

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ЗА ВОЗБУДИТЕЛЯМИ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ КАК СОСТАВНАЯ ЧАСТЬ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА

Феликс Николаевич ШУБИН, Алексей Владимирович РАКОВ,
Наталья Анатольевна КУЗНЕЦОВА

НИИ эпидемиологии и микробиологии СО РАМН
690087, г. Владивосток, ул. Сельская, 1

В статье обсуждаются новые возможности повышения эффективности эпидемиологического надзора, связанные с внедрением микробиологического молекулярно-генетического мониторинга за возбудителями кишечных инфекций. На основании литературных данных и результатов собственных исследований сформулированы основные задачи микробиологического мониторинга. Установлено, что во всех изученных регионах популяции сальмонелл и бактерий псевдотуберкулеза гетерогенны по плазмидным характеристикам и каждому из субъектов Российской Федерации свойственны определенные наборы плазмидных типов. Показано, что плазмидный анализ может быть использован в качестве самостоятельного метода для локального и регионального наблюдения за распространением патогенных бактерий.

Ключевые слова: микробиологический мониторинг, *Salmonella*, *Yersinia pseudotuberculosis*.

Эпидемиологический надзор определяется как система контроля над распространением инфекционных болезней и мерами их профилактики. Соответственно, повышение эффективности эпидемиологического надзора является одной из насущных проблем современной эпидемиологии. Особенно актуальна эта проблема при кишечных инфекциях, заболеваемость которыми не имеет тенденции к снижению. Одна из причин данного явления кроется в нерешенности некоторых аспектов собственно эпидемиологического надзора при таких инфекциях. В современных условиях уже недостаточно осуществлять лишь контроль над заболеваемостью и распространением инфекций среди населения. Назрела необходимость иметь достоверные данные о циркуляции возбудителей инфекций, что составляет предмет микробиологического мониторинга, являющегося составной частью эпидемиологического надзора. Без решения этого вопроса невозможно достичь управления эпидемическим процессом при большинстве бактериальных инфекций.

Вопросу микробиологического мониторинга и, соответственно, контролю над циркуляцией возбудителей всегда уделялось определенное внимание [1]. Однако эпидемиологическое мар-

кирование возбудителей в основном строилось на изучении фенотипических свойств бактерий (биотип, фаготип, серотип, токсигенность, резистентность к антибиотикам). В этом случае микробиологический мониторинг выражается в слежении за биологическими свойствами возбудителей, которые хотя и находят отражение в геноме бактерий, но не позволяют оценить степень генетического родства изучаемых штаммов микроба. Следовательно, для создания эффективной системы микробиологического мониторинга нужны новые теоретические подходы и новые методы.

Развитие популяционной генетики позволило теоретически обосновать возможность построения системы микробиологического молекулярно-генетического мониторинга, а молекулярная биология предложила ряд методов, позволяющих анализировать геномный полиморфизм бактериальных популяций возбудителей инфекционных болезней. Теоретическое обоснование микробиологического молекулярно-генетического мониторинга выразилось разработкой клональной концепции структуры популяций микробов, в соответствии с которой структурной единицей популяции является клон.

Шубин Ф.Н. – д.м.н., проф., зав. лабораторией молекулярной эпидемиологии, e-mail: shubin@inbox.ru

Раков А.В. – к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии, e-mail: vokar@mail333.com

Кузнецова Н.А. – к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии, e-mail: kuznetsovanata@mail.ru

С эволюционно-генетических позиций клон определяется как группа генетически идентичных или близкородственных клеток, которые тождественны по происхождению от общей наследственной клетки в отсутствие хромосомных рекомбинаций [2]. В соответствии с этим определением природные популяции представляют собой совокупности более или менее независимых клеточных линий, обладающих известными генетическими маркерами, анализ которых позволяет следить за распространением отдельных генотипов микроба. Следовательно, основная задача микробиологического мониторинга состоит уже не просто в слежении за возбудителями, а в динамическом наблюдении за циркулирующими популяциями микробов, за их генетической организацией и в оценке значимости отдельных генотипов бактерий в эпидемическом процессе. Осуществление такого мониторинга позволяет обнаружить новые направления изменчивости микроба, выяснить их экологическую, эпизоотическую и эпидемическую значимость, что может явиться основанием для предупреждения осложнения эпидемиологической ситуации или способствовать ликвидации очагов инфекций.

