

© Коллектив авторов, 2022

УДК 577.21:616.9:579.842.14 (470.63)

**Генетическое профилирование штаммов *Salmonella enteritidis*, выделенных на территории Ставропольского края в 2016–2019 гг.**Е.В. Чекрыгина¹, О.В. Васильева², А.С. Волынкина², Ю.А. Алехина², А.Н. Куличенко²¹ ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России, ул. Мира, д. 310, г. Ставрополь, 355017, Российская Федерация² ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора, ул. Советская, д. 13–15, г. Ставрополь, 355035, Российская Федерация**Резюме**

Введение. В Ставропольском крае наиболее частым этиологическим агентом сальмонеллезов у людей является *S. enteritidis*, что соответствует общемировой тенденции. В связи с этим определение серовара дает мало информации в ходе эпидемиологического расследования и обуславливает необходимость субвидового типирования изолятов *S. enteritidis*.

Цель исследования: провести MLVA-типирование штаммов *S. enteritidis*, выделенных на территории Ставропольского края в 2016–2019 гг., проанализировать генетическую структуру популяции сальмонелл в регионе.

Материалы и методы. Исследовано 122 штамма *S. enteritidis*, изолированных в 2016–2019 гг. из проб испражнений больных острыми кишечными инфекциями в Ставропольском крае (г. Ставрополь и регион Кавказских Минеральных Вод (КМВ)). MLVA-типирование осуществляли по 5 вариабельным локусам. Размер амплифицированных локусов определяли методом капиллярного электрофореза.

Результаты. Исследуемые штаммы отличались высокой генетической гетерогенностью и относились к 25 MLVA-генотипам. На территории г. Ставрополя выявлены штаммы *S. enteritidis* принадлежащие к 24 MLVA-типам. Доминирующим геновариантом в г. Ставрополе являлся 3-10-5-4-1, к которому относилось 40 штаммов сальмонелл (44,4 %), выделенных в 2016–2019 гг. В отдельные годы возрастал удельный вес других геновариантов. В регионе КМВ были выделены штаммы, относящиеся к 7 MLVA-генотипам, большинство выделенных культур принадлежало к генотипу 3-10-5-4-1. В регионе КМВ ежегодно отмечалась смена доминирующего варианта *S. enteritidis*. Доминирующие на территории края MLVA-типы широко распространены в мире и обладают значительным эпидемическим потенциалом.

Заключение. Получены новые данные о MLVA-генотипах *S. enteritidis*, встречающихся на территории Ставропольского края (г. Ставрополь и регион КМВ). Определены доминирующие в регионе геноварианты, отмечены различия в соотношении циркулирующих MLVA-генотипов *S. enteritidis* в 2016–2019 гг., это определяет необходимость молекулярно-генетического мониторинга для оценки динамических изменений генетической структуры популяции сальмонелл в режиме реального времени. Полученные в результате работы данные могут быть использованы при эпидемиологическом анализе возможных случаев (вспышек) сальмонеллеза для определения источника и путей распространения инфекции.

Ключевые слова: генетическое профилирование, MLVA-типирование, *S. enteritidis*, геноварианты, Ставропольский край.

Для цитирования: Чекрыгина Е.В., Васильева О.В., Волынкина А.С., Алехина Ю.А., Куличенко А.Н. Генетическое профилирование штаммов *Salmonella enteritidis*, выделенных на территории Ставропольского края в 2016–2019 гг. // Здоровье населения и среда обитания. 2022. Т. 30. № 6. С. 66–71. doi: <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2022-30-6-66-71>

Сведения об авторах:

Чекрыгина Елена Владимировна – ассистент кафедры микробиологии ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России; e-mail: Chekrygina-e@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1893-6195>.

✉ **Васильева** Оксана Васильевна – к.м.н., заведующая лабораторией диагностики бактериальных инфекций ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора; e-mail: ksusha.vasilyeva@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8882-6477>.

Волынкина Анна Сергеевна – к.б.н., заведующая лабораторией диагностики вирусных инфекций ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора; e-mail: volyn444@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5554-5882>.

Алехина Юлия Александровна – врач КЛД лаборатории диагностики бактериальных инфекций ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора; e-mail: stavnipchi@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5651-4498>.

Куличенко Александр Николаевич – д.м.н., профессор, директор ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора; e-mail: stavnipchi@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9362-3949>.

Информация о вкладе авторов: концепция и дизайн исследования: Чекрыгина Е.В., Васильева О.В., Волынкина А.С.; сбор данных: Чекрыгина Е.В., Алехина Ю.А.; анализ и интерпретация результатов: Васильева О.В., Волынкина А.С.; литературный обзор: Чекрыгина Е.В., Алехина Ю.А.; подготовка рукописи: Васильева О.В., Волынкина А.С., Куличенко А.Н. Все авторы ознакомились с результатами работы и одобрили окончательный вариант рукописи.

