

5. Шубин Ф.Н., Кузнецова Н.А., Ковальчук Н.И. и др. Микробиологический мониторинг за *Salmonella enteritidis* в Приморском крае. Характеристика заболеваемости, вызванной различными плазмидоварами микроба, во Владивостоке. Эпидемиол. инфекц. бол. 2002, 1: 40 — 43.
6. Kado C.I., Liu S.T. Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids. J. Bacteriol. 1981, 145: 1365 — 1373.
7. Lukinmaa S., Schildt R., Rinttila T. et al. *Salmonella Enteritidis* Phage Types 1 and 4: Phenotypic and Genotypic Epidemiology of Recent Outbreaks in Finland. J. Clin. Microbiol. 1999, 7: 2176 — 2182.
8. Millemann Y., Lesage M., Chaslus-Dancla E. et al. Value of plasmid profiling, ribotyping, and detection of IS200 for tracing avian isolates of *Salmonella typhimurium* and *S. enteritidis*. Ibid. 1995, 33: 173 — 179.
9. Rivera M.J., Rivera N., Castillo J. et al. Molecular and epidemiological study of *Salmonella* clinical isolates. Ibid. 1991, 29: 927 — 932.
10. Rodrigue D. C., Tauxe R. V., Rowe B. International increase in *Salmonella enteritidis*: A new pandemic? Epidemiol. Infect. 1990, 3: 21 — 27.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2006

А.В. Раков, Ф.Н. Шубин, Н.А. Кузнецова,
В.А. Иванис, Г.М. Шкляр

A.V. Rakov, F.N. Shubin, N.A. Kuznetsova,
V.A. Ivanis, G.M. Shklyar

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ШТАММОВ *SALMONELLA ENTERITIDIS*, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ БОЛЬНЫХ СИСТЕМНОЙ САЛЬМОНЕЛЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

COMPARATIVE ANALYSIS OF *SALMONELLA ENTERITIDIS* STRAINS ISOLATED FROM PATIENTS WITH SYSTEMIC *SALMONELLA* INFECTION

НИИ эпидемиологии и микробиологии СО РАМН, Медицинский университет, Городская клиническая инфекционная больница № 1, Владивосток

Research Institute of Epidemiology and Microbiology, State Medical University, City Clinical Infectious Hospital No. 1, Vladivostok, Russia

Проведен сравнительный анализ штаммов *Salmonella enteritidis*, выделенных от больных сальмонеллезом гастроинтестинальной формы и системной инфекцией (бактериемия и генерализованная форма). Системная сальмонеллезная инфекция вызывается *S. enteritidis*, играющей ведущую роль в этиологии болезни. Вместе с тем, она может вызываться различными плазмидоварами *S. enteritidis*, играющими основную и второстепенную роль в этиологии локализованной гастроинтестинальной формы инфекции. Штаммы микроба, изолированные от больных с системной сальмонеллезной инфекцией, не отличаются от штаммов, выделенных от больных с гастроинтестинальной формой без бактериемии, по биохимическим и серологическим признакам, по антибиотикограмме и плазмидному спектру. В развитии гастроинтестинальной формы с бактериемией и генерализованной формы сальмонеллезной инфекции определяющую роль играют особенности не микроорганизма, а макроорганизма.

The comparative analysis of *Salmonella enteritidis* strains isolated from patients with gastrointestinal form, systemic infection with bacteremia and generalized form was carried out. *S. enteritidis* causing systemic *Salmonella* infection performs the leading role in the etiology of the disease. The infection can be caused by various *S. enteritidis* plasmidovars, having the basic and supporting roles in etiology of the local gastrointestinal form. The strains isolated from patients with systemic *Salmonella* infection did not vary from the ones isolated from patients with gastrointestinal form without bacteremia by biochemical and serological features, antibiotic resistance patterns and plasmid profile. The definitive role in development of gastrointestinal form with bacteremia and generalised form of *Salmonella* infection plays macroorganism features but microorganism ones.

