

С.П.Заднова, Т.А.Кульшань, Н.Б.Челдышова, А.А.Крицкий, Н.А.Плеханов, Н.И.Смирнова

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВЫЖИВАЕМОСТИ ТИПИЧНЫХ ШТАММОВ И ШТАММОВ ГЕНОВАРИАНТОВ *VIBRIO CHOLERAЕ* БИОВАРА ЭЛЬ ТОР *IN VITRO* И *IN VIVO*

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

Цель исследования состояла в проведении экспериментов по изучению выживаемости токсигенных штаммов геновариантов *V. cholerae* биовара Эль Тор в автоклавированной речной воде и организме лабораторных животных в сравнении с типичными штаммами. В результате установлено, что в автоклавированной речной воде геноварианты так же, как и типичные Эль Тор вибрионы выживали длительное время (свыше пяти месяцев). При этом количество микробных клеток в популяции типичных штаммов со временем уменьшалось, в то же время в штаммах геновариантов в период между 7-ми и 21-ми сутками наблюдался рост штаммов. На 7-е сутки КОЕ штаммов геновариантов превышало количество бактерий типичных штаммов в 1,5–2,5 раза, на 21-е – в 1,8–3,0 раза. Селективное преимущество геновариантов было также подтверждено при постановке конкурентной пробы *in vitro* (речная вода) с типичными штаммами. Геноварианты доминировали над типичными штаммами *V. cholerae* биовара Эль Тор и в смешанной популяции *in vivo* (биопробные животные). Так, КОЕ штаммов геновариантов при высеве кишечного содержимого и гомогената кишечной стенки превышало число клеток типичных штаммов в 1,25–84,0 раза. Высказано предположение, что одной из причин селективного преимущества геновариантов может быть их более высокий уровень адаптации в результате изменения метаболической активности клеток. Выявленная способность токсигенных штаммов геновариантов не только длительное время сохраняться в водоемах нашей страны, но и размножаться в них создает неблагоприятный прогноз по холере.

Ключевые слова: геноварианты *V. cholerae* биовара Эль Тор, выживаемость, речная вода, лабораторные животные.

S.P.Zadnova, T.A.Kul'shan', N.B.Cheldyshova, A.A.Kritsky, N.A.Plekhanov, N.I.Smirnova

Comparative Analysis of Survival Capacity among Typical and Genovariant Strains of *Vibrio cholerae*, Biovar El Tor *in vivo* and *in vitro*

Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation

Objective of the study was to conduct experiments on survival capacity of toxigenic genovariant strains as compared to typical strains of *V. cholerae*, biovar El Tor in autoclaved river water and in the organism of laboratory animals. Consequently, it was determined that both, genovariant and typical El Tor vibrios, sustained for a significant period of time (more than 5 months) in the river water, though a number of the bacterial cells in the population of the typical ones gradually decreased, while in the genovariant strains – the growth was observed in between the 7th and 21st day. CFU of the genovariants was 1.5–2.5 and 1.8–3.0 times higher than the amount of typical strain bacteria on the day 7 and day 21, respectively. Selective advantage of genovariants was also confirmed by competitive test *in vitro*. Furthermore, genovariants dominated over typical strains of *V. cholerae*, biovar El Tor in the mixed population *in vivo* (bioassay animals): CFU of the genovariants 1.25–84.0 times exceeded that of the typical strains when seeding out the contents of intestine and gastrointestinal wall homogenate. Put forward was an assumption that one of the factors for genovariant selective advantage might be enhanced adaptation ability affected by changes of cell metabolic activity. Identified capacity of genovariant toxigenic strains – not only to sustain in open water bodies of our country, but also to propagate in there, creates unfavorable epidemiological situation on cholera.

Key words: genovariants of *Vibrio cholerae*, biovar El Tor, survival capacity, river water, laboratory animals.

