

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2020

УДК 614.446.3.614.442.614.454

С.Ш. Рожнова, К.В. Кулешов, А.С. Павлова, А.Н. Гусева, Т.А. Кожяхметова, Н.К. Акулова, А.Т. Подколзин

Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии, Москва, Российская Федерация

Гетерогенность изолятов нетифоидных сальмонелл из различных источников выделения в Российской Федерации в 2010–2019 гг

Цель – на основании исследований изолятов нетифоидных *Salmonella enterica* subsp. *enterica*, изолированных из клинического материала и различных объектов окружающей среды в РФ в период 2011–2019 гг., провести оценку гетерогенности популяции *Salmonella enterica* subsp. *enterica*

Материал и методы. Было проведено субвидовое типирование 3076 изолятов нетифоидных *Salmonella enterica* subsp. *enterica*, выделенных из образцов фекалий пострадавших при спорадических и групповых случаях сальмонеллеза ($n = 2518$), пищевых продуктов и образцов воды ($n = 558$), с применением серотипирования по схеме Кауфмана–Уайта и анализа набора продуктов рестрикции тотальной ДНК в пульсирующем электрическом поле – пульс-электрофореза (PFGE – Pulsed Field Gel Electrophoresis) с использованием эндонуклеаз рестрикции *XbaI* и *BlnI* по стандартизированному протоколу PulseNet International Network.

Результаты. Изученный комплекс изолятов дифференцировался на 73 серотипа и 601 PFGE-тип. Сравнительный анализ сальмонелл, изолированных из различных источников выделения, позволил идентифицировать субтипы, имевшие достоверные различия в их распространенности у человека и потенциальных факторах передачи. Значительная доля образцов мяса кур, индейки и свинины содержала субтипы сальмонелл, не характерные для клинического материала. Были выявлены региональные различия в гетерогенности популяции сальмонелл.

Заключение. Выявленные различия в представленности субтипов *Salmonella enterica* subsp. *enterica* среди изолятов, выделенных от человека и потенциальных факторов передачи, свидетельствуют о значительной вариабельности вирулентных свойств данных возбудителей и необходимости дифференцированной оценки их эпидемиологического потенциала.

Ключевые слова: сальмонеллез; субтип; серотипирование; пульс-электрофорез; факторы передачи.

Для цитирования: Рожнова С.Ш., Кулешов К.В., Павлова А.С., Гусева А.Н., Кожяхметова Т.А., Акулова Н.К., Подколзин А.Т. Гетерогенность изолятов нетифоидных сальмонелл из различных источников выделения в Российской Федерации в 2010–2019 гг. // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2020;25(1):26-34. DOI: <https://doi.org/10.17816/EID35184>

Rozhnova S.Sh., Kuleshov K.V., Pavlova A.S., Guseva A.N., Kozhakhmetova T.A., Akulova N.K., Podkolzin A.T.

Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russian Federation

Heterogeneity of *Salmonella* isolates obtained from various sources in Russia 2010–2019

Aim: the goal of the study was to evaluate the heterogeneity of the *Salmonella enterica* subsp. *enterica* strains isolated from clinical specimens and various environmental sources in the Russian Federation during the period 2011–2019.

Materials and methods. The data of 3076 non-typhoid isolates of *Salmonella* obtained from sporadic and outbreak cases of salmonellosis ($n = 2518$), food and water samples ($n = 558$) were used. These isolates were serotyped according to the Kaufman–White scheme and genotyped by Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE) using *XbaI* and *BlnI* restriction endonucleases according to a standard PFGE-protocol developed by PulseNet International Network.

Results. The studied *Salmonella* isolates were differentiated into 73 serotypes and 601 PFGE types. A comparative analysis of isolates from various sources made it possible to identify subtypes that differed significantly in their prevalence in humans and potential transmission factors (sources). A significant proportion of chicken, turkey, and pork meat samples contained PFGE-subtypes which did not occur in clinical samples. Regional differences in the heterogeneity of the *Salmonella* spp. were also identified.

Conclusions. Genetic heterogeneity of the *Salmonella* population from humans and other sources shows significant variability of virulent properties and indicates the necessity of differentiated assessment of their epidemiological potential.

Key words: salmonellosis; subtype; serotyping; PFGE; transmission factors.

For citation: Rozhnova SS, Kuleshov KV, Pavlova AS, Guseva AN, Kozhakhmetova TA, Akulova NK, Podkolzin AT. Heterogeneity of *Salmonella* isolates obtained from various sources in Russia 2010–2019. *Epidemiology and infectious diseases*. 2020;25(1):26-34. DOI: <https://doi.org/10.17816/EID35184>

Введение

Одной из ключевых характеристик популяции возбудителя является ее гетерогенность, обуславливающая потенциальную адаптивную способность в окружающей среде [1, 2]. Применительно к пищевым антропозоозам это свойство отражает в том числе и адаптацию патогена к широкому спектру естественных хозяев [3, 4]. Человек в эпидемическом процессе данных нозологий представляет собой индикаторное звено, реагирующее на изоляты, способные преодолеть его гастральный барьер и обладающие значимым потенциалом вирулентности для развития манифестных форм заболеваний.

