

УДК [616.98:579.842.14]:579.252.5.083:575.17

ПЛАЗМИДНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПОПУЛЯЦИИ *SALMONELLA ENTERITIDIS* В КАМЧАТСКОМ КРАЕ

Н.А. Кузнецова¹, Ф.Н. Шубин¹, А.В. Раков¹, Л.А. Рудь², С.Н. Шаповаленко²

¹ НИИ эпидемиологии и микробиологии Сибирского отделения Российской академии медицинских наук (690087, г. Владивосток, ул. Сельская, 1), ² Центр гигиены и эпидемиологии в Камчатском крае (683004, г. Петропавловск-Камчатский, ул. Рябиновская, 226)

Ключевые слова: сальмонелла, плазмидный тип, популяции.

Проанализирована плазмидная характеристика 299 штаммов *Salmonella enteritidis*, выделенных в 2005–2011 гг. из различных источников в Камчатском крае. Установлено, что популяция *S. enteritidis* в Камчатском крае гетерогенна и представлена 20 плазмидными типами микроба. 87,4% всех штаммов, полученных от больных при спорадической заболеваемости, были представлены 6 основными плазмидными типами, которые выделялись в течение всех лет наблюдения. В структуре популяции дифференцированы местные и завозные типы микроба, при этом среди завозных выявлены типы микроба неустановленного происхождения. Показано, что причиной повышения заболеваемости населения сальмонеллезом, вызванным *S. enteritidis* в Камчатском крае в 2008 г., стало обострение эпизоотического процесса на местной птицефабрике.

В настоящее время *Salmonella enteritidis* играет ведущую роль в этиологии сальмонеллеза в России и во многих странах мира [7]. Установлено, что рост заболеваемости сальмонеллезом, вызванным данным серотипом, обусловлен активацией эпизоотического процесса инфекции среди птицы предприятий промышленного птицеводства [9]. Тем не менее при анализе заболеваемости населения возникают сложности с установлением эпидемиологических связей между отдельными случаями инфекции, поскольку в основе их могут быть штаммы микроба, связанные с местной или завозной продукцией [1, 10]. Для решения этих вопросов большое значение имеет внутривидовое генотипирование сальмонелл [6, 10].

В предыдущих исследованиях нами представлены возможности плазмидного анализа для характеристики популяции *S. enteritidis* [2, 3]. Показано, что данный метод позволяет характеризовать гетерогенность популяции *S. enteritidis* и решать вопросы происхождения плазмидных типов возбудителя. Вместе с тем до сих пор нет ясного представления о значимости в развитии инфекции местных для региона и завозных штаммов микроорганизма, хотя эти сведения имеют решающее значение для профилактики инфекции.

Целью данного исследования явился анализ плазмидной характеристики популяции сальмонелл в Камчатском крае и закономерностей развития эпидемического процесса среди населения на основе централизованного микробиологического молекулярно-генетического мониторинга.

Материал и методы. Изучена плазмидная характеристика 299 штаммов *S. enteritidis*, выделенных в 2005,

2008, 2010 и 2011 гг. в Камчатском крае из различных экологических источников. Культуры, выделенные от людей, включали штаммы *S. enteritidis*, полученные от 262 человек при спорадической заболеваемости и от 27 человек во время двух вспышек болезни. Одновременно изучено 10 штаммов, выделенных в 2005 и 2008 гг. из проб продукции местной птицефабрики, в том числе из мяса кур, яиц, яичного порошка, кондитерских изделий и полуфабрикатов. Идентификацию сальмонелл выполняли общепринятыми методами [5]. Определение спектра плазмид проводили на свежесделанных штаммах микроба по методу С.И. Като и С.Т. Лиу [8]. Электрофоретическое разделение ДНК, ее визуализацию, фотографирование и определение молекулярной массы плазмид проводили, как описано нами ранее [2]. Полученные результаты обработаны методом вариационной статистики.

Результаты исследования. Плазмидный анализ штаммов *S. enteritidis*, изолированных при спорадической заболеваемости, показал, что популяция микроба гетерогенна и представлена 20 плазмидными типами. Штаммы, выделенные от людей, дифференцированы на две группы: основные и редкие. Первая включала 6 плазмидных типов микроба, изолированных от 229 человек (87,4%). В группе основных плазмидных типов явно доминирующих не выявлено. Чаще встречались штаммы плазмидного типа 38:1,4 Mda (29%). Вторыми по частоте были 3 плазмидных типа – 38:4,2 Mda, 38:2,3 Mda и 38 Mda, каждый из которых выявлен у 19,9, 18,3 и у 13,0% больных соответственно. Частота выделения остальных плазмидных типов при спорадической заболеваемости, отнесенных в группу основных, была значительно ниже (табл. 1).

