

Использование молекулярного метода для идентификации возбудителя паратифа В

Л.А.Кафтырева^{1,2}, С.А.Егорова¹, О.А.Каменова³, К.Г.Косьякова^{2,3}, А.О.Шапарь⁴,
Р.В.Кицбашвили⁴, Н.С.Каменова⁵

¹ФБУН «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Роспотребнадзора, Санкт-Петербург, Российская Федерация;

²ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И.Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Российская Федерация;

³ГБУЗ «Детская городская больница №22», Санкт-Петербург, Российская Федерация;

⁴ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в г. Санкт-Петербург», Санкт-Петербург, Российская Федерация;

⁵ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет», Санкт-Петербург, Российская Федерация

Лабораторная диагностика паратифа В требует использования дополнительных методов идентификации возбудителя, поскольку серovar *Salmonella Paratyphi B* с антигенным комплексом 1,4,5,12:b:1,2 включает два биологических варианта, различающихся по способности ферментировать d-тарtrate. Заболевания, вызванные штаммами двух биоваров, имеют значительные эпидемиологические и патогенетические особенности. Тифоподобное заболевание вызывают штаммы биовара dT⁺. В рутинной практике лабораторий для дифференциации используют биохимический тест с ацетатом свинца. Оценка результата теста носит субъективный характер, не всегда воспроизводима и требует до 6 дней инкубации посевов. Цель нашего исследования заключалась в оценке молекулярного метода, предложенного V.Malorny et al. (2003) для дифференциации d-тарtrate-положительных и -отрицательных биоваров *S. Paratyphi B*. Изучено 15 штаммов *S. Paratyphi B*: 14 штаммов, выделенных от пациентов с гастроэнтеритом, по результатам полимеразной цепной реакции относились к биовару dT⁺, один штамм – от пациента с тифоподобным заболеванием – к биовару dT⁻, истинному возбудителю паратифа В. Результаты молекулярной идентификации подтверждались эпидемиологическими и клиническими данными. Молекулярные методы позволяют преодолеть проблемы, связанные с постановкой фенотипических тестов, и должны стать методами выбора для быстрой и достоверной идентификации сложнотипируемых штаммов *Salmonella*, вызывающих спорадические или групповые случаи сальмонеллезов. **Ключевые слова:** *Salmonella Paratyphi B*, d-тарtrate, паратиф В, биовар, полимеразная цепная реакция

Для цитирования: Кафтырева Л.А., Егорова С.А., Каменова О.А., Косьякова К.Г., Шапарь А.О., Кицбашвили Р.В., Каменова Н.С. Использование молекулярного метода для идентификации возбудителя паратифа В. Бактериология. 2022; 7(2): 22–27. DOI: 10.20953/2500-1027-2022-2-22-27

Using the molecular method for identification of the paratyphus B pathogen

L.A.Kaftyreva^{1,2}, S.A.Egorova¹, O.A.Kameneva³, K.G.Kosyakova^{2,3}, A.O.Shapar⁴,
R.V.Kitsbabashvili⁴, N.S.Kameneva⁵

¹Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Rosпотребнадзор, St. Petersburg, Russian Federation;

²I.I.Mechnikov North-Western State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation;

³Children's City Hospital No 22, St. Petersburg, Russian Federation;

⁴Center for Hygiene and Epidemiology in St. Petersburg», St. Petersburg, Russian Federation;

⁵St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Для корреспонденции:

Кафтырева Лидия Алексеевна, доктор медицинских наук, заведующая лабораторией кишечных инфекций ФБУН «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Роспотребнадзора; профессор кафедры медицинской микробиологии ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И.Мечникова» Минздрава России

Адрес: 197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14
Телефон: (812) 233-0856
E-mail: kalfidia@mail.ru

Статья поступила 26.05.2022 г., принята к печати 30.06.2022 г.

For correspondence:

Lidia A. Kaftyreva, MD, PhD, DSc, Head of the Laboratory of Enteric Infections, Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Rosпотребнадзор; Professor of the Department of Medical Microbiology, I.I.Mechnikov North-Western State Medical University

Address: 14 Mira str., Saint Petersburg, 197101, Russian Federation
Phone: (812) 233-0856
E-mail: kalfidia@mail.ru

The article was received 26.05.2022, accepted for publication 30.06.2022

Laboratory diagnostics of paratyphi B requires the use of additional methods for pathogen identification, since *Salmonella* Paratyphi B serovar (antigen complex 1,4,5,12:b:1,2) includes two biological variants that differ in their ability to d-tartrate fermentation. Diseases caused by strains of these two biovars have significant epidemiological and pathogenetic features, typhoid-like disease is caused by dT⁻ strains. In the routine laboratory practice a biochemical lead acetate test is used for differentiation, but the test result evaluation is subjective, not always reproducible and requires up to 6 days of incubation. The aim of our study was to evaluate the molecular method proposed by B. Malorny et al. (2003) for the differentiation of d-tartrate-positive and negative biovars of *S. Paratyphi* B. 15 strains of *S. Paratyphi* B were studied: 14 strains isolated from patients with salmonella gastroenteritis, according to polymerase chain reaction, belonged to dT⁺ biovar; one strain from a patient with typhoid-like disease – to dT⁻ biovar, the true causative agent of paratyphi B. Thus, the results of molecular identification are consistent with epidemiological and clinical data. Molecular methods overcome the problems of phenotypic testing and should be the methods of choice for rapid and reliable identification of *Salmonella* strains that cause sporadic or group cases of salmonellosis.

