

Научная статья

УДК 579.843:577.61

DOI: 10.31857/S0869769824020089

EDN: lddwqt

INDEL-типирование штаммов парагемолитических вибрионов *in vitro* и *in silico*

О.С. Чемисова, О.А. Цырулина✉, А.С. Водопьянов, С.О. Водопьянов,
М.М. Сагакянц

Ольга Сергеевна Чемисова

кандидат биологических наук, доцент

ФГБОУ ВО «Донской государственный технический университет»,

Ростов-на-Дону, Россия

chemisova@inbox.ru

<https://orcid.org/0000-0002-4059-2878>

Оксана Алексеевна Цырулина

кандидат биологических наук, старший научный сотрудник

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора,

Ростов-на-Дону, Россия

rykowskaya.oxana@yandex.ru

<https://orcid.org/0000-0001-6176-2605>

Алексей Сергеевич Водопьянов

кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора,

Ростов-на-Дону, Россия

alexvod@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0002-9056-3231>

Сергей Олегович Водопьянов

доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора,

Ростов-на-Дону, Россия

serge100v@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0003-4336-0439>

Маргарита Мардиросовна Сагакянц

научный сотрудник

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора,

Ростов-на-Дону, Россия

margsagak@rambler.ru

<https://orcid.org/0000-0001-8235-3288>

Аннотация. В статье представлены результаты изучения распределения INDEL-генотипов *Vibrio parahaemolyticus* в мире и Российской Федерации *in vitro* и *in silico* с использованием

ранее разработанного способа INDEL-типирования на основании распределения аллелей шести локусов (Vp967, Vp08, Vp619, Vp2256, VpA472 и Vp506). Среди 2105 штаммов *V. parahaemolyticus*, взятых в исследование, было выявлено 30 уникальных INDEL-генотипов, семь из которых определены как мажорные. При этом выявлена географическая привязанность генотипа парегемолитических вибрионов к месту их выделения. На территории Российской Федерации выявлена циркуляция 17 INDEL-генотипов, преобладающим из которых оказался D2, обнаруженный только в Российской Федерации. Установлено, что предложенный метод INDEL-типирования является полезным инструментом при проведении эпидемиологических исследований, дающим возможность выявлять фило-генетические связи между различными изолятами, что в свою очередь позволяет делать выводы об источниках заносов возбудителя на конкретную территорию.

Ключевые слова: INDEL-типирование, INDEL-локусы, *Vibrio parahaemolyticus*, парегемолитические вибрионы, генотип

Для цитирования: Чемисова О.С., Цырулина О.А., Водопьянов А.С., Водопьянов С.О., Сагакянц М.М. INDEL-типирование штаммов парегемолитических вибрионов *in vitro* и *in silico* // Вестн. ДВО РАН. 2024. № 2. С. 80–89. <https://dx.doi.org/10.31857/S0869769824020089>, EDN: lddwqt

Original article

INDEL-typing of strains of parahemolytic vibriions *in vitro* and *in silico*

O.S. Chemisova, O.A. Cyrulina, A.S. Vodop'yanov,
S.O. Vodop'yanov, M.M. Sagakyanc

Ol'ga S. Chemisova

Candidate of Sciences in Biology, Associate Professor
Don State Technical University,
Rostov-on-Don, Russia
chemisova@inbox.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4059-2878>

Oksana A. Cyrulina

Candidate of Sciences in Biology, Senior Researcher
The Federal Government Health Institution Rostov-on-Don Plague Control Research Institute
of the Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights,
Rostov-on-Don, Russia
rykowskaya.oxana@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6176-2605>

Aleksej S. Vodop'yanov

Candidate of Sciences in Medicine, Senior Researcher
The Federal Government Health Institution Rostov-on-Don Plague Control Research Institute
of the Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights,
Rostov-on-Don, Russia
alexvod@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-9056-3231>

Sergej O. Vodop'yanov

Doctor of Sciences in Medicine, Leading Researcher
The Federal Government Health Institution Rostov-on-Don Plague Control Research Institute
of the Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights,
Rostov-on-Don, Russia

