



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **37277** (13) **U**
(51) МПК (2006)
C12N 1/20МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ**ОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**видається під
відповідальність
власника
патенту**(54) ПОЖИВНЕ СЕРЕДОВИЩЕ ДЛЯ ВИРОЩУВАННЯ МІКРООРГАНІЗМІВ РОДУ BARTONELLA**

1

2

(21) u200806849

(22) 19.05.2008

(24) 25.11.2008

(46) 25.11.2008, Бюл.№ 22, 2008 р.

(72) ПОХИЛ СЕРГІЙ ІВАНОВИЧ, UA, КОЗЬКО ВОЛОДИМИР МИКОЛАЙОВИЧ, UA, БОНДАРЕНКО ОЛЕНА ВАЛЕРІЙВНА, UA, БОНДАРЕНКО АНДРІЙ ВОЛОДИМИРОВИЧ, UA, ТИМЧЕНКО ОЛЕНА МИКОЛАЇВНА, UA, ЧИГИРИНСЬКА НіЛА АНАТОЛІЙВНА, UA, КАЦАПОВ ДМИТРО ВОЛОДИМИРОВИЧ, UA

(73) ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ МІКРОБІОЛОГІЇ І ІМУНОЛОГІЇ ІМ. І.І. МЕЧНИКОВА АМН УКРАЇНИ", UA, ПОХИЛ СЕРГІЙ ІВАНОВИЧ, UA, БОНДАРЕНКО ОЛЕНА ВАЛЕРІЙВНА, UA, ТИМЧЕНКО ОЛЕНА МИКОЛАЇВНА, UA, ЧИГИРИНСЬКА

НІЛА АНАТОЛІЙВНА, UA, ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ МОЗ УКРАЇНИ, UA, КОЗЬКО ВОЛОДИМИР МИКОЛАЙОВИЧ, UA, БОНДАРЕНКО АНДРІЙ ВОЛОДИМИРОВИЧ, UA, КАЦАПОВ ДМИТРО ВОЛОДИМИРОВИЧ, UA

(57) Поживне середовище для вирощування мікроорганізмів роду Bartonella, до складу якого входить живильна основа та стимулятор росту чумного мікроба (СРЧМ), яке **відрізняється** тим, що як живильну основу містить 94-95% (об'єм/об'єм) 2,0%-го бактоагару "Difco" та як стимулятор росту містить 5-6% (об'єм/об'єм) стандартизованого біопрепарату СРЧМ Середньоазійського науково-дослідного протичумного інституту МОЗ Казахстану.

Корисна модель належить до медицини, а саме до медичної мікробіології, зокрема до поживних середовищ для вирощування бактерій роду Bartonella. Цей винахід може бути використаний для лабораторної діагностики бартонельозної інфекції (бартонельозу - БІ) у людей, теплокровних тварин і членистоногих (переносників збудника БІ), де технологічним етапом здійснення бактеріологічного дослідження є вирощування збудника (бартонел) на поживному середовищі.

БІ - об'єднані в одну групу досить відмінні за клінічним перебігом інфекційні захворювання людей і теплокровних тварин, які викликаються бактеріями роду Bartonella та характеризуються специфічним враженням червоних клітин крові та ендотелію судин. В теперішній час всі клінічні форми перебігу БІ у людей розділяють на дві групи: локальні враження шкіри запального характеру з регіональними лімфаденітами - типова форма хвороби від котячих подряпин (ХКП) та генералізовані форми БІ (системний бартонельоз) - первинно генералізована септицемійна форма (хвороба Карріона), окопна (траншейна, Волинська, п'ятидوبова, пароксизмальна) гарячка (ОГ), бактерійний ангіоматоз шкіри, паренхіматозний бактеріальний гепатит і пеліїдоз, генералізовані форми бартонельозу із враженням центральної нервової

системи (енцефаліт, менінгіт, менінгоенцефаліт, енцефаломієліт) та інших органів і систем організму [1-6]. Найбільш поширеною формою БІ у світі є ХКП, співвідношення між ХКП та іншими формами бартонельозу наближено складає 6:1.

