



Первый случай выявления *Listeria monocytogenes* сиквенс-типов ST7, ST20, ST425 в сточных водах при обследовании водных объектов Вологодской области

Алексеева Е.А.¹, Полосенко О.В.², Фурсова Н.К.², Асташкин Е.И.², Борзенков В.Н.²,
Кисличкина А.А.², Коломбет Л.В.^{2✉}, Шепелин А.П.², Миронов А.Ю.³

¹Центр гигиены и эпидемиологии в Вологодской области, Вологда, Россия;

²Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболенск, Россия;

³Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского, Москва, Россия

Аннотация

Введение. *Listeria monocytogenes* относится к числу значимых патогенов человека, вызывает различные формы листериоза, в том числе пищевые инфекции, менингиты, неонатальный сепсис, аборт. Листерии распространены во всех регионах мира.

Целью исследования явилось проведение микробиологического мониторинга *Listeria monocytogenes* в водных объектах вблизи животноводческих предприятий Вологодского района Вологодской области.

Материалы и методы. Выделение культур бактерий осуществляли титрационным и фильтрационным методами, идентифицировали с применением бактериологического, серологического методов, автоматизированных приборных методов, полногеномного секвенирования и биоинформационного анализа.

Результаты. Из 12 проанализированных образцов водных источников (6 образцов — сточные воды, 4 — речная вода, 2 — ливневые воды) выделены 3 штамма *L. monocytogenes* и один штамм *L. innocua*. Полногеномное секвенирование 3 штаммов *L. monocytogenes* установило их принадлежность к эволюционной линии II, к 3 сиквенс-типам и 2 серогруппам: ST425(1/2a-3a), ST20(1/2a-3a) и ST7(4a-4c). Показана принадлежность штаммов к категории множественно лекарственно-устойчивых, резистентных к 3 функциональным группам антимикробных препаратов (тетрациклинам, макролидам, сульфаниламидам). В геномах штаммов идентифицированы гены антибиотикорезистентности (*fosX*, *pbp-like*, *lin*, *norB*, *sul*), острова патогенности *LIP1-1*, *LIP1-2*, гены вирулентности *inlABCJ*, *oatA*, *ami*, *gtcA*, *vip*, *lisK*. У 1 штамма выявлен остров стрессоустойчивости *SSI-1*.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о контаминации водных источников вблизи животноводческих предприятий штаммами *L. monocytogenes*, обладающими высоким потенциалом патогенности, который может привести к вспышкам листериоза у людей, что указывает на необходимость тщательного мониторинга водных источников на наличие возбудителя листериоза и проведение профилактических и противозидемических мероприятий.

Ключевые слова: *Listeria monocytogenes*, мониторинг, генетические линии, сиквенс-типы, гены вирулентности, гены стрессоустойчивости

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Алексеева Е.А., Полосенко О.В., Фурсова Н.К., Асташкин Е.И., Борзенков В.Н., Кисличкина А.А., Коломбет Л.В., Шепелин А.П., Миронов А.Ю. Первый случай выявления *Listeria monocytogenes* сиквенс-типов ST7, ST20, ST425 в сточных водах при обследовании водных объектов Вологодской области. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2022;99(4):453–464.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-266>

Original article

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-266>

The first case of detection of *Listeria monocytogenes* sequence types ST7, ST20, ST425 in wastewater during an investigation of water bodies in the Vologda region

Elena A. Alekseeva¹, Olga V. Polosenko², Nadezhda K. Fursova², Evgeny I. Astashkin², Valery N. Borzenkov², Angelina A. Kislichkina², Liubov V. Kolombet^{2&3}, Anatoly P. Shepelin², Andrey Yu. Mironov³

¹Center of Hygiene and Epidemiology in the Vologda region, Vologda, Russia;

²State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russia;

³G.N. Gabrichevsky Moscow Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia

Abstract

Introduction. *Listeria monocytogenes* is an important human pathogen causing various forms of listeriosis, including foodborne infections, meningitis, neonatal sepsis, and abortion. *Listeria* are common all over the world. **The purpose** of the study was to conduct microbiological monitoring of *L. monocytogenes* in water reservoirs near livestock premises in the Vologda district of the Vologda region.

Materials and methods. Bacterial cultures were isolated using two methods, titration and filtration, followed by analysis using methods of conventional bacteriology, serotyping, and species identification by instrumental procedures such as whole genome sequencing, and bioinformatic analysis.

Results. Three isolates of *L. monocytogenes* and one isolate of *Listeria innocua* were isolated from 12 analyzed water samples (wastewater — 6, river water — 4, and storm water — 2 samples). whole genome sequencing of three *L. monocytogenes* strains attributed them to the evolutionary line II, and to three sequence types and two serogroups ST425(1/2a-3a), ST20(1/2a-3a), ST7 (4a-4c). The strains are shown to belong to multiple drug resistant ones conferring resistance to three functional groups of antibacterials such as tetracyclines, macrolides, and sulfonamides. Antibiotic resistance genes (*fox*, *psp-like*, *lin*, *norB*, *sul*), virulence Islands LIPI-1 and LIPI-2, and virulence genes *inlABCJ*, *oatA*, *ami*, *gtcA*, *vip*, and *lisK* in genomes of the strain were identified. Stress tolerance Island SSI-1 was identified in one strain.

Conclusions. The data obtained indicate contamination of water sources near the livestock premises with *L. monocytogenes* strains possessing high pathogenic potentiality for outbreaks of listeriosis in humans. This shows the necessity of careful monitoring of water sources for the presence of the causative agent of listeriosis as well as the implementing of anti-epidemic measures.

Keywords: *Listeria monocytogenes*, monitoring, genetic lines, sequence types, virulence genes, stress tolerance genes

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Alekseeva E.A., Polosenko O.V., Fursova N.K., Astashkin E.I., Borzenkov V.N., Kislichkina A.A., Kolombet L.V., Shepelin A.P., Mironov A.Yu. The first case of detection of *Listeria monocytogenes* sequence types ST7, ST20, ST425 in wastewater during an investigation of water bodies in the Vologda region. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, épidemiologii i immunobiologii*. 2022;99(4):453–464.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-266>

Введение

Listeria monocytogenes относится к числу проблемных патогенов человека, вызывает различные формы листериоза, в том числе менингиты, неонатальный сепсис, аборт. Заболеваемость листериозом в мире составляет 0,30–0,46 случая на 100 тыс. населения с показателем летальности до 21% [1, 2].

Грамположительные бактерии *L. monocytogenes* относятся к роду *Listeria*, наряду с другим патогенным видом *L. ivanovii*, непатогенными видами *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri*, *L. grayi* и др. [3, 4]. Листерии широко распространены в разных экологических системах. Они выделяются из поч-

венных и водных экосистем, от животных, людей, из пищевых продуктов, окружающей среды на животноводческих предприятиях и предприятиях пищевой промышленности. *L. monocytogenes* патогенна для человека и животных, *L. ivanovii* — только для животных, но в редких случаях может вызвать заболевание у человека. Описаны случаи выделения *L. ivanovii* из организма здорового животного или человека-бактерионосителя, из окружающей среды [3, 5].

