. Особенности небывалой по

масштабам эпидемии холеры, достижения в области молекулярно-генетических исследований холерного вибриона к настоящему времени явились основанием для ретроспективного эпидемиологического анализа эпидемических проявлений холеры в Республике Дагестан с учетом изучения генетических аспектов возбудителя.

События по холере в регионе Карибского бассейна, в Гаити, вошедшие в историю современного пандемического распространения холеры, обусловлены геновариантом холерных вибрионов O1 биовара Эль Тор, близкородственных штаммам из Бангладеш 2002 г. (GIRS-101) и 2008 г. (M4). Установлено наличие в профаге CTXφ гена *ctxB<sup>Class</sup>*, кодирующего В-субъединицу холерного токсина вибриона классического биовара, способного вызывать более тяжелое клиническое течение со смертельными исходами в первые часы после появления клинических признаков, присутствие в геноме гаитянских штаммов и холерных вибрионов из Южной Азии островов пандемичности VSP-I и VSP-II, обеспечивающих высокий уровень адаптации к условиям окружающей среды, их пандемический потенциал, а также присутствие SXT-генетического элемента, несущего гены антибиотикорезистентности [16, 29].

Это, в свою очередь, явилось стимулом и основанием для исследований штаммов холерных вибрионов, хранившихся в национальных коллекциях многих стран мира. Необходимо отметить, что сведения о генетически измененных (содержащих аллель *ctxB<sup>Class</sup>*) вариантах *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, появившиеся впервые в 2002 г., к настоящему времени значительно расширились в плане изучения структуры генома, функций генов, филогеномики штаммов [18, 19, 20, 21, 24, 26, 28]. Генотипы штаммов *V. cholerae* O1, несущих классический аллель *ctxB-1*, обнаруженные в Индии, распространились в другие страны Азии и в Африку, а имеющие классический аллель *ctxB-7* – в страны Азии, Африки и на Американский континент. Это позволило сделать вывод, что штаммы *V. cholerae* O1 Эль Тор, имеющие классический аллель *ctxB*, распространяются в глобальном масштабе [31].

К настоящему времени установлено, что вспышки или импортируемые случаи холеры, обусловленные измененными вариантами *V. cholerae* O1 El Tor, имели место с 1991 г. в странах Азии: Индии, Бангладеш, Мьянме, Таиланде, Шри-Ланке, Малайзии, Вьетнаме, Китае, Гонконге, Японии, Кувейте, Непале, Узбекистане; Африки: Алжире, Марокко, Гвинее, Замбии, Занзибаре, Анголе, Мозамбике и других странах Восточного, Западного, Центрального и Южного регионов; Европы: Румынии, Украине и России [5, 11, 12, 14, 15, 17, 22, 27, 30].

Безусловный научный интерес представляет изучение выделенных в Республике Дагестан холерных вибрионов, их фенотипических и генотипических свойств с исследованием структуры генома и функ-

ций основных генов, ответственных за эпидемический и пандемический потенциал патогена. При анализе эпидемического процесса, учитывая продолжительность эпидемии во времени, большое значение для эпидемиологической диагностики имеет генотипирование штаммов, выделенных на разных этапах эпидемии.

Целью исследования явилась ретроспективная оценка эпидемических проявлений холеры в Республике Дагестан в 1994 г. с учетом VNTR-генотипирования и исследования особенностей генома выделенных *V. cholerae* O1 биовара El Tor.

## Материалы и методы

Для эпидемиологического анализа использованы данные, собранные и систематизированные во время эпидемии холеры в 1994 г., в том числе опубликованные [6], о распространении инфекции в различные периоды эпидемии по административным районам и городам Республики Дагестан с учетом действующих путей и факторов передачи возбудителя инфекции, социальных условий, способствующих распространению холеры.

Из двухсот двух паспортов на штаммы *V. cholerae* серогруппы O1 биовара El Tor, выделенных от больных холерой (199 паспортов) и из объектов окружающей среды (3) на разных этапах эпидемии в Республике Дагестан (1994 г.), отобрано сорок семь штаммов, выделенных из клинического материала. В исследование взяты также один штамм *V. cholerae* серогруппы O1 биовара El Tor, выделенный из клинического материала от больного в Чеченской Республике, Гудермесском районе (1994 г.), и два штамма *V. cholerae* серогруппы O1 биовара El Tor, изолированные от больных во время вспышки холеры в Казани (Республика Татарстан, 2001 г.). Штаммы получены из Музея живых культур с Центром патогенных для человека вибрионов ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, где хранились в лиофилизированном состоянии. Для культивирования бактерий применяли бульон и агар Мартена (pH 7,6–7,8). Подготовка образцов для масс-спектрометрии проводилась в соответствии с [4], анализ профиля референсных белков микробной клетки – с использованием программного обеспечения MALDI Biotyper 3.0. Для амплификации гена *ctxB* профага CTXφ использовали коммерческий набор реагентов фирмы АмплиСенс (Москва). Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) и VNTR-анализ по пяти локусам переменных tandemных повторов VcA, VcB, VcC, VcD и VcG проводили по методике [2].

Полногеномное секвенирование штаммов выполнялось на платформе MiSeq (Illumina). Пробоподготовка проводилась согласно протоколу производителей. Сборку контигов осуществляли с помощью программ Velvet (входит в состав программного обеспечения MiSeq) и ContigExpress (в

составе Vector NTI Suite 11). Биоинформационный анализ проводили с помощью программ BLASTN 2.2.29 (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>), Vector NTI Suite 11 ([www.informax.com](http://www.informax.com)), Contiguator v.2 (<http://contiguator.sourceforge.net>), с использованием ресурсов геномной базы данных NCBI. Построение дендрограмм на основе распределения единичных нуклеотидных замен и значимых для дискриминации генов проводили с использованием программ GeneExpert, GeneGraph, SeqAnalyzer, разработанных в Ростовском-на-Дону противочумном институте.

Кластерный анализ и построение дендрограмм осуществляли с использованием авторского программного обеспечения, встроенного в геоинформационную систему «Холера. Штаммы – VNTR» [3]. Для сравнения использованы полногеномные сиквенсы штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, представленные в базах NCBI GenBank. Номера доступа нуклеотидных последовательностей геномных островов, генов и их кластеров, полученных в рамках настоящего исследования, в GenBank: KT779270-KT779274 (коровая область профага CTX); KU601749, KU601750 (rtxA); KT970467 (остров патогенности VPI); KU601747, KU601748 (остров пандемичности VSP-II). Все работы, связанные со штаммами *V. cholerae*, проводили в соответствии с санитарными правилами [1].

### Результаты и обсуждение

За период 7-й пандемии в России самая интенсивная и широкомасштабная эпидемия холеры имела место в Республике Дагестан в 1994 г., когда было зарегистрировано 2359 больных и вибрионосителей в 187 населенных пунктах 27 районов и 8 городах. Эпидемия была обусловлена *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор серовара Огава [6].

