

С.П.Заднова, И.М.Крепостнова, Ю.В.Лозовский

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СПОСОБНОСТИ К ФЕРМЕНТАЦИИ УГЛЕВОДОВ У ТИПИЧНЫХ ШТАММОВ И ГЕНОВАРИАНТОВ *VIBRIO CHOLERAЕ* БИОВАРА ЭЛЬ ТОР

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

Проведено сравнительное изучение способности 6 типичных штаммов и 10 геновариантов *V. cholerae* биовара Эль Тор, завезенных на территорию России, ферментировать различные углеводы. Выявлено, что геноварианты, как и типичные Эль Тор вибрионы, ферментируют маннозу, сахарозу, манит, но не активны в отношении к арабинозе и рамнозе. Однако показано, что у геновариантов по сравнению с типичными штаммами Эль Тор вибрионов снижена способность к ферментации глюкозы. Геноварианты, как и классические вибрионы, не растут на минимальной среде с 1 % содержанием глюкозы и не способны полностью ферментировать глюкозу до ацетилметилкарбинола в реакции Фогес-Проскауэра. Выдвигается гипотеза, что изменение метаболизма глюкозы в изученных штаммах геновариантов может быть связано с изменением механизма регуляции некоторых генов вирулентности.

Ключевые слова: холерный вибрион, генетически измененные варианты Эль Тор вибрионов, метаболизм глюкозы.

S.P.Zadnova, I.M.Krepostnova, Yu.V.Lofovsky

Comparative Analysis of the Ability to Ferment Carbohydrates in Typical Strains and Genovariants of *Vibrio cholerae* Biovar El Tor

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

Carried out is a comparative analysis of the ability to ferment various carbohydrates in the 6 typical strains and 10 genovariants of *V. cholerae* biovar El Tor, imported to the territory of the Russian Federation. It has been revealed that genovariants, as well as typical El Tor vibrios, ferment mannose, saccharose, and mannite, but are inactive against arabinose and rhamnose. However, it is demonstrated that genovariants, as compared to typical strains of El Tor vibrios, possess lowered capacity to ferment glucose. Both, genovariants and classical vibrios, do not grow on the minimal media with 1 % content of glucose, and are unable to fully ferment glucose up to acetylmethylcarbinol in Voges-Proskauer reaction test. Put forward is a hypothesis that alteration of glucose metabolism in the studied strains of genovariants is probably due to changes in regulating mechanism of some virulence genes.

Key words: cholera vibrio, genetically altered variants of El Tor vibrios, glucose metabolism.

В настоящее время пристальное внимание исследователей всего мира привлечено к изучению новых генетически измененных вариантов *V. cholerae* биовара Эль Тор с повышенной вирулентностью, появившихся в 1992 г. Данные штаммы в отличие от типичных Эль Тор вибрионов, вызвавших седьмую пандемию холеры, содержат в геноме профага СТХ классический аллель гена *ctxB* и синтезируют холерный токсин классического типа. Во многих эндемичных по холере районах данные геноварианты вытеснили типичного возбудителя холеры Эль Тор и заняли доминирующее положение [2, 13, 14]. На сегодняшний день детально изучено строение генома геновариантов, выделенных в различных странах мира, проведено полногеномное секвенирование нескольких штаммов. При фенотипическом анализе выявлено, что геноварианты обладают всеми биоварспецифическими свойствами, характерными для Эль Тор вибрионов (растут на средах, содержащих 50 мкг/мл полимиксина В, агглютинируют куриные эритроциты, лизируются диагностическим фагом эльтор, дают положительную реакцию Фогеса-Проскауэра). При анализе продукции холерного токсина и вирулентности показано, что геноварианты, в отличие от типичных Эль Тор вибрионов, являются

более вирулентными, синтезируя повышенное количество холерного токсина, сопоставимое со штаммами классического биовара [5, 11, 13]. В то же время сведения об экспрессии генов жизнеобеспечения у геновариантов, в том числе о способности ферментировать углеводы, практически отсутствуют.

