

А.Б.Мазрухо, В.В.Лобанов

СОВРЕМЕННЫЕ ТЕНДЕНЦИИ В ОБЛАСТИ ИЗУЧЕНИЯ МЕТАБОЛИЗМА И ОСОБЕННОСТЕЙ ПИТАНИЯ ХОЛЕРНЫХ ВИБРИОНОВ

ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт», Ростов-на-Дону

В обзоре рассматриваются современные представления о физиологии холерных вибрионов в разных условиях существования. Описаны особенности метаболизма *V. cholerae* при выращивании на питательных средах, *in vivo*, а также в организме больного холерой на разных стадиях болезни. Особый акцент сделан на изменениях синтеза факторов патогенности при развитии холеры. Рассмотрена роль биопленки в сохранении *V. cholerae* в межэпидемический период. Отмечено, что регуляция роста холерных вибрионов зависит от сигналов окружающей среды, которые переключают метаболизм и меняют питательные потребности.

Ключевые слова: холерный вибрион, среда роста, метаболизм, физиология.

A.B.Mazrukho, V.V.Lobanov

Modern Trends in Analysis of Cholera Vibrios Metabolism and Nutrient Requirements

Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don

Modern insights into cholera vibrios physiology in different life conditions are considered in the review. Described are metabolic peculiarities of *V. cholerae* growing on nutrient media and *in vivo*, as well as in cholera patient organism, with special emphasis on alterations of pathogenicity factors synthesis at different stages of the disease. Considered is biofilm role in *V. cholerae* preservation in inter-epidemic period. Regulation of cholera vibrios growth is shown to depend upon environmental signals which shift metabolism and alter nutrient requirements.

Key words: cholera vibrios, growth medium, metabolism, physiology.

Бактерии отличаются большой гибкостью метаболизма, им свойственна экономичность в использовании веществ и энергии. Адаптация – сложный процесс, происходящий на гено- и фенотипическом уровне, сопровождаемый изменениями метаболизма и типа питания. Она осуществляется под контролем уровня роста и размножения, и в условиях «голодания» регуляторные механизмы тормозят рост большинства клеток популяции [12].

У представителей рода *Vibrio* хромосома содержит сотни кассет, повышающих адаптационные свойства бактерий [3]. *Vibrio cholerae* является гетеротрофным микроорганизмом и факультативным анаэробом [7, 11]. Контроль колонизации и размножения холерных вибрионов проводит группа генов, мощным индуктором которых является глюкоза [25]. В условиях пониженной аэрации происходит сбраживание глюкозы, как у облигатных анаэробов. При повышении уровня O_2 продукты анаэробного расщепления окисляются кислородом. В питательных средах глюкоза используется холерными вибрионами не только в качестве генератора энергии, но и для синтеза аминокислот, нуклеотидов.

Азотистый обмен холерных вибрионов связан с их мощной протеолитической системой, которая есть практически у всех штаммов и при самых разнообразных условиях существования. В одних случаях она обеспечивает холерный вибрион продуктами питания, в других – способностью адгезировать к слизистой кишечника (гемагглютинин/протеаза) [39]. Известно несколько протеолитических ферментов холерных вибрионов, в частности желатиназа, коллагеназа, и протеазы, осуществляющие плазмокоагулазную и фибринолитическую активность

[1]. Уровень гидролиза белка сказывается на жизнеобеспечении вибрионов. Утилизацию азота они осуществляют, отщепляя аминокрупы от других соединений. В качестве источника азота *V. cholerae* способен использовать аммиак, пурины. Холерный вибрион синтезирует нуклеиновые кислоты и различные по сложности нуклеопротеиды. Они связаны с углеводным обменом, в частности НАД играет важную роль в цикле трикарбоновых кислот. В синтезе некоторых метаболитов (холерный токсин) никотинамид необходим в питательной среде.

