© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 616.98:579.842.14]=036.22:577.2.08

Шубин Ф.Н., Кузнецова Н.А., Раков А.В., Соловьёва А.С.

ОСОБЕННОСТИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ЭПИДЕМИОЛОГИИ ЗАВОЗНОЙ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ НАСЕЛЕНИЯ САЛЬМОНЕЛЛЁЗОМ, ВЫЗВАННЫМ ОТДЕЛЬНЫМИ ПЛАЗМИДНЫМИ ТИПАМИ *SALMONELLA ENTERITIDIS*

ФГБУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова», 690087, г. Владивосток, Россия

Цель исследования – сравнительное изучение плазмидных характеристик популяций *Salmonella Enteritidis* в Приморском и Хабаровском краях для установления причин и механизмов повышения заболеваемости населения сальмонеллёзом, вызванным отдельными плазмидными типами микроба. **Материалы и методы.** Изучена плазмидная характеристика *S. Enteritidis*, выделенных в 2006–2013 гг. от 7057 больных, в том числе от 6120 больных в Приморском крае и от 937 – в Хабаровском крае. Определение спектра плазмид выполнено по методу Kado C.I. и Liu S.T. (1981). **Результаты.** Сформулировано представление о синхронной заболеваемости населения сальмонеллёзом, вызванным отдельными плазмидными типами *S. Enteritidis*, в различных субъектах РФ. Необходимость выделения такого типа заболеваемости определяется особенностями ее профилактики. **Заключение.** Эпидемиологический надзор за сальмонеллёзом, проводимый на отдельных административных территориях, не сможет контролировать весь процесс формирования синхронной заболеваемости, необходимы дополнительные методы контроля.

Ключевые слова: сальмонеллёз, *Salmonella Enteritidis*, плазмидный тип, заболеваемость населения.

Для цитирования: Шубин Ф.Н., Кузнецова Н.А., Раков А.В., Соловьёва А.С. Особенности молекулярной эпидемиологии завозной заболеваемости населения сальмонеллёзом, вызванным отдельными плазмидными типами *Salmonella enteritidis*. Эпидемиология и инфекционные болезни. 2018; 23 (2): 73-76. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/1560-9529-2018-23-2-73-76>.

Shubin F.N., Kuznetsova N.A., Rakov A.V., Soloveva A.S.

SPECIFIC FEATURES OF MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF IMPORTED MORBIDITY CAUSED BY *SALMONELLA ENTERITIDIS* INTRODUCED STRAINS WITH SPECIFIC PLASMID TYPES

G.P. Somov Institute of Epidemiology and Microbiology, 1, Selskaya str., 690087, Vladivostok, Russia

Aim. To compare the plasmid characteristics of *Salmonella Enteritidis* populations isolated from human patients in the Primorsky and Khabarovsk Territories to determine the causes and mechanisms of the morbidity gain associated with *Salmonella* infections caused by specific plasmid types. **Materials and methods.** The plasmid analysis of *S. Enteritidis* isolates from 7057 patients, including 6120 patients in the Primorsky Territory and 937 in the Khabarovsk Territory were performed over the period of 2006-2013. The plasmid profile was analyzed by the method of Kado C.I. and Liu S.T. (1981). **Results.** The concept of the synchronous morbidity among people living in different administrative territories caused by specific plasmid types of *S. Enteritidis* was established. The need to identify this type of morbidity is predicated on its targeted control and prevention measures. **Conclusion.** The nonintegrated epidemiological surveillance of salmonellosis covering certain administrative territories is unable to control the whole process of synchronous morbidity; additional infection control of strategies is needed.

Key words: Salmonellosis; *Salmonella Enteritidis*; plasmid type; morbidity; epidemiology; risk; epidemiological risk; systematization; estimated characteristic.

For citation: Shubin F.N., Kuznetsova N.A., Rakov A.V., Soloveva A.S. Specific features of molecular epidemiology of imported morbidity caused by *Salmonella Enteritidis* introduced strains with specific plasmid types. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni (Epidemiology and Infectious Diseases, Russian journal)*. 2018; 23(2):73-76. (In Russian). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/1560-9529-2018-23-2-73-76>.

