

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2022.10.008

重庆市部分超市鸡肉中单增李斯特菌的 耐药性与分子特征分析

涂闻君¹, 曾政², 赵明³, 侯峰清¹,
蒋兵¹, 方仁东^{1,4}, 蒋佳利^{1,2}

1. 西南大学 动物医学院/动物健康与动物性食品安全国际合作联合实验室, 重庆 400715;
2. 重庆市动物疫病预防控制中心, 重庆 401120; 3. 重庆市江北区畜牧兽医中心, 重庆 400020;
4. 草食动物科学重庆市重点实验室, 重庆 400715

摘要: 为了解重庆市部分地区超市鸡肉中单增李斯特菌(*Listeria monocytogenes*, LM)的耐药性、毒力基因分布和分子特征, 为 LM 监测程序的建立提供一定的数据支撑, 以该地区 5 个超市鸡肉中分离鉴定的 24 株 LM 为研究对象, 选用 19 种抗生素开展药敏试验; 用 PCR 方法检测菌株携带的毒力基因, 并开展血清型分型以及多位点序列分型(Multilocus sequence typing, MLST)研究. 结果显示: 24 株分离株对苯唑西林(96.0%)、头孢噻肟(41.7%)和多粘菌素 B(37.5%)的耐药率较高, 多重耐药率为 29.2%; 24 株单增李斯特菌中 23 株均检测出 10 个毒力基因, 仅 1 株在 *inlB* 基因上出现基因缺失. 血清型分型结果表明: 24 株单增李斯特菌大多为 1/2 型, 另有 4 株致病性较强的 4b 型菌株. MLST 分型共鉴定出 11 个序列型(Sequence type, ST), 其中易引起单增李斯特菌病的常见 ST 型(ST87, ST9, ST2)菌株占 50%(12/24), 并发现 1 个新的 ST 型 ST1011. 该研究结果说明该地区超市鸡肉中单增李斯特菌的污染比较严重, 耐药情况普遍, 且分离株多是致病性较强的菌株. 因此, 加强对超市鸡肉中单增李斯特菌污染的监测和控制对有效降低潜在的风险具有重要的现实意义.

关键词: 单增李斯特菌; 耐药性; 血清型; 毒力基因;

MLST 分型

中图分类号: S851

文献标志码: A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



文章编号: 1673-9868(2022)10-0065-09

Drug Resistance Analysis and Molecular Characterization of *Listeria monocytogenes* in the Chicken Meat from Some Supermarkets in Chongqing

TU Wenjun¹, ZENG Zheng², ZHAO Ming³, HOU Fengqing¹,
JIANG Bing¹, FANG Rendong^{1,4}, JIANG Jiali^{1,2}

收稿日期: 2021-04-22

基金项目: 重庆市高校创新研究群体项目(CXQT20004); 农业部畜禽产品质量安全风险项目(GJFP2021007).

作者简介: 涂闻君, 硕士研究生, 主要从事临床兽医学的研究.

通信作者: 蒋佳利, 助理研究员.

1. College of Veterinary Medicine, Southwest University/Joint International Research Laboratory of Animal Health and Animal Food Safety, Chongqing 400715, China;
2. Chongqing Animal Disease Prevention and Control Center, Chongqing 401120, China;
3. Animal Husbandry and Veterinary Center of Jiangbei District of Chongqing Municipality, Chongqing 400020, China;
4. Chongqing Key Laboratory of Herbivore Science, Chongqing 400715, China

Abstract: To understand the drug resistance, virulence gene distribution and molecular characteristics of *Listeria monocytogenes* (LM) in supermarket chickens in some areas of Chongqing and provide some data support for the establishment of LM monitoring program, a total of 24 strains of LM isolated from the chickens in 5 supermarkets in Chongqing were selected to analyze the drug resistances using 19 antibiotics. By using PCR, the virulence genes carried by those isolates were detected, and serotyping and multilocus sequence typing (MLST) were studied. The results showed that the 24 isolates had higher resistance rates to oxacillin (96.0%), cefotaxime (41.7%) and polymyxin B (37.5%), and multi-drug resistance rate of 29.2%. The isolates exhibited 100% sensitivity to cefalotin, ciprofloxacin, amikacin and nitrofurantoin. Virulence gene test showed that 23 of the 24 strains of LM had all virulence genes and 1 strain is a gene deletion of *inlB* gene. Serotyping indicated that most of the strains were 1/2a, 1/2b and 1/2c, and there were 4 strains of 4b type strain with strong pathogenicity. A total 11 different STs were identified from 24 isolates by MLST. The 50% (12/24) of isolates were the common STs (ST87, ST9, ST2), which are susceptible to LM disease. A new ST, ST1011 was found. Phylogenetic tree analysis showed that the isolates with the same serotype were homogeneous. The results suggested that in supermarkets of Chongqing, contamination of LM in the chicken is considerably serious. In addition, the molecular characteristics analysis also demonstrated that most of the strains are potentially high pathogenic and commonly resistant to drug. It is of great practical significance to strengthen the monitoring and control contamination of LM in the chicken in supermarket for effectively reducing the potential risks.