Липиды в холерных вибрионах являются составной частью клеточных мембран и липополисахарида. Гидролиз липосодержащих продуктов питательных сред осуществляется с помощью липазы, лецитиназы, фосфатазы, происходит также окисление липидов. Выявлена эстеразная активность вибрионов. Они расщепляют длинноцепочечные жирные кислоты [2]. Все эти ферменты составляют комплекс гидролаз, которые необходимы для жизнеобеспечения холерного вибриона [1, 15]. На питательной среде с глицерином наблюдали гидролазную активность преимущественно у атоксигенных штаммов холерных вибрионов. Вибрионы классического биовара (вирулентные) растут на среде с жиром, не проявляя гидролитической активности. Способность гидролизовать жир и глицерин коррелирует с гемолитической активностью.

Холерные вибрионы хорошо растут в щелочной (до pH 9,2) среде, размножаются в присутствии хлористого натрия (0,5–2,0 %) при температуре от 10 до 40 °С. При выращивании в бульоне через 6 ч падает до минимума окислительно-восстановительный потенциал и понижается pH среды. Холерные вибрионы выравнивают потенциал путем окисления аминокис-

лот, и при длительной инкубации он активно повышается, что сопровождается изменением pH (до уровня 7,6–8,0). Кислород окружающей среды активизирует эти метаболические пути. На понижение уровня аэрации холерные вибрионы реагируют по-разному [9]. Выращивание в 10 мл 1 % пептонной воды в течение 20 ч в стационарных условиях 170 штаммов холерных вибрионов 1-й группы биохимической активности по Хейбергу позволило разделить их на три группы с такими средними значениями времени достижения М-концентрации: 5,5 ч *V. cholerae* non O1 / non O139; 10,0 и 10,9 ч *V. cholerae cholerae* и *V. cholerae* O139; 13,2 ч *V. cholerae* eltor [35]. В условиях ограниченного доступа кислорода некоторые штаммы могут расти и размножаться на минеральной среде с добавлением глюкозы [9].

Холерные вибрионы способны обитать в нескольких экологических нишах. Это определяет биологическое многообразие фенотипических признаков вибрионов. Отмечено соответствие генотипов условиям обитания: популяция холерных вибрионов может образовать биогеографический профиль на региональном уровне [30]. Следует обратить внимание на тот факт, что в современный период эволюция генома возбудителя холеры продолжается [13]. При анализе путей формирования атипичных штаммов выявлены не только изменения клеточного метаболизма, но и утрата способности синтезировать токсин.

Холерные вибрионы – типичные R-стратеги, характерной чертой которых является наличие периода «взрывного» роста популяции. Питательные потребности вирулентных холерных вибрионов «обслуживают» 92 метаболических пути, множество ферментативных реакций [36]. На ранних стадиях холеры выявлена высокая экспрессия белков, кодируемых на острове патогенности, в том числе пилей адгезии, необходимых для прикрепления к слизистой кишечника. Адгезия осуществляется при активной роли нескольких ферментов [27, 39, 43], среди которых нейраминидаза оказывает влияние на регуляцию генов вирулентности холерных вибрионов [20]. Ключевым сигналом синтеза факторов колонизации может быть анаэробизм, поскольку патогенность *V. cholerae* проявляется в кишечнике в условиях низкого содержания кислорода. Другим важным регуляторным сигналом является концентрация водородных ионов. Показано [5], что сигналом внешней среды, влияющим на изменения в природных популяциях холерного вибриона, является щелочная реакция среды (pH 9,0). В этих условиях происходит переключение экспрессии генов вирулентности и персистенции: изменяется содержание белков, влияющих на проницаемость мембраны, деление клеток, подвижность, участвующих в энергетическом обмене, синтезе экзополисахарида, холерного токсина, гемолизина, растворимой гемагглютинин/протеазы [4]. При высокой солености среды в координации с определенной концентрацией водородных ионов меняется морфология и подвижность холерных вибрионов, а также уровень продукции экзополисахарида

и гемагглютинин/протеазы [24].

