



УДК 577.114.5.088.53:579.842.14.083.3

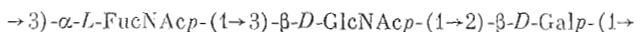
АНТИГЕННЫЕ ПОЛИСАХАРИДЫ БАКТЕРИЙ
23*. СТРОЕНИЕ О-СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПОЛИСАХАРИДНОЙ ЦЕПИ
ЛИПОПОЛИСАХАРИДА *SALMONELLA ARIZONAE* O59

Виноградов Е. В., Книрель Ю. А., Липкинд Г. М.,
Шашков А. С., Кочетков Н. К., Станиславский Е. С.*,
Холодкова Е. В.*

Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского
Академии наук СССР, Москва;

* Институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова
Минздрава СССР, Москва

В состав О-специфического полисахарида *Salmonella arizonae* O59 (*Arizona* O19) входят *D*-галактоза, *N*-ацетил-*D*-глюкозамин и *N*-ацетил-*L*-фукозамин (FucNAc, 2-ацетамидо-2,6-дидезокси-*L*-галактоза) в соотношении 1:1:1. На основании расчета ¹³C-ЯМР-спектра полисахарида на ЭВМ с использованием закономерностей в эффектах гликозилирования, а также анализа химическими методами (метилирование и распад по Смету) найдено, что полисахарид построен из трисахаридных повторяющихся звеньев, имеющих следующую структуру:



Обсуждаются молекулярные основы серологического родства изученного штамма *S. arizonae* и *Pseudomonas aeruginosa* O7 (Ланг).

В соответствии с определителем Берджи [2] энтеробактерии, ранее выделявшиеся в отдельный род *Arizona*, включены в качестве вида *Salmonella arizonae* в род *Salmonella*, где они составляют подрод III. Штаммы этого вида серологически разнородны. Химическое и иммунохимическое изучение антигенов их клеточной поверхности, в том числе О-антигенов (липополисахаридов), позволяет выявить корреляцию между их структурой и специфичностью иммунного ответа, а также представляет интерес в связи с решением вопросов внутривидовой классификации и таксономического отношения с другими видами *Salmonella* и другими граммотрицательными бактериями.

На основании серологического анализа было показано, что область кобра липополисахаридов *S. arizonae* имеет такую же структуру, что и у некоторых видов *Salmonella*, относящихся к серогруппам А—Е (так называемый кор R_a) [3]. Что же касается полисахаридных цепей липополисахаридов, определяющих О-специфичность клетки, то их строение остается совершенно не изученным. Настоящая работа посвящена установлению структуры О-специфического полисахарида *S. arizonae* 59: (k) : z₃₅ (*Arizona* 19:22:24).

Липополисахарид был выделен из сухих бактериальных клеток экстракцией водным фенолом [4] в модификации без последующего разделения водного и фенольного слоев [5]. Белки и нуклеиновые кислоты были отделены осаждением трихлоруксусной кислотой (Львов В. Л., Дмитриев Б. А.— частное сообщение). При расщеплении липополисахарида разбавленной уксусной кислотой с последующей гель-фильтрацией углеводной фракции на сефадексе G-50 был получен О-специфический полисахарид, который был нейтральным по данным электрофореза на бумаге. При кислотном гидролизе полисахарида образовались галактоза, глюкозамин и фукозамин в соотношении ~1:1:1, идентифицированные с помощью углеводного и аминокислотного анализаторов. ¹³C-ЯМР-спектр (рис. 1) указывал на регулярный характер полисахарида и трисахарид-

* Сообщение 22 см. [1].

