

© Раков А.В., Кузнецова Н.А., Mastriani E., Шубин Ф.Н., 2021

УДК 614.3/4:579.842.14:579.252.5

Молекулярно-генетические методы и компьютерные технологии в системе эпидемиологического надзора за сальмонеллезной инфекциейА.В. Раков¹, Н.А. Кузнецова¹, Е. Mastriani², Ф.Н. Шубин¹¹ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова» Роспотребнадзора, ул. Сельская, д. 1, г. Владивосток, 690087, Российская Федерация²Харбинский медицинский университет, ул. Баодзянь, 157, г. Харбин, 150081, Китай

Резюме: *Введение.* Сальмонеллезная инфекция занимает лидирующие позиции в структуре острых кишечных инфекций, вызванных бактериальными патогенами. В последние годы в связи с развитием молекулярно-генетических методов и внедрением технологий компьютерной обработки полученных данных особое значение приобретает совершенствование системы эпидемиологического надзора в соответствии с мировыми научными достижениями. *Цель исследования.* В настоящем обзоре представлены историческая справка по развитию молекулярно-генетических методов и компьютерных технологий в изучении сальмонеллезной инфекции и современное положение в изучении данного вопроса в Российской Федерации на примере Научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова Роспотребнадзора – одного из ведущих российских центров по изучению сальмонелл. *Материалы и методы.* Использовались базы данных лаборатории молекулярной эпидемиологии НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора, базы данных Web of Science, PubMed, Scopus, Elsevier, Springer и Google Scholar. *Результаты.* Со второй половины 1980-х годов был введен в практическое использование метод анализа плазмидных ДНК бактерий рода *Salmonella*. С 1990 года данный метод является основой микробиологического молекулярно-генетического мониторинга за возбудителями сальмонеллеза. География исследуемых штаммов, в 1990-х годах охватывавшая только Приморский край, в 2000-х годах выросла до Дальневосточного и Сибирского федеральных округов Российской Федерации. Исследования, проведенные в лаборатории молекулярной эпидемиологии, позволили усовершенствовать систему эпидемиологического надзора за возбудителем сальмонеллеза на Дальнем Востоке и выявить структуру популяции сальмонелл на основе метода анализа плазмид, содержащихся в штаммах *Salmonella*. *Заключение.* Таким образом, в процессе проводимых исследований был решен ряд вопросов, относящихся к микробиологии, эпидемиологии, клинике и профилактике сальмонеллезной инфекции. Рассмотрены перспективы развития молекулярно-генетических методов и компьютерных технологий в изучении сальмонеллезной инфекции в системе эпидемиологического надзора в Российской Федерации. Подчеркивается особое значение полногеномного секвенирования как нового «золотого стандарта» в молекулярной эпидемиологии.

Ключевые слова: сальмонеллез, *Salmonella*, эпидемиологический надзор.

Для цитирования: Раков А.В., Кузнецова Н.А., Е. Mastriani, Шубин Ф.Н. Молекулярно-генетические методы и компьютерные технологии в системе эпидемиологического надзора за сальмонеллезной инфекцией // Здоровье населения и среда обитания. 2021. № 5 (338). С. 61–66. doi: <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2021-338-5-61-66>

Информация об авторах:

✉ **Раков** Алексей Владимирович – канд. мед. наук, ст. науч. сотр. лаборатории молекулярной эпидемиологии и экологии патогенных бактерий; e-mail: alexeyrakov@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1917-9189>.

Кузнецова Наталья Анатольевна – канд. мед. наук, ст. науч. сотр. лаборатории молекулярной эпидемиологии и экологии патогенных бактерий; e-mail: kuznetsovanata@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6660-4769>.

Mastriani Emilio – PhD, Senior researcher, e-mail: emiliomastriani@hrbmu.edu.cn; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5434-2546>.

Шубин Феликс Николаевич – д-р мед. наук, Лаборатория молекулярной эпидемиологии и экологии патогенных бактерий; e-mail: shubin@inbox.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2668-2989>.