Распространению листерий способствует широкомащтабная хозяйственная деятельность человека: внедрение новых технологий возделывания почвы, строительство животноводческих комплек-

сов, комбикормовых заводов, централизованных предприятий по переработке и реализации сырья животного происхождения, продовольственных складов и хранилищ. В группе риска по возможности заболевания листериозом находятся беременные женщины, новорождённые дети, лица пожилого возраста, иммунокомпрометированные лица. Листериоз часто регистрируется у работников цехов первичной переработки на птицефабриках и мясокомбинатах [3, 4, 6]. Листерии распространены во всех регионах мира, в том числе в различных климатических поясах и даже за Полярным кругом, заболеваемость листериозом отмечается в 56 странах [7]. Одним из основных факторов передачи листерий человеку и животных является вода [8, 9]. Благодаря своим высоким адаптивным свойствам в широком температурном диапазоне, влажности, pH среды, листерии циркулируют в почве, пресной и морской воде [3, 10].

Главная задача санитарной охраны водных объектов базируется на предотвращении сброса в них сточных вод, контаминированных бактериями [11]. Отсутствует методологическая база выделения культур *L. monocytogenes* из сточных вод. Недостаточно освещён вопрос о распространении листерий в пресных водоёмах на территории России. Отсутствуют данные по внутривидовому типированию *L. monocytogenes* и принадлежности к генетическим линиям (сиквенс-типам).

Цель исследования — индикация *L. monocytogenes* в водных объектах Вологодской области и изучение их биологических и молекулярно-генетических свойств, в том числе чувствительности к антимикробным препаратам (АМП), наличия генетических детерминант антибиотикорезистентности, патогенности, стрессоустойчивости, внутривидового мультилокусного сиквенс-типирования.

Материалы и методы

Объекты исследования

Обследованы 12 образцов водных объектов, расположенных вблизи животноводческих предприятий Вологодского района Вологодской области, в том числе образцы сточных вод ($n = 6$), речной воды ($n = 4$), ливневых вод ($n = 2$). Образцы воды отобраны в осенний период 2018 г. в рамках производственного микробиологического контроля поверхностных вод ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Вологодской области», согласно СанПиН 2.1.5.980-00¹.

¹ СанПиН 2.1.5.980-00. 2.1.5. «Водоотведение населённых мест, санитарная охрана водных объектов. Гигиенические требования к охране поверхностных вод. Санитарные правила и нормы» (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 22.06.2000) (с изм. от 04.02.2011, с изм. от 25.09.2014).

Питательные среды. Для накопления листерий в образцах использован селективный накопительный бульон «UVM» («Merck»), «Бульон Фрейзера, основа» (ГНЦ ПМБ). В качестве дифференциально-диагностических применены среды «*Listeria* agar (base) acc. OTTAVIANI and AGOSTI» («Merck»), «ПАЛКАМ агар» (ГНЦ ПМБ). Штаммы листерий культивировали на средах: «Мясо-пептонный агар» с 1% глюкозы (ГНЦ ПМБ), «Триптон-соевый агар, ТСА (ГНЦ ПМБ), «Мясо-пептонный бульон, МПБ» с 1% глюкозы (ГНЦ ПМБ), «Tryptone Soya Yeast Extract Broth» («HiMedia»), «*L. mono Blood Agar Base*» («HiMedia» [12, 13].

Титрационный и фильтрационный методы посева образцов воды

При выделении и идентификации *L. monocytogenes* из водных объектов в качестве основы использованы схемы и питательные среды для выделения патогенных листерий из пищевых продуктов, согласно утверждённому в России нормативным документам^{2,3}.

Посевной объём образца составлял 1000 мл, материал сеяли на питательные среды титрационным и фильтрационным способами. Для посева титрационным способом использованы 2 объёма воды по 250 мл, 4 объёма по 100 мл, 10 объёмов по 10 мл, при этом воду сеяли сразу в среды накопления и инкубировали при 30°C в течение 24–48 ч. Для фильтрационного способа образцы делили на 4 объёма по 250 мл для более лёгкого прохождения воды через фильтры. При видимом загрязнении образец делили на 5 и/или 10 равных частей. Отмеренные объёмы воды фильтровали через мембранные фильтры со средним диаметром пор 0,45 мкм и диаметром фильтрующей поверхности 37 мм с использованием аппарата для фильтрования. После фильтрации мембранные фильтры вносили в 50–100 мл среды накопления и инкубировали в термостате при температуре $30 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение 24 ч. Дальнейшие этапы исследования для титрационного и фильтрационного способов одинаковы: после предварительного обогащения пересевали 0,1 мл материала в 9 мл среды для вторичного накопления с последующей инкубацией при 37°C в течение 24–48 ч.

Идентификация листерий

Видовую идентификацию листерий осуществляли согласно инструкциям производителей: с помощью биохимической тест-системы «API *Listeria*»

² ГОСТ 32031-2012 (ISO 11290-1:1996/Amd.1:2004, NEQ) Продукты пищевые. Методы выявления и определения бактерий *Listeria monocytogenes*. М.; 2014.

³ МУК 4.2.1122-02 Организация контроля и методы выявления бактерий *Listeria monocytogenes* в пищевых продуктах. М.; 2002.

(«bioMérieux»), ПЦР-тест-системы «АмплиСенс *Listeria monocytogenes*-EPh» (ЦНИИ эпидемиологии), «Латексной тест-системы *Listeria monocytogenes*» (ГНЦ ПМБ) [14].

Молекулярно-генетическая идентификация *L. monocytogenes*

Видовую идентификацию листерий подтверждали с помощью экспериментальных ПЦР тест-систем (ГНЦ ПМБ): для определения рода *Listeria* применяли «ПЦР тест-систему *Listeria* spp.»; для определения видов листерий — «ПЦР тест-систему *Listeria monocytogenes*», «ПЦР тест-систему *Listeria innocua*», «ПЦР тест-систему *Listeria ivanovii*», «ПЦР тест-систему *Listeria welshimeri*», «ПЦР тест-систему *Listeria siligeri*» и «ПЦР тест-систему *Listeria greyi*». В качестве ДНК-матрицы использованы термолизаты исследуемых культур. Визуализацию продуктов амплификации осуществляли с помощью электрофореза в 1,5% агарозном геле. В качестве референс-штаммов использованы штаммы *L. monocytogenes* ATCC13932, *L. innocua* ATCC33090, *L. ivanovii* ATCC19119, *L. welshimeri* В7382, *L. siligeri* ATCC35967, *L. greyi* ATCC25400, полученные из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов «ГКПМ-Оболенск».

Чувствительность к АМП

Минимальные подавляющие концентрации (МПК) ампициллина, амоксициллина, меропенема, тетрациклина, кларитромицина, амикацина, бисептола, ципрофлоксацина («HiMedia») определяли методом микроразведений в бульоне. Интерпретацию результатов осуществляли в соответствии с рекомендациями EUCAST⁴. Принадлежность к категории множественной лекарственной резистентности (MDR) определяли в соответствии с критериями А.Р. Magiorakos и соавт. [15].

ПЦР-серотипирование

Серотипирование штаммов осуществляли с помощью мультиплексной ПЦР по методу М. Doumith и соавт. [16].

Генотипирование штаммов *L. monocytogenes*

Мультилокусное сиквенс-типирование осуществляли по схеме Института Пастера, основанной на анализе нуклеотидных последовательностей 7 генов «домашнего хозяйства»: *abcZ* (АВС-транспортиёр), *bglA* (β-глюкозидазы), *cat* (каталазы), *dapE* (сукцинилдиаминопимелат десукцинилазы), *dat* (аминотрансферазы D-аминокислоты), *ldh* (L-лактатдегидрогеназы), *lhkA* (гистидинкиназы) [17].