For correspondence: Natalya A. Kuznetsova, MD, Ph.D., senior researcher of the Laboratory of molecular epidemiology and microbiology of the G.P. Somov Institute of Epidemiology and Microbiology, E-mail: kuznetsovanata@mail.ru

Information about authors:

Shubin F.N., <https://orcid.org/0000-0003-2668-2989>Kuznetsova N.A., <https://orcid.org/0000-0002-6660-4769>Rakov A.V., <http://orcid.org/0000-0003-1917-9189>Solovyeva A.S., <https://orcid.org/0000-0002-8080-7933>

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment. The study had no sponsorship.

Received 14.02.2018

Accepted 05.06.2018

Для корреспонденции: Кузнецова Наталья Анатольевна, канд. мед. наук, ст. науч. сотр. лаб. молекулярной эпидемиологии и микробиологии «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова», E-mail: kuznetsovanata@mail.ru

Введение

В настоящее время *Salmonella enterica subsp. enterica* серовар *Enteritidis* (*Salmonella Enteritidis*) имеет ведущее значение в этиологии сальмонеллёза во многих странах мира [1]. Общеизвестным источником инфекции при данном сальмонеллёзе служит птица предприятий промышленного птицеводства. Соответственно, общим для формирования заболеваемости населения является её связь с употреблением в пищу яиц, мяса бройлеров и других продуктов, включающие в качестве отдельных компонентов продукты птицеводства [2]. В России производство птицеводческой продукции в различных субъектах федерации варьирует от полной обеспеченности ею населения до отсутствия его, что обеспечило высокие уровни перевозок продуктов птицеводства между субъектами федерации. Возможность миграции сальмонелл с транспортируемыми продуктами и их важная роль в развитии заболеваемости сальмонеллёзом показана во многих странах мира. При этом миграции сальмонелл ведут к формированию завозной заболеваемости населения. Однако значимость завозных продуктов в формировании заболеваемости населения чаще всего выявляется лишь при формировании вспышек сальмонеллёза, когда для анализа причин их возникновения применяются молекулярно-генетические методы, позволяющие устанавливать эпидемиологические связи между источниками инфекции, факторами передачи и заболевшими людьми [3–5]. Применение молекулярно-генетических методов, основанных на анализе хромосомной ДНК, для изучения различных аспектов спорадической заболеваемости затруднительно в связи с их трудоёмкостью.

Разработка и внедрение в Приморском крае централизованного микробиологического молекулярно-генетического мониторинга за сальмонеллами, основанного на данных плазмидного типирования микроба, и распространение его на некоторые регионы Сибири и Дальнего Востока позволило дифференцировать в популяциях *Salmonella Enteritidis* плазмидные типы микроба, выяснить степень их гетерогенности в различных регионах и выполнить сравнительное исследование. Эти дан-

ные легли в основу дифференциации местных и завозных плазмидных типов возбудителя сальмонеллёза на примере двух соседних экономически тесно связанных субъектов РФ – Приморского и Хабаровского краёв [6].

Целью исследования являлось сравнительное изучение плазмидных характеристик популяций *Salmonella Enteritidis* в Приморском и Хабаровском краях для установления причин и механизмов повышения заболеваемости населения сальмонеллёзом, вызванным отдельными плазмидными типами микроба.

Материалы и методы

В процессе централизованного микробиологического мониторинга за сальмонеллами изучена плазмидная характеристика штаммов *Salmonella Enteritidis*, выделенных в 2006–2013 гг. от 7057 больных, в том числе от 6120 больных в Приморском крае и от 937 – в Хабаровском крае. Определение спектра плазмид проводили у свежевыделенных штаммов микроба по методу Kado и Liu [7]. Электрофоретическое разделение плазмидных ДНК, их визуализацию и определение молекулярной массы проводили, как описано ранее [8]. Результаты обработаны статистически с использованием критериев Стьюдента.