Способность выживать и размножаться в различных условиях внешней среды является одним из важных свойств многих патогенных бактерий и предпосылкой для развития инфекционных болезней. К данной группе патогенов относится и холерный вибрион – *Vibrio cholerae*, который может существовать как в организме человека, так и в воде открытых водоемов. При попадании в кишечник человека токсигенные штаммы *V. cholerae* O1 и O139 серогрупп продуцируют факторы вирулентности, необходимые для преодоления защитной системы хозяина, и вызывают холеру – особо опасную инфекционную болезнь, характеризующуюся профузной диареей и способной к быстрому эпидемическому распространению. Во

внешней среде активно экспрессируются гены персистенции, способствующие адаптации *V. cholerae* при смене среды обитания и выживанию в данных условиях [8, 10]. В результате интенсивного изучения вопросов экологии холерного вибриона установлено, что типичные токсигенные штаммы *V. cholerae* биовара Эль Тор, вызвавшие начало текущей, 7-й, пандемии холеры в отличие от штаммов *V. cholerae* классического биовара (возбудителя предыдущей 6-й пандемии холеры) способны быстро адаптироваться при смене среды обитания и длительное время сохраняться во внешней среде [1, 2, 7, 8, 11].

В настоящее время возбудителями холеры являются токсигенные штаммы геновариантов

V. cholerae биовара Эль Тор, содержащих в профаге вирулентности СТХф классический аллель гена *ctxB* (или *ctxB1*) и отличающихся от типичных Эль Тор вибрионов повышенной вирулентностью [12]. Геноварианты *V. cholerae* биовара Эль Тор получили глобальное распространение в мире, вытеснив на эндемичной территории типичные штаммы, и с 1993 г. явились причиной всех вспышек и спорадических случаев холеры, зарегистрированных в Российской Федерации [3, 5, 6]. В последние годы (2005, 2011, 2014) геноварианты обнаруживаются и при мониторинговых исследованиях в воде открытых водоемов на разных территориях России [4]. При этом, несмотря на активно проводимый молекулярно-генетический анализ, вопросы экологии штаммов геновариантов изучены недостаточно. В связи с вышеизложенным цель нашего исследования состояла в проведении экспериментов по изучению выживаемости токсигенных штаммов геновариантов *V. cholerae* биовара Эль Тор в автоклавированной речной воде и организме лабораторных животных в сравнении с типичными штаммами.

Материалы и методы

В работе были использованы 46 штаммов *V. cholerae* биовара Эль Тор, выделенных от больных, носителей и внешней среды в 1970–2012 гг. и хранящихся в лиофилизированном состоянии в Государственной

коллекции патогенных бактерий (РосНИПЧИ «Микроб», Саратов). Среди изученных 24 штамма относились к типичным Эль Тор вибрионам, а 22 – к геновариантам *V. cholerae* биовара Эль Тор (табл. 1). Культивирование штаммов осуществляли на среде LB в течение 16–18 ч при температуре 37 °С.

Для определения выживаемости штаммов в водной среде из агаровой культуры каждого штамма готовили взвесь $1 \cdot 10^9$ КОЕ/мл, используя в качестве стандарта отраслевой стандартный образец СОС 42-28-59-86П. Затем 0,5 мл приготовленной взвеси помещали во флаконы с 50 мл автоклавированной речной воды.

Конкурентные способности штаммов определяли по методу R.Freter *et al.* [9] с модификациями путем посева смеси клеток двух сравниваемых штаммов в стерилизованную речную воду и последующего сравнения их выживаемости. Из бактериальных культур тестируемых штаммов, выращенных на LB агаре при температуре 37 °С, готовили суспензии одинаковой оптической плотности, определяя ее на спектрофотометре «Biowave DNA» (США). Полученные суспензии разводили до концентрации $1 \cdot 10^7$ м.к. Взвеси сравниваемых штаммов вносили по 0,5 мл в 4,5 мл стерилизованной речной воды так, чтобы конечная концентрация каждого штамма составляла $5 \cdot 10^6$ м.к./мл. Кроме того, параллельно каждый из сравниваемых штаммов помещали в отдельную пробирку со стерильной речной водой в той же концентрации для

