

© Петренко О. В., Алексеєнко В. В.

УДК 577.2:579.843.1(477)

Петренко О. В., Алексеєнко В. В.

## МОЛЕКУЛЯРНО-БІОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА *V. PARAHAEMOLYTICUS*, ВИДІЛЕНИХ ВІД ЛЮДЕЙ В УКРАЇНІ

Інститут епідеміології та інфекційних хвороб  
ім. Л. В. Громашевського НАМН України (м. Київ)

elenadna0902@gmail.com

Дана робота є фрагментом НДР «Вплив водного фактору на розповсюдження кишкових інфекцій та інвазій в Україні в сучасних умовах», № державної реєстрації 0114U000386, шифр 136.

**Вступ.** Один із патогенів роду *Vibrio*, який поширений в водних акваторіях і викликає харчові токсикоінфекції у людини, є *V. parahaemolyticus* або інша його назва «галофільні мікроорганізми», тобто солюбіві. Про галофільні вібріони, що викликають захворювання у людей, стало відомо з 50-х років, коли в Японії виникли спалахи кишкових інфекцій невиявленої етіології після вживання морепродуктів [6]. В подальшому було встановлено, що основним збудником даного захворювання є *V. parahaemolyticus*. Крім Японії, спалахи харчових токсикоінфекцій, які викликані *V. parahaemolyticus* реєструвались на всіх континентах світу, а з 1996 року набуває стрімкого розповсюдження *V. parahaemolyticus* серотипу O3:K6 [10]. Значні спалахи харчових токсикоінфекцій в Азіатському регіоні, якими охоплені тисячі хворих призвели до швидкого розповсюдження збудника на інші континенти [12]. На даний час *V. parahaemolyticus* O3:K6, який стали називати «пандемічним штамом», хоча цей термін і не прийнятний для даного виду, виступає провідним етіологічним фактором при харчових токсикоінфекціях пов'язаних з вживанням води або морепродуктів, контамінованих даними мікроорганізмами [9].

В Україні вивчення *V. parahaemolyticus* як збудників харчових токсикоінфекцій почали з 1975 року, коли були зареєстровані перші випадки ГКІ у акваторії Азовського моря [2]. Останнім часом спалахи харчових токсикоінфекцій, які пов'язують з вживанням морепродуктів, реєструвались в Запорізькій області у 2001 році та в Одеській у 2006 році [3]. Такі періодичні спалахи можна розцінювати як випадкове потрапляння «патогенних штамів» *V. parahaemolyticus* у водні акваторії України. Але не виключається і варіант про можливе збереження та накопичення збудника у гідробіонтах, які з часом за сприятливих кліматичних умов можуть швидко розмножуватися та викликати захворювання.

**Мета дослідження.** Вивчити молекулярно-біологічні властивості штамів *V. parahaemolyticus*, які були виділені від людей в різні роки в Україні з послідовним удосконаленням лабораторної діагностики.

**Об'єкт і методи досліджень.** Для досліджень було взято 41 штам *V. parahaemolyticus*, які були виділені від людей: 16 штамів у 2001 році в Запоріжжі; 20 штамів у 2006 році в Одесі; 2 штами у 2007 році

в Дніпропетровську; 1 штам у 2011 та 2 штами у 2012 роках у Запорізькій області. Для культивування штамів використовували 1% пептону воду та лужний агар з вмістом 3% NaCl. Ідентифікацію штамів проводили за загальноприйнятими методами [1]. Виявлення здатності до біоплівкоутворення перевіряли за методикою Романової [4]. Добову культуру в концентрації  $10^7$  КУО/мл вносили по 150 мкл у 96 луночної планшети (по 8 лунок для кожного штаму). Для контролю у 8 вільних лунки вносили по 150 мкл пептонної води з 3% NaCl. Планшети інкубували при 37°C 24 години. Після інкубації вміст планшетів видаляли і вносили по 150 мкл дистильованої води та 15 мкл 1% спиртового розчину кристал-віолету. Планшет витримували протягом 45 хвилин при кімнатній температурі. Після експозиції барвник відсмоктували і планшет триразово промивали дистильованою водою. В кожну лунку планшети додавали по 250 мкл 96% етилового спирту і залишали на 45 хвилин при кімнатній температурі. Ступінь формування біоплівки визначали спектрофотометрично при довжині хвилі 630 нм на спектрофотометрі Microplatereader RT-2100c RAYTO (Німеччина). Кількісним визначенням ступеня утворення біоплівок слугували значення одиниць оптичної густини (ОГ).