Цель настоящего исследования состоит в анализе возможностей, которые могут быть достигнуты на пути повышения эффективности эпидемиологического надзора за кишечными инфекциями при условии организации постоянно действующего микробиологического молекулярно-генетического мониторинга за возбудителями болезней.

Для внутривидовой дифференциации возбудителей бактериальных инфекций используется ряд эффективных методов, основанных на исследовании внехромосомной или хромосомной ДНК. Первая группа методов включает плазмидный анализ микробов и рестрикционный анализ плазмидных ДНК [3–7]. Ко второй группе относятся риботипирование [8–10], IS200-типирование [11], RAPD-типирование [12, 13], электрофорез в пульсирующем поле (PFGE) [3, 10, 11], VNTR-типирование и его варианты [14] и мультилокусное секвенирование-типирование [15]. В соответствии с разрешающей способностью методов, воспроизводимостью результатов и их интерпретацией пульс-электрофоретическое типирование считается «золотым стандартом» для генотипирования многих видов патогенных бактерий.

Наиболее ответственная задача микробиологического молекулярно-генетического мониторинга состоит в изучении структуры популяций возбудителей бактериальных инфекций.

В настоящее время установлено, что генетическое разнообразие возбудителей в структуре их популяций не безгранично. Изучение популяций патогенных бактерий выявило высококлональные виды, виды с ограниченной клональностью и неклональные. При этом *Salmonella enterica* является высококлональным видом бактерий [16].

В настоящее время *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis (*S. Enteritidis*) занимает ведущее значение в этиологии сальмонеллеза в России и во многих странах мира. Исследование методом электрофореза в пульсирующем поле штаммов *S. Enteritidis*, изолированных от больных в различных регионах мира, выявило значительную гетерогенность популяции микроба. При этом ограниченность числа генотипов микроба в структуре его популяций определяется тем, что во всех изученных регионах всегда выявляется доминирующий генотип, на долю которого приходится большая часть изученных штаммов микроба.

Пульс-электрофоретическое типирование 30 штаммов *S. Enteritidis*, изолированных в Англии в 1983–1998 гг. из различных экологических источников, выявило 9 электрофоретических генотипов микроба, среди которых генотип X1 объединил 22 (73,3 %) штамма микроба [17]. Как показало сравнительное исследование 104 штаммов *S. Enteritidis*, изолированных от домашних кур на 8 птицефермах в различных районах Англии, генотип X1 выявлен у 83,6 % штаммов микроба [18]. Следовательно, можно полагать, что доминирование генотипа X1 *S. Enteritidis* у больных определяется именно формированием на птицефермах этого доминирующего генотипа или клона микроба. В дальнейших исследованиях при использовании трех независимых методов генотипирования (электрофорез в пульсирующем поле, риботипирование и плазмидный анализ) подтвердилось наличие доминирующего генотипа микроба [19]. Близкие результаты получены в Дании [20], где при типировании 30 штаммов *S. Enteritidis*, изолированных от мелких млекопитающих и больных людей, 23 (76,7 %) штамма относились также к одному доминирующему генотипу микроба. Более того, централизованное исследование 101 штамма *S. Enteritidis*, изолированных от больных людей, животных и с объектов внешней среды в Швеции, Англии и Испании в 1983–1997 гг., выявило 28 электрофоретических генотипов микроба, однако более 60 % штаммов относились к одному доминирующему генотипу [21]. Эти исследования позволили прийти к заключению, что популяция *S. Enteritidis* на территории Западной Европы име-

ет клональное происхождение, а пульс-электрофоретическое типирование микроба может быть использовано для изучения популяции микроба на различных континентах.