Соблюдение этических стандартов: данное исследование не требует представления заключения комитета по биомедицинской этике или иных документов.

Финансирование: исследование проведено без спонсорской поддержки.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

Статья получена: 13.05.22 / Принята к публикации: 06.06.22 / Опубликовано: 30.06.22

Genetic Profiling of *Salmonella enteritidis* Strains Isolated in the Stavropol Region in 2016–2019Elena V. Chekrygina,¹ Oksana V. Vasilyeva,² Anna S. Volynkina,² Yulia A. Alekhina,² Alexandr N. Kulichenko²¹ Stavropol State Medical University, 310 Mira Street, 355017, Stavropol, Russian Federation² Stavropol Research Anti-Plague Institute, 13–15 Sovetskaya Street, Stavropol, 355035, Russian Federation**Summary**

Introduction: *Salmonella enteritidis* is the most common etiologic agent of salmonellosis in humans in the Stavropol Region, which is in line with the global trend. In this regard, the definition of a serovar provides little information in the course of an epidemiological investigation and necessitates subspecific typing of *S. enteritidis* isolates.

Objective: MLVA typing of *S. enteritidis* strains isolated in the Stavropol Region in 2016–2019 and the analysis of the genetic structure of the local *Salmonella* population.

Materials and methods: We studied 122 strains of *S. enteritidis* isolated in 2016–2019 from stool samples of patients with acute intestinal infections in the city of Stavropol and the Caucasian Mineral Waters (CMW) of the Stavropol Region. Multi Locus Variable Number Tandem Repeat (MLVA) typing was performed based on five variable loci. The size of amplified loci was determined by capillary electrophoresis.

Results: The studied strains were distinguished by high genetic heterogeneity and belonged to 25 MLVA genotypes. *S. enteritidis* strains belonging to 24 MLVA types were identified on the territory of Stavropol. The dominant genetic variant in the city was 3-10-5-4-1, which included 40 *Salmonella* strains (44.4%) isolated in 2016–2019. In some years, the proportion of other genetic variants increased. In the CMW area, strains belonging to seven MLVA genotypes were isolated, most of which belonged to the profile 3-10-5-4-1, while a change in the dominant variant of *S. Enteritidis* was registered annually. Prevalent regional MLVA types are widespread in the world and have a significant epidemic potential.

Conclusions: We obtained new data on *S. enteritidis* MLVA genotypes in the Stavropol Region, established dominant genetic variants, and noted differences in the ratio of circulating MLVA genotypes of *S. enteritidis* in 2016–2019. Our findings necessitate constant molecular genetic monitoring to assess real-time dynamic changes in the genetic structure of the *Salmonella* population. They can also be used in investigations of possible cases (outbreaks) of salmonellosis to determine their source and routes of transmission.

Keywords: genetic profiling, MLVA typing, *S. enteritidis*, genetic variants, Stavropol Region.

For citation: Chekrygina EV, Vasilyeva OV, Volynkina AS, Alekhina YuA, Kulichenko AN. Genetic profiling of *Salmonella enteritidis* strains isolated in the Stavropol Region in 2016–2019. *Zdorov'e Naseleniya i Sreda Obitaniya*. 2022; 30(6):66–71. (In Russ.) doi: <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2022-30-6-66-71>

Author information:

Elena V. **Chekrygina**, Assistant, Department of Microbiology, Stavropol State Medical University; e-mail: Chekrygina-e@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1893-6195>.

✉ Oksana V. **Vasilyeva**, Cand. Sci. (Med.), Head of Bacterial Infection Diagnostic Laboratory, Stavropol Research Anti-Plague Institute; e-mail: ksusha.vasilyeva@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8882-6477>.

Anna S. **Volynkina**, Cand. Sci. (Biol.), Head of Viral Infection Diagnostic Laboratory, Stavropol Research Anti-Plague Institute; e-mail: volyn444@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5554-5882>.

Yulia A. **Alekhina**, doctor of clinical laboratory diagnostics, Bacterial Infection Diagnostic Laboratory, Stavropol Research Anti-Plague Institute; e-mail: stavnipchi@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5651-4498>.

Alexandr N. **Kulichenko**, Dr. Sci. (Med.), Professor; Director, Stavropol Research Anti-Plague Institute; e-mail: stavnipchi@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9362-3949>.

