

УДК 577.343:[579.871.1+579.841]:579.22
**БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ЦИРКУЛЮЮЧИХ І
МУЗЕЙНИХ ШТАМІВ ЗБУДНИКІВ ДИФТЕРІЇ ТА
КАШЛЮКУ**

Калініченко С.В.¹, Колоколова О.Б.², Рижкова Т.А.¹,
Большакова Г.М.², Калініченко О.О.¹,
Соломка О.О.¹, Пульнева О.М.³, Піддубна Т.Л.⁴,
Кадрова А.Г.⁵, Соколов А.В.¹, Касьяненко Т.М.¹,
Котеньова Т.О.¹

- 1 - ДУ «ІМІ ім. І.І.Мечникова АМНУ», м Харків
- 2 - Харківська медична академія післядипломної освіти
- 3 - Обласна СЕС, м. Харків
- 4 - СЕС Київського району, м. Харків
- 5 - Міська СЕС, м. Харків

Захворюваність на дифтерію та кашлюк відноситься до першочергових проблем епідеміології та інфектології. Незважаючи на проведення широкомасштабної планової імунізації проти вказаних інфекцій в Україні та багатьох країнах світу, перспектива повної ліквідації, як кашлюку так і дифтерійної інфекції, на сьогодні залишається нездійсненою. Ефективний контроль і управління епідемічним процесом можливі лише при здійсненні дієвого епідеміологічного нагляду, якій передбачає встановлення етіологічного значення збудника, його мінливості, здатності існувати в персистентній та інфекційно-активній формі, що дає можливість встановити циклічність, періодичність, сезонність активації епідемічного процесу [1-3].

В Україні інтенсивний ріст захворюваності на дифтерію спостерігався в 1991-1995 рр. (максимальні показники захворюваності склали 10,1 на 100 тис. населення). Поряд з ростом захворюваності, в Україні збільшувалось і число бактерієносіїв токсигенних і нетоксигенних штамів збудника. У 1995-97 рр. число носіїв збудника дифтерії в деяких областях досягало 29,3 на 100 тис. населення, при цьому, найвищі показники відзначалися серед дітей шкільного віку, а до кінця 90-х років число бактерієносіїв збільшилось також серед дорослих і підлітків [4-7].

Впродовж 2000-2006 рр. середній рівень захворюваності на дифтерію зменшився у 5 разів (з 0,74 до 0,14 на 100 тис. населення), токсигенного носійства – в 6 разів (з 0,80 до 0,16 на 100 тис.). Рівень нетоксигенного носійства був значно вищим порівняно з поширеністю токсигенного збудника дифтерії: у 2000 р. він становив 5,05 на 100 тис. населення і знизився за останні 7 років удвічі – до 2,46 на 100 тис. Однак, окремі області України значно відрізняються за рівнем циркуляції нетоксигенних збудників дифтерії. Наприклад, у 2000 р. в Чернігівській області не було виділено жодного нетоксигенного штаму коринібактерій дифтерії, а Харківська область та м. Київ відрізнялись високим рівнем нетоксигенного носійства (11,22 та 10,99 на 100 тис населення відповідно). Збереження епідемічного потенціалу дифтерійної інфекції досі відбувається за рахунок поширеного носійства нетоксигенних форм збудника, які забезпечують стабільність виду *Corynebacterium diphtheriae* в екологічному балансі особливо серед дитячого населення, при цьому най-

більш ураженою групою є діти 7-14 років [8]. На думку О.В. Бухаріна, Ж.І. Возіанової, Ю.Л. Волянського неможливо нехтувати роллю бактерієносіїв в поширенні інфекції [9-14].

Рівень захворюваності на кашлюк в нашій країні в останні десятиріччя коливається від 2,3 до 13,3 на 100 тис. населення, крім того, щорічно спостерігається від 1 до 5 летальних випадків причиною яких визнають кашлюкову інфекцію. Відомо, що кашлюкова інфекція характеризується насамперед високим рівнем захворюваності дітей молодшого віку, а також тяжким клінічним перебігом хвороби у цій віковій групі. В Україні середньорічний показник захворюваності за останні 5 років у віковій групі дітей від 0 до 2 років становив 64,7 на 100 тис. населення цього контингенту та був у 2,8 рази вищим, ніж показник захворюваності серед дітей віком 3-6 років, у 7,6 рази — ніж дітей 7-14 років, у 18,5 рази — ніж всього населення. За даними різних дослідників, від 13 до 20% випадків затяжного кашлю пов'язані саме з інфікуванням *Bordetella pertussis* [15-17].

Можливість ураження кашлюком зумовлена не тільки легким механізмом передачі та відсутністю імунітету у не щеплених осіб, але й наявністю значної кількості невиявлених джерел інфекції, що існують у вигляді випадків легких і стертих форм хвороби та безсимптомного носійства збудника інфекції серед населення більш старших вікових груп [15-17].

Реалізація епідемічного процесу інфекції на тлі вакцинопрофілактики відбувається переважно у вигляді бактерієносійства, рівень якого може суттєво змінюватись [18-25]. Відомо, що бактерієносійство є формою інфекційного процесу, перебіг якого визначається характером взаємовідносин макро- і мікроорганізму, та залежить як від патогенності бактеріального агента, так і від захисних сил організму [2, 18-20]. Тому, слід прийняти до уваги, що активізація епідемічного процесу кашлюкової та дифтерійної інфекцій може бути обумовлена не тільки зниженням напруженості колективного імунітету, а в значній мірі й адаптаційною мінливістю збудників вищезазначених хвороб, що, вочевидь пов'язано, з процесами циркуляції патогенів серед вакцинованого населення [22, 23].

Різна інтенсивність циркуляції штамів збудників пов'язана з періодичними формуваннями епідемічно значущих, тобто більш вірулентних та пристосованих до колонізації епітелію популяції збудника [25, 26].

Передача патогенів від інфікованих до здорових осіб у значній мірі обумовлена здатністю бактерій проникати через природні бар'єри та протидіяти специфічним факторам захисту організму людини [24-31]. Ключовим механізмом заселення є адгезія бактерій, у той час як інвазію мікробів у міжклітинні прошарки обумовлюють, насамперед, гіалуронідаза і нейрамінідаза, а також антикомплементарні властивості бактерій [18, 27, 30-33].

Ступінь активності прояву вказаних ознак обумовлює в значній мірі епідемічну значущість циркулюючих штамів [33]. Складові патогенетичної дії багатьох збудників інфекцій ще недостатньо вивчені, це вимагає подальших досліджень у даному напрямку.

