

Fierer J, Swancutt M. Non-typhoid *Salmonella*: a review.
Curr.Clin.Top.Infect.Dis. 2000;20:134-157
Reference ID: 1209

Небрюшнотифозные сальмонеллы: Обзор

Non-typhoid *Salmonella*: A Review

JOSHUA FIERER

MARK SWANCUTT

За последние два десятилетия доля небрюшнотифозных сальмонеллезных инфекций резко возросла. Эта тенденция усилила общественную и профессиональную осведомленность и интерес к этому возбудителю. В течение этого же периода времени много узнали о факторах бактериальной вирулентности и резистентности макроорганизма. Этот обзор рассмотрит некоторые из последних научных открытий, клинические и эпидемиологические события, и это будет кратко резюмировано бактериологией и некоторыми клиническими синдромами, которые могут возникать при небрюшнотифозных сальмонеллезных инфекциях.

НОМЕНКЛАТУРА

Номенклатура для этих бактерий менялась несколько раз за последние 20 лет и все еще не установилась. До последнего времени все сальмонеллы были названы (разделены на виды) на основе схемы типирования Кауфманна-Уайта. Сальмонеллам были даны видовые названия, которые были определены с помощью их О-антигенов [полисахаридный компонент их липополисахаридов (ЛПС)] и их Н-антигенов (жгутик). Сейчас установлено, что обозначение видов не должно основываться на антигенных вариациях. Вместо применения более 2000 видов, которые мы сейчас знаем, род был реорганизован на два вида: *S. bongori* и *S. enterica*. Последний вид разделяется на дополнительные подгруппы (1) (Рисунок 7.1).

Рисунок 7.1. Таксономическое родство различных видов и подтипов сальмонелл на основании родства ДНК. *S. bongori* наиболее отдаленно родственна *S. enterica*. Почти все патогены человека входят в *S. enterica* подвид I. *S. bongori* не имеет генов SPI-1 или SPI-2, или гены плазмиды вирулентности.

Все сальмонеллы, которые выделяются от человека и других теплокровных животных, включая *S. typhi*, входят в *S. enterica* подгруппа I. Другие подгруппы слагаются из серотипов сальмонелл, которые обычно выделяются от хладнокровных хозяев или окружающей среды. Организмы, которые ранее были обозначены *S. arizona* (и ранее классифицировались в род *Arizona*) сейчас входят в *S. enterica* подгруппа III.

S. bongori редко выделяется от людей или животных. Предполагают, что этот вид является предком *S. enterica*, так как он имеет гены для инвазии в эпителиальные клетки, но не имеет островков патогенности, вовлеченных в системные инфекции (как описано ниже в этом обзоре) (2).

Хотя серологически определенные названия больше не приняты в качестве названий видов, некоторые специалисты добавляют их к *S. enterica* как «серовары» или «серотипы», а другие продолжают использовать серологические обозначения в качестве названий видов. Например, организм, который вызывает брюшной тиф, был обозначен *S. typhi*, но сейчас должен называться *S. enterica* серовар Typhi или typhi, или серотип typhi, в зависимости от обычаев, используемых в типизирующем учреждении.

Очевидно, эта утрата согласия в обычаях наименования не является удовлетворительным состоянием. Существование многих названий одного и того же организма запутывает читателей и делает затруднительным поиск литературы. Поскольку не достигнуто общее согласие относительно новой договоренности о названиях, а поскольку большинство клиницистов знакомы со старыми серологически определяемыми названиями, мы будем использовать в этой статье старую номенклатуру.

МИКРОБИОЛОГИЯ

Все сальмонеллы грамотрицательные, неспорообразующие бациллы, которые не ферментируют лактозу (за редким исключением) и являются частью семейства энтеробактерий. Все

человеческие патогены подвижны, за исключением двух серотипов, адаптированных к курам. Хотя сальмонеллы могут использовать цитрат в качестве единственного источника углерода, некоторые из наиболее патогенных серотипов являются ауксотрофами и, таким образом, не могут расти на минимальной цитратной среде. Все сальмонеллы, за исключением *S. typhi*, обильно вырабатывают H₂S из органических сульфгидридных составляющих, которые вызывают их проявление в виде черных колоний на селективной среде, которая содержит соли железа в качестве индикаторов. Сальмонеллы, которые ранее были классифицированы как *S. arizonae*, отличаются от других сальмонелл, будучи малонат-позитивными; хотя они не ферментируют лактозу, большинство изолятов имеют бета-галактозидазу, которая может быть определена с помощью реактива TNPG.

Все лаборатории должны определять O-тип изолятов сальмонелл, используя коммерческие антисыворотки к группам A-G, но только некоторые референсные лаборатории могут выполнять H-типирование. Из-за снижения ресурсов на общественное здравоохранение не все государственные Лаборатории Департамента Здравоохранения пока выполняют серотипирование сальмонелл.

Референс-лаборатория сальмонелл Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) располагается в Пастеровском Институте в Париже во Франции.

ДИАГНОСТИКА

Сальмонеллезный гастроэнтерит диагностируется с помощью культивирования возбудителя из стула. Для этой цели используются несколько сред. Менее селективные среды используют желчь или желчные соли для подавления *E. coli*, лактозу в качестве ферментируемого сахара, индикатор pH и соли железа для определения выработки H₂S. В прошлом было необходимо идентифицировать все лактозо-неферментирующие H₂S-положительные колонии, которые растут на селективном агаре, большинство из которых были не сальмонеллы. Для улучшения специфичности среды культивирования некоторые агаровые среды разработаны для того, чтобы использовать хромогенные субстраты для дифференцирования между сальмонеллами и другими H₂S (+), лактозо-неферментирующими (3, 4). Использование таких сред должно снизить время, требуемое для положительной идентификации сальмонелл в культурах стула с тяжелым бременем бактерий до 24 часов, или 48 часов, если число колоний мало и необходимо пассирование через обогащающий бульон.

Инфекции, вызванные инвазивными сальмонеллами, диагностируются с помощью культивирования бактерий из крови или места инфекции. Антитела к O-антигенам (так называемые лихорадочные агглютинины или тест Видаля) являются неспецифическими для приложения какой-либо диагностической ценности.

