

**Μοριακή Επιδημιολογία για
βελτιωμένη ανίχνευση και έλεγχο
τροφιμογενών επιδημιών**

Τι είναι η μοριακή επιδημιολογία λοιμωδών νόσων?

- *Σκοπός:* Να καθοριστούν οι τρόποι μετάδοσης και οι πηγές μόλυνσης
- *Αρχές:* Να διερευνηθούν οι φαινοτυπικές και οι γενοτυπικές διαφορές μεταξύ των στελεχών
- *Πρακτική:* Μοριακή τυποποίηση βακτηριακών/ μυκητιακών/ ιικών/ παρασιτικών στελεχών

Μοριακή επιδημιολογία Λοιμωδών Νόσων : Γιατί μοριακές τεχνικές?

□ Προηγούμενες τεχνικές:

- Πρότυπα αντιμικροβιακής ευαισθησίας
- Ορολογική/βιοχημική τυποποίηση

□ Παραδείγματα:

- 95% των *H. influenzae* ήταν ορότυπου b
- *L. monocytogenes*: 3 κύριοι ορότυποι (1/2a, 1/2b, 4b)

Βασικοί τύποι μεθόδων

□ Γενοτυπικές

- DNA based
- Heritable and stable
- Not affected by isolation/culture conditions

□ Φαινοτυπικές

- Rely on expressed characteristics
- Affected by isolation/culture/test conditions

□ *Analysis of chromosomal DNA*

- Restriction endonuclease analysis (REA)
- Pulse field gel electrophoresis (PFGE)
- Restriction fragment length polymorphism (RFLP)
- rDNA gene restriction patterns (ribotyping)
- Nucleic acid sequencing
- Nucleic acid hybridization of entire genome

□ *Analysis of plasmid DNA*

- Plasmid size
- Restriction digests

□ *Protein analysis*

- Outer membrane protein (OMP) analysis
- Multilocus enzyme typing (MLE)

Recognition Sequences of Selected Restriction Endonucleases

<u>Endonuclease</u>	<u>Source</u>	<u>Sequence</u>
<i>EcoR</i> I	<i>Escherichia coli</i> RY13	GAATTC CTTAAG
<i>Hind</i> III	<i>H. influenzae</i> Rd	AAGCTT TTCGAA CCGG
<i>Hha</i> II	<i>H. parainfluenze</i>	GGCC