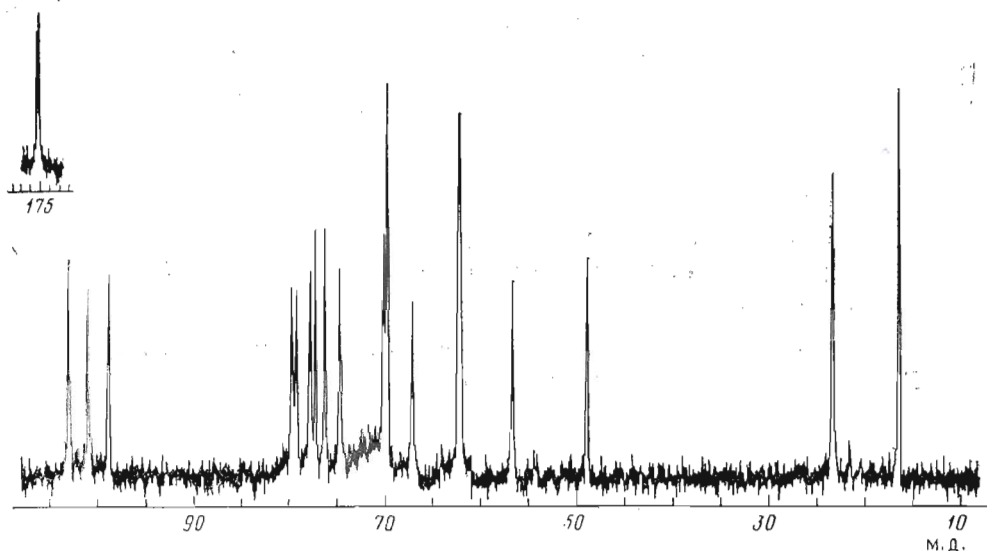


Рис. 1. ^{13}C -ЯМР-спектр О-специфического полисахарида *S. arizonae* O59

ный размер его повторяющегося звена. Так, спектр содержал сигналы трех аномерных атомов углерода при 98,8; 101,1 и 103,1 м.д., метильной группы 6-дезоксисахара (фукозамина) при 16,4 м.д., двух гидроксиметильных групп (С6 остатков галактозы и глюкозамина) при 62,3 м.д., двух сигналов С2 аминсахаров при 49,0 и 56,7 м.д., 12 вторичных атомов углерода, связанных с кислородом, в области 67,1–79,7 м.д., а также двух N-ацетильных групп (CH_3 при 23,3 и 23,4 м.д., CO при 175,2 и 175,4 м.д.). Таким образом, в состав трисахаридного повторяющегося звена полисахарида входит по одному остатку галактозы, N-ацетилглюкозамина и N-ацетилфукозамина.

Для структурного анализа полисахарида была использована созданная ранее программа для ЭВМ, позволяющая рассчитывать ^{13}C -ЯМР-спектры регулярных полисахаридов исходя из их моносахаридного состава, по аддитивной схеме на основании эффектов гликозилирования и находить структуру с наименьшим отклонением химических сдвигов сигналов расчетного и экспериментального спектров [6]. В настоящей работе по сравнению с работой [6] был введен ряд уточнений в эффекты гликозилирования. Так, некоторые эффекты, определенные в работе [6] как среднее арифметическое данных для β -L-D- и α -D-D-связанных дисахаридов (соответственно β -D-D- и α -L-D-связанных дисахаридов), были определены теперь отдельно для каждого из этих типов связей. Для остатка N-ацетилфукозамина были найдены свои собственные эффекты гликозилирования, в некоторых случаях отличающиеся от эффектов, характерных для галактозы. Для эффектов гликозилирования на С1 гликозилирующего пиранозного остатка учитывались различия, которые могут возникать в зависимости от того, является ли этот остаток гексозой или N-ацетилгексозамином. Были введены дополнительные поправки для химических сдвигов сигналов С2 (–0,5 м.д. для α -пиранозных остатков и –1 м.д. для β -пиранозных), необходимость которых вызвана сильно-полным смещением этих сигналов при образовании гликозидной связи. Величины эффектов гликозилирования с учетом всех перечисленных выше уточнений публикуются отдельно [7].

Кроме того, были использованы уточненные химические сдвиги для свободных моносахаридов (галактозы, N-ацетилглюкозамина и N-ацетилфукозамина, табл. 1), которые были определены при съемке их спектров с использованием того же внутреннего стандарта (метанола), что и при съемке спектров полисахарида. Из расчета были исключены заведомо не удовлетворяющие данным ^{13}C -ЯМР-спектра полисахарида структуры с 1→6-связями (положение сигналов С6 при 62,3 м.д. показало, что остат-

Химические сдвиги в ^{13}C -ЯМР-спектрах моносахаридов (δ , м. д.)