Бликие результаты генотипирования *S. Enteritidis* с использованием электрофореза в пульсирующем поле получены при изучении штаммов микроба, циркулирующих на Азиатском континенте. Исследования, выполненные в Японии [22–24], Таиланде [25] и на Тайване [26, 27], показали, что во всех представленных странах большинство вспышек и более 50 % спорадических случаев сальмонеллеза связаны с одним общим генотипом микроба. При этом сравнительное исследование штаммов микроба, выделенных из различных экологических источников в Германии и на Тайване, показало идентичность доминирующего генотипа *S. Enteritidis* в обоих регионах [28]. Учитывая, что исследованные штаммы микроба были изолированы из различных источников в отдаленных друг от друга географических районах Евразии и относились к одному доминирующему генотипу, авторы пришли к заключению о существовании основного клона (генотипа) *S. Enteritidis*, получившего мировое распространение.

В лаборатории молекулярной эпидемиологии НИИ эпидемиологии и микробиологии СО РАМН для генотипирования возбудителей используется плазмидный анализ в комплексе с рестрикционным анализом плазмидных ДНК, а основные исследования выполнены на моделях возбудителей сальмонеллеза и псевдотуберкулеза. Выбор плазмидного анализа для типирования сальмонелл и бактерий псевдотуберкулеза определился тем, что данный метод характеризуется хорошей воспроизводимостью результатов, достаточной разрешающей силой, легкостью выполнения и интерпретации полученных данных, плазмиды содержатся у большинства штаммов этих видов бактерий, что указывает на высокую долю типизируемых штаммов [3, 4, 7, 26, 27]. Кроме того, мониторинговые исследования предполагали изучение большого числа штаммов бактерий, что не позволяло ориентироваться на использование трудоемких и дорогостоящих методов, основанных на изучении хромосомной ДНК [29]. В итоге, в процессе осуществления микробиологического мониторинга методом плазмидного анализа изучено свыше 15000 штаммов *Salmonella*, изолированных из различных экологических источников (больные люди, животные, объекты внешней среды), и 4500 штаммов *Yersinia pseudotuberculosis*.

Плазмидная характеристика популяции *S. Enteritidis* в Приморском крае включает более

100 плазмидных типов микроба, что отражает ее высокую степень гетерогенности. Вместе с тем на протяжении 15 лет наблюдений более 80 % всей заболеваемости населения обеспечивается участием шести плазмидных типов микроба. Ограниченность наборов генотипов *S. Enteritidis* свойственна и популяции микроба у больных в Сибирско-Дальневосточном регионе, где более 80 % заболеваемости населения обеспечивалось участием 9 плазмидных типов, и на большинстве территорий выявляется чаще всего один доминирующий плазмидный тип микроба, на долю которого приходится свыше 40 % заболеваемости населения [30, 31].

Гетерогенность популяций *S. Enteritidis* по плазмидным характеристикам имеет место и в других странах. Например, в Испании [32] у микроба выявлено 9 плазмидных типов, в Чехии [4] – 16 типов, в Иране [7] – 7 типов, на Тайване [27] – 17 типов. Однако, как и в России, во всех странах среди исследованных штаммов выделяются 2–3 доминирующих генотипа микроба, на долю которых приходится от 50 до 80 % культур.

Для решения вопроса о механизмах формирования у больных в Сибирском и Дальневосточном федеральных округах гетерогенных популяций *S. Enteritidis* были изучены штаммы микроба, изолированные из продукции 16 птицефабрик [30, 31]. При этом установлено, что на большинстве птицефабрик Сибири и Дальнего Востока циркулируют гетерогенные популяции *S. Enteritidis*, представленные двумя и более плазмидными типами микроба. Как показал анализ связи заболеваемости населения с предприятиями промышленного птицеводства, более 80 % спорадической и вспышечной заболеваемости обусловлено генотипами, циркулирующими на птицефабриках.