Внекишечные сальмонеллезные инфекции диагностируются с помощью культивирования крови или инфицированной ткани. У больных со СПИДом, которые имеют положительные культуры крови, можно допустить, что сальмонеллы являются причиной очаговой внекишечной инфекции, если эти организмы выделяются из самого органа.

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ

В течение последних 20 лет число сообщенных случаев небрюшнотифозных сальмонеллезных инфекций в Соединенных Штатах увеличилось в три раза (5). Установленная ежегодная частота таких инфекций в Соединенных Штатах – 2-4 миллиона случаев. Это оценка довольно груба, так как большинство случаев лихорадочных гастроэнтеритов обходятся без диагностических культур стула, и не обо всех диагностированных случаях сообщается (5).

Хотя все возрастные группы чувствительны к небрюшнотифозным сальмонеллам, дети младше пяти лет имеют наибольшую частоту. Большинство инфекций спорадические (или эндемические), но могут происходить большие вспышки. Инфекции наиболее часто диагностируются в летние месяцы, возможно, из-за большего количества пикников и других случайных употреблений пищи, которые связаны с местными вспышками, имеющими место в течение этого времени года. Эти эпидемии часто имеют высокую частоту и географически сфокусированы, поэтому медицинские специалисты и работники здравоохранения более вероятно исследуют и ставят этиологический диагноз.

Пищевые сальмонеллезные инфекции являются распространенной проблемой, как в развитых, так и в слаборазвитых странах (6). Почти все инфекции приобретаются перорально, хотя они также могут передаваться с помощью контаминированных продуктов крови (7). Контаминация питьевой воды редка в Соединенных Штатах, но когда это происходит, это может приводить к большим вспышкам (8). Поскольку сальмонеллы обнаруживаются в большом многообразии хозяев, включающих насекомых, пресмыкающихся, земноводных, птиц

и млекопитающих, инфекция также может быть приобретена при непосредственном контакте с животными. Описано множество примеров непосредственной передачи сальмонелл от пресмыкающихся или земноводных к маленьким детям (9-12), хотя эта тенденция может представлять либо систематическую ошибку, либо тот факт, что вовлеченные сальмонеллы часто являются редкими серотипами, которые более вероятно будут приводить к эпидемиологическому расследованию.

Сальмонеллы имеют множество возможностей для проникновения в пищевую цепь, поскольку большинство сельскохозяйственных животных могут инфицироваться и мясо может контаминироваться во время забоя, переработки или распространения (13). Кроме того, сальмонеллы совершенно устойчивы к сухому теплу (14), заморозке и низкой pH (15), делая более вероятным то, что эти возбудители будут выживать во время приготовления пищи. Контаминация также может происходить во время приготовления пищи дома; иногда может быть установлен инфицированный зав. продовольственным складом в ресторане, хотя этот тип контаминации не распространен (6, 16, 17).

В последнее время отмечается увеличение инфекций, переносимых с помощью свежих продуктов, как из Соединенных Штатов, так и из Европы (5, 18). Иронически, современные методы массового производства и распространения пищи могут способствовать широкому распространению, даже международному, контаминированной пищи (19-21). Несколько последних сальмонеллезных вспышек в Соединенных Штатах, например, вовлекли тысячи людей (22, 23). Пища, которая не готовится перед употреблением, такая как молоко, сыр, фрукты и овощи, конечно, наиболее вероятно переносит инфекцию, если она становится контаминированной (13, 14, 22, 24, 25).

В 1980х частота инфекций, вызванных *S. enteritidis*, начала расти отчасти от контаминации куриных яиц (26-28). Как результат этой пандемии *S. enteritidis* стала самым распространенным серотипом, выделенным от людей в Соединенных Штатах, вытесняя *S. typhimurium* в первый раз, по крайней мере, за два десятилетия (29) (Таблица 7.1).

Таблица 7.1. Серотипы сальмонелл, выделенные от людей в Соединенных Штатах, 1992

<i>Serotypus</i>	Число изолятов
<i>S. enteritidis</i>	9566
<i>S. typhimurium</i>	9500
<i>S. heidelberg</i>	1998
<i>S. newport</i>	1985
<i>S. montevideo</i>	1227
<i>S. javiana</i>	749
<i>S. oranienburg</i>	689
<i>S. hadar</i>	658
<i>S. agona</i>	606
<i>S. munche</i>	595

Сумма 10 наиболее распространенных серотипов	27,573
<i>S. typhi</i> и <i>paratyphi</i> A, B и C	878
<i>S. cholerae-suis</i>	34
Другие серотипы и нетипируемые	10,649

ИСТОЧНИК: Данные из Центра по Контролю и Профилактике Заболеваний.

До этой пандемии предполагалось, что только поврежденные яйца становятся контаминированными посредством контакта с куриными фекалиями после откладки. Сейчас оказывается, что эта пандемия вовлекает клон *S. enteritidis*, который может инфицировать яичник кур и проходить трансвариально, до образования скорлупы (30, 31). Поскольку сальмонеллы не умирают от низкой температуры, контаминированные яйца всмятку и омлет остаются инфекционными (32, 33). Даже пища, содержащая яйца, которая приготовлена (такая как лазанья) переносит инфекцию (28). Хотя меньше, чем 0.1% яиц контаминированы (27), у людей, которых едят плохо приготовленные или сырые яйца, в два-пять раз вероятнее развитие сальмонеллезного гастроэнтерита (34).

Совсем недавно произошла пандемия, вызванная *S. typhimurium* DT104, которая (ST) связана с некоторыми пищевыми продуктами и примечательна тем, что устойчива ко многим антибиотикам, включающим ампициллин, хлорамфеникол, стрептомицин, сульфаниламиды и тетрациклин (35). В Соединенных Штатах, резервуаром инфекции являются коровы, в первую

очередь мясных пород. Некоторый интерес к этому штамму возник из-за того, что этот штамм наиболее вероятно вызывает кровавую диарею, чем другие сальмонеллы, но он не кажется более инвазивным (36). Гены антибиотикорезистентности в этом штамме, вероятно, кодируются в хромосомных интегронах, а не на R-плазмиде (37, 38). В последние годы у всех сальмонелл повысилась устойчивость к антибиотикам; эта тенденция отражает широкое распространение использования этих или похожих антибиотиков в пище животных (39, 40).