Margarita M. Sagakyanc

Researcher

The Federal Government Health Institution Rostov-on-Don Plague Control Research Institute of the Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights,
Rostov-on-Don, Russia

margsagak@rambler.ru

<https://orcid.org/0000-0001-8235-3288>

Abstract. The article presents the results of studying the distribution of *Vibrio parahaemolyticus* INDEL genotypes in the world and in Russia *in vitro* and *in silico* using the previously developed INDEL typing method based on the distribution of alleles of six loci (Vp967, Vp08, Vp619, Vp2256, VpA472, and Vp506). Among 2105 strains of *V. parahaemolyticus* taken in the study, 30 unique INDEL genotypes were identified, seven of which were identified as major. At the same time, geographical attachment between the genotype of parahaemolytic vibrios and the place of their isolation was revealed. The circulation of 17 INDEL genotypes was detected on the territory of the Russian Federation, the predominant of which was D2, found only in the Russian Federation. As a result, it was found that the proposed INDEL-typing method is a useful tool in conducting epidemiological investigations, which makes it possible to identify phylogenetic relationships between different isolates, which in turn makes it possible to draw conclusions about the sources of splinters of the pathogen to a specific territory.

Keywords: INDEL-typing, INDEL-loci, *Vibrio parahaemolyticus*, parahemolytic vibrios, genotype

For citation: Chemisova O. S., Cyrulina O. A., Vodop'yanov A. S., Vodop'yanov S. O., Sagakyanc M. M. INDEL-typing of strains of parahemolytic vibrios *in vitro* and *in silico*. *Vestnik of the FEB RAS*. 2024;(2):80–89. (In Russ.). <https://dx.doi.org/10.31857/S0869769824020089>, EDN: lddwqt

Введение

Парагемолитические вибрионы – условно-патогенные галофильные микроорганизмы семейства Vibrionaceae, обитающие в морской и эстуарной среде по всему миру [1]. Выделяются из морской воды, рыб, креветок, мидий, устриц, омаров, крабов. Способны вызывать пищевые гастроэнтериты, протекающие по типу пищевой токсикоинфекции. Основной способ передачи заключается в употреблении в пищу сырых или недостаточно термически обработанных морепродуктов [2]. В редких случаях *Vibrio parahaemolyticus* вызывает раневую инфекцию, ушную инфекцию или сепсис, которые могут быть опасными для жизни людей с сопутствующими заболеваниями [3].

Впервые *V. parahaemolyticus* идентифицирован как причина пищевой инфекции в Японии в 1950 г. [4]. С 1960–1970-х годов парагемолитические вибрионы были обнаружены в прибрежных зонах морей и океанов, а вызываемые ими заболевания начали регистрировать в странах Азии, Африки, Америки, Западной Европы и Австралии. Патогенность *V. parahaemolyticus* связывают с наличием генов гемолизин – термостабильного прямого (TDH – thermostable direct hemolysin) и TDH-родственного (TDH – related hemolysin) [5]. Для штаммов парагемолитических вибрионов характерна высокая генетическая вариабельность. Появление в 1996 г. в Индии нового клона *V. parahaemolyticus* O3: K6 привело к первому документированному так называемому пандемическому распространению *V. parahaemolyticus* [6]. Характерной особенностью данных штаммов является повышенный эпидемический и патогенетический потенциал.

На территории России галофильные вибрионы широко распространены в водах Азовского, Черного, Каспийского, Балтийского и Японского морей. Крупные вспышки были отмечены на побережье Черного и Азовского морей в 1984–1986 гг.,

во Владивостоке – в 1997, 2001, 2002, 2007 гг., а также в пос. Славянка Хасанского района Приморского края в 2012 г. [7–9].

Расследование вспышек опасных инфекционных заболеваний требует разработки эффективных методик внутривидовой дифференциации возбудителей и поиска генетических маркеров групп штаммов, имеющих большое эпидемиологическое значение. Одним из перспективных способов генотипирования, позволяющих выявлять индивидуальные различия и филогенетические связи между штаммами, является метод INDEL-типирования, основанный на определении вставок-делений (IN-sersion-DELection) в различных генах [10–12]. Ранее нами был предложен метод INDEL-типирования *V. parahaemolyticus* на основании распределения аллелей шести локусов (Vp967, Vp08, Vp619, Vp2256, VpA472 и Vp506) и показана возможность его использования [13]. Метод удобен и, главное, позволяет уверенно проводить INDEL-типирование *in silico* на основании сиквенсов из международных баз данных. В связи с этим целью настоящей работы является изучение распределения INDEL-генотипов *V. parahaemolyticus* в мире и Российской Федерации *in vitro* и *in silico*.

Материалы и методы

В исследование *in vitro* было взято 122 штамма *V. parahaemolyticus*, выделенных из различных источников в регионах Черного, Азовского, Японского морей на территории Российской Федерации в период с 2008 по 2020 г. Культуры были получены из лаборатории «Коллекция патогенных микроорганизмов» ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, где хранились в лиофилизированном состоянии. ПЦР с сконструированными праймерами к шести INDEL-локусам вибрионов (табл. 1) проводили по ранее описанной методике [13, 14].

