



Факторы патогенности *Vibrio vulnificus*. Обзор

О.А. Цырулина, О.С. Чемисова, А.К. Носков

ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора,
ул. Максима Горького, д. 117/40, г. Ростов-на-Дону, 344002, Российская Федерация

Резюме

Введение. *Vibrio vulnificus* – условно-патогенный микроорганизм, являющийся частью естественной флоры прибрежной морской среды. Употребление морепродуктов, содержащих *V. vulnificus*, может послужить причиной тяжелой, молниеносной системной инфекции у человека, которая, в свою очередь, может привести к сепсису у восприимчивых людей и к летальному исходу. Инфекции, обусловленные *V. vulnificus*, были зарегистрированы в различных климатических зонах по всему миру. Поэтому знание того, какие факторы способствуют патогенности этой бактерии в ее естественной среде обитания, может помочь при разработке новых методов профилактики, диагностики и лечения.

Цель исследования: Обобщить, систематизировать и дать обзорную характеристику факторов патогенности *V. vulnificus* на основании изучения источников литературы.

Материалы и методы. Использованы информационно-аналитические методы на основе обобщения и анализа научных исследований на русском и английском языках, опубликованных в реферативных базах данных Scopus, PubMed, РИНЦ, информационных порталах за период 1976–2020 гг. Отбор статей осуществлялся по принципу наличия в них сведений по изучению факторов патогенности *V. vulnificus*. Было отобрано 60 полнотекстовых материалов, удовлетворяющих вышеуказанным критериям.

Результаты. В данном обзоре изложены последние достижения в области изучения детерминант, способствующих патогенности *V. vulnificus*, и рассмотрены их роли в патогенезе. Показано, что этот микроорганизм, как и большинство возбудителей, для возникновения инфекции требует скоординированной работы многих факторов патогенности. Большинство из них выполняют лишь вспомогательную функцию в патогенезе и служат главным образом для выживания в окружающей среде. Однако при отсутствии таких факторов патогенности, как цитотоксины VVH и MARTX, которые обуславливают некроз тканей в тонком кишечнике с последующей диссеминацией в кровотока и другие ткани, *V. vulnificus* не способен вызывать кишечную инфекцию.

Заключение. Понимание того, какие детерминанты вносят наибольший вклад в развитие инфекции, представляется исключительно важным при анализе штаммов, циркулирующих на территории страны, и оценке рисков развития заболеваний у человека при контакте с данным возбудителем.

Ключевые слова: *Vibrio vulnificus*, факторы патогенности, вирулентность, цитотоксин, гемолизин.

Для цитирования: Цырулина О.А., Чемисова О.С., Носков А.К. Факторы патогенности *Vibrio vulnificus*. Обзор // Здоровье населения и среда обитания. 2022. Т. 30. № 6. С. 59–65. doi: <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2022-30-6-59-65>

Сведения об авторах:

✉ Цырулина Оксана Алексеевна – к.б.н., старший научный сотрудник; e-mail: rykowskaya.oxana@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6176-2605>.

Чемисова Ольга Сергеевна – к.б.н., и. о. зав. лаборатории «Коллекция патогенных микроорганизмов»; e-mail: chemisova@inbox.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4059-2878>.

Носков Алексей Кимович – к.м.н., директор; e-mail: noskov-epid@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0550-2221>.

Информация о вкладе авторов: концепция и дизайн исследования: Носков А.К.; сбор данных: Цырулина О.А., Чемисова О.С.; анализ и интерпретация результатов: Носков А.К.; подготовка рукописи: Цырулина О.А., Чемисова О.С. Все авторы ознакомились с результатами работы и одобрили окончательный вариант рукописи.

Соблюдение этических стандартов: данное исследование не требует представления заключения комитета по биомедицинской этике или иных документов.

Финансирование: исследование проведено без спонсорской поддержки.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

Статья получена: 08.04.22 / Принята к публикации: 06.06.22 / Опубликовано: 30.06.22

Pathogenicity Factors of *Vibrio Vulnificus*: A Review

Oksana A. Tsyurulina, Olga S. Chemisova, Aleksey K. Noskov

Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, 117/40 Maxim Gorky Street,
Rostov-on-Don, 344002, Russian Federation

Summary

Introduction: *Vibrio vulnificus* is an opportunistic microorganism that is part of the natural flora of the coastal marine environment. Consumption of seafood containing *V. vulnificus* can result in a severe, lightning-fast systemic infection in humans, which can, in its turn, lead to sepsis and even death in susceptible people. Infections caused by *V. vulnificus* have been reported in various climate zones around the world. Thus, the understanding of factors contributing to pathogenicity of this bacterium in its natural habitat can help develop new methods of disease prevention, diagnosis and treatment.

Objective: To overview and systematize pathogenicity factors of *V. vulnificus* described in literary sources.

Materials and methods: We used data analysis techniques to review scientific studies published in Russian and English in such abstract and citation databases as Scopus, PubMed, Russian Science Citation Index, and on information portals in 1976–2020. The main selection criterion was availability of information on the study of pathogenicity factors of *V. vulnificus* in the papers. Sixty full-text publications meeting the above criteria were chosen.

Results: This review presents the latest achievements in the study of determinants contributing to the pathogenicity of *V. vulnificus* and examines their roles in pathogenesis. It has been shown that this microorganism, like most pathogens, requires coordinated work of many pathogenicity factors to cause infection. Most of them perform only an auxiliary function in pathogenesis and serve mainly for survival in the environment. However, in the absence of pathogenicity factors such as cytotoxins VVH and MARTX, which cause tissue necrosis in the small intestine with subsequent dissemination into the bloodstream and other tissues, *V. vulnificus* is unable to cause intestinal infection.

Conclusion: The understanding of the determinants contributing the most to the infection is extremely important when analyzing strains circulating in the country and assessing the risks of diseases in humans exposed to this pathogen.

Keywords: *Vibrio vulnificus*, pathogenicity factors, virulence, cytotoxin, hemolysin.

For citation: Tsyurulina OA, Chemisova OS, Noskov AK. Pathogenicity factors of *Vibrio vulnificus*: A review. *Zdorov'e Naseleniya i Sreda Obitaniya*. 2022; 30(6):59–65. (In Russ.) doi: <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2022-30-6-59-65>

Author information:

✉ Oksana A. Tsyurulina, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute; e-mail: rykowskaya.oxana@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6176-2605>.