Аналогичные результаты получены в Англии [18] в процессе плазмидного анализа штаммов микроба, изолированных на 8 птицефермах в разных районах страны, где также на каждом предприятии выявлены гетерогенные по плазмидным характеристикам популяции микроба. Общим для России и Англии является то положение, что популяции *S. Enteritidis* на каждой из птицефабрик относительно консервативны по времени и характеризуются набором определенных плазмидных типов микроба.

Следовательно, присутствие на каждой из отдельных птицефабрик нескольких плазмидных типов *S. Enteritidis* лежит в основе формирования у больных в Сибири и на Дальнем Востоке высокогетерогенной по плазмидным типам популяции микроба. Весьма вероятно, что этот

же механизм лежит в основе формирования гетерогенной популяции *S. Enteritidis* у больных и в Англии.

Близкие характеристики свойственны и популяции *Y. pseudotuberculosis*. Нашими исследованиями показано, что в России популяция *Y. pseudotuberculosis* серотипа 1b, играющего основную роль в патологии человека, представлена 20 плазмидными типами микроба, но основную роль в этиологии псевдотуберкулеза играют 5 плазмидных типов, с которыми связано 85,7 % заболеваемости [33]. В Японии эпидемическая и спорадическая заболеваемость псевдотуберкулезом в основном связана с серотипами 1b, 4b, 5a и 5b [34]. В соответствии с результатами REAP-типирования (restriction endonuclease analysis of virulence plasmid) штаммы серотипа 1b распределились в 6 типов с преобладанием REAP-типа D, штаммы серотипа 4b – в 7 REAP-типов с преобладанием REAP-типа G, а 5a и 5b – соответственно в 3 и 4 типа с преобладанием REAP-типа I. Выявились и общие REAP-типы для России, Японии и Кореи, каковыми являются REAP-типы B и D, с которыми связаны общие для стран серотипы *Y. pseudotuberculosis* 1b и 4b.

Таким образом, несмотря на значительную гетерогенность популяций возбудителей сальмонеллеза и псевдотуберкулеза, выявляемую различными методами, имеются реальные возможности для изучения их генетической структуры. Эти исследования открывают перспективы для сравнительного анализа их во времени, на различных территориях, среди различных групп населения и при различных типах заболеваемости. Естественно, что такие исследования имеют и практическую значимость, поскольку раскрытие механизмов формирования гетерогенных популяций возбудителей инфекций служит информационной базой для принятия управленческих решений, прямо направленных на предотвращение заболеваемости населения.

Следующей задачей микробиологического молекулярно-генетического мониторинга является дифференциация генотипов возбудителей, характеризующихся различной эпидемической значимостью. Актуальность этой проблемы определяется уже тем, что доли различных генотипов сальмонелл и бактерий псевдотуберкулеза в структурах их популяций на различных территориях варьируют. Более подробно данное положение прослежено на примере распределения плазмидных типов *S. Enteritidis* по территории Сибири и Дальнего Востока, которое оказалось неравномерным [30]. Среди основных девяти плазмидных типов *S. Enteritidis* выявлены

типы микроба, получившие распространение на всей территории. Ими являются генотипы *S. Enteritidis*, маркированные плазмидами 38 Mda и 38:1,4 Mda. На некоторых территориях (Хабаровский и Красноярский края, Новосибирская, Томская и Иркутская области) эти генотипы имеют доминирующее значение в этиологии инфекции. Напротив, на других территориях (Приморский край, Камчатская область) они не играют ведущей роли в формировании заболеваемости, однако присутствуют в популяциях микроба. Вторая группа плазмидных типов характеризуется региональным распространением. Так, плазмидный тип микроба 38:2,6:1,4 Mda чаще обнаруживается у больных в Сибирском регионе, а штаммы генотипа 38:30:2,3 Mda более характерны для Дальнего Востока. Напротив, третья группа плазмидных типов *S. Enteritidis* характеризуется приуроченностью к определенным административным территориям. В Приморском крае существенную роль в этиологии сальмонеллеза играет плазмидный тип 38:4,2 Mda, а в Хабаровском – 38:3,3 Mda.

