

УДК 616.98:579.842.14-036.22(571.63)

## ДИНАМИКА МНОГОЛЕТНЕЙ ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ РАЗЛИЧНЫХ ПО ПРОИСХОЖДЕНИЮ ПЛАЗМИДНЫХ ТИПОВ *S. ENTERITIDIS* В ФОРМИРОВАНИИ СПОРАДИЧЕСКОЙ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ САЛЬМОНЕЛЛЕЗОМ НАСЕЛЕНИЯ ПРИМОРСКОГО КРАЯ

Ф.Н. Шубин<sup>1</sup>, Н.А. Кузнецова<sup>1</sup>, В.Ю. Ананьев<sup>2</sup>, А.В. Раков<sup>1</sup>, Н.Я. Полевикова<sup>2</sup>, О.И. Малко<sup>3</sup>, И.В. Котова<sup>4</sup>, Л.М. Климова<sup>4</sup>, И.О. Баранова<sup>5</sup>, И.А. Кушнарева<sup>6</sup>, С.Д. Пилипчук<sup>6</sup>, Л.А. Банкеева<sup>6</sup>

<sup>1</sup> НИИ эпидемиологии и микробиологии СО РАМН (690087 г. Владивосток, ул. Сельская, 1), <sup>2</sup> Центр гигиены и эпидемиологии в Приморском крае (690091 г. Владивосток, ул. Уткинская, 36), <sup>3</sup> Городская клиническая инфекционная больница № 1 (690065 г. Владивосток, ул. Крыгина, 19), <sup>4</sup> Городская клиническая больница № 2 (690105 г. Владивосток, ул. Русская, 57), <sup>5</sup> Клинико-диагностический центр (692930 г. Находка, ул. Спортивная, 42), <sup>6</sup> Городская инфекционная больница (692512 г. Уссурийск, ул. Пушкина, 5)

**Ключевые слова:** *Salmonella Enteritidis*, плазмидные типы, заболеваемость.

Выполнен анализ этиологической значимости различных по происхождению плазмидных типов *Salmonella Enteritidis* в формировании спорадической заболеваемости населения Приморья в 2003–2008 гг. Установлено, что 92,8% всей спорадической заболеваемости сальмонеллезом в крае этиологически связано с 11 плазмидными типами *S. Enteritidis*. Этиологическая значимость различных плазмидных типов ежегодно варьировала, однако ведущую роль в этиологии болезни играли три местных по происхождению типа микроба: 38 Mda, 38:1,4 Mda и 38:4,2 Mda, на долю которых приходилось от 59,0 до 72,1% всей спорадической заболеваемости. Завозные плазмидные типы сальмонелл имели меньшую этиологическую значимость, и вклад каждого из них в суммарную заболеваемость ежегодно варьировал.

Сальмонеллез относится к группе зоонозных инфекций, возбудители которых способны обеспечивать высокий уровень спорадической заболеваемости и крупные вспышки среди населения. В настоящее время в России, как и во многих странах мира, ведущее значение в этиологии инфекции занимает *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotype *Enteritidis* (*S. Enteritidis*) [8]. Установлено, что рост заболеваемости сальмонеллезом, вызываемым данным серотипом возбудителя, обусловлен активацией эпизоотического процесса этой инфекции среди птицы на многих предприятиях промышленного птицеводства, продукция которых используется в пищу [12]. Соответственно, при анализе заболеваемости населения возникают сложности с установкой эпидемиологических связей между отдельными случаями болезни.

Значительный прогресс в исследовании сальмонеллеза связан с изучением молекулярной эпидемиологии инфекции на основе молекулярно-генетического типирования возбудителя болезни. Методы генотипирования, применяемые для оценки родства штаммов сальмонелл, основаны на изучении плазмидной и хромосомной ДНК бактерий [9, 11]. При этом широкие исследования по характеристике популяции сальмонелл, выполненные за рубежом с применением комплекса молекулярно-генетичес-

ких методов, показали значительную гетерогенность большинства их серотипов и ограниченную гетерогенность *S. Enteritidis*, что определяется клональной природой этого микроба [8, 10]. В то же время данные о мониторинговых исследованиях по характеристике популяции *S. Enteritidis* на больших территориях и протяженные по времени в доступной литературе мы не обнаружили.