Моносахарид		C1	C2	C3	C4	C5	C6
Gal	α	93,6	69,6	70,4	70,6	71,7	62,4
	β	97,7	73,2	74,1	70,0	76,3	62,2
GlcNAc	α	92,1	55,3	72,0	71,4	72,8	61,9
	β	96,2	58,0	75,1	71,2	77,2	62,1
FucNAc	α	92,1	51,2	68,7	72,4	67,5	16,7
	β	96,3	54,7	72,4	72,0	71,8	16,7

Таблица 2

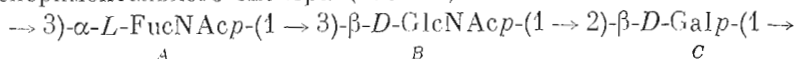
Химические сдвиги в ^{13}C -ЯМР-спектрах полисахарида и олигосахаридов (II) и (III) (δ , м. д.)

Соединение	C1	C2	C3	C4	C5	C6
Звено А						
Полисахарид *	98,9	49,3	77,4	69,5	67,5	16,7
	98,8	49,0	77,8	69,8	67,1	16,4
Олигосахарид (II)	98,6	50,4	68,7	72,1	67,8	16,2
	(III)	98,8	50,4	68,9	72,2	67,9
Звено В						
Полисахарид *	103,1	56,4	79,9	69,8	77,2	62,1
	103,1	56,7	79,7	69,8	77,2	62,3
Олигосахарид (II)	103,5	56,5	79,3	69,4	76,6	62,0
	(III)	102,1	56,6	79,9	69,7	76,7
Звено С						
Полисахарид *	101,2	79,2	74,1	70,0	76,3	62,2
	101,1	79,2	74,6	70,2	76,3	62,3
Олигосахарид (II)	89,6	83,5	61,6			
	(III)	62,1	82,3	62,2		

* Данные верхней строки — расчетные, нижней — экспериментальные.

ки галактозы и N-ацетилглюкозамина не замещены по первичноспиртовой группе); для галактозы и N-ацетилглюкозамина была принята обычная для этих моносахаридных остатков в бактериальных полисахаридах D-конфигурация, тогда как для N-ацетилфукозамина рассматривалась возможность как D-, так и L-конфигурации.

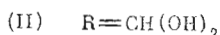
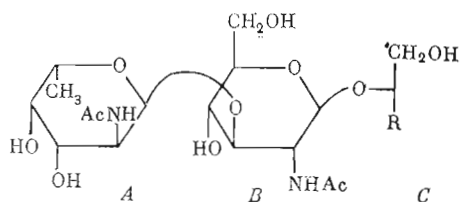
В результате расчета ^{13}C -ЯМР-спектров для всех возможных (за исключением отмеченных выше) линейных первичных структур полисахарида была найдена структура (I), дающая наименьшую сумму квадратичных отклонений (1,2) химических сдвигов сигналов расчетного и экспериментального спектров. Для всех остальных рассмотренных структур сумма квадратичных отклонений составляет более 10. Таким образом, расчет позволил найти единственную линейную структуру, соответствующую данным ^{13}C -ЯМР-спектра, и практически исключить альтернативные линейные структуры. Отметим, что расчет на ЭВМ привел не только к определению типов замещения и последовательности моносахаридных остатков и конфигураций гликозидных связей, но и к установлению абсолютной L-конфигурации N-ацетилфукозамина (для структур с D-конфигурацией этого моносахарида сумма квадратичных отклонений составляет не менее 17), а также позволил отнести все сигналы экспериментального спектра (табл. 2).



В расчет не были включены разветвленные структуры, что связано с часто встречающимся для них значительным отклонением химических

сдвигов сигналов от предсказываемых по аддитивной схеме на основании эффектов гликозилирования. Для исключения разветвленной структуры и для подтверждения структуры (I) независимым путем полисахарид был подвергнут дополнительному анализу химическими методами. Моносахариды, образующиеся при кислотном гидролизе полисахарида, были разделены препаративной ионообменной хроматографией на катионите, и на основании величины оптического вращения была определена *D*-конфигурация галактозы и глюкозамина и *L*-конфигурация фукозамина. В результате анализа полисахарида методом метилирования были обнаружены 3,4,6-три-*O*-метилгалактоза, 2-(*N*-метил)ацетидамо-2-дезоксид-4,6-ди-*O*-метилглюкоза и 2-(*N*-метил)ацетидамо-2,6-дидезокси-4-*O*-метилгалактоза, которые были идентифицированы методом хроматомасс-спектрометрии в виде ацетатов альдитолов. Таким образом, полисахарид является линейным, остаток галактозы замещен в положении 2, а остатки обоих аминсахаров — в положение 3.