В организме человека, в верхнем отделе кишечника, где вибрионы персистируют во время холеры, в начале инфекционного процесса возбудитель обеспечен всем необходимым для бурного роста. Сialовые кислоты поверхности слизистой являются источником углерода и энергии, а продукты пристеночного пищеварения позволяют использовать азотистые продукты и глюкозу. В переключении метаболических процессов вирулентных штаммов после попадания в кишечник, по мнению исследователей, главное – повышение энергетики анаэробизма. Одним из индукторов такого переключения считается бикарбонат. В верхней части тонкого кишечника присутствует в большой концентрации CO₂. Превращение двуокиси углерода в бикарбонат стимулирует транскрипцию генов вирулентности возбудителя холеры в тонком кишечнике [18]. В организме холерных больных метаболизм вибрионов зависит от нехватки железа и кислорода [21]. В связи с этим экспрессируется не менее 24 генов, вовлеченных в транспорт железа, и 13 генов анаэробного энергетического метаболизма, которые способствуют синтезу факторов колонизации [18, 33]. Смена фенотипа *V. cholerae* сопровождается изменением энергетического и белкового обмена, структурных компонентов внешней мембраны, транспорта и секреции [4]. К исходу заболевания, которое иногда длится всего несколько часов, содержимое кишечника уже не может обеспечить условия для хорошего роста холерного вибриона. Когда питательные субстраты исчезают, начинается утилизация резервных соединений, что отражается на специфических функциях малой хромосомы, где располагаются гены, которые индуцируются при аминокислотном голодании [12]. Показано [43], что при выращивании вибрионов *in vivo* в перевязанной петле кишечника кролика и *in vitro* в «богатой» питательной среде экспрессия генов, ответственных за инфицирование, особенно выражена в середине фазы экспоненциального роста. В этот период *in vivo* экспрессируются гены, которые влияют на размножение холерных вибрионов в кишечнике; *in vitro* – вовлеченные в подвижность, хемотаксис, колонизацию. Если у штаммов с повышенной скоростью роста активнее амплифицируются гены большой хромосомы, то при сниженной скорости роста увеличивается число копий генов, имеющих отношение к синтезу токсина. Это соответствует огромным энергетическим затратам на обеспечение «взрывного» роста холерных вибрионов и перераспределению энергии в следующей фазе роста популяции. Отмеченные закономерности токсиногенеза используют для продукции СТ *in vitro*. Применяют метод культивирования холерных вибрионов, при котором относительно анаэробные условия во время начальной фазы выращивания меняют на ярко выраженный аэробизм (метод Iwanaga) [26]. Добавление в среду бикарбоната индуцирует экспрессию генов вирулентности. В кишечнике на поздней стадии холерной инфекции происходит экспрессия оперонов, которые вновь меняют метаболизм

инфекционного агента. Усиливается потребление аминокислот и железа, транскрипция генов, связанных с утилизацией хитина, что становится важным для холерных вибрионов в преддверии выхода в новую среду обитания [21, 42].

В регионах, где холерные эпидемии часты, до 99,2 % выделенных из воды штаммов холерных вибрионов лишены главных факторов вирулентности – холерного токсина (СТ) и пилей адгезии (TCP) [23]. Вместе с тем, отмечено генетическое разнообразие популяции, представленной свободноживущими планктонными, связанными с биотической или абиотической поверхностью, а также сгруппированными в биопленке клетками. В межэпидемический период, когда патогенные вибрионы наравне с комменсалами водной среды, обитают в реках, морях, эстуариях, засоленных водоемах, жизнеобеспечение возбудителям холеры обеспечивают особые физиологические состояния и метаболические пути [37, 42]. При неблагоприятных условиях микробные клетки уменьшаются в размерах, приобретают склонность к агрегации, концентрации в биопленках. Часть их составляют неподвижные покоящиеся формы, а в крайних случаях они превращаются в некультивируемые формы [16]. Этот тип неблагоприятного воздействия, как и другие виды стресса, индуцирует общие пути изменения физиологии клеток: снижение скорости роста, нарушение целостности внешней мембраны и метаболизма железа [38]. Чтобы выжить в окружающей среде в условиях голодания, холерные вибрионы на какое-то время выбирают стратегию «энергетического сдерживания» [29]. Замедление и прекращение роста позволяет бактериям пережить трудности с питанием, впад в покоящееся состояние, при котором выключены почти все жизненные функции [12]. При ухудшении условий роста на питательных средах холерные вибрионы перестраивают энергетический метаболизм, увеличивают активность ключевого фермента сапрофитов – рибулозодифосфат карбоксилазы [14]. Многие исследователи считают, что в водных резервуарах холерные вибрионы могут надолго сохраняться в форме биопленок [28, 32]. Регуляция процесса формирования биопленки, ее архитектуры, плотности клеток и их открепления, происходит под влиянием гемагглютинин/протеазы (Hap) и системы «чувства кворума» (QS) [8]. Главным компонентом матрикса биопленки является экзополисахарид. Активаторами *vrp* гена являются сигналы окружающей среды в виде моносахаридов (арабиноза), нуклеозидов, солей желчи, соленость среды обитания [19, 31]. Они регулируют питание микробных клеток внутри биопленки [32, 40]. При выращивании в щелочной пептонной воде репрессорами являются сахароза, декстроза, фруктоза, мальтоза, цитрат, соли желчи, тиосульфат [19]. Наличие в среде моносахаридов и последующее их усвоение микробом важно для накопления резервных питательных веществ внутри биопленки, что может повлиять на длительность сохранения возбудителя холеры в окружающей среде [31]. Регуляторные механизмы поддерживают много-

