

3. MU 1.3.2569-09. *Organization of the laboratories using nucleic acid amplification techniques when working with material containing microorganisms I-IV pathogenicity groups [Organizatsiya raboty laboratoriy, ispol'zuyushchikh metodyamplifikatsii nukleinovykh kislot pri rabote s materialom, sodержashchimi mikroorganizmy I-IV grupp patogennosti]*. (in Russian)
4. MU 4.2.2787-10. *Laboratory diagnosis of melioidosis [Laboratornaya diagnostika melioidoza]*. (in Russian)
5. JV 1.3.1285-03. *Safe handling of microorganisms I-II pathogenicity groups (hazard) [Bezopasnost' raboty s mikroorganizmami I-II grupp patogennosti (opasnosti)]*. (in Russian)
6. SP 1.2.036-95. *The treatment, storage, transfer and transport of microorganisms I-IV pathogenicity groups [Poryadok ucheta, khraneniya, peredachi i transportirovaniya mikroorganizmov I-IV grupp patogennosti]*. (in Russian)
7. Onishchenko G.G., ed. *Specific of pathogenic biological agents: A Practical Guide [Spetsificheskaya indikatsiya patogennykh biologicheskikh agentov. Prakticheskoe rukovodstvo]*. Moscow; 2006. (in Russian)
8. Dance D.A. Melioidosis is an emerging global problem. *Acta Trop.* 2000; 74 (2-3): 115-9.

Поступила 10.04.14

Received 10.04.14

© МАКАРОВ В.К., МАКАРОВ П.В., 2014

УДК 616.33/34-002-079.4

Макаров В.К., Макаров П.В.

СПОСОБ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ САЛЬМОНЕЛЛЕЗНОГО И ОСТРОГО АЛКОГОЛЬНОГО ГАСТРОЭНТЕРИТОВ

Кафедра инфекционных болезней и эпидемиологии ГБОУ ВПО «Тверская государственная медицинская академия»
Минздрава РФ, 170100, Тверь

Цель исследования – разработка способа дифференциальной диагностики сальмонеллезного и алкогольного гастроэнтеритов на основе фосфолипидного спектра сыворотки крови. Исследовали показатели фосфолипидных фракций сыворотки крови у 50 здоровых, 50 больных острым алкогольным гастроэнтеритом (ОАГЭ) и 50 больных сальмонеллезным гастроэнтеритом (СГЭ). Изучено относительное содержание следующих фракций общих фосфолипидов: суммарных лизофосфолипидов (ЛФЛ), сфингомиелина, фосфатидилхолина (ФХ), фосфатидилэтаноламина (ФЭ). Фосфолипидный спектр сыворотки крови может быть использован для дифференциальной диагностики СГЭ и ОАГЭ. Нарушения метаболизма липидов при данных патологических состояниях носят разнонаправленный характер. СГЭ характеризуется снижением по сравнению с нормой относительного содержания ЛФЛ и повышением уровня ФХ, ОАГЭ – повышением относительного содержания ЛФЛ, ФЭ и снижением уровня ФХ. Содержание в сыворотке крови ЛФЛ ниже 35% или 30 мг% позволяет диагностировать ОАГЭ. Содержание в сыворотке крови ФХ выше 40% или 50 мг% позволяет диагностировать СГЭ.

Ключевые слова: сальмонеллез; алкоголь; гастроэнтерит; фосфолипиды.

V.K. Makarov, P.V. Makarov

THE MODE OF DIFFERENTIAL DIAGNOSTIC OF AND ACUTE ALCOHOLIC GASTROENTERITIS

The Tver state medical academy of Minzdrav of Russia, Tver, Russia

The study was carried out to develop mode of differential diagnostic of salmonella and acute alcoholic gastroenteritis on the basis of phospholipid specter of blood serum. The indicators of phospholipid fractions of blood serum were analyzed in 50 healthy persons, 50 patients with acute alcoholic gastroenteritis and 50 patients with salmonella gastroenteritis were analyzed. The relative content of following fractions of whole phospholipids were analyzed - total lysophospholipids, sphingomyelin, phosphatidcholine, phosphatidyletanolamin. The phospholipid spectrum of blood serum can be applied in differential diagnostic of salmonella gastroenteritis and acute alcoholic gastroenteritis. The disorders of metabolism of lipids under given pathological conditions have a multidirectional character: The salmonella gastroenteritis is characterized by decreasing of relative content of total lysophospholipids and increasing of phosphatidcholine as compared with standard conditions. The acute alcoholic gastroenteritis is characterized by increasing of relative content of total lysophospholipids and phosphatidcholine and decreasing of level of phosphatidcholine. The content of total lysophospholipids in blood serum is lower on 35% or 30.0 mg% permits diagnosing acute alcoholic gastroenteritis. The content of phosphatidcholine in blood serum higher than 40% or 50 mg% permits diagnosing salmonella gastroenteritis.

