

в методом ПЦР в ЦСЖ более информативное, чем ПЦР СК, что подтверждает патогенетические особенности ГБМ.

**Ключевые слова:** гнойный бактериальный менингит, менингококковый менингит, пневмококковый менингит, полимеразная цепная реакция.

*P.V. Nartov, V. A. Yakuschenko, N.V. Vinnikova*

## **Diagnostic capabilities of meningococcal and pneumococcal meningitis in samples of cerebrospinal liquid and blood serum by polymerase chain reaction method**

**Kharkov Medical Academy of Postgraduate Education**

**Introduction.** The urgency of the problem of purulent bacterial meningitis (PBM) is caused by the high incidence of severe forms of a disease, significant mortality, and unsatisfactory long-term consequences.

**Aim.** Evaluation of the polymerase chain reaction (PCR) on the systemic and local levels in patients with PBM.

**Materials.** There was examined cerebrospinal liquid (CSL) in patients with meningococcal meningitis (MM) and pneumococcal meningitis (PM) during the acute stage of the disease.

**Results.** By using PCR MM diagnosis was verified in blood serum (SB) of six patients, and PM - in two patients, representing 60% and 25% respectively in comparison with the PCR data in CSL.

**Conclusions.** Regarding the obtained data we can consider that PCR in CSL is more informative for the detecting of DNA of *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* type b than in BS, which confirms pathogenetic features of purulent bacterial meningitis.

**Key words:** purulent bacterial meningitis, meningococcal meningitis, pneumococcal meningitis, polymerase chain reaction.

**Відомості про авторів:**

**Нартов Павло Вікторович** – д. мед. н., професор кафедри інфекційних хвороб Харківської медичної академії післядипломної освіти. Адреса: 61000, Харківська обл., м. Харків, вул. Амосова, 58.

УДК 001.53+004.12+57.02:579.843.+477

© КОЛЕТИВ АВТОРІВ, 2016

<sup>1</sup>*О.В. Петренко, <sup>1</sup>В.В. Алексеєнко, <sup>2</sup>О.І. Нікольська*

## **БИОЛОГИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ V.CHOLERAЕ O1/NON O1, ВИДІЛЕНИХ ВІД ЛЮДЕЙ В УКРАЇНІ**

<sup>2</sup>Національна медична академія післядипломної освіти  
імені П.Л.Шупика, м. Київ,

<sup>1</sup>Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського  
НАМН України, м. Київ

**Вступ.** На територію України періодично завозиться збудник холери *V.cholerae* O1, що призвело до «укорінення» *V.cholerae* O1 в південних регіонах України і тим самим створило небезпеку у виникненні спалахів холери. *V.cholerae* non O1 є постійними мешканцями водних акваторій, які викликають у людей

## ІНФЕКЦІЙНІ ХВОРОБИ

---

гострі кишкові інфекції (ГКІ). У зв'язку з цим набуває актуальності вивчення та проведення порівняльної характеристики біологічних властивостей *V.cholerae* O1 та *V.cholerae* non O1, що циркулюють в Україні.

**Мета.** Вивчити біологічні властивості штамів *V.cholerae* O1 і *V.cholerae* non O1, виділених від людей в різні роки в Україні та провести їх порівняльну характеристику.

**Матеріали та методи.** Досліджено 35 штамів *V.cholerae* O1, що були виділені від людей у період з 1992 по 2012 років в Україні, та 100 штамів *V.cholerae* non O1, виділених від людей у період 2011–2013 років.

**Результати.** У штамів *Vibrio cholerae* O1 та *V.cholerae* non O1, що були виділені від людей в різні роки в Україні відмічається мінливість фенотипових властивостей. У *Vibrio cholerae* O1 спостерігається зниження чутливості до діагностичних сироваток та фагів, реєструється варіабельність за проявленням гемолітичної активності за Грейгом. Виявлені атипові штами *V.cholerae* non O1, що здатні аглютинуватись холерними сироватками та лізуватись холерними фагами.

**Висновки.** В Україні циркулюють *V.cholerae* O1/non O1 з різними ознаками, які потребують постійного моніторингу за зміною їх властивостей, з використанням більш інформативних методів досліджень і насамперед – молекулярно-генетичних.