Метою нашої роботи стало вивчення найбільш значущих з епідеміологічної точки зору біологічних властивостей циркулюючих та музейних штамів родів *Corynebacterium* та *Bordetella*.

Матеріали та методи

Об'єктом дослідження були дев'яносто вісім циркулюючих та чотирнадцять музейних штамів токсиноутворюючих коринебактерій: *Corynebacterium diphtheriae gravis* токсигенний (*C.d.gravis tox+*) - шістьдесят штамів, *Corynebacterium diphtheriae mitis* токсигенний (*C.d.mitis tox+*) – тридцять шість штамів, *Corynebacterium diphtheriae belfanti* токсигенний (*C.d.belfanti tox+*) – одинадцять штамів, *Corynebacterium ulcerans* токсигенний (*C.ulcerans tox+*) – п'ять штамів; одержаних із бактеріологічних лабораторій СЕС м. Харкова, а також музейні та вилучені від хворих та здорових носіїв у період 2000-2003 рр. (м. Харків) штами мікробів *Bordetella pertussis*: п'ять штамів, виділених від хворих на кашлюк дітей та дітей, що були у контакті з хворими, та три музейні штами *B.pertussis*, що зберігалися у ліофільному стані в музеї Інституту.

Виділення коринебактерій проводили у відповідності з Наказом №192 від 03.08.1999 р. МОЗ України. Ідентифікацію здійснювали за допомогою мікротест-систем ММТ D (PLIVA-Lachema a.s., Чехія).

Виділення та ідентифікацію бордетел проводили згідно наказу МОЗ України від 15.04.2005 № 169.

Приготування суспензій мікроорганізмів із визначеною концентрацією мікробних клітин проводили за допомогою електронного приладу Densi-La-Meter (PLIVA-Lachema a.s., Чехія) по шкалі McFarland згідно з інструкцією до приладу та інформаційним листом про нововведення в системі охорони здоров'я №163-2006 "Стандартизація приготування мікробних суспензій", м. Київ. Синхронізацію культур проводили за допомогою дії низької температури [34].

Дослідження адгезивних властивостей об'єктів проводили за методикою вивчення адгезивного процесу у мікроорганізмів [35]. При оцінці адгезивних властивостей мікробів використовували такі критерії: середній показник адгезії (СПА), коефіцієнт адгезії (КА) та індекс адгезивності мікроорганізмів (ІАМ). Щодо критеріїв оцінки адгезивних властивостей, то мікроорганізм вважали неадгезивним при ІАМ $\leq 1,75$; низькоадгезивним від 1,76 до 2,5; середньоадгезивним - від 2,51 до 4,0; та високоадгезивним при ІАМ більш ніж 4,0 [36, 37].

Гіалуронідазну активність виявляли за схемою McClean у модифікації Кур'яти Н.В., 2005 [37]. В якості субстрату використовували комерційний препарат гіалуронової кислоти (OXOID Ld, England) та визначали її робочу дозу [38, 39].

Нейрамінідазну активність вивчали за допомогою комерційних тест-систем NEIRAMINOtest (API bioMerieux, France). При визначенні ступеню активності даного ензиму користувалися шкалою, згідно якої активність ферменту оцінювалась як низька при показниках в межах 0–2,0 ммоль/мл, середня – 2,1-8,9

ммоль/мл, висока – 9,0-16,0 ммоль/мл, дуже висока – 16,1 ммоль/мл і вище [40].

Антикомплементарну активність штамів коринебактерій визначали за допомогою фотометричного методу [36, 41, 42]. В якості джерела комплекменту використовували ліофілізовану сироватку морської свинки (виробництва ВАР "Біолек", м. Харків). АКА виражали в анти-СН₅₀ одиницях.

Визначення чутливості виділених культур бактерій до антибіотиків проводили за загальноприйнятим методом Kirby-Bauer з використанням готових комерційних паперових дисків, імпрегнованих антибіотиками (НДЦФ, м. Санкт-Петербург, Росія) на середовищі Мюллера-Хінтона з додаванням 10% сироватки великої рогатої худоби (для коринебактерій) та на казеїново-вугільному агарі (КВА) – для мікробів кашлюка. Результати дослідження інтерпретували у відповідності з методичними вказівками „Антибіотикограма: диско – дифузійний метод. Інтерпретація результатів” (Москва, 1999), а також відповідно до рекомендацій NCCLS від 1991р. і наказу МОЗ України № 167 [43]. Зменшення або зростання діаметру зони затримки росту штамів в порівнянні з контролем у межах 5-15% розцінювали як недостовірне ($p > 0,05$).

Статистична обробка даних здійснювалась у відповідності з правилами рядової і альтернативної варіаційної статистики як викладено у посібниках [44-47]. Достовірність розбіжностей визначали за допомогою критерія *t* – Стьюдента, з обчисленням середньої величини *M*, середньоквадратичного відхилення *S*, середньої похибки величини *m*, значення достовірності *p*. Для аналізу одержаного матеріалу проводилось його групування за атрибутивними та варіаційними ознаками. У результаті зведення матеріалу при підрахунках одиниць спостережень були отримані абсолютні числа, які виражали описові і кількісні ознаки.

Для аналізу якісних ознак, що, в основному, були виражені у відсотках, застосовували непараметричні методи статистики [44-47].

Результати обробляли за допомогою персонального комп'ютера із застосуванням комп'ютерних програм Statistika-6, Microsoft Office Excel 2003.

Результати та їх обговорення

Здатність бактерій до адгезії є одним з факторів, що забезпечують персистенцію мікроорганізмів в біологічних нішах хазяїна [31]. Адгезія не є суто механічною взаємодією з клітинами макроорганізму. Безпосередня взаємодія адгезинів з рецепторами клітин еукариот призводить до активації систем, які передають сигнали в середину клітин макроорганізму.

Дослідження адгезивних властивостей штамів коринебактерій показало, що циркулюючі культури проявляли високу здатність взаємодіяти з клітинами крові людини, тоді як музейні штами виявилися в цьому відношенні менш активними та володіли переважно середньоадгезивними властивостями (рис. 1).

