

УДК 579.843+616.9+477

**ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЗБУДНИКІВ
ВІБРІОЗІВ ЛЮДИНИ, ВИДІЛЕНИХ В УКРАЇНІ**

О. В. ПЕТРЕНКО, науковий співробітник

В. В. АЛЕКСЕЄНКО, доктор медичних наук, професор

ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб

ім. Л. В. Громашевського НАМН України»

E-mail: ElenaDNA0902@gmail.com

***Анотація.** В Україні щорічно виявляють від людей *V. cholerae O1* та *V. cholerae non O1* із різним патогенним потенціалом, які здатні викликати захворювання від гострих кишкових інфекцій (ГКІ) до холери. Вивчення біологічних властивостей штамів *Vibrio cholerae O1* показало мінливість їх ознак, що відмічалось у зниженні чутливості до діагностичних холерних сироваток та фагів і, тим самим, ускладнює їх ідентифікацію та виявлення ознак вірулентності. Вірулентні штами *V. cholerae O1*, в основному, виділяють від людей в період спалаху холери, а в міжспалаховий період відмічають авірулентні варіанти. Серед *V. cholerae non O1* виділяють атипові штами, що здатні аглютинуватись холерними сироватками та лізуватись холерними фагами. У холерних вібріонів різних серогруп спостерігається варіабельність біологічних властивостей за антигенною структурою та фаголізабельністю. Циркуляція в Україні *V. cholerae O1/non O1* із різними біологічними ознаками, потребує постійного моніторингу за зміною їх властивостей із використанням більш інформативних методів досліджень, що необхідно для своєчасного реагування на ускладненні епідситуації в країні.*

***Ключові слова:** *V. cholerae O1*, *V. cholerae non O1*, холерні вібріони, біологічні властивості, аглютинація, фаголізабельність*

Актуальність. Представники роду *Vibrio* є природними мешканцями водного біоценозу і широко поширені в різних клімато-географічних регіонах. Видова різноманітність вібріонів забезпечує їм адаптацію в різних біосистемах, в тому числі і в організмі людини, що проявляється у здатності викликати вібріози людини. Найбільший інтерес прикутий до діареєгенних вібріозів, збудниками яких є *V. cholerae O1* та *V. cholerae non O1*, які викликають холеру та гострі кишкові інфекції (ГКІ) з різними проявами клінічної картини [1, 2].

Розповсюдження збудника холери *V. cholerae O1* у світі створює передумови для заносу його на територію України, як це відбулося останнім

часом у 1991 році в Одеській обл., у 1994 р. в АР Крим, у 1995 р. в Миколаївській обл. та в 2011 р. в м. Маріуполь [3, 4]. Періодичне завезення патогенних варіантів холерних вібріонів та циркуляція місцевих клонів на певній території призвела до «укорінення» *V. cholerae O1* в південних регіонах України, що, в свою чергу, створило небезпеку у виникненні спалаху холери [5]. Також зміни екологічних умов впливають на частоту виділення природних атипичних холерних вібріонів, що потребують вивчення їх біологічних властивостей для встановлення механізмів формування штамів з раніше невиявленими ознаками [6].

Крім того, щорічно в південних регіонах України реєструють гострі кишкові інфекції, збудниками яких є *V. cholerae non O1* [7]. У зв'язку з цим набуває актуальності вивчення та проведення порівняльної характеристики біологічних властивостей збудників вібриозів людини *V. cholerae O1* та *V. cholerae non O1*, які розкривають їх патогенний потенціал та функціональну різноманітність, що забезпечує вчасне реагування на ускладнення епідситуації.

Мета дослідження – вивчити біологічні властивості збудників вібриозів людини *V. cholerae O1* і *V. cholerae non O1*, виділених від людей у різні роки в Україні та провести їх порівняльну характеристику.

