



Министерство здравоохранения Российской Федерации

ФГБНУ «НИИ питания»

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

ВОПРОСЫ ПИТАНИЯ

VOPROSY PITANIYA
(PROBLEMS OF NUTRITION)

Основан в 1932 г.

ТОМ 84

№ 6, 2015

Журнал входит в Перечень российских рецензируемых научных журналов, которые рекомендованы Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации (ВАК) для публикации результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук

Журнал представлен в следующих информационно-справочных изданиях и библиографических базах данных: Реферативный журнал ВИНТИ, Pubmed, Biological, MedART, eLibrary.ru, The National Agricultural Library (NAL), Nutrition and Food Database, FSTA, EBSCOhost, Health Index, Scopus, Web of Knowledge, Social Sciences Citation Index, Russian Periodical Catalog



ИЗДАТЕЛЬСКАЯ ГРУППА
«ГЭОТАР-Медиа»



**Для корреспонденции**

Ефимочкина Наталья Рамазановна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биобезопасности и анализа нутримикробиома ФГБНУ «НИИ питания»

Адрес: 109240, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14

Телефон: (495) 698-53-83

E-mail: karlikanova@ion.ru

Н.Р. Ефимочкина

Оценка роли бактерий рода *Campylobacter* в возникновении пищевых токсикоинфекций и современные методы обнаружения возбудителя

Evaluation of the role of *Campylobacter* spp. in the occurrence of foodborne diseases and modern methods to detect the pathogen

N.R. Efimochkina

ФГБНУ «НИИ питания», Москва
Institute of Nutrition, Moscow

Гастроэнтероколиты, вызванные термофильными бактериями рода *Campylobacter*, являются наиболее распространенными острыми инфекционными зоонозными заболеваниями с пищевым путем передачи. Наибольшую эпидемиологическую значимость представляют *Campylobacter jejuni*, которые обуславливают до 90% подтвержденных лабораторных случаев пищевого кампилобактериоза. Частота обнаружения кампилобактеров у клинически здоровых сельскохозяйственных животных и домашней птицы, а также в полученном от них сырье свидетельствует о значительном распространении этих зоонозных патогенов и о высоких рисках контаминации ими пищевых продуктов и воды. Основными факторами передачи при кампилобактериозах являются птицепродукты (до 70% от общего числа случаев), питьевая вода (8%), сырое молоко (5%). Важным фактором риска распространения этого эмерджентного патогена является его способность персистировать в водных экосистемах. Интенсификация сельского хозяйства, расширение спектра применяемых дезинфектантов и антисептиков, неконтролируемое использование антибиотиков в животноводстве все чаще приводит к селективному отбору наиболее устойчивых форм *Campylobacter* spp., обладающих антибиотикорезистентностью и множественными факторами патогенности. Дан обзор современных методов детекции *Campylobacter* spp., подробно изложены культуральные методы детекции *C. jejuni*, основанные на применении селективных питательных сред и диагностических наборов для характеристики фенотипических профилей штаммов. Подчеркивается, что основой микробиологического контроля должны стать молекулярные методы на основе полимеразной цепной реакции в реальном времени, позволяющие проводить оценку присутствующих в пищевых продуктах термотолерантных кампилобактеров, включая *C. jejuni*.

Ключевые слова: *Campylobacter jejuni*, пищевой кампилобактериоз, факторы патогенности, пищевые продукты, методы детекции