Серед більш ніж двадцяти відомих сьогодні видів і підвидів Bartonella здатність викликати захворювання у людей доведена для дев'яти із них: B.bacilliformis, B.quintana, B.henselae, B.vinsonii (підвиди vinsonii, arupensis та berkhoffii), B.elizabethae, B.koehlerae, B.clarridgeiae, B.grahamii, B.washoensis [1, 2, 4, 7-9]. Спостерігається взаємозв'язок між певними видами бартонел і клінічною формою перебігу БІ, але він не є абсолютним [3, 4, 10]. Це, поряд з великою клінічною варіабельністю та поліетіологічністю БІ, обґрунтовує визначальну роль лабораторних досліджень в її діагностиці.

В теперішній час з цією метою фахівцями різних країн світу застосовується досить широкий спектр методів лабораторних досліджень: шкірно-алергічні проби, світлова мікроскопія пофарбованих препаратів зразків клінічного матеріалу, імунологічні тести, детекція збудника за допомогою полімеразної ланцюгової реакції, мікробіологічний аналіз зразків клінічного матеріалу з метою виділення штамів бартонел [2, 3, 5, 7, 8, 9, 11]. Засто-

(13) **U**(11) **37277**(19) **UA**

сування останнього методу дає можливість описувати нові види *Bartonella*, які здатні спричиняти захворювання у людей, вивчати біологічні властивості збудника, досліджувати механізми патогенезу БІ на лабораторних моделях, визначати чутливість клінічних штамів до протимікробних препаратів, тощо. Проте, і до теперішнього часу мікробіологічний метод діагностики бартонельозу не знайшов широкого застосування в практиці охорони здоров'я через необхідність проведення надзвичайно тривалого культивування посівів із застосуванням високоефективних нутритивних компонентів поживних середовищ. Бартонелі не ростуть (не утворюють макроколоній видимих неозброєним оком впродовж 40-ка діб в оптимальних умовах вирощування, при $t^{\circ}=(35\pm 0,5)^{\circ}\text{C}$ в атмосфері з 5% CO_2) на переважній більшості поживних середовищ, які в теперішній час найбільш широко застосовуються в практиці бактеріологічних лабораторій установ охорони здоров'я України: м'ясопептонному агарі - МПА, середовищі для визначення антибіотикочутливості - АГВ, агарі із мозково-серцевим екстрактом - ВНІА, Лурія-Бертані агарі - LBA, буферному вугільно-дріжджовому агарі - ВСУЕ, середовищі для виділення і культивування бруцел - еритрит-агарі - ЕА, бордетел - козеїно-вугільному агарі - КВА, стафілококів - молочнокисло-жовтково-сольовому агарі - МЖСА, гемокультур і стрептококів - СВГКС, мікроорганізмів роду *Candida* - агарі Сабуро - СабаА, ентеробактерій - агарі Ендо - ЕндоА, сальмонел - вісмут-сульфіт-агарі - ВСА, шигел - агарі Плоскірева - ПлаА, середовищі для виділення і культивування нейсерій та коринібактерій - сироватковий агар - СА, молочнокислих бактерій - МРС4.

Для вирощування бартонел використовують кров'яний агар (КА) та шоколадний агар (ША), виготовлені із використанням в якості живильної агаризованої основи триптиказного агару, бактоагару, середовища із серцево-мозковим екстрактом та інших [12-15]. Відмінність самих живильних основ обумовлена природними особливостями сировини, із якої їх виготовляють, якісними та кількісними відмінностями вмісту в них основних нутритивних компонентів (вуглеводів, білків, фосфоліпідів), а також мікроелементів і стимуляторів росту. В якості останніх використовують гемін (синоніми назви: Х-фактор росту, хлорофеніпропорфірин), додавання якого до середовищ LBA, ЕА і ВНІА в кількості від 50мкг/мл до 250мкг/мл забезпечує їх ріст, а в кількості 500мкг/мл і більше - призупиняє; та D-глюкозу (її оптимальна концентрація в середовищі становить 0,5% (маса/об'єм). Джерелом геміну в поживних середовищах можуть бути еритроцити свіжоприготовленої (КА) або прогрітої крові (ША).

Ознаками, які збігаються з суттєвими ознаками корисної моделі, що заявляється, є використання в якості живильної агаризованої основи комерційних мікробіологічних поживних середовищ загального призначення (наприклад, бактоагар фірми "Difco", США).