Матеріали і методи досліджень. Для досліджень взято 104 штами *V. cholerae O1*, виділених від людей з 1991 до 2012 року в Україні та 100 штамів *V. cholerae non O1*, виділених від людей упродовж 2011 – 2013 рр. Вивчення біологічних властивостей проводили згідно Інструкції з організації та проведення протихолерних заходів, клініки та лабораторної діагностики холери [8]. Статистичну обробку результатів проводили за загальноприйнятими методами варіаційної статистики [9].

Результати дослідження та їх обговорення. Проведені дослідження показали, що збудники вібриозів людини, які були виділені від хворих в Україні, свої морфологічні, культуральні та біохімічні властивості проявляють більш стало, що дає можливість віднести їх до виду *V. cholerae*. Проте за іншими ознаками були виявлені відмінності, які заслуговують на їх

висвітлення.

Важливою ознакою у проведенні ідентифікації холерних вібріонів є здатність аглютинації зі специфічними холерними сироватками, які забезпечують встановлення серогрупи та серовару. Серологічні дослідження показали, що $97,1 \pm 1,6$ % штамів *V. cholerae* O1 давали аглютинацію з O1-сироваткою на слайд-аглютинації, що дає можливість віднести їх до O1-серогрупи, але у діагностичному робочому титрі (ДРТ) аглютинувались лише $84,6 \pm 3,5$ % штамів. За здатністю до аглютинації типоспецифічними сироватками для встановлення серовару визначено, що $88,5 \pm 3,1$ % штамів *V. cholerae* аглютинувались із сироваткою Ogava на слайд-аглютинації, а з Inaba – $38,5 \pm 4,8$ %. Проте, враховуючи результати аглютинації цих штамів у діагностичному робочому титрі, до серовару Ogava віднесено $78,8 \pm 4,0$ % штамів *V. cholerae* O1, а до серовару Inaba – $11,5 \pm 3,1$ % (табл. 1).

1. Результати серологічних та фаголізабельних досліджень штамів *V. cholerae* O1 (%)

Титр сироватки	Діагностичні сироватки				Титр фагів	Біоварофаги		Діагностичні холерні фаги ХДФ-3,4,5		
	O1	Ogava	Inaba	RO		«С»	ельтор	3	4	5
104 штами <i>V. cholerae</i> O1										
Слайд-аглют.	$97,1 \pm 1,6$	$88,5 \pm 3,1$	$38,5 \pm 4,8$	$19,2 \pm 3,9$	Цільний препарат.	$41,3 \pm 4,8$	$77,9 \pm 4,1$	$66,3 \pm 4,6$	$38,5 \pm 4,8$	$84,6 \pm 3,5$
1:1600	$84,6 \pm 3,5$	–	–	$3,8 \pm 1,9$	ДРТ 10^{-2}	$1,9 \pm 1,3$	$57,7 \pm 4,8$	$17,3 \pm 3,7$	$3,8 \pm 1,9$	$51,9 \pm 4,9$
1:400	–	$78,8 \pm 4,0$	$11,5 \pm 3,1$	–						

Примітка: відсутність – «–».

Водночас серед досліджуваних штамів були виділені 2 штами, які аглютинувались типоспецифічними сироватками Ogava й Inaba, що дає можливість віднести їх до серовару Nikoshima, що становить $1,9 \pm 1,3$ %. Відомо, що серологічний тип Огава за своєю антигенною формулою відповідає комбінації АВ-антигенів, тип Інаба – АС-антигенів, а тип Nikoshima поєднує в

собі 3 антигена – АВС, за рахунок чого і проходить аглютинація обома сироватками.

З RO-сироваткою на слайд-аглютинації проявили аглютинабельність $19,2 \pm 3,9$ % штамів, але до R-варіанту віднесені лише $3,8 \pm 1,9$ %, які аглютинувались сироваткою в діагностичному робочому титрі або в половинному діагностичному титрі. Крім того, дослідження показали, що 17 (16,3 %) штамів *V. cholerae*, які проявили аглютинацію з RO-сироваткою аглютинувались у різних варіаціях із діагностичними сироватками – O1, Ogava, Inaba, що вказує на мінливість за антигенною структурою та призводить до ускладнення їх ідентифікації (табл. 2).