Таблица 1

Штаммы *V. cholerae* биовара Эль Тор, использованные в работе

Штамм	Место и год выделения	Источник выделения
<i>Типичные штаммы Эль Тор вибрионов</i>		
M818	Саратов, 1970	Больной
M886, M887, M888, M889, M890, M892, M893, M905, M943, M982, M1055	Астрахань, 1970	Больные
M1061	Астрахань, 1970	Вибрионоситель
M1062	Астрахань, 1970	Контактный
P3644, P3646, M962	Астрахань, 1970, 1972	Внешняя среда
M1011	Башкирия, 1972	Больной
M641, M642	Астрахань, 1975	Контактные
M1261, C402	Пермь, Ставрополь, 1990	Больной
P14380, P14376	Ростов-на-Дону, 1990	Больной
<i>Геноварианты</i>		
M1270	Казань, 1993	Больной
M1298, M1299, M1264	Краснодар, 1993	Больные
M1275, M1293	Дагестан, 1993, 1994	Больные
M1266, M1268	Пермь, Магнитогорск, 1994	Больные
P17644, P17645	Иркутск, 1997	Больные
M1326, M1328	Дагестан, 1998	Больной
M1344, M1345	Казань, 2001	Больной
M1429	Башкирия, 2004	Больной
M1430	Тверь, 2005	Больной
P18899	Мурманск, 2006	Больной
L3225, L3226, L4150	Москва, 2010	Больные
301	Таганрог, 2011	Внешняя среда
M1509	Москва, 2012	Больной

учета характера роста и выживаемости. Высевы делали на 4–7, 8–11, 15–24 и 71-е сутки совместного культивирования тестируемых штаммов на чашки с LB агаром, содержащим соответствующий антибиотик, подсчитывая число выросших колоний.

Постановку конкурентной пробы *in vivo* проводили в лигированных петлях тонкой кишки взрослых кроликов [13] с небольшими модификациями. В лигированные петли длиной 10–12 см вводили 1 мл суспензии, содержащей смесь клеток двух штаммов (типичный и геновариант) в концентрации $5 \cdot 10^6$ КОЕ/мл каждого штамма. Через 24 ч после заражения животных забивали хлороформом, вскрывали брюшную полость, извлекали петли тонкого кишечника. Отбирали кишечное содержимое лигированных петель и забирали их отрезки длиной 3 см. Взятые отрезки растирали в фарфоровой ступке с 1 см³ стерильного кварцевого песка и 5 мл 0,9 % раствора хлорида натрия. Затем из соответствующих разведений кишечного содержимого и растертых стенок тонкого кишечника делали высев на LB агар, содержащий определенный антибиотик, и подсчитывали число выросших колоний. Эксперименты на биомоделях проводили с соблюдением принципов гуманного обращения с лабораторными животными.

Выделение ДНК осуществляли с использованием коммерческого набора «ДНК-сорб В» в соответствии с инструкцией производителя из суспензии бактериальных клеток, предварительно обработанных мертиолятом натрия до конечной концентрации 1:10000 (0,01 %) и прогретых при 56 °С в течение 30 мин согласно МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности». При постановке полимеразной цепной реакции использовали олигонуклеотидные праймеры, описанные ранее [6] и синтезированные в ЗАО «Синтол» (Россия). Амплификацию ДНК осуществляли на программируемом амплификаторе «Терцик» («ДНК-Технология», Россия). Полученные продукты анализировали методом электрофореза в 2 % агарозном геле.