Key words: *Salmonella Paratyphi B*, d-tartrate, paratyphi B, biovar, polymerase chain reaction

For citation: Kaftyreva L.A., Egorova S.A., Kameneva O.A., Kosyakova K.G., Shapar A.O., Kitsbabashvili R.V., Kamenev N.S. Using the molecular method for identification of the paratyphi B pathogen. *Bacteriology*. 2022; 7(2): 22–27. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2022-2-22-27

S *Salmonella enterica* subsp. *enterica* включает четыре серовара, способных вызывать тифоподобные заболевания у человека. К ним относят возбудителя брюшного тифа *S. Typhi* и возбудителей паратифов *S. Paratyphi A*, *S. Paratyphi B* и *S. Paratyphi C*. В международной классификации болезней (МКБ-10) каждому из перечисленных заболеваний присвоен конкретный код (A01.0, A01.1, A01.2, A01.3 соответственно), в отличие от кишечных инфекций и пищевых отравлений, вызванных бактериями *Salmonella* других сероваров (код A02).

Лабораторная диагностика сальмонеллеза включает выделение чистой культуры возбудителя из биологического материала, идентификацию до вида *Salmonella enterica* subsp. *enterica* по биохимической активности (в отношении углеводов, спиртов и других субстратов) и определение серологического варианта (серовара) по характеристике комплекса О- и Н-антигенов. В отношении идентификации *S. Paratyphi B* классического алгоритма исследования недостаточно, так как серовар с антигенной формулой 1,4,5,12:b:1,2 включает два биологических варианта, различающихся по способности ферментировать d-тарtrat (право-вращающая соль винной кислоты). До 2001 г. в схеме «Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars» штаммы *Salmonella* с антигенной формулой 1,4,5,12:b:1,2 относили к разным сероварам: штаммы, не ферментирующие d-тарtrat (dT⁻), – к серовару *S. Paratyphi B*; штаммы, ферментирующие d-тарtrat (dT⁺) – к серовару *S. Java* [1]. В 2001 г. серовар *S. Java* официально исключен из схемы. В настоящее время все штаммы *Salmonella* с антигенной формулой 1,4,5,12:b:1,2 относят к серовару *S. Paratyphi B* (включающему биовар dT⁻ и биовар dT⁺). Тем не менее микробиологи и эпидемиологи во многих странах по-прежнему используют название *S. Java* для штаммов *S. Paratyphi B* биовара dT⁺. В Российской Федерации современные изменения схемы «Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars» отражены в методических рекомендациях «Бактериологическая диагностика брюшного тифа и паратифов А, В и С» (утверждены Роспотребнадзором 29.12.2007 №0100/13745-07-34). В Методических указаниях «Лабораторная диагностика сальмонеллез, обнаружение сальмонелл в пищевых продуктах и объектах окружающей среды» (МУ 4.2.2723-10) по-прежнему упоминаются два серовара: *S. Java* (биовар dT⁺) и *S. Paratyphi B* (биовар dT⁻).

Деление на биовары имеет эпидемиологическое значение, так как паратиф В (возбудитель – штаммы *S. Paratyphi*

В биовара dT⁻) является антропонозной инфекцией, источник штаммов возбудителя – человек, заболевание протекает чаще как генерализованная тифоподобная инфекция.

Штаммы *S. Paratyphi B* биовара dT⁺ (старое название *S. Java*) характеризуются меньшей вирулентностью для человека, вызывают гастроэнтерит (генерализованная инфекция развивается редко), источниками штаммов являются животные. По литературным данным, штаммы *S. Paratyphi B* биовара dT⁺ выделяют значительно чаще, чем таковые биовара dT⁻ [2–4]. Зарегистрированы многочисленные вспышки, вызванные контаминированными пищевыми продуктами. Во Франции в 1993 г. 273 человека заболели в результате употребления козьего сыра, сделанного из непастеризованного молока [5]. В 2000-х гг. были зарегистрированы вспышки сальмонеллеза в Дании, Бельгии, Шотландии, Швеции, Канаде и Великобритании, вызванные употреблением контаминированных листьев салата, куриного мяса, а также вследствие контакта человека с черепахами и аквариумными рыбками [6–8]. Описаны две ведущие клональные линии *S. Paratyphi B* биовара dT⁺. Штаммы первой линии выделяли из мяса кур в Нидерландах в 2000–2004 гг., и вследствие импорта куриного мяса возникали вспышки в других европейских странах [9, 10]. Штаммы второй генетической линии характеризуются множественной устойчивостью к антимикробным препаратам (ампициллину, хлорамфениколу, стрептомицину, спектиномицину, сульфаниламидам и тетрациклину), вызывают спорадические заболевания человека, отмечены случаи выделения от аквариумных рыбок и телят [6, 8, 11–13].