образии физиологических свойств бактерий, образующих пленку, что признается многими авторами. В составе биопленки могут быть как продуценты холерного токсина, так и утратившие способность его продуцировать.

В водной среде вибрионы находятся в окружении антагонистов. В донных отложениях морского побережья важным фактором, влияющим на вибрионы, является присутствие там амёб [34, 41]. Испытывая трудности с питанием, холерный вибрион ассоциирует с фито- и зоопланктоном, ракообразными и яйцами насекомых. Есть сведения, показывающие роль некоторых амёб в качестве хозяина холерных вибрионов в окружающей среде [17]. Холерный вибрион способен колонизовать поверхности животных благодаря наличию у него хитин-связывающих пилей, глюкозамин-связывающего белка, маннозочувствительного гемагглютинина. Паразитирование на покрытых хитином поверхностях животных обуславливает высокая активность хитинолитической системы вибрионов [22]. По мнению исследователей [10], катаболизм полисахарида хитина является одним из главных механизмов поддержания патогенных штаммов *V. cholerae* в природе. При заносе возбудителя холеры в условия более холодного климата рост его популяции зависит от прогревания воды, размножения хитинсодержащих животных планктона и наступления периода цветения определенных видов водорослей. Массовое развитие цианобактерий и обилие хлорококковых зеленых водорослей совпадает с периодом обнаружения вибрионов [16].

В заключение можно сказать, что современные тенденции в области изучения физиологии холерных вибрионов связаны с регуляторными процессами, влияющими на добывание пищи бактериями. Гетерогенность популяции *V. cholerae* во многом зависит от разнообразия условий обитания холерных вибрионов. Хорошее снабжение питательными веществами приводит к «взрывному» росту популяции, но подобное состояние – редкость, поэтому для вибрионов более характерно ограничение питательных потребностей. В процессе размножения происходит гибель части клеток, однако вирулентность оставшихся может сохраняться. Это заставляет активно исследовать механизмы, регулирующие физиологию питания холерных вибрионов в соответствии с целевыми задачами жизнеобеспечения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адамов А.К., Наумишина М.С. Холерные вибрионы. Саратов: Изд-во Саратов. ун-та; 1984. 328 с.
2. Дуванова О.В., Шиманюк Н.Я., Мишанькин Б.Н. Способность расщеплять твин 20 как дифференциальный тест для вибрионов O139 серовара различного происхождения. Клин. лаб. диагн. 2000; 5:48–9.
3. Ерошенко Г.А. Основные направления современных исследований биологии холерных вибрионов. Пробл. особо опасных инф. 2008; 1(95):37–41.
4. Заднова С.П., Исаев Н.Д., Кутейкин-Тепляков К.Б., Тихонова О.В., Горопыгин И.Ю., Арчаков А.И. и др. Протеомный анализ двух изогенных вариантов *Vibrio cholerae* классического биовара с альтернативной экспрессией генов вирулентности. Пробл. особо опасных инф. 2006; 3:11–6.
5. Заднова С.П., Ливанова Л.Ф., Лозовский Ю.В., Смирнова Н.И. Выявление в природных популяциях холерного вибриона

клонов с различной экспрессией факторов вирулентности и персистенции и их фенотипический анализ. Пробл. особо опасных инф. 2009; 3(101):39–41.