Author contributions: study conception and design: Chekrygina E.V., Vasilyeva O.V., Volynkina A.S.; data collection: Chekrygina E.V., Alekhina Yu.A.; analysis and interpretation of results: Vasilyeva O.V., Volynkina A.S.; literature review: Chekrygina E.V., Alekhina Yu.A.; draft manuscript preparation: Vasilyeva O.V., Volynkina A.S., Kulichenko A.N. All authors reviewed the results and approved the final version of the manuscript.

Compliance with ethical standards: Ethics approval was not required for this study.

Funding: The authors received no financial support for the research, authorship, and/or publication of this article.

Conflict of interest: The authors declare that there is no conflict of interest.

Received: May 13, 2022 / Accepted: June 6, 2022 / Published: June 30, 2022

Введение. Занимающий одно из ведущих мест в структуре острых кишечных бактериальных инфекций сальмонеллез характеризуется сложностью этиологической структуры, полиморфизмом клинических проявлений и формированием бактерионосительства. В России, несмотря на тенденцию к снижению распространения, сальмонеллез занимает третье место (после рота- и норовирусной инфекции) в структуре заболеваемости с фекально-оральным механизмом передачи возбудителя¹.

Для Ставропольского края сальмонеллез остается значимой инфекционной патологией с высокими эпидемиологическими рисками формирования очагов с множественными случаями заболеваний. В 2019 году произошел двукратный рост заболеваемости по сравнению с 2016–2018 гг.

На территории Ставропольского края находятся Кавказские Минеральные Воды (КМВ) — группа курортов федерального значения, особо охраняемый эколого-курортный регион Российской Федерации. Интенсивное развитие туристической отрасли края существенно увеличивает угрозу возникновения эпидемических ситуаций в регионе, в т. ч. массовых вспышек ОКИ, и обуславливает необходимость совершенствования системы эпидемиологического надзора и внедрения эффективного алгоритма идентификации штаммов для расследования вспышек и отдельных случаев заболевания ОКИ.

В Ставропольском крае наиболее частым этиологическим агентом сальмонеллезов у людей является *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *enteritidis* (*S. enteritidis*), что соответствует общемировой тенденции [1]. Этот серовар выделяется в 84,1 % всех диагностированных случаев сальмонеллеза в крае². В связи с этим определение серовара дает мало информации в ходе эпидемиологического расследования и обуславливает необходимость субвидового типирования изолятов *S. enteritidis*.

В последние годы широкое практическое применение для субвидовой характеристики микроорганизмов получили методы молекулярно-генетического анализа, обладающие большей дифференцирующей способностью по сравнению с фенотипическими методами исследования.

Молекулярное типирование *S. enteritidis* наиболее часто проводят с использованием методов гель-электрофореза в пульсирующем поле (PFGE-типирование), мультилокусного анализа числа вариабельных тандемных повторов (Multi Locus Variable Number Tandem Repeat Analysis — MLVA) и полногеномного секвенирования (Whole Genome Sequencing — WGS) [2,3]. Применяемый для определения подтипов сальмонелл метод PFGE трудоемок, требует наличия специализированного оборудования и обученного персонала, время выполнения анализа составляет около трех суток [4]. Метод WGS обладает наибольшей дискриминирующей способностью, однако является

¹ О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2019 году: государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2020. 299 с. Доступно по: https://www.rosпотребнадзор.ru/upload/iblock/8e4/gosdoklad-za-2019_seb_29_05.pdf43 (дата доступа: 20.04.2022).

² О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Ставропольском крае в 2019 году: государственный доклад. Ставрополь, 2019. 107 с. Доступно по: http://26.rosпотребнадзор.ru/doc/gd/Gosdoklad_2019.pdf (дата доступа: 20.04.2022).

дорогостоящим, требует проведения сложного биоинформационного анализа и пока не подходит для рутинного субвидового типирования *S. enteritidis* [5].

MLVA-типирование основано на анализе локусов с переменным числом tandemных повторов (VNTR-variable number tandem repeats). VNTR-локусы являются важным маркером полиморфизма генов, используемых для типирования близкородственных штаммов. Метод MLVA является основным для типирования сальмонелл в странах Европы, что связано с быстротой выполнения анализа и высокой воспроизводимостью результатов [6, 7]. Анализ MLVA-профилей штаммов позволяет идентифицировать клоны и дифференцировать штаммы при расследовании вспышек, эффективно устанавливать или исключать связь между отдельными случаями заболеваний [8, 9, 10]. В странах ЕС разработаны стандартные операционные процедуры по выполнению MLVA-типирования сероваров *S. enteritidis* и *S. typhimurium* [11].

