

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ЩУР НАТАЛІЯ ВОЛОДИМИРІВНА

УДК 636.09:616.993-032-026.8 (477)

ДИСЕРТАЦІЯ

**ХАРАКТЕРИСТИКА ІЗОЛЯТІВ *SAMPYLOBACTER* SPP.,
ВИДІЛЕНИХ ВІД СВІЙСЬКИХ ТВАРИН В УКРАЇНІ**

Спеціальність: 211 – «Ветеринарна медицина»

Галузь знань: 21 – «Ветеринарна медицина»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії.

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

Наталія ЩУР
(підпис)

Науковий керівник:
МАЗУР Тетяна Василівна,
професор кафедри ветеринарної
епідеміології та охорони здоров'я тварин
доктор ветеринарних наук, професор

КИЇВ – 2025

АНОТАЦІЯ

Щур Н.В. Характеристика ізолятів *Campylobacter* spp., виділених від свійських тварин в Україні. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за галуззю знань 21 – «Ветеринарна медицина», спеціальність 211 – «Ветеринарна медицина». – Національний університет біоресурсів та природокористування України, Київ, 2025.

Інфекції харчового походження становлять глобальну проблему для охорони здоров'я в усьому світі. Харчові патогени є причиною численних випадків захворювань і зумовлюють значні фінансові збитки. Останнім часом особливої актуальності набули випадки бактеріального гастроентериту, викликаного термофільними видами *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* та *Campylobacter lari*. Ці бактерії є збудниками кампілобактеріозу – найпоширенішого зоонозу в людини. За останніми звітними даними про зоонози в Європейському Союзі (ЄС) «Єдине здоров'я 2023» зареєстровано 148 181 підтверджений випадок кампілобактеріозу людини, що склало 45,7 випадка на 100 000 осіб населення. У США щорічно реєструють близько 20 випадків на 100 000. За оцінками Європейського агентства з безпеки харчових продуктів (EFSA) в ЄС обсяги фінансових втрат від наслідків інфекції становлять 2,4 мільярда євро на рік, у США – 1,7 мільярда доларів. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) *Campylobacter* відноситься до високопріоритетних патогенів.

Велика кількість захворювань у тварин може мати абсолютно безсимптомний перебіг. Особливо це характерно для кампілобактеріозу, збудниками якого є види *Campylobacter*. Класичні знання про кампілобактерії як коменсальні мікроорганізми кишківника ссавців та птахів, останнім часом потребують перегляду з кількох причин. З одного боку суттєво зросли показники статистики з ізоляції кампілобактерій з організмів молодняку (курчат, поросят, ягнят і телят) з ознаками ентериту. З іншого боку, причиною

такої патології серед свійських тварин (великої рогатої худоби, свиней, індиків та курей-бройлерів) у світовій ветеринарній практиці визначені два види – *Campylobacter jejuni* та *Campylobacter coli*. Поширеність кампілобактерій у свійських тварин в Україні та їх властивості є недостатньо вивченими.

Питання моніторингу в концепції «Єдине здоров'я» щодо ураження птахів і тварин кампілобактеріями та вивчення їх чутливості до антимікробних препаратів лишається в Україні відкритим. Відсутність нормативного регулювання, проблеми з експериментальним відтворенням штучних умов культивування та вимогливість *Campylobacter* до поживних середовищ, висока собівартість робіт та матеріалів для лабораторної діагностики зумовило хибну та небезпечну другорядність патогенних кампілобактерій в групі збудників харчових зоонозів.

Дисертаційна робота присвячена вивченню поширення, особливостей ураження поголів'я свійських тварин (великої рогатої худоби, свиней, курей-бройлерів та індиків), видової приналежності, біологічних властивостей та методам виділення і збереження ізолятів бактерій роду *Campylobacter* в Україні.

У дисертаційній роботі висвітлено результати досліджень щодо індикації кампілобактерій згідно з ISO 10272-1:2017, культурально-морфологічних та біохімічних властивостей бактерій роду *Campylobacter*, виділених зі зразків біологічного матеріалу свійських тварин і дітей (у співпраці з фахівцями бактеріологічної лабораторії Комунального некомерційного підприємства «Міська клінічна лікарня № 9» Дніпровської міської ради) за гострих кишкових інфекцій (ГКІ). Вивчено чутливість виділених ізолятів до антибактеріальних препаратів відповідно до стандартів чутливості Європейського комітету з визначення чутливості до антибактеріальних препаратів (EUCAST). Досліджено щільність і структуру сформованої біоплівки в ізолятів *Campylobacter* за різних температурних умов. Проведено молекулярно-генетичні дослідження з метою виявлення токсино-синтезувальної здатності *Campylobacter*. Проведено повне секвенування геному ізолятів *Campylobacter coli* та *Campylobacter jejuni*, для вивчення генів резистентності та патогенності. З'ясовано ефективність застосування поживних середовищ у процесі

виявлення, ізоляції, збереження та відтворення властивостей *Campylobacter* spp. після кріоконсервації та ліофілізації. Підібрано оптимальний режим довготермінового зберігання за низьких температур.

Зроблено аналіз результатів планових досліджень щодо протимікробної резистентності зоонозних та коменсальних бактерій у ветеринарній медицині за 2021 рік, які проведені відповідно до основних положень «Глобальної стратегії ВООЗ з стримування стійкості до антимікробних препаратів», Державної стратегії, схваленої Урядом України, у рамках реалізації державної політики щодо стримування розвитку резистентності до протимікробних препаратів та зменшення ризиків формування і поширення антибіотикорезистентних штамів у тваринництві. Під час планових досліджень вивчено зразки вмістимого лігатурованих сліпих кишок від великої рогатої худоби, свиней, курей-бройлерів та індиків (n=2120), у результаті чого виділено та частково ідентифіковано 21,1% (448) коменсальних і зоонозних мікроорганізмів, з яких: *Escherichia coli* – 7,9% (169), *Salmonella* spp. – 0,9% (19), *Enterococcus faecium* – 2,7% (57), *Enterococcus faecalis* – 8,0% (170) та *Campylobacter* spp. – 1,6% (33). Серед ізолятів *Campylobacter* spp. виявлено полі/мультирезистентні – 42,4% (14), резистентні до 1 – 2 груп антибіотиків – 45,5% (15), чутливі – 12,1% (4). Встановлено географічне поширення *Campylobacter* spp. у господарствах Дніпропетровської, Львівської, Черкаської, Чернігівської, Херсонської та Хмельницької областей. Відсоток ураження курей-бройлерів сягав 3,5% (26/746), свиней – 0,3% (2/691) та великої рогатої худоби – 0,9% (5/581). При цьому дослідженні ізоляти мали резистентність до ципрофлоксацину в 54,5% (18/33) випадків, еритроміцину – 60,6% (20/33) та тетрацикліну – 75,8% (25/33).

На підставі договору № 89 про співробітництво та організацію взаємовідносин, укладеного між Національним університетом біоресурсів і природокористування України та Комунальним некомерційним підприємством «Міська клінічна лікарня № 9» Дніпровської міської ради, проаналізовано звітні дані за період з 2020 по 2023 роки щодо видової приналежності та чутливості до антибактеріальних препаратів (АБП) ізолятів *Campylobacter* spp., виділених від дітей за ГКІ. Встановлено, що серед 293 виділених ізолятів *Campylobacter*

jejuni має найбільше представництво – 55,3% (162/293). Менш чисельним є *Campylobacter coli* – 37,2% (109/293) та відповідно *Campylobacter lari* – 7,5% (22/293). Виявлено, що *Campylobacter* spp. значною мірою були резистентними до фторхінолонів 83,3% (244/293), тетрациклінів 53,6% (157/293) та макролідів 11,6% (34/293). Найвищу стійкість до ципрофлоксацину мали ізоляти *Campylobacter lari* – 100,0% (22/22) та *Campylobacter jejuni* – 84,6% (137/162), ізоляти *Campylobacter coli* проявили найвищу стійкість до макролідів – 16,5% (18/109). Усього виявлено чутливих до АБП – 8,9% (26) ізолятів *Campylobacter* spp., монорезистентних (до 1 – 2 груп антибіотиків) – 87,0% (255) та мультирезистентних – 4,1% (12).

Відповідно до науково-дослідної тематики (номер державної реєстрації 0123U102336) «Біологічні властивості та етіологічна роль кампілобактерій у виникненні харчових токсикоінфекцій в Україні» та ініціативної тематики (державна реєстрація № 0118U100594) «Розробка нових та вдосконалення існуючих підходів, методів та засобів моніторингу, оцінки ризику, прогнозування, діагностики, лікування та профілактики хвороб тварин» проведено дослідження щодо виявлення збудників кампілобактеріозу серед поголів'я свійських тварин (великої рогатої худоби, свиней, курей-бройлерів та індиків). Протягом травня – вересня 2023 року шляхом рандомної вибірки на забійних пунктах Вінницької, Волинської, Київської та Черкаської областей було відібрано зразки (n=138) вмістимого лігатурованих сліпих кишок від курей-бройлерів (n=76), індиків (n=30), свиней (n=20) та великої рогатої худоби (n=12). У результаті досліджень виділено 33 ізоляти *Campylobacter* spp., що становить 23,9% ураження. Рівень інфікування курей-бройлерів кампілобактеріями становив 26,3%, індиків – 3,33%, свиней – 55,0%, великої рогатої худоби – 8,33%. Визначено види ізолятів: *Campylobacter coli* – 75,8% та *Campylobacter jejuni* – 24,2%, причому серед курей-бройлерів 70% ізолятів ідентифіковані як *Campylobacter coli*. Більшість виділених ізолятів від тварин та птахів виявили резистентність до ципрофлоксацину 72,7% (24/33) та тетрацикліну 60,6% (20/33). Усього виявлено чутливих до АБП – 9,1% (3)

ізоляти *Campylobacter* spp., монорезистентних – 78,8% (26) та мультирезистентних – 12,1% (4).

Досліджена здатність кампілобактерій формувати біоплівки різної щільності та структури за різних температур культивування. Встановлено, що за аеробних умов здатність *Campylobacter* до біоплівкоутворення збільшується порівняно з мікроаеробними умовами. Рівень експерсії полісахаридів біоплівки при температурі 37°C за аеробних умов достовірно підвищувався, що свідчить про утворення захисного бар'єру проти кисню та сприяє потовщенню біоплівки. Підвищений рівень утворення біоплівки в аеробних умовах є адаптацією, що дозволяє виживати *Campylobacter* в атмосферних умовах та має значення для передачі людям через харчовий ланцюг.

Встановлено наявність у досліджуваних кампілобактерій (4 ізоляти від курей-бройлерів) детермінант патогенності – гена *cdtA*, що входить до тріади генів (*cdtA*, *cdtB* і *cdtC*), необхідних для синтезу активного трійчастого голотоксину, який зумовлює повну клітинну токсичність. Присутність цього гена підтверджує наявність токсинотвірної здатності в *Campylobacter*.

Встановлено за секвенування повного геному наявність у досліджуваних кампілобактерій (ізолят *Campylobacter coli* від курей-бройлерів та *Campylobacter jejuni* від індиків) фактори патогенності та детермінанти антимікробної резистентності (AMP), включаючи мультирезистентні помпи, які можуть впливати на стійкість до фторхінолонів, макролідів та аміноглікозидів. Секвенування повного геному дозволило вивчити генетичні послідовності отриманих нами ізолятів та порівняти з послідовностями відомих штамів. Геном *Campylobacter coli*, виділений від курей-бройлера, подібний з референтним штамом *Campylobacter coli* OR12 (GenBank accession CP013733.1), стійким до колонізації та аеротолерантним штамом, ізольованим з птахофабрики. Геном *Campylobacter jejuni* тісно пов'язаний зі штамом *Campylobacter jejuni subsp. jejuni* NCTC 11168 (GenBank accession SZUC000000000.1; ATCC 700819), виділеним з організму людини і визнаним еталонним штамом.

Встановлено, що ліофілізація та кріоконсервація є найбільш дієвими прийомами для довгострокового зберігання *Campylobacter*. Створена колекція ізолятів *Campylobacter* spp. для вивчення молекулярно-генетичних і біологічних властивостей, а також як музейні зразки (для вивчення еволюції ізолятів з плином часу). Ліофілізація забезпечує високий рівень життєздатності культур протягом кількох років, тоді як для заморожування за температури $-70 \pm 5^{\circ}\text{C}$ потрібне постійне безперебійне надходження електроенергії для забезпечення стабільної роботи низькотемпературного морозильника. Виявлено, що при зберіганні ліофілізованих ізолятів кампілобактерій за температури $-18^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ протягом 12 місяців *Campylobacter* втратив 0,15% життєздатних мікробних клітин від початкового стану. Таким чином, найбільш придатним методом тривалого зберігання ізолятів *Campylobacter* у нашому дослідженні визнано ліофілізацію.

Ключові слова: бактеріальні зоонози, харчові патогени, антимікробна резистентність, макроліди, фторхінолони, свійські тварини, бактеріологія, ізоляти, *Campylobacter* spp., *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni*, видова ідентифікація, індикація, живильні середовища, біоплівка, повногеномне секвенування, колекція культур.

ANNOTATION

Shchur N.V. Characterisation of *Campylobacter* spp. isolates from domestic animals in Ukraine. Qualification scientific work on the rights of manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in the field of knowledge 21 'Veterinary Medicine', speciality 211 'Veterinary Medicine.' - National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, 2025.

Foodborne infections are a global public health concern worldwide. Foodborne pathogens cause numerous cases of illness and cause significant financial losses. Recently, cases of bacterial gastroenteritis caused by thermophilic *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* and *Campylobacter lari* have become particularly relevant. These bacteria are the causative agents of campylobacteriosis, the most

common zoonotic disease in humans. According to the latest zoonotic reporting data in the European Union (EU), One Health 2023, 148,181 confirmed cases of human campylobacteriosis were reported, which amounted to 45.7 cases per 100,000 people. In the United States, about 20 cases per 100,000 are reported annually. The European Food Safety Authority (EFSA) estimates that the financial losses from the infection in the EU amount to €2.4 billion a year, and \$1.7 billion in the US. According to the World Health Organisation (WHO), *Campylobacter* is a high-priority pathogen.

Many diseases in animals can be completely asymptomatic. This is especially true for campylobacteriosis, which is caused by *Campylobacter* species. The classical knowledge about *Campylobacter* as commensal microorganisms of the intestine of mammals and birds has recently required revision for several reasons. On the one hand, the statistics on the isolation of *Campylobacter* from young animals (chickens, piglets, lambs and calves) with signs of enteritis have increased significantly. On the other hand, two species have been identified as the cause of such pathology in domestic animals (cattle, pigs, turkeys and broiler chickens) in the world veterinary practice - *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. The prevalence of *Campylobacter* in domestic animals in Ukraine and their properties are not well understood.

The issue of monitoring in the 'One Health' concept of birds and animals affected by *Campylobacter* and studying their sensitivity to antimicrobial drugs remains open in Ukraine. The lack of regulatory framework, problems with the experimental reproduction of artificial cultivation conditions and the demanding nature of *Campylobacter* to nutrient media, high cost of work and materials for laboratory diagnostics have led to the false and dangerous secondary importance of pathogenic *Campylobacter* in the group of foodborne zoonotic pathogens.

The dissertation is devoted to the study of the distribution, peculiarities of the livestock (cattle, pigs, broiler chickens and turkeys), species, biological properties and methods of isolation and preservation of isolates of bacteria of the genus *Campylobacter* in Ukraine.

The dissertation presents the results of studies on the indication of *Campylobacter* according to ISO 10272-1:2017, the culture, morphological and

biochemical properties of bacteria of the genus *Campylobacter* isolated from samples of biological material of domestic animals and children (in collaboration with specialists of the bacteriological laboratory of the Municipal Non-Profit Enterprise 'City Clinical Hospital No. 9' of the Dnipro City Council) for acute intestinal infections (AI). The susceptibility of the isolates to antibacterial drugs was studied in accordance with the susceptibility standards of the European Committee for the determination of antibacterial susceptibility (EUCAST). The density and structure of the formed biofilm in *Campylobacter* isolates under different temperature conditions were investigated. Molecular genetic studies were carried out to identify the toxin-synthesising capacity of *Campylobacter*. The complete genome sequencing of *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* isolates was carried out to study resistance and pathogenicity genes. The effectiveness of the use of nutrient media in the process of detection, isolation, preservation and reproduction of *Campylobacter* spp. properties after cryopreservation and lyophilisation was determined. The optimal mode of long-term storage at low temperatures was selected.

The results of routine studies on antimicrobial resistance of zoonotic and commensal bacteria in veterinary medicine for 2021, which were conducted in accordance with the main provisions of the WHO Global Strategy for the Containment of Antimicrobial Resistance, the State Strategy approved by the Government of Ukraine, as part of the implementation of the state policy to contain the development of antimicrobial resistance and reduce the risks of the formation and spread of antibiotic-resistant strains in livestock, were analysed. During the routine studies, samples of ligated cecum from cattle, pigs, broiler chickens and turkeys (n=2120) were examined, resulting in the isolation and partial identification of 21.1% (448) of commensal and zoonotic microorganisms, including *Escherichia coli* - 7.9% (169), *Salmonella* spp. 0.9% (19), *Enterococcus faecium* - 2.7% (57), *Enterococcus faecalis* - 8.0% (170) and *Campylobacter* spp. 1.6% (33). Among the *Campylobacter* spp. isolates, 42.4% (14) were poly/multidrug-resistant, 45.5% (15) were resistant to 1 - 2 groups of antibiotics, and 12.1% (4) were sensitive. The geographical distribution of *Campylobacter* spp. in the farms of Dnipropetrovska, Lvivska, Cherkaska, Chernihivska, Khersonska and Khmelnytska oblasts was established. The

percentage of broiler chickens affected reached 3.5% (26/746), pigs - 0.3% (2/691) and cattle - 0.9% (5/581). The isolates tested were resistant to ciprofloxacin in 54.5% (18/33) of cases, erythromycin in 60.6% (20/33) and tetracycline in 75.8% (25/33).

Based on the agreement No. 89 on cooperation and organisation of relations concluded between the National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine and the Municipal Non-Profit Enterprise 'City Clinical Hospital No. 9' of the Dnipro City Council, the reporting data for the period from 2020 to 2023 on the species affiliation and sensitivity to antibacterial drugs (ADs) of *Campylobacter* spp. isolates isolated from children with ARI were analysed. It was found that among 293 isolates, *Campylobacter jejuni* had the highest representation - 55.3% (162/293). *Campylobacter coli* was less numerous - 37.2% (109/293) and *Campylobacter lari* - 7.5% (22/293). It was found that *Campylobacter* spp. were largely resistant to fluoroquinolones 83.3% (244/293), tetracyclines 53.6% (157/293) and macrolides 11.6% (34/293). The highest resistance to ciprofloxacin was among *Campylobacter lari* isolates - 100.0% (22/22) and *Campylobacter jejuni* - 84.6% (137/162), while *Campylobacter coli* isolates showed the highest resistance to macrolides - 16.5% (18/109). In total, 8.9% (26) of *Campylobacter* spp. isolates were found to be sensitive to ABP, 87.0% (255) were mono-resistant (to 1 - 2 groups of antibiotics) and 4.1% (12) were multidrug-resistant.

In accordance with the research topic (state registration number 0123U102336) 'Biological properties and etiological role of *Campylobacter* in the occurrence of foodborne toxic infections in Ukraine' and the initiative topic (state registration number 0118U100594) 'Development of new and improvement of existing approaches, methods and tools for monitoring, risk assessment, prognostication, diagnosis, treatment and prevention of animal diseases', a study was conducted to identify campylobacteriosis pathogens among livestock (cattle, pigs, broiler chickens and turkeys). During May-September 2023, samples (n=138) of ligated cecum from broiler chickens (n=76), turkeys (n=30), pigs (n=20) and cattle (n=12) were collected at random at slaughterhouses in Vinnytsia, Volyn, Kyiv and Cherkasy regions. As a result of the research, 33 isolates of *Campylobacter* spp. were isolated, which is 23.9% of the lesions. The level of infection of broiler chickens with *Campylobacter*

was 26.3%, turkeys - 3.33%, pigs - 55.0%, cattle - 8.33%. The types of isolates were determined: *Campylobacter coli* - 75.8% and *Campylobacter jejuni* - 24.2%, with 70% of isolates identified as *Campylobacter coli* in broiler chickens. The majority of isolates from animals and poultry were resistant to ciprofloxacin 72.7% (24/33) and tetracycline 60.6% (20/33). In total, 9.1% (3) of *Campylobacter* spp. isolates were found to be susceptible to antibacterial drugs, 78.8% (26) were mono-resistant, and 12.1% (4) were multidrug-resistant.

The ability of *Campylobacter* to form biofilms of different density and structure at different cultivation temperatures was investigated. It was found that under aerobic conditions, the ability of *Campylobacter* to form biofilms increases compared to microaerobic conditions. The level of biofilm polysaccharide expression at 37°C under aerobic conditions increased significantly, indicating the formation of a protective barrier against oxygen and contributing to biofilm thickening. The increased level of biofilm formation in aerobic conditions is an adaptation that allows *Campylobacter* to survive in atmospheric conditions and is important for transmission to humans through the food chain.

The presence of pathogenicity determinants in the studied *Campylobacter* (4 isolates from broilers) - the *cdtA* gene, which is part of the triad of genes (*cdtA*, *cdtB* and *cdtC*) necessary for the synthesis of an active ternary holotoxin, which causes complete cellular toxicity, was established. The presence of this gene confirms the presence of toxin-producing capacity in *Campylobacter*.

Whole genome sequencing revealed the presence of pathogenicity factors and antimicrobial resistance (AMR) determinants in the studied *Campylobacter* (*Campylobacter coli* isolate from broiler chickens and *Campylobacter jejuni* isolate from turkeys), including multidrug resistance pumps that may affect resistance to fluoroquinolones, macrolides and aminoglycosides. Whole-genome sequencing allowed us to study the genetic sequences of the isolates and compare them with those of known strains. The genome of *Campylobacter coli* isolated from a broiler is similar to the reference strain *Campylobacter coli* OR12 (GenBank accession CP013733.1), a colonisation-resistant and aerotolerant strain isolated from a poultry farm. The genome of *Campylobacter jejuni* is closely related to *Campylobacter jejuni* subsp.

jejuni NCTC 11168 (GenBank accession SZUC000000000.1; ATCC 700819), which is isolated from humans and recognised as a reference strain.

It was found that lyophilisation and cryopreservation are the most effective methods for long-term storage of *Campylobacter*. A collection of *Campylobacter* spp. isolates has been created to study molecular genetic and biological properties, as well as as museum specimens (to study the evolution of isolates over time). Lyophilisation ensures a high level of viability of cultures for several years, while freezing at $-70 \pm 5^{\circ}\text{C}$ requires a constant uninterrupted supply of electricity to ensure stable operation of the low-temperature freezer. It was found that when lyophilised *Campylobacter* isolates were stored at $-18^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ for 12 months, *Campylobacter* lost 0.15% of viable microbial cells from the initial state. Thus, lyophilisation was found to be the most suitable method for long-term storage of *Campylobacter* isolates in our study

Keywords: bacterial zoonoses, foodborne pathogens, antimicrobial resistance, macrolides, fluoroquinolones, domestic animals, bacteriology, isolates, *Campylobacter* spp., *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni*, species identification, indication, nutrient media, biofilm, whole-genome sequencing, culture collection.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у періодичних наукових виданнях,

включених до категорії «А»

Переліку наукових фахових видань України

та/або у закордонних виданнях, проіндексованих у базах даних

Scopus та/або Web of Science Core Collection

1. **Shchur N.**, Chechet O., Mazur T., Martyniuk O., Gorbatiuk O., Buchkovska H., Musiets I., Ordynska D., Finkova O., Moskalenko L., Ponomaryova-Gerasimyuk T., Lusta M., Nedosekov V. Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* isolated from animals and poultry in Ukraine. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*. 2023. Vol. 11 (5). P. 852–863. (Shchur N. проведено бактеріологічні дослідження зразків за планових досліджень щодо протимікробної резистентності зоонозних та комменсальних бактерій у ветеринарній медицині; виділено та ідентифіковано, на основі морфологічних властивостей мікроорганізмів, ізоляти *Campylobacter* spp., систематизовано результати досліджень, підготовлено рукопис до друку відповідно до вимог видання. Chechet O. проведено організацію лабораторних досліджень та відбір біологічного матеріалу. Mazur T. визначено актуальність, сформульовано наукову новизну. Martyniuk O. проведено літературний пошук, порівняльний аналіз досліджень та визначено відповідні узгодження і відмінності. Gorbatiuk O. визначено чутливість виділених ізолятів до АБП. Buchkovska H. розроблено робочу інструкцію з підготовки зразків для проведення досліджень. Musiets I. розроблено програму дослідження. Ordynska D. проведено бактеріологічні дослідження зразків. Finkova O. виконано статистичну обробку отриманих результатів. Moskalenko L. проведено підготовку зразків до досліджень. Ponomaryova-Gerasimyuk T. підібрано селективні середовища для ізоляції *Campylobacter*. Lusta M. зроблено оформлення ілюстративного матеріалу до статті. Nedosekov V. здійснено узагальнення отриманих результатів; керівництво з написання рукопису; підготовлено висновки).

2. Chechet O. N., Gorbatyuk O. I., Rublenko I. O., Kuryata N. V., Buchkovska G. A., Musiets I. V., **Shchur N. V.**, Shalimova L. O., Ordynska D. O., Balanchuk L. V., Togachynska L. V. Zoonotic and commensal bacteria from pigs with acquired antimicrobial resistance. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2023. Vol. 14 (4). P. 624–629. (*Shchur N. V. проведено бактеріологічні дослідження зразків, виділено та ідентифіковано, на основі морфологічних властивостей мікроорганізмів, ізоляти Campylobacter spp., систематизовано результати досліджень. Chechet O. N. проведено організацію лабораторних досліджень та відбір біологічного матеріалу. Gorbatyuk O. I. сформульовано наукову новизну, узгоджено вимоги до оформлення статті з редколегією журналу. Rublenko I. O. здійснено узагальнення отриманих результатів. Kuryata N. V. визначено чутливість виділених ізолятів до АБП. Buchkovska G. A. проведено аналіз літературних даних. Musiets I. V. розроблено програму дослідження. Shalimova L. O. підібрано селективні середовища для ізоляції зоонозних патогенів. Ordynska D. O. розроблено робочу інструкцію з підготовки зразків для проведення досліджень. Balanchuk L. V. здійснено підготовку зразків для проведення досліджень. Togachynska L. V. виконано статистичну обробку отриманих результатів*).

3. **Shchur N.**, Mazur T., Katsaraba O., Halka I., Shalimova L., Moskalenko L., Ponomariova-Herasymiuk T., Lusta M., Nedosekov V. Improving the efficiency of *Campylobacter* spp. isolation from livestock and poultry in Ukraine. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*. 2024. Vol. 12 (10). P. 1862–1874. (*Shchur N. проведено організацію лабораторних досліджень та відбір біологічного матеріалу, проведено модифікацію методів виділення зі скороченням часу культивування та одночасним застосуванням протилежних за складом селективних живильних середовищ, виділено ізоляти Campylobacter spp., визначено актуальність, сформульовано наукову новизну та практичне значення результатів досліджень, підготовлено рукопис до друку відповідно до вимог видання. Mazur T. розроблено програму дослідження. Katsaraba O. проведено аналіз літературних даних. Halka I. проведено підготовку зразків для проведення досліджень. Shalimova L.*

ідентифіковано виділені ізоляти за допомогою методу MALDI-TOF MS на аналізаторі VITEK. Moskalenko L. розроблено робочу інструкцію з підготовки зразків для проведення досліджень. Ponomariova-Herasymiuk T. підібрано селективні середовища для ізоляції *Campylobacter* spp. Lusta M. зроблено оформлення ілюстративного матеріалу до статті. Nedosekov V. здійснено узагальнення отриманих результатів, керівництво з написання рукопису, підготовлено висновки).

4. **Shchur N. V.**, Stepanyi D. O., Shuliak S. V., Balanchuk L. V., Skliar V. V., Moskalenko L. M., Ponomarova-Herasymiuk T. M., Lusta M. V., Nedosekov V. V. Phenotypic patterns antimicrobial resistance in *Campylobacter* spp. in Ukraine. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2024. Vol. 15 (3). P. 635–641. (Shchur N. V. виділено ізоляти *Campylobacter* spp., зроблено аналіз та порівняння отриманих результатів щодо АМР ізолятів *Campylobacter* spp. від дітей, тварин та птиці, проведено ліофілізацію ізолятів *Campylobacter* spp., виділених від тварин та птиці; систематизовано результати досліджень, визначено мету, актуальність та практичне значення результатів досліджень, узгоджено вимоги до оформлення статті з редколегією журналу. Stepanyi D. O. розроблено програму дослідження; сформульовано наукову новизну. Shuliak S. V. проведено літературний пошук наявних досліджень, які наближені до опублікованих авторами та визначено відповідні узгодження і відмінності. Balanchuk L. V. виконано статистичну обробку отриманих результатів. Skliar V. V. визначено чутливість ізолятів *Campylobacter* spp. до АБП відповідно рекомендаціям EUCAST. Moskalenko L. M. здійснено організацію лабораторних досліджень та відбір біологічного матеріалу. Ponomarova-Herasymiuk T. M. підібрано селективні середовища для ізоляції *Campylobacter* spp. Lusta M. V. визначено чутливість клінічних ізолятів до АБП. Nedosekov V. V. здійснено узагальнення отриманих результатів, керівництво з написання рукопису; підготовлено висновки).

5. Halka I., **Shchur N.**, Bortz E., Mandyhra S., Nedosekov V., Katsaraba O., Goodfellow I., Drown D. M., Kovalenko G. O. Genome Sequences of Antimicrobial-Resistant *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni*, Isolated

from Poultry in Ukraine. Microbiology Resource Announcements. 2024. Vol. 13. Iss. 12. e00795-24. (Shchur N. виділено ізоляти *Campylobacter* spp., проведено видову ідентифікацію та тестування на чутливість до АБП, здійснено низькотемпературне зберігання ізолятів до початку досліджень. Halka I. проведено організацію лабораторних досліджень. Bortz E. виконано визначення повної послідовності генома *Campylobacter* spp. Mandyhra S. здійснено підготовку зразків до досліджень. Nedosekov V. сформульовано наукову новизну, визначено практичне значення результатів досліджень. Katsaraba O. проведено аналіз літературних даних. Goodfellow I. розроблено програму досліджень. Drown D. M. проведено аналіз повних геномних послідовностей *Campylobacter* spp. Kovalenko G. O. здійснено узагальнення отриманих результатів, узгоджено вимоги до оформлення статті з редколегією журналу).

**Стаття у науковому виданні,
включеному до Переліку наукових фахових видань України**

6. Mazur T., **Shchur N.**, Boianovskyi S. Immunosuppressive activity of *Campylobacter jejuni* isolates in relation to the cellular link of the body's immunoprotection. Ukrainian Journal of Veterinary Sciences. 2022. Vol. 13 (3). P. 34–41. (Shchur N. виділено ізоляти для проведення досліджень, визначено мету, актуальність та практичне значення результатів досліджень, сформульовано наукову новизну, проведено аналіз літературних даних. Mazur T. розроблено програму дослідження, здійснено узагальнення отриманих результатів, узгоджено вимоги до оформлення статті з редколегією журналу. Boianovskyi S. здійснено постановку полімеразної ланцюгової реакції; статистичну обробку отриманих результатів).

Тези наукових доповідей

7. **Щур Н. В.**, Мазур Т. В. Емерджентність кампілобактеріозу. Єдине здоров'я – 2022: Міжнародна наукова конференція, присвячена 100-річчю кафедр факультету ветеринарної медицини Національного університету біоресурсів і природокористування України, м. Київ, 22–24 вересня 2022 року: тези доповіді. Київ, 2022. С. 306–307. (*Щур Н. В. проведено аналіз літературних джерел, виділено ізоляти *Campylobacter* spp. та проведено тестування на чутливість до АБП, взято участь у написанні тез. Мазур Т. В. систематизовано дані мікробіологічних досліджень, здійснено узагальнення отриманих результатів та керівництво з написання тез*).

8. **Shchur N.**, Mazur T., Nedosekov V. Monitoring studies of animal and poultry campylobacteriosis in Ukraine. Microbiology and Immunology – the development outlook in the 21st century: IV International Scientific Conference, Kyiv, September 22–23, 2022: abstracts book. Kyiv, 2022. С. 49. (*Shchur N. проведено аналіз літературних джерел, виділено ізоляти *Campylobacter* spp. та проведено тестування на чутливість до АБП, взято участь у написанні тез. Mazur T. систематизовано дані мікробіологічних досліджень. Nedosekov V. підготовлено висновки, здійснено узагальнення отриманих результатів та керівництво з написання тез*).

9. **Shchur N.**, Nedosekov V., Finkova O., Moskalenko L., Ponomaryova-Gerasimyuk T., Lusta M. Identification of *Campylobacter* spp. in Ukraine: Conference: ASM Microbe 2023, Houston, June 15–19, 2023: abstracts book. Houston, 2023. Vol. 13. (*Shchur N. проведено бактеріологічні дослідження зразків, виділено та ідентифіковано ізоляти *Campylobacter* spp., систематизовано результати досліджень, взято участь у написанні тез. Nedosekov V. здійснено узагальнення отриманих результатів, керівництво з написання тез, підготовлено висновки. Finkova O. виконано статистичну обробку отриманих результатів. Moskalenko L. проведено підготовку зразків до досліджень. Ponomaryova-Gerasimyuk T. підібрано селективні середовища для ізоляції *Campylobacter*. Lusta M. проведено тестування на чутливість до АБП*).

10. **Щур Н. В.**, Чечет О. М., Горбатюк О. І., Мусієць І. В., Мех Н. Я., Баланчук Л. В., Шалімова Л. О., Тогачинська Л. В. Збудники кампілобактеріозу як представники зоонозів та емерджентних харчових токсикозів. Recent Trends in Science: II Міжнародна науково-практична інтернет-конференція, м. Дніпро, 4–5 травня 2023 року: тези доповіді. Дніпро, 2023. С. 308–310. (Щур Н. В. здійснено підготовку зразків для проведення досліджень, виділено ізоляти *Campylobacter* spp., визначено мету, актуальність та практичне значення результатів досліджень, проведено узагальнення отриманих результатів, взято участь у написанні тез. Чечет О. М. проведено організацію лабораторних досліджень. Горбатюк О. І. сформульовано наукову новизну. Мусієць І. В. розроблено програму досліджень. Мех Н. Я. виконано статистичну обробку отриманих результатів. Баланчук Л. В. розроблено робочу інструкцію з підготовки зразків для проведення досліджень. Шалімовою Л. О. проведено автоматизований тест TEMPO CAM з системою TEMPO (bioMerieux, Франція) для виявлення та підрахунку термостійких видів *Campylobacter*. Тогачинською Л. В. проведено аналіз літературних джерел).

11. Курята Н., Чечет О., Рубленко І., Горбатюк О., Мусієць І., Бучковська Г., Ординська Д., Мех Н., Баланчук Л., Тогачинська Л., **Щур Н.** Видовий склад та частота виділення серед птиці в Україні коменсальних і зоонозних бактерій з набутою антибіотикорезистентністю. Безпечність та якість харчових продуктів у концепції «Єдине здоров'я»: науково-практична онлайн конференція, м. Львів, 1–2 червня 2023 року: тези доповіді. Львів, 2023. С. 48–49. (Щур Н. В. проведено бактеріологічні дослідження зразків за планових досліджень щодо протимікробної резистентності зоонозних та коменсальних бактерій, виділено та ідентифіковано ізоляти *Campylobacter* spp., визначено чутливість виділених ізолятів до АБП, систематизовано результати досліджень. Курята Н. В. проведено підготовку зразків до досліджень. Чечет О. М. проведено організацію лабораторних досліджень та відбір біологічного матеріалу. Рубленко І. О. визначено актуальність, сформульовано наукову новизну. Горбатюк О. І. взято участь у написанні

тез. Мусієць І. В. проведено аналіз літературних джерел. Бучковською Г. А. розроблено робочу інструкцію з підготовки зразків для проведення досліджень. Ординською Д. О. розроблено програму досліджень. Мех Н. Я. проведено бактеріологічні дослідження зразків. Баланчук Л. В. виконано статистичну обробку отриманих результатів. Тогачинською Л. В. здійснено підготовку зразків для проведення досліджень).

12. **Shchur N.**, Nedosekov V., Finkova O., Moskalenko L., Ponomaryova-Gerasimyuk T., Lusta M. Optimizing the detection of *Campylobacter* spp. in Ukraine. International Symposium of the World Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Lyon, France, June 29 – July 01, 2023: abstracts book. Lyon, 2023. P. 1. (Shchur N. проведено організацію лабораторних досліджень та відбір біологічного матеріалу, проведено модифікацію методів виділення *Campylobacter* spp., виділено ізоляти *Campylobacter* spp. та ідентифіковано за допомогою методу MALDI-TOF MS на аналізаторі VITEK, взято участь у написанні тез. Nedosekov V. здійснено узагальнення отриманих результатів, керівництво з написання тез, підготовлено висновки. Finkova O. розроблено програму дослідження. Moskalenko L. проведено підготовку зразків до досліджень. Ponomaryova-Gerasimyuk T. підібрано селективні середовища для ізоляції *Campylobacter*. Lusta M. визначено мету, актуальність та практичне значення результатів досліджень).

13. **Щур Н.**, Чечет О., Недосєков В. *Campylobacter* spp. як харчові патогени: аналіз властивостей та індикації. Біобезпека, захист та благополуччя тварин: Міжнародна науково-практична конференція, м. Київ, 28 листопада 2023 року: тези доповіді. Київ, 2023. С. 123–125. (Щур Н. В. проведено аналіз літературних джерел, здійснено підготовку зразків для проведення досліджень, виділено та ідентифіковано ізоляти *Campylobacter* spp., взято участь у написанні тез. Чечет О. М. визначено практичне значення результатів досліджень. Недосєковим В. В. здійснено узагальнення отриманих результатів, керівництво з написання тез, підготовлено висновки).

14. **Щур Н.**, Чечет О., Луста М., Недосєков В. *Campylobacter* spp. – погляд в концепції «Єдине здоров'я». Найголовніші досягнення у сфері охорони здоров'я та ветеринарії для людства: Міжнародна наукова конференція, м. Рига, 7–8 лютого 2024 року: тези доповіді. Рига, 2024. С. 100–104. (Щур Н. В. проведено аналіз літературних джерел, здійснено підготовку зразків для проведення досліджень, виділено та ідентифіковано ізоляти *Campylobacter* spp., взято участь у написанні тез. Чечет О. М. визначено практичне значення результатів досліджень. Лустою М. В. визначено чутливість виділених ізолятів до АБП. Недосєковим В. В. здійснено узагальнення отриманих результатів, керівництво з написання тез, підготовлено висновки).

15. **Щур Н.**, Недосєков В. Емерджентія ізолятів *Campylobacter*, резистентних до антибіотиків в Україні. Єдине здоров'я – 2024: Міжнародна наукова конференція, м. Київ, 19–20 вересня 2024 року: тези доповіді. Київ, 2024. С. 88–89. (Щур Н. В. проведено аналіз літературних джерел, здійснено підготовку зразків для проведення досліджень, виділено та ідентифіковано ізоляти *Campylobacter* spp., визначено чутливість виділених ізолятів до АБП, взято участь у написанні тез. Недосєковим В. В. визначено практичне значення результатів досліджень, здійснено узагальнення отриманих результатів, керівництво з написання тез, підготовлено висновки).

16. **Shchur N.**, Nedosekov V. Understanding *Campylobacter* Resistance in Ukraine: A Call for a One Health Approach. Актуальні аспекти розвитку ветеринарної медицини в умовах євроінтеграції: II Міжнародна науково-практична конференція науково-педагогічних працівників та молодих науковців, м. Одеса, 17–18 жовтня 2024 року: тези доповіді. Одеса, 2024. С. 165–166. (Shchur N. здійснено підготовку зразків для проведення досліджень, виділено та ідентифіковано ізоляти *Campylobacter* spp., визначено чутливість виділених ізолятів до АБП, систематизовано результати досліджень, взято участь у написанні тез. Nedosekov V. визначено практичне значення результатів досліджень, актуальність,

сформульовано наукову новизну, здійснено узагальнення отриманих результатів, керівництво з написання тез, підготовлено висновки).

17. **Shchur N.**, Nedosekov V., Moshynets O. Biofilm formation in *Campylobacter* spp. as a food safety risk factor. Єдине здоров'я: соціальний вимір» в рамках проекту програми ЄС Еразмус+ Модуль Жана Моне «Інтеграція політики та засад Єдиного здоров'я ЄС в Україні: Міжнародна конференції, м. Київ, 3 грудня 2024 року: тези доповіді. Київ, 2024. С. 13–16. *(Shchur N. здійснено підготовку зразків для проведення досліджень, виділено та ідентифіковано ізоляти *Campylobacter* spp., визначено чутливість виділених ізолятів до АБП, вивчено біоплівкоутворювальні властивості кампілобактерій, взято участь у написанні тез. Nedosekov V. систематизовано результати досліджень, визначено практичне значення результатів досліджень, сформульовано наукову новизну, керівництво з написання тез. Moshynets O. здійснено оцінку структури матриксу біоплівок цитохімічним методом, узагальнення отриманих результатів, підготовлено висновки).*

ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ	1
СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ	12
ЗМІСТ	21
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ І СКОРОЧЕНЬ	23
ВСТУП	25
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	35
1.1 Епізоотологія кампілобактеріозу у світі	35
1.2 Номенклатура, таксономія та класифікація кампілобактерій	41
1.2.1 Морфологічні властивості кампілобактерій	42
1.2.2 Культуральні та біохімічні властивості <i>Campylobacter</i> spp.	43
1.2.3 Антигенні характеристики та патогенні властивості бактерій роду <i>Campylobacter</i>	45
1.3 Лабораторна діагностика кампілобактеріозу	49
1.4 Методи отримання чистої культури бактерій роду <i>Campylobacter</i>	53
1.5 Ідентифікація кампілобактерій	55
Висновок до розділу 1	56
РОЗДІЛ 2. ВИБІР НАПРЯМКІВ ДОСЛІДЖЕНЬ. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	57
2.1 Дизайн дослідження	57
2.2 Методи відбору проб і підготовка їх до аналізу	63
2.3 Методи досліджень	63
2.3.1 Виділення чистих культур термофільних бактерій роду <i>Campylobacter</i>	63
2.3.2 Визначення чутливості вітчизняних ізолятів <i>Campylobacter</i> spp. до антибіотиків	64
2.3.3 Дослідження біоплівки <i>Campylobacter</i> spp.	66
2.3.4 Методи довготермінового зберігання культур <i>Campylobacter</i> spp.	68
2.3.5 Мас-спектрометрична ідентифікація ізолятів <i>Campylobacter</i> spp.	69
2.4 Виявлення генів патогенності у ізолятів <i>Campylobacter jejuni</i>	70
2.5 Статистична обробка результатів	73
Висновок до розділу 2	73
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ	74
3.1 Особливості епізоотології кампілобактеріозу в Україні.	74

3.2 Дослідження видів <i>Campylobacter</i> в розрізі програми планових досліджень антибіотикорезистентності зоонозних та комменсальних бактерій, ініціативної тематики та за ГКІ у дітей	79
3.2.1 Дослідження <i>Campylobacter</i> spp. серед поголів'я великої рогатої худоби при різних технологіях утримання.	82
3.2.2 Дослідження <i>Campylobacter</i> spp. серед поголів'я свиней при різних технологіях утримання.	87
3.2.3 Дослідження <i>Campylobacter</i> spp. у бройлерному птахівництві	90
3.3 Взаємозв'язок поширення <i>Campylobacter</i> spp. та ГКІ у населення.	95
3.4 Тестування та визначення ефективності методів отримання чистої культури <i>Campylobacter</i> spp.	100
3.4.1 Метод прямого нанесення	101
3.4.2 Метод збагачення	110
3.5 Доцільність застосування методу MALDI-TOF для ідентифікації культур <i>Campylobacter</i> spp.	112
3.6 Створення колекції ізолятів термофільних видів <i>Campylobacter</i> spp.	117
3.7 Біоплівкоутворення серед ізолятів <i>Campylobacter</i> .	121
3.8 Визначення факторів, що обумовлюють патогенність ізолятів <i>Campylobacter</i> spp.	127
3.8.1 Застосування ПЛР для виявлення гену (<i>cdtA</i>), що відповідає за синтез цитолетального розтягуючого токсину.	127
3.8.2 Секвенування повного геному <i>Campylobacter jejuni</i> та <i>Campylobacter coli</i> .	133
Висновок до розділу 3	140
РОЗДІЛ 4. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ	143
ВИСНОВКИ	155
ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ	157
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ЛІТЕРАТУРИ	158
ДОДАТКИ	192

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ І СКОРОЧЕНЬ

АБП – антибактеріальні препарати (згідно EUCAST);

АМР – антимікробна резистентність;

а/п – абортований плід;

АТСС – (American Type Culture Collection) американська типова колекція культур;

ВООЗ – Всесвітня організація охорони здоров'я;

ГКІ – гострі кишкові інфекції;

ДДМ – диско-дифузійний метод (Кірбі- Бауера);

Держпродспоживслужба України – Державна служба України з питань безпеки харчових продуктів та захисту споживачів;

ДНДІЛДВСЕ – Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи;

ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота;

ДСТУ – Державний стандарт України;

ECDC – (European Centre for Disease Prevention and Control) Європейське агентство з безпеки та контролю захворювань;

EFSA – (European Food Safety Authority) Європейське агентство з безпеки харчових продуктів;

ESBL – (Extended Spectrum β -lactamase) бета-лактамази розширеного спектру дії;

EUCAST – (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) Європейський комітет з визначення чутливості до антибактеріальних препаратів;

ЄС – Європейський Союз;

ЖС – живильне середовище;

ISO – міжнародний стандарт;

MALDI-TOF MS – (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass-Spectrometry) матрично– активована лазерна десорбційна / іонізаційна годино-пролітна мас-спектрометрія (МАЛДІ–ГП МС);

mCCD agar – (Blood Free *Campylobacter* Selectivity Agar Base) модифікована вугільна основа цефоперазону дезоксихолатного агару;

мкг – мікрограм;

мкл – мікролітр;

мкм – мікрометри;

МЛС – множинна лікарська стійкість / мультирезистентність;

м/н – мертвонароджений;

МОЗ – Міністерство охорони здоров'я;

МХА – агар Мюллера-Хінтона;

НАН України – Національна академія наук України;

НУБІП України – Національний університет біоресурсів та природокористування України;

ООН – Організація Об'єднаних Націй;

OD – оптична густина

ПБ – поживний бульйон;

ПЛР – полімеразна ланцюгова реакція;

п/м – паталогічний матеріал;

Р – резистентний;

Campylobacter spp. – кілька видів у межах роду *Campylobacter*;

с/г – сільськогосподарський;

ХТІ – харчові токсикоінфекції;

ФАО – Продовольча та сільськогосподарська організація Об'єднаних Націй;

ЦГЗ – Центр громадського здоров'я;

Ч – чутливий;

SD – стандартне відхилення

WGS – (Whole-genome sequencing) секвенування повного геному;

°C – градус Цельсія;

JEMRA – спільні наради експертів ФАО / ВООЗ з оцінки мікробіологічного ризику;

GHP – (Good hygiene practices) належна гігієнічна практика

КУО – колонієутворюючі одиниці

ВСТУП

Актуальність теми. Кампілобактеріоз (*Campylobacteriosis*) – значно розповсюджене інфекційне захворювання бактеріальної природи, спричинене представниками роду *Campylobacter*, яке уражає різні види домашніх і диких тварин, а також птахів. Захворювання характеризується гострим перебігом, поліморфністю клінічних проявів, ураженням травного тракту, репродуктивної системи, загальною інтоксикацією організму та здатністю до генералізації патологічного процесу, особливо за імунодефіцитів в організмі тварин та людини. Кампілобактеріоз є важливою зоонозною інфекцією, оскільки може передаватися людині через контакт із хворими тваринами, забруднену воду та харчові продукти [10, 35, 42, 156].

Класичні знання про *Campylobacter* spp. як комменсальні мікроорганізми кишечника ссавців та птахів останнім часом потребують перегляду з кількох причин. З одного боку суттєво зросли показники статистики із ізоляції кампілобактерій з організмів молодняку (курчат, поросят, ягнят і телят) з ознаками ентериту. З іншого боку, причиною такої патології серед свійських тварин (великої рогатої худоби, свиней, індиків та курей-бройлерів) у світовій ветеринарній практиці визначені два види - *Campylobacter jejuni* та *Campylobacter coli*. У дорослих тварин, окрім спорадичних випадків абортів у жуйних, кампілобактерії не спричиняють клінічні прояви інфекції.

За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) *Campylobacter* відноситься до високопріоритетних патогенів.

Вважається, що курятина – основне природне джерело інфекції *Campylobacter* [41, 117, 227]. У лютому 2023 року була скликана спільна нарада експертів Продовольчої та сільськогосподарської організації Об'єднаних Націй (ФАО) / Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) з оцінки мікробіологічного ризику (JEMRA) щодо контролю термотолерантних видів *Campylobacter jejuni* та *Campylobacter coli* у виробництві курей-бройлерів. За висновками зустрічі, щоб зменшити контамінацію курятини, запропоновано комплексний підхід від заходів біобезпеки на первинному виробництві до належної гігієнічної практики (GHP) під час переробки. Попередня нарада експертів ФАО / ВООЗ 2002 року, зазначила, що

існує залежність між поширеністю *Campylobacter* у гурті птахів та ймовірністю кампілобактеріозу людини. Таким чином зменшення поширеності зоонозного патогену серед птахопоголів'я має знизити рівень захворюваності у населення.

В Європейському Союзі (ЄС) у 2005 році кампілобактеріоз вперше перевищив випадки сальмонельозу і досі залишається найпоширенішою кишковою інфекцією людей [171]. За звітами Європейського агентства з безпеки харчових продуктів (EFSA) в 2022 році зареєстровано 137 107 підтверджених випадків кампілобактеріозу, що склало 43,1 випадок на 100 000 осіб населення, причому рівень захворюваності дітей до 4 років становив 15,6% [122]. У світі щороку стається понад 400 – 500 мільйонів випадків інфікувань кампілобактеріями, включаючи 200 мільйонів дітей [168, 312]. Зростання захворюваності на кампілобактеріоз потребує значних витрат на охорону здоров'я. За оцінками EFSA, вартість інфекції в ЄС становить 2,4 мільярда євро на рік, в США – 1,7 мільярда доларів США, в Канаді – 80 мільйонів доларів США, у Сполученому Королівстві – 51 мільйон фунтів стерлінгів [115, 211, 278, 304].

Кампілобактеріоз в країнах, де є програми епіднагляду, підлягає реєстрації. Так в ЄС, відповідно до Директиви 2003/99/ЄС, діє моніторинг зоонозних збудників та їх стійкості до дії антибактеріальних препаратів, де до переліку зоонозних патогенів включений *Campylobacter* [122]. Однак, в Україні дані про випадки кампілобактеріозу тварин та птахів недоступні [7, 299]. У звітах про роботу лабораторій ветеринарної медицини Держпродспоживслужби України позитивних результатів досліджень на кампілобактеріоз тварин та птахів за період з 2009 по 2024 роки не виявлено, за виключенням кількох спорадичних випадків абортів сільськогосподарських тварин (велика рогата худоба та свині).

Офіційні дані про випадки інфекції *Campylobacter* в Україні не співпадають з реальними результатами, що свідчить про недосконалу діагностику кампілобактеріозу [23]. Останні звіти ЦГЗ МОЗ України про випадки кампілобактеріозу демонструють середньорічний показник захворюваності з 2016 по 2024 рік на рівні 0,33 випадки на 100 000 осіб населення [53]. За належної діагностики кампілобактеріоз виявляють у 5 – 22% хворих на гострі кишкові інфекції (ГКІ) [176]. Підтвердженням цьому є випадки ГКІ та харчових

токсикоінфекцій (ХТІ) невстановленої етіології, які за 2024 рік в Україні склали більше 78 випадків на 100 000 осіб населення, а пік випадків (120,92) припав на 2017 рік [53]. До того ж у звітах Центру громадського здоров'я Міністерства охорони здоров'я (ЦГЗ МОЗ) України інформація про кампілобактеріоз обмежується декількома областями України [53]. При цьому фахівці Комунального некомерційного підприємства «Міська клінічна лікарня № 9» Дніпровської міської ради, встановили за період з 2017 по 2024 роки 477 випадків кампілобактеріозу у дітей за ГКІ, що становить 3,6% ураження.

Недостатній рівень діагностики кампілобактеріозу в Україні, відсутність обов'язкових досліджень для детекції *Campylobacter* як мікробіологічного показника безпечності харчових продуктів, складність технічного відтворення умов культивування, висока вартість діагностичної роботи, відсутність даних щодо позитивних випадків кампілобактеріозу у звітах лабораторій Держпродспоживслужби України, високий відсоток ГКІ невстановленої етіології та випадки ГКІ у дітей спричинених кампілобактеріями, склали основу для проведення цих досліджень.

Тому, актуальними є дослідження особливостей поширення кампілобактеріозу в Україні, встановлення видової циркуляції *Campylobacter spp.*, вивчення біологічних властивостей зоонозних патогенів та їх стійкості до антибактеріальних препаратів.

Враховуючи вищезазначене, дослідження на виявлення збудників кампілобактеріозу в природніх джерелах та вивчення їх характеристики є актуальним і необхідним для розуміння епідеміології *Campylobacter* в Україні. Впровадження системного моніторингу за зоонозним патогеном *Campylobacter* на всіх рівнях харчового ланцюга, з контролем антибіотикорезистентності та випадків інфекції *Campylobacter*, допоможе попередити та стримати поширення кампілобактеріозу та стійкості патогену до антибіотиків.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є частиною науково-дослідної роботи «Біологічні властивості та етіологічна роль кампілобактерій у виникненні харчових токсикоінфекцій в Україні» (номер державної реєстрації 0123U102336, 2023-2025 рр.), яка проводилась на базі кафедри

ветеринарної епідеміології та охорони здоров'я тварин Національного університету біоресурсів та природокористування України. А також в науково-дослідному бактеріологічному відділі Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики і ветеринарно-санітарної експертизи відповідно до науково-дослідної тематики «Оцінка ступеню поширення антибіотикорезистентності у збудників бактеріальних зоонозів в Україні» (номер державної реєстрації 0118U100599, 2019–2028 рр.) та «Розробка нових та вдосконалення існуючих підходів, методів та засобів моніторингу, оцінки ризику, прогнозування, діагностики, лікування та профілактики хвороб тварин» (номер державної реєстрації 0118U100594, 2019–2028 рр.).

Мета та завдання дослідження. Мета дослідження – дослідити поширення кампілобактеріозу серед свійських тварин (великої рогатої худоби, свиней, курей-бройлерів та індиків) в Україні, мікробіологічні властивості та молекулярно-генетичну характеристику ізолятів *Campylobacter jejuni* / *Campylobacter coli* та визначити їх антимікробну резистентність.

Для досягнення поставленої мети було передбачено вирішення наступних завдань:

- 1) Встановити поширення та видовий склад бактерій роду *Campylobacter* серед свійських тварин (великої рогатої худоби, свиней, курей-бройлерів та індиків).
- 2) Визначити антимікробну резистентність отриманих ізолятів.
- 3) Удосконалити схеми мікробіологічної діагностики *Campylobacter* spp. з використанням різних за складом живильних середовищ.
- 4) Дослідити культурально-морфологічні властивості виділених ізолятів *Campylobacter* spp.
- 5) Створити колекцію культур *Campylobacter* spp. для дослідження їх властивостей.
- 6) Дослідити рівень біоплівкоутворювальних властивостей ізолятів *Campylobacter jejuni* та *Campylobacter coli*.
- 7) Провести молекулярно-генетичні дослідження для виявлення детермінант патогенності та резистентності до антибактеріальних препаратів.

Об'єкт дослідження – мікробіологічні та молекулярно-генетичні властивості облигатних мікроаерофільних бактерій видів *Campylobacter jejuni* та *Campylobacter coli*, стійкість до антибактеріальних препаратів та методи діагностики.

Предмет дослідження – велика рогата худоба, свині, кури-бройлери, індики, ізоляти мікроаерофільних бактерій, біоплівка, гени стійкості до фторхінолонів, макролідів, тетрациклінів, аміноглікозидів, β -лактамів, селективні середовища.

Методи дослідження – епізоотологічні (обстеження та аналіз), бактеріологічні (бактеріологічний посів вмістимого лігатурованих сліпих кишок на культуральні середовища, інкубація посіву, мікроскопія та ідентифікація мікроорганізмів методом MALDI-TOF MS, визначення щільності утвореної біоплівки та її складу, визначення чутливості до антибіотиків), молекулярно-генетичні (ПЛР, повногеномне секвенування), статистичні (обробка цифрових показників результатів).

Наукова новизна одержаних результатів.

Вперше одержані дані щодо поширення та видової приналежності *Campylobacter*, виділених від свійських тварин (великої рогатої худоби, свиней, курей-бройлерів та індиків). Встановлено природно-географічні зони неблагополуччя щодо кампілобактеріозу на території України.