6. Исаев Н.Д., Лозовский Ю.В., Заднова С.П., Смирнова Н.И. Популяционная неоднородность природных штаммов *Vibrio cholerae* классического биовара; координационное изменение морфологии колоний, подвижности, токсигенности и ферментативных свойств. Пробл. особо опасных инф. 2005; 1(89):43–6.

7. Лабораторная диагностика холеры: Методические указания МУК 4.2.2218-07. М.; 2007. 87 с.

8. Лобанов В.В. Проблемы колонизации кишечника холерными вибрионами. Эпидемиол. и инф. бол. 2009; 3:37–9.

9. Милютин В.Н., редактор. Механизмы и диапазон изменчивости холерных вибрионов. Ростов-н/Д: Кн. изд-во; 1981. 175 с.

10. Мишанькин Б.Н., Шиманюк Н.Я., Водопьянов С.О. Изучение хитинолитического комплекса *Vibrio cholerae* O139. В кн.: Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана. М., 2006. С. 303–5.

11. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Лабораторная диагностика опасных инфекционных болезней: Практическое руководство. М.: Медицина, Шико; 2009. 472 с.

12. Прозоров А.А., Даниленко В.Н. Система «токсин-антитоксин» у бактерий: инструмент апоптоза или модуляторы метаболизма? Микробиология. 2010; 79(2):147–59.

13. Смирнова Н. И., Горяев А. А., Кутырев В.В. Эволюция генома возбудителя холеры в современный период. Мол. генет., микробиол. и вирусол. 2010; 4:11–9.

14. Соколенко А.В., Ломов Ю.М., Асеева Л.Е. Особенности обмена некультивируемых форм холерного вибриона. Усп. совр. естествознания. 2002; 2:22–30.

15. Телесманич Н.Р. Триацилглицероллипазная активность гемолитических холерных вибрионов. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 2004; 2:11–4.

16. Титова С.В., Соколенко А.В., Ломов Ю.М. и др. Морфологические изменения в популяции холерных вибрионов при переходе в некультивируемое состояние под влиянием отдельных абиотических и биотических факторов в эксперименте. Пробл. особо опасных инф. 2004; 2(88):45–9.

17. Abd Y., Saeed A., Weintraub A., Sandstrom G. *Vibrio cholerae* O139 requires neither capsule nor LPS O side chain to grow inside *Acanthamoeba castellanii*. J. Med. Microbiol. 2009; 58(1):125–31.

18. Abuaita B.H., Whitey J.H. Bicarbonate induces *Vibrio cholerae* virulence gene expression by enhancing ToxT activity. Infect. Immun. 2009; 77(9):4111–20.

19. Ali Afsar, Morris J.G., Johnson J.A. Sugars inhibit expression of the rugose phenotype of *Vibrio cholerae*. J. Clin. Microbiol. 2005; 43:1426–9.

20. Almagro-Moreno S., Boyd E.F. Sialic acid catabolism confers a competitive advantage to pathogenic *Vibrio cholerae* in the mouse intestine. Infect. Immun. 2009; 77(9):3807–16.

21. Bina J., Zhu J., Dziejman M. et al. Tox R regulon of *Vibrio cholerae* and its expression in vibrios shed by cholera patients. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2003; 100:2801–6.

22. Connell T.D., Metzger D.J., Lynch J., Folster J.P. Endochitinase is transported to extracellular milieu by the eps-encoded general secretory pathway of *Vibrio cholerae*. J. Bacteriol. 1998; 180(21):5591–600.

23. Faruque S., Choudhury N., Kamruzzaman M. et al. Genetic diversity and virulence potential of environmental *Vibrio cholerae* population in a cholera endemic area. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2004; 101(7):2123–8.

24. Herz K., Vimont S., Padan E. et al. Role of NhaA, NhaB, and nhaD Na⁺/H⁺ antiporters in survival of *Vibrio cholerae* in saline environment. J. Bacteriol. 2003; 185(4):1236–44.