Полногеномное секвенирование штаммов *L. monocytogenes*

Секвенирование осуществляли на платформе «Illumina MiSeq» с использованием наборов «Nextera DNA Library Preparation Kit» («Illumina»), «MiSeq Reagent Kit sv3» («Illumina»), согласно инструкциям производителя. Полученные единичные прочтения собирали в контиги с использованием программного обеспечения «SPAdes 3.9.0».

Детекция генов антибиотикорезистентности, патогенности, стрессоустойчивости в геномах *L. monocytogenes*

В геномах штаммов *L. monocytogenes* идентифицированы гены антибиотикорезистентности *fosX*, *lmo0441*, *lmo0919*, *norB*, *lmo0224*; гены островов патогенности LIPI-1 (*prfA*, *hly*, *plcA*, *plcB*, *mpl*, *actA*), LIPI-2 (*inlABCJ*), LIPI-3 (*lIsAXGHBYDP*), LIPI-4 (*licABC*, *lm900558-70013*, *glvA*); гены интерналинов (*inlEFGHIKP*); другие гены патогенности (*oatA*, *ami*, *gtcA*, *vip*, *lisK*); гены островов стрессоустойчивости SSI-1 (*lmo0444*, *lmo0445*, *lmo0446*, *lmo0447*, *lmo0448*), SSI-2 (*lin0464*, *lin0465*) с помощью веб-ресурса базы данных BIGSdb-Lm⁵.

Результаты

Выделение культур *L. monocytogenes*

Из образцов воды титрационным и фильтрационным способами выделены штаммы *Listeria* spp.

Наличие листерий выявляли визуально по характеру роста на селективных бульонах и дифференциально-диагностических средах.

При селективном обогащении в среде UVM *Listeria* spp. и через 24 и 48 ч инкубации при 30 ± 1°C наблюдалось незначительное диффузное помутнение среды. Наличие листерий на бульоне Фрейзера подтверждалось изменением цвета среды.

Затем из всех исследуемых пробирок проводили высевы материала из верхнего слоя питательной среды петлёй на селективно-диагностические питательные среды. На среде ПАЛКАМ агар через 24 ч инкубации листерии формировали мелкие, серовато-зелёные или оливково-зелёные колонии, диаметром 0,5–1,0 мм, через 48 ч — диаметром 1–2 мм с чёрным ореолом. На среде ALOA — предположительно *L. monocytogenes* образовывали типичные сине-зелёные колонии, окружённые непрозрачным ореолом, *L. innocua* — в виде сине-зелёных колоний без зоны помутнения.

На кровяном агаре вокруг колоний, предположительно являющихся *L. monocytogenes*, отмечено наличие зон β-гемолиза; вокруг колоний *L. innocua*, зоны β-гемолиза отсутствовали.

⁴ URL: http://www.eucast.org/clinical_breakpoints

⁵ URL: https://bigsdb.pasteur.fr/cgi-bin/bigsdb/bigsdb.pl?db=pubmlst_listeria_seqdef

При исследовании материала фильтрационным методом рост бактерий рода *Listeria* наблюдался через 24 ч, при использовании титрационного метода — через 48 ч.

По культуральным свойствам на питательных средах из 12 образцов отобраны культуры с типичным для листерий ростом (табл. 1). Морфология выделенных культур листерий при использовании как зарубежных, так и отечественных сред идентична: короткие палочки с закруглёнными концами, располагающиеся поодиночке или в виде коротких цепочек; грамположительные, спор и капсул не образуют, имеют несколько перитрихально расположенных жгутиков.

Ферментативные свойства культур

При изучении биохимических свойств штаммов *Listeria* spp. с помощью API тест-системы установлено, что культуры, выделенные из сточных вод (образцы № 2934, 2965, 2966), гидролизуют эскулин, ферментируют α -маннозид, D-арабит, рамнозу, метил- α -D-глюкопиранозиды, не ферментируют ксилозу, рибозу, глюкозо-1-фосфат, тагалоу. Культуры идентифицированы как *L. monocytogenes*. При изучении биохимических свойств образца № 2889 выявлен гидролиз эскулина, ферментация α -маннозида, D-арабита, рамнозы, метил- α -D-глюкопиранозидов, отсутствие ферментации ксилозы, рибозы, глюкозо-1-фосфата, тагалоу. Изолят № 2889 идентифицирован как *L. innocua*.

После постановки дополнительных тестов для всех эскулинположительных культур микроорганизмов, выросших на среде ПАЛКАМ, и лецитинообразующих культур на среде АЛОА — по Оттавиани и Агости, подтверждена принадлежность культур из образцов № 2934, 2965, 2966, выделенных из сточных вод, к *L. monocytogenes*, а культуры из образца № 2889, выделенного из речной воды, — к *L. innocua*. В остальных образцах воды из водных объектов Вологодского района Вологодской области бактерии рода *Listeria* не обнаружены (табл. 1).

Идентификации *L. monocytogenes* и *L. innocua* с помощью ПЦР и латексной тест-систем

Принадлежность 4 культур из образцов № 2934, 2965, 2966, 2889 к роду *Listeria* подтверждена с помощью экспериментальной тест-системы «ПЦР тест-система *Listeria* spp.». У 3 культур из образцов № 2934, 2965, 2966 подтверждена принадлежность к виду *L. monocytogenes* как «ПЦР тест-системой *Listeria monocytogenes*», так и в реакции латекс-агглютинации на стекле с помощью «Латексной тест-системы *Listeria monocytogenes*». У культуры из образца № 2889 подтверждена принадлежность к виду *L. innocua* с помощью «ПЦР тест-системы *Listeria innocua*».

Чувствительность к АМП

На основании определения МПК АМП три штамма *L. monocytogenes* отнесены к категории MDR, в соответствии с критериями [15], т.е. устойчивы к АМП 3 и более классов. Все штаммы были устойчивы к тетрациклам (тетрациклину), макролидам (кларитромицину) и сульфаниламидам (бисептолу). Эти штаммы чувствительны к меропенему, амикацину и ципрофлоксацину (табл. 2). В геномах всех штаммов идентифицировали 5 генов антибиотикорезистентности:

- *fosX* (*lmo1702*), кодирующий белок резистентности к фосфомицину;
- *pbp-like* (*lmo0441*), кодирующий пенициллин-связывающий белок, определяющий устойчивость к β -лактамам;
- *lin* (*lmo0919*), определяющий устойчивость к макролидам-линкозамидам-стрептограминам;
- *norB*, кодирующий NO-редуктазу, ассоциированную с устойчивостью к фторхинолонам;
- *sul* (*lmo0224*), детерминирующий устойчивость к сульфаниламидам.

Идентифицированные гены антибиотикорезистентности вносят вклад в формирование MDR-фенотипа изученных штаммов.

Генетические линии штаммов *L. monocytogenes*

Штаммы *L. monocytogenes* 2934, 2965, 2966 принадлежат к одной эволюционной линии II, но к разным сиквенс-типам: ST425, ST20, ST7 соответственно (табл. 3). Это первый случай выявления данных сиквенс-типов *L. monocytogenes* у штаммов, выделенных из сточных вод.

