

Д. Л. КИРИК (Київ)

## ОРГАНІЗАЦІЯ КОМПЛЕКСНОГО ЕПІДЕМІОЛОГІЧНОГО НАГЛЯДУ ЗА КАМПІЛОБАКТЕРІОЗОМ В СУЧАСНИХ УМОВАХ

Національна медична академія післядипломної освіти ім. П. Л. Шупика <kyryk@ukr.net>

*Наведено дані про наукове обґрунтування системи комплексного епідеміологічного нагляду за кампілобактеріозом в сучасних умовах. Здійснено моніторинг захворюваності осіб різних вікових груп на кампілобактеріоз, бактеріологічно досліджено проби від сільськогосподарських тварин, птахів та об'єктів навколишнього середовища. Епідеміологічне маркування штамів ґрунтувалось на визначенні виду, серо-біоваровій належності, а також геноідентифікації. Комплексний епідеміологічний нагляд за кампілобактеріозом включає епідеміологічний, епізоотологічний, екологічний, мікробіологічний, серологічний і молекулярно-генетичний моніторинг, а також розробку ефективних профілактичних і протиепідемічних заходів.*

**Ключові слова:** кампілобактеріоз, епідеміологічний нагляд, екологія збудника, типування, геноідентифікація.

**Вступ.** Харчові токсикоінфекції зоонозної етіології – кампілобактеріоз, сальмонельоз та ієрсиніоз – значно поширені у країнах – членах Європейського Союзу (ЄС). Згідно з Директивою ЄС/2003/99, Європейська агенція з харчової безпеки (EFSA) організує моніторинг цих інфекцій. Так, за даними річного звіту, в 2014 р. найбільш поширеним серед харчових токсикоінфекцій був кампілобактеріоз – 214 779 випадків, що відповідає 64,8 на 100 000 населення. Основним фактором передачі є м'ясо бройлерів, частота виділення бактерій роду *Campylobacter* із зразків становила 31,4 % [6]. В Україні офіційна реєстрація кампілобактеріозу залишається на низькому рівні – 0,9 на 100 000 населення. Це зумовлено недостатнім використанням сучасних методів мікробіологічної діагностики даної інфекції при проведенні рутинного обстеження хворих на гострі кишкові інфекції (ГКІ) [3]. Проблема вивчення кампілобактеріозу в Україні знаходиться на початковій стадії, тому організація комплексного епідеміологічного нагляду за цим зоонозом з використанням сучасних методів дослідження є актуальною для реформованої системи охорони здоров'я.

**Мета дослідження** – розробка комплексної системи епідеміологічного нагляду за кампілобактеріозною інфекцією, що ґрунтується на епідеміологічному, мікробіологічному, епізоотологічному, екологічному, серологічному і молекулярно-генетичному моніторингах.

**Матеріали і методи.** Проведено бактеріологічне дослідження з метою виявлення бактерій роду *Campylobacter* матеріалу від 3616 хворих на ГКІ, 1569 проб від тварин, птахів та об'єктів навколишнього середовища, в тому числі від свиней – 78, великої рогатої худоби – 75, курей – 208, води водойм – 90, стічних вод м'ясо-птахопереробних підприємств – 136. Для вивчення шляхів і факторів передачі кампілобактеріозу досліджено 38 проб м'ясо-кісткового борошна, 30 печінки і жовчного міхура, 35 яєчного порошку, 35 курячого посліду, 332 змивів з обладнання м'ясо-птахопереробних підприємств. Матеріал для бактеріологічного дослідження від хворих на ГКІ (випороження) та від тварин, птахів (вміст кишечника) поміщали у середовище для контролю стерильності (рН = 10), яке використовували як транспортне, у співвідношенні 1 : 5. Для виділення кампілобактерій проводили посів 0,1 мл суспензії матеріалу в транспортному середовищі на дві чашки залізо-еритрит-кров'яного агару (ЗЕКА) з аеротолерантними домішками та антибактеріальним суплементом. Посіви інкубували у мікроаерофільних умовах при 42 °С у мікроанаеростаті за допомогою газогенеруючих пакетів «Кампілогаз» («Синтез», Україна). Культивували протягом 48 год з оглядом чашок через кожні 24 год. Змиви відбирали з поверхні 100 см<sup>2</sup> ватними тампонами, змо-