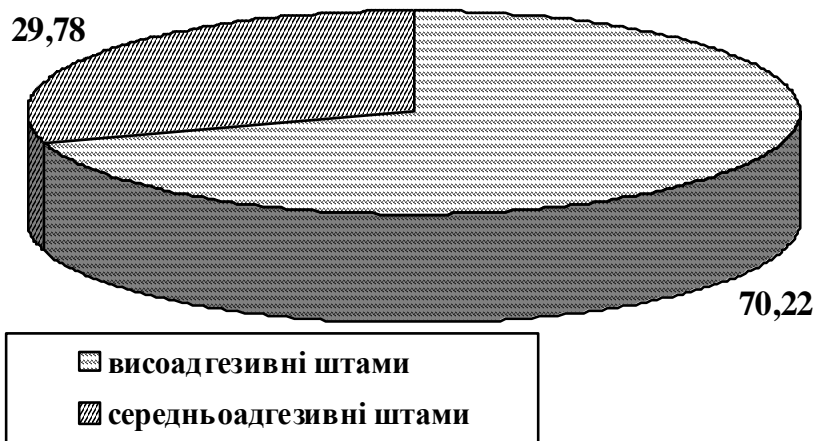


Рис. 1 - Розподіл штамів за активністю показників адгезії, (частка штамів, %)

Штами музейних культур в середньому мали СПА (2,69±0,16), КА (74,3±0,78)% і ІАМ (3,41±0,17). Причому найнижчі критерії за СПА й ІАМ були харак-

териними для штамів *C.d.mitis tox+*, а за КА – для *C.ulcerans tox+* (табл. 1).

Таблиця 1 - Показники адгезії музейних штамів коринебактерій

Назва штаму	Показники адгезії (M±m)		
	СПА	КА (%)	ІАМ
<i>C.d.gravis tox+</i>	(2,98±0,14)	(78,2±0,87)	(3,81±0,16)
<i>C.d.mitis tox+</i>	(2,54±0,16)	(74,8±0,68)	(3,39±0,17)
<i>C.d.belfanti tox+</i>	(2,58±0,14)	(75,4±0,72)	(3,42±0,16)
<i>C.ulcerans tox+</i>	(2,66±0,18)	(68,8±0,88)	(3,86±0,18)

культури циркулюючих коринебактерій володіли більш вираженою адгезивною активністю порівняно з музейними штамами. Показник СПА для вказаних

штамів у середньому складав (4,51±0,16), КА – (85,37±0,88)% ІАМ (5,27±0,15) (табл. 2).

Таблиця 2 - Показники адгезії циркулюючих штамів коринебактерій

Назва штаму	Показники адгезії (M±m)		
	СПА	КА (%)	ІАМ
<i>C.d.gravis tox+</i>	(4,64±0,15)	(85,6±0,81)	(5,42±0,18)
<i>C.d.mitis tox+</i>	(4,34±0,18)	(85,2±0,92)	(5,09±0,12)
<i>C.d.belfanti tox+</i>	(4,26±0,12)	(84,8±0,83)	(5,02±0,18)
<i>C.ulcerans tox+</i>	(4,78±0,18)	(85,9±0,94)	(5,56±0,13)

Незважаючи на розбіжності в адгезивній активності музейних та циркулюючих штамми, всі досліджені культури коринебактерій мали досить велику здатність до адгезії.

Показники адгезивної активності збудників кашлюкової інфекції були вищими у порівнянні з цими

ж показниками у дифтерійних мікробів. Так, середні величини СПА й ІАМ, визначені у штамів *B.pertussis* перевищували такі ж у коринебактерій в 2 рази (рис. 2.).

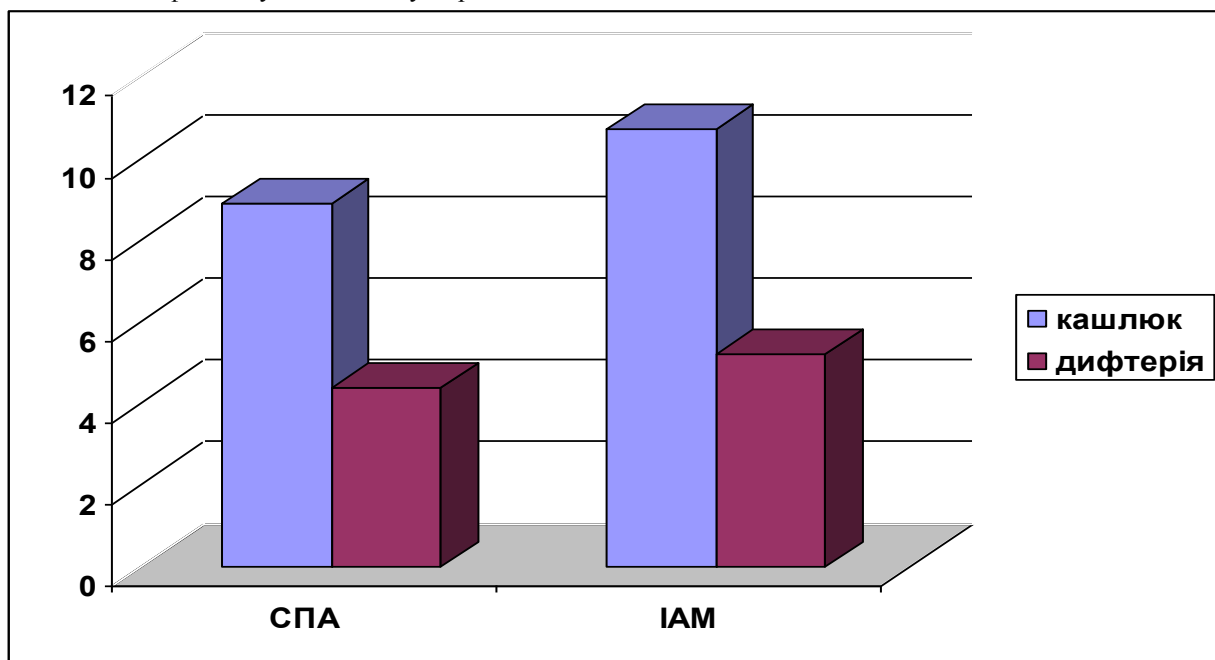


Рис. 2. Середній показник адгезії (СПА) та індекс адгезивності мікроорганізмів (ІАМ) у збудників кашлюку та дифтерії.

При цьому КА контрольних штамів збудників дифтерії та кашлюку майже не відрізнялись (рис. 3).