2. Результати аглютинації штамів *V. cholerae* O1 з RO-сироваткою

Рік виділення штама	№ штама	Діагностичні сироватки та титр аглютинації			
		O1	RO	Ogava	Inaba
1991	50	1600	200	200	200
1994	11, 12	1600	100	400	–
1994	13	1600	100	800	–
1994	25626	200	400	400	400
1996	29-11	400	100	200	200
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	–
2011	23, 29	1600	100	800	100
2011	26, 32, 33	1600	100	800	–
2012	1573	100	400	–	–

Примітка: відсутність – «–».

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, які дають можливість встановити їх біовар та вірулентність. Зі 104 досліджуваних штамів *V. cholerae* O1 проявили лізабельність цільним препаратом із біоварофагом ельтор $77,9 \pm 4,1$ % штамів, а з фагом «С» – $41,3 \pm 4,8$ %, проте, в діагностично робочому титрі лізувались $57,7 \pm 4,8$ % штамів

фагом ельтор та $1,9 \pm 1,3$ % штамів – фагом «С». Таким чином, результати досліджень показали, що за чутливістю до біоварофагів незавжди є можливість встановити біовар холерних вібріонів, що вказує на низьку діагностичну цінність даного тесту і такі холерні вібріони потребують додаткових методів діагностики.

Інший критерій в ідентифікації холерних вібріонів, який пов'язаний із фагами, є лізабельність вібріонів до холерних діагностичних фагів ХДФ-3, 4, 5, що дає можливість визначити їх патогенний потенціал. Зазвичай, вірулентні холерні вібріони проявляють лізабельність з ХДФ-5, а авірулентні вібріони – з ХДФ-3. Дослідження показали, що $84,6 \pm 3,5$ % штамів *V. cholerae* O1 проявили лізабельність із ХДФ-5 з цільним препаратом, $38,5 \pm 4,8$ % – з ХДФ-4 та $66,3 \pm 4,6$ % – з ХДФ-3, однак, в діагностичному робочому титрі лізувались відповідно з ХДФ-5 – $51,9 \pm 4,9$ %, з ХДФ-4 – $3,8 \pm 1,9$ %, з ХДФ-3 – $17,3 \pm 3,7$ %. Хоча вірулентні варіанти *V. cholerae* O1 і проявляли фаголізабельність із ХДФ-5, але не всі вібріони давали лізабельність в ДРТ. Також слід відмітити, що $15,4 \pm 3,5$ % авірулентних штамів *V. cholerae* O1 лізувались ХДФ-5 на слайд-аглотинації, а $6,7 \pm 2,5$ % у ДРТ, що, тим самим, ускладнювало визначення патогенного потенціалу холерних вібріонів.

Таким чином, результати досліджень показали, що в Україні від людей в значній мірі виділяють холерні вібріони, які відносяться до виду *V. cholerae* O1 серогрупи біовара ельтор і переважає серовар Ogava. Слід відмітити, що з досліджуваних штамів *V. cholerae* O1 66,3% відносились до вірулентних варіантів і були виділені від людей в період спалахів холери, 2,9% штамів теж були вірулентні, але виділені від людей в міжспалаховий період та 30,8% штамів авірулентні і виділені також в міжспалаховий період на холеру.

Крім холерних вібріонів O1 серогрупи від людей із діареями в Україні часто виділяють неаглотинуючі холерні вібріони, тобто, які не аглютинуються O1 холерною сироваткою. Вивчення біологічних властивостей 100 штамів *V. cholerae non O1* показали, що вони відповідні холерним вібріонам O1 серогрупи, але не аглютинувались O1- і RO-сироватками та не проявляли

лізабельність із бактеріофагами ельтор, класичним «С» та діагностичними фагами ХДФ--3, 4, 5. Проте виявлено $12 \pm 3,2$ % штамів *V. cholerae non O1*, які давали аглютинацію з холерними діагностичними сироватками та фагами в різних титрах (табл. 3).