Таблица 1

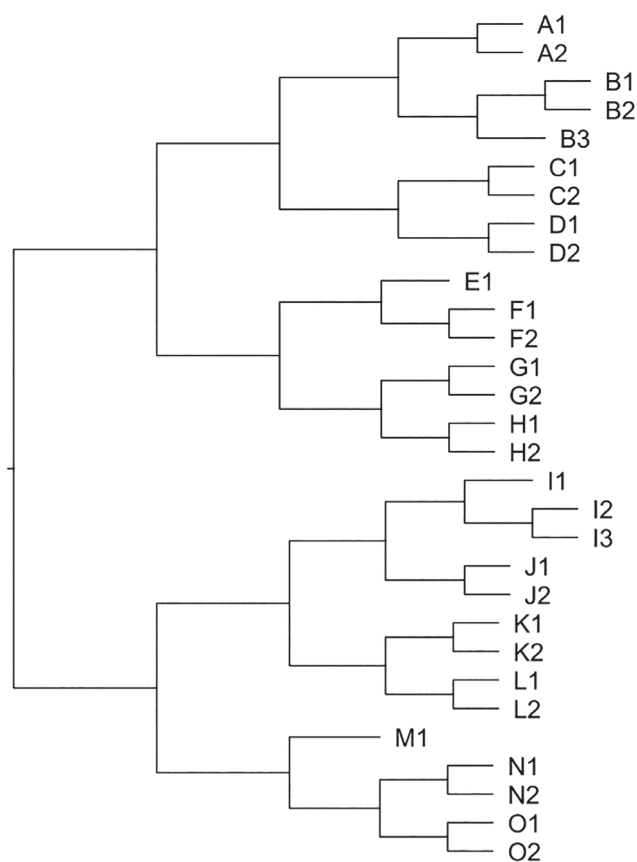
INDEL-локусы и праймеры, использованные в работе

INDEL-локус	Размер ампликона, п. о.	Структура праймеров	
		прямой	обратный
Vp967	112/94	acaaaaagagcgagcactgaaac	gatccaagatgagctggaaaac
Vp08	104/89	tgaaaaactgggtaaggttgc	agacatgcccaccttgacttc
Vp619	114/92	acctgtgactgaaccagaacc	cccactgaatgaagctacctgt
Vp2256	111/99	aaaaagcggcagataatgcac	ccttatcaatggctcttgctcc
VpA472	95/77	cgtgaactggcaagactgga	ccaatgcgatttggttaagtgc
Vp506	85/79	aagcaccacagtcacctgtaa	gcggctctgtagtcgtgtgaa

Виртуально *in silico* было изучено 1983 штамма из базы данных GenBank с известным географическим происхождением. Для анализа применяли авторское программное обеспечение Gene Expert, PrimerM и VirtualPCR, написанное на языке программирования Java. Сведения о месте и времени выделения штаммов были взяты из описания в GenBank. Кластерный анализ и построение дендрограммы проводили с использованием авторского программного обеспечения по методу UPGMA. Для построения дендрограммы использовали программу MEGA 5 [15].

Результаты

Среди включенных в исследование 2105 штаммов *V. parahaemolyticus* было выявлено 30 уникальных INDEL-генотипов, которые распределились между 15 кластерами, обозначенными буквами латинского алфавита с А по О (см. рисунок).



Дендрограмма, построенная на основе кластерного анализа распределения аллелей INDEL-локусов у штаммов *V. parahaemolyticus*

Установлено существование семи мажорных генотипов, представленных более чем 100 изолятами (C2, H2, L2, N1, N2, O1 и O2) и 23 минорных генотипа. В табл. 2 показано географическое распределение штаммов мажорных INDEL-генотипов в мире и Российской Федерации.

При анализе *in vitro* INDEL-генотипов 122 штаммов, выделенных в Российской Федерации, показано наличие 17 генотипов (5 мажорных и 12 минорных). При этом 4 «мировых» мажорных генотипа (O1, O2, N1 и N2) составили более 50% (64 штамма). Однако преобладающими оказались штаммы INDEL-генотипа D2, который в мире больше нигде не встречался и был характерен только для Российской Федерации (табл. 3). При этом большинство штаммов (31) данного генотипа было выделено