25. Houot L., Watnick P. A novel role for enzyme I of the *Vibrio cholerae* phosphoenolpyruvate phosphotransferase system in regulation of growth in a biofilm. J. Bacteriol. 2008; 190(1):311–20.

26. Iwanaga M., Yamamoto K., Higa N. et al. Culture condition for stimulating cholera toxin production by *Vibrio cholerae* O1 El Tor. Microbiol. Immunol. 1986; 30(11):1075–83.

27. Jermyn W.S., Boyd E.F. Characterization of a novel *Vibrio* pathogenicity island (VPI-2) encoding neuraminidase (nan H) among toxigenic *Vibrio cholerae* isolates. Microbiology. 2002; 148:3681–93.

28. Joelsson A., Liu Z., Zhu J. Genetic and phenotypic diversity of quorum-sensing systems in clinical and environmental isolates of *Vibrio cholerae*. Infect. Immun. 2006; 74:1141–47.

29. Kalidas P., Ghosh A., Sengupta N., Chowdhury R. Competitive growth advantage of nontoxigenic mutants in the stationary phase in archival cultures of pathogenic *Vibrio cholerae*. Infect. Immun. 2004; 72:5478–82.

30. Keymer D.P., Lam L.H., Boehm A.B. Biogeographic patterns in genomic diversity among a large collection of *Vibrio cholerae* isolates. Appl. Environ. Microbiol. 2009; 75 (6):1658–66.

31. Kjerrek K., Watnick P.J. Environmental determinants of *Vibrio cholerae* biofilms development. Appl. Environ. Microbiol. 2003; 69:5078–88.

32. Liu Zhi, Stirling F.R., Zhu Jun. Temporal quorum-sensing induction regulates *Vibrio cholerae* biofilm architecture. Infect. Immun. 2007; 75:122–6.

33. Marrero K., Sanchez A., Rodriguez-Ulloa A. et al. Anaerobic growth promotes synthesis of colonization factors encoded of the *Vibrio* pathogenicity island in *Vibrio cholerae* El Tor. Res. Microbiol. 2009; 160(1):48–56.

34. Pukatzki S., Ma A.T., Sturtevant D. et al. Identification of conserved bacterial protein secretion system in *Vibrio cholerae* using Dictyostelium host model system. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2006; 103(5):1528–33.

35. Saint-Dic D., Kehrl J., Frushour B. et al. Excess Seq A leads to replication arrest and a cell division defect in *Vibrio cholerae*. J. Bacteriol. 2008; 190(17):5870–78.

36. Shi J., Romero P.R., Schoolnik G.K. et al. Evidence supporting predicted metabolic pathways for *Vibrio cholerae*: gene expression data and clinical tests. Nucleic Acids Res. 2006; 34(8):2438–44.

37. Shikuma N.J., Yildiz F.H. Identification and characterization of OsrR, a transcriptional regulator involved in osmolarity adaptation in *Vibrio cholerae*. J. Bacteriol. 2009; 191(13):4082–96.

38. Sikora A.E., Beyhan S., Yildiz F.H. et al. Cell envelope perturbation induces oxidative stress and changes in iron homeostasis in *Vibrio cholerae*. J. Bacteriol. 2009; 191(17):5398–5408.

39. Silva A.J., Leitch G.J., Camilli A., Benitez J.A. Contribution of hemagglutinin/protease and motility of the pathogenesis of El Tor biotype cholera. Infect. Immun. 2006; 74:2074–79.

40. Sportmann A.M. Physiology of microbes in biofilms. Curr. Trop. Microbiol. Immunol. 2008; 322:17–36.

41. Vezzulli L., Pezzatti E., Moreno V. et al. Benthic ecology of *Vibrio* spp. and pathogenic *Vibrio* species in a coastal Mediterranean environment (La Spezia Gulf, Italy). Microb. Ecol. 2009; 58 (4):808–18.

42. Wordend Z., Seidel M., Smruga S. et al. Trophic regulation of *Vibrio cholerae* in coastal marine water. Environ. Microbiol. 2006; 8(1):21–9.