**Ключові слова:** *V.cholerae* O1, *V.cholerae* non O1, біологічні властивості.

**Вступ.** Вивчення мінливості біологічних властивостей мікроорганізмів – відкриває нові можливості для встановлення чинників, які розкривають структурну та функціональну різноманітність збудників інфекційних хвороб. Одним із модельних об'єктів вивчення мінливості біологічних властивостей мікроорганізмів є холерні вібріони (*Vibrio*). Холерні вібріони широко розповсюджені в водних акваторіях навколишнього середовища, але лише патогенні варіанти *V.cholerae* O1 здатні викликати холеру і пов'язані з епідеміями та пандеміями холери [1]. Проте, не менший інтерес, привертають до себе увагу і непатогенні варіанти *V.cholerae* O1 та *V.cholerae* non O1, що супроводжуються появою, як поодиноких випадків, так і спалахів гострих кишкових інфекцій (ГКІ) [2].

На територію України періодично завозиться збудник холери *V.cholerae* O1, що призвело до «укорінення» *V.cholerae* O1 в південних регіонах України [3] і тим самим створило небезпеку для виникнення спалахів холери. Постійними мешканцями водних акваторій південних регіонів України є *V.cholerae* non O1, які викликають у людей гострі кишкові інфекції [4]. У зв'язку з захворюваністю, що нагадує холеру, набуває актуальності вивчення та проведення порівняльної характеристики біологічних властивостей *V.cholerae* O1 та *V.cholerae* non O1, які циркулюють в Україні.

Необхідність проведення досліджень щодо мінливості холерних вібріонів зумовлена і тим, що зміни екологічних умов впливають на частоту виділення природних атипових холерних вібріонів [5]. Вивчення біологічних властивостей таких ізолятів може надати знання про нові механізми формування штамів з раніше невиявленими ознаками.

**Мета.** Вивчити біологічні властивості штамів *V.cholerae* O1 і *V.cholerae* non O1, що виділено від людей в різні роки в Україні, та провести їх порівняльну характеристику.

**Матеріали та методи.** Досліджено 35 штамів *V.cholerae* O1, що виділено від людей у період з 1992 по 2012 років в Україні та 100 штамів *V.cholerae* non O1, виділених від людей у період 2011–2013 років. Вивчення біологічних властивостей проводили за Інструкцією з організації та проведення

протихолерних заходів, клініки та лабораторної діагностики холери [6]. Статистичну обробку результатів проводили за загальноприйнятими методами варіаційної статистики [7].

**Результати та їх обговорення.** Проведені дослідження показали, що вивчені штами *V.cholerae* O1 та *V.cholerae* non O1, які були виділені від хворих на ГКІ в Україні, за своїми морфологічними, культуральними та біохімічними властивостями належать до виду *V.cholerae*. Проте, за іншими дослідженнями, було виявлені відмінності, на які зупинимось більш конкретно.

Важливою ознакою у ідентифікації холерних вібріонів є гемолітична активність лізису еритроцитів барана, яка виявляється в реакції за Грейгом і дає можливість виявити їх вірулентні властивості. Так, за Грейгом 68,6% штамів *V.cholerae* O1 були гемолізопозитивні, що дає можливість віднести їх до авірулентних варіантів, а 31,4% штамів *V.cholerae* O1 не давали гемолізу. Гемолізнегативні штами *V.cholerae* O1 за Грейгом необхідно віднести до вірулентних холерних вібріонів, але за іншим діагностичним тестом – експрес–методом з манітом – 22,9% штамів *V.cholerae* O1 визначались як авірулентні вібріони. У зв'язку з цим неможливо провести чітку ідентифікацію даних штамів *V.cholerae* O1 та належність їх до вірулентних чи авірулентних варіантів. Тому такі штами потребують додаткових методів досліджень. Водночас 8,5% штамів *V.cholerae* O1, які не давали гемоліз за Грейгом і проявили холерогенність з манітом, віднесені до вірулентних варіантів.