Таблица 2

Свойства мажорных INDEL-генотипов *V. parahaemolyticus*

INDEL-генотип	Число штаммов	Распространение в мире (по анализу <i>in silico</i>), годы	Распространение в России (по результатам <i>in vitro</i>), годы
C2	252	Китай (121), 2008–2018; США (96), 2008–2019; Перу (18), 2011–2016; Канада (7), 2008; Испания (6), 2012; Индия (1), 2014	Владивосток (3), 2019
H2	102	Китай (69), 2008–2017; США (21), 2008–2017; Перу (5), 2015–2017; Малайзия (3), 2014; Южная Корея (2), 2014, 2015	Таганрог (1), 2015; Геленджик (1), 2020
L2	205	Китай (151), 2008–2018; США (45), 2012–2014; Перу (2), 2009, 2017; Канада (2), 2008, 2010; Таиланд (2), 2008, 2015	Владивосток (1), 2019; Таганрог (Азовское море) (1), 2019; Новороссийск (1), 2015
N1	286	Китай (122), 2008–2019; США (94), 2009–2018; Перу (18), 2015–2017; Канада (3), 2009, 2012–2013; Таиланд (2), 2014; Малайзия (24), 2014, 2016–2017; Чили (1), 2015; Германия (1), 2009; Вьетнам (1), 2014; Южная Корея (2), 2016, 2017; Индия (1), 2016; Мексика (2), 2019; Венесуэла (1), 2018	Приморский край (10), 2015–2020; Азовское море (2), 2016, 2019; Черное море (2), 2012, 2020

INDEL-генотип	Число штаммов	Распространение в мире (по анализу in silico), годы	Распространение в России (по результатам in vitro), годы
N2	239	Китай (123), 2008–2019; США (72), 2008–2019; Перу (12), 2015–2017; Канада (4), 2008–2010; Малайзия (2), 2009, 2017; Вьетнам (5), 2012–2014; Филиппины (1), 2015; Южная Корея (1), 2014; Мексика (1), 2014; Венесуэла (2), 2018; Испания (1), 2012; Великобритания (1), 2010	Приморский край (10), 2015–2021; Азовское море (2), 2019; Черное море (2), 2020
O1	292	Китай (154), 2008–2019; США (79), 2008–2019; Перу (18), 2013–2017; Канада (5), 2008, 2011–2012, 2014; Южная Корея (2), 2014; Мексика (8), 2013, 2014, 2019; Вьетнам (2), 2014; Индия (2), 2017; Венесуэла (2), 2018; Тихий океан (2), 2016	Азовское море (1), 2019; Черное море (2), 2020; Приморский край (15), 2009–2020
O2	304	Китай (126), 2008–2019; США (89), 2008–2019; Перу (49), 2008–2011, 2014–2017; Канада (7), 2009–2015; Южная Корея (1), 2017; Малайзия (3), 2016; Англия (4), 2014, 2009, 2010; Мексика (2), 2013; Венесуэла (2), 2018; Чили (2), 2015	Азовское море (4), 2015–2019; Черное море (1), 2015; Приморский край (14), 2009–2020

на территории Приморского края, из них 3 культуры от больного во Владивостоке в 2008 г. и 28 культур при вспышках в Уссурийске и пос. Славянка Хасанского района в 2012 г. И только 1 штамм INDEL-генотипа D2 был изолирован из морской воды в Таганроге в 2015 г.

Таблица 3

Мажорные INDEL-генотипы на территории Российской Федерации

Генотип	Число штаммов	Регион, год
D2	32	Славянка, 2012 (28); Владивосток, 2008 (3); Таганрог (1)
O1	18	Владивосток, 2018, 2019, 2020
O2	19	Владивосток, 2018, 2019, 2020
N1	13	Владивосток, 2021; Новороссийск, 2012
N2	14	Владивосток, 2018–2020

Обсуждение

При изучении вариабельности штаммов в соответствии с географической принадлежностью установлено, что мажорные генотипы (C2, H2, L2, N1, N2, O1 и O2) укоренились в своих регионах (Китай и США). Это подтверждается сохранением и циркуляцией вибрионов данных INDEL-генотипов на одной территории в течение долгого времени, именно в указанных регионах выделяют преобладающее количество штаммов. Согласуется это и с литературными сведениями о том, что *V. parahaemolyticus* является ведущим патогеном пищевого происхождения в Китае [16] и основной причиной гастроэнтерита, вызываемого морепродуктами, в США [17]. Штаммы минорных INDEL-генотипов, как правило, были выделены из объектов окружающей среды.