Учитывая значительные эпидемиологические различия заболеваний, вызванных двумя биоварами *S. Paratyphi B*, во избежание диагностических ошибок в случае выделения штамма с антигенной формулой 1,4,5,12:b:1,2 в лаборатории необходимо определять биовар по отношению к d-тартрату. G. Alfredsson et al. (1972) предложили биохимический тест с ацетатом свинца для дифференциации dT⁻ и dT⁺-штаммов *Salmonella*, который с небольшими модификациями (увеличение посевной дозы, времени и условий инкубации) используют в различных странах как золотой стандарт [14, 15]. Также существует коммерческий агар Remel Jordan's Tartrate Agar (ThermoFisher) для оценки ферментации d-тартрата штаммами энтеробактерий, недоступный в Российской Федерации. Таким образом, дифференциация биоваров в рутинной практике требует постановки дополнительных био-

химических тестов и не менее 6 дней для получения достоверного результата.

Цель исследования заключалась в оценке молекулярного метода для дифференциации биоваров *S. Paratyphi B* (d-тарtrat-положительный и d-тарtrat-отрицательный) при лабораторной диагностике паратифа В.

Материалы и методы

Изучены 15 штаммов *S. Paratyphi B* из коллекции референс-центра по мониторингу возбудителя брюшного тифа ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, выделенные в 2008–2019 гг. на административных территориях РФ из проб фекалий пациентов с гастроэнтеритом (14 штаммов биовар dT⁺) и крови пациента с тифоподобным течением сальмонеллезной инфекции (1 штамм биовар dT⁻). Видовую реидентификацию штаммов проводили с использованием бактериологического анализатора Vitek 2 Compact (BioMerieux), определение антигенной структуры – в реакции агглютинации с сыворотками диагностическими сальмонеллезными адсорбированными к О- и Н-антигенам сальмонелл ПЕТСАЛ производства СПбНИИВС (Россия). Для определения способности штамма *Salmonella* к расщеплению d-тартрата использовали тест с ацетатом свинца [16].

Для дифференциации биоваров *S. Paratyphi B* молекулярным методом использовали метод, предложенный В. Malorny et al. (2003) и модифицированный Н. Levy et al. (2008) [4, 15]. Метод основан на том, что в геноме штаммов *Salmonella* присутствует ген *STM3356*, кодирующий катионный транспортер, способствующий росту *Salmonella* в присутствии d-тартрата. У штаммов *Salmonella*, не ферментирующих d-тарtrat (dT⁻), в стартовом кодоне гена *STM3356* присутствует однонуклеотидный полиморфизм (single nucleotide polymorphism/SNP) ATG→ATA, поэтому трансляции катионного транспортера не происходит. Детекция участка гена, включающего стартовый кодон ATG, в полимеразной цепной реакции (ПЦР) со специфическими праймерами позволяет дифференцировать штаммы двух биоваров. Бактериальную ДНК выделяли с помощью реагента InstaGen Matrix (BioRad, США) согласно инструкции производителя. Использовали две пары праймеров: для идентификации стартового кодона ATG – праймеры dT⁻for и dT⁻rev; для внутреннего контроля амплификации и выявления ложноотрицательных результатов, вызванных ингибиторами ПЦР, – праймеры P1 и P2 (таблица) [3].

Мишень	Последовательность (5'–3')	Название и размер ампликона
Кодон ATG	dT-for: GTAAGGGTAATGGGTTC dT-rev: ACATTATTCGCTCAATGGAG	dT: 289 bp
Внутренний контроль амплификации	P1: TTATTAGGATCGGCCAGGC P2: AAAGAATAACCGTTGTTAC	oriC: 163 bp

ПЦР-смесь включала (25 µl): Taq Master mix green HS (Алкор Био, РФ) – 12,5 µl; по 0,2 µM праймеров (по 0,5 µl праймера в стоковой концентрации 10 µM); H₂O – 10,5 µl; ДНК – 1,0 µl. Условия ПЦР: начальная инкубация 15 мин при 95°C; 30 циклов – денатурация 30 с при 95°C, отжиг 30 с при

55°C, элонгация 30 с при 72°C; финальная элонгация – 5 мин при 72°C. Для постановки ПЦР использовали амплификатор С1000 (BioRad, США). Амплифицированные фрагменты идентифицировали путем электрофореза в 0,5Х-растворе TBE и 2%-м агарозном геле с добавлением бромистого этидия при 120 V в течение 45 мин, визуализировали с использованием системы гель-документирования Gel Doc (BioRad, США). В качестве маркера молекулярного веса использовали ДНК-маркер «100 bp +1,5 Kb +3 Kb» (SibEnzyme, РФ).