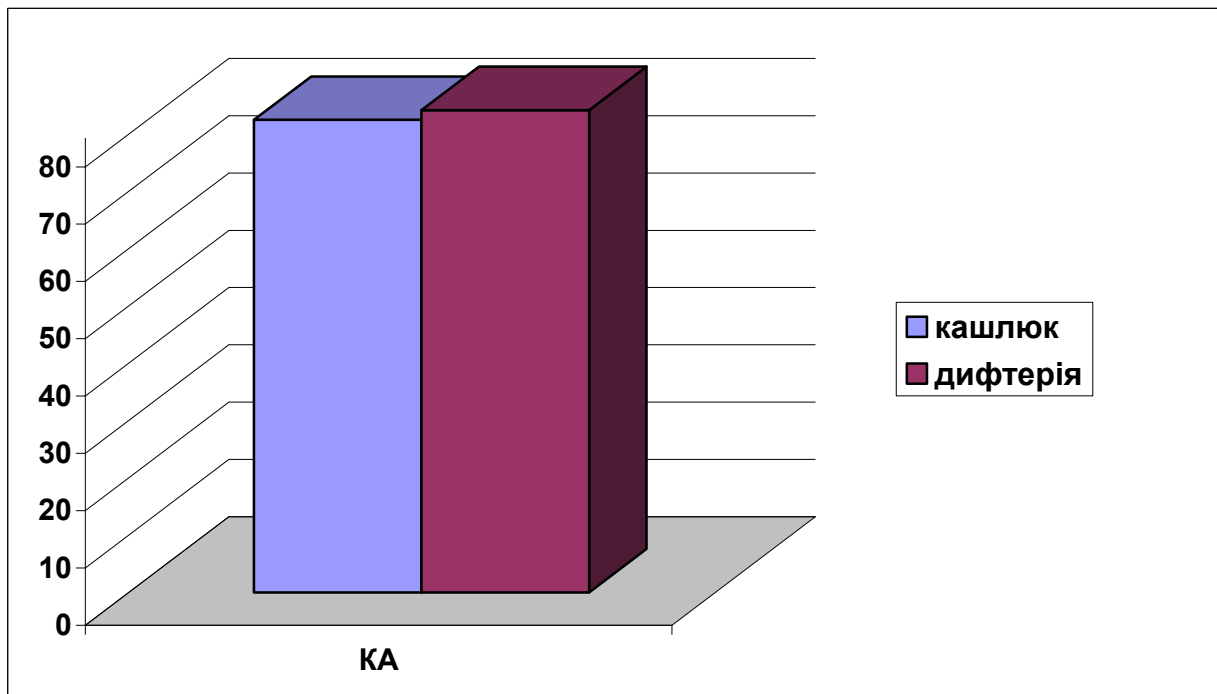


Рис. 3. Коефіцієнт участі еритроцитів в адгезивному процесі (КА) бордетел і коринебактерій

Відомо, що стійка адгезія і колонізація можливі тільки тоді, коли мікроби можуть по-перше, протистояти біоцидним та біостатичним факторам, одним з яких є комплемент, а, по-друге, продукувати ферменти, на-

самперед, гіалуронідазу та нейрамінідазу, що сприяють активній інвазії патогенів. [14, 18-20, 27, 30].

У результаті проведених досліджень встановлено, що всі циркулюючі штамми коринебактерій володіли антикомплементажною активністю. Найнижчу антикомплементарну активність мали штамми *C.ulcerans*

tox+, тоді як у штамів *C.d.gravis tox+* зазначена активність була в 1,1-1,4 рази вищою, ніж у інших штамів

досліджених коринебактерій (рис. 4).

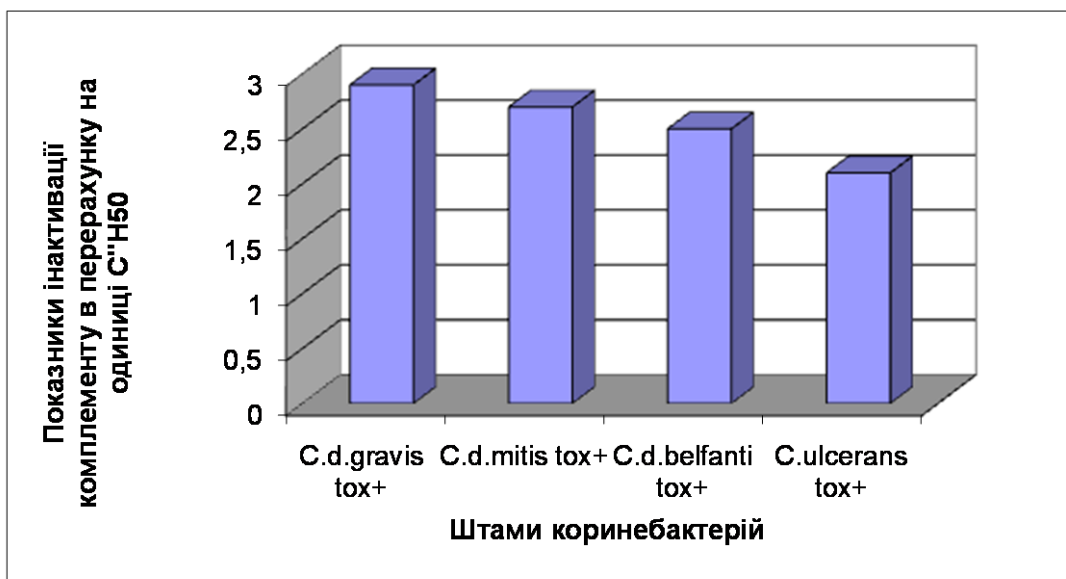


Рис. 4. Антикомплементарна активність штамів токсиноутворюючих коринебактерій.

Експериментально визначено, що всі досліджені штамів токсиноутворюючих коринебактерій продукували фермент нейрамінідазу, але з різним ступенем

активності. Причому всі музейні штамів мали низьку активність цього ферменту, а циркулюючі культури – від середньої до дуже високої, залежно від біоваріанту (рис 5).