Сопоставление разнообразия субвидовых типов (субтипов) возбудителей, изолируемых из продуктов питания, внешней среды и человека, позволяет точнее идентифицировать пути и факторы их передачи, особенно при их сочетанной активности в очагах заболеваемости, и выявить возможные ассоциации с конкретными видами продукции. Так, в странах ЕС в последние годы прослеживаются ассоциации серотипа *Newport* с мясом индеек и бройлеров, *Infantis* – с мясом бройлеров, «монофазных» *Typhimurium* со свининой и мясом бройлеров [5]. Наряду с этим значительная часть изолятов сальмонелл, выделенных из естественных источников, относится к субтипам, крайне редко выявляемым у человека, что ставит под сомнение их эпидемический потенциал и требует осторожной оценки фактов их выявления в продуктах питания.

Понимание данных особенностей находит отражение в подходах к контролю безопасности продуктов питания в рамках надзора за сальмонеллезом, которые могут существенно различаться в разных государствах. В странах ЕС требования по отсутствию содержания сальмонелл в продуктах питания на этапе их розничной продажи касаются только двух серотипов – *S. enteritidis* и *S. typhimurium* [6]. В Российской Федерации традиционным является подход, при котором оценка безопасности продукта питания не учитывает субвидовой характеристики выявляемых изолятов сальмонелл*.

* Лабораторная диагностика сальмонеллезом, обнаружение сальмонелл в пищевых продуктах и объектах окружающей среды. Методические указания, МУ 4.2.2723-10.

Ограниченная дифференцирующая способность серотипирования как метода внутривидовой дифференцировки сальмонелл не позволяет достичь высокой достоверности реконструкции связей между различными звеньями цепи передачи патогена при проведении эпидемиологических расследований и требует применения более чувствительных дифференцирующих методов. Одним из наиболее распространенных методов субвидовой дифференцировки сальмонелл на протяжении многих лет являлся анализ набора продуктов рестрикции тотальной ДНК в пульсирующем электрическом поле – пульс-электрофорез (PFGE – Pulsed Field Gel Electrophoresis). Стандартизированные протоколы данных методик нашли широкое применение в практике эпидемиологического надзора разных стран [7, 8].

Целью данной работы является сравнительная субвидовая характеристика изолятов нетифоидных *Salmonella enterica subsp. enterica*, выделенных из клинического материала и различных объектов окружающей среды в РФ в период 2011–2019 гг.

Материал и методы

Изоляты *Salmonella spp.*, включенные в исследование, были выделены от людей, предполагаемых пищевых факторов передачи возбудителя и образцов воды, исследованных в очагах заболеваемости вне зависимости от наличия доказательств их связи с заболеваниями человека. Выделение изолятов проводилось в ФБУЗ «ЦГиЭ» Роспотребнадзора в субъектах РФ, их дальнейшие исследования – в ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора.

Видовая идентификация штаммов выполнялась методом MALDI-TOF масс-спектрометрии (Bruker microflex (Bruker Daltonics, США). Для серотипирования использовались моноклональные реагенты Enteroclons (Sifin, Германия).

Генетическое субтипирование осуществлялось методом пульс-гель электрофореза (PFGE – Pulsed Field Gel Electrophoresis) – рестрикции тотальной бактериальной ДНК эндонуклеазами рестрикции *XbaI* и *BlnI* по протоколу PulseNet International Network с применением программного комплекса Bionumerix 6.6 (Applied Maths, США) [9].

Субтипы сальмонелл распределялись с помощью индексов α -разнообразия Симпсона и Шеннона (натуральный логарифм):