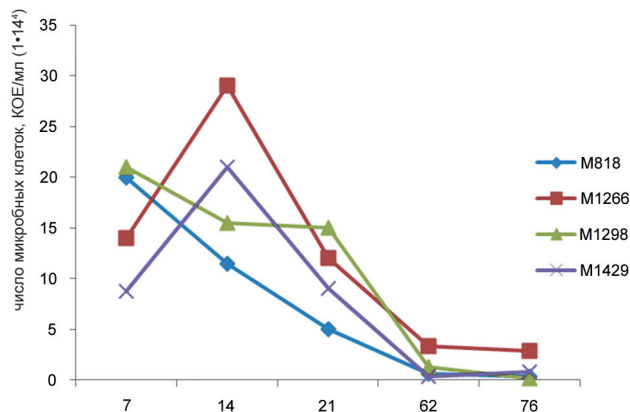
Результаты и обсуждение

На первом этапе работы все взятые штаммы были проверены с помощью ПЦР-тестирования на наличие 30 генов, входящих в состав мобильных генетических элементов (профагов СТХφ (*ctxA*, *ctxB*, *zot*, *ace*, *cep*, *orfU*, *rstR*, *rstA*, *rstB*) и RS1φ (*rstC*), островов патогенности VPI-1 (*mop*, *tcpA*, *tcpB*, *aldA*, *tcpH*, *tcpP*, *toxT*) и VPI-2 (*hel1760*, *nanH*, *rep1803*), островов пандемичности VSP-I (*deo175*, *tnp0185*, *pro0490*) и VSP-II (*vc0514*, *vc0502*) и коровой части хромосомы (*mshA*, *attRS*, *toxR*, *rtxA*, *hapA*). В результате установлено, что независимо от года, территории и источника выделения как типичные штаммы, так и геноварианты содержали тестируемые гены мобильных генетических элементов и коровой обла-

сти хромосомы и являлись вирулентными.

Затем исследованные штаммы были помещены в одинаковые условия, моделирующие пребывание холерных вибрионов в естественной водной среде. В качестве среды обитания использовали автоклавированную речную воду. Посевы инкубировали при комнатной температуре (20–22 °С), делая высевы на чашки с питательным агаром через каждые семь дней по 0,1 мл контаминированной речной воды на протяжении всего срока наблюдения. В результате установлено, что изученные штаммы геновариантов *V. cholerae* биовара Эль Тор так же, как и типичные Эль Тор вибрионы, способны длительное время (свыше пяти месяцев, срок наблюдения) выживать в речной воде при комнатной температуре. Однако геноварианты лучше адаптировались в данной среде. Так, нами было выявлено, что количество микробных клеток в популяции типичных штаммов со временем уменьшалось, в то же время снижение КОЕ в популяции всех изученных штаммов геновариантов происходило скачкообразно и наблюдались периоды увеличения количества высеваемых бактерий, что указывает на рост штаммов (рисунок). При этом рост штаммов наблюдался в период между 7-ми и 21-ми сутками. Так, на 7-е сутки КОЕ штаммов геновариантов превышало количество бактерий типичных штаммов в 1,5–2,5 раза, а на 21-е – в 1,8–3,0 раза. В последующие дни количество бактерий геновариантов также постепенно снижалось.

Согласно данным литературы, с приобретением нового генетического материала (аллель *ctxB1*) в штаммах геновариантов не только повысилась вирулентность, но и изменился метаболизм клеток [15]. Выявленная нами способность штаммов геновариантов расти в условиях недостатка питательных веществ, возможно, связана с их лучшей адаптацией к изменяющимся условиям внешней среды. Повышение адаптационных способностей могло произойти в результате изменения метаболической активности клеток и повышения скорости их роста. Однако для подтверждения данного предположения необходимы дополнительные исследования.



Динамика выживаемости некоторых типичных штаммов и геновариантов *V. cholerae* биовара Эль Тор в речной воде (приведены средние данные трех экспериментов):

M818 – типичный штамм; M1266, M1298, M1429 – геноварианты

Таким образом, исследованные штаммы геновариантов *V. cholerae* биовара Эль Тор при попадании в речную воду способны не только в ней сохраняться, но и увеличивать численность популяции, в отличие от типичных штаммов, популяция которых постепенно погибала.

Учитывая, что геноварианты в настоящее время полностью вытеснили типичные штаммы *V. cholerae* биовара Эль Тор на эндемичной территории, на следующем этапе исследований мы определяли конкурентную способность типичных штаммов и геновариантов при их совместном обитании в водной среде и в организме лабораторных животных. Для проведения данных исследований были подобраны три пары токсигенных штаммов, выделенных на территории России в разные периоды текущей пандемии. Типичные штаммы (M1011, M1062, M893) были изолированы в 1970–1972 гг., штаммы геновариантов (M1270, P17644, 301) – в 1993–2011 гг. (табл. 1). Предварительно для дифференциации штаммов были получены клоны, резистентные к определенному антибиотику – спектиномицину (M1270 Sp^R, P17644 Sp^R, 301 Sp^R), рифампицину (M1062 Rif^R, M893 Rif^R) и канамицину (M1011 Km^R). За весь период наблюдения было установлено, что в бактериальных популяциях типичные штаммы имели более низкий уровень выживаемости по сравнению с геновариантами (табл. 2).