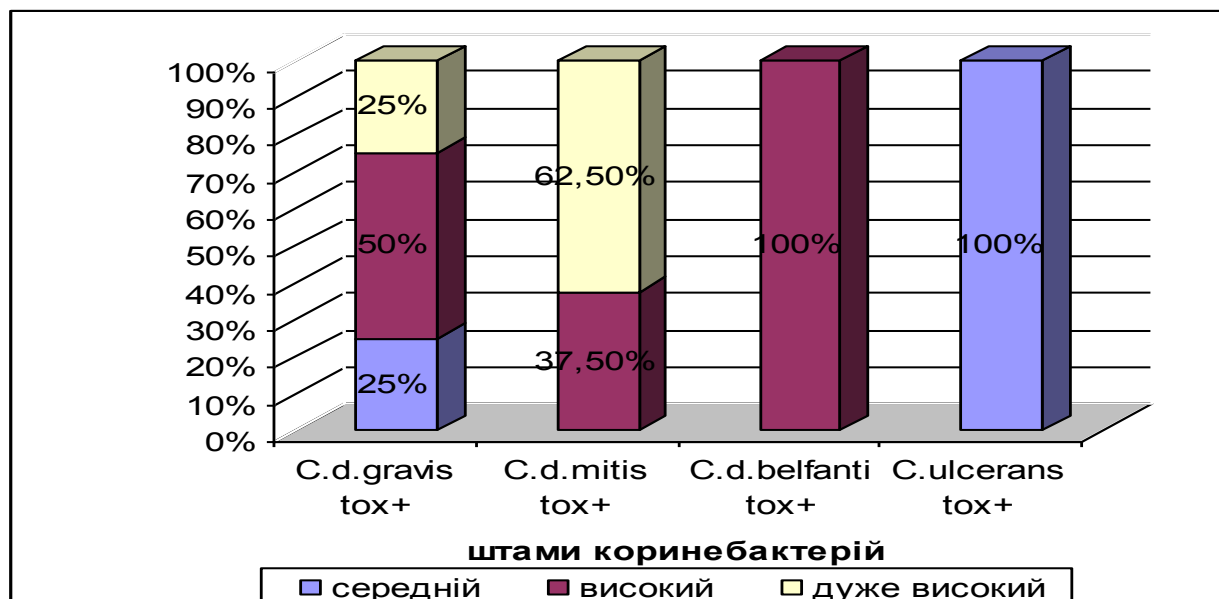


Рис. 5. Розподіл циркулюючих штамів за ступенем активності нейрамінідази, (частка штамів, %).

При вивченні гіалуронідазної активності було встановлено, що найбільш високу активність проявляли циркулюючі штамів *C.d.gravis tox+* - 0,47-0,49 ум. од. У штамів *C.d.mitis tox+* і *C.d.belfanti tox+* гіалуронідазна активність складала 0,3-0,33 ум. од. та 0,24-0,27 ум. од.

відповідно. Найнижчою гіалуронідазною активністю володіли штамів *C.ulcerans tox+* - 0,16-0,19 ум. од. Таким чином визначено, що активність циркулюючих штамів *C.d.gravis tox+* була в 1,5-2,7 разів вищою у порівнянні з іншими біоваріантами токсиноутворюючих коринебактерій (рис. 6).

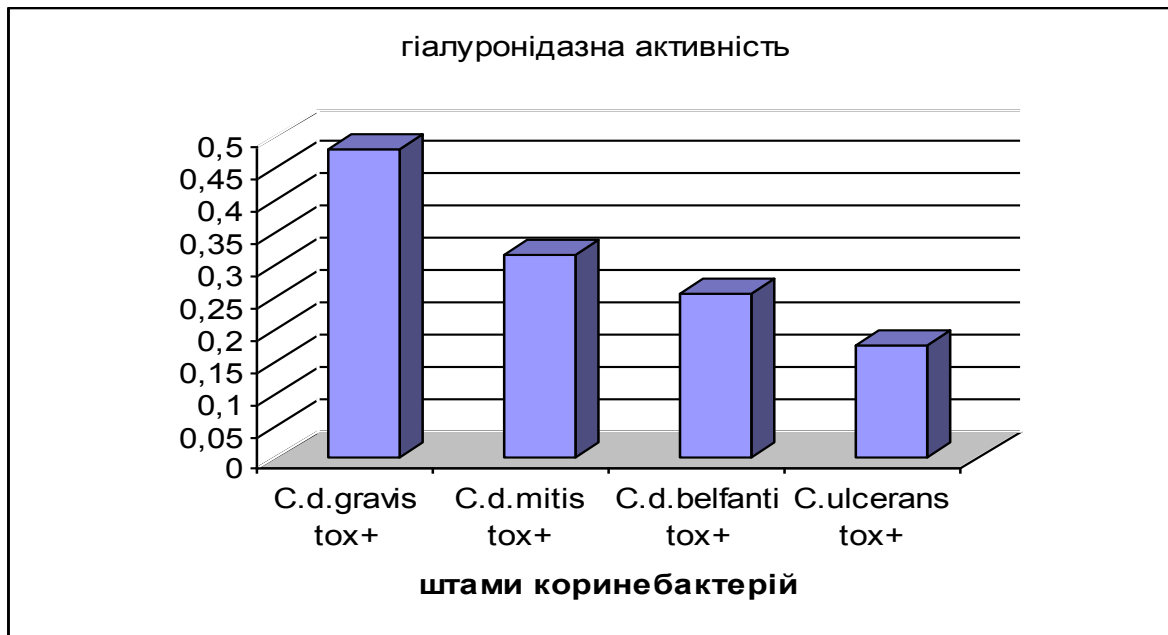


Рис. 6. Гіалуронідазна активність циркулюючих штамів токсинотворюючих коринебактерій.

Наявність серед циркулюючих збудників інфекційних захворювань штамів стійких до антибактеріальних препаратів є наслідком важливих еволюційних процесів, які постійно протікають серед прокариот. Відомо, що антибіотики впливають на адгезивну активність мікроорганізмів, і, таким чином, пригнічують процес колонізації та розвиток інфекції. Соціальне та економічне значення феномену резистентності визначається в зниженні ефективності санації бактеріоносіїв, збільшенню строків госпіталізації хворих та необхідністю постійної розробки нових протимікробних засобів. Незважаючи на значні успіхи, досягнуті в галузі розробки нових антибактеріальних препаратів, поява штамів, резистентних до антибіотиків, є звичайним явищем [27, 30]. Тому визначення чутливості до протимікробних засобів, як циркулюючих штамів, так і у порівнянні з музейними культурами, є вельми важливим епідеміологічним аспектом.

Штами коринебактерій, що вивчались, мали неоднакову чутливість до всіх взятих у досліді протимікробних препаратів (амоксоцилін, цефазолін, цефотаксим, цефепім, іміпенем, ванкоміцин, гентаміцин, доксіциклін, еритроміцин). Циркулюючі коринебактерії, в основному, були чутливими до всіх протимікробних засобів, крім цефотаксиму (з 52 штамів коринебактерій - 47 були резистентними до дії цього антибіотика). Усі ж музейні штам коринебактерій, порівняно з циркулюючими, були стійко нечутливими до більшості антибактеріальних засобів (цефотаксим, цефепім, іміпенем, ванкоміцин, гентаміцин, доксіциклін, еритроміцин).