По фенотипическим и таксономическим признакам взятые в настоящее исследование 50 штаммов отнесены к биовару Эль Тор, O1 серогруппе, серовару Огава, были резистентны к холерным диагностическим Эль Тор и классическому фагам. Изменчивость по агглютинабельности отсутствовала. Штаммы не лизировали эритроциты барана, образовывали ацетилметилкарбинол из глюкозы в реакции Фогеса-Проскауэра. Все штаммы были отнесены к генетически измененным вариантам *V. cholerae* O1 биовара El Tor за счет наличия у них гена stxB1, кодирующего В-субъединицу холерного токсина классического биовара.

**Масс-спектрометрический анализ.** В результате анализа белковых спектров штаммы *V. cholerae* с использованием программного обеспечения MALDI Biotyper 3.0. разделились на три кластера, что свидетельствовало о гетерогенности популяции.

**Эпидемиологический анализ и молекулярно-генетический VNTR-анализ *V. cholerae*.** Следует отметить, что ранее при анализе этапов совершенствования системы эпидемиологического надзора за хо-

лерой в России, в частности, с учетом характеристики выделенных в 21 субъекте России 326 штаммов *V. cholerae* El Tor O1 и *V. cholerae* O139 серогрупп от больных холерой, вибрионосителей и из объектов окружающей среды (1990–2014 гг.), показано с использованием VNTR-генотипирования преобладание эпидемически значимых *V. cholerae* O1, содержащих гены холерного токсина stxA и токсинорегулируемых пилей tcpA штаммов *V. cholerae* O1, ответственных за эпидемию 1994 г. в Республике Дагестан [9]. Проведенный VNTR-анализ 50 штаммов позволил выявить 22 генотипа, а кластерный анализ – сгруппировать их в 10 кластеров, обозначенных буквами латинского алфавита от «А» до «I». Два штамма, выделенные в Казани во время вспышки холеры в 2001 г., дискриминировались от остальных и составили отдельный кластер А, как и VNTR-генотипы штаммов холерных вибрионов из Дагестана, вошедших в кластер I (рис. 1).

При сопоставлении данных эпидемиологического анализа о возникновении трех независимых очагов, связанных с завозом холеры паломниками, с VNTR-генотипами штаммов установлено следующее. Первые, самостоятельно возникшие очаги в июне 1994 г. в с. Герга Каякентского района (штамм – № 16228-РД, генотип – С4) и г. Кизилюрте Кизилюртовского района (штаммы – № 6251а-РД и 6251б-РД, генотипы – С1 и С2) были обусловлены штаммами *V. cholerae* O1 из кластера С, но разными генотипами, доминирующими в течение эпидемии во времени (с июня по сентябрь) и по различным административным территориям, а также из кластера D (штаммы – № 16248-РД и 6250-РД, генотип – D2, с. Кикунь и с. Гергебиль Гергебельского района соответственно). В кластер С вошел штамм *V. cholerae* O1 № 17283-ЧР, генотипа – С2 от больного из Чеченской Республики, Гудермесского района. В этом очаге холера возникла хронологически вслед за регистра-

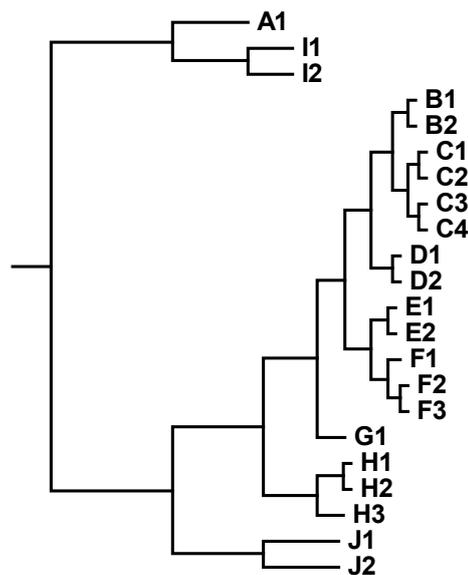


Рис. 1. Дендрограмма, построенная по результатам кластерного анализа на основе распределения аллелей VNTR-локусов

цией эпидосложнений в Хасавюртовском районе Дагестана [7]. Данные VNTR-генотипирования подтверждают имевшие место заносы холеры в Чеченскую Республику.

Значительное число штаммов из кластера F, выделенных в разные периоды эпидемии (август–октябрь), выявление ранее не встречавшихся генотипов из кластеров I1, I2 (июль) и B2 (сентябрь) в первом из возникших очагов (Каякентский район); геновариантов B1; J1, J2; H1-H3; E1-E2 (июль–сентябрь) – в других очагах свидетельствовало о гетерогенности популяции возбудителя по циркулирующим VNTR-генотипам, широком географическом распространении холеры в пределах республики с формированием множественных очагов.

Если рассматривать *V. cholerae* El Tor как системообразующий фактор в возникновении и развитии эпидемического процесса, то наряду с выявленными особенностями возбудителя на молекулярно-генетическом уровне необходимо отметить, что основную роль имели социальные факторы как косвенные регуляторы эпидемического процесса. Здесь мы имеем в виду значение межгосударственной миграции населения, в частности паломников, возвращающихся с Хаджа по пути следования через Иорданию-Сирию-Турцию-Иран-Азербайджан в июне–июле 1994 г., в завозе холеры, формировании первичных самостоятельных очагов и дальнейшем продвижении инфекции по путям внутренней миграции населения в регионе. Это было обусловлено социальными факторами, национальными традициями и обычаями населения, что сопровождалось активизацией механизма передачи возбудителя инфекции с реализацией преимущественно пищевого и контактного путей передачи при ритуальных обрядах [6].

*Полногеномное секвенирование – GeneExpert и эпидемиологический анализ.* С целью установления возможного происхождения штаммов, вызвавших эпидемические осложнения в Республике Дагестан, было проведено полногеномное секвенирование штаммов, которое предусматривало также выявление в их геноме особенностей, характерных для геновариантов холерных вибрионов, обладающих повышенным эпидемическим потенциалом. В исследование взяты штаммы из разных VNTR-кластеров: *V. cholerae* с генотипами C4 (№ 16228-РД), F3 (№ 17261-РД), I1 (№ 17296-РД) и A1 (штамм № 18329-К). Дополнительно включен в анализ штамм № 17290-РД, полногеномное секвенирование которого проведено ранее.