Для эффективного применения молекулярно-генетических методов при решении различных эпидемиологических задач необходимо накопление сведений об особенностях генотипов штаммов, циркулирующих в исследуемом регионе, а также информации о генетической гетерогенности возбудителя в мире. Молекулярное типирование штаммов *S. enteritidis*, выделенных на территории Ставропольского края, позволит получить новую информацию о генетической структуре популяции сальмонелл в регионе, сформировать базу данных для молекулярного анализа при эпидемиологическом расследовании случаев заболевания ОКИ.

Цель исследования: провести MLVA-типирование штаммов *S. enteritidis*, выделенных на территории Ставропольского края в 2016–2019 гг., проанализировать генетическую структуру популяции сальмонелл в регионе.

Материалы и методы.

В работе использованы 122 штамма *S. enteritidis*, изолированных в 2016–2019 гг. из проб испражнений больных острыми кишечными инфекциями в Ставропольском крае, в т. ч. в г. Ставрополе (90 штаммов) и регионе КМВ (32 штамма). Случаи ОКИ эпидемиологически не связаны между собой. В этот период отмечалась спорадическая заболеваемость ОКИ, очаги групповой заболеваемости ОКИ не зарегистрированы.

Видовую идентификацию проводили по ферментативной активности в отношении различных субстратов с использованием наборов реагентов для идентификации энтеробактерий ММТЕ1 и ММТЕ2 (НПО «Аллерген», г. Ставрополь). Определение антигенной структуры штаммов выполняли в реакции агглютинации с сыворотками диагностическими сальмонеллезными адсо-

рбированными к О- и Н-антигенам сальмонелл «ПЕТСАЛ» (производства СПбНИИВС Россия).

Выделение бактериальной ДНК производили с помощью набора реагентов «ДНК-Сорб-В» (производства ФБУН «ЦНИИЭ» Роспотребнадзора, г. Москва, Россия). Полученные образцы ДНК использовали для амплификации фрагментов генома изучаемых штаммов *S. enteritidis*.

MLVA-типирование проводили в соответствии с протоколом, разработанным Hopkins K.L. [12]. Для амплификации VNTR-локусов использовали праймеры, указанные в статье Malorny B. [13] (табл. 1). Размер амплифицированных локусов определяли методом капиллярного электрофореза на секвенаторе Applied Biosystems 3500 (США). Точный размер различающихся по длине аллелей определяли секвенированием по Сэнгеру с использованием Big Dye Terminator v 3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems). Индивидуальный MLVA-генотип штамма был получен на основании числа tandemных повторов в локусах: SENTR7-SENTR5-SENTR6-SENTR4-SE3.

Результаты. Проведено MLVA-типирование 122 штаммов *S. enteritidis*, выделенных от больных ОКИ в Ставропольском крае с 2016 по 2019 г. Исследованные штаммы отличались высокой генетической гетерогенностью и относились к 25 MLVA-генотипам. Наибольшее количество разных аллельных вариантов (8) выявлено в локусе SENTR5. В локусе SENTR6 выявлено 6 разных аллелей, в SENTR4 – 4, в локусах SENTR7 и SE3 – по 2.

На территории г. Ставрополя выявлены штаммы *S. enteritidis*, принадлежащие к 24 MLVA-типам, 74,4 % штаммов, выделенных в г. Ставрополе за весь период наблюдений, относились к семи наиболее распространенным MLVA-генотипам (табл. 2). Также выявлены минорные геноварианты, доля которых составляла 1,1–2,2 % от общего количества исследованных изолятов (в совокупности 25,6 %).

Доминирующим геновариантом в г. Ставрополе являлся 3-10-5-4-1, к которому относилось 40 штаммов сальмонелл (44,4 %), выделенных в 2016–2019 гг. В отдельные годы возрастал удельный вес других геновариантов: 2-10-8-3-2, 3-10-5-3-1, 3-11-5-4-1, 3-10-5-3-1, 2-10-14-6-1, 2-12-8-3-2 и 3-18-5-4-1. Ежегодно с 2016 по 2019 г. на территории г. Ставрополя встречались штаммы *S. enteritidis*, принадлежащие к MLVA-генотипам 3-10-5-4-1 и 3-9-5-4-1. В 2016 г. выявлены 11 геновариантов сальмонелл, преобладали штаммы с MLVA-генотипами 3-10-5-4-1 (36,4 %) и 2-10-8-3-2 (13,6 %). В 2017 г. исследованные культуры принадлежали к 14 геновариантам, доминирующими являлись MLVA-типы 3-10-5-4-1 (53,5 %) и 3-10-5-3-1 (11,6 %). В 2018 г. выявлено 7 ге-