43. Xu Q., Dziejman M., Mekalanos J.J. Determination of the transcriptome of *Vibrio cholerae* during intrainitestinal growth and midexponential phase *in vitro*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2003; 100(3):1285–91.

References (Presented are the Russian sources in the order of citation in the original article)

- Adamov A.K., Naumshina M.S. [Cholera Vibrios]. Saratov; 1984. 328 p.
- Duvanov O.V., Shimanyuk N.Ya., Mishan'kin B.N. [The ability of tweek 20 cleavage as a differential feature of O139 serogroup vibrios of different origin]. Klin. Lab. Diagnost. 2000; 5:48–9.
- Eroshenko G.A. [Main trends of the up-to-date research of cholera vibrios biology]. Probl. Osobo Opan. Infek. 2008; 95:37–41.
- Zadnova S.P., Isaev N.D., Kuteikin-Teplyakov K.B., Tikhonova O.V., Toropygin I.Yu., Archakov A.I. et al. [Proteomic analysis of two isogenic *Vibrio cholerae* of the classical biovar with the alternative expression of virulence genes]. Zh. Microbiol. Epidemiol. Immunobiol. 2006; 3:11–6
- Zadnova S.P., Livanova L.F., Lozovskiy Yu.V., Smirnova N.I. [Detection of clones with different expression of virulence and persistence factors in natural populations of cholera vibrio and their phenotypic analysis]. Probl. Osobo Opan. Infek. 2009; 3(101):39–41.
- Isaev N.D., Lozovskiy Yu.V., Zadnova S.P., Smirnova N.I. [Population heterogeneity of natural *Vibrio cholerae* strains of classical biovariant: coordinated changes in colony morphology, motility, toxigenicity, and enzymatic characteristics]. Probl. Osobo Opan. Infek. 2005; 89:43–6.
- [Laboratory Diagnostics of Cholera]. MR 4.2.2218-07. М.; 2007. 87 p.
- Lobanov V.V. [Problems of enteric colonization with *Vibrio cholerae*]. Epidemiol. Infek. Bol. 2009; 3:37–9.
- Milyutin V.N., editor. [Mechanisms and Rate of *Vibrio cholerae* Variability]. Rostov-on-Don; 1981. 175 p.
- Mishan'kin B.N., Shimanyuk N.Ya., Vodopyanov S.O. [Study on *Vibrio cholerae* O139 chitinolytic complex]. In: [Modern Prospects of Investigation of Chitin and Chitosan]. М.; 2006. P. 303–5.
- Onishchenko G.G., Kut'yev V.V., editors. [Laboratory Diagnostics of Particularly Dangerous Infectious Diseases: Practical Guidelines]. М.; 2009. 472 p.
- Prozorov A.A., Danilenko V.N. [Toxin-antitoxin systems in bacteria: Apoptotic tools or metabolic regulators?] Mikrobiologiya. 2010; 79(2):147–59
- Smirnova N.I., Goryaev A.A., Kut'yev V.V. [The evolution of the *Vibrio cholerae* genome during the modern period]. Mol. Genet. Mikrobiol. Virusol. 2010; 4:11–9
- Sokolenco A.V., Lomov Yu.M., Aseeva L.E. [Metabolic profiles of noncultivated forms of *Vibrio cholerae*]. Usp. Sovr. Estestvoznaniya. 2002; 2:22–30.
- Telesmanich N.R. [Triacylglycerollipase activity of hemolytic *Vibrio cholerae*]. Zh. Microbiol. Epidemiol. Immunobiol. 2004; 2:11–4.
- Titova S.V., Sokolenco A.V., Lomov Yu.M. et al. [Morphological changes in a cholera vibrio population during its transition into non-culturing state due to the effects of individual abiotic and biotic factors under experimental conditions]. Probl. Osobo Opan. Infek. 2004; 88:45–9.

Authors:

Mazrukho A.B., Lobanov V.V. Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute. 117/40, M.Gor'kogo St., Rostov-on-Don, 344002, Russia. E-mail: plague@aaanet.ru

Об авторах:

Мазрухо А.Б., Лобанов В.В. Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт. 344002, Ростов-на-Дону, ул. Горького, 117/40. E-mail: plague@aaanet.ru

Получила 18.05.11.