Обычно, департаменты здравоохранения не пытаются установить источник спорадических сальмонеллезных инфекций, пока они не вовлекают редко выделяемые серотипы, поскольку было невозможно отделить эпидемические штаммы распространенных серотипов от эндемических, таких как *S. typhimurium* и *S. enteritidis*. Пульс-электрофорез хромосомных ДНК сейчас может быть использован для различия между клонами, даже, если они имеют одинаковый серотип или фаготип. Этот метод сделал возможным определение вспышек с общим источником, которые проявляются только как эндемические инфекции, обусловленные часто выделяемыми серотипами (21, 41). С помощью этого метода были раскрыты большие международные вспышки, которые происходили от контаминированных бобовых проростков, предположительно от удобрения, использованного фермером на всходах (20, 21). При отсутствии хорошего метода субтипирования эти инфекции не могли бы быть связаны вместе, а источник этих инфекций не мог бы быть обнаружен.

Обычный инкубационный период сальмонеллезного гастроэнтерита – от одного до трех дней, хотя в последней вспышке в половине случаев был более длинный инкубационный период – до пяти дней (20). Хотя некоторые неопределенно сопротивляются инфицирующей дозе сальмонелл в пище, кажется, что есть обратная взаимосвязь между инкубационным периодом и размером инокулята, и обратная корреляция с тяжестью симптомов и длиной инкубационного периода (42). В исследованиях на добровольцах ID_{50} небрюшнотифозных сальмонелл было обнаружено в пределах 10^6 бактерий, хотя этой теме было посвящено сравнительно немного исследований, а эти организмы были плохо описаны (43). В нескольких примерах, где исследователи выращивали имеющую значение пищу или воду, ответственную за вспышку, для определения инфицирующей дозы, менее 10^3 сальмонелл оказалось достаточным для начала инфекции (43).

ПАТОЛОГИЯ И ПАТОГЕНЕЗ

Сальмонеллезные гастроэнтериты преимущественно вовлекают дистальный отдел подвздошной кишки и проксимальный отдел ободочной кишки, возможно, поскольку гены SPI-1 (обсуждаемые позже) активируются при анаэробных условиях (44, 45). Нейтрофилы инфильтрируют кишечную стенку в течение нескольких часов после инфицирования, привлекаясь с помощью ИЛ-8, выработанного энтероцитами в ответ на бактериальную инвазию (46, 47). Наступает диффузный энтерит подвздошной кишки с отеком слизистой и собственной пластинки. Иногда может происходить гиперплазия клеток крипт, абсцессы крипт и эпителиальное изъязвление (48). Лимфоциты и макрофаги становятся преобладающими клетками после первых трех дней.

У мышей сальмонеллы вторгаются в основном через М-клетки в дистальном отделе подвздошной кишки (49). М-клетки – это специализированные энтероциты, которые лежат над конгломератом из лимфоцитов и макрофагов, известных как Пейеровы бляшки. Они, однако, являются не только входными воротами. Сальмонеллы вторгаются в эпителиальные клетки коров (50), и вероятно, что инвазия энтероцитов происходит у большинства животных.

У небольшого процента больных будет развиваться колит, который клинически и радиологически неотличим от острого язвенного колита, но отличается патогенетически (48, 51). Если защитные силы макроорганизма не содержат инфекцию, сальмонеллы будут распространяться в дренирующие мезентеральные лимфатические узлы, и затем в печень и селезенку. Доминирующие клетки в узлах и других внекишечных очагах – это вначале полиморфноядерные лейкоциты (ПМЯЛ), а затем мононуклеарные клетки. Некоторые инфекции будут приводить к образованию абсцесса.

Как кишечный патоген, сальмонеллы должны выживать при воздействии желудочной кислоты, препятствовать лизису желчными солями, проходить через проксимальный отдел тонкой кишки в дистальный отдел подвздошной кишки и проксимальный отдел ободочной кишки, конкурировать с эндогенной бактериальной флорой, прикрепляться к соответствующим эпителиальным клеткам-мишеням, проходить через эпителиальные клетки кишечника в подэпителиальный слой, и, в некоторых случаях, распространяться за пределы кишечника во внекишечные ткани и органы. Так как сальмонеллы являются преуспевающими возбудителями,

они имеют четко развитые специфические механизмы для борьбы с этими проблемами. Сейчас мы сделаем обзор некоторых недавно обнаруженных механизмов.

Последние исследования установили, что для вирулентности требуется, по крайней мере, 4% генома сальмонелл (52). Гены вирулентности не распространены случайно или равномерно по всему геному, однако, скорее расположены в изолированные группы, известные как островки патогенности (53). Островки патогенности на хромосоме обычно фланкированы последовательностями тРНК, что наводит на мысль о том, что тРНК должна обеспечивать место для интеграции чужеродной ДНК и, поэтому, гипотетический механизм для горизонтального генетического переноса между видами и штаммами и последующей эволюции патогенности (53). Эти генные кластеры могут быть на хромосоме и на внехромосомных генетических элементах. Они обычно показывают содержание GC, которое отличается от содержания GC в остальном геноме, показывая, что они были горизонтально перенесены из других родов. Таким образом, кажется, что сальмонелла развилась в патоген в квантовых скачках с помощью приобретения большого числа генов от других микробов. С помощью такого действия этот организм расширяет свою область распространения либо к новым хозяевам, либо к новым (внекишечным) местам внутри макроорганизма.

У сальмонелл обнаружены, по крайней мере, пять островков патогенности (или SPI – островков патогенности сальмонелл). Все серотипы сальмонелл имеют гены SPI-1, которые расположены в центисоме 63 хромосомы *S. typhimurium* и кодируют структурные компоненты системы секреции Inv/Spa, характерную систему секреции III типа (обзор сделан в 54). Мутации в локусе SPI-1 делают сальмонелл менее вирулентными, когда мышью заражают энтерально, но не уменьшают вирулентность, когда заражение происходит внутрибрюшинно (55). SPI-1 кодирует гены, экспрессируемые при контакте с кишечными эпителиальными клетками и в анаэробных условиях.

