31. Perturbations de la motricite intestinale par la toxine cholerique chez le chien et protection par la smectite / J. Fioramonti, L. Bueno //Gastroenterol. Clin. Biol. — 1985. — Vol. 9(2). — P. 53A.
32. *Tazi-Makhasassi L*. Apport d'une argile naturelle, la Smectite, un complement de la rehydratation orale dans le traitement de l'diarrhee aiguede l'enfant. / L. Tazi-Makhasassi // 16 eme Congres de l'Union des Societes de Pediatrie du Moyen–Orient et de la mediterranee Marakech 21–23 nov.,1985.
33. *Zissis G*. Evaluation of the therapeutic effect of smectite rotavirus caused gastroenteritis. Saint Peter's Hospital, Bruxelles (paraitre). — 1985. — 276 p.

СТВОРЕННЯ НОВИХ КОМПЛЕКСНИХ ПРЕПАРАТІВ НА ОСНОВІ БІОМАСИ ПРОБІОТИЧНИХ БАКТЕРІЙ ТА ГЕЛЮ СМЕКТИТУ

Д.С. Янковський[1], В.П. Широбоков[2], Г.С. Димент[1]
[1]Науково — виробнича компанія "О.Д. Пролісок"
[2]Національний медичний університет ім. О.О. Богомольца

Розроблено технологію одержання гелю смектиту глибокого очищення. Встановлено його позитивний вплив на рост та біологічну активність до анаеробних сахаролітичних бактерій. Створено нові мультипробіотики на основі концентрованої біомаси мультикомпонентного симбіозу пробіотичних бактерій і гелю смектиту.

Ключові слова: *смектит, пробіотики, цукролітичні анаероби, ентеросорбент "Симбітер®форте".*

CREATION OF NEW COMPLEX DRUGS BIOMASS-BASED PROBIOTIC BACTERIA GEL AND SMECTITE

D.S. Yankowsky[1], V.P. Shyrobokov[2], G.S. Dyment[1]
[1]Scientific Production Company "O.D. Prolisok", Kiev, Ukraine
[2]A.A. Bogomolets National Medical University, Kiev, Ukraine

The technology of obtaining gel smectite deep cleaning. Established its positive impact on growth and the biological activity of anaerobic saccharolytic bacteria. Created new multiprobiotics based multicomponent concentrated biomass of probiotic bacteria symbiosis gel and smectite.

Key words: *smectite, probiotics, saccharolytic anaerobes, enterosorbent, "Symbiter®forte."*

УДК 616.98:579

Д.Л. Кирик

МОЛЕКУЛЯРНА ЕПІДЕМІОЛОГІЯ КАМПІЛОБАКТЕРІОЗУ

Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика

Представлено аналітичний огляд літератури з проблеми молекулярної епідеміології кампілобактеріозної інфекції. Проаналізовано сучасні методи молекулярного генотипування кампілобактерій і його практичне використання у системі епідеміологічного моніторингу кампілобактеріозу. Зроблено висновок про актуальність вивчення генотипів регіональних штамів для розробки комплексної системи епідеміологічного нагляду.

Ключові слова: кампілобактерії, генотипи, маркування, плазмідні профілі, епідемічний процес, моніторинг.

Проведені у багатьох країнах дослідження показали,що серед гострих кишкових інфекцій (ГКІ) невизначеної етіології суттєве місце належить кампілобактеріозу, етіологічними агентами якого є бактерії роду *Campylobacter* [3, 41]. В останні роки активно розвивається сучасний напрямок епідеміологічної науки,що використовує методи молекулярної біології для вивчення особливостей епідемічного процесу і їх використання у системі епідеміологічного нагляду [6]. Епідеміологічні висновки необхідно базувати у першу чергу на результатах отриманих класичними методами епідеміології. Використання молекулярно-генетичних методів типування збудників кампілобактеріозу повинно підтвердити ці висновки чи змінити попередню гіпотезу і направити дослідження у нове русло.

В Україні проблема вивчення молекулярної епідеміології кампілобактеріозу знаходиться у початковій стадії,тому аналітичний огляд літератури

© Д.Л. Кирик

із цієї проблеми є актуальним. Метою роботи було на основі сучасних літературних даних і результатах власних досліджень розкрити значення і місце молекулярно-генетичних методів типування збудників у системі епідеміологічного нагляду кампілобактеріозної інфекції.