Материалами собственных работ, выполненных в предыдущие годы, обоснована целесообразность создания системы централизованного микробиологического мониторинга популяции сальмонелл на основе плазмидного анализа [4, 7]. При этом было показано, что популяция *S. Enteritidis* в Приморском крае гетерогенна и включает местную и завозную части. Местная часть представлена плазмидными типами микроба, циркулирующими на приморских предприятиях промышленного птицеводства. Завозная же часть популяции включает новые для Приморского края плазмидные типы, выделяемые от больных, но не выявляемые в продукции приморских птицефабрик. Вместе с тем до сих пор нет ясного представления об эпидемиологической значимости различных частей популяции в формировании заболеваемости сальмонеллезом. Целью настоящего исследования явилась характеристика популяции *S. Enteritidis* в соответствии с происхождением составляющих ее плазмидных типов и отражение ее в структуре заболеваемости населения края.

**Материал и методы.** Исследовали штаммы *S. Enteritidis*, выделенные в 2003–2008 гг. в Приморском крае от 3265 больных и подвергнутых плазмидному анализу в процессе централизованного микробиологического мониторинга. Кроме того, изучены штаммы *S. Enteritidis*, изолированные в 2003–2008 гг. из 69 проб продукции приморских предприятий промышленного птицеводства (птицефабрики № 1 и № 2), в том числе из мяса кур, субпродуктов и из яичного порошка. От каждого больного и из каждой пробы продукта было изучено от одной до трех независимых культур. Идентификацию сальмонелл, серотипирование и изучение спектра плазмид проводили

Шубин Феликс Николаевич – д-р мед. наук, профессор, зав. лабораторией молекулярной эпидемиологии НИИЭМ СО РАМН; тел.: 8 (4232) 44-26-04, e-mail: shubin@inbox.ru

Таблица

Значимость различных плазмидных типов *S. Enteritidis* в этиологии спорадического сальмонеллеза в Приморском крае в 2003–2008 гг.

Плазмидные типы	Значимость в этиологии болезни, %						
	2003 (n=517)	2004 (n=380)	2005 (n=486)	2006 (n=525)	2007 (n=630)	2008 (n=727)	Всего (n=3265)
38:4,4 Mda	23,6	32,6	22,4	23,6	35,6	14,2	24,7
38:1,4 Mda	26,7	16,1	17,3	19,4	22,9	29,7	22,8
38 Mda	14,3	22,9	27,4	19,0	14,1	15,1	18,2
<i>Всего:</i>	64,6	71,6	67,1	62,0	72,1	59,0	65,7
38:26:1,4 Mda	8,3	3,7	8,6	9,3	6,5	6,7	7,3
38:3,2:2,9:1,4 Mda	16,4	9,5	4,1	5,0	3,2	0,7	5,9
38:2,3 Mda	3,5	2,6	10,1	9,3	2,9	2,2	5,0
38:30:2,3 Mda	1,4	0,2	0,6	3,8	2,8	8,3	3,3
38:2,6:1,4 Mda	0,2	5,0	2,5	3,2	4,6	2,1	2,8
38:3,0:1,4 Mda	–	–	0,2	0,8	0,3	3,8	1,1
38:3,2 Mda	0,4	–	–	0,6	1,7	1,4	0,8
38:30:1,4 Mda	–	–	–	–	–	4,3	0,9
Основные типы	94,8	92,6	94,0	94,1	94,4	88,5	92,8
Редкие типы	15 <sup>1</sup>	15 <sup>1</sup>	20 <sup>1</sup>	19 <sup>1</sup>	19 <sup>1</sup>	30 <sup>1</sup>	63 <sup>1</sup>
	5,2 <sup>2</sup>	7,4 <sup>2</sup>	6,0 <sup>2</sup>	5,9 <sup>2</sup>	5,6 <sup>2</sup>	11,5 <sup>2</sup>	7,2 <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Количество за год.