Серологічні дослідження штамів *V.cholerae* O1 довели, що 91,4% штам *V.cholerae* O1 аглютинувались O1–сироваткою на слайд–аглютинації, що дає можливість віднести їх до O1–серогрупи, але у діагностичному робочому титрі аглютинувались 61,8% штамів (табл. 1).

Таблиця 1

**Результати аглютинації 35 штамів *V.cholerae* O1 з діагностичними сироватками (%)**

Титр сироватки	Діагностичні сироватки				Титр фагів	Біоварофаги		Діагностичні холерні фаги ХДФ–3,4,5		
	O1	Ogava	Inaba	RO		«С»	ельгор	3	4	5
слайд–аглютин.	91,4	77,1	42,9	25,7	цільний препарат.	40,0	45,7	60,0	40,0	54,3
1:1600	61,8	–	–	11,4	ДРТ (10 <sup>-2</sup> )	5,7	31,4	31,4	8,6	28,6
1:400	–	57,1	17,1	–						

За здатністю до аглютинації типоспецифічними сироватками для встановлення серовару визначено, що 77,1% штамів *V.cholerae* аглютинувались із сироваткою Ogava на слайд–аглютинації, а з Inaba – 42,9%. Проте, враховуючи результати аглютинації цих штамів у діагностичному робочому титрі, до серовару Ogava віднесені лише 57,1% штамів *V.cholerae* O1, а до серовару Inaba – 17,1% (табл. 1). З RO–сироваткою на слайд–аглютинації проявили аглютинабельність 25,7% штамів *V.cholerae* O1, а у діагностичному робочому титрі – лише 11,4% (табл. 2).

Результати аглютинації з RO–сироваткою штамми *V.cholerae* O1

Рік виділення штама	№ штама	Діагностичні сироватки та титр аглютинації			
		O1	RO	Ogava	Inaba
1997	240	400	100	–	400
2000	27	–	800	100	–
	3564, 3459	–	1600	–	100
2001	101	400	400	–	400
2010	65	100	800	100	–
	3687, 3790	100	1600	200	–
2012	1573	100	400	–	–

Слід відмітити, що 9 штамів *V.cholerae*, які аглютинувались з сироваткою RO у різних титрах, також аглютинувались і з іншими діагностичними сироватками. Так, 4 штами аглютинувались з сироваткою Ogava, а інші 4 штами з сироваткою Inaba, і 6 штамів з O1–сироваткою у низьких титрах.

Таким чином, мінливість за SR–типом, тобто, коли спостерігається аглютинація всіма холерними сироватками у різних титрах, такий тип антигенної модифікації найбільш нестабільний та найменш вивчений. Штами *V.cholerae* O1, у яких за серологічними дослідженнями виявляються різнобічні властивості ускладнюють проведення їх ідентифікації. Одним із важливих діагностичних критеріїв у вивченні біологічних властивостей холерних вібріонів є чутливість до холерних біовароспецифічних фагів: класичного «С», ельтор та холерних діагностичних фагів – ХДФ – 3, 4, 5.

Вивчення фаголізальності у 35 штамів *V.cholerae* O1 довели, що з бактеріофагом ельтор давали лізис 45,7% штамів *V.cholerae* O1, але до ДРТ лізувались 31,4% штамів (табл.1). З класичним бактеріофагом «С» проявили лізальність 40,0% штамів *V.cholerae* O1, але лише у 5,7% штамів виявлено лізис у діагностичному робочому титрі (ДРТ). Штами, які дають лізис з класичним «С» фагом необхідно віднести до класичного біовару, проте за реакцією Фогес–Проскауера та гемолітичною активністю за Грейгом вони віднесені до біовару ельтор. Проявлення холерними вібріонами лізису двома біоварофагами вказує на мінливість біологічних властивостей, що в свою чергу ускладнює встановлення їх біовара. Визначена чутливість до холерних діагностичних фагів ХДФ–3, 4, 5 показало, що з фагом ХДФ–3 лізувались 60,0% штамів, з ХДФ–4 – 40,0%, з ХДФ–5 – 54,3%. Проте у ДРТ відбувся лізис з ХДФ–3 – 31,4%, з ХДФ–4 – 8,6%, з ХДФ–5 – 28,6%. Результати досліджень показали зниження чутливості холерних вібріонів до фагів у діагностичному титрі у порівнянні з цільним препаратом, що вказує на досить низьку діагностичну цінність лабораторних тестів в ідентифікації холерних вібріонів.