Вивчення спектру антибіотикочутливості штамів *B.pertussis* показало, що діаметри зон затримки росту становили (12,0±1,1) мм – для цефалексину, (15,0±1,3) мм – для цефтріаксону, (10,0±0,9) мм – для цефотаксиму та (29,0±1,6) мм – для еритроміцину. Досліджені штам *B.pertussis* були резистентні до антибіотиків пеніцилінового ряду (бензілпеніциліну та ампіциліну) та високочутливі до фторхінолонів, таких, як норфлуксацин, ципробай, занокцин (діаметр зон затримки

росту становив, в середньому, (20,0±1,7) мм, (23,0±1,9) мм та (18,0±1,1) мм відповідно).

Таким чином, існування ендемічних штамів збудників дифтерії та кашлюку зумовлює необхідність здійснення постійного регіонального моніторингу за популяцією даних збудників, оскільки спостереження за рівнем циркуляції штамів родів *Corynebacterium* та *Bordetella* з епідеміологічно значущими властивостями серед населення є важливою складовою епідеміологічного нагляду за дифтерійною та кашлюковою інфекціями, яке повинно здійснюватись незалежно від напруженості епідемічного процесу.

Висновки

1. Визначено, що досліджені штам коринебактерій та бордетел володіли здатністю взаємодіяти з поверхнею еукаріотичних клітин. При цьому показники адгезивної активності збудників кашлюкової інфекції були в два рази вищими за відповідні показники у дифтерійних мікробів.
2. Аналіз адгезивних властивостей штамів коринебактерій указує, що циркулюючі культури володіли переважно високою, а музейні – середньою адгезивною активністю.
3. Усім дослідженим штамам коринебактерій притаманна здатність до інактивації комплексу, продукції нейрамінідази та гіалуронідази.
4. Найбільш високу антикомплементарну та гіалуронідазну активність проявляли циркулюючі штам *C.d.gravis tox+*.
5. Дуже високій ступінь активності нейрамінідази мали 62,5% циркулюючих штамів *C.d.mitidis tox+* та 25% - *C.d.gravis tox+*.
6. Встановлено, що музейні штам збудників дифтерії були резистентними до більшості досліджених антибактеріальних засобів (цефотаксим, цефепім, іміпенем, ванкоміцин, гентаміцин, доксіциклін, еритроміцин), тоді як циркулюючі коринебактерії, в переважній більшості випадків, були чутливими до всіх протимікробних засобів, за виключенням цефотаксиму.

7. За результатами проведених досліджень штами *B.pertussis* виявилися резистентними до антибіотиків пеніцилінового ряду (бензілпеніциліну та ампіциліну) та високочутливими до фторхінолонів, таких, як норфлоксацин, ципробай і занонин.

Список літератури

1. Марков, В. В. Борьба с дифтерией в странах бывшего СССР [Текст] / В. В. Марков // Журн. эпидем. – 2000. – № 1. – С. 21-28. – ISSN 0372-9311.
2. Riegel, P. *Corynebacterium* sp. nov. from human clinical specimens [Text] / P. Riegel, R. Heller, G. Prevost // Clin. Microbiol. Rev. – 2005. – V. 7. – P. – 1107 – 1111. – ISSN 0893-8512.
3. Романенко, Т. А. Вплив серотипового пейзажу збудника кашлюку на епідемічний процес кашлюкової інфекції [Текст] / Т. А. Романенко // Інфекційні хвороби. – 2010. - №3 (61). – С.16-20. – ISSN 1681-2727.
4. Беляева, Н. В. О носительстве коринебактерий дифтерии [Текст] / Н. В. Беляева, Н. Х. Беловол, Е. И. Гук // Матеріали II наукового симпозиуму “Актуальні проблеми екологічної та клінічної імунології” – Київ-Луганськ, 1994. – С. 8.
5. Усвяцов, Б. Я., Характеристика микробного биоценоза слизистой оболочки носа у здоровых людей и стафилококковых бактерионосителей [Текст] / Б. Я. Усвяцов, Л. И. Паршута, О. В. Бухарин // Журн. микробиол. – 2000. - №5. – С.65-69. – ISSN 0372-9311.
6. Характеристика нетоксигенных штаммов *Corynebacterium diphtheriae*, несущих ген дифтерийного токсина [Текст] / Мельников В. Г., Комбарова С. Ю., Борисова О. Ю. [и др.] // Журн. микробиол. – 2004. - №1. – С. 3-7. – ISSN 0372-9311.
7. Бухарин, О.В., Усвяцов Б.Я., Чернова О.Л. Патогенетические особенности формирования бактерионосительства [Текст] / О. В. Бухарин, Б. Я. Усвяцов, О. Л. Чернова // Журн. микробиол. – 1996. – №2. – С. 98-101. – ISSN 0372-9311.
8. Гладка, О.А. Епідеміологічні аспекти носійства збудника дифтерії в постепідемічний період [Електронний ресурс] / О. А. Гладка // Профілактична медицина. – 2008. – № 1. – С. 24-28. Режим доступу: <http://www.imunitet.in.ua/content/docs/infection/1.3.5.pdf>.
9. Механизмы саморегуляции в микробиоценозах и новые аспекты профилактики менингококковой инфекции / Ю. Л. Волянский, Е. М. Бабич, В.Ф. Москаленко [и др.] / Под ред. Ю. Л. Волянского – Харьков, 1999. – 280 с. – ISBN 966-7744-04-3.
10. Микробные ценозы носоглотки [Текст] / Е. М. Бабич, И. В. Елисеєва, В. И. Белозерский [и др.] // Микробиол. журн. – 1999. – Т.61, № 3. – С. 63-70. – ISSN 0372-9311.
11. Бухарин, О.В. Некоторые особенности микрофлоры миндалин и межмикробного взаимодействия (в норме и при патологии) [Текст] / О. В. Бухарин, Б. Я. Усвяцов, Л. М. Хуснутдинова // Журн. микробиол., эпидемиол., иммунобиол. – 2000. - №4 (прил.). – С. 82-85. – ISSN 0372-9311.
12. Jack, R. W. Bacteriocins of gram-positive bacteria [Text] / Jack R. W., Tagg J. R., Ray B. // Microbiol. Rev. – 2005. – V. 59, №2. – P. 171-200. – ISSN: 0983-8512.
13. Casadevall, A. Host-Pathogen Interactions: Redefining the Basic Concepts of Virulence and Pathogenicity [Text] / Casadevall A., Pirofski L.-A // Infection and Immunity. – 1999. – V.67, №8. – P. 3703-3713. – ISSN 0019-9567.
14. Бухарин, О. В. Персистенция патогенных бактерий: теория и практика [Текст] / О. В. Бухарин // Журн. микробиол., эпидемиол., иммунобиол. – 2000. - №4 (прил.). – С.4-7. – ISSN 0372-9311.
15. Гладкий, А. Иммунопрофилактика коклюша: выбор оптимальной вакцины [Електронний ресурс] / А. Гладкий // Здоров'я України. – 2007. – № 13-14. – С. 5-6. Режим доступу: <http://health-ua.com/articles/1989.html>.
16. Романенко, Т. А. Стан національної системи епідеміологічного нагляду за кашлюком та її відповідність настановам ВООЗ [Електронний ресурс] / Т. А. Романенко // Профілактична медицина. – 2008. – № 1. С. 21-24. Режим доступу: <http://www.imunitet.in.ua/content/docs/infection/3.3.1.pdf>
17. Романенко, Т. А. Діагностика кашлюку у комплексі протиепідемічних заходів [Електронний ресурс] / Т. А. Романенко, І. П. Колеснікова, В. В. Сусідко // Профілактична медицина. – 2009. - № 3(7). – С. 20-23. Режим доступу: <http://www.imunitet.in.ua/content/docs/infection/3.5.1.pdf>
18. Бухарин, О. В. Персистенция патогенных бактерий [Текст] / О. В. Бухарин. – М.: Медицина, 1999. – 112 с.
19. Smith, H. Microbial surface in relation to pathogenicity [Text] / H. Smith // Immunology. – 2001. – V. 167. – P. 2651-2656. – ISSN: 0022-1767.
20. Young, D. Chronic bacterial infections: living with unwanted guests [Text] / Young D., Hussell T., Duougan G. // Nature immunology. – 2002. - V. 3, №11. – P. 1026-1032. – ISSN 1529-2908.
21. Кветная, А. С. Адаптационные механизмы формирования бактерионосительства *Corynebacterium diphtheriae* [Текст] / А. С. Кветная, В. В. Иванова, Т. Б. Корженевская // Журн. микробиол. – 2000. - №4. – С. 31-36. – ISSN 0372-9311.
22. Ценева, Г.Я. Характеристика основных патогенных свойств *Corynebacterium diphtheriae* [Текст] / Г. Я. Ценева, Е. Е. Щедеркина // Журн. микробиол. – 2000. – № 6. – С. 10-13. – ISSN 0372-9311.
23. Мироненко, Л.Г. Доцільність пошуку нових антибактеріальних препаратів для санації носіїв *Corynebacterium diphtheriae* [Текст] / Л. Г. Мироненко // Дитячі інфекції. – 2001. – № 28. – С. 38-44.
24. Курлаев, П.П. Роль факторов бактериальной персистенции в патогенезе, прогнозировании и обосновании выбора лечения больных гнойно-воспалительными заболеваниями [Текст] : Автореф. дис... д-ра мед. наук: 03.00.07 / Курлаев, П.П. – Оренбург, 2001 – 224 с.
25. Ждамарова, Л.А. Вплив біотичних та абіотичних факторів на персистенцію та біологічні властивості збудника дифтерії [Текст] : автореф. дис... канд. мед. наук: 03.00.07 / Ждамарова Ждамарова Лариса Анатоліївна ; Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова АМН України. – Харків, 2004 – 20 Мироненко Дитячі інфекції Курлаев, П.П с.
26. Беляева, Н. В. О носительстве коринебактерий дифтерии [Текст] / Н. В. Беляева, Н. Х. Беловол, Е. И. Гук // Матеріали II наукового симпозиуму “Актуальні про-