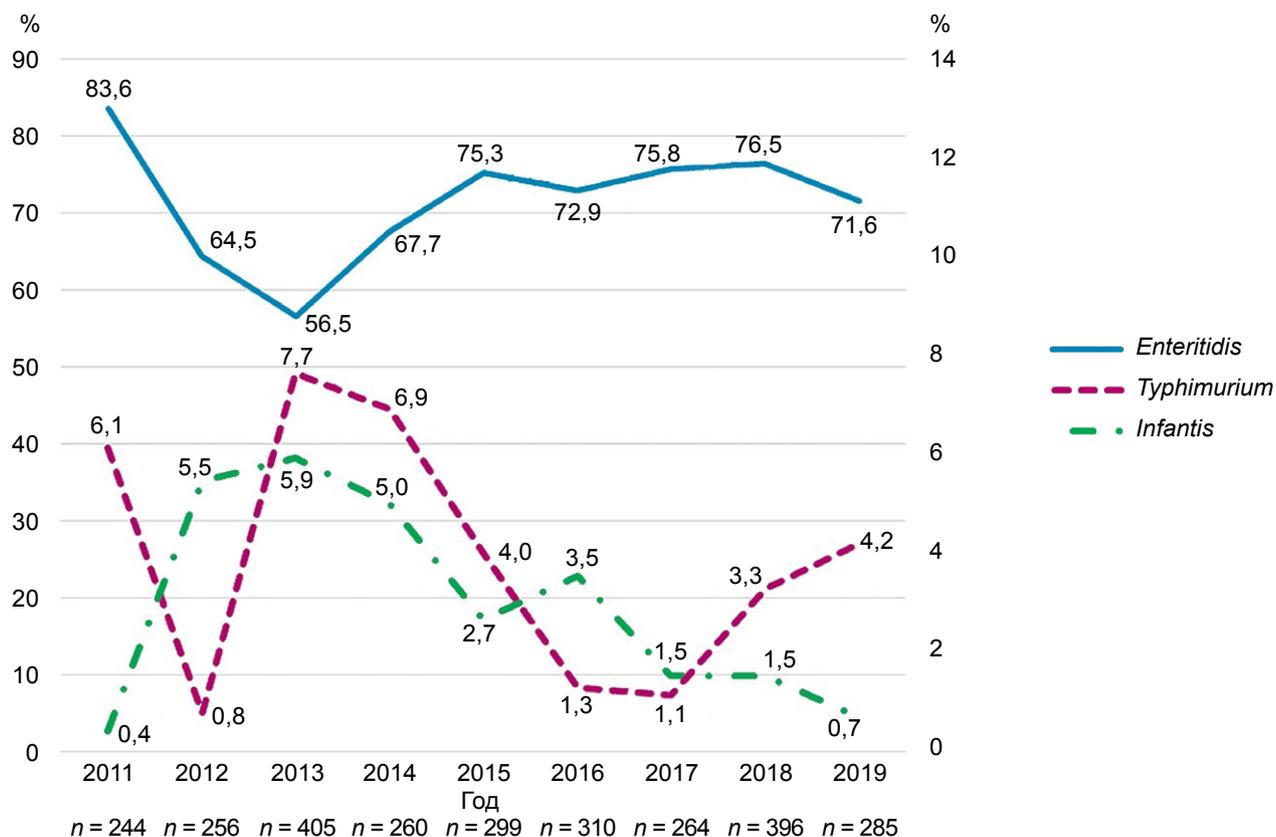


Рис. 1. Доля трех ведущих серотипов *Salmonella enterica subsp. enterica*, среди изолятов, выделенных от человека (2011–2019 гг., ежегодное количество исследованных изолятов от 244 до 405, данные по серотипам Typhimurium и Infantis представлены по вспомогательной оси).

$$\text{Simpson Index } \frac{\sum n_i(n_i - 1)}{N(N - 1)},$$

$$\text{Shannon Index } -\sum \left(\frac{n_i}{N} \cdot \ln \left(\frac{n_i}{N} \right) \right).$$

Достоверность различий в распространенности субтипов сальмонелл в различных источниках выделения оценивалась с использованием критерия χ^2 Пирсона. Оценка корреляции между параметрами, характеризующими разнообразие генотипов, проводилась с использованием коэффициента корреляции Пирсона.

Результаты

Динамика преваляирования трех ведущих серотипов *Salmonella enterica subsp. enterica* среди изолятов, выделенных от человека, в период 2011–2019 гг., представлена на рис. 1.

Ассоциация 20 доминирующих серотипов сальмонелл с продуктами питания и водой представлена на рис. 2.

Распределение исследованных изолятов *Salmonella enterica subsp. enterica* с их дифференцировкой на серотипы и PFGE-типы для различных источников выделения представлено в табл. 1.

Наиболее высокое разнообразие PFGE-типов наблюдалось в различных типах водных объектов и в мясе кур, наименьшее – в яйцах кур и многокомпонентных блюдах (в состав которых часто входят яйца кур). Разнообразие изолятов, выделяемых от человека, в данном ряду занимало промежуточное положение.

Распределение исследованных изолятов *Salmonella enterica subsp. enterica* с их дифференцировкой на серотипы и PFGE-типы для превалирующих серотипов представлено в табл. 2.

Среди трех превалирующих серотипов минимальное разнообразие PFGE-генотипов наблюдалось у наиболее распространенного Enteritidis, более высокое – у Infantis и Typhimurium.

Коэффициент корреляции между разнообразием генотипов сальмонелл во внешней среде и

