

Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии
 Научно-исследовательский институт антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России

Учредитель

Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии

Издатель

Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии
www.iacmac.ru

Журнал зарегистрирован Комитетом РФ по печати 30.09.1999 г. (№019273) Тираж 3000 экз.

Подписка на сайте издателя
<https://service.iacmac.ru>

Адрес для корреспонденции
 214019, г. Смоленск, а/я 5.
 Тел./факс: (4812)45 06 02

Электронная почта:
cmac@antibiotic.ru

Электронная версия журнала:
<https://cmac-journal.ru>

Журнал входит в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук

Присланные в редакцию статьи проходят рецензирование

Мнение редакции может не совпадать с точкой зрения авторов публикуемых материалов

Ответственность за достоверность рекламных публикаций несут рекламодатели

При перепечатке ссылка на журнал обязательна

© Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия, 2022.

Содержание

Болезни и возбудители

- 93 Гомон Ю.М., Колбин А.С., Стрижелецкий В.В., Иванов И.Г., Султанова Ф.М., Балыкина Ю.Е. Систематический обзор и метаанализ данных по безопасности антиинтерлейкиновой терапии COVID-19
- 108 Андреева И.В., Толпыго А.В., Андреев В.А., Азизов И.С., Гольман И.А., Осипова Н.Н., Привольнев В.В., Стецюк О.У., Соколовская В.В. Психобиотики: новое направление в психофармакологии, или как бактерии влияют на наш мозг?
- 134 Рыбалкина Т.Н., Пульнова Н.Л., Каражас Н.В., Бошняк Р.Е., Корниенко М.Н., Черешнева Е.В., Иванова М.Ю., Спиридонова А.С., Кабикова О.Ф., Габриэлян Н.И. Роль пневмоцист в этиологии бронхолегочных осложнений у пациентов с ортотопической трансплантацией сердца
- 139 Попов Д.А., Вострикова Т.Ю., Рогова Т.В., Магандалиева А.С., Кереева М.А. Колонизация слизистых оболочек «проблемной» микрофлорой и этиология послеоперационных инфекционных осложнений у детей первого года жизни с врожденными пороками сердца

Антибиотикорезистентность

- 147 Умпелева Т.В., Шульгина М.В., Вахрушева Д.В., Еремеева Н.И. Чувствительность к антибактериальным препаратам нетуберкулезных микобактерий комплекса *Mycobacterium avium*, выделенных у пациентов Уральского федерального округа
- 156 Ермолаева С.А., Карпова Т.И., Андриянов П.А., Журилов П.А., Воронина О.Л., Рыжова Н.Н., Аксенова Е.И., Кунда М.С., Лискова Е.А., Груздева О.А., Климова Е.А., Посуховский Е.А., Кареткина Г.Н., Мелкумян А.Р., Орлова О.Е., Бурмистрова Е.Н., Пронина Т.В., Тартаковский И.С. Распространение антимикробной устойчивости среди клинических и пищевых изолятов *Listeria monocytogenes*, выделенных в Москве в 2019–2021 гг.

Антимикробные препараты

- 165 Козлов А.В., Лямин А.В., Жестков А.В., Гусякова О.А., Халиулин А.В. Обмен железа в бактериальной клетке: от физиологического значения к новому классу антимикробных препаратов

Лабораторная диагностика

- 171 Мальчикова А.О., Клясова Г.А. *In house* метод ускоренной идентификации грибов из положительной гемокультуры с помощью матричной лазерной десорбционной ионизационной времяпролетной масс-спектрометрии у больных с инфекцией кровотока

Опыт работы

- 181 Митрохин С.Д., Орлова О.Е., Янковская О.С., Гостева И.В., Галицкий А.А., Карпова И.В., Ведяшкина С.Г., Шкода А.С. Опыт применения антибактериальной терапии у пациентов с новой коронавирусной инфекцией COVID-19 на госпитальном этапе лечения (предварительные итоги и рекомендации)

Распространение антимикробной устойчивости среди клинических и пищевых изолятов *Listeria monocytogenes*, выделенных в Москве в 2019–2021 гг.

Ермолаева С.А.^{1,2}, Карпова Т.И.¹, Андриянов П.А.², Журилов П.А.², Воронина О.Л.¹, Рыжова Н.Н.¹, Аксенова Е.И.¹, Кунда М.С.¹, Лискова Е.А.², Груздева О.А.³, Климова Е.А.⁴, Посуховский Е.А.⁴, Кареткина Г.Н.⁴, Мелкумян А.Р.⁵, Орлова О.Е.⁶, Бурмистрова Е.Н.⁷, Пронина Т.В.⁸, Тартаковский И.С.¹

¹ ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия

² Нижегородский научно-исследовательский ветеринарный институт – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии», Нижний Новгород, Россия

³ ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва, Россия

⁴ ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России, Москва, Россия

⁵ ГБУЗ «Городская клиническая больница им. Ф.И. Иноземцева» Департамента здравоохранения г. Москвы, Москва, Россия

⁶ ГБУЗ «Городская клиническая больница № 67 им. Л.А. Ворохобова» Департамента здравоохранения г. Москвы, Москва, Россия

⁷ ГБУЗ «Городская клиническая больница им. С.С. Юдина» Департамента здравоохранения г. Москвы, Москва, Россия

⁸ ГБУЗ «Инфекционная клиническая больница № 1» Департамента здравоохранения г. Москвы, Москва, Россия

Контактный адрес:

Светлана Александровна

Ермолаева

Эл. почта: drermolaeva@mail.ru

Ключевые слова: *Listeria monocytogenes*, листериоз, антибиотикорезистентность.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Внешнее финансирование: исследование проведено без внешнего финансирования.

Цель. Определить актуальную картину распространения приобретенной устойчивости к антимикробным препаратам среди штаммов *L. monocytogenes*, связанных со случаями листериоза и контаминирующих продукты питания в г. Москве.

Материалы и методы. В работе было использовано 39 штаммов *L. monocytogenes*, выделенных в Москве в 2019–2021 гг. из клинического материала ($n = 24$) и продуктов питания ($n = 15$). Была исследована устойчивость к 12 антибиотикам первой и второй линии защиты. Для определения устойчивости использовали диско-диффузионный метод. Для интерпретации результатов применяли параметры, рекомендованные для *L. monocytogenes*, в случае отсутствия рекомендаций для *L. monocytogenes* использовали критерии для *Staphylococcus aureus* и/или *Enterococcus* spp.