Key words: *Listeria monocytogenes*; drug resistance; serotyping; virulence gene; multilocus sequence typing (MLST)

单核细胞增生性李斯特菌(*Listeria monocytogenes*, LM)简称单增李斯特菌,为兼性厌氧侵袭性胞内菌,为重要的食源性人畜共患病原菌。LM的致病性与毒力基因密切相关,主要由两个毒力岛群构成:毒力岛1主要与胞内感染有关,由6个主要的毒力基因(*prfA-plcA-hly-mpl-actA-plcB*)编码组成;毒力岛2主要负责黏附与侵袭,由内化素家族(*inlA*, *inlB*, *inlC*到*inlH*)组成^[1]。病原菌在*inlA*和*inlB*的帮助下可穿越胎盘屏障、血脑屏障和肠道屏障^[2],并在各毒力因子的协调下引发流产、早产、胎儿发育障碍以及脑膜炎、胃肠炎和败血症等临床症状。虽然LM感染引起的疾病发生率不高,但据世界卫生组织报道李斯特菌病死亡率却高达23.6%^[3]。目前,临床上主要应用抗生素对李斯特菌病进行治疗,但抗生素的广泛应用和不合理使用,使得LM的耐药现象愈发严重,甚至出现多重耐药菌株^[4]。LM的致病性也与血清型和基因型的差异密切相关。LM的血清型共分为13种,其中1/2a,1/2b,1/2c和4b血清型最易引起人类感染李斯特菌病。MLST分型主要有16种,包括ST9,ST1,ST2,ST3,ST5,ST87,ST121,ST8,ST7,ST59,ST4,ST6,ST122,ST155,ST101和ST199^[5-6]。其中,ST5,ST8,ST9和ST87既是引起李斯特菌病暴发的常见ST型,又是我国耐药菌株的常见ST型^[7-8]。致病性血清型、MLST分型以及耐药性之间是否具有联系,还需进一步的研究。已有研究发现LM的进化主要是菌株不断突变的结果^[9],因此对发生在食品链中LM进行生物学分型检测,并根据分离株的耐药谱、血清型和基因型的分布情况绘制进化树,能有效对污染源进行追踪,从根源上防止单增李斯特菌病的暴发,对保护人类身体健康具有重要的现实意义。

本研究关于重庆地区超市鸡肉中 LM 的污染情况调查、耐药表型分析、血清型分型和 MLST 分子分型方法的应用将为监测程序的建立提供一定的数据支撑。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株

2018 年 6 月至 7 月之间, 24 株来自重庆地区超市鸡肉中分离到的 LM, 均根据食品安全国家标准(GB 4789.30-2010)中《食品微生物学检验—单核细胞增生李斯特氏菌检验》标准方法检测确认。标准菌株是单增李斯特菌 C53005, 大肠杆菌 ATCC25922, 金黄色葡萄球菌 ATCC25923, 沙门氏菌 ATCC50115, 菌株购自中国医学细菌保藏管理中心。

1.1.2 试剂与仪器

2×Taq PCR MasterMix(含染料), 100 bp DNA Ladder, ddH₂O 购自北京 Tiangen 公司; 单增李斯特菌分离所需各种肉汤和试剂, 均购自北京路桥技术有限公司; 19 种抗生素药敏纸片购自赛默飞世尔科技(中国)有限公司; 10 对毒力基因引物由重庆奥哲公司合成, 引物信息见表 1。