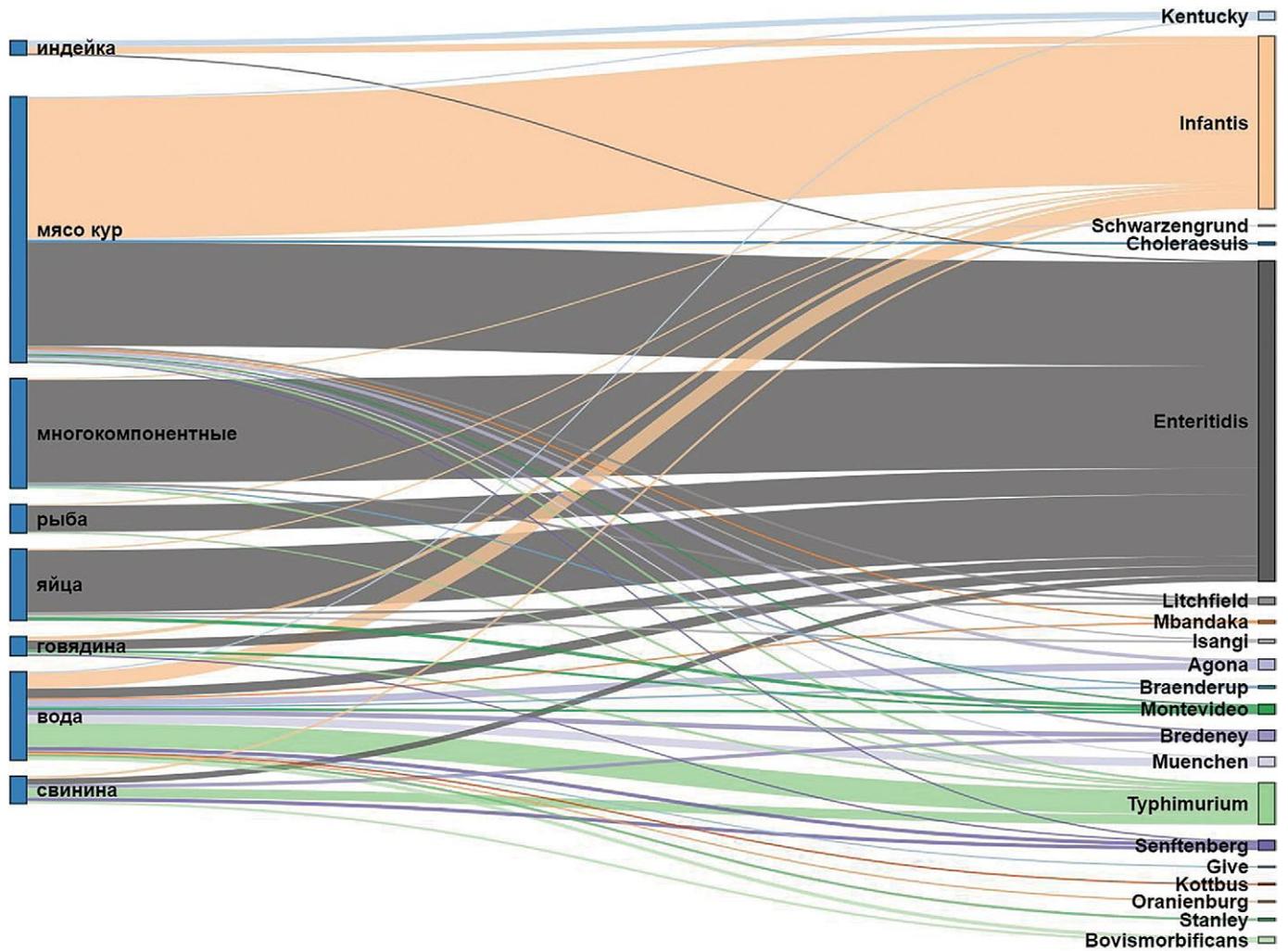


Рис. 2. Sankey-диаграмма распределения двадцати ведущих по распространенности у людей сероваров сальмонелл по различным источникам изоляции (Российская Федерация, 2010–2019 гг.).

Таблица 1

Распределение изолятов, серотипов и параметры разнообразия PFGE-типов *Salmonella enterica subsp. enterica* в различных источниках выделения

Источник выделения изолята	Количество изолятов	Количество серотипов	Количество PFGE-типов	PFGE-тип	
				индекс Симпсона	индекс Шеннона
Человек	2518	69	449	0,20	3,52
Мясо кур	235	21	107	0,06	3,91
Яйца кур	60	5	19	0,25	2,05
Свинина	26	9	22	0,02	2,99
Говядина	18	6	12	0,08	2,29
Индейка	14	5	10	–*	–*
Рыба	24	3	9	–*	–*
Вода (открытые водоемы, сточная)	89	28	67	0,01	4,09
Многокомпонентные блюда	92	5	20	0,15	2,27

Примечание. * – неприменим в связи с малым количеством типов.

Таблица 2

Параметры разнообразия PFGE-типов для 10 серотипов *Salmonella enterica subsp. enterica*, преваляровавших в исследованной выборке образцов

Серотип	Количество изолятов	Количество PFGE-типов	PFGE-тип	
			индекс Симпсона	индекс Шеннона
Enteritidis	2062	102	0,38	2,00
Infantis	227	98	0,04	3,89
Typhimurium	134	66	0,04	3,69
Muenchen	64	30	0,08	2,94
Agona	39	11	0,13	2,06
Senftenberg	35	12	0,27	1,75
Kottbus	34	13	0,17	2,07
Braenderup	30	10	0,26	1,67
Bredeney	29	11	0,05	2,71
Litchfield	29	18	0,25	1,77

популяции человека составил по индексу Симпсона 0,770 ($p = 0,015$), по индексу Шеннона – 0,705; ($p = 0,034$) (табл. 3).

Разнообразие PFGE генотипов сальмонелл трех ведущих серотипов сальмонелл в различных источниках выделения представлено на рис. 3.

Все серотипы сальмонелл, изолированные из продуктов питания встречались также среди клинических изолятов. В образцах воды были выявлены четыре штамма, относимых к четырем

серотипам сальмонелл (*Agama*, *Dabou*, *Fluntern*, *Konstanz*), которые не обнаруживались в исследованной выборке образцов клинического материала. Два из них (серотипы *Agama* и *Konstanz*) были изолированы из воды открытых водоемов и два других (серотипы *Dabou* и *Fluntern*) – из сточных вод.

Штаммы, характеризовавшиеся идентичностью PFGE-паттернов при использовании двух эндонуклеаз рестрикции (*XbaI* и *BlnI*), встречались только в пределах одного серотипа сальмонелл.

Использованный протокол PFGE обладал более высокой разрешающей способностью в отношении изолятов серотипа *Typhimurium* (индекс Шеннона 3,69) и *Infantis* (индекс Шеннона 3,89), более низкой – в отношении серотипа *Enteritidis* (индекс Шеннона 2,00).

Соотношение общих с выделяемыми от человека и уникальных для фактора передачи PFGE-типов сальмонелл, представлено на рис. 4.

Одними из наиболее распространенных субтипов сальмонелл, уникальных для различных источников выделения, являлись (здесь и далее номенклатура PFGE-типов сальмонелл приведена в соответствии с шаблоном Pulse Net International по внутренней базе данных лаборатории МДиЭ кишечных инфекций ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора):

- для мяса кур – PFGE-типы серотипа *Infantis* JFXX01.0074/JFXA26.0066, JFXX01.0089/JFXA26.0044,

Таблица 3

Параметры разнообразия PFGE-типов *Salmonella enterica subsp. enterica* среди клинических изолятов и объектов окружающей среды в период 2011–2019 гг.