3. Результати серологічних та фаголізабельних досліджень штамів *V. cholerae non O1* (%)

Титр сироватки	Діагностичні сироватки				Титр фагів	Біоварофаги		Діагностичні холерні фаги ХДФ-3,4,5		
	O1	Ogava	Inaba	RO		«С»	ельтор	3	4	5
100 штамів <i>V. cholerae non O1</i>										
Слайд-аглют.	$1,0 \pm 0,9$	–	–	$1,0 \pm 0,9$	Цільний препарат.	–	$6,0 \pm 2,4$	–	$9,0 \pm 2,9$	$12,0 \pm 3,2$
1:1600	–	–	–	–	10^{-1}	–	–	–	$4,0 \pm 1,9$	$3,0 \pm 1,7$
1:400	–	–	–	–	ДРТ 10^{-2}	–	–	–	–	$2,0 \pm 1,4$

Примітка: відсутність – «–».

Так, виявлено 1 ($1 \pm 0,9$ %) штам *V. cholerae non O1*, що аглютинувався O1- 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 O1- і RO-сироватками та проявляти лізабельність із діагностичними холерними фагами є насторожуючим фактором для епідеміологів, оскільки вказує на властивості холерного вібріона O1 серогрупи. Також виявлено $6 \pm 2,4$ % штамів, які лізувались біоварофагом ельтор цільним препаратом, а один штам ($1 \pm 0,9$ %) лізувався у ДРТ. Слід відмітити, що всі 12 % атипових штамів *V. cholerae non O1* лізувались фагом ХДФ-5 цільним препаратом, $3 \pm 1,7$ % – в розведенні 10^{-1} і $2 \pm 1,4$ % – у ДРТ. Виявлено $9 \pm 2,9$ % штамів, які лізувались цільним препаратом з ХДФ-4 та $4 \pm 1,9$ % з них проявили лізабельність у розведенні 10^{-1} .

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 структурні зміни в поверхневих антигенах і вони частково втрачають аглютинабельність холерними сироватками [10]. Наявність аглютинації у *V. cholerae non O1* із діагностичними холерними сироватками вказує на перехідні форми *V. cholerae O1* у *V. cholerae non O1*, у якого залишилися на поверхні клітини змінені антигени. Виявлення *V. cholerae non O1*, які здатні аглютинуватись холерними сироватками та проявляти лізис із бактеріофагами є фактом пристосування до певних умов існування холерних вібріонів O1 серогрупи. Крім того, наявність у холерних вібріонів мінливості фенотипових ознак створює передумови для природного відбору клонів із новими біологічними властивостями, які в той же час ускладнюють їх лабораторну діагностику.

Отже, підсумовуючи результати досліджень, слід відмітити, що в Україні діареєгенними збудниками вібріозів людини виступають *V. cholerae O1* та *V. cholerae non O1* із фенотиповими ознаками, які відповідають таксономічним критеріям роду *Vibrio*. Однак виявляються *V. cholerae O1/non O1* із різною варіабельністю біологічних властивостей, які потребують для своєї ідентифікації більш сучасних методів досліджень, що необхідно для вчасного реагування на ускладнення епідситуації.

Висновки. В Україні від людей виділяють *V. cholerae O1* та *V. cholerae non O1*, які несуть різний патогенний потенціал і здатні викликати як гострі кишкові інфекції, так і холеру. Спостерігається мінливість біологічних властивостей холерних вібріонів різних серогруп, яка проявляється у варіабельності в антигенній структурі та лізабельності з діагностичними холерними фагами. Наявність ознак мінливості холерних вібріонів вказує на те, що у вібріонів проходить постійна адаптація біологічних властивостей під зміни навколишнього середовища з пошуком оптимальних для свого існування.