Молекулярно-генетичні властивості вивчали методом ПЛР з послідовністю праймерів 5'-3': tdh1- ccactaccactctcatatgc, tdh2- ggtaactaaatggctgacatc; trh1-ggctcaaaatggttaagcg, trh2-catttcgctctcatatgc [7]. Виділення ДНК вібріонів проводили тест-системою «ДНК-сорб-АМ» (Росія). Ампліфікація проходила на апараті «Percin Elmer» (США) при умовах ампліфікації: 95eC — 5 хв. — 1 цикл; 95eC — 10 сек., 57eC — 10 сек., 72eC — 10 сек. — 30 циклів; 72eC — 2 хв. — 1 цикл. Облік результатів ампліфікації проводили електрофоретичним методом в 2% агарозному гелі. Візуально під УФ-опромінуванням на трансільюмінаторі фіксували наявність або відсутність полоси продукції ампліфікації. Проведена статистична обробка результатів досліджень [5].

**Результати досліджень та їх обговорення.** Результати досліджень показали, що за своїми морфологічними, тінкторіальними, культуральними та біохімічними властивостями досліджувані штами вібріонів були віднесені до виду *V. parahaemolyticus*.

Виявлення токсигенних властивостей у штамів *V. parahaemolyticus* визначали за наявністю гемолітичної активності на середовищі Вагацума, так званий феномен Канагава, що дає можливість ідентифікувати токсигенні штами від нетоксигенних.

Основними компонентами середовища є дефібріновані еритроцити людини та висока концентрація хлориду натрію. Сутність феномена полягає в тому, що токсигенні штами *V.parahaemolyticus* лізують еритроцити людини на кров'яному агарі із 7% NaCl. За таких умов гемоліз викликають лише вібріони, які витримують високий вміст хлориду натрію та продукують термостабільний гемолізін. Штами *V.parahaemolyticus*, які проявляють гемоліз на середовищі Вагацума називають канагавапозитивними (KP<sup>+</sup>), водночас штами які не дають гемолізу називають канагаванегативні (KP<sup>-</sup>).

Проведені дослідження показали, що 38 (92,7%) штамів *V.parahaemolyticus*, які виділені від хворих на харчові токсикоінфекції, лізували еритроцити людини, тобто володіли феноменом Канагава (KP<sup>+</sup>) і їх можна віднести до токсигенних штамів (рис.).



Рис. Гемоліз штамів *V.parahaemolyticus* на середовищі Вагацума: 1-№82, 2-№88, 3-№93, 4-№95.

Проявлення гемолітичної активності *V.parahaemolyticus* пов'язують з продукуванням термостабільного прямого гемолізіну TDH (від англ. thermostable direct hemolysin), який виступає основним фактором патогенності у парагемолітичних вібріонах. Термостабільний прямиий гемолізін TDH, являє собою білок, який викликає лізис еритроцитів людини, накопичення рідини в ізольованих петлях кишечника кролика та володіє цитотоксичною і кардіотоксичною дією.

Проте 3 (7,3%) штами *V.parahaemolyticus* № 99, 16, 17 не проявили гемоліз на середовищі Ва-

гацума і це дає можливість віднести їх до канагаванегативних, тобто атоксигенних штамів. Неспроможність штамів *V.parahaemolyticus*, виділених від хворих людей проявляти гемоліз, вказує на те, що вони мають інші фактори патогенності.

У 80-х роках було з'ясовано, що такі парагемолітичні вібріони продукують інший гемолізін, який близький, але не ідентичний TDH-гемолізіну і який отримав назву TDH-споріднений (від англ. TDH-related hemolysin) або скорочено TRH-гемолізін. Він має таку ж структуру і біологічну активність, як і TDH, але відрізняється від нього термостабільністю і спектром гемолітичної активності. Виявлення TRH-гемолізіна в лабораторній практиці проходить за наявності уреазної активності, яку відмічають на середовищі Крістенсона. Продукція TRH гемолізіну відмічається лише в уреазопозитивних штамів *V.parahaemolyticus*. Проведені нами дослідження показали, що жоден із штамів *V.parahaemolyticus* не проявив уреазної активності, що свідчить про неспроможність даних вібріонів продукувати TRH-гемолізін (табл. 1).