Штаммы *S. enteritidis* второй группы (редко выявляемые) дифференцированы на 14 плазмидных типов, каждый из которых представлен единичными культурами, и отдельные типы из этой группы не имели сколько-нибудь существенной этиологической значимости в заболеваемости населения.

Частота выделения от больных штаммов микроба основных плазмидных типов по годам значительно различалась. Штаммы типа 38 Mda по частоте выделения достигли максимума в 2005 г., однако в последующие три года этот показатель стал значительно ниже. Микроб плазмидного типа 38:1,4 Mda наиболее часто выделялся в 2010 и 2011 г. Напротив, микроб плазмидного типа 38:2,3 Mda сохранял высокую частоту выделения в течение первых двух лет наблюдения

Таблица 1
Плазмидная характеристика штаммов *S. enteritidis*, выделенных от больных при спорадической заболеваемости

Плазмидный тип	Кол-во больных по годам (M±m), %				Всего больных	
	2005 г.	2008 г.	2010 г.	2011 г.	абс.	%
38 Mda	36,4±6,5	4,2±2,9	5,5±2,4	10,4±3,7	34	13,0±2,1
38:1,4 Mda	9,1±3,9	–	45,0±6,4	44,8±6,1	76	29,0±2,8
38:30:2,3 Mda	1,8±1,8	16,3±5,3	–	1,5±1,5	10	3,8±1,2
38:2,3 Mda	34,5±6,4	53,1±7,1	3,3±1,9	–	48	18,3±2,4
38:3,3 Mda	–	–	9,9±?/?	–	9	3,4±1,1
38:4,2 Mda	9,1±3,9	10,2±4,3	27,5±4,7	25,4±5,3	52	19,9±2,3
Основные	90,9±3,4	83,7±5,3	91,2±2,9	82,1±4,7	229	87,4±2,1
Редкие	10,0±4,0	16,3±5,3	8,8±2,9	17,9±4,7	33	12,6±2,1
Абс.	55	49	91	67	262	

Таблица 2
Плазмидная характеристика штаммов *S. enteritidis*, выделенных из пищевой продукции предприятий птицеводства

Объект исследования	Дата	Наименование продукции	Тип, Mda
Птицефабрика	24.01.2005	Фарш куриный	38:2,3
	07.02.2005	Фарш куриный	38:2,3
	27.06.2005	Тушки кур	38:2,3
	30.07.2008	Яйца (смыв)	38:30:2,3
	02.12.2008	Тушки кур	38:2,3
	02.12.2008	Тушки кур	38:2,3
	17.12.2008	Яичный порошок	38:2,3
	10.12.2008	Яичный порошок	38:30:2,3
п. Сокоц, сем. очаг	27.06.2005	Пирожное «Мечта»	38:2,3
Кондитерский цех	24.10.2008	Пирожное «Медовое»	38:2,3

(2005, 2008), однако в 2010 и 2011 г. частота его выделения достоверно снизилась. Частота выделения другого плазмидного типа *S. enteritidis* – 38:4,2 Mda – в 2010 и 2011 г. достоверно возросла. В группу основных типов микроба были включены штаммы плазмидного типа 38:30:2,3 Mda, который характеризовался нестабильностью частоты выделения. Наиболее часто этот тип выделялся в 2008 г., однако в последующем частота его выделения резко снизилась. Микроб, маркированный плазмидами 38:3,3 Mda, был выявлен только в 2010 г. (табл. 1).

Плазмидный анализ 27 штаммов *S. enteritidis*, выделенных от больных при вспышках сальмонеллеза, показал, что они были вызваны двумя плазмидными типами. При этом вспышка в 2005 г. была обусловлена плазмидным типом 38:2,3 Mda, а вспышка в 2010 г. – плазмидным типом 38:1,4 Mda. Штаммов *S. enteritidis* из пищевых продуктов, послуживших факторами передачи на этих вспышках, не выделено.

Плазмидный анализ *S. enteritidis*, изолированных из продукции местного предприятия птицеводства в 2005 и в 2008 г. и из готовых продуктов, показал, что

штаммы, циркулировавшие на птицефабрике, были представлены двумя плазмидными типами – 38:2,3 Mda и 38:30:2,3 Mda. Так, в 2005 г. из трех проб продукции местного предприятия птицеводства был выделен штамм микроба плазмидного типа 38:2,3 Mda. В 2008 г. микроб данного плазмидного типа выделен также из трех проб продукции птицефабрики и из готовой продукции в очагах болезни, при этом из двух проб был выделен микроб плазмидного типа 38:30:2,3 Mda (табл. 2).