При изучении особенностей генома *V. cholerae* с помощью авторской программы SeqAnalyzer выявлено наличие генов *rtxC* (при отсутствии *cas3 V. cholerae cholerae*) и *wbe*, определяющих принадлежность к биовару Эль Тор, серогруппе O1 соответственно. В полногеномных сиквенсах идентифицированы и охарактеризованы несколько генов и участков генома, наиболее значимых для определения эпидемического потенциала исследуемых

штаммов. В частности, были определены последовательности коровой области генома профагов СТХφ (гены *cep*, *orfU*, *ace*, *zot*, *ctxAB*), которые оказались идентичными у четырех дагестанских и одного казанского штамма. При этом ген *ctxB* относился к классическому типу B1, поскольку имел 2 нуклеотидных замены тимина на цитозин (Т/С) в позициях 115 и 203. Промоторная область *ctxAB*-оперона содержала 4 гептануклеотидных повтора TTTTGAT, что характерно для большинства штаммов биовара Эль Тор. Что касается гена *rstR*, то у всех штаммов выявлен аллель *rstR<sup>El</sup>*. Однако при анализе полногеномных сиквенсов у штаммов № 16228-РД, 17261-РД и 17290-РД (в отличие от сиквенсов у штаммов № 17296-РД и 18239-К) в других контигах также обнаружен *rstR<sup>Class</sup>*, что указывает на присутствие в геномах этих штаммов второго профага – СТХφ<sup>Class</sup> либо RS1<sup>Class</sup>. Таким образом, выявленные профаги СТХ оказались «гибридными», что свидетельствовало об изменчивости генома профага СТХ у возбудителя холеры, обусловившего эпидемические проявления инфекции в 1994 г. Такие генетически измененные штаммы *V. cholerae* считаются более вирулентными по сравнению с типичными холерными вибрионами биовара Эль Тор [16, 20].

Ген *rtxA*, кодирующий высокомолекулярный цитотоксин MARTX, не содержал null-мутации в позиции 13602, характерной для геновариантов, упоминаемых в работах J.Dolores, K.J.F.Sachell [18], P.B.Писанова и соавт. [10], т.е. его продукт сохранил, по-видимому, функциональное состояние. Штаммы содержали интактные острова патогенности VPI и пандемичности VSP-II, идентичные типовому штамму N16961.

Заслуживают внимания данные о присутствии в геноме исследуемых клинических штаммов Эль Тор генетического элемента SXT<sup>El</sup>. Выявлен кластер генов множественной антибиотикорезистентности у штаммов № 16228-РД, 17290-РД и 17296-РД: *floR* (устойчивость к хлорамфениколу), *strA* (устойчивость к аминогликозидам), *strB* (компонент устойчивости к стрептомицину), *sul2* (устойчивость к сульфаметоксазолу). Данный кластер генов (интегративный конъюгативный элемент «индийского» типа SXT-ICE-Ind) является типичным для эпидемических штаммов, выделенных в Бангладеш, Индии в 1990-е годы. Вместе с тем у штаммов № 17261-РД и 18329-К SXT-элемент отсутствовал, что с учетом данных о преимущественном выделении штаммов, лишенных SXT, из водных источников [21, 23] может подтверждать имевшую место реализацию соответствующего пути распространения возбудителя инфекции во время эпидемии холеры в Республике Дагестан [6] и вспышки в Казани, обусловленной идентичными клиническими штаммами и штаммами из объектов окружающей среды [8].

Особую значимость имеют данные об обнаружении/отсутствии у исследуемых штаммов мобильных генетических элементов ICE, в частности,

гена резистентности к антибиотикам тетрациклиновой группы – *tetA* (рис. 2). С помощью программы GeneGraph была построена дендрограмма и проведен анализ, позволивший установить наличие у штамма № 16228-РД гена *tetA<sup>R</sup>* (мозамбикский тип – ICE-Moz). Это согласуется с данными по изоляции на разных этапах эпидемии устойчивых к антибиотикам штаммов холерных вибрионов от больных и явилось одной из возможных причин формирования вибриононосительства, в том числе реконвалесцентного [6]. Штаммы № 17261-РД и 17296-РД, выделенные на более поздних этапах эпидемии, были лишены гена *tetA<sup>R</sup>* (индийский тип ICE-Ind), что свидетельствует о полиморфизме ICE-элемента, генетическом разнообразии изученных штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор и, на наш взгляд, косвенно подтверждает имевшие место неоднократные завозы инфекции на этапах эпидемии с разными источниками и факторами передачи, отражающими, в том числе, различные экологические условия обитания возбудителя инфекции.

Таким образом, приведенные данные позволяют заключить, что все штаммы, вызвавшие эпидемические осложнения в Дагестане, по структуре основных факторов, связанных с патогенностью, относятся к геновари-

антам по наличию аллеля *ctxB1* в составе генома гибридного профага СТХ и у трех штаммов – аллеля гена *rstR<sup>Class</sup>*, который присутствовал вместе с аллелем *rstR<sup>El</sup>*. Такие варианты появились в эндемичных по холере странах Азии в начале 1990-х годов и довольно быстро вытеснили «прототипные» вибрионы Эль Тор [25], что совпадает по времени с эпидемией.

С целью установления возможного происхождения штаммов, вызвавших эпидемические осложнения, проведен анализ полногеномных последовательностей их ДНК. По итогам анализа, с помощью программы GeneExpert была построена дендрограмма, отражающая генетическую близость между штаммами (рис. 3). При этом штаммы *Vibrio cholerae* № 16228-РД (VNTR-генотип С4) и № 17261-РД (VNTR-генотип F3) оказались генетически близкородственными штаммам из Бангладеш (№ AG-7404, Бангладеш-1991) и Мехико (№ CP1033, Мехико-2000). В то же время штаммы холерного вибриона № 17296 (VNTR-генотип II) и № 18329 (Казань, 2001, VNTR-генотип A1) по данным полногеномного секвенирования попали в отдельный кластер с непальскими *V. cholerae* (№ Nep-21106, Непал-2003) и № Nep-21113, Непал-2003). Штамм № 17290-РД также попал в отдельный кластер с ин-