Год	Клинический материал				Внешняя среда			
	изоляты	количество PFGE-типов	PFGE-тип		изоляты	количество PFGE-типов	PFGE-тип	
			индекс Симпсона	индекс Шеннона			индекс Симпсона	индекс Шеннона
2011	244	22	0,41	1,57	19	7	0,3	1,44
2012	256	51	0,24	2,52	40	16	0,11	2,38
2013	406	105	0,12	3,44	91	36	0,11	2,88
2014	260	73	0,2	2,74	47	21	0,11	2,59
2015	299	72	0,31	2,38	57	21	0,11	2,52
2016	310	78	0,23	2,74	57	37	0,06	3,21
2017	264	67	0,22	2,61	53	36	0,04	3,33
2018	396	83	0,15	2,93	153	79	0,04	3,81
2019	252	65	0,19	2,80	177	82	0,07	3,70

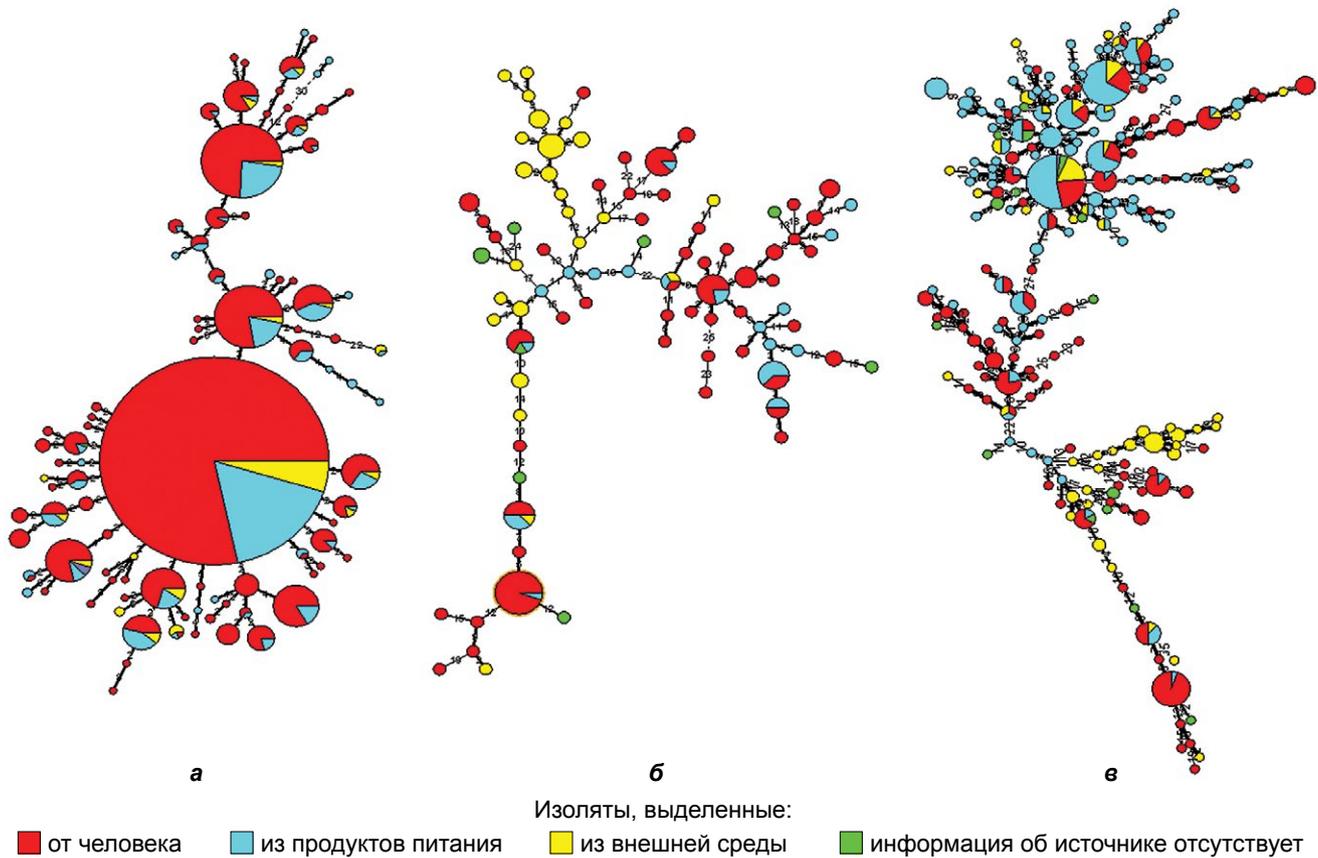


Рис. 3. Минимальное остовное дерево PFGE-генотипов с использованием эндонуклеаз рестрикции *XbaI* и *BlnI* для *S. enteritidis* ($n = 2270$) (а), *S. typhimurium* ($n = 170$) (б), *S. infantis* ($n = 482$) (в) в различных источниках изоляции.