DNA Cutting by *HIND* III: Staggered Cuts Leaving “Sticky” Ends

TTCGAATA|AGCTTCCCTGAG
AAGCTTATTCGAAGGGACTC

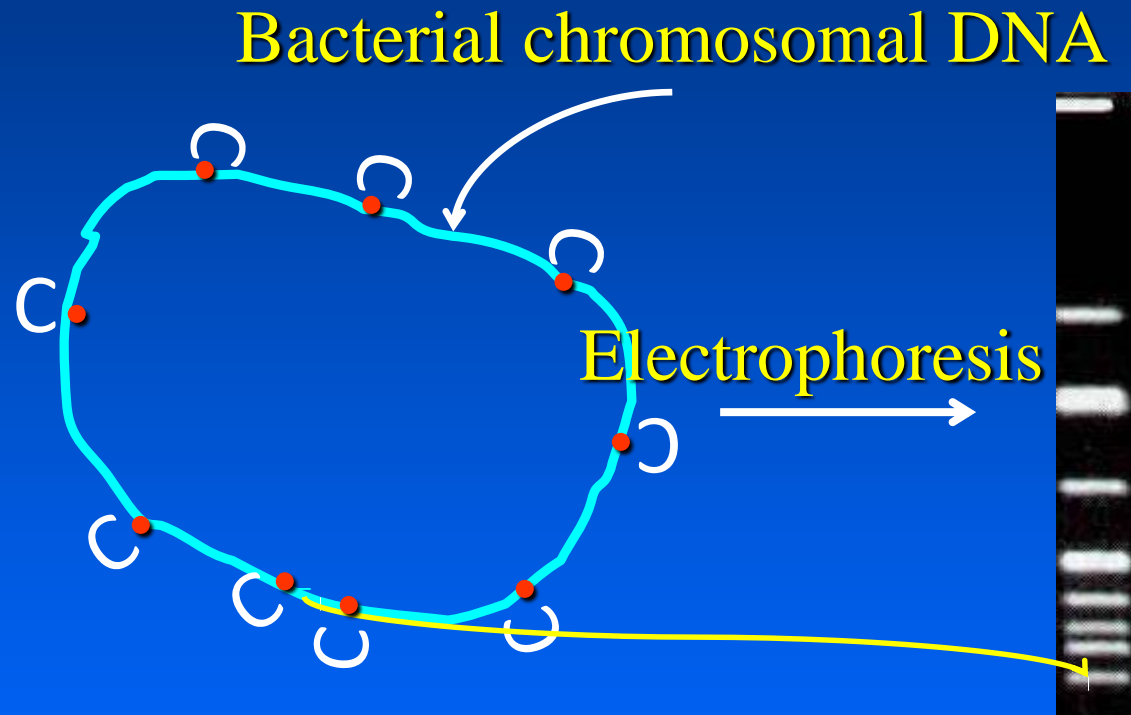


TTCGAATA
AAGCTTATTCG

+

AGCTTCCCTGAG
AAGGGACTC