Аналогом середовища що пропонується є КА [16, 17]. Основною причиною, яка заважає отриманню бажаного технічного результату при вико-

ристанні КА є той факт, що на КА за оптимальних умов вирощування ростуть лише клони типового штамів *B.henselae* CCUG 30454 BT (макроколонії стають ледь видимими неозброєним оком лише через 8-10 діб інкубування), а клінічні штами бартонел зовсім не дають росту.

Прототипом середовища що пропонується, є ША який найчастіше застосовується для вирощування мікроорганізмів роду *Bartonella* [12-15].

Середовище ША містить [16, 17]:

D-глюкози	5,0г/л;
продукти теплового гемолізу дефібринованої крові барана або кролика	80,0мл/л;
живильної агаризованої основи	915,0мл/л.

В якості живильної агаризованої основи можна використовувати: 2%-ий м'ясо-пептонний агар, 2%-ий бактоагар або 2%-ий триптиказний агар та інші, що готуються у відповідності із настановами підприємств-виробників.

Факторами, що заважають отриманню бажаного технічного результату є наступні:

прогрівання крові, з одного боку, сприяє звільненню із еритроцитів факторів росту X, V (нікотинамідаденіндинуклеотид) та інших, а з другого - в суттєвій мірі їх інактивує [16];

використання ША для вирощування бартонел (при первинному їх виділенні та послідовних пассажах чистих культур) потребує тривалого (14-40 діб) інкубування посівів з періодичним (через добу) переглядом чашок Петрі для виявлення макроколоній бартонел;

ША є непрозорим середовищем, при перегляді посівів необхідно здійснювати відкривання кришок чашок Петрі, що призводить до значної контамінації і заростання поверхні середовища сторонньою мікрофлорою та ускладнює оцінку результату досліджень - виявлення макроколоній і відбір бактерійної маси для отримання чистих культур цих мікроорганізмів.

В основу корисної моделі поставлено завдання: розробити поживне середовище для культивування мікроорганізмів роду *Bartonella*, в якому за рахунок заміни продуктів теплового гемолізу дефібринованої крові барана або кролика на комерційний біопрепарат забезпечуються покращення ростових властивостей цих мікроорганізмів, скорочується термін культивування, підвищується рівень біологічної безпеки в цілому.

Поставлене завдання вирішується наступним чином: в якості живильної основи використано уніфіковану живильну агаризовану основу (2,0%-ий бактоагар фірми "Difco", США); в якості стимулятора росту необхідного і достатнього для вирощування мікроорганізмів роду *Bartonella* використано стимулятор росту чумного мікробу (СРЧМ, Середньоазійського науково-дослідного протичумного інституту МОЗ Казахстану, м.Алма-Ати). СРЧМ - стерильний біопрепарат гемолізованої крові барана, який містить X і V фактори росту, очищений від залишків клітинного дебрису та інших компонентів крові, що можуть утворювати непрозорі конгломерати при виготовленні поживного середовища.

В експерименті досліджено вплив різної концентрації СРЧМ на ріст бартонел та визначено її діапазон, в межах якої може бути досягнутий бажаний технічний результат;

- підтверджено, що при вирощуванні на поживному середовищі із СРЧМ, штами бартонел зберігають типові біологічні характеристики (морфологію клітин, тинкторіальні, культуральні, біохімічні, серотипічні властивості);

- при проведенні лабораторно-клінічного випробування встановлено достатній рівень ефективності поживного середовища із СРЧМ.

При визначенні діапазону концентрації СРЧМ, що робило його придатним для вирощування мікроорганізмів роду *Bartonella* виготовляли по три

серії середовищ із різним вмістом СРЧМ (таблиця 1), на які дозовано (по 10^{-1} - 10^{-4} мл) висівали суспензії штамів бартонел. Стандартизацію суспензій бактерійних клітин проводили шляхом їх розведення стерильним 0,15М фосфатно-сольовим буфером (pH=7,0) до 0,023 за показником одиниць оптичної щільності. Останній показник вимірювали на колориметрі фотоелектричному концентраційному КФК - 2МП - УХЛЧ при $\lambda=590$ нм. Культивування посівів здійснюється при $t^{\circ}=(35\pm 0,5)^{\circ}\text{C}$ в атмосфері з 5% CO_2 впродовж 10-40-ка діб. Результати досліджень щодо впливу різних концентрацій СРЧМ на ріст бартонел представлені в таблиці 1.