Слід відмітити, що проведення ідентифікації *V.parahaemolyticus* та встановлення факторів патогенності проводиться бактеріологічним методом, що вказує на його довгостроковість, затратність ресурсів і інколи неадекватність результатів. У зв'язку з цим, для вирішення цих питань впроваджуються нові, більш швидкі та інформативні методи досліджень. На сучасному рівні перспективними виступають молекулярно-генетичні методи, серед яких більш швидким, дешевим та надійним методом є полімеразно-ланцюгова реакція (ПЛР) з використанням високоспецифічних праймерів під певні гени.

З часом було встановлено, що за синтез прямого термостабільного гемолізіну TDH у *V.parahaemolyticus* відповідає ген *tdh*, а за синтез TRH гемолізіна, відповідає ген *trh*.

Проведені нами ПЛР тестування показали, що, незалежно від місця і року виділення, у геномі досліджуваних 38 штамів *V.parahaemolyticus*, виявлено ген *tdh*, який кодує прямиий термостабільний гемолізін TDH (див. табл. 1). Водночас у 3 штамів *V.parahaemolyticus* № 99, 16, 17, які віднесені до канагаванегативних, не виявлено гену *tdh*. Інший ген – *trh*, який кодує TRH гемолізін, не було

Таблиця 1.

Основні фактори патогенності штамів *V.parahaemolyticus*

Об'єкт виділення	К-сть штамів	Місце виділення	Рік виділення	Ген		Уреаза	Гемолітична активність
				tdh	trh		
Хворий	15	Запорізька обл.	2001	+	-	-	+
- "	1	Запорізька обл.	2001	-	-	-	-
- "	20	м. Одеса	2006	+	-	-	+
- "	2	м. Дніпропетровськ	2007	+	-	-	+
- "	1	Запорізька обл.	2011	+	-	-	+
- "	2	Запорізька обл.	2012	-	-	-	-

Примітка: відсутність – «-», наявність – «+».

**Найбільший і найменший показники оптичної густини утвореної біоплівки штамми *V. parahaemolyticus***

	№ штама	Рік виділення	Середні показники оптичної густини при довжині хвилі 630 нм		
			Біоплівка	Контроль	P
1.	<i>V. parahaemolyticus</i> 89	2001	0,45±0,02	0,17±0,01	<0,05
2.	<i>V. parahaemolyticus</i> 99	– “–”	0,30±0,02	0,17±0,01	<0,05

виявлено у жодному з генотипів досліджуваних штамів *V. parahaemolyticus*. Слід відмітити, що штам *V. parahaemolyticus*, які давали гемоліз на середовищі Вагацума, мали в своєму геномі ген токсигенності *tdh*. Проте штам *V. parahaemolyticus*, які не лізували еритроцити і не проявляли уреазну активність не мали в геномі ні гена *tdh*, ні гена *trh*.

Отже, можна стверджувати, що основним фактором патогенності у штамів *V. parahaemolyticus*, які були виділені від хворих в Україні виступає термостабільний прямиий гемолізін TDH, який ідентифікується за феноменом Канагава, а на генетичному рівні за геном *tdh*. У зв'язку з цим у лабораторній практиці можна замінити визначення гемолітичної активності на виявлення гена *tdh* в геномі *V. parahaemolyticus*, що, в свою чергу, прискорить їх ідентифікацію.

Хоча TDH і TRH гемолізину і корисуються з токсигенністю *V. parahaemolyticus*, проте вони не в повній мірі відповідають за патогенні властивості вібріонів. Деякі штам *V. parahaemolyticus* не маючи TDH/TRH гемолізину, здатні проявляти токсигенні властивості, що вказує на існування інших факторів патогенності. Так, Park et al. (2004) повідомили, що видалення гена *tdh* у *V. parahaemolyticus* не впливає на цитотоксичність по відношенню до клітин HeLa і дають часткове накопичення рідини в кишечнику кроля [11]. При видаленні гена *trh* у *V. parahaemolyticus* також відмічається накопичення рідини в кишечнику кроля [8]. Дані результати засвідчують, що токсигенні властивості *V. parahaemolyticus* можуть бути пов'язані із іншими факторами патогенності, які на даний час не ідентифікуються.

Також були проведені дослідження з визначення у штамів *V. parahaemolyticus* здатність до біоплівкоутворення. Здатність до утворення біоплівок – одна з основних стратегій виживання мікроорганізмів не тільки в зовнішньому середовищі, а й у макроорганізмах. Саме мікроорганізми у складі біоплівок розцінюються як джерела персистентної бактеріальної інфекції, тому здатність окремих штамів до утворення біоплівок є важливою біологічною характеристикою мікроорганізмів, дослідження якої у подальшому дозволить розробляти механізми впливу на пов'язані з нею інфекції.