Molecular Genetic Methods and Computer Technologies in the System of Epidemiological Surveillance of Salmonella InfectionA. V. Rakov,¹ N. A. Kuznetsova,¹ E. Mastriani,² F. N. Shubin¹¹ Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, 1 Selskaya Street, Vladivostok, 690087, Russian Federation² Harbin Medical University, 157 Baojian Road, Harbin, 150081, People's Republic of China

Summary. *Introduction:* *Salmonella* infection occupies a leading position in the structure of acute intestinal infections caused by bacterial pathogens. In recent years, with the development of molecular genetic methods and introduction of techniques of computerized data processing, the improvement of the epidemiological surveillance system in the light of the world scientific achievements has become of particular importance. This review is aimed at presenting the history of developing molecular genetic methods and computer technologies in the study of *Salmonella* infection, and the update on the issue in the Russian Federation based on recent findings of the Research Institute of Epidemiology and Microbiology named after G.P. Somov, one of the leading Russian centers for the study of *Salmonella*. *Materials and methods:* We used databases of the Laboratory of Molecular Epidemiology of Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, and did a literature search in the Web of Science, PubMed, Scopus, Elsevier, Springer, and Google Scholar. *Results:* Since the second half of the 1980s, the method of plasmid DNA analysis of bacteria of the *Salmonella* genus has been put into practice. Since 1990, this method has been the basis for microbiological molecular genetic monitoring of the pathogen. The geography of the studied strains, restricted to Primorsky Krai in the 1990s, already in the 2000s encompassed the Far Eastern and Siberian Federal Districts of the Russian Federation. The studies conducted by the Laboratory of Molecular Epidemiology helped improve the system of epidemiological surveillance of the causative agent of salmonellosis in the Far East and revealed the structure of the *Salmonella* population based on the analysis of plasmids contained in *Salmonella* strains. *Conclusion:* Several issues related to microbiology, epidemiology, clinical picture, and prevention of *Salmonella* infection were resolved during the comprehensive research. We discuss prospects for the development of molecular genetic methods and computer technologies in the study of *Salmonella* infection in the epidemiological surveillance system in the Russian Federation and emphasize the importance of whole-genome sequencing as a new “gold standard” in molecular epidemiology.

Keywords: salmonellosis, *Salmonella*, epidemiological surveillance.

For citation: Rakov AV, Kuznetsova NA, Mastriani E, Shubin FN. Molecular genetic methods and computer technologies in the system of epidemiological surveillance of *Salmonella* infection. *Zdorov'e Naseleniya i Sreda Obitaniya*. 2021; (5(338)):61–66. (In Russian). doi: <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2021-338-5-61-66>

Author information:

✉ Alexey V. Rakov, Candidate of Medical Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Molecular Epidemiology and Ecology of Pathogenic Bacteria, Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology; e-mail: alexeyrakov@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1917-9189>.

Natalya A. Kuznetsova, Candidate of Medical Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Molecular Epidemiology and Ecology of Pathogenic Bacteria, Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology; e-mail: kuznetsovanata@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6660-4769>.
 Emilio Mastriani, PhD, Senior Researcher, Genomics Research Center, Harbin Medical University; e-mail: emiliomastriani@hrbmu.edu.cn; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5434-2546>.
 Felix N. Shubin, D.M.Sc., Laboratory of Molecular Epidemiology and Ecology of Pathogenic Bacteria, Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology; e-mail: shubin@inbox.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2668-2989>.

Введение. *Salmonella enterica* занимает ведущее место в этиологии бактериальных кишечных инфекций человека. Основным подвидом этого вида является подвид *enterica*, который в свою очередь разделяют на более чем 2600 сероваров [1]. *Salmonella enterica* — подвид *enterica* — адаптирована к теплокровным высшим позвоночным. У человека *Salmonella* может вызывать брюшной тиф и паратифы, которые в последние годы встречаются относительно редко, и сальмонеллезную инфекцию, встречающуюся повсеместно и не имеющую стойкой тенденции к снижению заболеваемости. Основными сероварами, занимающими в настоящее время ведущие позиции в этиологии сальмонеллеза у человека, являются *Salmonella enteritidis* и *Salmonella typhimurium*.

Существующие микробиологические методы типирования бактерий характеризуют гетерогенность видов возбудителей болезней по их фенотипам, и значимость этих методов не уменьшается. Молекулярно-генетические методы типирования раскрывают гетерогенность видов микроорганизмов по молекулярным характеристикам их хромосомных и внехромосомных частей генома патогенных микроорганизмов. В последние десятилетия, в связи с прогрессом в развитии молекулярно-генетических методов, а также внедрением технологий компьютерной обработки полученных данных, особое значение приобретает совершенствование системы эпидемиологического надзора в соответствии с мировыми достижениями в данных областях науки.