Некоторые из белков SPI образуют макромолекулярные структуры, которые, на электронных микрофотографиях, кажутся удивительными, подобно миниатюрным подкожным шприцам (56). Функция таких комплексов, по-видимому, ввод других продуктов гена SPI-1 в энтероциты. Белки взаимодействуют с небольшими ГТФазами в энтероцитах для стимулирования цитоскелетных изменений и сморщивания мембраны, что приводит к макропиноцитозу и бактериальной инвазии; они также активируют фактор транскрипции NFκB, который стимулирует синтез хемокинов энтероцитами (57).

SPI-2 также кодирует систему секреции III типа и расположен в центисоме 30 на хромосоме *S. typhimurium*. SPI-2-мутанты не размножаются в культивируемых макрофагах и не растут в печени или селезенке зараженных мышей (58, 59). Экспрессия этих генов вызывается внутри фагосомы макрофага, и эффекторная молекула вводится в макрофаг через мембрану фагосомы в цитозоль, где они препятствуют внутриклеточному везикулярному движению (60).

mtgC и *mtgB*, гены производящие SPI-3, расположены в центисоме 82. Они необходимы для выживания в условиях среды с низким содержанием магния внутри фагосом макрофага (61).

SPI-4, расположенный в центисоме 92, возможно также кодирует систему секреции III типа. Он может вырабатывать цитотоксин (62).

Наконец, SPI-5, расположенный в центисоме 20 на хромосоме *S. typhimurium*, кодирует *sopB*, который связан с секрецией жидкости и воспалительного экссудата в перевязанных петлях подвздошной кишки кролика (63). Сальмонеллезные энтеротоксины не были очищены и не была доказана их токсигенность, однако, существование этих токсинов остается предметом спора.

Некоторые серотипы небрюшнотифозных сальмонелл – большинство из которых адаптированы к домашним животным – имеют плазмиды, которые необходимы для вирулентности у мышей и у их естественных хозяев (64-72). Эти большие плазмиды колеблются в размерах от 30 до 100 килобаз. Хотя каждый серотип сальмонелл содержит свою собственную серотипоспецифическую плазмиду (44, 73), все плазмиды вирулентности содержат консервативный 8-килобазный регион, который кодирует 4-генный оперон, *spvABCD*, и регулятор, *spvR* (64). Экспрессия *spv*-генов вовлекает RpoS, сигма-фактор стационарной фазы и регулятор транскрипции (74). RpoS возможно действует с помощью изменения регуляции *spvR*; соответственно, *rpoS*-мутанты примерно в 1000 раз менее вирулентны, чем дикотиповые сальмонеллы (74). *rpoS* также экспрессируется после проникновения сальмонелл в клетки (75). *S. typhi* не имеет плазмиду вирулентности, и попытки адаптировать *S. typhi* к мышам с помощью добавления плазмиды вирулентности из небрюшнотифозных сальмонелл не имели успеха (76).

Другая важная регуляторная система у сальмонелл – это система PhoP/PhoQ. PhoP и PhoQ образуют двухкомпонентную систему общего ответа, которая довольно распространена у бактерий (77, 78). PhoQ это киназа мембраносвязывающего белка. Она чувствует

периплазматические концентрации магния и кальция; в ответ на низкие концентрации этих двухвалентных катионов, как может быть испытано в пределах фагоцитарной вакуоли, PhoQ фосфорилирует PhoP, которая в свою очередь транскрипционно регулирует (вверх или вниз) множество генов в хромосоме (79). Кислота (pH), кислород, метаболиты азота и фосфат также регулируют систему PhoP/PhoQ. Интактная система требует реализации собственной секреции III, устойчивой к желчи, устойчивой к катионам пептидам, извлеченным из ПМЯЛ и устойчивой к низкому pH эндоцитарной вакуоли макрофага (80). Кроме того, система PhoP/PhoQ управляет генами, которые модифицируют бактериальный липид A, подразумевая, что сальмонеллы имеют измененный липид A in vivo (81).

Защита макроорганизма и приобретенный иммунитет

Защита макроорганизма может быть классифицирована на врожденную и приобретенную. Врожденная защита макроорганизма включает ответы, которые не зависят от предшествующего опыта с возбудителем. Взамен, они надеются на фагоцитирующие и НК-клетки, белки плазмы, которые распознают микробные полисахариды (такие как комплемент и маннозосвязывающий белок) и рецепторы на клетках, которые распознают микробные продукты и сигналы клеток. Врожденные рецепторы связаны с приобретенным иммунным ответом, так как они могут обеспечивать дополнительные сигналы, необходимые для устойчивых ответов антител и Т-клеток, которые, в конечном счете, требуются для излечения от инфекции (82). Приобретенный иммунный ответ состоит из антител и Т-лимфоцитов, которые меняют свои рецепторы для распознавания пептидов в окружении молекул МНС на антиген-проявляющих клетках.

Нейтрофилы показывают сильную бактерицидную активность против сальмонелл in vitro (83-85), процесс, который возможно зависит от сгорания кислорода, которое вызывается НАДФ-оксидазой и вызывается немедленно при фагоцитозе и с помощью ЛПС. Оксидаза синтезирует пероксидный анион, который метаболизируется с помощью супероксид дисмутазы в пероксид водорода. Сальмонеллы пользуются преимуществом периплазматической супероксид дисмутазы и G6PD для своей защиты против продуктов НАДФ-оксидазы (86, 87). Исследователи показали важность ПМЯЛ в защите макроорганизма с помощью создания нейтропении мышей с ПМЯЛ-специфическими моноклональными антителами. Интересно, что нейтропения мышей более чувствительна только у сальмонелл, которые имеют плазмиду вирулентности (88).

У сальмонелл развилась способность расти внутри макрофагов, а мутанты, которые не могут расти в макрофагах, авирулентны для мышей (89). Хотя антимикробная активность макрофагов полностью не ясна, система синтетазы оксида азота (iNOS), которая синтезирует оксид азота, несомненно, важна. Экспрессия iNOS вызывается гамма-интерфероном (IFN- γ), а ЛПС усиливает эту экспрессию. NO может вступать в реакцию с супероксидом для образования пероксинитрита, который затем вступает в реакцию с радикалами тирозина с образованием пероксинитрозотирозина (90). Другие производные радиоактивного NO с коротким периодом полураспада образуются также. Тем не менее, сальмонеллы остаются устойчивы к продуктам NO. В *S. typhimurium* NO объединяется с глутатионом для выработки S-нитрозоглутатиона (GSNO). Затем бактерия преобразовывает GSNO в S-нитрозоцистеинилглицин; это соединение является бактериостатическим для *S. typhimurium* после пермеаз-опосредованного перемещения в бактериальную цитоплазму (91). Мыши, которые имеют мутации в iNOS и НАДФ-оксидазе очень чувствительны к бактериальным инфекциям, включая сальмонеллез, вызванный *S. typhimurium* (92).