На прикладі штаму *C. jejuni* NCTC 11168 проведено повне секвенування хромосоми кампілобактерій [35]. Бактерії роду *Campylobacter* у структурі ДНК містять пару азотистих основ Г-Ц в кількості 29–46%.У порівнянні із іншими прокаріотами вона має достатньо малий розмір-1,641,481 нуклеотидних пар (н.п.) і незвично велику частку послідовностей, що кодують протеїни. У геномі не було знайдено фагоасоційованих послідовностей,але він містив малу кількість послідовностей,що повторювались. Іншою властивістю є помітна відсутність у генів оперон організації. Важливою знахідкою була наявність гіперваріабельних послідовностей у генів відповідальних за біосинтез поверхневих структур бактеріальної клітини. Зроблено припущення про значення цих регіонів у адаптації і виживанні кампілобактерій в об'єктах зовнішнього середовища,а також їх патогенному потенціалі. Пізніше іншими дослідниками було визначено 87 специфічних гени у штаму *C. jejuni* 81–176 [18]. Також ними установлено нуклеотидну послідовність у двох плазмід — *pVir* і *pTet*,що відповідають за інвазивність і ДНК трансфер.Вивчення питань генетичної організації кампілобактерій дозволить краще розуміти механізми патогенезу цієї інфекції, що забезпечить її ефективне лікування.

В Україні проведено комплексне епідеміологічне маркування циркулюючих штамів кампілобактерій на основі класичних фенотипічних методів і установлено,що домінуючим в етіологічній структурі кампілобактеріозу є вид *C. jejuni* 32-го серовару за схемою Ліор і 1-го біовару [5]. Ліпіди кампілобактерій переважно складаються з насичених жирних кислот, основну частину яких становлять тетрадеканова й гексадеканова [1]. Види *C. jejuni* і *C. coli* мали подібні ліпідні профілі,що не дозволило використовувати цю фенотипову характеристику для епідеміологічного маркування бактерій роду *Campylobacter*. Виявлено наявність загальних R-спектрів резистентності у різних груп досліджених штамів, що вказує на одне джерело інфікування [2]. Необхідно відмітити,що можливості фенотипових методів обмежені внаслідок постійної зміни експресії генів у бактерій. Вони відбуваються спонтанно чи під впливом змін факторів навколишнього середовища. На відміну від фенотипових методів, генетичне типування базується на вивченні відмінностей у структурі ДНК різних штамів за допомогою відповідних маркерів (таблиця).

Генотипування кампілобактерій дає можливість не тільки установити закономірності епідемічного процесу,але й асоціації між генотипом збудника та особливостями клінічного перебігу захворювання,що необхідно для оптимізації стратегії лікування. Методи молекулярної біології допомагають при встановленні родинних зв'язків між спорідненими патогенами та аналізі їх еволюції. Першим молекулярно-генетичним методом і "золотим стандартом" молекулярної епідеміології є метод поліморфізму довжин рестрикційних фрагментів (ПДРФ, restriction fragment length polimorphism, RFLP), що базується на аналізі інсерційних послідовностей (insertion sequence, IS). Ці послідовності представлено невеликими генетичними елементами розміром менш 2,5 тисяч пар нуклеотидів (т.п.н), які широко поширені в геномі бактерій і несуть тільки інформацію про їх транспозицію. В якості генетичних маркерів для кампілобактерій використовують дві інсерційні послідовності,-пов'язаних із джгутиковою субодиницею — *flaA* і *flaB* [24].Нами використано цей метод для аналізу плазмідної ДНК кампілобактерій і порівняння плазмідного профілю штамів різного походження [4]. Дослідження установили плазмідну детермінацію резистентності кампілобактерій відносно деяких антибіотиків. Наявність плазмід молекулярної маси порядку $(1,5–6)\times10^6$ визначали стійкість штамів до канаміцину,а $(40–70)\times10^6$ — до тетрацикліну та еритроміцину. Штами кампілобактерій, що були виділені від хворих,курей і об'єктів довкілля мали однакові плазмідні профілі, це обумовлює необхідність використання цього маркеру для епідеміологічного аналізу.

В цілому метод ПДРФ має високу чутливість і 100% відтворюваність, а його стандартизація дозволила створити базу даних IS-генотипів кампілобактерій. В той же час метод має значну тривалість проведення, потребує великої кількості очищеної ДНК,що унеможливлює безпосередню індикацію збудника у клінічному матеріалі і використання при широкомаштабних епідеміологічних дослідженнях [8].