Так, в конкурентной пробе M1011 Km^R и M1270 Sp^R количество геновариантов уже на 2-е сутки превышало количество типичных штаммов в 38,8 раз. На 6-е сутки их совместной инкубации наблюдалось отсутствие роста на среде с канамицином типичных штаммов *V. cholerae* биовара Эль Тор на фоне активного роста на среде со спектиномицином геновариантов, чья популяция сократилась незначительно. Подобная картина наблюдалась и при высеве других сравниваемых штаммов бактерий из конкурентных проб. В популяции штаммов 301Sp^R и M893Rif^R на 4-е сутки исследования уровень обоих штаммов клеток был примерно одинаковым. Однако на 18-е и 20-е сутки КОЕ типичных штаммов было соответственно в 2,5 и 3,2 раза меньше, чем генова-

риантов, а в пробе M1062Rif^R/P17644Sp^R КОЕ геновариантов превышало количество бактерий у типичных штаммов в указанные периоды времени в 1,7 и 11,0 раз (табл. 2).

При совместном культивировании типичных штаммов и геновариантов *V. cholerae* биовара Эль Тор в речной воде при комнатной температуре уровень выживаемости геновариантов был гораздо выше, чем типичных штаммов.

Особый интерес представляло сравнение жизнеспособности типичных штаммов и геновариантов *V. cholerae* биовара Эль Тор в организме чувствительных лабораторных животных. В связи с этим следующим этапом работы явилась постановка конкурентной пробы указанных выше пар штаммов в лигированных петлях тонкой кишки взрослых кроликов. В результате установлено, что как при высевах кишечного содержимого, так и гомогената кишечной стенки количество клеток штаммов геновариантов *V. cholerae* биовара Эль Тор в трех изучаемых парах превышало число клеток типичных штаммов в 1,25–84,0 раза (табл. 2).

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что изученные штаммы геновариантов *V. cholerae* биовара Эль Тор способны не только длительное время выживать в речной воде, но и размножаться в ней. Увеличение численности популяции токсигенных штаммов геновариантов, отличающихся повышенной вирулентностью, при попадании их в поверхностные водоемы нашей страны в летнее время создаст реальную угрозу попадания их в организм человека и развития заболевания. Также показано, что и в речной воде, и в организме биопробных животных в смешанной популяции геноварианты доминируют над типичными штаммами *V. cholerae* биовара Эль Тор уже через короткий период их совместного обитания. Возможно, одной из причин селективного преимущества геновариантов в природных популяциях является их более высокий уровень адаптации к окружающей среде по сравнению с типичными штаммами в результате изменения метаболической активности клеток. Дальнейшее изучение механизмов выживания штаммов геновари-

Таблица 2

Результаты определения выживаемости типичных штаммов и геновариантов *V. cholerae* биовара Эль Тор в речной воде и в лигированных петлях тонкой кишки взрослых кроликов, по данным конкурентной пробы

Штаммы	Количество КОЕ/мл*, определенное в водной среде через					Кишечное содержимое, КОЕ/мл*	Стенки тонкого кишечника, КОЕ/мл*
	2 сут	4 сут	6 сут	18 сут	20 сут		
M1011 Km ^R	2,4·10 ⁴	1,06·10 ⁴	0	0	н.о.	0,03·10 ⁸	0,02·10 ⁸
M1270 Sp ^R	9,32·10 ⁵	8,22·10 ⁵	6,4·10 ⁴	4,5·10 ⁴	н.о.	2,52·10 ⁸	3,35·10 ⁸
M1062 Rif ^R	н.о.	2,0·10 ⁴	н.о.	1,05·10 ⁴	1,0·10 ³	0,65·10 ⁸	0,65·10 ⁸
P17644 Sp ^R	н.о.	6,04·10 ⁴	н.о.	2,5·10 ⁴	1,1·10 ⁴	1,64·10 ⁸	0,87·10 ⁸
M893 Rif ^R	н.о.	5,1·10 ⁵	н.о.	1,24·10 ⁴	1,0·10 ⁴	4,0·10 ⁶	1,64·10 ⁸
301 Sp ^R	н.о.	5,3·10 ⁵	н.о.	4,0·10 ⁴	3,2·10 ⁴	5,0·10 ⁶	2,4·10 ⁸

Примечания: н.о. – не определяли; M1270 Sp^R, P17644 Sp^R, 301 Sp^R – геноварианты; M1011 Km^R, M1062 Rif^R, M893 Rif^R – типичные штаммы; КОЕ/мл* – средние значения 3 экспериментов.