Результаты и обсуждение

Изученные штаммы относились к *Salmonella enterica* subsp. *enterica*, характеризовались типичными биохимическими свойствами: ферментация глюкозы с образованием кислоты и газа, отсутствие ферментации лактозы и сахарозы, продукция сероводорода, утилизация цитрата, отрицательный ONPG-тест, наличие лизиндекарбоксилазы и орнитиндекарбоксилазы, отсутствие продукции индола, отсутствие уреазы, положительная реакция с метиловым красным и отрицательная реакция Фогеса–Проскауэра. Штаммы имели антигенный комплекс: О-антигены 1, 4, 5 и 12; Н-антигены b и 1, 2 и относились к серовару *S. Paratyphi B* (антигенная формула 1,4,5,12:b:1,2). Определение биовара штаммов по способности ферментировать d-тарtrat в тесте с ацетатом свинца заняло 6 суток. Однозначный результат получен не для всех штаммов.

При постановке ПЦР с электрофоретической детекцией у всех штаммов амплифицирован контрольный фрагмент oriC (163 bp), специфический для бактерий рода *Salmonella*, что свидетельствовало об отсутствии ложноотрицательных реакций при постановке ПЦР. У 14 штаммов выявлен специфический фрагмент dT (289 bp), свидетельствующий о наличии стартового кодона ATG в гене *STM3356* (рисунок).

Наличие фрагмента dT свидетельствовало о принадлежности штаммов к варианту *S. Paratyphi B* dT⁺ (ранее называемому *S. Java*). Один штамм, выделенный из крови пациента с тифоподобным течением сальмонеллезной инфекции, не имел специфического фрагмента dT, что указывало на принадлежность к биовару *S. Paratyphi B* dT⁻, истинному возбудителю паратифа В.

В РФ определение биовара *S. Paratyphi B* регламентировано МР «Бактериологическая диагностика брюшного тифа и паратифов А, В и С» и МУ 4.2.2723-10 «Лабораторная диагностика сальмонеллез, обнаружение сальмонелл в пищевых продуктах и объектах окружающей среды». В рутинной лабораторной практике для определения способно-

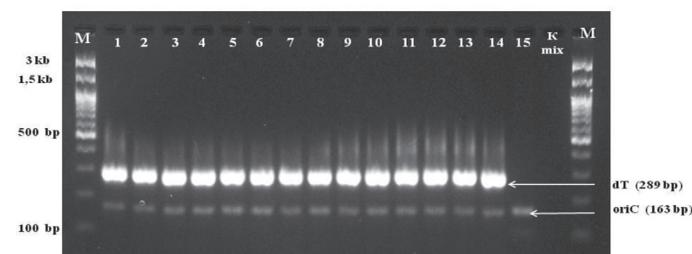


Рисунок. Электрофореграмма результатов ПЦР: М – маркер молекулярного веса (100 bp + 1,5 kb + 3 kb); K_{mix} – контроль чистоты ПЦР-смеси; 1–14 – штаммы *S. Paratyphi* dT⁺; 15 – штамм *S. Paratyphi* dT⁻.

сти штамма *Salmonella* к расщеплению d-тартрата используется тест с ацетатом свинца [16]. В пробирки с 3–4 мл среды (1%-й пептонный раствор с 1% d-тартрата и индикатором бромтимоловым синим, pH 7,4) засевают петлей 18–20-часовую бульонную или агаровую культуру и инкубируют 14 дней при 37°C (в зарубежных источниках срок инкубации составляет 6 дней). Результаты учитывают ежедневно по изменению цвета среды, а также по величине осадка, выпавшего через 30 мин после добавления 0,5 мл насыщенного водного раствора ацетата свинца. При положительном результате реакции (штамм биовара dT⁺) содержимое пробирки меняет цвет с голубого на зеленовато-желтый, а затем белый, величина осадка после добавления ацетата свинца незначительная, не превышает объема среды в пробирке. При отрицательном результате (штамм биовара dT⁻) голубой цвет сохраняется, а после добавления ацетата свинца выпадает объемный осадок, занимающий более объема среды. Для обеспечения возможности учета результата реакции в разные сроки штамм засевают в несколько пробирок, что требует дополнительного расхода среды. В то же время многие авторы отмечают, что оценка результата теста с ацетатом свинца вызывает затруднения, носит субъективный характер и не всегда воспроизводима [2, 15, 17].