Как известно, углеводы играют важную роль в жизнедеятельности холерного вибриона, выполняя структурную функцию, участвуя в обеспечении клеточной энергией, в процессах осморегуляции, устойчивости к стрессам и т.д. [3, 7, 12, 10]. Показано, что при отсутствии глюкозы в среде выращивания штаммы *V. cholerae* не продуцируют холерный токсин, у них снижается подвижность и способность колонизировать кишечник, а также нарушается функционирование системы «quorum sensing» [3, 7, 12]. Кроме того, углеводы используются в диагностике *V. cholerae*. Например, ферментация глюкозы до кислоты без газа – тест, дифференцирующий холерные вибрионы от представителей *Pseudomonadaceae*. Способность утилизировать сахара, составляющие триаду Хейберга – манноза, сахароза и арабиноза, положена в основу определения рода *Vibrio*. Кроме того, ферментация сахарозы является единственным дифференциальным фенотипическим тестом, отли-

чающим *V. cholerae* от *V. mimicus* [1, 8]. Установлено, что холерные вибрионы как классического, так и Эль Тор биоваров обладают большим набором ферментов и способны ферментировать глюкозу, сахарозу, мальтозу, галактозу, левулезу, маннозу, маннит, гликоген и крахмал. В то же время арабинозу, дульцит, инозит, рамнозу, сорбит, раффинозу не усваивают. Отношение к лактозе непостоянное (\pm) [1]. С учетом важной роли углеводов в метаболизме, вирулентности, а также диагностике холерного вибриона цель работы состояла в проведении сравнительного анализа способности типичных штаммов и геновариантов *V. cholerae* биовара Эль Тор ферментировать различные сахара.

Материалы и методы

В работе использовано 6 типичных штаммов *V. cholerae* биовара Эль Тор и 10 геновариантов, завезенных на территорию России с 1970 по 2011 год, а также три штамма *V. cholerae* классического биовара (таблица). Штаммы хранились в Государственной коллекции патогенных бактерий в лиофильно высушенном состоянии.

Исследования проведены с использованием 6 углеводов – арабинозы, рамнозы, маннозы, маннита, глюкозы и сахарозы. Способность штаммов усваивать углеводы изучали, культивируя штаммы на минимальном агаре (2 % Бакто агар, 0,1 – $MgSO_4$, 0,5 – $NaCl$, 0,1 – K_2HPO_4 , 0,1 – $(NH_4)_2SO_4$, pH 7,6) с добавлением 0,4 % различных сахаров в качестве единственного источника питания. При положительном результате наблюдали рост культуры, при отрицательном – колонии отсутствовали.

Для определения продукции ацетилметилкарбинола в реакции Фогес-Проскауэра (Ф-П) использовали методику, описанную G.Kovacikova *et al.* [9].

Для изучения белкового спектра штаммов холерного вибриона получали цельноклеточные лизаты клеток в дистиллированной воде, добавляли равный объем «буфера образца» (0,125 моль трис- HCl , pH 6,8; 4 % додецилсульфата натрия; 20 % глицерина; 2 % 2-меркаптоэтанола; 0,03 ммоль бромфенолового синего) и кипятили на водяной бане в течение 5 мин. Полученные образцы исследовали методом ПААГ-электрофореза в присутствии додецилсульфата натрия. В работе использовали 12,5 % полиакриламидный гель. После электрофореза гелевую пластину фиксировали в растворе изопропанола и окрашивали 0,1 % раствором кумасси R-250 в изопропаноле. Избыток красителя из геля вымывали диффузией в 7 % растворе уксусной кислоты.

Биосинтез токсинорегулируемых пилей адгезии (ТКПА) изучали методом самоагглютинации бактерий в АК1 бульоне [6]. Ночную культуру изучаемых штаммов в количестве 10^5 КОЕ засеивали в 10 мл АК1 бульона (pH 7,4–7,6) и культивировали 4 ч стационарно при температуре 37 °С. Затем 8 мл бульона выливали, а оставшиеся 2 мл культуры выращивали в условиях повышенной аэрации на шейкере при температуре 37 °С в течение 16 ч. Если штамм

продуцировал ТКПА, то за счет биосинтеза на поверхности клеток данных пилей наблюдалась самоагглютинация бактерий и выпадение их в осадок на дно пробирки. Если штамм не синтезировал пили, осадок клеток отсутствовал.

Результаты и обсуждение

На первом этапе работы нами был проведен сравнительный анализ способности взятых для исследования штаммов *V. cholerae* биовара Эль Тор усваивать различные углеводы. В результате проведенных исследований выявлено, что геноварианты, так же, как и типичные Эль Тор и классические вибрионы, не способны ферментировать арабинозу и рамнозу, но используют для метаболизма маннозу, сахарозу и маннит.