Острова патогенности и стрессоустойчивости в геномах *L. monocytogenes*

При анализе полногеномных последовательностей штаммов *L. monocytogenes* 2934, 2965, 2966 показано, что гены островов патогенности *LIP1-1* и *LIP1-2* присутствуют у всех 3 штаммов, гены *LIP1-3* и *LIP1-4* отсутствуют. На этом основании можно предположить, что штаммы не являются гипервирулентными, т.к. ранее отмечено, что наличие островов патогенности *LIP1-3* и *LIP1-4* характерно для гипервирулентных штаммов *L. monocytogenes* [18]. Гены кластера интерналинов *inlE*, *inlI*, *inlK*, *inlP* детектированы у всех штаммов, гены *inlF*, *inlG* — у штаммов *L. monocytogenes* 2934 и 2965, ген *inlH* — у штаммов *L. monocytogenes* 2934 и 2966. Прочие гены патогенности листерий (*oatA*, *ami*, *gtcA*, *vip*, *lisK*) детектированы у всех 3 штаммов, кроме гена *vip*, который отсутствовал у штамма *L. monocytogenes* 2966.

Остров стрессоустойчивости *SSI-1*, ассоциированный с устойчивостью к кислотам, солям и обеспечивающий рост в пищевых продуктах [19], обнаружен у штамма *L. monocytogenes* 2966 сиквенс-ти-

Таблица 1. Анализ образцов воды бактериологическим и биохимическим методами
Table 1. Analysis of water samples by bacteriological and biochemical methods

| Образец Sample | Источник выделения Isolation source | Рост на бульоне UVM Growth in UVM broth | Рост на бульоне Фрейзера, основа Fraser Broth Base | Рост на агаре ALOA по Оттавиани и Агости Growth on ALOA agar based on Ottaviani & Agosti formula | Рост на ПАЛКАМ агаре Growth on PALCAM agar | β-Гемолиз β-Hemolysis | Ферментация ксилитозы Xylose fermentation | Ферментация рамнозы Rhamnose fermentation | Ферментация маннита Mannitol fermentation | Заключение Conclusion |
|----------------|-------------------------------------|---|--|--|--|-----------------------|---|---|---|---------------------------|
| 2934 | Сточные воды Waste water | Рост в виде помутнения Growth opacity | Помутнение, изменение цвета Opacity, color change | Сине-зелёные колонии, окружённые непрозрачным ореолом Blue-green colonies surrounded by an opaque halo | Оливково-зелёные колонии с чёрным ореолом Olive-green colonies with a black halo | + | - | + | - | <i>L. monocytogenes</i> |
| 2967 | Сточные воды Waste water | Нет роста No growth | Помутнение, изменение цвета Opacity, color change | Нет роста No growth | Нет роста No growth | | | | | Листерии не обнаружены ND |
| 2965 | Сточные воды Waste water | Рост в виде помутнения Growth opacity | Помутнение, изменение цвета Opacity, color change | Сине-зелёные колонии, окружённые непрозрачным ореолом Blue-green colonies surrounded by an opaque halo | Оливково-зелёные колонии с чёрным ореолом Olive-green colonies with a black halo | + | - | + | - | <i>L. monocytogenes</i> |
| 2968 | Сточные воды Waste water | Нет роста No growth | Нет роста No growth | Нет роста No growth | Нет роста No growth | | | | | Листерии не обнаружены ND |
| 2966 | Сточные воды Waste water | Рост в виде помутнения Growth opacity | Помутнение, изменение цвета Opacity, color change | Сине-зелёные колонии, окружённые непрозрачным ореолом Blue-green colonies surrounded by an opaque halo | Оливково-зелёные колонии с чёрным ореолом Olive-green colonies with a black halo | + | - | + | - | <i>L. monocytogenes</i> |
| 2990 | Сточные воды Waste water | Нет роста No growth | Нет роста No growth | Нет роста No growth | Нет роста No growth | | | | | Листерии не обнаружены ND |
| 2888 | Речная вода River water | Нет роста No growth | Нет роста No growth | Нет роста No growth | Нет роста No growth | | | | | Листерии не обнаружены ND |
| 2889 | Речная вода River water | Рост в виде помутнения Growth opacity | Помутнение, изменение цвета Opacity, color change | Сине-зелёные колонии Blue-green colonies | Оливково-зелёные колонии с чёрным ореолом Olive-green round small colonies with a black halo | - | - | - | - | <i>L. innocua</i> |

Окончание табл. 1 / End of the Table 1

| Образец Sample | Источник выделения Isolation source | Рост на бульоне UVM Growth in UVM broth | Рост на бульоне Фрейзера, основа Growth in Fraser Broth Base | Рост на агаре ALOA по Оттавиани и Агости Growth on ALOA agar based on Ottaviani & Agosti formula | Рост на ПАЛКАМ агаре Growth on PALCAM agar | β -Гемоллиз β -Hemolysis | Фермен- тация ксилозы Xylose fermen- tation | Фермен- тация раманнозы Rhamnose fermen- tation | Фермен- тация маннита Mannitol fermen- tation | Заключение Conclusion |
|-------------------|--|--|---|--|---|---|--|--|--|---------------------------------|
| 3014 | Речная вода River water | Нет роста No growth | Нет роста No growth | Нет роста No growth | Нет роста No growth | | | | | Листерии не обнаружены ND |
| 3015 | Речная вода River water | Нет роста No growth | Нет роста No growth | Нет роста No growth | Нет роста No growth | | | | | Листерии не обнаружены ND |
| 3037 | Ливневые воды Storm water | Нет роста No growth | Помутнение, изменение цвета Opacity, color change | Нет роста No growth | Нет роста No growth | | | | | Листерии не обнаружены ND |
| 3038 | Ливневые воды Storm water | Нет роста No growth | Нет роста No growth | Нет роста No growth | Нет роста No growth | | | | | Листерии не обнаружены ND |

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3: «+» — наличие признака, «-» — отсутствие признака.
Note. Here and in the Tables 2, 3: "+" — feature is present; "-" — feature is absent.

па ST7 эволюционной линии II, что согласуется с данными, полученными ранее в Китае [20]. Остров стрессоустойчивости *SSI-2*, обеспечивающий *L. monocytogenes* выживание в щелочных условиях и в условиях окислительного стресса [21], не выявлен ни у одного штамма (табл. 3). В геномах 2 штаммов серогруппы 1/2a-3a сиквенс-типов ST20 и ST425 не обнаружено ни одного острова стрессоустойчивости.

Обсуждение

В разных странах наблюдается устойчивая тенденция к увеличению доли антибиотикорезистентных штаммов *L. monocytogenes*: к ципрофлоксацину (2%), эритромицину (1%) в Австралии [22]; амоксицилину/клавуланату (6%), ко-тримоксазолу (10%), цефтриаксону (49%), клиндамицину (54%), ампициллину (83%), оксациллину (90%) в Польше [23, 24]; гентамицину (94%), стрептомицину (98%) в Ираке [25], что связывают с мутациями и горизонтальным переносом генов [26]. Повсеместно отмечается неблагоприятная тенденция распространения MDR-штаммов. В Японии с 2012 по 2017 г. отмечено увеличение доли MDR-штаммов *L. monocytogenes* с 46,7 до 82,6% [27]. В Египте в 2017 г. 88% штаммов *L. monocytogenes*, выделенных из молочных продуктов и от сотрудников молокоперерабатывающего предприятия, относились к категории MDR [28].

Выявление MDR-штаммов *L. monocytogenes* в сточных водах и идентификация в их геномах генетических детерминант антибиотикорезистентности указывает на неблагоприятную эпидемическую ситуацию по листериозу на территории вблизи животноводческих предприятий в обследованном регионе.