блеми екологічної та клінічної імунології” – Київ-Луганськ, - 1994. – С.8.

27. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология [Текст] : [учебник для вузов] : под ред. акад. РАМН А. А. Воробьева. – М. : МИА, 2004. – 691 с. : ил. – 5000 экз. – ISBN 5-89481-209-7.

28. Hussell, T. Chronic bacterial infections: living with unwanted guests [Text] / T. Hussell, D. Young, G. Duougan // Nature immunology. – 2003. - V.2., №14. – P. 1032-1038. – ISSN 1529-2908.

29. Красва, Л.О. Вплив забруднення атмосферного повітря промислового міста на захворюваність гострою ЛОР-патологією [Текст] : автореф. дис... канд. мед. наук : 14.02.01 / Красва Людмила Олександрівна ; Інститут гігієни та медичної екології ім. О. М. Марзєєва АМН України. — К., 2002. — 20с.

30. Коротяев, А.И. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология [Текст] [учебник для вузов] / Коротяев А. И., Бабичев С. А. – СПб.: Спец. Литература, 2008. – 767 с. – ISBN 978-5-299-00369-7.

31. Klemm, P. Bacterial adhesions: Function and structure [Text] / P. Klemm, M. Schembri // Int. J. Med. Microbiol. – 2000. – V.290. – P. 27-35. – ISSN 0022-2615.

32. Funke, G. Clinical microbiology of Corineform bacteria [Text] / G. Funke, A. von Graevenits, J. E. Clarridge et.al. // Clin. Microbiol. Rev. – 1997. – Vol. 10. P. 125 – 159. – ISSN 0893-8512.

33. Casadevall, A. Host-Pathogen Interactions: Redefining the Basic Concepts of Virulence and Pathogenicity [Text] / A. Casadevall, L. Pirofski // Infection and Immunity. – 1999. – Vol.67, №8. – P.3703-3713. . – ISSN 0019-9567.

34. Баснакьян И.А. Стресс у бактерий [Текст] / И.А. Баснакьян. – М.: Медицина, 2003. – 136 с.: ил. - ISBN 5-225-04368-2

35. Методика изучения адгезивного процесса микроорганизмов [Текст] / В. И. Брилис, Т. А. Брилене, Х. П. Ленцнер, А. А. Ленцнер // Лабораторное дело. – 1986. - №4. – С.112-114.

36. Лабораторные тесты. Микробиологическая и вирусологическая диагностика. [Текст] / Под ред. М. Х. Турьянова, М. Каппа – Ч. I. – М.: Каппа, 1995. – 111 с. – ISBN 5-86689-025-9.

37. Кур'ята, Н.В. Адгезивні та імуномодулюючі властивості бактерій роду *Lactobacillus* [Текст] : автореф. дис... канд. біол. наук : 03.00.07 / Кур'ята Ніна Володимирівна ; Ін-т мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України. — К., 2005. — 22 с.

38. Миронова, Т.К. Гиалуронидаза у менингококка [Текст] / Т. К. Миронова // Журн. микробиол., эпидемиол., иммунобиол. – 1978. – №2. – С.91-93.

39. Жахова, З. Н. К методике определения активности гиалуронидазы в моче [Текст] / З. Н. Жахова, М. З. Чинчарадзе // Лабор. дело. – 1968. – №11. – С.659-661.