Одержані нові дані стосовно культурально-морфологічних характеристик *Campylobacter* spp., які мають характерні особливості росту в залежності від складу селективних та хромогенних мікробіологічних середовищ. Експериментально обґрунтовано застосування в поєднанні культуральних середовищ Bolton Broth та *Campylobacter* Agar для покращення виділення чистих культур та відновлення метаболічних процесів після низькотемпературного зберігання та ліофілізації.

Вперше одержані дані стосовно антимікробної резистентності виділених ізолятів *Campylobacter* spp. до декількох груп антибіотиків, відповідно стандартів чутливості Європейського комітету з визначення чутливості до антибактеріальних препаратів (EUCAST) на рівні 53.8% полірезистентних ізолятів від курей-бройлерів.

Вперше створено колекцію із 24 культур кампілобактерій, виділених від курей-бройлерів (20/24), індиків (2/24), свиней (1/24) та великої рогатої худоби

(1/24), для збереження сучасних бактерій роду *Campylobacter* для діагностичної та дослідницької роботи.

Вперше в Україні проаналізовано за показниками оптичної щільності та цитохімічного аналізу здатність до біоплівкоутворення ізолятів *Campylobacter* spp. за різних умов культивування, що дає розуміння про вірогідність виживання мікроаеробних бактерій у несприятливих умовах навколишнього середовища.

Вперше в Україні проведено повногеномне секвенування ізолятів виділених від птахів *Campylobacter jejuni* та *Campylobacter coli*, чим підтверджено ідентифікацію даних ізолятів та встановлено різновиди *Campylobacter*, що циркулюють в Україні. Вперше виявлено наявність генів, відповідальних за формування передачі факторів патогенності та детермінант антимікробної резистентності, вивчено генетичні послідовності отриманих ізолятів та порівняно з послідовностями відомих штамів, що внесені до геномної бази даних GenBank.

Наукову новизну підтверджено:

- деклараційним патентом України **Номер заявки а 2023 01092 (Додаток 1).**
- геномним проектом, що індексується в GenBank під номером доступу BioProject PRJNA1129571. Геномні збірки депоновані в GenBank під номерами доступу JBEWFL000000000 та JBEWFM000000000. Вихідні дані секвенування для цього проекту можна знайти в NCBI SRA під номером доступу PRJNA1129571 (Додаток 2).

Практичне значення одержаних результатів. Одержані результати поглиблюють сучасні знання про біологічні властивості мікроаеробних бактерій роду *Campylobacter*, збудників кампілобактеріозу. Висвітлюють поширеність кампілобактерій в різних біологічних нішах та різних природно-географічних зонах України, видову циркуляцію *Campylobacter* серед свійських тварин (великої рогатої худоби, свиней, курей-бройлерів та індиків). Досліджені бактерії роду *Campylobacter* демонструють здатність до утворення біоплівок за стресових умов. Встановлено фенотипічну та генотипічну антимікробну резистентність *Campylobacter*.

На підставі проведеного вивчення біологічних властивостей ізолятів мікроорганізмів роду *Campylobacter* задепоновано штам *Campylobacter jejuni*, що

виділений від курей-бройлерів. Штам володіє здатністю до утворення щільної біоплівки та резистентністю до фторхінолонів, макролідів та тетрациклінів. (Свідоцтво про первинне депонування штаму мікроорганізму в Депозитарії Державного науково-дослідного контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів від 18.10.2022р.), що дозволяє використовувати цей штам для потреб лабораторної діагностики та біотехнології (**Додаток 3**). Розроблений проект «Науково-практичних рекомендацій з бактеріологічної діагностики кампілобактеріозу тварин та птахів» (**Додаток**).

Результати дисертаційної роботи та розроблені науково-практичні рекомендації можуть бути використані спеціалістами державних лабораторій Держпродспоживслужби, слухачами факультетів післядипломного навчання, науковцями, викладачами та студентами вищих навчальних закладів III-IV рівнів акредитації зі спеціальності 211 – «Ветеринарна медицина» та фахівцями інших лабораторій.

Особистий внесок здобувача. Здобувачка особисто сформулювала ідею, яка лягла в основу дисертації, самостійно провела пошук, аналіз та узагальнення літературних джерел за темою дисертаційного дослідження, розробила дизайн експерименту та самостійно обрала методи досліджень, організувала та виконала заплановані експериментальні дослідження, здійснила інтерпретацію та статистичну обробку отриманих результатів, підготувала до друку публікації за темою дисертації.

Низку досліджень здобувачкою проведено спільно з науковим керівником, доктором ветеринарних наук, професором Мазур Тетяною Василівною та науковцями, які є співавторами окремих публікацій, включених до списку робіт за темою дисертації.

Бактеріологічні дослідження по виділенню бактерій роду *Campylobacter* були здійснені за консультативної підтримки завідувачки бактеріологічної лабораторії Комунального некомерційного підприємства «Міська клінічна лікарня №9» Дніпровської міської ради м. Дніпра, Москаленко Лариси Михайлівни і співробітників Лусти Максима Віталійовича та Пономарьової-Герасимюк Тетяни Михайлівни.

Дослідження біоплівки ізолятів *Campylobacter* spp. виконано за науково-консультативної підтримки старшого наукового співробітника Інституту молекулярної біології і генетики НАН України, кандидата біологічних наук Мошинець Олени Володимирівни.

Повногеномне секвенування підтримано фондом Wellcome Trust за рахунок гранту ARTIC Network Collaborative Award (грант 206298/B/17/Z) (Ganna Kovalenko та Ian Goodfellow – Department of Pathology, University of Cambridge, Cambridge, UK) та Премією інституційного розвитку (IDeA) Національного інституту загальних медичних наук Національного інституту охорони здоров'я за грантом № P20GM103395 (Eric Bortz – Department of Biological Sciences, University of Alaska Anchorage, Anchorage, Alaska, USA та Devin Drown – Department of Biology and Wildlife, University of Alaska Fairbanks, Fairbanks, Alaska, USA and Institute of Arctic Biology, University of Alaska Fairbanks, Fairbanks, Alaska, USA).

Ми висловлюємо глибоку вдячність нашим колегам за надану допомогу в проведенні досліджень.

Здобувачка особисто щиро дякує професору кафедри ветеринарної епідеміології та охорони здоров'я тварин Національного університету біоресурсів та природокористування України, доктору ветеринарних наук, професору Недосекову Віталію Володимировичу за науково-консультативну підтримку щодо проведення експериментальних досліджень, впровадження ідей, підготовці рукописів за темою дисертації та отримання вагомих результатів, які в повному обсязі розкрили тему дисертаційного дослідження.

Апробація результатів дисертаційних досліджень. Основні результати дисертаційної роботи доповідались, обговорювались, були схвалені та нагороджені призовим місцем на: Міжнародній науковій конференції «ЄДИНЕ ЗДОРОВ'Я – 2022» присвяченій 100-річчю кафедр факультету ветеринарної медицини Національного університету біоресурсів і природокористування України (Київ, Україна, 22–24 вересня 2022 року); IV Міжнародній науковій конференції «Мікробіологія та імунологія – перспективи розвитку в 21 столітті», Київський національний університет імені Тараса Шевченка (Київ, Україна, 22–

23 вересня 2022 року – нагороджена 3-м місцем за доповідь); II Міжнародній науково–практичній інтернет–конференції «Сучасні тенденції в науці» (Дніпро, Україна, 04 – 05 травня 2023 року); Науково–практичній онлайн–конференції «Безпечність та якість харчових продуктів у концепції «Єдине здоров'я», Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені Степана Гжицького (Львів, Україна, 01 – 02 червня 2023 року); Конференції Американської спілки мікробіологів «ASM Microbe 2023» (Houston, USA, 15–19 червня 2023 року); Міжнародному симпозіумі Всесвітньої асоціації ветеринарних лабораторних діагностів, ISWAVLD 2023 (Lyon, France, 29 червня – 01 липня 2023 року); Міжнародній науково–практичній конференції «Біобезпека, захист та благополуччя тварин», НМЦ ВПФО (Київ, Україна, 28 листопада 2023 року); Міжнародній науковій інтернет–конференції «Найголовніші досягнення у сфері охорони здоров'я та ветеринарії для людства», ISMA (Рига, Латвійська Республіка, 07 – 08 лютого 2024 року); Міжнародній науковій конференції «ЄДИНЕ ЗДОРОВ'Я – 2024», НУБІП України (Київ, Україна, 19–20 вересня 2024 року); II Міжнародній науково–практичній конференції науково–педагогічних працівників та молодих науковців «Актуальні аспекти розвитку ветеринарної медицини в умовах євроінтеграції», Одеський державний аграрний університет (Одеса, Україна, 17 – 18 жовтня 2024 року); Міжнародній конференції «Єдине здоров'я: соціальний вимір» в рамках проекту програми ЄС Еразмус+ Модуль Жана Моне «Інтеграція політики та засад Єдиного здоров'я ЄС в Україні» (Київ, Україна, 03 грудня 2024 року).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано загалом 17 наукових праць, з яких 2 статті у наукових виданнях, включених до Переліку наукових фахових видань України категорія «А», 1 стаття у наукових виданнях, включених до Переліку наукових фахових видань України категорія «Б», 3 статті у наукових виданнях, включених до міжнародних наукометричних баз даних Scopus та Web of Science Core Collection, 11 тез наукових доповідей.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційну роботу викладено на 212 сторінках комп'ютерного тексту. Вона складається з анотації, вступу, огляду

літератури, матеріалів та методів досліджень, результатів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, пропозицій виробництву, списку використаних джерел літератури, додатків. Дисертація ілюстрована 29 таблицями, 28 рисунками. Список літератури включає 322 джерела, з яких 266 – латиницею. До додатків увійшли сканкопія деклараційного патенту, первинного депонування, договору про співробітництво та організацію взаємовідносин між НУБП України та Комунальним некомерційним підприємством «Міською клінічною лікарнею №9» міста Дніпра, атестату про акредитацію Випробувального центру ДНДІЛДВСЕ. Скріншоти геномних збірок, що депоновані в GenBank під номерами доступу JBEWFL0000000000 *Campylobacter coli* та JBEWFM0000000000 *Campylobacter jejuni*. Скріншот розробленого проекту «Науково-практичних рекомендацій з бактеріологічної діагностики кампілобактеріозу тварин та птахів». Список опублікованих праць за темою дисертації.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Епізоотологія кампілобактеріозу у світі

Кампілобактеріоз (Campylobacteriosis) – інфекційне захворювання багатьох видів тварин, птахів і людини, викликане збудниками роду *Campylobacter*, яке характеризується поліморфністю клінічних проявів (ураженням репродуктивної системи (хронічні вагініти, метрити, орхіти), абортми, народженням нежиттєздатного приплоду, тимчасовим безпліддям, ураженням шлунково-кишкового тракту (ентероколіти, гастроентерити, гепатити), загальною інтоксикацією організму, здатністю до генералізації патологічного процесу в поодиноких випадках у новонароджених та людей з ослабленим імунітетом. Останнім часом кампілобактеріоз набуває значення як харчова токсикоінфекція у людей [1, 2, 8, 10, 23, 35, 42, 47].

Особливо вразливими щодо інфекцій *Campylobacter* є діти молодше 7 років, літні люди, особи зі слабкою резистентністю, працівники тваринницьких ферм та птахофабрик [41, 49, 96, 146]. Кампілобактеріоз відноситься до збудників «діареї мандрівників» [288]. З ініціативи ВООЗ 108 країн світу включили кампілобактеріоз до національних програм боротьби з кишковими інфекціями [42].

Основним резервуаром кампілобактерій є шлунково-кишковий тракт диких (хижі, водоплавні, синантропні) та свійських (кури, качки, гуси, індики та ін.) птахів, домашніх та сільськогосподарських тварин (велика рогата худоба, кози, вівці, свині, собаки, коти), гризунів, рептилій та молюсків у яких не проявляються клінічні ознаки захворювання [106, 125, 191, 227, 244]. Птахи, насамперед кури-бройлери, та продукти птахівництва є основним джерелом патогенних для людини термофільних видів *Campylobacter jejuni* та *Campylobacter coli*, відповідальних більш як за 95% випадків кампілобактерного ентериту людини [122, 133, 153, 227, 310]. Вміст *Campylobacter* в сліпих кишках домашніх птахів становить 1×10^8 КУО/г [66, 269]. Обсіменіння м'яса птахів та м'ясопродуктів вмістом шлунково-кишкового тракту відбувається при обробці туш під час забою (ошпарювання, патрання, миття зовні та в середині) [68, 94, 159]. Недотримання

гігієнічних вимог та споживання недостатньо термічно оброблених м'яса курей-бройлерів та продуктів птахівництва, або через перехресне зараження готової до вживання їжі через ножі, обробну дошку чи руки під час приготування сирі курки, веде до передачі цього патогену людям [91, 143, 206, 209, 313]. Споживання м'яса курей-бройлерів становить 50-70% випадків захворювання у людей [125, 138]. Іншими факторами ризику зараження *Campylobacter* є споживання непастеризованого (сирого) молока та забрудненої води, контакт з інфікованими тваринами чи фекаліями [42, 116, 167]. Кампілобактерії не розмножуються поза господарем, але виживають до кількох тижнів в продуктах харчування, особливо при зберіганні в умовах холодильника, при цьому *Campylobacter* не стійкий до заморожування та висихання [14, 18, 76].

Збудники кампілобактеріозу – *Campylobacter* spp. відомі ще з кінця XIX століття, але захворювання, викликане ними, почали вивчати тільки в 1909 - 1919 рр. коли вперше виділили збудника від абортів плодів тварин та назвали «*Vibrio fetus*» [88, 152]. В якості самостійної нозологічної одиниці кампілобактеріоз реєструється відносно недавно, що пояснюється особливостями перебігу захворювання, різноманітним клінічним проявом та надзвичайною поліморфністю самого збудника. У 1931 році Джонс за дизентерії у телят спостерігав потовщення слизової оболонки голодної кишки, що стало основою назви збудника «*Vibrio jejuni*» [64]. Через деякий час було підтверджено, що збудником ентеритів великої рогатої худоби є «*Campylobacter jejuni*» [127]. У 1944 році за ентериту свиней виділено «*Vibrio coli*» [113]. У 1956 році Гофстад пов'язав кампілобактеріоз з гепатитом птахів, оскільки із печінки хворих птахів було виділено *Campylobacter* [160]. Найчастіше збудником кампілобактеріозу птахів є *Campylobacter jejuni* рідше *Campylobacter coli* [197, 276]. В 1973 році *Campylobacter jejuni* вперше ідентифікований як причина бактеріального гастроентериту людини [111]. В 1977 році Скерроу дослідив зразки від пацієнтів з діареєю і виявив, що *Campylobacter jejuni* та *Campylobacter coli* є збудниками ГКІ частіше ніж *Salmonella*, *Shigella* та ентеропатогенна *Escherichia coli*. Скерроу передбачив, що *Campylobacter* виявиться

найпоширенішою причиною інфекційної діареї, і це визнали на початку 1990-х років [70, 118, 281, 321].

На кампілобактеріоз хворіють статевозрілі телиці, корови та вівцематки. Зараження найчастіше відбувається під час парування з хворим плідником, у препуціальному мішку чи спермі якого кампілобактерії зберігаються роками, або за штучного запліднення – інфікованою спермою. Кампілобактеріоз великої рогатої худоби викликається двома видами: *Campylobacter jejuni* та *Campylobacter fetus* (кишкові збудники), підвиди *Campylobacter fetus subspecies fetus* та *Campylobacter fetus subspecies venerealis*, останній має клінічну значимість, оскільки дорослі тварини втрачають свої репродуктивні властивості. Хвороба характеризується враженням статевих органів, перегулами, інфекційним безпліддям та абортами, які ускладнюються затримкою посліду, вагінітами, метритами та народженням нежиттєздатного приплоду. У бугаїв перебіг хвороби безсимптомний, супроводжується тривалим кампілобактеріоносійством [8, 36]. Безпліддя та аборти можуть бути спричинені кишковими збудниками *Campylobacter jejuni* та *Campylobacter fetus*, які не передаються статевим шляхом [54, 224]. У нетелів *Campylobacter fetus* може циркулювати до 10 місяців [8].

Велика кількість збудника виділяється під час абортів з плодом, навколоплідними водами, виділеннями зі статевих органів. Клініка кампілобактеріозу може варіювати від безсимптомного бактеріоносійства до важких форм захворювання. Перебіг інфекції, що викликана *Campylobacter jejuni* у дорослої великої рогатої худоби без клінічних ознак, а у телят зумовлює ентерити. У овець *Campylobacter jejuni* викликає аборти та генералізовані ураження [8, 11, 36].

На кампілобактеріоз хворіють кури, у яких відмічають зменшення несучості, зниження приросту живої маси та загибель курчат. Головним збудником птахів є *Campylobacter jejuni* [4, 41, 49].

На сьогодні кампілобактеріоз відноситься до найбільш поширеної зоонозної бактеріальної інфекції людини [98, 134, 239]. За бібліометричним оглядом публікацій про *Campylobacter* за період з 2000 по 2015 рік, дослідниками

знайдено 5522 документи [289]. За період з 2014 по вересень 2022 року про інфекцію *Campylobacter* людини було знайдено 4766 публікацій, що вказує на зростання зацікавленості до зоонозу [207].

В країнах Європейського Союзу, починаючи з 2005 р., кампілобактеріоз є найбільш реєстрованою інфекцією шлунково-кишкового тракту. За даними EFSA у 2022 р. зареєстровано 137107 підтверджених випадків кампілобактеріозу, з них понад 10 тис. госпіталізацій з летальністю 0.04%. Випадки кампілобактеріозу зареєстровані у всіх вікових групах, найбільше у дітей до 4 років, що склало 15.6% [122, 255]. Кампілобактеріозна інфекція набуває поширення у світі. В Новій Зеландії в 2022 році зареєстровано 5878 випадків кампілобактеріозу, що становить 114.7 випадків на 100 000 осіб населення [161]. В Австралії до 146.8 випадків на 100 000 осіб населення, в Канаді – 28.6 на 100 000, в США – 19.5 [207]. Відмічають значне зростання захворюваності в Африці, Азії та на Близькому Сході, особливо у маленьких дітей [176, 189, 225].

Найчастіше зараження людей викликані видами *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter lari* та *Campylobacter fetus* [80, 122, 246, 281]. Збудники *Campylobacter jejuni* та *Campylobacter coli* циркулюють серед великої рогатої худоби, дрібної рогатої худоби, свиней та птахів, *Campylobacter lari* – серед морських птахів, *Campylobacter fetus* – серед великої рогатої худоби та дрібної рогатої худоби, *Campylobacter upsaliensis* – серед котів та собак [1, 41].

В Україні за звітами Центру громадського здоров'я МОЗ України в 2023 році зареєстровано 116 випадків кампілобактеріозу людей, що становить 0.28 на 100 000 осіб населення. Середньорічний показник захворюваності з 2016 по 2023 рік складає 0.34 випадки на 100 000. Серед гострих кишкових інфекцій невстановленої етіології, що склали за останніми даними 70.01 випадок на 100 000 осіб населення, суттєву частку становить кампілобактеріоз [53, 26]. За належної діагностики, кампілобактеріоз виявляють у 3-22% хворих на ГКІ [28, 29, 176]. В інфекційній патології людини провідну роль відіграють *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter lari* та *Campylobacter fetus* [38, 225]. Рідше інфікування відбувається видами *Campylobacter gracilis*,

Campylobacter helveticus, *Campylobacter hepaticus*, *Campylobacter hyointestinalis*, *Campylobacter insulaenigrae*, *Campylobacter sputorum*, *Campylobacter upsaliensis*, *Campylobacter ureolyticus* та інші [78, 80, 122, 246, 281], які вивчаються давно, але лабораторна ідентифікація все ще викликає труднощі.

Відомо, що патологію у тварин викликають види *Campylobacter* (Таблиця 1.1) [164].

Види *Campylobacter* та їх патогенна дія на організм свійських тварин та людини.

Таблиця 1.1

Види <i>Campylobacter</i>	Природне джерело	Викликає захворювання у тварин	Викликає захворювання у людей
<i>Campylobacter coli</i>	свині, свійські птахи, велика рогата худоба, вівці	гастроентерит, інфекційний гепатит	гастроентерит
<i>Campylobacter fetus</i> subsp. <i>fetus</i>	велика рогата худоба, вівці, рептилії	аборти	гастроентерит, бактеремія, менінгіт, менінгоенцефаліт, абсцес головного мозку, перинатальні інфекції, ендокардит, тромбофлебит, перикардит.
<i>Campylobacter fetus</i> subsp. <i>venerialis</i>	велика рогата худоба, вівці	інфекційне безпліддя	вагіноз
<i>Campylobacter fetus</i> subsp. <i>venerealis</i> bv. <i>intermedius</i>	велика рогата худоба	генітальний кампілобактеріоз (аборти, безпліддя)	-
<i>Campylobacter</i> <i>helveticus</i>	собаки, коти	гастроентерит	гастроентерит
<i>Campylobacter</i> <i>hepaticus</i>	птахи	гепатит (плямиста хвороба печінки)	відсутні дані

<i>Campylobacter jejuni</i>	домашні та дикі птахи, велика рогата худоба, свині	гепатит у птахів, аборти, гастроентерит	гастроентерит
<i>Campylobacter lari</i>	домашні та дикі птахи, коні, собаки, молюски	гастроентерит у птахів	гастроентерит
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	собаки, коти	гастроентерит	гастроентерит, аборт, бактеремія, абсцес молочної залози
<i>Campylobacter sputorum</i>	люди, велика рогата худоба, свині, вівці	аборти	гастроентерит, абсцеси, бактеремія

Campylobacter spp. здатний до колонізації кишківника домашніх птахів, зокрема курей-бройлерів, індиків, качок, в яких кампілобактеріоз має безсимптомний перебіг. Ці різновиди птиці вважають основним резервуаром і основною причиною інфекції, так як *Campylobacter* із кишківника легко проникають у харчовий ланцюг. Встановлено, що до 80% випадків інфікування є споживання м'яса птахів [20, 92, 114, 145, 158, 232, 259, 310].

Зараження у людей відбувається також через споживання непастеризованого (сирого) молока та молочних продуктів, яєць, неочищеної водопровідної води та контакту з хворими тваринами [24, 42, 72, 188, 234, 273].

Клінічні ознаки кампілобактеріозу включають діарею, спазми в животі, лихоманку, нудоту та блювоту. Більшість випадків є спорадичними та самообмежувальними, інкубаційний період зазвичай триває 2 – 10 днів, клінічні симптоми проявляються через 4 дні. За такої інфекції лікування антибіотиками не застосовують [70, 166]. Але можуть бути постінфекційні ускладнення пов'язані з нейропатіями – синдром Гійєна-Барре та Міллера-Фішера, а також з реактивним артритом, запальним захворюванням кишківника, септицемією [155, 156, 168]. Зростання захворюваності на кампілобактеріоз потребує значних витрат на охорону здоров'я, так за оцінками EFSA в ЄС вартість інфекції становить 2,4 мільярда євро на рік, в США - 1,7 мільярда доларів, у Канаді – 80

мільйонів доларів, у Великобританії – 51 мільйон фунтів стерлінгів та в Нідерландах – 82 мільйони євро [109, 211, 229].

Будучи харчовим патогеном та постійно перебуваючи під впливом антибіотиків, *Campylobacter* розвинув механізми стійкості до АБП, через що ВООЗ внесла *Campylobacter* до переліку пріоритетних патогенів для яких терміново потрібні нові антибіотики [240, 277, 290].

1.2 Номенклатура, таксономія та класифікація кампілобактерій

Згідно зі Списком прокаріотичних назв з положенням в номенклатурі (List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN)), що є онлайн-базою даних з дотриманням таксономічних вимог та постанов Міжнародного кодексу номенклатури прокаріотів, рід *Campylobacter* налічує 66 видів та 16 підвидів. Термотолерантні види *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter lari* та *Campylobacter upsaliensis* викликають кампілобактеріоз з ураженням кишкового тракту. *Campylobacter* це грам-негативні, тонкі, спірально зігнуті бактерії, що мають один повний завиток, або нагадують «кому» чи «крила чайки» з «гвинтоподібним» посуванням, неспороутворюючі, негемолітичні, неферментативні, оксидазопозитивні, каталазопозитивні, мікроаерофіли, капнофіли та гідробіонти. Колонії на селективних ЖС з вугіллям – сірі з металевим блиском, круглі, правильної форми з тенденцією до злиття. На селективних ЖС з кров'ю – кремові, круглі з ефектом «роїння». Оптимальна температура росту в діапазоні від 37°C до 42°C, за що їх віднесли до термофілів.

Кампілобактерії вперше були описані Теодором Ешеріхом в 1886 році після досліджень мазків слизової оболонки товстого відділу кишківника дітей, що померли від «дитячої холери», як не культивовані спіралевидні бактерії [100].

Перше виділення вібріоподібного організму «*Vibrio fetus*» зі слизу матки кітної вівці сталося у 1906 році в Англії Мак-Федієном і Штокманом (McFadyean і Stockman) [245, 282]. У 1919 році в Америці Смітом і Тейлором (Smith and Taylor) був виділений «*Vibrio fetus*» з абортів плоду великої рогатої худоби [10, 238]. У 1926 році захворювання вперше діагностував в бувшому Радянському Союзі В. Якимов [11]. В 1947 році з крові вагітних жінок,

що потрапили до лікарні з лихоманкою невідомого походження, після чого в них сталися викидні, Вінцентом (Vinzentet) були виділені аналогічні штами вібріонів. Джонс в 1931 році і Дойл в 1948 році виділили вібріони від хворих на діарею телят та свиней. Levi (1946) і King (1957) виділили подібний вібріон з крові людей, хворих на гастроентерит. У 1963 році Sebald і Veron на підставі специфічних характеристик та біологічних відмінностей з видами вібріонів, виділили окремий рід *Campylobacter*. Butzler та Skirrow розробили метод культивування *Campylobacter* spp., який поклав основу для досліджень властивостей цих мікроорганізмів [281]. У 1972 році *Campylobacter jejuni* вперше був виділений від людини як збудник діареї. У 1973 році Veron і Chatelain провели детальне дослідження таксономії вібріоподібних мікроорганізмів та запропонували види *Campylobacter fetus*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni* та *Campylobacter sputorum* з двома підвидами: *Campylobacter sputorum* subsp. *sputorum* та *Campylobacter sputorum* subsp. *bubulus* [88, 111, 238]. Вже до кінця 1980-х років було описано 14 видів. Вандам і Леві в 1991 році окремо розділили роди *Campylobacter* та *Arcobacter* [129].

Рід *Campylobacter* належить до родини *Campylobacteraceae*, ряду *Campylobacterales*, класу *Epsilonproteobacteria* типу *Proteobacteria*. Таксономія роду *Campylobacter* продовжує змінюватися завдяки відкриттям нових видів чи втраті вже вивчених таких як *Campylobacter pilori*, що в 1989 році виділили в окремий рід *Helicobacter* [48, 176, 307]. Рід *Campylobacter* наразі складається з 45 офіційно описаних видів та підвидів [100, 176, 249].

1.2.1 Морфологічні властивості кампілобактерій

Назва *Campylobacter* походить від грецьких слів «καμπύλος» і «βακτήρια», що означає «крива паличка» та описує типову морфологію S-подібних мікроорганізмів [164, 191].

Згідно з посібником із системної бактеріології Бергі, бактерії роду *Campylobacter* віднесено до анаеробні (мікроаерофільні), рухомі, спіральні, вібріодні, грамнегативні бактерії [55, 103].

Бактерій роду *Campylobacter* – грамнегативні тонкі, спірально вигнуті палички довжиною 0,5 – 5 мкм і завтовшки 0,2 – 0,8 мкм. Спор не утворюють [164, 317]. Зустрічаються різні морфологічні форми збудників: спіральні, вібріоїдні, нитчасті, S- подібні, можуть нагадувати «крила чайки» або кому [70, 253, 279]. У старих культурах чи в умовах стресу (голодування, висихання, зміни рН та температури, окислювальний стрес), одні види набувають сферичної форми або кокоїдної [27, 84, 132, 173, 210, 220, 237, 243, 274], інші – гіперспіралізовані [36]. Багатьма дослідниками визнано, що коккоподібна форма є життєздатною але не культивованою формою, тому не відновлюється після посіву на живильні середовища [63, 188, 274, 284]. Більшість видів є рухливі і характеризуються «гвинтоподібним» посуванням. Мають по одному полярному джгутику на одному чи обох кінцях клітини, які можуть в 2-3 рази бути довшими за саму клітину [23, 27, 128, 199]. Кампілобактерії добре фарбуються аніліновими барвниками: фуксином Циля розведеним (1:5), азур-еозином та кристалічним фіолетовим [16, 22, 86].

1.2.2 Культуральні та біохімічні властивості *Campylobacter*

Збудники кампілобактеріозу – мікроаерофіли (концентрація кисню 3 – 15%), капнофіли (5 – 10% CO₂), термофіли (30 – 46°C, оптимальна температура росту 40 – 42°C) та гідробіонти (зростають в середовищах з активністю води 0,997) [104, 111, 125, 184, 247, 279]. Деякі види можуть рости в аеробних умовах (20% O₂) інші, навпаки, в строго анаеробних [27, 164]. Ідеальним для культивування кампілобактерій є мікроаеробне середовище, що містить 3–10% CO₂, 3–15% O₂ та 85% N₂ [142]. *Campylobacter* нездатний до зростання при температурі нижче 30°C через відсутність генів білків холодового шоку, що відіграють роль у адаптації до низьких температур [13, 248, 279]. Оптимальна реакція середовища (рН) для росту бактерій у межах 6,5–7,5 [164, 177, 279]. *Campylobacter* зростає тривалий час, колонії формуються протягом 48-96 годин інкубації [31, 33, 57]. Додавання до середовища лізованової або дефібринованої крові, активованого вугілля захищає кампілобактерії від токсичної дії похідних кисню [44, 99, 272]. Зовні господаря, в умовах підвищеної концентрації кисню,

Campylobacter швидко гине, що ускладнює бактеріологічну діагностику [34, 163], особливо при порушенні відбору, умов перевезення зразків та культивування мікроорганізмів [285].

До термофільних видів належать *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter lari*, *Campylobacter upsaliensis*, *Campylobacter helveticusi*, *Campylobacter insulaenigrae* [164, 237].

Campylobacter дуже вимогливий до ЖС [200, 201]. Селективні середовища для виділення, доповнені неселективними агентами, класифікуються на дві групи: 1 – з кров'ю (використовують овечу або кінську кров) та 2 – з активованим вугіллям [94]. Для ефективного відновлення *Campylobacter* до ЖС додають селективні агенти (АБП) до яких кампілобактерії мають внутрішню стійкість це, насамперед, цефоперазон, бацитрацин, колістин, поліміксин В, рифампіцин, ванкоміцин та триметоприм [36, 99, 102]. Для джерела енергії своїх метаболічних процесів, кампілобактерії використовують амінокислоти або органічні кислоти, пов'язані із циклом Кребса, так як *Campylobacter* – хемоорганотрофи (не мають цукролітичних властивостей) [23, 31, 159].

За культивування в рідких ЖС у мікроаерофільних умовах *Campylobacter* spp. через 24 – 48 годин утворює незначне помутніння, з пухким осадом на дні пробірки, та при струшуванні муарові хвилі. В напіврідких ЖС ріст проявляється через 48-72 години культивування, при рості спостерігається тонке тендітне сірувате кільце, яке повільно піднімається із дна пробірки до поверхні середовища і стає більш щільним (1-3 мм) під поверхнею ЖС. На щільних ЖС ріст спостерігається через 48-96 годин. Колонії дрібні, круглої форми, добре контуровані, опуклі, вологі, сіро-блакитні з металевим блиском та з тенденцією до розростання [15, 16, 22, 36]. Величина, форма та розмір колоній залежать від концентрації агару та вологості ЖС, концентрації кисню в культивуючій атмосфері, від властивостей ізоляту, віку культури та ступеня її дисоціації. Описано чотири форми колоній видів *Campylobacter*: S-форма (гладенькі), М-форма (мукоїдні), R-форма (шорсткі) та Н-форма (скловидні) [36].

Всі термофільні кампілобактерії оксидазопозитивні, каталазопозитивні (за виключенням *Campylobacter upsaliensis*) та не утворюють індол. *Campylobacter*

coli продукує сірководень, не гідролізують ні сечовину, ні желатин. Відновлюють нітрати, не відновлюють нітрити. Тест Фогеса-Проскауера – негативний (не утворюють ацетилметилкарбінол). Негемолітичні [2, 38, 74].

Видова ідентифікація кампілобактерій ускладнена через низьку метаболічну активність мікроорганізмів [77]. Типування біохімічними тестами за допомогою гідролізу гіпурату натрію та виділенням $H_2S\uparrow$ дозволяє ідентифікувати *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* та *Campylobacter lari* [51, 260].

Види *Campylobacter jejuni* та *Campylobacter coli* ростуть при високих температурах (42°C), *Campylobacter fetus* при низьких (25–37°C) і без доступу кисню.

1.2.3. Антигенні характеристики та патогенні властивості бактерій роду *Campylobacter*.

Важливо відзначити, що незважаючи на свій патогенний потенціал, *Campylobacter jejuni* є природним мешканцем шлунково-кишкового тракту багатьох тварин і не завжди викликає захворювання. Однак при потрапленні в організм у достатніх кількостях або за участю певних патогенних штамів це може призвести до серйозного гастроентериту у людей.

Бактерії роду *Campylobacter* мають антигенні структури схожі з *Brucella* та *Yersinia*.

Основну антигенну структуру *Campylobacter* формують термостабільний О-антиген і термолабільний Н-антиген [317]. Соматичний О-антиген містить термостабільні ліпополісахариди та кислоторозчинні білкові фракції. Він визначає імунологічну специфічність кампілобактерій в реакції аглютинації, що дозволяє виділити 60 серогруп кампілобактерій (схема за Penner) [257]. Термолабільний білковий джгутиковий Н-антиген є основою імунодіагностикумів. Серотипування по Н-антигену (запропоноване Lior) дає можливість розпізнати більше 100 серотипів [95]. По антигенам *Campylobacter* поділяється на десятки біоварів. *Campylobacter jejuni* володіє кількома

загальними поверхневими антигенами, включаючи білок порин та флагелін [195, 231, 252, 253, 293, 314].

Кампілобактерії продукують термолабільний та термостабільний ентеротоксини, ендотоксин, що пов'язаний із ліпополісахаридами та наявністю джгутиків. Ентеротоксин по механізму дії схожий на ентеротоксин *Escherichia coli* та *Vibrio cholerae*, активує аденілатциклазу ентероцитів, що підвищує внутрішньоклітинну концентрацію цАМФ (циклічний аденозинмонофосфат). В результаті порушується трансмембранний транспорт іонів Na^+ та Cl^- із накопиченням їх у просвіті кишківника, що сприяє водянистій діареї, яка прогресує до кривавої. *Campylobacter* spp. виробляють цитотоксини, а ендотоксин *Campylobacter* руйнує клітини [35, 36, 162, 306].

Чинники, пов'язані з патогенністю *Campylobacter*, грають вирішальну роль в патогенності бактерій. Ці фактори включають активну рухливість, що полегшується джгутиками, хемотаксис, цитолетальний розтягуючий токсин (CDT), адгезію та фактори інвазії, які дозволяють йому колонізуватися, виживати та спричиняти захворювання в організмі людини [85, 102, 108, 136, 137, 182, 191, 212]. Доза інфікування складає від 350 до 10 000 клітин [78, 83]. Після потрапляння в організм забрудненої води чи контамінованої їжі, збудник проходить через кисле середовище шлунку і лужне середовище верхніх відділів тонкого кишківника [163]. Після чого відбувається етап хемотаксису і адгезії. Хемотаксис забезпечують білки – флагелліни FlaA і FlaB та регуляторний білок CheY, що є хемотаксичним рецептором [318].

Джгутики. Джгутики *Campylobacter* мають вирішальне значення для патогенезу. Забезпечуючи рухливість, вони допомагають проникненню кампілобактерій у в'язкий муциновий шар кишкових крипт, прикріпленню до слизової оболонки кишківника та виживанню *Campylobacter* в кислому середовищі [31, 126, 168, 188, 191]. Джгутик складається з трьох частин: базального комплексу тільця, гачка і джгутикової нитки. Базальне тільце кріпить джгутик у клітинній оболонці та містить джгутиковий експортний механізм та обертовий двигун. Гачок джгутика під прямим кутом з'єднує базальне тіло зі джгутиковою ниткою та забезпечує обертання джгутика, що забезпечує рух

бактерій [73, 90, 264]. Джгутикова нитка містить два білки флагеллінів FlaA і FlaB, які необхідні для повноцінної активності нитки [148]. Джгутик також має властивості секретійного механізму, який експортує білки в навколишнє середовище або в цитозоль клітини-господаря [130, 233]. Джгутик бере участь у формуванні біоплівки та адгезії [203, 266]. Ряд досліджень показали, що джгутики *Campylobacter* є вирішальними для колонізації [79, 124, 203, 218, 230].

Винятком є *Campylobacter gracilis* (нерухомий), за досліджень на тваринних моделях, нерухомі штами не могли колонізувати кишківник та *Campylobacter showae* (має кілька джгутиків) [221, 235].

Також відомо, що джутик є сильним імуногеном (стимулює клітини імунної системи), тому у перехворівших на кампілобактеріоз людей виробляються антиджгутикові антитіла [207, 228, 229, 308].

Хемотаксис. Здатність бактерій рухатися до сприятливого середовища, що містить високі концентрації поживних речовин (позитивний) або нижчу концентрацію токсичних речовин (негативний) хемотаксис. Хемотаксис відіграє важливу роль для вторгнення, а в поєднанні із рухливістю допомагає колонізувати кишківник господаря [78, 97, 208, 214, 296, 316]. Хемоаттрактантами для *Campylobacter* є проміжні продукти циклу трикарбонових кислот – органічні кислоти також вуглеводи, амінокислоти, складові жовчі та слизу [87, 191, 208]. Був знайдений аспартат як хемоаттрактант [23, 89, 265].

Капсула. *Campylobacter jejuni* має здатність покривати свою поверхню полісахаридною капсулою (CPS), що не притаманно для кишкового патогену. Капсула відіграє певну роль у стійкості до імунної системи господаря та протистоянні фагоцитозу [149, 179, 180, 181, 183, 216]. Наявність CPS відіграє певну роль у системних інфекціях. Досліджено, що за відсутності CPS втрачається здатність викликати системні інфекції у мишей та аборти у мурчаків. Полісахаридна капсула може зменшити адгезію в клітини-господаря і прикріплення неінкапсульованого *Campylobacter jejuni* буде значно вищим за інкапсульованого [208, 270].

Ліпоолігосахарид (LOS). LOS є компонентом зовнішньої мембрани бактерій, який імітує клітинні структури людини, допомагаючи *Campylobacter jejuni* уникати імунної відповіді господаря та виживати у агресивному навколишньому середовищі. Проте мімікрія між LOS деяких штамів *Campylobacter jejuni* та нейронними гангліозидами може викликати перехресну реакцію антитіл та призвести до аутоімунного захворювання – синдрому Гійєна-Барре [141, 169]. Вираженість симптомів кампілобактеріозу пов'язують із наявністю у складі LOS сілової кислоти, що призводить до посилення активації дендритних клітин людини і подальшій проліферації В-клітин. Пацієнти інфіковані *Campylobacter jejuni* з локусом LOS із виробленням сілової кислоти мали більш тривалий перебіг із симптомами кривавої діареї [152, 178, 208, 222].

Білки адгезії. *Campylobacter* продукує на своїй клітинній поверхні адгезивні білки, які полегшують йому прикріплення до кишкових епітеліальних клітин, дозволяючи занести інфекцію в кишківник [191, 294].

Частина білків адгезії *Campylobacter jejuni* взаємодіє з компонентом позаклітинного матриксу фібронектином (CadF).

Одним з адгезинів є білок зовнішньої мембрани *Campylobacter* CadF, іншим - фібронектиноподібний білок A (FlpA), які взаємодіють з фібронектином епітеліальних клітин господаря. Третім адгезином LlpA (ліпопротеїн *Jejuni* A), взаємодіє з білками поверхневого теплового шоку і таким чином прилипає до клітин [182, 190, 191, 251].

Цитолетальний розтягуючий токсин (Cytolethal Distending Toxin, CDT). Цей токсин перешкоджає нормальному клітинному циклу клітини-господаря, що призводить до розтягування клітин, зупинки клітинного циклу та, зрештою, смерті клітини. Вважається, що CDT сприяє розвитку діареї в інфікованих осіб [174]. Цитолетальний розтягуючий токсин найкраще охарактеризований серед токсинів, що виробляються видами *Campylobacter* такими як *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter lari*, *Campylobacter fetus* та *Campylobacter upsaliensis* [147, 174, 191, 198, 256].

Цитолетальний розтягуючий токсин (CDT) вперше був ідентифікований в 1988 році Джонсоном і Ліором [174, 297, 309]. Це термолабільний токсин [174],

який є гетеротримерним білковим екзотоксином [112, 297]. Токсин блокує цикл еукаріотичної клітини на стадії підготовки (G_2) до мітозу [283]. Генотоксин CDT належить до токсинів, які містять ферментативну субодиницю (CdtB) і дві субодиниці зв'язування (CdtA і CdtC), які кодуються опероном, що містить *cdta*, *cdtb* і *cdtc*. Субодиниці забезпечують повну активність голотоксину [150, 193, 194]. CdtB, проявляючи активність нуклеази та фосфатази, індукує розриви ДНК, що призводить до руйнування клітинної стінки та апоптозу Т-клітин, а CdtA та CdtC сприяють надходженню CdtB у клітини господаря [111, 112, 124, 192, 193, 194, 295]. Крім того токсин CDT відповідальний за вироблення інтерлейкіну IL-8 у людини, який активує Т- та В-лімфоцити з подальшим залученням макрофагів, нейтрофільних гранулоцитів та дендритних клітин до місця інвазії та викликає запалення кишківника, що призводить до діареї [102, 190, 208]. Крім токсину CDT деякі *Campylobacter* spp. синтезують гепатотоксин, шигаподібний токсин, холероподібний ентеротоксин та інші [78].

Першими при кампілобактеріозному ентериті з'являються IgM потім IgG і IgA. Співвідношення імуноглобулінів в організмі не тільки вказує про наявність кампілобактеріозу, а й про приблизні терміни перебігу хвороби. Високі титри IgG та IgM зберігаються протягом 3-4 тижнів перш ніж знизитися до вихідного рівня, а титри IgA – протягом перших тижнів після перенесеної хвороби [157, 177].

1.3 Лабораторна діагностика кампілобактеріозу.

Методи лабораторної діагностики мають вирішальне значення у розпізнаванні інфекції *Campylobacter*, оскільки захворювання характеризується різноманітністю клінічних проявів та широтою епізоотологічних особливостей [42, 45, 279]. Для діагностики кампілобактеріозу фекалії є основним біологічним матеріалом [154].

Існує ряд методів лабораторної діагностики кампілобактеріозу: мікроскопічний, бактеріологічний, біологічний, серологічний [112].

Мікроскопічний метод. Метод застосовується для попереднього виявлення кампілобактерій в мазках із патологічного матеріалу за допомогою

мікроскопа та ідентифікації колоній мікроорганізмів на ЖС. Ґрунтується на вивченні морфології та тинкторіальних ознак кампілобактерій, які у забарвленому препараті мають форму спірально вигнутих грамнегативних мікроорганізмів. В препараті «роздавлена крапля» за фазово-контрасної або мікроскопії в темному полі, виявляють клітини із гвинтоподібною рухливістю. Мікроскопічний метод є достовірним лише за концентрації збудника $>10^5$ КУО і має додаткове значення при діагностиці кампілобактеріозу [27, 36, 45]. Кампілобактерії добре фарбуються аніліновими фарбниками, фуксином Циля розведеним (1:5) та за Грамом [16, 22].

Бактеріологічний метод полягає у виділенні кампілобактерій з організму хворої тварини, трупів, абортіваних плодів та плаценти, а також з об'єктів зовнішнього середовища (води, гною), ветеринарно-санітарного контролю на виробництві та переробці, продуктів харчування [187]. Метод забезпечує більш точне виявлення *Campylobacter* spp. та разом з тим культивування є дуже трудовмістким, складним, тривалим процесом і не завжди закінчується вдало. Причиною невдалого виділення *Campylobacter* spp. є недостатня кількість збудника в зразку, труднощі пов'язані з отриманням чистої культури, наявності інгібуючих речовин, застосуванням селективних та диференціальних живильних середовищ, до яких *Campylobacter* spp. дуже вимогливий та створенням відповідних атмосферних умов [27, 139, 185, 292, 302].

Бактеріальний метод є найбільш вірогідним щодо постановки діагнозу, оскільки виділення чистої культури – прямий доказ наявності кампілобактерій. На сьогодні однієї стандартної процедури досліджень не існує, кожна лабораторія застосовує свій метод [70]. Негативні результати бактеріологічних досліджень не завжди є підставою виключення збудника інфекції. При застосуванні бактеріологічного методу необхідно враховувати, що умовою вдалого виділення збудника із патологічного матеріалу є якомога швидкий його посів на живильні середовища та створення мікроаеробних умов для культивування. Тому доставка зразків в лабораторію повинна бути максимально швидкою, але коли це не можливо, то для транспортування застосовують транспортні середовища, які уповільнюють розвиток супутньої мікрофлори та

підтримують життєздатність кампілобактерій [219]. Для транспортування зразків застосовують тіогліколевий бульйон, МПБ, середовище Еймса та середовища з додаванням крові та селективної добавки [311].

Найбільш сприятливих умов для росту збудника на щільних ЖС у чашках Петрі та на рідких селективних ЖС у пробірках можна досягти за температури 42°C в мікроаеробних умовах – оксигену, двоокису вуглецю та нітрогену у співвідношенні 5%, 10%, 85% [30, 34, 125, 164].

Ріст на напіврідких ЖС у пробірках з парафіном відбувається у звичайному термостаті.

Для нейтралізації токсичних радикалів кисню до живильних середовищ додають 5-10% дефібринованої лізованої крові коня, барана або 5-10% амінопептиду крові чи деревне вугілля. Для пригнічення росту сторонньої мікрофлори додають селективні агенти – антибіотики (цефалоспорини іноді в поєднанні з іншими антибіотиками, наприклад, ванкоміцином, триметопримом, актидіоном, амфотерицином). Всі селективні агенти на ростові властивості *Campylobacter coli* та *Campylobacter jejuni* не впливають [36, 125, 164, 285, 311].

В залежності від типу та походження зразків методи та ЖС можуть давати різну швидкість відновлення термофільних *Campylobacter*, щоб виростити їх до рівня виявлення [271, 303, 320]. На сьогодні використовують три базові процедури для виділення кампілобактерій.

- 1) Метод збагачення. Який складається із двох етапів культивування. На першому етапі відбувається накопичення мікроорганізмів в селективних рідких ЖС в мікроаеробних умовах спочатку за температури +37°C протягом 4-6 годин із наступним збільшенням температури культивування до +42°C протягом 48 годин. На другому етапі проводиться ізоляція *Campylobacter* на щільні селективні ЖС. Культивування продовжують 24-48 годин за мікроаеробних умов. Процедуру збагачення рекомендовано для зразків з низькою кількістю клітин. Однак, збагачення фекальних зразків на постійній основі не проводиться через бурхливий ріст супутньої мікрофлори [15, 164, 170]. Крім того такі види як *Campylobacter coli* можуть пригнічуватися селективними добавками до ЖС [303].

- 2) Метод прямого нанесення зразку на поверхню щільних селективних ЖС та культивування за температури +42°C протягом 48 годин [100, 120, 170]. Для цього методу зазвичай використовується Blood Free *Campylobacter* Selectivity Agar Base – mCCD agar [120, 268].
- 3) Метод мембранної фільтрації, який відомий як Кейптаунський протокол. За цього методу використовують неселективні або селективні щільні ЖС та мембранні фільтри, що дає змогу виділення чутливих до антибіотиків видів *Campylobacter*. Суть методу у нанесенні суспензії зразку на фільтр з розміром пор 0,45 – 0,65 мкм, розміщеному на неселективному агарі. Фільтр витримують протягом 30-45 хв за температури +37°C для проходження *Campylobacter* через фільтр, який видаляють та поміщають чашку із посівом в мікроаеробні умови за температури +42°C [164, 287].

Виділені ізоляти кампілобактерій пересівають на кров'яний агар для подальшого вивчення культур та ідентифікації [120, 170].

Біологічний метод. За необхідності патогенність видів *Campylobacter* визначають на білих мишах, добових чи 10-ти добових курчатах, мурчаках з 30-ти добовим строком вагітності, або на 10-ти добових курячих ембріонах [12].

Серологічні методи не дуже широко застосовуються в лабораторній практиці з причин отримання в деяких випадках хибнопозитивних результатів. В реакції аглютинації (РА) хворі тварини дають максимальний титр 1:200 – 1:400. У клінічно здорових РА або негативна, або реагує в низьких титрах. У великої рогатої худоби РА ставлять із вагінальним слизом (РАВС), у овець – з сироваткою крові. (РЗК) реакція зв'язування комплементу при кампілобактеріозі є видоспецифічною, при постановці використовують сироватки до антигенів одного виду. Застосовують при дослідженні корів, які абортували. Високу чутливість має реакція непрямой гемаглютинації (РНГА).

Імуноферментний метод (ІФА) є більш чутливим по відношенню до вищеперерахованих. Вважають позитивний результат при дослідженні сироватки крові в розведенні 1:200 [26, 36, 8].

Молекулярно-генетичний метод є альтернативним бактеріологічному методу діагностики кампілобактеріозу. Цей метод дозволяє більш точно ідентифікувати найбільш поширені види *Campylobacter jejuni* та *Campylobacter coli*. Метод ПЛР складається із детекції специфічної ділянки ДНК *Campylobacter*. Після електрофорезу, фарбування бромистим етидієм та УФ – опромінення виявляють молекули ДНК. Дослідження триває декілька годин та є високо чутливим методом. За допомогою застосованих праймерів виявляють ділянки гена 16S рРНК, що дає можливість ідентифікувати мікроорганізми [6]. Та все ж ПЛР не дає повної інформації про збудника, що не дозволяє проводити епідеміологічний моніторинг із визначенням стійкості до АБП [134, 202, 267].

1.4 Методи отримання чистої культури бактерій роду *Campylobacter*.

Для вивчення морфологічних та фізіологічних властивостей, а також вдалій ідентифікації мікроорганізмів, важливо провести виділення в чисту культуру. Для отримання чистих культур *Campylobacter* застосовують методи розсіву та метод використання хромогенних агаризованих середовищ.

Метод розсіву. Після накопичення культури роблять пересіви на селективні щільні ЖС з метою отримання із кожної клітини окремої колонії. Для цього стерильною бактеріологічною петлею наносять краплю досліджуваного матеріалу на поверхню щільного ЖС, штрихують від краю до краю чашки, таким чином проводячи ізоляцію. Переносять матеріал бактеріологічною петлею в іншу чашку і так в декілька чашок. В останній чашці буде менше мікроорганізмів, які будуть більш ізольованими. При розсіві проходить механічне розділення клітини з якої виростає колонія.

Метод використання хромогенних агаризованих середовищ. Хромогенні середовища є як селективними так і деференційними, в залежності від синтетичних субстратів хромогенних ферментів у складі, які ідентифікують цільовий ізолят на основі його ферментативної активності. Такими хромогенними середовищами є *RAPID Campylobacter agar*, *CHROMagar Campylobacter*, *HardyCHROM Campylobacter*, *CASA*, *CampyFood* та інші [196,

254, 285]. Після отримання характерних колоній на селективних щільних ЖС, проводиться мікроскопія та визначається чистота колоній. При виявленні змішаної культури *Campylobacter*, її розсівають, використовуючи хромогенне агаризоване середовище. Культивують при 42°C від 48 до 96 годин в мікроаеробних умовах. Колонії набуватимуть від яскравого червоного до цегляного кольору з більш затемненим центром.

Застосування селективних хромогенних середовищ сприяє якісному виявленню, диференціації та ідентифікації термотолерантних *Campylobacter*, що дає змогу вже після 48 – годинної інкубації в мікроаеробних умовах при 42°C інтерпретувати результати.

Однією з причин слабкої діагностики *Campylobacter* є їх вибагливість до умов культивування та живильних середовищ. Для виділення *Campylobacter* використовують селективні середовища, які поділяються на 2 основні групи: ті, що містять кров і ті, що містять деревне вугілля. Дані компоненти захищають *Campylobacter* від токсичних радикалів кисню. Селективність забезпечується використанням добавок з антибіотиками, до яких *Campylobacter* стійкий, зазвичай це група цефалоспоринів. Основна відмінність між середовищами – це різний рівень інгібування сторонньої мікрофлори [311]. Із багатьох щільних селективних ЖС в які додають кров, у дослідженнях були використані Preston Agar Base (M939) з додаванням *Campylobacter* Selective Supplement IV (FD042), що містить антибіотики (Polymyxin B sulphate, Rifampicin, Cycloheximide) та *Campylobacter* Agar Base (M994) з сумішшю антибіотиків (Polymyxin B sulphate, Vancomycin hydrochloride, Amphotericin B, Cephalothin sodium salt) (FD006) (HiMedia, India). За методу збагачення використано Bolton Broth Base (M1592) з додаванням крові та Bolton Selective Supplement (FD231), що містить Amphotericin B, Vancomycin hydrochloride, Cefoperazone sodium. До середовищ додавали 5% лізованої крові коня (Horse Blood Lysed (HB037) (TCS Biosciences Ltd, United Kingdom). Із середовищ на основі вугілля використано Blood Free *Campylobacter* Selectivity Agar Base – mCCD agar (M887) з додаванням *Campylobacter* Supplement V (BFCSA) (FD067), що містить цефоперазон

(HiMedia, India). Також використане хромогенне середовище CASA (BioMerieux, France).

Одним із компонентів, що впливають на виявлення *Campylobacter* в зразках є селективна добавка до середовища, тобто антибіотики. *Campylobacter* стійкий до багатьох АБП, що збільшує можливості отримання чистої культури, знижуючи ріст супутньої мікрофлори.

Розробка живильних середовищ на основі крові та деревного вугілля показали деяку специфічність та чутливість живильних середовищ щодо *Campylobacter* spp. Використання в процесі досліджень середовищ з елементами крові тварин допомагає адаптації досліджуваних ізолятів до штучних умов культивування. Також такі середовища захищають *Campylobacter* від токсичних радикалів кисню та прискорюють його ріст, забезпечуючи поживними речовинами (вітамінами, мінералами, тригліцеридами, амінокислотами, ліпідами, білками та пептидами). За присутності органічних сполук заліза в поживному середовищі клітинні мембрани бактерійної стінки стають стійкішими до впливу екстремального стресу.

1.5 Ідентифікація кампілобактерій.

Традиційні методи ідентифікації, засновані на аналізі фенотипових характеристик (фізіологічні, морфологічні властивості та біохімічні тести), не дозволяють отримати високої таксономічної диференціації та займають багато часу [25, 77].

За результатами мікроскопії, здатністю продукувати оксидазу та каталазу, відсутністю росту в мікроаеробних умовах за температури +25°C та аеробних умовах за температури +41,5°C мікроорганізми відносять до роду *Campylobacter*. Перевірку і підтвердження видової приналежності культур проводять за біохімічними тестами. Основною ознакою ідентифікації *Campylobacter jejuni* від інших видів є здатність культури до гідролізу

гіпурату натрію [16, 170]. Для ідентифікації інших видів використовують комерційно доступні API- тести APICampy (bioMerieux, Франція).

Молекулярно-генетичні методи ідентифікації є більш ефективними, надійними та точними. Виявлення нуклеїнової кислоти мікроорганізму є надійнішим критерієм ідентифікації.

Ідентифікація MALDI-TOF-мас-спектрометрією є високочутливим методом та дозволяє отримати унікальні мас-спектри за типом «відбитків пальців» [25, 77].

Висновок до розділу 1

Огляд літератури свідчить про широке поширення бактерій роду *Campylobacter* в природних джерелах, що становить серйозну загрозу здоров'ю людей та тварин. Термофільні види *Campylobacter jejuni* та *Campylobacter coli* основні збудники кампілобактеріозу – найпоширенішої харчової інфекції бактеріальної етіології.

Харчові патогени викликають підвищену зацікавленість наукової спільноти. Інфекції *Campylobacter* розвиваються в різних ступенях тяжкості від легкої діареї до геморагічного ентероколіту. Постінфекційні ускладнення можуть бути пов'язані з нейропатіями - синдром Гійєна-Барре та Міллера-Фішера. Будучи облігатними мікроаерофілами, *Campylobacter* spp. здатні до адаптації та виживання в агресивних умовах навколишнього середовища. За механізми внутрішньої стійкості до антибактеріальних препаратів ВООЗ внесла *Campylobacter* до переліку пріоритетних патогенів для яких терміново потрібні нові антибіотики.