<sup>2</sup> Этиологическая значимость за год.

у свежeweделенных штаммов, как описано нами ранее [4]. При анализе спорадической заболеваемости населения использовали традиционные методы [3]. Была проанализирована этиологическая значимость различных плазмидных типов *S. Enteritidis* в формировании заболеваемости сальмонеллезом населения Приморского края. Результаты обработаны статистически с использованием критерия Стьюдента. Оценка репрезентативности ежегодных выборок изученных больных по отношению к числу зарегистрированных случаев болезни выполнена по методике, описанной в руководстве по социальной гигиене и организации здравоохранения [2].

**Результаты исследования.** Начиная с 2003 г. централизованное микробиологическое наблюдение за популяцией сальмонелл в Приморском крае приобрело характер сплошного мониторинга, когда все культуры этого микроорганизма, выделенные в крае из различных источников, стали направляться в НИИЭМ СО РАМН для дальнейшего сравнительного исследования. В итоге в течение 2003–2008 гг. из 3586 зарегистрированных спорадических случаев сальмонеллеза, вызванного *S. Enteritidis*, в плазмидном анализе исследованы культуры, выделенные от 3265 больных (91,1%). Ежегодные выборки больных, штаммы которых изучались в плазмидном анализе, составили от 84,6% в 2003 г. до 100% в 2008 г.

Плазмидный анализ штаммов *S. Enteritidis*, выделенных в 2003–2008 гг., показал, что популяция микроба была высокогетерогенна и представлена 74 плазмидными типами. При этом штаммы сальмонелл

были дифференцированы на две группы (табл.). Первая включала 11 основных плазмидных типов, обеспечивших 92,8% случаев заболевания. Различия в количестве ежегодно выделяемых основных плазмидных типов были небольшими: так, первые восемь выявлялись ежегодно, штаммы плазмидных типов 38:3,0:1,4 Mda и 38:3,3 Mda выделялись от больных в течение четырех лет, а типа 38:30:1,4 Mda – только в 2008 г. Наиболее существенная роль в этиологии сальмонеллеза принадлежала первым трем типам микроба, на долю которых пришлось 65,7% спорадической заболеваемости с ежегодными колебаниями их значимости от 59,0% в 2008 г. до 72,1% в 2007 г. Внутри этой группы штаммов этиологическая роль каждого плазмидного типа варьировала, однако чаще всего здесь выделялся тип 38:4,2 Mda (в среднем – 24,7%), несколько реже – тип 38:1,4 Mda (22,8%) и еще реже – типа 38 Mda (18,2%). Этиологическая значимость остальных восьми плазмидных типов, отнесенных к категории основных, была значительно меньшей. Причем если у типов 38:26:1,4 Mda, 38:3,2:2,9:1,4 Mda и 38:3,3 Mda частота выявляемости была около 5%, то у остальных – значительно ниже (табл.). Главная особенность штаммов этих плазмидных типов состояла в том, что они большей частью выделялись от больных ежегодно или несколько лет подряд, и, следовательно, можно проследить многолетнюю динамику их этиологической значимости в формировании заболеваемости населения.

Значительные различия этиологической значимости основных типов *S. Enteritidis* выявлены и в процессе

анализа многолетней динамики заболеваемости населения края. Важно отметить, что ежегодные различия этиологической значимости отдельных типов микроба в сравнении с их многолетней средней свойственны всем основным плазмидным типам. Так, для *S. Enteritidis* типа 38:4,2 Mda в сравнении со средней в течение шестилетнего наблюдения были свойственны два подъема этиологической значимости (в 2004 и 2007 гг.) и одно снижение (в 2008 г.). Для сальмонеллы плазмидного типа 38:1,4 Mda также было выявлено два достоверно значимых подъема этиологической значимости в 2003 и 2008 гг., но и два снижения – в 2004 и 2005 гг. Такое же положение было свойственно и плазмидному типу 38 Mda, у которого выявилось два подъема этиологической значимости (2004 и 2005 гг.) и два ее снижения (2003 и 2008 гг.). Этиологическая значимость плазмидного типа 38:26:1,4 Mda по годам была более равномерной, статистически достоверное ее снижение в сравнении со средней зарегистрировано лишь в 2004 г. Напротив, для плазмидного типа 38:3,2:2,9:1,4 Mda были характерны значительные колебания этиологической значимости: подъемы в 2003 и 2004 г. и снижения – в 2007 и 2008 г.