Цель исследования. В настоящем обзоре представлены историческая справка по развитию молекулярно-генетических методов и компьютерных технологий в изучении сальмонеллезной инфекции и современное состояние этого вопроса в Российской Федерации на примере Научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова Роспотребнадзора, одного из ведущих российских центров по изучению сальмонелл.

Материалы и методы. При подготовке обзора использовались базы данных лаборатории молекулярной эпидемиологии НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора, базы данных Web of Science, PubMed, Scopus, Elsevier, Springer и Google Scholar.

Результаты.

История развития молекулярно-генетических методов и компьютерных технологий в системе эпидемиологического надзора за сальмонеллезной инфекцией.

Историю развития молекулярно-генетических методов в системе эпидемиологического надзора за сальмонеллезной инфекцией, как мы полагаем, следует отсчитывать с начала 1970-х годов. Именно тогда были разработаны

достаточно простые методы выделения относительно небольших по размеру, в сравнении с хромосомной, плазмидных ДНК, позволяющие впоследствии проводить их электрофоретическое разделение в горизонтальном агарозном геле [2, 3]. Это позволило открыть крупные по размерам плазмиды, встречающиеся во многих штаммах одного и того же серовара, которые связали с вирулентными свойствами [4, 5], плазмиды, несущие на себе гены антибиотикорезистентности, а также сравнительно небольшие криптические плазмиды с неустановленной функциональной принадлежностью. Помимо того, что плазмидный анализ стали часто применять для расшифровки вспышек инфекции и мониторинга за возбудителем, впервые была установлена структура популяций для каждого из отдельных сероваров сальмонелл. Результаты плазмидного профилирования показали, что плазмиды присутствуют в 96 % изолятов всех сероваров сальмонелл, а значит, способны дифференцироваться данным методом [6, 7]. В частности, при изучении 278 штаммов *S. typhimurium*, выделенных в 1973–1981 гг. в штате Нью-Йорк, авторам удалось дифференцировать четыре основных плазмидных типа и выделить среди них наиболее значимые (доминировал плазмидный тип 7,5:6:3 т. п. н.) в эпидемиологическом отношении [8]. Таким образом, всегда можно было выделить доминирующие плазмидные типы и типы, играющие второстепенную роль в эпидемиологии инфекции. Следующим методом, позволяющим преодолеть один из недостатков плазмидного анализа, а именно схожесть разных плазмид по молекулярной массе, стал рестрикционный анализ плазмид (REAP (Restriction endonuclease analysis of plasmid) типирование), позволяющий доказать родство или различие плазмид, близких по своей молекулярной массе [9].

В середине 1980-х — начале 1990-х гг. много полезной информации о генетической структуре популяций сальмонелл получено с помощью рестрикционного анализа хромосомной ДНК и его варианта — Саузерн-блот-анализа, в котором в качестве маркера используются зонды [10]. Еще один метод — риботипирование, является наиболее распространенным вариантом Саузерн-блот-анализа [11], в котором в качестве зондов выступают нуклеотидные последовательности генов 16S и 23S рНК [12].

С начала 1990-х гг. для дифференциации сальмонелл были разработаны и стали широко применяться методы ПЦР-типирования. К молекулярным маркерам, используемым для типирования, относятся отдельные гены, IS200-элементы [13] и повторяющиеся нуклеотидные последовательности, которые рассеяны по всему геному. К последним относятся ERIC-PCR (Rep-PCR) и RAPD-PCR. В ERIC-PCR (Enterobacterial repetitive intergenic consensus, Rep-PCR) амплифицируются повторяющиеся

нуклеотидные последовательности, которые рассеяны по геномной ДНК [14]. Для типирования используются два основных типа повторов — повторяющиеся экстрагенные палиндромные элементы и внутригенные постоянные последовательности. Оба варианта имеют хорошую дифференцирующую способность на штаммовом уровне, в связи с чем ERIC-PCR становится широко используемым методом ДНК-типирования. ПЦР с использованием произвольных праймеров (RAPD — Random Amplified Polymorphic DNA) основана на использовании коротких произвольных олигонуклеотидных праймеров длиной 9–10 п. н., которые гибридизуются с ДНК-мишенью при низкой температуре отжига. В данном варианте ПЦР-типирования короткие праймеры и низкая температура отжига используются для инициации амплификации нуклеотидных последовательностей в различных областях генома [15].