Лабораторна діагностика *Campylobacter jejuni* та *Campylobacter coli* ускладнена через труднощі та матеріальні витрати на проведення досліджень. Для ефективної ізоляції *Campylobacter jejuni* та *Campylobacter coli* необхідно застосовувати комплексний підхід, що включає оптимальні умови для культивування із застосуванням живильних середовищ з вмістом селективних та неселективних добавок, отримання чистих культур з

послідуючим тестуванням на визначення фенотипових характеристик та ідентифікації до виду.

Недостатній рівень діагностики кампілобактеріозу затримує вивчення даного зоонозу в Україні. Ефективна лабораторна діагностика видів *Campylobacter* необхідна для впровадження системного моніторингу з контролем антибіотикорезистентності по всьому харчовому ланцюгу.

РОЗДІЛ 2. ВИБІР НАПРЯМКІВ ДОСЛІДЖЕНЬ. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.

2.1 Дизайн дослідження

Дисертаційна робота виконувалась упродовж 2021 – 2025 років на кафедрі ветеринарної епідеміології та охорони здоров'я тварин Національного університету біоресурсів та природокористування України. Окремі дослідження проведені на базі Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики і ветеринарно-санітарної експертизи (ДНДІЛДВСЕ) м. Київ у науково-дослідному бактеріологічному відділі: лабораторії діагностики захворювань бактеріальної етіології та лабораторії мікробіологічних досліджень харчових продуктів та кормів; науково-дослідному відділі молекулярно-генетичних досліджень. Також окремі дослідження проведені на базі Інституту молекулярної біології і генетики НАН України у відділі регуляторних механізмів клітини. Депонування штаму *Campylobacter jejuni* та ліофільну сушку виділених ізолятів здійснювали в Державному науково-контрольному інституті біотехнології і штамів мікроорганізмів.

Матеріал для досліджень отримували з різних господарств (частково з особистих селянських господарств) та областей України за планових досліджень щодо протимікробної резистентності зоонозних та коменсальних бактерій у ветеринарній медицині та відповідно до ініціативно-пошукових науково-дослідних тематик: «Оцінка ступеню поширення антибіотикорезистентності у збудників бактеріальних зоонозів в Україні»

(номер державної реєстрації 0118U100599, 2019–2028 рр.), «Розробка нових та вдосконалення існуючих підходів, методів та засобів моніторингу, оцінки ризику, прогнозування, діагностики, лікування та профілактики хвороб тварин» (номер державної реєстрації 0118U100594, 2019–2028 рр.), та за науково-дослідної роботи «Біологічні властивості та етіологічна роль кампілобактерій у виникненні харчових токсикоінфекцій в Україні» (номер державної реєстрації 0123U102336, 2023-2025 рр.). Також договору №89 про співробітництво та організацію взаємовідносин між НУБП України та Комунального некомерційного підприємства «Міська клінічна лікарня №9» міста Дніпра, був зроблений аналіз звітів щодо виявлення збудників кампілобактеріозу у дітей за ГКІ, поширення видів та антибіотикорезистентності *Campylobacter* (Додаток 4).

Експериментальні дослідження проводили згідно загальної схеми, яка включала 3 етапи (Рисунок 1).

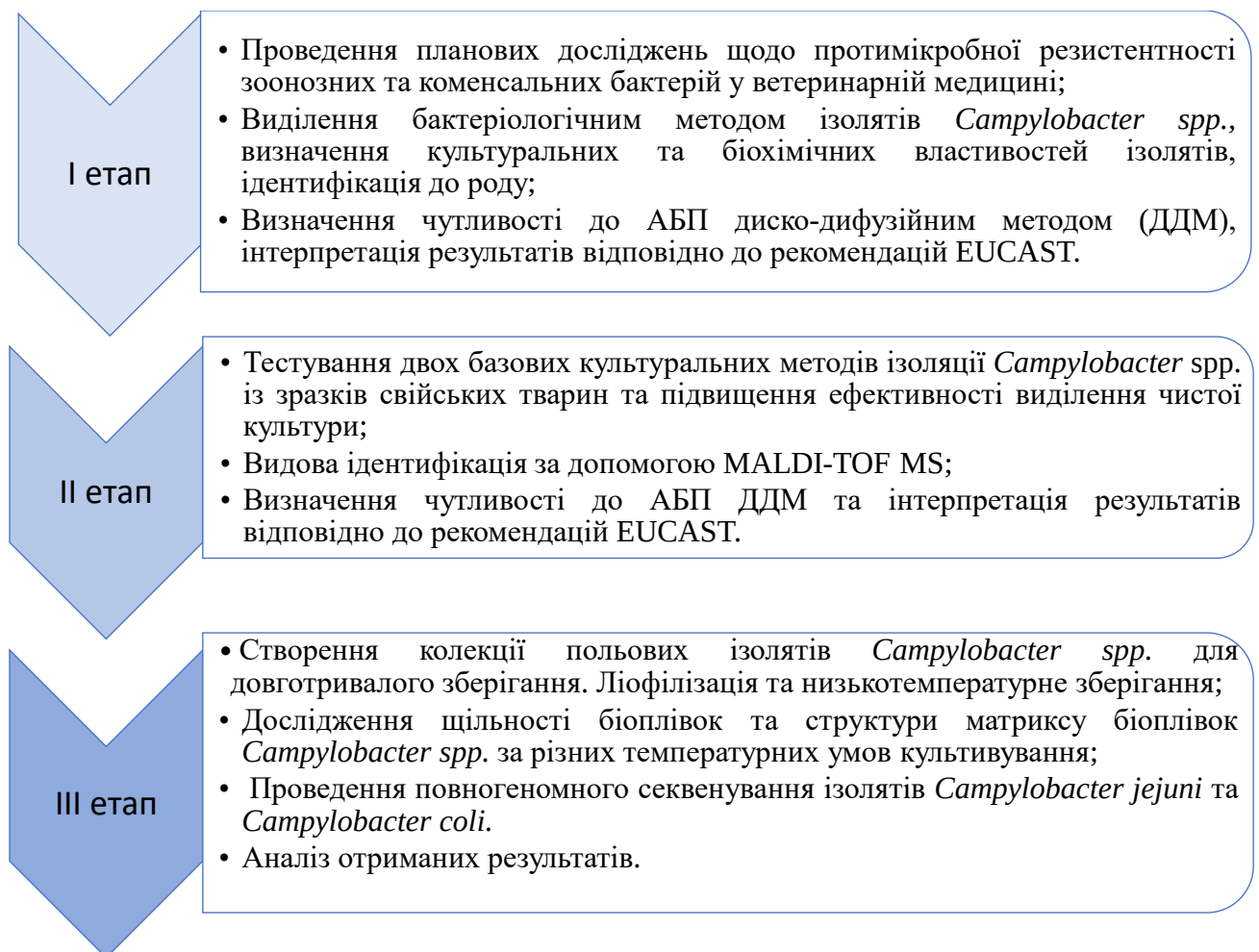


Рис. 2.1 Етапи проведення дисертаційного дослідження.

Відповідно до основних положень «Глобальної стратегії ВООЗ зі стримування стійкості до антимікробних препаратів», Державної стратегії, схваленої Урядом України, у рамках реалізації державної політики щодо стримування розвитку резистентності до протимікробних препаратів та зменшення ризиків формування і поширення антибіотикорезистентних штамів у тваринництві, проведені планові дослідження щодо протимікробної резистентності зоонозних та коменсальних бактерій у ветеринарній медицині. Виділені й вивчені властивості, та встановлені антибіотикорезистентні штами наступних збудників зоонозних інфекцій: *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Campylobacter* spp., одержаних від тварин та птиці. Забій тварин проводили на бійнях з дотриманням стандартних операційних процедур з благополуччя тварин під час забою відповідно до Директиви Ради ЄС 1099/2009, Директиви Ради ЄС 98/58, що застосовується до всіх тварин які вирощуються або утримуються для виробництва їжі та Директиви Ради ЄС 1/2025 про захист тварин під час транспортування. Відбір патологічного матеріалу проводили, ознайомившись з правилами відбору, обліку, маркування, зберігання та транспортування зразків до лабораторії.

На першому етапі досліджень було відібрано та досліджено 2120 зразків вмістимого лігатурованих сліпих кишок з яких: від великої рогатої худоби – 581 зразок, свиней – 691 та птиці – 848 (перепела - 12, качки - 2, індики - 88, кури-бройлери - 746). Зразки надійшли з усіх регіонів України, окрім тимчасово окупованих територій Донецької, Луганської областей та анексованого Криму (2021 рік). Відповідно ініціативних тематик досліджено 76 матеріалів від курей-бройлерів, 30 – індиків, 20 – свиней та 12 – великої рогатої худоби, що відбиралися на бійнях Київської, Черкаської, Вінницької та Волинської областей. Зразки поміщали в пластикові пакети та контейнери, потім в термобокси з холодогенами і транспортували до лабораторії, досліджували в день доставки в лабораторію. Зразки, які не могли обробити в той же день, зберігали за температури 4°C до наступного робочого дня. Перед посівом їх витримували за кімнатної температури, щоб уникнути температурного шоку.

Для досліджень були використані наступні матеріали:

1) Живильні середовища виробництва HiMedia, India:

- Бульйон Болтона (Bolton Broth Base (M1592) з селективною добавкою Bolton Selective Supplement (FD231);
- Безкровна основа селективного агару *Campylobacter* (Blood Free *Campylobacter* Selectivity Agar Base – mCCD agar (M887) з селективною добавкою *Campylobacter* Supplement V (BFCSA) (FD067);
- Кампілобактер агар (*Campylobacter* Agar Base (M994) з селективною добавкою *Campylobacter* Supplement I (blaser-wang) (FD006);
- Престона агар (Preston Agar Base (M939) з селективною добавкою *Campylobacter* Selective Supplement IV (Preston) (FD042);
- бульйон для бруцел (*Brucella* Broth Base (M348);
- агар Мюллера-Хінтона (Mueller Hinton Agar (M173);
- Серцево-мозковий бульйон (Brain Heart Infusion Broth) (M210);
- МПБ;

2) Середовища виробництва BioMerieux, France:

- Колумбійський агар;
- CASA.

3) Живильні середовища виготовлені з компонентів:

- напіврідкий агар для анаеробів (ПЖА);
- СЖН;
- Кітта-Тарроці.

4) Неселективні добавки

- лізована кров коня (Horse Blood Lysed (HB037) (TCS Biosciences Ltd, United Kingdom);
- дріжджовий екстракт (Yeast Extract Powder (RM027) (HiMedia, India).

5) Газогенеруючі пакети

- Anaerogas Pack 3.5L (LE002A-5NO) (HiMedia, India);
- GENbox microaer (BioMerieux, France).

6) Ростові властивості живильних середовищ перевіряли за допомогою тестових культур *Campylobacter jejuni* ATCC 33291 та *Campylobacter coli* ATCC 33559. Калібрування масс-спектрометра проводили з використанням

Escherichia coli ATCC 25922. Культури отримали із Музею тестових культур мікроорганізмів ДНДІЛДВСЕ, попередньо відновлених та перевірених на відповідність основним типовим властивостям.

7) Досліджувані тварини:

- Велика рогата худоба, свині, кури-бройлери, індики, перепела, качки. Зразки відбирали на забої згідно наказу №514 «Про затвердження Плану державного моніторингу щодо протимікробної резистентності у ветеринарній медицині на 2021 рік».

8) Прилади та обладнання:

Апарат для вологої стерилізації (автоклав) здатний підтримувати температуру від 120°C до 132°C (БК-75-01) (Україна); сушильна шафа, температурний режим 160°C (Heraeus T 6420) (Німеччина); інкубатори (термостати) сухоповітряні Thermo Scientific Heratherm (Нідерланди), здатні підтримувати температуру 37°C та 41,5°C; інкубатор Thermo Scientific Heracell VIOS 160i CO₂ (Нідерланди); ламінарна шафа Jouan Biocyt – 150 II класу; пальник газовий Fuego SCS basic; мікроскоп «Leica DM LS 2 Phase Contrast Microscope» (Німеччина); центрифуга BIOSAN LMS 3000 (Латвія); Vitek з технологією (MALDI-TOF MS) (bioMerieux, Франція); низькотемпературний морозильник «Arctiko» температури -70,0 ± 5,0°C; спектрофотометер amersham ultrospec 2100 pro (Нідерланди); Денсіламетр (Densi-La-Meter); холодильник Smart; вортекс IKA MS2 mini vortex shaker; ваги 2 класу точності Sartorius TE 64; змішувач Smasher (bioMerieux, Франція); рН-метр (іономір) з точністю калібровки ± 0,1 одиниці водневого показника за 25°C (Mettler Toledo Seven Compact Duo S213).

9) Розхідні матеріали:

Чашки Петрі діаметр 60 мм, висота 15 мм; градуйовані піпетки, номінальною ємкістю 10 см³, 5 см³, 2 см³ та 1 см³, із поділками по 0,1; пластикові одноразові петлі ємкістю 5 мкл та 10 мкл; пакети для гомогенізатора; флакони, пробірки (8 мм у діаметрі і 160 мм у довжину), колби. Лінійка для визначення діаметра зони затримки росту мікроорганізмів, стандарт

Мак-Фарланда 0,5 одиниць та диски з антибіотиками (HiMedia, India), дистильована вода вільна від сполук, які можуть перешкоджати росту мікроорганізмів, відповідно до ДСТУ ISO 3696:2003, предметні скельця, фарби.

10) Під час проведення досліджень були використані реактиви чистотою не менше ніж «ч.д.а». Перекис водню 3% (H_2O_2), Калій фосфорнокислий однозаміщений (KH_2PO_4), Натрій фосфорнокислий двозаміщений водний ($Na_2HPO_4 \times 2H_2O$) для приготування фосфатного буферного розчину ($KH_2PO_4 \times Na_2HPO_4 \times 2H_2O$), натрій хлор ($NaCl$), що використовувалися для приготування фізіологічного розчину, бікарбонат натрію (Туреччина), лимонна кислота (Китай), Оксидазні диски (HiMedia, India).

В роботі використовували бактеріологічні методи досліджень (виділення збудника кампілобактеріозу із сліпої кишки від свійських тварин, вивчення морфологічних, культуральних, тинкторіальних та біохімічних властивостей збудника, біоплівкоутворення, визначення чутливості до АБП), молекулярно-генетичні дослідження (вивчення факторів патогенності).

Виділення та ідентифікацію *Campylobacter* spp. проводили відповідно до чинних стандартизованих методик:

ДСТУ ISO 10272-1:2007 Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Горизонтальний метод виявлення і підрахунку кампілобактерій (*Campylobacter* spp.) Частина 1. Метод виявлення (ISO 10272-1:2006, IDT)

ISO 10272-1:2017(E) Microbiology of the food chain — Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. — Part 1: Detection method

WOAH Terrestrial Manual 2024/ Chapter 3.10.4. – Infection with *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*.

Визначали основні характеристики росту колоній на mCCD agar, *Campylobacter* Agar та Preston Agar. Гемолітичні властивості досліджували на Колумбійському агарі, чутливість до АБП на агарі Мюллера-Хінтона з додаванням 5% лізованої крові коней.

Дослідження на чутливість до АБП проводили відповідно до методології Європейського комітету з визначення чутливості до антибактеріальних препаратів (EUCAST).

2.2 Методи відбору проб і підготовка їх до аналізу

Зразки відбирали рандомно під час забою, відповідно до «Directive 2003/99/EC of the European Parliament and of the Council of 17 November 2003 on the monitoring of zoonoses and zoonotic agents». Вмістиме лігатурованих сліпих кишок відбирали у одноразові пластикові контейнери. Кишківники птиці відрізали стерильними ножицями та доставляли цілими. Зразки вмістимого сліпих кишок відбирали асептично, розтинаючи стінку кишківника [311]. Все доставлялося транспортом до лабораторії, в термобоксах з акумуляторами штучного холоду. Після оформлення супровідної документації, зразки віддавалися в роботу, якщо їх не можна було обробити в день доставки, зберігали в холодильнику за температури 4°C до наступного ранку. Перед посівами зразки витримували при кімнатній температурі, щоб не допустити температурного шоку.

Зразки сліпих відростків розрізали стерильними інструментами, а вмістиме кишківника, що відбиралося у пластикові стакани, без обробки висівали на рідке селективне живильне середовище.

2.3 Методи досліджень.

2.3.1 Виділення чистих культур термофільних бактерій роду *Campylobacter*.

Для бактеріологічних досліджень використовували метод збагачення, що складається із етапів накопичення та ізоляції мікроорганізмів. Після засівання дослідного матеріалу у співвідношенні 1:9 в селективне середовище Бульйон Болтона з додаванням селективної добавки та 5% лізованої крові коня. Культивували спочатку при температурі 37°C в мікроаеробних умовах, створених за допомогою газогенеруючих пакетів, 4 години, потім підвищували температуру до 41,5°C та продовжували культивування до 48 годин. Після

накопичення в бульйоні Болтона, ізолювали кампілобактерії на щільні живильні середовища. Середовища використовували двох типів. Одне на основі вугілля (модифікована вугільна основа цефоперазону дезоксихолатного агару (mCCD агар) інше із вмістом крові (Агар Престона). Інкубували за температури 41,5°C в мікроаеробних умовах 48 годин, переглядаючи посіви через 24 години. Відбирали типові колонії та перевіряли на морфологічні та тинкторіальні властивості. В мазках відмічали тонкі грамнегативні, спірально зігнуті бактерії S- подібної форми. Пересівали колонії на Колумбійський агар для подальшої ідентифікації [9, 170].

2.3.2 Визначення чутливості вітчизняних ізолятів *Campylobacter* spp. до антибіотиків

Для тестування культур на чутливість до АБП та виведення антибіотикограми застосовували метод дискової дифузії Кірбі-Бауера з використанням агарового середовища Мюллера-Хінтона з додаванням 5% лізованої крові коня. Метод оснований на здатності АБП дифундувати з просочених ними паперових дисків у ЖС і пригнічувати ріст мікроорганізмів посіяних на поверхні агару. Приготування ЖС проводили із сухого середовища промислового виробництва відповідно до інструкції виробника.

Після автоклавування агар охолоджували до температури 50 – 45°C, додавали 5% ліофілізованої крові коня, ретельно перемішували та розливали у чашки Петрі діаметром 90 мм по 20 см³ так, щоб товща шару агару була завтовшки $4.0 \pm 0,5$ мм. Залишали чашки при кімнатній температурі для застигання і підсушування на 10 – 12 год. Агар перевіряли на стерильність, для цього чашки із ЖС інкубували при 35°C протягом 24 год, та придатність для росту досліджуваних мікроорганізмів, для цього використовували контрольний штам *Campylobacter jejuni* ATCC 33291.

Оптичну щільність бактеріологічної суспензії кампілобактерій визначали за допомогою стандарту McFarland та денсіламетра (Densi-La-Meter).

Приготування інокулюма проводили з агарової культури із неселективного щільного ЖС. З Колумбійського агару, стерильною

бактеріологічною петлею відбирали кілька (3-5) однотипних (морфологічно схожих), чітко ізольованих колоній 24-х годинної культури. Бактеріальну масу вносили в стерильний фізіологічний розчин і виготовляли суспензію, ретельно перемішуючи до однорідності. Щільність бактеріальної суспензії доводили до 0,5 за стандартом МакФарландом, шляхом додавання фізіологічного розчину або бактеріальної маси, що наближено відповідає мікробному навантаженню $1,5 \times 10^8$ КУО/см³ для *Escherichia coli*. Виготовлену бактеріальну суспензію наносили в чашку з агаром та рівномірно засівали стерильним ватним тампоном по всій поверхні середовища, штрихуючи нанесену культуру у трьох напрямках шляхом повороту чашки Петрі на 60° по колу. Було досліджено три групи антибіотиків (фторхінолони, макроліди, тетрацикліни) згідно Настанови Європейського комітету з тестування чутливості до антимікробних препаратів – EUCAST. Використовували диски з антибіотиками: Ciprofloxacin 5 µg (CIP) (SD060), Tetracycline 30 µg (TE) (SD037) та Erythromycin 15 µg (E) (SD013) (HiMedia, India). Диски з АБП наносили на поверхню середовища упродовж 15 хв після інокуляції чашок з агаром Мюллера-Хінтона. Аплікацію дисків проводили за допомогою стерильного пінцета, акуратно притиснувши до поверхні агару. Чашки перевертали догори дном та інкубували при температурі 41,5°C у мікроаеробних умовах 24-48 годин. Після інкубації проводили облік результатів, вимірюючи діаметр зон затримки росту навколо дисків з антибіотиком з точністю до 1 мм лінійкою від (HiMedia, India). За розміром зон навколо антимікробного диску ізоляти інтерпретували як чутливі та резистентні, відповідно до рекомендацій EUCAST. Контроль якості досліджень проводили з еталонним музейним штамом *Escherichia coli* ATCC 25922. Перелік антибіотиків наведено у Таблиці 2.1.

Антибактеріальні препарати, використані у дослідженні.

Таблиця 2.1

№ п/п	Назва групи антибіотику	Назва антибіотика	Концентрація діючої речовини на диску
1	Фторхінолони	ципрофлоксацин	5 мкг
2	Макроліди	еритроміцин	15 мкг

3	Тетрацикліни	тетрациклін	30 мкг
---	--------------	-------------	--------

Дана таблиця інформує про приналежність тестованих АБП до груп антибіотиків та їх концентрацію, нанесену на диск.

Для вивчення антибіотикорезистентності *Campylobacter* до інших груп АБП нами були відібрані відповідні антибіотики.

2.3.3 Дослідження біоплівок *Campylobacter* spp.

Біоплівка – це складне гетерогенне утворення з однієї або декількох популяцій мікроорганізмів, які прикріплені до біогенної чи абіогенної поверхні та оточені власно продукуючим позаклітинним матриксом. Вважається, що біоплівка є механізмом виживання бактерій у агресивному середовищі, забезпечуючи їм підвищену стійкість до імунної відповіді господаря, антибіотиків та дезинфіктантів. *Campylobacter jejuni* є одним із збудників гастроентериту харчового походження. Будучи комменсалом кишківника птиці *Campylobacter* легко потрапляє в харчовий ланцюг та виживає в несприятливих умовах, хоча є мікроаерофілом.

Біоплівки *Campylobacter* вивчали за протоколом мікробіологічного макрометоду з використанням стерильних пластикових чашок Петрі, включаючи культивування при температурі 37°C в аеробних та мікроаеробних умовах, фіксацію біоплівки, фарбування кристалічним фіолетовим та вимірювання оптичної щільності.

В чашку Петрі вносили 10 см³ серцево-мозкового бульйону та 1 см³ інокуляту (дводобової культури з Колумбійського агару) в концентрації 0,5 по стандарту Мак-Фарланда. Проводили три паралельні дослідження та позитивний і негативний контроль. Щодо позитивного контролю використовували штамп *Campylobacter jejuni* ATCC 33291, негативного контролю – чашки із середовищем без внесення культури.

Інкубацію чашок Петрі із інокулянтом проводили за температури 37°C протягом 48 годин в термостаті за мікроаеробних та аеробних умов. По завершенню терміну інкубації, живильне середовище з чашок видаляли за

допомогою піпеток з дотриманням асептики. Після чого видаляли планктонні форми досліджуваних культур триразовим промиванням чашок стерильним фосфатним буферним розчином ($\text{KH}_2\text{PO}_4 \times \text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$) з рН 7,2 – 7,4. Чашки висушували на повітрі та додавали 10 см³ етанолу 96% для фіксації утворених біоплівки. Експозиція фіксації – 10 хв. Фіксуючу рідину декантували.

Визначення щільності утвореної біоплівки проводили за допомогою фарбування чашок 0,1% спиртовим розчином кристалічного фіолетового протягом 10 хв. В подальшому чашки тричі промивали стерильним фосфатним буферним розчином ($\text{KH}_2\text{PO}_4 \times \text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$) з рН 7,2 – 7,4 та висушували на повітрі. Відділення біоплівки від стінок чашки проводили шляхом внесення в чашку 10 см³ етанолу 96%, поміщали на шуттель-апарат на 30 хв. Потім піпетували вміст чашок та переносили у кювету спектрофотометра для визначення показнику поглинання біоплівкою барвника при довжині хвилі 570 нм.

Структуру матриксу біоплівки оцінювали цитохімічним методом. Для цього біоплівки, отримані при температурі 18°C (навколишнього середовища), 37°C (температура тварин) та 42°C (температура птиці) в аеробних умовах (21% O₂) протягом 48 годин, фарбували флуоресцентними барвниками, зокрема, 1 мМ розчином бромистого етидію (Sigma-Aldrich), 5 мг/мл розчином калькофлуор білого (Sigma-Aldrich) та 3 мМ розчином AmyGreen (власного синтезу). Аналіз CLSM проводили за допомогою конфокальної системи Leica TCS SPE Confocal з кодованим інвертованим мікроскопом DMI8 (Leica, Німеччина) та програмного забезпечення Leica Application Suite X (LAS X) версії 3.4.1. Зображення були отримані з використанням збудження при 488 нм і збору емісії при 490-580 нм для AmyGreen і збудження при 532 нм і збору емісії при 537-670 нм для броміду етидію. Загальна кількість пікселів була підрахована за допомогою вищезгаданого програмного забезпечення.

2.3.4 Методи довготермінового зберігання культур *Campylobacter* spp.

Кампілобактерії зберігали в холодильнику при температурі 4°C в анаеробних умовах на живильних середовищах: Кітта-Тароцці без печінки, напіврідкий печінковий агар (0,2%), Колумбійський агар, агар Престона, Кампілобактер агар, mCCD agar. Збереження досягали до 10 днів.

Низькотемпературне зберігання.

Для більш тривалого збереження використовували кріоконсервацію в кріогенних пробірках (*CRYO – BEADS*) (BioMerieux, France) за температури $-70,0 \pm 5,0^{\circ}\text{C}$ в низькотемпературному морозильнику "Arctiko LF 100" (Denmark). Бактеріальну суспензію *Campylobacter* готували, вносячи бактеріологічною петлею колонії 48 годинної культури з Колумбійського агару в кріозахисне середовище, в складі якого Поживний бульйон з гліцерином у кінцевій концентрації 10%. Суспензію ретельно перемішували до однорідності та доводили щільність шляхом додавання кріозахисного середовища або бактеріальної маси до 4,0 по стандарту Мак-Фарланда, що наближено відповідає мікробному навантаженню $1,2 \times 10^9$ КУО/см³ для *Escherichia coli*. З дотриманням умов асептики, в пробірки (*CRYO – BEADS*) вносили готову суспензію *Campylobacter*. Закривали пробірку та забезпечували рівномірний розподіл бактеріальної суспензії. За допомогою піпетки з пробірки видаляли розчин над кріогранулами, закривали пробірку кришкою та ставили у штатив, який поміщали в низькотемпературний холодильник на зберігання за температури $-70,0 \pm 5,0^{\circ}\text{C}$.

Ліофілізація.

Культуральні середовища виготовляли та контролювали відповідно з ISO 11133:2014 "Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media". В якості кріопротектора використовували середовище Файбича (желатин – 1,0%, сахароза – 10,0%, вода дистильована – 89,0%). Якість дистильованої води контролювали відповідно ДСТУ ISO 3696:2003 "Вода для застосовування в лабораторіях. Вимоги та методи перевіряння". До бульйонної 24 – годинної

культури *Campylobacter* у співвідношенні об'єму 1:1 додавали захисне середовище. Розфасовували по 1,0 см³ у флакони об'ємом 5 см³. Перед відправленням на ліофілізацію (кріоконсервацію та подальшу сублімацію) з кожної партії відбирали по три флакони для визначення типовості, однорідності та концентрації бактеріальної маси (КУО/см³). Кріоконсервацію ізолятів здійснювали у морозильній камері "Arctiko LF 100" (Denmark) за температури $-70.0 \pm 5.0^{\circ}\text{C}$. Сублімаційне висушування проводили в апараті Qriodoz фірми Telstar за температури конденсора $-45.0 \pm 5.0^{\circ}\text{C}$, глибини вакууму – 0,15 - 0,17 mBar протягом 24 годин. Після висушування була підрахована кількість колонієутворюючих одиниць *Campylobacter* (КУО/см³) відповідно до ISO/TS 10272 -2:2006 - Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. - Part 2: Colony-count technique. Ліофілізовану зневоднену суспензію у флаконах гідролізували до вихідних об'ємів Nutrient Broth (M002) (HiMedia, India). Засівали чашки з mCCD agar (M887) (HiMedia, India). Культивували при температурі 42°C в мікроаеробних умовах протягом 48 годин.

2.3.5 Мас-спектрометрична ідентифікація ізолятів *Campylobacter* spp.

Для проведення ідентифікації виділених ізолятів до видового рівня використовували аналізатор VITEK з технологію Матрично-активованої лазерної десорбції/іонізації з використанням часопротітної мас-спектрометрії (MALDI-TOF MS) виробництва BioMerieux, France. Метод базується на екстракції білків та пептидів з клітин бактерій з послідуною ідентифікацією за принципом молекулярний «відбиток пальця».

Досліджувані ізоляти висівали на Колумбійський агар. Калібрування мас-спектрометра проводили з використанням стандартного видового мас-спектра *Escherichia coli* ATCC 25922. Культури з Колумбійського агару наносили на споти цільового слайду та покривали зверху 1 мкл матриці для MALDI-TOF MS. Після кристалізації проб, цільовий слайд із зразками поміщали до високовакуумної камери мас-спектрометра для десорбції.

Лазерний спалах іонізує зразок. Іонізовані білки під впливом електричного поля рухаються від джерела іонізації до детектора з прискоренням обернено пропорційним їх атомним масам. Після проходження білками через кільцевий електрод, здійснюється фіксація часу їхнього прольоту. За допомогою програмного забезпечення MYLA v. 4.7 (BioMerieux, France) проводили процедуру порівняння білка досліджуваного аналіту зі стандартними молекулярними масами, що містяться в базі даних VITEK MS. На підставі цих відомостей були ідентифіковані виділені *Campylobacter* spp.

2.4 Виявлення генів патогенності у ізолятів *Campylobacter jejuni*

В мікроцентрифужні пробірки місткістю 1.5 см³ вносили по 100 мкл промитої забуференим фізіологічним розчином (ЗФР) 48-годинної бульйонної культури *Campylobacter*. Потім до кожної проби додавали по 300 мкл лізуючого буферу з вмістом 6М гуанідинтіоціанату і перемішували на вортексі. Пробірки з сумішшю підігрівали за температури 65°C 5 хв і повторно перемішували на вортексі. Лізат осаджували шляхом центрифугування при 5 x 10³ об/хв протягом 5 с. Після цього до кожної проби вносили по 30 мкл силікагелю. Суміш перемішували на вортексі 10–15 с та залишали в спокої за кімнатної температури на 2 хв до переходу сорбенту в осад. Потім проби повторно перемішували та відстоювали 5 хв.

Для розділення сорбенту на фракції, з досліджуваного матеріалу та розчинників, пробірки центрифугували 30 с при 5 тис. об/хв. Кожну пробу попередньо промивали спочатку з використанням 300 мкл промиваючого розчину, а потім двічі з використанням 500 мкл. Суміш складалася з 100 мМ NaCl та 10 мМ Tris-HCl (pH 8.0) та 70% етанолу. Супернатант видаляли. Осаджену субстанцію висушували 5–7хв за умов термостату при температурі 65°C. Після цього до кожного еппендорфу для елюції ДНК додавали 50 мкл TE-буферу (pH 8.0) та поміщали в термостат на 5–6 хв за температури 65°C. У процесі елюювання проби щохвилини перемішували на вортексі. Повторно субстанцію осаджували шляхом центрифугування при 12 тис. об/хв протягом 2 хв.

Супернатант із вмістом отриманої для подальшої роботи ДНК відбирали у заздалегідь підготовлені пробірки.

Напередодні постановки полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) готували дві реакційні суміші – «верхню» та «нижню». «Нижня» реакційна суміш включала в себе змішані на вортексі 2.5 мкл праймера та нуклеотидів з кінцевою концентрацією кожного праймеру – 25 рМоль/зразок. Праймери, використані в дослідженнях, були виготовлені фірмою "Wizard®" (США). Кожну отриману суміш відповідної проби поміщали у мікропробірки об'ємом 0.5 см³ по 5 мкл з подальшим нанесенням на поверхню розплавленого при температурі 95 °С воску в кількості 10 мкл до повного покриття всієї поверхні. Загальна кількість «верхньої» реакційної суміші для досліджених проб включала з урахуванням контролів, 10.0 мкл 5% ПЛР буферу, 3.0 мкл 50 мМ MgSO₄, 6.0 мкл H₂O, 1.0 мкл Taq-полімерази. На поверхню воскового шару в пробірках з «нижньою» реакційною сумішшю наносили по 10 мкл «верхньої» реакційної суміші та, відповідно до маркування проби, по 10 мкл дослідних або контрольних ДНК і по дві краплі вазелінової олії. Для негативного контролю ампліфікації були використані суміші з ДНК соматичних клітин сільськогосподарських тварин (великої рогатої худоби, свиней, овець) та ДНК *Escherihia coli* і *Salmonella typhimurium*. Полімеразну ланцюгову реакцію здійснювали згідно з програмою на термоциклері «Терцик», в режимі реального часу.

Для отримання екзотоксину проводили екстракцію білкових фракцій культуральної рідини кампілобактерій, культивованих на бульйоні Болтона протягом 48 год при температурі 42°C. Після осадження бактерійних клітин шляхом центрифугування при 3 тис. об/хв протягом 30 хв, отриманий з проб супернатант переносили до чистих пробірок. Білкові фракції кожної проби виділяли шляхом додаванням в пробірки 60% насиченої сухої солі сульфату амонію з одночасним контролем рН. Денатуровані білки проб отримували в результаті відстоювання сумішей протягом 12 год при температурі 4°C. Потім з послідовним центрифугуванням проводили при 3 тис. об/хв протягом 30 хв та розчиненням у 3 М сульфаті амонію в співвідношенні 1 : 3.

Дослідження кількісного вмісту отриманих білків передбачало використання методу Лоурі. Проби від кожного з 4-х ізолятів кампілобактера включали в себе 5 зразків: культуральну рідину, надосад після осадження білків культуральної рідини (4.14 мг/мл), діалізат надосаду (1.015 мг/мл), осад (0.397 мг/мл) та діалізат осаду (0.23 мг/мл). Складники осаду та супернатанта виявляли, застосовувши іонообмінну хроматографію на TSK-гелях.

Іонообмінну хроматографію проби (як приклад, осаду) виконували на колонці (2 × 35 см) Fractogel DEAE-650-s «Merck» (Німеччина), урівноваженої 0.01 М Tris-HCl буфером (pH 7.0). Зразок (20 мл, 50 мг білка) наносили на колонку, елюцію проводили лінійним градієнтом NaCl (0–1 М, по 150 мл) зі швидкістю 24 мл/год. Речовини, ідентичні фракціям одержаних піків, перевіряли на токсичну активність. Шкідливий вплив токсину *Campylobacter jejuni* на організм вивчали шляхом визначення опсонічного індексу.

В умовах стерильності в центрифужні пробірки вносили суміш 0.1 мл крові кроля та 0.1 мл 2%-го розчину цитрату натрію. Пробірки стікерували відповідно досліджуваному ізоляту кампілобактерій і до цитратної крові кроля певної пробірки додавали 0.1 мл 2 млрд. зависі змиву агарової культури бактерій *Campylobacter jejuni*. В іншу пробірку з подібними компонентами додавали 0.1 мл певної фракції токсиномісних речовин, отриманих із супернатанту бульйонної культури *Campylobacter jejuni*. Пробірки з реагентами витримували 30 хв у термостаті за температури 37 °С, потім центрифугували при 3 тис. об/хв та відбирали піпеткою супернатант з лейкоцитами. З лейкоцитомістимої субстанції готували мазки та фарбували їх методом Романовського-Гімза для підрахунку фагоцитованих бактерій у токсиновмісних та вільних від токсичних субстанцій фракціях.

Іонообмінну хроматографію проби (супернатант) проводили із застосуванням колонки (3.0 × 40 см) Fractogel DEAE-650-m “Merck” (Німеччина), урівноважену 0.01 М Tris-HCl буфером (pH 7.0). Зразок (10 мл, 40 мг білка) вносили в колонку. Елюцію проводили лінійним градієнтом NaCl (0–1 М, по 150 мл) зі швидкістю 30 мл/год. Речовини, ідентичні фракціям

одержаних піків, перевіряли на токсичну активність. Статистичний аналіз проводили згідно з програмою *R: A Language*.

2.5 Статистична обробка результатів

Цифрові результати дослідження представлені відповідно до вимог Міжнародної системи одиниць та статистично оброблені за допомогою комп'ютерної програми Microsoft Excel. Вірогідність різниці між групами за різними показниками оцінювали за допомогою t-критерію Стьюдента при порівнянні середніх (різницю вважали вірогідною при $p < 0,01$)

Висновок до розділу 2.

У нашій роботі використовували загальноприйняті методики досліджень та сучасні методи і прилади для виділення, ідентифікації мікроорганізмів та вивчення їх властивостей. Дослідження проведені у сертифікованій лабораторії акредитованій на відповідність вимогам ДСТУ EN ISO/IEC 17025: 2019 року (Додаток 5).

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1 Особливості епізоотології кампілобактеріозу в Україні.

Для виявлення позитивних результатів лабораторних досліджень щодо збудників кампілобактеріозу, ми використовували статистичні дані Міністерства аграрної політики України, які включають щорічні звіти про інфекційні захворювання в Україні з 2009 по 2023 рік. Першим критерієм відбору даних була оцінка спроможності лабораторій проводити бактеріологічні дослідження на кампілобактеріоз. Тому ми зосередились на звітах уповноважених державою лабораторій, акредитованих Національним агенством з акредитації України відповідно до міжнародного стандарту EN ISO/IEC 17025 «Загальні вимоги до компетентності випробувальних та калібрувальних лабораторій». Ці лабораторії входять до складу Держпродспоживслужби України. Другим критерієм відбору звітних даних був методологічний підхід до протоколів бактеріологічного дослідження зразків на виявлення збудників кампілобактеріозу. Лабораторії використовують методи для виявлення та ідентифікації *Campylobacter* spp. відповідно до:

- ДСТУ ISO 10272-1:2007 «Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Горизонтальний метод виявлення та підрахунку кампілобактерій (*Campylobacter* spp) Частина 1. Метод виявлення.»;
- ISO 10272-2:2017 «Microbiology of the food chain — Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. Part 2: Colony-count technique.»;
- OIE Terrestrial Manual / Chapter 2.4.5;
- OIE Terrestrial Manual / Chapter 2.9.3;
- Протокол №1 від 12.12.2003 року «Рекомендації з діагностики, заходів боротьби та профілактики кампілобактеріозу птиці»;
- ДСТУ 3535-97 «Сперма бугаїв нативна. Технічні умови.»

Результатом нашого дослідження стали дані щодо загальної кількості проведених бактеріологічних досліджень за мікробіологічним критерієм «виділення збудників кампілобактеріозу» та позитивних результатів у зразках

патологічного та біологічного матеріалів від тварин та птиці, отримані лабораторіями Держпродспоживслужби України.

Таблиця 3.1 висвітлює результати бактеріологічних досліджень біологічного матеріалу від великої рогатої худоби (сперма, препуціальний та вагінальний слиз), від умовно здорових тварин, на виявлення *Campylobacter* spp. за період з 2009 по 2023 роки лабораторіями ветеринарної медицини Держпродспоживслужби України.

Результати бактеріологічних досліджень біологічного матеріалу на виявлення збудників кампілобактеріозу

Таблиця 3.1

Рік	Слиз з препуція бугаїв		Слиз вагінальний великої рогатої худоби		Сперма бугаїв	
	Кількість зразків	Позитивні	Кількість зразків	Позитивні	Кількість зразків	Позитивні
2009	21464	0	4920	0	1917	0
2010	13524	3	2785	0	1238	0
2011	9174	0	5589	0	487	0
2012	6050	0	5321	0	602	1
2013	4527	0	2634	0	270	0
2014	3752	0	3840	0	96	0
2015	4189	4	2120	0	135	0
2016	3537	0	2738	0	70	0
2017	3678	0	2520	0	50	0
2018	0	0	0	0	0	0
2019	574	0	4982	0	384	0
2020	1678	0	1987	0	343	0
2021	1560	0	1347	0	407	0
2022	24	0	44	0	351	0
2023	0	0	134	0	322	0
Всього	73731	7	40961	0	6672	1

Дані таблиці демонструють, що за 15-річний період було досліджено 121364 зразки біологічного матеріалу від великої рогатої худоби на кампілобактеріоз, з них виявлено 8 позитивних зразків, які належать бугаям-

плідникам. Позитиви встановлені в Харківській області (2010 рік – 3 зразки), в Одеській (2015 рік – 2 зразки) та на базі ДНДІЛДВСЕ (2012 рік – 1 зразок та 2015 рік – 2 зразки). Ідентифікація ізолятів не проводилася.

За період з 2015 по 2023 рік досліджено 1208 матеріалів від птиці, однак позитивних результатів виявлено не було. Таблиця 3.2 висвітлює результати бактеріологічного дослідження патологічного матеріалу на кампілобактеріоз за період з 2009 по 2023 роки лабораторіями ветеринарної медицини Держпродспоживслужби України.

Результати бактеріологічних досліджень патологічного матеріалу на виявлення збудників кампілобактеріозу

Таблиця 3.2

Рік	Велика рогата худоба а/п, м/н		Свині а/п		Дрібна рогата худоба а/п		Коні а/п		Велика рогата худоба п/м		Птахи п/м	
	Кіл-ть	Поз-ні	Кіл-ть	Поз-ні	Кіл-ть	Поз-ні	Кіл-ть	Поз-ні	Кіл-ть	Поз-ні	Кіл-ть	Поз-ні
2009	1155	0	5	0	18	0	1	0	0	0	0	0
2010	1045	0	13	0	12	0	0	0	2	0	0	0
2011	1973	0	18	0	41	0	0	0	13	0	0	0
2012	3192	0	4	0	24	0	0	0	13	0	0	0
2013	922	0	497	0	12	0	5	0	898	0	0	0
2014	1913	0	17	0	5	0	0	0	0	0	0	0
2015	772	1	1478	10	15	0	0	0	0	0	430	0
2016	615	0	3	0	12	0	0	0	0	0	445	0
2017	364	0	0	0	17	0	0	0	1	0	138	0
2018	393	0	4	0	7	0	0	0	0	0	49	0
2019	1024	0	1	0	2	0	0	0	0	0	43	0
2020	301	0	0	0	0	0	0	0	1	0	73	0
2021	436	0	3	0	4	0	0	0	3	0	24	0
2022	579	0	1	0	0	0	0	0	0	0	5	0
2023	5	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
Всього	14689	1	2044	10	169	0	7	0	931	0	1208	0

Дані таблиці демонструють, що за період з 2009 по 2023 роки досліджено 19048 зразків патологічного матеріалу, при цьому виявлено 11 позитивних результатів щодо *Campylobacter* за абортів великої рогатої худоби та свиней: в Полтавській області (велика рогата худоба а/п – 1, свині а/п – 10 матеріалів). Ідентифікація ізолятів не проводилася.

Враховуючи захворювання людей від тварин, ми провели дослідження щодо звітних даних «Центру громадського здоров'я Міністерства охорони здоров'я України» про «Інфекційну захворюваність населення по Україні згідно звіту по Ф.№1» про реєстровані випадки кампілобактеріозу у людей. Ми встановили, що середньорічний показник захворюваності з 2016 по 2023 рік складає 0.34 випадки на 100 000 осіб населення. Стурбованість викликають гострі кишкові інфекції невстановленої етіології, які склали в 2023 році більше 70 випадків на 100 000 осіб населення, а пік випадків (120.9) припав на 2017 рік (Таблиця 3.3).

Кількість зареєстрованих випадків кампілобактеріозу та ГКІ невстановленої етіології в Україні протягом 2016 – 2024 років Таблиця 3.3

Звітний період (рік)	Зареєстровано випадків кампілобактеріозу		Випадки ГКІ невстановленої етіології	
	Абсолютне число	Інтенсивні показники на 100 000 населення	Абсолютне число	Інтенсивні показники на 100 000 населення
2016	109	0.25	44197	103.4
2017	156	0.37	51502	120.92
2018	149	0.35	45392	107.02
2019	158	0.37	42715	101.2
2020	154	0.37	19651	46.81
2021	189	0.45	23822	57.08
2022	109	0.26	23031	55.6
2023	116	0.28	28703	70.01
2024	115	0.28	32001	78.06
Разом	1226	-	311014	-

Дані таблиці демонструють низькі показники від 109 до 189 випадків зареєстрованого кампілобактеріозу, що становить від 0.25 до 0.45 випадків на 100 000 осіб населення у порівнянні з ГКІ та харчовими токсикоінфекціями невстановленої етіології від 19651 до 51502, що становить від 46.81 до 120.92 випадків на 100 000 осіб населення.

З метою оцінки поширення кампілобактеріозу людей в Україні провели аналіз звітних даних по областях. В Таблиці 3.4 продемонстровано кількість зареєстрованих випадків інфекції по областях України за 9 місяців 2024 року в порівнянні за той же період 2023 року (за даними ЦГЗ).

Випадки кампілобактеріозу за 9 місяців 2023 та 2024 років в розрізі областей

Таблиця 3.4

Регіони України	Зареєстровано випадків кампілобактеріозу			
	2024		2023	
	Абсолютне число	Ін. показники на 100 000 нас.	Абсолютне число	Ін. показники на 100 000 нас.
Вінницька обл	1	0.07	3	0.2
Волинська обл	1	0.1	-	-
Дніпропетровська обл	19	0.61	22	0.71
Запорізька обл	6	0.37	6	0.37
Київська обл	5	0.28	3	0.17
Львівська обл	-	-	1	0.04
Тернопільська обл	-	-	1	0.1
Хмельницька обл	1	0.08	-	-
Черкаська обл	3	0.26	16	1.38
м. Київ	50	1.72	40	1.37
Разом	86	0.21	92	0.22

Як показано в таблиці, найбільш діагностовано випадків кампілобактеріозу у Дніпропетровській, Запорізькій, Черкаській областях та м. Київ.

Разом з тим, «Міською клінічною лікарнею №9» міста Дніпра, протягом 2017 – 2023 років виділено 425 ізолятів *Campylobacter* spp. від дітей за ГКІ, які знаходились в педіатричному інфекційному відділенні, що склало 3.7% ураження (Таблиця 3.5).

Кількість проведених діагностичних досліджень біологічного матеріалу від дітей за ГКІ з 2017 по 2023 роки

Таблиця 3.5

Звітний період (рік)	Проведено діагностичних досліджень	Виділено ізолятів <i>Campylobacter</i> spp.	Ураження (%)	в т.ч					
				<i>C. jejuni</i>		<i>C. coli</i>		<i>C. lari</i>	
				Всього	%	Всього	%	Всього	%

2017	1310	27	2.1	12	44.4	15	55.6	0	0
2018	2022	52	2.6	29	55.8	21	40.4	2	3.8
2019	2028	53	2.6	23	43.4	27	50.9	3	5.7
2020	1976	96	4.9	55	57.3	36	37.5	5	5.2
2021	2007	80	4.0	46	57.5	30	37.5	4	5.0
2022	1040	59	5.7	26	44.1	24	40.7	9	15.2
2023	1032	58	5.6	35	60.3	19	32.8	4	6.9
Всього	11415	425	3.7	226	53.2	172	40.5	27	6.3

Дані таблиці демонструють кількість дослідженого матеріалу по рокам та в підсумку, кількість отриманих позитивних результатів щодо виділення збудника інфекції, а також видове різноманіття кампілобактерій, що викликали захворювання.

Campylobacter jejuni має найбільше представництво виділених ізолятів та становить 53.2% (226/425). Наступними є *Campylobacter coli* 40.5% (172/425) та *Campylobacter lari* 6.3% (27/425). Діти надходили до лікарні з ознаками ГКІ, що супроводжувалась діареєю, лихоманкою, нудотою та рвотою. Всі діти – мешканці м. Дніпра та Дніпропетровської області. Встановленими причинами зараження були вживання м'яса курки або контактування із домашніми тваринами (коти, цуценята, хом'яки), що зафіксовано в «Медичній картці пацієнта» відповідно до наказу МОЗ №110 від 14.02.2012 року.

За нашого дослідження ми встановили, що в Україні кампілобактеріоз є актуальним зоонозом, але лабораторна діагностика *Campylobacter* потребує вдосконалення.

3.2 Дослідження видів *Campylobacter* в розрізі програми планових досліджень антибіотикорезистентності зоонозних та коменсальних бактерій, ініціативної тематики та за ГКІ у дітей.

Для подальшого детального дослідження мікроорганізмів роду *Campylobacter* проведені планові дослідження ймовірних природніх джерел зоонозного патогену, апробовані методи індикації кампілобактерій, виділені ізоляти від тварин та птиці та вивчені їх біологічні властивості.

В планових дослідженнях брали участь 216 господарств з усіх областей України. Частка птахогосподарств становила 23%, свиногосподарства - 44%, 33% - ферми по утриманню великої рогатої худоби молочного та м'ясного

напрямків. Частково матеріал відбирали від свиней та великої рогатої худоби, утримуваних в особистих селянських господарствах, закуплених переробними підприємствами для забою. Кількість господарств по галузям тваринництва у кожній області було визначено регіональними керівниками Держпродспоживслужби, враховуючи чисельність поголів'я тварин та птиці в області.

Кількість зразків, які надійшли на дослідження в розрізі областей.

Таблиця 3.6

Назва областей	Всього надійшло зразків	З них по видах тварин		
		Велика рогата худоба	Свині	Птахи
Вінницька	129	47	32	50
Волинська	128	60	18	50
Дніпропетровська	130	35	35	60
Донецька	44	-	34	10
Житомирська	17	-	6	11
Закарпатська	81	1	30	50
Запорізька	75	25	30	20
Івано-Франківська	110	30	30	50
Київська	80	8	57	15
Кіровоградська	71	30	41	-
Луганська	50	20	30	-
Львівська	44	15	5	24
Миколаївська	58	30	28	-
Одеська	60	30	30	-
Полтавська	82	25	27	30
Рівненська	137	19	18	100
Сумська	12	5	5	2
Тернопільська	134	42	42	50

Харківська	78	28	30	20
Херсонська	100	30	20	50
Хмельницька	113	11	46	56
Черкаська	168	25	43	100
Чернівецька	104	30	24	50
Чернігівська	115	35	30	50
Разом	2120	581	691	848

Дана таблиця інформує про загальну кількість досліджуваних зразків та у розрізі областей, які надійшли для досліджень щодо антибіотикорезистентності зоонозних та комменсальних бактерій.

За ініціативної тематики було проведено відбір матеріалу під час забою на бійнях та птахофабриках Київської, Волинської, Вінницької та Черкаської областей.

Кількість відібраних зразків за ініціативно-пошукової науково-дослідної тематики

Таблиця 3.7

Зразки	Кількість відібраних проб
Велика рогата худоба	12
Свині	20
Кури-бройлери	76
Індики	30
Разом	138

Дані таблиці демонструють кількість відібраних зразків по видах тварин за ініціативної тематики.

Згідно Договору №89 про співробітництво та організацію взаємовідносин між НУБІП України та Комунального некомерційного підприємства «Міська клінічна лікарня №9» міста Дніпра, були опрацьовані звітні дані щодо кількості матеріалу відібраного від дітей за гострих кишкових інфекцій для встановлення діагнозу на кампілобактеріоз, за період з 2017 по 2023 роки.

Кількість відібраних зразків біологічного матеріалу за ГКІ дітей за період з 2017 по 2023 роки.

Таблиця 3.8

Роки	Кількість відібраного біологічного матеріалу
2017	1310
2018	2022
2019	2028
2020	1976
2021	2007
2022	1040
2023	1032
Разом	11415

Дані таблиці демонструють кількість відібраного матеріалу від хворих дітей на ГКІ, що були госпіталізовані до інфекційного стаціонару лікарні №9 м. Дніпра, за період з 2017 по 2023 рік, для встановлення діагнозу на кампілобактеріоз.

3.2.1 Дослідження *Campylobacter* spp. серед поголів'я великої рогатої худоби при різних технологіях утримання.

В 2021 році планові дослідження щодо протимікробної резистентності у ветеринарній медицині здійснені вперше в Україні та профінансовані за рахунок Державного бюджету України за однойменною програмою. Для гармонізації досліджень та отримання неупереджених даних, керувалися Імплементативним Рішенням Комісії (ЄС) 2020/1729 «...щодо моніторингу та звітності про резистентність до антимікробних препаратів у зоонозних та комменсальних бактерій» та Директивою 2003/99/ЄС про моніторинг зоонозів та збудників зоонозів [110, 121].

Зразки, відібрані з 216 господарств з усіх регіонів України, окрім тимчасово окупованих територій Донецької, Луганської областей та анексованого Криму (на час проведення досліджень в 2021 році). Досліджено

2120 зразків вмістимого лігатурованих сліпих кишок від сільськогосподарських тварин та птиці. Зразки досліджували відповідно процедури ДСТУ ISO 10272-1:2007 Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Горизонтальний метод виявлення і підрахунку кампілобактерій (*Campylobacter* spp.) Частина 1. Метод виявлення (ISO 10272-1:2006, IDT) за процедурою збагачення [9].

В результаті збагачення в Bolton Broth та ізоляції *Campylobacter* на два паралельних середовища mCCD agar та Preston Agar, ми отримали схожі колонії з культурами кампілобактерій. На mCCD agar колонії правильної круглої форми з рівними краями, блискучою опуклою поверхнею, сіруватого кольору з металевим блиском. На Preston Agar - плоскі з нерівними краями колонії рожевого кольору із здатністю до злиття – «ефект роїння». Для швидкої ідентифікації виготовили мікробіологічні препарати, пофарбовані фуксином Циля 1:5. В них відмічали невеликі спіральні зігнуті мікроорганізми, що мали вид «коми» чи «крил чайки». Також провели тест на рухливість мікроорганізмів при фазово-контрастній мікроскопії препаратів. Рухливість характеризувалась стрімкими спіралеподібними та «гвинтоподібними» змінами в положенні мікробних клітин.

За бактеріологічних досліджень зразків від тварин та птиці було виділено 448 ізолятів патогенних та умовно патогенних мікроорганізмів, з яких 33 ізоляти *Campylobacter* spp., що склало 1,6% ураження (Таблиця 3.9).

Кількість виявлених позитивних зразків щодо зоонозних та коменсальних бактерій в розрізі областей

Таблиця 3.9

Назва областей	Виділено ізолятів зоонозів та коменсалів			
	<i>E.coli</i>	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Enterococcus</i> spp.	<i>Campylobacter</i> spp.
Вінницька	6	0	6	0
Волинська	6	0	13	0
Дніпропетровська	12	2	19	1
Донецька	2	1	7	0
Житомирська	6	0	7	0
Закарпатська	7	0	6	0

Запорізька	1	0	2	0
Івано-Франківська	0	0	0	0
Київська	7	1	12	0
Кіровоградська	2	1	9	0
Луганська	8	0	6	0
Львівська	14	0	15	4
Миколаївська	15	0	5	0
Одеська	9	0	5	0
Полтавська	4	0	2	0
Рівненська	8	0	16	0
Сумська	1	0	1	0
Тернопільська	18	2	14	0
Харківська	13	4	12	0
Херсонська	10	1	19	2
Хмельницька	0	0	0	1
Черкаська	7	4	19	23
Чернівецька	7	0	9	0
Чернігівська	6	3	18	2
Разом / відсоток від всіх виділених ізолятів	169 / 37.7%	19 / 4.2%	227 / 50.6%	33 / 7.4%

Дані таблиці демонструють кількість виявлених зоонозних та коменсальних мікроорганізмів у розрізі областей та відсоток від всіх виділених ізолятів (448) за планових досліджень.

Нами встановлено, що ураження досліджених зразків *Campylobacter* spp. склало 1.6% (33/2120), з них по видах тварин:

- Велика рогата худоба – 0.9% (5/581);
- Свині – 0.3% (2/691);
- Птахи – 3.1% (26/848).

Такі результати вказують на актуальність дослідження поширення зоонозних патогенів *Campylobacter* spp., особливо в птахівництві, ідентифікації циркулюючих видів та вивчення їх біологічних властивостей.

На наступному етапі ми провели географічне ранжування зразків та встановили поширення *Campylobacter* spp. й відсоток інфікування по областях (Рисунок 2).