Infections caused by Campylobacter spp. are now considered to be one of the most important foodborne diseases worldwide, this organism is one of the most epidemiologically significant zoonotic pathogens. Among these pathogens Campylobacter jejuni have the greatest epidemiological importance, they are responsible for 90% of laboratory confirmed cases of food campylobacteriosis. The frequency of detection of campylobacters in the environmental and on many raw foods, of both plant and animal origin, in normal intestine biota of domestic and wild animal and birds, indicates the prevalence of these bacteria and the high risk of contamination of food and water. The main factors of transmission in sporadic campylobacteriosis are the poultry and poultry products (up to 70% of the total number of cases), water (8%), raw milk (5%). One of the risk factors for the spread of emergent pathogen is its ability to persist in aquatic ecosystems. Continuing changes in landscape and agricultural intensification can cause further enhance microbial contamination of freshwater bodies and groundwater, and the associated increase in the number of cases of waterborne campylobacteriosis. Intensification of agriculture, expanding the range of applied disinfectants and antiseptics, uncontrolled use of antibiotics in livestock often leads to the selection of the sustainable strains of Campylobacter spp., which have antibiotic resistance and multiple virulence determinants. This paper presents an overview of modern methods for the detection of Campylobacter spp., detailed culture and biochemical methods for the isolation of C. jejuni based on the use of selective culture media and diagnostic kits for the characterization of the phenotypic profiles of the strains. These methods are the starting point in selecting the most effective schemes of food control and surveillance. It is emphasized that the basis of microbiological analysis should be molecular methods based on real-time PCR, which allows to quantify present in foods of thermotolerant Campylobacter, including C. jejuni.

Keywords: *Campylobacter jejuni, food campylobacteriosis, pathogenicity factors, foods, detection methods*

Современные системы обеспечения безопасности пищевых продуктов требуют детального знания и исследования особенностей новых патогенов, биохимических и генетических механизмов формирования их вирулентности, адаптации к неблагоприятным условиям внешней среды и трансформации бактериальных геномов. Установление эпидемической значимости тех или иных пищевых патогенов предполагает комплексный анализ фено- и генотипических признаков, определяющих таксономическую принадлежность и наличие факторов патогенности микроорганизмов, профиль резистентности к антимикробным препаратам, а также их идентификацию как факторов риска в пищевой цепочке.

Изменение свойств микроорганизмов в условиях антропогенной трансформации внешней среды сопровождается появлением новых или эволюционно измененных возбудителей заболеваний с пищевым путем передачи (эмерджентных пищевых патогенов), обладающих множественными факторами патогенности и устойчивостью к антимикробным средствам. Жизнедеятельность микроорганизмов в той или иной экологической нише непосредственно связана с генетически закрепленной способностью включать регуляторные

системы изменчивости на разных стадиях развития микробной клетки. В свете современных концепций перестройка популяционных структур патогенов по факторам патогенности в условиях окружающей среды существенно отличается от характера персистенции возбудителя в клеточных системах макроорганизма при различных типах пищевых инфекций, что требует углубленного изучения биохимических и генетических аспектов этой проблемы.

Обширная группа условно-патогенных и патогенных бактерий включает значительное число микроорганизмов, из которых наиболее опасными в эпидемиологическом отношении являются отдельные представители родов *Salmonella*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Listeria* и *Campylobacter* и другие микроорганизмы, способные в определенных условиях вызывать заболевания с пищевым путем передачи.

Оценивая рейтинг вышеназванных микроорганизмов по частоте возникновения вспышек, числу пострадавших и тяжести заболевания, международные организации относят к числу наиболее важных эмерджентных патогенов следующие виды: бактерии рода *Salmonella*, энтерогеморрагические *E. coli* (EHEC), *Listeria monocytogenes*,

Campylobacter jejuni, *Yersinia enterocolitica*. Доминирующее влияние этих микроорганизмов в возникновении пищевых инфекций было установлено в результате анализа массовых вспышек заболеваний в разных странах мира с 1970–1980-х гг. [1]. В подавляющем большинстве они относились к зоонозам и возникали как вследствие потребления продуктов, полученных от больных животных, так и в результате вторичной контаминации при заготовке и переработке животноводческого сырья, в процессе приготовления и хранения пищи [2].

Гастроэнтероколиты, вызванные бактериями рода *Campylobacter*, являются наиболее распространенными острыми инфекционными зоонозными заболеваниями с пищевым путем передачи. Микроорганизмы *Campylobacter* spp. известны более 80 лет как возбудители заболеваний сельскохозяйственных животных и птиц, в 1957 г. они впервые были выделены от больных людей с клиническими признаками гастроэнтерита. В результате установленной взаимосвязи между кишечными инфекциями, обусловленными термофильными кампилобактериями, в животноводческих хозяйствах и заболеваниями человека экспертный комитет ВОЗ в 1982 г. включил этот микроорганизм в официальный перечень возбудителей пищевых токсикоинфекций [3]. В настоящее время общепризнано, что заболевание людей кампилобактериозом вызывают бактерии *Campylobacter jejuni* (ранее известные как *Campylobacter fetus* ssp. *jejuni*).