Ступінь формування біоплівки визначали на спектрофотометрі за показником оптичної густини в порівнянні з контролем. Результати досліджень засвідчили, що досліджувані штам *V. parahaemolyticus* здатні до утворення біоплівки вже через 24 години. Спектрофотометричні показники оптичної густини утвореної біоплівки штамми *V. parahaemolyticus* і контролем мали достовірну різницю, що свідчить про достатній ступінь формування біоплівки в імунологічних планшетах (табл. 2).

Примітка: вірогідно при P<0,05.

Діапазон значень утвореної біоплівки коливається в межах від 0,45 до 0,3 одиниць оптичної густини (ОГ). Найбільша здатність до утворення біоплівки (0,45-0,41 ОГ) спостерігається у токсигенних штамів *V. parahaemolyticus*, які були виділені в період спалахів харчових токсикоінфекцій у 2001 та 2006 роках в Україні. Проте значних розбіжностей в утворенні біоплівки між штамми виділених в різні роки не спостерігається. У атоксигенних штамів *V. parahaemolyticus* відмічається незначне зменшення до 0,3 одиниць ОГ біоплівкоутворення в порівнянні з токсигенними, але вони також здатні до утворення біоплівки. Результати досліджень засвідчують, що *V. parahaemolyticus*, як і багато інших мікроорганізмів здатні до біоплівкоутворення.

Таким чином, результати проведених досліджень показали, що життєдіяльність штамів *V. parahaemolyticus* пов'язана з утворенням складноорганізованих бактеріальних асоціацій – біоплівки, яка забезпечує виживання вібріонів в макроорганізмі. Здатність парагемолітичних вібріонів до утворення біоплівки забезпечує довгострокову персистенцію не лише в організмі людини, а й в різних біологічних нішах.

**Висновок.** На основі одержаних даних доповнений біологічний паспорт штамів *V. parahaemolyticus*, виділених від хворих на ГКІ в Україні. Застосування ПЛР-методу поряд з іншими методами ідентифікації *V. parahaemolyticus* дає можливість прискорити та удосконалити їх лабораторну діагностику. Здатність *V. parahaemolyticus* до біоплівкоутворення можна вважати як одним із додаткових факторів патогенності вібріонів. Розширена молекулярно-біологічна характеристика *V. parahaemolyticus* дає можливість для подальшого спостереження та вивчення мінливості біологічних властивостей вібріонів.

**Перспективи подальших досліджень.** У подальших дослідженнях планується провести експерименти з вивченням антагоністичної дії мікрофлори кишечника людини на токсигенну активність *V. parahaemolyticus*.

### Література

1. Ведомственная Инструкция «Диагностика, эпидемиология и профилактика острых кишечных заболеваний, вызываемых галофильными вибрионами» / МЗ УССР 1985. – Киев. – 14 с.
2. Либинзон А.Е. Галофильные вибрионы, выделенные из Азовского моря / А.Е. Либинзон, А.И. Демина, Г.И. Кулов [и др.] // ЖМЭИ. – 1977. – № 6. – С. 77-80.
3. Петренко О.В. Виявлення генів патогенності в *V.parahaemolyticus*, виділених в південних регіонах України / О.В. Петренко, В.В. Алексеєнко, З.А. Лисенко // Анналы Мечниковского инст. – 2013. – № 2. – С. 25-28.
4. Романова Ю.М. Способность к формированию биопленок в искусственных системах у различных штаммов *Salmonella typhimurium* / Ю.М. Романова, Н.В. Алексеева, Т.А. Смирнова [и др.] // ЖМЭИ. – 2006. – № 4. – С. 38-42.
5. Стрелков Р.Б. Статистические таблицы для экспресс-обработки экспериментального и клинического материала. Методические рекомендации / Р.Б. Стрелков. – Обнинск, 1980. – 19 с.
6. Fujino T. On the bacteriological examination of shirasu-food poisoning / T. Fujino, Y. Okuno, D. Nakada [et al.] // Med. J. Osaka Univ. – 1953. — Vol. 4, № 2/3. – P. 299-304.
7. Marlina Detection of *tdh* and *trh* genes in *Vibrio parahaemolyticus* isolated from *Corbicula molitkiana* prime in West Sumatera, Indonesia / Marlina, S. Radu, C.Y. Kqueen [et al.] // Southeast Asian J. Trop. Med. Public. Health. – 2007. – Vol. 38, № 2. – P. 349-355.
8. Ming X. Construction and characterization of an isogenic mutant of *Vibrio parahaemolyticus* having a deletion in the thermostable direct hemolysin-related hemolysin gene (*trh*) / X. Ming, K. Yamamoto, T. Honda [et al.] // J. Bacteriol. – 1994. – Vol. 176, № 15. – P. 4757-4760.
9. Nair G.B. The *Vibrio parahaemolyticus* pandemic / G.B. Nair, J.C. Hormazabal // Rev. Chilena Infectol. – 2005. – Vol. 22, № 2. – P. 125-130.
10. Nair G.B. Global dissemination of *Vibrio parahaemolyticus* serotype O3:K6 and its serovariants / G.B. Nair, T. Ramamurthy, S.K. Bhattacharya // Clin. Microbiol. Rev. – 2007. – Vol. 20, № 1. — P. 39-48.
11. Park K. Cytotoxicity and enterotoxicity of the thermostable direct hemolysin-deletion mutants of *Vibrio parahaemolyticus* / K. Park, T. Ono, M. Rokuda [et al.] // Microbiol. Immunol. – 2004. – P. 313-318.
12. Velazquez-Roman J. Pandemic *Vibrio parahaemolyticus* O3:K6 on the American continent / J. Velazquez-Roman, N. Leyn-Sicairos, L.J. Hernández-Dnaz [et al.] // Front Cell Infect. Microbiol. – 2013. – Vol. 3, № 110. – P. 1-40.