Olga S. Chemisova, Cand. Sci. (Biol.), Acting Head of the Laboratory "Collection of pathogenic microorganisms", Rostov-on-Don Plague Control Research Institute; e-mail: chemisova@inbox.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4059-2878>.

Aleksey K. Noskov, Cand. Sci. (Med.), Director of the Rostov-on-Don Plague Control Research Institute; e-mail: noskov-epid@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0550-2221>.

Author contributions: study conception and design: Noskov A.K.; data collection: Tsyurulina O.A., Chemisova O.S.; analysis and interpretation of results: Noskov A.K.; draft manuscript preparation: Tsyurulina O.A., Chemisova O.S. All authors reviewed the results and approved the final version of the manuscript.

Compliance with ethical standards: Ethics approval was not required for this study.

Funding: The authors received no financial support for the research, authorship, and/or publication of this article.

Conflict of interest: The authors declare that there is no conflict of interest.

Received: April 08, 2022 / Accepted: June 6, 2022 / Published: June 30, 2022

Введение. *Vibrio vulnificus* — грамотрицательные, подвижные, изогнутые, палочковидные, патогенные бактерии рода *Vibrio*. Впервые были выделены как источник болезни в 1976 г. в г. Атланта. Первоначально Центром по контролю и профилактике заболеваний США описаны как «галофильный вид вибрионов». В 1976 г. Джон Л. Райхельт обозначил *V. vulnificus* как новый патогенетический вид рода *Venezuela* [1]. Дальнейшие исследования привели в 1979 г. к переносу патогена в род *Vibrio* и предложению изменить название на *Vibrio vulnificus*, что является его нынешней номенклатурой [2].

Бактерии вида *V. vulnificus* являются возбудителями кишечных заболеваний, раневых инфекций и септицемий [3]. Тяжесть поражений, вызываемых *V. vulnificus*, зависит от степени вирулентности возбудителя и состояния организма хозяина. Раневые инфекции возникают через повреждения кожи, а кишечные инфекции — после употребления морепродуктов. Гастроэнтерит сопровождается рвотой, диарей, болью в животе и обычно развивается в течение 16 часов после употребления зараженной пищи. У многих развиваются характерные буллезные поражения кожи. *V. vulnificus* гораздо чаще попадает в кровоток у людей с ослабленным иммунитетом и хроническими заболеваниями, что приводит к серьезным последствиям, таким как септический шок, а иногда и смерть [4, 5].

Данные вибрионы также представляют угрозу для коммерческой аквакультуры, поскольку они являются патогенами рыб и ракообразных [6–8]. Некоторые беспозвоночные, в их числе креветки и устрицы, выращиваемые в коммерческих целях, подвержены риску заражения, что может привести к высокой смертности хозяйственных культур и экономическим потерям для промышленности, а также к заражению людей в случае употребления такой продукции [6].

V. vulnificus широко распространен в эстуарных, прибрежных морских водах и солоноватых прудах с температурой выше 13 °C.

Культуры были выделены из прибрежных районов вдоль Атлантического, Тихого океана и побережья Персидского залива США, Европы, Израиля, Австралии и нескольких стран Восточной Азии. Являясь наиболее частой причиной смерти, обусловленной употреблением морепродуктов, в Соединенных Штатах. *V. vulnificus* — эндемик юго-восточного побережья США. В США зарегистрировано более 900 случаев за период с 1998 по 2006 г. (свыше 100 случаев в год, 85 госпитализаций, 35 летальных исходов) [9, 10]. *V. vulnificus* широко распространен в Мексиканском заливе, где с 1990 г. от инфекции умерло более десятка человек. Исследователи из Пенсильвании

(Северо-Восток США) сообщили о возникновении 5 случаев некротического фасциита, вызванного *V. vulnificus*, за летние периоды 2017 и 2018 гг. Важно отметить, что за предшествующие 8 лет (период 2008–2016 гг.) диагностирован только один случай данной инфекции. Случаи этой инфекции в США отмечались в районе Чесапикского залива в Атлантическом океане, однако они были редкими в более северной и холодной части — заливе Делавэр.

Летом и осенью 1996 и 1997 гг. в Израиле произошла вспышка инвазивной инфекции *V. vulnificus* у людей, которые обрабатывали свежую цельную рыбу, купленную в искусственных рыбоводных прудах. При этом зарегистрировано 62 случая заболевания. Причиной вспышки стал новый штамм *V. vulnificus*, классифицированный как биотип 3 [11, 12].

В Японии в период с 1999 по 2003 г. в общей сложности зарегистрировано 93 случая заболевания, обусловленного *V. vulnificus*. Из них 68 случаев (72,3 %) были представлены септициемией, а смертность составила 75 %. Matsuoka (2013) и соавт. сообщили о 12 пациентах с некротическим фасциитом, 7 из которых оказались летальными. Причем все без исключения зараженные пациенты имели сопутствующие заболевания [13].

В 2003 г. в Германии зарегистрировано 52 случая заражения бактериями *V. vulnificus*, среди которых восемь человек погибло. Отмечались случаи заражения вибрионами на германском побережье Балтики — в 2010 г. умерли два человека. В 2014 г. был зафиксирован случай заражения мужчины *V. vulnificus* во время купания в Балтийском море с летальным исходом.

В Корее зарегистрировано 588 подтвержденных случаях инфекций, вызванных *V. vulnificus* с 2001 по 2010 г. Из всех зарегистрированных случаев 285 были смертельными, что составило 48,5 % [14]. Также в 2018 г. в Южной Корее выявлен случай инфицирования *V. vulnificus*, который закончился ампутацией руки пациента [15].

На территории России ежегодно такие вибрионы выделяют из проб морской воды на Черноморском побережье в гг. Новороссийске, Сочи, Ялте (Республика Крым), в Таганрогском заливе Азовского моря, а также из проб балластных вод судов, прибывающих в международные порты гг. Ростова, Таганрога и Азова из-за рубежа [16–18].

Исследователи отмечают, что аномалии климата, а в частности повышение температуры воды за последние десятилетия, создают благоприятные условия для обитания *V. vulnificus* в регионах, традиционно считавшихся очень холодными для роста и размножения этих микроорганизмов [19].