Результаты. Все штаммы были чувствительны к ампициллину, бензилпенициллину, эритромицину, ванкомицину, имипенему, линезолиду и амоксициллину/клавуланату. Наблюдалась устойчивость к гентамицину (23%) из антибиотиков первой линии терапии и меропенему, триметоприму/сульфаметоксазолу и ципрофлоксацину (5%, 74% и 28% соответственно) из антибиотиков второй линии терапии. Было выявлено 15 штаммов с множественной устойчивостью к антибиотикам (13 штаммов, устойчивых к трем антибиотикам и 2 штамма – к четырем). Одновременная устойчивость к триметоприму/сульфаметоксазолу, ципрофлоксацину и левофлоксацину наблюдалась у 9 штаммов, 6 штаммов были устойчивы к гентамицину и триметоприму/сульфаметоксазолу, в том числе 3 штамма – к гентамицину, триметоприму/сульфаметоксазолу, левофлоксацину, и 2 штамма – к гентамицину, триметоприму/сульфаметоксазолу, ципрофлоксацину. Сравнение диаметров зон подавления роста ампициллином и бензилпенициллином у исследованных штаммов и штаммов, выделенных на территории России в 1950–1980 гг., показало статистически значимый сдвиг диаметров зон подавления роста в сторону уменьшения у современных штаммов. Сравнение распределения штаммов с разными диаметрами зон подавления роста в зависимости от источника выделения не выявило значимых различий между штаммами клинического и пищевого происхождения, выделенными в 2019–2021 гг.

Выводы. Показано значительное распространение приобретенной устойчивости среди штаммов *L. monocytogenes* клинического и пищевого происхождения, выделенных в Москве в 2019–2021 гг. Несмотря на то что все штаммы были формально чувствительны к антибиотикам пенициллинового ряда, распределение диаметров зон подавления роста показало статистически значимый сдвиг в сторону уменьшения чувствительности к ампициллину и бензилпенициллину у штаммов, выделенных в 2019–2021 гг., по сравнению со штаммами *L. monocytogenes*, выделенными в России до 1980 г.

Original Article

Distribution of antimicrobial resistance among clinical and food *Listeria monocytogenes* isolated in Moscow in 2019–2021

Ermolaeva S.A.^{1,2}, Karpova T.I.¹, Andriyanov P.A.², Zhurilov P.A.², Voronina O.L.¹, Ryzhova N.N.¹, Aksenova E.I.¹, Kunda M.S.¹, Liskova E.A.², Gruzdeva O.A.³, Klimova E.A.⁴, Posukhovskiy E.A.⁴, Karetkina G.N.⁴, Melkumyan A.R.⁵, Orlova O.E.⁶, Burmistrova E.N.⁷, Pronina T.V.⁸, Tartakovskiy I.S.¹

Ермолаева С.А. и соавт.

¹ N.F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia

² Nizhny Novgorod Research Veterinary Institute – Branch of Federal Research Center for Virology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia

³ Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia

⁴ A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia

⁵ City Clinical Hospital named after F.I. Inozemtsev, Moscow, Russia

⁶ City Clinical Hospital No. 67 named after L.A. Vorokhobov, Moscow, Russia

⁷ City Clinical Hospital named after S.S. Yudin, Moscow, Russia

⁸ City Infectious Clinical Hospital No. 1, Moscow, Russia

Contacts:

Svetlana A. Ermolaeva

E-mail: drermolaeva@mail.ru

Key words: *Listeria monocytogenes*, listeriosis, antimicrobial resistance.

Conflicts of interest: all authors report no conflicts of interest relevant to this article.

External funding source: no external funding received.

Objective. To determine the current state-of-art of acquired resistance to antimicrobial drugs among *L. monocytogenes* strains associated with listeriosis in humans and food contamination in Moscow.

Materials and methods. We used 39 *L. monocytogenes* strains isolated in Moscow in 2019–2021 from clinical material (n = 24) and food (n = 15). Resistance to 12 antibiotics of the first and second lines of defense was studied using disk-diffusion method. The parameters recommended for *L. monocytogenes* were used to interpret the results; in the absence of recommendations for *L. monocytogenes*, the criteria for *Staphylococcus aureus* and/or *Enterococcus* spp. were used.

Results. All strains were susceptible to ampicillin, benzylpenicillin, erythromycin, vancomycin, imipenem, linezolid, and the amoxicillin/clavulanic acid. Resistance was observed to gentamicin (23%) as well as to meropenem, trimethoprim/sulfamethoxazole and ciprofloxacin (5%, 74% and 28% of strains, respectively). A total of 15 strains with multiple antibiotic resistance were identified (13 and 2 isolates were resistant to three and four antibiotics, respectively). Simultaneous resistance to trimethoprim/sulfamethoxazole, ciprofloxacin and levofloxacin was observed in 9 strains, 6 strains were resistant to gentamicin and trimethoprim/sulfamethoxazole, including 3 strains – to gentamicin, trimethoprim/sulfamethoxazole, levofloxacin, and 2 strains – to gentamicin, trimethoprim/sulfamethoxazole, ciprofloxacin. Comparison of the growth inhibition zones by ampicillin and benzylpenicillin in the studied strains with historical data on the strains isolated in Russia in 1950–1980 showed a significant downward shift in the size of growth inhibition zones. Comparison of the distribution of strains with different diameters of growth inhibition zones depending on the source of isolation did not show significant differences between clinical strains and strains of food origin isolated in 2019–2021.

Conclusions. A wide spread of acquired resistance was shown among *L. monocytogenes* strains of clinical and food origin isolated in Moscow in 2019–2021. Despite the fact that all strains were susceptible to penicillins, the distribution of growth inhibition zone diameters showed a significant shift towards decreasing sensitivity to ampicillin and benzylpenicillin in strains isolated in 2019–2021 compared with *L. monocytogenes* strains isolated in Russia before 1980.

Введение

Грамположительная бактерия *Listeria monocytogenes* вызывает тяжелую диссеминированную инфекцию – листериоз, проявляющуюся в различных формах, в том числе связанных с поражением ЦНС, а у беременных – с поражением плода (A32 и P37.2 согласно МКБ10). *L. monocytogenes* передается преимущественно алиментарным путем [1]. Начиная с 1980-х гг., в мире были зафиксированы десятки вспышек и тысячи спорадических случаев листериоза, связанных с употреблением в пищу контаминированных молочных, мясных и растительных продуктов [1–3]. В последние годы частота листериоза сравнительно невелика и составляет 0,4–1,8 случаев на 100 тыс. населения [4]. Тем не менее значимость инфекции высока, т.к. листериоз имеет наиболее высокие показатели летальности среди пищевых инфекций: летальность при менингеальных и/или септических формах листериоза составляет 20–25%, а при развитии перинатального листериоза может достигать 80% [4, 5].