В некоторых странах, таких как США и Великобритания, отмечается резкий рост случаев заболеваемости кампилобактериозом, число которых превалирует над другими распространенными пищевыми инфекциями – сальмонеллезом и шигеллезом. Широкое распространение кампилобактериозного энтерита в различных странах мира и большой социально-экономический ущерб от этого заболевания объясняют его включение ВОЗ в список эмерджентных пищевых инфекций [4].

Рассматривая таксономию возбудителей кампилобактериоза, следует отметить, что семейство *Campylobacteriaceae* включает 3 рода – *Campylobacter*, *Arcobacter* и *Sulfurospirillum* [5], каждый из которых включает несколько видов: *Campylobacter* spp. – 16 видов, *Arcobacter* spp. – 4 вида, *Sulfurospirillum* spp. – 5 видов.

Род *Campylobacter*, впервые описанный М. Veron и R. Chatelain в 1973 г., представлен грамотрицательными неспорообразующими палочками изогнутой или спиральной формы, с полярным расположением жгутиков на одном или двух концах, которое обуславливает специфическую штопорообразную подвижность бактериальной клетки. Эти бактерии являются каталазо- и оксидазоположительными микроаэрофилами; оптимальная атмосфера для

роста: 3–15% кислорода, 2–10% углекислого газа и 85–87% азота. Шесть таксонов: *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni*, *Campylobacter jejuni* subsp. *doylei*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter lari*, *Campylobacter upsaliensis* и *Campylobacter helveticus* образуют генетически родственную группу термофильных кампилобактеров с оптимальной температурой роста +42 °С, обладающих способностью инфицировать человека и теплокровных животных.

Большинство видов семейства *Campylobacteriaceae* характеризуется широкой распространенностью и разнообразием источников выделения (табл. 1), наибольшее значение в возникновении пищевых инфекций имеют *C. jejuni* и *C. coli*. В развивающихся странах эпидемически значимым считают также вид *C. upsaliensis*.

Видовая идентификация *Campylobacter* spp. основана на определении фенотипических характеристик, включающих биохимические тесты, профили антибиотикорезистентности и температурные значения роста. Специфические свойства вида *Campylobacter jejuni* включают анаэробные/микроаэрофильные условия роста, температурный оптимум 42–43 °С, неспособность расти при температуре ниже 30 °С, что ассоциируется с отсутствием генов, ответственных за синтез белков холодового шока, играющих ведущую роль в адаптации многих бактерий к низким температурам [6]. Другие фенотипические характеристики *C. jejuni* приведены в табл. 2.

Эпидемиология кампилобактериоза в настоящее время является объектом пристального внимания и детального изучения в большинстве развитых стран мира, поскольку бактерии рода *Campylobacter* все чаще регистрируются в качестве этиологического агента при пищевых вспышках, а также в спорадических случаях бактериальных гастроэнтеритов и диарейных заболеваний. ВОЗ признает, что около 1% населения Западной Европы ежегодно инфицируется кампилобактерами [7], поэтому *Campylobacter* считается одним из наиболее значимых «новых» зоонозных патогенов, способных вызывать заболевания человека и животных.

Кампилобактериоз в большинстве случаев протекает с симптомами энтероколита и гастроэнтерита, продолжительность заболевания составляет от 2–3 дней до 2 нед и более, человек также может быть бессимптомным носителем в течение длительного времени.