Key words: salmonellosis; alcohol; gastroenteritis; phospholipids.

Введение. Сальмонеллез встречается во всех регионах мира [17] и занимает значительное место среди всего этиологического спектра диарейных заболеваний [2]. Заболеваемость в РФ сальмонеллезами продолжает расти [10], нанося значительный экономический ущерб. Наиболее частым кли-

ническим вариантом течения сальмонеллеза является гастроэнтеритический вариант гастроинтестинальной формы. В клинике наблюдаются интоксикационный, диспептический и диарейный синдромы, проявляющиеся тошнотой, рвотой, болями в животе, частым обильным водянистым жидким стулом [12]. Диагноз подтверждается бактериологическим методом, на что требуется от 3 до 5 дней [3].

Помимо инфекционной этиологии, причиной гастроэнтеритов может быть токсическое воздействие алкоголя [5]. Алкогольная ситуация в РФ характеризуется как критическая, потому что потребление алкоголя в России расценивается как избыточное [9]. Для острого алкогольного

Для корреспонденции:

Макаров Виктор Константинович, д-р мед. наук, проф., зав. каф. инфекц. болезней и эпидемиологии
Адрес: 170100, Тверь, ул. Советская, 4
E-mail: makarov.tver@mail.ru

гастроэнтерита (ОАГЭ) также характерны тошнота, рвота, боли в животе, повторный, обильный жидкий стул [1]. Алкоголь приводит к дестабилизации клеточных и внутриклеточных мембран [14].

Дифференциальная диагностика сальмонеллезного гастроэнтерита (СГЭ) и ОАГЭ очень важна, так как лечение значительно различается.

Липиды считаются одной из важнейших составляющих всех клеток человеческого организма [13]. В составе клеточных мембран фосфолипиды (ФЛ) обуславливают их проницаемость, тем самым обеспечивая нормальные процессы обмена в различных органах [4, 15]. Участвуя в обеспечении целостности строения мембран, ФЛ поддерживают многие функции клеток.

Цель исследования – разработка способа дифференциальной диагностики СГЭ и ОАГЭ на основе фосфолипидного спектра сыворотки крови в 1-й день поступления в клинику.

Материалы и методы. Проведение работы одобрено этическим комитетом. Исследованы показатели липидного и фосфолипидного спектра сыворотки крови в следующих группах: 1-я – 50 здоровых лиц; 2-я – 50 больных ОАГЭ, соответствует по МКБ-10 коду K52.1 + T51, что понимается как неинфекционный гастроэнтерит (K52.1), связанный с токсическим действием алкоголя (T51); 3-я – 50 больных с СГЭ, вызванным *S. enteritidis*, средней тяжести. Больные ОАГЭ поступали в стационар после значительной алкогольной нагрузки. Все обследованные были в возрасте от 20 до 60 лет.

Средний возраст больных сравниваемых групп был близким. У больных СГЭ средний возраст составил $34,3 \pm 2,3$ года, у больных ОАГЭ – $37,3 \pm 1,5$ года. Большинство обследованных во всех группах были лица мужского пола.

Для определения состояния мембран изучались фосфолипидные фракции сыворотки крови, так как известно, что ФЛ входят в состав клеточных мембран, в том числе энтероцитов, и соответственно всякое изменение содержания их на мембране приводит к изменению содержания их в сыворотке крови.

Липиды выделяли по Фолчу [16] и фракционировали модифицированным методом [7] с определением процентного содержания минорных липидных компонентов сыворотки

крови одновременно с основными липидными фракциями с применением метода денситометрии и современного высокоточного денситометра Shimadzu CS-9000 (Япония).

Общие липиды определяли по Маршу [19]. Изучено относительное содержание следующих фракций общих ФЛ: суммарных лизофосфолипидов (ЛФЛ), сфингомиелина (СМ), фосфатидилхолина (ФХ), фосфатидилэтаноламина (ФЭ). Содержание каждого липида выражали в процентах относительно уровня общих ФЛ.