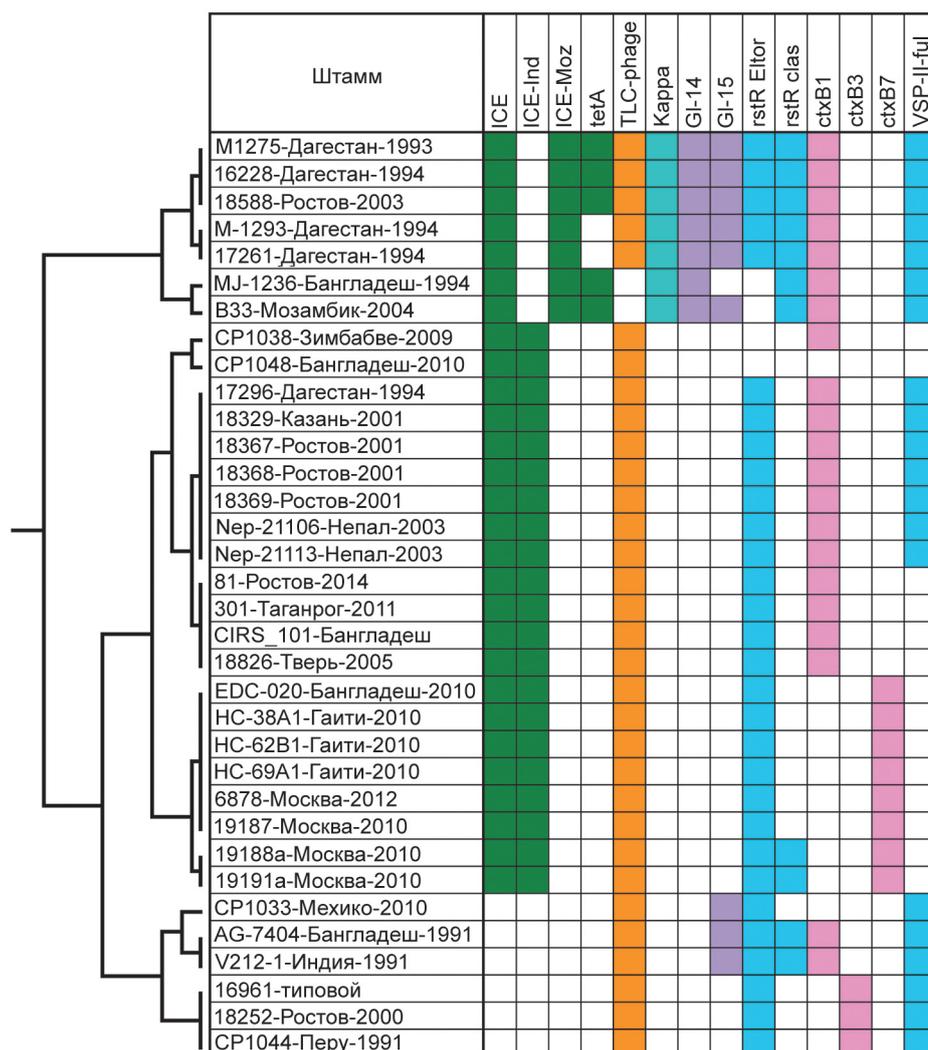


Рис. 2. Дендрограмма, построенная на основании распределения значимых для дискриминации генов *V. cholerae*:

ICE – интегративно-конъюгативный элемент (ICE-Ind – индийский тип, ICE-Moz – мозамбикский тип); *tetA* – ген резистентности к тетрациклину; TLC – профаг TLC, Kappa – фаг Kappa, GI-14 и GI-15 – геномные островки, *rstR-Eltor* и *rstR-class* – аллели гена *rstR*; *ctxB1*, *ctxB3*, *ctxB7* – аллели гена *ctxB*; VSP-II-full – полный остров персистенции VSP-II

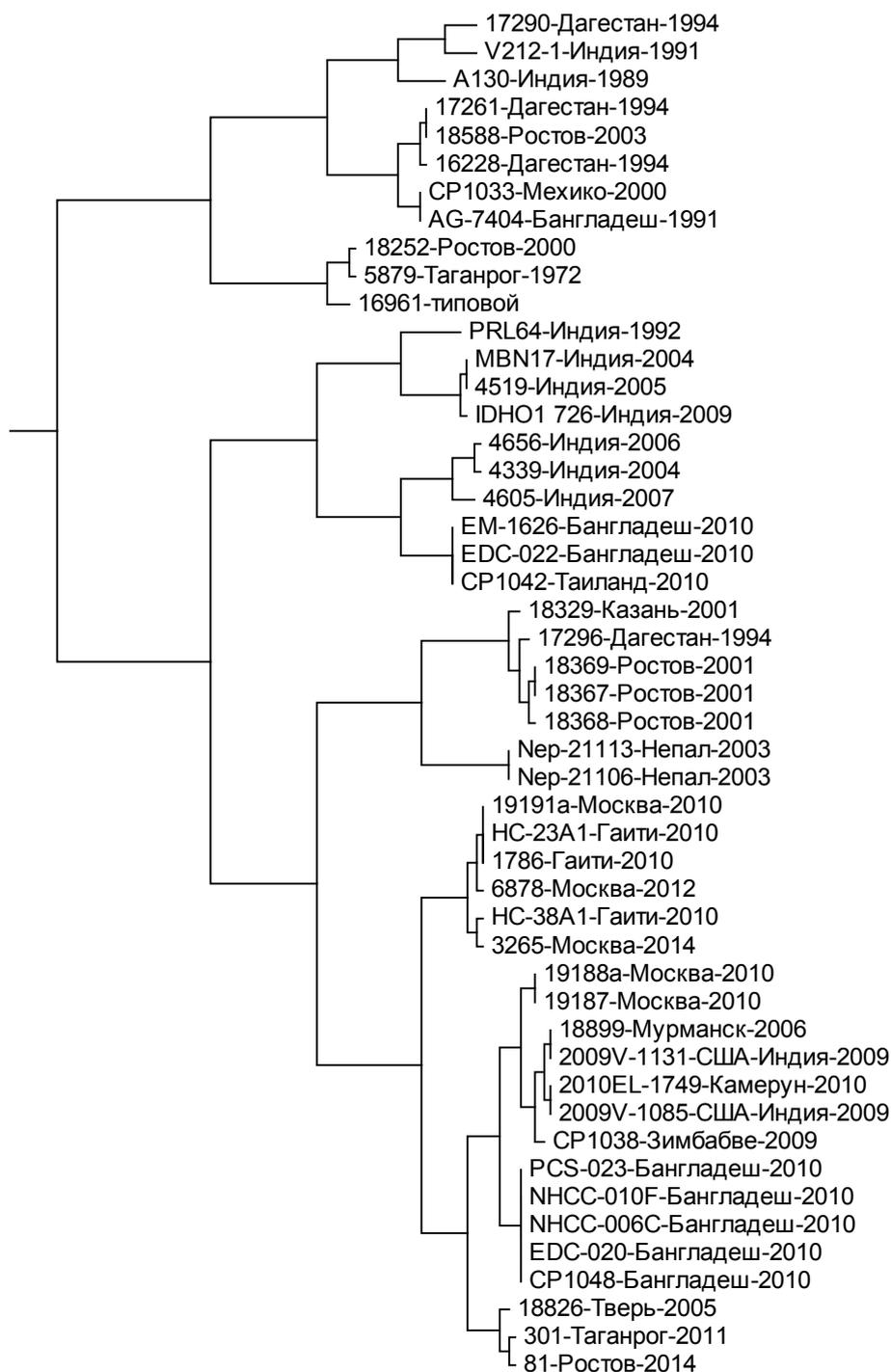


Рис. 3. Дендрограмма, построенная на основе анализа данных полногеномного секвенирования штаммов холерного вибриона

дийскими *V. cholerae* (V212-Индия, 1991).

Приведенные данные по происхождению штаммов, полученные на основании их полногеномного секвенирования, подтверждают самостоятельное возникновение первичных очагов холеры, обусловленное имевшими место завозами холеры – как междоударственными, так и внутри Республики Дагестан – на разных этапах эпидемии: в Каякентский район – в июне (штамм № 16228-РД), в Унцукульский район – в июле (штамм № 17296-РД), в Шамильский район – в августе (штамм № 17290-РД). Несмотря на то, что штаммы *Vibrio cholerae* № 16228-РД и 17261-РД оказались генетически близкородственными штаммам

из Бангладеш и Мехико, они относились к разным VNTR-генотипам циркулирующих штаммов в условиях интенсивно протекающего эпидемического процесса во времени и пространстве.