Пульс-электрофорез (ПЭ, Pulse-field gel electrophoresis, PFGE) хромосомной ДНК с момента его внедрения в начале 1990-х гг. вплоть до 2010-х гг. являлся «золотым стандартом» типирования сальмонелл [16]. Это метод фракционирования высокомолекулярных ДНК (от 10 тыс. п. н. до 10 млн п. н.) с помощью электрофореза в агарозном геле в условиях периодически меняющегося по направлению («пульсирующего») электрического поля. Плюсами метода являются достаточная разрешающая способность и дешевизна использования по сравнению с методами, основанными на секвенировании генома. К минусам метода относится большая трудоемкость по сравнению с плазмидным анализом или ПЦР. Ферментативная обработка эндонуклеазами рестрикции тотальной клеточной ДНК приводит к созданию набора фрагментов разного размера, которые могут быть разделены и сравнены при электрофоретической разгонке в агарозном геле. Редкощепящие рестриктазы, узнающие последовательность из 8 п. н. (XbaI, NotI, SfiI и др.), гидролизуют ДНК с образованием очень крупных фрагментов, которые удается разделить только с помощью ПЭ. Создание компьютерного банка данных профилей макрорестрикции, полученных с помощью этого метода, для всех микроорганизмов обеспечивает понятие «глобального хромосомного мониторинга». Наибольшую популярность ПЭ получил в 1990-е годы, когда был внедрен в систему мониторинга за сальмонеллами PulseNet в CDC в США [17]. Результаты исследований с использованием от одной до трех эндонуклеаз рестрикции показали его высокую разрешающую способность и преимущество над большинством других фенотипических и генотипических методов внутривидового типирования [18]. Недостатками данной методики являются низкая портативность метода, дороговизна оборудования и проприетарного программного обеспечения и ограниченный доступ к мировым компьютерным базам данных пульс-типов микроба.

В начале 2000-х годов секвенирование первых полных геномов сальмонелл привело

к тому, что стало возможным выявить локусы, где сосредоточены микросателлитные повторы, что привело в свою очередь к новому методу, известному как мультилокусный анализ вариабельных нуклеотидных tandem повторов (Multilocus variable nucleotide tandem repeats analysis, MLVA) [19]. В основе метода лежит различие по числу повторов в ДНК, принадлежащих к различным клональным линиям, с помощью капиллярного электрофореза, или секвенирования по Сэнгеру [20]. В настоящее время данный метод, наряду с полногеномным секвенированием, является дополнительным к ПЭ в системе мониторинга FoodNet за сальмонеллами в CDC [21].

В 2000-е годы также получила большое развитие технология мультилокусного секвенирования (Multilocus sequence typing, MLST), основанная на секвенировании по Сэнгеру ряда фрагментов генов «домашнего хозяйства» (Housekeeping genes) [22]. Данная методика неоднозначно зарекомендовала себя при типировании сальмонелл, показав, что некоторые эпидемически важные серовары, такие как, например, *S. enteritidis*, недостаточно разнообразны по сравнению со структурой, выявляемой в ПЭ [23]. Однако в связи с высокой портативностью данной методики появилась общедоступная мировая онлайн-база данных сальмонелл, позволяющая проводить филогенетический анализ большого количества изолятов, объединяя родственные сиквенс-типы в клональные комплексы с помощью соответствующих филогенетических алгоритмов [25].

В связи с большей доступностью методов секвенирования нового поколения полногеномное секвенирование (Whole genome sequencing, WGS) на настоящий момент является самым совершенным, но при этом самым дорогостоящим методом исследования [25]. Онлайн-база данных Enterobase, включившая в себя также базу сиквенс-типов, позволяет проводить анализ любого уровня сложности (иерархии) [26] на более чем 250 000 геномах сальмонелл. Однако узким местом формирования этой и подобных ей публичных баз данных является недостаток метаданных (данных о секвенированных штаммах), полнота которых полностью зависит от тех исследователей, кто добавляет результаты своих исследований в эту базу данных. Это значительно затрудняет интерпретацию проведенного анализа больших массивов данных о полных геномах [27].

Современное состояние молекулярно-генетических методов и компьютерных технологий в системе эпидемиологического надзора за сальмонеллезной инфекцией.