Далее была изучена способность геновариантов к ферментации глюкозы. Как известно, глюкоза является основным субстратом, который используется в качестве источника питания и получения энергии у большинства микроорганизмов, в том числе и у холерного вибриона. По данным зарубежных исследователей, установлено, что Эль Тор вибрионы способны хорошо расти в присутствии больших концентраций глюкозы (до 3 %), в то же время рост классических вибрионов на средах, содержащих 1 % глюкозы, отсутствует [15]. В результате проведенных нами исследований выявлено, что при концентрации глюкозы 0,4 % в среде выращивания все штаммы давали хороший рост. В то же время при увеличении концентрации глюкозы до 0,5 % у геновариантов наблюдался слабый рост, а при концентрации 1 % выросли только типичные штаммы Эль Тор вибрионов, а геноварианты, как и классические вибрионы, не росли при данной концентрации углевода (таблица). На основе полученных результатов было высказано предположение, что у геновариантов снизилась способность к ферментации глюкозы.

Однако остается неясным способны ли геноварианты как типичные Эль Тор вибрионы ферментировать глюкозу до ацетилметилкарбинола (ацетоина) в реакции Фогес-Проскауэра. Как известно, метаболизм глюкозы в штаммах классического и Эль Тор биоваров происходит по различным путям [15]. Типичные Эль Тор вибрионы полностью ферментируют глюкозу до ацетилметилкарбинола и далее до диацетила или 2,3-бутандиона, который имеет нейтральный pH [4]: глюкоза → пируват → ацетолактат → ацетон (ацетилметилкарбинол) → 2,3-бутандион. Классические вибрионы разлагают глюкозу до органических кислот, которые сильно закисляют среду: глюкоза → пируват → органические кислоты (молочная, уксусная, муравьиная).

Поскольку холерный вибрион является кислотоустойчивым организмом, то резкое снижение pH среды при росте в богатой углеводами среде (питательные среды с 1 % глюкозы и выше, кишечник человека, хитин-содержащие поверхности ракообразных в водной среде) оказывает ингибирующее влияние на рост и размножение классических вибри-

Ферментация глюкозы, продукция белков внешней мембраны и токсинорегулируемых пилей адгезии штаммами *V. cholerae*

Штамм <i>V. cholerae</i>	Место и год выделения	Характеристика штамма по содержанию гена <i>ctxB</i>	Образование ацетона в реакции Ф-П	Рост на минимальном агаре с глюкозой*			Продукция белков внешней мембраны		Продукция ТКПА**
				0,4 %	0,5 %	1 %	OmpU	OmpT	
M818	Саратов, 1970	Типичный Эль Тор	+	+	+	+	++	-	-
M713	Москва, 1970	Типичный Эль Тор	+	+	+	+	++	-	-
M738	Пермь, 1970	Типичный Эль Тор	+	+	+	+	+	++	-
M886	Астрахань, 1970	Типичный Эль Тор	+	+	+	+	+	++	-
M1261	Пермь, 1990	Типичный Эль Тор	+	+	+	+	++	-	-
M1013	Башкирия, 1972	Типичный Эль Тор	+	+	+	+	+	++	-
M1264	Краснодар, 1993	Геновариант	±	+	с.р	-	++	+	-
M1272	Краснодар, 1993	Геновариант	±	+	с.р	-	-	+	-
M1270	Татарстан, 1993	Геновариант	±	+	с.р	-	++	++	+
M1297	Дагестан, 1993	Геновариант	±	+	с.р	-	++	+	-
M1266	Пермь, 1994	Геновариант	±	+	с.р	-	++	+	-
M1293	Дагестан, 1994	Геновариант	±	+	с.р	-	+	++	-
M1269	Магнитогорск, 1994	Геновариант	±	+	с.р	-	+	+	-
P17644	Ачинск, 1997	Геновариант	±	+	с.р	-	++	-	-
P17645	Иркутск, 1997	Геновариант	±	+	с.р	-	++	-	-
M1344	Казань, 2001	Геновариант	±	+	с.р	-	+	+	+
M1345	Казань, 2001	Геновариант	±	+	с.р	-	++	+	+
M1429	Башкирия, 2004	Геновариант	±	+	с.р	-	++	+	-
M1430	Тверь, 2005	Геновариант	±	+	с.р	-	++	-	-
P18899	Мурманск, 2006	Геновариант	±	+	с.р	-	-	++	-
L3226	Москва, 2010	Геновариант	±	+	с.р	-	++	+	-
L4150	Москва, 2010	Геновариант	±	+	с.р	-	++	+	+
301	Таганрог, 2011	Геновариант	±	+	с.р	-	+	+	-
569B	Индия, 1950	Классический	-	+	с.р	-	н.о	н.о	н.о
Дакка 35	Пакистан, 1958	Классический	-	+	с.р	-	н.о	н.о	н.о
B-1307	Пакистан, 1964	Классический	-	+	с.р	-	н.о	н.о	н.о