Поскольку в РФ штаммы *S. Paratyphi B* выделяют редко, а также учитывая небольшой срок хранения готовой среды, необходимость использования реагентов, зарегистрированных для медицинских целей, и контрольных штаммов, это исследование становится достаточно дорогостоящим и трудоемким для рутинного использования в бактериологических лабораториях.

На территории Северо-Западного федерального округа в 2010–2020 гг. зарегистрированы единичные случаи сальмонеллеза, вызванного *S. Paratyphi B* биовара dT⁻, в Санкт-Петербурге – в 2010, 2012 и 2013 гг. (по 1 случаю), 2015 и 2016 гг. (по 2 случая), 2018 г. (один случай). Заболевание сальмонеллезом, обусловленным *S. Java*, отмечено в 2015 г. Во всех случаях время подтверждения биовара после видовой и антигенной идентификации превышало 5 суток, при этом визуализация результата ферментации d-тартрата в тесте с ацетатом свинца была нечеткой. С позиций доказательной медицины этот тест не может рассматриваться как достоверный.

В 2003 г. В. Malorny et al. предложили молекулярный тест для выявления способности штаммов *Salmonella* утилизировать d-тарtrat [15]. В дальнейшем работами многих исследователей на большом количестве штаммов было показано полное совпадение результатов молекулярного метода и теста с ацетатом свинца [2, 4, 15, 17]. В нашем исследовании результаты молекулярной идентификации подтверждались эпидемиологическими и клиническими данными: 14 штаммов от пациентов с сальмонеллезным гастроэнтеритом по результатам ПЦР относились к биовару dT⁺ (ранее называемый серовар *S. Java*), один штамм от пациента с тифоподобным заболеванием – к биовару dT⁻, истинному возбудителю паратифа В. Продолжительность молекулярного исследования методом ПЦР с электрофоретической детекцией составила около 3 ч по сравнению с 6 сутками, необходимыми для достоверного учета результатов классического теста с ацета-

том свинца. Проведенное нами исследование подтвердило, что молекулярные методы позволяют преодолеть проблемы, связанные с постановкой фенотипических тестов, и должны стать методами выбора для быстрой и достоверной идентификации сложнотипируемых штаммов *Salmonella*, вызывающих спорадические или групповые случаи сальмонеллезов.

Филогенетические исследования подтверждают обоснованность используемого в настоящее время фенотипического деления штаммов серовара *S. Paratyphi B* по способности ферментировать d-тарtrat. При изучении генома штаммов *Salmonella enterica* spp. *enterica* с общей антигенной формулой 1,4, 5,12:b:1,2 классическим методом MSLT обнаружено, что этот серовар включает не менее 10 филогенетических групп, объединяющих 23 сиквенс-типа различной степени филогенетической близости. Штаммы *S. Paratyphi B* dT⁻ (имеющие специфический SNP в гене *STM3356*), вызывающие тифоподобное заболевание, принадлежат только к филогенетической группе PG1, сиквенс-типу ST86. Высказано предположение, что для штаммов других сиквенс-типов *S. Paratyphi B* идентичная антигенная формула является результатом случайных рекомбинаций в хромосомном локусе, отвечающем за синтез H-антигена 1-й и 2-й фазы [18]. Дальнейшее изучение полного генома штаммов серовара *S. Paratyphi B* позволит выявить отличия в патогенном потенциале штаммов биовара dT⁻, которые обуславливают инвазивный патогенез вызываемой ими инфекции.

Информация о финансировании

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Financial support

The work was carried out within the framework of the branch program of Rosпотребнадзор.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest

Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

Литература

1. Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars [Электронный ресурс]. 9th edition. 2007, 167 p. Режим доступа: https://www.pasteur.fr/sites/default/files/veng_0.pdf
2. Ahmad N, Hoon ST, Ghani MK, Tee KY. The discrimination of d-tartrate positive and d-tartrate negative *S. enterica* subsp. *enterica* serovar Paratyphi B isolated in Malaysia by phenotypic and genotypic methods. *Malays J Pathol*. 2012 Jun;34(1):35-9.
3. Threlfall EJ. *Salmonella*. In: Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections, 10th Edition, part VI. Editors: Borriello SP, Murray PR, Funke G. Publishers: Hodder Arnold (London), 2005. pp 1398-1434.
4. Levy H, Diallo S, Tennant SM, Livio S, Sow SO, Tapia M, et al. PCR method to identify *Salmonella enterica* serovars Typhi, Paratyphi A, and Paratyphi B among *Salmonella* isolates from the blood of patients with clinical enteric fever. *J Clin Microbiol*. 2008;46(5):1861-6. DOI: 10.1128/JCM.00109-08
5. Desenclos JC, Bouvet P, Benz-Lemoine E, Grimont F, Desqueyroux H, Rebire I, Grimont PA. Large outbreak of *Salmonella enterica* serotype Paratyphi B infection