Все показатели проверяли на предмет выявления эмпирических функций их распределения и соответствие этих функций нормальной функции распределения (функция Гаусса). Для этой процедуры применяли критерий согласия Шапиро–Уилка, который применим при небольшом количестве измерений ($n < 50$). Сравнение групп проводили двумя способами: для нормально распределенных показателей применяли t-критерий Стьюдента, а в случае аномальности функций распределения – U-критерий Манна–Уитни.

Результаты и обсуждение. Исследование спектра общих ФЛ (табл. 1) показало, что у больных СГЭ по сравнению со здоровыми значительно повышен относительный уровень ФХ с параллельным снижением содержания суммарных ЛФЛ. При сравнении со здоровыми лицами у больных ОАГЭ показатели ЛФЛ и ФЭ оказались выше, а ФХ – ниже.

Сравнение спектра ФЛ у больных СГЭ и ОАГЭ показало, что в сыворотке крови последних достоверно значительно выше относительное содержание ЛФЛ и ФЭ, а ФХ – ниже.

Относительное содержание СМ в группах больных СГЭ и ОАГЭ в сравнении с таковым у здоровых не различалось.

Уровень общих липидов у больных СГЭ составил $562,8 \pm 15,1$ мг%, у пациентов с ОАГЭ – $917,7 \pm 21,2$ мг% и был достоверно выше ($p < 0,001$), чем у здоровых ($353,1 \pm 13,1$ мг%).

При изучении абсолютного содержания фракций липидов обнаружено, что у больных СГЭ показатели всех фракций ФЛ (табл. 2), за исключением суммарных ЛФЛ, выше по сравнению с соответствующими показателями у здоровых. Это можно связать с исходно более высоким уровнем общих липидов у больных СГЭ. Абсолютный уровень ЛФЛ у больных СГЭ оказался близок к таковому у здоровых.

У больных ОАГЭ абсолютные показатели всех фракций ФЛ выше, чем у здоровых, что также объясняется исходно высоким уровнем общих липидов сыворотки крови.

У больных ОАГЭ в крови количество ЛФЛ в 2 раза превысило содержание данной фракции у больных СГЭ. В свою очередь у больных СГЭ абсолютный показатель ФХ оказался в 1,5 раза выше, чем у больных ОАГЭ.

Пониженное относительное содержание ЛФЛ сыворотки у больных СГЭ может быть следствием ингибирования активности эндогенных фосфолипаз, нарушений процессов рецилирования, что ведет к накоплению этих липидов на мембранах [8]. Повышение относительного уровня ЛФЛ сыворотки крови у больных ОАГЭ можно объяснить активацией фосфолипазы A_2 , которая катализирует гидролиз эфирной связи глицерофосфолипидов, в результате чего и образуются ЛФЛ [11].

У больных ОАГЭ выявлено сравнительно низкое относительное содержание ФХ. Под действием алкоголя снижается активность фермента фосфатидилэтаноламин-метилтрансферазы, что приводит к снижению относительного содержания ФХ [18]. В крови у лиц с хронической алкогольной интоксикацией наблюдается повышение уровня ФЭ [6].

Заключение. Фосфолипидный спектр сыворотки крови может быть использован для дифференциальной диагностики СГЭ и ОАГЭ

Нарушения метаболизма липидов при данных патологических состояниях носят разнонаправленный

Таблица 1

Характеристика фосфолипидного состава сыворотки крови у здоровых, больных СГЭ и ОАГЭ ($\bar{X} \pm m$, отн. %)

Фосфолипиды	Здоровые (n = 50)	Больные СГЭ (n = 50)	Больные ОАГЭ (n = 50)	p_1	p_2
ЛФЛ	$27,5 \pm 0,8$	$15,0 \pm 0,5$	$30,3 \pm 0,7^{**}$	$< 0,001$	$< 0,001$
СМ	$24,3 \pm 0,4$	$25,3 \pm 0,4$	$24,0 \pm 0,5$	$< 0,05$	$> 0,05$
ФХ	$37,5 \pm 0,7$	$49,1 \pm 0,7$	$32,4 \pm 1,0^{***}$	$< 0,001$	$< 0,001$
ФЭ	$10,2 \pm 0,4$	$10,4 \pm 0,4$	$12,9 \pm 0,3^{***}$	$< 0,001$	$> 0,05$

Примечание. Здесь и в табл. 2: p_1 – достоверность различий показателей липидов у больных СГЭ и ОАГЭ; p_2 – достоверность различий показателей липидов у больных СГЭ по отношению к таковым у здоровых; звездочкой обозначена достоверность различий показателей липидов у больных ОАГЭ и здоровых (* – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$).