L. monocytogenes – это убиквитарная бактерия, относящаяся к числу возбудителей сапронозов. Для типирования штаммов листерий часто используют метод мультилокусного секвенирования (MLST) [6]. Вид *L. monocytogenes* делится на 4 филогенетические линии (ФЛ), однако большинство спорадических случаев и все эпидемические вспышки листериоза связаны со штаммами, относящимися к ограниченному числу клональных

комплексов I и II ФЛ [7]. На территории России до 1980-х гг. преобладали штаммы II ФЛ, которые до сих пор циркулируют в природных очагах Европейской части России и составляют значительный процент от клинических изолятов, в то время как в странах Европы и Америки среди клинических изолятов в значительной мере преобладают штаммы I ФЛ [8–10]. Среди пищевых изолятов во всех странах преобладают штаммы II ФЛ [8, 11].

Высокая летальность при листериозе требует своевременной начатой и адекватной антибиотикотерапии как основной меры, необходимой для успешного выздоровления пациентов. *L. monocytogenes* демонстрирует природную устойчивость к полимиксину, фосфомицину, фузидиевой кислоте и большинству цефалоспоринов II и III поколения, включая цефотаксим, цефтриаксон, цефуроксим и др. [12]. Помимо перечисленных, *L. monocytogenes* в целом чувствительна к клинически значимым классам антибиотиков, активных против грамположительных бактерий. Препаратами выбора при терапии листериоза являются ампициллин/бензилпенициллин отдельно или в комбинации с гентамицином. Препаратами второй линии являются триметоприм/сульфаметоксазол, эритромицин, ванкомицин и фторхинолоны [1, 3, 13]. В последние годы разными исследователями было отмечено увеличение встречаемости штаммов *L. monocytogenes*, характеризующихся наличием приобретенной, в том

числе множественной, устойчивости к антибиотикам, особенно среди клинических изолятов и изолятов, выделенных из окружающей среды [14–16].

В Российской Федерации в XXI в. ситуация с выделением листерий и выявлением случаев листериоза носит во многом противоречивый характер. С одной стороны, в стране разработана и внедрена в практику эффективная система контроля продуктов питания на патогенные листерии, соответствующая международным стандартам [17, 18]. С другой стороны, диагностика листериоза до недавнего времени носила архаичный характер и была основана преимущественно на серологических методах: РСК, РНГА, ИФА [19, 20]. Если выявление антител к листериям у доярок, контактировавших с заболевшими сельскохозяйственными животными, хотя бы косвенно позволяло подтвердить диагноз листериозной инфекции, то при пищевом листериозе в условиях мегаполиса необходимо применение бактериологического метода диагностики инфекции и последующее генотипирование выделенного штамма с целью поиска пищевого продукта – потенциального источника распространения клинического штамма. Отсутствие стандартизированной бактериологической диагностики листериоза у пациентов групп риска, на наш взгляд, и объясняет редкое выявление случаев данной инфекции в России. Вместе с тем за последние годы количество бактериологически подтвержденных случаев листериоза в России несколько выросло [21]. Мы связываем относительный прогресс в выявлении случаев листериоза с программой централизации и автоматизации лабораторных исследований, осуществляемых в медицинских организациях страны и особенно г. Москвы, что позволяет повысить качество микробиологических исследований в целом и в том числе осуществлять бактериологическую диагностику листериоза [22]. Тенденция к увеличению частоты встречаемости антибиотикорезистентных штаммов требует проведения текущего мониторинга устойчивости среди свежевыделенных изолятов *L. monocytogenes*.

Цель исследования – определить актуальную картину распространения приобретенной устойчивости к антимикробным препаратам среди штаммов *L. monocytogenes*, связанных со случаями листериоза и контаминирующих продукты питания в г. Москве.

Материалы и методы

Штаммы, использованные в работе, и условия культивирования

В работе было использовано 39 штаммов *L. monocytogenes*, в том числе 24 штамма клинического и 15 штаммов пищевого происхождения (Таблица 1). Штаммы были выделены в Москве в 2019–2021 гг. в лабораториях клиник и ФБУЗ ЦГиЭ ЦАО и переданы в ФГБУ НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, где их хранили замороженными при температуре -70°C в присутствии 10% глицерина. Перед началом экспериментов бактерии высевали на агаризованную среду Brain Heart Infusion (BD, США) и выращивали при 37°C в течение 24 ч. Далее культуру исследовали как описано ниже.

Филогенетическая характеристика штаммов

Штаммы были охарактеризованы с помощью MLST, как описано ранее [9, 10], и депонированы в базу данных Institut Pasteur MLST (<https://bigsdbs.pasteur.fr/listeria>).

Определение профиля антибиотикорезистентности

Определение чувствительности к антибиотикам проводили диско-диффузионным методом в соответствии с рекомендациями Межрегиональной ассоциации по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии (МАКМАХ), гармонизированным с рекомендациями Европейского комитета по определению чувствительности к антибиотикам (EUCAST) [23]. Коротко, 5–6 ночных колоний суспендировали в 1 мл 0,9% раствора NaCl и доводили мутность до 0,5 по МакФарланду. Суспензию использовали для посева на агар Мюллера – Хинтон (HiMedia, Индия). Диски с антибиотиками (ООО «НИКФ», Россия; HiMedia, Индия) переносили на агар с помощью дискового диспенсера. Планшеты инкубировали при 37°C в течение 24 ч. Зоны подавления роста измеряли с точностью до миллиметра.

Всего протестировали 12 антибиотиков, используемых в качестве первой и второй линий терапии листериоза и/или инфекций, вызванных другими грамположительными бактериями. Использованный ряд включал бензилпенициллин (10 мкг), ампициллин (10 мкг), амоксициллин/клавуланат (20/10 мкг), имипенем (10 мкг), меропенем (10 мкг), гентамицин (10 мкг), цiproфлоксацин (5 мкг), левофлоксацин (5 мкг), эритромицин (15 мкг), ванкомицин (5 мкг), триметоприм/сульфаметоксазол (1,25 мкг/23,75 мкг), линезолид (10 мкг).

Интерпретацию результатов проводили в соответствии с рекомендованными критериями МАКМАХ [23]. Для определения резистентности были использованы следующие пограничные значения для *L. monocytogenes*: бензилпенициллин < 13 мм; ампициллин < 16 мм; меропенем < 26 мм; эритромицин < 25 мм; триметоприм/сульфаметоксазол < 29 мм. Поскольку для других препаратов критерии для *L. monocytogenes* отсутствуют, использовали критерии для *Staphylococcus aureus* [24, 25], в том числе для амоксициллина/клавуланата < 26 мм; имипенема < 22 мм; гентамицина < 18 мм; цiproфлоксацина < 21 мм, левофлоксацина < 22 мм. Для определения устойчивости к гликопептидам и оксазолидинонам использовали критерии для *Enterococcus* spp. [14]: ванкомицин < 12 мм; линезолид < 20 мм.