При анализе некоторых эпидемиологических аспектов холеры, обусловленной генетически измененными вариантами *V. cholerae* O1 Эль Тор, в частности, действующих факторов передачи возбудителя инфекции, следует отметить, что в Дагестане в 58,0 % случаев распространение холеры происходило с реализацией контактно-бытового пути распространения, в 16,0 % – пищевого и 3,2 % – водного. В 22,8 % случаев пути и факторы передачи возбудителя ин-

фекции не установлены, что объяснялось широким распространением вибрионосителей (возможных источников инфекции) и трудностью их выявления. Указанные эпидемиологические особенности, наряду с имевшими место завозами, на различных этапах эпидемии обеспечили распространение инфекции во времени и пространстве. В отличие от этого, вспышка холеры водного происхождения в Казани также была обусловлена генетически измененными вариантами, но носила острый и локальный характер в силу территориальной привязки инфицированных и находившихся в одинаковых условиях по риску инфицирования к водному объекту, что способствовало локализации и ликвидации очага без распространения возбудителя инфекции. Это, на наш взгляд, еще раз подчеркивает, что генетически измененные варианты холерного вибриона, как и типичные холерные вибрионы, обусловившие 7-ю пандемию, играли не самостоятельную и определяющую роль в эпидемическом процессе, а в единстве с социальными факторами, в том числе традициями и обычаями населения.

Таким образом, ретроспективная оценка эпидемических проявлений холеры в 1994 г. в Республике Дагестан и молекулярно-генетический VNTR-анализ штаммов *V. cholerae* O1 El Tor, выделенных на первых и последующих этапах эпидемии, свидетельствовали о гетерогенности популяции возбудителя по циркулирующим VNTR-генотипам в пределах республики и о выявлении идентичных VNTR-генотипов штаммов при имевшем место заносе холеры в Чеченскую Республику. Данные полногеномного секвенирования выделенных *V. cholerae* O1 El Tor позволили выявить в геноме штаммов особенности, характерные для геновариантов холерных вибрионов, содержащих в профаге CTXφ ген *ctxB<sup>Class</sup>*, кодирующий В-субъединицу холерного токсина классического биовара, которые обладают повышенным эпидемическим потенциалом и в последние годы вытеснили типичных представителей *V. cholerae* El Tor. У части штаммов выявлен кластер генов множественной антибиотикорезистентности SXT<sup>ET</sup>: *floR*, *strA*, *strB*, *sul2* – «индийского» типа – SXT-ICE-Ind, который является типичным для эпидемических штаммов, выделенных в Бангладеш и Индии в 1990-е годы. У одного из дагестанских и казанского штаммов SXT-элемент отсутствовал, что, с учетом преимущественного выделения не имеющих SXT холерных вибрионов из водных источников, может подтверждать имевшую место реализацию соответствующего пути распространения возбудителя инфекции во время эпидемии холеры в Республике Дагестан.

Ступенчатость филогенетического дерева позволила подтвердить связь со штаммами, обусловившими вспышки и эпидемии в странах Азии. По результатам полногеномного секвенирования штаммы *V. cholerae* O1 El Tor из Дагестана, выделенные на первом и последующих этапах развития эпидемии, оказались генетически близкородственными штам-

мам из Индии, Бангладеш и Непала. Это указывает на происхождение штаммов, а также на имевшие место независимые завозы холеры на разных этапах эпидемии. Филогенетическое родство дагестанских штаммов со штаммами из Азии также подтверждается наличием у исследуемых холерных вибрионов генетических мобильных элементов ICE, содержащих детерминанты резистентности к антибиотикам тетрациклиновой группы – *tetA*, что, в свою очередь, явилось одной из возможных причин широко распространенного вибрионосительства и формирования реконвалесцентного вибрионосительства у перенесших холеру.

Показано, что роль генетически измененных вариантов *V. cholerae* O1 El Tor с выявленными особенностями возбудителя на молекулярно-генетическом уровне как системообразующего фактора в возникновении и развитии эпидемического процесса в Республике Дагестан была непосредственно связана с социальными условиями, в частности, с меж- и внутривнутригосударственной миграцией, а также с местными традициями населения, что обеспечило распространение инфекции во времени и пространстве, несмотря на комплекс проводимых противохолерных мероприятий. Используемые для сравнительного анализа штаммы, обусловившие вспышку холеры водного происхождения в Казани, также были генетически измененными вариантами, но водная вспышка носила острый и локальный характер без распространения возбудителя инфекции. Полученные данные имеют научное и прикладное значение для решения актуальных вопросов в рамках реализации основных современных направлений стратегии совершенствования эпидемиологического надзора за холерой в Российской Федерации, в том числе в плане оптимизации противохолерных мероприятий и обеспечения биологической безопасности населения нашей страны.

**Конфликт интересов.** Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности). СП 1.3.3118-13.
2. Водопьянов А.С., Водопьянов С.О., Мишанькин М.Б., Сучков И.Ю., Мишанькин Б.Н. Варибельные тандемные повторы, выявленные при компьютерном анализе генома *Vibrio cholerae*. *Биотехнология*. 2001; 6:85–8.
3. Водопьянов А.С. Холера. Штаммы–VNTR. Свидетельство о государственной регистрации базы данных. 2007620389 РФ.
4. Использование метода времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-ToF MS) для индикации и идентификации возбудителей I–II групп патогенности. МР 4.2.0089-14.
5. Миронова Л.В., Балахонов С.В., Урбанович Л.Я., Кожевникова А.С. Молекулярно-генетический анализ эпидемически опасных штаммов *Vibrio cholerae* El Tor, изолированных в Сибирском и Дальневосточном регионах России. *Мол. генет., микробиол. и вирусол.* 2012; 2:13–20.
6. Онищенко Г.Г., Беляев Е.Н., Москвитина Э.А., Резайкин В.И., Ломов Ю.М., Мединский К.М. Холера в Дагестане: прошлое и настоящее. Ростов/дД; 1995. 120 с.
7. Онищенко Г.Г., Ефременко В.И., Грижебовский Г.М. Противозаразительное обеспечение населения в условиях во-

оруженного конфликта в Чеченской Республике. Ставрополь: Ставрополье; 1996. 256 с.

8. Онищенко Г.Г., Ломов Ю.М., Мишанькин Б.Н., Мазрухо Б.Л., Подосинникова Л.С., Кудрякова Т.А., Москвитина Э.А., Водопьянов С.О., Рыжко И.В., Казакова Е.С., Шарова И.Н., Плотникова Е.А., Давыдова Н.А., Абрамова Е.Г., Королев Ю.С., Шестиалтынова И.С., Шарифуллина Д.М., Куряева Н.Ю., Юмангулова Е.Ф., Чернышева А.В., Бугоркова Т.В., Русакова Т.Г., Масленникова А.Л., Милова М.В., Захарова Л.И., Билалов Т.Г., Шутько А.Г., Качкина Г.В. Характеристика холерных вибрионов, выделенных в Казани в 2001 году. *Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол.* 2002; 2:3–6.