Современное состояние изученности проблемы позволяет частично объяснить некоторые ее стороны. Можно полагать, что состояние приуроченности плазмидных типов *S. Enteritidis* к определенным административным образованиям ведет за собой их меньшую эпидемическую значимость. При этом механизм формирования такой приуроченности генотипов к территориям определяется их циркуляцией на местных предприятиях птицеводства [35]. Эпидемическая значимость типов микроба с региональным распространением потенциально более высокая. Соответственно, механизм ее формирования может быть двояким. В первом случае он может определяться циркуляцией микроба на нескольких предприятиях птицеводства в регионе, как это имеет место у плазмидного типа 38:2,6:1,4 Mda. Во втором – микроб хотя и циркулирует на одном предприятии региона, однако сформировавшиеся транспортные потоки продукции предприятия ведут к диссеминации возбудителя в регионе [35]. Наибольшую эпидемическую значимость имеют плазмидные типы *S. Enteritidis*, получившие распространение на всей территории Сибири и Дальнего Востока. Для этих генотипов характерно, во-первых, широкое распространение на ряде предприятий птицеводства, и, во-вторых, имеет место распространение возбудителя в процессе транспорта пищевых продуктов. Возможно формирование встречных перевозок одинаковых плазмидных типов *S. Enteritidis* с транспортируемыми продуктами. Поэтому в

настоящее время еще недостаточно данных для составления возможных схем движения возбудителя в регионах и понимания эпидемиологии сальмонеллеза, вызванного этими генотипами микроба.