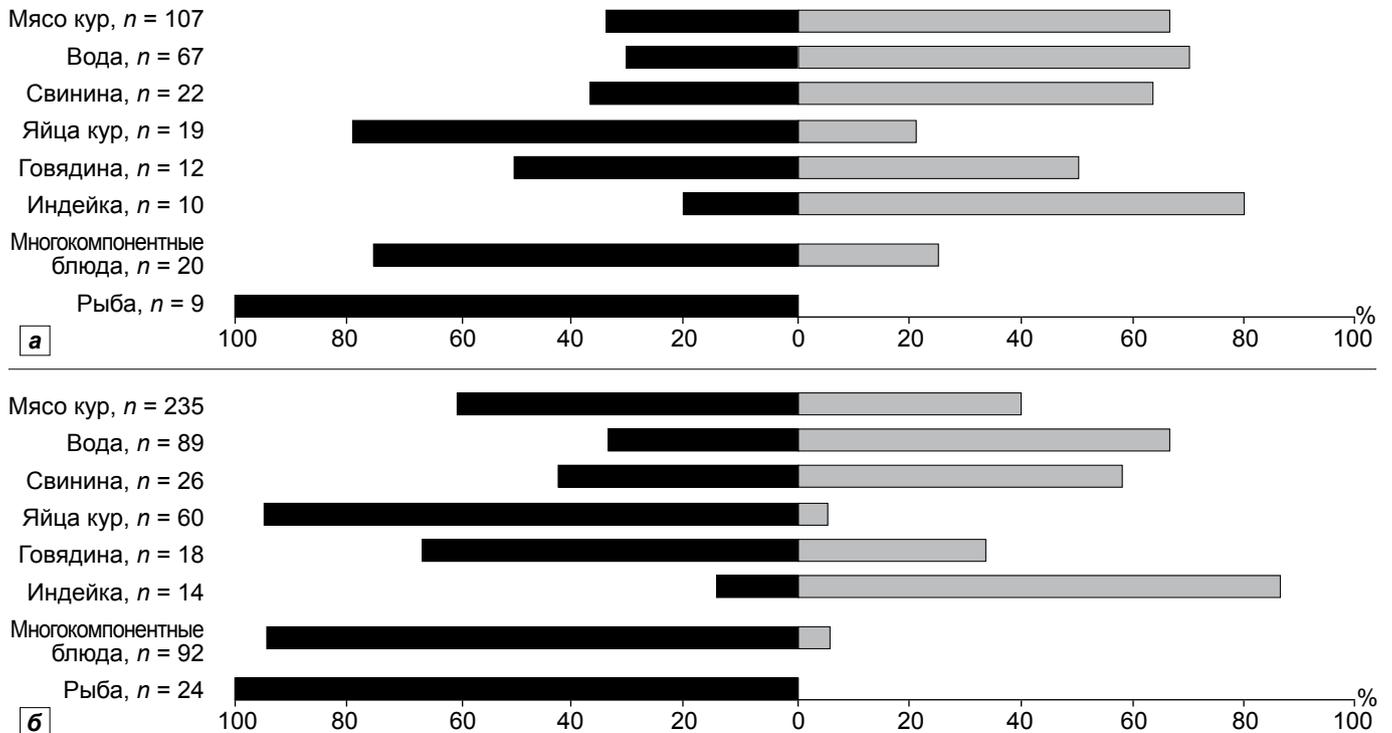


Рис. 4. Доля PFGE-типов (а) и относимых к ним изолятов сальмонелл (б), общих для факторов передачи и клинического материала (черные блоки) и уникальных, не выявлявшихся у человека (серые блоки).

Таблица 4

PFGE-типы сальмонелл, имеющие достоверные различия в частоте выявления в клиническом материале и объектах окружающей среды

Серотип_PFGE-тип	Частота выявления					Значимость по критерию χ^2 Пирсона, <i>p</i>
	у человека		в других источниках выделения			
	абс.	%	источник	абс.	%	
Enteritidis_JEGX01.0001/JEGA26.0001	1118	44,4	Мясо кур	51	21,7	< 0,0001
			Свинина	4	15,38	0,002
			Вода	4	4,49	< 0,0001
Enteritidis_JEGX01.0005/JEGA26.0006	160	6,35	Рыба	5	20,83	0,017
			Мясо кур	3	1,28	< 0,0001
Enteritidis_JEGX01.0012/JEGA26.0012	9	0,36	Яйца кур	5	8,33	< 0,0001
Infantis_JFXX01.0015/JFXA26.0011	11	0,44	Мясо кур	15	6,38	< 0,0001
Montevideo_JJXX01.0001/JJXA26.0001	2	0,08	Яйца кур	3	5,0	< 0,0001
Montevideo_JJXX01.0002/JJXA26.0002	7	0,28	Говядина	2	11,11	0,002

Таблица 5

Разнообразие PFGE-типов сальмонелл, изолируемых из клинического материала и объектов окружающей среды на различных территориях

Территория выделения	Изоляты из окружающей среды			Изоляты из клинического материала		
	индекс Симпсона	индекс Шеннона	количество образцов, <i>n</i>	индекс Симпсона	индекс Шеннона	количество образцов, <i>n</i>
Омск	0,05	0,15	78	0,06	0,22	181
Новосибирск	0,06	0,16	47	0,15	0,35	57
Улан-Удэ	0,13	0,24	41	0,21	0,37	97

JFXX01.0018/JFXA26.0005, JFXX01.0024/JFXA26.0004, JFXX01.0056/JFXA26.0004;

- для мяса индейки – PFGE-тип JGPX01.0002/JGRA26.0001 серотипа *Kentucky*;
- для свиней – PFGE-тип JMPX01.0005/JMPA26.0012 серотипа *Senftenberg*;
- для воды естественных источников – PFGE-тип JPXX01.0029/JPXA26.0025 серотипа *Typhimurium*.