Проведені дослідження з вивчення біологічних властивостей 100 штамів холерних вібріонів, що виділено від хворих на ГКІ показали, що за своїми біологічними властивостями зазначені штами належать до виду *V.cholerae* по O1. За морфологічними, культуральними та біохімічними властивостями вони не відрізняються від авірулентних холерних вібріонів O1 серогрупи, але

## ІНФЕКЦІЙНІ ХВОРОБИ

мають відмінності за серологічними та фаголізабельними властивостями. Штами *V.cholerae* non O1 не аглютинувались О– і RO–сироватками та не проявляли лізабельність з бактеріофагами ельтор, класичним «С» та діагностичними фагами ХДФ–3, 4, 5. Проте, виявлено 12 штамів *V.cholerae* non O1, які давали аглютинацію з холерними діагностичними сироватками та фагами в різних титрах (табл.3).

Таблиця 3

**Результати серологічних та фаголізабельних досліджень штамів *V.cholerae* non O1**

№ штаму, місце та рік виділення	Холерні сироватки				Біоварофаги		Діагностичні фаги		
	O	Ogava	Inaba	RO	«С»	Ельтор	ХДФ		
							3	4	5
	Діагностичний титр								
1:1600			1:1600		$10^{-2}$		$10^{-2}$	$10^{-2}$	
№174 Донецька обл., 2011 р.	–	–	–	–	–	$10^{-2}$	–	–	$10^{-2}$
№15 Запорізька обл., 2011 р.	1:100	–	–	1:100	–	–	–	1,0	1,0
№ 16 Запорізька обл., 2011 р.	–	–	–	–	–	–	–	–	1,0
№21 Запорізька обл., 2011 р.	–	–	–	–	–	1,0	–	–	$10^{-1}$
№27 Донецька обл., 2012 р.	–	–	–	–	–	1,0	–	1,0	1,0
№28 Донецька обл., 2012 р.	–	–	–	–	–	1,0	–	1,0	1,0
№29 Донецька обл., 2012 р.	–	–	–	–	–	1,0	–	1,0	1,0
№18 Запорізька обл., 2012 р.	–	–	–	–	–	1,0	–	$10^{-1}$	$10^{-1}$
№16 Одеська обл., 2012 р.	–	–	–	–	–	–	–	$10^{-1}$	$10^{-2}$
№34 Одеська обл., 2012 р.	–	–	–	–	–	–	–	$10^{-1}$	1,0
№71 Одеська обл., 2012 р.	–	–	–	–	–	–	–	$10^{-1}$	$10^{-1}$
№30 Донецька обл., 2013 р.	–	–	–	–	–	–	–	1,0	1,0

## ІНФЕКЦІЙНІ ХВОРОБИ

---

Так виявлено 1 штам *V.cholerae* non O1, що аглютинувався O– та RO– сироватками у титрі 1:100. Крім того, даний штам лізувався діагностичними холерними фагами ХДФ–4 та ХДФ–5 цільним препаратом. Здатність штама *V.cholerae* non O1 аглютинуватись O– і RO– сироватками та проявляти лізабельність з діагностичними холерними фагами є насторожуючим фактором для епідеміологів! Крім того виявлено 6 штамів, які лізувались біоварофагом ельтор цільним препаратом, а один штам лізувався у ДРТ. Слід відмітити, що всі 12 атипових штамів *V.cholerae* non O1 лізувались фагом ХДФ–5 в різних розведеннях, і лише 2 штами – у ДРТ. Виявлено 9 штамів, які лізувались різними розведеннями фага ХДФ–4.

Таким чином, стверджується наукова думка, що є «істинні» НАГ– вібріони, які не аглютинуються холерними сироватками, а є *V.cholerae* O1 серогрупи, в яких під впливом різних факторів відбулись генетично обумовлені структурні зміни в поверхневих антигенах, і вони частково втрачають аглютинабельність холерними сироватками [8]. Наявність аглютинації у *V.cholerae* non O1 з діагностичними холерними сироватками вказує на перехідні форми *V.cholerae* O1 у *V.cholerae* non O1, у якого залишилися на поверхні клітини змінені антигени.