Іншим методом, що використовує молекулярні маркери — нуклеотидні послідовності для ендонуклеаз рестрикції, є пульсуючий гель-електрофорез (ПГЕ, pulsed field gel electrophoresis, PFGE). Він використовує рестрикційні ферменти для розділення великих фрагментів ДНК у гелі. За допомогою рестриктази SmaI отримано шість фрагментів із середньою кількістю :48,5; 80; 110; 220; 280 і 980 тис. п.н., при використанні рестрик-

Таблиця. Характеристика молекулярно-генетичних методів типування бактерій

Молекулярний маркер	Метод типування	Примітки
I. Нуклеотидні послідовності(сайти) для ендонуклеаз рестрикції	1. Метод поліморфізму довжин рестрикційних фрагментів (ПДРФ, restriction fragment length polimorphism, RFLP); 2. Пульсуючий гель-електрофорез (ПГЕ, pulsed field gel electrophoresis, PFGE) 3. Метод типування мультилокусної послідовності (ТМЛП, multilocus sequence typing, MLST) 4. Поліморфізм довжин ампліфікованих фрагментів (ПДАФ, ampli-fied fragment length polymorphism, AFLP) 5. Саузерн-блот (риботипування)	ПДРФ хромосомної чи плазмідної ДНК (плазмідний профіль). Створено банк фінгерпринтів бактерій — FoodNet і базу даних PulseNet націлено на визначення семи "домашніх" генів бактерій, створено базу даних eBurst селективна ампліфікація рестрикційних фрагментів без попереднього визначення їх первинної послідовності із використанням олігонуклеотидного адаптеру. Додатково використовують ДНК-зонди (16S; 23S рРНК)
II. Випадкові повтори	Швидкий метод випадково ампліфікованих поліморфних рестрикційних фрагментів ДНК (ВАПРФ, randomly amplified polymorphic DNA, RAPD)	Використання коротких довільних олігонуклеотидних праймерів довжиною 9–10 н.п., які гібридизуються із ДНК-мішенню при низькій температурі віджигу
III. Нуклеотидні послідовності,що повторюються	1. Метод ампліфікації ентеробактеріальних внутрішньогенних конценсусних повторів (ЕВКП, enterobacterial repetitive intergenic consensus, ERIC) 2. Метод ампліфікації екстрагенних паліндромних послідовностей, що повторюються (ЕППП, repetitive extragenic palindrom, REP) 3. Мультиплексна полімеразна ланцюгова реакція (МПЛР, multiplex polymerase chain reaction, PCR)	
IV. Специфічна нуклеотидна послідовність	Секвенування	Видоспецифічні генетичні локуси

тази *SmaI* виділено дев'ять фрагментів від 39 до 371 тис. п.н., а рестриктаза *KpnI* розділила ДНК кампілобактерій на 11 фрагментів від 35 до 387,5 тис. н.п. [9]. В мережі інтернету створено базу даних (PulseNet) для швидкого порівняльного аналізу фрагментів різного походження [12].

До цієї групи методів віднесено типування мультилокусної послідовності (ТМЛП, multilocus sequence typing, MLST). Воно націлено на визначення семи "домашніх" генів кампілобактерій із кількістю нуклеотидних пар від 477 до 507: *aspA, glnA, gltA, glyA, pgm, tkt, uncA.* Для обміну інформації створено міжнародну платформу бази даних eBurst. Враховуючи високу відтворюванність методу, запропоновано його використовувати як альтернативу методам секвенування геному *C. jejuni* у цілому [30, 33]. Ще одним методом цієї групи є поліморфізм довжин ампліфікованих фрагментів (ПДАФ, amplified fragment length polymorphism, AFLP). Його основано на селективній ампліфікації рестрикційних фрагментів без попереднього визначення їх первинної послідовності із використанням олігонуклеотидного адаптеру, який є мішенню для універсального праймеру. Метод потребує спеціального обладнання і програмного забезпечення [14]. Метод риботипування дозволяє суттєво зменшити кількість аналізованих фрагментів ДНК і має на меті визначення відмінностей у кількості рибосомальних оперонів, а також рестрикційного поліморфізму їх нуклеотидної послідовності [40]. Гібридізація ДНК-зондів із РНК-рибосомальними генами (16S; 23S) кампілобактерій і утворення

специфічного рибопатерну, дозволяє визначити видову належність штамів, а також їх риботип.

До другої групи відносять швидкий метод випадково ампліфікованих поліморфних рестрикційних фрагментів ДНК (ВАПРФ, amplified polymorphic DNA, RAPD). Він базується на використанні коротких довільних олігонуклеотидних праймерів довжиною 9–10 н.п., що гібридизуються із ДНК-мішенню при низькій температурі віджигу [23]. Різні частини геному кампілобактерій можуть бути гомологічні послідовностям праймеру, що при незначній зміні температури етапу віджигу процесу ампліфікації, призводить до зміни патерну ВАПРФ. Тому питання стандартизації цього методу залишається актуальним.

Одним із методів,що використовує у якості молекулярних маркерів — екстрагенні нуклеотидні послідовності що повторюються (ЕНПП, repetitive extragenic palindromic sequences, REP) є метод ампліфікації ентеробактеріальних внутрішньогенних конценсусних повторів (ЕВКП, enterobacterial repetitive intergenic consensus, ERIC). Його застосування дозволило диференціювати клінічні штами *Campylobacter spp.* від штамів виділених із продуктів птахівництва [10].