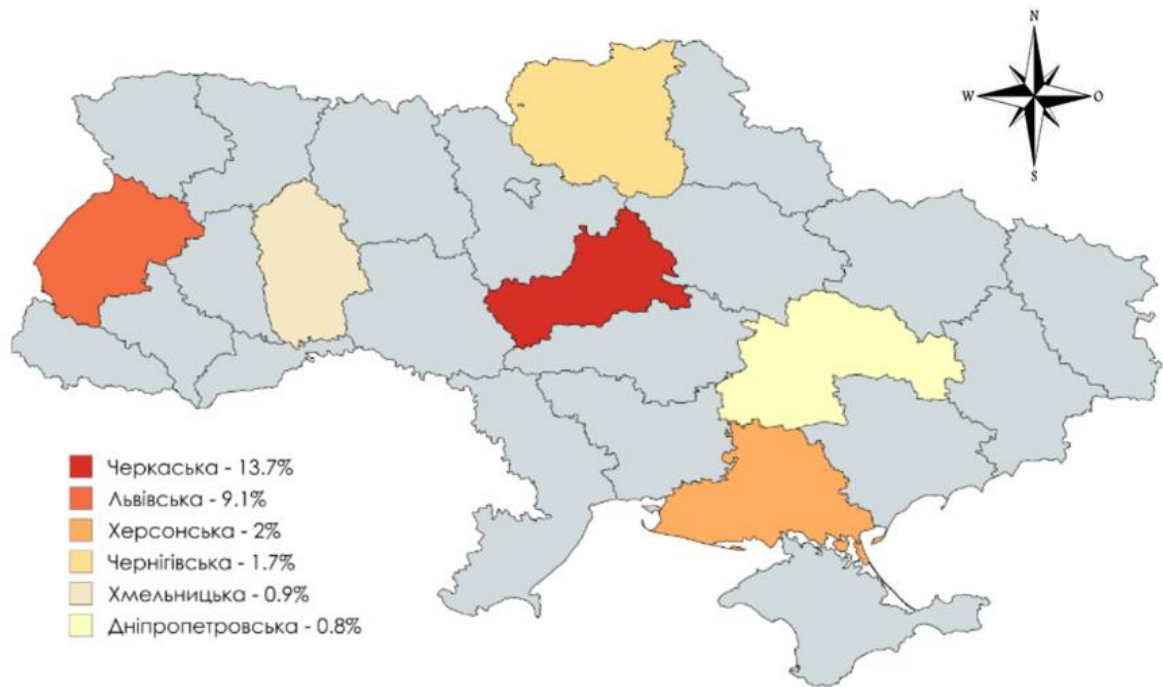


Рисунок 3.1. Відсоток ураження погोलів'я тварин та птиці *Campylobacter* spp. в розрізі областей України.

На рисунку позначені області України в яких виявлено позитивні зразки щодо *Campylobacter* spp. та вказано відсоток їх ураження в розрізі областей. Так найбільше позитивних зразків виявлено серед відібраного матеріалу від тварин та птиці з Черкаської області, що склало 13.7% ураження. Найменше – з Дніпропетровської області, що склало 0.8% ураження.

Досліджувані ферми по утриманню великої рогатої худоби молочного та м'ясного напрямків становили 33% (71/216). Всі господарства мали промислову технологією утримання та вирощування великої рогатої худоби. Частково матеріал відбирали від великої рогатої худоби, утримуваної в особистих селянських господарствах, закуплених переробними підприємствами для забою.

Зразки відбирали, користуючись рандомізованою схемою, безпосередньо під час забою на 176 забійних площадках (забійні пункти та забійні цехи

м'ясопереробних підприємств, м'ясокомбінатів) і на скотобійнях, на котрі припадає близько 60% забою специфічної популяції свійських тварин в Україні, обраних на випадковій основі. Забійний вік великої рогатої худоби – до 2,5 років, всупереч Рішенню Комісії (ЄС) 2020/1729 – до однорічного віку. Відібрано для дослідження 581 зразок вмістимого лігатурованих сліпих кишок від великої рогатої худоби.

В ході планових досліджень нами виділено 5 ізолятів *Campylobacter* spp., що становить 0,9% ураження. Більшість ізолятів отримано від особистих селянських господарств, що вказує на значну циркуляцію кампілобактерій в довкіллі. Позитивні зразки належать підприємству з розведення великої рогатої худоби молочних порід в Черкаській області – 3% (1/33) та особистим селянським господарствам Дніпропетровщини, Херсонщини та Львівщини – 12,1% (4/33).

На фермі в Черкаській області, де виявлено позитив, діє безприв'язне утримання та розподіл тварин за віковим та фізіологічним принципом. Тваринницькі приміщення оснащені системою припливно-витяжної вентиляції, механічним видаленням гною, автонапуванням. Корми для тварин старших вікових груп роздаються на кормовий стіл, а для молодняку - в годівницю. Кормозабезпечення у господарстві ґрунтується на кормах власного виробництва і має багатокomпонентний раціон.

Всі виділені ізоляти були протестовані на чутливість до антимікробних препаратів, що є критично важливими для лікування кампілобактеріозу. В результаті виявлено стійкі *Campylobacter* spp. до трьох груп тестованих антибіотиків (фторхінолони, макроліди та тетрацикліни). Ізоляти були досліджені на чутливість до антибіотиків ДДМ на чашках з агаром Мюллера — Хінтона з додаванням 5% лізованої крові коня. Діаметри зон затримки росту навколо кожного антимікробного диску оцінювали за EUCAST версія 11.0, 2021-01-01 та інтерпретували як чутливий та резистентний (Таблиця 3.10).

Результати дослідження стійкості ізолятів *Campylobacter* spp. від великої рогатої худоби до АБП

Таблиця 3.10

Назва антибіотику	Інтерпретація за EUCAST	Діаметри зон затримки росту, мм.				
		1	2	3	4	5
Ципрофлоксацин 5 мкг Ciprofloxacin 5 µg (CIP)	26 ≥ S; 26 < R	29 ± 1	32 ± 1	21 ± 1	30 ± 1	27 ± 1
Еритроміцин 15 мкг Erythromycin 15 µg (E)	24 ≥ S; 24 < R	25 ± 1	30 ± 1	29 ± 1	25 ± 1	27 ± 1
Тетрациклін 30 мкг Tetracycline 30 µg (TE)	30 ≥ S; 30 < R	27 ± 1	25 ± 1	31 ± 1	30 ± 1	32 ± 1

Примітки: S – чутливий; R – резистентний. EUCAST версія 11.0, 2021-01-01
«CIP» - ципрофлоксацин; «TE» - тетрациклін; «E» - еритроміцин.

Таблиця інформує про результати тестування чутливості до антибіотиків виділених ізолятів від великої рогатої худоби.

Повну чутливість до трьох класів антимікробних препаратів CIP / TE / E виявили у 2 ізолятів від великої рогатої худоби (4, 5), що становить 40%. Такі результати вказують на здатність до пригнічення даних ізолятів при дії АБП в лікувальних дозах. Лікування інфекцій, викликаних цими мікроорганізмами, як правило ефективне при застосуванні АБП в рекомендованих дозах. Резистентними до 1 із 3-х АБП виявили 3 ізоляти (1, 2 – до тетрацикліну, 3 – ципрофлоксацину), що склало 60%. Такі ізоляти не пригнічуються при дії АБП, тому лікування інфекцій, викликаних цими мікроорганізмами, не ефективне.

Стійкість виділених ізолятів від великої рогатої худоби до тетрацикліну становила – 40%, до ципрофлоксацину – 20%, до еритроміцину всі ізоляти – чутливі.

3.2.2 Дослідження *Campylobacter* spp. серед поголів'я свиней при різних технологіях утримання.

Свиногосподарства, що взяли участь в планових дослідженнях становили – 44% (96/216). Забійний вік тварин відповідав вимогам Імплементативного Рішення Комісії (ЄС) 2020/1729. Частково матеріал відбирали від свиней, утримуваних в особистих селянських господарствах, закуплених переробними підприємствами для забою. Відібрали для дослідження 691 зразок вмістимого лігатурованих сліпих кишок від свиней та виділили 2 ізоляти *Campylobacter* spp.

Дані ізоляти були протестовані на антимікробну резистентність, що склала до ципрофлоксацину – 100%, еритроміцину – 50% та до тетрацикліну – жоден не був стійким (Таблиця 3.11).

Результати дослідження стійкості ізолятів *Campylobacter* spp. від свиней до АБП Таблиця 3.11

Назва антибіотика	Інтерпретація за EUCAST	Діаметри зон затримки росту, мм.	
		1	2
Ципрофлоксацин 5 мкг Ciprofloxacin 5 µg (CIP)	26 ≥ S; 26 < R	10 ± 0	19 ± 1
Еритроміцин 15 мкг Erythromycin 15 µg (E)	24 ≥ S; 24 < R	12 ± 1	27 ± 1
Тетрациклін 30 мкг Tetracycline 30 µg (TE)	30 ≥ S; 30 < R	30 ± 1	32 ± 1

Примітки: S – чутливий; R – резистентний. EUCAST версія 11.0, 2021-01-01 «CIP» - ципрофлоксацин; «TE» - тетрациклін; «E» - еритроміцин.

Дані таблиці демонструють результати тестування чутливості до антибіотиків виділених ізолятів від свиней. Нами встановлено фенотип антимікробної резистентності одного ізоляту – CIP / E (1) та виявлено резистентного ізолята до ципрофлоксацину (2).

Свиноферми Херсонської та Черкаської областей займалися розведенням свиней із замкнутим циклом виробництва – отримання поросят від власного маточного стада, дорощування та відгодівля тварин до реалізації на м'ясопереробні підприємства. Приміщення відповідали вимогам санітарно-гігієнічного режиму. Відгодівля свиней ґрунтувалась на використанні кормів власного виробництва.

В рамках «Планової ініціативно-пошукової науково-дослідної роботи по оцінці ступеню поширення антибіотикорезистентності збудників бактеріальних зоонозів в Україні», державна реєстрація за №0118U100599, проведені експериментальні дослідження щодо виділення *Campylobacter* spp. із кишківника тварин та птиці. Шляхом рандомної вибірки під час забою на м'ясопереробному підприємстві Київської області, відібрано 20 зразків вмістимого лігатурованих сліпих кишок від свиней. За методу прямого нанесення, після мікроскопії характерних колоній, виявлено 11 зразків

позитивних щодо *Campylobacter* spp., що склало 55% ураження. Очищення проводили методом розсіву на селективні щільні середовища *Campylobacter* Agar та mCCD агар, після попереднього накопичення культури в селективному бульйоні Болтона. Ізоляти були досліджені на чутливість до антимікробних препаратів методом дискової дифузії на чашках з агаром Мюллера — Хінтона з додаванням 5% лізованої крові коня. Діаметри зон затримки росту оцінювали за EUCAST Version 13.1, (діючий з 2023-06-29). Результати представлені в Таблиці 3.12.

Результати дослідження стійкості до АБП ізолятів *Campylobacter* spp. від свиней, виділених за ініціативної роботи. Таблиця 3.12

№ п/п	Назва антибіотика					
	Ципрофлоксацин 5 мкг Ciprofloxacin 5 µg (CIP)		Тетрациклін 30 мкг Tetracycline 30 µg (TE)		Еритроміцин 15 мкг Erythromycin 15 µg (E)	
	26≥ S	26< R	30≥ S	30< R	24≥ S	24< R
1	26±1	-	-	16±1	24±1	-
2	-	20±1	31±1	-	25±1	-
3	28±1	-	-	18±1	-	20±1
4	-	21±1	-	12±1	25±1	-
5	-	18±1	30±1	-	28±1	-
6	26±1	-	-	15±1	26±1	-
7	-	15±1	-	11±1	26±1	-
8	-	18±1	-	20±1	-	18±1
9	26±1	-	30±1	-	24±1	-
10	-	17±1	-	17±1	28±1	-
11	-	15±1	-	20±1	26±1	-
Мінімальне, мм	15		11		18	
Максимальне, мм	28		31		28	
Відсоток резистентних	63,6%		72,7%		18,2%	

Примітки: S – чутливий; R – резистентний. EUCAST версія 13.1, 2023-06-29
«CIP» - ципрофлоксацин; «TE» - тетрациклін; «E» - еритроміцин.

Дані таблиці демонструють діаметри зон затримки росту ізолятів *Campylobacter coli* тестованими антибіотиками. Резистентність до ципрофлоксацину мають 63,6% ізолятів, до тетрацикліну – 72,7%, до еритроміцину – 18,2%. Мінімальне значення діаметра зони затримки росту за ципрофлоксацину – 15 мм, тетрацикліну – 11 мм та еритроміцину – 18 мм.

Встановлено фенотипи антимікробної резистентності CIP / TE у 4 ізолятів, TE / E у 1 ізоляту, мультирезистентність CIP / E / TE мав 1 ізолят. Резистентними до 1 антибіотика були 4 ізоляти, чутливим до всіх тестованих груп антимікробних засобів виявився 1 ізолят (Таблиця 3.13).

Комбінації фенотипів АМР у ізолятів *Campylobacter coli*, виділених у свиней за ініціативної роботи. Таблиця 3.13

Фенотипи антимікробної резистентності	<i>Campylobacter coli</i>	
	Кількість ізолятів	%, від загальної кількості
CIP/TE/E	1	9.1
CIP/TE	4	36.3
CIP/E	0	0
TE/E	1	9.1
CIP	2	18.2
TE	2	18.2
E	0	0
CIP/TE/E (чутливі)	1	9.1

Примітка: «CIP» - ципрофлоксацин; «TE» - тетрациклін; «E» - еритроміцин.

Дані таблиці демонструють фенотипи антибіотикорезистентності ізолятів *Campylobacter coli* від свиней. Найпоширенішою комбінацією резистентності є CIP/TE, що становить 36.3%.

3.2.3 Дослідження *Campylobacter* spp. у бройлерному птахівництві.

Кури-бройлери як основне природне джерело термофільних бактерій роду *Campylobacter*, відіграють важливу роль у процесі виникнення та розповсюдження збудників кампілобактеріозу людей та стійких до АБП кампілобактерій.

Участь в планових дослідженнях взяли 23% (49/216) птахогосподарств України. Відібрано для дослідження 848 зразків вмістимого лігатурованих сліпих відростків кишківника птиці, з яких: від перепелів – 12, качок – 2, індиків – 88, курей-бройлерів – 746. Птицю забивали у забійному віці від 27 до 54 діб, а також 3-х, 5-ти та 7-ми місяців.

В ході планових досліджень найбільшу кількість *Campylobacter spp.* виявлено у матеріалі, відібраному від курей-бройлерів – 26 ізолятів, що склало 3.5% (26/746) інфікування. Результати дослідження на чутливість до антибіотиків із розмірами зон затримки росту наведено в (Таблиці 3.14).

Стійкість ізолятів *Campylobacter spp.* від курей-бройлерів Таблиця 3.14

№ п/п	Назва антибіотика					
	Ципрофлоксацин 5 мкг Ciprofloxacin 5 µg (CIP)		Тетрациклін 30 мкг Tetracycline 30 µg (TE)		Еритроміцин 15 мкг Erythromycin 15 µg (E)	
	26≥ S	26< R	30≥ S	30< R	24≥ S	24< R
1	30±1	-	-	21±1	-	17±1
2	-	20±1	-	13±1	-	10±0
3	-	15±1	-	16±1	-	15±1
4	-	12±1	-	10±1	-	12±1
5	29±1	-	-	14±1	28±1	-
6	-	17±1	-	23±1	-	14±1
7	32±1	-	-	25±1	-	21±1
8	-	22±1	-	18±1	30±1	-
9	-	11±1	-	12±1	-	19±1
10	30±1	-	32±1	-	26±1	-
11	27±1	-	30±1	-	29±1	-
12	34±1	-	34±1	-	-	23±1
13	28±1	-	-	26±1	31±1	-
14	-	10±0	-	11±1	-	10±0
15	-	10±0	-	15±1	-	12±1
16	-	12±1	-	10±0	-	15±1
17	-	13±1	-	14±1	-	11±1
18	32±1	-	-	12±1	29±1	-
19	-	15±1	-	18±1	-	13±1
20	-	20±1	-	22±1	-	10±0
21	31±1	-	-	24±1	-	22±1
22	28±1	-	-	20±1	-	20±1
23	-	11±1	-	17±1	-	19±1
24	-	12±1	-	12±1	-	12±1
25	29±1	-	-	21±1	34±1	-
26	-	10±0	-	19±1	-	18±1
Мінімальне, мм	10		10		10	
Максимальне, мм	32		34		34	
Відсоток резистентних	57.7%		88.5%		73.1%	

Примітки: S – чутливий; R – резистентний. EUCAST версія 11.0, 2021-01-01
«CIP» - ципрофлоксацин; «TE» - тетрациклін; «E» - еритроміцин.

Дані таблиці демонструють результати тестування чутливості до антибіотиків виділених ізолятів від курей-бройлерів. Стійкість виділених ізолятів до тетрацикліну становила – 88.5% (23/26), до ципрофлоксацину – 57.7% (15/26) та до еритроміцину – 73.1% (19/26).

Встановлені фенотипові комбінації антимікробної резистентності ізолятів від птиці: CIP / TE / E – 53.8% (14/26), TE / E – 15.4% (4/26) та CIP / TE – 3.8% (1/26) ізолятів. Резистентними до одного із трьох АБП були 19.2% (5/26) ізолятів від птиці. Повну чутливість до трьох класів антимікробних препаратів виявили у 7.7% (2/26) ізолятів.

Птахогосподарства Львівської, Черкаської, Чернігівської та Хмельницької областей, в яких виявлені позитивні зразки щодо *Campylobacter* spp., мали технологію замкнутого циклу. Пташники оснащені автоматизованою системою мікроклімату, випоювання та годівлі. Птицю утримували на підлозі з глибокою підстилкою. Відгодівля здійснювалась кормами власного виробництва за встановленим технологами раціоном. Господарства використовували власні сучасні забійні цехи з широким спектром операцій: патрання, автоматизована нарізка птиці, пакування, охолодження та заморожування. Для оновлення батьківського стада та збереження характеристики породи з встановленою періодичністю господарства імпортують інкубаційні яйця та добових курчат з країн ЄС. При цьому відбувається моніторинговий контроль сальмонельозу, кампілобактеріоз як зоонозна одиниця не досліджується.

В рамках науково-дослідної тематики проведені дослідження з вивчення поширення та чутливості до АБП бактерій роду *Campylobacter*. З травня по вересень 2023 року шляхом рандомної вибірки на забійних пунктах Волинської, Київської та Черкаської областей відібрані зразки сліпих відростків кишківника з вмістом від курей-бройлерів (n=76) та індиків (n=30). До вибірки увійшли 6-ть господарств, що представлені трьома кластерами: в Центрі – Черкащина, на Заході – Волинь та на Півночі – Київщина.

Відбирали в поліетиленові пакети частину кишківника із сліпими відростками та герметично закривали. Доправляли в термоконтейнерах із

холодогенами в лабораторію та зразу досліджували. Якщо не вдавалося почати дослідження в день надходження зразків, зберігали в холодильній камері при 4°C до наступного ранку та після стабілізації температури зразків, щоб уникнути температурного шоку, починали виділення *Campylobacter*.

В результаті досліджень було виділено 21 ізолят *Campylobacter* spp. та піддано ідентифікації на аналізаторі VITEK з технологією MALDI-TOF MS. Серед ізолятів 14 ідентифіковано як *Campylobacter coli*, 7 - *Campylobacter jejuni*. Ізоляти протестовані на чутливість до АБП згідно EUCAST та інтерпретовані як чутливий та резистентний. Стійкість до тетрацикліну склала 52.4% (11/21), до ципрофлоксацину – 76,2% (16/21) та до еритроміцину - 19% (4/21). Результати дослідження на чутливість до антибіотиків із розмірами зон затримки росту наведено в Таблиці 3.15.

Антибіотикограма ізолятів *Campylobacter* spp., виділених від птиці

Таблиця 3.15

№ п/п	Виділений ізолят	Назва антибіотика					
		Ципрофлоксацин 5 мкг Ciprofloxacin 5 µg		Тетрациклін 30 мкг Tetracycline 30 µg		Еритроміцин 15 мкг Erythromycin 15 µg	
		26≥ S	26< R	30≥ S	30< R	24≥ S	24< R
1	<i>C. coli</i>	-	24±1	-	22±1	25±1	-
2	<i>C. coli</i>	28±1	-	30 ±1	-	27±1	-
3	<i>C. coli</i>	-	12±1	-	18±1	24±1	-
4	<i>C. coli</i>	-	19±1	34±1	-	25±1	-
5	<i>C. jejuni</i>	26±1	-	-	15±1	30±1	-
6	<i>C. jejuni</i>	-	25±1	31±1	-	-	18±1
7	<i>C. coli</i>	-	13±1	30±1	-	24±1	-
8	<i>C. coli</i>	-	17±1	-	21±1	-	20±1
9	<i>C. jejuni</i>	-	15±1	32±1	-	27±1	-
10	<i>C. coli</i>	32±1	-	-	16±1	25±1	-
11	<i>C. coli</i>	-	12±1	-	25±1	25±1	-
12	<i>C. coli</i>	-	18±1	-	28±1	24±1	-
13	<i>C. coli</i>	-	21±1	31±1	-	28±1	-
14	<i>C. jejuni</i>	-	24±1	34±1	-	30±1	-
15	<i>C. jejuni</i>	29±1	-	-	11±1	27±1	-
16	<i>C. coli</i>	-	19±1	-	23±1	24±1	-
17	<i>C. jejuni</i>	-	11±1	-	19±1	-	17±1
18	<i>C. coli</i>	-	20±1	32±1	-	25±1	-
19	<i>C. coli</i>	31±1	-	30±1	-	28±1	-
20	<i>C. coli</i>	-	10±1	33±1	-	24±1	-

21	<i>C. jejuni</i> (індик)	-	22±1	-	27±1	-	15±1
Відсоток резистентних		76.2%		52.4%		19.0%	

Примітки: S – чутливий; R – резистентний. EUCAST версія 13.1, 2023-06-29

Дані таблиці демонструють діаметри зон затримки росту ізолятів *Campylobacter* spp. тестованими антибіотиками.

Встановлені комбінації фенотипів антимікробної резистентності ізолятів від птиці: CIP / TE / E – 14.3% (3/21), CIP / TE – 23.8% (5/21), CIP / E – 4.8% (1/21). Резистентними до одного із трьох АБП були 47.6% (10/21) ізолятів, чутливим до всіх трьох антибіотиків були 9.5% (2/21) ізолятів. Такі результати вказують на поширення антибіотикорезистентних *Campylobacter* у птахівництві (основне природне джерело *Campylobacter*), що створює серйозні виклики для здоров'я людей як споживачів курятини та м'ясопродуктів через контамінацію яких відбувається зараження харчовим зоонозним патогеном, стійким до антибіотиків.

Комбінації фенотипів AMP у ізолятів *Campylobacter* spp., виділених у птахів за ініціативної роботи.

Таблиця 3.16

Фенотипи антимікробної резистентності	<i>Campylobacter jejuni</i>		<i>Campylobacter coli</i>		Разом	
	Кількість ізолятів	%, від загальної кількості	Кількість ізолятів	%, від загальної кількості	Кількість ізолятів	%, від загальної кількості
CIP/TE/E	2	16.7	1	7.1	3	14.3
CIP/TE	0	0	5	35.7	5	23.8
CIP/E	1	16.7	0	0	1	4,8
TE/E	0	0	0	0	0	0
CIP	2	33.3	5	35.7	7	33.3
TE	2	33.3	1	7.1	3	14.3
E	0	0	0	0	0	0
CIP/TE/E (чутливі)	1	16.7	1	7.1	2	9.5

Примітка: «CIP» - ципрофлоксацин; «TE» - тетрациклін; «E» - еритроміцин.

Дані таблиці демонструють фенотипи антибіотикорезистентності ізолятів *Campylobacter* spp. від птахів та їх відсоток від загальної кількості досліджених ізолятів.

Планові дослідження вперше продемонстрували поширеність збудників інфекції *Campylobacter* серед свійських тварин в Україні, при цьому значна частина ізолятів виділена від курей-бройлерів і це стверджує, що основне природне джерело інфекції є птахи. Високий відсоток множинної лікарської стійкості ізолятів *Campylobacter* відображає тривожну тенденцію, що відповідає глобальним тенденціям зростання стійкості до протимікробних препаратів.

Отримані дані підкреслюють необхідність комплексного міждисциплінарного підходу в рамках концепції «Єдине здоров'я» для подолання зростаючої загрози резистентності кампілобактерій. Це включає розробку національної стратегії, спрямованої на моніторинг і контроль стійкості до антибіотиків по всьому харчовому ланцюгу. Інтеграція повногеномного секвенування в програми моніторингу допоможе зрозуміти епідеміологію та еволюцію *Campylobacter* в Україні, надасть критично важливе розуміння генетичних детермінант резистентності та їх фенотипічних проявів. Такий проактивний підхід має важливе значення для зниження ризику зоонозних захворювань та захисту здоров'я населення.

3.3 Взаємозв'язок поширення *Campylobacter* spp. та ГКІ у населення.

Нами, для дослідження ситуації з кампілобактеріозу серед населення, було опрацьовано звіти про результати бактеріологічних досліджень на виявлення збудників кампілобактеріозу у дітей за ГКІ. Звіти надані бактеріологічною лабораторією Комунального некомерційного підприємства «Міська клінічна лікарня №9» Дніпровської міської ради м. Дніпра відповідно договору №89 про співробітництво та організацію взаємовідносин. Критерієм відбору звітних даних був методологічний підхід до протоколів лікування «Гострої кишкової інфекції» з бактеріологічним виявленням *Campylobacter* spp. у біологічних зразках.

Нами встановлено, що протягом 2017 – 2023 років досліджено 11415 біоматеріалів від пацієнтів педіатричних інфекційних стаціонарів ЛПЗ м. Дніпра, за гострих кишкових інфекцій та харчових токсикоінфекцій. При цьому виділено 425 ізолятів патогенних форм, які були кваліфіковані як збудники кампілобактеріозу у дітей та ідентифіковані як *Campylobacter jejuni* – 226 ізолятів, *Campylobacter coli* – 172 та *Campylobacter lari* – 27 відповідно (Таблиця 3.5). Ідентифіковані види *Campylobacter* spp. за досліджень біоматеріалів від педіатричних пацієнтів представлена на Рисунку 3.2.

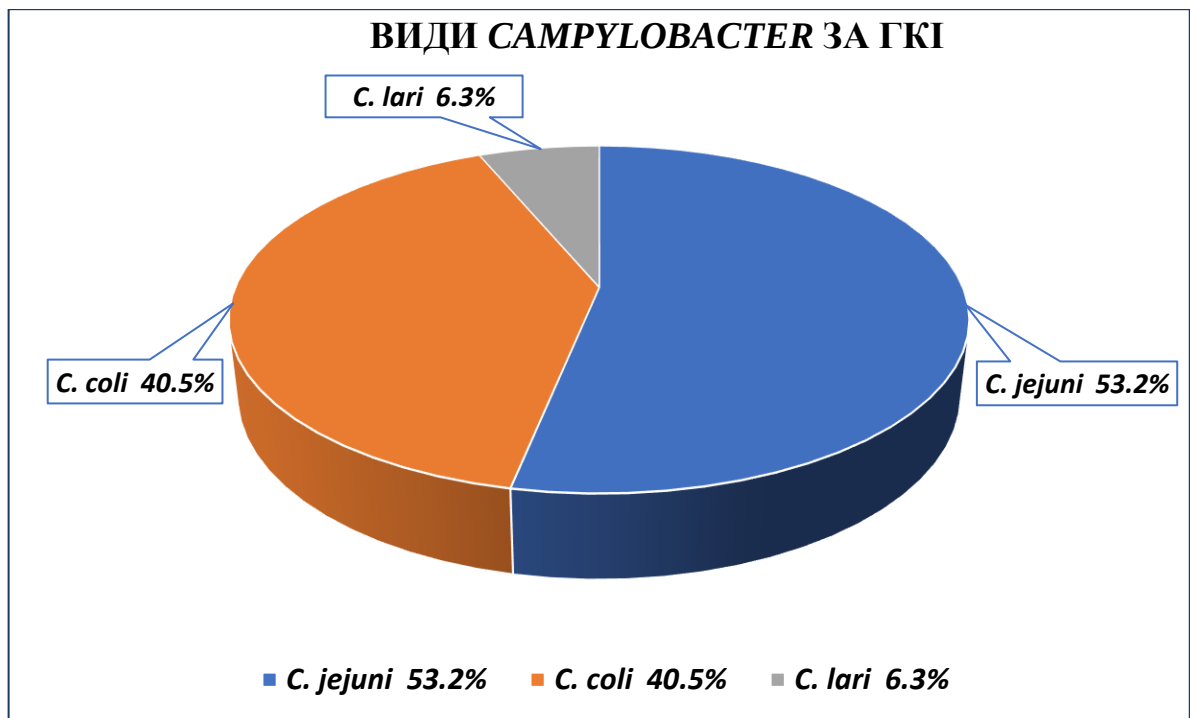


Рисунок 3.2. Ідентифіковані види *Campylobacter* spp. за досліджень біоматеріалів від дітей.

На рисунку зображено відсоток по видах збудників кампілобактеріозу, котрі ідентифіковані за досліджень біологічного матеріалу від дітей. Найбільш поширений вид *Campylobacter jejuni*, що становить 53.2% (226/425). Наступними є *Campylobacter coli* 40.5% (172/425) та *Campylobacter lari* 6.3% (27/425).

Ймовірними шляхами зараження були вживання недовареного м'яса курки або контактування з інфікованим м'ясом, або із домашніми тваринами (коти, цуценята, хом'яки, черепахи та пташки). Однак, інші продукти

харчування такі як неочищена вода, овочі, яйця, сире молоко та непастеризовані молокопродукти також можуть бути причиною інфекції *Campylobacter*.

За нашим аналізом стійкості до АБП, ізоляти *Campylobacter*, виділені з біологічного матеріалу від дітей за гострих кишкових інфекцій в Україні, мають резистентність до фторхінолонів – 86%, тетрациклінів – 45% та макролідів – 9%, що відповідає тренду світових тенденцій. Чутливість ізолятів *Campylobacter* до антибіотиків оцінювали відповідно до рекомендацій EUCAST.

Чутливість до антибактеріальних препаратів ізолятів, виділених від дітей за період 2017 - 2023 рр.

Таблиця 3.17

Звітний період (рік)	Виділено ізолятів <i>Campylobacter</i> spp.	Ципрофлоксацин (5мкг)				Еритроміцин (15мкг)				Тетрациклін (30 мкг)			
		Чутливий при збільшеній експозиції		Стійкий		Чутливий, стандартний режим дозування		Стійкий		Чутливий, стандартний режим дозування		Стійкий	
		Всього	%	Всього	%	Всього	%	Всього	%	Всього	%	Всього	%
2017	27	2	7	25	93	26	96	1	4	22	81	5	19
2018	52	2	4	50	96	52	100	0	0	38	73	14	27
2019	53	5	9	48	91	51	96	2	4	38	72	15	28
2020	96	26	27	70	73	88	92	8	8	43	45	53	55
2021	80	16	20	64	80	66	83	14	17	43	54	37	46
2022	59	6	10	53	90	56	95	3	5	30	51	29	49
2023	58	1	2	57	98	49	84	9	16	20	34	38	66
Всього	425	58	14	367	86	388	91	37	9	234	55	191	45

Дані таблиці демонструють відсоток резистентних до АБП *Campylobacter* від загальної кількості виділених ізолятів. Таким чином ми спостерігаємо стійку тенденцію резистентності місцевих *Campylobacter* до ципрофлоксацину та тетрацикліну, а також набуття стійкості до еритроміцину.

Для виявлення резистентності виділених ізолятів до різних груп антибіотиків, ми провели аналіз чутливості *Campylobacter* до кожного окремого тестованого АБП та виявили фенотипи АМР.

Фенотипи антимікробної резистентності ізолятів *Campylobacter* spp. від дітей

Таблиця 3.18

Фенотипи антимікробної резистентності	<i>Campylobacter jejuni</i>		<i>Campylobacter coli</i>		<i>Campylobacter lari</i>		Разом	
	Кіл-ть	%	Кіл-ть	%	Кіл-ть	%	Кіл-ть	%
CIP/TE/E	2	1.2	9	8.3	1	4.5	12	4.1
CIP/TE	75	46.3	35	32.1	15	68.2	125	42.7
CIP/E	5	3.1	4	3.7	0	0	9	3.1
TE/E	6	3.7	4	3.7	0	0	10	3.4
CIP	55	33.9	37	33.9	6	27.3	98	33.4
TE	4	2.5	6	5.5	0	0	10	3.4
E	2	1.3	1	0.9	0	0	3	1.0
CIP/TE/E (чутливі)	13	8.0	13	11.9	0	0	26	8.9
Разом ізолятів	162		109		22		293	

Примітка: «CIP» - ципрофлоксацин; «TE» - тетрациклін; «E» - еритроміцин.

Дані таблиці демонструють виявлені комбінації фенотипів антимікробної резистентності ізолятів *Campylobacter* spp. Мультирезистентність до трьох класів антибіотиків мали 12 ізолятів, з яких *Campylobacter jejuni* – 2 ізоляти, *Campylobacter coli* – 9 ізолятів та *Campylobacter lari* – 1 ізолят. Найбільше виявлено стійких *Campylobacter* з фенотипом CIP/TE – 125 ізолятів. Стійкість до одного із трьох тестованих антибіотиків мали 111 ізолятів. Чутливих до тестованих антибіотиків було 26 ізолятів, серед яких не виявлено жодного ізоляту виду *Campylobacter lari*. Аналіз стійкості клінічних ізолятів до АБП дає розуміння проблеми АМР харчових зоонозних патогенів, що є потенційною небезпекою для здоров'я населення та вимагає термінового реагування.

Дослідження на чутливість до антибіотиків визначали ДДМ Кірбі — Бауера на чашках середовища Мюллер-Хінтона з додаванням 5% дефібринованої крові коней (Рисунок 3.3).



Рисунок 3.3. Постановка ДДМ чутливості ізоляту *Campylobacter jejuni* до антибактеріальних препаратів.

На рисунку зображені зони затримки росту *Campylobacter jejuni*, антибіотиками, що рекомендовані EUCAST для тестування чутливості. Культура нанесена на агар Мюллер-Хінтона з кров'ю штрихами, що чітко видно на ділянках де відсутні зони затримки росту. Це свідчить про те, що даний ізолят *Campylobacter* має певні механізми резистентності до тестованих антибіотиків.

В Україні кампілобактеріоз у дітей діагностується від 3 до 5% хворих на ГКІ. Вдосконалена лабораторна діагностика дає можливість виявляти збудників інфекції, ідентифікувати та вивчати їх біологічні властивості. Нами встановлено відсоток інфікування, який склав 2.1% в 2017 році та 5.7% у 2022 році. Циркуляція ізолятів *Campylobacter jejuni* становить 53.2% (226/425), *Campylobacter coli* 40.5% (172/425) та *Campylobacter lari* 6.3% (27/425). Анибіотикорезистентність до ципрофлоксацину склала 86%, тетрацикліну – 45% та еритроміцину – 9%. Найбільше виявлено стійких *Campylobacter* з фенотипом CIP/TE – 125 ізолятів. Стійкість до одного із трьох тестованих

антибіотиків мали 111 ізолятів. Наші дослідження говорить про актуальність даного захворювання в Україні.

3.4 Тестування та визначення ефективності методів отриманням чистої культури *Campylobacter* spp.

Чисті культури мікроорганізмів необхідні для встановлення їх морфологічних та біохімічних особливостей, а також для визначення видової приналежності бактерій. Для виділення мікроорганізмів в чисту культуру потрібна повна їх ізоляція від інших видів. Після отриманих характерних колоній на щільних селективних ЖС готували мікробіологічні препарати, фарбували за Грамом та мікроскопіюванням визначали чистоту колоній (однорідність, однотипність та однотинкторіальність).

При виявленні інших видів мікроорганізмів крім *Campylobacter*, очищали культуру методом розсіву на хромогенному середовищі CASA та культивували в мікроаеробних умовах за температури 41,5°C упродовж 48 - 96 годин. На даному середовищі росте майже виключно *Campylobacter*, а ріст інших бактерій, плісняви та дріжджів пригнічується вмістом високоселективних хімічних сполук, що входять до складу середовища. Крім застосування хромогенних живильних середовищ, є простий спосіб одержання чистих культур:

- метод розсіву на щільні живильні середовища. На поверхню агару наносили краплю досліджуваного матеріалу. Стерильною петлею краплю штрихували так, щоб штрихи посіву були від краю до краю чашки, для одержання чітко ізольованих колоній. Переносили петлю з матеріалом до наступної чашки та повторювали посів в декілька чашок. В останню чашку потрапляє менше мікроорганізмів, а, отже, і росте менше колоній. Метод дозволив виділити чисту культуру. Змішана культура була висіяна на mCCD агар. Через 48 годин культивування за температури 41,5°C в мікроаеробних умовах у зразках відмічений ріст типових колоній. При мікроскопії відмітили однорідність та однотинкторіальність культури.

- метод розсіву з попереднім накопиченням культури. Змішані агарові культури *Campylobacter* spp. попередньо інкубували в мікроаеробних умовах

в бульйоні Болтона 4 години за температури 37°C, потім 24 години за температури 41,5°C. Наступні дії передбачали культивування ізолюваного *Campylobacter* на mCCD агар та паралельно на Campylobacter Agar за температури 41,5°C 24 години. Посіви перевіряли після 24-х годинного культивування. За відсутності росту *Campylobacter* spp. культуру дорощували, продовжуючи культивування ще 24 години. Шляхом мікроскопії контролювали чистоту культури.

3.4.1 Метод прямого нанесення.

Принцип методу полягає в дослідженні зразків з високим вмістом *Campylobacter* spp. та супутньої мікрофлори прямим нанесенням на щільне селективне живильне середовище. Це дозволяє зменшити вплив супутньої мікрофлори на виділення *Campylobacter* spp. Метод визначений стандартом ISO 10272-1:2017(E) Microbiology of the food chain — Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. — Part 1: Detection method.

Сліпі кишки асептично розрізали та бактеріологічною петлею наносили вміст безпосередньо на mCCD агар та паралельно на Campylobacter Agar. Іншою петлею розсівали штрихом попередньо нанесену краплю вмістимого лігатурованих сліпих кишок по всій поверхні середовища так, щоб штрихи посіву були від краю до краю чашки, для одержання окремих колоній (Рисунок 3.4).



Рисунок 3.4. Посів вмістимого сліпої кишки методом прямого нанесення на *Campylobacter* Agar, добова культура.

На рисунку зображено посів штрихом для отримання окремих колоній *Campylobacter*, чистих від супутньої мікрофлори кишківника.

Після 24-х годинної інкубації в мікроаеробних умовах за температури 41,5°C на селективних живильних середовищах mCCD agar та *Campylobacter* Agar, здійснили контроль посівів на наявність *Campylobacter* spp. Встановили ріст колоній круглої форми з рівними краями, блискучою опуклою поверхнею, сіруватого кольору з металевим блиском на mCCD agar (Рисунок 3.5) та плоских з нерівними краями колоній кремового кольору зі специфічним запахом «топленого молока» із здатністю до злиття на *Campylobacter* Agar (Рисунок 3.6). Відбирали з кожного середовища характерні для *Campylobacter* spp. колонії, проводили мікроскопіювання з послідуною перевіркою на відповідність основним типовим властивостям.

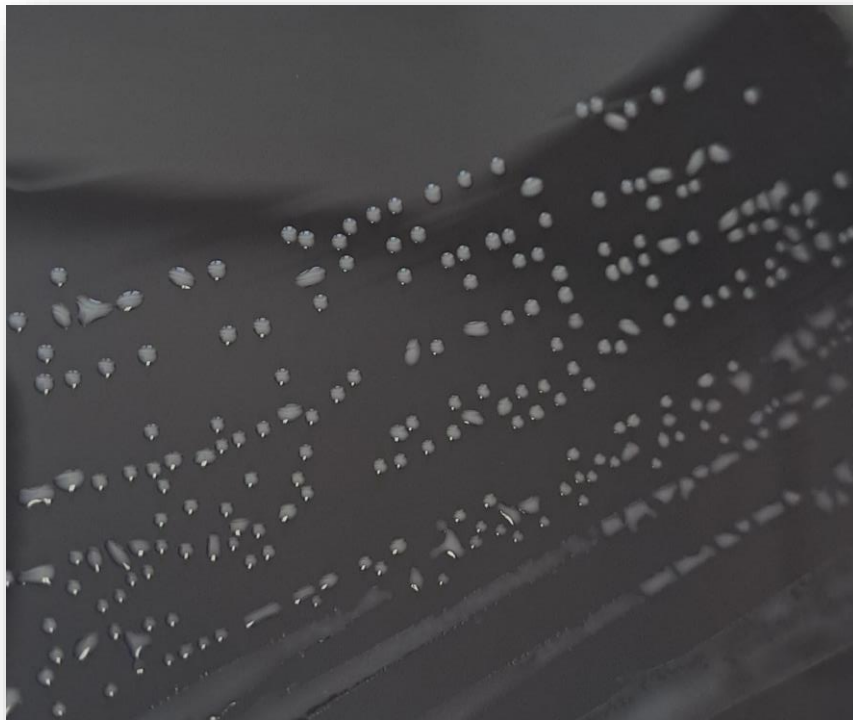


Рисунок 3.5. Колонії *Campylobacter* spp. на mCCD agar круглої форми з рівними краями, блискучою опуклою поверхнею, сіруватого кольору з металевим блиском із здатністю до злиття, добова культура.



Рисунок 3.6. Колонії *Campylobacter* spp. на *Campylobacter* Agar круглої форми з рівними краями, блискучою опуклою поверхнею, кремового кольору, із здатністю до злиття, добова культура.

Відмічали ріст колоній рожевого забарвлення на Preston Agar (Рисунок 3.7).

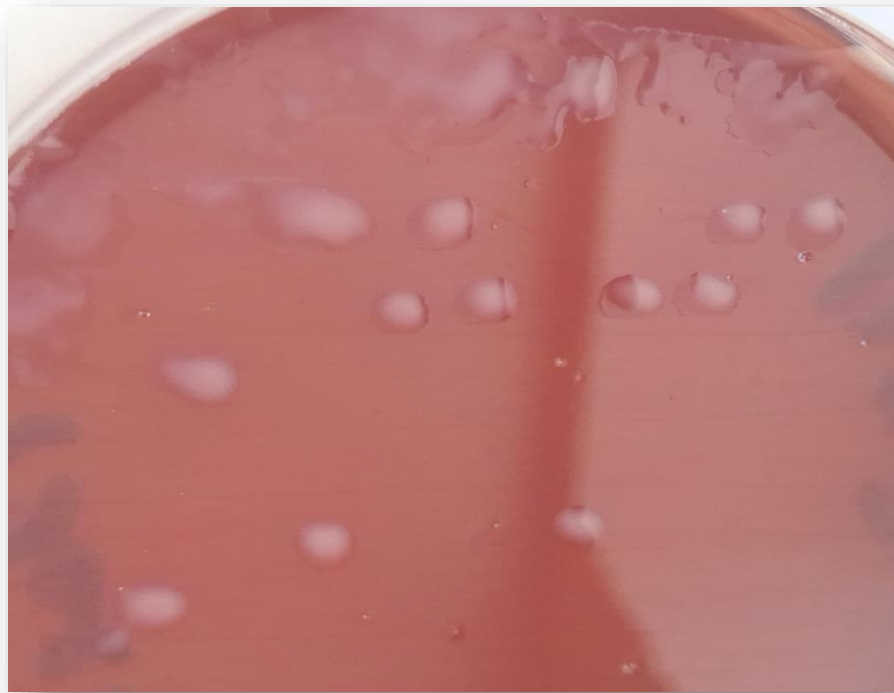


Рисунок 3.7. Колонії *Campylobacter* spp. рожевого кольору круглої форми з рівними краями, вологі, здатні до злиття на Preston Agar, добова культура.

За мікроскопією пофарбованих за Грамом мікробіологічних препаратів в них помічені грамнегативні тонкі, спірально зігнуті бактерії, що мають один повний завиток, або нагадують «крила чайки» чи «кому». Такі зразки попередньо вважали позитивними щодо *Campylobacter*, навіть за змішаних культур (Рисунок 3.8).

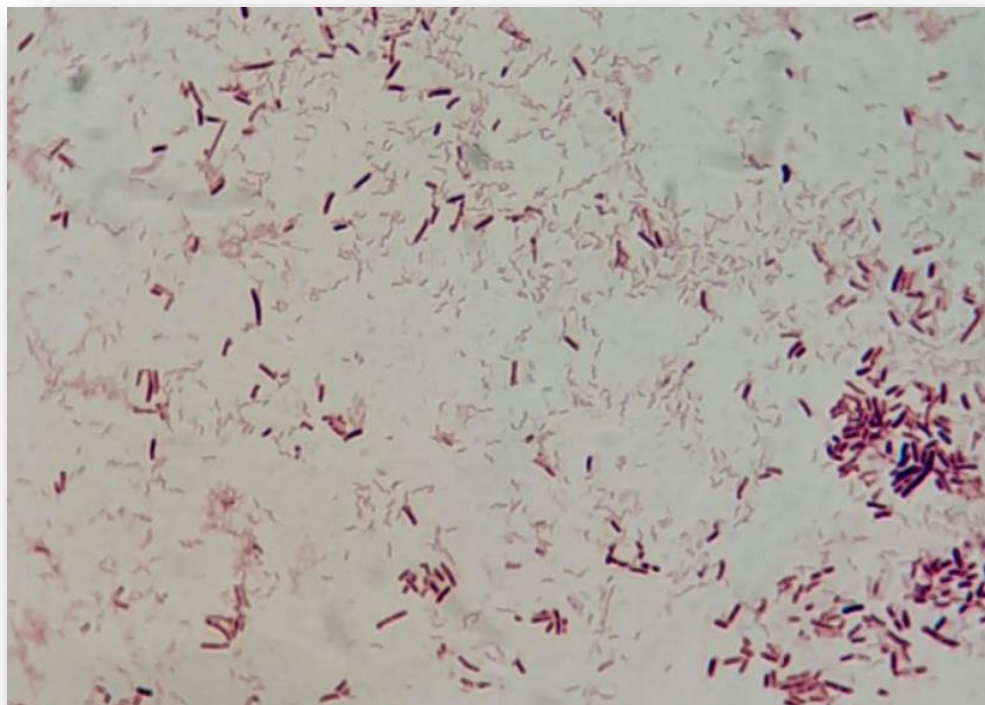


Рисунок 3.8. *Campylobacter* spp. у змішаній культурі. Грамнегативні, тонкі, спірально вигнуті бактерії, які мають один повний завиток або нагадують "кому" чи "крила чайки". Забарвлення за Грамом. Вигляд під світловим мікроскопом Leica DM 5000, довжина збільшення 100 мкм (збільшення на камеру).

Очищення культури проводили на хромогенному середовищі CASA (BioMerieux, Франція). Результативність позбавлення ізолятів *Campylobacter* spp. від супутньої мікрофлори підтверджені візуально (всі колонії на агарі CASA мали цегляно-червоний колір із затемненим центром (Рисунок 3.9) та морфологічно (в мазках виявили зігнуті палички S – подібної форми) (Рисунок 3.10). Всі досліджені ізоляти демонстрували позитивний тест на каталазу та оксидазу. На Колумбійському агарі зон гемолізу не утворювали (Рисунок 3.11).

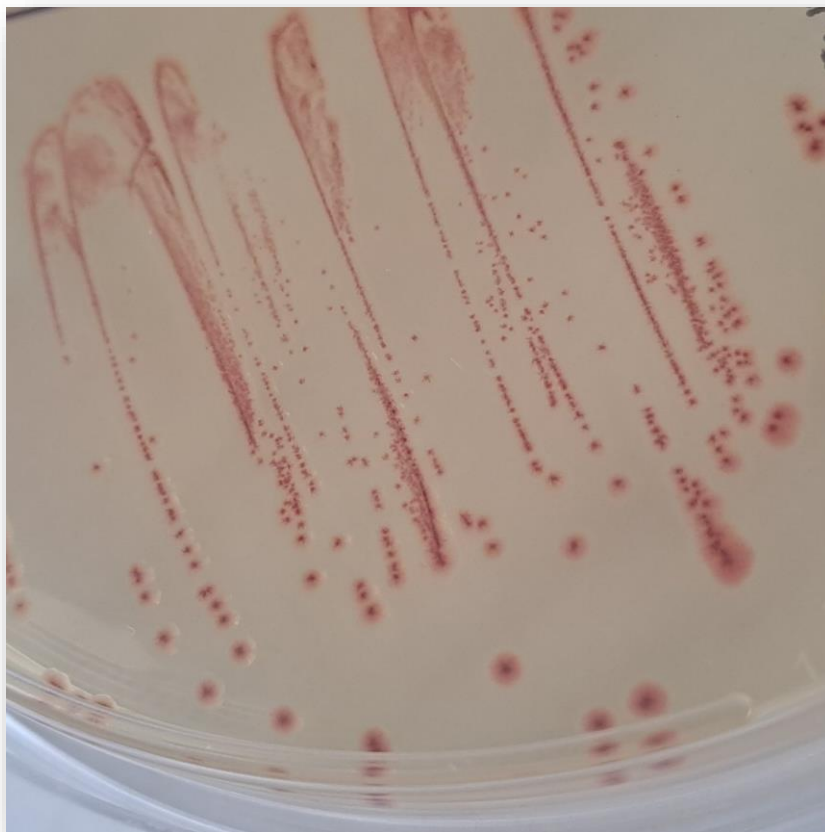


Рисунок 3.9. Колонії *Campylobacter* spp. на хромогенному середовищі CASA (BioMerieux, Франція) мають цегляно-червоний колір із затемненим центром, 96 годинна культура.

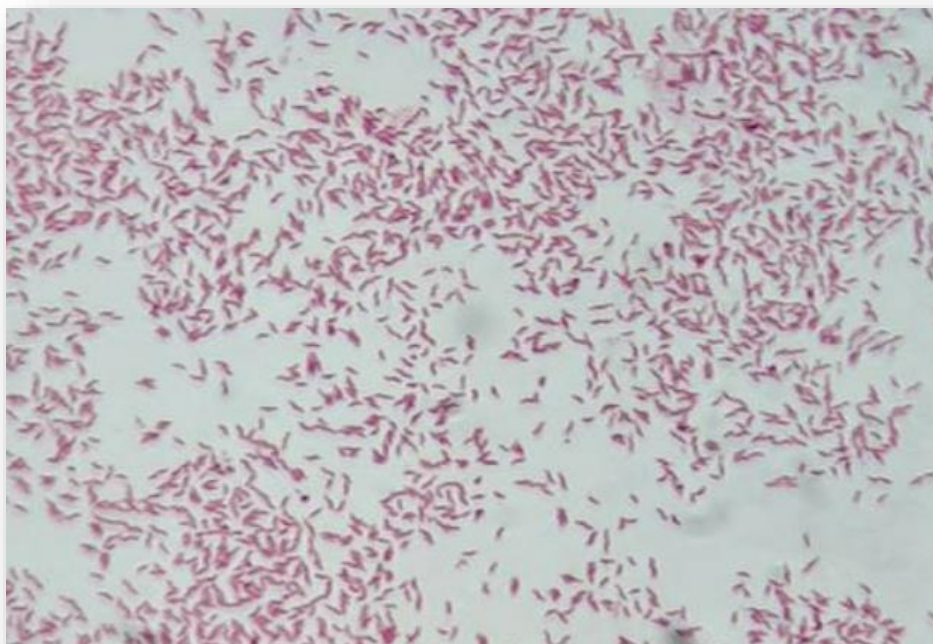


Рисунок 3.10. *Campylobacter* spp. 24 годинна культура. Забарвлення фуксином Циля 1:5 (швидке виявлення). Вигляд під

світловим мікроскопом Leica DM 5000 довжина збільшення 100 мкм (збільшення на камеру).

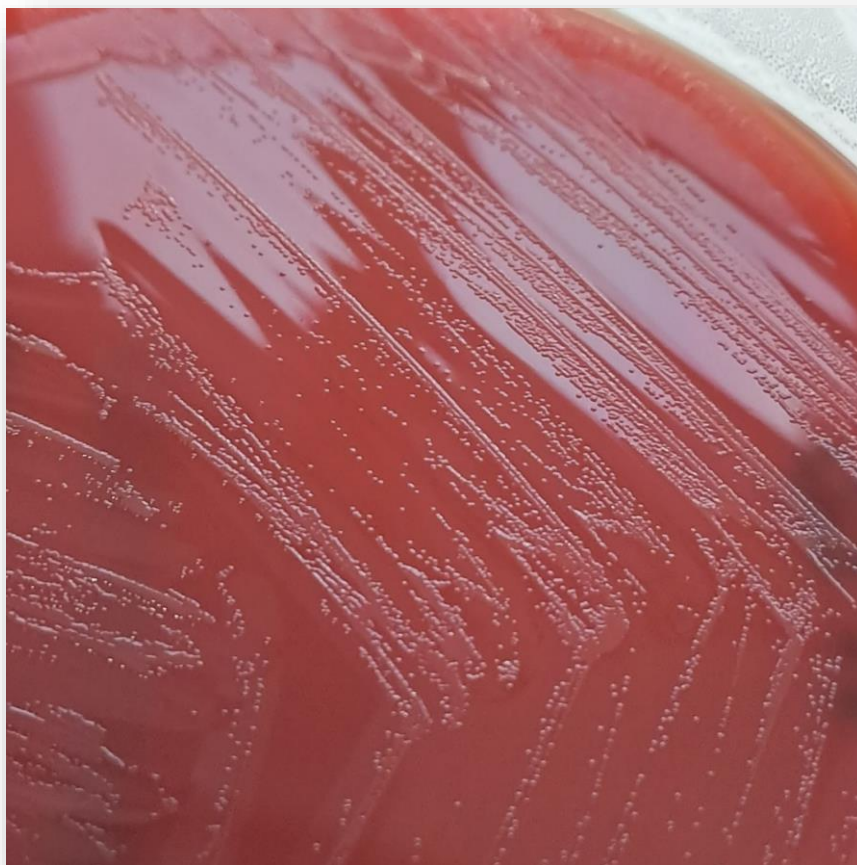


Рисунок 3.11. Колонії *Campylobacter* spp. на Колумбійському агарі (BioMerieux, Франція) без зони гемолізу, добова культура.

При тривалому культивуванні чи в умовах стресу *Campylobacter* spp. може набувати гіперспіралізованої форми (Рисунок 3.12), або як в старих культурах – кокоподібної (Рисунок 3.13)

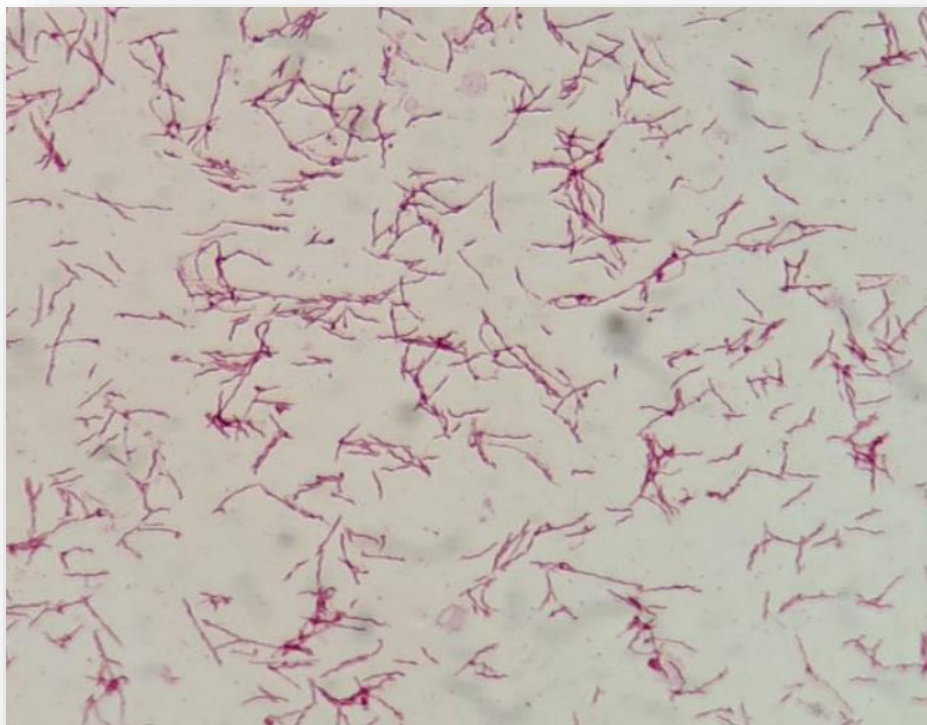


Рисунок 3.12. *Campylobacter* spp. гіперспіралізована форма. 48 годинна культура. Забарвлення фуксином Циля 1:5 (швидке виявлення). Вигляд під світловим мікроскопом Leica DM 5000 довжина збільшення 100 мкм (збільшення на камеру).