Наряду с уникальными для объектов окружающей среды, были идентифицированы субтипы сальмонелл, диспропорционально представленные среди клинических изолятов и других источников выделения (табл. 4).

При сопоставлении данных субвидового типирования по различным территориям, можно было отметить как существенные различия в разнообразии выявляемых PFGE-типов на различных территориях, так и соответствие разнообразия субтипов сальмонелл, изолируемых из клинического материала, их разнообразию в потенциальных факторах передачи (табл. 5).

Обсуждение

Субвидовое генетическое типирование является важным инструментом в надзоре за пищевыми зоонозными инфекциями, который позволяет на качественно новом уровне оценивать ассоциации заболеваний с потенциальными факторами передачи патогена. Однако выход на такой уровень возможен при накоплении минимально достаточного количества информации, получаемой при применении данных методов. Проведенный массив исследований, выполненный на базе отдельной организации, позволил дать динамическую оценку разнообразию клинических изолятов сальмонелл, выделенных от пострадавших на протяжении нескольких лет, но был недостаточен для аналогичной оценки штаммов, выделяемых из потенциальных факторов передачи возбудителя. В силу этих причин примеры наиболее успешного внедрения в практику данных алгоритмов исследований базируются на создании многоцентровых сетей,

объединяющих комплекс лабораторных подразделений, использующих унифицированные протоколы исследований на национальном уровне [7]. Рассматриваемые ранее в качестве эталонных методики PFGE-типирования в настоящее время уже не могут претендовать на эту роль, хотя и остаются широко распространенными в силу своей низкой экономической затратности [8, 19]. Разрешающая способность PFGE с использованием двух эндонуклеаз рестрикции (*XbaI* и *BlnI*) остается недостаточной для дифференцировки наиболее распространенного у человека PFGE-типа Enteritidis_JEGX01.0001/JEGA26.0001, составляющего 44% клинических изолятов в Российской Федерации. Для решения этой задачи незаменимыми являются методы полногеномного секвенирования на основе анализа коровых однонуклеотидных вариаций или полногеномного мультилокусного сиквенс-типирования, детектируя эволюционные изменения в геномах штаммов с высокой временной дискретностью.

Зависимость гетерогенности клинических изолятов сальмонелл от их разнообразия в потенциальных факторах передачи кажется очевидным фактом и подтверждается результатами проведенного исследования (см. табл. 3). Однако априорное рассмотрение всего комплекса сальмонелл, выявляемых в продуктах питания, в качестве облигатных возбудителей заболеваний у человека неправомерно, и может приводить к ошибочным оценкам при решении задач эпидемиологического прогнозирования. Выявленное превалирование общих с клиническими изолятами субтипов сальмонелл в куриных яйцах в сравнении с мясом кур и особенно индеек может объяснять ведущую роль куриных яиц в формировании вспышек сальмонеллеза в странах ЕС [5]. Полученные данные могут служить основой для дифференцированного подхода к оценке пищевой безопасности различных категорий продуктов

питания с вычленением их типов, требующих более эффективного мониторинга.

Заключение

Отсутствие определенных субтипов сальмонелл в исследованном перечне клинических изолятов, безусловно, не может рассматриваться как критерий их авирулентности. Однако полученные результаты доказывают, что вирулентность является количественным, а не качественным параметром, и может варьировать у данной группы патогенов в широких пределах, определяемых степенью специфической адаптации к организму основного хозяина и наличием субтип-специфичных генетических детерминант вирулентности. Данные факты позволяют рассматривать популяцию *Salmonella enterica subsp. enterica* как очень разнородный комплекс потенциальных патогенов, требующих дифференцированной оценки их эпидемиологического потенциала.

Дополнительная информация

Финансирование. Исследование проведено в рамках отраслевой программы научно-исследовательских работ Роспотребнадзора «Научно-методическое обеспечение эпидемиологического надзора за острыми кишечными инфекциями».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Участие авторов. Все авторы внесли значительный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

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

Funding. The study was carried out within the framework of the Rospotrebnadzor's sectoral research program "Scientific and methodological support for epidemiological surveillance of acute intestinal infections."

ЛИТЕРАТУРА

- Davis KM, Isberg RR. Defining heterogeneity within bacterial populations via single cell approaches. *Bioessays*. 2016;38(8):782-90. doi: 10.1002/bies.201500121.
- Магданова Л.А., Голясная Н.В. Гетерогенность как адаптивное свойство бактериальной популяции. *Микробиология*. 2013;82(1):3-13. doi: 10.7868/S0026365613010072.
- Abee T, Koomen J, Metselaar KI, et al. Impact of pathogen population heterogeneity and stress-resistant variants on food safety. *Annu Rev Food Sci Technol*. 2016;7:439-56. doi: 10.1146/annurev-food-041715-033128.
- Tsai CN, Coombes BK. The role of the host in driving phenotypic heterogeneity in salmonella. *Trends Microbiol*. 2019;27(6):508-23. doi: 10.1016/j.tim.2019.01.004.
- The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017 European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control (EFSA and ECDC). *EFSA J*. 2018; 16(12):e05500. doi: 10.2903/j.efsa.2018.5500.
- Commission Regulation (EU) No 1086/2011 of 27 October 2011 amending Annex II to Regulation (EC) No 2160/2003