- caused by a goats' milk cheese, France, 1993: a case finding and epidemiological study. *BMJ*. 1996;312:91 DOI: 10.1136/bmj.312.7023.91
6. Denny J, Threlfall J, Takkinen J, Lofdahl S, Westrell T, Varela C, et al. Multinational *Salmonella* Paratyphi B variant Java (*Salmonella* Java) outbreak, August–December 2007. *Euro Surveill*. 2007 Dec 20;12(12):E071220.2. DOI: 10.2807/esw.12.51.03332-en
 7. Centers for Disease Control and Prevention. Multistate outbreak of human *Salmonella* infections associated with exposure to turtles – United States, 2007–2008. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2008;57:69–72. <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5703a3.htm>
 8. Gaulin C, Vincent C, Alain L, Ismail J. Outbreak of *Salmonella* Paratyphi B linked to aquariums in the province of Quebec, 2000. *Can Commun Dis Rep*. 2002 Jun 1;28(11):89–93, 96.
 9. Van Pelt W, van der Zee H, Wannet WJ, van de Giessen AW, Mevius DJ, Bolder NM, et al. Explosive increase of *Salmonella* Java in poultry in the Netherlands: consequences for public health. *Euro Surveill*. 2003 Feb;8(2):31–5. DOI: 10.2807/esm.08.02.00398-en
 10. Brown D, Mather H, Browning L, Coia J. Investigation of human infections with *Salmonella enterica* serovar Java in Scotland and possible association with imported poultry. *Euro Surveill*. 2003;8(2):35–40. DOI: 10.2807/esm.08.02.00399-en
 11. Miko A, Guerra B, Schroeter A, Dorn C, Helmuth R. Molecular characterization of multiresistant d-tartrate-positive *Salmonella enterica* serovar Paratyphi B isolates. *J Clin Microbiol*. 2002 Sep;40(9):3184–91. DOI: 10.1128/JCM.40.9.3184–3191.2002
 12. Weill FX, Fabre L, Grandry B, Grimont PA, Casin I. Multiple-antibiotic resistance in *Salmonella enterica* serotype Paratyphi B isolates collected in France between 2000 and 2003 is due mainly to strains harboring *Salmonella* genomic islands 1, 1-B, and 1-C. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005 Jul;49(7):2793–801. DOI: 10.1128/AAC.49.7.2793–2801.2005
 13. Evans SJ, Davies RH, Binns SH, Liebana E, Jones TW, Millar MF, et al. Multiple antimicrobial resistant *Salmonella enterica* serovar Paratyphi B variant Java in cattle: a case report. *Vet Rec*. 2005; 156(11):343–6. DOI: 10.1136/vr.156.11.343
 14. Alfredsson GA, Barker RM, Old DC, Duguid JP. Use of tartaric acid isomers and citric acid in the biotyping of *Salmonella* Typhimurium. *J Hyg (Lond)*. 1972 Dec;70(4):651–66. DOI: 10.1017/s0022172400022518
 15. Malorny B, Bunge C, Helmuth R. Discrimination of d-Tartrate-Fermenting and -Nonfermenting *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Isolates by Genotypic and Phenotypic Methods. *Clin Microbiol*. 2003;41(9):4292–7. DOI: 10.1128/JCM.41.9.4292–4297.2003
 16. Методические указания «Лабораторная диагностика сальмонеллезов». Утв. зам. нач. Глав. сан.-эпид. управления МЗ РСФСР 02.01.1974.
 17. Gand M, Mattheus W, Saltykova A, Roosens N, Dierick K, Marchal K, et al. Development of a real-time PCR method for the genosero-typing of *Salmonella* Paratyphi B variant Java. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2019 Jun;103(12):4987–4996. DOI: 10.1007/s00253-019-09854-4
 18. Connor TR, Owen SV, Langridge G, Connell S, Nair S, Reuter S, Dallman TJ, et al. What's in a name? Species-wide whole-genome sequencing resolves invasive and noninvasive lineages of *Salmonella enterica* serotype Paratyphi B. *mBio*. 2016 Aug 23;7(4):e00527–16. DOI: 10.1128/mBio.00527-16
 3. Threlfall EJ. *Salmonella*. In: Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections, 10th Edition, part VI. Editors: Borriello SP, Murray PR, Funke G. Publishers: Hodder Arnold (London), 2005. pp 1398–1434.
 4. Levy H, Diallo S, Tennant SM, Livio S, Sow SO, Tapia M, et al. PCR method to identify *Salmonella enterica* serovars Typhi, Paratyphi A, and Paratyphi B among *Salmonella* Isolates from the blood of patients with clinical enteric fever. *J Clin Microbiol*. 2008;46(5):1861–6. DOI: 10.1128/JCM.00109–08