*Рост штаммов на минимальном агаре с добавлением разных концентраций глюкозы, «+» – хороший рост, с.р. – слабый рост, «-» – рост отсутствует.

**Продукция токсинорегулируемых пилей адгезии (ТКПА) определена методом самоагглютинации бактерий в АК1 бульоне, «+» – наличие самоагглютинации (штамм синтезирует ТКПА), «-» – отсутствие самоагглютинации; н.о. – не определяли.

Примечания: Ф-П – реакция Фогес-Проскауэра; «+» – положительная (малиновое окрашивание среды); «-» – отрицательная (желтое окрашивание среды); «±» – слабо положительная реакция (темно-розовое окрашивание среды).

онов [15]. В то же время Эль Тор вибрионы достигают высокой плотности в данных условиях существования, что дает им преимущества для выживания. Высказывается предположение, что продукция 2,3-бутандиона Эль Тор вибриона была эволюционно выгодной и явилась одной из причин вытеснения ими штаммов классического биовара и быстрого распространения холеры Эль Тор по всему миру [15].

При постановке реакции Фогес-Проскауэра было выявлено, что все изученные типичные штаммы *V. cholerae* биовара Эль Тор давали положительную реакцию Ф-П (малиновое окрашивание), что указывает на их способность полностью разлагать глюкозу до ацетилметилкарбинола. Взятые для сравнения штаммы классических вибрионов не образовывали ацетилметилкарбинол и давали отрицательную реакцию Ф-П. У геновариантов наблюдалось темно-розовое окрашивание среды, что учитывается как слабо положительная реакция. Полученные нами результаты согласуются с данными зарубежных исследователей, показавших, что штаммы измененных вариантов *V. cholerae* биовара Эль Тор, выделенные в Бангладеш (Матлаб, 2001–2005 гг.) и на Гаити (2010 г.), также давали слабо положительную реакцию Ф-П [14].

Таким образом, полученные экспериментальные данные показывают, что изученные нами штам-

мы геновариантов, в отличие от типичных Эль Тор вибрионов, не способны полностью ферментировать глюкозу до ацетилметилкарбинола и занимают промежуточное положение между классическими и Эль Тор вибрионами.

Согласно данным литературы продукция ацетилметилкарбинола непосредственно контролируется белком AphA, который является одним из центральных регуляторных генов вирулентности [5]. Данный белок повышает транскрипцию генов, кодирующих биосинтез холерного токсина, подавляя при этом образование ацетилметилкарбинола (2,3-бутандиона). В штаммах холерного вибриона классического биовара, отличающихся от Эль Тор вибрионов повышенным биосинтезом холерного токсина, AphA более активно подавляет продукцию ацетилметилкарбинола [4,15]. Возможно, в результате приобретения геновариантами нового генетического материала (ген *ctxB* классических вибрионов) у них произошло изменение регуляторных механизмов, в том числе увеличилась продукция белка AphA (и соответственно биосинтез холерного токсина), но снизилась способность к ферментации глюкозы и образованию ацетилметилкарбинола. Однако для подтверждения данного предположения необходимо проведение дополнительных исследований.

На следующем этапе работы, учитывая, что координированная экспрессия генов вирулентности возбудителя холеры происходит через регуляторный каскад, в котором кроме белка AphA участвуют и другие регуляторные белки [5], нами был проведен анализ экспрессии двух других глобальных белков-регуляторов – ToxR и ToxT, непосредственно контролирующих продукцию основных факторов патогенности – холерного токсина и токсинорегулируемых пилей адгезии. При этом ToxR, независимо от других регуляторных белков, контролирует продукцию белков внешней мембраны OmpU и OmpT, активируя транскрипцию OmpU и репрессируя OmpT [5].