Особый интерес представляет вопрос распространения патогенных микроорганизмов на другие территории. Обращает внимания факт выделения в Перу в 2009 и 2017 гг. штаммов INDEL-генотипов L2 и O2, регистрируемых до этого в Китае. Ранее исследователями [18] было показано, что вспышка, которая произошла в 2009 г. в городах Республики Перу, обусловлена изолятами *V. parahaemolyticus*, принадлежащими к одному клональному комплексу, прежде описанному исключительно в Азии. Это не первый случай интродукции азиатских популяций патогенного *V. parahaemolyticus* на Тихоокеанское побережье Южной Америки. Как предполагается, такое может быть опосредовано действием Эль-Ниньо, за счет которого область нагретых приповерхностных вод смещается к востоку [18].

Штаммы, выделенные в 2012 г. в Испании и США, отнесены к одним и тем же INDEL-генотипам C2 и N2. Генетическое сходство этих штаммов подтверждается литературными данными о том, что летом 2012 г. вспышки инфекции *V. parahaemolyticus*, вызванные одинаковыми серотипами, произошли на Атлантическом побережье США и Испании и были связаны с потреблением морепродуктов. На общность данных «вспышечных» штаммов, полученных от пациентов из США и Испании, указывали результаты серологических тестов, ПЦР анализа на факторы вирулентности, гель-электрофореза в импульсном поле (PFGE) и метода типирования MLST. Вероятно, возможными механизмами распространения в окружающей среде и интродукции штаммов *V. parahaemolyticus* являются импорт и хранение живых зараженных двустворчатых моллюсков в местных водах, перенос штаммов с балластными водами на большие расстояния по океану в новые регионы. И в Нью-Йорке, и в Галисии ранее были вспышки инфекции *V. parahaemolyticus*, вызванной другими штаммами, что, видимо, обусловлено близостью крупных портов. Вспышки как в США, так и в Испании соответствовали во времени и пространстве более высоким, чем обычно, температурам поверхностной морской воды, что способствует увеличению распространения парегемолитических вибрионов [19].

Регистрация генотипов штаммов *V. parahaemolyticus*, не типичных для территорий, в отдельные годы отмечена также в Канаде, Испании, Индии и ряде других стран (табл. 2), что, вероятно, связано с заносом возбудителя на эти территории.

Стоит отметить, что штаммы, выделенные в Германии, представлены только двумя изолятами, отнесенными к генотипу N1 и L1. Штамм INDEL-генотипа N1 выделен в Германии из вод залива Балтийского моря (Килер-Фёрде) в 2009 г., а L1 – из вод Северного моря (порт Дагебюль) в 2011 г. Отсутствие укоренения штаммов в акваториях Германии, вероятно, связано с температурой воды, которая значительно ниже по сравнению с тропическими морями. Распространение парегемолитических вибрионов в морской среде напрямую связано с температурой воды, и данный микроорганизм редко выявляется при температуре ниже 15 °, однако из-за глобального потепления на побережье Балтийского моря летом может возрасти количество инфекций, вызванных появлением в воде вибрионов [20].

Встречаемость «мировых» мажорных генотипов у штаммов, выделенных в Российской Федерации, говорит о периодических заносах этих штаммов на территорию нашей страны. Так, штаммы генотипа C2, общее количество которых составило 252 и которые в течение нескольких лет выделялись на территории США (2008–2019 гг.), Китая (2008–2018 гг.) и Перу (2011–2016 гг.), в России были обнаружены только в 2019 г. на территории Приморского края (г. Владивосток). Изоляты генотипа N2, циркулирующие в США (2008–2017 гг.), Китае (2008–2017 гг.), Перу (2015–2017 гг.), были выделены в Таганроге в 2015 г. и Геленджике в 2020 г. Парагемолитические вибрионы генотипа L2, укоренившиеся в Китае, США и Перу, также были изолированы в Владивостоке и Таганроге только в 2019 г. и Новороссийске в 2015 г. Штаммы INDEL-генотипов N1, N2, O1, O2 оказались

преобладающими среди выделенных в Российской Федерации и циркулировали в отдельных регионах в течение нескольких лет.

В результате оценки INDEL-профилей, полученных при типировании *in vitro* коллекционных штаммов паразитических вибрионов, изолированных в Российской Федерации, выявлен генотип D2, который был представлен большинством изолятов и характерен только для Приморского края Российской Федерации. Штамм данного генотипа, выделенный из воды Азовского моря у г. Таганрог, можно считать завозным.