Таблиця 1

Вплив різних концентрацій СРЧМ в поживному середовищі на ріст мікроорганізмів роду *Bartonella*

Концентрація СРЧМ в 2%-му агарі (%)	Показники впливу СРЧМ на ріст бартонел		
	швидкість росту (доба утворення макроколоній видимих неозброєним оком)	кількість утворених макроколоній при дозованому висіві робочих суспензій КУО/мл, $(m \pm d)$	характеристика макроколоній (% типових колоній основного морфологічного типу), $(m \pm d)$
1-4	4-5	$(8,9 \pm 3,5) \cdot 10^6$	$(82,8 \pm 9,2)$
5-6	3-4	$(1,1 \pm 0,3) \cdot 10^7$	$(72,4 \pm 8,2)$
7-8	3-4	$(1,15 \pm 0,4) \cdot 10^7$	$(70,3 \pm 8,0)$
9-10	3-4	$(1,4 \pm 0,7) \cdot 10^7$	$(68,8 \pm 10,4)$

Оптимальною концентрацією є 5-6% (об'єм/об'єм) вмісту СРЧМ у поживному агаризованому середовищі для вирощування бартонел. У порівнянні із ША, використання поживного середовища із 5-6% (об'єм/об'єм) СРЧМ забезпечує прискорення утворення видимих неозброєним оком макроколоній бартонел в (2,3-3,0) рази, зростання показника кількості утворених макроколоній бартонел (КУО/мл) на (59,0-62,7)% і незначне, відносно зменшення на (8,3-10,0)% кількості макроколоній з типовою морфологією. Типовою для бартонел є R-форма макроколоній з неправильною округлою формою (0,5-1,2мм в діаметрі), виразно випуклим профілем, чітким нерівним краєм, горбкуватою поверхнею, напівпрозорих, сіро-білого кольору (в науковій літературі таку форму макроколоній порівнюють з голівкою кольорової капустки) (рисунк 1). Атипові RS- та S-форми макроколоній бартонел характеризуються широким спектром відмінностей від типових: можуть мати правильну округлу форму, чіткий рівний край, трохи шорстку або, навіть, гладку блискучу поверхню, плоский, високий, випуклий, пупкоподібний чи інший профіль, менший або значно більший від типового розмір.

Для дослідження впливу поживного середовища із СРЧМ на біологічні властивості штамів бартонел вивчено 100 їх субклонів (50 - із типовою та 50 із атиповою морфологією макроколоній), отриманих при вирощуванні семи різних штамів *B. henselae* на ША і середовищі із СРЧМ. При цьому були вивчені: морфологія клітин з допомогою світлової та електронної мікроскопії; тинкторіальні характеристики цих бактерій (здатність фарбува-

тись за методом Грама, Романовського-Гімзе, Здрадовського, Warthin-Starry в модифікації Морозова); культуральні властивості (здатність рости на типових поживних середовищах: біохімічні властивості: оскидазну, каталазну, фосфатазну, ліпазну активність, здатність гідролізувати сечовину і желатин, відновлювати нітрати в нітрити, давати позитивний результат в реакції Фогеса-Проскауера (РФП) та утворювати сірководень (H_2S) при розщепленні білків, ферментувати вуглеводні сполуки - цукри (D-глюкозу, L-арабінозу, лактозу, D-манозу, мальтозу, L-рамнозу, D-галактозу, рафінозу, сахарозу, D-ксилозу), спирти (D-маніт, адоніт, саліцин, гліцерин, дульцит, ескулін, D-сорбіт, L-інозит), солі органічних кислот (L-тарtrat, сукцинат Na, цитрат Na, глутамат Na, малонат Na, піруват Na, глюконат Na, піпурат Na), полісахариди (кромаль, амیلдекстрин, декстрин) та амінокислоти (DL-фенілаланін, L-аргінін, DL-лізин, DL-гліцин, пролін, DL-серін, L-аспарагін, DL-валін, DL-норвалін, L-орнітін, DL-метіонін, L-цистеїн, DL-тирозин, L-гістидін, L-глутамін, DL-лейцин, DL-аланін, тіонін); серотипічні властивості (здатність давати позитивний і негативний результат, відповідно, в реакціях непрямой імуно-флюоресценції (PHIF), зв'язування компліменту (РЗК), мікроаглютинації (РМА), імунофлюоресценції (PIF) з гомологічними та гетерологічними щодо *B.henselae* діагностичними імуноглобулінами та сироватками).