В Российской Федерации одним из первых, кто применил молекулярно-генетические методы для исследования сальмонелл, был Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии Сибирского отделения РАМН. В лаборатории, возглавляемой доктором медицинских наук, профессором, лауреатом Государственной премии СССР за 1989 год Ф.Н. Шубиным, во второй половине 1980-х годов был введен в практическое использование

метод анализа плазмидных ДНК, основанный на их выделении щелочным лизисом из клеток бактерий рода *Salmonella* по методу Kado и Liu (1981), ранее апробированный на возбудителе дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки *Yersinia pseudotuberculosis*. С тех пор данный метод является основой микробиологического молекулярно-генетического мониторинга за возбудителями сальмонеллеза. География исследуемых штаммов, в 1990-х годах охватывавшая только Приморский край, в 2000-х годах выросла до Дальневосточного и Сибирского федеральных округов. С помощью плазмидного анализа была раскрыта популяционная структура, определены ведущие и второстепенные по эпидемиологической значимости плазмидные типы микроба [28]. Дополнительно рестрикционным анализом было показано родство плазмид со схожей молекулярной массой. Полученные теоретические положения привели к разработке молекулярно-генетического мониторинга, что дало возможность усовершенствовать систему Госсанэпиднадзора. В процессе проводимых исследований был решен ряд стратегически важных вопросов, относящихся к микробиологии, эпидемиологии, клинике и профилактике сальмонеллезной инфекции. В результате проведенных санитарно-профилактических мероприятий в Приморском крае удалось взять под контроль и предотвратить вспышки нозокомиального (госпитального) сальмонеллеза, вызываемые специфическим возбудителем антропоозного сальмонеллеза, приводящие к огромным социально-экономическим потерям.

В то же время популяционная структура сальмонелл с помощью ПЭ в РФ остается малоизученной. В лаборатории молекулярной эпидемиологии и экологии патогенных бактерий НИИЭМ имени Г.П. Сомова Роспотребнадзора прибор для ПЭ Bio-Rad GenePath с набором программного обеспечения и системой гель-документации Bio-Rad GelDoc XR был приобретен в 2006 году и метод был отработан в 2011–2013 гг. с удовлетворительными предварительными результатами. Предварительные результаты показали низкую разрешающую способность данного метода для *S. enteritidis*, играющими ведущую роль в этиологии сальмонеллеза у человека.

Интересные результаты были получены и при ПЦР-типировании секвенированных нами криптоических маркерных плазмид молекулярной массой 1,4 MDa и 2,3 MDa, наиболее часто встречающихся в штаммах *S. enteritidis* [29, 30]. Они показали высокую консервативность нуклеотидного состава плазмидных ДНК, так же как и плазида вирулентности данного серовара молекулярной массой 38 MDa [31]. Эти данные подчеркивают состоятельность плазмидного анализа как метода долгосрочного молекулярно-генетического мониторинга на определенной территории в течение продолжительного периода времени [28].

Перспективы развития молекулярно-генетических методов и компьютерных технологий в системе эпидемиологического надзора за сальмонеллезной инфекцией.

Перспективы развития молекулярно-генетических методов в первую очередь связаны с внедрением системы полногеномного секвенирования с последующей компьютерной обработкой полученных результатов. В частности, нами впервые секвенирован полный геном ведущего в эпидемиологическом отношении штамма серовара *S. enteritidis*, выделенного из кур на одном из предприятий промышленного птицеводства в Приморском крае, относящийся к наиболее распространенному плазмидному типу 38:1,4 MDa [32]. Показано, что микроб имеет сниженную чувствительность к хинолонам вследствие точечной мутации S83Y в гене ДНК-гиразы *gyrA*, однако сохраняет чувствительность к другим используемым в клинике и ветеринарии антибактериальным препаратам. Данный штамм относится к сиквенс-типу ST11, представляющему собой наиболее распространенный сиквенс-тип *S. enteritidis* и составляющему подавляющее большинство (92,4 %) от всех сиквенс-типов *S. enteritidis*, депонированных в мировую базу данных MLST Enterobase. По результатам SNP-типирования штаммов данного серовара, выделенных от кур в других странах мира, было построено филогенетическое дерево. Российский штамм находится в одной группе со штаммами из восточной Азии (Корея и Китай) и Восточной Европы (Польша и Чехия). Все эти страны непосредственно граничат с Россией либо расположены поблизости. Это подтверждает глобальное распространение данного патогена на Евразийском континенте через племенное поголовье кур и яйца.