Микробиологический молекулярно-генетический мониторинг приобретает особую значимость при решении прикладных вопросов эпидемиологии: установление источников и факторов передачи возбудителей, выявление или исключение эпидемиологических связей между случаями болезни, расшифровка вспышек инфекций, дифференциация завозных и местных заболеваний среди населения, раскрытие путей миграций возбудителей инфекций [36]. Эти вопросы оперативно решаются именно с применением плазмидного анализа, когда появляется возможность быстрого изучения значительного числа штаммов бактерий.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют, что плазмидный анализ в комплексе с рестрикционным анализом плазмидных ДНК позволяет дифференцировать внутри серотипов генетически родственные штаммы. Преимущества молекулярно-генетического мониторинга по сравнению с традиционными фенотипическими методами слежения бесспорны. В этом виде микробиологический мониторинг действительно является информационной базой эпидемиологического надзора, что позволяет конструктивно влиять на эффективность проводимых мероприятий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ягодинский В., Рейнару И. Элементы эпидемиологического надзора. Таллин, 1987. 272 с.
2. Yagodinskiy V., Reinaru I. Elements of epidemiological surveillance. Tallinn, 1987. 272 p.
3. Selander R.K., Caugant D.A., Whittman T.S. Genetic structure and variation in natural populations of *Escherichia coli* // Cell. Mol. Biol. 1987. 2. 1625–1648.
4. Ridley A.M., Threlfall E.J., Rowe B. Genotypic characterization of *Salmonella enteritidis* phage types by plasmid analysis, ribotyping, and pulsed-field gel electrophoresis // J. Clin. Microbiol. 1998. 36. (8). 2314–2321.
5. Rychlik I., Karpiskova R., Faldynova M. et al. Computer-assisted restriction endonuclease analysis of plasmid DNA in field strains of *Salmonella enteritidis* // Can. J. Microbiol. 1998. 44. (12). 1183–1185.
6. Rychlik I., Svestkova A., Karpiskova R. Subdivision of *Salmonella enterica* serovar *Enteritidis* phage types PT14b and PT21 by plasmid profiling // Vet. Microbiol. 2000. 74. (3). 217–225.
7. Шубин Ф.Н., Ковальчук Н.И., Кузнецова Н.А. и др. Микробиологический мониторинг за *Salmonella enteritidis* в Приморском крае. Фенотипическая и плазмидная характеристика возбудителя // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2002. (1). 36–40.
8. Shubin F.N., Kovalchuk N.I., Kuznetsova N.A. et al. Microbiological monitoring of *Salmonella enteritidis* in the Primorye territory. Phenotypical and plasmid characteristics of the agent // Epidemiologiya i infektsionnye bolezni. 2002. (1). 36–40.
9. Mirmomeni M.H., Colagar A.H., Ghazaey S. Molecular study of *Salmonella enteritidis* in poultry samples by PCR, plasmid curing, antibiotic resistance and protein pattern analysis // Pak. J. Biol. Sci. 2007. 10. (10). 1562–1570.
10. Martins C.H.G., Santos V.R.D., Castro F.A.D. et al. Ribotyping of *Salmonella enteritidis* strains reveals the spread of a single genotype in the Brazilian city of Ribeirao Preto // J. Bras. Patol. Med. Lab. 2006. 42. (1). 19–23.
11. Landeras E., Mendoza M.C. Evaluation of PCR-based methods and ribotyping performed with a mixture of *Pst*I and *Sph*I to differentiate strains of *Salmonella* serotype *Enteritidis* // J. Med. Microbiol. 1998. 47. (5). 427–434.
12. Thong K.L., Ngeow Y.F., Altwegg M. et al. Molecular analysis of *Salmonella enteritidis* by pulsed-field gel electrophoresis and ribotyping // J. Clin. Microbiol. 1995. 33. (5). 1070–1074.
13. Winokur P.L. Molecular epidemiological techniques for *Salmonella* strain discrimination // Front. Biosci. 2003. 8. 14–24.
14. Soto S.M., Guerra B., González-Hevia M.A. et al. Potential of three-way randomly amplified polymorphic DNA analysis as a typing method for twelve *Salmonella* serotypes // Appl. Environ. Microbiol. 1999. 65. (11). 4830–4836.
15. Khodoo M.H., Issack M.I., Jaufeerally-Fakim Y. Serotyping and RAPD profiles of *Salmonella enterica* isolates from Mauritius // Lett. Appl. Microbiol. 2002. 35. (2). 146–152.
16. Ramisse V., Houssu P., Hernandez E. et al. Variable number of tandem repeats in *Salmonella enterica* subsp. *enterica* for typing purposes // J. Clin. Microbiol. 2004. 42. (12). 5722–5730.
17. Kotetishvili M., Stine O.C., Kreger A. et al. Multilocus sequence typing for characterization of clinical and environmental *Salmonella* strains // J. Clin. Microbiol. 2002. 40. (5). 1626–1635.
18. Spratt B.G., Maiden M.C.J. Bacterial population genetics, evolution and epidemiology // Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci. 1999. 354. (1384). 701–710.
19. Desai M., Threlfall E.J., Stanley J. Fluorescent amplified-fragment length polymorphism sub-

typing of the *Salmonella enterica* serovar *enteritidis* phage type 4 clone complex // J. Clin. Microbiol. 2001. 39. (1). 201–206.

18. Liebana E., Garcia-Migura L., Breslin M.F. et al. Diversity of strains of *Salmonella enterica* serotype *enteritidis* from English poultry farms assessed by multiple genetic fingerprinting // J. Clin. Microbiol. 2001. 39. (1). 154–161.

19. Liebana E., Clouting C., Garcia-Migura L. et al. Multiple genetic typing of *Salmonella Enteritidis* phage-types 4, 6, 7, 8 and 13a isolates from animals and humans in the UK // Vet. Microbiol. 2004. 100. (3–4). 189–195.

20. Nauerby B., Pedersen K., Dietz H.H. et al. Comparison of Danish isolates of *Salmonella enterica* serovar *enteritidis* PT9a and PT11 from hedgehogs (*Erinaceus europaeus*) and humans by plasmid profiling and pulsed-field gel electrophoresis // J. Clin. Microbiol. 2000. 38. (10). 3631–3635.