9. Онищенко Г.Г., Москвитина Э.А., Кругликов В.Д., Титова С.В., Адаменко О.Л., Водопьянов А.С., Водопьянов С.О. Эпидемиологический надзор за холерой в России в период сельской пандемии. *Вестник РАМН.* 2015; 70(2):249–56.

10. Писанов Р.В., Ежова М.И., Монахова Е.В., Черкасов А.В., Краснов Я.М., Водопьянов А.С., Кульшань Т.А., Ливанова Л.Ф., Портенко С.А., Абдрашитова А.С., Кругликов В.Д., Титова С.В. Особенности структуры генома токсигенного штамма *Vibrio cholerae* El Tor Инаба, выделенного в 2014 г. из открытого водоема в Ростове-на-Дону. *Пробл. особо опасных инф.* 2015; 2:63–7.

11. Савельев В.Н., Савельева И.В., Бабенышев Б.В., Куличенко А.Н. Эволюция возбудителя и клинико-эпидемиологические особенности современной холеры Эль-Тор. *Эпидемиол. и инф. бол.* 2012; 5:31–5.

12. Смирнова Н.И., Горяев А.А., Заднова С.П., Краснов Я.М., Лозовский Ю.В., Кутырев В.В. Генетическая характеристика штаммов *Vibrio cholerae*, завезенных на территорию Российской Федерации в разные периоды 7 пандемий холеры. *Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол.* 2011; 3:3–10.

13. Черкасский Б.Л., Сергиев В.П., Ладный И.Д. Эпидемиологические аспекты международной миграции населения. М.: 1984. 208 с.

14. Bhuiyan N.A., Nusrin S., Ansaruzzaman M., Islam A., Sultana M., Alam M., Islam M.A., Cravioto A., Mukhopadhyay A.K., Nair G.B., Mwasna J.C., Endtz H.P. Genetic characterization of *Vibrio cholerae* O1 strains isolated in Zambia during 1996–2004 possessing the unique VSP-II region of El Tor variant. *Epidemiol. Infect.* 2012; 140(3):510–8. DOI: 10.1017/S0950268811000926.

15. Borkakoty B., Biswas D., Devi U., Yadav K., Mahanta J. Emergence of classical ctxB genotype 1 and tetracycline resistant strains of *Vibrio cholerae* O1 El Tor in Assam, India. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2012; 106(6):382–6. DOI: 10.1016/j.trstmh.2012.03.005.

16. Chin C.S., Sorenson J., Harris J.B., Robins W.P., Charles R.C., Jean-Charles R.R., Bullard J., Webster D.R., Kasarskis A., Peluso P., Paxinos E.E., Yamaichi Y., Calderwood S.B., Mekalanos J.J., Schadt E.E., Waldor M.K. The Origin of the Haitian Cholera Outbreak Strain. *N. Engl. J. Med.* 2011; 364(1):33–42. DOI: 10.1056/NEJMoa1012928.

17. Dixit S.M., Johura F.T., Manandhar S., Sadiqe A., Rajbhandari R.M., Mannan S.B., Rashid M.U., Islam S., Karmacharya D., Watanabe H., Sack R.B., Cravioto A., Alam M. Cholera outbreaks (2012) in three districts of Nepal reveal clonal transmission of multidrug resistant *Vibrio cholerae* O1. *BMC Infect. Dis.* 2014; 14(1):392. DOI: 10.1186/1471-2334-14-392.

18. Dolores J., Satchell K.J. Analysis of *Vibrio cholerae* genome sequences re-veals unique rtxA variants in environmental strains and an rtxA-null mutation in recent altered El-Tor isolates. *mBio.* 2013; 4(2):e00624. DOI: 10.1128/mBio.00624-12.

19. Goel A.K., Jain M., Kumar P., Bhaduria S., Kmbaj D.V., Singh L. A new variant of *Vibrio cholerae* O1 El Tor causing cholera in India. *J. Infect.* 2008; 57(3):280–1. DOI: 10.1016/j.jinf.2008.06.015.

20. Katz L.S., Petkau A., Beaulaurier J., Tyler S., Antonova E.S., Turnsek M.A., Guo Y., Wang S., Paxinos E.E., Orata F., Gladney L.M., Stroika S., Folster J.P., Rowe L., Freeman M.M., Knox N., Frace M., Boncy J., Graham M., Hammer B.K., Boucher Y., Bashir A., Hanage W.P., Van Domselaar G., Tarr C.L. Evolutionary dynamics of *Vibrio cholerae* O1 following a single-source introduction to Haiti. *mBio.* 2013; 4(4):e00398–13. DOI: 10.1128/mBio.00398-13.

21. Klinzing D.C., Choi S.Y., Hasan N.A., Matias R.R., Tayag E., Geronimo J., Skowronski E., Rashed S.M., Kawashima K., Rosenzweig C.N., Gibbons H.S., Torres B.C., Liles V., Alfons A.C., Juan M.L., Natividad F.F., Cebula T.A., Colwell R.R. Hybrid *V. cholerae* El Tor lacking SXT identified as the cause of a cholera outbreak in the Philippines. *mBio.* 2015; 6(2):e00047-15. DOI: 10.1128/mBio.00047-15.

22. Kumar P., Mishra D.K., Deshmukh D.G., Jain M., Zade A.M., Ingole K.V., Goel A.K., Yadava P.K. *Vibrio cholerae* O1 Ogawa El Tor strains with the ctxB7 allele driving cholera outbreaks in south-western India in 2012. *Infect. Genet. Evol.* 2014; 25:93–6. DOI: 10.1016/j.meegid.2014.03.020.

23. Mutreja A., Kim D.W., Thomson N.R., Connor T.R., Lee J.H., Kariuki S., Croucher N.J., Choi S.Y., Harris S.R., Levens M., Niyogi S.K., Kim E.J., Ramamurthy T., Chun J., Wood J.L., Clemens J.D., Czerkinsky C., Nair G.B., Holmgren J., Parkhill J., Dougan

G. Evidence for several waves of global transmission in the seventh cholera pandemic. *Nature.* 2011; 477:462–5. DOI: 10.1038/nature10392.

24. Naha A., Pazhani G.P., Ganguly M., Ghosh S., Ramamurthy T., Nandy R.K., Nair G.B., Takeda Y., Mukhopadhyay A.K. Development and evaluation of a PCR assay for tracking the emergence and dissemination of Haitian variant ctxB in *Vibrio cholerae* O1 strains isolated from Kolkata, India. *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50(5):1733–6. DOI: 10.1128/JCM.00387-12.

25. Na-Ubol M., Srimanote P., Chongsa-Nguan M., Indrawattana N., Sookrungrun N., Tapchaisri P., Yamazaki S., Bodhidatta L., Eampokalap B., Kurazono H., Hayashi H., Nair G.B., Takeda Y., Chaicumpa W. Hybrid & El Tor variant biotypes of *Vibrio cholerae* O1 in Thailand. *Indian J. Med. Res.* 2011; 133:387–94.