Статистический анализ

Эксперименты повторяли трехкратно. Средний размер зон подавления роста вычисляли по всем имеющимся данным. Стандартное отклонение определяли с помощью программы MS Excel®.

Результаты

Характеристика использованных в работе штаммов

В работе использовали 39 штаммов *L. monocytogenes*, выделенных в Москве из клинических образцов и пищевых продуктов (Таблица 1). Источником 24 клинических

Таблица 1. Список штаммов, использованных в работе

№	Штамм	Год выделения	Клональный комплекс	Филогенетическая линия	Профиль устойчивости
Клинические штаммы					
1	GIMC2012:LmcUH1	2019	CC6	I	GEN-MER-TMP
2	GIMC2008:LmcUH14	2019	CC7	II	LEV
3	GIMC2063:LmcUH21	2020	CC37	II	GEN-TMP-CIP
4	GIMC2064:LmcUH22	2020	CC6	I	GEN-TMP-LEV
5	GIMC2065:LmcUH23	2020	CC4	I	TMP-LEV
6	GIMC2066:LmcUH24	2020	CC14	II	GEN-TMP-CIP-LEV
7	GIMC2073:LmcUH25	2021	CC4	I	TMP
8	GIMC2079:LmcUH26	2021	CC90	II	TMP-CIP-LEV
9	GIMC2080:LmcUH27	2021	CC90	II	TMP-CIP-LEV
10	GIMC2033:LmcH67-2	2019	CC6	I	GEN -TMP
11	GIMC2072:LmcH67_5	2021	CC4	I	
12	GIMC2090:LmcH67_6	2021	CC90	II	
13	GIMC2083:LmcINH_2	2020	CC7	II	
14	GIMC2084:LmcINH_3	2021	CC315	I	TMP
15	GIMC2085:LmcINH_4	2021	CC315	I	
16	GIMC2086:LmcINH_5	2021	CC315	I	TMP-LEV
17	GIMC2005:LmcIH1_1f	2019	CC59	I	GEN-MER-TMP-LEV
18	GIMC2006:LmcIH1_2	2019	CC7	II	CIP
19	GIMC2007:LmcIH1_3	2021	CC7	II	TMP-CIP-LEV
20	GIMC2082:LmcIH1-5	2021	CC37	II	TMP-LEV
21	GIMC2088:LmcIH1-6	2021	CC20	II	TMP-LEV
22	GIMC2057:LmcEH-2	2020	CC21	II	GEN-TMP-LEV
23	GIMC2061:LmcH24-2	2021	CC11	II	TMP-CIP-LEV
24	GIMC2077:LmcBH-1	2021	CC89	II	
Пищевые штаммы					
25	GIMC2020:Lmc630	2019	CC121	II	TMP-LEV
26	GIMC2052:Lmc5634	2020	CC7	II	LEV
27	GIMC2067:Lmc5758	2021	CC9	II	GEN-TMP-LEV
28	GIMC2068:Lmc7817	2021	CC3	I	TMP-LEV
29	GIMC2069:Lmc7919	2021	CC3	I	GEN-TMP
30	GIMC2059:Lmc9558	2021	CC121	II	TMP-LEV
31	GIMC2071:Lmc9864	2021	CC37	II	TMP
32	GIMC2076:Lmc23047	2021	CC155	II	TMP
33	GIMC2078:Lmc24281	2021	CC121	II	TMP-CIP-LEV
34	GIMC2081:Lmc27698	2021	CC121	II	TMP-CIP-LEV
35	GIMC2089:Lmc39560	2021	CC11	II	TMP-LEV
36	GIMC2087:Lmc36543	2021	CC9	II	TMP-CIP-LEV
37	GIMC2091:Lmc45828	2021	CC8	II	
38	GIMC2092:Lmc47267	2021	CC7	II	TMP-CIP-LEV
39	GIMC2093:Lmc50851	2021	CC121	II	TMP-LEV

GEN – гентамицин; MER – меропенем; TMP – триметоприм/сульфаметоксазол; CIP – ципрофлоксацин; LEV – левофлоксацин.

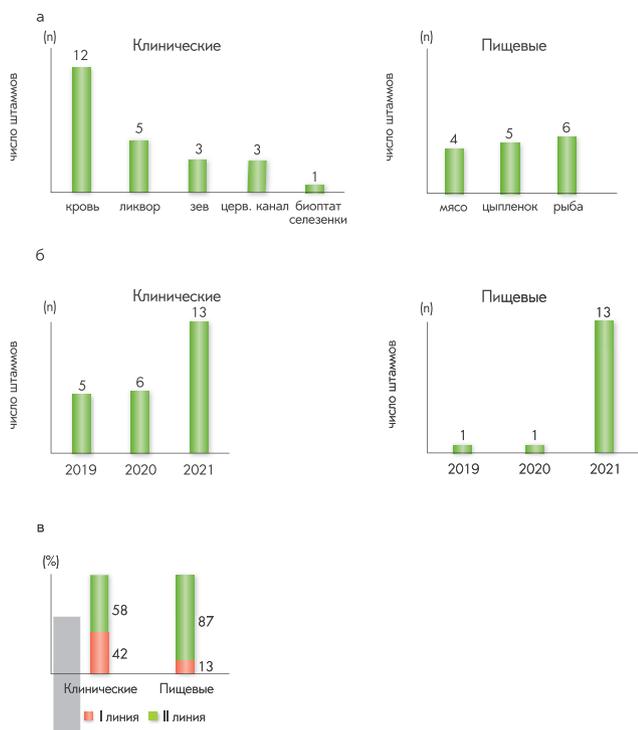


Рисунок 1. Характеристика штаммов *L. monocytogenes*, использованных в работе

а – распределение штаммов по источникам выделения;
 б – распределение штаммов по году выделения;
 в – распределение штаммов по филогенетическим линиям.