Штаммы *V. vulnificus* классифицируются на биотипы в зависимости от их биохимических характеристик. Штаммы, принадлежащие к биотипу 1, являются причиной многочисленных клинических случаев инфекций у людей, в то время как штаммы биотипа 2 являются в основном патогенами угрей [20]. Биотип 3, первоначально обнаруженный в Израиле в 1996 г., обладает биохимическими свойствами обоих биотипов 1 и 2 и вызывает раневую инфекцию человека [21]. Анализ, сравнивающий геномное сходство между тремя биотипами, показал, что биотип 3 является гибридом биотипов 1 и 2 [22].

Тяжесть заболевания, вызванного инфекцией *V. vulnificus*, инвазивный характер и ее быстротечное течение указывают на то, что патогенность этих бактерий является многофакторным и сложным явлением, которое включает в себя продукты многих генов. *V. vulnificus* экспрессирует множество клеточно-ассоциированных и секретируемых факторов, которые потенциально способствуют патогенности, хотя конкретные роли большинства из них трудно определить [23].

Поэтому для разработки более совершенных методов лечения и профилактики, а также для понимания молекулярного патогенеза многопланового взаимодействия хозяина и патогена *V. vulnificus* по-прежнему необходим обширный скрининг и характеристика большего числа факторов вирулентности.

Цель исследования — обобщить, систематизировать и дать обзорную характеристику факторов патогенности *V. vulnificus* на основании изучения источников литературы. Такая углубленная оценка вклада различных факторов в патогенез *V. vulnificus* может помочь в разработке новых методов диагностики, направленных на лечение и профилактику сепсиса у человека.

Материалы и методы. Использованы информационно-аналитические методы на основе обобщения и анализа научных исследований на русском и английском языках, опубликованных в реферативных базах данных Scopus, PubMed, РИНЦ, информационных порталах за период 1976–2020 гг. Отбор статей осуществлялся по принципу наличия в них сведений по изучению факторов патогенности *V. vulnificus*. Было отобрано 60 полнотекстовых материалов, удовлетворяющих вышеуказанным критериям.

Факторы патогенности *V. vulnificus*

Чтобы вызвать заражение человека, *V. vulnificus* должен сначала пережить негостеприимную среду в нашем организме и преодолеть наш иммунный ответ. Он способен достичь этого благодаря детерминантам, которые усиливают его вирулентность, придавая способность выживать в человеческом организме. Благодаря комплексному взаимодействию факторов патогенности, таких как капсула, мембранные белки, пили и жгутики, реализуются сложные механизмы, в результате которых происходит инвазия патогена в организм хозяина [23, 24].

1. Углеводная капсула

V. vulnificus имеет полисахаридную капсулу, которая способствует выживанию в организме человека. Она защищает от фагоцитоза и помогает бактериям избежать опсонизации. Неинкапсулированные изогенные мутанты *V. vulnificus* легко фагоцитируются иммунными

клетками хозяина [25]. Патогенность *V. vulnificus* напрямую связана с наличием капсульного полисахарида. Существует два типа колоний, образованных *V. vulnificus* на твердой питательной среде, а именно прозрачные и непрозрачные колонии. Прозрачные колонии *V. vulnificus* не образуют капсулы и не являются вирулентными для мышей, в то время как непрозрачные колонии — наоборот [26]. Модели на мышах показали, что неинкапсулированные формы авирулентны. Однако эти же самые штаммы, как было показано, имеют высокую предрасположенность к переходу в вирулентную капсулированную форму при попадании в организм гидробионтов [27].

В результате транспозонного мутагенеза инкапсулированного вирулентного штамма *V. vulnificus* 1003(O) исследователями Smith A.B. и Siebeling R.J. (2003) было идентифицировано четыре генетические области, которые необходимы для экспрессии и вирулентности капсульного полисахарида (CPS). Три являются частью капсульного генного локуса, состоящего из генов биосинтеза, полимеризации и транспорта, сгруппированных на одном хромосомном фрагменте. Четвертая интегроноподобная область аналогична области суперинтегрона *V. cholerae*. Она состоит из открытых рамок считывания (ORF), кодирующих гены, функция которых неизвестна. Было показано, что мутация в каждом из локусов делает штаммы авирулентными.

Гены *wcvA* (эпимеразы), *wcvF* (рамнозилтрансферазы), *wcvI* (гликозилтрансферазы) и *orf4* важны для биосинтеза капсулы. Шесть ORF были идентифицированы как участвующие в биосинтезе активированных предшественников моносахаридов. Эпимераза *wcvA* и дегидрогеназа *wcvB* были идентифицированы как проксимальные ORF одинаковой ориентации. Три гена *rml: rmlA, rmlD* и *rmlC* вовлечены в биосинтез L-рамнозы. И ген *wcvH* опосредует биосинтез активированных предшественников моносахаридов и гомологичен таковому у *Streptococcus pneumoniae*. Генами полимеризации и процессинга являются гликозилтрансфераза (*wecA, wcvE, wcvF, wcvG* и *wcvI*) и флиппаза (*wzx* и *wzy*). Эти гены, участвующие в сборке и транспорте повторяющихся моносахаров, как полагают, специфичны для серотипа [28].

2. Липополисахарид (эндотоксин)

Как и все граммотрицательные бактерии, *V. vulnificus* имеет липополисахарид (ЛПС) в качестве основного компонента его внешней мембраны. Одним из его наиболее известных биологических эффектов при взаимодействии с хозяином является его эндотоксическая активность. Считается, что некроз тканей и эндотоксический шок, вызываемый *V. vulnificus*, обусловлены присутствием липополисахарида. Прямое внутривенное введение ЛПС крысам и мышам приводит к резкому падению среднего артериального давления в течение 10 минут и быстрой смерти животного через 30–60 минут, что указывает на его роль в развитии симптомов заболевания и летальности [29].

У *V. vulnificus* ЛПС является известным пирогеном, который вызывает небольшой цитокиновый ответ у мышей и высвобождение ФНО- α (фактор некроза опухоли альфа). Таким образом, ЛПС *V. vulnificus*, главным образом из-за его

эндотоксичности, способствует патогенности этого микроорганизма [29–31].

3. Пили

Пили также являются важными детерминантами патогенности бактерий из-за их роли в прикреплении и колонизации ткани млекопитающего. Ранние исследования патогенеза *V. vulnificus* показали, что потеря способности к движению этих бактерий приводит как к отсутствию локализованного заболевания, так и гибели инфицированного животного [32].