26. Pal B.B., Khuntia H.K., Samal S.K., Kar S.K., Patnaik B. Epidemics of severe cholera caused by El Tor *Vibrio cholerae* O1 Ogawa possessing the ctxB gene of the classical biotype in Orissa, India. *Int. J. Infect. Dis.* 2010; 14(5):e384–9. DOI: 10.1016/j.ijid.2009.06.020.

27. Ramamurthy T., Sharma N.C. Cholera outbreaks in India. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2014; 379:49–85. DOI: 10.1007/82\_2014\_368.

28. Reimer A.R., Van Domselaar G., Stroika S., Walker M., Kent H., Tarr C., Talkington D., Rowe L., Olsen-Rasmussen M., Frace M., Sammons S., Dahourou G.A., Boncy J., Smith A.M., Mabon P., Petkau A., Graham M., Gilmour M.W., Gerner-Smidt P. Comparative genomics of *Vibrio cholerae* from Haiti, Asia, and Africa. *Emerg. Infect. Dis.* 2011; 17(11):2113–21. DOI: 10.3201/eid1711.110794.

29. Robins W.P., Mekalanos J.J. Genomic science in understanding cholera outbreaks and evolution of *Vibrio cholerae* as a human pathogen. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2014; 379:211–29. DOI: 10.1007/82\_2014\_366.

30. 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: 10.1016/j.mimet.2011.10.017.

31. Talkington D., Bopp C., Tarr C., Parsons M.B., Dahourou G., Freeman M., Joyce K., Turnsek M., Garrett N., Humphrys M., Gomez G., Stroika S., Boncy J., Ochieng B., Oundo J., Klena J., Smith A., Keddy K., Gerner-Smidt P. Characterization of toxigenic *Vibrio cholerae* from Haiti, 2010–2011. *Emerg. Infect. Dis.* 2011; 17(11):2122–9. DOI: 10.3201/eid1711.110805.

## References

- [Safety of works with microorganisms of the I–II groups of pathogenicity (hazard)]. SR 1.3.3118-13.
- Vodop'yanov A.S., Vodop'yanov S.O., Mishan'kin M.B., Suchkov I.Yu., Mishan'kin B.N. [Variable tandem repeats, detected by means of computer-based analysis of *Vibrio cholerae* genome]. *Biotechnologiya.* 2001; 6:85–8.
- Vodop'yanov A.S. [Cholera. VNTR-Strains]. Certificate of State Registration of a database. 2007620389 RF.
- [Application of the time-of-flight mass spectrometry with matrix-activated laser desorption/ionization (MALDI-ToF MS) for indication and identification of the agents of the I–II groups of pathogenicity]. MR 4.2.0089-14.
- Mironova L.V., Balakhonov S.V., Urbanovich L.Ya., Kozhevnikova A.S. [Molecular-genetic analysis of epidemically hazardous *Vibrio cholerae* El Tor strains, isolated in Siberian and Far Eastern regions of Russia]. *Mol. Genet. Mikrobiol. Virusol.* 2012; 2:13–20.
- Onishchenko G.G., Belyaev E.N., Moskvitina E.A., Rezaikin V.I., Lomov Yu.M., Medinsky K.M. [Cholera in Dagestan: Past and Present]. Rostov-on-Don: 1995. 120 p.
- Onishchenko G.G., Efremenko V.I., Grizhebovsky G.M. [Anti-epidemic provision of the population under military conflict in Chechen Republic]. Stavropol: 1996. 256 p.
- Onishchenko G.G., Lomov Yu.M., Mishan'kin B.N., Mazrukho B.L., Podosinnikova L.S., Kudryakova T.A., Moskvitina E.A., Vodop'yanov S.O., Ryzhko I.V., Kazakova E.S., Sharova I.N., Plotnikova E.A., Davydova N.A., Abramova E.G., Korolev Yu.S., Shestialtynova I.S., Sharifulina D.M., Kuryaeva N.Yu., Yumangulova E.F., Chernysheva A.V., Bugorkova T.V., Rusakova T.G., Maslenikova A.L., Milova M.V., Zakharova L.I., Bilalov T.G., Shut'ko A.G., Kachkina G.V. [Characteristics of cholera vibrios, isolated in Kazan in 2001]. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 2002; 2:3–6.
- Onishchenko G.G., Moskvitina E.A., Kругликов V.D., Titova S.V., Adamenko O.L., Vodop'yanov A.S., Vodop'yanov S.O. [Epidemiological surveillance over cholera in Russia during the seventh cholera pandemic]. *RAMS Bulletin.* 2015; 70(2):249–56.
- Pisanov R.V., Ezhova M.I., Monakhova E.V., Cherkasov A.V., Krasnov Ya.M., Vodop'yanov A.S., Kul'shan T.A., Livanova L.F., Portenko S.A., Abdrazhitova A.S., Kругликов V.D., Titova S.V. [Peculiarities of genome structure of the toxigenic *Vibrio cholerae* El Tor Inaba strain, isolated from a surface water body in the territory of Rostov-on-Don in 2014]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2015; 2:63–7.
- Savel'ev V.N., Savel'eva I.V., Babenyshv B.V., Kulichenko A.N. [Evolution of the agent and clinical-epidemiological peculiarities of the present-day cholera El Tor]. *Epidemiol. Infek. Bol.* 2012; 3:3–10.
- Sмирнова Н.И., Горяев А.А., Заднова С.П., Краснов Я.М., Лозовский Ю.В., Кутырев В.В. [Genetic characteristics of *Vibrio cholerae* strains, imported in the Russian Federation in different periods of the seventh cholera pandemic]. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 2011; 3:3–10.