изолятов были: кровь ($n = 12$), ликвор ($n = 5$), мазки из зева ($n = 3$), отделяемое цервикального канала ($n = 3$), биоптат селезенки умершего пациента ($n = 1$) (Рисунок 1а). Среди источников 15 пищевых изолятов были мясо и мясные полуфабрикаты ($n = 4$), птица ($n = 5$) и рыба ($n = 6$). И использованные штаммы распределились по годам выделения следующим образом: 2019 г. – 6 штаммов (5 клинических и 1 пищевой); 2020 г. – 7 штаммов (6 клинических и 1 пищевой); 2021 г. – 26 штаммов (13 клинических и 13 пищевых) (Рисунок 1б). При отборе штаммов учитывали следующие обстоятельства: до пандемии COVID-19 в выборке клинических изолятов преобладали изоляты ST6 (I ФЛ) и ST7 (II ФЛ) [26]. Во время пандемии изменился спектр генотипов выявляемых *L. monocytogenes* и увеличилась доля изолятов I ФЛ, особенно в группе перинатального листериоза [27]. В группе «Менингит и сепсис» выросла летальность [28]. Все штаммы новых генотипов, а также штаммы, связанные со смертельными исходами, были включены в исследование. В ФЛ I среди клинических изолятов преобладали изоляты, связанные со случаями перинатального листериоза (70%). В ФЛ II 64% изолятов относилось к случаям со смертельным исходом. Среди пищевых изолятов спектр основных генотипов практически не изменился. В исследование был включен изолят ST3 (ФЛ I), поскольку ранее для российских изолятов

L. monocytogenes такой генотип не был характерен. Из 39 штаммов на основании результатов MLST 12 штаммов отнесли к ФЛ I и 27 штаммов – к ФЛ II. Таким образом, среди пищевых и клинических штаммов преобладали представители ФЛ II (87% и 58% соответственно) (Рисунок 1в).

Определение устойчивости *L. monocytogenes* к антибиотикам

Мы исследовали устойчивость *L. monocytogenes* к 12 антибиотикам, относящимся к первой (бензилпенициллин, ампициллин, гентамицин) и второй (амоксициллин/клавуланат, меропенем, имипенем, триметоприм/сульфаметоксазол, эритромицин, ванкомицин, цiproфлоксацин, левофлоксацин, линезолид) линиям терапии. Все исследованные штаммы были чувствительны к ампициллину, бензилпенициллину, эритромицину, ванкомицину, имипенему, линезолиду и амоксициллину/клавуланату (Таблица 1). Максимальная частота устойчивости наблюдалась к левофлоксацину (28 из 39 штаммов). Из антибиотиков первой линии терапии устойчивость зарегистрировали к гентамицину (9 штаммов, 23%). Из антибиотиков второй линии терапии устойчивость отмечалась к меропенему (2 штамма, 5%), триметоприму/сульфаметоксазолу (29 штаммов, 74%) и цiproфлоксацину (11 штаммов, 28%) (Рисунок 2а). Процентное соотношение устойчивости к отдельным антибиотикам среди клинических и пищевых изолятов было сходным при анализе устойчивости к цiproфлоксацину. Процент штаммов, устойчивых к гентамицину и меропенему, был выше среди клинических (37%/13%) по сравнению с пищевыми (25%/7%).



Рисунок 2. Устойчивость исследованных штаммов к антибиотикам

а – число устойчивых штаммов;
 б – процент устойчивых среди клинических и пищевых штаммов.

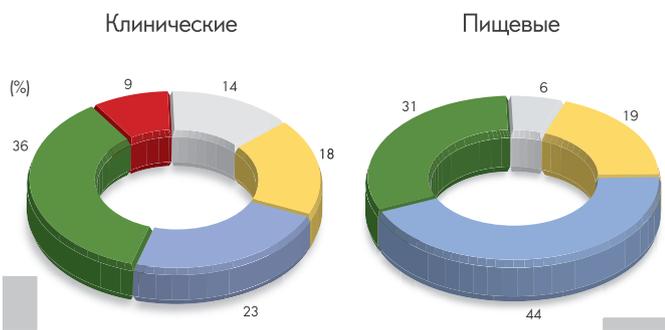


Рисунок 3. Процентное распределение устойчивых к антибиотикам клинических и пищевых штаммов

«0» – процент штаммов в группе, чувствительных ко всем протестированным антибиотикам; «1», «2», «3», «4» – процент штаммов в группе, устойчивых к 1, 2, 3 и 4 протестированным антибиотикам соответственно.

В отношении левофлоксацина и триметоприма/сульфаметоксазола процент устойчивых штаммов был несколько выше среди пищевых изолятов (Рисунок 26).

Из 39 штаммов 15 показали множественную устойчивость к антибиотикам: 13 штаммов – к трем антибиотикам и 2 штамма – к четырем антибиотикам (Таблица 1). Устойчивость к 4 антибиотикам проявили

только 2 штамма клинического происхождения, среди пищевых изолятов таких не выявили (Рисунок 3). Штаммы, устойчивые к трем антибиотикам, составили 36% среди клинических изолятов и 33% среди пищевых изолятов. Процент штаммов, чувствительных ко всем исследованным антибиотикам, был низким в обеих группах (20,8% и 6,7% среди клинических и пищевых штаммов соответственно).

Среди штаммов с множественной устойчивостью к антибиотикам одновременная устойчивость к триметоприму/сульфаметоксазолу, ципрофлоксацину и левофлоксацину наблюдалась у 9 штаммов, 6 штаммов были устойчивы к гентамицину и триметоприму/сульфаметоксазолу, в том числе 3 штамма – к гентамицину, триметоприму/сульфаметоксазолу, левофлоксацину, и 2 штамма – к гентамицину, триметоприму/сульфаметоксазолу, ципрофлоксацину.

Изменения устойчивости к антибиотикам первой линии терапии среди штаммов, выделенных в 1950–1980 гг. и 2019–2021 гг.

Устойчивость листерий к антибиотикам первой линии терапии имеет особое значение с точки зрения клинического применения. Несмотря на то что все штаммы были чувствительны к ампициллину и бензилпенициллину, детальный анализ зон подавления роста позволил выявить следующие различия. Пять штаммов показали зону подавления роста 16 мм, что является погранич-

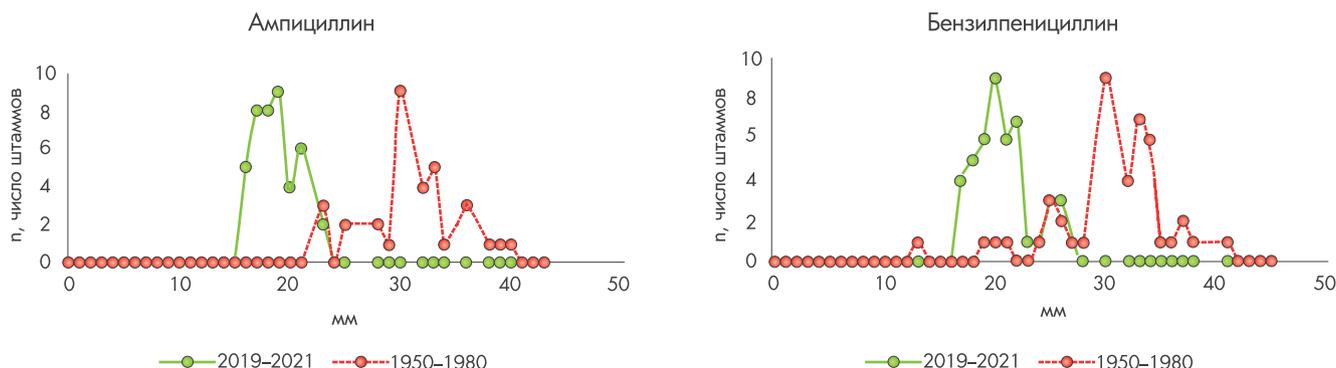


Рисунок 4. Распределение частоты выделения штаммов с разными диаметрами зон подавления роста среди штаммов, исследованных в данной работе (2019–2021 гг.), и ранее исследованных штаммов, выделенных в 1950–1980 гг. [14]