General principals of molecular subtyping using restriction endonucleases



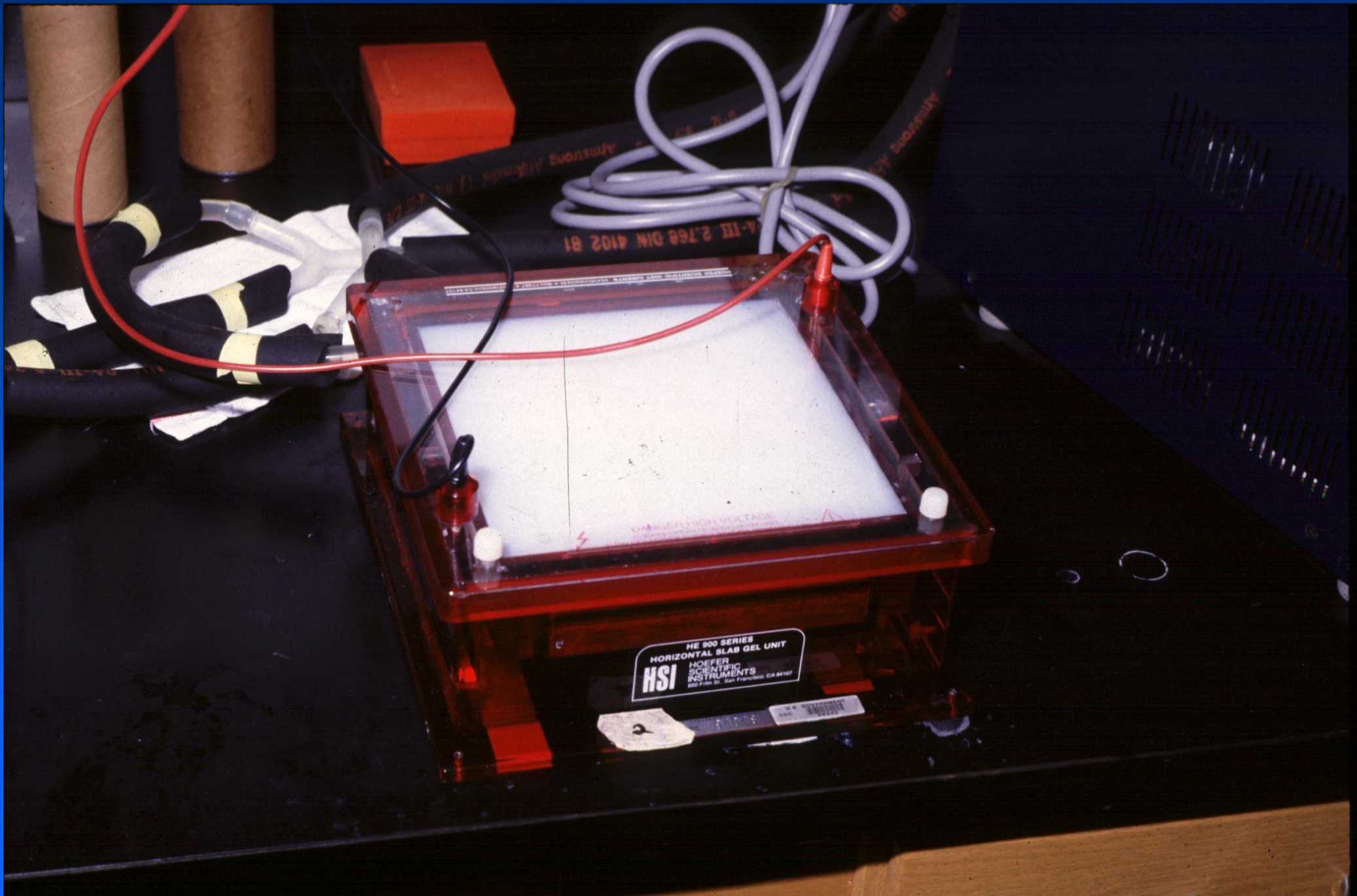
- C = Restriction endonuclease (“molecular scissors”)
- = DNA sequence recognized by restriction endonuclease