13. Cherkassky B.L., Sergiev V.P., Ladny I.D. [Epidemiological Aspects of International Population Migration]. M.; 1984. 208 p.
14. Bhuiyan N.A., Nusrin S., Ansaruzzaman M., Islam A., Sultana M., Alam M., Islam M.A., Cravioto A., Mukhopadhyay A.K., Nair G.B., Mwasna J.C., Endtz H.P. Genetic characterization of *Vibrio cholerae* O1 strains isolated in Zambia during 1996–2004 possessing the unique VSP-II region of El Tor variant. *Epidemiol. Infect.* 2012; 140(3):510–8. DOI: 10.1017/S0950268811000926.
15. Borkakoty B., Biswas D., Devi U., Yadav K., Mahanta J. Emergence of classical ctxB genotype 1 and tetracycline resistant strains of *Vibrio cholerae* O1 El Tor in Assam, India. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2012; 106(6):382–6. DOI: 10.1016/j.trstmh.2012.03.005.
16. Chin C.S., Sorenson J., Harris J.B., Robins W.P., Charles R.C., Jean-Charles R.R., Bullard J., Webster D.R., Kasarskis A., Peluso P., Paxinos E.E., Yamaichi Y., Calderwood S.B., Mekalanos J.J., Schadt E.E., Waldor M.K. The origin of the Haitian cholera outbreak strain. *N. Engl. J. Med.* 2011; 364(1):33–42. DOI: 10.1056/NEJMoal012928.
17. Dixit S.M., Johura F.T., Manandhar S., Sadique A., Rajbhandari R.M., Mannan S.B., Rashid M.U., Islam S., Karmacharya D., Watanabe H., Sack R.B., Cravioto A., Alam M. Cholera outbreaks (2012) in three districts of Nepal reveal clonal transmission of multi-drug resistant *Vibrio cholerae* O1. *BMC Infect. Dis.* 2014; 14(1):392. DOI: 10.1186/1471-2334-14-392.
18. Dolores J., Satchell K.J. Analysis of *Vibrio cholerae* genome sequences re-veals unique rtxA variants in environmental strains and an rtxA-null mutation in recent altered El-Tor isolates. *mBio*. 2013; 4(2):e00624. DOI: 10.1128/mBio.00624-12.
19. Goel A.K., Jain M., Kumar P., Bhaduria S., Kmbaj D.V., Singh L. A new variant of *Vibrio cholerae* O1 El Tor causing cholera in India. *J. Infect.* 2008; 57(3):280–1. DOI: 10.1016/j.jinf.2008.06.015.
20. Katz L.S., Petkau A., Beaulaurier J., Tyler S., Antonova E.S., Turnsek M.A., Guo Y., Wang S., Paxinos E.E., Orata F., Gladney L.M., Stroika S., Folster J.P., Rowe L., Freeman M.M., Knox N., Frace M., Boncy J., Graham M., Hammer B.K., Boucher Y., Bashir A., Hanage W.P., Van Domselaar G., Tarr C.L. Evolutionary dynamics of *Vibrio cholerae* O1 following a single-source introduction to Haiti. *mBio*. 2013; 4(4):e00398–13. DOI: 10.1128/mBio.00398-13.
21. Klinzing D.C., Choi S.Y., Hasan N.A., Matias R.R., Tayag E., Geronimo J., Skowronski E., Rashed S.M., Kawashima K., Rosenzweig C.N., Gibbons H.S., Torres B.C., Liles V., Alfon A.C., Juan M.L., Natividad F.F., Cebula T.A., Colwell R.R. Hybrid *V. cholerae* El Tor lacking SXT identified as the cause of a cholera outbreak in the Philippines. *mBio*. 2015; 6(2):e00047-15. DOI: 10.1128/mBio.00047-15.
22. Kumar P., Mishra D.K., Deshmukh D.G., Jain M., Zade A.M., Ingole K.V., Goel A.K., Yadava P.K. *Vibrio cholerae* O1 Ogawa El Tor strains with the ctxB7 allele driving cholera outbreaks in south-western India in 2012. *Infect. Genet. Evol.* 2014; 25:93–6. DOI: 10.1016/j.meegid.2014.03.020.
23. Mutreja A., Kim D.W., Thomson N.R., Connor T.R., Lee J.H., Kariuki S., Croucher N.J., Choi S.Y., Harris S.R., Lebens M., Niyogi S.K., Kim E.J., Ramamurthy T., Chun J., Wood J.L., Clemens J.D., Czerkinsky C., Nair G.B., Holmgren J., Parkhill J., Dougan G. Evidence for several waves of global transmission in the seventh cholera pandemic. *Nature*. 2011; 477:462–5. DOI: 10.1038/nature10392.
24. Naha A., Pazhani G.P., Ganguly M., Ghosh S., Ramamurthy T., Nandy R.K., Nair G.B., Takeda Y., Mukhopadhyay A.K. Development and evaluation of a PCR assay for tracking the emergence and dissemination of Haitian variant ctxB in *Vibrio cholerae* O1 strains isolated from Kolkata, India. *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50(5):1733–6. DOI: 10.1128/JCM.00387-12.
25. Na-Ubol M., Srimanote P., Chongsa-Nguan M., Indrawattana N., Sookrungr N., Tapchaisri P., Yamazaki S., Bodhidatta L., Eampokalap B., Kurazono H., Hayashi H., Nair G.B., Takeda Y., Chaicumpa W. Hybrid & El Tor variant biotypes of *Vibrio cholerae* O1 in Thailand. *Indian J. Med. Res.* 2011; 133:387–94.
26. Pal B.B., Khuntia H.K., Samal S.K., Kar S.K., Patnaik B. Epidemics of severe cholera cause by El Tor *Vibrio cholerae* O1 Ogawa possessing the ctxB gene of the classical biotype in Orissa, India. *Int. J. Infect. Dis.* 2010; 14(5):e384–9. DOI: 10.1016/j.ijid.2009.06.020.
27. Ramamurthy T., Sharma N.C. Cholera outbreaks in India. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2014; 379:49–85. DOI: 10.1007/82\_2014\_368.
28. Reimer A.R., Van Domselaar G., Stroika S., Walker M., Kent H., Tarr C., Talkington D., Rowe L., Olsen-Rasmussen M., Frace M., Sammons S., Dahourou G.A., Boncy J., Smith A.M., Mabon P., Petkau A., Graham M., Gilmour M.W., Gerner-Smidt P. Comparative genomics of *Vibrio cholerae* from Haiti, Asia, and Africa. *Emerg. Infect. Dis.* 2011; 17(11):2113–21. DOI: 10.3201/eid1711.110794.
29. Robins W.P., Mekalanos J.J. Genomic science in understanding cholera outbreaks and evolution of *Vibrio cholerae* as a human pathogen. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2014; 379:211–29. DOI: 10.1007/82\_2014\_366.
30. 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: 10.1016/j.mimet.2011.10.017.
31. Talkington D., Bopp C., Tarr C., Parsons M.B., Dahourou G., Freeman M., Joyce K., Turnsek M., Garrett N., Humphrys M., Gomez G., Stroika S., Boncy J., Ochieng B., Oundo J., Klens J., Smith A., Keddy K., Gerner-Smidt P. Characterization of toxigenic *Vibrio cholerae* from Haiti, 2010–2011. *Emerg. Infect. Dis.* 2011; 17(11):2122–9. DOI: 10.3201/eid1711.110805.

**Authors:**

*Onishchenko G.G.* Russian Academy of Sciences. Moscow, Russian Federation.

*Moskvitina E.A., Vodop'janov A.S., Monakhova E.V., Pisanov R.V., Vodop'janov S.O., Chemisova O.S., Kruglikov V.D., Titova S.V.* Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute. 117/40, M.Gor'kogo St., Rostov-on-Don, 344002, Russian Federation. E-mail: plague@aaanet.ru.

**Об авторах:**

*Онищенко Г.Г.* Российская академия наук. Москва, Российская Федерация.

*Москвитина Э.А., Водопьянов А.С., Монахова Е.В., Писанов Р.В., Водопьянов С.О., Чемисова О.С., Кругликов В.Д., Титова С.В.* Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 344002, Ростов-на-Дону, ул. М.Горького, 117/40. E-mail: plague@aaanet.ru.

Поступила 04.05.16.