 5. Desenclos JC, Bouvet P, Benz-Lemoine E, Grimont F, Desqueyroux H, Rebire I, Grimont PA. Large outbreak of *Salmonella enterica* serotype Paratyphi B infection caused by a goats' milk cheese, France, 1993: a case finding and epidemiological study. *BMJ*. 1996;312:91 DOI: 10.1136/bmj.312.7023.91
 6. Denny J, Threlfall J, Takkinen J, Lofdahl S, Westrell T, Varela C, et al. Multinational *Salmonella* Paratyphi B variant Java (*Salmonella* Java) outbreak, August–December 2007. *Euro Surveill*. 2007 Dec 20;12(12):E071220.2. DOI: 10.2807/esw.12.51.03332-en
 7. Centers for Disease Control and Prevention. Multistate outbreak of human *Salmonella* infections associated with exposure to turtles – United States, 2007–2008. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2008; 57:69–72. <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5703a3.htm>
 8. Gaulin C, Vincent C, Alain L, Ismail J. Outbreak of *Salmonella* Paratyphi B linked to aquariums in the province of Quebec, 2000. *Can Commun Dis Rep*. 2002 Jun 1;28(11):89–93, 96.
 9. Van Pelt W, van der Zee H, Wannet WJ, van de Giessen AW, Mevius DJ, Bolder NM, et al. Explosive increase of *Salmonella* Java in poultry in the Netherlands: consequences for public health. *Euro Surveill*. 2003 Feb;8(2):31–5. DOI: 10.2807/esm.08.02.00398-en
 10. Brown D, Mather H, Browning L, Coia J. Investigation of human infections with *Salmonella enterica* serovar Java in Scotland and possible association with imported poultry. *Euro Surveill*. 2003;8(2):35–40. DOI: 10.2807/esm.08.02.00399-en
 11. Miko A, Guerra B, Schroeter A, Dorn C, Helmuth R. Molecular characterization of multiresistant d-tartrate-positive *Salmonella enterica* serovar Paratyphi B isolates. *J Clin Microbiol*. 2002 Sep;40(9):3184–91. DOI: 10.1128/JCM.40.9.3184–3191.2002
 12. Weill FX, Fabre L, Grandry B, Grimont PA, Casin I. Multiple-antibiotic resistance in *Salmonella enterica* serotype Paratyphi B isolates collected in France between 2000 and 2003 is due mainly to strains harboring *Salmonella* genomic islands 1, 1-B, and 1-C. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005 Jul;49(7):2793–801. DOI: 10.1128/AAC.49.7.2793–2801.2005
 13. Evans SJ, Davies RH, Binns SH, Liebana E, Jones TW, Millar MF, et al. Multiple antimicrobial resistant *Salmonella enterica* serovar Paratyphi B variant Java in cattle: a case report. *Vet Rec*. 2005; 156(11):343–6. DOI: 10.1136/vr.156.11.343
 14. Alfredsson GA, Barker RM, Old DC, Duguid JP. Use of tartaric acid isomers and citric acid in the biotyping of *Salmonella* Typhimurium. *J Hyg (Lond)*. 1972 Dec;70(4):651–66. DOI: 10.1017/s0022172400022518
 15. Malorny B, Bunge C, Helmuth R. Discrimination of d-Tartrate-Fermenting and -Nonfermenting *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Isolates by Genotypic and Phenotypic Methods. *Clin Microbiol*. 2003;41(9):4292–7. DOI: 10.1128/JCM.41.9.4292–4297.2003
 16. Methodological guidelines "Laboratory diagnostics of salmonellosis". Approved by Deputy head Glav san.-epid. management of the Ministry of Health of the RSFSR 02.01.1974. (In Russian).
 17. Gand M, Mattheus W, Saltykova A, Roosens N, Dierick K, Marchal K, et al. Development of a real-time PCR method for the genosero-typing of *Salmonella* Paratyphi B variant Java. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2019 Jun;103(12):4987–4996. DOI: 10.1007/s00253-019-09854-4
 18. Connor TR, Owen SV, Langridge G, Connell S, Nair S, Reuter S, Dallman TJ, et al. What's in a name? Species-wide whole-genome sequencing resolves invasive and noninvasive lineages of *Salmonella enterica* serotype Paratyphi B. *mBio*. 2016 Aug 23;7(4):e00527–16. DOI: 10.1128/mBio.00527-16