УДК 577.2:579.843.1(477)

#### МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА *V. PARAHAEMOLYTICUS*, ВИДІЛЕНИХ ВІД ЛЮДЕЙ В УКРАЇНІ

Петренко О. В., Алексеєнко В. В.

**Резюме.** Проведені молекулярно-біологічні дослідження штамів *V.parahaemolyticus*, виділені від людей в Україні показали, що токсигенні штами *V.parahaemolyticus* дають гемоліз на середовищі Вагацума, тобто володіють феноменом Канагава та несуть у своєму геномі ген *tdh*, який кодує прямий термостабільний гемолізін TDH. Атоксигенні штами *V.parahaemolyticus* не проявляють токсигенних властивостей, так як не дають гемолізу і не мають у своєму геномі гена *tdh*. Встановлено, що жоден з досліджуваних штамів *V.parahaemolyticus* не продукує гемолізін TDH-подібний або TRH-гемолізін, який виступає другим фактором патогенності у паратеголітичних вібрионів, що діагностується за наявністю гена *trh* та проявленням уреазної активності. Відмічена здатність *V.parahaemolyticus*, незалежно від токсигенних властивостей, до утворення біоплівки, яка забезпечує їм виживання в різних біологічних нішах, що можна розглядати як один із додаткових факторів патогенності. Вивчення молекулярно-біологічних властивостей штамів *V.parahaemolyticus* дало можливість розширити їх біологічний паспорт та удосконалити їх ідентифікацію новими методами діагностики.

**Ключові слова:** *V.parahaemolyticus*, токсигенність, гемолізینی, гени токсигенності.

УДК 577.2:579.843.1(477)

#### МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА *V. PARAHAEMOLYTICUS*, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ЛЮДЕЙ В УКРАИНЕ

Петренко Е. В., Алексеенко В. В.

**Резюме.** Проведенные молекулярно-биологические исследования штаммов *V.parahaemolyticus*, выделенные от людей в Украине показали, что токсигенные штаммы *V.parahaemolyticus* дают гемолиз на среде Вагацума, то есть обладают феноменом Канагава и несут в своем геноме ген *tdh*, который кодирует прямой термостабильный гемолизин TDH. Атоксигенные штаммы *V.parahaemolyticus* не проявляют токсигенных свойств, так как не дают гемолиза и не имеют в своем геноме гена *tdh*. Установлено, что ни один из исследуемых штаммов *V.parahaemolyticus* не производит гемолизин TDH-подобный или TRH-гемолизин, который выступает вторым фактором патогенности в паратеголитических вибрионах, что диагностируется по наличию гена *trh* и проявлением уреазной активности. Отмечена способность *V.parahaemolyticus*, независимо от их токсигенных свойств, к образованию биопленки, которая обеспечивает им выживание в различных биологических нишах, что можно рассматривать как один из дополнительных факторов патогенности. Изучение молекулярно-биологических свойств штаммов *V.parahaemolyticus* позволило расширить их биологический паспорт и усовершенствовать их идентификацию новыми методами диагностики.