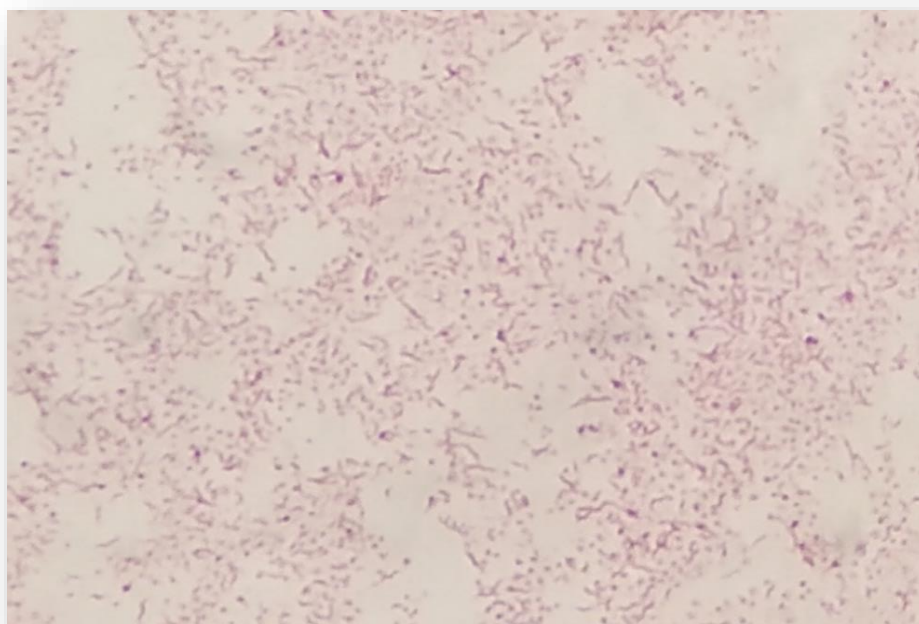


Рисунок 3.13. *Campylobacter* spp. кокоподібна форма. Культура після тривалого зберігання за 5°C. Забарвлення фуксином Циля 1:5

(швидке виявлення). Вигляд під світловим мікроскопом Leica DM 5000 довжина збільшення 100 мкм (збільшення на камеру).

До зразків від 30 курей-бройлерів та 20 свиней для виявлення *Campylobacter* та отримання чистих культур ми застосували метод прямого нанесення згідно ISO 10272-1:2017(E) (Таблиця 3.19).

Результати виділення *Campylobacter* spp. за методу прямого нанесення

Таблиця 3.19

Метод	Середовища	Час культивування	Кури-бройлери				Свині			
			Відмічено ріст Campylobacter spp. / Кількість досліджених зразків		Чистих культур / від виявлених		Відмічено ріст Campylobacter spp. / Кількість досліджених зразків		Чистих культур / від виявлених	
			абсол. число	%	абсол. число	%	абсол. число	%	абсол. число	%
Прямого нанесення (висів паралельно на два середовища)	mCCD agar	культивування 24 год	12/30	40	4/12	13.3	11/20	55	-	-
	Campylobacter agar		10/30	33.3	1/10	3.3	9/20	45	-	-
Виділено ізолятів за методу прямого нанесення / з них чистих культур			12 / 4				11 / -			

Дані таблиці свідчать, що за методу прямого нанесення вже через 24 години виявлений ріст колоній *Campylobacter* на селективному агарі та мікроскопіюванням визначити типовість морфології та чистоту культури.

В результаті нами отримано 12 ізолятів *Campylobacter* від курей-бройлерів та 11 від свиней на mCCD agar та 13,3% виділення чистих культур, що свідчить про селективність mCCD agar.

Застосування методу прямого нанесення дозволило нам вже через 24 години виявити ріст типових колоній *Campylobacter* на селективних агарах та мікроскопіюванням визначити типовість морфології та чистоту культури. В результаті нами отримано 12 ізолятів *Campylobacter* від курей-бройлерів та 11 від свиней. Селективні середовища мали майже однакові ростові властивості, 40% виявлено типових колоній на mCCD agar та 33.3% на

Campylobacter Agar. Чистих культур виявлено 13.3% на mCCD agar та 3.3% на Campylobacter Agar, що вказує на селективність середовищ щодо *Campylobacter*.

3.4.2 Метод збагачення

Принцип методу ґрунтується на накопиченні *Campylobacter* spp. у зразках із низьким їх рівнем. Попередній період інкубації (реанімаційний) триває 4 – 6 годин за температури 37°C перед підвищенням до 41,5°C та з послідовним культивуванням до 48 год.

Методика полягає в додаванні 1 гр вмістимого сліпого відростку кишківника у 9 мл (співвідношення 1:9) Bolton Broth Base (M1592) з додаванням 5% Horse Blood Lysed та Bolton Selective Supplement (FD231). Інкубація в газогенеруючих пакетах GENbox microaer спочатку за температури 37°C 4 години, а потім за температури 41,5°C упродовж 48 годин. Ізоляцію проводили на mCCD agar та паралельно на Campylobacter Agar. Культивували посіви за температури 41,5°C упродовж 24 годин за мікроаеробних умов. По закінченню культивування проводили контроль на типовість морфології культури мікроскопіюванням отриманих характерних колоній та виконували тестування щодо біохімічних та ростових властивостей. За відсутності росту, відновлювали мікроаеробні умови та продовжували культивувати ще 24 години за температури 41,5°C.

В рамках науково-дослідних тематик зроблено порівняльний аналіз двох селективних ЖС, що відрізняються за своїм складом. До зразків від 30 курей-бройлерів та 20 свиней для виявлення *Campylobacter* та отримання чистих культур застосованій, паралельно з методом прямого нанесення, метод збагачення відповідно ISO 10272-1:2017(E). Після попереднього періоду культивування (реанімаційного) ми скоротили час інкубації до 24 год на етапі накопичення. Ізоляцію провели на щільні ЖС та скоротили інкубування теж до 24 год. Результати дослідження висвітлено в Таблиці 3.20.

Результати виділення *Campylobacter* spp. за методу збагачення зі скороченням часу культивування на етапах накопичення та ізоляції.

Таблиця 3.20

Методи	Середовища	Час культивування	Кури-бройлери				Свині			
			Відмічено ріст <i>Campylobacter</i> spp. / Кількість досліджених зразків		Чистих культур / від виявлених		Відмічено ріст <i>Campylobacter</i> spp. / Кількість досліджених зразків		Чистих культур / від виявлених	
			число	%	число	%	число	%	число	%
Збагачення (висів на Volkon Broth, культивування 4 години за 37°C та 24 години за 41,5°C. (Ізоляція паралельно на два середовища)	mCCD agar	культивування 24 год	5/30	16.7	3/5	10	4/20	20	1/4	5
	<i>Campylobacter</i> agar		13/30	43.3	11/13	36.6	11/20	55	6/11	30
	Виділено ізолятів за скорочення часу культивування / з них чистих культур		13 / 11				11 / 6			

Дана таблиця свідчать, що за методу збагачення із скороченням часу культивування отримали 24 ізоляти *Campylobacter*, з них 17 чистих культур.

Після 24 – годинної інкубації на щільних ЖС продовжили ще інкубувати до 48 год. Результати наведені в Таблиці 3.21.

Результати виділення *Campylobacter* spp. за методу збагачення з продовженням часу культивування на етапі ізоляції.

Таблиця 3.21

Методи	Середовища	Час культивування	Кури-бройлери				Свині			
			Відмічено ріст <i>Campylobacter</i> spp. / Кількість досліджених зразків		Чистих культур / від виявлених		Відмічено ріст <i>Campylobacter</i> spp. / Кількість досліджених зразків		Чистих культур / від виявлених	
			число	%	число	%	число	%	число	%

Збагачення (висів на Bolton Broth, культивування 4 години за 37°C та 24 години за 41,5°C. (ізоляція паралельно на два середовища)	mCCD agar	культивування 48 год	1/30	3.3	-	-	-	-	-	-
	Campylobacter agar		4/30	13.3	3/4	10	3/20	15	2/3	10
	Виділено ізолятів за скорочення часу культивування / з них чистих культур		4/3					3/2		

Дані Таблиці 3.16 свідчать, що за методу збагачення з продовженням часу культивування на етапі ізоляції отримали значно менше культур і на mCCD agar (лише 1 ізолят від курей-бройлерів), і на Campylobacter Agar (4 від курей-бройлерів та 3 від свиней). Решту ізолятів було втрачено. На чашках з Campylobacter Agar виявлені чисті культури чого не побачили на mCCD agar. Це говорить про вищу селективність агару з вмістом крові проти агару з вмістом деревного вугілля.

Тож для збільшення виділення термофільних видів *Campylobacter* найкраще використовувати селективні ЖС з кров'ю та скорочувати час культивування на етапах накопичення та ізоляції.

Нами встановлено, що за методу збагачення зі скороченням часу культивування на етапах «збагачення» та ізоляції, було виділено 72,7% ізолятів *Campylobacter* spp., з них 51,5% чистих культур.

3.5 Доцільність застосування методу MALDI-TOF для ідентифікації культур *Campylobacter* spp.

Отримавши чисту культуру, провели ідентифікацію до виду. Однією з технологій, що прискорює ідентифікацію мікроорганізмів є метод на основі мас-спектрометрії матрично-активованій лазерній десорбційній іонізації з годино-прольотним аналізатором – МАЛДІ-ГПА (MALDI-TOF MS - Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass-Spectrometry). На

даний час вона прийнята новим стандартом ідентифікації мікроорганізмів і використовується в мікробіологічних лабораторіях. Технологія MALDI-TOF MS використовує «м'яку» лазерну десорбцію для того, щоб іонізувати структурні елементи (білки та пептиди) клітин бактерій, розділяти молекули за їхньою масою з послідуною ідентифікацією за принципом молекулярний «відбиток пальця».

Традиційні методи, що основані на визначенні класичних фенотипових характеристик (фізіологія, морфологія та біохімічні тести) найменш підходять для ідентифікації видів *Campylobacter*, оскільки ці бактерії використовують під час метаболізму амінокислоти замість вуглеводів. Молекулярно-генетичні методи більш дорогі та більш тривалі по часу. Метод MALDI-TOF MS дозволяє проводити пряме білкове профілювання без фракціонування та очищення окремих білків і отримувати унікальні мас-спектри з високою достовірністю.

В роботі ми застосували прилад Vitek MS компанії BioMerieux, Франція.

Для ідентифікації бактерій прилад визначає спектр білків без тривалої пробопідготовки, а прямо із бактеріальної клітини. Для кожного виду мікроорганізмів в наявності біомаркери, що отримані за аналізу 50 масспектрів цього виду і ідентифіковані за допомогою секвенса 16s РНК.

Простота підготовки зразків (для 24 ізолятів витрати часу до 10 хвилин), швидкість отримання достовірних результатів (ідентифікація 24 ізолятів – 12 хвилин) роблять цей метод високопродуктивним щодо чіткої ідентифікації на рівні видів.

Висівали ізоляти на Колумбійський агар щоб отримати задовільний спектральний вихід. Культивували 48 годин за температури 41,5°C в мікроаеробних умовах. Калібрування мас-спектрометра проводили з використанням стандартного видового мас-спектра *Escherichia coli* ATCC 25922. Культури з Колумбійського агару наносили на споти цільового слайду та покривали зверху 1 мкл матриці для MALDI-TOF MS (2,5 дигідроксибензойна кислота) (BioMerieux, Франція). Після кристалізації

проб, цільовий слайд із зразками поміщали в камеру мас-спектрометра де відбувається десорбція / іонізація. Іонізовані білки під впливом електричного поля рухаються від джерела іонізації до детектора з прискоренням обернено пропорційним їх атомним масам. За допомогою програмного забезпечення MYLA v. 4.7 (BioMérieux, Франція) провели процедуру порівняння білка досліджуваного аналіту зі стандартними молекулярними масами, що містяться в базі даних VITEK MS. На підставі цих відомостей були ідентифіковані виділені *Campylobacter* spp. (Рисунок 3.14 – 3.17).



ISOLATE REPORT: Cher7-1

RESULTS: Validated

Organism type: bacteria

Selected	Position	Acquisition Date	Results	Confidence	Information
	F2	7/21/23 12:17 PM	Campylobacter coli	■ 99.9%	None
✓	F1	7/21/23 12:16 PM	Campylobacter coli	■ 99.9%	None

ACTIONS

7/21/23 11:46 AM	fse	Setup	VITEK® MS FLEXPREP
7/21/23 12:17 PM	VITEKMSACQ01	Acquire	-
7/21/23 1:22 PM	fse	Validate	Campylobacter coli

TRACEABILITY

Slide ID: DS220935636

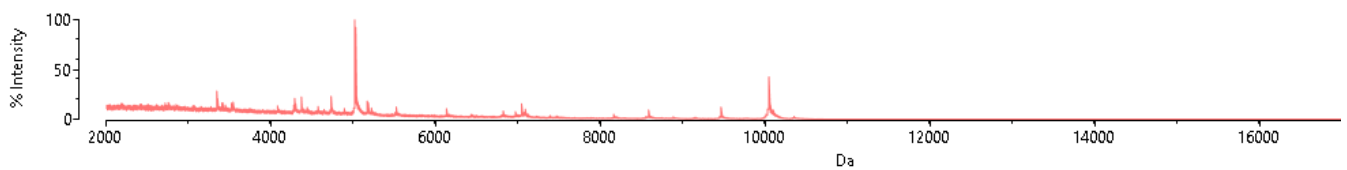
SYSTEM VERSION

VITEK® MS Software Version: : 1.1.0-203571250
 KB Reference: refkb-full-8.5.0-3
 Embedded KB Version: 3.2.0

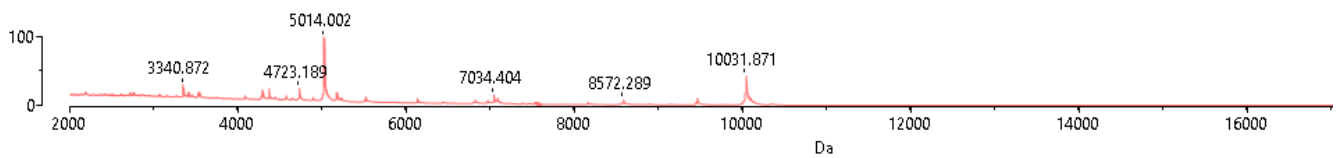
Рисунок 3.14. Ідентифікація ізоляту *Campylobacter coli* за допомогою VITEK MS (роздруківка з приладу).

На рисунку ми бачимо, що зразок «Cher7-1» нанесено в повторюваності на споти F1 та F2. Вказана дата дослідження – 21.07.23 року та час проведеного аналізу – 12:16 та 12:17. В графі «Результати»

зазначено, що ідентифіковано мікроорганізм *Campylobacter coli*, збіг по базі даних VITEK MS становить 99,9%.



а)



б)

Рисунок 3.15. Гістограма *Campylobacter coli*, отримана за ідентифікації методом MALDI-TOF MS.

а) спектр *Campylobacter coli*;

б) вказані значення молекулярної маси білків на верхній частині піку.

VITEK® MS 

ISOLATE REPORT: Ind-2

RESULTS: Validated

Organism type: bacteria

Selected	Position	Acquisition Date	Results	Confidence	Information
	I4	7/21/23 12:29 PM	Campylobacter jejuni	❗ 99.9%	Pathogenicity : Critical
✓	I3	7/21/23 12:27 PM	Campylobacter jejuni	❗ 99.9%	Pathogenicity : Critical

❗ Pathogen

ACTIONS

7/21/23 11:47 AM	fse	Setup	VITEK® MS FLEXPREP
7/21/23 12:29 PM	VITEKMSACQ01	Acquire	-
7/21/23 1:17 PM	fse	Validate	Campylobacter jejuni

TRACEABILITY

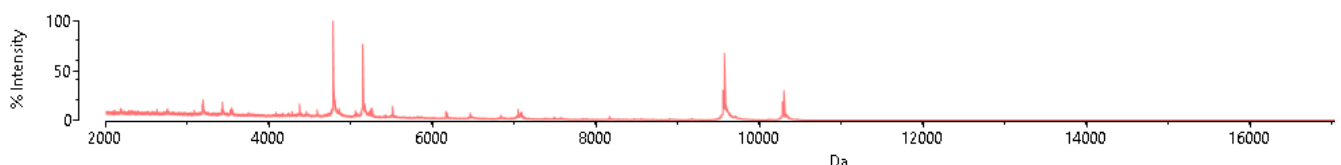
Slide ID: DS220935636

SYSTEM VERSION

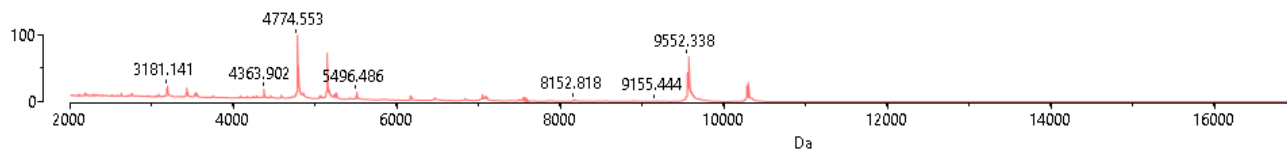
VITEK® MS Software Version : 1.1.0-203571250
 KB Reference: refkb-full-8.5.0-3
 Embedded KB Version: 3.2.0

Рисунок 3.16. Ідентифікація ізоляту *Campylobacter jejuni* за допомогою VITEK MS, роздруківка з приладу.

На рисунку ми бачимо, що зразок «Ind-2» нанесено в повторюваності на споти I3 та I4. Вказана дата дослідження – 21.07.23 року та час проведеного аналізу – 12:27 та 12:29. В графі «Результати» зазначено, що ідентифіковано мікроорганізм *Campylobacter jejuni*, збіг по базі даних VITEK MS становить 99,9%. Додаткова «Інформація» про ідентифікований мікроорганізм, що він є патогеном і це критично.



a)



б)

Рисунок 3.17. Гістограма *Campylobacter jejuni*, отримана за ідентифікації методом MALDI-TOF MS.

а) спектр *Campylobacter jejuni*;

б) вказані значення молекулярної маси білків на верхній частині піку.

За допомогою автоматизованої системи ідентифікації мікроорганізмів VITEK® MS ми ідентифікували 33 виділених ізолятів, серед яких виявлено *Campylobacter coli* – 75,8% та *Campylobacter jejuni* – 24,2%, причому до 70% ізолятів птиці ідентифіковано як *Campylobacter coli*. Ці дані дали можливість встановити видове поширення *Campylobacter* в популяціях тварин та птиці в Україні.

3.6 Створення колекції ізолятів термофільних видів *Campylobacter* spp.

«Імплементаційне рішення Комісії (ЄС) 2020/1729 від 17 листопада 2020 року щодо моніторингу та звітності про резистентність до антимікробних препаратів у зоонозних і коменсальних бактерій» вимагає збереження резистентних ізолятів *Campylobacter* при температурі -80°C щонайменше 5 років. Аналогічне завдання було поставлене і перед нами, тому початковим етапом його виконання стало створення унікальної першої в Україні колекції ізолятів кампілобактерій, до якої б увійшли представники зі всіх областей, виділені від усіх видів тварин та птиці, а також людей.

Колекція ізолятів *Campylobacter* була створена з метою збереження матеріалу кампілобактерій з перспективою майбутніх досліджень для поглибленого вивчення їх фенотипової та генотипової характеристики, геномного нагляду за інфекціями *Campylobacter*, передових молекулярних методів та для гармонізації моніторингу антимікробної стійкості у тварин.

Тому при створенні колекції необхідно було дотримуватися ряду умов, а саме:

- запобігти перехресній контамінації матеріалів, що може поставити під загрозу вивчення їх молекулярно-генетичних властивостей;
- забезпечити збереження високої життєздатності мікробних клітин наближеної до вихідного рівня протягом максимально тривалого часу.

Для вирішення питання тривалого зберігання біологічних властивостей ізолятів *Campylobacter*, нами були проаналізовані існуючі методики, що використовуються для збереження збудників бактеріальних хвороб, такі як ліофільне висушування та замороження при температурі $-70 \pm 5^{\circ}\text{C}$.

Створення CRYOBANK *Campylobacter* spp. Кріоконсервацію провели згідно інструкції застосування кріогенних пробірок (*CRYO – BEADS*). Протягом 12-ти місяців кріоконсервації, 5 ізолятів *Campylobacter*, виділених від курей-бройлерів, періодично висівали для перевірки відновлення метаболічних процесів із кріогенного стану згідно процедури виявлення А за ISO 10272-1:2017(E). Так як схема включає попередній період інкубації (реанімаційний), що сприяє відновленню пошкоджених заморожуванням клітин, ми взяли її за основу. Ціллю було отримати більший відсоток відтворення культури, застосувавши три варіації з часом культивування на різних етапах методу збагачення. На нашу думку ми виявили оптимальний спосіб для розморозки ізолятів *Campylobacter* та їх відтворення.

Після перенесення кріогранул з культурою в пробірки з Bolton Broth, піддали їх 4-х годинному культивуванню в мікроаеробних умовах за температури 37°C . Після закінчення інкубації:

А) зробили висіви на середовища mCCD agar та *Campylobacter* Agar. Продовжили культивування ще 24 години в мікроаеробних умовах вже за температури $41,5^{\circ}\text{C}$;

Б) культивування в Bolton Broth продовжили ще 24 години за температури 41,5°C. Після чого ізолювали *Campylobacter* на mCCD agar і Campylobacter Agar та культивували 24 години за температури 41,5°C;

В) продовжили культивувати в Bolton Broth ще 48 годин за температури 41,5°C. Після збагачення у Bolton Broth, ізолювали *Campylobacter* на mCCD agar і Campylobacter Agar та культивували 48 годин за температури 41,5°C.

Культивування за варіантом А) – сприяло помірному росту *Campylobacter*, а на окремих чашках навіть його відсутності. Після дорощування за температури 41,5°C ще 24 години, додатковий ріст *Campylobacter* не спостерігався.

Після культивування за варіанту Б) відмічали рясний ріст *Campylobacter* на середовищах.

Застосування варіанту В) сприяло виявленню при мікроскопії колоній як спірально вигнутої форми *Campylobacter* так і кокоподібної. Даний варіант відновлення з кріогенного стану для *Campylobacter* не підходить і не розглядатиметься для подальшого використання в лабораторній практиці.

Отже, результати досліджень свідчать, що для відновлення метаболічних процесів *Campylobacter* із кріогенного стану, оптимальним є метод зі скороченням часу культивування до 24 годин на етапах збагачення та ізолювання (варіант Б). Для зразків, які зазнали впливу факторів стресу або містять ймовірно низьку кількість *Campylobacter* як найкраще підходить для виділення ізолятів саме цей варіант. Таким чином, для відновлення метаболічних процесів *Campylobacter* із кріогенного стану, оптимальним є метод зі скороченням часу культивування до 24 годин на етапах збагачення та ізолювання.

Підтримання низькотемпературного режиму потребує значних енерговитрат, наявності спеціального холодильного обладнання та безперебійної його роботи, тому паралельно ми застосували до виділених ізолятів ліофілізацію.

Колекція ліофілізованих культур. Визначали однотипність, однорідність та кількість колонієутворюючих одиниць *Campylobacter* (КУО/см³) до ліофілізації та після. Для цього переглядали висіяний матеріал на чашках із щільним живильним середовищем mCCD agar. Відмічали рівномірно засіяну поверхню агару однорідними колоніями з блискучою поверхнею, сіруватого кольору з металевим блиском (Рисунок 3.18).

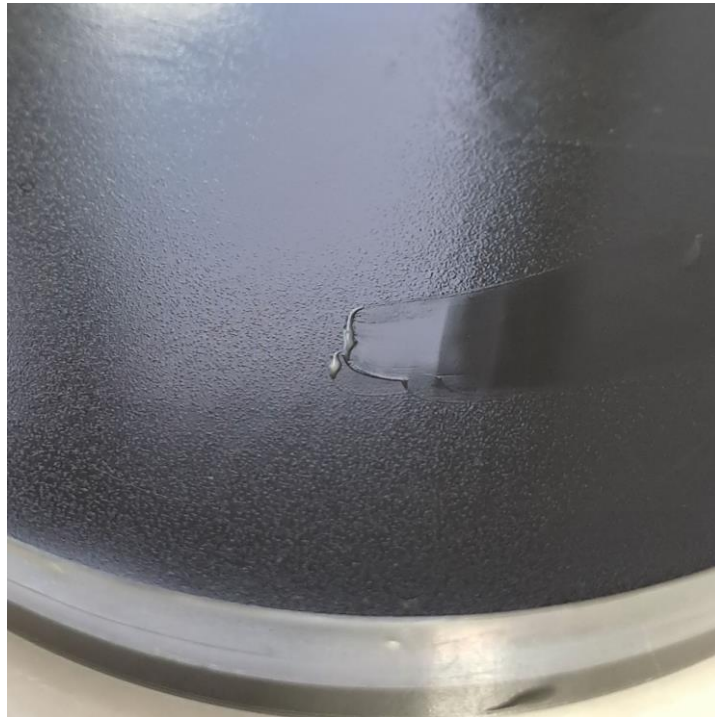


Рисунок 3.18. Суцільний ріст культури *Campylobacter* на агарі mCCD після 24 годин культивування.

Готували мікробіологічні препарати та фарбували за Грамом. Виявляли в мазках грамнегативні тонкі, спірально зігнуті бактерії, що нагадують «кому» чи «крила чайки».

Якість ліофілізованих культур оцінювали за показником їх виживання до та після ліофілізації. Активність *Campylobacter* визначали за чисельністю мікроорганізмів в 1 см³. Для цього проводили висіви відповідних серійних розведень в стерильному фізіологічному розчині на mCCD agar. Життєздатність *Campylobacter* до ліофілізації склала 8.0×10^7 , життєздатність мікробних клітин після ліофілізації – 6.0×10^5 , що становить 0,75% від вихідного рівня.

Зберігання колекції ліофілізованих культур здійснювали за температури $-18^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Через 1, 3, 6, 9 та 12 місяців відновлювали ліофілізовану культуру *Campylobacter coli*. В результаті досліджень кількість життєздатних *Campylobacter* становила через 1 місяць – 0.73%, через 3 місяці – 0.68%, 6 місяців – 0.65%, 9 місяців – 0.63% та через 12 місяців – 0.6% від вихідного рівня. Через рік зберігання після ліофілізації ізолят *Campylobacter coli* відновили свою життєдіяльність на 99,4%.

Таким чином, вважаємо, що найбільш придатним методом тривалого зберігання ізолятів *Campylobacter* в нашому дослідженні визнано ліофілізацію.

Основою досліджень були ізоляти виділені нами від тварин та птиці із різних природно-географічних зон України. Реєстрацію та облік ізолятів проводили за системою, яка включала: Дату виділення ізоляту, вид тварин / птиці, вид зразку, місце і дату відбору, ідентифікацію.

Для систематизації одержаних ізолятів розробили уніфіковану систему реєстрації згідно запропонованих умовних позначень. Кожному ізоляту присвоєно ідентифікаційний номер, що складався з останніх двох цифр року виділення із патологічного / біологічного матеріалу, позначення виду тварини / птиці латинськими літерами (CA – велика рогата худоба, PI – свиня, BR – кури-бройлери, TU – індик, H – людина) та порядкового номеру в журналі реєстрації. Так, шифром 23TU09 позначено матеріал, відібраний в 2023 р. від індики, який занесений в журнал реєстрації під номером 9.

Створено колекцію із 24 польових ізолятів *Campylobacter*, виділених від курей-бройлерів (20/24), індиків (2/24), свиней (1/24) та великої рогатої худоби (1/24).

3.7 Біоплівкоутворення серед ізолятів *Campylobacter*.

Незважаючи на вибагливість росту в лабораторних умовах, *Campylobacter* адаптується та виживає в стресових умовах навколишнього середовища. Механізми стресостійкості допомагають *Campylobacter* підтримувати осморегуляцію, термотолерантність, захист від

окислювального стресу, патогенність, збільшують трансмісивність та здатність до колонізації господарів. Крім того, виживання у несприятливих умовах викликає здатність до біоплівкоутворення, що є важливим механізмом вірулентності щодо патогенезу та передачі збудника.

Для проведення дослідження здатності *Campylobacter* до біоплівкоутворення було відібрано п'ять ізолятів *Campylobacter jejuni* (n = 2) та *Campylobacter coli* (n = 3), виділених від птахів.

Щільність утвореної біоплівки визначали шляхом вимірювання оптичної густини промивного спиртового розчину на спектрофотометрі за довжини хвилі 570 нм. Здатність *Campylobacter* до утворення біоплівки інтерпретували як: не утворюють, якщо значення оптичної густини менше 0,1; слабкі – від 0,1 до 0,49; помірні – від 0,5 до 1,0; сильні виробники – вище 1,0 [3, 32].

У Таблиці 3.22 наведено результати одержаних значень оптичної густини біоплівок досліджуваних ізолятів *Campylobacter* spp. та їх інтерпретацію.

Значення оптичної густини біоплівок ізолятів *Campylobacter* spp. при 570 нм за мікроаеробних та аеробних умов при 37°C. Таблиця 3.22

№ п/п	Ізолят	Щільність біоплівок за фарбування 0,1% спиртового розчину кристалічного фіолетового.	
Мікроаеробні умови (5% O₂, 10% CO₂, 85% N₂) при 37°C.		Оптична густина біоплівок (середнє значення ± SD) n = 3	Інтерпретація результатів
Негативний контроль – СМБ без внесення культури		0,001 ± 0,000	Залишки білків із живильного середовища
1	<i>Campylobacter jejuni</i> – Vol4 (23BR15)	0,165 ± 0,009 CV(%) = 5,45	Слабкий виробник
2	<i>Campylobacter jejuni</i> – Kyiv1 (23TU09)	0,251 ± 0,014 CV(%) = 5,58	Слабкий виробник
3	<i>Campylobacter coli</i> – Vol2 (23BR06)	0,196 ± 0,010 CV(%) = 5,10	Слабкий виробник

4	<i>Campylobacter coli</i> – Cher1 (23BR01)	0,209 ± 0,012 CV(%) = 5,74	Слабкий виробник
5	<i>Campylobacter coli</i> – Cher7 (23BR03)	0,268 ± 0,015 CV(%) = 5,59	Слабкий виробник
Аеробні умови (21% O₂) при 37°C.		Оптична густина біоплівки	Інтерпретація результатів
Негативний контроль – СМБ без внесення культури		0,001 ± 0,000	Залишки білків із живильного середовища
1	<i>Campylobacter jejuni</i> – Vol4 (23BR15)	0,298 ± 0,017 CV(%) = 5,70	Слабкий виробник
2	<i>Campylobacter jejuni</i> – Kyiv1 (23TU09)	0,417 ± 0,026 CV(%) = 6,23	Слабкий виробник
3	<i>Campylobacter coli</i> – Vol2 (23BR06)	0,347 ± 0,022 CV(%) = 6,34	Слабкий виробник
4	<i>Campylobacter coli</i> – Cher1 (23BR01)	0,385 ± 0,024 CV(%) = 6,34	Слабкий виробник
5	<i>Campylobacter coli</i> – Cher7 (23BR03)	0,432 ± 0,027 CV(%) = 6,25	Слабкий виробник

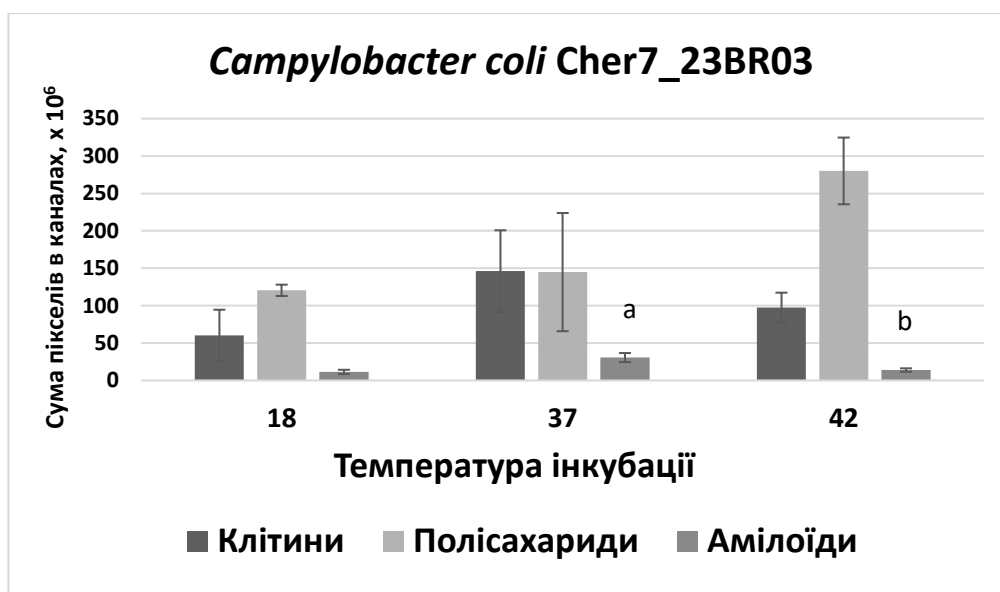
Дані таблиці демонструють щільність біоплівки досліджуваних ізолятів *Campylobacter* spp. від птиці, що за фарбування кристалічним фіолетовим склала від 0,165 до 0,268 за мікроаеробних умов та від 0,298 до 0,432 за аеробних.

Встановлено, що усі досліджені ізоляти *Campylobacter jejuni* та *Campylobacter coli* формували біоплівку за аеробних та мікроаеробних умов з різним рівнем щільності. З наведених даних видно, що за аеробних умов відмічається збільшене біоплівкоутворення проти мікроаеробних умов. В аеробних умовах здатність *Campylobacter* утворювати біоплівку зростає у відповідь на оксидативний стрес, що вказує на пристосування та виживання *Campylobacter* в стресових умовах навколишнього середовища. Виходячи з цього, було досліджено діапазон впливу різних температур інкубації (18°C – температура навколишнього середовища, 37°C –

температура тіла людини та 42°C – температура організму птиці) за аеробних умов на структури матриксу біоплівки. Структуру матриксу біоплівки оцінювали цитохімічним методом. Для цього біоплівки фарбували флуоресцентними барвниками та проводили конфокальну мікроскопію за допомогою системи Leica TCS SPE Confocal з кодованим інвертованим мікроскопом DMI8 (Leica, Німеччина) і пакета прикладних програм Leica Application Suite X (LAS X) версії 3.4.1. Зображення були отримані з використанням збудження при 488 нм і збору емісії при 490-580 нм для AmyGreen і збудження при 532 нм і збору емісії при 537-670 нм для бромиду етидію. Загальна кількість пікселів була підрахована за допомогою вищезгаданого програмного забезпечення.

З'ясувалось, що для *Campylobacter* при всьому діапазоні температур зберігалась висока здатність до продукції полісахариду біоплівки та амілоїдів, які, на відміну від полісахаридів, реагували на температуру. Зокрема, для *Campylobacter coli* 23BR06 (Рис.3.20) та *Campylobacter jejuni* 23BR15 (Рис.3.22) за умов 37°C їхня продукція дещо підвищувалась у порівнянні із продукцією при 18°C, а при 42°C відбувалась репресія продукції амілоїдів у порівнянні із продукцією при 37°C. Продукція біоплівки *Campylobacter coli* 23BR06, навпаки, при 42°C повністю репресувалась (Рис.3.20). Цікаво, що для обох видів найбільше продукція біоплівки спостерігалась при 37°C окрім єдиного штаму *Campylobacter jejuni* 23TU09 (Рис.3.21), який продемонстрував оптимум для клітинної маси біоплівки при 42°C. Загалом, *Campylobacter jejuni* 23TU09 утворював відносно інтенсивні біоплівки за різних температурних умов, а *Campylobacter coli* 23BR03 (Рис.3.19) показав більшу здатність до утворення біоплівок в аеробних умовах *in vitro*. Рівень експерсії полісахаридів достовірно підвищувався у порівнянні із продукцією за умов 18°C для *Campylobacter coli* 23BR06 (Рис.3.20) та для *Campylobacter jejuni* 23BR15 (Рис.3.22), що свідчить про утворення захисного бар'єру проти кисню та сприяє потовщенню біоплівки. Для ізолятів *Campylobacter coli* 23BR06 та *Campylobacter jejuni* 23BR15 найбільша продукція біоплівки

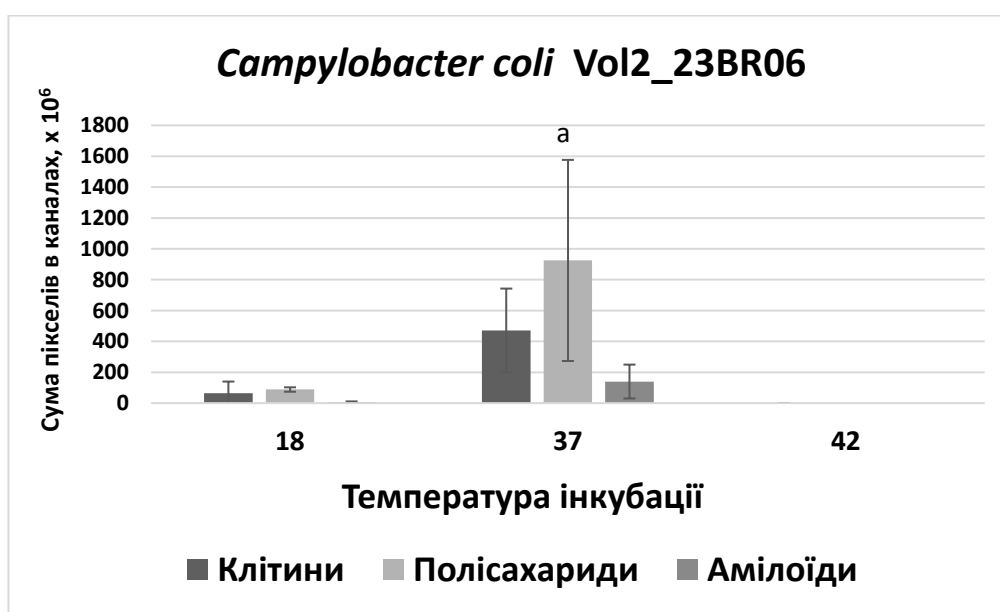
спостерігалась при 37°C, а от за 18°C біоплівка мала меншу біомасу, тож можна припустити, що ці штами будуть мати меншу адаптативну здатність до виживання у вільноіснуючих умовах.



a – статистично значуща різниця при $p < 0.05$ у порівнянні з біомасою при 18°C, ANOVA

b – статистично значуща різниця при $p < 0.05$ у порівнянні з біомасою при 37°C, ANOVA

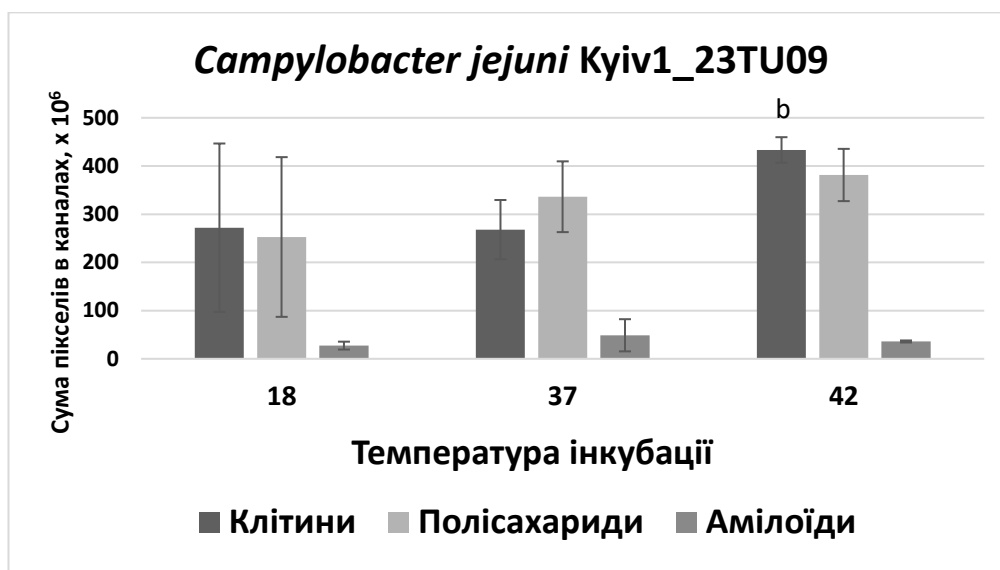
Рисунок 3.19. Цитохімія *Campylobacter coli*



a – статистично значуща різниця при $p < 0.05$ у порівнянні з біомасою при 18°C, ANOVA

b – статистично значуща різниця при $p < 0.05$ у порівнянні з біомасою при 37°C, ANOVA

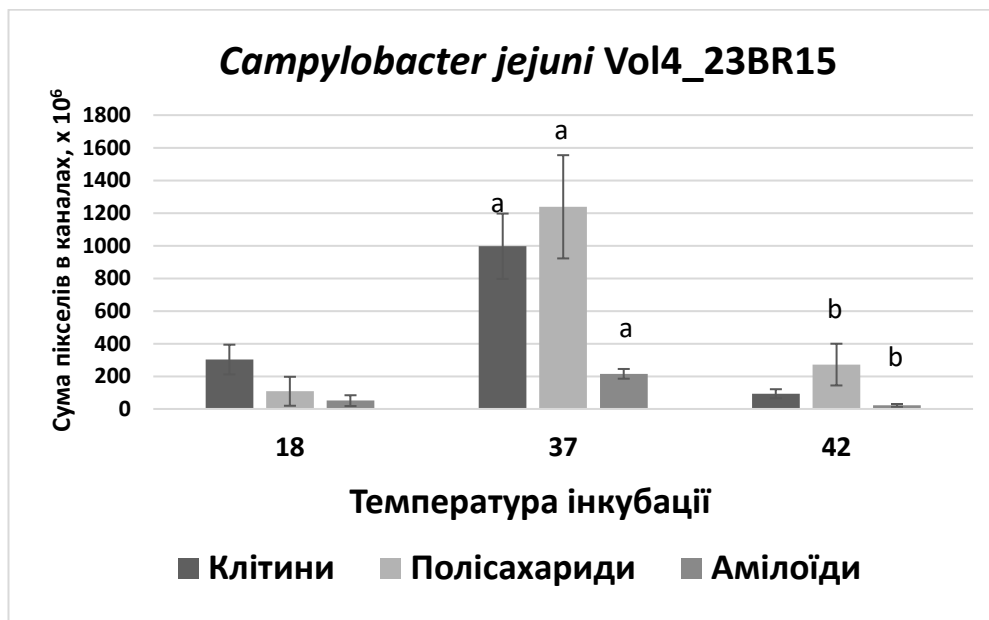
Рисунок 3.20. Цитохімія *Campylobacter coli*



a – статистично значуща різниця при $p < 0.05$ у порівнянні з біомасою при 18°C, ANOVA

b – статистично значуща різниця при $p < 0.05$ у порівнянні з біомасою при 37°C, ANOVA

Рисунок 3.21. Цитохімія *Campylobacter jejuni*



a – статистично значуща різниця при $p < 0.05$ у порівнянні з біомасою при 18°C, ANOVA

b – статистично значуща різниця при $p < 0.05$ у порівнянні з біомасою при 37°C, ANOVA

Рисунок 3.22. Цитохімія *Campylobacter jejuni*

Загалом, колекція ізолятів *Campylobacter coli* 23BR03, *Campylobacter coli* 23BR06, *Campylobacter jejuni* 23BR09 та *Campylobacter jejuni* 23TU15 показали різний діапазон пластичності до температур інкубації в аеробних умовах. Таким чином можна стверджувати, що *Campylobacter* spp. має великий штам-залежний діапазон пластичності в утворенні біоплівки в умовах *in vitro*.

Досліджені ізоляти мають потенціал адаптації до агресивних чинників зовнішнього середовища, пов'язаний з біоплівкою. Властивості *Campylobacter* формувати біоплівки створюють проблеми для безпеки харчових продуктів у передачі харчового патогена людям через харчовий ланцюг та розглядаються як один із факторів резистентності до дії антибактеріальних препаратів. Наші дослідження продемонстрували високу екологічну пластичність щодо утворення біоплівок штамми *Campylobacter*, що ізолювані від птиці. Враховуючи складність епідеміології *Campylobacter*, наші результати поглиблюють розуміння того, як чутливі до кисню мікроорганізми виживають в кисневому середовищі, а також сприятимуть розробці інноваційних стратегій контролю за *Campylobacter* в харчовому ланцюзі, що зменшить зараження харчових продуктів та стримуватиме розвиток зоонозів харчового походження та стійкості до АБП.

Ці дані мають вирішальне значення для усвідомлення ризиків інфекцій *Campylobacter*, так як біоплівки сприяють інфекційному потенціалу *Campylobacter*, стаючи важливим механізмом вірулентності щодо патогенезу та передачі збудника.

3.8 Визначення факторів, що обумовлюють патогенність ізолятів *Campylobacter* spp.

3.8.1 Застосування ПЛР для виявлення гену (*cdtA*), що відповідає за синтез цитолетального розтягуючого токсину.

Для молекулярно-генетичних досліджень відбирали ізоляти *Campylobacter jejuni*, виділені від птиці, із властивостями мультирезистентності.

Для виявлення токсин-синтезувальної здатності в порівняльному аспекті проаналізовано порядок нуклеотидних послідовностей ДНК 4-х селекціонованих ізолятів *Campylobacter jejuni*. Для визначення специфічних олігонуклеотидних праймерів були використані дані про ДНК-послідовності кампілобактерій за принципом MLST. Вони зареєстровані в міжнародній базі даних GenBank та реалізуються за допомогою програмного забезпечення [pub MLST.org/campylobacter](http://pub.MLST.org/campylobacter) та «Genome Profiler». Результатом пошуку виявилися праймери з наступними нуклеотидними послідовностями: F(ATGAAAAAATATTTAGTTTTTGCA) та R (ATTTTATTATTTGTAGCAGCG). Така нуклеотидна послідовність відповідає одному з генів (*cdtA*), внаслідок реалізації якого відбувається синтез, так званого, цитолетального розтягуючого токсину. Цей ген входить до тріади генів (*cdtA*, *cdtB* і *cdtC*), необхідних для синтезу активного трійчастого голотоксину, котрий зумовлює повну клітинну токсичність.

Геномні особливості польових ізолятів за використання праймера, відповідального за синтез токсичної білкової фракції *Campylobacter jejuni*, були досліджені на предмет наявності потенційних генів у кожного ізоляту та еталонного штаму. Особливість відтворення ПЛР в цьому випадку стосувалися встановлення еппендорфів та запуску роботи програми, починаючи з фіксації у термоциклері умов «гарячого стару» (температура +93°C). Вивчення та аналіз сполук, отриманих внаслідок ампліфікації, починали після розділення ділянки ДНК в 1.5% гелі агарози. Неодмінна умова використання агарового гелю – його збагачення розчином бромистого етидію з розрахунку 25 мкл на пластинку товщиною 6 мм.

На етапі, коли реакційна суміш для ПЛР вже мала гліцерин, а для виконання маркерного забарвлення в ній містився ксиленціанол, досліджувані зразки вносили безпосередньо в лунки. В електрофоретичній камері смуги гелю розміщували лунками в напрямку до аноду. В центральних

лунках розміщали по 10.0 мкл ампліфікованих зразків, а в крайню – по 3 мкл маркера.

Після того, як барвник (ксиленціанол) долав близько половини довжини гелю, електрофорез проводили в градієнті напруги 10 В/см. Аналіз електрофореграми результатів ампліфікування ДНК в порівняльному аспекті з даними стандартних зразків внаслідок триразового повтору допомогли встановити наявність елементів геному ($P < 0.01$), які вказують на потенційну здатність до токсиноутворення у виділених із досліджуваного матеріалу ізолятів *Campylobacter jejuni* (доріжки від 1- до 4-ї) (Рисунок 3.23).

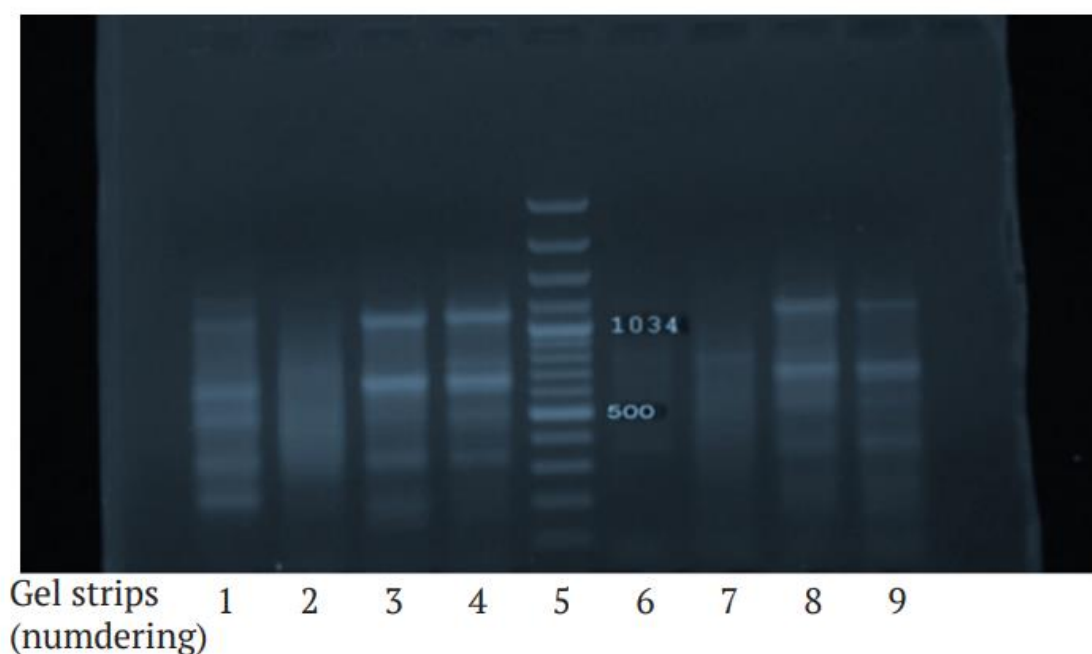


Рисунок 3.23. Результати електрофорезу ампліфікації генів токсичності в ДНК ізолятів *Campylobacter jejuni*.

Рисунок демонструє, що п'ята доріжка співпала з пробою референс-штаму *Campylobacter jejuni* ATCC 33291. Пусті доріжки 6, 7, 8 та 9 належать пробам, що містили контрольні зразки (без присутності культур *Campylobacter* та соматичних клітин птиці).

Отже, пошукуваний ген (*cdtA*) був ідентифікований як специфічний для *Campylobacter jejuni*. Він був наявний в усіх 100% ізолятів (чотири ізоляти) і не виявлявся в контрольних негативних зразках.

Вивчення характеру токсичних продуктів осаду та супернатанту бульйонної культури виділених штамів кампілобактеру відображено на Рисунках 3.24 та 3.25.

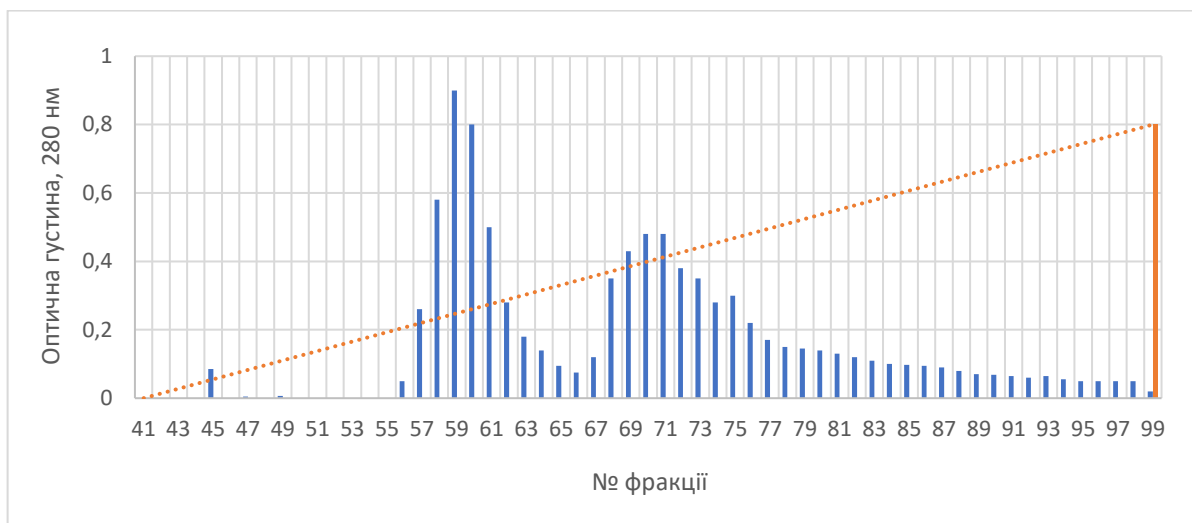


Рисунок 3.24. Розподіл білкових фракцій осаду ізоляту № 1 *Campylobacter jejuni* (іонообмінна хроматографія).

Два пікові показники білкових компонентів осаду співпадають з 59-ю та 70-ю фракціями.

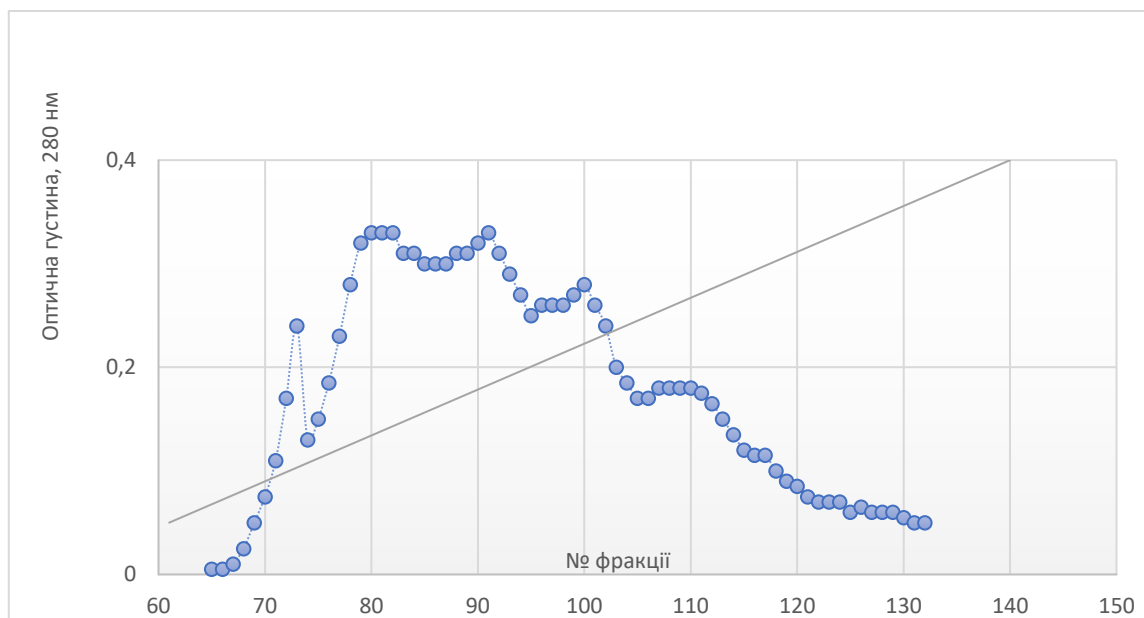


Рисунок 3.25. Розподіл білкових фракцій супернатанту ізоляту № 1 *Campylobacter jejuni* (іонообмінна хроматографія)

Результати досліджень супернатанту ізоляту *Campylobacter jejuni* з потенційними токсичними властивостями дозволили виявити 5 білкових фракцій, які становлять значну перевагу над іншими складниками речовини

цього класу. Це фракція № 73, 80, 91, 100 та 105. Дані про кількісний та якісний біохімічний склад зразків елементів супернатанту ізолятів кампілобактеру, що підлягали перевірці, подано в Таблиці 3.23.

Вміст білка у фракціях осаду і супернатанту *Campylobacter jejuni* № 1

($M \pm m$, $n = 6$, $P < 0.01$)

Таблиця 3.23

Проба	Вміст білка, мкг/мл
Осад (діалізований)	238
Фракція 59	17
Фракція 70	9.5
Супернатант (діалізований)	242.5
Фракція 73	24.5
Фракція 80	85
Фракція 91	55
Фракція 100	20
Фракція 105	10

Дана таблиця інформує про вміст білка у зразках елементів супернатанту ізолятів *Campylobacter jejuni*.

Застосування виділених токсичних фракцій білкових сполук ізолятів *Campylobacter jejuni* в залежності лейкоцитарної фракції крові кроля зумовлювало появу аналогічного ефекту – апоптозу з видовженням клітин. Саме цим можна пояснити принцип імуносупресивного впливу цитолетального токсину розтягнення на активність клітин білої крові, які втрачають свою фагоцитарну функцію.

Ступінь подібних змін можливо оцінити результатом опсоно-фагоцитарної реакції. Кількість захоплених фагоцитами бактерійних клітин (фагоцитарне число) за $n = 6$ у пробі з осадом бактерійної культури *Campylobacter jejuni* (ізолят № 1) становила 530 ± 12 мікробних клітин на 100 лейкоцитів, що дорівнює 5.3 ± 0.12 .

Фагоцитарне число у пробі за присутності супернатанту бактерійної культури *Campylobacter jejuni* (ізолят № 1) за $n = 6$ не перевищувало 202 ± 4 мікробних клітин на 100 лейкоцитів, що дорівнює 2.0 ± 0.04 .

Аналіз отриманих даних вказує на те, що поза межами організму лейкоцити крові кроля, оброблені білковою фракцією діалізованого осаду *Campylobacter jejuni* № 1 з вмістом білка 238 мкг/мл, проявляли незначну функціональну активність. Їх здатність поглинати бактерійні клітини *Campylobacter jejuni* шляхом фагоцитозу була у понад 2.6 раза менше, ніж у лейкоцитів, оброблених надосадом того ж ізоляту з умістом білка 242.5 мкг/мл. Це свідчить про високу цитотоксичну дію білкових сполук діалізованого супернатанту, який складається з 5-ти фракцій.