Пили IV типа, характерные для *V. vulnificus*, важны не только для адгезии бактерий к поверхностям эукариотических клеток и патогенеза, но также для формирования биопленок на абиотических поверхностях. Пили *V. vulnificus* IV типа (*pilA*) имеют большую гомологию с пилиями IV типа группы А, экспрессируемыми многими патогенами, включая холерный вибрион (*pilA*), синегнойную палочку (*pilA*) и гидрофильную палочку (*tapA*). Исследования показали, что отсутствие *pilD*, препилипептидазы типа IV, приводит к потере всех поверхностных пилей и дефекту адгезии к эпителиальным клеткам человека. Выявлено присутствие *pilA* и *pilD* у штаммов *V. vulnificus*, выделенных из клинического материала и ООС, что свидетельствует об их существенной роли в экологии этого организма [33, 34].

4. Жгутик

Подвижность, опосредованная жгутиком, в дополнение к адгезии важна для реализации различных процессов, таких как образование биопленки и патогенез. Чтобы исследовать роль жгутиков в патогенезе *V. vulnificus*, Jones M.K. и соавт. (2009) были получены изогенные мутанты с инактивированными жгутиковыми генами (кодируемыми *flgC* и *flgE*). В результате это привело к значительному снижению подвижности, клеточной адгезии и цитотоксичности по сравнению с родительскими штаммами. Таким образом, потеря подвижности может привести не только к снижению адгезии, но и ингибированию доставки цитотоксинов. Это подтверждает гипотезу о том, что контакт с клетками-хозяевами необходим для секреции и активности токсина *V. vulnificus* [23].

5. Белки внешней мембраны

Два дополнительных белка OmpU и PrA также относят к предполагаемым факторам вирулентности *V. vulnificus*.

OmpU — это белок внешней мембраны, способный связываться с фибронектином. Мутация этого гена приводит к снижению связывания и сцепления с Her-2 клетками.

PrA — это мембраносвязанный белок, способный стимулировать иммунный ответ. Мутант по этому гену также показал снижение цитотоксичности после внутрибрюшинного введения мышам [35].

В то же время показано, что эти белки способствуют локальному повреждению, но не обуславливают летальность [23].

6. Экзотоксины и ферменты

6.1. Гемолизин *V. vulnificus*, кодируемый *vvhA*

Гемолизин *V. vulnificus* (VVH) — это порообразующий холестерин-зависимый цитолизин. Существуют две точки зрения в вопросе эффекта вирулентности VVH *in vivo*. Более ранние исследования показали, что нарушение в гене гемолизина *vvhA* не оказывает влияния на вирулентность

V. vulnificus и летальность у мышей [36]. Однако другие исследования подтвердили, что ген *vvhA* в значительной степени регулируется и экспрессируется *in vivo* и, вероятно, играет важную роль в патогенезе *V. vulnificus* [37]. VVH принадлежит к цитолитическому порообразующему семейству токсинов (PFTs), которые вызывают цитолиз в различных клетках млекопитающих. Гемолизин VVH вызывает гемолиз эритроцитов у многих видов млекопитающих, причем эритроциты человека являются наиболее восприимчивыми. Несмотря на то что он активен в отношении эритроцитов овец, лошадей, коров, кроликов и кур, количество VVH, необходимое для того, чтобы вызвать 50 % гемолиз в идентичных условиях, различается между видами. Это объясняется тем, что восприимчивость эритроцитов тесно связана со связывающей способностью VVH и стабильностью мембран эритроцитов [38].

Токсин вызывает нарушение жизненно важных функций организма, создающих опасность для жизни. В результате воздействия гемолизина может происходить накопление жидкости в просвете кишечника, приводящее к диарее, частичный паралич и некроз тканей [39]. Прямое исследование влияния гемолизина на клетки хозяина показало, что воздействие токсина увеличивает проницаемость сосудов, вызывает апоптоз эндотелиальных клеток, индукцию индуцибельной синтазы оксида азота, увеличение продукции оксида азота и рекрутирования нейтрофилов. Гибель клеток, вызванная гемолизином, происходит через образование пор в клеточной мембране, что в итоге приводит к сосудистой проницаемости и гипотензии [40].

Молекулярные методы идентификации *V. vulnificus*, такие как гибридизация колоний с ДНК-зондом, ПЦР, LAMP нацелены на детекцию гена *vvhA*, который, по-видимому, является уникальным для *V. vulnificus*, в связи с чем считается надежной видоспецифической мишенью [41].

6.2. Токсин RTX

Другой цитотоксин RTX является мощным многофункциональным цитотоксическим фактором вирулентности *V. vulnificus* [42].

Токсины RTX, содержащие тандемный нонапептидный повтор около N-конца [43], продуцируются многими грамотрицательными бактериями [44]. Большинство из них вызывают лизис клеток, нарушая целостность клеточной мембраны. Среди представителей рода *Vibrio* RTX (MARTX) был впервые обнаружен у *V. cholerae* [45].

Высокомолекулярный цитотоксин MARTX (multifunctional autoprocessing repeats-in-toxin), кодируемый геном *rtxA* в составе RTX-кластера, является одним из факторов патогенности холерных вибрионов, обездвигивающим макрофаги и способствующим колонизации кишечника [46]. Производство и секреция токсина RTX RtxA1 у *V. vulnificus* выполняются генами в двух разных оперонах, *rtxC-rtxA1* и *rtxB-rtxD-rtxE*, которых отличает высокая гомология нуклеотидной последовательности и генной организации от таковых у *V. cholerae*. Однако в отличие от *V. cholerae* RTX *V. vulnificus* образует поры на мембране клетки-хозяина и вызывает лизис клеток (индуцируя апоптотическую гибель эпителиальных клеток человека), инвазию и летальность мышей. Этот токсин также может вызывать выработку активных форм кислорода и приводить к гибели клеток

хозяина через активацию NAD(P)H оксидазы 1 (nox1) [47]. Экспрессия *rtxA1* индуцируется после контакта с клетками хозяина как *in vitro* [48], так и *in vivo* [49]. Также этот цитотоксин способствует выживанию микроорганизмов вида *V. vulnificus* в очаге инфекции путем защиты бактерий от фагоцитоза [50].

6.3. Металлопротеиназа VvpE

V. vulnificus продуцирует металлопротеиназу (VvpE), которая, как подозревают, является детерминантой вирулентности. Очищенная металлопротеиназа вызывает геморрагическое повреждение и дермонекроз, увеличивает проницаемость сосудов и отек, а также смертельна для мышей [23].