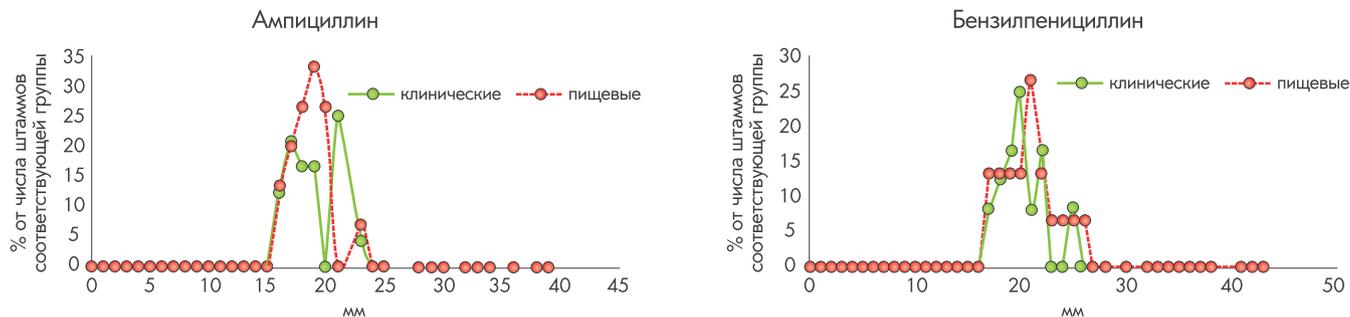


Рисунок 5. Распределение частоты выделения штаммов с разными диаметрами зон подавления роста среди штаммов клинического и пищевого происхождения, исследованных в данной работе (2019–2021 гг.)

ным значением между устойчивыми и чувствительными штаммами *L. monocytogenes* [23]; для 8 штаммов размер зоны подавления роста составил 17 мм (Рисунок 4). Для более наглядного представления результатов мы сравнили размеры зон подавления роста к ампициллину и бензилпенициллину у исследованных штаммов и у штаммов, выделенных на территории России в 1950–1980 гг., чувствительность которых была определена ранее с использованием дисков того же производителя (Рисунок 4) [14]. Аналогичный сдвиг в размере зон подавления роста наблюдали и в устойчивости к бензилпенициллину. Сравнение распределения размеров зон подавления роста между штаммами, выделенными в XX в. и XXI в., показывает, что относительно маленькие зоны (16–22 мм) редко регистрировали среди изолятов 1950–1980 гг., однако они начали преобладать среди штаммов, выделенных в 2019–2021 гг. Полученные данные указывают на существование механизмов отбора штаммов с увеличенной резистентностью к ампициллину и бензилпенициллину, что грозит скорым появлением штаммов *L. monocytogenes*, устойчивых к этим антибиотикам первой линии терапии, как уже произошло в отношении гентамицина (Рисунок 2).

Мы определили относительное распределение штаммов с разными зонами подавления роста ампициллином и бензилпенициллином для штаммов клинического и пищевого происхождения (Рисунок 5) с целью выбора между двумя версиями происхождения устойчивости: 1) применение антибиотиков в медицинских учреждениях; 2) циркуляция штаммов с увеличенной устойчивостью к антибиотикам на разных этапах цепи производства пищевых продуктов. Распределение процента встречаемости различных диаметров зон подавления роста у штаммов, относящихся к пищевым и клиническим, практически совпадает. Полученные результаты свидетельствуют в пользу того, что отбор устойчивых штаммов происходит на этапах, связанных с производством и/или реализацией пищевых продуктов – основного фактора передачи *L. monocytogenes*, т.е. в очагах циркуляции возбудителя.

Обсуждение

Вызываемые *L. monocytogenes* инфекции в случае поражения центральной нервной системы, плода или развития сепсиса имеют тяжелое течение и высокую летальность, поэтому с начала лечения необходимо проведение адекватной антибиотикотерапии. С начала 1960-х гг. стандартная схема лечения при листериозе включала применение антибиотиков пенициллинового ряда в комбинации с аминогликозидами, чаще всего гентамицином [3, 13]. До настоящего времени ампициллин, амоксициллин и другие представители пенициллинов остаются антибиотиками выбора при терапии листериоза.

Среди 544 штаммов, собранных в Германии Институтом Коха с середины XX в., не было обнаружено штаммов, устойчивых к ампициллину, и только 1 штамм демонстрировал устойчивость к гентамицину [29]. Среди 118 штаммов *L. monocytogenes*, выделенных в Испании из мяса, менее 3% показали устойчивость к ампициллину и гентамицину [30]. Ранее полученные

нами результаты продемонстрировали низкое распространение устойчивости к ампициллину/амоксициллину и аминогликозидам среди штаммов *L. monocytogenes*, выделенных в России за длительный промежуток времени, начиная с 1950 г. по 2019 г. [14]. Однако результаты, полученные в данном исследовании, свидетельствуют, что в последние годы ситуация с устойчивостью *L. monocytogenes* к препаратам первой линии терапии меняется. Так, 9 (23%) штаммов, выделенных в 2019–2021 гг. и описанных в данной работе, были устойчивы к гентамицину. Несмотря на то что все штаммы были формально чувствительны к антибиотикам пенициллинового ряда, распределение диаметров зон подавления роста показало статистически значимый сдвиг в сторону уменьшения чувствительности к ампициллину и бензилпенициллину у штаммов, выделенных в 2019–2021 гг., по сравнению со штаммами, выделенными в России до 1980 г. Наши данные коррелируют с анализом исторической коллекции Института Пастера во Франции, в котором было показано увеличение минимальной подавляющей концентрации (МПК) к бензилпенициллину среди изолятов, выделенных в 2005–2007 гг., до 2 мкг/мл [15]; а также с сообщениями из Польши и Ирана, свидетельствующими о предпочтительности выбора амоксициллина/клавуланата в терапии листериозной инфекции [31, 32].