Таблица 1. Последовательности праймеров для амплификации VNTR-локусов

Table 1. Primer sequences for amplification of VNTR loci

№	Локус / Locus	Праймер F (5'-3') / Primer F (5'-3')	Праймер R (5'-3') / Primer R (5'-3')
1	SENTR7	ACGATCACCACGGTCACTTC	CGGATAACAACFAGGACGCCTTC
2	SENTR5	CACCGCCACAATCAGTGGAAC	GCGTTGAATATCGGCAGCATG
3	SENTR6	ATGGACGGAGGCGATAGAC	AGCTTCACAATTTGCGTATTCG
4	SENTR4	GACCAACACTCTATGAACCAATG	ACCAGGCAACTATTCGCTATC
5	SE3	CAACAAAACAACAGCAGCAT	GGGAAACGGTAATCAGAAAGT

новариантов *S. enteritidis*, отмечались изменения в соотношении генетических типов сальмонелл, доминирующим вариантом являлся 2-10-8-3-2 (23,1 %), доля варианта 3-10-5-4-1 снизилась до 15,4 %, выявлены штаммы MLVA-типов 2-12-8-3-2 и 3-18-5-4-1 (по 2 штамма, 15,4 %). В 2019 г. исследованные штаммы относились к 4 вариантам, преобладал 3-10-5-4-1 (58,3 %), доля варианта 3-11-5-4-1 возросла до 25,0 %.

В регионе КМВ в 2016–2019 гг. выявлены штаммы *S. enteritidis*, принадлежащие к 7 MLVA-типам, большинство культур относилось к MLVA-генотипу 3-10-5-4-1 (31,3 %). В 2016 г. в городах-курортах КМВ выделены культуры *S. enteritidis*, относящиеся к трем MLVA-типам, преобладали штаммы геноварианта 3-9-5-4-1 (50,0 %). В 2017 г. доминирующим вариантом являлся 3-10-5-4-1 (75,0 %). В 2019 г. выявлено

шесть геновариантов сальмонелл, преобладали штаммы генотипа 3-10-5-3-1 (28,6 %) (табл. 3).

Обсуждение. Метод MLVA-типирования широко применяется для оценки генетической гетерогенности штаммов *S. enteritidis* в мире, в том числе для выявления эпидемических геновариантов сальмонелл, способных вызывать вспышки сальмонеллеза на территории нескольких государств, и отслеживания возникновения новых генетических вариантов. Для накопления, хранения и обмена результатами MLVA-типирования сальмонелл, выделенных в странах ЕС и других регионах, а также для принятия управленческих решений в области общественного здравоохранения был разработан модуль Enter-net на платформе The European Surveillance System (TESSy) [14].

Ретроспективное генетическое типирование *S. enteritidis* в Европе позволило выявить

Таблица 2. MLVA-генотипы *S. enteritidis*, выявленные в г. Ставрополе в 2016–2019 гг.

Table 2. MLVA genotype of *S. enteritidis* isolated in Stavropol in 2016–2019

MLVA-генотип / MLVA-genotypes	2016		2017		2018		2019		Всего / Total	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
3-10-5-4-1	8	36,4	23	53,5	2	15,4	7	58,3	40	44,4
2-10-8-3-2	3	13,6	–	–	3	23,1	–	–	6	6,7
3-10-5-3-1	–	–	5	11,6	–	–	–	–	5	5,6
3-9-5-4-1	2	9,1	1	2,3	1	7,7	1	8,3	5	5,6
3-11-5-3-1	1	4,5	2	4,7	1	7,7	–	–	4	4,4
3-11-5-4-1	–	–	–	–	1	7,7	3	25,0	4	4,4
3-7-5-4-1	1	4,5	2	4,7	–	–	–	–	3	3,3
2-10-14-6-1	2	9,1	–	–	–	–	–	–	2	2,2
2-11-8-3-2	–	–	2	4,7	–	–	–	–	2	2,2
2-12-8-3-2	–	–	–	–	2	15,4	–	–	2	2,2
3-11-7-4-1	–	–	1	2,3	–	–	1	8,3	2	2,2
3-13-5-4-1	1	4,5	1	2,3	–	–	–	–	2	2,2
3-18-5-4-1	–	–	–	–	2	15,4	–	–	2	2,2
2-10-5-6-1	1	4,5	–	–	–	–	–	–	1	1,1
2-11-8-4-2	–	–	1	2,3	–	–	–	–	1	1,1
2-13-5-4-1	–	–	1	2,3	–	–	–	–	1	1,1
2-9-14-6-1	–	–	1	2,3	–	–	–	–	1	1,1
3-10-5-5-1	1	4,5	–	–	–	–	–	–	1	1,1
3-10-7-3-2	1	4,5	–	–	–	–	–	–	1	1,1
3-11-2-4-1	–	–	1	2,3	–	–	–	–	1	1,1
3-12-5-3-1	1	4,5	–	–	–	–	–	–	1	1,1
3-14-5-4-1	–	–	1	2,3	–	–	–	–	1	1,1
3-7-5-5-1	–	–	1	2,3	–	–	–	–	1	1,1
3-9-7-4-1	–	–	–	–	1	7,7	–	–	1	1,1
Итого / Total	22	100	43	100	13	100	12	100	90	100

Таблица 3. MLVA-генотипы *S. enteritidis*, выявленные в регионе КМВ в 2016–2019 гг.