V. vulnificus при попадании в организм человека встречает одновременные изменения факторов окружающей среды, включая температуру, осмолярность, уровни железа и кислорода. И известно, что большинство из этих факторов окружающей среды влияют на экспрессию гена *vvpE*.

Были исследованы взаимодействия VVP, а также его производного (PEG1-VVP), модифицированного полиэтиленгликолем, с различными белками плазмы крови человека в присутствии альфа-макроглобулина, единственного ингибитора нативного VVP в плазме крови.

Было показано, что VVP и PEG1-VVP разрушают ингибиторы протеиназ плазмы, включая ингибитор альфа-1-протеиназы, основной ингибитор в плазме человека. Поскольку эндогенные протеолитические ферменты и их ингибиторы необходимы для поддержания физиологического гомеостаза, эти результаты свидетельствуют о том, что VVP (и PEG1-VVP) могут вызывать дисбаланс систем ингибиторов протеиназы плазмы человека, тем самым вызывая иммунокомпрометированное состояние у хозяина и способствуя развитию системной инфекции *V. vulnificus*, такой как септицемия [51].

В дальнейшем Morris J.G. и соавт. было показано, что продукция *vvpE* характерна как для вирулентных, так и авирулентных штаммов *V. vulnificus*, что указывает на то, что этот фермент может и не влиять на летальность [52]. Мутационный анализ *vvpE* подтвердил эту гипотезу. При этом мутантный штамм не отличался от родительского при местных или системных инфекциях. В результате этих открытий были исследованы другие функции *vvpE* кроме разрушения ткани. Сообщается, что *vvpE* может способствовать расщеплению гемсодержащих белков, тем самым высвобождая железо для использования сидерофорами, но дальнейшие исследования показали, что это, вероятно, не так. Однако наличие железа необходимо для эффективной транскрипции *vvpE*. В целом исследования активности и действия *vvpE* указывают на то, что металлопротеиназа не является основным фактором вирулентности *V. vulnificus* [23].

6.4. Фосфолипаза

Фосфолипазы, липолитические ферменты, гидролизующие один или несколько сложноэфирных связей в фосфолипидах, обнаружены у различных бактериальных патогенов. Эти ферменты играют важную роль в патогенезе бактерий. Фосфолипазы классифицируются на четыре основные группы (A – D) в зависимости от места их действия на фосфолипид. Среди них фосфолипаза A (PLA) способна гидролизовать жирную кислоту из основной цепи глицерина и подразделяется на

PLA1 и PLA2, каждый из которых гидролизует жирную кислоту из sn-1 и -2 положения глицеринового фрагмента соответственно. Соответственно, PLA считается фактором вирулентности бактерий, разрушающим фосфолипидную мембрану, что, в свою очередь, приводит к лизису эпителиальных клеток человека. В дополнение продукты, образующиеся в результате лизиса эпителиальных клеток, такие как лизофосфатидилхолин, могут в дальнейшем действовать как вторичные мессенджеры, которые вызывают апоптотическую гибель эндотелиальных клеток человека [53].

У *V. vulnificus* фосфолипазу кодирует ген *vvPlpA*. Многие исследования показали, что *vvPlpA* является фактором вирулентности, вызывающим лизис и некротическую смерть эпителиальных клеток. *VvPlpA* представляет собой секреторную фосфолипазу A2, зависимую от системы секреции типа II, регулируемую *hlyU* и *CRP*, и она обуславливает патогенность *V. vulnificus* [54].

7. Система приобретения связанного железа

Железо является важнейшим макроэлементом микроорганизмов, действуя как переносчик электронов и кофактор синтеза ДНК и РНК. Окисленная форма железа нерастворима, а восстановленная форма высокотоксична для большинства макромолекул и в биологических системах, как правило, связана с железом- и гемсодержащими белками. Таким образом, на Земле практически нет свободного железа, доступного для бактерий, независимо от того, какой биотоп они населяют. Бактерии располагают несколькими системами приобретения железа. Эти системы используют один из двух механизмов. Первый предполагает прямой контакт между бактерией и экзогенными источниками железа/гема. Второй механизм реализуется посредством синтеза молекул (сидерофоров и гемофоров) и высвобождения их в окружающую среду. Данные молекулы извлекают железо или гем из разных источников [55].

Рост *V. vulnificus* зависит от количества доступного железа. Наблюдаемая взаимосвязь инфекции с заболеванием печени (связанная с повышенным содержанием железа в сыворотке) может быть обусловлена способностью более вирулентных штаммов захватывать железо. *V. vulnificus* обладает двумя неспецифическими для хозяина системами поглощения железа, участвующими в реализации патогенетического потенциала. Одна система опосредована сидерофором и его рецептором *VuuA*, а другая основана на секреторируемом гемофоре и его родственном рецепторе внешней мембраны *HupA*.

Примечательно, что был описан второй гем-рецептор *HutR*, но он, как доказано, не вовлекается в реализацию патогенеза. Интересно, что инаktivация систем поглощения железа посредством мутаций в генах, кодирующих рецепторы *VuuA* и *HupA*, полностью устраняет вирулентность для мышей, но не вирулентность для угрей. Предполагается существование третьей, вероятно, специфической для хозяина системы захвата железа у угрей. Кроме того, ген-кандидат для этой третьей системы, *ver20*, был идентифицирован с использованием FURTA (анализ титрования железа) в *pVvBt2*-плазмиде, путем приобретения которой, как недавно было показано, формируются вирулентные для рыб штаммы *V. vulnificus*, относящиеся ко второму биотипу [56].

8. Другие факторы патогенности

Также к дополнительным факторам патогенности *V. vulnificus* относят комплекс ферментов, таких как эластаза, коллагеназа, муциназа, ДНК-аза.

Удивительно, но секвенирование *V. vulnificus* штамма МО6-24/О, выделенного от больного с сепсисом, показало, что этот штамм обладает генным кластером, содержащим гены *ace* и *zot*, подобные *V. cholerae* [57].

Токсин Ace представляет собой интегральный мембранный белок, состоящий из 96 аминокислот. Механизм действия Ace заключается во встраивании гидрофобной α -спирали в мембрану энтероцита и формировании ион-проницаемой поры, вследствие чего жидкость с ионами поступает обратно в просвет кишечника, вызывая диарею [58].