Перспективи подальших досліджень. Для більш поглибленого вивчення біологічних властивостей вібріонів, в подальшому планується дослідити апитові штами холерних вібріонів на біологічних моделях та дослідити їх властивості на молекулярно-генетичному рівні.

Список літератури

1. Kaper J.B. Cholera / J.B. Kaper, J.G. Morris, M.M. Levin // Clin. Microbiol. Rev. – 1995. – Vol. 8, N 1. – P. 48-89.
2. Morris J .G. Jr. Non-O group 1 Vibrio cholerae: a look at the epidemiology of an occasional pathogen / Jr. J.G. Morris // Epidemiol Rev. – 1990. – Vol. 12. – P. 179-191.
3. Алексеенко В. В. Холера в Украине (история и современность) / В. В. Алексеенко. – Кировоград: Центр. – Укр.изд-во, 2007. – 171 с.
4. Хайтович О. Б. Спалах холери у місті Маріуполь у 2011 році / О. Б. Хайтович, М. К. Шварсалон, О. Л. Павленко [та ін.] // Інфекційні хвороби. –2011. – № 3 (65). – С. 10-14.
5. Біологічні властивості холерних вібрионів, виділених на території України у 2013 році / Інформаційно-аналітичне повідомлення ДЗ "Українська протичумна станція МОЗ України". – Сімферополь. – 2014. – 17 с.
6. Смирнова Н. И. Атипичные штаммы холерного вибриона Эль-Тор, выделенные от людей / Н. И. Смирнова, В. В. Кутырев, Е. А. Костромитина, Л. В. Топорков // Эпидем. и инфекц. болезни. – 2005. – № 5. – С. 15-20.
7. Падченко А. Г. Эпидемиология вибриозов и особенности циркуляции вибриофлоры на территории Украинской ССР: дис. ... канд. мед. наук : 14.00.30 / Падченко Анатолий Григоревич. – К., 1986. – 189 с.
8. Інструкція по організації та проведення протихолерних заходів, клініці та лабораторній діагностиці холери / МОЗ України № 167. – Офіц. вид. – К.: Полімед, 1997. – 123 с. – (Нормативний документ МОЗ України).
9. Стрелков Р. Б. Статистические таблицы для экспресс-обработки экспериментального и клинического материала: Методические рекомендации. – Обнинск, 1980. – 19 с.
10. Актуальные проблемы холеры / Под ред. В. И. Покровского и Г. Г. Онищенко. – М.: ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ, 2000. – 384 с.

Reference

1. Kaper, J. B., Morris, J. G., Levin, M. M. (1995). Cholera. Clin. Microbiol. Rev. 8(1), 48-89.
2. Morris, J .G. Jr. (1990). Non-O group 1 Vibrio cholerae: a look at the epidemiology of an occasional pathogen. Epidemiol Rev, 12, 179-191.
3. Alekseenko, V. V. (2007). Holera v Ukraine (istoriya i sovremennost) [Cholera in Ukraine (history and modern day)]. Tsentr. Ukr. izd-vo, 171.
4. Khaitovych, O. B., Shvarselon, M. K., Pavlenko, O. L., Zinich, O. L., Ilichov, Yu. O., Denisenko, V. I., Gusakov, G. M., Antonova, L. P. (2011). Spalakh kholery u misti Mariupol u 2011 rotsi [Cholera outbreak in Mariupol in 2011]. Infektsiini khvoroby, 3(65), 10-14.
5. Biologichni vlastyvosti kholernykh vibrioniv, vydilenykh na teritorii Ukrainy u 2013 rotsi [Biological properties of Vibrio cholerae isolated in Ukraine in 2013] (2014). Informatsiino-analitychne povidomlennia DZ "Ukrainska protychumna stantsiia MOZ Ukrainu". Simferopol, 17.

6. Smirnova, N. I., Kuttyrev V. V., Kostromitina, E. A., Toporkov L. V. (2005). Atipichnyie shtammyi holernogo vibriona El-Tor, vyidelennyie ot lyudey [Atypical El Tor strains of *Vibrio cholerae* isolated from people]. *Epidem. i infekts. Bolezni*. 5, 15-20.