Другая важная система макрофагальной защиты вовлекает *Nramp1* (93). Устойчивость к некоторым внутриклеточным возбудителям, особенно сальмонеллам, *Leishmania donovani* и *Mycobacterium bovis*, зависит от *Nramp1*, который является макрофаго-специфичным трансмембранным белком (94, 95). Большинство пород инбредных мышей наследственно чувствительны к инфекции, вызванной этими организмами, вследствие замены одной аминокислоты (глицина или аспартата) в предсказанном трансмембранном регионе (96). Такая же мутация не обнаружена в человеческом гене *Nramp1*, но полиморфизм имеет место в регионе промотора у человека, который влияет на устойчивость к туберкулезу (97). Похожие исследования пока не проводились на больных с сальмонеллезной инфекцией. Хотя точная функция *Nramp1* остается неизвестной, некоторые полагают, что он может быть вовлечен в транспорт двухвалентных катионов через мембраны. Родственный ген *Nramp2*, который имеет 77% гомологию последовательности аминокислот с *Nramp1*, вовлечен в транспорт железа (98).

IFN- γ и TNF- α являются, по большому счету, ответственными за регуляцию провоспалительного ответа на сальмонелл. Оба цитокина вовлечены в активацию фагоцитов (99), хотя трудно доказать, что IFN- γ повышает бактерицидную активность макрофагов in vitro

(100-102). Кроме того, эти цитокины синтезируются в ответ на инфекцию (возможно в ответ на ЛПС, так как ЛПС-устойчивые мыши не вырабатывают эти цитокины и являются более чувствительными к инфекции) (103-105). Назначение экзогенного IFN- γ увеличивает устойчивость мышей к сальмонеллам (106); наоборот, нейтрализация IFN- γ или TNF- α снижает их устойчивость к инфекции (107-110).

Интересно, что ИЛ-4 и ИЛ-10 снижают воспалительный ответ и могут ухудшать инфекцию (111, 112). ИЛ-12 также важен для устойчивости, возможно из-за его роли в способствовании синтеза IFN- γ и развитии Th1 T-клеточного ответа (113). Мутации в рецепторе к IFN- γ и в синтезе ИЛ-12 у детей предрасполагают их к сальмонеллезной инфекции, подтверждая применимость результатов, полученных на инбредных мышах (114, 115).

Инфицированные макроорганизмы вызывают В-клеточный и Т-клеточный ответы на сальмонелл. Большинство из антительных реакций направлено, главным образом, против О-антигенов (липополисахаридов) и Н (жгутиковых) антигенов. Некоторые другие бактериальные составляющие также являются иммуногенными, такие как белки порины (116). Хотя большое число споров возникло относительно значения антител и Т-клеток в защите против сальмонелл; кажется, что они оба играют ключевые роли. Антитела к О-антигенам являются протективными у мышей, которые имеют нормальную функцию *Nramp1* (117), хотя не ясно как работают антитела. Аналогично, антитела к Vi-капсуле *S. typhi* являются протективными у людей (118). Тем не менее, значение клеточного иммунитета не может быть чрезмерно подчеркнута в устойчивости к тому, что по существу является внутриклеточным патогеном. Существенная роль клеточного иммунитета показана с помощью зараженных мышей со специфическими дефицитами. Атимичные мыши более чувствительны, а перенос клеток селезенки может восстановить устойчивость. CD4⁺-дефицитные, но не CD8⁺-дефицитные мыши также более чувствительны к сальмонеллезной инфекции (119). Протективные Т-клеточные антигенные детерминанты, однако, не описаны. Мыши осуществляют CD4⁺ ответы к флагеллину, но этот тип ответа не показал попытку защиты (120).

Ряд аттенуированных мутантов сальмонелл разработан в качестве вероятных вакцин для животных и возможно для людей, но они будут иметь ограниченное применение, потому что ответ является О-группо-специфичным (121-124). Вообще, иммунизация живыми сальмонеллами гораздо более эффективна, чем иммунизация убитыми бактериальными вакцинами, возможно отражающими необходимость в живых бактериях для достаточного стимулирования клеточного иммунитета.

КЛИНИЧЕСКИЕ СИНДРОМЫ

Небрюшнотифозные сальмонеллы вызывают четыре клинических синдрома: гастроэнтерит, бактериемию, брюшной тиф и бессимптомное выделение с калом.

Гастроэнтерит

Гастроэнтериты, наиболее частое проявление сальмонеллезной инфекции, клинически неразлично от бактериальных гастроэнтеритов, вызванных кампилобактером и иерсиниями. Почти все серотипы сальмонелл, принадлежащие к подгруппе I, могут вызывать гастроэнтериты. Первые симптомы сальмонеллезного гастроэнтерита – это тошнота и рвота (особенно у детей), которые обычно уменьшаются в течение нескольких часов. За этими симптомами следуют боли в околопупочной и правой подвздошных областях и диарея, которая обычно водянистая, но может быть явно кровавая по характеру с позывами на дефекацию и тенезмами (125). Тот кал, который явно не кровавый, часто дает положительный тест на скрытую кровь, и он почти всегда включает фекальные лейкоциты. Боль у больного может быть спутана с острым аппендицитом и наводит на мысль о сосуществовании мезентерального аденита, который иногда описывается (126). У большинства больных была лихорадка от 38°C до 39°C. Кроме того, у них было повышенное содержание лейкоцитов со сдвигом влево. Гастроэнтерит купируется сам в нормальном организме и обычно разрешается за четыре-шесть дней, хотя некоторые больные остаются больными до 14 дней (42). Примерно 5% больных с гастроэнтеритами – наиболее часто дети до двух лет и пожилые – имеют положительные культуры крови.

Ряд факторов макроорганизма влияют на чувствительность к небрюшнотифозной сальмонеллезной инфекции, как на кишечном, так и на системном уровне (Таблица 7.2).