Напевно, виявлення на окремих територіях штамів *V.cholerae* non O1, які здатні аглютинуватись холерними сироватками та проявляти лізис з бактеріофагами, є фактом пристосування до певних умов існування холерних вібріонів O1 серогрупи. Неможливо виключити і той момент, що для таких форм холерних вібріонів щоб відтворити свої властивості, в першу чергу необхідні сприятливі кліматичні умови та пасаж їх через біологічний об'єкт, тобто через організм людини. Цей шлях є довгим, але слід враховувати, що останнім часом створюються більш сприятливі кліматичні та соціальні умови для холерних вібріонів в ендемічних на холеру регіонах, тому за такими вібріонами необхідно проводити спостереження за змінами їх біологічних властивостей. Крім того, наявність у холерних вібріонів генетично обумовленої мінливості фенотипових властивостей створює передумови для природного відбору клонів з новими біологічними властивостями, які ускладнюють їх ідентифікацію.

Підсумовуючи результати досліджень слід відмітити, що в південних регіонах України циркулюють *V. cholerae* O1/non O1 з різними біологічними властивостями, які потребують постійного моніторингу за їх зміною з використанням більш сучасних методів досліджень.

**Висновки.** У *V. cholerae* O1, що виділено від людей в різні роки в Україні відмічається мінливість за гемолітичними, фаголізабельними ознаками та серологічною діагностикою, що вказує на варіабельність їх біологічних властивостей. *V.cholerae* non O1. Виділені від хворих на гострі кишкові інфекції за діагностичними критеріями проявляють свої біологічні властивості більш стало, проте виявляються атипові *V.cholerae* non O1 здатні аглютинуватись холерними сироватками та лізуватись холерними фагами. Для проведення ідентифікації холерних вібріонів із зміненими біологічними властивостями необхідно проводити додаткові дослідження, зокрема молекулярно–генетичні.

### Література

1. Капер J.B. Cholera / J.B. Капер, J.G. Morris, M.M. Levin // Clin. Microbiol. Rev. – 1995. –Vol. 8(1). – P. 48–86.

2. Annual US epidemiological surveillance. <http://www.cdc.gov/epo/dphsi/casedef/vibriosis.htm>

3. Алексеенко В.В. Холера в Украине (история и современность) / Владимир Алексеенко. – Кировоград : Центр. – Укр.изд–во, 2007. – 171 с.

4. Біологічні властивості холерних вібріонів, виділених на території України у 2010 році / Інформаційно–аналітичне повідомлення ДЗ "Українська протичумна станція МОЗ України". – Сімферополь. – 2011. – 16 с.

5. Смирнова Н.И. Атипичные штаммы холерного вибриона Эль–Тор, выделенные от людей / Н.И.Смирнова, В.В. Кутырев, Е.А. Костромитина и др. // Эпидем. и инфекц. болезни. – 2005. – №5. – С.15–20.

6. Інструкція по організації та проведенню протихолерних заходів, клініці та лабораторній діагностиці холери // МОЗ України №167. – Офіц. вид. – К.: Полімед, 1997. – 123 с. – (Нормативний документ МОЗ України).

7. Стрелков Р.Б. Статистические таблицы для экспресс–обработки экспериментального и клинического материала: методические рекомендации. – Обнинск. - 1980. – 19 с.

8. Актуальные проблемы холеры / Под ред. Покровского В.И. и Онищенко Г.Г. – Москва: ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ, 2000. – 384 с.

*Е.В. Петренко, В.В. Алексеенко, Е.И. Никольская*

### **Биологические свойства *V.cholerae* O1/non O1, выделенных от людей в Украине**

**Национальная медицинская академия последипломного образования имени П.Л. Шупика, г. Киев,**

**Институт эпидемиологии и инфекционных болезней им. Л.В.Громашевского НАМН Украины, г. Киев**

**Введение.** Различные виды *V.cholerae* способны вызывать у людей как острые кишечные инфекции, так и связанные с эпидемиями и пандемиями холеры. На территорию Украины периодически завозится возбудитель холеры *V.cholerae* O1, что привело к «укоренению» *V.cholerae* O1 в южных регионах Украины и тем самым создало опасность в возникновении вспышки холеры. *V.cholerae* non O1 являются постоянными обитателями водных акваторий, которые вызывают у людей ОКИ. В связи с этим приобретает актуальность изучение и проведение сравнительной характеристики биологических свойств *V.cholerae* O1 и *V.cholerae* non O1, циркулирующих в Украине.