Результаты

Изучение плазмидной характеристики штаммов *S. Enteritidis*, выделенных от больных в Приморском крае, выявило высоко гетерогенную популяцию микроба, представленную десятью плазмидными типами. При этом анализ многолетней динамики этиологической значимости в Приморском крае *Salmonella Enteritidis* плазмидного типа 38:30:2,3 MDa выявил необычный её подъем в 2008 г. (табл. 1). Как видно из табл. 1, этиологическая значимость *Salmonella Enteritidis* плазмидного типа 38:30:2,3 MDa на протяжении 8 лет наблюдения, за исключением 2008 г., не поднималась выше 3,8% (2006 г.) и средний показатель значимости составил 2,6±0,2%. В 2008 г. этиологическая значимость плазмидного типа 38:30:2,3 MDa возросла и составила 8,3%, что в 3,2 раза превыси-

Таблица 1

Этиологическая значимость *Salmonella Enteritidis* плазмидного типа 38:30:2,3 MDa в заболеваемости сальмонеллёзом в Приморском и Хабаровском краях

Край	Количество больных	Годы							
		2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
Приморский край	Всего...	525	630	727	652	802	754	966	1064
	в том числе 38:30:2,3	20	18	60	9	9	10	17	14
	% ± m	3,8±0,8	2,8±0,7	8,3±1,0	1,4±0,5	1,1±0,4	1,3±0,4	1,8±0,4	1,3±0,3
Хабаровский край	Всего...	102	101	156	85	123	114	114	142
	в том числе 38:30:2,3	9	5	40	7	4	4	3	7
	% ± m	8,8±2,8	5,0±2,2	25,6±3,5	8,2±3,0	3,3±1,6	3,4±1,7	2,6±1,5	4,9±2,1

Таблица 2

Этиологическая значимость *Salmonella Enteritidis* плазмидного типа 38:30:2,3 MDa в заболеваемости сальмонеллёзом в Приморском и Хабаровском краях в 2008 г.

Количество больных	Месяцы года											
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII
Приморский край (n=727)												
Всего...	23	20	52	62	82	52	137	80	79	70	50	49
включая 38:30:2,3MDa	0	0	1	2	2	3	31	15	3	2	1	0
% ± m	-	-	1,9±1,9	3,2±2,2	2,5±1,7	5,8±3,1	22,6±3,6	18,8±4,4	3,4±2,0	2,9±2,0	2,0±2,0	-
Хабаровский край (n=156)												
Всего...	8	12	9	13	15	19	32	24	9	3	7	5
включая 38:30:2,3MDa	0	0	0	0	3	6	18	7	2	2	0	2
% ± m	-	-	-	-	20,0±10	31,5±11	56,2±8,9	29,2±9,5				

ло её средний показатель (различия статистически достоверны, $p < 0,01$).

Напротив, анализ многолетней заболеваемости сальмонеллёзом населения Хабаровского края показал, что микроб плазмидного типа 38:30:2,3 MDa ежегодно участвовал в её формировании. Однако именно в 2008 г. этиологическая значимость данного плазмидного типа была максимальной и составила 25,6±3,5% от всех штаммов микроба, выделенных от 156 больных. При этом средняя многолетняя этиологическая значимость составила 8,4±0,9%, что в 3 раза ниже значимости 2008 г. (различия статистически достоверны, $p < 0,05$). Такие резкие колебания этиологической значимости отдельных плазмидных типов *S. Enteritidis* не могут быть случайными.

В Приморском крае заболеваемость населения, вызванная данным типом *Salmonella Enteritidis*, считается завозной, поскольку подобные штаммы микроба никогда не изолировались из проб продукции местных предприятий птицеводства. Её происхождение связывается с продукцией предприятий птицеводства Хабаровского края [9], где заболеваемость, обусловленная *Salmonella Enteritidis* плазмидного типа 38:30:2,3 MDa, является местной.

Представленные данные явились основанием для сравнительного помесячного анализа этиологической значимости *S. Enteritidis* плазмидного типа 38:30:2,3 MDa в Приморском и Хабаровском краях в 2008 г. Результаты представлены в табл. 2. Как видно из табл. 2, в Хабаровском крае заболеваемость населения, вызванная микробом 38:30:2,3 MDa, появилась в мае и в течение последующих трёх месяцев выявлена высокая этиологическая значимость данного типа микроба, хотя случаи инфекции регистрировались до конца года.