Усі досліджені субклони штамів бартонел, вирощених на ША і на середовищі із СРЧМ характеризувались монотипністю морфології клітин, тинкторіальних, культуральних, біохімічних та серологічних властивостей. Методом просвічуючої

електронної мікроскопії визначено розмір та морфологічні особливості клітин бартонел в препаратах-відбитках із молодих колоній вирощених на ША і середовищі із СРЧМ (рисунок 2). Встановлено, що клітини *B. henselae* вирощені на обох типах середовищ мають правильну овоїдну форму із закругленими кінцями довжиною $(1,0 \pm 0,2) \mu\text{м}$, діаметром $(0,6 \pm 0,2) \mu\text{м}$. Дистальні зони овоїдів є більш електроннощільними у порівнянні із їх центральною зоною, що проявляється на мікрофотографіях характерною біполярністю клітин. Клітини розмножуються поперечним діленням з формуванням добре вираженої перетинки. При електронномікроскопічному дослідженні не виявлена здатність бартонел утворювати джгутики, фімбрії, спори та цисти.

При світловому мікроскопічному дослідженні тинкторіальних характеристик клонів бартонел, вирощених на ША і середовищі із СРЧМ, в препаратах пофарбованих за Грамом виявляються грамнегативні (слабо пофарбовані фуксином) невеликі прямі, інколи трохи зігнуті палички та кокопалічки. При фарбуванні препаратів методами Романовського-Гімза клітини бартонел виглядали як палички і кокопалічки синьо-блакитного кольору із нерівномірним забарвленням деяких ділянок клітин бактерій; методом Здратовського - клітини цих мікроорганізмів виглядали як палички і кокопалічки рубіново-червоного кольору з рівномірною інтенсивністю їх фарбування; при посрібленні препаратів за методом Warthin-Starry в модифікації Морозова клітини виглядали як палички і кокопалічки суттєво більшого розміру - довжиною $(1,0-3,0) \mu\text{м}$, діаметром $(0,8-1,0) \mu\text{м}$, від світло-коричневого до темно-коричневого кольору.

За біохімічними властивостями субклони штамів бартонел, вирощені на ША і середовищі із СРЧМ були ферментативно малоактивними і мотипними, всі вони є оксидазо-, каталазо- (при використанні для відтворення тесту 3%-го H_2O_2) і уреазонегативними, однак дають позитивний результат в тесті на каталазу при застосуванні 10%-го H_2O_2 . Субклони бартонел не відновлюють нітрати в нітрити, не утворюють H_2S при розщепленні білків, гідролізують желатин, не виявляють ліпазної і фосфатазної активності, дають негативний результат в РФП. Всі вони не ферментують переважну більшість вуглеводних сполук: цукрів (D-глюкозу, L-арабінозу, лактозу, D-манозу, мальтозу, L-рамнозу, D-галактозу, рафінозу, сахарозу, D-ксилозу), спиртів (D-маніт, адоніт, саліцин, гліцерин, дульцит, ескулін, D-сорбіт, L-інозит), солей органічних кислот (L-тарtrat, цитрат Na, малонат Na, глюконат Na), полісахаридів (крохмаль, амілодекстрин, декстрин) та амінокислот (DL-фенілаланін, L-аргінін, DL-лізин, DL-гліцин, пролін, DL-серін, L-аспаратин, DL-валін, DL-норвалін, L-орнітін, DL-метіонін, L-цистеїн, DL-тирозин, L-гістидин, L-глутамін, DL-лейцин, DL-аланін, тіонін). Як слабо позитивний оцінено результат ферментації субклонами штамів бартонел D-фруктози. Близько 13% субклонів, вирощених на ША та на середовищі із СРЧМ, ферментували D-манозу і,

майже, 20% із них - L-рамнозу. Всі субклони штамів бартонел розщепляли піпурат Na, давали слабкий позитивний результат з піруватом Na (відмічається зсув pH в напрямку лугоутворення) і сукцинатом Na (відмічається зсув pH в напрямку кислотоутворення).