Штаммы *S. Enteritidis* категории редко выявляемых ежегодно были представлены значительным числом плазмидных типов. Главная их особенность состояла в том, что они не имели существенного значения для формирования заболеваемости населения, поскольку в большинстве случаев выделялись от единичных больных. Более того, ежегодная суммарная этиологическая значимость редких плазмидных типов на протяжении всего периода наблюдения оставалась низкой.

Объяснение данным особенностям популяции *S. Enteritidis* в Приморском крае мы попытались найти в характеристике возбудителя сальмонеллеза, циркулирующего на местных предприятиях промышленного птицеводства. Изучение спектра плазмид штаммов сальмонелл «животного происхождения» показало, что они распределились на 4 плазмидных типа (выявлявшиеся одновременно и у больных людей): 38 Mda, 38:1,4 Mda, 38:2,6:1,4 Mda и 38:4,2 Mda. При этом первые три типа выявлены на птицефабрике № 1, а штаммы микроба, изолированные на птицефабрике № 2, относились к плазмидным типам 38 Mda и 38:4,2 Mda. Таким образом, культуры микроба, выделенные из продукции каждого из предприятий, были гетерогенны по плазмидным характеристикам и тип 38 Mda оказался общим для обоих предприятий.

**Обсуждение полученных данных.** Внедрение в Приморском крае централизованного микробиологического мониторинга штаммов сальмонелл, изолированных из различных источников, позволило выделить в структуре сальмонеллеза заболеваемость, обусловленную различными плазмидными типами *S. Enteritidis*. На долю этого серотипа в заболеваемости сальмонеллезом в 2003–2008 гг. ежегодно приходилось от 81,5 % (2008) до 92,9 % (2006). При этом этио-

логическая значимость *S. Enteritidis* в заболеваемости населения динамически возрастала в 2004–2006 гг. с 86,6 до 92,9 %, а в 2007 и 2008 гг. она снизилась до 81,5 %. Такие показатели этиологической значимости *S. Enteritidis* в заболеваемости населения Приморского края соответствуют литературным данным о роли этого серотипа возбудителя в этиологии сальмонеллеза как в России (81 %), так и в странах западной Европы (85 %) [1, 2].

Ранее нами предпринимались попытки выделения в структуре популяции *S. Enteritidis* плазмидных типов микроба местного происхождения [5–7]. Было показано, что именно эти плазмидные типы, циркулировавшие на местных предприятиях птицеводства, являлись основой для формирования в 1995–2001 гг. доминирующих в заболеваемости населения плазмидных типов *S. Enteritidis* – 38 Mda, 38:1,4 Mda и 38:2,3 Mda, на долю которых приходилось 83,1 % заболеваемости.

Выявленная гетерогенность популяции *S. Enteritidis* позволила продолжить сопоставление этиологической значимости в развитии сальмонеллеза плазмидных типов, различающихся по происхождению. Мониторинг штаммов *S. Enteritidis*, выделенных от больных в Приморье в 2003–2008 гг., показал, что основная часть заболеваемости сальмонеллезом в крае (92,8 %) формируется при участии 11 плазмидных типов микроба. В то же время изучение штаммов, изолированных в этот период из продукции местных предприятий промышленного птицеводства, выявило лишь 4 плазмидных типа микроба: 38 Mda, 38:1,4 Mda, 38:4,2 Mda и 38:2,6:1,4 Mda. При этом три первых являются по происхождению местными типами. Одновременно они являются типами сальмонелл, с которыми связано более половины (65,7 %) спорадической заболеваемости населения. Напротив, плазмидные типы *S. Enteritidis*, присутствующие у больных, но не выявленные в продукции местных предприятий промышленного птицеводства, в соответствии с разработанными нами критериями, могут быть отнесены к категории завозных возбудителей [7].