При анализе белкового спектра изучаемых штаммов различия между типичными изолятами и генетически измененными вариантами по биосинтезу белков OmpU/OmpT не выявлены. Все изученные типичные штаммы и 88 % геновариантов синтезировали белок OmpU, что указывает на активную экспрессию белка ToxR как в типичных изолятах, так и в штаммах геновариантов.

При анализе продукции ТКПА методом самоагглютинации было установлено, что ряд штаммов геновариантов (M1270, M1344, M1345 и L4150), в отличие от типичных изолятов, давали положительную реакцию самоагглютинации, что указывает на повышенный биосинтез ТКПА у данных штаммов и повышенную экспрессию ToxT. В то же время у большинства штаммов геновариантов изменений в продукции ТКПА не выявлено. Таким образом, для выявления изменений в экспрессии ТКПА, а также регуляторного белка ToxT в штаммах геновариантов необходимо проведение исследований по количественному определению продукции данных белков.

Итак, при сравнительном анализе способности штаммов *V. cholerae* биовара Эль Тор ферментировать углеводы установлено, что у генетически измененных вариантов изменился метаболизм глюкозы, что, возможно, явилось последствием изменения некоторых механизмов регуляции генов вирулентности.

Работа выполнена по государственному контракту № 53-Д от 04.06.2012 г. в рамках федеральной целевой программы «Национальная система химической и биологической безопасности Российской Федерации 2009–2014 гг.» и РФФИ № 12-04-00285-а.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Лабораторная диагностика холеры. МУК 4.2.2218-07. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2007.
2. Смирнова Н.И., Горяев А.А., Заднова С.П., Краснов Я.М., Лозовский Ю.В., Кутырев В.В. Генетическая характеристика клинических штаммов *Vibrio cholerae*, завезенных на территорию Российской Федерации в современный период. *Мол. генет., микробиол. и вирусол.* 2011; 3:3–10.
3. Callahan L.T., Richardson S.H. Biochemistry of *Vibrio cholerae* virulence. III. Nutritional requirements for toxin production and the effects of pH on toxin elaboration in chemically defined media. *Infect. Immun.* 1973; 7:567–72.
4. De S.N., Chatterjee D.N. Experimental study of mechanism of action of *Vibrio cholerae* on intestinal mucous membrane. *J. Path. Bacteriol.* 1953; 66:559–62.
5. Faruque S.M., Nair G.B. *Vibrio cholerae* genomics and molecular biology. Caister Academic Press, Norfolk, UK; 2008. 218 p.
6. Iwanaga M., Yamamoto K., Higa N., Ichinose Y., Nakasone N., Tanabe M. Culture conditions for stimulating cholera toxin production by *Vibrio cholerae* O1 El Tor. *Microbiol. Immunol.* 1986;

30:1075–83.

7. Liang W., Silva A.J., Benitez J.A. The cyclic AMP receptor protein modulates colonial morphology in *Vibrio cholerae*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2007; 73:7482–7.
8. Kaper J.B., Morris J.G., Levine M.M. Cholera. *Clin. Microbiol. Rev.* 1995; 8:48–86.
9. Kovacicikova G., Lin W., Skorupski K. Dual regulation of genes involved in acetoin biosynthesis and motility/biofilm formation by the virulence activator AphA and the acetate-responsive LysR-type regulator AlsR in *Vibrio cholerae*. *Mol. Microbiol.* 2005; 57:420–33.
10. Mustachio L.M., Aksit S., Mistry R.H., Scheffler R., Yamada A., Liu J.M. The *Vibrio cholerae* mannitol transporter is regulated posttranscriptionally by the MtlS small regulatory RNA. *J. Bacteriol.* 2012; 194:598–606.
11. Nair G.B., Faruque S.M., Bhuiyan N.A., Kamruzzaman M., Siddique A.K., Sack D.A. New variants of *Vibrio cholerae* O1 biotype EL Tor with attributes of the classical biotype from hospitalized patients with acute diarrhea in Bangladesh. *J. Clin. Microbiol.* 2002; 40:3296–9.
12. Poncet S., Milohanic E., Maze A., Nait Abdallah J., Ake F., Larribe M., Deghmane A.E., Taha M.K., Dozot M., De Bolle X., Letesson J.J., Deutscher J. Correlations between carbon metabolism and virulence in bacteria. *Infect. Immun.* 2009; 16:88–102.
13. Safa A., Nair G.B., Kong R.Y. Evolution of new variants of *Vibrio cholerae* O1. *Trends Microbiol.* 2010; 18(1):46–54.
14. Son M.S., Megli C.J., Kovacicikova 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. *J. Clin. Microbiol.* 2011; 49:3739–49.
15. Yoon S.S., Mekalanos J.J. 2,3-butanediol synthesis and emergence of the *Vibrio cholerae* El Tor biotype. *Infect. Immun.* 2006; 74:6547–56.