Мультиплексна полімеразна ланцюгова реакція (МПЛР, multiplex polymerase chain reaction, MPCR) базується на одночасній ампліфікації декількох генів кампілобактерій, що повторюються — *los, flag, cps* [13].

Високоспецифічні генетичні локуси визначає секвенування на основі субтипування коротких варіабельних регіонів (СКВР, sequence based subtyping of short variable region, SVR) націлений на визначення кінцевої нуклеотидної послідовності гену *flaA* [38]. Нуклеотидне секвенування називають "майбутнім молекулярної епідеміології", але залишається не вирішеним одне питання — чи є секвенування єдиного локусу хромосомної ДНК бактерій, достатнім для диференцювання епідемічного штаму [7].

Технологія ДНК-мікрочіпу (DNA microarray) є ДНК-ДНК гібридизаційним методом, що порівнює ДНК-зонду референт штаму адсорбованого на поверхні, із ДНК досліджуваного. Використовується для вивчення філогенезу *C. jejuni* і не рекомендовано для рутинних досліджень [37].

Використання методів генетичного типування у різних країнах світу дозволило установити регіональні особливості епідемічного процесу кампілобактеріозу і забезпечити ефективний моніторинг циркуляції його збудників. Типування методом ПДРФ, що націлений на визначення *fla* — послідовностей, виявило 29 генотипи серед 141 клінічних штамів. Домінуючим був генотип *flaA* — 15(30%),а серед штамів виділених з продуктів птахівництва-*flaA* — 3(23%). Повне співпадання генотипів серед цих двох груп було тільки у 5%. Клінічні штами (*flaA* — 15) були у 5–7 разів більш інвазивні для клітин Hep2 in vitro, ніж штами генотипу *flaA* — 3 [24]. Застосування ПГЕ-методу при епідеміологічному дослідженні водного спалаху кампілобактеріозного ентериту підтвердило наявність гомологічних бактеріофагоподібних паттернів (Mu-like bacteriophage)у штамів виділених із питної води і від хворих [34].

Порівняльне вивчення генетичних відмінностей методами ПДРФ і ПГЕ 315-ти штамів кампілобактерй виділених від сільськогосподарських тварин і птиці (велика рогата худоба, вівці, індики) із клінічними штамами, виявило серед них 48 fla-генотипи методом ПДРФ і 71 mrps-генотипи ПГЕ методом. Ідентичними були 6 fla- і 29 mrps-генотипи у всіх вивчених групах [39]. Наявність подібних ПГЕ-фінгерпринтів у 4,1% клінічних штамів і кампілобактерій виділених від домашніх тварин доведено іншими дослідниками [19]. Ідентичні *SmaI/KpnI*-фінгерпринти клінічним штамам *C. jejuni* статистично достовірно визначали у бактерій виділених від курей-бройлерів [11].

Застосування ТМЛП у паралельному дослідженні штамів від зразків продукції птахівництва і від хворих в окрему регіоні Нової Зеландії,дозволило визначити чотири епідемічно значущі генотипи *C. jejuni,* що мали однакові типи послідовностей — ST45, ST451, ST50 і ST520 (ТП, Sequence Types,Sts) [27]. Цю інформацію було внесено до міжнародної веб-бази даних eBurst. Методом ТМЛП також підтверджено епідеміологічну роль домашніх собак у розповсюдженні кампілобактеріозу серед людей. Превалюючим загальним ТП у *C. jejuni* був ST2772 [36]. Для аналізу спорадичної захворюваності кампілобактеріозу у провінції Квебек (Канада) проведено дослідження методом ТМЛП 289 штамів *C. jejuni* (163 — від хворих, 56 — від курей, 34 — із сирого молока і 36 — із води відкритих водойм) [31]. Визначено 96 ТП, із них 25% раніше не були задокументовані у міжнародній веб-базі даних. Частота нових ТП серед штамів із води відкритих водойм була статистично значущо більше ніж серед штамів виділених з інших джерел,відповідно 50 і 22%(P <0,001).