21. Laconcha I., Baggesen D.L., Rementeria A. et al. Genotypic characterisation by PFGE of *Salmonella enterica* serotype *Enteritidis* phage types 1, 4, 6, and 8 isolated from animal and human sources in three European countries // Vet. Microbiol. 2000. 75. (2), 155–165.

22. Hamada K., Tsuji H., Izumiya H. et al. Comparison by pulsed-field gel electrophoresis of *Salmonella enteritidis* genotypes from various food poisoning outbreaks from 1997 to 1999 in Hyogo Prefecture // Jpn. J. Infect. Dis. 2000. 53. 25–27.

23. Oshibe T., Hamada K. Phylogenetic analysis of genotypic variations of *Salmonella enteritidis* isolates from sporadic infections using pulsed-field gel electrophoresis from December 1996 to November 2000 in Hyogo Prefecture // Jpn. J. Infect. Dis. 2001. 54. 40–43.

24. Hamada K., Tsuji H., Oshibe T. et al. Phylogenetic analysis of *Salmonella enterica* serovar *Enteritidis* isolated from food poisoning outbreaks and sporadic infections in 2001–2002 in Hyogo prefecture: existent of predominant genotypes in the epidemic // Jpn. J. Infect. Dis. 2002. 55. (6). 207–210.

25. Boonmar S., Bangtrakulnonth A., Pornrunangwong S. et al. Epidemiological analysis of *Salmonella enteritidis* isolates from humans and broiler chickens in Thailand by phage typing and pulsed-field gel electrophoresis // J. Clin. Microbiol. 1998. 36. (4). 971–974.

26. Tsen H.Y., Lin J.S. Analysis of *Salmonella enteritidis* strains isolated from food-poisoning cases in Taiwan by pulsed field gel electrophoresis, plasmid profile and phage typing // J. Appl. Microbiol. 2001. 91. (1). 72–79.

27. Pang J.C., Chiu T.H., Chiou C.S. et al. Pulsed-field gel electrophoresis, plasmid profiles and phage types for the human isolates of *Salmonella ente-*

rica serovar *Enteritidis* obtained over 13 years in Taiwan // J. Appl. Microbiol. 2005. 99. (6). 1472–1483.

28. Pang J.C., Chiu T.H., Helmuth R. et al. A pulsed field gel electrophoresis (PFGE) study that suggests a major world-wide clone of *Salmonella enterica* serovar *Enteritidis* // Int. J. Food Microbiol. 2007. 116. (3). 305–312.

29. Шагинян И.А. Роль и место молекулярно-генетических методов в эпидемиологическом анализе внутрибольничных инфекций // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2000. 3. (2). 82–95.

Shaginyan I.A. Role and significance of molecular methods in epidemiological analysis of nosocomial infections // Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya. 2000. 3. (2). 82–95.

30. Шубин Ф.Н., Маслов Д.В., Кузнецова Н.А. и др. Сальмонеллез в Сибири и на Дальнем Востоке: молекулярные и эпидемиологические аспекты // Междунар. науч.-практ. конф. «Перспективы сотрудничества государств-членов ШОС в противодействии угрозе инфекционных болезней». Новосибирск, 2009. 215–219.

Shubin F.N., Maslov D.V., Kuznetsova N.A. et al. *Salmonella* infection in Siberia and Far East: molecular and epidemiological aspects // International scientific practical conference «Prospects of cooperation between countries members of Shanghai Cooperation Organization for retroaction of infectious diseases threats». Novosibirsk, 2009. 215–219.

31. Шубин Ф.Н., Раков А.В., Кузнецова Н.А. и др. Структура популяции *Salmonella enteritidis* в Приморском крае по данным плазмидного анализа // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2006. (3). 28–32.

Shubin, F.N., Rakov, A.V., Kuznetsova, N.A. et al. Structure of *Salmonella enteritidis* population in the Maritime Territory of Russia on the plasmid analysis data // Zhurn. mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii. 2006. 3. 28–32.