Сиквенс-типы ST7, ST20, ST425 *L. monocytogenes* преимущественно идентифицированы у штаммов, выделенных из пищевых продуктов [29], в образцах фекалий животных в национальных парках Новосибирской, Калужской, Тверской, Владимирской областей [30]. *L. monocytogenes* ST7 является аутохтонной генетической линией для России, характерной для изолятов из пищевых продуктов, объектов окружающей среды и от больных с перинатальным и неонатальным листериозом и менингитом [31]. ST7 определен у штаммов *L. monocytogenes*, выделенных от людей, сельскохозяйственных животных, грызунов на территории Восточной Европы, Центральной Азии, России [32].

Штаммы *L. monocytogenes* 2934 и 2965 отнесены к серогруппе 1/2a-3a, штамм *L. monocytogenes* 2966 — к серогруппе 4a-4c. Серогруппа 1/2a-3a *L. monocytogenes* ранее описана у 51,0% штаммов, выделенных из пищевых продуктов и окружающей среды животноводческих и птицеводческих ферм в Польше [24], 48,3% штаммов в Японии [27], 75,7%

Таблица 2. Фенотипы антибиотикорезистентности штаммов *L. monocytogenes*, выделенных из сточных вод — МПК антибактериальных препаратов, мг/л**Table 2.** Phenotypes of antibiotic resistance of *L. monocytogenes* strains isolated from waste water samples — antibacterial MICs, mg/l

| Антибактериальные препараты Antibacterials | Штамм <i>L. monocytogenes</i> <i>L. monocytogenes</i> strain | | |
|--|---|----------|----------|
| | 2934 | 2965 | 2966 |
| Ампициллин / Ampicillin | 1 (S) | 1 (S) | 1 (S) |
| Амоксициллин / Amoxicillin | 0,5 (S) | 0,5 (S) | 0,5 (S) |
| Меропенем / Meropenem | 0,12 (S) | 0,12 (S) | 0,12 (S) |
| Тетрациклин / Tetracycline | 4 (R) | 4 (R) | 4 (R) |
| Кларитромицин / Clarithromycin | 2 (R) | 2 (R) | 2 (R) |
| Амикацин / Amikacin | 2 (S) | 2 (S) | 2 (S) |
| Бисептол / Biceptol | 1/5 (R) | 1/5 (R) | 1/5 (R) |
| Ципрофлоксацин / Ciprofloxacin | 0,12 (S) | 0,12 (S) | 0,12 (S) |
| Множественная лекарственная устойчивость Multidrug resistance | Тетрациклины, макролиды, сульфаниламиды Tetracyclines, macrolides, sulphonylamides | | |

Примечание. R — резистентность; S — чувствительность.**Note.** R — resistance; S — susceptibility.**Таблица 3.** Характеристика геномов 3 штаммов *L. monocytogenes*, выделенных из сточных вод**Table 3.** Characteristics of genomes of 3 *L. monocytogenes* strains isolated from waste water samples

| Параметр / Parameter | Штамм <i>L. monocytogenes</i> / <i>L. monocytogenes</i> strain | | |
|--|--|-----------------------------------|------------------------------|
| | 2934 | 2965 | 2966 |
| Размер генома, т.п.н. / Genome size, kb | 2834,6 | 2927,0 | 2849,7 |
| GC-состав, % / GC composition, % | 40 | 40 | 40 |
| Количество контигов / Number of contigs | 26 | 22 | 30 |
| Количество генов / Number of genes | 2830 | 2938 | 2833 |
| Эволюционная линия / Evolutionary line | II | II | II |
| Сиквенс-тип / Sequence type | ST425 | ST20 | ST7 |
| Серогруппа / Serogroup | 1/2a-3a | 1/2a-3a | 4a-4c |
| Острова патогенности: / Pathogenicity islands: | | | |
| LIPI-1 | + | + | + |
| LIPI-2 | + | + | + |
| LIPI-3 | – | – | – |
| LIPI-4 | – | – | – |
| Гены интерналинов / Internalin genes | <i>inIEHIKP</i> | <i>inIEFGIKP</i> | <i>inIEFGHIKP</i> |
| Другие гены вирулентности Some other virulence genes | <i>oatA, ami, gtcA, vip, lisK</i> | <i>oatA, ami, gtcA, vip, lisK</i> | <i>oatA, ami, gtcA, lisK</i> |
| Острова стрессоустойчивости Stress resistance islands | | | |
| SSI-1 | – | – | + |
| SSI-2 | – | – | – |

штаммов в Турции [33]. Серогруппа 4a-4c редко определялась у штаммов *L. monocytogenes*, выделенных из пищевых продуктов в Польше [24] и Турции [33] и от сельскохозяйственных животных в Ираке [34]. В литературе отсутствуют данные о выделениях *L. monocytogenes* серогрупп 1/2a-3a и 4a-4c из сточных вод.

Установлена гетерогенность 3 штаммов *L. monocytogenes*, выделенных из сточных вод Вологодской области, по наличию генетических детерминант антибиотикорезистентности, патогенности, стрессоустойчивости. Наличие в геномах штаммов генетических детерминант антибиотикорезистентности, островов патогенности и стрессоустойчиво-

сти, выявление генетического родства штаммов с эпидемически значимыми генетическими линиями *L. monocytogenes* свидетельствует о наличии у них высокого патогенного потенциала, который может быть реализован при попадании в организм человека, что указывает на необходимость использования молекулярно-генетических методов диагностики при оценке эпидемиологической ситуации по листериозу и разработке эффективных профилактических и противоэпидемических мероприятий.