ТМЛП метод при генетичному маркуванні 234 клінічних штамів *C. jejuni* виділених на острівній частині Нідерландів,установив переважання ендемічних генотипів ST-41, ST-508 і ST-657 [29]. У Люксембурзі серед штамів виділених від хворих кампілобактеріозом людей і від продуктів птахівництва домінував генотип із клональним комплек-

сом СС21 (ТМЛП), відповідно 21,8 і 41,6% [32]. Простежено епідеміологічний зв'язок між ростом спорадичної захворюваності дітей до 5-ти років у Новій Зеландії і міграцією перелітних птахів- шпаків із Великої Британії. Методом ТМЛП установлено ідентичні генотипи ST-45, ST-682 і ST-177 у цих двох групах вивчених штамів *C. jeju.*

Зроблено припущення, що реалізація фекально-орального механізму передачі відбувається під час перебування дітей на ігрових майданчиках із піском,де були відібрані проби пташиного посліду [28]. В період сезонного підвищення захворюваності на кампілобактеріз (весняно–літній) у Шотландії проведено генотипування штамів (ТМЛП) виділених від хворих ГКІ, курей, великої рогатої, диких птахів і свиней. Провідні генотипи ST45, ST53 і ST2030 були відповідно визначені у 95; 35,5; 13,5; 5,5 і 1% серед усіх вивчених штамів [21].

Методи генотипування, що базуються на використанні ПЛР є технічно простішими, не потребують великої кількості ДНК (ідентифікація збудника безпосередньо у клінічному матеріалі), дозволяють представити результати у цифровому вигляді,що забезпечує відповідну статистичну обробку даних та їх внесення до міжнародних веб-баз у режимі on-line [25]. Мультиплексна ПЛР, що націлена на одночасну ампліфікацію декількох праймерів із різними генами кампілобактерій, дозволила ідентифікувати в клінічному матеріалі від хворих кампілобактерійним гастроентеритом і не кишковими формами кампілобактеріозу шість видів цих патогенів: *Campylobacter coli, Campylobacter fetus, Campylobacter hyointestinalis subsp. hyointestinalis,Campylobacter jejuni, Campylobacter lari* і *Campylobacter upsaliensis*. Відповідні ПЛР-продукти різної молекулярної маси визначали за допомогою агарозного гель-електрофорезу[16]. Метод ПЛР у режимі реального часу (real-time PCR) із використанням регіону — мішені гену cpn60, дозволило ідентифікувати безпосередньо у випорожненнях свійських собак 14 видів кампілобактерій: *C. coli, C. concisus, C. curvus, C. fetus, C. gracilis, C. helveticus*, *C. hyointestinalis, C. jejuni, C. lari, C. mucosalis, C. rectus, C. showae, C. sputorum,* і *C. upsaliensis.* Це підтверджую епідеміологічну роль цих тварин у розповсюдженні кампілобактеріозу [17].

Використання молекулярно-генетичних методів із метою визначення циркулюючих у певних регіонах штамів різних генотипів,є однією з головних напрямків молекулярної епідеміології кампілобактеріозу. Нами вперше в Україні досліджено генетичні відмінності епідемічно провідного виду *C. jejuni* 32 серовару за схемою H. Lior [26]. Праймери для специфічної детекції кампілобактерій вибрано із нуклеотидної послідовності REP. Досліджені штами характеризувались єдиним мажорним продуктом 600 н.п., але мали відмінності по мінорним фрагментам,що дозволило виділити п'ять REP-ПЛР генотипів усередині цього серовару. Перший містив у собі такі мінорні фрагменти (н.п.): 1500; 1400; 1300; 700; 500; 250; другий — 1400; 900; 800; 500; 250; третій — 1600; 1300; 900; 800; 250; четвертий — 1600; 1500; 850; 250; п'ятий — 1500; 1400; 1300; 800; 250. Установлені тонкі генетичні відмінності усередині серовару були використані для визначення джерела інфекції при епідеміологічному аналізі. Клінічні штами і виділені від курей були віднесені до одних REP-ПЛР генотипів.

Ефективність молекулярно-генетичних методів ідентифікації кампілобактерій у порівнянні із бактеріологічним виділенням збудника доведена у відповідному дослідженні [15]. Дослідження 343 проб випорожнень хворих ГКІ бактеріологічним методом із використанням селективного середовища дозволило виділити тільки вид *C. jejuni* у 17 хворих,а використання ПЛР-алгоритму було позитивним у 20 пацієнтів та ідентифіковано чотири види кампілобакетерій: *C. jejuni, C.coli, C. hyointestinalis, C. upsaliensis.*

Європейським товариством клінічних мікробіологів та інфекційних хвороб (ЄТКМІХ), Europen Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESMID) були розроблені чіткі критерії щодо методів молекулярного генотипування бактерій [20]. Молекулярний маркер повинен бути стабільним на протязі всього аналізованого періоду і визначатись у всіх виділених штамів, бути конкордантним із епідеміологічною характеристикою спалаху інфекційного захворювання. Отримані результати генотипування штамів повинні відтворюватись різними дослідниками в інших лабораторіях, можуть бути внесені до міжнародних баз даних для використання спеціалістами різних країн. Статистичну обробку результатів необхідно здійснювати за допомогою індексу спорідненості Сімпсона і вважати штами епідемічно спорідненими при його показнику у межах 0,95–1,0 [22]. При візуальній оцінці результатів генотипування методом ПЛР необхідно враховувати,що фінгерпринти штамів відмінні на 3 і менше рестрикційні фрагменти вважаються епідеміологічно споріднені та є субтипами одного штаму.