Серотипічні властивості досліджених субклонів штамів бартонел, вирощених на ША і середовищі із СРЧМ були схожими. Так як, у відповідності із сучасною класифікацією, бактерії виду *B. henselae* віднесені до α -2 підгрупи *Proteobacteria* [2, 5, 10, 15]. Для підтвердження збереження субклонами бартонел своєї сероспецифічності в серологічних (імунологічних) реакціях із субклональними бартонельозними антигенами були використані як гомологічні (видоспецифічні проти *B. henselae*), так і гетерологічні діагностичні сироватки та імуноглобуліни проти філогенетично найбільш близьких до *B. henselae* видів *Proteobacteria*: α -2 підгрупи - *B. Quintana*; α -1 підгрупи - *Rickettsia prowazekii*, *R. typhi*, *R. mooser*, *Brucella abortus*. Додатково субклональні бартонельозні антигени були протестовані в серологічних (імунологічних) реакціях із діагностичними сироватками та імуноглобулінами проти мікроорганізмів інших груп *Proteobacteria*: γ -групи - *Coxiella burnetii*, *Legionella pneumophila*, *Escherichia coli*, *Shigella* spp., *Salmonella* spp.; β -групи *Bartonella* spp.; δ -групи - *Campylobacter* spp. Результати досліджень показали збереження високого рівня сероспецифічності субклонами штамів бартонел вирощеними на середовищі із СРЧМ, у порівнянні з вирощеними на ША. Лише при відтворенні РНІФ із використанням видоспецифічних бартонельозних сироваток та імуноглобулінів субклональні бартонельозні антигени давали позитивний результат із рівнем специфічної активності (титром) протибартонельозних антитіл від $1:(20 \pm 0)$ до $1:(192 \pm 21)$. В усіх інших випадках ці ж самі антигени не вступали у специфічну взаємодію із гетерологічними діагностичними сироватками та імуноглобулінами, про що свідчать негативні результати відповідних РНІФ, РЗК, РМА, РІФ.

Лабораторно-клінічне випробовування поживного середовища для вирощування мікроорганізмів роду *Bartonella* проведено шляхом бактеріологічного дослідження 29-ти зразків клінічного матеріалу, які мали таке походження: 9 зразків крові та біоптату нашкірних ангіом від хворих з клінічною картиною БІ; 10 зразків крові від хворих з картиною септичного процесу, в яких були відсутні анамнестичні дані щодо контактів з тваринами та прояви БІ; 10 зразків крові від клінічно здорових людей. Результати мікробіологічних досліджень зразків клінічного матеріалу при використанні ША і середовища із СРЧМ представлено в таблиці 2. Результати виявлення в зразках клінічного матеріалу мікроорганізмів роду *Bartonella* показують, що середовище із СРЧМ забезпечує не нижчий рівень виділення збудника бартонельозної інфекції, ніж ША.

Таблиця 2

Частота виділення *Bartonella* spp. від хворих і клінічно здорових людей

Клінічний матеріал. Нозологічна форма захворювання	Кількість досліджених зразків	З позитивним результатом досліджень (виділені штами бартонел)	
		На ША абс.ч., (%)	на середовищі із СРЧМ абс.ч., (%)
Кров та біоптат із наскірних ангіом від хворих на бартонельоз	9	8 (88,9)	8 (88,9)
Кров від хворих з проявами сепсису	10	0	0
Кров від клінічно здорових людей	10	0	0