Выводы

1. Разработанная и апробированная схема выделения патогенных для человека листерий, включающая титрационный и фильтрационный методы посева, позволила выделить из водных образцов штаммы *L. monocytogenes*. Полученные данные могут быть использованы в качестве основы для разработки нормативных документов для проведения микробиологического мониторинга *L. monocytogenes* в водных объектах.
2. Выявление контаминации сточных вод животноводческих предприятий MDR *L. monocytogenes*, несущих генетические детерминанты антибиотикорезистентности, патогенности, стрессоустойчивости, предполагает наличие у них высокого патогенного потенциала, способности вызвать вспышки листериоза среди людей.
3. Зафиксирован первый случай выделения из сточных вод штаммов *L. monocytogenes*, относящихся к генетическим линиям ST7, ST20, ST425, которые ранее выделялись в России и других странах от людей, из пищевых продуктов и окружающей среды.
4. Мультилокусное сиквенс-типирование штаммов *L. monocytogenes*, выделенных из сточных вод, может стать инструментом для выявления возможных источников инфекции людей во время вспышек листериозной инфекции, материалом для сравнения возбудителей, циркулирующих на различных территориях в разное время.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Vital signs: Listeria illnesses, deaths, and outbreaks — United States, 2009–2011. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2013; 62(22): 448–52.
2. European Food Safety Authority (EFSA). EU summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015. *EFSA.* 2016; 14(12): e04634. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2016.4634>
3. Воробьев А.А., Быков А.С., Бойченко М.Н. *Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: Учебник для студентов медицинских вузов.* М.: МИА; 2022.
4. Тартаковский И.С., Малеев В.В., Ермолаева С.А. *Листерии: роль в инфекционной патологии человека и лабораторная диагностика.* М.: Медицина для всех; 2001.
5. Cao X., Wang Y., Wang Y., Li H., Luo L., Wang P., et al. Prevalence and characteristics of *Listeria ivanovii* strains in wild rodents in China. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2019; 19(1): 8–15. <https://doi.org/10.1089/vbz.2018.2317>
6. Lepe J.A. Current aspects of listeriosis. *Med. Clin. (Barc.).* 2020; 154(11): 453–8. <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2020.02.001>
7. Фертиков В.И., Тихонов А.Н., Хрипунев Е.М., Егорова И.Ю. К формированию бактерий рода *Listeria* в эпоху позднего плейстоцена: факты и гипотезы. *Сельскохозяйственная биология.* 2009; 44(6): 18–26.
8. Бакулин Н.И., Батура А.П., Блинкова Л.П., Бурова С.А., Воропаева С.Д., Гавристова И.А. и др. *Клиническая лабораторная аналитика.* М.: Агат-Мед; 2003.
9. Meghdadi H., Khosravi A.D., Sheikh A.F., Alami A., Nassirabady N. Isolation and characterization of *Listeria monocytogenes* from environmental and clinical sources by culture and PCR-RFLP methods. *Iran J. Microbiol.* 2019; 11(1): 7–12.
10. Еськова А.И., Бузолева Л.С., Ким А.В., Богатыренко Е.А., Голозубова Ю.С. Биотические факторы среды, влияющие на выживаемость листерий в морских экосистемах. *Современные проблемы науки и образования.* 2016; (5): 294.
11. Ibrahim S., Azab El-Liethy M., Abia A.L.K., Abdel-Gabbar M., Mahmoud Al Zanaty A., Mohamed Kamel M. Design of a bioaugmented multistage biofilter for accelerated municipal wastewater treatment and deactivation of pathogenic microorganisms. *Sci. Total Environ.* 2020; 703: 134786. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134786>
12. Шепелин А.П., Полосенко О.В., Дятлов И.А. Листерии. Современный подход к проблеме выделения листерий с использованием питательных сред. *Справочник заведующего КДЛ.* 2018; (7): 33–48.
13. Полосенко О.В., Шепелин А.П., Марчихина И.И., Шолохова Л.П. Разработка питательных сред для выделения листерий. *Инфекция и иммунитет.* 2016; 6(3): 92. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-2016-3>
14. Светоч Э.А., Ерусланов Б.В., Борзенков В.Н., Асташкин Е.И., Хаптанова Н.М., Карцев Н.Н. и др. Специфичность и чувствительность отечественной латексной тест-системы для идентификации *Listeria monocytogenes*. *Дальневосточный журнал инфекционной патологии.* 2019; (37): 81–2.
15. Magiorakos A.P., Srinivasan A., Carey R.B., Carmeli Y., Falagas M.E., Giske C.G., et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin. Microbiol. Infect.* 2012; 18(3): 268–81. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>
16. Doumith M., Buchrieser C., Glaser P., Jacquet C., Martin P. Differentiation of the major *Listeria monocytogenes* serovars by multiplex PCR. *J. Clin. Microbiol.* 2004; 42(8): 3819–22. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.8.3819-3822.2004>
17. Moura A., Criscuolo A., Pouseele H., Maury M.M., Leclercq A., Tarr C., et al. Whole genome-based population biology and epidemiological surveillance of *Listeria monocytogenes*. *Nat. Microbiol.* 2016; 2: 16185. <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2016.185>
18. Maury M.M., Tsai Y.H., Charlier C., Touchon M., Chenal-Francois V., Leclercq A., et al. Uncovering *Listeria monocytogenes* hypervirulence by harnessing its biodiversity. *Nat. Genet.* 2016; 48(3): 308–13. <https://doi.org/10.1038/ng.3501>
19. Patange A., O'Byrne C., Boehm D., Cullen P.J., Keener K., Bourke P. The effect of atmospheric cold plasma on bacterial stress responses and virulence using *Listeria monocytogenes* knockout mutants. *Front. Microbiol.* 2019; 10: 2841. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02841>
20. Chen Y., Chen Y., Pouillot R., Dennis S., Xian Z., Luchansky J.B., et al. Genetic diversity and profiles of genes associated with virulence and stress resistance among isolates from the 2010–2013 interagency *Listeria monocytogenes* market basket survey. *PLoS One.* 2020; 15(4): e0231393. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231393>

21. Kaszoni-Rückerl I., Mustedanagic A., Muri-Klinger S., Brugger K., Wagner K.H., Wagner M., et al. Predominance of distinct *Listeria innocua* and *Listeria monocytogenes* in recurrent contamination events at dairy processing facilities. *Microorganisms*. 2020; 8(2): 234. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8020234>
22. Wilson A., Gray J., Chandry P.S., Fox E.M. Phenotypic and genotypic analysis of antimicrobial resistance among *Listeria monocytogenes* isolated from Australian food production chains. *Genes (Basel)*. 2018; 9(2): 80. <https://doi.org/10.3390/genes9020080>
23. Maćkiw E., Stasiak M., Kowalska J., Kucharek K., Korsak D., Postupolski J. Occurrence and characteristics of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat meat products in Poland. *J. Food Prot.* 2020; 83(6): 1002-9. <https://doi.org/10.4315/JFP-19-525>
24. Kuch A., Goc A., Belkiewicz K., Filipello V., Ronkiewicz P., Gołębiowska A., et al. Molecular diversity and antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolates from invasive infections in Poland (1997-2013). *Sci. Rep.* 2018; 8(1): 14562. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-32574-0>
25. Al-Mashhadany D.A. Occurrence and antibiogram of *Listeria monocytogenes* isolates from retail meat shops at Erbil city, Kurdistan region, Iraq. *Ital. J. Food Saf.* 2019; 8(4): 8451. <https://doi.org/10.4081/ijfs.2019.8451>
26. Baquero F., F Lanza V., Duval M., Coque T.M. Ecogenetics of antibiotic resistance in *Listeria monocytogenes*. *Mol. Microbiol.* 2020; 113(3): 570-9. <https://doi.org/10.1111/mmi.14454>
27. Maung A.T., Mohammadi T.N., Nakashima S., Liu P., Masuda Y., Honjoh K.I., et al. Antimicrobial resistance profiles of *Listeria monocytogenes* isolated from chicken meat in Fukuoka, Japan. *Int. J. Food Microbiol.* 2019; 304: 49-57. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.05.016>
28. Tahoun A.B.M.B., Abou Elez R.M.M., Abdelfatah E.N., Elsohaby I., El-Gedawy A.A., Elmoslemany A.M. *Listeria monocytogenes* in raw milk, milking equipment and dairy workers: Molecular characterization and antimicrobial resistance patterns. *J. Glob. Antimicrob. Resist.* 2017; 10: 264-70. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2017.07.008>
29. Caruso M., Fracalvieri R., Pasquali F., Santagada G., Latorre L.M., Difato L.M., et al. Antimicrobial susceptibility and multilocus sequence typing of *Listeria monocytogenes* isolated over 11 years from food, humans, and the environment in Italy. *Foodborne Pathog. Dis.* 2020; 17(4): 284-94. <https://doi.org/10.1089/fpd.2019.2723>
30. Voronina O.L., Ryzhova N.N., Kunda M.S., Kurnaeva M.A., Semenov A.N., Aksenova E.I., et al. Diversity and pathogenic potential of *Listeria monocytogenes* isolated from environmental sources in the Russian Federation. *Int. J. Modern Eng. Res. Technol.* 2015; 5(3): 5-15.
31. Воронина О.Л., Кунда М.С., Рыжова Н.Н., Кутузова А.В., Аксёнова Е.И., Карпова Т.И. и др. Листерииоз: генотипирование как ключ к выявлению возможного источника заражения. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2019; 21(4): 261-73. <https://doi.org/10.36488/cmasc.2019.4.261-273>
32. Psareva E.K., Egorova I.Y., Liskova E.A., Razheva I.V., Gladkova N.A., Sokolova E.V., et al. Retrospective study of *Listeria monocytogenes* isolated in the territory of inner Eurasia from 1947 to 1999. *Pathogens*. 2019; 8(4): 184. <https://doi.org/10.3390/pathogens8040184>
33. Coban A., Pennone V., Sudagidan M., Molva C., Jordan K., Aydin A. Prevalence, virulence characterization, and genetic relatedness of *Listeria monocytogenes* isolated from chicken retail points and poultry slaughterhouses in Turkey. *Braz. J. Microbiol.* 2019; 50(4): 1063-73. <https://doi.org/10.1007/s42770-019-00133-y>
34. Al-Ali H.J., Al-Rodhan M.A., Al-Hilali S.A., Al-Charrakh A.H., Al-Mohana A.M., Hadi Z.J. Molecular detection of serotype groups of *Listeria monocytogenes* isolated from gallbladder of cattle and sheep in Iraq. *Vet. World*. 2018; 11(4): 431-6. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2018.431-6>