**Ключевые слова:** *V.parahaemolyticus*, токсигенность, гемолизины, гены токсигенности.

UDC 577.2:579.843.1(477)

**BIOMOLECULAR CHARACTERISTICS OF *V. PARAHAEMOLYTICUS* ISOLATED FROM PEOPLE IN UKRAINE**

**Petrenko O. V., Alekseenko V. V.**

**Abstract.** *Vibrio parahaemolyticus* is a leading etiological factor in foodborne illnesses attributed to consumption of seafood or water infected with these microorganisms. There is a worldwide increase in acute enteric infections (AEI) caused by *Vibrio parahaemolyticus*. Since 1996 there is a spread of *V. parahaemolyticus* strain O3:K6 which gained the name of “pandemic strain”, although this species cannot be technically called this term.

Major pathogenic factor of *V. parahaemolyticus* is linked to toxin production which causes its diverse disease pattern. One of the main toxins of *V. parahaemolyticus* which exhibits enterotoxic and cardiotoxic properties is thermostable direct hemolysin (TDH) encoded by *tdh* gene. In laboratory practice toxigenic properties of *V. parahaemolyticus* are determined by their ability to produce hemolysis on Wagatsuma agar (referred to as Kanagawa phenomenon). But there are also Kanagawa-negative *V. parahaemolyticus* isolated from patients that contain another hemolysin TRH (TDH-related hemolysin) which is encoded with *trh* gene and is related to urease locus. TRH detection in laboratory practice is performed by presence of urease activity on Kristensen agar.

In Ukraine the study of *V. parahaemolyticus* as AEI causative agents started in 1975 when first cases were registered in Azov sea water area. There are single cases as well as outbursts of AEI caused by *V. parahaemolyticus* registered in southern regions of Ukraine recently. As a result, biomolecular study of 41 *V. parahaemolyticus* strains isolated from people with AEI in Ukraine in different years was conducted. The study showed that 38 (92,7%) of *V. parahaemolyticus* strains produced hemolysis on Wagatsuma agar, i. e. were Kanagawa-positive (KP+) and carried *tdh* gene that encodes thermostable direct hemolysin TDH, all of which were included with toxigenic strains. But 3 (7,3%) of strains did not produce hemolysis and were included with Kanagawa-negative (KP-) strains. These strains did not have the *tdh* gene and they can be ranked as atoxigenic variants. The results also showed that another toxigenic gene *trh*, which encodes TRH hemolysin, wasn't present in any of the studied *V. parahaemolyticus* strains. These strains showed no urease activity on Kristensen agar. It's worth mentioning that *V. parahaemolyticus* strains which produced hemolysis on Wagatsuma agar had toxigenic gene *tdh* in their genome. But *V. parahaemolyticus* strains which did not exhibit erythrocyte lysing or urease activity had no *tdh* or *trh* genes in their genome. Therefore, major pathogenic factor in *V. parahaemolyticus* strains isolated from patients in Ukraine is thermostable direct hemolysin TDH, which is identified by Kanagawa phenomenon and by *tdh* gene on genetic level. In this regard in laboratory practice definition of hemolytic activity can be substituted with detection of *tdh* gene in *V. parahaemolyticus* genome, which in turn will accelerate their identification.

Besides toxigenic properties of *V. parahaemolyticus* strains, their ability to produce biofilm, which is related to microorganism persistency, was also studied. Obtained results suggest that *V. parahaemolyticus* are able to produce biofilm: in our experiments we got values from 0.3 to 0.45 units of optical density (OD). In atoxigenic strains of *V. parahaemolyticus* slight decrease to 0.3 units of OD compared to toxigenic strains was found, but they were also capable to produce biofilm. No significant differences in biofilm production from strains isolated in different years were found. Therefore it can be concluded that vital activity of *V. parahaemolyticus* strains is associated with production of complicated bacterial structures — biofilms — which provide survival of vibrios not only in human body, but also in various biological environments.

Research of biomolecular properties of *V. parahaemolyticus* isolated from patients in Ukraine allowed to extend their strain passport and add new criteria for laboratory diagnostic methods, therefore improving their identification.

**Keywords:** *V. parahaemolyticus*, toxigenicity, hemolysins, pathogenic genes.

Рецензент — проф. Лобань Г. А.  
Стаття надійшла 18.05.2016 року