Таку різницю в імуносупресивній дії білкових фракцій бактерійних культур *Campylobacter jejuni* різного походження підтвердив підрахунок показника опсонічного індексу (I_o) за кількісними показниками фагоцитарних чисел 1-ї та 2-ї груп експерименту. Він становив:

$$I_o = (5.3 \pm 0.12) / (2.0 \pm 0.04) = 2.6 \pm 0.03$$

Таким чином, отримані кількісні характеристики взаємодії різних складників бактерійної культури *Campylobacter jejuni* із зависсю лейкоцитів крові кроля вказують на прояв цитотоксичної дії супернатанту кампілобактерій, який містить токсигенні білкові фракції. Оскільки такий вплив спостерігається при взаємодії з клітинами імунокомпетентної дії, отримані в експерименті токсичні сполуки можна кваліфікувати як фактори з імуносупресивною клітинною дією.

За дослідження в ПЛР з виявлення гена *cdtA* у 4-х ізолятів *Campylobacter jejuni*, в порівняльному аспекті, поряд із зразками соматичних клітин отримано позитивний результат. Присутність цього гена підтверджує наявність токсинотвірної здатності у кампілобактерій.

Вивчення характеру впливу продуктів життєдіяльності *Campylobacter jejuni* на організм теплокровних здійснено шляхом виявлення змін з боку фагоцитарної активності лейкоцитів крові кроля внаслідок дії на них білкової фракції діалізованого супернатанту та діалізованого осаду кампілобактеру. Цитотоксична активність діалізованого супернатанту з умістом білка 242.5 мкг/мл перевищувала інтенсивність гальмування

фагоцитарної функції клітин крові, оброблених діалізованим осадом цієї ж бульйонної культури з його вмістом 238 мкг/мл.

3.8.2 Секвенування повного геному ізолятів від птиці *Campylobacter jejuni* та *Campylobacter coli*.

Повногеномне секвенування (WGS) має високу роздільну здатність та є новим еталонним стандартом для типування. Також WGS покращує наше розуміння еволюції, епідеміології та екології *Campylobacter*, передачі факторів патогенності та детермінант АМР.

Для отримання детальної інформації про гени патогенності та протимікробної стійкості було виконано повногеномне секвенування двох ізолятів від домашньої птиці – *Campylobacter coli* та *Campylobacter jejuni*.

За допомогою повного аналізу геномних дистанцій, зробили порівняння геномів *Campylobacter* spp. з референтними та репрезентативними геномами на BV-BRC з використанням Mash (10). Геном *Campylobacter coli* згрупований в один клад зі штамом *Campylobacter coli* OR12 (GenBank accession CP013733.1), стійким до колонізації та аеротолерантним штамом, ізольованим з птахофабрики. Геном *Campylobacter jejuni* тісно пов'язаний зі штамом *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* NCTC 11168 (GenBank accession SZUC000000000.1; ATCC 700819), виділеним з людського організму.

Геномний проект індексується в GenBank під номером доступу BioProject PRJNA1129571. Геномні збірки були депоновані в GenBank під номерами доступу JBEWFL000000000 та JBEWFM000000000. Вихідні дані секвенування для цього проекту можна знайти в NCBI SRA під номером доступу PRJNA1129571 (Рисунок 3.26, 3.27).

An official website of the United States government [Here's how you know](#)

NIH National Library of Medicine
National Center for Biotechnology Information

Nucleotide
Advanced

GenBank

Campylobacter coli strain ChP2023, whole genome shotgun sequencing project

GenBank: JBEWFL000000000.1

i This entry is the master record for a whole genome shotgun sequencing project and contains no sequence data.

Go to:

LOCUS	JBEWFL010000000	4 rc	DNA	linear	BCT 06-JUL-2024
DEFINITION	Campylobacter coli strain ChP2023, whole genome shotgun sequencing project.				
ACCESSION	JBEWFL000000000				
VERSION	JBEWFL000000000.1				
DBLINK	BioProject: PRJNA1129571 BioSample: SAMN42162033				
KEYWORDS	WGS.				
SOURCE	Campylobacter coli (Campylobacter hyoilei)				
ORGANISM	Campylobacter coli Bacteria; Campylobacterota; Epsilonproteobacteria; Campylobacterales; Campylobacteraceae; Campylobacter.				
REFERENCE	1 (bases 1 to 4)				
AUTHORS	Halka,I., Shchur,N., Bortz,E., Madyhra,S., Nedosekov,V., Goodfellow,I., Drown,D.M. and Kovalenko,G.				
TITLE	Complete Genome Sequences of Antimicrobial Resistant Campylobacter coli and C. jejuni, Isolated from Poultry in Ukraine				
JOURNAL	Unpublished				

Рисунок 3.26. *Campylobacter coli* ChP2023 проект секвенування повного генома.

На рисунку зображено вид першої сторінки GenBank після введення в пошук номера доступу JBEWFL000000000.

An official website of the United States government [Here's how you know](#)

NIH National Library of Medicine
National Center for Biotechnology Information

Nucleotide
Advanced

GenBank

Campylobacter jejuni strain KF2023, whole genome shotgun sequencing project

GenBank: JBEWFM000000000.1

i This entry is the master record for a whole genome shotgun sequencing project and contains no sequence data.

Go to:

LOCUS	JBEWFM010000000	9 rc	DNA	linear	BCT 06-JUL-2024
DEFINITION	Campylobacter jejuni strain KF2023, whole genome shotgun sequencing project.				
ACCESSION	JBEWFM000000000				
VERSION	JBEWFM000000000.1				
DBLINK	BioProject: PRJNA1129571 BioSample: SAMN42162034				
KEYWORDS	WGS.				
SOURCE	Campylobacter jejuni				
ORGANISM	Campylobacter jejuni Bacteria; Campylobacterota; Epsilonproteobacteria; Campylobacterales; Campylobacteraceae; Campylobacter.				
REFERENCE	1 (bases 1 to 9)				
AUTHORS	Halka,I., Shchur,N., Bortz,E., Madyhra,S., Nedosekov,V., Goodfellow,I., Drown,D.M. and Kovalenko,G.				
TITLE	Complete Genome Sequences of Antimicrobial Resistant Campylobacter coli and C. jejuni, Isolated from Poultry in Ukraine				
JOURNAL	Unpublished				

Рисунок 3.27. *Campylobacter jejuni* KF2023 проект секвенування повного генома.

На рисунку зображено вид першої сторінки GenBank після введення в пошук номера доступу JBEWFM000000000.

Обидва види мали передбачувані геномні маркери антимікробної резистентності та фактори патогенності, включаючи мультирезистентні ефлюксні помпи, які можуть впливати на резистентність до фторхінолонів, макролідів та аміноглікозидів. Штам *Campylobacter jejuni* KF2023 кодує мутацію T86I в гені *guyA*, яка в поєднанні з багатокомпонентною ефлюксною помпою *SteABC* надає стійкості до ципрофлоксацину, що використовується для лікування інфекцій птиці та людини (Таблиця 3.24).

Геномні характеристики ізолятів *Campylobacter* spp. птиці з України.

Таблиця 3.24

Показники	<i>C. coli</i> OR12-like strain ChP2023	<i>C. jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i> NCTC 11168R-like strain KF2023
Результати		
Вихід секвенування	1.59 Gb	1.02 Gb
Загальна кількість зчитувань	479,547	1,511,366
Середня довжина зчитування (bp)	3,943	4,593
Середній Q показник	14	14
Кількість контигів	4	9
Контиги N ₅₀ (bp)	1,035,987	359,068
Середня глибина покриття контигента (X)	915	386.14
Кількість круглих контигентів	0	2
Розмір зібраного геному (bp)	1,713,995	1,729,995
GC контент (%)	31.50	30.56
CDS	1,796	1,830
tRNA	50	48
rRNA	17	11
Повнота (%)	99.6	95.2
Забруднення (%)	2.7	5.2
MLST [#]	2273	not determined
Гени стійкості до антибіотиків	7	7
Фактори патогенності	63	102
AMR Механізм	Гени	
Ферменти інактивації бета-лактамних антибіотиків	OXA-61 family (bla-resistant)	OXA-184 family
Ефлюксна помпа, що забезпечує стійкість до антибіотиків	CmeABC, CmeDEF, MacB, YkkCD	CmeABC, CmeDEF, MacB, YkkCD
Заміна мішень антибіотика або відсутність мішені антибіотика	7a-HSDH-like, <i>gidB</i>	7a-HSDH-like, <i>gidB</i>
Блок, що змінює заряд клітинної стінки та забезпечує стійкість до антибіотиків	PgsA	PgsA
Генотип субодиноці А ДНК-топоізомерази (гірази): прогнозування резистентності до ципрофлоксацину	<i>gyrA</i> : T86, D90 (susceptible)	<i>gyrA</i> : T86I, D90 (resistant)
[#] MLST - мультилокусне типування послідовностей [*] Ідентифіковано за допомогою бази даних фактора патогенності (VFDB) ^{**} Ідентифіковано за прогнозом ResFinder.		

В таблиці представлена інформація щодо результатів повногеномного секвенування ізолятів *Campylobacter* spp. від птиці. Розміри зібраного геному OR12-подібного штаму *Campylobacter coli* ChP2023

становили – 1 713 995 пар нуклеотидів та NCTC 11168R-подібного штаму *Campylobacter jejuni subsp. jejuni* KF2023 виділеного від індиків – 1 729 995 відповідно. Кількість контигів становить *Campylobacter coli* – 4 та *Campylobacter jejuni* – 9 відповідно. Значення контигів N₅₀ для *Campylobacter coli* – 1,035,987 (bp) та *Campylobacter jejuni* – 359,068 (bp). Загальна кількість зчитувань 479,547 та 1,511,366 відповідно, середня довжина зчитувань *Campylobacter coli* – 3,943 та 4,593 *Campylobacter jejuni*. Виявлені гени стійкості до антибіотиків по 7 в обох ізолятів, чинники патогенності 63 та 102 відповідно.

Ми отримали гени AMP (*cmeABC*, *cmeDEF*, *MacB*, *YkkCD*, *blaOXA-61*, *blaOXA-184*, *gidB*, *gyrA*) і точкові мутації, пов'язані з геном *gyrA*.

Гени *blaOXA-61* і *blaOXA-184* надають стійкості *Campylobacter* до бета-лактамів. Ми порівняли фенотипову резистентність із генотиповою. Результати фенотипової AMP наведені в таблиці (Таблиця 3.25)

Стійкість ізолятів *Campylobacter* spp. до β-лактамних антибіотиків.

Таблиця 3.25

Назва антибіотика			Інтерпретація за EUCAST	Діаметри зон затримки росту, мм.	
				<i>C. coli</i>	<i>C. jejuni</i>
Пеніциліни	Природні	бензилпеніцилін / 1 ОД	$\geq S$; $< R$	10±1	11±1
	Напівсинтетичні	ампіцилін / 10 мкг	14 $\geq S$; 14 $< R$	10±1	16±1
		тикарцилін / 75 мкг	23 $\geq S$; 20 $< R$	22±1	33±1
		оксацилін 5 мкг	17 $\geq S$; 17 $< R$	10±1	10±1
Цефалоспорины	I покоління	цефалотин / 30 мкг	18 $\geq S$; 14 $< R$	18±1	23±1
	II покоління	цефокситин / 30 мкг	19 $\geq S$; 19 $< R$	10±1	13±1
	III покоління	цефотаксим / 30 мкг	20 $\geq S$; 20 $< R$	15±1	28±1
	IV покоління	цефепім / 30 мкг	27 $\geq S$; 24 $< R$	17±1	28±1
Карбапенеми		меропенем / 10 мкг	22 $\geq S$; 16 $< R$	30±1	39±1
		іміпенем / 10 мкг	22 $\geq S$; 19 $< R$	13±1	26±1
		ертапенем / 10 мкг	23 $\geq S$; 23 $< R$	13±1	29±1

Примітки: S – чутливий; R – резистентний. EUCAST версія 14.0, 2024-01-01 (Окремі антибіотики – діаметри зон затримки росту для Enterobacterales).

Дані таблиці інформують про результати тестування ізолятів на чутливість до АБП. *Campylobacter coli* був стійким до 73% (8/11) тестованих β-лактамних антибіотиків. *Campylobacter jejuni* був стійким лише до 27% (3/11) β-лактамів та не стійким до ампіциліну.

Резистентність до фторхінолонів пов'язана з двома механізмами: наявність оперону *SteABC* та точковими мутаціями у ділянці гена ДНК-гірази A – *gugA*. В результаті нашого дослідження виявлено генотипову резистентність у *Campylobacter jejuni*, ізолят *Campylobacter coli* проявив чутливість. Фенотипову резистентність представлено в Таблиці 3.26.

Стійкість ізолятів *Campylobacter* spp. до фторхінолонів. Таблиця 3.26

Назва антибіотика			Інтерпретація за EUCAST	Діаметри зон затримки росту, мм.	
				<i>C. coli</i>	<i>C. jejuni</i>
Фторхінолони	I покоління	налідиксова к-та / 30 мкг		22±1	13±1
	II покоління	енрофлоксацин / 5 мкг	19≥ S; 19 < R	36±1	21±1
		офлоксацин / 5 мкг	24≥ S; 22 < R	33±1	11±1
		норфлоксацин / 10 мкг	24≥ S; 24 < R	31±1	13±1
		ципрофлоксацин / 5 мкг	50≥ S; 26 < R	34±1	14±1

Примітки: S – чутливий; R – резистентний. EUCAST версія 14.0, 2024-01-01. (Окремі антибіотики – діаметри зон затримки росту для Enterobacterales).

Дана таблиця інформує про результати тестування на чутливість до АБП, де *Campylobacter coli* проявив чутливість до фторхінолонів, а *Campylobacter jejuni* стійкість. Отже, між фенотипами та генотипами повна відповідність.

Були досліджені ДДМ стійкість до інших груп антибіотиків. Дані наведені в таблиці 3.27.

Стійкість ізолятів *Campylobacter* spp. до АБП різних груп. Таблиця 3.27

Назва антибіотика		Інтерпретація за EUCAST	Діаметри зон затримки росту, мм.	
			<i>C. coli</i>	<i>C. jejuni</i>
Макроліди	еритроміцин / 15 мкг <i>Campylobacter jejuni</i>	$20 \geq S$; $20 < R$	-	40 ± 1
	еритроміцин / 15 мкг <i>Campylobacter coli</i>	$24 \geq S$; $24 < R$	34 ± 1	-
	азитроміцин / 15 мкг	$24 \geq S$; $20 < R$	38 ± 1	40 ± 1
	пристинаміцин / 15 мкг	$24 \geq S$; $20 < R$	36 ± 1	39 ± 1
Аміноглікозиди	I покоління стрептоміцин / 10 мкг	$13 \geq S$; $13 < R$	35 ± 1	30 ± 1
	II покоління гентаміцин / 10 мкг	$17 \geq S$; $17 < R$	30 ± 1	36 ± 1
	III покоління тобраміцин / 10 мкг	$16 \geq S$; $16 < R$	22 ± 1	27 ± 1
		амікацин / 30 мкг	27 ± 1	31 ± 1
Лінкозаміди	лінкоміцин / 10 мкг	$15 \geq S$; $15 < R$	22 ± 1	31 ± 1
	кліндаміцин / 10 мкг	$15 \geq S$; $15 < R$	31 ± 1	38 ± 1
Оксазолідинони	лінезолід / 10 мкг	$20 \geq S$; $20 < R$	14 ± 1	29 ± 1
Глікопептиди	ванкоміцин / 30 мкг	$14 \geq S$; $14 < R$	10 ± 1	12 ± 1
Поліміксини	поліміксин В / 300 ОД	$13 \geq S$; $13 < R$	12 ± 1	15 ± 1
Тетрацикліни	тетрациклін / 30 мкг	$30 \geq S$; $30 < R$	36 ± 1	30 ± 1
	міноциклін / 30 мкг	$30 \geq S$; $30 < R$	37 ± 1	39 ± 1
Хлорамфеніколу	хлорамфенікол / 10 мкг	$17 \geq S$; $17 < R$	27 ± 1	38 ± 1
Рифаміцини	рифампіцин / 30 мкг	$16 \geq S$; $16 < R$	10 ± 1	10 ± 1

Примітки: S – чутливий; R – резистентний. EUCAST версія 14.0, 2024-01-01. (Окремі антибіотики – діаметри зон затримки росту для *Enterobacterales*).

Аналізуючи результати фенотипової АМР ми переважно спостерігаємо чутливість до АБП інших груп. Так, наприклад, маючи гени резистентності до аміноглікозидів, обидва ізоляти не були стійкими до гентаміцину ($S = 30 \pm 1$; $S = 36 \pm 1$). *Campylobacter coli* проявив резистентність до 25% (4/16) антибіотиків, а до решти – 75% (12/16) був чутливим. *Campylobacter jejuni* мав резистентність до 12% (2/16) антибіотиків, а до 88% (14/16) - був чутливим.

Повногеномне секвенування *Campylobacter* spp. проведене в Україні вперше і на сьогоднішній день це єдине дослідження термофільних бактерій роду *Campylobacter*. За WGS ми встановили характеристики та типи ізолятів *Campylobacter* від свійської птиці в Україні, виявили гени передачі факторів патогенності та детермінант АМР. Поширеність АМР серед ізолятів *Campylobacter* spp., виділених від тварин, птиці та людей в Україні є високою, тому вивчення генотипів необхідне. Для цього WGS повинно бути інтегрованим в систему державного моніторингу *Campylobacter* та стійкості до АМП для розуміння чинників виникнення резистентності, поліпшення виробництва продуктів харчування та здоров'я людей, а також контролю застосування АМП у ветеринарії та медицині.

Висновок до розділу 3.

В Україні кампілобактеріоз є актуальним зоонозом, але з низьким рівнем лабораторної діагностики, що пов'язано з труднощами та матеріальними витратами на проведення досліджень.

За планових досліджень вперше продемонстровано поширеність збудників інфекції *Campylobacter* серед тварин та птиці в Україні, при цьому значна частина ізолятів виділена від птахів – 78,8% (26/33), великої рогатої худоби – 15,1% (5/33) та свиней – 6,1% (2/33). Такі результати вказують на присутність кампілобактерій в мікробіоті кишечника свійських тварин. Дослідили виділені ізоляти на стійкість до АБП та виявили повну чутливість до трьох класів антимікробних препаратів СІР / ТЕ / Е у 2 ізолятів від великої рогатої худоби, що становить 40% та резистентність до 1 із 3-х АБП у 3 ізолятів, що склало 60%. Стійкість виділених ізолятів від великої рогатої худоби до тетрацикліну склала – 40%, до ципрофлоксацину – 20%, до еритроміцину всі ізоляти були чутливі.

Ізоляти виділені від свиней протестували на резистентність до АБП, що склала до ципрофлоксацину – 100%, еритроміцину – 50% та до тетрацикліну – жоден не був стійким.

В результаті тестування чутливості до антибіотиків виділених ізолятів від курей-бройлерів встановили, що резистентність до тетрацикліну склала – 88.5% (23/26), до ципрофлоксацину – 57.7% (15/26) та до еритроміцину – 73.1% (19/26). Встановили фенотипові комбінації антимікробної резистентності ізолятів від птиці: CIP / TE / E – 53.8% (14/26), TE / E – 15.4% (4/26) та CIP / TE – 3.8% (1/26) ізолятів. Резистентними до одного із трьох АБП були 19.2% (5/26) ізолятів від птиці. Повну чутливість до трьох класів антимікробних препаратів виявили у 7.7% (2/26) ізолятів.

За аналізу звітів бактеріологічної лабораторії встановили, що протягом 2017 – 2023 років досліджено 11415 біоматеріалів від пацієнтів педіатричних інфекційних стаціонарів ЛПЗ м. Дніпра, за гострих кишкових інфекцій та харчових токсикоінфекцій. При цьому виділено 425 ізолятів *Campylobacter*. Найбільш поширений вид *Campylobacter jejuni*, що становив 53.2% (226/425), наступними були *Campylobacter coli* 40.5% (172/425) та *Campylobacter lari* 6.3% (27/425). Виділені ізоляти мали стійку резистентність до фторхінолонів – 86%, тетрациклінів – 45% та макролідів – 9%. Нами виявлені комбінації фенотипів антимікробної резистентності ізолятів *Campylobacter* spp. Мультирезистентність до трьох класів антибіотиків мали 12 ізолятів, з яких *Campylobacter jejuni* – 2 ізоляти, *Campylobacter coli* – 9 ізолятів та *Campylobacter lari* – 1 ізолят. Найбільше виявлено стійких *Campylobacter* з фенотипом CIP/TE – 125 ізолятів. Стійкість до одного із трьох тестованих антибіотиків мали 111 ізолятів. Чутливих до тестованих антибіотиків було 26 ізолятів, серед яких не виявлено жодного ізоляту виду *Campylobacter lari*.

Застосування методу прямого нанесення дозволило нам вже через 24 години виявити ріст типових колоній *Campylobacter* на селективних агарах та мікроскопіюванням визначити типовість морфології та чистоту культури. Нами встановлено, що за методу збагачення зі скороченням часу культивування на етапах «збагачення» та ізоляції, було виділено 72,7% ізолятів *Campylobacter* spp., з них 51,5% чистих культур.

За допомогою автоматизованої системи ідентифікації мікроорганізмів VITEK® MS ми ідентифікували всі 33 виділені ізоляти, що дало можливість встановити видове поширення *Campylobacter* в популяціях тварин та птиці в Україні. Вид *Campylobacter jejuni* становив 24,2% (8/33) та *Campylobacter coli* 75,8% (25/33). Від курей-бройлерів було ідентифіковано до 70% ізолятів *Campylobacter coli* та 100% від свиней.

Для вивчення епідеміології кампілобактеріозу, а також біологічних та молекулярно-генетичних властивостей збудників даного зоонозу, створена колекція польових ізолятів *Campylobacter*. Створення даної колекції необхідне для збереження сучасних ізолятів *Campylobacter* для подальшого дослідження з використанням методів, які будуть розроблені в майбутньому.

Встановлено, що усі досліджені ізоляти *Campylobacter jejuni* та *Campylobacter coli* формували біоплівку за аеробних та мікроаеробних умов з різним рівнем щільності. З наведених даних видно, що за аеробних умов відмічається збільшене біоплівкоутворення проти мікроаеробних умов. В аеробних умовах здатність *Campylobacter* утворювати біоплівку зростає у відповідь на оксидативний та температурний стрес, що вказує на пристосування та виживання *Campylobacter* в стресових умовах навколишнього середовища. Підвищений рівень утворення біоплівки в аеробних умовах є адаптацією, що дозволяє виживати *Campylobacter* в атмосферних умовах та має значення для передачі людям через харчовий ланцюг.

За дослідження в ПЛР з виявлення гена *cdtA* у 4-х ізолятів *Campylobacter jejuni*, в порівняльному аспекті, поряд із зразками соматичних клітин отримано позитивний результат. Присутність цього гена підтверджує наявність токсинотвірної здатності у кампілобактерій.

Повногеномне секвенування *Campylobacter* spp. проведене в Україні вперше і на сьогоднішній день це єдине дослідження термофільних бактерій роду *Campylobacter*. За WGS ми встановили характеристики та типи ізолятів *Campylobacter* від свійської птиці в Україні, виявили гени передачі факторів патогенності та детермінант AMP. Поширеність AMP серед ізолятів

Campylobacter spp., виділених від тварин, птиці та людей в Україні є високою, тому дослідження генотипів необхідне. Для цього WGS повинно бути інтегрованим в систему державного моніторингу *Campylobacter* та стійкості до АМП для розуміння чинників виникнення резистентності, поліпшення виробництва продуктів харчування та здоров'я людей, а також контролю застосування АМП у ветеринарії та медицині.

РОЗДІЛ 4. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Кампілобактеріоз (*Campylobacteriosis*) – зоонозне інфекційне захворювання багатьох видів тварин, птахів і людини, викликане збудниками роду *Campylobacter*, яке характеризується поліморфністю клінічних проявів (ураженням репродуктивної системи (хронічні вагініти, метрити, орхіти), абортми, народженням нежиттєздатного приплоду, тимчасовим безпліддям, ураженням шлунково-кишкового тракту (ентероколіти, гастроентерити, гепатити), загальною інтоксикацією організму, здатністю до генералізації патологічного процесу в поодиноких випадках у новонароджених та людей з ослабленим імунітетом. Останнім часом кампілобактеріоз набуває значення як харчова токсикоінфекція у людей [10, 42, 52].

Кампілобактерії – коменсали шлунково-кишкового тракту багатьох видів сільськогосподарських тварин (велика рогата худоба, кози, вівці, свині), домашніх тварин (собаки та коти), птахів (кури, качки, гуси, індики та ін), диких птахів (хижі, водоплавні, синантропні) та рептилій [106, 117, 118]. Колонізуючи тварин та птицю, кампілобактерії не викликають у них видимих симптомів захворювання, тому легко потрапляють у харчовий ланцюг та спричиняють бактеріальні ентерити у людей. Передача збудника відбувається фекально-оральним шляхом через вживання заражених продуктів харчування та води. Так як кури-бройлери є основним джерелом патогенного для людей *Campylobacter jejuni*, обробка та споживання забруднених вмістом шлунково-кишкового тракту сирих або недоварених продуктів з м'яса птиці є основною

причиною виникнення діарейних захворювань у людей, спричинених *Campylobacter jejuni* [114, 137, 176, 236]. Організм свиней є природним резервуаром *Campylobacter coli*, оскільки більш як 98% ізолятів цього виду отримано саме при дослідженні матеріалу від свиней [215]. За нашого дослідження всі ізоляти від свиней були ідентифіковані як *Campylobacter coli*. Парадоксальним є той факт, що за високого відсотку бактеріоносійства у свиней, вживання свинини дуже рідко викликає кампілобактеріоз, близько 0,4% підтверджених випадків [92]. *Campylobacter coli* нестійкі до дії низьких та високих температур, а також до відсутності вологи, хоча зафіксовані випадки виділення із продуктів зі свинини (смажена свинина, ковбаси, гамбургери, паштети) *Campylobacter coli* [107].

Велика рогата худоба є природним джерелом для *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* та *Campylobacter fetus subsp. fetus* [135, 171]. Ізолят виділений нами від великої рогатої худоби ідентифікований як *Campylobacter jejuni*.

Кампілобактеріоз реєструють у всіх вікових групах. Особливо вразливими щодо інфекцій *Campylobacter* є діти молодше 7 років, літні люди, особи зі слабкою резистентністю, працівники тваринницьких ферм та птицефабрик [177, 190, 208]. За аналізу звітів бактеріологічної лабораторії «Міської клінічної лікарні №9» Дніпровської міської ради м. Дніпро, ми встановили, що найбільш вразливими є діти до року - 14% та від 1 року до 3 років – 49%.

Інфекції *Campylobacter* поширені у світі та становлять 400 – 500 мільйонів випадків щорічно [168]. Першою у світі по захворюваності в 2019 році була Чехія – 215,0 на 100 000 осіб населення, за нею Австралія – 146,8 у 2016 році та Нова Зеландія – 126,1 у 2019 році [207]. Рівень захворюваності дітей в Сінгапурі – 71,7 на 100 000 осіб населення в 2018 році, в Канаді – 35,0 в 2019 році, в США – 20,8 у 2015 році та в ЄС – 15,6% (20 524) зареєстрованих випадків у 2022 році [122, 207]. В Україні за офіційними даними щорічний середній показник складає 0,34 випадки на 100 000 осіб населення.

В ЄС у 2005 році кампілобактеріоз вперше перевищив сальмонельоз і залишається найпоширенішою кишковою інфекцією серед людей [172]. В 2022 році кількість підтверджених випадків кампілобактеріозу людини склала 137 107, що відповідає 43,1 випадку на 100 000 осіб населення, з них госпіталізовано 10 551 та зареєстровано 34 летальні випадки. Причинами захворювання були види *Campylobacter jejuni* у більш як 87% випадків, *Campylobacter coli* – у 10,7%, *Campylobacter fetus* – 0,26%, *Campylobacter upsaliensis* – 0,17% та *Campylobacter lari* – 0,12%. Кампілобактеріоз має виражену сезонність. Так у ЄС з 2013 по 2022 роки пік підтверджених випадків інфекції припадав на літні місяці та більш нижчі показники на зимові [122]. За аналізом звітів ми встановили три види термофільних збудників кампілобактеріозу у дітей. Пік інфікування припадав на літо та осінь.

Зростання захворюваності на кампілобактеріоз потребує значних витрат на охорону здоров'я. За оцінками EFSA, вартість інфекції в ЄС становить 2,4 мільярда євро на рік, в США – 1,7 мільярда доларів США, в Канаді – 80 мільйонів доларів США, у Сполученому Королівстві – 51 мільйон фунтів стерлінгів [115, 211, 278, 304].

В Україні сфера поширення небезпечних кампілобактерій серед їх потенційних природних бактеріоносіїв є не дослідженою як у ветеринарній медицині так і в гуманній. Поодинокі випадки кампілобактеріозу людини склали за період з 2016 по 2023 рр. 1140 встановлених випадків. За висновками дослідників, такі дані є значно занижені з реальною ситуацією інфекцій *Campylobacter*. Враховуючи, що ГКІ та ХТІ невстановленої етіології складають більше 70 випадків на 100 000 осіб населення, напрошується висновок щодо низького рівню лабораторної діагностики ХТІ порівняно з іншими країнами.

Малиш Н.Г. (2020) встановлено, що в Україні за період 2011 – 2017 рр., у нозологічній структурі ГКІ відсоток випадків кампілобактеріозу разом із холерою, черевним тифом та кишковим ієрсиніозом, не перевищувала 0,2%, сальмонельозу – 8,6%, шигельозу – 1,5%, ГКІ невстановленої етіології – 37,8% [37].

Кирик Д.Л. у 2013 році провів детальне епідеміологічне обстеження щодо інфекцій *Campylobacter*. Досліджено біологічний матеріал від 26 707 хворих на ГКІ, з них 18 786 від дітей. Виявлено 519 позитивних зразків від хворих, що склало 1,9%, в тому числі 440 від дітей, що склало 2,3%. Відсоток кампілобактеріозу у структурі ГКІ населення становила: у Дніпропетровську – 1,6%, Запоріжжі – 3,4%, Києві – 2,7%, Черкасах – 2,1%. Серед дітей відповідно: 2,1%, 3,4%, 2,9% та 1,1% [26, 28]. За звітами ЦГЗ найбільше випадків кампілобактеріозу саме в цих регіонах.

Паньківська О. зробила аналіз звітності Волинського центру здоров'я щодо епідеміологічного стану у Волинській області та встановила, що за останні 10 років жодного випадку кампілобактеріозу в області не зареєстровано, при цьому у 35% випадків інфекцій збудників не встановлено. В той же час, за звітами ЦГЗ МОЗ України за 2021 рік зареєстровано 189 випадків кампілобактеріозу людини в Україні, з них 58 у Запорізькій області [40] та 84 м. Дніпро (Річний звіт основних показників діяльності бактеріологічної лабораторії «Міська клінічна лікарня №9»). Такі дані свідчать про неоднозначність епідеміологічної ситуації щодо кампілобактеріозу в Україні в розрізі регіонів, а це змушує впровадити системний нагляд за інфекціями *Campylobacter* та удосконалити бактеріологічну діагностику лабораторій охорони здоров'я, в тому числі і ветеринарної медицини.

У звітах про роботу лабораторій ветеринарної медицини Держпродспоживслужби України позитивних випадків досліджень на кампілобактеріоз тварин та птиці за період з 2009 по 2023 роки не виявлено, за виключення кількох випадків абортів с/г тварин. До прикладу, з 2015 по 2023 роки досліджено 1208 матеріалів від птиці на кампілобактеріоз, однак збудників інфекції – не виділено. У зв'язку з цим, під егідою ФАО, був спланований моніторинг даного зоонозу згідно європейського зразка – «Зміцнення національного потенціалу для подолання ризиків антимікробної резистентності». Дослідження біологічного матеріалу від сільськогосподарських тварин та птиці були проведені влітку 2021 року. Основні заявлені мішені досліджень – бактерії *E. coli*, *Salmonella* spp.,

Campylobacter spp., *Staphylococcus* spp. та *Streptococcus* spp. Загалом досліджено 472 зразки, в результаті виділено та вивчено антимікробну стійкість 108 ізолятів. Присутності *Campylobacter* spp. встановлено не було. Можливою методологічною помилкою в ході аналізу роботи було визначене тривале зберігання зразків за температур нижчих 0°C до початку досліджень. *Campylobacter* дуже чутливі до заморожування і з часом втрачають культуральні властивості [311].

Дослідивши патологічний матеріал від птахів, з характерними ознаками кампілобактеріозу, та аборт плоди великої рогатої худоби Бабкін А.Ф. встановив, що близько 30% обстеженого птахопоголов'я є ураженими *Campylobacter* spp., у більшості випадків носіями *Campylobacter* є кури-бройлери у віці до 30 діб та дорослі кури-несучки, у добових курчат *Campylobacter* spp. не виявлений. Циркуляцію збудників кампілобактеріозу встановлено у 3 із 10 птахогосподарств та у 20% обстеженого поголів'я великої рогатої худоби [2].

Планові дослідження щодо протимікробної резистентності у ветеринарній медицині дозволили встановити, що *Campylobacter* spp. присутній в шлунково-кишковому тракті тварин та птиці. Виділено 1,6% ізолятів від загальної кількості досліджених зразків (33/2120), а кури-бройлери є основним природним джерелом кампілобактерій, 26 ізолятів виділено саме від птиці, що становить 3,1% ураження (26/848). Від великої рогатої худоби виділено 0.9% (5/581) ізолятів та 0.3% (2/691) від свиней. Зокрема встановлено резистентність *Campylobacter* spp. до трьох груп антимікробних препаратів, що є критично важливими для лікування кампілобактеріозу: тетрациклінів – 75.8%, макролідів – 60.6% та фторхінолонів – 54,5%.

За ініціативної тематики встановлено, що рівень інфікування курей-бройлерів кампілобактеріями склав 26,3% (20/76), індиків – 3,33% (1/30), свиней – 55% (11/20), великої рогатої худоби – 8,33% (1/12). Протягом дослідження було виділено 33 ізоляти *Campylobacter* spp., що становить 23,9% ураження, серед яких ідентифіковано методом MALDI-TOF MS *Campylobacter coli* – 75,8% та *Campylobacter jejuni* – 24,2%, причому до 70% ізолятів птиці

ідентифіковано як *Campylobacter coli*. Таким чином встановлено домінуючу перевагу в птахівництві ізолятів *Campylobacter coli*, що узгоджується із результатами отриманими в країнах Латинської Америки та Китаї [75, 105, 322]. Ізоляти протестовані на чутливість до АБП. Стійкість до тетрацикліну склала 60.6% (20/33), до ципрофлоксацину – 72.7% (24/33) та до еритроміцину – 18.2% (6/33).

Модернізація технологічного процесу та інтенсивний розвиток тваринництва створює мікробне навантаження на організм тварин, склад якого безпосередньо залежить від параметрів мікроклімату приміщень, гігієни утримання, щільності посадки, якості підстилки та кормів, збалансованого раціону, виду тварин і навіть їх здоров'я. Як наслідок виникає дисбаланс мікробіоти організму, що пригнічує імунітет та підвищує частоту захворювань. Все це спонукає до збільшення застосування антимікробних препаратів для профілактики і лікування, що сприяє формуванню стійкості до антибіотиків у зоонозів та комменсалів, поширенню резистентності серед тварин, через харчовий ланцюг у людей та в навколишньому середовищі. До цього додається здатність *Campylobacter* передавати гени які кодують резистентність до інших видів мікроорганізмів [56, 298]. Це веде до неефективного лікування з наступною втратою опірності організму, госпіталізацією та, нерідко, летальністю. Відомим є факт, що при лікуванні інфекційних захворювань формування резистентності призводить до часткової чи повної «стерилізації» організму. Внаслідок чого відбувається дестабілізація функціонування аутохтонної мікрофлори з майбутнім порушенням загального метаболізму, трофічних процесів та імунокоригуючих функцій організму хворого [71]. В журналі «*The Lancet*» було опубліковано інформацію про смертність від резистентності до антимікробних препаратів, що в 2019 році становила 4,95 мільйонів смертей [226].

Дослідивши зразки на чутливість до АБП, встановили, що найбільш поширеними фенотипами антимікробної резистентності виділених ізолятів були: CIP / TE / E – 14 ізолятів від птиці, що склало 42,4%. TE / E – 4 ізоляти від птиці (12,1%), CIP / TE – 1 ізолят від птиці (3,03%), CIP / E – 1 ізолят від

свиней (3,03%). Повну чутливість до трьох класів АБП виявили у 2 ізолятів отриманих з організму птиці та 2 ізоляти від великої рогатої худоби, що склало 12,1%.

Отримані дані дослідження щодо резистентності ізолятів *Campylobacter* spp. співпадають із дослідженнями інших дослідників, насамперед у збільшенні резистентності *Campylobacter* до фторхінолонів [119, 150, 186, 261, 291, 315] та макролідів [21, 93, 223, 319]. За звітом EFSA та ECDC про резистентність до антимікробних препаратів зоонозних патогенів, в 2022 році *Campylobacter jejuni* від курей-бройлерів мав високу резистентність до ципрофлоксацину, близько 71 %, до тетрацикліну - 51% та низьку до еритроміцину – 1,5%, а *Campylobacter coli* до ципрофлоксацину – 73%, тетрацикліну – 67,5% та еритроміцину – 8.8%. *Campylobacter jejuni* від великої рогатої худоби мав резистентність до ципрофлоксацину – 55%, тетрацикліну 69% та еритроміцину – 1%. *Campylobacter coli* від великої рогатої худоби до ципрофлоксацину – 80%, тетрацикліну – 91% та еритроміцину – 35,7%. *Campylobacter coli* від свиней до ципрофлоксацину – 52%, тетрацикліну – 69,3% та еритроміцину – 12,2% [123]. Як бачимо, *Campylobacter coli* має вищу стійкість до АБП за *Campylobacter jejuni*.

Ми проаналізували чутливості до антибіотиків 425 ізолятів виділених від дітей за ГКІ. З них стійкими до ципрофлоксацину виявлено 86% (367 ізолятів), до еритроміцину – 9% (37 ізолятів), до тетрацикліну – 45% (191 ізолятів). Встановлено фенотипи AMR, найбільш поширена комбінація двох антибіотиків CIP / TE, що становить 42.7%. Мультирезистентність у клінічних ізолятів *Campylobacter jejuni* на рівні 1,2%, ізолятів *Campylobacter coli* на рівні 8,3%, ізолятів *Campylobacter lari* – 4,5%. В Аргентині виявили 77% ізолятів *Campylobacter coli* стійкими до п'яти антибіотиків [275]. Стійкість, що спостерігається, особливо до ципрофлоксацину і тетрацикліну, а також поява штамів з МЛС, відображає тривожну тенденцію, що відповідає глобальним тенденціям зростання стійкості до протимікробних препаратів.

«Імплементативне рішення Комісії (ЄС) 2020/1729 від 17 листопада 2020 року щодо моніторингу та звітності про резистентність до антимікробних

препаратів у зоонозних і комменсальних бактерій» вимагає збереження резистентних ізолятів *Campylobacter* при температурі -80°C щонайменше 5 років. Аналогічне завдання було поставлене і перед нами, тому початковим етапом його виконання стало створення унікальної першої в Україні колекції ізолятів кампілобактерій, до якої б увійшли представники зі всіх регіонів, виділені від усіх видів тварин та птиці, а також людей. Колекція ізолятів *Campylobacter* створена з метою вивчення молекулярно-генетичних і біологічних властивостей, а також в якості музею для вивчення еволюції ізолятів з плином часу.

Для довготривалого зберігання культур мікроорганізмів добре відомі методи кріоконсервації та ліофілізації. Застосування низьких температур із різними кріопротекторами для збереження бактерій є традиційною практикою в будь-якій мікробіологічній лабораторії. Низькотемпературне зберігання забезпечує високий рівень життєздатності мікробних клітин, а кріопротектори запобігають утворенню кристалів льоду під час заморожування [151, 241, 262]. Проте підтримання низькотемпературного режиму потребує значних енерговитрат, наявності спеціального холодильного обладнання з безперебійною роботою. Ліофілізація забезпечує високий рівень життєздатності культур протягом кількох років [5]. За дослідженнями Обуховської О.В. встановлено, що за збереження ліофілізованих культур *Campylobacter*, щороку мікробні клітини втрачають 1.0% життєвого потенціалу та через 10 – 12 років всього 44.0% штамів зберегли свою життєдіяльність [39]. За наших досліджень, через рік після ліофілізації та збереженні при температурі $-18^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ відтворюваність становила 80.0%.

Для вирішення питання тривалого зберігання біологічних властивостей ізолятів *Campylobacter*, нами були проаналізовані існуючі методики, що використовуються для збереження збудників бактеріальних хвороб, такі як ліофільне висушування та замороження при температурі $-70 \pm 5^{\circ}\text{C}$. Так як для забезпечення стабільної роботи низькотемпературного морозильника потрібне постійне безперебійне надходження електроенергії, метод кріоконсервування вирішено не застосовувати. Хоча його

використовували деякі автори при створенні колекцій ізолятів *Campylobacter* для дослідницького та клінічного застосування [63, 213]. В наших дослідженнях при зберіганні ліофілізованих ізолятів кампілобактерії за температури $-18^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ протягом 12 місяців *Campylobacter* втратив 0.15% життєздатних мікробних клітин від вихідного рівня. Таким чином, вважаємо, що найбільш придатним методом тривалого зберігання ізолятів *Campylobacter* в нашому дослідженні визнано ліофілізацію.

Campylobacter є облигатними мікроаерофілами, що ускладнює їх виявлення за лабораторних умов, але в навколишньому середовищі в стресових аеробних умовах та на продуктах птахівництва вони успішно виживають [188]. Враховуючи значимість *Campylobacter* для здоров'я населення, важливо зрозуміти механізми його виживання. Вважається, що біоплівка забезпечує захист мікроорганізмів від несприятливих умов довкілля та підвищену стійкість до антибіотиків, дезинфіктантів та імунної відповіді господаря. За нашого дослідження встановлено, що всі дослідні ізоляти *Campylobacter* здатні формувати біоплівку з різним рівнем щільності за аеробних та мікроаеробних умов. В аеробних умовах здатність *Campylobacter* утворювати біоплівку зростає у відповідь на оксидативний та температурний стрес, що вказує на пристосування та виживання *Campylobacter* в стресових умовах навколишнього середовища. Підвищений рівень утворення біоплівки в аеробних умовах є адаптацією, що дозволяє виживати *Campylobacter* в атмосферних умовах та має значення для передачі людям через харчовий ланцюг.

До організму людини антибіотикорезистентні *Campylobacter* потрапляють із контамінованими продуктами харчування та водою. Наразі, значного розповсюдження із харчовими продуктами тваринного походження набувають клінічно значимі бета-лактамі антибіотики, що інактивуються за дії ферментів бета-лактамаз. До бета-лактамаз відносяться ферменти: карбапенемази (бета-лактамази, що гідролізують пеніциліни, деякі цефалоспорини, карбапенеми і монобактами), бета-лактамази розширеного спектру (ESBL, гідролізують цефалоспорини третього і четвертого покоління

та азтреонам, крім цефаміцину і карбапенемів) і набуті AmpC бета-лактамази (гідролізують пеніциліни, цефалоспорины третього покоління та монобактами і не гідролізують цефалоспорины четвертого покоління) [59]. Виявлення механізмів резистентності у мікроорганізмів до бета-лактамів має вагоме епідеміологічне значення. Бета-лактамази розширеного спектру ESBL проявляють стійкість до цефалоспоринів та мають високий рівень мультирезистентності до АБП [62, 258].

Гени *blaOXA-61* і *blaOXA-184*, що надають стійкості *Campylobacter* до β-лактамів [165, 215], присутні у секвенованих ізолятах. Ми дослідили фенотипи AMP *Campylobacter coli* та відмітили його стійкість до 73% тестованих β-лактамних антибіотиків (ампіцилін, оксацилін, цефокситин, цефотаксим, цефепім, іміпенем, ертапенем), що відповідає наявності гена *blaOXA-61*. *Campylobacter jejuni* був стійким лише до 27% β-лактамів та не стійким до ампіциліну, що узгоджується з дослідженнями [131]. Дослідження Gharbi та інших [138] показало, що існує сильна кореляція між резистентністю до β-лактамів та наявністю гена *blaOXA-61*, 40% *Campylobacter coli*, що мали цей ген були чутливими до β-лактамних антибіотиків. Присутність *blaOXA-61* може мати іншу функцію, ніж стійкість *Campylobacter* до β-лактамів.

Зростаюча AMR *Campylobacter* до фторхінолонів, макролідів та тетрациклінів має велике значення для здоров'я людей та тварин. Головною ознакою антибіотикорезистентності *Campylobacter* до ципрофлоксацину є хромосомна точкова мутація C257T в гені *gyrA*, що призводить до заміни амінокислоти треоніну у положенні 86 на ізолейцин (Thr-86 – 86-I) [286, 305]. Крім того, значення наших результатів тестування ДДМ та проведення WGS мало 100% кореляцію, що узгоджується з дослідженнями Ammar [69].

Механізми стійкості *Campylobacter* такі як ефлюксні системи, пов'язані з резистентністю до структурно різноманітних антибіотиків. Система відтоку кількох лікарських засобів (*CmeABC*) кодується тригенним опероном та складається з білка-транспортера (*CmeB*), білка злиття периплазматичної мембрани (*CmeA*) та фактора зовнішньої мембрани (*CmeC*) [60]. *CmeABC* експресується в штаммах дикого типу та сприяє мультирезистентності до АБП

та стійкості до барвників, солей важких металів, жовчних солей та поверхнево-активних речовин (детергентів) [204, 263]. Також *CmeABC* необхідний для колонізації *Campylobacter* так як надає стійкість до жовчі, яка присутня в кишковому тракті тварин [205]. Інша ефлюксна помпа, що виявлений у ізолятів *Campylobacter* – *CmeDEF*, роль якої в AMP через суперечливі результати та можливе маскування *CmeDEF* за допомогою *CmeABC* достеменно не вивчена [60]. Хоча дослідженнями Akiba та інші встановлено, що дані ефлюксні помпи (*CmeABC* та *CmeDEF*) підтримують життєдіяльність *Campylobacter* та необхідні для оптимального росту, тобто відіграють значну роль у фізіології *Campylobacter*.

WGS виявило в ізолятів присутність гена *MacB* (зв'язує АТФ для експорту макролідів), генетичні детермінанти для тетрацикліну – ген *YkkCD* та аміноглікозидів – *gidB*. Крім того був виявлений білок, що змінює заряд клітинної стінки та надає AMP – *PgsA* [300]. Фенотипи AMP ізолятів *Campylobacter* суперечать результатам WGS. До макролідів обидва ізоляти нестійкі, до тетрацикліну та аміноглікозидів також. Так, наприклад, маючи гени резистентності до аміноглікозидів, обидва ізоляти не були стійкими до гентаміцину ($S = 30 \pm 1$; $S = 36 \pm 1$), що узгоджується [131]. Результати досліджень Silva та інших показали, що гени, які кодують ефлюксну помпу *YkkCD* не проявляють фенотипічної резистентності до антибіотиків. Стійкості до тетрацикліну, пеніциліну, стрептоміцину та енрофлоксацину ми не виявили, що узгоджується із результатами інших дослідників [280].

За допомогою повного аналізу геномних дистанцій, порівняли геноми *Campylobacter* spp. з референтними та репрезентативними геномам та встановили, що геном *Campylobacter coli* згрупований в один клад зі штамом *Campylobacter coli* OR12 (GenBank accession CP013733.1), стійким до колонізації та аеротолерантним штамом, ізольованим з птахофабрики. Геном *Campylobacter jejuni* тісно пов'язаний зі штамом *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* NCTC 11168 (GenBank accession SZUC000000000.1; ATCC 700819), виділеним з людського організму. Аеротолерантність виділеного *Campylobacter coli* може бути адаптацією до виживання в навколишньому

середовищі поза організмом господаря в проміжку між наступною колонізацією нових господарів (фактор колонізації курей) та на харчових продуктах, що має значення для охорони здоров'я (фактор патогенності R інфекції людей). Аеротолерантні штами довше виживають на м'ясі птиці та можуть бути потенційними збудниками інфекції *Campylobacter* людей [105, 150, 242].

Геном ізоляту *Campylobacter jejuni* тісно пов'язаний з геномом *Campylobacter jejuni* NCTC 11168, який було депоновано у 1977 році та першим *Campylobacter* якого секвеновано в 2000 році. Цей штам був прийнятий як еталонний штам для дослідження *Campylobacter* [250]. *Campylobacter jejuni* NCTC 11168 має генетичний потенціал для високого рівня колонізації птиці [175]. Також має властивість адаптуватися до різної напруги кисню в потенціалі колонізації. Здатний до швидкого відновлення в результаті зберігання, культивування та пасування. Виробляє біоплівку з багат шаровою структурою [217, 301].

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі із застосуванням комплексних методів досліджень з'ясовано поширення та видовий склад кампілобактерій серед великої рогатої худоби, свиней, курей-бройлерів та індиків. Отримано нові дані щодо резистентності ізолятів *Campylobacter coli* та *Campylobacter jejuni* до антибактеріальних препаратів, що є критично важливими відповідно до стандартів чутливості Європейського комітету з визначення чутливості до антибактеріальних препаратів. З'ясовано ефективність застосування як різних за складом культуральних середовищ для отримання чистих культур видів *Campylobacter*, так і різних методів виділення. Встановлено високу екологічну пластичність щодо утворення біоплівки у виділених ізолятів *Campylobacter* spp. Виявлення генів передачі факторів патогенності та детермінант антимікробної резистентності у виділених на території України ізолятів переконливо свідчить про те, що *Campylobacter* потенційно можуть бути здатними викликати захворювання.

1. Встановлено за результатами планових досліджень методом MALDI-TOF MS носійство бактерій роду *Campylobacter* у клінічно здорових свиней на рівні – 0,3% з 691 проби, у великої рогатої худоби – 0,9% з 581 проби та курей-бройлерів у межах 3,5% з 746 проб, відповідно, та їх видову приналежність на рівні 75,8% ізолятів *Campylobacter coli* та 24,2% *Campylobacter jejuni*, що характеризує поширення бактерій роду *Campylobacter* серед поголів'я свійських тварин на території України.

2. Модифіковано методику ізоляції та культивування бактерій роду *Campylobacter* на різних за складом селективних мікробіологічних середовищах та отримано нові дані щодо ступеня забарвлення колоній та морфологічних характеристик бактерій, які в старих культурах або в умовах стресу (вплив світла, атмосферного кисню, висихання та перепадів температури) набувають гіперспіралізованої форми або кокоподібної та втрачають культуральні властивості.

3. У рамках концепції «One Health» для збереження генетичного матеріалу кампілобактерій, необхідного для вивчення харчових патогенів, їх

властивостей, адаптації, стійкості та мінливості, створено CRYOBANK з колекцією ліофілізованих ізолятів з 24 культур *Campylobacter* spp., виділених від курей-бройлерів, індиків, свиней та великої рогатої худоби.

4. За послідовного використання накопичувального середовища бульйону Болтона та селективного середовища *Campylobacter* agar поліпшилося відновлення метаболічних процесів кампілобактерій після довгострокового зберігання, відновлення життєздатних мікробних клітин через рік становило 99%, що має практичне значення для збереження *Campylobacter* spp.

5. Доведено переваги використання методу збагачення зі скороченим часом культивування на етапах накопичення (50 ± 4 год до 24 год) та ізоляції (44 ± 4 год до 20 ± 4 год) при отриманні чистої культури кампілобактерій на рівні 71% з 24 ізолятів порівняно з методом прямого посіву, за яким отримано 15,6% чистих культур з 32 ізолятів, що значно спрощує облік результатів посіву та прискорює лабораторну діагностику.

6. Встановлено, що 50% ізолятів *Campylobacter jejuni* були монорезистентні під час дослідження антибіотикорезистентності та проявляли стійкість переважно до ципрофлоксацину та тетрацикліну, а *Campylobacter coli* був полірезистентним у 8% і монорезистентним у 40% з 25 виділених ізолятів від свійських тварин, виявлено 53,8% мультирезистентних з 26 виділених ізолятів від курей-бройлерів.

7. Виявлено здатність *Campylobacter* за мікросередовищних умов формувати біоплівку з нижчим рівнем щільності (0,165; 0,196; 0,209; 0,251; 0,268), ніж за аеробних (0,298; 0,347; 0,385; 0,417; 0,432), а основними компонентами матриксу біоплівки були полісахариди та амілоїди зі значно меншим вмістом еДНК. Такий ефект демонструє високу екологічну пластичність у формуванні біоплівки штамми *Campylobacter*, ізольованими від курей-бройлерів.

8. Вперше виявлено наявність генетичних факторів патогенності (63 у *Campylobacter coli* та 102 у *Campylobacter jejuni*) та детермінант AMP (*cmcABC*, *cmcDEF*, *MacB*, *YkkCD*, *blaOXA-61*, *blaOXA-184*, *gidB*, *gyrA*) і

мутацію T86I в гені *gyrA*. Результати досліджень демонструють сильну кореляцію між маркерами генотипічної резистентності та фенотипічними профілями AMP, особливо для β-лактамів, що становить для *Campylobacter jejuni* 73% та для *Campylobacter coli* 27%.

9. За повногеномного секвенування власне виділених ізолятів встановлено їх видову ідентифікацію та генотипові характеристики, а саме ізоляту *Campylobacter coli* і його генетичну гомологію зі штамом *Campylobacter coli* OR12 (GenBank accession CP013733.1), що є стійким до колонізації та аеротолерантним, та *Campylobacter jejuni* зі штамом *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* NCTC 11168 (GenBank accession SZUC000000000.1; ATCC 700819). Такі результати вказують на спорідненість виділених ізолятів з кампілобактеріями ЄС, США та низки інших країн.

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. Депонований штам *Campylobacter jejuni* №803 використовувати для практики державних та виробничих лабораторій, а також для біотехнологічного виробництва, як внутрішньолaborаторний контроль якості мікробіологічних досліджень, розроблення діагностикумів та в якості тест-культури (позитивного контролю) (Свідоцтво про первинне депонування штаму мікроорганізму в Депозитарії Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів від 18.10.2022 року.)
2. З метою індикації та ідентифікації мікроаерофільних бактерій роду *Campylobacter* рекомендуємо проводити посів згідно методів – ISO 10272-1:2017 Microbiology of the food chain - Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. - Part 1: Detection method за нашої модифікації, описаної в «Науково-практичних рекомендаціях з бактеріологічної діагностики кампілобактеріозу тварин та птахів» (Додаток 6).

3. Результати досліджень рекомендовано використовувати в роботі науково-дослідних установ та лабораторій ветеринарної медицини України для рутинних та моніторингових досліджень на виявлення харчових зоонозних патогенів *Campylobacter* spp.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Бабкін, А. Ф., & Калініченко, Т. В. (2010). Сучасні аспекти діагностики кампілобактеріозів. *Ветеринарна медицина*, (93), 9-15.
2. Бабкін, А. Ф., Обуховська, О. В., Куценко, В. А., & Калініченко, Т. В. (2013). Вивчення біологічних властивостей польових ізолятів і музейних штамів кампілобактерій. *Ветеринарна медицина*, (97), 57-60.
3. Бояновський С.О., Вішован Ю.Ю., Виговська Л.М., Мазур Т.В., Іщенко Л.М., Ушкалов В.О., Шайко А.С., Безпалько О.О., Ушкалов А.В., Давидовська Л.О., Руднєва К.Л. Науково-практичні рекомендації щодо дослідження здатності грам-негативних мікроорганізмів – збудників зоонозів до утворення біоплівки. К., 2022. – 33с.
4. Вербицький П.І., Березовський А.В., Фотіна Т.І. та ін. (2004). Рекомендації з діагностики, заходів боротьби та профілактики кампілобактеріозу птиці. Ветінформ, Київ, 28 с.
5. Головка А.М., Скрипник, В.Г., Пінчук Н.Г Гордієнко О.І., Ординська Д.О. Спосіб контактного висушування для довготривалого збереження бактерій. Методичні рекомендації по довготривалому збереженню бактерій методом сорбційно-контактного зневоднення. К., 2004. -18 с.
6. Дерябін, О. М., Пустовіт, Н. А., & Виговська, Л. М. (2014). Розробка ПЛР ТЕСТ-системи *Campylobacter* spp. - ПЛР-ТЕСТ” для виявлення та ідентифікації ДНК бактерій роду *Campylobacter*. *Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин і Державного науково-дослідного контрольного інституту ветпрепаратів та кормових добавок*, (15, № 2-3), 278-281.