Экстраинтестинальные кампилобактериозные инфекции преимущественно включают бактериемию, гемолитический уринарный синдром, перитониты, очаговые инфекции. У иммунокомпромированных групп населения персистирующие диарейные заболевания и бактериемия с трудом поддаются лечению. Кампилобактериозы редко имеют летальный исход, однако уровень смертности при

Таблица 1. Виды семейства *Campylobacteriaceae*

Вид	Резервуар	Заболевания
<i>C. coli</i>	Свинья, птица, крупный рогатый скот, овца	Гастроэнтериты, септицемия
<i>C. concisus</i>	Человек	Периодонтальные заболевания, гастроэнтериты
<i>C. curvus</i>	Человек	Периодонтальные заболевания, гастроэнтериты
<i>C. fetus subsp. fetus</i>	Крупный рогатый скот, овца	Септицемия, гастроэнтериты, самопроизвольные аборты, менингиты
<i>C. fetus subsp. venerealis</i>	Крупный рогатый скот	Септицемия
<i>C. gracilis</i>	Человек	Периодонтальные заболевания, абсцессы
<i>C. helveticus</i>	Кошка, собака	Нет данных
<i>C. hyointestinalis subsp. hyointestinalis</i>	Свинья, крупный рогатый скот, олень, хомяк	Гастроэнтериты
<i>C. hyointestinalis subsp. lawsonii</i>	Свинья	Нет данных
<i>C. hyoilei</i>	Свинья	Нет данных
<i>C. jejuni subsp. doylei</i>	Человек	Гастроэнтериты, гастриты, септицемия
<i>C. jejuni subsp. jejuni</i>	Птица, свинья, крупный рогатый скот, овца, собака, кошка, вода, кролик, норка, насекомые	Гастроэнтериты, септицемия, менингиты, самопроизвольные аборты, проктиты, GBS
<i>C. lari</i>	Птицы, вода, собака, кошка, обезьяна, лошадь	Гастроэнтериты, септицемия
<i>C. mucosalis</i>	Свинья	Нет данных
<i>C. rectus</i>	Человек	Периодонтальные заболевания
<i>C. showae</i>	Человек	Периодонтальные заболевания
<i>C. sputorum</i> bv. <i>sputorum</i>	Человек, крупный рогатый скот, птицы	Абсцессы, гастроэнтериты
<i>C. sputorum</i> bv. <i>faecalis</i>	Овца, буйвол	Нет данных
<i>C. upsaliensis</i>	Собака, кошка	Гастроэнтериты, септицемия, абсцессы
<i>C. insulaenigrae</i>	Тюлень, дельфин	Нет данных
<i>C. lanienae</i>	Крупный рогатый скот, свинья, человек	Нет данных
<i>C. hominis</i>	Человек	Гастроэнтериты у иммунокомпромированных групп

Таблица 2. Фенотипические характеристики *C. jejuni*

Тест	Характеристика	Тест	Характеристика
Продукция каталазы	+	Редукция нитритов	–
Продукция уреазы	–	Продукция ДНКазы	+/-
Утилизация гиппурата	+	Наличие цитохромоксидазы	+
Утилизация углеводов	–	Рост в присутствии 3,5% NaCl	–
Продукция щелочной фосфатазы	+	Редукция трифенилтетразолий хлорида	+
Утилизация цитрата	+	Продукция индола	+
Утилизация сукцината	+	Чувствительность к налидиксовой кислоте	+
Продукция H ₂ S	–	Устойчивость к цефалотину	+
Редукция нитратов до нитритов	+	Рост на угольно-дрожжевом агаре	+/-

этой инфекции может недооцениваться, поскольку ассоциируется с другими этиологическими факторами.

Достаточно хорошо изучены такие осложнения кампилобактериоза, как синдром Гийена–Барре (GBS), синдром Миллера–Фишера (MFS) и реактивные артриты, которые являются иммунным ответом на гастроинтестинальную инфекцию [8].

GBS – это обратимый паралич, поражающий периферическую нервную систему. *C. jejuni* способен к ганглиозидоподобной мимикрии в липополисахаридном слое, вызывая иммунный ответ этих структур, что приводит к повреждению периферических нервных тканей, богатых ганглиозидами. Основными серотипами при GBS являются HS:19 и HS:41. Реактивные артриты возникают после