Представленный перечень плазмидных типов *S. Enteritidis*, относящихся к категории местных, существенно отличается от описанных нами ранее [6, 7]. Штаммы типа 38:2,3 Mda не обнаружены среди 69 изолированных нами в 2003–2008 гг. из пищевых продуктов местных птицефабрик. Изменилась и заболеваемость населения, вызванная этим плазмидным типом (табл.). Этиологическая значимость его снизилась до 5 %, что характерно и для других завозных типов микроба. Имеются и социально-экономические причины для отсутствия изолятов плазмидного типа 38:2,3 Mda из пищевых продуктов: в 2003 г. прекратилась деятельность предприятия, из продукции которого он изолировался. Следовательно, данный плазмидный тип *S. Enteritidis* уже не может относиться к категории местных.

Кроме того, среди сальмонелл, изолированных из продукции местных предприятий в 2006–2008 гг., выявлены штаммы нового для края плазмидного типа – 38:4,2 Mda, и начиная с 2003 г. на его долю ежегодно приходилось свыше 20% спорадической заболеваемости населения. Эти данные позволили отнести *S. Enteritidis* плазмидного типа 38:4,2 Mda к категории местных. Также к категории местных отнесены и штаммы плазмидного типа 38:2,6:1,4 Mda, поскольку они в течение 7 лет ежегодно изолируются из продукции птицефабрики № 1. Особенность этого типа *S. Enteritidis* состоит в том, что он имеет низкую этиологическую значимость, что пока не находит объяснения.

Таким образом, местная и завозная части популяции *S. Enteritidis* обладают определенной стабильностью составляющих их плазмидных типов микроба. Однако длительность выявления у больных и уровни этиологической значимости у отдельных плазмидных типов обеих частей популяции варьируют. Основой длительного выявления у больных и различного уровня этиологической значимости местных плазмидных типов *S. Enteritidis* является их циркуляция на приморских предприятиях промышленного птицеводства. Напротив, длительность выявления у больных и уровни этиологической значимости завозных плазмидных типов в развитии сальмонеллезной инфекции определяются многими факторами, в том числе регулярностью и объемами поставок в край контаминированной сальмонеллами пищевой продукции.

Таким образом, спорадическая заболеваемость сальмонеллезом, вызванным *S. Enteritidis*, в Приморском крае ежегодно определяется участием местных и завозных плазмидных типов микроба, но вклад каждого из них в суммарную заболеваемость варьирует. Главная особенность этиологической значимости большинства плазмидных типов *S. Enteritidis* состоит в том, что подъемы и снижения их этиологической значимости индивидуальны и не связаны между собой. Соответственно, каждому плазмидному типу *S. Enteritidis* свойственна характерная для него многолетняя динамика этиологической значимости в структуре заболеваемости сальмонеллезом.

#### Литература

1. Рожнова С.Ш., Акулова Н.К. Информационный бюллетень Референс-центра по мониторингу за сальмонеллами. М., 2009. 54 с.
2. Руководство по социальной гигиене и организации здравоохранения / Лисицин Ю.П., Шиган Е.Н., Слученко И.С. и др. М.: Медицина, 1987. 464 с.
3. Савилов Е.Д., Мамонтова Л.М., Астафьев В.А., Жданова С.Н. Применение статистических методов в эпидемиологическом анализе. М.: МЕДпресс-информ, 2004. 112 с.
4. Шубин Ф.Н., Ковальчук Н.И., Кузнецова Н.А. и др. Микробиологический мониторинг за *Salmonella enteritidis* в Приморском крае. Фенотипическая и плазмидная характеристика возбудителя // Эпидемиол. и инфекц. болезни. 2002. № 2. С. 36–40.