антов, а также выявление факторов внешней среды (макроорганизма), обеспечивающих им селективное преимущество, может внести существенный вклад в понимание природы адаптационной изменчивости *V. cholerae*.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бароян О.В. Холера Эль-Тор. 2-е изд. перераб. и доп. М.: Медицина; 1971. 256 с.
2. Марамонович А.С., Урбанович Л.Я., Куликалова Е.С., Шкаруба Т.Т. Роль и значение поверхностных водоемов в становлении и развитии VII пандемии холеры. *Эпидемиол. и инф. бол.* 2009; 2:21–6.
3. Миронова Л.В., Бадахонов С.В., Урбанович Л.Я., Кожевникова А.С., Половинкина В.С., Куликалова Е.С., Афанасьев М.В. Молекулярно-генетический анализ эпидемически опасных штаммов *Vibrio cholerae eltor*; изолированных в Сибирском и Дальневосточном регионах России. *Мол. генет., микробиол. и вирусол.* 2012; 2:13–21.
4. Москвитина Э.А., Адаменко О.Л., Кругликов В.Д., Титова С.В., Монахова Е.В., Писанов Р.В., Иванова С.М., Анисимова Г.Б. Холера: эпидемиологическая обстановка в мире в 2005–2014 гг., прогноз на 2015 г. *Пробл. особо опасных инф.* 2015; 1:18–25.
5. Савельев В.Н., Савельева И.В., Васильева О.В., Бабенышев Б.В., Ковалев Д.А., Грижебовский Г.М., Антоненко А.Д., Курбанов Ш.Х., Бутаев Т.М., Куличенко А.Н. Эволюция *Vibrio cholerae eltor* и обнаружение их генотипических вариантов на Кавказе. *Пробл. особо опасных инф.* 2012; 4(114):58–60.
6. Смирнова Н.И., Заднова С.П., Шашкова А.В., Кутырев В.В. Вариабельность генома измененных вариантов *Vibrio cholerae* биовара Эль-Тор, изолированных на территории России в современный период. *Мол. генет., микробиол. и вирусол.* 2011; 3:11–8.
7. Хайтович А.Б., Михайлова А.Е. Факторы сохранения холерных вибрионов в водоемах. *Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол.* 2000; 6:99–104.
8. Faruque S.M., Nair G.B. *Vibrio cholerae*: Genomics and Molecular Biology. Caister Academic Press; 2008.
9. Freter R., O'Brien P.C., Macsai M.S. Role of chemotaxis in the association of motile bacteria with intestinal mucosa: *in vivo* studies. *Infect. Immun.* 1981; 34(1):234–40.
10. Kaper J.B., Morris J., Levin M. Cholera. *Clin. Microbiol. Rev.* 1995; 8(1):48–89.
11. Lutz C., Erken M., Noorian P., Sun S., McDougald D. Environmental reservoirs and mechanism persistence of *Vibrio cholerae*. *Front. Microbiol.* 2013; 4:375. DOI: 10.3389/fmicb.2013.00375.
12. Nair G.B., Qadri F., Holmgren J., Svennerholm A.M., Safa A., Bhuiyan N.A., Ahmad Q.S., Faruque S.M., Faruque A.S.G., Takeda Y., Sack D.A. Cholera due to altered El Tor strains of *Vibrio cholerae* O1 in Bangladesh. *J. Clin. Microbiol.* 2006; 44(11):4211–3.
13. Pierce N.F., Cray W.C., Kaper J.B., Mekalanos J.J. Determinants of immunogenicity and mechanisms protection by virulent and mutant *Vibrio cholerae* O1 in rabbits. *Infect. Immun.* 1988; 56(1):142–8.
14. Son M.S., Megli C.J., Kovacicova G., Qadri F., Taylor R.K. Characterization of *Vibrio cholerae* O1 El Tor biotype variant clinical isolates from Bangladesh and Haiti, including a molecular genetic analysis of virulence genes. *Infect. Immun.* 2011; 49:3739–49.