Журн. микробиол., 2006, № 3,
Приложение, С. 36—39

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2006, No. 3,
Supplement, P. 36—39

Ключевые слова: *Salmonella enteritidis*, плазмидный анализ, бактериемия, гастроинтестинальная форма, генерализованная форма

Key words: *Salmonella enteritidis*, plasmid analysis, bacteremia, gastrointestinal form, generalized form

ВВЕДЕНИЕ

Отечественная клиническая классификация разграничивает сальмонеллез на три формы: гастроинтестинальную, генерализованную и бактерионосительство. При этом генерализованная форма включает тифоподобный и септикопиемический варианты течения

инфекции. За рубежом в отдельную группу выделяется экстраинтестинальный (внекишечный) сальмонеллез, который включает в себя бактериемии, септицемию и очаговые формы [8]. Бактериемия может проявляться при гастроинтестинальной форме, а при генерализованной она является обязательным

признаком. Частота выявления внекишечного сальмонеллеза по данным различных авторов варьирует [8, 9]. Возникновение внекишечного сальмонеллеза связывается с наличием сальмонелл особых сероваров. Наиболее часто это: *Salmonella choleraesuis* [3, 5], *S.typhimurium* [3, 9], *S.enteritidis* [9]. Так, в странах Юго-Восточной Азии (Тайвань, Таиланд) высокая частота системной сальмонеллезной инфекции связывается с *S.choleraesuis* [3, 5]. Несмотря на то, что *S.enteritidis* в настоящее время является основным возбудителем сальмонеллеза, ее значимость в развитии системной сальмонеллезной инфекции изучена недостаточно. Целью данного исследования является сравнительный анализ штаммов *S.enteritidis*, выделенных от больных сальмонеллезом гастроинтестинальной формы и системной инфекцией (бактериемия и генерализованная форма инфекции).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе исследованы штаммы *S.enteritidis*, выделенные от 2034 больных сальмонеллезом за 1996 — 2004 гг. в трех стационарах Приморского края, в том числе у 9 больных штаммы изолированы из крови и других биологических жидкостей, а у остальных — из фекалий. Выделение сальмонелл из различных биологических субстратов (кал, кровь, ликвор, гной) и их идентификацию проводили, как описано ранее [2]. Антибиотикочувствительность 38 штаммов исследована методом диффузии в агар. Исследована чувствительность сальмонелл к пенициллинам, цефалоспорином, аминогликозидам, тетрациклином, полимиксином и фторхинолоном. Плазмидные ДНК выделяли по методу Kado и Liu [7]. Электрофорез плазмидных ДНК, визуализацию и определение молекулярной массы плазмид проводили, как описано ранее [1]. Полимеразную цепную реакцию на присутствие гена *spvC* проводили по методике [4] у 34 штаммов *S.enteritidis*. Достоверность результатов обработана по критериям Стьюдента и χ^2 .

РЕЗУЛЬТАТЫ

Основной формой сальмонеллезной инфекции, вызванной *S.enteritidis*, в Приморском крае является гастроинтестинальная. За исследуемый период выявлено 6 случаев гастроинтестинальной формы болезни с бактериемией. У двух больных было тяжелое течение болезни, а у четырех — средней степени тяжести. Генерализованная форма выявлена у трех больных.

Исследование штаммов *S.enteritidis*, выделенных от 2025 больных гастроинтестинальной формой сальмонеллеза, протекающей без бактериемии, показало, что на протяжении всех девяти лет исследований в трех инфекционных стационарах Приморского края популяция возбудителя представлена 57 плазмидными вариантами. Частота встречаемости их варьирует. Наиболее часто выявляемы у больных были штаммы 11 плазмидных

вариантов *S.enteritidis*, которые отнесены к основным. В структуре основных плазмидоваров *S.enteritidis* доминировали плазмидовары со спектром 38:1,4 MDa, 38 MDa и 38:2,3 MDa. Данные штаммы имели этиологическое значение у 67,3% больных. Наиболее часто от больных выделялись штаммы плазмидовара 38:1,4 MDa, и доля этих больных в структуре заболевших составила 40,8%. Вторыми явились штаммы плазмидовара 38 MDa. Доля больных, у которых их выделили, составила 17,8% (различия достоверны, $p < 0,001$). Третьими по частоте встречаемости были штаммы со спектром плазмид 38:2,3 MDa, которые выявлены у 8,7% больных (различия достоверны, $p < 0,001$). Этиологическая значимость штаммов остальных восьми плазмидоваров в развитии сальмонеллеза колебалась от 0,8% для штаммов плазмидовара 38:2,6 MDa до 8,5% для штаммов плазмидовара 38:4,2 MDa.