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 // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2002. № 2. С. 40–43.
6. Шубин Ф. Н., Раков А.В., Кузнецова Н.А. и др. Теоретические и прикладные аспекты централизованного микробиологического молекулярно-генетического мониторинга при сальмонеллезе в Сибири и на Дальнем Востоке // Актуальные проблемы здоровья населения Сибири: гигиенические и эпидемиологические аспекты. Омск, 2004. Т. 2. С. 193–199.
7. Шубин Ф.Н., Раков А.В., Кузнецова Н.А. и др. Структура популяции *Salmonella enteritidis* в Приморском крае по данным плазмидного анализа // Журн. микробиол. эпидемиол. и иммунобиол. 2006. № 3, прил. С. 28–32.
8. Galanis E., Lo Fo Wong D.M.A., Patrick M.E. et al. Web-based surveillance and global *Salmonella* distribution, 2000–2002 // *Emerg. Infect. Dis.* 2006. Vol. 12. P. 381–388.
9. Lopes V.C., Velayudhan B.T., Halvorson D.A. et al. Comparison of methods for differentiation of *Salmonella enterica* serovar *Enteritidis* phage type 4 isolates // *Am. J. Vet. Res.* 2004. Vol. 65, No. 5. P. 538–543.
10. Lukinmaa S., Schildt R., Rinttila T. et al. *Salmonella enteritidis* phage types 1 and 4; pheno- and genotypic epidemiology of recent outbreaks in Finland // *J. Clin. Microbiol.* 1999. Vol. 37. P. 2176–2182.
11. Olive D.M., Bean P. Principles and application of methods for DNA-based typing of microbial organism // *J. Clin. Microbiol.* 1999. Vol. 37. P. 1661–1669.
12. Rodrigue D.C., Tauxe R.V., Rowe B. International increase in *Salmonella enteritidis*: a new pandemic? // *Epidemiol. Infect.* 1990. Vol. 3. P. 21–27.

Поступила в редакцию 15.02.2010.

#### DYNAMICS OF LONG-TERM AETIOLOGICAL RELEVANCE OF VARIOUS PLASMID TYPES OF *S. ENTERITIDIS* IN CAUSING SPORADIC MORBIDITY WITH SALMONELLOSIS IN PRIMORSKY KRAI

F.N. Shubin<sup>1</sup>, N.A. Kuznetsova<sup>1</sup>, V.Yu. Ananiev<sup>2</sup>, A.V. Rakov<sup>1</sup>, N.Ya. Polevikova<sup>2</sup>, O.I. Malko<sup>3</sup>, I.V. Kotova<sup>4</sup>, L.M. Klimova<sup>4</sup>, I.O. Baranova<sup>5</sup>, I.A. Kushnareva<sup>6</sup>, S.D. Pilipchuk<sup>6</sup>, L.A. Bankeeva<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Siberian Branch of RAMS (1 Selskaya St. Vladivostok 690087 Russia),

<sup>2</sup> Centre of Hygiene and Epidemiology for the Primorsky Krai (36 Utkinskaya St. Vladivostok 690091 Russia), <sup>3</sup> Municipal Clinical Infectious Diseases Hospital No.1 (19 Kryigina St. Vladivostok 690065 Russia), <sup>4</sup> Municipal Clinical Hospital No. 2 (57 Russkaya St. Vladivostok 690105 Russia), <sup>5</sup> Clinical and Diagnostic Centre (42 Sportivnaya St. Nakhodka 692930 Russia),

<sup>6</sup> Municipal Infectious Diseases Hospital (5 Pushkina St. Ussuriisk, 692512 Russia)

**Summary** – The authors analyse aetiological role of various plasmid types of *Salmonella Enteritidis* in causing sporadic morbidity among the Primorsky Krai population during 2003–2008. As indicated, 92.8% of all sporadic morbidity with salmonellosis are caused by 11 plasmid types of *S. Enteritidis*. The aetiological relevance of various plasmid types varies from year to year. This notwithstanding, it is possible to attribute the leading role in causing the disease to three local types of microbes. These are 38 Mda, 38:1.4 Mda and 38:4.2 Mda altogether caused 59.0–72.1% of all sporadic morbidity. The imported plasmid types are of lesser aetiological relevance. Their contribution to total morbidity varies from year to year.

**Key words:** *Salmonella Enteritidis*, plasmid types, morbidity.

Pacific Medical Journal, 2010, No. 4, p. 12–15.