Мікробіологічні методи діагностики в сучасній системі боротьби з кампілобактеріозною інфекцією продовжують відігравати одну із провідних ролей. Невід'ємним компонентом здійснення дієвого епідеміологічного нагляду є вивчення екологічних ніш розповсюдження збудників у конкретно-

му регіоні, комплексне дослідження біологічних властивостей виділених штамів та проведення їх внутрішньовидового епідеміологічного маркування фено- і генотиповими методами. Необхідним є впровадження в рутинну практику закладів охорони здоров'я молекулярно-генетичних методів дослідження, що дозволить встановлювати зв'язок між спорадичними випадками, розслідувати спалахи, виявляти шляхи розповсюдження збудників в різних регіонах країни, їх завезення з інших територій, своєчасно проводити ефективні профілактичні і протиепідемічні заходи.

Перспективи подальших досліджень. Нагальною є необхідність розробки та широкого практичного використання універсальних методів молекулярно-генетичних досліджень для внутрішньовидового типування кампілобактерій з метою розв'язання складних завдань молекулярної епідеміології у тому числі визначення маркерів епідемічних генотипів збудників.

ЛІТЕРАТУРА

1. Кирик Д.Л. Аналіз жирнокислотного складу бактерій роду *Campylobacter* // Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П.Л. Шупика. — Київ: НМАПО, 2011. — Випуск 20, книга 3. — С. 622–626.
2. *Кирик Д.Л.* Вивчення антибіотикорезистентності штамів кампілобактерій різного походження та її вплив на епідемічний процес кампілобактеріозу // Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П.Л. Шупика. — Київ: НМАПО, 2011. — Випуск 20, книга 2. — С. 534–541.
3. *Кирик Д.Л.* Клініко-епідеміологічні особливості кампілобактеріозу в Україні // Укр. мед. часопис. — 2013. — № 5–6. — С. 162–164.
4. *Кирик Д.Л.* Характеристика деяких біологічних властивостей кампілобактерій різного походження та їх вплив на епідемічний процес кампілобактеріозу // Укр. мед. часопис. — 2011. — № 3–4. — С. 111–113.
5. *Кирик Д.Л.* Характеристика епідемічного процесу кампілобактеріозу та епідеміологічне маркування штамів кампілобактерій різного походження // Укр. мед. часопис. — 2012. — № 5–6. — С. 100–103.
6. Сучасний стан і перспективи розвитку молекулярної епідеміології / В.М. Запорожан, В.Й. Кресюн, Ю.І. Бажора [та ін.] // Одеський медичний журнал. — 2010. — № 2. — С. 6–8.
7. *Шагинян И.А.* Роль и место молекулярно-генетических методов в эпидемиологическом анализе внутрибольничных инфекций / И.А. Шагинян // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. — 2000. — Т. 2, № 3. — С. 82–95.
8. Analysis of simultaneous space-time clusters of *Campylobacter spp*. in humans and in broiler flocks using a multiple dataset approach / M.E. Jonsson, B.T. Heier, M. Norström [et al.] // International Journal of Health Geographics. — 2010. — Vol. 48, № 9. — P. 1–9.
9. Application of pulsed-field gel electrophoresis to identify potential outbreaks of campylobacteriosis in New Zealand / B. Gilpin, A. Cornelius, B. Robson [et al.] // J. Clin. Microbiol. — 2006. — Vol. 44, № 2. — P. 406–412.
10. Assigning the source of human campylobacteriosis in New Zealand: A comparative genetic and epidemiological approach / P. Mullner, S. Spencer, D. Wilson [et al.] // Infection, Genetics and Evolution. — 2009. — № 9. — P. 1311–1319.