Штаммы редко выявляемых плазмидоваров *S.enteritidis* выделены от 129 больных. Главная их особенность состоит в том, что все они, кроме серовароспецифической плазмиды массой 38 MDa, содержали другие плазмиды, что позволяло их дифференцировать друг от друга. У большинства больных (87 человек) выделены штаммы микроба, у которых дополнительно имелись от 1 до 3 плазмид более низкой молекулярной массы (от 1,9 MDa до 35 MDa). Кроме того, у штаммов *S.enteritidis*, выделенных от 42 больных, наряду с плазмидой 38 MDa и низкомолекулярными присутствовали высокомолекулярные плазмиды массой от 50 до 95 MDa. В целом штаммы каждого из этих плазмидоваров не имели существенной значимости в этиологии сальмонеллеза.

Отдельную группу составили плазмидовары *S.enteritidis*, не содержащие серовароспецифической плазмиды массой 38 MDa, выделенные от 56 больных (2,8%). Основную часть составили штаммы, не содержащие плазмид, а также штаммы плазмидоваров 1,4 MDa и 2,3 MDa, выявленные у 45 больных. Штаммы *S.enteritidis*, выделенные у 11 больных, содержали плазмиды массой от 3,0 MDa до 70 MDa. Для доказательства отсутствия в этих штаммах плазмиды вирулентности было исследовано присутствие в них *spvC*-гена с помощью полимеразной цепной реакции, где праймеры были подобраны к фрагменту *spvC*-гена плазмиды вирулентности массой 38 MDa. Были исследованы штаммы различных плазмидоваров от 24 больных, не содержащие плазмиду массой 38 MDa (без плазмид, 1,4 MDa, 2,3 MDa, и другие). Все эти штаммы не амплифицировали целевой фрагмент массой 571 п.о., содержащийся в гене *spvC*, что указывало на отсутствие плазмиды вирулентности в изучаемых штаммах *S.enteritidis*. Контрольная группа из 10 штаммов различных плазмидоваров, содер-

жащих плазмиду 38 MDa, давала фрагмент массой 571 п.о., характерный для гена *spvC* плазмиды вирулентности.

Исследование 12 штаммов *S. enteritidis*, выделенных от шести больных гастроинтестинальной формой с бактериемией, показало, что у 4 больных штаммы, выделенные из крови и кала, относились к плазмидовару 38:1,4 MDa. Кроме того, у двух больных из крови выделены штаммы плазмидоваров 38:3,2;2,9:1,4 MDa и 50:38 MDa. Штаммы, выделенные от двух больных с генерализованной формой сальмонеллеза, также принадлежали к плазмидовару 38:1,4 MDa, а у третьего больного они относились к плазмидовару 38:2,3 MDa.

Для характеристики штаммов, выделенных при различных формах инфекции, по антибиотикорезистентности была отобрана группа из 38 штаммов *S. enteritidis*, относящихся к 18 плазмидоварам. Все они были чувствительны ко всем тестируемым антибиотикам.

ОБСУЖДЕНИЕ

В Приморском крае наиболее широко распространены сальмонеллезы, вызываемые у человека *S. enteritidis* [1, 2]. Наши данные показывают, что выявленные 9 случаев системной сальмонеллезной инфекции вызваны возбудителем не особого серовара сальмонелл, а доминирующим в данное время — *S. enteritidis*. Бактериемия отражает утяжеление клинического течения болезни, увеличивая вероятность развития генерализованной ее формы [3, 5]. По нашим данным, у всех девяти больных с развитием системной инфекции наблюдалось тяжелое и среднетяжелое течение болезни. Напротив, как показано нами ранее, при гастроинтестинальной форме без бактериемии у 27,6% больных имело место легкое течение инфекции [1]. Поэтому представляло интерес проанализировать особенности возбудителя, вызывающего системную сальмонеллезную инфекцию в сравнении с гастроинтестинальной формой болезни без бактериемии.

Нами для дифференциации штаммов *S. enteritidis*, выделенных от больных с различными формами инфекции, использованы данные о спектре плазмид, выявляемых в штаммах микроба. При этом проанализирована этиологическая значимость плазмидоваров *S. enteritidis*, вызвавших системную инфекцию и локализованную гастроинтестинальную форму болезни в течение соответствующего заболевания месяца и полугодия. Так, штаммы *S. enteritidis* плазмидовара 38:1,4 MDa, подобные вызвавшим в сентябре 2000 г. сальмонеллезный сепсис и менингит у больного, играли ведущую роль в этиологии гастроинтестинальной формы болезни в сентябре (58,3%) и во второй половине 2000 г. (54,7%). Подобные же результаты получены и во время заболевания больной Б. в июне 2002 г. Более того, близкие результаты получены и при

анализе этиологической значимости плазмидовара 38:1,4 MDa у больных 2 и 3. Этот плазмидовар микроба играл ведущую роль в этиологии гастроинтестинальной формы сальмонеллеза без бактериемии.