ченими селективним збагаченим середовищем на основі м'ясо-пептонного бульйону з додаванням дефібринованої та лізованої баранячої крові (5 %), а також аеротолерантних домішок і суміші антибіотиків. У цьому середовищі змиви транспортували до лабораторії, в якій їх інкубували в мікроаерофільних умовах при 42 °С протягом 48 год. Потім проводили висів із збагачувального середовища на щільне поживне. Воду з відкритих водойм або стічні води досліджували методом фільтрів. Ідентифікацію виділених культур кампілобактерій проводили з використанням таких тестів: характеру забарвлення за Грамом, рухливості у темному полі, продукування оксидази та каталази, гідролізу гіпурату, чутливості до наліткової кислоти, здатності росту на середовищі Ресселя при 37 °С в аеробних умовах. Визначено видову, серо-біоварову належність 387 штамів кампілобактерій, виділених з різних джерел [4]. Для геноідентифікації бактерій роду *Campylobacter* використано метод цілеспрямованої ампліфікації ДНК – полімеразно-ланцюгову реакцію (ПЛР). Праймери для специфічної детекції вибрано з послідовності REP. Продукти реакції проаналізовано методом електрофорезу в 1,2 % агарозному гелі [5]. Статистичну обробку результатів дослідження здійснювали методами варіаційної статистики після створення бази даних в Microsoft Excel.

**Результати та їх обговорення.** Для об'єктивної оцінки питомої ваги кампілобактеріозу у структурі ГКІ в Києві проведено вибіркоче дослідження протягом всіх сезонів року на єдиній методологічній основі: обстежено репрезентативну групу хворих на ГКІ різних вікових груп, застосовано методику випадкової вибірки та уніфікований бактеріологічний метод виділення збудника, досліджено матеріал від хворих «з єдиної проби» одними й тими спеціалістами на одній лабораторній базі. Це дозволило уніфікувати проведені дослідження та облік їх результатів. Клініко-епідеміологічні дані підтверджено бактеріологічним виділенням збудника, результатами імунодіагностики та ефективністю проведеної хіміотерапії (табл. 1).

Таблиця 1. Розподіл хворих на кампілобактеріоз за віковими групами

Показник	Вікова група, роки								Всього
	До 1	1–2	3–4	5–6	7–14	15–20	21–39	40 і старше	
Кількість обстежених хворих на ГКІ	505	501	493	499	482	380	367	389	3616
Кількість хворих на кампілобактеріоз	20	17	15	12	8	6	8	12	98
Питома вага хворих у структурі ГКІ, % ± m	4,0 ± 0,9	3,4 ± 0,8	3,0 ± 0,8	2,4 ± 0,7	1,7 ± 0,6	1,6 ± 0,6	2,2 ± 0,6	3,1 ± 0,9	2,7 ± 0,3

Питома вага кампілобактеріозу у структурі ГКІ в Києві становила 2,7 % і коливалась від 1,6 % у віковій групі 15–20 років до 4 % у дітей до першого року життя. Рівень імунодіагностичного підтвердження захворюваності на кампілобактеріоз становив від 88,5 % у хворих першого року життя до 95 % у дорослих – (21–39 років). У цілому чутливість методу імунодіагностики у хворих на кампілобактеріоз була 90,7 %, що повністю відповідало вимогам до еритроцитарних кампілобактеріозних діагностикумів [1].

Значну увагу при проведенні епідеміологічного нагляду за кампілобактеріозом приділяли вивченню потенційних резервуарів бактерій роду *Campylobacter* серед сільськогосподарських тварин і птахів (епізоотологічний моніторинг). Кампілобактерії виділено з вмісту кишечника курей у 33,7 %, свиней – у 20,5 % і великої рогатої худоби – у 13,3 % з кількості досліджених проб, відібраних на м'ясо-птахопереробних підприємствах.

Крім вмісту кишечника курей, кампілобактерії виділено на птахофабриці з проб печінки (36 %) і жовчного міхура (25 %), в яких природно створені сприятливі умови для накопичення і розмноження збудників. Можливим джерелом

інфікування курей є сухий корм на основі м'ясо-кісткового борошна – контамінація кормів кампілобактеріями була 22,2 %.

Для виявлення зв'язку епідемічного і епізоотичного процесів кампілобактеріозу проаналізовано сезонність висіву кампілобактерій від курей. Період першого сезонного росту встановлено в січні–лютому, другого – у травні, що передуює весняно-літньому підвищенню рівня захворюваності на кампілобактеріоз серед людей. Із загальної кількості виявлених хворих – осіб, які захворіли на кампілобактеріоз у період сезонного підвищення, становила 71,5 %. Зимовий ріст висіву кампілобактерій від курей був пов'язаний із зміною раціону харчування, а весняний – із збільшенням поголів'я.