Таблица 7.2. Предрасполагающие факторы к сальмонеллезной инфекции

I. Желудочно-кишечные

- A. Ахлоргидрия, естественная или ятрогенная

- В. Преждевременное применение антибиотиков
 - С. Лекарства, препятствующие подвижности
- II. Системные
- А. СПИД
 - В. Лимфомы
 - С. Гемолитические анемии (перегрузка железом)
 - Д. Системная красная волчанка
 - Е. Кортикостероиды
 - Ф. Пересадка органов
 - Г. Врожденный дефицит γ -интерферона и ИЛ-12 или их рецепторов
 - Н. Шистосомоз

Все условия, которые снижают кислотность желудка, делают людей более чувствительными к инфекции (127). Интересно, что предшествующее или сопутствующее использование антибиотиков также оказывается фактором риска (18, 22, 128). Этот повышенный риск может отражать уничтожение какой-либо конкурирующей бактериальной флоры в кишечнике, которая, как экспериментально доказано, имеет место у мышей и свиней (129).

БАКТЕРИЕМИЯ

Большинство серотипов небрюшнотифозных сальмонелл подгруппы I также могут вызывать первичную бактериемию (положительные культуры крови в отсутствие диареи) и внекишечные инфекции, но только несколько высоко инвазивны (130, 131). Плазмиды вирулентности обнаружены во всех клинических изолятах двух наиболее инвазивных серотипов (*S. choleraesuis* и *S. dublin*) и почти во всех *S. typhimurium* и *S. enteritidis*, которые выделены при системных инфекциях. В отсутствие эпидемии, однако, только какие-то 50% фекальных изолятов *S. typhimurium* и *S. enteritidis* несут плазмиды вирулентности (132, 133). Все плазмиды вирулентности включают высоко консервативные *spv*-гены, которые необходимы сальмонеллам для вызывания смертельных инфекций у мышей (44). Независимо от серотипа, который вызывает бактериемию, 10-20% случаев будет осложняться внекишечным очагом инфекции (125, 134, 135).

Хотя *S. choleraesuis* кажется способна вызывать инвазивные инфекции у ранее здоровых людей (125, 136), бактериемия, обусловленная другими серотипами, обычно встречается у людей с предрасполагающими иммуносупрессивными заболеваниями или гемолитической анемией. Состояния, которые характеризуются подавлением Т-клеточного иммунитета – включающие болезнь Ходжкина, СПИД, СКВ и иммуносупрессию при трансплантации – связаны с сальмонеллезной бактериемией (137-139)(см. Таблицу 7.2). Наиболее интересно, что недавно описанные врожденные дефекты в сигнализировании γ -интерферона и ИЛ-12 связаны с сальмонеллезными инфекциями (115, 140). Состояния, которые приводят к перегрузке железа, также предрасполагают людей к сальмонеллезной бактериемии (141). Серповидноклеточная анемия является наиболее распространенным предрасполагающим заболеванием у больных с сальмонеллезным остеомиелитом. Дети с хроническим гранулематозом (врожденным заболеванием) также имеют высокую частоту сальмонеллезных инфекций (142), означающей, что окислительное сгорание является важной защитой макроорганизма против этих бактерий. Эта гипотеза была подтверждена на мышах (92).

Внекишечные инфекции обычно проявляются как внутрисосудистые, менингеальные, костные или мочевыводящие инфекции. Внутрисосудистые инфекции обычно принимают форму микозных аневризм крупных сосудов [брюшная аорта – наиболее частое место инфицирования, но некоторые случаются в грудной аорте (143)], которые были ранее повреждены атеросклерозом (144-146). Микозная аневризма должна подозреваться у любого иммунодефицитного больного, который достаточно стар для атеросклеротической брюшной аневризмы и имеет сальмонеллезную бактериемию при отсутствии диареи или других локализованных жалоб (145). Важно учитывать эту инфекцию, поскольку без хирургии сальмонеллезные микозные аневризмы фатальны без исключений вследствие разрыва аневризмы (144). Классическая триада - лихорадка, боль в пояснице и пальпируемая мягкая масса присутствует у менее половины всех больных. Лучшие диагностические методы – это КТ или ЯМР-сканирование брюшной полости. Сканирование лейкоцитов или галлием также может быть полезным для локализации инфекции. Клапанный эндокардит, вызванный сальмонеллами, это редкость – проявляется только при 0.3% всех сальмонеллезных инфекций (125) – и в трех четвертях всех случаев имеется предрасполагающие клапанные нарушения (147).

Остеомиелит – это относительно частое проявление сальмонеллезной инфекции и наиболее частая причина инфекций кости у больных серповидноклеточной анемией (148). Большинство описанных случаев сальмонеллезного остеомиелита вовлекают длинные кости у младших детей с серповидноклеточной анемией (149). У взрослых с серповидноклеточной анемией остеомиелит позвонков наиболее частое проявление инфекций кости. Септический артрит, обычно вызываемый *S. typhimurium*, обычно принимает форму односуставной инфекции, которая вовлекает в первую очередь коленные и бедренные, иногда в связке с инфекцией прилегающей кости (150). Наиболее частым проявлением заболеваний суставов является полиартрит, который следует за сальмонеллезным гастроэнтеритом в течение 10-14 дней. Форма реактивного артрита (т.е. синдрома Рейтера) иммунологически зависит и связана с HLA B27 (150). Больные с этим состоянием не имеют живых бактерий в их суставах, а лечение антибиотиками не имеет никакой ценности. Эта трудность часто наблюдается у ВИЧ-инфицированных больных.

Сальмонеллезные менингиты наиболее распространены у детей меньше одного года (151). Даже в этой возрастной группе, однако, является причиной менее 2% всех случаев менингита. Во всех возрастных группах менингит является очень серьезной инфекцией с высокой смертностью. В Африке более 50% таких инфекций являются фатальными; в развитом мире смертность приближается к 30%. Высокая смертность частично обусловлена гнойными осложнениями, такими как субдуральная эмпиема (152, 153). Рецидив также должен побуждать к поиску очагового внутричерепного абсцесса (154). Осложнения у выживших, такие как припадки и гидроцефалия, могут быть огромными (155). Абсцесс мозга – редкое осложнение сальмонеллезной бактериемии и должно лечиться комбинированным медицинским и хирургическим лечением, если это возможно (152).