Несколько отличающиеся результаты были получены при анализе этиологической значимости плазмидовара 38:2,3 MDa. Штаммы данного плазмидовара в октябре 1996 г. вызвали деструктивный процесс в легких у больного. В течение этого же месяца и во второй половине 1996 г. штаммы плазмидовара 38:2,3 MDa явились причиной заболевания соответственно у 15,4% и 12,2% больных. Тем самым, штамм данного плазмидовара не играл ведущей роли в этиологии инфекции. Близкие результаты получены при анализе этиологической значимости возбудителей плазмидоваров 38:1,4 MDa и 38:3,2;2,9:1,4 MDa, вызвавших системную сальмонеллезную инфекцию у больных 4, 5 и 6. В данном случае микробы плазмидоваров 38:1,4 MDa и 38:3,2;2,9:1,4 MDa также не играли ведущей роли в этиологии гастроинтестинальной формы инфекции без бактериемии. Следовательно, штаммы *S. enteritidis*, выделенные от больных с системной инфекцией, являются микробами одних из плазмидоваров, выделяемых у больных с гастроинтестинальной формой болезни, протекающей без бактериемии. Таким образом, полученные результаты позволяют прийти к заключению, что системная сальмонеллезная инфекция вызывается микробами как плазмидоваров, имеющих ведущее значение в этиологии болезни, так и штаммами плазмидоваров, имеющих ограниченное этиологическое значение. Подтверждением данному положению является выделение из крови больного 1 *S. enteritidis* редко выявляемого плазмидовара 50:38 MDa. Наши данные согласуются с результатами, полученными в Испании М. Rodrigues и соавт. [8], в соответствии с которыми внекишечный сальмонеллез вызывается как доминирующей геномной группой *S. enteritidis*, имеющей основную этиологическую значимость в развитии и гастроинтестинальной формы болезни, так и остальными геномными группами микроба, которые опять же выявляются при гастроинтестинальной форме инфекции.

Считается, что присутствие в бактериях серовароспецифической плазмиды вирулентности массой 38 MDa необходимо для развития у больных системной сальмонеллезной инфекции [5, 6]. Изучение 26 штаммов *S. enteritidis*, выделенных от 9 больных системной сальмонеллезной инфекцией, показало присутствие в них плазмиды вирулентности. Напротив, у 2,8% больных при гастроинтестинальной форме сальмонеллеза без бактериемии данная плаزمиды у выделенных штаммов отсутствует, что подтверждено отсутствием в этих штаммах гена *spvC*. Следовательно, для развития гастроинтестинальной формы

сальмонеллеза без бактериемии присутствие у возбудителя плазмиды вирулентности не обязательно.

Нуждается в обсуждении вопрос о частоте возникновения системной сальмонеллезной инфекции. Процент выделения положительных гемокультур *S. enteritidis* за 1996 — 2004 гг. в трех стационарах г. Владивосток и г. Артем составил 0,44%. По данным зарубежных авторов сальмонеллезная бактериемия регистрируется у 1,8 — 8% больных [8, 9]. При этом частота бактериемии прямо зависит от серовара микроба — возбудителя инфекции. Наиболее часто, в порядке убывания, развитие сальмонеллезной инфекции наблюдается при сальмонеллезе, вызванном *S. choleraesuis*, *S. typhimurium*, *S. dublin* и *S. enteritidis* [3, 5]. Вместе с тем, в соответствии с нашими данными, частота бактериемии не связана с плазмидоваром *S. enteritidis*. Среди 2025 больных с гастроинтестинальной инфекцией этиологическая доля плазмидовара 38:1,4 MDa возбудителя была определена у 830 (41,0%) больных, а среди 9 случаев системной инфекции на его долю пришлось 6 больных (66,7%) (различия не достоверны, $p > 0,05$). Такое же соотношение характерно и для плазмидовара 38:2,3 MDa.