32. Rivera M.J., Rivera A., Castillo J. et al. Plasmid profile in epidemiological studies of human *Salmonella* infections // J. Chemother. 1993. 5. (Suppl. 1). 288–290.

33. Шубин Ф.Н., Гинцбург А.Л., Китаев В.М. и др. Анализ плазмидного состава штаммов *Yersinia pseudotuberculosis* и его применение для типирования возбудителя псевдотуберкулеза // Молек. генетика, микробиология и вирусология. 1989. (6). 20–25.

Shubin F.N., Gintsburg A.L., Kitaev V.M. et al. Analysis of the plasmid composition of *Yersinia pseudotuberculosis* strains and its use for typing pseudotuberculosis pathogens // Molek. genetika, mikrobiologiya i virusologiya. 1989. (6). 20–25.

34. Fukushima H., Gomyoda M., Hashimoto N. *et al.* Putative origin of *Yersinia pseudotuberculosis* in western and eastern countries. A comparison of restriction endonuclease analysis of virulence plasmids // Zentralbl. Bakteriол. 1998. 288. (1). 93–102.

35. Шубин Ф.Н., Кузнецова Н.А., Раков А.В. и др. Плазмидная характеристика популяции *Salmonella enteritidis* в Хабаровском крае // Дальневосточный журн. инфекционной патологии. 2010. (17). 143–147.

Shubin F.N., Kuznetsova N.A., Rakov A.V., *et al.* *Salmonella enteritidis* population plasmid character-

istics in the Khabarovsk Region // Dal'nevostochnyi zhurn. infektsionnoi patologii. 2010. (17). 143–147.

36. Кузнецова Н.А., Шубин Ф.Н., Раков А.В. и др. Связь вспышечной и спорадической заболеваемости сальмонеллезом по соответствию плазмидных характеристик возбудителей // Тихоокеанский мед. журн. 2010. (4). 38–40.

Kuznetsova N.A., Shubin F.N., Rakov A.V. *et al.* Connection between outbreak and sporadic morbidity of *Salmonella* infection in accordance to plasmid types of pathogen // Tikhookeanskii med. zhurn. 2010. (4). 38–40.

MICROBIOLOGICAL MOLECULAR GENETIC MONITORING OF ENTERIC INFECTION PATHOGENS AS AN ELEMENT OF EPIDEMIOLOGICAL SURVEILLANCE

Feliks Nikolaevich SHUBIN, Aleksey Vladimirovich RAKOV,
Natalia Anatolievna KUZNETSOVA

Institute of Epidemiology and Microbiology SB RAMS
690087, Vladivostok, Selskaya str., 1

The implementation of molecular genetic methods of intraspecific typing of pathogenic bacteria allowed to study a genomic polymorphism of the population and to carry out a dynamic surveillance of pathogen circulation. In the paper discussed new capabilities for improvement of epidemiological surveillance efficiency connected with the implementation of microbiological molecular genetic monitoring of enteric infection pathogens. Based on literature data and our own results we formulated the basic goals of microbiological monitoring. It is established that in all studied regions *Salmonella* and *Yersinia pseudotuberculosis* populations are heterogeneous by plasmid characteristics and any of federal subject have a peculiar definite compositions of plasmid types. It is shown that plasmid analysis can be used as separate method for local and regional surveillance for distribution of pathogenic bacteria.

Key words: microbiological monitoring, *Salmonella*, *Yersinia pseudotuberculosis*.

Shubin F.N. – doctor of medical sciences, professor, head of laboratory of molecular epidemiology,
e-mail: shubin@inbox.ru

Rakov A.V. – candidate of medical sciences, senior researcher of laboratory of molecular epidemiology,
e-mail: vokar@mail333.com

Kuznetsova N.A. – candidate of medical sciences, senior researcher of laboratory of molecular epidemiology,
e-mail: kuznetsovanata@mail.ru