7. Padchenko A. G., (1986). *Epidemiologiya vibriozov i osobennosti cirkulyacii vibrioflory na territorii Ukrainskoj SSR* [Epidemiology of vibrioses and patterns of vibrioflora circulation in USSR territory]. Kiev, 189.

8. Instryktsiia po organizatsii ta provedennia protukholernykh zakhodiv, klinitsi ta laboratornii diagnostytsi kholery [Guide to organization and implementation of anti-cholera measures, clinical and laboratory diagnostics of cholera] (1997). Normatyvnyi dokument MOZ Ukrainy. K. Polimed, 123.

9. Strelkov R.B. (1980). *Statisticheskie tablicy dlya ehkspress-obrabotki ehksperimental'nogo i klinicheskogo materiala* [Statistical tables for express-analysis of experimental and clinical materials]. Metodicheskie rekomendacii. Obynsk, 19.

10. Pokrovskiy V. I., Onishchenko G.G. (2000). Aktual'nye problemy holery [Current cholera issues]. Moskva: GOU VUNMC MZ RF, 384.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ВИБРИОЗОВ ЧЕЛОВЕКА, ВЫДИЛЕННЫХ В УКРАИНЕ

Е. В. Петренко, В. В. Алексеенко

Аннотация. В Украине ежегодно выявляют от людей *V. cholerae* O1 и *V. cholerae* non O1 с различным патогенным потенциалом, которые способны вызвать заболевания от острых кишечных инфекций (ОКИ) до холеры. Изучение биологических свойств штаммов *Vibrio cholerae* O1 показало изменчивость их признаков, что отмечалось в снижении чувствительности к диагностическим холерным сывороткам и фагов, и тем самым затрудняет их идентификацию и выявления признаков вирулентности. Вирулентные штаммы *V. cholerae* O1, в основном, выделяют от людей в период вспышки холеры, а в вне вспышечный период отмечают авирулентные варианты. Среди *V. cholerae* non O1 выделяют атипичные штаммы, способные агглютинироваться холерными сыворотками и лизироваться холерными фагами. В холерных вибрионах различных серогрупп наблюдается вариабельность биологических свойств по антигенной структуре и фаголизабельности. Циркуляция в Украине *V. cholerae* O1 / non O1 с различными биологическими признаками, требует постоянного мониторинга за изменением их свойств с использованием более информативных методов исследований, что необходимо для своевременного реагирования на усложнении эпидситуации в стране.

Ключевые слова: *V. cholerae* O1, *V. cholerae* non O1, холерные вибрионы, биологические свойства, агглютинация, фаголизабельность

COMPARATIVE ANALYSIS OF PATHOGENS OF VIBRIOSES ISOLATED IN UKRAINE

O. V. Petrenko, V. V. Alekseenko

***Abstract.** Strains of *V.cholerae* O1 and *V.cholerae* non O1 with various pathogenic potential for diseases from acute enteric infections (AEI) to cholera are isolated from people in Ukraine every year. Studies of biological properties of *Vibrio cholerae* O1 strains showed variability in their characteristics manifested in loss of sensitivity to diagnostic cholera antisera and phages, which complicates identification and finding virulence determinants. Virulent strains of *V.cholerae* O1 are mainly isolated from people during cholera outbreaks, while avirulent variants are found in periods between outbreaks. There are atypical strains of *V.cholerae* non O1 which can agglutinate with cholera antisera and lysed **by** cholera phages. There is biological variability in antigenic structure and lysability by phages. Circulation of *V.cholerae* O1/non O1 with different biological properties in Ukraine needs to be constantly monitored for changes in their properties using more informative study methods to ensure prompt response in case of the escalation of epidemiological situation in the country.*

***Keywords:** *V.cholerae* O1, *V.cholerae* non O1, *Vibrio cholerae*, biological properties, agglutination, lysability by phages*