References

1. [Laboratory diagnostics of cholera. Methodological recommendations]. MR 4.2.2218–07. M.: Rospotrebnadzor Federal Center of Hygiene and Epidemiology; 2007.
2. Sмирнова Н.И., Горяев А.А., Заднова С.П., Краснов Я.М., Лозовский Ю.В., Кутырев В.В. [Genetic characteristics of clinical *Vibrio cholerae* strains imported to the territory of the Russian Federation in the modern period]. *Mol. Gen. Mikrobiol. Virusol.* 2011; 3:3–10.
3. Callahan L.T., Richardson S.H. Biochemistry of *Vibrio cholerae* virulence. III. Nutritional requirements for toxin production and the effects of pH on toxin elaboration in chemically defined media. *Infect. Immun.* 1973; 7:567–72.
4. De S.N., Chatterjee D.N. Experimental study of mechanism of action of *Vibrio cholerae* on intestinal mucous membrane. *J. Path. Bacteriol.* 1953; 66:559–62.
5. Faruque S.M., Nair G.B. *Vibrio cholerae* genomics and molecular biology. Caister Academic Press, Norfolk, UK; 2008. 218 p.
6. Iwanaga M., Yamamoto K., Higa N., Ichinose Y., Nakasone N., Tanabe M. Culture conditions for stimulating cholera toxin production by *Vibrio cholerae* O1 El Tor. *Microbiol. Immunol.* 1986; 30:1075–83.
7. Liang W., Silva A.J., Benitez J.A. The cyclic AMP receptor protein modulates colonial morphology in *Vibrio cholerae*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2007; 73:7482–7.
8. Kaper J.B., Morris J.G., Levine M.M. Cholera. *Clin. Microbiol. Rev.* 1995; 8:48–86.
9. Kovacicikova G., Lin W., Skorupski K. Dual regulation of genes involved in acetoin biosynthesis and motility/biofilm formation by the virulence activator AphA and the acetate-responsive LysR-type regulator AlsR in *Vibrio cholerae*. *Mol. Microbiol.* 2005; 57:420–33.
10. Mustachio L.M., Aksit S., Mistry R.H., Scheffler R., Yamada A., Liu J.M. The *Vibrio cholerae* mannitol transporter is regulated posttranscriptionally by the MtlS small regulatory RNA. *J. Bacteriol.* 2012; 194:598–606.
11. Nair G.B., Faruque S.M., Bhuiyan N.A., Kamruzzaman M., Siddique A.K., Sack D.A. New variants of *Vibrio cholerae* O1 biotype EL Tor with attributes of the classical biotype from hospitalized patients with acute diarrhea in Bangladesh. *J. Clin. Microbiol.* 2002; 40:3296–9.
12. Poncet S., Milohanic E., Maze A., Nait Abdallah J., Ake F., Larribe M., Deghmane A.E., Taha M.K., Dozot M., De Bolle X., Letesson J.J., Deutscher J. Correlations between carbon metabolism and virulence in bacteria. *Infect. Immun.* 2009; 16:88–102.
13. Safa A., Nair G.B., Kong R.Y. Evolution of new variants of *Vibrio cholerae* O1. *Trends Microbiol.* 2010; 18(1):46–54.
14. Son M.S., Megli C.J., Kovacicikova 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. *J. Clin. Microbiol.* 2011; 49:3739–49.
15. Yoon S.S., Mekalanos J.J. 2,3-butanediol synthesis and emergence of the *Vibrio cholerae* El Tor biotype. *Infect. Immun.* 2006; 74:6547–56.

Authors:

Zadnova S.P., Krepostnova I.M., Lozovskiy Yu.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrap@microbe.ru

Об авторах:

Заднова С.П., Крепостнова И.М., Лозовский Ю.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrap@microbe.ru

Поступила 02.09.13.