При пополнении геномной базы данных сальмонеллами различных сероваров и генотипов, выделенных в Российской Федерации из различных источников, можно будет ответить на вопросы о происхождении, циркуляции и связи с популяциями сальмонелл в других странах мира.

Постоянное совершенствование в последнем десятилетии биоинформационных методов компьютерной обработки, возникших параллельно и активно развивающихся одновременно с методами секвенирования нового поколения, позволило сформулировать следующие направления анализа полногеномных данных, которые можно разделить на две большие группы: анализ единичных геномов и групповой анализ геномов.

Анализ отдельных геномов позволяет наиболее точно предсказать как фенотипическую (серотиповую) принадлежность возбудителя, так и его генотип. К генотипическим характеристикам, в частности, относятся сиквенс-тип (ST), клональный комплекс (CC) и клональная группа (eBG) [24], MLVA-тип [21], а также методы с большей разрешающей способностью, основанные на принципе мультилокусного сиквенсного типирования, но с использованием ядерного (Core genome MLST, cgMLST) и всего генома (Whole genome MLST, wgMLST). Определение профагов, плазмид и других мобильных генетических элементов, а также факторов вирулентности, сгруппированных в островки вирулентности сальмонелл (SPI),

содержащихся в геноме, также дает дополнительную пищу для размышления. Крайне важным является определение генетических детерминант антибиотикорезистентности (генов и мутаций) и их соотношение с фенотипическим проявлением устойчивости к антибактериальным препаратам.

Сравнение генома с базой данных известных геномов, а также сравнение геномов между собой по определенным критериям позволяет значительно расширить круг решаемых вопросов. Во-первых, выявить филогенетическое родство выделенных штаммов между собой, а также со штаммами микробов, выделенных на других территориях. Это необходимо для выявления штаммов, вызвавших вспышки заболевания. Во-вторых, определить ядерный геном (совокупность общих генов) и пангеном (совокупность всех генов) для выбранной группы микробов. В-третьих, узнать разнообразие аллелей и установить возможные признаки адаптации штаммов к определенным макроорганизмам.

Большинство из вышеперечисленных методов организованы в общедоступные сервисы и пакеты программ, например, серверы Центра геномной эпидемиологии (CGE) Датского технического университета [33] и Ресурсного центра по бактериальной биоинформатике (Pathosystems Resource Integration Center, PATRIC) [34]. Использование подобных сервисов требует минимальной подготовки, но достаточно глубокого понимания процессов, лежащих в основе методов генотипирования, с целью интерпретации полученных результатов.

Заключение. Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора является одним из ведущих центров микробиологического молекулярно-генетического мониторинга за сальмонеллами в России. Исследования, проведенные в лаборатории молекулярной эпидемиологии, позволили усовершенствовать систему эпидемиологического надзора за возбудителем сальмонеллеза на Дальнем Востоке и выявить структуру популяции сальмонелл на основе метода анализа плазмид, содержащихся в штаммах *Salmonella*. В процессе проводимых исследований был решен ряд проблем, относящихся к микробиологии, эпидемиологии, клинике и профилактике сальмонеллезной инфекции. В результате проведенных санитарно-профилактических мероприятий в Приморском крае удалось взять под контроль и предотвратить вспышки нозокомиального (госпитального) сальмонеллеза, вызываемые специфическим возбудителем антропоознозного сальмонеллеза, приводящие к огромным социально-экономическим потерям, а также снизить заболеваемость сальмонеллезом у кур, и как следствие, у населения.

Информация о вкладе авторов: А.В. Раков – написание текста рукописи, обзор публикаций по теме статьи; Н.А. Кузнецова, Е. Mastriani, Ф.Н. Шубин – обзор публикаций по теме статьи.

Финансирование: исследование проведено без спонсорской поддержки.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы (пп. 1–28, 31–34 см. References)

29. Раков А.В., Шубин Ф.Н., Кузнецова Н.А. Гетерогенность плазмид молекулярной массой 1,4 МДа в штаммах *Salmonella enteritidis* // Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. 2013. Т. 33. № 2. С. 10–15.
30. Раков А.В., Шубин Ф.Н., Кузнецова Н.А., Соловьева А.С. Гетерогенность плазмид молекулярной массой 2,3 МДа в штаммах *Salmonella enteritidis* // Сибирский научный медицинский журнал. 2019. Т. 39. № 2. С. 40–45. doi: 10.15372/SSMJ20190204