Из ^{13}C -ЯМР-спектра полисахарида, снятого без подавления C,H-взаимодействий, были найдены константы спин-спинового взаимодействия $^1J_{\text{C,H}}$ 173,3; 161,1 и 161,1 Гц для сигналов аномерных атомов углерода при 98,8; 101,1 и 103,1 м.д. Следовательно, сигнал при 98,8 м.д. принадлежит α -пиранозиду, а два других сигнала — β -пиранозидам [8]. Анализ области резонанса атомов углерода, связанных с азотом, показал, что один из присутствующих в ней сигналов при 49,0 м.д. может принадлежать только гексозамину с α -галакто-конфигурацией [9], т. е. *N*-ацетил- α -фукозамину, а второй сигнал при 56,7 м.д. может относиться только к аминсахару с β -глюко-конфигурацией [10], т. е. *N*-ацетил- β -глюкозамину. Так как в полисахариде два моносахаридных остатка присоединены β -гликозидными связями, остаток галактозы имеет β -конфигурацию. Таким образом, определены конфигурации всех трех гликозидных связей.



Для определения последовательности моносахаридных остатков полисахарид был подвергнут распаду по Смитту, в результате которого за счет периодатного окисления остатков галактозы образовался олигосахарид (II), включающий оба остатка *N*-ацетилированных аминсахаров и остаток глицеральдегида в качестве агликона (в водном растворе он присутствует в гидратированной форме). При его восстановлении боргидридом натрия образовался олигосахарид (III), в котором агликон представлен остатком глицерина. Состав олигосахаридов (II) и (III) был подтвержден данными ^{13}C -ЯМР-спектров (табл. 2). Сравнение этих спектров со спектром полисахарида показало, что смещение при распаде по Смитту подвергся сигнал C2 остатка *N*-ацетилфукозамина (от 49,0 к 50,4 м.д.), тогда как сигнал C2 остатка *N*-ацетилглюкозамина практически не изменил своего положения в спектре, оставаясь в области 56,5—56,7 м.д. Величина и направление смещения сигнала C2 остатка *N*-ацетилфукозамина характерны для β -эффекта гликозилирования этого моносахарида в положение 3 остатком галактозы [11], которая, таким образом, присоединена в полисахариде именно к этому моносахариду. Терминальное положение остатка *N*-ацетилфукозамина в олигосахариде (II) и (III) подтверждалось присутствием в их ^{13}C -ЯМР-спектрах полного набора сигналов, характерных для этого незамещенного моносахарида (ср. с данными ^{13}C -ЯМР-спектра метил-2-ацетидамо-2,6-дидезокси-

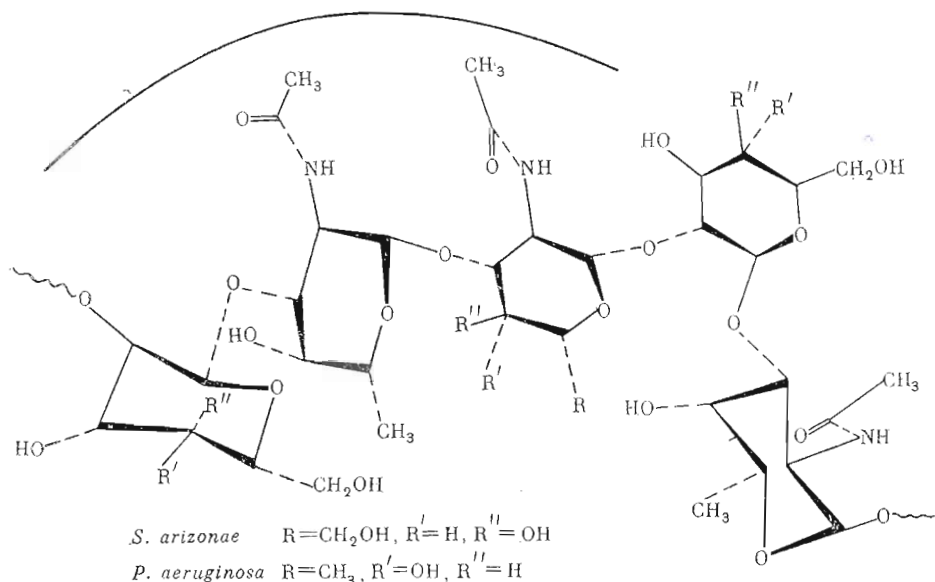
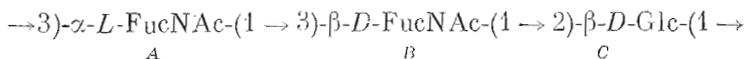