Токсин Zot представляет собой энтеротоксин, локализованный на внешней бактериальной мембране [59]. Механизм действия Zot состоит в усилении проницаемости тканей вследствие разрушения межклеточных плотных контактов, обеспечивающего более свободный доступ других токсинов к клеточной мембране [60].

Заключение. Риск желудочно-кишечных инфекций, обусловленных различными видами вибрионов, растет во всем мире в результате глобального потепления. А широкое распространение патогена *V. vulnificus* подчеркивает важность и необходимость понимания его многочисленных факторов патогенности и их влияния на организм хозяина. Анализ данных литературы свидетельствует о том, что вирулентность *V. vulnificus* является многофакторной. Несмотря на то что достигнут большой прогресс в изучении и расшифровке механизмов вирулентности и уже известен широкий набор факторов патогенности, до сих пор идут работы по поиску специфических генетических маркеров для дифференцировки вирулентных и авирулентных штаммов *V. vulnificus*.

Характеристика соматических, а также секретируемых продуктов *V. vulnificus* дает большой список предполагаемых факторов вирулентности, из которых только некоторые подтверждены как вносящие вклад в патогенность возбудителя.

При сравнении описанных детерминант относительно друг друга можно сделать вывод, что каждый из них вносит свой вклад в патогенность *V. vulnificus*.

Однако на основании изучения публикаций по данной тематике следует отметить, что в отсутствие двух секретируемых факторов патогенности — цитотоксинов VVH и MARTX, которые связаны как с усиленным ростом *in vivo*, так и с некрозом тканей в тонкой кишке с последующей диссеминацией в кровотоки и другие ткани, *V. vulnificus* не способен вызывать кишечную инфекцию. Это свидетельствует о том, что данные детерминанты вносят наибольший вклад в развитие инфекции и могут служить целевыми маркерами при анализе штаммов, циркулирующих на территории страны, и оценке рисков развития заболеваний у человека при контакте с возбудителем.

Список литературы / References

- Reichelt JL, Baumann P, Baumann L. Study of genetic relationships among marine species of the genera *Beneckea* and *Photobacterium* by means of in vitro DNA/DNA hybridization. *Arch Microbiol.* 1976;110(1):101-120. doi: 10.1007/BF00416975
- Farmer JJ 3rd. *Vibrio* („Beneckea”) *vulnificus*, the bacterium associated with sepsis, septicemia, and the sea. *Lancet.* 1979;2(8148):903. doi: 10.1016/s0140-6736(79)92715-6
- Hollis DG, Weaver RE, Baker CN, Thornsberry C. Halophilic *Vibrio* species isolated from blood cultures. *J Clin Microbiol.* 1976;3(4):425-431. doi: 10.1128/jcm.3.4.425-431.1976
- Gulig PA, Bourdage KL, Starks AM. Molecular pathogenesis of *Vibrio vulnificus*. *J Microbiol.* 2005;43(Spec No):118-131.
- Linkous DA, Oliver JD. Pathogenesis of *Vibrio vulnificus*. *FEMS Microbiol Lett.* 1999;174(2):207-214. doi: 10.1111/j.1574-6968.1999.tb13570.x
- Molina-Aja A, Garcia-Gasca A, Abreu-Grobois A, Bolán-Mejia C, Roque A, Gomez-Gil B. Plasmid profiling and antibiotic resistance of *Vibrio* strains isolated from cultured penaeid shrimp. *FEMS Microbiol Lett.* 2002;213(1):7-12. doi: 10.1111/j.1574-6968.2002.tb11278.x
- Horseman MA, Surani S. A comprehensive review of *Vibrio vulnificus*: an important cause of severe sepsis and skin and soft-tissue infection. *Int J Infect Dis.* 2011;15(3):e157-e166. doi: 10.1016/j.ijid.2010.11.003
- Kitiyodom S, Khemtong S, Wongtavatchai J, Chuanchuen R. Characterization of antibiotic resistance in *Vibrio* spp. isolated from farmed marine shrimps (*Penaeus monodon*). *FEMS Microbiol Ecol.* 2010;72(2):219-227. doi: 10.1111/j.1574-6941.2010.00846.x
- Oliver JD. *Vibrio vulnificus*. In: Belkin S, Colwell RR, eds. *Oceans and Health: Pathogens in the Marine Environment.* 2005:253-276. doi: 10.1007/b102184
- Oshima Y, Tanimoto T, Yuji K. *Vibrio vulnificus* infections from a previously nonendemic area. *Ann Intern Med.* 2020;172(5):367. doi: 10.7326/L19-0757
- Bisharat N, Agmon V, Finkelstein R, et al. Clinical, epidemiological, and microbiological features of *Vibrio vulnificus* biogroup 3 causing outbreaks of wound infection and bacteraemia in Israel. Israel *Vibrio* Study Group. *Lancet.* 1999;354(9):1421-1424. doi: 10.1016/s0140-6736(99)02471-x
- Zaidenstein R, Sadik C, Lerner L, et al. Clinical characteristics and molecular subtyping of *Vibrio vulnificus* illnesses, Israel. *Emerg Infect Dis.* 2008;14(12):1875-1882. doi: 10.3201/eid1412.080499
- Matsuoka Y, Nakayama Y, Yamada T, et al. Accurate diagnosis and treatment of *Vibrio vulnificus* infection: a retrospective study of 12 cases. *Braz J Infect Dis.* 2013;17(1):7-12. doi: 10.1016/j.bjid.2012.07.017
- Lee HJ, Kim JA, Lee MA, Park SJ, Lee KH. Regulation of haemolysin (*VvhA*) production by ferric uptake regulator (*Fur*) in *Vibrio vulnificus*: Repression of *vvhA* transcription by *Fur* and Proteolysis of *VvhA* by *Fur*-repressive exoproteases. *Mol Microbiol.* 2013;88(4):813-826. doi: 10.1111/mmi.12224
- Park J, Lee CS. *Vibrio vulnificus* infection. *N Eng J Med.* 2018;379(4):375. doi: 10.1056/NEJMc1716464
- Гальцева Г.В., Зайденов А.М., Брудный Р.А., Левкович А.А., Нагорный С.И. Вибриофлора водных объектов рекреационных зон черноморского побережья и ее роль в патологии человека. *Микробиология, эпидемиология и иммунология.* 1994. № 6. С. 48-50.
- Galtseva GV, Zaidenov AM, Brudny RA, Levkovich AA, Nagorny SI. [Vibrio flora of water bodies of recreational zones of the Black Sea coast and its role in human pathology.] *Mikrobiologiya, Epidemiologiya i Immunologiya.* 1994;(6):48-50. (In Russ.)
- Смоликова Л.М., Ломов Ю.М., Хоменко Т.В. и др. Галофильные вибрионы, обусловившие вспышку пищевой токсикоинфекции во Владивостоке. *Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол.* 2001. № 6. С. 3-7.
- Smolikova LM, Lomov YM, Khomenko TV, et al. [Halophilic vibrios that caused the outbreak of a food-borne intoxication in Vladivostok.] *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii.* 2001;(6):3-7. (In Russ.)
- Чемисова О.С., Рыковская О.А., Даликова Р.Р. и др. Характеристика штаммов *Vibrio parahaemolyticus* и других галофильных вибрионов, выделенных из балластных вод судов, прибывающих в международные порты Ростовской области // *Здоровье населения и среда обитания.* 2014. № 7 (256). С. 42-45.
- Chemisova OS, Rykovskaya OA, Dalikova RR, et al. Characterization of *Vibrio* human pathogens isolated from ballast waters of ships arriving to Rostov region international ports. *Zdorov'e Naseleniya i Sreda Obitaniya.* 2014;(7(256)):42-45. (In Russ.)