表 1 单增李斯特菌毒力基因引物

引物名称	引物序列(5'-3')	片段大小/bp	退火温度/℃	退火时间/s	参考文献
<i>iap</i>	CAAAC TGCTAACACAGCT TTATACGCGACCGAAGCCAA	702	60	30	[10]
<i>prfA</i>	CCCAAGTAGCAGGACATGC ATCACAAAGCTCACGAG	568	52	20	[11]
<i>plcA</i>	TTTATTGCTCGTGTCAGTT CCATTTCTATCCCAGGTAC	371	55	50	[10]
<i>plcB</i>	ACCTGCCAAAGTTTGCTGT AGTGTTCTAGTCTTTCCGG	792	56	30	[11]
<i>mpl</i>	TCAAGTGGACGCAGAAAC AAGCCATAATGAACAAACG	399	55	50	[10]
<i>hly</i>	ACGCAGTAAATACATTAGTG AATAAACTTGACGGCCATAC	372	56	30	[11]
<i>actA</i>	CTTGTGCTTTTCGTGATAGG TTCGCTGAATAGTGGTGAT	353	55	50	[10]
<i>inlA</i>	CCGCACTCACTAACTTAGAG GTTGTTTCTTTGCCGTCCAC	580	56	30	[11]
<i>inlB</i>	AAGTTAAGGACCTAAGTTTCGC TTACCGTTCCATCAACATCA	609	55	60	[12]
<i>inlC</i>	TAGTGTTAATTGTAGGTCTGTG TCAATCTAGTTAGTCCACCTGTAT	570	55	60	[10]

1.2 方法

1.2.1 毒力基因的检测

煮沸法提取菌液 DNA 后进行 PCR 扩增, PCR 的反应条件: ① 25 μ L 反应体系: 2 $\times$ Taq PCR MasterMix (含染料)10 μ L, 正、反向引物(5 μ mol/L)各 1 μ L, DNA 模板 2 μ L, 加 ddH₂O 至 25 μ L; ② 反应程序: 95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 50 s; 退火(表 1); 72 $^{\circ}$ C 延伸 50 s (30 个循环); 72 $^{\circ}$ C 终延伸 10 min.

1.2.2 药物敏感性试验

根据临床实验室标准研究所(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)推荐的单增李斯特菌药物敏感性试验执行标准, 结合临床用药选择青霉素(P, 10 units)、苯唑西林(OX, 30 μ g)、氨苄西林(AMP, 10 μ g)、头孢噻吩(KF, 30 μ g)、头孢哌酮(CFP, 75 μ g)、头孢噻肟(CTX, 30 μ g)、红霉素(E, 15 μ g)、链霉素(S, 10 μ g)、庆大霉素(CN, 10 μ g)、万古霉素(VA, 30 μ g)、多粘菌素 B (PB, 300 units)、四环素(TE, 30 μ g)、多西环素(DO, 30 μ g)、氯霉素(C, 30 μ g)、环丙沙星(CIP, 5 μ g)、阿米卡星(AK, 30 μ g)、磺胺/甲氧苄胺嘧啶(SXT, 25 μ g)、利福平(RD, 5 μ g)及呋喃妥因(F, 300 μ g)共 19 种抗生素, 采用 K-B 纸片扩散法进行药物敏感性试验. 同时用大肠杆菌(ATCC25922)、金黄色葡萄球菌(ATCC25923)和沙门氏菌(ATCC50115)作质量控制, 对每种抗菌药物敏感、中敏和耐药的结果判断参照 CLSI 标准(2013 版)中葡萄球菌属标准执行.

1.2.3 血清学分型

采用 M Doumith 介绍的多重 PCR 法对 LM 的血清型进行检测^[13].

1.2.4 MLST 分型

采用法国巴斯德数据库提供的用于单增李斯特菌的 MLST 分型方法^[14]. 扩增产物先经 1.2% 的琼脂糖凝胶电泳验证, 之后送往上海生工生物技术服务公司纯化并进行测序, 测序结果利用 DNASTar 软件进行拼接, 剪取成对应管家基因的长度, 提交 MLST 数据库得到 7 个管家基因的等位基因编码(<http://www.pasteur.fr/recherche/genopole/PF8/mlst/Lmono.html>), 然后将每株菌 7 个管家基因等位基因编码按相应顺序排列, 提交数据库后便可获得 ST 型.

2 试验结果

2.1 重庆地区鸡肉中 LM 的分离情况

2018 年 6 月至 7 月之间, 从重庆江北区、北碚区、江津区、南岸区、合川区等 5 个区超市的鸡肉中采集 108 份样品, 共分离出 24 株 LM, 分离率为 22.2%.