При цьому, на ША колонії бартонел виявляли після 12-16 діб, а на середовищі із СРЧМ на 4-8 добу інкубування висівів. Кількість макроколоній бартонел, які виявляли при первинному висіві різних зразків крові та біоптату із ангіом коливалася в широких межах - від декількох сотень до 5-10 КУО на чашку. На середовищі із СРЧМ виростала більша кількість ($p < 0,05$) макроколоній бартонел, ніж на ША. Дотримання загальноновизначених правил і асептичних умов відбору зразків клінічного матеріалу та їх висіву на середовище із СРЧМ забезпечувало лише незначний рівень контамінації його поверхні сторонньою мікрофлорою, що створює достатні можливості для дослідження ізольованих макроколоній бартонел першого пасажу. Крім того, використання середовища із СРЧМ забезпечує стабільну пермісивність штамів бартонел в послідовних пасажах. Напроти, при застосуванні ША в 22% випадків пересіву культур *Bartonella* spp. був відмічений феномен "згасання" їх росту в кожному наступному пасажі. В цілому, при проведенні мікробіологічного дослідження зразків клінічного матеріалу за традиційною трьох етапною схемою, використання середовища із СРЧМ замість ША скорочує тривалість дослідження на 12-16 діб.

Джерела інформації:

1. Климчук М.Д., Любінський С.Ю., Кіцара М.С. Серологічні методи діагностики Волинської гарячки з антигенами *Rochalimaea Quintana* // AML. - 1997. - №3-4. - С.59-62.
2. Anderson B.E., Neumann M.A. *Bartonella* spp. as emerging human pathogens // Clin. Microb. Rev. - 1997. - Vol.10. - P.203-219.
3. Birtles R.J., Canales J., Ventosilla P., Alvarez E. et al. Survey of *Bartonella* species infecting intradomicillary animals in the Huayllacallan valley, Ancash, Peru, a region endemic for human bartonellosis // Am. J. Trop. Med. Hyg. - 1999. - Vol.60. - P.799-805.
4. Brouqui P., La Scola B., Roux V., Raoult D. Chronic *Bartonella quintana* bacteremia in homeless patients // N. Engl. J. Med. - 1999. - 340. - P.184-189.
5. Chomel B.B. Cat scratch disease and bacillary angiomatosis: A review // Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz. - 1996. - Vol.15, №3. - P.1061-1073.
6. Daly J.S., Worthington M.G., Brenner D.G., Moss C.W. et al. *Rochalimaea elizabethae* sp. nov. isolated from a patient with endocarditis // J. Clin. Microbiol. - 1993. - Vol.31. - P.872-881.

7. Margileth A.M., Baehren D.F. Chest-wall abscess due to cat-scratch disease (CSD) in an adult with antibodies to *Bartonella clarridgeiae*: case report and review of the thoracopulmonary manifestations of CSD // Clin. Infect. Dis. - 1998. - Vol.27. - P.353-357.

8. Reed J.B., Scales D.K., Wong M.T., Lattuada C.P. et al. *Bartonella henselae* neuroretinitis in cat scratch disease // Ophthalmology. - 1998. - 105. - P.459-466.

9. Roux V., Eykyn S.J., Wyllie S., Raoult D. *Bartonella vinsonii* subsp. *berkhoffii* as an agent of afebrile blood culture-negative endocarditis in a human // J. Clin. Microbiol. - 2000. - Vol.38. - P.1698-1700.

10. Welch D.F., Pickett D.A., Slater L. et al. *Rochalimaea* sp. nov. A case of septicemia, bacillary angiomatosis and parenchymal bacillary peliosis // J. Clin. Microbiol. - 1992. - Vol.30, №2. - P.275-280.

11. Kerkhoff F.T., Bergmans A.M., Van der Zee A., Rothova A. Demonstration of *Bartonella grahamii* DNA in ocular fluids of a patient with neuroretinitis // J. Clin. Microbiol. - 1999. - Vol.37. - P.4034-4038.

12. Brenner S.A., Rooney J.A., Manzwitsch P., Regnery R.L. Isolation of *Bartonella* (*Rochalimaea*) *henselae*: effects of methods of blood collection and handling // J. Clin. Microbiol. - 1997. - 35. - P.544-547.