До середины 2000-х гг. антибиотикорезистентность, тем более множественная, редко встречалась среди изолятов *L. monocytogenes*. Так, о появлении штаммов, устойчивых к тетрациклинам, впервые сообщалось в начале 1980-х гг., а к фторхинолонам – в 1990-х гг. [15]. Приобретенная множественная устойчивость к антибиотикам у штамма *L. monocytogenes*, выделенного в клинике, впервые была описана в 1988 г. [33]. В работах, опубликованных в последние 10 лет, сообщается о лавинообразном увеличении числа штаммов *L. monocytogenes* с множественной устойчивостью к антибиотикам [34]. Часто устойчивые штаммы выделяют из образцов окружающей среды. Так, среди штаммов, выделенных в ЮАР из ирригационных каналов и образцов почвы, наблюдалась высокая частота устойчивых штаммов, в том числе к тетрациклину – 90%, доксициклину – 85%, пенициллину – 80%, линезолиду – 65%, триметоприму/сульфаметоксазолу – 55% [24]. Эти данные позволяют предположить, что устойчивые штаммы эволюционируют и распространяются в природных и техногенных очагах листериоза, что может быть следствием попадания антибиотиков в окружающую среду, на объекты агропромышленного комплекса и пищевых производств. Выявленное в данной работе сходство диапазонов устойчивости к препаратам пенициллинового ряда у клинических и пищевых штаммов в 2019–2021 гг. также подтверждает данное предположение.

Заключение

В работе показано значительное распространение приобретенной устойчивости, в том числе множественной, среди штаммов клинического и пищевого

происхождения, выделенных в Москве в 2019–2021 гг. Несмотря на то что все штаммы были формально чувствительны к антибиотикам пенициллинового ряда, распределение диаметров зон подавления роста показало статистически значимый сдвиг в сторону уменьшения чувствительности к ампициллину и бензилпенициллину у штаммов, выделенных в 2019–2021 гг., по

сравнению со штаммами, выделенными в России до 1980 г. Полученные данные свидетельствуют о том, что эволюция устойчивости к антибиотикам у листерий связана с их циркуляцией во внешней среде, что может быть следствием попадания антибиотиков в окружающую среду, на объекты агропромышленного комплекса и пищевых производств.

Литература

- Tartakovsky I., Maleev V., Ermolaeva S. *Listeria*: role in human infectious pathology and laboratory diagnostics. *Medicina dlja vseh*: Moscow, 2002. ISBN 5-93649-007-6. Russian. (Тартаковский И., Малеев В., Ермолаева С. Листерии: роль в инфекционной патологии человека и лабораторная диагностика; Медицина для всех: Москва, 2002. ISBN 5-93649-007-6.)
- Allerberger F., Wagner M. Listeriosis: a resurgent foodborne infection. *Clin Microbiol Infect*. 2010;16:16-23. DOI: 10.1111/J.1469-0691.2009.03109.X
- Pagliano P., Arslan F., Ascione T. Epidemiology and treatment of the commonest form of listeriosis: meningitis and bacteraemia. *Le Infez Med*. 2017;25:210-216. PMID: 28956537
- de Noordhout C.M., Devleeschauwer B., Angulo F.J., Verbeke G., Haagsma J., Kirk M., et al. The global burden of listeriosis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2014;14:1073-1082. DOI: 10.1016/S1473-3099(14)70870-9
- Lamont R., Sobel J., Mazaki-Tovi S., Kusanovic J., Vaisbuch E., Kim S., et al. Listeriosis in human pregnancy: a systematic review. *J Perinat Med*. 2011;39:227-236. DOI: 10.1515/JPM.2011.035
- Ragon M., Wirth T., Hollandt F., Lavenir R., Lecuit M., Le Monnier A., et al. A new perspective on *Listeria monocytogenes* evolution. *PLoS Pathog*. 2008;4:e1000146. DOI: 10.1371/journal.ppat.1000146
- Orsi R.H., Bakker H.C., Wiedmann M. *Listeria monocytogenes* lineages: genomics, evolution, ecology, and phenotypic characteristics. *Int J Med Microbiol*. 2011;301:79-96. DOI: 10.1016/j.ijmm.2010.05.002
- Psareva E., Egorova I., Liskova E., Razheva I., Gladkova N., Sokolova E., et al. Retrospective study of *Listeria monocytogenes* isolated in the territory of inner Eurasia from 1950 to 1999. *Pathogens*. 2019;8(4):184. DOI: 10.3390/pathogens8040184
- Voronina O., Ryzhova N., Kunda M., Kurnaeva M., Semenov A., Aksenova E., et al. Diversity and pathogenic potential of *Listeria monocytogenes* isolated from environmental sources in the Russian Federation. *Int J Mod Emg Res*. 2015;5:5-13. DOI: 10.3390/foods10112790
- 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. *Klinicheskaa mikrobiologia i antimikrobnaa himioterapia*. 2019;21:261-273. Russian. (Воронина О.Л., Кунда М.С., Рыжова Н.Н., Кутузова А.В., Аксенова Е.И., Карпова Т.И. и соавт. Листерииоз: генотипирование как ключ к выявлению возможного источника заражения. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2019;21:261-273.) DOI: 10.36488/cmasc.2019.4.261-273
- Charlier C., Perrodeau E., Leclercq A., Cazenave B., Pilmis B., Henry B., et al. Clinical features and prognostic factors of listeriosis: the MONALISA national prospective cohort study. *Lancet Infect Dis*. 2017;17:510-519. DOI: 10.1016/S1473-3099(16)30521-7
- Troxler R., von Graevenitz A., Funke G., Wiedemann B., Stock I. Natural antibiotic susceptibility of *Listeria* species: *L. grayi*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. monocytogenes*, *L. seeligeri* and *L. welshimeri* strains. *Clin Microbiol Infect*. 2000;6:525-535. DOI: 10.1046/J.1469-0691.2000.00168.X
- Temple M., Nahata M. Treatment of listeriosis. *Ann Pharmacother*. 2000;34:656-661. DOI: 10.1345/APH.19315
- Andriyanov P.A., Zhurilov P.A., Liskova E.A., Karpova T.I., Sokolova E.V., Yushina Y.K., et al. Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* strains isolated from humans, animals, and food products in Russia in 1950-1980, 2000-2005, and 2018-2021. *Antibiotics*. 2021;10(10):1206. DOI: 10.3390/antibiotics10101206
- Morvan A., Moubareck C., Leclercq A., Hervé-Bazin M., Bremont S., Lecuit M., et al. Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* strains isolated from humans in France. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54:2728-2731. DOI: 10.1128/AAC.01557-09
- Noll M., Kleita S., Al Dahouk S. Antibiotic susceptibility of 259 *Listeria monocytogenes* strains isolated from food, food-processing plants and human samples in Germany. *J Infect Public Health*. 2018;11:572-577. DOI: 10.1016/J.JIPH.2017.12.007
- GOST 32031-2012. Food products. Methods for detection of *Listeria monocytogenes* (with correction in the Information index "National standards" N 6-2019). Russian. (ГОСТ 32031-2012. Продукты пищевые. Методы выявления бактерий *Listeria monocytogenes* (с Поправкой в ИУС N 6-2019).)
- Eurasian Economic Commission. Uniform Sanitary Epidemiological and Hygienic Requirements for the Goods Subject to Sanitary and Epidemiological Supervision (Control). Available at: www.eurasiancommission.org/en/act/txnreg/depsanmer/sanmeri/Pages/P2_299.aspx. Accessed April 2022.
- Rakhmanova A., Prigogine V. Listeriosis. Chapter: Hand-