Таблица 2

Характеристика фосфолипидного состава сыворотки крови у здоровых, больных СГЭ и ОАГЭ ($\bar{X} \pm m$, мг%)

Фосфолипиды	Здоровые (n = 50)	Больные СГЭ (n = 50)	Больные ОАГЭ (n = 50)	p_1	p_2
Общие ФЛ	$64,9 \pm 2,3$	$126,6 \pm 3,2$	$120,1 \pm 3,8^{***}$	$> 0,05$	$< 0,001$
ЛФЛ	$18,3 \pm 0,4$	$18,9 \pm 0,7$	$36,4 \pm 0,8^{***}$	$< 0,001$	$> 0,05$
СМ	$15,6 \pm 0,5$	$31,9 \pm 0,9$	$28,8 \pm 0,6^{***}$	$< 0,01$	$< 0,001$
ФХ	$23,5 \pm 0,6$	$62,7 \pm 2,1$	$38,9 \pm 1,2^{***}$	$< 0,001$	$< 0,001$
ФЭ	$6,6 \pm 0,3$	$13,0 \pm 0,5$	$15,7 \pm 0,4^{***}$	$< 0,001$	$< 0,001$

характер. СГЭ характеризуется снижением по сравнению с нормой относительного содержания ЛФЛ и повышением уровня ФХ, ОАГЭ – повышением относительного содержания ЛФЛ, ФЭ и снижением уровня ФХ.

Содержание в сыворотке крови ЛФЛ ниже 35% или 30,0 мг% позволяет диагностировать ОАГЭ. Содержание в сыворотке крови ФХ выше 40% или 50 мг% позволяет диагностировать СГЭ. Патент РФ на изобретение № 2499992.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бонитенко Ю.Ю., Ливанов Г.А., Бонитенко Е.Ю., Калмансон М.Л. *Острые отравления алкоголем и его суррогатами (патогенез, клиника, диагностика, лечение). Пособие для врачей.* СПб.: Лань; 2000.
2. Волжанин В.М., Ковеленов А.Ю. Сальмонеллез. В кн.: Лобзин Ю.В. *Руководство по инфекционным болезням.* СПб.: Фолиант; 2003: 38–48.
3. Кондрашева Е.А., Островский А.Ю., ред. ИНВИТРО диагностика. *Лабораторная диагностика.* М.: Медиздат; 2009.
4. Комаров Ф.И., Коровкин Б.Ф., Меньшиков В.В. *Биохимические исследования в клинике.* Элиста; 1999.
5. Комаров Ф.И., Гребнев А.Л. Болезни органов пищеварения. В кн.: *Воробьев А.И., ред. Справочник практического врача.* М.: Издательский Дом ОНИКС; 2000: 134–72.
6. Курдыбайло Ф.В., Механик З.И. Особенности обмена фосфолипидов при циррозах печени в зависимости от этиологического фактора. *Врачебное дело.* 1979; 9: 21–3.
7. Макаров В.К. Фосфолипидный спектр сыворотки крови в диагностике разных стадий комбинированного вирусно-алкогольного поражения печени. *Биомедицинская химия.* 2004; 50: 498–501.
8. Марри Р., Греннер Д., Мейерс П., Родуэлл В. *Биохимия человека:* пер. с англ. М.: Медицина; 1993; т. 1: 111–298.
9. Нужный В.П., Харченко В.И., Акопян А.С. Избыточное потребление алкоголя – весомый фактор риска болезней системы кровообращения и высокой смертности населения (обзор). *Терапевтический архив.* 1998; 10: 57–64.
10. Савинов В.С., Лыткина И.Н., Филатов Н.Н., Филиппова А.А., Картавая С.А., Салова Н.Я. и др. Современная эпизоотолого-эпидемиологическая ситуация по сальмонеллезам в Москве. *Инфекционные болезни.* 2011; 9 (1): 321–2.
11. Султанова У.К., Борщева Л.И., Мансурова И.Д. Особенности нарушения липидного обмена при хронической алкогольной интоксикации. *Вопросы медицинской химии.* 1992; 38 (1): 50–2.
12. Шувалова Е.П. *Инфекционные болезни.* М.: Медицина; 2005.
13. Щербакова М.Ю. Нарушения липидного обмена. *Педиатрия. Журнал имени Г.Н. Сперанского.* 2000; 4: 76–80.
14. Adachi J. *Membrane disorder and free radical.* Nihon Hoigaku Zasshi. 2000; 54 (3): 356–60.
15. Crain R.C. Phospholipid transfer proteins as of membrane structure and function. *Subcell. Biochem.* 1990; 16: 45–67.
16. Folch J., Lees M., Stanley G.H.G. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 1957; 226: 497–509.
17. Langridge G.C., Nair S., Wain J. Nontyphoidal Salmonella serovars cause different degrees of invasive disease globally. *J. Infect. Dis.* 2009; 199 (4): 602–3.
18. Lieber C.S. Liver diseases by alcohol and hepatitis C: early detection and new insights in pathogenesis lead to improved treatment. *J. Adict.* 2001; 10: 29–50.
19. Marsh J.B., Weinstein P.B. Single charring methods for determination of lipids. *J. Lipid.* 1966; 7: 574–6.