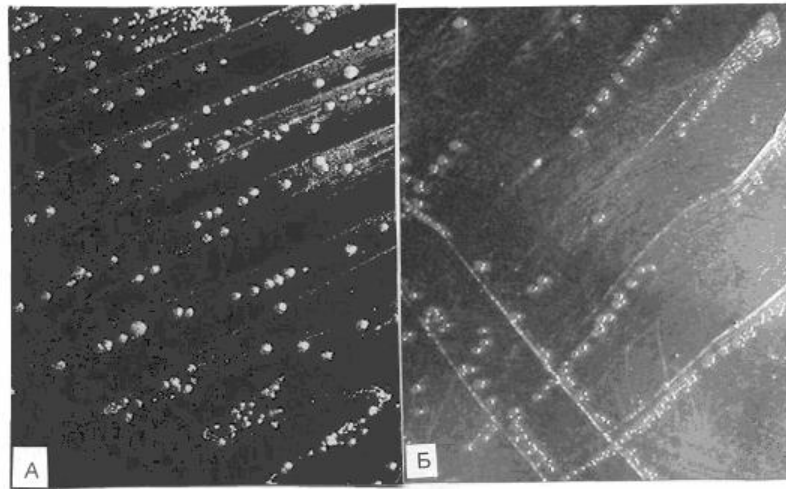
13. Clarridge J.E.III, Raich T.C., Pirwani D. et al. Strategy to detect and identify *Bartonella* species in routine clinical laboratory yields *Bartonella henselae* from human immunodeficiency virus-positive patient and unique *Bartonella* strain from his cat // J. Clin. Microbiol. - 1995. - Vol.33, №8. - P.2107-2113.

14. English C.K., Wear D.J., Margileth A.M. et al. Cat scratch disease. Isolation and culture of the bacterial agent // J. Am. Med. Assoc. - 1997. - 259. - P.1347-1352.

15. La Scola B., Raoult D. Culture of *Bartonella quintana* and *Bartonella henselae* from human samples: a 5-Year Experience (1993 to 1998) // J. Clin. Microbiol. - 1999. - Vol.37, №6. - P.1899-1905.

16. Наказ МОЗ ЦРП №535, 22.04.1985г. Методические указания по применению унифицированных микробиологических (бактериологических) методов исследования в клинко-диагностических лабораториях. - М., 1985. - 126с.

17. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования / Под ред. О.М. Биргера. - 3-е изд., перераб. и доп. - М.: Медгиз, 1982. - 464с.

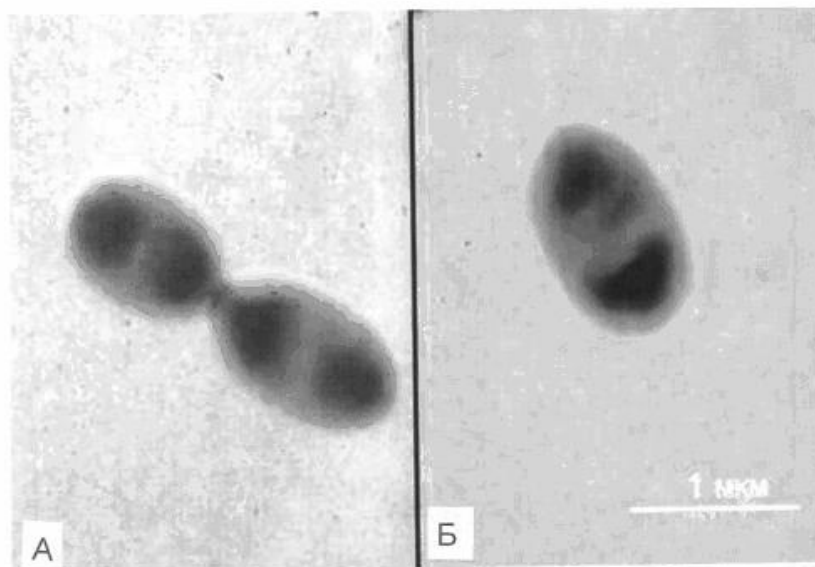


Макроколонії штаму *Bartonella henselae* JHMI3 06U061
(збільшення $\times 2$ рази)

А - на ША;

Б - на агаризованому середовищі із СРЧМ.

Рисунок 1



Електронні мікрофотографії клітин штаму *B. henselae*
ЛНМІЗ 06U054 (збільшення $\times 100000$, контрастування
1%-им розчином ураніацетату):

А - клітини бартонел, вирощені на ША;

Б - клітини бартонел, вирощені на середовищі із СРЧМ.

Рисунок 2