Table 3. MLVA genotypes of *S. enteritidis* isolated in the Caucasian Mineral Waters in 2016–2019

MLVA-генотип / MLVA genotypes	2016		2017		2019		Общий итог / Total	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
3-10-5-4-1	4	28,6	3	75,0	3	21,4	10	31,3
3-9-5-4-1	7	50,0	1	25,0	–	–	8	25,0
3-11-5-4-1	3	21,4	–	–	2	14,3	5	15,6
3-10-5-3-1	–	–	–	–	4	28,6	4	12,5
2-11-8-3-2	–	–	–	–	3	21,4	3	9,4
2-11-5-3-2	–	–	–	–	1	7,1	1	3,1
3-7-5-4-1	–	–	–	–	1	7,1	1	3,1
Общий итог / Total	14	100	4	100	14	100	32	100

эпидемические варианты сальмонелл, преобладающие на территории большинства европейских государств, а также многочисленные минорные варианты, вызывающие спорадические случаи заболевания сальмонеллезом. Так, штаммы *S. enteritidis*, относящиеся к MLVA-типам 3-10-5-4-1, 3-11-5-4-1, 2-10-7-3-2, 3-9-5-4-1, доминировали в Португалии в период с 2012 по 2019 г. [15], являлись наиболее часто выявляемыми вариантами в Бельгии в 2007–2012 гг. [16], в Венгрии и Австрии в 2016–2017 гг.

В 2010 г. в ЕС были выявлены штаммы *S. enteritidis*, относящиеся к новым MLVA-типам: 2-10-6-3-2, 2-10-8-3-2 и 2-11-8-3-2, вызвавшие в 2016–2017 гг. вспышку сальмонеллеза, охватившую территорию большинства европейских стран [17]. Отмечена корреляция между увеличением доли эпидемических MLVA-типов *S. enteritidis* в регионе и ростом числа случаев сальмонеллезов [10].

Встречающиеся на территории края MLVA-типы (3-10-5-4-1, 3-9-5-4-1, 3-11-5-4-1 и 2-10-8-3-2) широко распространены в мире, обладают значительным эпидемическим потенциалом. Менее распространенный геновариант 2-11-8-3-2, доля которого увеличилась в г. Ставрополе в 2018 г., вызвал рост заболеваемости *S. enteritidis* PT-8 в странах ЕС в 2017 г. [18].

В Российской Федерации для проведения молекулярно-генетического мониторинга за циркуляцией штаммов *S. enteritidis* используются методы PFGE и MLVA [19, 20]. В 2011–2019 гг. при поведении субтипирования штаммов методом PFGE с помощью эндонуклеаз рестрикции XbaI BlnI в РФ выделены *S. enteritidis*, относящиеся к 102 PFGE-типам. Наиболее распространенным у человека являлся субтип JEG01/001/JECA26/001, доля которого составляла 44 % от всех клинических изолятов *S. enteritidis* в РФ. Отмечались существенные различия в разнообразии выделяемых PFGE-типов в отдельных регионах страны [21].

В результате работы получены новые данные о MLVA-генотипах *S. enteritidis*, встречающихся на территории Ставропольского края (г. Ставрополь и регион КМБ). Большинство клинических изолятов *S. enteritidis*, выделенных в 2016–2019 гг. на территории г. Ставрополя и региона КМБ, принадлежали к MLVA-генотипу 3-10-5-4-1, их доля в г. Ставрополе составила 44,4 %, в регионе КМБ – 31,3 %. На территории г. Ставрополя отмечено доминирование данного варианта в 2016, 2017, 2019 гг., и только в 2018 г. преобладающим вариантом стал 2-10-8-3-2. В регионе КМБ ежегодно отмечалась смена доминирующего варианта, что может быть связано с высокой миграционной активностью населения и относительно небольшим количеством исследованных штаммов.

Ретроспективное исследование штаммов *S. enteritidis*, выделенных на территории Ставропольского края в 2016–2019 гг., показало, что большинство изученных штаммов сальмонелл (100 штаммов, 81,96 %) относятся к восьми наиболее распространенным генотипам. Количественное соотношение MLVA-типов *S. enteritidis*, изолированных на территории Ставропольского края, в целом схоже с соотношением PFGE-генотипов *S. enteritidis*, выявленных в РФ: к одному преобладающему MLVA-типу относятся 41 % штаммов, изолированных в Ставропольском крае. В России в последние годы также установлено преобладание одного PFGE-субтипа *S. enteritidis* [21].