Рис. 2. Проекция на плоскость участка цепи полисахаридов *S. arizonae* 059 и *P. aeruginosa* 07

си- α -L-галактопиранозида [12]). Таким образом, олигосахариды (II) и (III) имеют строение, приведенное выше, что и определяет последовательность моносахаридных остатков в повторяющемся звене.

Итак, данные, полученные в результате анализа химическими методами, подтверждают структуру (I), найденную для полисахарида путем расчета на ЭВМ. Установление структуры O-специфического полисахарида *S. arizonae* позволяет обосновать на молекулярном уровне известное серологическое родство изученного штамма этого микроорганизма и *Pseudomonas aeruginosa* 07 [13], для O-специфического полисахарида которого нами ранее была установлена структура (IV) [14]:



Хотя полисахариды *S. arizonae* и *P. aeruginosa* и различаются моносахаридным составом (из трех моносахаридных компонентов общим для них является только один, N-ацетил-L-фукозамин), они имеют одинаковый трисахаридный размер повторяющегося звена и соответствующие моносахаридные остатки в них имеют одинаковые абсолютные конфигурации и соединены друг с другом одинаковыми способами (рис. 2).

Для конформационного анализа этих полисахаридов были привлечены данные по преимущественным конформациям дисахаридов, моделирующих дисахаридные звенья полисахаридов, т. е. имеющих такие же абсолютные конфигурации моносахаридных остатков, конфигурации гликозидных связей и относительные конфигурации моносахаридных остатков, находящихся на восстанавливающем конце: α -L-Gal-(1 \rightarrow 3)-D-Gal-OMe, β -D-Gal-(1 \rightarrow 3)-L-Gal-OMe, α -L-Rha-(1 \rightarrow 3)-D-GlcNAc-OMe, β -D-Xyl-(1 \rightarrow 2)-D-Xyl-OMe [15, 16]. На основании этих данных можно заключить, что углы вращения вокруг гликозидных связей ϕ и ψ в преимущественных конформациях обоих полисахаридов близки и составляют $\sim +40$ и -40° для α 1 \rightarrow 3-связи, $+50$ и $+20^\circ$ для β 1 \rightarrow 2-связи, $+60$ и $+40^\circ$ для β 1 \rightarrow 3-связи соответственно. Анализ модели Дрейдинга полисахаридов (проекция ее участка приведена на рис. 2) показал, что в этой конформации средняя плоскость каждого из трисахаридных звеньев A-B-C приблизительно перпендикулярна средним плоскостям соседних повторяющихся звеньев, так что образуется спираль с осью симметрии 4-го порядка, на одном витке которой помещается четыре повторяющихся звена (для полисахарида *P. aeruginosa* именно такая пространст-

венная структура была найдена ранее методом рентгеноструктурного анализа [17]). На поверхности образуемой полисахаридами спирали присутствует участок с общей для обоих полисахаридов пространственной структурой и с одинаковой ориентацией одних и тех же функциональных групп (отмечен на рис. 2 дугой). Он образован атомами C1, C2, O1 звена *A*, C1, C2, C3, O1 звена *B* и C2, C3 звена *C*, ацетамидными группами при C2 звеньев *A* и *B* и гидроксильной группой при C3 звена *C*. Изменения, происходящие при переходе от одного полисахарида к другому (эпимеризация при C4 звеньев *B* и *C* и введение дезоксизвена при C6 звена *B*), не затрагивают этот участок, причем изменения в звене *B* вообще происходят на противоположной этому участку стороне спирали. Таким образом, найденный общий участок, по-видимому, и следует рассматривать как иммунодетерминантный, обуславливающий перекрестную серологическую реактивность О-антигенов *S. arizonae* и *P. aeruginosa*.