**Цель.** Изучить биологические свойства штаммов *V.cholerae* O1 и *V.cholerae* non O1, выделенных от людей в разные годы в Украине и провести их сравнительную характеристику.

**Материалы и методы.** Исследовано 35 штаммов *V.cholerae* O1, выделенных от людей с 1992 по 2012 годы в Украине и 100 штаммов *V.cholerae* non O1, выделенных от людей в 2011–2013 годах.

**Результаты.** В штаммов *Vibrio cholerae* O1 и *V.cholerae* non O1, выделенных от людей в разные годы в Украине отмечается изменчивость фенотипических свойств. В *Vibrio cholerae* O1 наблюдается снижение чувствительности к диагностическим сывороткам и фагам, регистрируется вариабельность за проявлением гемолитической активности по Грейгу. Обнаруженные атипичные штаммы *V.cholerae* non O1, способные агглютинироваться холерными сыворотками и лизироваться холерными фагами.

**Выводы.** В Украине циркулируют *V.cholerae* O1/non O1 с различными биологическими свойствами, требующих постоянного мониторинга за изменением их свойств с использованием более современных методов исследований.

**Ключевые слова:** *V.cholerae* O1, *V.cholerae* non O1, биологические свойства.

***O.V. Petrenko, V.V. Alekseenko, A.I. Nikolska***

### **Biological properties of *V.cholerae* O1/ non O1, isolated in persons in Ukraine**

**Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education,  
Gromashevskyi Institute of Epidemiology and Infectious Diseases of  
NAMS of Ukraine**

**Introduction.** The pathogen *Vibrio cholerae* O1 has periodically been imported to Ukraine, which led to the spread of *V.cholerae* O1 in the southern regions of Ukraine and thereby caused a danger of outbreaks of cholera. *V.cholerae* non O1 is permanently observed in water areas causing acute enteric infections in people. Therefore studying and comparing characteristics of biological properties of *V.cholerae* O1 and *V.cholerae* non O1 being observed in Ukraine is becoming relevant.

**Aim.** To study and compare the biological properties of *V.cholerae* O1 and *V.cholerae* non O1 strains, isolated in different years in Ukraine.

**Materials and methods.** There were studied 35 strains of *V.cholerae* O1, isolated in people during 1992 - 2012 in Ukraine and 100 strains of *V.cholerae* non O1, isolated in people during 2011-2013.

**Results.** *Vibrio cholerae* strains in O1 and *V.cholerae* non O1, isolated in people in different years in Ukraine are characterized by variability of phenotypic properties. *Vibrio cholerae* O1 is characterized by a decreased sensitivity to diagnostic sera and phages; variability of hemolytic activity by Greig is recorded. Atypical *V.cholerae* non O1 strains have been revealed which can be agglutinated by *Vibrio cholera* serums and lysed by cholera phages.

**Conclusions.** *V.cholerae* O1/non O1 with different characteristics are circulating in Ukraine. They require constant monitoring with using more informative research methods and molecular genetics methods in particular.

**Key words:** *V.cholerae* O1, *V.cholerae* non O1, biological properties.

#### ***Відомості про авторів:***

***Нікольська Олена Іванівна*** – доцент кафедри мікробіології і епідеміології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика. Адреса: 04112, м. Київ, вул. Дорогожицька, 9, тел.: (044) 205-49-74.

***Петренко Олена Вікторівна*** – науковий співробітник лабораторії мікробіології з музеєм патогенних для людини мікроорганізмів Інституту епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В.Громашевського. Адреса: м. Київ, вул. М.Амосова, 5.

***Алексеєнко Володимир Васильович*** – д.мед.н., професор, член спеціалізованої Вченої Ради Інституту епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В.Громашевського.