7. Драгутъ, С. С. (2013). Розповсюдження сальмонельозу, кампілобактеріозу та ієрсиніозу в Україні та країнах ЄС. *Ветеринарна медицина*, (97), 186-188.
8. Драгутъ, С. С., Обуховська, О. В., Болотін, В. І., Марченко, Н. В., & Калініченко, Т. В. (2017). Випробування експериментальних антигенів (CF SSP. FETUS; CF SSP. VENEREALIS) для серологічної діагностики кампілобактеріозу жуйних та інших тварин. *Ветеринарна медицина*, (103), 109-115.
9. ДСТУ ISO 10272-1:2007 Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Горизонтальний метод виявлення та підрахунку кампілобактерій (*Campylobacter* spp) Частина 1. Метод виявлення (ISO 10272-1:2006, IDT) [Чинний від 2009-01-01]. - Київ. Держспоживстандарт України.
10. Дуда, О. К., & Вовк, І. О. (2015). Кампілобактеріоз – «нова» проблема в клініці кишкових інфекцій? *Мистецтво лікування*, (5-6), 121-122.
11. Зажарський, В., Білан, М., & Кулішенко, О. «Інфекційні хвороби овець та кіз» – Дніпропетровськ, 2011. – 358 с. ISBN 966-8081-47-2
12. Інструкція з профілактики та ліквідації кампілобактеріозу птиці, затверджена наказом Міністерства аграрної політики та продовольства України 28.09.2011 № 502 та зареєстрована в Міністерстві юстиції України 14.10.2011 р. за № 1192/19930.
13. Касяненко, О. І. (2009). Вплив охолодження та заморожування м'яса на стійкість збудника кампілобактеріозу. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені СЗ Гжицького*, 11(2-4 (41)), 80-83.
14. Касяненко, О. І. (2012). Епізоотичний моніторинг поширення *Campylobacter* spp. серед птиці в умовах забійних цехів України. *Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія: Ветеринарна медицина*, (7), 114-118.
15. Касяненко, О. І. (2014). Удосконалення та розробка засобів діагностики кампілобактеріозу птиці. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. Гжицького*, (16, № 2 (1)), 103-110.

16. Касяненко, О. І., Гладченко, С. М., & Касяненко, О. І. (2014). Морфологічні та культуральні властивості ізолятів *Campylobacter* spp. Касяненко О. І. Морфологічні та культуральні властивості ізолятів *Campylobacter* spp. [Електронний ресурс] / О. І. Касяненко, С. М. Гладченко // Науковий вісник Луганського національного аграрного університету. – 2014. – №60. – С.60–65.
17. Касяненко, О. І., & Гусєв, В. О. (2018). Знезараження м'яса птиці за контамінації *Campylobacter* spp. *Біологія тварин*, 20(4), 109-109.
18. Касяненко, О. І., Гусєв, В. О. (2019). Способи зниження рівня бактеріальної контамінації тушок птиці. *Вісник Сумського національного аграрного університету, Серія «Ветеринарна медицина»*, 46, 41–47.
19. Касяненко, О. І., Гусєв, В. О., Касяненко, С. М., Нагорна, Л. В., & Пунько, І. В. (2019). Визначення рівня інфікування забійної птиці мікроорганізмами *Campylobacter* spp. *Ветеринарна біотехнологія*, (34), 59-66.
20. Касяненко, О. І., Собина, М. М., & Гладченко, С. М. (2014). Розробка альтернативних засобів профілактики кампілобактеріозної інфекції птиці. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. Гжицького*, (16, № 3 (1)), 131-137.
21. Касяненко, О. І., & Фотіна, Т. І. (2010). Визначення чутливості мікроорганізмів *CAMPYLOBACTER JEJUNI* до антибіотиків диско-дифузійним методом.
22. Касяненко, О. І., Фотіна, Т. І., Фотіна, А. А., Гладченко, С. М., Гніденко, Т. Ю., & Безрук, Р. В. (2017). Властивості штамів *Campylobacter jejuni* ізольовані з продуктів птахівництва. *Мікробіологічний журнал*, (79, № 4), 66-74.
23. Кирик, Д. Л. (2012). Біологічні властивості бактерій роду *Campylobacter* та їх вплив на епідемічний процес кампілобактеріозу. *Профілактична медицина*, (3-4), 82-88.

24. Кирик, Д. Л. (2014). Вивчення ролі молока як фактору передачі кампілобактеріозної інфекції. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*, (23 (2)), 553-560.
25. Кирик Д. Л. (2017). Використання maldi-tof мас-спектрометрії у клінічній мікробіологічній практиці / Д. Л. Кирик // *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*. - Вип. 27. - С. 60-68.
26. Кирик, Д. Л. (2013). Клініко-епідеміологічні особливості кампілобактеріозу в Україні. *Український медичний часопис*, (3), 162-164.
27. Кирик, Д. Л. (2016). Мікробіологічна діагностика кампілобактеріозної інфекції. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*, (26), 579-593.
28. Кирик, Д. Л. (2017). Організація комплексного епідеміологічного нагляду за кампілобактеріозом в сучасних умовах. *Likarska Sprava*.
29. Кирик, Д. Л. (2011). Характеристика деяких біологічних властивостей кампілобактерій різного походження та їх вплив на епідемічний процес кампілобактеріозу. *Український медичний часопис*, (2), 111-113.
30. Кирик, Д. Л. (2012). Характеристика епідемічного процесу кампілобактеріозу та епідеміологічне маркування штамів кампілобактерій різного походження.
31. Кирик, Д. Л. (1994). Современные аспекты генетики бактерий рода *Campylobacter*. *Биополимеры и клетка*, 10(6), 36.
32. Кухтин, М. Д., & Крушельницька, Н. В. (2014). Формування біоплівки мікроорганізмами, які виділені з доїльного устаткування. *Біологія тварин*, (16, № 1), 95-103.
33. Лапа, О. Ю., Якубчак, О. М., & Бойко, П. К. (2016). Культуральні та біохімічні властивості виділених *Campylobacter* spp. *Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини*, (33 (2)), 102-105.
34. Лапа, О. Ю., Якубчак, О. М., & Загребельний, В. О. (2015). Щодо особливостей виділення кампілобактерій. *Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. Серія:*

- Ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва*, (221), 229-233.
35. Леженко, Г. О., Усачова, О. В., Пахольчук, Т. М., Сіліна, Є. А., & Гінзбург, Р. М. (2013). Кампілобактеріоз у дітей: сучасні уявлення про етіопатогенез, клінічну картину, можливості діагностики, підходи до лікування. *Дитячий лікар*, (6), 27.
36. Литвин, В. П., Олійник, Л. В., Корнієнко, Л. Є., Ярчук, Б. М., Домбровський, О. Б., & Корнієнко, Л. М. (2002). Факторні хвороби сільськогосподарських тварин.
37. Малиш Н. Г. Еволюція епідемічного процесу гострих кишкових інфекцій бактеріальної етіології, фактори ризику, удосконалення епідеміологічного погляду. Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.02.02 Епідеміологія (222 Медицина). Суми, 2020; 406 с.
38. Обуховська, О. В., Драгут, С. С., Куценко, В. А., & Калініченко, Т. В. (2015). Паспортизація музейних штамів *Campylobacter fetus*. *Ветеринарна медицина*, (100), 67-70.
39. Обуховська О.В., Калініченко Т.В., Драгут С.С., Куценко В.А. (2015). Біологічні властивості музейних штамів *Campylobacter* після тривалого зберігання в ліофілізованій формі. *Журнал ветеринарії, біотехнології та біобезпеки*, (1, вип. 3), 14-16.
40. Панівська О. В., Бойко П. К. Особливості епідемічної ситуації щодо кампілобактеріозу в Україні за період з 2011 по 2021 рр. // Матеріали XVI Міжнародної науковопрактичної конференції аспірантів і студентів «Молода наука Волині: пріоритети та перспективи досліджень», 17 трав. 2022 р. / Волин. нац. унт ім. Лесі Українки. – Луцьк, 2022. – С. 68–70.
41. Пиляй, С. В. (2013). Кампілобактеріоз птиці та його діагностика. *Ветеринарна біотехнологія*, (22), 168-174.
42. Пінчук, Н. Г., & Пустовіт, Н. А. (2018). Кампілобактеріоз як важлива харчова токсикоінфекція. *Вісник Полтавської державної аграрної академії*, (2), 136-140.

43. Пустовит, Н. А., & Пинчук, Н. Г. (2018). Изучение свойств изолята *Campylobacter jejuni*, выделенного от птицы. *Эпизоотология Иммунобиология Фармакология Санитария*, (2), 37-43.
44. Пустовіт, Н. А. (2016). Розробка та удосконалення засобу індикації кампілобактерій. *Ветеринарна біотехнологія*, (29), 219-226.
45. Пустовіт, Н. А., Пінчук, Н. Г., & Кудрявченко, О. П. (2018). Електронно-мікроскопічне дослідження ізолятів *Campylobacter* виділених з продуктів птахівництва. *Ветеринарна біотехнологія*, (32 (1)), 202-206.
46. Родіонова, К. О. (2017). Контроль мікробіологічної безпеки (*CAMPYLOBACTER SPP.*) тушок птиці в процесі їх переробки. *Вісник Полтавської державної аграрної академії*, (3), 136-139.
47. Усачова, О. В., Пахольчук, Т. М., Сіліна, Є. А., Конакова, О. В., Рябоконь, Ю. Ю., & Корогод, С. М. (2014). Гострі кишкові інфекції у дітей (сучасні погляди на етіологію, патогенез, діагностику та лікування).
48. Фатула, Ю. М. (2002). *Helicobacter pylori*: історія відкриття. Науковий вісник Ужгородського університету : серія: Медицина / голов. ред. А. С. Головацький. – Ужгород : УжНУ, 2002. – Вип. 17. – С. 124–127.
49. Фотіна, Т. І., Березовський, А. В., Касяненко, О. І., & Дворська, Ю. Є. (2010). Кампілобактеріоз птиці: монографія. Суми: *СНАУ*, 2010.–140 с.
50. Фотіна, Т. І., & Касяненко, О. І. (2012). Визначення складу селективної домішки антибактеріальних препаратів до поживних середовищ для ізоляції *Campylobacter spp.* *Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія: Ветеринарна медицина*, (1), 78-83.
51. Фотіна, Т. І., Касяненко, О. І., Вершняк Т.В. (2009). Диференціально-діагностичні ознаки кампілобактерій. *Вісник СНАУ* (Наук. метод. журнал). *Серія «Ветеринарна медицина»*. Вип. 3(24).-с.13-138.
52. Фотіна, Т. І., Касяненко, О. І., Фотіна, Г. А., & Дворська, Ю. Е. (2014). Епізоотологічне та епідеміологічні значення харчових бактеріальних патогенів. *Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин і Державного науково-дослідного контрольного інституту ветпрепаратів та кормових добавок*, (15, № 2-3), 141-148.

53. Центр громадського здоров'я України. Моніторинг та статистика [Електронний ресурс]. Київ: Центр громадського здоров'я Міністерства охорони здоров'я України; 2024 [оновлено 2024 січ.; цитовано 2024 січ. 21] Доступно з: <https://www.phc.org.ua/kontrol-zakhvoryuvan/inshi-infekciyni-zakhvoryuvannya/infekciyna-zakhvoryuvanist-naselennya-ukraini>
54. Якубчак, О. М., & Лапа, О. Ю. (2015). Дослідження кампілобактерій в об'єктах довкілля. *Ветеринарна медицина*, (101), 98-100.
55. Якубчак, О. М., Лапа, О. Ю., & Бойко, П. К. (2016). Вивчення морфологічних ознак і властивостей виділених культур *Campylobacter* spp. та еталонного штаму. *Ветеринарна біотехнологія*, (29), 271-277.
56. Aarestrup, F. M., & Wegener, H. C. (1999). The effects of antibiotic usage in food animals on the development of antimicrobial resistance of importance for humans in *Campylobacter* and *Escherichia coli*. *Microbes and infection*, 1(8), 639-644.
57. Acheson, D., & Allos, B. M. (2001). *Campylobacter jejuni* infections: update on emerging issues and trends. *Clinical infectious diseases*, 32(8), 1201-1206.
58. Aguero-Rosenfeld, M. E., Yang, X. H., & Nachamkin, I. R. V. I. N. G. (1990). Infection of adult Syrian hamsters with flagellar variants of *Campylobacter jejuni*. *Infection and immunity*, 58(7), 2214-2219.
59. Akhtar, A., Fatima, N., & Khan, H. M. (2022). Beta-lactamases and their classification: an overview. *Beta-Lactam Resistance in Gram-Negative Bacteria: Threats and Challenges*, 25-33.
60. Akiba, M., Lin, J., Barton, Y. W., & Zhang, Q. (2006). Interaction of CmeABC and CmeDEF in conferring antimicrobial resistance and maintaining cell viability in *Campylobacter jejuni*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 57(1), 52-60.
61. Akkina, R. C., Payala, V., & Maganti, S. S. (2022). Tools for rapid detection and control of foodborne microbial pathogens. In *Foodborne Pathogens-Recent Advances in Control and Detection*. IntechOpen.
62. Alekshun, M. N., & Levy, S. B. (2007). Molecular Mechanisms of Antibacterial Multidrug Resistance. *Cell*, 128(6), 1037-1050.

63. Al-Khresieh, R. O., Aburayyan, W., Seder, N., Al-Daghistani, H. I., El-Banna, N., & Abu-Taleb, E. M. (2023). Comparison of preservation enrichment media for long storage duration of *Campylobacter jejuni*. *The Microbiological Society of Korea*, 59(3), 192-196.
64. Al-Mashat, R. R., & Taylor, D. J. (1980). *Campylobacter* spp in enteric lesions in cattle. *The Veterinary Record*, 107(2), 31-34.
65. Altekruze, S. F., Stern, N. J., Fields, P. I., & Swerdlow, D. L. (1999). *Campylobacter jejuni*—An Emerging Foodborne Pathogen. *Emerging Infectious Diseases*, 5(1), 28-35. <https://doi.org/10.3201/eid0501.990104>.
66. Althaus, D., Zweifel, C., & Stephan, R. (2017). Analysis of a poultry slaughter process: Influence of process stages on the microbiological contamination of broiler carcasses. *Italian journal of food safety*, 6(4).
67. Amin, S. Q., Mahmood, H. J., & Zorab, H. K. (2023). Campylobacteriosis. *One Health Triad*, 2, 87-93.
68. Amjad, M. (2023). Poultry as A Source and Reservoir for Campylobacteriosis. *European Journal of Veterinary Medicine*, 3(1), 11-17. doi: [10.24018/ejvetmed.2023.3.1.87](https://doi.org/10.24018/ejvetmed.2023.3.1.87)
69. Ammar, A. M., Abd El-Hamid, M. I., El-Malt, R. M., Azab, D. S., Albogami, S., Al-Sanea, M. M., ... & Bendary, M. M. (2021). Molecular detection of fluoroquinolone resistance among multidrug-, extensively drug-, and pan-drug-resistant *Campylobacter* species in Egypt. *Antibiotics*, 10(11), 1342.
70. Ammar, A. M., El-Naenaey, E. S. Y., Abd El-Hamid, M. I., El-Gedawy, A. A., & Elmalt, R. M. (2021). *Campylobacter* as a major foodborne pathogen: A review of its characteristics, pathogenesis, antimicrobial resistance and control. *Journal of Microbiology, Biotechnology and food sciences*, 10(4), 609-619.
71. Andrew Chetley (1986) Problem medications. Antibiotics <https://healthy-back.livejournal.com>
72. Asmat, T. M., & Khan, A. (2020). *Campylobacter*-Review on its Significance as a Foodborne Pathogen. *Pak-Euro Journal of Medical and Life Sciences*, 3(3), 131-137.

73. Bardy, Sonia L., Sandy YM Ng, and Ken F. Jarrell. "Prokaryotic motility structures." *Microbiology* 149.2 (2003): 295-304.
74. Barros-Velázquez, J., Jiménez, A., & Villa, T. G. (1999). Isolation and typing methods for the epidemiologic investigation of thermotolerant campylobacters. *International Microbiology*, 2(4), 217-226.
75. Benites, C., Anampa, D., Torres, D., Avalos, I., Rojas, M., Conte, C., & Lázaro, C. (2022). Prevalence, Tetracycline Resistance and Tet (O) Gene Identification in Pathogenic Campylobacter Strains Isolated from Chickens in Retail Markets of Lima, Peru. *Antibiotics*, 11(11), 1580.
76. Benitez, A. J., Hoffmann, C., Muir, A. B., Dods, K. K., Spergel, J. M., Bushman, F. D., & Wang, M. L. (2015). Inflammation-associated microbiota in pediatric eosinophilic esophagitis. *Microbiome*, 3, 1-11.
77. Bessède, E., Solecki, O., Sifré, E., Labadi, L., & Mégraud, F. (2011). Identification of Campylobacter species and related organisms by matrix assisted laser desorption ionization–time of flight (MALDI-TOF) mass spectrometry. *Clinical Microbiology and Infection*, 17(11), 1735-1739.
78. Bhunia, A. K. Foodborne Microbial Pathogens: Mechanisms and Pathogenesis / A. K. Bhunia. – USA : Springer Science & Business Media, 2018. – 276 p. – ISBN 978-0- 387-74536-7.
79. Black, R. E., Levine, M. M., Clements, M. L., Hughes, T. P., & Blaser, M. J. (1988). Experimental Campylobacter jejuni infection in humans. *Journal of infectious diseases*, 157(3), 472-479.
80. Blaser, M. J., & Engberg, J. (2008). Clinical aspects of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli infections. *Campylobacter*, 97-121.
81. Blaser, M. J., Hopkins, J. A., Perez-Perez, G. I., Cody, H. J., & Newell, D. G. (1986). Antigenicity of Campylobacter jejuni flagella. *Infection and immunity*, 53(1), 47-52.
82. Bless, P. J., Schmutz, C., Suter, K., Jost, M., Hattendorf, J., Mäusezahl-Feuz, M., & Mäusezahl, D. (2014). A tradition and an epidemic: determinants of the campylobacteriosis winter peak in Switzerland. *European journal of epidemiology*, 29, 527-537.

83. Bolton, D. J. (2015). *Campylobacter* virulence and survival factors. *Food microbiology*, 48, 99-108.
84. Buck, G. E., Parshall, K. A., & Davis, C. P. (1983). Electron microscopy of the coccoid form of *Campylobacter jejuni*. *Journal of clinical microbiology*, 18(2), 420-421.
85. Bunduruş, I. A., Balta, I., Ştef, L., Ahmadi, M., Peţ, I., McCleery, D., & Corcionivoschi, N. (2023). Overview of virulence and antibiotic resistance in *Campylobacter* spp. livestock isolates. *Antibiotics*, 12(2), 402.
86. Burnens, A. P., Angéloz-Wick, B., & Nicolet, J. (1992). Comparison of *Campylobacter* carriage rates in diarrheic and healthy pet animals. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 39(1-10), 175-180.
87. Burnham, Peter M., and David R. Hendrixson. "Campylobacter jejuni: collective components promoting a successful enteric lifestyle." *Nature Reviews Microbiology* 16.9 (2018): 551-565.
88. Butzler, J. P. (2004). *Campylobacter*, from obscurity to celebrity. *Clinical microbiology and infection*, 10(10), 868-876.
89. Chandrashekhar, K., Gangaiah, D., Pina-Mimbela, R., Kassem, I. I., Jeon, B. H., & Rajashekara, G. (2015). Transducer like proteins of *Campylobacter jejuni* 81-176: role in chemotaxis and colonization of the chicken gastrointestinal tract. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 5, 46.
90. Che, Yong-Suk, et al. "Load-sensitive coupling of proton translocation and torque generation in the bacterial flagellar motor." *Molecular microbiology* 91.1 (2014): 175-184.
91. Chen, Y., Jackson, K. M., Chea, F. P., & Schaffner, D. W. (2001). Quantification and variability analysis of bacterial cross-contamination rates in common food service tasks. *Journal of food protection*, 64(1), 72-80.
92. Chlebiczyz, A., & Śliżewska, K. (2018). Campylobacteriosis, salmonellosis, yersiniosis, and listeriosis as zoonotic foodborne diseases: a review. *International journal of environmental research and public health*, 15(5), 863.
93. Choi, J. H., Moon, D. C., Mechesso, A. F., Kang, H. Y., Kim, S. J., Song, H. J., Yoon, S.S., Lim, S. K. (2021). Antimicrobial resistance profiles and macrolide

- resistance mechanisms of *Campylobacter coli* isolated from pigs and chickens. *Microorganisms*, 9(5), 1077.
94. Chon, J. W., Seo, K. H., Kim, B., Jeong, D., & Song, K. Y. (2020). Advanced methods for isolating from and confirming *Campylobacter* spp. in milk and dairy products. *Journal of Dairy Science and Biotechnology*, 38(3), 121-133.
 95. Clarke, T. N., Schilling, M. A., Melendez, L. A., Isidean, S. D., Porter, C. K., & Poly, F. M. (2021). A systematic review and meta-analysis of Penner serotype prevalence of *Campylobacter jejuni* in low-and middle-income countries. *Plos one*, 16(5), e0251039.
 96. Coker, A. O., Isokpehi, R. D., Thomas, B. N., Amisu, K. O., & Obi, C. L. (2002). Human campylobacteriosis in developing countries1. *Emerging infectious diseases*, 8(3), 237.
 97. Colin, R., Ni, B., Laganenka, L., & Sourjik, V. (2021). Multiple functions of flagellar motility and chemotaxis in bacterial physiology. *FEMS microbiology reviews*, 45(6), fuab038.
 98. Connerton, I. F., & Connerton, P. L. (2017). *Campylobacter* foodborne disease. In *Foodborne Diseases* (pp. 209-221). Academic Press.
 99. Corry, J. E., Post, D. E., Colin, P., & Laisney, M. J. (1995). Culture media for the isolation of campylobacters. *Progress in industrial microbiology*, 34, 129-162.
 100. Costa, D. Pathogenomics of emerging *Campylobacter* species / D. Costa, G. Iraola. – Текст : непосредственный // *Clinical microbiology reviews*. – 2019. – Vol. 32, № 4. – P. 1-24.
 101. Crim, S. M., Griffin, P. M., Tauxe, R., Marder, E. P., Gilliss, D., Cronquist, A. B., ... & Henao, O. L. (2015). Preliminary incidence and trends of infection with pathogens transmitted commonly through food—Foodborne Diseases Active Surveillance Network, 10 US sites, 2006–2014. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 64(18), 495.
 102. Dasti, J. I., Tareen, A. M., Lugert, R., Zautner, A. E., & Groß, U. (2010). *Campylobacter jejuni*: a brief overview on pathogenicity-associated factors and disease-mediating mechanisms. *International Journal of Medical Microbiology*, 300(4), 205-211.

- 103.** Day, C., King, R., Tram, G., Hartley-Tassell, L., Fleetwood, A., Zhulin, I., & Korolik, V. (2014). Characterisation of the galactose chemosensory receptor of *Campylobacter jejuni*. In *Proceedings of the Australian Society for Microbiology Annual Scientific Meeting. Australian Society for Microbiology, Melbourne, Austria* (pp. 6-9).
- 104.** De Cesare, A., Sheldon, B. W., Smith, K. S., & Jaykus, L. A. (2003). Survival and persistence of *Campylobacter* and *Salmonella* species under various organic loads on food contact surfaces. *Journal of food protection*, 66(9), 1587-1594.
- 105.** Delaporte, E., Karki, A. B., & Fakhr, M. K. (2024). Aerotolerance of *Campylobacter* spp.: A Comprehensive Review. *Pathogens*, 13(10), 842.
- 106.** De Luca C, Iraola G, Apostolakis I, Boetto E, Piccirillo A. Occurrence and diversity of *Campylobacter* species in captive chelonians. *Vet Microbiol*. 2020 Feb;241:108567. doi: 10.1016/j.vetmic.2019.108567. Epub 2019 Dec 27. PMID: 31928704.
- 107.** Denis, M., Henrique, E., Chidaine, B., Tircot, A., Bougeard, S., & Fravallo, P. (2011). *Campylobacter* from sows in farrow-to-finish pig farms: risk indicators and genetic diversity. *Veterinary microbiology*, 154(1-2), 163-170.
- 108.** de Oliveira, M. G., Rizzi, C., Galli, V., Lopes, G. V., Haubert, L., Dellagostin, O. A., & da Silva, W. P. (2019). Presence of genes associated with adhesion, invasion, and toxin production in *Campylobacter jejuni* isolates and effect of temperature on their expression. *Canadian journal of microbiology*, 65(4), 253-260.
- 109.** Devleesschauwer, Brecht, et al. "Health and economic burden of *Campylobacter*." *Campylobacter*. Academic Press, 2017. 27-40.
- 110.** Directive 2003/99/EC of the European Parliament and of the Council on the monitoring of zoonoses and zoonotic agents, amending Council Decision 90/424/EEC and repealing Council Directive 92/117/EEC.
- 111.** DiRienzo, J. M. (2014). Breaking the gingival epithelial barrier: role of the aggregatibacter actinomycetemcomitans cytolethal distending toxin in oral infectious disease. *Cells*, 3(2), 476-499.

112. Dixon, S. D., Huynh, M. M., Tamilselvam, B., Spiegelman, L. M., Son, S. B., Eshraghi, A., ... & Bradley, K. A. (2015). Distinct roles for CdtA and CdtC during intoxication by cytotoxin-producing toxins. *PLoS One*, 10(11), e0143977.
113. Doyle, L. P. (1944). A vibrio associated with swine dysentery.
114. EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). (2010). Scientific opinion on quantification of the risk posed by broiler meat to human campylobacteriosis in the EU. *EFSA Journal*, 8(1), 1437.
115. EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). (2011). Scientific Opinion on Campylobacter in broiler meat production: control options and performance objectives and/or targets at different stages of the food chain. *EFSA Journal*, 9(4), 2105.
116. El-Saadony, M. T., Saad, A. M., Yang, T., Salem, H. M., Korma, S. A., Ahmed, A. E., ... & Ibrahim, S. A. (2023). Avian campylobacteriosis, prevalence, sources, hazards, antibiotic resistance, poultry meat contamination, and control measures: a comprehensive review. *Poultry science*, 102(9), 102786.
117. Enany, S., Piccirillo, A., Elhadidy, M., & Tryjanowski, P. (2021). The Role of Environmental Reservoirs in Campylobacter-Mediated Infection. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11, 773436.
118. Epps, S. V., Harvey, R. B., Hume, M. E., Phillips, T. D., Anderson, R. C., & Nisbet, D. J. (2013). Foodborne Campylobacter: infections, metabolism, pathogenesis and reservoirs. *International journal of environmental research and public health*, 10(12), 6292-6304.
119. Eryıldız, C., Sakru, N., & Kuyucuklu, G. (2022). Investigation of antimicrobial susceptibilities and resistance genes of Campylobacter isolates from patients in Edirne, Turkey. *Iranian Journal of Public Health*, 51(3), 569.
120. EURL-Campylobacter. Protocol for isolation, identification and storage of *Campylobacter jejuni* and/or *Campylobacter coli* for AMR monitoring [Internet]. Uppsala, Sweden; 2022 [updated 2022 Aug; cited 2024 Jan 01]. Available from: https://www.sva.se/media/8d9e266d63a9cad/harmonised-protocol-campy-for-amr-mon-version-1-final_2.pdf

- 121.** European Commission. (2020). Commission Implementing Decision (EU) 2020/1729 of 17 November 2020 on the Monitoring and Reporting of Antimicrobial Resistance in Zoonotic and Commensal Bacteria and Repealing Implementing Decision 2013/652/EU. *Official Journal of the European Union*, 50, 8-21.
- 122.** European Food Safety Authority (EFSA), & European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). The European Union One Health 2022 Zoonoses Report. *EFSA Journal*. 2023. 21(12), e8442.
- 123.** European Food Safety Authority (EFSA), & European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). (2024). The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2021–2022. *EFSA Journal*, 22(2), e8583.
- 124.** Eyigor, A., Dawson, K. A., Langlois, B. E., & Pickett, C. L. (1999). Cytolethal distending toxin genes in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolates: detection and analysis by PCR. *Journal of clinical microbiology*, 37(5), 1646-1650.
- 125.** Facciola, A., Riso, R., Avventuroso, E., Visalli, G., Delia, S. A., & Lagana, P. (2017). *Campylobacter*: from microbiology to prevention. *Journal of preventive medicine and hygiene*, 58(2), E79.
- 126.** Ferrero, R. L., & Lee, A. (1988). Motility of *Campylobacter jejuni* in a viscous environment: comparison with conventional rod-shaped bacteria. *Microbiology*, 134(1), 53-59.
- 127.** Firehammer, B. D., & Myers, L. L. (1981). *Campylobacter fetus* subsp *jejuni*: its possible significance in enteric disease of calves and lambs. *American Journal of Veterinary Research*, 42(6), 918-922.
- 128.** Fitzgerald, C., & Nachamkin, I. (2015). *Campylobacter* and *arcobacter*. *Manual of clinical microbiology*, 998-1012.
- 129.** Fitzgerald, C., Pruckler, J., Karlsson, M., Kwan, P., Joseph, L., Caidi, H., ... & Aubert, R. D. (2021). The Genus *Campylobacter*. In *Practical Handbook of Microbiology* (pp. 297-310). CRC Press.
- 130.** Freitag, C. M., Strijbis, K., & van Putten, J. P. (2017). Host cell binding of the flagellar tip protein of *Campylobacter jejuni*. *Cellular Microbiology*, 19(6), e12714.

- 131.** French, N. P., Thomas, K. M., Amani, N. B., Benschop, J., Bigogo, G. M., Cleaveland, S., ... & Zadoks, R. N. (2024). Population Structure and Antimicrobial Resistance in *Campylobacter jejuni* and *C. coli* Isolated from Humans with Diarrhea and from Poultry, East Africa. *Emerging infectious diseases*, 30(10), 2079-2089.
- 132.** Fridrich, E., Biboy, J., Pryjma, M., Lee, J., Huynh, S., Parker, C. T., ... & Gaynor, E. C. (2019). The *Campylobacter jejuni* helical to coccoid transition involves changes to peptidoglycan and the ability to elicit an immune response. *Molecular Microbiology*, 112(1), 280-301.
- 133.** Gahamanyi, N., Mboera, L. E., Matee, M. I., Mutangana, D., & Komba, E. V. (2020). Prevalence, Risk Factors, and Antimicrobial Resistance Profiles of Thermophilic *Campylobacter* Species in Humans and Animals in Sub-Saharan Africa: A Systematic Review. *International Journal of Microbiology*, 2020(1), 2092478.
- 134.** Galate, L., & Bangde, S. (2015). *Campylobacter*—A foodborne pathogen. *Int. J. Sci. Res*, 4, 1250-1259.
- 135.** Garcia, M. M., Lior, H., Stewart, R. B., Ruckerbauer, G. M., Trudel, J. R., & Skljarevski, A. (1985). Isolation, characterization, and serotyping of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from slaughter cattle. *Applied and Environmental Microbiology*, 49(3), 667-672.
- 136.** García-Sánchez, L., Melero, B., & Rovira, J. (2018). *Campylobacter* in the food chain. *Advances in food and nutrition research*, 86, 215-252.
- 137.** Gaynor, E. C., Wells, D. H., MacKichan, J. K., & Falkow, S. (2005). The *Campylobacter jejuni* stringent response controls specific stress survival and virulence-associated phenotypes. *Molecular microbiology*, 56(1), 8-27.
- 138.** Gharbi, M., Béjaoui, A., Hamda, C. B., Ghedira, K., Ghram, A., & Maaroufi, A. (2022). Distribution of virulence and antibiotic resistance genes in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from broiler chickens in Tunisia. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 55(6), 1273-1282.
- 139.** Gharst, G., Oyarzabal, O. A., & Hussain, S. K. (2013). Review of current methodologies to isolate and identify *Campylobacter* spp. from foods. *Journal of microbiological methods*, 95(1), 84-92.

- 140.** Ghielmetti, G., Seth-Smith, H. M., Roloff, T., Cernela, N., Biggel, M., Stephan, R., & Egli, A. (2023). Whole-genome-based characterization of *Campylobacter jejuni* from human patients with gastroenteritis collected over an 18 year period reveals increasing prevalence of antimicrobial resistance. *Microbial Genomics*, 9(2), 000941.
- 141.** Godschalk, P. C., Heikema, A. P., Gilbert, M., Komagamine, T., Ang, C. W., Glerum, J., ... & Endtz, H. P. (2004). The crucial role of *Campylobacter jejuni* genes in anti-ganglioside antibody induction in Guillain-Barre syndrome. *The Journal of clinical investigation*, 114(11), 1659-1665.
- 142.** Goni, M. D., Muhammad, I. J., Goje, M., Abatcha, M. G., Bitrus, A. A., & Abbas, M. A. (2017). *Campylobacter* in dogs and cats; its detection and public health significance: A review. *Adv. Anim. Vet. Sci*, 5(6), 239-248.
- 143.** Gorman, R., Bloomfield, S., & Adley, C. C. (2002). A study of cross-contamination of food-borne pathogens in the domestic kitchen in the Republic of Ireland. *International journal of food microbiology*, 76(1-2), 143-150.
- 144.** Grantham-McGregor, S., Cheung, Y. B., Cueto, S., Glewwe, P., Richter, L., & Strupp, B. (2007). Developmental potential in the first 5 years for children in developing countries. *The lancet*, 369(9555), 60-70.
- 145.** Gregory, E., Barnhart, H., Dreesen, D. W., Stern, N. J., & Corn, J. L. (1997). Epidemiological study of *Campylobacter* spp. in broilers: source, time of colonization, and prevalence. *Avian diseases*, 890-898.
- 146.** Grzybowska-Chlebowczyk, U., Kalita, B., Flak-Wancerz, A., Jasielska, M., Więcek, S., Wojcieszyn, M., ... & Woś, H. (2013). Clinical course of *Campylobacter* infections in children. *Pediatrics polska*, 88(4), 329-334.
- 147.** Guerra, L., Cortes-Bratti, X., Guidi, R., & Frisan, T. (2011). The biology of the cytolethal distending toxins. *Toxins*, 3(3), 172-190.
- 148.** Guerry, P., Alm, R. A., Power, M. E., Logan, S. M., & Trust, T. J. (1991). Role of two flagellin genes in *Campylobacter* motility. *Journal of bacteriology*, 173(15), 4757-4764.

- 149.** Guerry, P., Poly, F., Riddle, M., Maue, A. C., Chen, Y. H., & Monteiro, M. A. (2012). Campylobacter polysaccharide capsules: virulence and vaccines. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 2, 7.
- 150.** Guk, J. H., Kim, J., Song, H., Kim, J., An, J. U., Kim, J., ... & Cho, S. (2019). Hyper-aerotolerant Campylobacter coli from duck sources and its potential threat to public health: virulence, antimicrobial resistance, and genetic relatedness. *Microorganisms*, 7(11), 579.
- 151.** Guo, N., Wei, Q., & Xu, Y. (2020). Optimization of cryopreservation of pathogenic microbial strains. *Journal of Biosafety and Biosecurity*, 2(2), 66-70.
- 152.** Hameed, A., Woodacre, A., Machado, L. R., & Marsden, G. L. (2020). An updated classification system and review of the lipooligosaccharide biosynthesis gene locus in Campylobacter jejuni. *Frontiers in Microbiology*, 11, 677.
- 153.** Hänninen, M. L., Perko-Mäkelä, P., Pitkälä, A., & Rautelin, H. (2000). A three-year study of Campylobacter jejuni genotypes in humans with domestically acquired infections and in chicken samples from the Helsinki area. *Journal of clinical microbiology*, 38(5), 1998-2000.
- 154.** Hansson, I., Olsson Engvall, E., Ferrari, S., Harbom, B., & Lahti, E. (2020). Detection of Campylobacter species in different types of samples from dairy farms. *Veterinary Record*, 186(18), 605-605.
- 155.** Hansson, I., Sandberg, M., Habib, I., Lowman, R., & Engvall, E. O. (2018). Knowledge gaps in control of Campylobacter for prevention of campylobacteriosis. *Transboundary and emerging diseases*, 65, 30-48.
- 156.** Heimesaat, M. M., Backert, S., Alter, T., & Bereswill, S. (2021). Human campylobacteriosis—A serious infectious threat in a one health perspective. *Fighting Campylobacter Infections: Towards a One Health Approach*, 1-23.
- 157.** Herbrink, P., Van den Munckhof, H. A. M., Bumkens, M., Lindeman, J., & Van Dijk, W. C. (1988). Human serum antibody response in Campylobacter jejuni enteritis as measured by enzyme-linked immunosorbent assay. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 7, 388-393.

158. Hermans, D., Pasmans, F., Messens, W., Martel, A., Van Immerseel, F., Rasschaert, G., ... & Haesebrouck, F. (2012). Poultry as a host for the zoonotic pathogen *Campylobacter jejuni*. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 12(2), 89-98.
159. Hofreuter, D. (2014). Defining the metabolic requirements for the growth and colonization capacity of *Campylobacter jejuni*. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 4, 137.
160. Hofstad, M. S., McGehee, E. H., & Bennett, P. C. (1958). Avian infectious hepatitis. *Avian Diseases*, 2(3), 358-364.
161. Horn, B., Pattis, I., Cressey, P. J., Armstrong, B., Lopez, L. D., & Soboleva, T. (2023). *Annual Report Concerning Foodborne Diseases in New Zealand 2022*. Ministry for Primary Industries= Manatū Ahu Matua.
162. Hu, L., Bray, M. D., Osorio, M., & Kopecko, D. J. (2006). *Campylobacter jejuni* induces maturation and cytokine production in human dendritic cells. *Infection and immunity*, 74(5), 2697-2705.
163. Hu, L. (Ed.). (2018). *Food Safety: Rapid Detection and Effective Prevention of Foodborne Hazards*. CRC Press.
164. Huang, H., & Garcia, M. M. (2022). *Isolation and Identification of Campylobacter spp. from Food and Food-Related Environment*. IntechOpen.
165. Hull, D. M., Harrell, E., van Vliet, A. H., Correa, M., & Thakur, S. (2021). Antimicrobial resistance and interspecies gene transfer in *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* isolated from food animals, poultry processing, and retail meat in North Carolina, 2018–2019. *PloS one*, 16(2), e0246571.
166. Humphrey, T., O'Brien, S., & Madsen, M. (2007). *Campylobacters as zoonotic pathogens: a food production perspective*. *International journal of food microbiology*, 117(3), 237-257.
167. Hunt, J. M., Abeyta, C., & Tran, T. (2021). Bacteriological Analytical Manual, Chapter 7 *Campylobacter*. *Isolation of Campylobacter species from food and water*. FDA, Washington, DC: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam>.
168. Igwaran, A., & Okoh, A. I. (2019). Human campylobacteriosis: A public health concern of global importance. *Heliyon*, 5(11).

169. Islam, Z., Gilbert, M., Mohammad, Q. D., Klaij, K., Li, J., Van Rijs, W., ... & Jacobs, B. C. (2012). Guillain-Barré syndrome-related *Campylobacter jejuni* in Bangladesh: ganglioside mimicry and cross-reactive antibodies.
170. ISO 10272-1:2017(E) Microbiology of the food chain — Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. — Part 1: Detection method. [Valid from 2017-06]. – Published in Switzerland
171. Inglis, G. D., & Kalischuk, L. D. (2003). Use of PCR for direct detection of *Campylobacter* species in bovine feces. *Applied and environmental microbiology*, 69(6), 3435-3447.
172. Iovine, N. M. (2013). Resistance mechanisms in *Campylobacter jejuni*. *Virulence*, 4(3), 230-240.
173. Jackson, D. N., Davis, B., Tirado, S. M., Duggal, M., van Frankenhuyzen, J. K., Deaville, D., ... & Trevors, J. T. (2009). Survival mechanisms and culturability of *Campylobacter jejuni* under stress conditions. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 96, 377-394.
174. Johnson, W. Á., & Lior, H. (1988). A new heat-labile cytolethal distending toxin (CLDT) produced by *Campylobacter* spp. *Microbial pathogenesis*, 4(2), 115-126.
175. Jones, M. A., Marston, K. L., Woodall, C. A., Maskell, D. J., Linton, D., Karlyshev, A. V., ... & Barrow, P. A. (2004). Adaptation of *Campylobacter jejuni* NCTC11168 to high-level colonization of the avian gastrointestinal tract. *Infection and immunity*, 72(7), 3769-3776.
176. Kaakoush, N. O., Castaño-Rodríguez, N., Mitchell, H. M., & Man, S. M. (2015). Global epidemiology of *Campylobacter* infection. *Clinical microbiology reviews*, 28(3), 687-720.
177. Kaldor, J. A. K. O. V., Pritchard, H. E. L. E. N., Serpell, A., & Metcalf, W. A. Y. N. E. (1983). Serum antibodies in *Campylobacter* enteritis. *Journal of Clinical Microbiology*, 18(1), 1-4.
178. Karlyshev, A. V., Ketley, J. M., & Wren, B. W. (2005). The *Campylobacter jejuni* glycome. *FEMS microbiology reviews*, 29(2), 377-390.
179. Karlyshev, A. V., Linton, D., Gregson, N. A., Lastovica, A. J., & Wren, B. W. (2000). Genetic and biochemical evidence of a *Campylobacter jejuni* capsular

- polysaccharide that accounts for Penner serotype specificity. *Molecular microbiology*, 35(3), 529-541.
180. Karlyshev, A. V., McCrossan, M. V., & Wren, B. W. (2001). Demonstration of polysaccharide capsule in *Campylobacter jejuni* using electron microscopy. *Infection and immunity*, 69(9), 5921-5924.
 181. Karlyshev, A. V., Seddon, A. M., & Rubinchik, S. (2014). A negative effect of *Campylobacter* capsule on bacterial interaction with an analogue of a host cell receptor.
 182. Kemper, L., & Hensel, A. (2023). *Campylobacter jejuni*: targeting host cells, adhesion, invasion, and survival. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 107(9), 2725-2754.
 183. Keo, T., Collins, J., Kunwar, P., Blaser, M. J., & Iovine, N. M. (2011). *Campylobacter* capsule and lipooligosaccharide confer resistance to serum and cationic antimicrobials. *Virulence*, 2(1), 30-40.
 184. Khan, I. U., Hill, S., Nowak, E., & Edge, T. A. (2013). Effect of incubation temperature on the detection of thermophilic *Campylobacter* species from freshwater beaches, nearby wastewater effluents, and bird fecal droppings. *Applied and environmental microbiology*, 79(24), 7639-7645.
 185. Kim, J., Guk, J. H., Mun, S. H., An, J. U., Song, H., Kim, J., ... & Cho, S. (2019). Metagenomic analysis of isolation methods of a targeted microbe, *Campylobacter jejuni*, from chicken feces with high microbial contamination. *Microbiome*, 7, 1-16.
 186. Kim, J. S., Lee, M. Y., Kim, S. J., Jeon, S. E., Cha, I., Hong, S., Chung, G., Hun, M., Kang, Y., Yoo, C., Kim, J. (2016). High-level ciprofloxacin-resistant *Campylobacter jejuni* isolates circulating in humans and animals in Incheon, Republic of Korea. *Zoonoses and public health*, 63(7), 545-554.
 187. Kim, J., Oh, E., Banting, G. S., Braithwaite, S., Chui, L., Ashbolt, N. J., ... & Jeon, B. (2016). An improved culture method for selective isolation of *Campylobacter jejuni* from wastewater. *Frontiers in microbiology*, 7, 1345.
 188. Kim, S. H., Chelliah, R., Ramakrishnan, S. R., Perumal, A. S., Bang, W. S., Rubab, M., ... & Oh, D. H. (2021). Review on stress tolerance in *Campylobacter jejuni*. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 10, 596570.

- 189.** Kirk, M. D., Pires, S. M., Black, R. E., Caipo, M., Crump, J. A., Devleesschauwer, B., ... & Angulo, F. J. (2015). World Health Organization estimates of the global and regional disease burden of 22 foodborne bacterial, protozoal, and viral diseases, 2010: a data synthesis. *PLoS medicine*, 12(12), e1001921.
- 190.** Konkel, M. E., Monteville, M. R., Rivera-Amill, V., & Joens, L. A. (2001). The pathogenesis of *Campylobacter jejuni*-mediated enteritis. *Current issues in intestinal microbiology*, 2(2), 55-71.
- 191.** Kreling, V., Falcone, F. H., Kehrenberg, C., & Hensel, A. (2020). *Campylobacter* sp.: Pathogenicity factors and prevention methods—new molecular targets for innovative antivirulence drugs?. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104, 10409-10436.
- 192.** Lai, C. K., Chen, Y. A., Lin, C. J., Lin, H. J., Kao, M. C., Huang, M. Z., ... & Lai, C. H. (2016). Molecular mechanisms and potential clinical applications of *Campylobacter jejuni* cytolethal distending toxin. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 6, 9.
- 193.** Lara-Tejero, M., & Galán, J. E. (2000). A bacterial toxin that controls cell cycle progression as a deoxyribonuclease I-like protein. *Science*, 290(5490), 354-357.
- 194.** Lara-Tejero, M., & Galán, J. E. (2001). CdtA, CdtB, and CdtC form a tripartite complex that is required for cytolethal distending toxin activity. *Infection and immunity*, 69(7), 4358-4365.
- 195.** Lastovica, A. J., Le Roux, E., & Penner, J. L. (1986). Mixed infections with different species and serotypes of *Campylobacter*. *Journal of Infectious Diseases*, 154(2), 375-375.
- 196.** Le Bars, H., Kayal, S., Bonnaure-Mallet, M., & Minet, J. (2011). CASA chromogenic medium for enteric *Campylobacter* species. *Journal of clinical microbiology*, 49(10), 3675-3677.
- 197.** Lee, M. D., & Newell, D. G. (2006). *Campylobacter* in poultry: filling an ecological niche. *Avian diseases*, 50(1), 1-9.
- 198.** Lee, R. B., Hassane, D. C., Cottle, D. L., & Pickett, C. L. (2003). Interactions of *Campylobacter jejuni* cytolethal distending toxin subunits CdtA and CdtC with HeLa cells. *Infection and immunity*, 71(9), 4883-4890.

- 199.** Lertsethtakarn, P., Ottemann, K. M., & Hendrixson, D. R. (2011). Motility and chemotaxis in *Campylobacter* and *Helicobacter*. *Annual review of microbiology*, 65(1), 389-410.
- 200.** Levican, A., & Hinton Jr, A. (2022). CAMPYAIR, a new selective, differential medium for *Campylobacter* spp. isolation without the need for microaerobic atmosphere. *Microorganisms*, 10(7), 1403.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms10071403>
- 201.** Levican, A., Varela, C., Porte, L., Weitzel, T., Briceño, I., Guerra, F., ... & Hinton Jr, A. (2023). Head-to-head comparison of CAMPYAIR aerobic culture medium versus standard microaerophilic culture for *Campylobacter* isolation from clinical samples. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 13, 1153693.
<https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1153693>
- 202.** Levin, R. E. (2007). *Campylobacter jejuni*: a review of its characteristics, pathogenicity, ecology, distribution, subspecies characterization and molecular methods of detection. *Food Biotechnology*, 21(4), 271-347.
- 203.** Li, Jiaqi, et al. "FliW controls growth-phase expression of *Campylobacter jejuni* flagellar and non-flagellar proteins via the post-transcriptional regulator CsrA." *Microbiology* 164.10 (2018): 1308-1319.
- 204.** Lin, J., Michel, L. O., & Zhang, Q. (2002). CmeABC functions as a multidrug efflux system in *Campylobacter jejuni*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 46(7), 2124-2131.
- 205.** Lin, J., Sahin, O., Michel, L. O., & Zhang, Q. (2003). Critical role of multidrug efflux pump CmeABC in bile resistance and in vivo colonization of *Campylobacter jejuni*. *Infection and immunity*, 71(8), 4250-4259.
- 206.** Lindqvist, R., & Lindblad, M. (2008). Quantitative risk assessment of thermophilic *Campylobacter* spp. and cross-contamination during handling of raw broiler chickens evaluating strategies at the producer level to reduce human campylobacteriosis in Sweden. *International journal of food microbiology*, 121(1), 41-52.
- 207.** Liu, F., Lee, S. A., Xue, J., Riordan, S. M., & Zhang, L. (2022). Global epidemiology of

- campylobacteriosis and the impact of COVID-19. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 12, 979055
208. Lopes, G. V., Ramires, T., Kleinubing, N. R., Scheik, L. K., Fiorentini, Â. M., & da Silva, W. P. (2021). Virulence factors of foodborne pathogen *Campylobacter jejuni*. *Microbial pathogenesis*, 161, 105265.
 209. Lubber, P., Brynestad, S., Topsch, D., Scherer, K., & Bartelt, E. (2006). Quantification of *Campylobacter* species cross-contamination during handling of contaminated fresh chicken parts in kitchens. *Applied and environmental microbiology*, 72(1), 66-70.
 210. Lv, R., Wang, K., Feng, J., Heeney, D. D., Liu, D., & Lu, X. (2020). Detection and quantification of viable but non-culturable *Campylobacter jejuni*. *Frontiers in microbiology*, 10, 2920.
 211. Ma, L., Feng, J., Zhang, J., & Lu, X. (2022). *Campylobacter* biofilms. *Microbiological Research*, 264, 127149.
 212. MacInnes, J. I., Van Immerseel, F., Boyce, J. D., Rycroft, A. N., & Vázquez-Boland, J. A. (2022). *Pathogenesis of bacterial infections in animals*. J. F. Prescott (Ed.). John Wiley & Sons, Incorporated.
 213. Madden, C. M., & Madden, R. H. (2019). Research Note: A comparison of media for the recovery of *Campylobacter* spp. from long term storage at -80 °C. *Food Biotechnol Lett*. 2019; 24(2): 340-343.
 214. Manson, M. D. (1992). Bacterial motility and chemotaxis. *Advances in microbial physiology*, 33, 277-346.
 215. Marotta, F., Garofolo, G., Di Marcantonio, L., Di Serafino, G., Neri, D., Romantini, R., ... & Di Giannatale, E. (2019). Antimicrobial resistance genotypes and phenotypes of *Campylobacter jejuni* isolated in Italy from humans, birds from wild and urban habitats, and poultry. *PloS one*, 14(10), e0223804.
 216. Maue, A. C., Mohawk, K. L., Giles, D. K., Poly, F., Ewing, C. P., Jiao, Y., ... & Guerry, P. (2013). The polysaccharide capsule of *Campylobacter jejuni* modulates the host immune response. *Infection and immunity*, 81(3), 665-672.

217. Melo, R. T., Mendonça, E. P., Monteiro, G. P., Siqueira, M. C., Pereira, C. B., Peres, P. A., ... & Rossi, D. A. (2017). Intrinsic and extrinsic aspects on *Campylobacter jejuni* biofilms. *Frontiers in microbiology*, 8, 1332.
218. Moens, S., & Vanderleyden, J. (1996). Functions of bacterial flagella. *Critical reviews in microbiology*, 22(2), 67-100.
219. Monke, H. J., Love, B. C., Wittum, T. E., Monke, D. R., & Byrum, B. A. (2002). Effect of transport enrichment medium, transport time, and growth medium on the detection of *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis*. *Journal of veterinary diagnostic investigation*, 14(1), 35-39.
220. Moran, A. P., & Upton, M. E. (1987). Factors affecting production of coccoid forms by *Campylobacter jejuni* on solid media during incubation. *Journal of Applied Microbiology*, 62(6), 527-537.
221. Morooka, T., Umeda, A., & Amako, K. (1985). Motility as an intestinal colonization factor for *Campylobacter jejuni*. *Microbiology*, 131(8), 1973-1980.
222. Mortensen, N. P., Kuijf, M. L., Ang, C. W., Schiellerup, P., Krogfelt, K. A., Jacobs, B. C., ... & Bergman, M. P. (2009). Sialylation of *Campylobacter jejuni* lipooligosaccharides is associated with severe gastro-enteritis and reactive arthritis. *Microbes and Infection*, 11(12), 988-994.
223. Mouftah, S. F., Cobo-Díaz, J. F., Álvarez-Ordóñez, A., Elserafy, M., Saif, N. A., Sadat, A., El-Shibiny, A., Elhadidy, M. (2021). High-throughput sequencing reveals genetic determinants associated with antibiotic resistance in *Campylobacter* spp. from farm-to-fork. *PloS one*, 16(6), e0253797.
224. Mshelia, G. D., Amin, J. D., Woldehiwet, Z., Murray, R. D., & Egwu, G. O. (2010). Epidemiology of bovine venereal campylobacteriosis: geographic distribution and recent advances in molecular diagnostic techniques. *Reproduction in Domestic Animals*, 45(5), e221-e230.
225. Mughal, M. H. (2018). Campylobacteriosis-A global threat. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, 11(5), 8804-8808.
226. Murray, C. J., Ikuta, K. S., Sharara, F., Swetschinski, L., Aguilar, G. R., Gray, A., ... & Tasak, N. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The lancet*, 399(10325), 629-655.

227. Myintzaw, P., Jaiswal, A. K., & Jaiswal, S. (2023). A review on campylobacteriosis associated with poultry meat consumption. *Food Reviews International*, 39(4), 2107-2121.
228. Nachamkin, I. R. V. I. N. G., & Yang, X. H. (1989). Human antibody response to *Campylobacter jejuni* flagellin protein and a synthetic N-terminal flagellin peptide. *Journal of clinical microbiology*, 27(10), 2195-2198.
229. Nachamkin, I. R. V. I. N. G., & Yang, X. H. (1992). Local immune responses to the *Campylobacter* flagellin in acute *Campylobacter* gastrointestinal infection. *Journal of clinical microbiology*, 30(2), 509-511.
230. Nachamkin, I. R. V. I. N. G., Yang, X. H., & Stern, N. J. (1993). Role of *Campylobacter jejuni* flagella as colonization factors for three-day-old chicks: analysis with flagellar mutants. *Applied and environmental microbiology*, 59(5), 1269-1273.
231. Nakari, U. M., Laaksonen, K., Korkeila, M., & Siitonen, A. (2005). Comparative typing of *Campylobacter jejuni* by heat-stable serotyping and PCR-based restriction fragment length polymorphism analysis. *Journal of clinical microbiology*, 43(3), 1166-1170.
232. Nastasijevic, I., Proscia, F., Boskovic, M., Glisic, M., Blagojevic, B., Sorgentone, S., ... & Ferri, M. (2020). The European Union control strategy for *Campylobacter* spp. in the broiler meat chain. *Journal of Food Safety*, 40(5), e12819.
233. Neal-McKinney, J. M., & Konkel, M. E. (2012). The *Campylobacter jejuni* CiaC virulence protein is secreted from the flagellum and delivered to the cytosol of host cells. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 2, 31.
234. Neimann, J., Engberg, J., Mølbak, K., & Wegener, H. C. (2003). A case-control study of risk factors for sporadic *Campylobacter* infections in Denmark. *Epidemiology & Infection*, 130(3), 353-366.
235. Newell, D. G., McBRIDE, H. A. R. O. L. D., & Dolby, J. M. (1985). Investigations on the role of flagella in the colonization of infant mice with *Campylobacter jejuni* and attachment of *Campylobacter jejuni* to human epithelial cell lines. *Epidemiology & Infection*, 95(2), 217-227.

236. Newell, D. G., Mughini-Gras, L., Kalupahana, R. S., & Wagenaar, J. A. (2017). *Campylobacter* epidemiology—Sources and routes of transmission for human infection. In *Campylobacter* (pp. 85-110). Academic Press.
237. Ng, L. K., Sherburne, R., Taylor, D. E., & Stiles, M. E. (1985). Morphological forms and viability of *Campylobacter* species studied by electron microscopy. *Journal of Bacteriology*, 164(1), 338-343.
238. Ngulukun, S. S. (2017). Taxonomy and physiological characteristics of *Campylobacter* spp. In *Campylobacter* (pp. 41-60). Academic Press.
239. Norkrans, G., & Svedhem, Å. (1982). Epidemiological aspects of *Campylobacter jejuni* enteritis. *Epidemiology & Infection*, 89(1), 163-170.
240. Nunes, A., Oleastro, M., Alves, F., Liassine, N., Lowe, D. M., Benejat, L., ... & Philippe, L. (2023). Recurrent *Campylobacter jejuni* infections with In Vivo selection of resistance to macrolides and carbapenems: Molecular characterization of resistance determinants. *Microbiology Spectrum*, 11(4), e01070-23.
241. Nursufiah, S., Hartoyo, Y., Amalia, N., Febrianti, T., Febriyana, D., Saraswati, R. D., ... & Multihartina, P. (2021, November). Long-term storage of bacterial isolates by using tryptic soy broth with 15% glycerol in the deep freezer (-70 to -80° c). In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 913, No. 1, p. 012070). IOP Publishing.
242. O’Kane, P. M., & Connerton, I. F. (2017). Characterisation of aerotolerant forms of a robust chicken colonizing *Campylobacter coli*. *Frontiers in microbiology*, 8, 513.
243. Oliver, J. D. (2010). Recent findings on the viable but nonculturable state in pathogenic bacteria. *FEMS microbiology reviews*, 34(4), 415-425.
244. Olvera-Ramírez, A. M., McEwan, N. R., Stanley, K., Nava-Díaz, R., & Aguilar-Tipacamú, G. (2023). A Systematic Review on the Role of Wildlife as Carriers and Spreaders of *Campylobacter* spp. *Animals*, 13(8), 1334.
245. On, S. L. (2001). Taxonomy of *Campylobacter*, *Arcobacter*, *Helicobacter* and related bacteria: current status, future prospects and immediate concerns. *Journal of Applied Microbiology*, 90(S6), 1S-15S.