11. Chickens and cattle as sources of sporadic domestically acquired *Campylobacter jejuni* Infections in Finland / M. Hakkinen, U.M. Nakari, A. Siitonen [et al.] // Appl. Environ. Microbiol. — 2009. — Vol. 75, № 16. — P. 5244–5249.
12. Computer-assisted analysis and epidemiological value of genotyping methods for *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* / P. Boer, B. Duim, A. Rigter [et al.] // J. Clin. Microbiol. — 2000. — Vol. 38, № 5. — P. 1940–1946.
13. Differentiation of *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni, Campylobacter lari*, and *Campylobacter upsaliensis* by a multiplex PCR developed from the nucleotide sequence of the lipid A gene lpxA / J.D. Klena, C.T. Parker, K. Knibb [et al.] // J. Clin. Microbiol. — 2004. — Vol. 42, № 3. — P. 5549–5557.
14. Delineation of *Campylobacter concisus* genomospecies by amplifed fragment length polymorphism analysis and correlation of results with clinical data / R. Aabenhus, S.L. W. On, B.L. Siemer [et al.] // J. Clin. Microbiol. — 2006. — Vol. 43, № 10. — P. 5091–5096.
15. Detection of *Campylobacter species*: a comparison of culture and polymerase chain reaction based methods / S.P. Kulkarni, S. Lever, J. Logan [et al.] // J. Clin. Pathol. — 2002. — № 55. — P. 749–753.
16. Development of a multiplex PCR assay for identification of *Campylobacter coli, Campylobacter fetus, Campylobacter hyointestinalis subsp. hyointestinalis, Campylobacter jejuni, Campylobacter lari* and *Campylobacter upsaliensis* / W. Yamazaki-Matsune, M. Taguchi, K. Seto [et al.] // J. Med. Microbiol. — 2007. — № 56. — P. 1467–1473.
17. Development of cpn60-based real-time quantitative PCR assays for the detection of 14 *Campylobacter species* and application to screening of canine fecal samples / B. Chaban, K.M. Musil, C.G. Himsworth [et al.] // Appl. Environ. Microbiol. — 2009. — Vol. 75, № 10. — P. 3055–3061.
18. Genomic diversity in *Campylobacter jejuni*:identification of *C. jejuni* 81–176-specific genes / F. Poly, D. Threadgill, A. Stintzi [et al.] // J. Clin. Microbiol. — 2005. — Vol. 43, № 5. — P. 2330–2338.
19. Genotypic characterisation and cluster analysis of *Campylobacter jejuni* isolates from domestic pets, human clinical cases and retail food / E. Acke, C. Carroll, A. O'Leary [et al.] // Irish Veterinary Journal. — 2011. — № 64. — P. 6–10.
20. Guidelines for the validation and application of typing methods for use in bacterial epidemiology / A. Belkum, P.T. Tassios, L. Dijkshoorn [et al.] // J. Clin. Microbiol and Infect. Dis. — 2007. — №. 13 (Suppl. 3). — P. 1–46.
21. Human campylobacteriosis in Scotland: seasonality, regio-0 nal trends and bursts of infection / G. Miller, M. Dunn, A. Smith-Palmer [et al.] // Epidemiol. Infect. — 2004. — № 132. — P. 585–593.
22. *Hunter P.R.* Numerical index of the discriminatory ability of typing systems: an application of Simpson's index of diversity / P.R. Hunter, M.A. Gaston // J. Clin. Microbiol. — 1988. — Vol. 26, №. 7. — P. 2465–2466.
23. *Engberg J.* Contributions to the epidemiology of campylobacter infections / J. Engberg // Dan. Med. Bull. — 2006. — № 53. — P. 361–389.