□ *Nucleic acid detection*

– Plasmid size

– Restriction digests

□ *Phage typing*



HE 800 SERIES
HORIZONTAL SLAB GEL UNIT
HOEFER
SCIENTIFIC
INSTRUMENTS
800 Folsom St. San Francisco, CA 94107

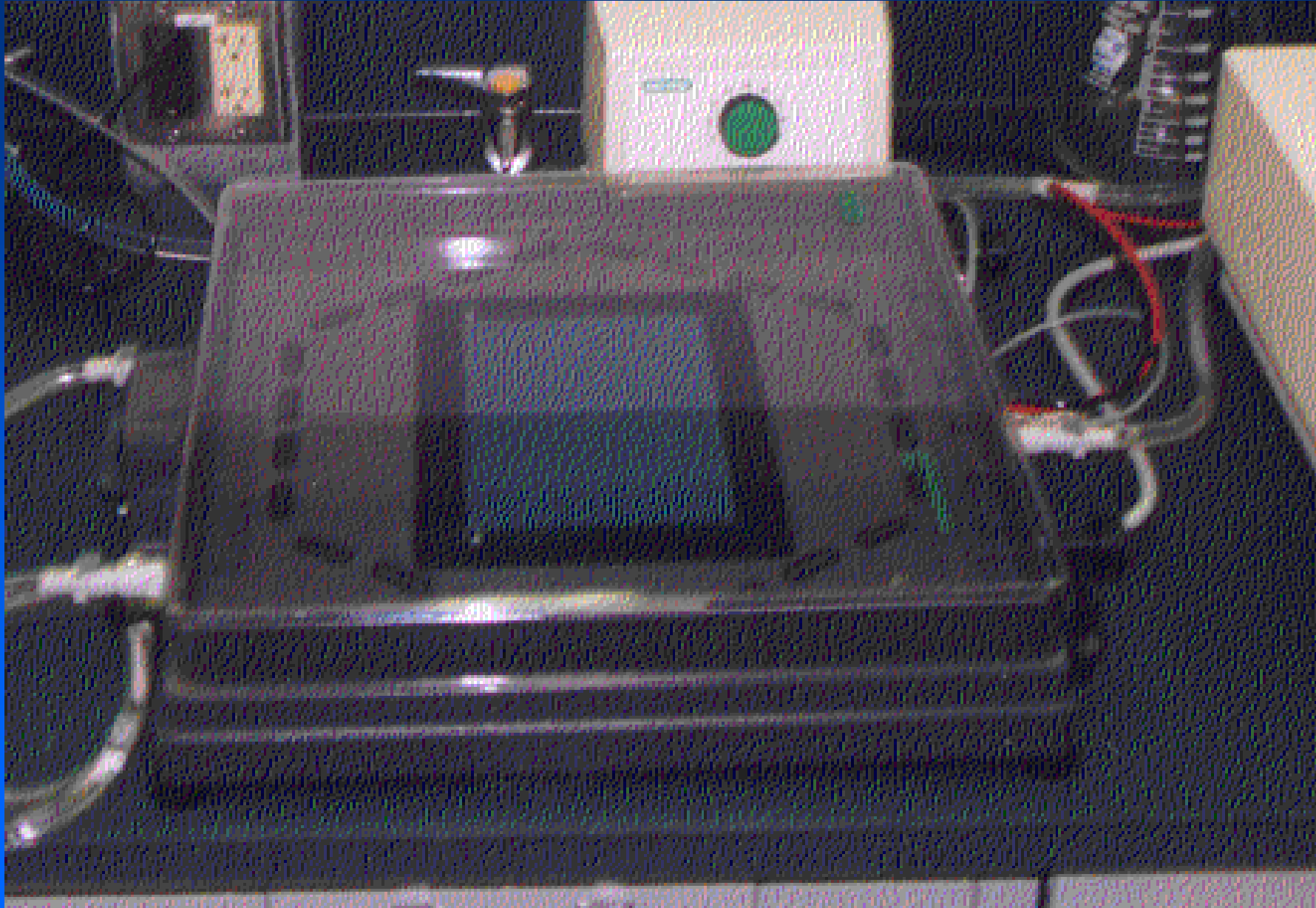
HSI

U.S. PATENT OFFICE
5,000,000

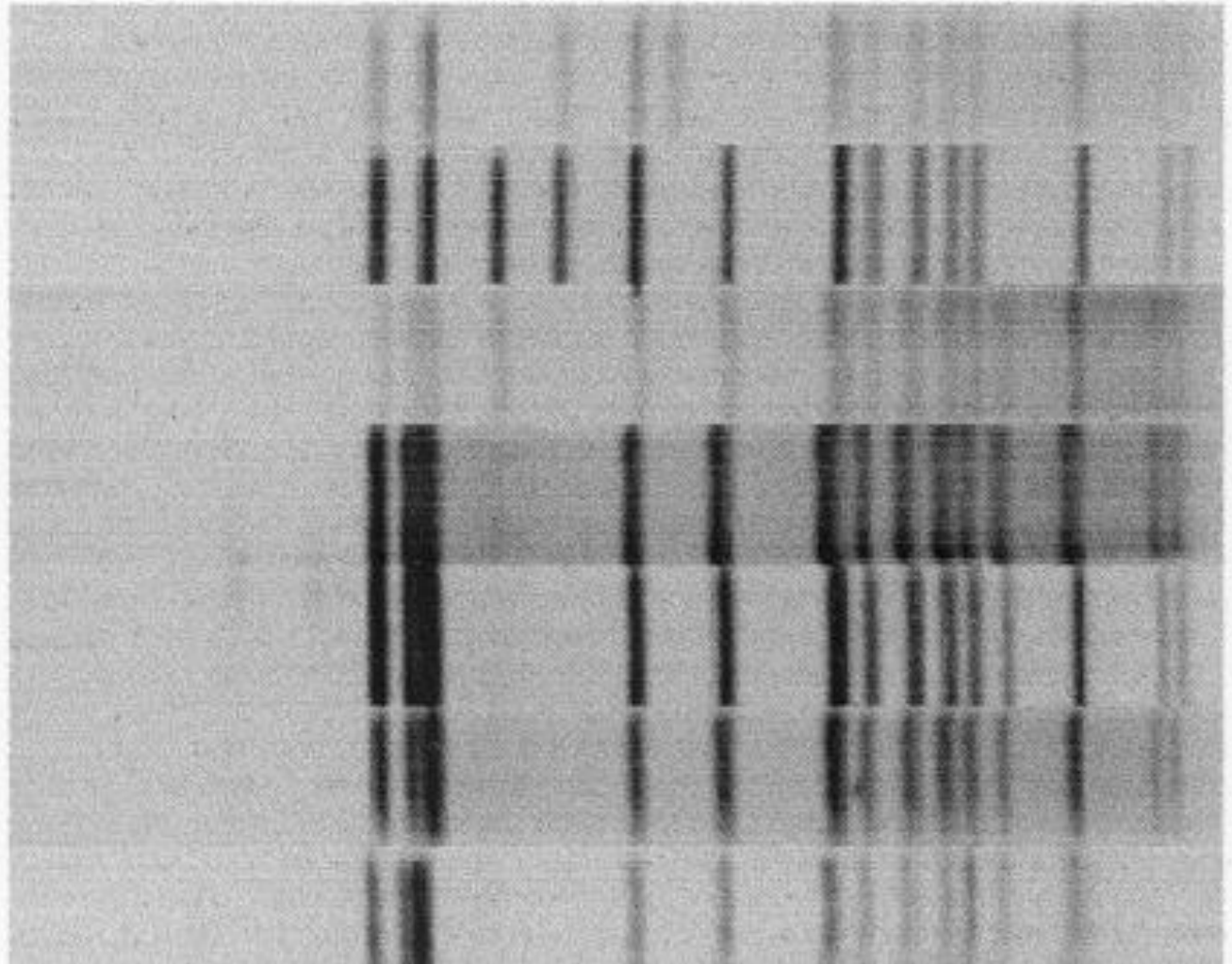
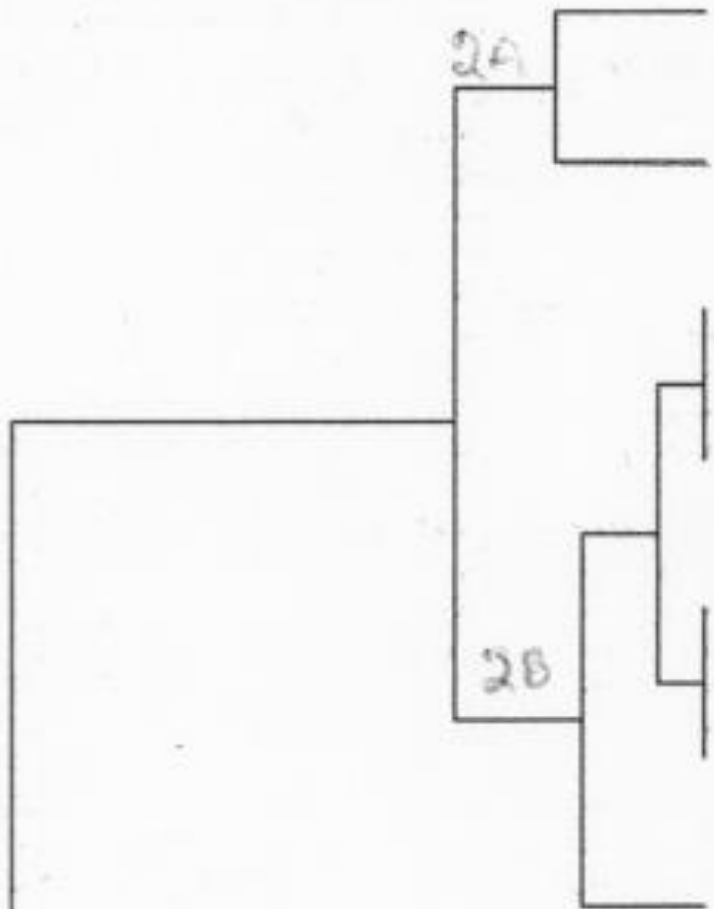
A-III 2.768 DIN 4102 81

CAUTION: HIGH VOLTAGE
DO NOT TOUCH GEL OR ELECTRODES

Pulsed-Field Gel Electrophoresis



Genetic relatedness (dendrogram) analysis



- Heterogeneity within species
- Must have knowledge of frequency distribution of subtypes
- Utility of individual method is species specific

- Method must work with vast majority of isolates
- Reproducibility
- Discrimination power
- Ease of method
- Ease of interpretation