References

1. Ryan MP, O'Dwyer J, Adley CC. Evaluation of the complex nomenclature of the clinically and veterinary significant pathogen *Salmonella*. *Biomed Res Int*. 2017;2017:3782182. doi: 10.1155/2017/3782182
2. Birnboim HC, Doly J. A rapid alkaline extraction procedure for screening recombinant plasmid DNA. *Nucleic Acids Res*. 1979;7(6):1513–1523. doi: 10.1093/nar/7.6.1513
3. Kado CI, Liu ST. Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids. *J Bacteriol*. 1981;145(3):1365–1373. doi: 10.1128/JB.145.3.1365-1373.1981
4. Jones GW, Rabert DK, Svinarich DM, Whitfield HJ. Association of adhesive, invasive, and virulent phenotypes of *Salmonella typhimurium* with autonomous 60-megadalton plasmids. *Infect Immun*. 1982;38(2):476–486. doi: 10.1128/IAI.38.2.476-486.1982
5. Nakamura M, Sato S, Ohya T, Suzuki S, Ikeda S. Possible relationship of a 36-megadalton *Salmonella enteritidis* plasmid to virulence in mice. *Infect Immun*. 1985;47(3):831–833. doi: 10.1128/IAI.47.3.831-833.1985
6. Rivera MJ, Rivera N, Castillo J, Rubio MC, Gómez-Lus R. Molecular and epidemiological study of *Salmonella* clinical isolates. *J Clin Microbiol*. 1991;29(5):927–932. doi: 10.1128/JCM.29.5.927-932.1991
7. Rodrigue DC, Cameron DN, Puhf ND, et al. Comparison of plasmid profiles, phage types, and antimicrobial resistance patterns of *Salmonella enteritidis* isolates in the United States. *J Clin Microbiol*. 1992;30(4):854–857. doi: 10.1128/JCM.30.4.854-857.1992
8. Holmberg SD, Wachsmuth IK, Hickman-Brenner FW, Cohen ML. Comparison of plasmid profile analysis, phage typing, and antimicrobial susceptibility testing in characterizing *Salmonella typhimurium* isolates from outbreaks. *J Clin Microbiol*. 1984;19(2):100–104. doi: 10.1128/JCM.19.2.100-104.1984
9. Farrar Jr WE. Molecular analysis of plasmids in epidemiologic investigation. *J Infect Dis*. 1983;148(1):1–6. doi: 10.1093/infdis/148.1.1
10. Southern EM. Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *J Mol Biol*. 1975;98(3):503–517. doi: 10.1016/s0022-2836(75)80083-0
11. Olsen JE, Skov MN, Threlfall EJ, Brown DJ. Clonal lines of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis documented by IS200-, ribo-, pulsed-field gel electrophoresis and RFLP typing. *J Med Microbiol*. 1994;40(1):15–22. doi: 10.1099/00222615-40-1-15
12. Guerra B, Landeras E, Gonzalez-Hevia MA, Mendoza MC. A three-way ribotyping scheme for *Salmonella* serotype Typhimurium and its usefulness for phylogenetic and epidemiological purposes. *J Med Microbiol*. 1997;46(4):307–313. doi: 10.1099/00222615-46-4-307
13. Stanley J, Baquar N, Threlfall EJ. Genotypes and phylogenetic relationships of *Salmonella typhimurium* are defined by molecular fingerprinting of IS200 and 16S *rrn* loci. *J Gen Microbiol*. 1993;139 Pt 6:1133–1140. doi: 10.1099/00221287-139-6-1133
14. Hulton CS, Higgins CF, Sharp PM. ERIC sequences: a novel family of repetitive elements in the genomes of *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* and other enterobacteria. *Mol Microbiol*. 1991;5(4):825–834. doi: 10.1111/j.1365-2958.1991.tb00755.x