Регулярный мониторинг за возникновением новых геновариантов сальмонелл, способных обладать повышенной вирулентностью и быть причиной изменений в патогенезе заболевания, является неотъемлемой частью современного эпиднадзора за ОКИ. Он имеет большое значение для здравоохранения в плане прогнозирования возможных сценариев развития эпидситуации с целью профилактики заболеваемости ОКИ бактериальной этиологии.

Метод MLVA показал высокую разрешающую способность при субтипировании штаммов *S. enteritidis* [19, 20]. В то же время наличие космополитных штаммов может затруднять расследование вспышек, и в некоторых случаях необходимо выполнение WGS (whole genome sequencing).

Заключение. Таким образом, в результате проведенных исследований получены новые данные о MLVA-генотипах *S. enteritidis*, встречающихся на территории Ставропольского края (г. Ставрополь и регион КМБ). Определены доминирующие в регионе геноварианты, отмечены различия в соотношении циркулирующих MLVA-генотипов *S. enteritidis* в 2016–2019 гг. Это диктует необходимость постоянного молекулярно-генетического мониторинга для оценки динамических изменений генетической структуры популяции сальмонелл в режиме реального времени.

Применение метода MLVA-типирования штаммов позволит не только проводить анализ генетической структуры популяции сальмонелл, но и эффективно устанавливать или исключать связь между отдельными случаями заболеваний, прогнозировать развитие эпидемиологической ситуации на основании данных о соотношении геновариантов сальмонелл в регионе. Полученные в результате работы данные могут быть использованы при эпидемиологическом анализе возможных случаев (вспышек) сальмонеллеза для определения источника и путей распространения инфекции.

Список литературы / References

1. Hendriksen RS, Vieira AR, Karlsmose S, et al. Global monitoring of Salmonella serovar distribution from the World Health Organization Global Foodborne Infections Network Country Data Bank: results of quality assured laboratories from 2001 to 2007. *Foodborne Pathog Dis.* 2011;8(8):887-900. doi: 10.1089/fpd.2010.0787
2. Ziebell K, Chui L, King R, Johnson S, Boerlin P, Johnson RP. Subtyping of Canadian isolates of Salmonella Enteritidis using Multiple Locus Variable Number Tandem Repeat Analysis (MLVA) alone and in combination with Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE) and phage typing. *J Microbiol Methods.* 2017;139:29-36. doi: 10.1016/j.mimet.2017.04.012
3. Inns T, Ashton PM, Herrera-Leon S, et al. Prospective use of whole genome sequencing (WGS) detected a multi-country outbreak of Salmonella Enteritidis. *Epidemiol Infect.* 2017;145(2):289-298. doi: 10.1017/S0950268816001941
4. Wattiau P, Boland C, Bertrand S. Methodologies for Salmonella enterica subsp. enterica subtyping: gold standards and alternatives. *Appl Environ Microbiol.* 2011;77(22):7877-7885. doi: 10.1128/AEM.05527-11
5. den Bakker HC, Allard MW, Bopp D, et al. Rapid whole-genome sequencing for surveillance of Salmonella Enterica serovar enteritidis. *Emerg Infect Dis.* 2014;20(8):1306-1314. doi: 10.3201/eid2008.131399
6. Ferrari RG, Panzenhagen PHN, Conte-Junior CA. Phenotypic and genotypic eligible methods for Salmonella Typhimurium source tracking. *Front Microbiol.* 2017;8:2587. doi: 10.3389/fmicb.2017.02587