По возрастной структуре системная инфекция выявлена у 8 человек старше 45 лет и у одного ребенка 5 месяцев. Следовательно, как это следует и из работ других авторов [3, 5], фактором риска, способствующим возникновению системной инфекции, является возраст больных — менее года или старше 50 лет.

Таким образом, проведенные исследования показали, что системная сальмонеллезная инфекция вызывается *S. enteritidis*, играющей ведущую роль в этиологии болезни. Вместе с тем, она может вызываться различными плазмидоварами *S. enteritidis*, играющими основную и второстепенную роль в этиологии гастроинтестинальной формы инфекции. Штаммы микроба, изолированные от больных с системной сальмонеллезной инфекцией, не отличаются от штаммов, выделенных от больных с гастроинтестинальной формой без бактериемии по биохимическим и серологическим признакам, по антибиогра-

мограмме и плазмидному спектру. Следовательно, в развитии гастроинтестинальной формы с бактериемией и генерализованной формы сальмонеллезной инфекции определяющую роль играют особенности не микроорганизма, а макроорганизма.

ЛИТЕРАТУРА

1. Раков А.В., Шубин Ф.Н., Иванис В.А. и др. Сравнительная характеристика сальмонеллеза, вызванного различными плазмидоварами *Salmonella enteritidis*. Эпидемиол. инфекц. бол. 2001, 5: 50 — 55.
2. Шубин Ф.Н., Кузнецова Н.А., Ковальчук Н.И. и др. Микробиологический мониторинг за *Salmonella enteritidis* в Приморском крае. Характеристика заболеваемости, вызванной различными плазмидоварами микроба, во Владивостоке. Там же. 2002, 1: 40 — 43.
3. Chiu C.H., Lin T.Y., Ou J.T. Predictors for extraintestinal infection of non-typhoidal *Salmonella* in patients without AIDS. *Int. J. Clin. Pract.* 1999, 53: 161 — 164.
4. Chiu C.-H., Ou J.T. Rapid identification of *Salmonella* serovars in feces by specific detection of virulence genes, *invA* and *spvC*, by an enrichment broth culture-multitox PCR combination assay. *J. Clin. Microbiol.* 1996, 34: 2619 — 2622.
5. Chiu C.-H., Su L.-H., Chu C. *Salmonella enterica* serotype *Choleraesuis*: epidemiology, pathogenesis, clinical disease, and treatment. *Clin. Microbiol. Rev.* 2004, 17(2): 311 — 322.
6. Fierer J., Krause M., Tauxe R. et al. *Salmonella typhimurium* bacteremia: association with the virulence plasmid. *J. Infect. Dis.* 1992, 166: 639 — 642.
7. Kado C.I., Liu S.T. Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids. *J. Bacteriol.* 1981, 145: 1365 — 1373.
8. Rodrigues M., Diego I., Mendoza M.C. Extraintestinal salmonellosis in a general hospital (1991 to 1996): relationships between *Salmonella* genomic groups and clinical presentations. *J. Clin. Microbiol.* 1998, 36: 3291 — 3296.
9. Ruiz M., Carlos Rodrigues J., Elia M. et al. Infecciones extraintestinales producidas por serotipos no tifoideos de *Salmonella*. Experiencia de nueve años. *Enferm. Infect. Microbiol. Clin.* 2000, 18: 219 — 222.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2006

Л.М. Сомова, Н.Г. Плехова,
Ю.Н. Гончарук, Е.И. Дробот,
С.В. Охотина, Л.С. Бузолева,
Е.А. Зайцева, Г.П. Сомов

КИСЛОРОДЗАВИСИМАЯ И НИТРОКСИД-ЗАВИСИМАЯ ФЕРМЕНТНЫЕ СИСТЕМЫ МАКРОФАГОВ ПРИ СТАФИЛОКОККОВОЙ И ЛИСТЕРИОЗНОЙ ИНФЕКЦИЯХ

НИИ эпидемиологии и микробиологии СО РАМН, Владивосток

L.M. Somova, N.G. Plekhova,
Yu.N. Goncharuk, E.I. Drobot,
S.V. Okhotina, L.S. Buzoleva,
E.A. Zaitseva, G.P. Somov

OXYGEN-DEPENDENT AND NITRIC OXIDE-DEPENDENT ENZYMIC SYSTEMS OF MACROPHAGES IN STAPHYLOCOCCUS AND LISTERIA INFECTIONS

Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russia