24. Epidemiology, relative invasive ability, molecular characterization, and competitive performance of *Campylobacter jejuni* strains in the chicken gut / C. Pope, J. Wilson, E. Taboada [et al.] // Appl. Environ. Microbiol. — 2007. — Vol. 73, № 24. — P. 7959–7966.
25. *Kyryk D.* Development of genoidentification method of campylobacter genus bacteria on base of polymerase chain reaction with universal primers / D. Kyryk // Abstract book of the 24–th annual meeting of the European society for pediatric infectious diseases (Basel, Swizerland, May 3–5, 2006). — Basel:ESPID, 2006. — P. 51–52.
26. *Kyryk D.* Some aspects of molecular epidemiology of campylobacteriosis in Ukraine / D. Kyryk // Abstract book of the 24-th annual meeting of the European society of clinical microbiology and infectious diseases (Barcelona, Spain, May 10–13,2014). — Barcelona: ECCMID № 0481. [Електронний ресурс]. — Режим доступу: http://eccmid.org/barcelona 2014
27. Molecular epidemiology of *Campylobacter jejuni* in a geographically isolated country with a uniquely structured poultry industry / P. Mullner, J.M. Collins-Emerson, A.C. Midwinter [et al.] // Appl. Environ. Microbiol. — 2010. — Vol. 76, № 7. — P. 2145–2154.
28. Molecular epidemiology of *Campylobacter jejuni* isolates from wild-bird fecal material in children's playgrounds / N.P. French, A. Midwinter, B. Holland [et al.] // Appl. Environ. Microbiol. — 2009. — Vol. 75, № 3. — P. 779–783.
29. Molecular evidence for dissemination of unique *Campylobacter jejuni* clones in Curacao, Netherlands Antilles / B. Duim, P.C. R. Godschalk,N. Braak [et al // J. Clin. Microbiol. — 2003. — Vol. 41, № 12. — P. 5593–5597.
30. Multilocus sequence typing — Data analysis in clinical microbiology and public health / C.B. Sullivan, M.A. Diggle, S.C. Clarke [et al.] // Molecular Biotechnology. — 2006. — Vol. 29, № 3. — P. 245–254.
31. Multilocus sequence typing of *Campylobacter jejuni* isolates from humans, chickens, raw milk, and environmental water in Quebec, Canada / S. Le´vesque, E. Frost, R.D. Arbeit [et al.] // J. Clin. Microbiol. — 2008. — Vol. 46, № 10. — P. 3404–3411.
32. Multilocus sequence typing, pulsed-field gel electrophoresis, and fla short variable region typing of clonal complexes of *Campylobacter jejuni* strains of human, bovine, and poultry origins in Luxembourg / C. Ragimbeau, F. Schneider, S. Losch [et al.] // J. Clin. Microbiol. — 2008. — Vol. 74, № 24. — P. 7715–7722.
33. Multilocus sequence typing system for *Campylobacter jejuni* / K.E. Dingle, F.M. Colles, D.R Wareing [et al.] // J. Clin. Microbiol. — 2001. — Vol. 39, № 5. — P. 14–23.
34. Temperate bacteriophages affect pulsed-field gel electrophoresis patterns of *Campylobacter jejuni* / C. Barton, L.K. Ng, S. D. Tyler [et al.] // J. Clin. Microbiol. — 2007. — Vol. 45, № 2. — P. 386–391.
35. The genome sequence of the food-borne pathogen *Campylobacter jejuni* reveals hypervariable sequences / J. Parkhill, B.W. Wren, K. Mungall [et al.] // Nature. — 2000. — Vol. 403, № 2. — P. 665–668.
36. Typing of *Campylobacter jejun*i isolates from dogs by use of multilocus sequence typing and pulsed-field gel electrophoresis / B.N. Parsons, A.J. Cody, C.J. Porter [et al.] // J. Clin. Microbiol. — 2009. — Vol. 47, № 11. — P. 3466–3471.
37. Use of an open-reading frame-specic *Campylobacter jejuni* DNA microarray as a new genotyping tool for studying epidemiologically related isolates / E.E. Leonard, T. Takata, M.J. Blaser [et al.] // Journal of Infectious Diseases. — 2003. — Vol. 187, № 4. — P. 691–694.
38. Use of the Oxford multilocus sequence typing protocol and sequencing of the flagellin short variable region to characterize isolates from a large outbreak of waterborne *Campylobacter sp.* strains in Walkerton, Ontario, Canada / C.G. Clark, L. Bryden, W.R. Cu [et al.] // J. Clin. Microbiol. — 2005. — Vol. 43, № 5. — P. 2080–2091.
39. Use of pulsed-field gel electrophoresis and flagellin gene typing in identifying clonal groups of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in farm and clinical environments / C. Fitzgerald, K. Stanley, S. Andrew [et al.] // Appl. Environ. Microbiol. — 2001. — Vol. 67, № 4. — P. 1429–1436.
40. *Wassenaar T.M.* Genotyping of *Campylobacter spp.* / T.M. Wassenaar, D.G. Newell. // Appl. Environ. Microbiol. — 2000. — Vol. 66, № 3. — P. 1–9.
41. World Health Organisation. About Risk Analysis in Food-2007. [Електронний ресурс]. — Режим доступу:http://www.who.int/foodsafety/micro/riskanalysis/en/.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЯ КАМПИЛОБАКТЕРИОЗА

Д.Л. Кирик

Национальная медицинская академия последипломного образования им. П.Л. Шупика, Киев

Представлен аналитический обзор литературы по проблеме молекулярной эпидемиологии кампилобактериозной инфекции. Проанализированы современные методы молекулярного генотипирования кампилобактерий и его практическое применение в системе эпидемиологического мониторинга кампилобактериоза. Сделан вывод об актуальности изучения генотипов региональных штаммов для разработки комплексной системы эпидемиологического надзора.

Ключевые слова: *кампилобактерии, генотипы, маркирование, плазмидные профили, эпидемический процесс, мониторинг.*

THE MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF CAMPYLOBACTERIOSIS

D.L. Kyryk

P.L. Shupik National medical academy of postgraduated study, Kyiv

An analytical review of literature on the problem of molecular epidemiology of campylobacteriosis is presented.The modern methods of the molecular genotyping of campylobacteria and their practical using at the system of campylobacteriosis epidemiological monitoring are analyzed. A conclusion is made that the study of genotypes of local strains as well as the development of epidemiological surveillance.

Key words: *campylobacteria, genotypes, marking, plasmid profiles, epidemic process, monitoring.*