REFERENCES

1. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Vital signs: Listeria illnesses, deaths, and outbreaks — United States, 2009-2011. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2013; 62(22): 448-52.
2. European Food Safety Authority (EFSA). EU summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015. *EFSA*. 2016; 14(12): e04634. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2016.4634>
3. Vorob'ev A.A., Bykov A.S., Boychenko M.N. *Medical Microbiology, Virology and Immunology: Textbook for Medical School [Meditsinskaya mikrobiologiya, virusologiya i immunologiya: Uchebnik dlya studentov meditsinskikh vuzov]*. Moscow: MIA; 2022. (in Russian)
4. Tartakovskiy I.S., Maleev V.V., Ermolaeva S.A. *Listeria: Role in Infectious Pathology and Laboratory Diagnostics [Listerii: rol' v infektsionnoy patologii cheloveka i laboratornaya diagnostika]*. Moscow: Meditsina dlya vsekh; 2001. (in Russian)
5. Cao X., Wang Y., Wang Y., Li H., Luo L., Wang P., et al. Prevalence and characteristics of *Listeria ivanovii* strains in wild rodents in China. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2019; 19(1): 8-15. <https://doi.org/10.1089/vbz.2018.2317>
6. Lepe J.A. Current aspects of listeriosis. *Med. Clin. (Barc.)*. 2020; 154(11): 453-8. <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2020.02.001>
7. Fertikov V.I., Tikhonov A.N., Khripunov E.M., Egorova I.Yu. On the occasion of formation of bacteria of *Listeria* genus in epoch of late pleistocene: the facts and hypothesis. *Sel'skokhozyaystvennaya biologiya*. 2009; 44(6): 18-26. (in Russian)
8. Bakulin N.I., Batur A.P., Blinkova L.P., Burova S.A., Voropaeva S.D., Gavristova I.A., et al. *Clinical Laboratory Analytics [Klinicheskaya laboratornaya analitika]*. Moscow: Agat-Med; 2003. (in Russian)
9. Meghdadi H., Khosravi A.D., Sheikh A.F., Alami A., Nassirabady N. Isolation and characterization of *Listeria monocytogenes* from environmental and clinical sources by culture and PCR-RFLP methods. *Iran J. Microbiol.* 2019; 11(1): 7-12.
10. Es'kova A.I., Buzoleva L.S., Kim A.V., Bogatyrenko E.A., Golozubova Yu.S. Biotic environmental factors, affect survival of *Listeria monocytogenes* in marine ecosystems. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2016; (5): 294. (in Russian)
11. Ibrahim S., Azab El-Liethy M., Abia A.L.K., Abdel-Gabbar M., Mahmoud Al Zanaty A., Mohamed Kamel M. Design of a bioaugmented multistage biofilter for accelerated municipal wastewater treatment and deactivation of pathogenic microorganisms. *Sci. Total Environ.* 2020; 703: 134786. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134786>
12. Shepelin A.P., Polosenko O.V., Dyatlov I.A. Listeria. Modern approach to the problem of *Listeria* isolation using nutrient media. *Spravochnik zaveduyushchego KDL*. 2018; (7): 33-48. (in Russian)
13. Polosenko O.V., Shepelin A.P., Marchikhina I.I., Sholokhova L.P. Designing nutrient media for *Listeria* isolation. *Infektsiya i immunitet*. 2016; 6(3): 92. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-2016-3> (in Russian)
14. Svetoch E.A., Eruslanov B.V., Borzenkov V.N., Astashkin E.I., Khaptanova N.M., Kartsev N.N., et al. Specificity and sensitivity of the domestic latex test-system for *Listeria monocytogenes* identification. *Dal'nevostochnyy zhurnal infektsionnoy patologii*. 2019; (37): 81-2. (in Russian)
15. Magiorakos A.P., Srinivasan A., Carey R.B., Carmeli Y., Falagas M.E., Giske C.G., et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin. Microbiol. Infect.* 2012; 18(3): 268-81. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>