- of the European Parliament and of the Council and Annex I to Commission Regulation (EC) No 2073/2005 as regards salmonella in fresh poultry meat. *Official Journal of the European Union*. 2011; 281: 7–11.
- Gerner-Smidt P, Hise K, Kincaid J, et al. PulseNet USA: a five-year update. *Foodborne Pathog Dis*. 2006;3(1):9-19. doi: 10.1089/fpd.2006.3.9.
 - Standard operating procedure for PulseNet PFGE of *Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia coli* non-O157 (STEC), *Salmonella* serotypes, *Shigella sonnei* and *Shigella flexneri*. Available at: <https://www.cdc.gov/pulsenet/pdf/ecoli-shigel-la-salmonella-pfge-protocol-508c.pdf> (accessed 24 March 2020).
 - Peters TM. Pulsed-field gel electrophoresis for molecular epidemiology of food pathogens. *Methods Mol Biol*. 2009;551:59-70. doi: 10.1007/978-1-60327-999-4_6.
 - TECHNICAL REPORT ECDC. Roadmap for integration of molecular and genomic typing into European-level surveillance and epidemic preparedness. Version 2.1, 2016–2019. Available at: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/ecdc-roadmap-integration-molecular-typing-and-genomic-typing-european-level> (accessed 24 March 2020).

REFERENCES

- Davis KM, Isberg RR. Defining heterogeneity within bacterial populations via single cell approaches. *Bioessays*. 2016;38(8):782-90. doi: 10.1002/bies.201500121.
- Magdanova LA, Golyasnaya NV. Heterogeneity as an adaptive trait of microbial populations. *Mikrobiologiya*. 2013; 82(1): 3-13. (in Russian) doi: 10.7868/S0026365613010072.
- Abee T, Koomen J, Metselaar KI, et al. Impact of pathogen population heterogeneity and stress-resistant variants on food safety. *Annu Rev Food Sci Technol*. 2016;7:439-56. doi: 10.1146/annurev-food-041715-033128.
- Tsai CN, Coombes BK. The role of the host in driving phenotypic heterogeneity in salmonella. *Trends Microbiol*. 2019;27(6):508-23. doi: 10.1016/j.tim.2019.01.004.
- The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017 European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control (EFSA and ECDC). *EFSA J*. 2018; 16(12):e05500. doi: 10.2903/j.efsa.2018.5500.
- Commission Regulation (EU) No 1086/2011 of 27 October 2011 amending Annex II to Regulation (EC) No 2160/2003 of the European Parliament and of the Council and Annex I to Commission Regulation (EC) No 2073/2005 as regards salmonella in fresh poultry meat. *Official Journal of the European Union*. 2011; 281: 7–11.
- Gerner-Smidt P, Hise K, Kincaid J, et al. PulseNet USA: a five-year update. *Foodborne Pathog Dis*. 2006;3(1):9-19. doi: 10.1089/fpd.2006.3.9.
- Standard operating procedure for PulseNet PFGE of *Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia coli* non-O157 (STEC), *Salmonella* serotypes, *Shigella sonnei* and *Shigella flexneri*. Available at: <https://www.cdc.gov/pulsenet/pdf/ecoli-shigella-salmonella-pfge-protocol-508c.pdf> (accessed 24 March 2020).
- Peters TM. Pulsed-field gel electrophoresis for molecular epidemiology of food pathogens. *Methods Mol Biol*. 2009;551:59-70. doi: 10.1007/978-1-60327-999-4_6.
- TECHNICAL REPORT ECDC. Roadmap for integration of molecular and genomic typing into European-level surveillance and epidemic preparedness. Version 2.1, 2016–2019. Available at: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/ecdc-roadmap-integration-molecular-typing-and-genomic-typing-european-level> (accessed 24 March 2020).

- КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ**
- * **Кулешов Константин Валерьевич**, к.б.н. [*Konstantin V. Kuleshov*, PhD]; **адрес:** 111123, Москва, ул. Новогиреевская, д. 3А [**address:** Novogireevskaya St. 3A, 111123, Moscow, Russia]; **e-mail:** konstantinkul@gmail.com; **SPIN-код:** 7404-4080, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-5238-7900>
- Рожнова Софья Шаевна**, д.б.н. [*Sofia Sh. Rozhnova*, PhD]; **e-mail:** salm@pcr.ru; **SPIN-код:** 8888-2294, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-3009-8593>
- Павлова Анастасия Сергеевна** [*Anastasia S. Pavlova*, MD]; **e-mail:** epid-ok@pcr.ru; **SPIN-код:** 7102-1513, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-4619-9337>
- Гусева Анна Николаевна** [*Anna N. Guseva*, MD]; **e-mail:** epid-ok@pcr.ru; **SPIN-код:** 3419-6926, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-7028-0253>
- Кожухметова Татьяна Александровна** [*Tatiana A. Kozhakhmetova*, MD]; **e-mail:** epid-ok@pcr.ru; **SPIN-код:** 4942-3575, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-4821-7992>
- Акулова Надежда Константиновна** [*Nadezhda K. Akulova*, MD]; **e-mail:** epid-ok@pcr.ru; **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-0208-7165>
- Подколзин Александр Тихонович** [*Alexander T. Podkolzin*, MD, PhD]; **e-mail:** epid-ok@pcr.ru; **SPIN-код:** 8937-5504, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-0044-3341>

* Для корреспонденции / For correspondence

Поступила 04.03.2020
Принята к печати 04.05.2020

Received 04.03.2020
Accepted 04.05.2020