Заключение

В ходе проведенной работы показано, что предлагаемый метод INDEL-типирования *V. parahaemolyticus* на основании распределения аллелей 6 локусов является полезным инструментом для изучения молекулярной эпидемиологии, позволяющим выявлять особенности территориального распределения различных генотипов штаммов, и может быть успешно использован в эпидемиологическом надзоре при расследовании вспышек заболеваний. Указанный способ INDEL-типирования эффективен при анализе результатов полногеномного секвенирования вибрионов из международных баз данных в формате *in silico*, а также для типирования *in vitro* штаммов *V. parahaemolyticus*, выделенных в различных регионах Российской Федерации. Было выявлено 30 уникальных INDEL-генотипов, которые на основе кластерного анализа распределились между 15 кластерами. При этом установлено существование 7 «мировых» мажорных генотипов. Среди 17 INDEL-генотипов штаммов, выделенных на территории Российской Федерации, преобладающим оказался D2, который в мире нигде больше обнаружен не был. Полученные результаты изучения генотипов штаммов *V. parahaemolyticus* позволяют говорить об их географической привязанности к определенной территории, а встречаемость штаммов паразитических вибрионов различных INDEL-генотипов в разных регионах связано с их широким распространением с балластными водами судов и по путям транспорта морепродуктов, что согласуется с литературными данными [21, 22]. Также одной из движущих сил распространения вибрионов, по-видимому, являются океанские течения.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Wang R.Z., Huang J.D., Zhang W. et al. Detection and identification of *Vibrio parahaemolyticus* by multiplex PCR and DNA-DNA hybridization on a microarray // J. Genet. Genomics. 2011. Vol. 38. P. 129–135. DOI: 10.1016/j.jgg.2011.02.002.
2. Broberg C.A., Calder T.J., Orth K. *Vibrio parahaemolyticus* cell biology and pathogenicity determinants // Microbes Infect. 2011. Vol. 13. P. 992–1001. DOI: 10.1016/j.micinf.2011.06.013.
3. Zhang L., Orth K. Virulence determinants for *Vibrio parahaemolyticus* infection // Curr. Opin. Microbiol. 2013. Vol. 16 (1). P. 70–77. DOI: 10.1016/j.mib.2013.02.002.
4. Nair G.B., Ramamurthy T., Bhattacharya S.K. et al. Global dissemination of *Vibrio parahaemolyticus* serotype O3: K6 and its serovariants // Clin. Microbiol. Rev. 2007. Vol. 20, N1. P. 39–48. DOI: 10.1128/CMR.00025–06.
5. Yeung P.S., Boor K.J. Epidemiology, pathogenesis, and prevention of foodborne *Vibrio parahaemolyticus* infections // Foodborne Pathog. Dis. 2004. Vol. 1. P. 74–88. DOI: 10.1089/153531404323143594.
6. Velazquez-Roman J., Leon-Sicaire N., Hernandez-Diaz L., Canizalez-Roman A. Pandemic *Vibrio parahaemolyticus* O3: K6 on the American continent // Front. Cell. Infect. Microbiol. 2013. Vol. 3. P. 110. DOI: 10.3389/fcimb.2013.00110.
7. Маслов Д.В. Вспышка галофилеза среди населения города Владивостока Приморского края // Здоровье населения и среда обитания. 1997. № 12 (57). С. 17–21.