16. Doumith M., Buchrieser C., Glaser P., Jacquet C., Martin P. Differentiation of the major *Listeria monocytogenes* serovars by multiplex PCR. *J. Clin. Microbiol.* 2004; 42(8): 3819–22. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.8.3819-3822.2004>
17. Moura A., Criscuolo A., Pouseele H., Maury M.M., Leclercq A., Tarr C., et al. Whole genome-based population biology and epidemiological surveillance of *Listeria monocytogenes*. *Nat. Microbiol.* 2016; 2: 16185. <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2016.185>
18. Maury M.M., Tsai Y.H., Charlier C., Touchon M., Chenal-Francois V., Leclercq A., et al. Uncovering *Listeria monocytogenes* hypervirulence by harnessing its biodiversity. *Nat. Genet.* 2016; 48(3): 308–13. <https://doi.org/10.1038/ng.3501>
19. Patange A., O'Byrne C., Boehm D., Cullen P.J., Keener K., Bourke P. The effect of atmospheric cold plasma on bacterial stress responses and virulence using *Listeria monocytogenes* knockout mutants. *Front. Microbiol.* 2019; 10: 2841. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02841>
20. Chen Y., Chen Y., Pouillot R., Dennis S., Xian Z., Luchansky J.B., et al. Genetic diversity and profiles of genes associated with virulence and stress resistance among isolates from the 2010–2013 interagency *Listeria monocytogenes* market basket survey. *PLoS One.* 2020; 15(4): e0231393. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231393>
21. Kaszoni-Rückerl I., Mustedanagic A., Muri-Klinger S., Brugger K., Wagner K.H., Wagner M., et al. Predominance of distinct *Listeria innocua* and *Listeria monocytogenes* in recurrent contamination events at dairy processing facilities. *Microorganisms.* 2020; 8(2): 234. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8020234>
22. Wilson A., Gray J., Chandry P.S., Fox E.M. Phenotypic and genotypic analysis of antimicrobial resistance among *Listeria monocytogenes* isolated from Australian food production chains. *Genes (Basel).* 2018; 9(2): 80. <https://doi.org/10.3390/genes9020080>
23. Maćkiw E., Stasiak M., Kowalska J., Kucharek K., Korsak D., Postupolski J. Occurrence and characteristics of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat meat products in Poland. *J. Food Prot.* 2020; 83(6): 1002–9. <https://doi.org/10.4315/JFP-19-525>
24. Kuch A., Goc A., Belkiewicz K., Filipello V., Ronkiewicz P., Gołbiewska A., et al. Molecular diversity and antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolates from invasive infections in Poland (1997–2013). *Sci. Rep.* 2018; 8(1): 14562. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-32574-0>
25. Al-Mashhadany D.A. Occurrence and antibiogram of *Listeria monocytogenes* isolates from retail meat shops at Erbil city, Kurdistan region, Iraq. *Ital. J. Food Saf.* 2019; 8(4): 8451. <https://doi.org/10.4081/ijfs.2019.8451>
26. Baquero F., F Lanza V., Duval M., Coque T.M. Ecogenetics of antibiotic resistance in *Listeria monocytogenes*. *Mol. Microbiol.* 2020; 113(3): 570–9. <https://doi.org/10.1111/mmi.14454>
27. Maung A.T., Mohammadi T.N., Nakashima S., Liu P., Masuda Y., Honjoh K.I., et al. Antimicrobial resistance profiles of *Listeria monocytogenes* isolated from chicken meat in Fukuoka, Japan. *Int. J. Food Microbiol.* 2019; 304: 49–57. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.05.016>
28. Tahoun A.B.M.B., Abou Elez R.M.M., Abdelfatah E.N., Elsohaby I., El-Gedawy A.A., Elmoslemay A.M. *Listeria monocytogenes* in raw milk, milking equipment and dairy workers: Molecular characterization and antimicrobial resistance patterns. *J. Glob. Antimicrob. Resist.* 2017; 10: 264–70. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2017.07.008>
29. Caruso M., Fraccalvieri R., Pasquali F., Santagada G., Latorre L.M., Difato L.M., et al. Antimicrobial susceptibility and multilocus sequence typing of *Listeria monocytogenes* isolated over 11 years from food, humans, and the environment in Italy. *Foodborne Pathog. Dis.* 2020; 17(4): 284–94. <https://doi.org/10.1089/fpd.2019.2723>
30. Voronina O.L., Ryzhova N.N., Kunda M.S., Kurnaeva M.A., Semenov A.N., Aksenova E.I., et al. Diversity and pathogenic potential of *Listeria monocytogenes* isolated from environmental sources in the Russian Federation. *Int. J. Modern Eng. Res. Technol.* 2015; 5(3): 5–15.
31. Voronina O.L., Kunda M.S., Ryzhova N.N., Kutuzova A.V., Aksenova E.I., Karpova T.I., et al. Listeriosis: genotyping as a key for identification a possible source of infection. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya.* 2019; 21(4): 261–73. <https://doi.org/10.36488/cmac.2019.4.261-273> (in Russian)
32. Psareva E.K., Egorova I.Y., Liskova E.A., Razheva I.V., Gladkova N.A., Sokolova E.V., et al. Retrospective study of *Listeria monocytogenes* isolated in the territory of inner Eurasia from 1947 to 1999. *Pathogens.* 2019; 8(4): 184. <https://doi.org/10.3390/pathogens8040184>
33. Coban A., Pennone V., Sudagidan M., Molva C., Jordan K., Aydin A. Prevalence, virulence characterization, and genetic relatedness of *Listeria monocytogenes* isolated from chicken retail points and poultry slaughterhouses in Turkey. *Braz. J. Microbiol.* 2019; 50(4): 1063–73. <https://doi.org/10.1007/s42770-019-00133-y>
34. Al-Ali H.J., Al-Rodhan M.A., Al-Hilali S.A., Al-Charrakh A.H., Al-Mohana A.M., Hadi Z.J. Molecular detection of serotype groups of *Listeria monocytogenes* isolated from gallbladder of cattle and sheep in Iraq. *Vet. World.* 2018; 11(4): 431–6. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2018.431-6>

Информация об авторах

Алексеева Елена Андреевна — к.м.н., зав. бактериологической лабораторией Центра гигиены и эпидемиологии в Вологодской области, Вологда, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-1860-0026>

Полосенко Ольга Вадимовна — к.б.н., в.н.с. сектора микробиологических исследований ЛМИФХМА научно-производственного отдела питательных сред ГНЦ ПМБ, Оболениск, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-5961-9041>

Фурсова Надежда Константиновна — к.б.н., в.н.с. лаб. антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ГНЦ ПМБ, Оболениск, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-6053-2621>

Асташкин Евгений Ильич — к.м.н., в.н.с. лаб. антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ГНЦ ПМБ, Оболениск, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-3559-9071>

Борзенков Валерий Николаевич — к.б.н., с.н.с. лаб. антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ГНЦ ПМБ, Оболениск, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-6382-4299>

Кисличкина Ангелина Александровна — к.б.н., с.н.с. отдела коллекционных культур ГНЦ ПМБ, Оболениск, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-8389-2494>

Information about the authors

Elena A. Alekseeva — Cand. Sci. (Med.), Head, Bacteriological laboratory, Center of Hygiene and Epidemiology in the Vologda region, Vologda, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-1860-0026>

Olga V. Polosenko — Cand. Sci. (Biol.), leading researcher, Microbiological research department, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-5961-9041>

Nadezhda K. Fursova — Cand. Sci. (Biol.), leading researcher, Antimicrobial agents laboratory, Molecular microbiology department, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-6053-2621>

Evgeny I. Astashkin — Cand. Sci. (Med.), senior researcher, Antimicrobial agents laboratory, Molecular microbiology department, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-3559-9071>

Valery N. Borzenkov — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, Antimicrobial agents laboratory, Molecular microbiology department, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-6382-4299>

Коломбет Любовь Васильевна[✉] — д.б.н., зав. научной частью ГНЦ ПМБ, Оболensk, Россия, kolombet@obolensk.org, <https://orcid.org/0000-0001-9637-7790>

Шепелин Анатолий Прокопьевич — д.б.н., зам. директора по научно-производственной работе ГНЦ ПМБ, Оболensk, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-8253-7527>

Миронов Андрей Юрьевич — д.м.н., профессор, рук. отдела микробиологии МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-8544-5230>

Участие авторов. Алексеева Е.А. — концепция исследования, сбор и обработка материала, сбор литературных данных; Полосенко О.В. — обработка материала, написание текста, подготовка иллюстративного материала; Фурсова Н.К. — концепция и дизайн исследования, написание текста, редактирование; Асташкин Е.И. — обработка материала, статистическая обработка данных; Борзенков В.Н. — обработка материала; Кисличкина А.А. — сбор литературных данных и обработка материала, статистическая обработка данных; Коломбет Л.В. — редактирование; Шепелин А.П. — дизайн исследования, написание текста; Миронов А.Ю. — редактирование.

Статья поступила в редакцию 05.04.2022;
принята к публикации 05.07.2022;
опубликована 30.08.2022

Angelina A. Kislichkina — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, Microbial collection department, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-8389-2494>

Liubov V. Kolombet[✉] — D. Sci. (Biol.), Head, Science Department, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russia, kolombet@obolensk.org, <https://orcid.org/0000-0001-9637-7790>

Anatoly P. Shepelin — D. Sci. (Biol.), Deputy director, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-8253-7527>

Andrey Yu. Mironov — D. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of microbiology, G.N. Gabrichevsky Moscow Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-8544-5230>

Author contribution. Alekseeva E.A. — developing a research concept, material collecting and processing, published data survey; Polosenko O.V. — material processing, writing the text, preparing illustrative material; Fursova N.K. — concept and design of the research, writing the text, editing; Astashkin E.I. — material processing, statistical data processing; Borzenkov V.N. — material processing; Kislichkina A.A. — literature data survey and material processing, statistical data processing; Kolombet L.V. — editing; Shepelin A.P. — research designing, writing the text; Mironov A.Yu. — editing.

The article was submitted 05.04.2022;
accepted for publication 05.07.2022;
published 30.08.2022