Мочеполовые пути инфицируются приблизительно в 5% небрюшнотифозных сальмонеллезных инфекций (125, 150). Больные с предсуществующими камнями и обструктивными уropатиями предрасполагают к этой инфекции (156, 157). Некоторые случаи по-видимому представляют восходящую инфекцию из кишечника, часто у лиц с бессимптомной желудочно-кишечной инфекцией, несмотря на то, что инфекции у людей наиболее вероятно являются гематогенными (158, 159). Также может иметь место изолированный сальмонеллезный простатит, например, в качестве инфекции предсуществующих почечно-клеточных карцином (125, 158). Сальмонеллезные инфекции легких и мягких тканей редки. Иногда инфицируются злокачественные опухоли любой локализации, включающие грудную клетку (150, 160), возможно, потому что они инфильтрированы макрофагами.

Больные со СПИДом имеют около 100 больше частоту небрюшнотифозной сальмонеллезной бактериемии, чем больные без СПИДа (138). Нередко сальмонеллезная бактериемия проявляется при СПИДе (138, 161, 162). В Африке частота небрюшнотифозной сальмонеллезной бактериемии увеличивается ввиду того, что снижается количество CD4+ Т-клеток; при 200-500 клетках/мм³ – частота 5/1000 человек в год, и при менее 200 клеток/мм³ – 75/1000 человек в год (163). Большинство системных сальмонеллезных инфекций при СПИДе вызваны теми же инвазивными серотипами, которыми инфицированы больные без СПИДа (138, 161, 162). По неизвестным причинам, СПИД не повышает риск брюшного тифа (164). Метастатические инфекции наблюдаются с примерно такой же частотой у больных СПИДом, как и в других группах иммунодепрессированных больных, но могут вовлекать необычные места, такие как мышцы (165). Описаны менингит и абсцесс мозга (166, 167). Рецидивирующая бактериемия даже после продолжительного лечения особенно мучительна у больных СПИДом (138, 162, 168, 169), и некоторым может потребоваться пожизненная супрессивная терапия для профилактики рецидивов. Хотя должен быть сделан тщательный поиск скрытого очага инфекции, большинство из этих больных не имеют обнаружимый очаг инфекции и, по-видимому, их кровь инфицируется из лимфатических узлов и Пейеровых бляшек.

Брюшной тиф

Брюшной тиф обычно обусловлен *S. typhi*, но иногда может быть вызвана небрюшнотифозными сальмонеллами. Больные с этим клиническим синдромом имеют продолжительную лихорадку и гепатоспленомегалию, но не диарею. Они могут болеть до четырех недель, но это заболевание обычно легче, чем брюшной тиф (135, 170). У больных с шистосомозом наиболее вероятен этот синдром, а также испытание продолжительных и атипичных проявлений брюшного тифа (171, 172). Сальмонеллы прилипают к внутрисосудистым зубцам к внутрисосудистому сосальщику, что бы привело к прямому инфицированию кровотока (173).

Бессимптомное выделение с калом

Бессимптомное выделение сальмонелл с калом обычно обнаруживается как результат эпидемиологического исследования людей, вовлеченных во вспышку с общим источником. Хотя частота бессимптомных инфекций остается неизвестной, возможно бессимптомных инфекций столько же, сколько и симптомных (174). Кроме того, это нередко для кого-нибудь с проявлением метастатической инфекции при отсутствии диареи в анамнезе, которая представляет не прямое доказательство бессимптомной кишечной инфекции (125, 174).

Люди продолжают выделять сальмонелл с калом три-четыре недели после симптомной или бессимптомной инфекции (174). Примерно 90% случаев культурно-негативны на протяжении девяти недель, но состояние выздоравливающего носителя продолжается с помощью применения антибиотиков (21). Дети выделяют сальмонелл даже более продолжительный период, чем взрослые (60% имеют положительные культуры в течение 20 недель), который может увеличивать риск распространения инфекции от человека к человеку в дневных детских садах (175, 176). Только 3% больных с брюшным тифом становятся хроническими носителями, несмотря на то, что носительство очень редко при небрюшнотифозных сальмонеллезных инфекциях.

ЛЕЧЕНИЕ

Сальмонеллы, в сущности, чувствительны к большинству антибиотиков, которые подавляют грамотрицательные бактерии, но только некоторые из этих лекарств пригодны для лечения сальмонеллезных инфекций (Таблица 7.3).

Таблица 7.3. Антибиотики, используемые в лечении сальмонеллезной инфекции

Перорально

Ампициллин

Амоксициллин

Хлорамфеникол

Триметоприм-сульфаметоксазол

Фторхинолоны

Парентерально

Цефалоспорины третьего поколения

Имипинем

Утрата эффективности аминогликозидов обычно объясняется их неспособностью входить в макрофаги, объяснение чего подтверждается эффективностью липосомальных аминогликозидов в экспериментальной инфекции (177). Не ясно, почему ампициллин активен *in vivo*, а цефалоспорины первого поколения нет.

К сожалению, распространенность антибиотикоустойчивых сальмонелл увеличивается, даже содействуя снижению нашего лечебного выбора. Устойчивость описана даже для двух новейших классов лекарств, используемых против сальмонелл. В Англии в 1995 у 6% всех сальмонелл доказана устойчивость к фторхинолонам (178, 179). Сальмонеллы также могут приобретать устойчивость к цефалоспорином третьего поколения в силу R-плазмид, которые кодируют бета-лактамазы широкого спектра (ESBL) (180). Как отмечалось выше, полирезистентные штаммы *S. typhimurium*, называемые DT104, недавно появились как основная причина пищевых вспышек в Соединенных Штатах и Европе. Таким образом, необходимо, чтобы все изоляты сальмонелл тестировались на чувствительность к противомикробным препаратам с помощью методов, которые будут определять ESBL.