Обсуждение полученных данных. Таким образом, спорадическая и вспышечная заболеваемость населения сальмонеллезом в Камчатском крае обусловлена гетерогенной по плазмидным характеристикам популяцией *S. enteritidis*. Основным ее свойством является стабильность плазмидной характеристики. Штаммы 2 из 6 плазмидных типов микроба выявлялись у больных на протяжении всех лет наблюдения. При этом изменчивость популяции *S. enteritidis* проявлялась различной частотой выделения от больных отдельных основных плазмидных типов и ежегодным появлением штаммов новых плазмидных типов из группы редко выявляемых.

На примере Приморского и Хабаровского краев нами было показано, что гетерогенная популяция *S. enteritidis* в соответствии с происхождением плазмидных типов микроба включает местную и завозную части [3, 4]. Особенности популяции микроба в Камчатском крае рассмотрены с тех же позиций (табл. 2). Так, в 2005 и 2008 г. на птицефабрике циркулировали два плазмидных типа микроба – 38:2,3 Mda и 38:30:2,3 Mda. При этом первый характеризовался стабильной частотой выделения от больных во все годы наблюдения при спорадической заболеваемости, и этот микроб выделен от больных во время вспышки в 2005 г. Частота выделения плазмидного типа 38:2,3 Mda за все годы наблюдения составила 18,3 % от всех штаммов, изолированных от больных в Камчатском крае. С плазмидным же типом 38:30:2,3 Mda было связано 3,8 % наблюдений. Такая характеристика позволяет отнести *S. enteritidis* плазмидных типов 38:2,3 Mda и 38:30:2,3 Mda к местным типам.

Следует отметить, что, по данным Управления Роспотребнадзора по Камчатскому краю, в 2008 г. резко ухудшилась эпидемиологическая ситуация по сальмонеллезу, вызванному *S. enteritidis*: показатель заболеваемости составил 114,6 на 100 тыс. населения (396 случаев), и по сравнению с 2007 г. (37,5 на 100 тыс. населения) вырос в три раза. По данным эпидемиологического расследования, заболеваемость оказалась связанной с употреблением в пищу яиц и готовых блюд из яиц (66,7 % случаев), котлет из куриного мяса, салатов с добавлением мяса кур и вареных яиц (24,3 % случаев), с кремовыми кондитерскими изделиями (9,0 % случаев). В основном население указывало на приобретение

яиц местной птицефабрики. Были получены данные о том, что в 2008 г. на местной птицефабрике имело место обострение сальмонеллезного эпизоотического процесса, что нашло свое отражение в трехкратном повышении заболеваемости сальмонеллезом, вызванным местными 38:2,3 Mda и 38:30:2,3 Mda плазмидными типами *S. enteritidis* (табл. 2).

Остальные 4 плазмидных типа *S. enteritidis* (38:3,3 Mda, 38:4,2 Mda, 38 Mda и 38:1,4 Mda) отнесены к категории завозных, поскольку они не выделялись из продукции местной птицефабрики. Следует подчеркнуть, что в соответствии с нашими данными микроб плазмидного типа 38:3,3 Mda является местным для Хабаровского края, а микроб плазмидного типа 38:4,2 Mda – местным для Приморского края, где они играют важную роль в заболеваемости населения [3, 4]. Кроме того, продукция Приморских и Хабаровских птицефабрик реализуется и на других административных территориях Дальнего Востока, в том числе и в Камчатском крае, где впоследствии появляется завозная популяция микроба, вызывающего sporadicкую заболеваемость населения.

Плазмидные типы 38 Mda и 38:1,4 Mda являются наиболее часто выявляемыми в популяциях сальмонелл, выделенных из продукции большинства изученных предприятий птицеводства Сибири и Дальнего Востока [3]. Следовательно, имеется возможность миграции *S. enteritidis* данных плазмидных типов с продукцией сибирских и дальневосточных предприятий птицеводства на территорию Камчатского края. На завозное происхождение данных типов микроба указывает и вариабельность частоты их выделения (табл. 1). Следовательно, плазмидные типы 38 Mda и 38:1,4 Mda для Камчатского края являются также завозными, однако конкретно ответить, из какого региона Сибири и Дальнего Востока происходит завоз продукции, контаминированной данными плазмидными типами микроба, мы не можем. Для ответа на этот вопрос необходимы дополнительные исследования.

В соответствии с представленными данными механизм формирования заболеваемости населения сальмонеллезом, вызванным основными плазмидными типами *S. enteritidis* в Камчатском крае, определяется их циркуляцией на местных предприятиях промышленного птицеводства и завозом в край контаминированной сальмонеллами птицеводческой продукции.