Напротив, в Приморском крае большая часть случаев сальмонеллёза (46 из 60 зарегистрированных, 76,6%), вызванного *Salmonella Enteritidis* плазмидного типа 38:30:2,3 MDa, была зарегистрирована в июле и августе, хотя единичные случаи заболеваний регистрировались в период с марта по ноябрь.

Подекадное распределение заболеваемости в

Таблица 3

Заболеваемость сальмонеллёзом, вызванным *Salmonella Enteritidis* плазмидного типа 38 : 30 : 2,3 MDa, в Приморском крае в июле и августе 2008 г.

Декады июля	Число случаев болезни	Декады августа	Число случаев болезни
Первая	4	Первая	10
Вторая	11	Вторая	5
Третья	16	Третья	0
Всего...	31	Всего...	15

июле-августе 2008 г. в соответствии с датой заболеваний представлено в табл. 3. Как видно из табл. 3, заболеваемость населения, начавшаяся в первой декаде июля, достигла максимума в период второй, третьей декады июля и первой декады августа и прекратилась во второй декаде августа.

Представленная динамика характерна для завозной заболеваемости сальмонеллёзом. Имеются основания считать, что заболеваемость населения Приморского края, обусловленная *Salmonella Enteritidis* плазмидного типа 38:30:2,3 MDa, была связана с завозом в край из Хабаровского края крупной партии мясной продукции, контаминированной данным плазмидным типом микроба. В 2007 г. циркуляция этого типа микроба выявлена на птицефабрике Хабаровского края [9]. Эти данные позволяют полагать, что заболеваемость населения в обоих краях имеет единый источник инфекции, а широта распространения заболеваемости в Приморском крае определялась географией распределения контаминированной сальмонеллами продукции, в результате чего, заболеваемость была зарегистрирована в 9 городах и 3-х районах края.

Обсуждение

Представленные результаты показали, что завозная заболеваемость населения в Приморском крае и местная заболеваемость сальмонеллёзом в Хабаровском крае, вызванные однотипным возбудителем в пределах единого промежутка времени, являются, по сути, синхронной заболеваемостью, имеющей единый источник инфекции. Синхрон-

ная заболеваемость определена нами как заболеваемость, вызванная одним плазмидным типом определенного серотипа *Salmonella enterica*, например, *Salmonella Enteritidis*, среди населения различных субъектов федерации, характеризующаяся единым источником инфекции и проявляющаяся в определённый промежуток времени. Необходимость выделения такого типа заболеваемости определяется, прежде всего, особенностями её профилактики.