40. Вишнякова, Л. А. Нейраминидаза различных штаммов *streptococcus pneumoniae* [Текст] / Л. А. Вишнякова, Ю. В. Резцова // ЖМЭИ. – 1990. - №2. – С.108-109.

41. Брудастов Ю.А. Антиккомплементарная активность бактерий [Текст] : автореф. дис... канд. мед. наук : 03.00.07 / Брудастов Юрий Авенірович ; Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения РАН – Челябинск, 1992. – 22 с.

42. Лабораторные тесты. Микробиологическая и вирусологическая диагностика. [Текст] / Под ред. М. Х. Турьянова, М. Каппа – Ч. II. – М.: Каппа, 1995. – 138 с. – ISBN 5-86689-025-9.

43. Про затвердження методичних вказівок : Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів : Наказ № 167 [Чинний від 05.04.2007]. – К. : МОЗ України, 2007. – 51 с. (Нормативний документ МОЗ України. Наказ).

44. Лапач, С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel [Текст] / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – К. : Морион, 2000. – 320 с. – ISBN 966-7632-16-4.

45. Боровиков, В. П. Statistica. Статистический анализ и обработка данных в среде Windows [Текст] / В. П. Боровиков, И. П. Боровиков. – М. : Феликс, 1998. – 592 с.

46. Прикладная медицинская статистика [Текст] / [под ред. В. М. Зайцева, В. Г. Лифляндского]. – СПб. : СПбГМА им. И. И. Мечникова, 2000. – 299 с.

47. Гельман, В. Я. Медицинская информатика: практикум [Текст] / В. Я. Гельман. – [2-е изд.]. – СПб. : Питер, 2002. – 480 с.

УДК 577.343:[579.871.1+579.841]:579.22

БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ЦИРКУЛЮЮЧИХ І МУЗЕЙНИХ ШТАМІВ ЗБУДНИКІВ ДИФТЕРІЇ ТА КАШЛЮКУ

Калініченко С.В., Колоколова О.Б., Рижкова Т.А., Большакова Г.М., Калініченко О.О., Соломка О.О., Пульнева О.М., Піддубна Т.Л., Кадрова А.Г., Соколов А.В., Касьяненко Т.М., Котеньова Т.О.

Робота містить дані експериментальних досліджень найбільш значущих, з епідеміологічної точки зору, біологічних властивостей циркулюючих та музейних штамів родів *Corynebacterium* та *Bordetella*. Для всіх досліджених представників вищезазначених патогенів характерна здатність до взаємодії з еукаріотичними клітинами. У збудників кашлюкової інфекції показники адгезивної активності були в два рази вищими за відповідні показники у дифтерійних мікробів. Усі досліджені коринебактерії різною мірою, залежно від біоваріанту, володіли здатністю до інактивації комплементу, продукції нейрамінідази та гіалуронидази. При визначенні чутливості до протимікробних препаратів зазначено резистентність музейних культур збудників дифтерії, порівняно з циркулюючими, до більшості досліджених антибактеріальних засобів. Штами *B.pertussis* були резистентними до антибіотиків пеніцилінового ряду та чутливими до фторхінолонів.

Ключові слова: *Corynebacterium diphtheriae*, *Bordetella pertussis*, адгезія, антикомплементарна активність, гіалуронидазна активність, нейрамінідаза, антибіотикочутливість.

УДК 577.343:[579.871.1+579.841]:579.22

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЦИРКУЛИРУЮЩИХ И МУЗЕЙНЫХ ШТАММОВ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ДИФТЕРИИ И КОКЛЮША

Калініченко С.В., Колоколова О.Б., Рижкова Т.А., Большакова Г.М., Калініченко Е.О., Соломка Е.А.,

Пульнева О.Н., Поддубная Т.Л., Кадрова А.Г., Соколов А.В., Касьяненко Т.Н., Котенёва Т.А.

Работа содержит данные экспериментальных исследований наиболее значащих, с точки зрения эпидемиологии, биологических свойств циркулирующих и музейных штаммов родов *Corynebacterium* и *Bordetella*.

Установлено, что все взятые в исследование штаммы владели способностью взаимодействовать с эукариотическими клетками. Причем, у возбудителей коклюша показатели адгезивной активности были в два раза выше, по сравнению с такими же показателями у дифтерийных микробов. Все исследованные культуры токсинообразующих коринебактерий обладали способностью вырабатывать нейроминидазу и гиалуронидазу, инактивировать комплемент. Однако, степень активности указанных патогенных свойств зависела от биоварианта *Corynebacterium*. При исследовании чувствительности к противомикробным препаратам установлено, что циркулирующие штаммы токсинообразующих коринебактерий были более чувствительны к антибиотикам, в сравнении с музейными культурами. Штаммы *B.pertussis* обладали резистентностью к антибиотикам пенициллинового ряда и чувствительностью к фторхинолонам.

Ключевые слова: *Corynebacterium diphtheriae*, *Bordetella pertussis*, адгезия, антикомплемментарная активность, гиалуронидазная активность, нейроминидаза, антибиотикочувствительность.

UDC 577.343:[579.871.1+579.841]:579.22

THE BIOLOGICAL PROPERTIES OF CIRCULATING AND MUSEUM STRAINS OF DIPHTHERIA AND PERTUSSIS CAUSATIVE AGENTS

Kalinichenko S.V., Kolokolova O.B., Ryzhkova T.A., Bolshakova G.M., Kalinichenko E.O., Solomka E.A., Pulneva O.N., Poddubnaya T.L., Kaderova A. G., Sokolov A.V., Kasyanenko T.N., Koteneva T.A.

The article contains results of experimental studies of the most significant, in terms of epidemiology, biological properties of *Corynebacterium* and *Bordetella* circulating and museum strains. It was established that all researched strains showed ability to interact with eukaryotic cells.

Moreover, adhesive activity rates of pertussis causative agents were two times higher compared with the same parameters in diphtheria bacteria. All studied cultures of toxigenic corynebacteria were able to produce neuraminidase and hyaluronidase, to inactivate complement. However, these pathogenic properties rates depended on *Corynebacterium* biovariant. In the study of bacteria sensitivity to antimicrobials it was found that toxigenic corynebacteria circulating strains were more sensitive to antibiotics, in comparison with museum cultures. *B.pertussis* strains showed resistance to the penicillins and susceptibility to fluoroquinolones.

Key words: *Corynebacterium diphtheriae*, *Bordetella pertussis*, adhesion, anticomplementary activity, hyaluronidase activity neuraminidase, antibiotic susceptibility.