Выводы

1. Sporadicкая и вспышечная заболеваемость сальмонеллезом в Камчатском крае, вызванным *S. enteritidis*, во все годы наблюдения определялась участием местных и завозных плазмидных типов микроба, хотя вклад каждого из них в суммарную заболеваемость варьировал.

2. Формирование местной популяции *S. enteritidis* явилось следствием хронического сальмонеллезного эпизоотического процесса среди птицы на местных предприятиях птицеводства.

3. Завозная часть популяции *S. enteritidis* определялась плазмидными типами возбудителя, не циркулирующими на местных предприятиях птицеводства и связанными с завозом в Камчатский край контаминированной продукции птицеводства из различных регионов Сибири и Дальнего Востока.

Литература

1. Кузнецова Н.А., Шубин Ф.Н., Раков А.В. и др. Связь вспышечной и sporadicческой заболеваемости сальмонеллезом по соответствию плазмидных характеристик возбудителей // Тихоокеанский мед. журн. 2010. № 4. С. 40–42.
2. Шубин Ф.Н., Раков А.В., Кузнецова Н.А. и др. Структура популяции *Salmonella enteritidis* по данным плазмидного анализа // Журн. микробиол. 2006. № 3, прил. С. 28–33.
3. Шубин Ф.Н., Раков А.В., Кузнецова Н.А. Микробиологический молекулярно-генетический мониторинг за возбудителями кишечных инфекций как составная часть эпидемиологического надзора // Бюллетень СО РАМН. 2011. № 4. С. 100–106.
4. Шубин Ф.Н., Кузнецова Н.А., Раков А.В. и др. Плазмидная характеристика популяции *Salmonella enteritidis* в Хабаровском крае // Дальневост. журн. инфекционной патол. 2010. № 17. С. 143–147.
5. Энтеробактерии: руководство для врачей / под ред. В.И. Покровского. М.: Медицина, 1985. 321 с.
6. Fernandez J., Fica A., Ebensperger G. et al. Analysis of molecular epidemiology of Chilean *Salmonella enterica* serotype enteritidis isolated by pulsed-field gel electrophoresis and bacteriophage typing // J. Clin. Microbiol. 2003. Vol. 41. P. 1617–1622.
7. Galanis E., Lo Fo Wong D.M., Patrick M.E. et al. Web-based surveillance and global *Salmonella* distribution, 2000–2002 // Emerg. Infect. Dis. 2006. Vol. 12, No. 3. P. 381–388.
8. Kado C.I., Liu S.T. Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmid // J. Bacteriol. 1981. Vol. 145. P. 1365–1373.
9. Louis M.E.St., Morse D.L., Morris E.P. et al. The emergence of grade A eggs as a major source of *Salmonella enteritidis* infections // JAMA. 1988. Vol. 259, No. 14. P. 2103–2107.
10. Lukinmaa S., Schildt R., Rinttila N. et al. *Salmonella enteritidis* phage types 1 and 4: pheno- and genotypic epidemiology of recent outbreaks in Finland // J. Clin. Microbiol. 1999. Vol. 37, No. 7. P. 2176–2182.

Поступила в редакцию 04.05.2012.

PLASMID CHARACTERISTICS OF THE POPULATION SALMONELLA ENTERITIDIS IN THE KAMCHATKA REGION

N.A. Kuznetsova¹, F.N. Shubin¹, A.V. Rakov¹, L.A. Rud², S.N. Shapovalenko²

¹ Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Russian Academy of Sciences, Siberian Branch (1 Selskaya St. Vladivostok 690087 Russia), ² Center for Hygiene and Epidemiology in the Kamchatka region (22b Ryabikovskaya St. Petropavlovsk-Kamchatsky 683004 Russia).

Summary – The authors have performed analysis of plasmid characteristics of 299 *Salmonella enteritidis*, strains isolated in 2005–2011 from different ecological sources in the Kamchatka region. It is found that the population of *S. enteritidis* in the Kamchatka region is heterogeneous and is represented by 20 plasmid types of pathogen. It is found that 87.4% of all studied strains isolated from patients with sporadic disease, represented by six major plasmid types that were isolated for all the years of observation. The population structure differentiated local and imported types of microbe, and the types of imported, identified types of microbe of unknown origin. It is shown that the cause of increasing morbidity of salmonellosis caused by *S. enteritidis*, in the Kamchatka region in 2008 is relapse of the epizootic process in a local poultry farm.

Key words: salmonella, plasmid type, populations.