Экспериментальная часть

¹³C-ЯМР-спектры сняты на приборе Bruker AM-300 (ФРГ) в D₂O при 30° С для моносахаридов и олигосахаридов и 60° С для полисахарида с использованием в качестве внутреннего стандарта метанола, δ_c 50,15 м.д. Оптическое вращение определяли на поляриметре ЭПО-1 в воде при 20° С. Электрофорез на бумаге, гель-фильтрацию, анализ на аминокислотном и углеводном анализаторах проводили как описано в работе [1]. Бактериальную массу выращивали как описано ранее [14]. Метилирование осуществляли по методикам [18, 19].

Выделение О-специфического полисахарида. 30 г сухих измельченных клеток *S. arizonae*, штамм 40024, перемешивали 20 мин с 0,5 л воды и 0,5 л 90% водного фенола при 65–70° С, охлаждали, диализовали 5 сут против проточной водопроводной воды, осадок отделяли, раствор упаривали до ~200 мл, прибавляли 50% ССl₃СООН до pH 2, осадок отделяли центрифугированием при 5000 об/мин, раствор диализовали против дистиллированной воды, лиофилизовали, получили липополисахарид (2,5 г, 8,2%), содержащий 2,9% нуклеиновых кислот (определено по поглощению при 254 нм).

Липополисахарид (2 г) в растворе 2% уксусной кислоты (130 мл) нагревали на кипящей водяной бане до выпадения осадка липида *A* (~2 ч), центрифугировали, раствор упаривали, гель-хроматографией на сефадексе G-50 выделяли О-специфический полисахарид (800 мг, 2,7% от веса клеток).

Распад по Смигу. Полисахарид (80 мг) растворяли в 0,1 М периодате натрия (3 мл), выдерживали 48 ч при 20° С, прибавляли 0,1 мл этиленгликоля и через 20 мин избыток боргидрида натрия, выдерживали 2 ч при 20° С, подкисляли 4 М соляной кислотой, гель-хроматографией на геле TSK HW 40 выделяли полимерную фракцию, которую гидролизовали 1% уксусной кислотой 6 ч при 100° С, упаривали, гель-хроматографией на геле TSK HW 40 выделяли 20 мг олигосахарида (II), а также ряд минорных неидентифицированных продуктов. Олигосахарид (II) восстанавливали боргидридом натрия в воде 2 ч при 20° С, нейтрализовали соляной кислотой, гель-хроматографией на том же сорбенте выделили восстановленный олигосахарид (III).

Определение абсолютной конфигурации моносахаридов. Полисахарид (80 мг) гидролизовали 4 М соляной кислотой (10 мл) 3 ч при 100° С, упаривали, остаток разделяли ионообменной хроматографией на колонке (0,6×30 см) с катионитом Chromex UA-8 в 0,3 М соляной кислоте, получая последовательно *D*-галактозу (21 мг, [α]_D²⁰ +72° (с 1), лит. данные [α]_D²⁰ +80,2° (вода) [20]), хлоргидрат *D*-глюкозамина (18 мг, [α]_D²⁰ +81° (с 1), лит. данные [α]_D²⁰ +82,4° (вода) [21]), хлоргидрат *L*-фукозамина (22 мг, [α]_D²⁰ -82° (с 0,6), лит. данные [α]_D²⁰ -95° (вода) [22]).

Авторы благодарят д-ра Б. Ланц (Национальный институт гигиены, Будапешт) за предоставление культуры бактерий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Виноградов Е. В., Шашков А. С., Книрель Ю. А., Кочетков Н. К., Холодкова Е. В., Станиславский Е. С. // Биоорган. химия. 1987. Т. 13. № 5. С. 660–669.
2. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology/Ed. Krieg N. R. Baltimore: Williams and Wilkins, 1984. V. 1. P. 427–458.
3. Lüderitz O., Freudenberg M. A., Galanos C., Lehman V., Reitschel E. T., Shaw D. H. // Curr. Top. Membrane Trans. 1982. V. 17. P. 79–151.
4. Вестфаль О., Яни К. // Методы химии углеводов/Ред. Кочетков Н. К. М.: Мир, 1967. С. 325–332.
5. Книрель Ю. А., Кочарова Н. А., Шашков А. С., Варбанец Л. Д., Кочетков Н. К., Станиславский Е. С., Машилова Г. М. // Биоорган. химия. 1986. Т. 12. № 9. С. 1268–1273.
6. Липкинд Г. М., Шашков А. С., Кочетков Н. К. // Биоорган. химия. 1987. Т. 13. № 6. С. 833–840.
7. Lipkind G. M., Shashkov A. S., Knirel Y. A., Vinogradov E. V., Kochetkov N. K. // Carbohydr. Res. In press.