В заключение следует отметить, что представленный нами механизм формирования синхронной заболеваемости населения в разных субъектах РФ является пока первой попыткой представления новой проблемы. Не вызывает сомнения, что глобализация производства и торговли будут только расширяться, а вместе с тем будет увеличиваться риск формирования синхронной заболеваемости населения. В этом случае эпидемиологический надзор за сальмонеллёзом, проводимый на отдельных административных территориях, не сможет контролировать одновременно весь процесс формирования синхронной заболеваемости, а, следовательно, необходимы дополнительные методы контроля. Нами для этого предложена система централизованного микробиологического молекулярно-генетического мониторинга за сальмонеллами. Дополнительные возможности этой системы и позволили нам сформулировать представление о синхронной заболеваемости населения сальмонеллёзом, вызванным отдельными плазмидными типами *Salmonella Enteritidis*.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Jepsen M.R., Fisher I., Galle M. et al. Creating an online atlas of *Salmonella* serotypes in Europe. *Euro Surveill.* 2008, 13(3): pii=8016.
2. Braden C.R. *Salmonella enterica* serotype Enteritidis and eggs: a national epidemic in the United States. *Clin. Infect. Dis.* 2006, 43(4): 512-17. DOI:10.1086/505973
3. Jernberg C., Hjertqvist M., Sundborger C. et al. Outbreak of *Salmonella* Enteritidis phage type 13a infection in Sweden linked to imported dried-vegetable spice mixes, December 2014 to July 2015. *Euro Surveill.* 2015, 20(30): pii=21194.
4. Lukinmaa S., Schildt R., Rinttila T. et al. *Salmonella* Enteritidis phage types 1 and 4: pheno- and genotypic epidemiology of recent outbreaks in Finland. *J. Clin. Microbiol.* 1999, 37(7): 2176-82.
5. 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: 84-90. DOI:10.1186/1471-2180-8-84
6. Шубин Ф.Н., Раков А.В., Кузнецова Н.А. и др. Зоонозный сальмонеллез на Дальнем Востоке: основные аспекты проблемы. *Дальневосточный журнал инфекционной патологии.* 2015, 29: 72-9.
7. Kado C.I., Liu S.T. Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids. *J. Bacteriol.* 1981, 145(3): 1365-73.
8. Шубин Ф.Н., Раков А.В., Кузнецова Н.А. и др. Структура популяции *Salmonella enteritidis* в Приморском крае по данным плазмидного анализа. *Журнал микробиологии.* 2006, № 3, Приложение. С. 28-32.
9. Шубин Ф.Н., Кузнецова Н.А., Раков А.В. и др. Плазмидная характеристика популяции *Salmonella Enteritidis* в Хабаровском крае. *Дальневосточный журнал инфекционной патологии.* 2010; 17: 143-7.

REFERENCES

1. Jepsen M.R., Fisher I., Galle M. et al. Creating an online atlas of *Salmonella* serotypes in Europe. *Euro Surveill.* 2008, 13(3): pii=8016.
2. Braden C.R. *Salmonella enterica* serotype Enteritidis and eggs: a national epidemic in the United States. *Clin. Infect. Dis.* 2006, 43(4): 512-17. DOI:10.1086/505973
3. Jernberg C., Hjertqvist M., Sundborger C. et al. Outbreak of *Salmonella* Enteritidis phage type 13a infection in Sweden linked to imported dried-vegetable spice mixes, December 2014 to July 2015. *Euro Surveill.* 2015, 20(30): pii=21194.
4. Lukinmaa S., Schildt R., Rinttila T. et al. *Salmonella* Enteritidis phage types 1 and 4: pheno- and genotypic epidemiology of recent outbreaks in Finland. *J. Clin. Microbiol.* 1999, 37(7): 2176-82.
5. 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: 84-90. DOI:10.1186/1471-2180-8-84
6. Shubin F.N., Rakov A.V., Kuznetsova N.A. Zoonotic salmonellosis in the far East: key aspects of the problem. *Dalnevostochnyy zhurnal infektsionnoy patologii.* 2015; 29: 72-9.
7. Kado C.I., Liu S.T. Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids. *J. Bacteriol.* 1981, 145(3): 1365-73.
8. Shubin F.N., Rakov A.V., Kuznetsova N.A. et al. Structure of *Salmonella enteritidis* population in Primorye according to plasmid analysis. *Zhurnal mikrobiologii.* 2006, 3: 28-32.
9. Shubin F.N., Rakov A.V., Kuznetsova N.A. et al. Plasmid characteristics of *Salmonella Enteritidis* population in the Khabarovsk territory. *Dalnevostochnyy zhurnal infektsionnoy patologii.* 2010; 17: 143-7.

Поступила 14.02.2018

Принята в печать 05.06.2018

Сведения об авторах:

Шубин Феликс Николаевич, доктор мед. наук, проф., вед. науч. сотр. лаб. молекулярной эпидемиологии и микробиологии ФГБУН «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова», E-mail: shubin@inbox.ru; **Раков Алексей Владимирович**, канд. мед. наук, ст. науч. сотр. лаб. молекулярной эпидемиологии и микробиологии ФГБУН «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова», E-mail: vokar@mail333.com; **Соловьева Алина Сергеевна**, мл. науч. сотр. лаб. молекулярной эпидемиологии и микробиологии ФГБУН «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова», E-mail: dj_svet8525@mail.ru