REFERENCES

1. Bonitenko Yu.Yu., Livanovs G.A., Bonitenko E.Yu., Kalmanson M.L. *Acute poisonings with alcohol and its substitutes (pathogenesis, clinic, diagnostics, treatment). Posobie dlya vrachev.* St. Petersburg: Lan; 2000. (in Russian)
2. Volzhanin V.M., Kovelenov A.Yu. Salmonellosis. In: Lobzin Yu.V., ed. *A manual by infectious illnesses.* St. Petersburg: Foliant; 2003: 38–48. (in Russian)
3. Kondrosheva E.A., Ostrovskiy A.Yu., eds. *IN VITRO diagnostics. Laboratory diagnostics.* Moscow: Medizdat; 2009. (in Russian)
4. Komarov F.I., Korovkin B.F., Men'shikov V.V. *Biochemical researches in clinic.* Elista; 1999 (in Russian).
5. Komarov F.I., Grebnev A.L. Illnesses of digestion organs. In: Vorob'ev A.I., ed. *The quick reference for a practical doctor.* Moscow: Izdatel'stvo ONIX; 2000: 134–72. (in Russian)
6. Kurdybaylo F.V., Mekhanik Z.I. Features of exchange of phospholipids at liver cirrosis depending on etiological factor. *Vrachebnoe delo.* 1979; 9: 21–3. (in Russian)
7. Makarov V.K. Фосфолипидный спектр of whey of blood in diagnostics of different stages of a combined вирусно-алкогоlic defeat of a liver. *Biomeditsinskaya khimiya.* 2004; 50: 498–501. (in Russian)
8. Marri R., Grenner D., Meyers P., Roduell V. Human biochemistry. *Transl. from engl.* Moscow: Meditsina; 1993; vol. 1: 111–298. (in Russian)
9. Nuzhnyy V.P., Kharchenko V.I., Akopyan A.S. Exuberant consumption of alcohol – powerful risk factor of illnesses of the system of a circulation of blood and high смертности of the population (browse). *Terapevticheskiy arkhiv.* 1998; 10: 57–64. (in Russian)
10. Savinov V.S., Litkina I.N., Filatov N.N., Filippova A.A., Kartavay S.A., Salova N.Y. et al. Modern episootologo-epidemiological situation for salmonellosis in Moscow. *Infektsionnye bolezni.* 2011; 9 (1): 321–2. (in Russian)
11. Sultanova Yu.K., Borshcheva L.I., Mansurova I.D. Features of lipid exchange violation at chronic alcoholic intoxication. *Voprosy meditsinskoy khimii.* 1992; 38 (1): 50–2. (in Russian)
12. Shuvalova E.P. *Infectious illnesses.* Moscow: Meditsina; 2005. (in Russian)
13. Shcherbakova M.Yu. Violations of lipid exchange. *Pediatriya. Zhurnal imeni G.N. Speranskogo.* 2000; 4: 76–80. (in Russian)
14. Adachi J. *Membrane disorder and free radical.* Nihon Hoigaku Zasshi. 2000; 54 (3): 356–60.
15. Crain R.C. Phospholipid transfer proteins as of membrane structure and function. *Subcell. Biochem.* 1990; 16: 45–67.
16. Folch J., Lees M., Stanley G.H.G. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 1957; 226: 497–509.
17. Langridge G.C., Nair S., Wain J. Nontyphoidal Salmonella serovars cause different degrees of invasive disease globally. *J. Infect. Dis.* 2009; 199 (4): 602–3.
18. Lieber C.S. Liver diseases by alcohol and hepatitis C: early detection and new insights in pathogenesis lead to improved treatment. *J. Adict.* 2001; 10: 29–50.
19. Marsh J.B., Weinstein P.B. Single charring methods for determination of lipids. *J. Lipid.* 1966; 7: 574–6.

Поступила 17.04.14
Received 17.04.14