В нормальных микроорганизмах нет нужды в лечении неосложненных сальмонеллезных гастроэнтеритов антибиотиками, так как это самокупирующееся состояние. Лечение потенциально эффективными лекарствами, такими как ампициллином, триметоприм-сульфаметоксазолом и хлорамфениколом, не укорачивают продолжительность заболевания. Более того, назначаемое лечение может даже продлевать носительство выздоравливающих (181, 182). Некоторые разногласия возникли в отношении укорочения фторхинолонами длительности заболевания, но при некоторых небольших вспышках они имели недостаточные или вообще никакие лечебные эффекты (183-185). Подобным образом, ципрофлоксацин не укорачивает длительность заболевания или выделение бактерий в контролируемом испытании (182), в противоположность их впечатляющим эффектам при лечении шигеллеза (186). На практике, большинство больных лихорадочными гастроэнтеритами эмпирически лечат фторхинолонами, хотя не существует исследований, подтверждающих эту практику.

Люди с сальмонеллезным гастроэнтеритом, у которых высокий риск осложнений (смотри Таблицу 7.1) или которые сильно болеют кровавой диареей и лихорадкой, должны лечиться фторхинолонами на протяжении пяти дней, потому что они могут иметь явный колит (51). Некоторые полагают, что больные старше 65 лет должны лечиться из-за высокой частоты смертей и осложнений в этой группе, но никто не установил, будет ли лечение снижать частоту осложнений (187). Даже после 14 дней лечения высокая доля больных СПИДом будет испытывать рецидивирующую бактериемию (162). Анекдотичные сообщения показали, что ципрофлоксацин снижает риск рецидива, но эта гипотеза не подтверждена в контролируемом испытании, и конечно недостаточна для лечения ципрофлоксацином (169).

Лечение очаговых внекишечных сальмонеллезных инфекций часто требует сочетание хирургического и антибактериального лечения. Большинство угрожающих жизни внекишечных инфекций – это инфекции эндотелия и менингиты. Микотические аневризмы – осложнение предшествующих атеросклеротических аневризм – по большей части имеют место в инфраренальном отделе аорты, но могут появляться в грудной аорте или других крупных артериях (188). Распространенная ошибка в тактике – это лечение сальмонеллезной бактериемии у престарелых одним антибиотиком и отсутствие поиска внутрисосудистой инфекции, который будет обнаружен у 25% больных старше 50 лет (146). Брюшные микотические аневризмы должны быть резецированы; иначе, бактериемия будет рецидивировать, и аневризма может разорваться. Хотя стандартное хирургическое лечение – это резекция брюшной аневризмы и вставка экстракорпорального обходного протеза, Wang и соавт. показали, что безопасно вставить протез в инфицированную аорту (144). В их работах, 70% больных были вылечены с помощью этой операции и продолжительного курса цефалоспоринов третьего поколения, вводимых внутривенно, с последующим пероральным приемом антибиотиков на протяжении нескольких месяцев.

Одно медицинское лечение имеет высокую частоту смертности, но может быть только альтернативным, когда вовлечена дуга аорты. Сальмонеллезный эндокардит является очень редким, чтобы узнать, какое назначать оптимальное лечение. Тем не менее, частота одного лечения антибиотиками ниже, чем при антибиотикотерапии в сочетании с хирургическим лечением (150). Более лучшие результаты могут быть получены путем применения цефалоспоринов третьего поколения и фторхинолонов (189, 190). Описано только несколько случаев сальмонеллезного эндокардита, вовлекающего протезированные клапаны, и у большинства были плохие исходы (191). Новейшие бактерицидные антибиотики могут улучшить перспективу для этих больных (191, 192).

До тех пор пока не появились цефалоспорины третьего поколения, менингит лечили главным образом хлорамфениколом (153). Хотя не выполнялись контрольные исследования, новейшие цефалоспорины являются бактерицидными и имеют такие низкие МИК для сальмонелл, что их уровень в СМЖ достаточен, несмотря на то, что бактерии устойчивы. Триметоприм-сульфа представляет другой выбор, если микроорганизмы чувствительны (193). Лечение этим препаратом должно продолжаться четыре-шесть недель, чтобы предотвратить рецидив (154). Очаговые инфекции, которые требуют хирургического дренирования, должны искаться и дренироваться, если обнаружены.

ПРОФИЛАКТИКА

Главный путь профилактики сальмонеллезной инфекции – это обеспечение снабжением безопасной питьевой водой и обеспечение реализации неконтаминированных пищевых продуктов. Большинство департаментов здравоохранения запрещают зав. продовольственными складами работать в коммерческих организациях, если они выделяют сальмонелл с калом. К сожалению, поскольку большинство зав. продовольственными складами, которые инфицированы сальмонеллами не будут инфицированы как таковые, принятие этой стратегии не будет значительно снижать риск контаминации пищи (16, 17). Сальмонеллы часто выделяются с калом несколько недель после инфекции, а антибактериальное лечение не укорачивает носительство, но может, как ни странно, продлевать выделение (181).

Слишком чувствительные больные, со СПИДом, лимфомами или с пересаженными органами, должны быть уведомлены о том, что пищевые продукты имеют высокий риск переноса сальмонелл. Более того, они должны быть предостережены насчет так называемой здоровой пищи типа сырого молока (194, 195) и порошка гремучей змеи, которые продают как народные средства (196). Большинство больных сальмонеллезной бактериемией имеют менее 200 CD4+ Т-клеток. Так как большинство сальмонелл чувствительны к триметоприм-сульфаметоксазолу и АЗТ, назначение этих препаратов может предупредить инфекцию (197).

Пища не является стерильной, поэтому всегда будет оставаться определенный риск сальмонеллезной инфекции, связанной с употреблением пищи. Тем не менее, некоторые вещи могут покончить со снижением риска инфицирования. Молоко должно быть пастеризовано перед употреблением, особенно сейчас, потому что *S. dublin* внедрена в стада в Соединенных Штатах (198-200). Яйца, которые могут быть контаминированы изнутри или снаружи, должны быть приготовлены до тех пор, пока они не повреждены (32, 33). Несколько госпитальных вспышек сальмонеллезной инфекции произошли от сырых яиц, приготовленных в качестве пищевых добавок, поэтому важно, чтобы больничные диетологи осознавали риск, связанный с сырыми яйцами (201, 202). Мясо должно быть достаточно приготовлено, чтобы убить бактерий, и должно храниться в холодильнике, если не съедается сразу. Проблема контаминации сальмонеллами пищевых продуктов возможно не будет решена до тех пор пока не произойдет технологический прорыв в стерилизации пищи или быстрого определения контаминации раньше распространения.