Санітарно-ветеринарний контроль не забезпечує повного виявлення носійства кампілобактерій серед сільськогосподарських тварин і птахів та контамінацію ними продуктів забою. Це підтверджено результатами виявлення збудників на обладнанні переробних підприємств, у стічних водах, а також у готовій продукції. При обробці курей на Київській птахофабриці під час технологічного процесу контамінація тушок кампілобактеріями практично не змінювалась – від 18,2 % на початку до 20 % на кінцевій стадії. Факторами, що спричинили додаткове інфікування тушок, були високий рівень забруднення кампілобактеріями технологічного обладнання та рук персоналу (7,1 та 13,3 % відповідно). Нами також проведено бактеріологічне дослідження проб яєчного порошку як потенційного фактора поширення кампілобактеріозу. При цьому кампілобактерії виділено в 8,6 % досліджених проб. Також збудники кампілобактеріозу виявлено у 8 (21,1 %) пробах м'ясо-кісткового борошна, виробленого на птахофабриці і направлено для виготовлення комбікормів. Значний інтерес для вивчення потенційних шляхів поширення кампілобактеріозу становлять результати виділення кампілобактерій з проб курячого посліду, який можна застосовувати у сільському господарстві як добриво, – кампілобактерії виявлено у 20 % досліджених проб.

Враховуючи потенційну роль великої рогатої худоби як резервуару кампілобактеріозу, ми провели бактеріологічне дослідження змивів з технологічного обладнання і рук персоналу на наявність кампілобактерій на Київському м'ясокомбінаті. Встановлено, що у змивах з технологічного обладнання та рук персоналу забійного цеху кампілобактерії виділено у 11,1 та 14,3 % всіх досліджених проб, а в кишковому цеху – у 5,7 та 12,5 % відповідно. Контамінація кампілобактеріями готової продукції м'ясокомбінату становила 5,5–6,7 %.

Під час дослідження оцінювали епідемічне значення різних об'єктів навколишнього середовища у передачі збудників кампілобактеріозу. При дослідженні проб стічних вод птахофабрики кампілобактерії виділено у 20 (35,7 %) з 56 проб, а м'ясокомбінату – у 12 (20 %) з 60. Бактеріологічне дослідження проб водойм показало значне поширення кампілобактерій у природі. Серед проб з водойм, в які частково потрапляли стічні води м'ясо-птахопереробних підприємств, кампілобактерії виявлено в 12,5 %. Таким чином, проведені дослідження свідчать, що птахофабрика та м'ясокомбінат є місцем накопичування та поширення кампілобактерій в об'єктах навколишнього середовища. Зоонозна природа кампілобактеріозу спричинює її значне поширення серед працівників тваринницьких комплексів та м'ясо-птахопереробних підприємств [2].

Для визначення особливостей епізоотолого-епідемічного процесу кампілобактеріозу в Україні нами здійснено епідеміологічне маркування штамів кампілобактерій різного походження: проаналізовано розподіл за видами, серо- і біоварами. Переважну більшість всіх виділених штамів кампілобактерій типували як *S. jejuni* (88 %). Відмічено перевагу виду *S. coli* – 61,8 % виділених від свиней. Домінуючим в Україні є серовар LI032 і біовар I. Їхня питома вага серед штамів, виділених від хворих на кампілобактеріоз і курей, становила 32,7 і 57,5 % та 54,8 і 62,4 % відповідно. Значна кількість нетипованих штамів (31,5 %) зумовлює доцільність розробки вітчизняної схеми типування.

Підтвердженням стійкого взаємозв'язку епізоотолого-епідемічного процесу були результати епідеміологічного маркування штамів кампілобактерій, виділених

з різних джерел, на основі ПЛР. Нами на основі методу цілеспрямованої ампліфікації ДНК розроблена система геноідентифікації бактерій роду *Campylobacter* з використанням REP-нуклеотидної послідовності. Досліджені штами виду *C. jejuni* характеризувались єдиним мажорним продуктом 600 нуклеотидних пар (н. п.). Наявність мажорного ПЛР-продукту розміром 1200 н.п. було більш характерним для видів *C. coli* і *C. laridis*. Відмічено відмінності в штаммах *C. jejuni* серовару LIO32 за мінорним фрагментом, що дозволило виділити п'ять груп ПЛР-типів (табл. 2).