- 246.** Otsuka, Y., Hagiya, H., Takahashi, M., Fukushima, S., Maeda, R., Sunada, N., ... & Otsuka, F. (2023). Clinical characteristics of *Campylobacter* bacteremia: a multicenter retrospective study. *Scientific reports*, 13(1), 647.
- 247.** Oyarzabal, O. A., & Carrillo, C. D. (2017). Isolation, identification, and typing of *Campylobacter* strains from food samples. *Campylobacter*, 61-83.
- 248.** Park, S. F. (2002). The physiology of *Campylobacter* species and its relevance to their role as foodborne pathogens. *International journal of food microbiology*, 74(3), 177-188.
- 249.** Parte, A. C., Sardà Carbasse, J., Meier-Kolthoff, J. P., Reimer, L. C., & Göker, M. (2020). List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN) moves to the DSMZ. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 70(11), 5607-5612. (<https://lpsn.dsmz.de/search?word=campylobacter> , доступ 15 січня 2024 р.)
- 250.** Pascoe, B., Williams, L. K., Calland, J. K., Meric, G., Hitchings, M. D., Dyer, M., ... & Sheppard, S. K. (2019). Domestication of *Campylobacter jejuni* NCTC 11168. *Microbial genomics*, 5(7), e000279.
- 251.** Pei, Z., Burucoa, C., Grignon, B., Baqar, S., Huang, X. Z., Kopecko, D. J., ... & Blaser, M. J. (1998). Mutation in the *peb1A* locus of *Campylobacter jejuni* reduces interactions with epithelial cells and intestinal colonization of mice. *Infection and immunity*, 66(3), 938-943.
- 252.** Penner, J. L., Hennessy, J. N., & Congi, R. V. (1983). Serotyping of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* on the basis of thermostable antigens. *European Journal of Clinical Microbiology*, 2(4), 378-383.
- 253.** Perez-Perez, G. I., & Blaser, M. J. (1996). *Campylobacter* and *helicobacter*. *Medical Microbiology*. 4th edition.
- 254.** Perry, J. D. (2017). A decade of development of chromogenic culture media for clinical microbiology in an era of molecular diagnostics. *Clinical microbiology reviews*, 30(2), 449-479.
- 255.** Peterson, M. C. (1994). Clinical aspects of *Campylobacter jejuni* infections in adults. *Western Journal of Medicine*, 161(2), 148.

256. Pickett, C. L., Pesci, E. C., Cottle, D. L., Russell, G., Erdem, A. N., & Zeytin, H. (1996). Prevalence of cytolethal distending toxin production in *Campylobacter jejuni* and relatedness of *Campylobacter* sp. *cdtB* gene. *Infection and immunity*, 64(6), 2070-2078.
257. Pike, B. L., Guerry, P., & Poly, F. (2013). Global distribution of *Campylobacter jejuni* Penner serotypes: a systematic review. *PloS one*, 8(6), e67375.
258. Pinilla-Redondo, R., Cyriaque, V., Jacquiod, S., Sørensen, S. J., & Riber, L. (2018). Monitoring plasmid-mediated horizontal gene transfer in microbiomes: recent advances and future perspectives. *Plasmid*, 99, 56-67.
259. Pitkänen, T., & Hänninen, M. L. (2017). Members of the family *Campylobacteraceae*: *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*.
260. Porter, C. K., Choi, D., Cash, B., Pimentel, M., Murray, J., May, L., & Riddle, M. S. (2013). Pathogen-specific risk of chronic gastrointestinal disorders following bacterial causes of foodborne illness. *BMC gastroenterology*, 13, 1-7.
261. Portes, A. B., Panzenhagen, P., Pereira dos Santos, A. M., & Junior, C. A. C. (2023). Antibiotic resistance in *Campylobacter*: a systematic review of South American isolates. *Antibiotics*, 12(3), 548.
262. Prakash, O., Nimonkar, Y., & Desai, D. (2020). A recent overview of microbes and microbiome preservation. *Indian Journal of Microbiology*, 60(3), 297-309.
263. Pumbwe, L., & Piddock, L. J. (2002). Identification and molecular characterisation of CmeB, a *Campylobacter jejuni* multidrug efflux pump. *FEMS Microbiology Letters*, 206(2), 185-189.
264. Radomska, K. A., Wösten, M. M., Ordoñez, S. R., Wagenaar, J. A., & van Putten, J. P. (2017). Importance of *Campylobacter jejuni* FliS and FliW in flagella biogenesis and flagellin secretion. *Frontiers in microbiology*, 8, 1060.
265. Rahman, Hossinur, et al. "Characterisation of a multi-ligand binding chemoreceptor CcmL (Tlp3) of *Campylobacter jejuni*." *PLoS pathogens* 10.1 (2014): e1003822.
266. Ren, Fangzhe, et al. "Insights into the impact of *flhF* inactivation on *Campylobacter jejuni* colonization of chick and mice gut." *BMC microbiology* 18 (2018): 1-11.

267. Ricke, S. C., Feye, K. M., Chaney, W. E., Shi, Z., Pavlidis, H., & Yang, Y. (2019). Developments in rapid detection methods for the detection of foodborne campylobacter in the United States. *Frontiers in microbiology*, 9, 3280.
268. Rodgers, J. D., Lawes, J. R., Vidal, A. B., Ellis-Iversen, J., Ridley, A., Pleydell, E. J., ... & Clifton-Hadley, F. A. (2012). Characteristics and comparative performance of direct culture, direct PCR and enumeration methods for detection and quantification of *Campylobacter* spp. in broiler caeca. *Veterinary microbiology*, 159(3-4), 390-396.
269. Rosenquist, H., Sommer, H. M., Nielsen, N. L., & Christensen, B. B. (2006). The effect of slaughter operations on the contamination of chicken carcasses with thermotolerant *Campylobacter*. *International journal of food microbiology*, 108(2), 226-232.
270. Rubinchik, S., Seddon, A. M., & Karlyshev, A. V. (2014). A negative effect of *Campylobacter* capsule on bacterial interaction with an analogue of a host cell receptor. *BMC microbiology*, 14, 1-8.
271. Sahin, O. R. H. A. N., Zhang, Q. I. J. I. N. G., & Morishita, T. Y. (2003). Detection of *Campylobacter*. *Microbial food safety in animal agriculture*, 183.
272. Sakur, S. G., Williamson, S. L., Pavic, A., Gao, Y. K., Harris, T., Kotiw, M., ... & Groves, P. J. (2024). Developing a selective culturing approach for *Campylobacter hepaticus*. *Plos one*, 19(5), e0302861.
273. Samuel, M. C., Vugia, D. J., Shallow, S., Marcus, R., Segler, S., McGivern, T., ... & Emerging Infections Program FoodNet Working Group. (2004). Epidemiology of sporadic *Campylobacter* infection in the United States and declining trend in incidence, FoodNet 1996–1999. *Clinical Infectious Diseases*, 38(Supplement_3), S165-S174.
274. Santos, L. S., Rossi, D. A., Braz, R. F., Fonseca, B. B., Guidotti–Takeuchi, M., Alves, R. N., ... & Melo, R. T. D. (2023). Roles of viable but non-culturable state in the survival of *Campylobacter jejuni*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 13, 1122450.
275. Schreyer, M. E., Olivero, C. R., Rossler, E., Soto, L. P., Frizzo, L. S., Zimmermann, J. A., ... & Virginia, Z. M. (2022). Prevalence and antimicrobial

- resistance of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* identified in a slaughterhouse in Argentina. *Current Research in Food Science*, 5, 590-597.
276. Shane, S. M. (1992). The significance of *Campylobacter jejuni* infection in poultry: a review. *Avian Pathology*, 21(2), 189-213.
 277. Shen, Z., Wang, Y., Zhang, Q., & Shen, J. (2018). Antimicrobial resistance in *Campylobacter* spp. *Microbiology spectrum*, 6(2), 10-1128.
 278. Sher, A. A., Ashraf, M. A., Mustafa, B. E., & Raza, M. M. (2021). Epidemiological trends of foodborne *Campylobacter* outbreaks in the United States of America, 1998–2016. *Food Microbiology*, 97, 103751.
 279. Silva, J., Leite, D., Fernandes, M., Mena, C., Gibbs, P. A., & Teixeira, P. (2011). *Campylobacter* spp. as a foodborne pathogen: a review. *Frontiers in microbiology*, 2, 200.
 280. Silva, M. F., Pereira, A. L., Fraqueza, M. J., Pereira, G., Mateus, L., Lopes-da-Costa, L., & Silva, E. (2021). Genomic and phenotypic characterization of *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis* strains. *Microorganisms*, 9(2), 340.
 281. Skirrow, M. B. (1977). *Campylobacter* enteritis: a "new" disease. *Br Med J*, 2(6078), 9-11.
 282. Skirrow, M. B. (2006). John McFadyean and the centenary of the first isolation of *Campylobacter* species. *Clinical Infectious Diseases: an Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 43(9), 1213-1217.
 283. Smith, J. L., & Bayles, D. O. (2006). The contribution of cytolethal distending toxin to bacterial pathogenesis. *Critical reviews in microbiology*, 32(4), 227-248.
 284. Snelling, W. J., Matsuda, M., Moore, J. E., & Dooley, J. S. G. (2005). UNDER THE MICROSCOPE. *Letters in Applied Microbiology*, 41, 297-302.
 285. Soto-Beltrán, M., Lee, B. G., Amézquita-López, B. A., & Quiñones, B. (2023). Overview of methodologies for the culturing, recovery and detection of *Campylobacter*. *International Journal of Environmental Health Research*, 33(3), 307-323.
 286. Sproston, E. L., Wimalarathna, H. M., & Sheppard, S. K. (2018). Trends in fluoroquinolone resistance in *Campylobacter*. *Microbial genomics*, 4(8), e000198.

287. Steele, T. W., & McDermott, S. N. (1984). The use of membrane filters applied directly to the surface of agar plates for the isolation of *Campylobacter jejuni* from feces. *Pathology*, 16(3), 263-265.
288. Steffen, R., Hill, D. R., & DuPont, H. L. (2015). Traveler's diarrhea: a clinical review. *Jama*, 313(1), 71-80.
289. Sweileh, W. M., Al-Jabi, S. W., Sawalha, A. F., AbuTaha, A. S., & Zyoud, S. E. H. (2016). Bibliometric analysis of publications on *Campylobacter*:(2000–2015). *Journal of Health, Population and Nutrition*, 35, 1-12.
290. Tacconelli, E., Carrara, E., Savoldi, A., Harbarth, S., Mendelson, M., Monnet, D. L., ... & Zorzet, A. (2018). Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *The Lancet infectious diseases*, 18(3), 318-327.
291. Tang, M., Zhou, Q., Zhang, X., Zhou, S., Zhang, J., Tang, X., Lu, J., Gao, Y. (2020). Antibiotic resistance profiles and molecular mechanisms of *Campylobacter* from chicken and pig in China. *Frontiers in Microbiology*, 11, 592496.
292. Tangvatcharin, P., Chanthachum, S., Kopaiboon, P., Inttasungkha, N., & Griffiths, M. W. (2005). Comparison of methods for the isolation of thermotolerant *Campylobacter* from poultry. *Journal of food protection*, 68(3), 616-620.
293. Taylor, N. S., Ellenberger, M. A., Wu, P. Y., & Fox, J. G. (1989). Diversity of serotypes of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated in laboratory animals. *Laboratory animal science*, 39(3), 219-221.
294. Tegtmeyer, N., Sharafutdinov, I., Harrer, A., Esmaeili, D. S., Linz, B., & Backert, S. (2021). *Campylobacter* Virulence Factors and Molecular Host–Pathogen Interactions. *Fighting Campylobacter Infections: Towards a One Health Approach*, 431, 169.
295. Thelestam, M. (2004). Cytolethal distending toxins. *Reviews of physiology, biochemistry and pharmacology*, 111-133.
296. Thibodeau, Alexandre, et al. "Extensive characterization of *Campylobacter jejuni* chicken isolates to uncover genes involved in the ability to compete for gut colonization." *BMC microbiology* 15 (2015): 1-14.

- 297.** Tremblay, W., Mompert, F., Lopez, E., Quaranta, M., Bergoglio, V., Hashim, S., ... & Fernandez-Vidal, A. (2021). Cytolethal distending toxin promotes replicative stress leading to genetic instability transmitted to daughter cells. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9, 656795.
- 298.** Trieu-Cuot, P., Gerbaud, G., Lambert, T., & Courvalin, P. (1985). In vivo transfer of genetic information between gram-positive and gram-negative bacteria. *The EMBO journal*, 4(13A), 3583-3587.
- 299.** Tsarenko, T., & Korniienko, L. (2021). Intensive animal farming operations and outbreaks of zoonotic bacterial diseases in Ukraine. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 12(3), 479-489.
- 300.** Tshipamba, M. E., Lubanza, N., & Mwanza, M. (2020). Genome analysis of antimicrobial resistance genes and virulence factors in multidrug-resistant *Campylobacter fetus* subspecies isolated from sheath wash. *World's Veterinary Journal*, (4), 465-480.
- 301.** Turonova, H., Briandet, R., Rodrigues, R., Hernould, M., Hayek, N., Stintzi, A., ... & Tresse, O. (2015). Biofilm spatial organization by the emerging pathogen *Campylobacter jejuni*: comparison between NCTC 11168 and 81-176 strains under microaerobic and oxygen-enriched conditions. *Frontiers in Microbiology*, 6, 709.
- 302.** Ugarte-Ruiz, M., Gómez-Barrero, S., Porrero, M. C., Alvarez, J., Garcia, M., Comeron, M. C., ... & Domínguez, L. (2012). Evaluation of four protocols for the detection and isolation of thermophilic *Campylobacter* from different matrices. *Journal of applied microbiology*, 113(1), 200-208.
- 303.** Vaz, C. S. L., Voss-Rech, D., Pozza, J. S., Coldebella, A., & Silva, V. S. (2014). Isolation of *Campylobacter* from Brazilian broiler flocks using different culturing procedures. *Poultry science*, 93(11), 2887-2892.
- 304.** Veltcheva, D., Colles, F. M., Varga, M., Maiden, M. C., & Bonsall, M. B. (2022). Emerging patterns of fluoroquinolone resistance in *Campylobacter jejuni* in the UK [1998–2018]. *Microbial Genomics*, 8(9), 000875.
- 305.** Vinueza-Burgos, C., Wautier, M., Martiny, D., Cisneros, M., Van Damme, I., & De Zutter, L. (2017). Prevalence, antimicrobial resistance and genetic diversity of

- Campylobacter coli and Campylobacter jejuni in Ecuadorian broilers at slaughter age. *Poultry science*, 96(7), 2366-2374.
306. Wassenaar, T. M. (1997). Toxin production by Campylobacter spp. *Clinical microbiology reviews*, 10(3), 466-476.
 307. Wassenaar, T. M., & Newell, D. G. (2006). The genus Campylobacter. *The prokaryotes: A handbook on the biology of bacteria*, 7, 119-138.
 308. Wenman, W. M., Chai, J. E. R. E. M. Y., Louie, T. J., Goudreau, C. H. R. I. S. T. I. A. N. E., Lior, H. E. R. M. Y., Newell, D. G., ... & Taylor, D. E. (1985). Antigenic analysis of Campylobacter flagellar protein and other proteins. *Journal of Clinical Microbiology*, 21(1), 108-112.
 309. Whitehouse, C. A., Balbo, P. B., Pesci, E. C., Cottle, D. L., Mirabito, P. M., & Pickett, C. L. (1998). Campylobacter jejuni cytolethal distending toxin causes a G2-phase cell cycle block. *Infection and immunity*, 66(5), 1934-1940.
 310. Wingstrand, A., Neimann, J., Engberg, J., Nielsen, E. M., Gerner-Smidt, P., Wegener, H. C., & Mølbak, K. (2006). Fresh chicken as main risk factor for campylobacteriosis, Denmark. *Emerging infectious diseases*, 12(2), 280.
 311. WOAHA Terrestrial Manual 2024 / Chapter 3.10.4. – Infection with *Campylobacter jejuni* and *C. coli* [Internet]. The Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (Terrestrial Manual) [updated 2024 Feb; cited 2024 Sep 10] Available from: https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.10.04_CAMPYLO.pdf
 312. World Health Organization. (2013). The global view of campylobacteriosis: report of an expert consultation, Utrecht, Netherlands, 9-11 July 2012.
 313. Worsfold, D., & Griffith, C. J. (1997). Assessment of the standard of consumer food safety behavior. *Journal of Food Protection*, 60(4), 399-406.
 314. Wren, B. W., Linton, D., Dorrell, N., & Karlyshev, A. V. (2001). Post genome analysis of Campylobacter jejuni. *Journal of Applied Microbiology*, 90(S6), 36S-44S.
 315. Yan, R., M'ikanatha, N. M., Nachamkin, I., Hudson, L. K., Denes, T. G., & Kovac, J. (2023). Prevalence of ciprofloxacin resistance and associated genetic

- determinants differed among *Campylobacter* isolated from human and poultry meat sources in Pennsylvania. *Food Microbiology*, 116, 104349.
316. Yao, Ruijin, et al. "Isolation of motile and non-motile insertional mutants of *Campylobacter jejuni*: the role of motility in adherence and invasion of eukaryotic cells." *Molecular microbiology* 14.5 (1994): 883-893.
 317. Young, K. T., Davis, L. M., & DiRita, V. J. (2007). *Campylobacter jejuni*: molecular biology and pathogenesis. *NATure reVIEWS| microbiology*, 5, 665.
 318. Zautner, A. E., Malik Tareen, A., Groß, U., & Lugert, R. (2012). Chemotaxis in *Campylobacter jejuni*. *European Journal of Microbiology and Immunology*, 2(1), 24-31.
 319. Zhang, P., Zhang, X., Liu, Y., Cui, Q., Qin, X., Niu, Y., Wang, C., Wang, T., Chen, Q., Ding, S., Va, X., Shen, Z. (2022). Genomic insights into the increased occurrence of campylobacteriosis caused by antimicrobial-resistant *Campylobacter coli*. *MBio*, 13(6), e02835-22.
 320. Zhang, Q., & Sahin, O. (2020). Campylobacteriosis. *Diseases of poultry*, 754-769.
 321. Zhang, T., Luo, Q., Chen, Y., Li, T., Wen, G., Zhang, R., ... & Shao, H. (2016). Molecular epidemiology, virulence determinants and antimicrobial resistance of *Campylobacter* spreading in retail chicken meat in Central China. *Gut pathogens*, 8, 1-9.
 322. Zhang, X., Tang, M., Zhou, Q., Zhang, J., Yang, X., & Gao, Y. (2018). Prevalence and characteristics of *Campylobacter* throughout the slaughter process of different broiler batches. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2092.

ДОДАТКИ

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у періодичних наукових виданнях,

включених до категорії «А»

Переліку наукових фахових видань України

та/або у закордонних виданнях, проіндексованих у базах даних

Scopus та/або Web of Science Core Collection

1. **Shchur N.**, Chechet O., Mazur T., Martyniuk O., Gorbatiuk O., Buchkovska H., Musiets I., Ordynska D., Finkova O., Moskalenko L., Ponomaryova-Gerasimyuk T., Lusta M., Nedosekov V. Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* isolated from animals and poultry in Ukraine. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*. 2023. Vol. 11 (5). P. 852–863. (Shchur N. проведено бактеріологічні дослідження зразків за планових досліджень щодо протимікробної резистентності зоонозних та комменсальних бактерій у ветеринарній медицині; виділено та ідентифіковано, на основі морфологічних властивостей мікроорганізмів, ізоляти *Campylobacter* spp., систематизовано результати досліджень, підготовлено рукопис до друку відповідно до вимог видання. Chechet O. проведено організацію лабораторних досліджень та відбір біологічного матеріалу. Mazur T. визначено актуальність, сформульовано наукову новизну. Martyniuk O. проведено літературний пошук, порівняльний аналіз досліджень та визначено відповідні узгодження і відмінності. Gorbatiuk O. визначено чутливість виділених ізолятів до АБП. Buchkovska H. розроблено робочу інструкцію з підготовки зразків для проведення досліджень. Musiets I. розроблено програму дослідження. Ordynska D. проведено бактеріологічні дослідження зразків. Finkova O. виконано статистичну обробку отриманих результатів. Moskalenko L. проведено підготовку зразків до досліджень. Ponomaryova-Gerasimyuk T. підібрано селективні середовища для ізоляції *Campylobacter*. Lusta M. зроблено оформлення ілюстративного матеріалу до

статті. Nedosekov V. здійснено узагальнення отриманих результатів; керівництво з написання рукопису; підготовлено висновки).

2. Chechet O. N., Gorbatyuk O. I., Rublenko I. O., Kuryata N. V., Buchkovska G. A., Musiets I. V., **Shchur N. V.**, Shalimova L. O., Ordynska D. O., Balanchuk L. V., Togachynska L. V. Zoonotic and commensal bacteria from pigs with acquired antimicrobial resistance. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2023. Vol. 14 (4). P. 624–629. (Shchur N. V. проведено бактеріологічні дослідження зразків, виділено та ідентифіковано, на основі морфологічних властивостей мікроорганізмів, ізоляти *Campylobacter* spp., систематизовано результати досліджень. Chechet O. N. проведено організацію лабораторних досліджень та відбір біологічного матеріалу. Gorbatyuk O. I. сформульовано наукову новизну, узгоджено вимоги до оформлення статті з редколегією журналу. Rublenko I. O. здійснено узагальнення отриманих результатів. Kuryata N. V. визначено чутливість виділених ізолятів до АБП. Buchkovska G. A. проведено аналіз літературних даних. Musiets I. V. розроблено програму дослідження. Shalimova L. O. підібрано селективні середовища для ізоляції зоонозних патогенів. Ordynska D. O. розроблено робочу інструкцію з підготовки зразків для проведення досліджень. Balanchuk L. V. здійснено підготовку зразків для проведення досліджень. Togachynska L. V. виконано статистичну обробку отриманих результатів).

3. **Shchur N.**, Mazur T., Katsaraba O., Halka I., Shalimova L., Moskalenko L., Ponomariova-Herasymiuk T., Lusta M., Nedosekov V. Improving the efficiency of *Campylobacter* spp. isolation from livestock and poultry in Ukraine. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*. 2024. Vol. 12 (10). P. 1862–1874. (Shchur N. проведено організацію лабораторних досліджень та відбір біологічного матеріалу, проведено модифікацію методів виділення зі скороченням часу культивування та одночасним застосуванням протилежних за складом селективних живильних середовищ, виділено ізоляти *Campylobacter* spp., визначено актуальність, сформульовано наукову новизну та практичне значення результатів досліджень, підготовлено рукопис до

друку відповідно до вимог видання. Mazur T. розроблено програму дослідження. Katsaraba O. проведено аналіз літературних даних. Halka I. проведено підготовку зразків для проведення досліджень. Shalimova L. ідентифіковано виділені ізоляти за допомогою методу MALDI-TOF MS на аналізаторі VITEK. Moskalenko L. розроблено робочу інструкцію з підготовки зразків для проведення досліджень. Ponomarova-Herasymiuk T. підібрано селективні середовища для ізоляції *Campylobacter* spp. Lusta M. зроблено оформлення ілюстративного матеріалу до статті. Nedosekov V. здійснено узагальнення отриманих результатів, керівництво з написання рукопису, підготовлено висновки).

4. **Shchur N. V.**, Stepanyi D. O., Shuliak S. V., Balanchuk L. V., Skliar V. V., Moskalenko L. M., Ponomarova-Herasymiuk T. M., Lusta M. V., Nedosekov V. V. Phenotypic patterns antimicrobial resistance in *Campylobacter* spp. in Ukraine. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2024. Vol. 15 (3). P. 635–641. (Shchur N. V. виділено ізоляти *Campylobacter* spp., зроблено аналіз та порівняння отриманих результатів щодо АМР ізолятів *Campylobacter* spp. від дітей, тварин та птиці, проведено ліофілізацію ізолятів *Campylobacter* spp., виділених від тварин та птиці; систематизовано результати досліджень, визначено мету, актуальність та практичне значення результатів досліджень, узгоджено вимоги до оформлення статті з редколегією журналу. Stepanyi D. O. розроблено програму дослідження; сформульовано наукову новизну. Shuliak S. V. проведено літературний пошук наявних досліджень, які наближені до опублікованих авторами та визначено відповідні узгодження і відмінності. Balanchuk L. V. виконано статистичну обробку отриманих результатів. Skliar V. V. визначено чутливість ізолятів *Campylobacter* spp. до АБП відповідно рекомендаціям EUCAST. Moskalenko L. M. здійснено організацію лабораторних досліджень та відбір біологічного матеріалу. Ponomarova-Herasymiuk T. M. підібрано селективні середовища для ізоляції *Campylobacter* spp. Lusta M. V. визначено чутливість клінічних ізолятів до АБП. Nedosekov V. V. здійснено узагальнення отриманих результатів, керівництво з написання рукопису; підготовлено висновки).

5. Halka I., **Shchur N.**, Bortz E., Mandyhra S., Nedosekov V., Katsaraba O., Goodfellow I., Drown D. M., Kovalenko G. O. Genome Sequences of Antimicrobial-Resistant *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni*, Isolated from Poultry in Ukraine. Microbiology Resource Announcements. 2024. Vol. 13. Iss. 12. e00795-24. (Shchur N. виділено ізоляти *Campylobacter spp.*, проведено видову ідентифікацію та тестування на чутливість до АБП, здійснено низькотемпературне зберігання ізолятів до початку досліджень. Halka I. проведено організацію лабораторних досліджень. Bortz E. виконано визначення повної послідовності генома *Campylobacter spp.* Mandyhra S. здійснено підготовку зразків до досліджень. Nedosekov V. сформульовано наукову новизну, визначено практичне значення результатів досліджень. Katsaraba O. проведено аналіз літературних даних. Goodfellow I. розроблено програму досліджень. Drown D. M. проведено аналіз повних геномних послідовностей *Campylobacter spp.* Kovalenko G. O. здійснено узагальнення отриманих результатів, узгоджено вимоги до оформлення статті з редколегією журналу).

**Стаття у науковому виданні,
включеному до Переліку наукових фахових видань України**

6. Mazur T., **Shchur N.**, Boianovskyi S. Immunosuppressive activity of *Campylobacter jejuni* isolates in relation to the cellular link of the body's immunoprotection. Ukrainian Journal of Veterinary Sciences. 2022. Vol. 13 (3). P. 34–41. (Shchur N. виділено ізоляти для проведення досліджень, визначено мету, актуальність та практичне значення результатів досліджень, сформульовано наукову новизну, проведено аналіз літературних даних. Mazur T. розроблено програму дослідження, здійснено узагальнення отриманих результатів, узгоджено вимоги до оформлення статті з редколегією журналу. Boianovskyi S. здійснено постановку полімеразної ланцюгової реакції; статистичну обробку отриманих результатів).

Тези наукових доповідей

7. **Щур Н. В.**, Мазур Т. В. Емерджентність кампілобактеріозу. Єдине здоров'я – 2022: Міжнародна наукова конференція, присвячена 100-річчю кафедр факультету ветеринарної медицини Національного університету біоресурсів і природокористування України, м. Київ, 22–24 вересня 2022 року: тези доповіді. Київ, 2022. С. 306–307. (*Щур Н. В. проведено аналіз літературних джерел, виділено ізоляти Campylobacter spp. та проведено тестування на чутливість до АБП, взято участь у написанні тез. Мазур Т. В. систематизовано дані мікробіологічних досліджень, здійснено узагальнення отриманих результатів та керівництво з написання тез*).

8. **Shchur N.**, Mazur T., Nedosekov V. Monitoring studies of animal and poultry campylobacteriosis in Ukraine. Microbiology and Immunology – the development outlook in the 21st century: IV International Scientific Conference, Kyiv, September 22–23, 2022: abstracts book. Kyiv, 2022. С. 49. (*Shchur N. проведено аналіз літературних джерел, виділено ізоляти Campylobacter spp. та проведено тестування на чутливість до АБП, взято участь у написанні тез. Mazur T. систематизовано дані мікробіологічних досліджень. Nedosekov V. підготовлено висновки, здійснено узагальнення отриманих результатів та керівництво з написання тез*).

9. **Shchur N.**, Nedosekov V., Finkova O., Moskalenko L., Ponomaryova-Gerasimyuk T., Lusta M. Identification of *Campylobacter* spp. in Ukraine: Conference: ASM Microbe 2023, Houston, June 15–19, 2023: abstracts book. Houston, 2023. Vol. 13. (*Shchur N. проведено бактеріологічні дослідження зразків, виділено та ідентифіковано ізоляти Campylobacter spp., систематизовано результати досліджень, взято участь у написанні тез. Nedosekov V. здійснено узагальнення отриманих результатів, керівництво з написання тез, підготовлено висновки. Finkova O. виконано статистичну обробку отриманих результатів. Moskalenko L. проведено підготовку зразків до досліджень. Ponomaryova-Gerasimyuk T. підібрано селективні середовища*

для ізоляції *Campylobacter. Lusta M.* проведено тестування на чутливість до АБП).

10. **Щур Н. В.**, Чечет О. М., Горбатюк О. І., Мусієць І. В., Мех Н. Я., Баланчук Л. В., Шалімова Л. О., Тогачинська Л. В. Збудники кампілобактеріозу як представники зоонозів та емерджентних харчових токсикозів. Recent Trends in Science: II Міжнародна науково-практична інтернет-конференція, м. Дніпро, 4–5 травня 2023 року: тези доповіді. Дніпро, 2023. С. 308–310. (Щур Н. В. здійснено підготовку зразків для проведення досліджень, виділено ізоляти *Campylobacter spp.*, визначено мету, актуальність та практичне значення результатів досліджень, проведено узагальнення отриманих результатів, взято участь у написанні тез. Чечет О. М. проведено організацію лабораторних досліджень. Горбатюк О. І. сформульовано наукову новизну. Мусієць І. В. розроблено програму досліджень. Мех Н. Я. виконано статистичну обробку отриманих результатів. Баланчук Л. В. розроблено робочу інструкцію з підготовки зразків для проведення досліджень. Шалімовою Л. О. проведено автоматизований тест TEMPO CAM з системою TEMPO (bioMerieux, Франція) для виявлення та підрахунку термостійких видів *Campylobacter*. Тогачинською Л. В. проведено аналіз літературних джерел).

11. Курята Н., Чечет О., Рубленко І., Горбатюк О., Мусієць І., Бучковська Г., Ординська Д., Мех Н., Баланчук Л., Тогачинська Л., **Щур Н.** Видовий склад та частота виділення серед птиці в Україні коменсальних і зоонозних бактерій з набутою антибіотикорезистентністю. Безпечність та якість харчових продуктів у концепції «Єдине здоров'я»: науково-практична онлайн конференція, м. Львів, 1–2 червня 2023 року: тези доповіді. Львів, 2023. С. 48–49. (Щур Н. В. проведено бактеріологічні дослідження зразків за планових досліджень щодо протимікробної резистентності зоонозних та коменсальних бактерій, виділено та ідентифіковано ізоляти *Campylobacter spp.*, визначено чутливість виділених ізолятів до АБП, систематизовано результати досліджень. Курята Н. В. проведено підготовку зразків до досліджень. Чечет О. М. проведено організацію лабораторних досліджень та

відбір біологічного матеріалу. Рубленко І. О. визначено актуальність, сформульовано наукову новизну. Горбатюк О. І. взято участь у написанні тез. Мусієць І. В. проведено аналіз літературних джерел. Бучковською Г. А. розроблено робочу інструкцію з підготовки зразків для проведення досліджень. Ординською Д. О. розроблено програму досліджень. Мех Н. Я. проведено бактеріологічні дослідження зразків. Баланчук Л. В. виконано статистичну обробку отриманих результатів. Тогачинською Л. В. здійснено підготовку зразків для проведення досліджень).

12. **Shchur N.**, Nedosekov V., Finkova O., Moskalenko L., Ponomaryova-Gerasimyuk T., Lusta M. Optimizing the detection of *Campylobacter* spp. in Ukraine. International Symposium of the World Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Lyon, France, June 29 – July 01, 2023: abstracts book. Lyon, 2023. P. 1. (Shchur N. проведено організацію лабораторних досліджень та відбір біологічного матеріалу, проведено модифікацію методів виділення *Campylobacter* spp., виділено ізоляти *Campylobacter* spp. та ідентифіковано за допомогою методу MALDI-TOF MS на аналізаторі VITEK, взято участь у написанні тез. Nedosekov V. здійснено узагальнення отриманих результатів, керівництво з написання тез, підготовлено висновки. Finkova O. розроблено програму дослідження. Moskalenko L. проведено підготовку зразків до досліджень. Ponomaryova-Gerasimyuk T. підібрано селективні середовища для ізоляції *Campylobacter*. Lusta M. визначено мету, актуальність та практичне значення результатів досліджень).

13. **Щур Н.**, Чечет О., Недосєков В. *Campylobacter* spp. як харчові патогени: аналіз властивостей та індикації. Біобезпека, захист та благополуччя тварин: Міжнародна науково-практична конференція, м. Київ, 28 листопада 2023 року: тези доповіді. Київ, 2023. С. 123–125. (Щур Н. В. проведено аналіз літературних джерел, здійснено підготовку зразків для проведення досліджень, виділено та ідентифіковано ізоляти *Campylobacter* spp., взято участь у написанні тез. Чечет О. М. визначено практичне значення результатів досліджень. Недосєковим В. В. здійснено узагальнення

отриманих результатів, керівництво з написання тез, підготовлено висновки).

14. **Щур Н.**, Чечет О., Луста М., Недосєков В. *Campylobacter* spp. – погляд в концепції «Єдине здоров'я». Найголовніші досягнення у сфері охорони здоров'я та ветеринарії для людства: Міжнародна наукова конференція, м. Рига, 7–8 лютого 2024 року: тези доповіді. Рига, 2024. С. 100–104. (Щур Н. В. проведено аналіз літературних джерел, здійснено підготовку зразків для проведення досліджень, виділено та ідентифіковано ізоляти *Campylobacter* spp., взято участь у написанні тез. Чечет О. М. визначено практичне значення результатів досліджень. Лустою М. В. визначено чутливість виділених ізолятів до АБП. Недосєковим В. В. здійснено узагальнення отриманих результатів, керівництво з написання тез, підготовлено висновки).

15. **Щур Н.**, Недосєков В. Емерджентія ізолятів *Campylobacter*, резистентних до антибіотиків в Україні. Єдине здоров'я – 2024: Міжнародна наукова конференція, м. Київ, 19–20 вересня 2024 року: тези доповіді. Київ, 2024. С. 88–89. (Щур Н. В. проведено аналіз літературних джерел, здійснено підготовку зразків для проведення досліджень, виділено та ідентифіковано ізоляти *Campylobacter* spp., визначено чутливість виділених ізолятів до АБП, взято участь у написанні тез. Недосєковим В. В. визначено практичне значення результатів досліджень, здійснено узагальнення отриманих результатів, керівництво з написання тез, підготовлено висновки).

16. **Shchur N.**, Nedosekov V. Understanding *Campylobacter* Resistance in Ukraine: A Call for a One Health Approach. Актуальні аспекти розвитку ветеринарної медицини в умовах євроінтеграції: II Міжнародна науково-практична конференція науково-педагогічних працівників та молодих науковців, м. Одеса, 17–18 жовтня 2024 року: тези доповіді. Одеса, 2024. С. 165–166. (Shchur N. здійснено підготовку зразків для проведення досліджень, виділено та ідентифіковано ізоляти *Campylobacter* spp., визначено чутливість виділених ізолятів до АБП, систематизовано

результати досліджень, взято участь у написанні тез. Nedosekov V. визначено практичне значення результатів досліджень, актуальність, сформульовано наукову новизну, здійснено узагальнення отриманих результатів, керівництво з написання тез, підготовлено висновки).

17. **Shchur N.,** Nedosekov V., Moshynets O. Biofilm formation in *Campylobacter* spp. as a food safety risk factor. Єдине здоров'я: соціальний вимір» в рамках проекту програми ЄС Еразмус+ Модуль Жана Моне «Інтеграція політики та засад Єдиного здоров'я ЄС в Україні: Міжнародна конференції, м. Київ, 3 грудня 2024 року: тези доповіді. Київ, 2024. С. 13–16. (Shchur N. здійснено підготовку зразків для проведення досліджень, виділено та ідентифіковано ізоляти *Campylobacter* spp., визначено чутливість виділених ізолятів до АБП, вивчено біоплівкоутворювальні властивості кампілобактерій, взято участь у написанні тез. Nedosekov V. систематизовано результати досліджень, визначено практичне значення результатів досліджень, сформульовано наукову новизну, керівництво з написання тез. Moshynets O. здійснено оцінку структури матриксу біоплівок цитохімічним методом, узагальнення отриманих результатів, підготовлено висновки).

(Додаток 1)

МІНЕКОНОМІКИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНА ОРГАНІЗАЦІЯ
«УКРАЇНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ ОФІС
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ ТА ІННОВАЦІЙ»
(УКРНОІВІ)

вул. Глазунова, 1, Київ, 01601, тел.: +380 44 209-27-06, +380 67 501-05-95
e-mail: office@nipo.gov.ua, http://www.nipo.gov.ua, код згідно з ЄДРПОУ 44673629

Розписка про одержання електронної заявки на винахід
Вх. № 317037 Дата одержання 16.03.2023 12:52:28

Номер заявки	а 2023 01092 (в подальшому обов'язково посилатися на цей номер)
Відправник	Національний університет біоресурсів і природокористування України
Назва винаходу	ШТАМ SAMPYLOBASTER JEJUNI 1/22 ДЛЯ ОЦІНКИ БІОЛОГІЧНОЇ ПРИДАТНОСТІ ПОЖИВНИХ СЕРЕДОВИЩ

Подані матеріали

Вх-8538/2023	Заява про видачу патенту на винахід (КМ) <i>заява.index.xml, заява.bibl.xml, заява.pdf, заява.pdf.1.p7s</i>
	Реферат <i>реферат.index.xml, реферат.pdf.1.p7s, реферат.pdf</i>
	Опис винаходу (КМ) <i>опис.index.xml, опис.pdf.1.p7s, опис.pdf</i>
	Формула винаходу (КМ) <i>формула.index.xml, формула.pdf.1.p7s, формула.pdf</i>
	Довіреність <i>довіреність_Ковальчук.index.xml, довіреність_Ковальчук.pdf.1.p7s, довіреність_Ковальчук.pdf</i>

Примітка:
Заявки, які подані в неробочий час, будуть опрацьовані наступного робочого дня.
Якщо подання заявки відбувається у неробочий час, у вихідний або святковий день, датою одержання заявки буде дата наступного робочого дня.
Подана електронна заявка вважається оригіналом. Надсилання паперової копії заявки не вимагається!

Заявка на винахід

- (21) Номер заявки: **а202301092**
- (22) Дата подання заявки: **16.03.2023**
- (41) Дата публікації відомостей про заявку на державну реєстрацію винаходу та номер бюлетеня: **18.09.2024, бюл. № 38/2024**
- (51) Індекс МПК:
C07K14/24
- (54) Назва винаходу (корисної моделі):

**ШТАМ CAMPYLOBACTER JEJUNI 1/22 ДЛЯ ОЦІНКИ
БІОЛОГІЧНОЇ ПРИДАТНОСТІ ПОЖИВНИХ СЕРЕДОВИЩ [UA]**

(71) Заявник:

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ (UA)**

(72) Винахідник:

Щур Наталія Володимирівна (UA)

Мазур Тетяна Василівна (UA)

Виговська Лілія Миколаївна (UA)

Ушкалов Валерій Олександрович (UA)

(98) Адреса для листування: вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ-41, 03041

(Додаток 2)

**Campylobacter coli strain ChP2023, whole genome shotgun sequencing
project**

GenBank: JBEWFL000000000.1

[Go to:](#)

LOCUS JBEWFL010000000 4 rc DNA linear BCT 06-JUL-2024

DEFINITION Campylobacter coli strain ChP2023, whole genome shotgun sequencing project.

ACCESSION JBEWFL000000000

VERSION JBEWFL000000000.1

DBLINK BioProject: [PRJNA1129571](#)
BioSample: [SAMN42162033](#)

KEYWORDS WGS.

SOURCE Campylobacter coli (Campylobacter hyoilei)
ORGANISM [Campylobacter coli](#)
Bacteria; Pseudomonadati; Campylobacterota; Epsilonproteobacteria; Campylobacterales; Campylobacteraceae; Campylobacter.

REFERENCE 1 (bases 1 to 4)
AUTHORS Halka,I., Shchur,N., Bortz,E., Madyhra,S., Nedosekov,V., Goodfellow,I., Drown,D.M. and Kovalenko,G.
TITLE Complete Genome Sequences of Antimicrobial Resistant Campylobacter coli and C. jejuni, Isolated from Poultry in Ukraine
JOURNAL Unpublished

REFERENCE 2 (bases 1 to 4)
AUTHORS Halka,I., Shchur,N., Bortz,E., Madyhra,S., Nedosekov,V., Goodfellow,I., Drown,D.M. and Kovalenko,G.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (28-JUN-2024) Institute of Arctic Biology, University of Alaska Fairbanks, 2140 Koyukuk Dr., Fairbanks, AK 99775, USA

COMMENT The Campylobacter coli whole genome shotgun (WGS) project has the project accession JBEWFL000000000. This version of the project (01) has the accession number JBEWFL010000000, and consists of sequences JBEWFL010000001-JBEWFL010000004. The annotation was added by the NCBI Prokaryotic Genome Annotation

Pipeline (PGAP). Information about PGAP can be found here:
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/annotation_prok/

```
##Genome-Assembly-Data-START##
Assembly Date      :: 11-FEB-2024
Assembly Method    :: flye v. 2.9.3
Genome Representation :: Full
Expected Final Version :: No
Genome Coverage    :: 915x
Sequencing Technology :: Oxford Nanopore GridION
##Genome-Assembly-Data-END##

##Genome-Annotation-Data-START##
Annotation Provider      :: NCBI
Annotation Date          :: 07/01/2024 15:17:11
Annotation Pipeline      :: NCBI Prokaryotic Genome
                        Annotation Pipeline (PGAP)
Annotation Method        :: Best-placed reference
protein                  set; GeneMarkS-2+
Annotation Software revision :: 6.7
Features Annotated       :: Gene; CDS; rRNA; tRNA;
ncRNA
Genes (total)           :: 1,790
CDSs (total)            :: 1,720
Genes (coding)          :: 1,637
CDSs (with protein)     :: 1,637
Genes (RNA)             :: 70
rRNAs                   :: 4, 6, 7 (5S, 16S, 23S)
complete rRNAs          :: 4, 4, 4 (5S, 16S, 23S)
partial rRNAs           :: 2, 3 (16S, 23S)
tRNAs                   :: 50
ncRNAs                  :: 3
Pseudo Genes (total)    :: 83
CDSs (without protein)  :: 83
Pseudo Genes (ambiguous residues) :: 0 of 83
Pseudo Genes (frameshifted) :: 75 of 83
Pseudo Genes (incomplete) :: 9 of 83
Pseudo Genes (internal stop) :: 3 of 83
Pseudo Genes (multiple problems) :: 4 of 83
##Genome-Annotation-Data-END##
FEATURES
    source      Location/Qualifiers
                1..4
                /organism="Campylobacter coli"
                /mol_type="genomic DNA"
                /strain="ChP2023"
                /isolation_source="broiler chicken cecum"
                /db_xref="taxon:195"
                /geo_loc_name="Ukraine: Cherkasy"
                /lat_lon="49.4444 N 32.0598 E"
                /collection_date="2023-05"
                /collected_by="Ihor Halka, NGO One Health Institute,
                Kharkiv, Ukraine"
WGS      JBEWFL010000001-JBEWFL010000004
//
```

Campylobacter jejuni strain KF2023, whole genome shotgun sequencing project

GenBank: JBEWFM000000000.1

[Go to:](#)

LOCUS JBEWFM010000000 9 rc DNA linear BCT 06-JUL-2024

DEFINITION Campylobacter jejuni strain KF2023, whole genome shotgun sequencing project.

ACCESSION JBEWFM000000000

VERSION JBEWFM000000000.1

DBLINK BioProject: [PRJNA1129571](#)
BioSample: [SAMN42162034](#)

KEYWORDS WGS.

SOURCE Campylobacter jejuni

ORGANISM [Campylobacter jejuni](#)
Bacteria; Pseudomonadati; Campylobacterota; Epsilonproteobacteria; Campylobacterales; Campylobacteraceae; Campylobacter.

REFERENCE 1 (bases 1 to 9)

AUTHORS Halka,I., Shchur,N., Bortz,E., Madyhra,S., Nedosekov,V., Goodfellow,I., Drown,D.M. and Kovalenko,G.

TITLE Complete Genome Sequences of Antimicrobial Resistant Campylobacter coli and C. jejuni, Isolated from Poultry in Ukraine

JOURNAL Unpublished

REFERENCE 2 (bases 1 to 9)

AUTHORS Halka,I., Shchur,N., Bortz,E., Madyhra,S., Nedosekov,V., Goodfellow,I., Drown,D.M. and Kovalenko,G.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (28-JUN-2024) Institute of Arctic Biology, University of Alaska Fairbanks, 2140 Koyukuk Dr., Fairbanks, AK 99775, USA

COMMENT The Campylobacter jejuni whole genome shotgun (WGS) project has the project accession JBEWFM000000000. This version of the project (01) has the accession number JBEWFM010000000, and consists of sequences JBEWFM010000001-JBEWFM010000009. The annotation was added by the NCBI Prokaryotic Genome Annotation Pipeline (PGAP). Information about PGAP can be found here: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/annotation_prok/

Annotation

##Genome-Assembly-Data-START##
Assembly Date :: 11-FEB-2024
Assembly Method :: flye v. 2.9.3
Genome Representation :: Full
Expected Final Version :: No
Genome Coverage :: 386x
Sequencing Technology :: Oxford Nanopore GridION
##Genome-Assembly-Data-END##

##Genome-Annotation-Data-START##
Annotation Provider :: NCBI
Annotation Date :: 07/01/2024 15:22:23
Annotation Pipeline :: NCBI Prokaryotic Genome Annotation Pipeline (PGAP)
Annotation Method :: Best-placed reference

protein set; GeneMarkS-2+

Annotation Software revision :: 6.7

```

ncRNA      Features Annotated      :: Gene; CDS; rRNA; tRNA;

Genes (total)      :: 1,833
CDSs (total)      :: 1,770
Genes (coding)    :: 1,663
CDSs (with protein) :: 1,663
Genes (RNA)       :: 63
rRNAs             :: 2, 5, 5 (5S, 16S, 23S)
complete rRNAs    :: 2, 4, 3 (5S, 16S, 23S)
partial rRNAs     :: 1, 2 (16S, 23S)
tRNAs             :: 48
ncRNAs            :: 3
Pseudo Genes (total) :: 107
CDSs (without protein) :: 107
Pseudo Genes (ambiguous residues) :: 0 of 107
Pseudo Genes (frameshifted) :: 89 of 107
Pseudo Genes (incomplete) :: 21 of 107
Pseudo Genes (internal stop) :: 18 of 107
Pseudo Genes (multiple problems) :: 19 of 107
##Genome-Annotation-Data-END##

FEATURES      Location/Qualifiers
  source      1..9
              /organism="Campylobacter jejuni"
              /mol_type="genomic DNA"
              /strain="KF2023"
              /isolation_source="turkey cecum"
              /db_xref="taxon:197"
              /geo_loc_name="Ukraine: Kyiv"
              /lat_lon="50.0530 N 30.7667 E"
              /collection_date="2023-06"
              /collected_by="Ihor Halka, NGO One Health Institute,
              Kharkiv, Ukraine"
WGS           JBFWFM010000001-JBEWFM010000009
//

```

СВІДОЦТВО

про первинне депонування штаму мікроорганізму
в Депозитарії Державного науково-контрольного інституту біотехнології і
штамів мікроорганізмів

Кому видано: Національний університет біоресурсів і природокористування
України

Цим підтверджується, що штам мікроорганізму

Campilobacter jejuni № 1/22

первинно депонований в Депозитарії Державного науково-контрольного
інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів

Реєстраційний номер, наданий штаму мікроорганізму Депозитарієм: **803**

Супроводжувальна документація від депозитора одержана: клопотання,
паспорт, акти

Дата первинного депонування: 18.10.2022

Місце зберігання: Національний університет біоресурсів і
природокористування України, Науково-дослідний інститут здоров'я тварин
03041, м. Київ, вул. Полковника Потехіна, 16



Сергій ПАВЛОВ

Договір № 89

про співробітництво та організацію взаємовідносин

м. Київ

«21» 10 2022 р.

Національний університет біоресурсів і природокористування України (в подальшому - Сторона 1) в особі ректора Ніколаєнка Станіслава Миколайовича, який діє на підставі Статуту, який є неприбутковою організацією з 30.08.2004 р. (код 0031), з однієї сторони, та Комунальне некомерційне підприємство «Міська клінічна лікарня №9» Дніпровської міської ради (в подальшому Сторона 2) в особі генерального директора Фінкової Олени Петрівни, який діє на підставі Статуту, з іншої сторони, (в подальшому разом іменуються Сторони) уклали цей Договір про співробітництво та організацію взаємовідносин (надалі Договір) про наступне:

1. Загальні положення

1.1 Сторони цим договором підтверджують, що інтересам кожної з них відповідає спільна і погоджена реалізація Сторонами проектів у сфері наукової та практичної діяльності (розробка та випробування мікробіологічних методів виділення збудників гострих кишкових інфекцій, що кваліфікуються як емерджентні харчові патогени в т.ч. кампілобактеріоз.

Вивчення:

- культуральних властивостей збудників з подальшою розробкою поживних середовищ;

- умов навколишнього середовища щодо довготривалого зберігання культур;

- резистентності поширених в Україні ізолятів до антимікробних препаратів, тощо) та об'єднання зусиль для забезпечення ефективності та розвитку їх комерційних проектів.

1.2 Сторони зобов'язуються спільно діяти на засадах взаємної вигоди для досягнення спільних господарських цілей у відповідності до статутних завдань та економічних інтересів кожної зі сторін цього Договору.

1.3 У процесі виконання намічених спільних цілей Сторони прагнуть будувати свої взаємовідносини на підставі рівності, чесного партнерства та захисту інтересів один одного.

2. Обов'язки Сторони 2

2.1. Забезпечити організацію роботи бактеріологічної лабораторії в робочих приміщеннях загальною площею 219,8 м², фаховим кваліфікованим медичним персоналом, матеріально-технічним оснащенням сучасного рівня, згідно вимог ДСП 9.9.5-080-2002 «Правила влаштування і безпеки роботи в

Завідуюча кафедри епізоотології, мікробіології і вірусології,
ФВМ кат.н., доцент Мельник В.В.



лабораторіях, відділах (відділеннях) мікробіологічного профілю» (Додаток 1).

2.2. Забезпечити фахівців бактеріологічної лабораторії витратними матеріалам, медичним обладнанням необхідними для проведення діагностичних досліджень від пацієнтів.

2.3. Керівництво лікарні несе відповідальність за високий рівень навчально-виховної та науково-дослідницької роботи, яка проводиться на базі закладу.

2.4. Надання інформації та бази даних результатів мікробіологічних досліджень, напрацьованих фахівцями бактеріологічної лабораторії, щодо проведення бактеріологічних досліджень біологічного матеріалу від пацієнтів з гострими кишковими інфекціями в т.ч. на кампілобактеріоз.

3. Обов'язки Сторони 1

3.1. Впровадження в роботу мікробіологічного методу виділення збудників гострих кишкових інфекцій, що кваліфікуються як емерджентні харчові патогени в т.ч. кампілобактеріоз (за окремим договором).

3.2. Аналіз результатів статистичних даних мікробіологічних досліджень на кампілобактеріоз за період з 2017 року по 2022 рік (за окремим договором).

3.3. Написання та публікація наукових статей (2 статі) в українських наукових періодичних виданнях та зарубіжних журналах, які індексуються у наукометричних базах даних Scopus в співавторстві з керівництвом лікарні та фахівцями бактеріологічної лабораторії (за окремим договором).

4. Організація та оплата праці

4.1 Сторони забезпечуватимуть виконання спільних проектів на безоплатній основі. Цей Договір не передбачає фінансових зобов'язань між Сторонами. У випадку необхідності фінансування спільних проектів між Сторонами укладаються відповідні договори.

5. Строк дії договору

5.1 Даний Договір набуває чинності з моменту його підписання і діє до 31.12.2027р.

6. Особливі умови

6.1 Зміни та доповнення до даного договору приймаються шляхом підписання обома сторонами додаткових угод що мають силу договору.

6.2 Даний договір складено у двох примірниках на аркушах кожний по 1 примірнику для кожної сторони договору, які мають однакову юридичну силу.

6.3 Додаток до даного договору є його невід'ємною частиною складений у двох примірниках, по одному примірнику для кожної сторони.

7. Порядок вирішення спорів

7.1 Усі спори, що пов'язані з цим договором вирішуються шляхом переговорів між сторонами.

Завідувач кафедри епізоотології, мікробіології і вірусології,
ФВМ к.вет.н., доцент Мельник В.В.



7.2 Спори які виникають між сторонами договору вирішуються у порядку встановленому діючим законодавством України.

8. Юридичні адреси сторін

СТОРОНА 1 Національний університет біоресурсів і природокористування України 03041, м. Київ, вул. Героїв Оборони, 15. тел.: (044) 527-82-31; код ЄДРПОУ 00493706  Ректор Степанів НІКОЛАЄНКО «__» _____ 2022р.	СТОРОНА 2 Комунальне некомерційне підприємство «Міська клінічна лікарня №9» Дніпровської міської ради 49023, м. Дніпро, просп. Мануйлівський, 29 тел.: +380567900500 ЄДРПОУ 01984613 адреса електронної пошти: <u>admin.mk19@ukr.net</u>  Генеральний директор Олена ФІНКОВА «__» _____ 2022р.
--	--



Завідувач кафедри епізоотології, мікробіології і вірусології,
ФВМ к.вет.н., доцент Мельник В.В.









НАЦІОНАЛЬНЕ АГЕНТСТВО З АКРЕДИТАЦІЇ УКРАЇНИ

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН УКРАЇНИ З АКРЕДИТАЦІЇ

АТЕСТАТ ПРО АКРЕДИТАЦІЮ



Зареєстрований у Реєстрі

31 серпня 2022 року

за № 20489

дійсний до 30 серпня 2027 року

Дата первинної акредитації: 31 серпня 2006 року

НАЦІОНАЛЬНЕ АГЕНТСТВО З АКРЕДИТАЦІЇ УКРАЇНИ ЦИМ ЗАСВІДЧУЄ
КОМПЕТЕНТНІСТЬ

**Випробувального центру Державного науково-дослідного
інституту з лабораторної діагностики
та ветеринарно-санітарної експертизи**

Місцезнаходження юридичної особи:

03151, м. Київ, вул. Донецька, 30.

Місцезнаходження органу з оцінки відповідності:

03151, м. Київ, вул. Донецька, 30;

03151, м. Київ, вул. Волинська, 12.

0	0	6	9	9	6	9	0
---	---	---	---	---	---	---	---

(Код ЄДРПОУ)

ВІДПОВІДНО ДО ВИМОГ ДСТУ EN ISO/IEC 17025:2019 (EN ISO/IEC 17025:2017, IDT;
ISO/IEC 17025:2017, IDT) У СФЕРІ:

**випробування харчових продуктів, сировини тваринного, рослинного та
біотехнологічного походження, кормів, комбікормів, комбікормової сировини
та вітамінних препаратів, води, ґрунтів за показниками якості та безпеки,
молекулярно-генетичні дослідження; діагностика захворювань заразної
етіології та незаразної патології; визначення санітарно-гігієнічних показників.**

Сфера акредитації визначена додатком до цього атестата.

Додаток є невід'ємною частиною цього атестата і складається з 229 аркушів.

В.о. директора

Сергій ПОПИК

м. Київ, 01133, вул. Генерала Алмазова, 18

Зареєстровано у журналі обліку за № 1345 А

НААУ є підписантом: 1) Угоди EA MLA у сферах «Випробування», «Калібрування», «Сертифікація продукції», «Сертифікація персоналу», «Сертифікація систем менеджменту», «Інспектування» та «Медичні лабораторії»; 2) Угоди ILAC-MRA у сферах «Випробування», «Калібрування», «Інспектування» та «Медичні лабораторії»; 3) Угоди IAF MLA у сферах «Сертифікація продукції», «Сертифікація персоналу», «Сертифікація систем менеджменту».

**ДЕРЖАВНА СЛУЖБА УКРАЇНИ З ПИТАНЬ БЕЗПЕЧНОСТІ
ХАРЧОВИХ ПРОДУКТІВ ТА ЗАХИСТУ СПОЖИВАЧІВ
ДЕРЖАВНИЙ НАУКОВО-ДОСЛІДНИЙ ІНСТИТУТ З ЛАБОРАТОРНОЇ
ДІАГНОСТИКИ ТА ВЕТЕРИНАРНО-САНИТАРНОЇ ЕКСПЕРТИЗИ**



**Науково-практичні рекомендації
з БАКТЕРІОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ
КАМПІЛОБАКТЕРІОЗУ ТВАРИН ТА ПТАХІВ**

КИЇВ-2025