References

1. Baroyan O.V. [Cholera El Tor]. Second edition. Updated and revised. M.: Meditsina; 1971. 256 p.
2. Maramovich A.S., Urbanovich L.Ya., Kulikalova E.S., Shkaruba T.T. [Role and significance of surface water bodies in emergence and development of the seventh cholera pandemic]. *Epidemiol. Infek. Bol.* 2009; 2:21–6.
3. Mironova L.V., Balakhonov S.V., Urbanovich L.Ya., Kozhevnikova A.S., Polovinkina V.S., Kulikalova E.S., Afanas'ev M.V. [Molecular-genetic analysis of epidemically hazardous *Vibrio cholerae eltor* strains isolated in Siberian and Far East Regions of the Russian Federation]. *Mol. Genet. Mikrobiol. Virusol.* 2012; 2:13–21.
4. Moskvitina E.A., Adamenko O.L., Kruglikov V.D., Titova S.V., Monakhova E.V., Pisanov R.V., Ivanova S.M., Anisimova G.B. [Cholera: epidemiological situation around the world in 2005–2014, and prognosis for 2015]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2015; 1:18–25.
5. Savel'ev V.N., Savel'eva I.V., Vasil'eva O.V., Babenyshev B.V., Kovalev D.A., Grizhebovsky G.M., Antonenko A.D., Kurbanov Sh.Kh., Butaev T.M., Kulichenko A.N. [Evolution of *Vibrio cholerae* El Tor and detection of their genovariants in the Caucasus]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2012; 4(114):58–60.
6. Smirnova N.I., Zadnova S.P., Shashkova A.V., Kutyrev V.V. [Genome variability in the altered variants of *Vibrio cholerae* biovar El Tor, isolated in the territory of Russia in the modern period]. *Mol. Genet. Mikrobiol. Virusol.* 2011; 3:11–8.
7. Khaïtovich A.B., Mikhailova A.E. [Factors contributing to cholera vibrio sustainability in surface water bodies]. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 2000; 6:99–104.
8. Faruque S.M., Nair G.B. *Vibrio cholerae*: Genomics and Molecular Biology. Caister Academic Press; 2008.
9. Freter R., O'Brien P.C., Macsai M.S. Role of chemotaxis in the association of motile bacteria with intestinal mucosa: *in vivo* studies. *Infect. Immun.* 1981; 34(1):234–40.
10. Kaper J.B., Morris J., Levin M. Cholera. *Clin. Microbiol. Rev.* 1995; 8(1):48–89.
11. Lutz C., Erken M., Noorian P., Sun S., McDougald D. Environmental reservoirs and mechanism persistence of *Vibrio cholerae*. *Front. Microbiol.* 2013; 4:375. DOI: 10.3389/fmicb.2013.00375.
12. Nair G.B., Qadri F., Holmgren J., Svennerholm A.M., Safa A., Bhuiyan N.A., Ahmad Q.S., Faruque S.M., Faruque A.S.G., Takeda Y., Sack D.A. Cholera due to altered El Tor strains of *Vibrio cholerae* O1 in Bangladesh. *J. Clin. Microbiol.* 2006; 44(11):4211–3.
13. Pierce N.F., Cray W.C., Kaper J.B., Mekalanos J.J. Determinants of immunogenicity and mechanisms protection by virulent and mutant *Vibrio cholerae* O1 in rabbits. *Infect. Immun.* 1988; 56(1):142–8.
14. Son M.S., Megli C.J., Kovacicova G., Qadri F., Taylor R.K. Characterization of *Vibrio cholerae* O1 El Tor biotype variant clinical isolates from Bangladesh and Haiti, including a molecular genetic analysis of virulence genes. *Infect. Immun.* 2011; 49:3739–49.

Authors:

Zadnova S.P., Kul'shan' T.A., Cheldyshova N.B., Kritsky A.A., Plekhanov N.A., Smirnova N.I. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Об авторах:

Заднова С.П., Кульшань Т.А., Челдышова Н.Б., Крицкий А.А., Плеханов Н.А., Смирнова Н.И. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Поступила 03.07.15.