8. Ломов Ю.М., Кудрякова Т.А., Македонова Л.Д. и др. Галофильные вибрионы, обусловившие вспышку пищевой токсикоинфекции во Владивостоке // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 2001. № 6. С. 3–7.
9. Рыковская О.А., Мазрухо А.Б., Смоликова Л.М., Монахова Е.В., Чемисова О.С., Подойницына О.А. и др. *Vibrio parahaemolyticus* серогруппы O3: K6 – возбудитель вспышек пищевой токсикоинфекции в Приморском крае Российской Федерации // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 2013. № 4. С. 57–61.
10. Водопьянов А.С., Водопьянов С.О., Олейников И.П., Мишанькин Б.Н. INDEL-типирование штаммов *Vibrio cholerae* // Эпидемиол. и инфекцион. болезни. 2017. Т. 22 (4). С. 195–200. DOI: 10.18821/1560-9529-2017-22-4-195-200.
11. Liu F., Hu Y., Wang Q. et al. Comparative genomic analysis of *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates // BMC Genomics. 2014. Vol. 15, N1. P. 469. DOI: 10.1186/1471-2164-15-469.
12. Larsson P., Svensson K., Karlsson L. Canonical Insertion-Deletion markers for rapid DNA typing of *Francisella tularensis* // Emerg. Infect. Diseases. 2007. Vol. 13, N11. P. 1725–1732. DOI: 10.3201/eid1311.070603.
13. Чемисова О.С., Водопьянов А.С. Рыковская О.А. и др. Молекулярное типирование штаммов *Vibrio parahaemolyticus* на основе INDEL-маркеров // Инфекцион. болезни. 2018. № 7 (3). С. 26–30. DOI: 10.24411/2305-3496-2018-13004.
14. Мишанькин Б.Н., Водопьянов А.С., Ломов Ю.М. Мультилокусное VNTR-типирование культур холерных вибрионов, выделенных в г. Казань во время вспышки холеры летом 2001 года // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 2003. № 6. С. 11–15.
15. Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., Kumar S. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods // Mol. Biol. Evol. 2011. Vol. 28. P. 2731–2739.
16. Xiao Chen, Qiaoyun Zhu, Fei Yu, Wen Zhang et al. Serology, virulence and molecular characteristics of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from seafood in Zhejiang province // PLOS One. 2018. Vol. 13, N 10. e0204892. DOI: 10.1371/journal.pone.0204892.
17. Scallan E., Hoekstra R.M., Angulo F.J. et al. Foodborne Illness Acquired in the United States-Major Pathogens // Emerg. Infect. Dis. 2011. Vol. 17. P. 7–15. DOI: 10.3201/eid1701.P11101.
18. Martinez-Urtaza J., Huapaya B., Gavilan R.G. et al. Emergence of Asiatic *Vibrio* diseases in South America in phase with El Niño // Epidemiology. 2008. Vol. 19, N 6. P. 829–837. DOI: 10.1097/EDE.0b013e3181883d43.
19. Martinez-Urtaza J., Baker-Austin C., Jones J.L. et al. Spread of Pacific Northwest *Vibrio parahaemolyticus* // N. Engl. J. Med. 2013. Vol. 369. P. 1573–1574. DOI: 10.1056/NEJMc1305535.
20. Kaneko T., Colwell R.R. Ecology of *Vibrio parahaemolyticus* in Chesapeake Bay // J. Bacteriol. 1973. Vol. 113, N 1. P. 24–32. DOI: 10.1128/jb.113.1.24-32.1973.
21. Бузолева Л.С., Летягина А.В., Звягинцев А.Ю., Кашин И.А. Исследование микроорганизмов, поступающих в порт Владивостока с балластными водами судов // Рос. журн. биол. инвазий. 2012. № 5 (1). С. 19–31.
22. Водяницкая С.Ю., Прометной В.И., Телесманич Н.Р., Рыжков Ю.В., Лях О.В., Трут И.В., Иванова Н.Г., Кругликов В.Д., Чемисова О.С. Результаты трехлетнего мониторинга судовых балластных вод в портах Ростовской области // Пробл. особо опасных инфекций. 2014. № 2. С. 108–110. DOI: 10.21055/0370-1069-2014-2-108-110.

REFERENCES

1. Wang R.Z., Huang J.D., Zhang W. et al. Detection and identification of *Vibrio parahaemolyticus* by multiplex PCR and DNA-DNA hybridization on a microarray. *Journal of Genetics and Genomics*. 2011;38:129-135. DOI: 10.1016/j.jgg.2011.02.002.
2. Broberg C.A., Calder T.J., Orth K. *Vibrio parahaemolyticus* cell biology and pathogenicity determinants. *Microbes and Infection*. 2011;13:992-1001. DOI: 10.1016/j.micinf.2011.06.013.
3. Zhang L., Orth K. Virulence determinants for *Vibrio parahaemolyticus* infection. *Current Opinion in Microbiology*. 2013;16(1):70-77. DOI: 10.1016/j.mib.2013.02.002.
4. Nair G.B., Ramamurthy T., Bhattacharya S.K. et al. Global dissemination of *Vibrio parahaemolyticus* serotype O3:K6 and its serovariants. *Clinical Microbiology Reviews*. 2007;20(1):39-48. DOI: 10.1128/CMR.00025-06.
5. Yeung P.S., Boor K.J. Epidemiology, pathogenesis, and prevention of foodborne *Vibrio parahaemolyticus* infections. *Foodborne Pathogens and Disease*. 2004;1:74-88. DOI: 10.1089/153531404323143594.