Таблиця 2. Продукти REP-ПЛР аналізу серовару LIO32 *C. jejuni*

Фрагмент	Довжина ПЛР-фрагмента (штами <i>C. jejuni</i> серовару LIO32)										
	355	356	673	677	378	377	375	379	381	382	383
Мажорний	600	600	600	600	600	600	600	600	600	600	600
Субмажорний					1400	1400	1400				
								1300			
								1200	900		
								500	800		
									500		
Мінорні					1600	1600	1600	1600	1600		
	1500	1500						1500	1500	1500	1500
	1400	1400	1400	1400						1400	1400
	1300	1300	900	900	1300	1300	1300			1300	1300
	700	700	800	800	900	900	900	850	850	800	800
	500	500	500	500	800	800	800				
	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250

Перший штам містив мінорні фрагменти (н. п.): 1500; 1400; 1300; 700; 500; 250; другий – 1400; 900; 800; 500; 250; третій – 1600; 1300; 900; 800; 250; четвертий – 1600; 1500; 850; 250; п'ятий – 1500; 1400; 1300; 800; 250. Встановлені тонкі генетичні відмінності всередині серовару використано для визначення джерела інфекції при епідеміологічному аналізі. Клінічні штами і штами, виділені від курей, віднесено до одних ПЛР-генотипів.

**Висновки.** Проведені дослідження науково обґрунтовують основні принципи системного епідеміологічного нагляду за кампілобактеріозом, що включає епідеміологічний, епізоотологічний, екологічний, мікробіологічний, серологічний і молекулярно-генетичний моніторинг, а також розробку на цій основі ефективних профілактичних і протиепідемічних заходів.

## Список літератури

1. Кирик Д. Л. Клініко-епідеміологічні особливості кампілобактеріозу в Україні // Укр. мед. часопис. – 2013. – Вип. 95, № 3. – С. 162–164.
2. Кирик Д. Л. Характеристика епідемічного процесу кампілобактеріозу та епідеміологічне маркування штамів кампілобактерій різного походження // Там само. – 2012. – Вип. 89, № 3. – С. 100–103.
3. Леженко Г. О., Усачова О. В., Пахольчук Т. М. та ін. Кампілобактеріоз у дітей: сучасні уявлення про етіопатогенез, клінічну картину, можливості діагностики, підходи до лікування // Дитячий лікар. – 2013. – Вип. 27, № 6. – С. 33–38.
4. Чайка Н. А., Хазенсон Л. Б., Бутцлер Ж. П. Кампилобактериоз. – Л.: Медицина, 1988. – 352 с.
5. Kyryk D. Some aspects of molecular epidemiology of campylobacteriosis in Ukraine // Abstract book of the 24-th annual meeting of the European society of clinical microbiology and infectious diseases (Barcelona, Spain, May 10-13, 2014). – Barcelona: ECCMID № -0481 [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://eccmid.org/barcelona> 2014.
6. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2014 // EFSA. – 2015. – Vol. 4329, N 12. – 191 p.

ОРГАНИЗАЦИЯ КОМПЛЕКСНОГО ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА  
ЗА КАМПИЛОБАКТЕРИОЗОМ В СОВРЕМЕННЫХ УСЛОВИЯХ*Д. Л. Кирик* (Киев)

Приведены данные о научном обосновании системы комплексного эпидемиологического надзора за кампилобактериозом в современных условиях. Осуществлён мониторинг заболеваемости лиц кампилобактериозом разных возрастных групп, бактериологически исследованы пробы от сельскохозяйственных животных, птиц и объектов окружающей среды. Эпидемиологическое маркирование штаммов базировалось на определении вида, серо-биоваровой принадлежности, а также геноидентификации. Комплексный эпидемиологический надзор за кампилобактериозом включает эпидемиологический, эпизоотологический, экологический, микробиологический, серологический и молекулярно-генетический мониторинг, а также разработку эффективных профилактических и противоэпидемических мероприятий.

**Ключевые слова:** кампилобактериоз, эпидемиологический надзор, экология возбудителя, типирование, геноидентификация.

ORGANIZATION OF THE COMPREHENSIVE EPIDEMIOLOGICAL  
SURVEILLANCE OF CAMPYLOBACTERIOSIS IN MODERN CONDITIONS*D. L. Kyryk* (Kyiv, Ukraine)

Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education

The article presents information on the scientific substantiation of a system of integrated epidemiological surveillance of campylobacteriosis in modern conditions. The monitoring of the incidence of campylobacteriosis people of different age group has been provided, samples from farm animals, birds and the environment has been bacteriologically investigated. Epidemiological marking of strains was based on the definition of sero-biovars and genoidentification. Integrated epidemiological surveillance of campylobacteriosis includes epidemiological, epizootiological, environmental, microbiological, serological and molecular-genetic monitoring, as well as the development of effective preventive and antiepidemic measures.

**Key words:** campylobacteriosis, epidemiological surveillance, pathogen ecology, typing, genoidentification.