- book of Infectious Diseases. St. Petersburg, 1999. P. 172-174. Russian. (Рахманова А., Пригожина В. Листерииоз. Глава: Справочник по инфекционным болезням. Санкт-Петербург, 1999. С. 172-174.)
20. Listeriosis. Chapter: Guide to the epidemiology of infectious diseases. Volume 2. Edited by Briko N.I., Onishchenko G.G., Pokrovsky V.I. M: LLC Publishing House Medical Information Agency, 2019. 1648 p. Russian. (Листерииоз. Глава: Руководство по эпидемиологии инфекционных болезней. Том 2. Под редакцией Брико Н.И., Онищенко Г.Г., Покровского В.И. М: ООО «Издательство Медицинское информационное агентство», 2019. 1648 с.)
 21. Office of Rospotrebnadzor in Moscow. State report on the state of sanitary and epidemiological well-being of the population in Moscow in 2020; Moscow, 2021. Russian. (Управление Роспотребнадзора по г. Москве. Государственный доклад о состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в г. Москве в 2020 году; Москва, 2021.)
 22. Melkumyan A.R., Tsinbin A.N. Microbiological service of Moscow: ways of optimization and model of reorganization. *Laboratornaja sluzhba*. 2018;7:115-116. Russian. (Мелкумян А.Р., Цибин А.Н. Микробиологическая служба Москвы: пути оптимизации и модель реорганизации. Лабораторная служба. 2018;7:115-116.)
 23. Susceptibility testing of microorganisms to antimicrobial drugs (2021). Version 2021-01. IACMAC. Available at: www.antibiotic.ru/files/321/clrec-dsma2021.pdf. Accessed April 2022. Russian. (Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам (2021). Версия 2021-01. МАКМАХ. Доступно по адресу: www.antibiotic.ru/files/321/clrec-dsma2021.pdf. Ссылка активна на апрель 2022 г.)
 24. Iwu C., Okoh A. Characterization of antibiogram fingerprints in *Listeria monocytogenes* recovered from irrigation water and agricultural soil samples. *PLoS One*. 2020;15:e0228956. DOI: 10.1371/JOURNAL.PONE.0228956
 25. Sanlıbaba P., Tezel B.U., Cakmak G.A. Prevalence and antibiotic resistance of *Listeria monocytogenes* isolated from ready-to-eat foods in Turkey. *J Food Qual*. 2018;7693782. DOI: 10.1155/2018/7693782
 26. Voronina O.L., Tartakovskiy I.S., Yuyschuk N.D., Ryzhova N.N., Aksenova E.I., Kunda M.S., et al. Analysis of sporadic cases of invasive listeriosis in a metropolis. *Zhurnal mikrobiologii, jepidemiologii i immunobiologii*. 2020; 97(6):547-555. Russian. (Воронина О.Л., Тартаковский И.С., Ющук Н.Д., Рыжова Н.Н., Аксёнова Е.И., Кунда М.С. и соавт. Анализ спорадических случаев инвазивного листериоза в мегаполисе. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2020; 97(6):547-555.) DOI: 10.36233/0372-9311-2020-97-6-3
 27. Kutuzova A.V., Ryzhova N.N., Kunda M.S., Aksenova E.I., Tikulmina A.N., Klimova E.A., et al. Impact of the COVID-19 pandemic on pathogens of perinatal invasive listeriosis. *Detskie infekcii*. 2021;20(1S):60-61. Russian. (Кутузова А.В., Рыжова Н.Н., Кунда М.С., Аксёнова Е.И., Тикутьмина А.Н., Климова Е.А. и соавт. Влияние пандемии COVID-19 на возбудителей перинатального инвазивного листериоза. Детские инфекции. 2021;20(1S):60-61.)
 28. Klimova E.A., Voronina O.L., Karetkina G.N., Posukhovskiy E.A., Ryzhova N.N., Kunda M.S., et al. Listeriosis and the COVID-19 pandemic. *Infekcionnye bolezni: novosti, mnenija, obuchenie*. 2022;11(1):102-112. Russian. (Климова Е.А., Воронина О.Л., Кареткина Г.Н., Посуховский Е.А., Рыжова Н.Н., Кунда М.С. и соавт. Листерииоз и пандемия COVID-19. Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. 2022;11(1):102-112.) DOI: 10.33029/2305-3496-2022-11-1-102-112
 29. Fischer M., Wamp S., Fruth A., Allerberger F., Flieger A., Halbedel S. Population structure-guided profiling of antibiotic resistance patterns in clinical *Listeria monocytogenes* isolates from Germany identifies pbpB3 alleles associated with low levels of cephalosporin resistance. *Emerg Microbes Infect*. 2020;9:1804-1813. DOI: 10.1080/22221751.2020.1799722
 30. Capita R., Felices-Mercado A., García-Fernández C., Alonso-Calleja C. Characterization of *Listeria monocytogenes* originating from the Spanish meat-processing chain. *Foods*. 2019;8(11):542. DOI: 10.3390/foods8110542
 31. 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;83:1002-1009. DOI: 10.4315/JFP-19-525
 32. Rezaei R., Ahmadi E., Salimi B. Prevalence and antimicrobial resistance profile of *Listeria* species isolated from farmed and on-sale rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Western Iran. *J Food Prot*. 2018;81:886-891. DOI: 10.4315/0362-028X.JFP-17-428
 33. Tsakris A., Papa A., Doubovas J., Antoniadis A. Neonatal meningitis due to multi-resistant *Listeria monocytogenes*. *J Antimicrob Chemother*. 1997;39:553-554. DOI: 10.1093/JAC/39.4.553
 34. Korsak D., Borek A., Daniluk S., Grabowska A., Pappelbaum K. Antimicrobial susceptibilities of *Listeria monocytogenes* strains isolated from food and food processing environment in Poland. *Int J Food Microbiol*. 2012;158:203-208. DOI: 10.1016/J.IJFOODMICRO.2012.07.016