6. Velazquez-Roman J., Leon-Sicaire N., Hernandez-Diaz L., Canizalez-Roman A. Pandemic *Vibrio parahaemolyticus* O3:K6 on the American continent. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2013;3:110. DOI: 10.3389/fcimb.2013.00110.
7. Maslov D.V. Vspyshka galofileza sredi naseleniya goroda Vladivostoka Primorskogo kraya = [An outbreak of halophilosis among the population of the city of Vladivostok, Primorsky Krai]. *Public Health and Life Environment*. 1997;57(12):17-21. (In Russ.).
8. Lomov Yu.M., Kudryakova T.A., Makedonova L.D. et al. Galofil'nye vibriony, obuslovivshie vspyshku pishchevoj toksikoinfekcii vo Vladivostoke = [Halophilic vibrios that caused the outbreak of food toxicoinfection in Vladivostok]. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2001;(6):3-7. (In Russ.).
9. Rykovskaya O.A., Mazruho A.B., Smolikova L.M., Monahova E.V., Chemisova O.S., Podojnicyna O.A. et al. *Vibrio parahaemolyticus* serogruppy O3:K6 – vozбудitel' vspyshkek pishchevoj toksikoinfekcii v Primorskom krae Rossijskoj Federacii = [*Vibrio parahaemolyticus* of serogroup O3:K6 is the causative agent of outbreaks of food toxicoinfection in the Primorsky Territory of the Russian Federation]. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunology*. 2013;(4):57-61. (In Russ.).
10. Vodopyanov A.S., Vodopyanov S.O., Olejnikov I.P., Mishankin B.N. INDEL-genotyping of vibrio cholerae strains. *Epidemiology and Infectious Diseases*. 2017;22(4):195-200. (In Russ.). DOI: 10.18821/1560-9529-2017-22-4-195-200.
11. Liu F., Hu Y., Wang Q. et al. Comparative genomic analysis of *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates. *BMC Genomics*. 2014;15(1):469. DOI: 10.1186/1471-2164-15-469.
12. Larsson P., Svensson K., Karlsson L. Canonical Insertion-Deletion markers for rapid DNA typing of *Francisella tularensis*. *Emerging Infectious Diseases*. 2007;13(11):1725-1732. DOI: 10.3201/eid1311.070603.
13. Chemisova O.S., Vodopyanov A.S., Rykovskaya O.A. et al. Molecular typing of the *Vibrio parahaemolyticus* strains by INDEL markers. *Infectious Diseases*. 2018;7(3):26-30. (In Russ.). DOI: 10.24411/2305-3496-2018-13004.
14. Mishankin B.N., Vodopyanov A.S., Lomov Yu.M. Mul'tilokusnoe VNTR-tipirovanie kul'tur holernykh vibriionov, vydelennykh v g. Kazan' vo vremya vspyshki holery letom 2001 goda = [Multilocus VNTR genotyping of the cultures of *Vibrio cholerae* isolated in Kazan the outbreak of cholera in summer of 2001]. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunology*. 2003;(6):11-15. (In Russ.).
15. Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., Kumar S. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*. 2011;28:2731-2739.
16. Xiao Chen, Qiaoyun Zhu, Fei Yu, Wen Zhang et al. Serology, virulence and molecular characteristics of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from seafood in Zhejiang province. *PLOS One*. 2018;13(10). e0204892. DOI: 10.1371/journal.pone.0204892.
17. Scallan E., Hoekstra R.M., Angulo F.J. et al. Foodborne Illness Acquired in the United States-Major Pathogens. *Emerging Infectious Diseases*. 2011;17:7-15. DOI: 10.3201/eid1701.P11101.
18. Martinez-Urtaza J., Huapaya B., Gavilan R.G. et al. Emergence of Asiatic *Vibrio* diseases in South America in phase with El Niño. *Epidemiology*. 2008;19(6):829-837. DOI: 10.1097/EDE.0b013e3181883d43.
19. Martinez-Urtaza J., Baker-Austin C., Jones J.L. et al. Spread of Pacific Northwest *Vibrio parahaemolyticus*. *New England Journal of Medicine*. 2013;369:1573-1574. DOI: 10.1056/NEJMc1305535.
20. Kaneko T., Colwell R.R. Ecology of *Vibrio parahaemolyticus* in Chesapeake Bay. *Journal of Bacteriology*. 1973;113(1):24-32. DOI: 10.1128/jb.113.1.24-32.1973.
21. Buzoleva L.S., Letyagina A.V., Zvyagincev A.Yu., Kashin I.A. Investigation of microorganisms entering the port of Vladivostok with ballast waters of ships. *Russian Journal of Biological Invasions*. 2012;5(1):19-31. (In Russ.).
22. Vodyanitskaya S.Yu., Prometnoy V.I., Telesmanich N.R., Ryzhkov Yu.V., Lyakh O.V., Trut I.V., Ivanova N.G., Kruglikov V.D., Chemisova O.S. Results of the triennial monitoring over the ship's ballast water at the ports of the Rostov Region. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2014;(2):108-110. (In Russ.). DOI: 10.21055/0370-1069-2014-2-108-110.