7. Lienemann T, Kyyhkynen A, Halkilahti J, Haukka K, Siitonen A. Characterization of *Salmonella* Typhimurium isolates from domestically acquired infections in Finland by phage typing, antimicrobial susceptibility testing, PFGE and MLVA. *BMC Microbiol.* 2015;15:131. doi: 10.1186/s12866-015-0467-8
8. Liu Y, Shi X, Li Y, *et al.* The evaluation and application of multilocus variable number tandem repeat analysis (MLVA) for the molecular epidemiological study of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis infection. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2016;15:4. doi: 10.1186/s12941-016-0119-3
9. Mughini-Gras L, Franz E, van Pelt W. New paradigms for *Salmonella* source attribution based on microbial subtyping. *Food Microbiol.* 2018;71:60-67. doi: 10.1016/j.fm.2017.03.002
10. Muvhali M, Smith AM, Rakgantso AM, Keddy KH. Investigation of *Salmonella* Enteritidis outbreaks in South Africa using multi-locus variable-number tandem-repeats analysis, 2013–2015. *BMC Infect Dis.* 2017;17(1):661. doi: 10.1186/s12879-017-2751-8
11. European Centre for Disease Prevention and Control. ECDC Technical Document. Laboratory standard operating procedure for multiple-locus variable-number tandem repeat analysis of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis. Stockholm: ECDC; 2016. doi: 10.2900/973540
12. Hopkins KL, Peters TM, de Pinna E, Wain J. Standardisation of multilocus variable-number tandem-repeat analysis (MLVA) for subtyping of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. *Euro Surveill.* 2011;16(32):19942.
13. Malorny B, Junker E, Helmuth R. Multi-locus variable-number tandem repeat analysis for outbreak studies of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis. *BMC Microbiol.* 2008;8:84. doi: 10.1186/1471-2180-8-84
14. Peters T, Bertrand S, Björkman JT, *et al.* Multi-laboratory validation study of multilocus variable-number tandem repeat analysis (MLVA) for *Salmonella enterica* serovar Enteritidis, 2015. *Euro Surveill.* 2017;22(9):30477. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2017.22.9.30477
15. Silveira LS. *Phenotypic and genotypic characterization of Salmonella spp. isolates in Portugal.* Doctor of Biology thesis. NOVA University Lisbon; 2019. Accessed April, 25, 2022. <http://hdl.handle.net/10362/91582>
16. Bertrand S, De Lamine de Bex G, Wildemaue C, *et al.* Multi locus variable-number tandem repeat (MLVA) typing tools improved the surveillance of *Salmonella enteritidis*: a 6 years retrospective study. *PLoS One.* 2015;10(2):e0117950. doi: 10.1371/journal.pone.0117950
17. European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control Multi-country outbreak of *Salmonella* Enteritidis phage type 8, MLVA profile 2-9-7-3-2 and 2-9-6-3-2 infections. Technical report EFSA. EFSA Supporting Publications. 2017;14(3):1188E. doi: 10.2903/sp.efsa.2017.EN-1188
18. Usein CR, Oprea M, Ciontea AS, *et al.* A snapshot of the genetic diversity of *Salmonella* Enteritidis population involved in human infections in Romania taken in the European epidemiological context. *Pathogens.* 2021;10(11):1490. doi: 10.3390/pathogens10111490
19. Кулешов К.В., Браславская С.И., Подколзин А.Т. Разработка и апробация методики MLVA-анализа с целью субтипирования изолятов *S. Enteritidis*. Молекулярная диагностика – 2010, Москва, 24–26 ноября 2010 года / Под редакцией В.И. Покровского. Москва: Киселева Н.В. 2010. С. 350–353.
19. Kuleshov KV, Braslavskaya SI, Podkolzin AT. [Development and approbation of the MLVA analysis technique for the purpose of *S. Enteritidis* isolate subtyping.] In: *Molecular Diagnostics – 2010: Proceedings of the Seventh Russian Scientific and Practical Conference, Moscow, November 24–26, 2010.* Pokrovsky VI, ed. Moscow: Kiseleva N.V. Publ.; 2010:350–353. (In Russ.)
20. Кулешов К.В., Подколзин А.Т., Рожнова С.Ш. Сравнительная оценка молекулярно-генетических методов типирования изолятов *S. Enteritidis* в очагах групповой заболеваемости. Молекулярная диагностика – 2010, Москва, 24–26 ноября 2010 года / Под редакцией В.И. Покровского. Москва: Киселева Н.В. 2010. С. 353–357.
20. Kuleshov KV, Podkolzin AT, Rozhnova SSh. [Comparative evaluation of molecular genetic methods for typing *S. Enteritidis* isolates in foci of group morbidity.] In: *Molecular Diagnostics – 2010: Proceedings of the Seventh Russian Scientific and Practical Conference, Moscow, November 24–26, 2010.* Pokrovsky VI, ed. Moscow: Kiseleva N.V. Publ.; 2010:353–357. (In Russ.)
21. Рожнова С.Ш., Кулешов К.В., Павлова А.С. и др. Гетерогенность изолятов нетифоидных сальмонелл из различных источников выделения в Российской Федерации в 2010–2019 гг. // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2020. Т. 25. № 1. С. 26–34. doi: 10.17816/EID35184
21. Rozhnova SSh, Kuleshov KV, Pavlova AS, *et al.* Heterogeneity of *Salmonella* isolates obtained from various sources in Russia 2010–2019. *Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni.* 2020;25(1):26–34. (In Russ.) doi: 10.17816/EID35184