References

1. Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars. 9th edition. 2007, 167 p. Available at: https://www.pasteur.fr/sites/default/files/veng_0.pdf
2. Ahmad N, Hoon ST, Ghani MK, Tee KY. The discrimination of d-tartrate positive and d-tartrate negative *S. enterica* subsp. *enterica* serovar Paratyphi B isolated in Malaysia by phenotypic and genotypic methods. *Malays J Pathol*. 2012 Jun;34(1):35–9.

Информация об авторах:

Егорова Светлана Александровна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории кишечных инфекций ФБУН «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Роспотребнадзора

Каменева Ольга Анатольевна, заведующая централизованной специализированной бактериологической лабораторией ГБУЗ «Детская городская больница №22»

Косякова Карина Георгиевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры медицинской микробиологии ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И.Мечникова» Минздрава России; врач-бактериолог централизованной специализированной бактериологической лаборатории ГБУЗ «Детская городская больница №22»

Шапарь Александр Олегович, заведующий отделом эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии с группой учета и регистрации инфекционных и паразитарных заболеваний ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в г. Санкт-Петербург»

Кицбашвили Рамаз Важаевич, врач-эпидемиолог отдела эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в г. Санкт-Петербург»

Каменева Наталья Сергеевна, студентка ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет»

Information about authors:

Svetlana A. Egorova, MD, PhD, Senior Researcher of the Laboratory of Enteric Infections, Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Rosпотребнадзор

Olga A. Kameneva, Head of the Centralized Specialized Bacteriological laboratory Children's City Hospital No 22

Karina G. Kosyakova, MD, PhD, Associate Professor of the Department of Medical Microbiology, I.I.Mechnikov North-Western State Medical University; Bacteriologist of the Centralized Specialized Bacteriological Laboratory of the Children's City Hospital No 22

Aleksandr O. Shapar, Head of the Department of Epidemiology, Parasitology and Disinfection with the Group of Accounting and Registration of Infectious and Parasitic Diseases of the Center for Hygiene and Epidemiology in St. Petersburg

Ramaz V. Kitsbabashvili, epidemiologist of the Department of Epidemiology, Parasitology and Disinfection of the Center for Hygiene and Epidemiology in St. Petersburg

Natalia S. Kameneva, student of the St. Petersburg State Pediatric Medical University

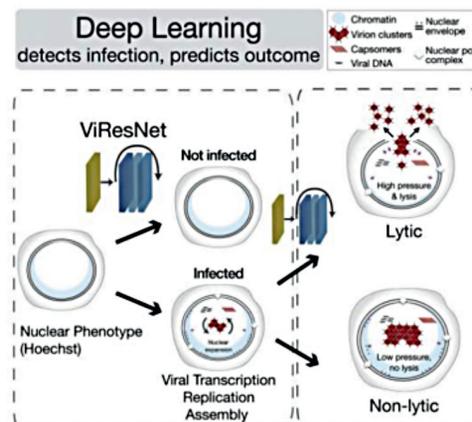
НОВОСТИ НАУКИ**Глубокое обучение при микроскопии предсказывает вирусные инфекции**

Когда вирусы заражают клетку, в ядре клетки происходят изменения, которые можно наблюдать с помощью флуоресцентной микроскопии. Используя флуоресцентные изображения, сделанные на живых клетках, исследователи из Цюрихского университета обучили искусственную нейронную сеть надежно распознавать клетки, инфицированные аденовирусами или вирусами герпеса. Процедура также позволяет выявлять тяжелые острые инфекции на ранней стадии.

У людей аденовирусы могут инфицировать клетки дыхательных путей, а вирусы герпеса – клетки кожи и нервной системы. В большинстве случаев это не приводит к образованию новых вирусных частиц, поскольку вирусы подавляются иммунной системой. Однако аденовирусы и вирусы герпеса могут вызывать стойкие инфекции, которые иммунная система не может полностью контролировать и которые производят вирусные частицы в течение многих лет. Эти же вирусы также могут вызывать внезапные и сильные инфекции, когда пораженные клетки выделяют большое количество вирусов, так что инфекция распространяется быстро. Это может привести к серьезным острым заболеваниям легких или нервной системы.

Исследовательская группа впервые показала, что алгоритм машинного обучения может распознавать клетки, инфицированные герпесом или аденовирусами, исключительно на основе флуоресценции ядра клетки. Этот метод позволяет не только надежно идентифицировать инфицированные вирусом клетки, но и заранее точно определять вирулентные инфекции. Авторы исследования считают, что их разработка может иметь множество применений, в том числе предсказывать реакцию клеток человека на другие вирусы или микроорганизмы. Новый метод открывает новые возможности для лучшего понимания инфекций и открытия новых активных агентов против патогенов, таких как вирусы или бактерии.

Метод анализа основан на сочетании флуоресцентной микроскопии живых клеток с процессами глубокого обучения. Герпес- и аденовирусы, образуясь внутри инфицированной клетки, изменяют организацию ядра, и эти изменения можно наблюдать под микроскопом. Группа обучила алгоритм глубокого обучения – искусственную нейронную сеть – автоматически обнаруживать эти изменения. Сеть обучается с помощью большого набора микроскопических изображений, с помощью которых она учится определять закономерности, характерные для инфицированных или неинфицированных клеток. После завершения обучения и проверки нейронная сеть автоматически обнаруживает инфицированные вирусом клетки.



Andriasyan V, Yakimovich A, Petkidis A, et al.

Microscopy deep learning predicts virus infections and reveals mechanics of lytic-infected cells. *iScience*. 2021 May 15;24(6):102543. DOI: 10.1016/j.isci.2021.102543