19. Baker-Austin C, Trinanes J, Gonzalez-Escalona N, Martinez-Urtaza J. Non-cholera vibrios: the microbial barometer of climate change. *Trends Microbiol.* 2017;25(1):76–84. doi: 10.1016/j.tim.2016.09.008
20. Amaro C, Biosca EG. *Vibrio vulnificus* biotype 2, pathogenic for eels, is also an opportunistic pathogen for humans. *Appl Environ Microbiol.* 1996;62(4):1454–1457. doi: 10.1128/aem.62.4.1454-1457.1996
21. Colodner R, Raz R, Meir I, et al. Identification of the emerging pathogen *Vibrio vulnificus* biotype 3 by commercially available phenotypic methods. *J Clin Microbiol.* 2004;42(9):4137–4140. doi: 10.1128/JCM.42.9.4137-4140.2004
22. Bisharat N, Cohen DI, Harding RM, et al. Hybrid *Vibrio vulnificus*. *Emerg Infect Dis.* 2005;11(1):30–35. doi: 10.3201/eid1101.040440
23. Jones MK, Oliver JD. *Vibrio vulnificus*: disease and pathogenesis. *Infect Immun.* 2009;77(5):1723–1733. doi: 10.1128/IAI.01046-08
24. Goo SY, Lee HJ, Kim WH, et al. Identification of OmpU of *Vibrio vulnificus* as a fibronectin-binding protein and its role in bacterial pathogenesis. *Infect Immun.* 2006;74(10):5586–5594. doi: 10.1128/IAI.00171-06
25. Yoshida S, Ogawa M, Mizuguchi Y. Relation of capsular materials and colony opacity to virulence of *Vibrio vulnificus*. *Infect Immun.* 1985;47(2):446–451. doi: 10.1128/IAI.47.2.446-451.1985
26. Li G, Wang MY. The role of *Vibrio vulnificus* virulence factors and regulators in its infection-induced sepsis. *Folia Microbiol (Praha).* 2020;65(2):265–274. doi: 10.1007/s12223-019-00763-7
27. Wright AC, Simpson LM, Oliver JD, Morris JG Jr. Phenotypic evaluation of acapsular transposon mutants of *Vibrio vulnificus*. *Infect Immun.* 1990;58(6):1769–1773. doi: 10.1128/iai.58.6.1769-1773.1990
28. Smith AB, Siebeling RJ. Identification of genetic loci required for capsular expression in *Vibrio vulnificus*. *Infect Immun.* 2003;71(3):1091–1097. doi: 10.1128/IAI.71.3.1091-1097.2003
29. McPherson VL, Watts JA, Simpson LM, Oliver JD. Physiological effects of the lipopolysaccharide of *Vibrio vulnificus* on mice and rats. *Microbios.* 1991;67(272-273):141–149.
30. Biosca EG, Collado RM, Oliver JD, Amaro C. Comparative study of biological properties and electrophoretic characteristics of lipopolysaccharide from eel-virulent and eel-A virulent *Vibrio vulnificus* strains. *Appl Environ Microbiol.* 1999;65(2):856–858. doi: 10.1128/AEM.65.2.856-858.1999
31. Bahrani K, Oliver JD. Studies on the lipopolysaccharide of a virulent and an avirulent strain of *Vibrio vulnificus*. *Biochem Cell Biol.* 1990;68(2):547–551. doi: 10.1139/o90-078
32. Bowdre JH, Poole MD, Oliver JD. Edema and hemocoagulation in mice experimentally infected with *Vibrio vulnificus*. *Infect Immun.* 1981;32(3):1193–1199. doi: 10.1128/iai.32.3.1193-1199.1981
33. Paranjpye RN, Johnson AB, Baxter AE, Strom MS. Role of type IV pilins in persistence of *Vibrio vulnificus* in *Crassostrea virginica* oysters. *Appl Environ Microbiol.* 2007;73(15):5041–5044. doi: 10.1128/AEM.00641-07
34. Paranjpye RN, Strom MS. A *Vibrio vulnificus* type IV pilin contributes to biofilm formation, adherence to epithelial cells, and virulence. *Infect Immun.* 2005;73(3):1411–1422. doi: 10.1128/IAI.73.3.1411-1422.2005
35. Goo SY, Han YS, Kim WH, Lee KH, Park SJ. *Vibrio vulnificus* IlpA-induced cytokine production is mediated by Toll-like receptor 2. *J Biol Chem.* 2007;282(38):27647–27658. doi: 10.1074/jbc.M701876200
36. Elgaml A, Miyoshi SI. Regulation systems of protease and hemolysin production in *Vibrio vulnificus*. *Microbiol Immunol.* 2017;61(1):1–11. doi: 10.1111/1348-0421.12465
37. Lee SE, Ryu PY, Kim SY, et al. Production of *Vibrio vulnificus* hemolysin in vivo and its pathogenic significance. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004;324(1):86–91. doi: 10.1016/j.bbrc.2004.09.020
38. Yamanaka H, Shimatani S, Tanaka M, Katsu T, Ono B, Shinoda S. Susceptibility of erythrocytes from several animal species to *Vibrio vulnificus* hemolysin. *FEMS Microbiol Lett.* 1989;52(3):251–255. doi: 10.1016/0378-1097(89)90206-1
39. Kim HR, Rho HW, Jeong MH, et al. Hemolytic mechanism of cytotoxic produced from *V. vulnificus*. *Life Sci.* 1993;53(7):571–577. doi: 10.1016/0024-3205(93)90714-e
40. Yuan Y, Feng Z, Wang J. *Vibrio vulnificus* hemolysin: biological activity, regulation of vvhA expression, and role in pathogenesis. *Front Immunol.* 2020;11:599439. doi: 10.3389/fimmu.2020.599439