15. Hilton AC, Banks JG, Penn CW. Random amplification of polymorphic DNA (RAPD) of Salmonella: strain differentiation and characterization of amplified sequences. *J Appl Bacteriol.* 1996;81(6):575–584. doi: 10.1111/j.1365-2672.1996.tb03550.x
16. Schwartz DC, Cantor CR. Separation of yeast chromosome-sized DNAs by pulsed field gradient gel electrophoresis. *Cell.* 1984;37(1):67–75. doi: 10.1016/0092-8674(84)90301-5
17. Swaminathan B, Barrett TJ, Hunter SB, Tauxe RV; CDC PulseNet Task Force. PulseNet: the molecular subtyping network for foodborne bacterial disease surveillance, United States. *Emerg Infect Dis.* 2001; 7(3):382–389. doi: 10.3201/eid0703.010303
18. Ridley AM, Threlfall EJ, 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. doi: 10.1128/JCM.36.8.2314-2321.1998
19. 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. doi: 10.1128/JCM.42.12.5722-5730.2004
20. Boxrud D, Pederson-Gulrud K, Wotton J, et al. Comparison of multiple-locus variable-number tandem repeat analysis, pulsed-field gel electrophoresis, and phage typing for subtype analysis of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis. *J Clin Microbiol.* 2007;45(2):536–543. doi: 10.1128/JCM.01595-06
21. 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
22. Kotetishvili M, Stine OC, Kreger A, Morris Jr JG, Sulakvelidze A. Multilocus sequence typing for characterization of clinical and environmental salmonella strains. *J Clin Microbiol.* 2002;40(5):1626–1635. doi: 10.1128/jcm.40.5.1626-1635.2002
23. Achtman M, Wain J, Weill FX, et al. Multilocus sequence typing as a replacement for serotyping in *Salmonella enterica*. *PLoS Pathog.* 2012;8(6):e1002776. doi: 10.1371/journal.ppat.1002776
24. Feil EJ, Li BC, Aanensen DM, Hanage WP, Spratt BG. eBURST: inferring patterns of evolutionary descent among clusters of related bacterial genotypes from multilocus sequence typing data. *J Bacteriol.* 2004;186(5):1518–1530. doi: 10.1128/jb.186.5.1518-1530.2004
25. Deng X, Shariat N, Driebe EM, et al. Comparative analysis of subtyping methods against a whole-genome-sequencing standard for *Salmonella enterica* serotype Enteritidis. *J Clin Microbiol.* 2015;53(1):212–218. doi: 10.1128/JCM.02332-14
26. Alikhan NF, Zhou Z, Sergeant MJ, Achtman M. A genomic overview of the population structure of *Salmonella*. *PLoS Genet.* 2018;14(4):e1007261. doi: 10.1371/journal.pgen.1007261
27. Rakov AV, Mastriani E, Liu SL, Schifferli DM. Association of *Salmonella* virulence factor alleles with intestinal and invasive serovars. *BMC Genomics.* 2019;20(1):429. doi: 10.1186/s12864-019-5809-8
28. Rakov AV, Kuznetsova NA, Yakovlev AA. Genetic diversity of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis in the Siberia and Far East of Russia based on plasmid profiles. *AIMS Microbiol.* 2020;6(2):106–120. doi: 10.3934/microbiol.2020007
29. Rakov AV, Shubin FN, Kuznetsova NA. Heterogeneity of 1.4 MDa plasmids in *Salmonella enteritidis* strains. *Byulleten' Sibirskogo Otdeleniya Rossiiskoy Akademii Meditsinskikh Nauk.* 2013;33(2):10–15. (In Russian).
30. Rakov AV, Shubin FN, Kuznetsova NA, Solovyeva AS. Heterogeneity of 2.3 MDa plasmids in *Salmonella enteritidis* strains. *Sibirskiy Nauchnyy Meditsinskiy Zhurnal.* 2019;39(2):40–45. (In Russian). doi: 10.15372/SSMJ20190204
31. Rakov AV, Shubin FN. Comparative genomic analysis of the virulence plasmid from *Salmonella enterica* Subspecies *enterica* Serovar Enteritidis. *Russ J Genet.* 2019;55(2):144–153. doi: 10.1134/S0016675819020127
32. Rakov AV, Yakovlev AA, Sinkov VV. First draft genome sequence of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Serovar Enteritidis isolated from the chicken meat in Russia. *Proceedings.* 2021;76(1),2. doi: 10.3390/IECGE-07154
33. Thomsen MCF, Ahrenfeldt J, Cisneros JL, et al. A Bacterial Analysis Platform: An integrated system for analysing bacterial whole genome sequencing data for clinical diagnostics and surveillance. *PLoS One.* 2016;11(6):e0157718. doi: 10.1371/journal.pone.0157718
34. Davis JJ, Wattam AR, Aziz RK, et al. The PATRIC Bioinformatics Resource Center: expanding data and analysis capabilities. *Nucleic Acids Res.* 2020; 48(D1):D606–D612. doi: 10.1093/nar/gkz943