8. Bock K., Pedersen C. // J. Chem. Soc. Perkin Trans. II. 1974. № 3. P. 293-297.
9. Деревицкая В. А., Шашков А. С., Новикова О. С., Евстигнеев А. Ю. // Биооргани. химия. 1981. Т. 7. № 3. С. 410-421.
10. Shashkov A. S., Evstigneev A. Y., Derevitskaya V. A. // Carbohydr. Res. 1979. V. 72. № 2. P. 215-217.
11. Kochetkov N. K., Chizhov O. S., Shashkov A. S. // Carbohydr. Res. 1984. V. 133. № 2. P. 173-185.
12. Kenne L., Lindberg B., Madden J. K., Lindberg A. A., Gemsky P., Jr. // Carbohydr. Res. 1983. V. 122. № 2. P. 249-256.
13. Lányi B., Adam M. M., Vörös S. // Acta microbiol. Acad. sci. hung. 1972. V. 19. P. 259-265.
14. Dmitriev B. A., Knirel Y. A., Kocharova N. A., Kochetkov N. K., Stanislavsky E. S., Mashilova G. M. // Eur. J. Biochem. 1980. V. 106. № 3. P. 643-652.
15. Липкинд Г. М., Кочетков Н. К. // Биооргани. химия. 1984. Т. 10. № 9. С. 1229-1241.
16. Липкинд Г. М., Кочетков Н. К. // Биооргани. химия. 1985. Т. 11. № 4. С. 539-549.
17. Кочетков Н. К., Никитин В. В., Гелин А. Л., Вайнштейн Э. Ф., Кушнеров М. Я., Кочарова Н. А., Перцин Л. П. // Докл. АН СССР. 1983. Т. 271. № 5. С. 1139-1143.
18. Конрад Г. Е. // Методы исследования углеводов/Ред. Хорлин А. Я. М.: Мир, 1975. С. 276-279.
19. Mort A. J., Parker S., Mao-Sung-Kuo // Anal. Biochem. 1983. V. 133. № 2. P. 380-384.
20. Beil. B. 31(4). S. 295.
21. Beil. B. 1(4). S. 902.
22. Perry M. B., Daoust V. // Can. J. Chem. 1973. V. 51. № 6. P. 974-977.

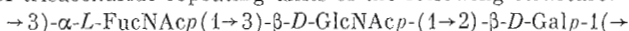
Поступила в редакцию
29.XII.1986.

**ANTIGENIC POLYSACCHARIDES OF BACTERIA. 23. THE STRUCTURE
OF THE O-SPECIFIC POLYSACCHARIDE CHAIN
OF THE LIPOPOLYSACCHARIDE OF *SALMONELLA ARIZONAE* O59**

VINOGRADOV E. V., KNIREL Yu. A., LIPKIND G. M., SHASHKOV A. S.,
KOCHETKOV N. K., STANISLAVSKY E. S.*, KHOLODKOVA E. V.*

*N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Academy of Sciences of the USSR;
* I. I. Mechnikov Institute of Vaccines and Sera, Health Ministry
of the USSR, Moscow*

The O-specific polysaccharide of *Salmonella arizonae* O59 (Arizona 19) is composed of *D*-galactose, *N*-acetyl-*D*-glucosamine, and *N*-acetyl-*L*-fucosamine (FucNAc, 2-acetamido-2,6-dideoxy-*L*-galactose) in the ratio 1:1:1. The computerized calculation of the ¹³C NMR spectrum of the polysaccharide, based on the monosaccharide composition, spectra of the free monosaccharides and glycosylation effects, together with the chemical analysis (methylation and Smith degradation) showed that the polysaccharide is built up of trisaccharide repeating units of the following structure:



The molecular basis of serological interrelations between *S. arizonae* O59 and *Pseudomonas aeruginosa* O7 (Lányi) is discussed.