41. Zhang L, Wang M, Cong D, et al. Rapid, specific and sensitive detection of *Vibrio vulnificus* by loop-mediated isothermal amplification targeted to vvhA gene. *Acta Oceanologica Sinica.* 2018;37(4):83–88. doi: 10.1007/s13131-018-1182-8
42. Lee JH, Kim MW, Kim BS, et al. Identification and characterization of the *Vibrio vulnificus* rtxA essential for cytotoxicity in vitro and virulence in mice. *J Microbiol.* 2007;45(2):146–152.
43. Lally ET, Hill RB, Kieba IR, Korostoff J. The interaction between RTX toxins and target cells. *Trends Microbiol.* 1999;7(9):356–361. doi: 10.1016/s0966-842x(99)01530-9
44. Menestrina G, Moser C, Pellet S, Welch R. Pore-formation by *Escherichia coli* hemolysin (HlyA) and other members of the RTX toxins family. *Toxicology.* 1994;87(1–3):249–267. doi: 10.1016/0300-483X(94)90254-2
45. Lin W, Fullner KJ, Clayton R, et al. Identification of a *Vibrio cholerae* RTX toxin gene cluster that is tightly linked to the cholera toxin prophage. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999;96(3):1071–1076. doi: 10.1073/pnas.96.3.1071
46. Dolores J, Satchell KJF. Analysis of *Vibrio cholerae* genome sequences reveals unique rtxA variants in environmental strains and an rtxA-null mutation in recent altered El Tor isolates. *mBio.* 2013;4(2):e00624. doi: 10.1128/mBio.00624-12
47. Kim BS, Gavin HE, Satchell KJF. Variable virulence of biotype 3 *Vibrio vulnificus* due to MARTX toxin effector domain composition. *mSphere.* 2017;2(4):e00272–e00317. doi: 10.1128/mSphereDirect.00272-17
48. Kim YR, Lee SE, Kook H, et al. *Vibrio vulnificus* RTX toxin kills host cells only after contact of the bacteria with host cells. *Cell Microbiol.* 2008;10(4):848–862. doi: 10.1111/j.1462-5822.2007.01088.x
49. Chung KJ, Cho EJ, Kim MK, et al. RtxA1-induced expression of the small GTPase Rac2 plays a key role in the pathogenicity of *Vibrio vulnificus*. *J Infect Dis.* 2010;201(1):97–105. doi: 10.1086/648612
50. Lo HR, Lin JH, Chen YH, et al. RTX toxin enhances the survival of *Vibrio vulnificus* during infection by protecting the organism from phagocytosis. *J Infect Dis.* 2011;203(12):1866–1874. doi: 10.1093/infdis/jir070
51. Miyoshi S, Narukawa H, Tomochika K, Shinoda S. Actions of *Vibrio vulnificus* metalloprotease on human plasma proteinase–proteinase inhibitor systems: a comparative study of native protease with its derivative modified by polyethylene glycol. *Microbiol Immunol.* 1995;39(12):959–966. doi: 10.1111/j.1348-0421.1995.tb03299.x
52. Morris JG Jr, Wright AC, Simpson LM, Wood PK, Johnson DE, Oliver JD. Virulence of *Vibrio vulnificus*: association with utilization of transferrin-bound iron, and lack or correlation with levels of cytotoxin or protease production. *FEMS Microbiol Lett.* 1987;40(1):55–59.
53. Schmiel DH, Miller VL. Bacterial phospholipases and pathogenesis. *Microbes Infect.* 1999;1(13):1103–1112. doi: 10.1016/s1286-4579(99)00205-1
54. Jang KK, Lee ZW, Kim B, et al. Identification and characterization of *Vibrio vulnificus* plpA encoding a phospholipase A2 essential for pathogenesis. *J Biol Chem.* 2017;292(41):17129–17143. doi: 10.1074/jbc.M117.791657
55. Wandersman C, Delepelaire P. Bacterial iron sources: from siderophores to hemophores. *Annu Rev Microbiol.* 2004;58:611–647. doi: 10.1146/annurev.micro.58.030603.123811
56. Pajuelo D, Lee CT, Roig FJ, Lemos ML, Hor LI, Amaro C. Host-nonspecific iron acquisition systems and virulence in the zoonotic serovar of *Vibrio vulnificus*. *Infect Immun.* 2014;82(2):731–744. doi: 10.1128/IAI.01117-13
57. Chatterjee T, Mukherjee D, Dey S, Pal A, Hoque KM, Chakrabarti P. Accessory cholera enterotoxin, Ace, from *Vibrio cholerae*: structure, unfolding, and virstatin binding. *Biochemistry.* 2011;50(14):2962–2972. doi: 10.1021/bi101673x
58. Pérez-Reytor D, Jaña V, Pavez L, Navarrete P, García K. Accessory toxins of *Vibrio* pathogens and their role in epithelial disruption during infection. *Front Microbiol.* 2018;9:2248. doi: 10.3389/fmicb.2018.02248
59. Fasano A, Uzzau S, Fiore C, Margaretten K. The enterotoxin effect of zonula occludens toxin on rabbit small intestine involves the paracellular pathway. *Gastroenterology.* 1997;112(3):839–846. doi: 10.1053/gast.1997.v112.pm9041245
60. Di Pierro M, Lu R, Uzzau S, et al. Zonula occludens toxin structure – function analysis. Identification of the fragment biologically active on tight junctions and of the zonulin receptor binding domain. *J Biol Chem.* 2001;276(22):19160–19165. doi: 10.1074/jbc.M009674200