2.2 24 株 LM 分离株毒力基因的检测结果

利用 PCR 法对 24 株 LM 进行毒力基因检测, 结果 23 株分离株均检测出 10 个毒力基因, 仅 1 株在 *inlB* 基因上出现了基因缺失(表 2), 菌株携带毒力基因普遍, 暗示超市鸡肉中存在潜在威胁, 需引起重视.

表 2 24 株 LM 分离株毒力基因分布情况

基因	<i>iap</i>	<i>prfA</i>	<i>hly</i>	<i>actA</i>	<i>mpl</i>	<i>plcA</i>	<i>plcB</i>	<i>inlA</i>	<i>inlB</i>	<i>inlC</i>
阳性菌株数	24	24	24	24	24	24	24	24	23	24
检出率/%	100	100	100	100	100	100	100	100	95.8	100

2.3 24 株 LM 分离株药物敏感性试验结果

药物敏感性试验结果表明, 分离株对苯唑西林(96.0%)、头孢噻肟(41.7%)和多粘菌素 B(37.5%)的耐药率较高, 而对其余药物耐药率低, 其中对头孢噻吩、环丙沙星、阿米卡星和呋喃妥因完全敏感. 24 株 LM 中耐 2 种以上的抗生素有 7 株, 多重耐药率为 29.2%, 并发现 1 株对 11 种抗生素(AMP-OX-P-E-S-CN-VA-TE-C-SXT-RD)耐药的超级耐药菌, 具体结果见表 3.

表 3 24 株 LM 分离株对 19 种抗生素的药敏结果

抗生素名称	敏感	中敏	耐药	耐药率/%
苯唑西林	0	1	23	96.0
头孢噻肟	7	7	10	41.7
多粘菌素 B	14	1	9	37.5
氨苄西林	17	4	3	12.5
青霉素	22	0	2	8.3
红霉素	23	0	1	4.2
万古霉素	23	0	1	4.2
利福平	23	0	1	4.2
庆大霉素	23	0	1	4.2
氯霉素	23	0	1	4.2
黄胺/甲氧苄胺嘧啶	23	0	1	4.2
链霉素	22	1	1	4.2
四环素	21	2	1	4.2
头孢哌酮	23	1	0	0
多西环素	23	1	0	0
头孢噻吩	24	0	0	0
环丙沙星	24	0	0	0
阿米卡星	24	0	0	0
呋喃妥因	24	0	0	0

2.4 24 株 LM 分离株血清学分型结果

血清学分型结果显示, 24 株 LM 共检出 4 种血清型, 分别为 1/2a,1/2b,1/2c 和 4b 型(图 1). 1/2b 型和 4b 型所占比例分别为 25.0%和 16.6%, 属于谱系 I, 共 10 株; 1/2a 型和 1/2c 型所占比例均为 29.2%, 属于谱系 II, 共 14 株. 多重 PCR 电泳图(图 2)显示: 泳道 1 为单增李斯特菌阳性对照 C53005 4b 型(4b, 4d, 4e); 泳道 2 为 4b 型于 597 bp,474 bp,370 bp 处有扩增片段, 属于单增李斯特菌血清组 4b, 4d, 4e; 泳道 3 为 1/2b 型于 474 bp,370 bp 处有扩增片段, 属于单增李斯特菌血清组 1/2b, 3b, 7; 泳道 4 为 1/2c 型于 906 bp,691 bp,370 bp 处有扩增片段, 属于单增李斯特菌血清组 1/2c, 3c; 泳道 5 为 1/2a 型于 691 bp,370 bp 处有扩增片段, 属于单增李斯特菌血清组 1/2a, 3a; 泳道 6 为阴性对照.

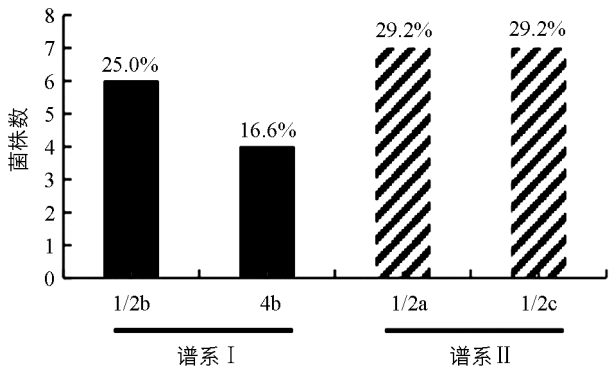


图 1 24 株 LM 分离株血清型分布图

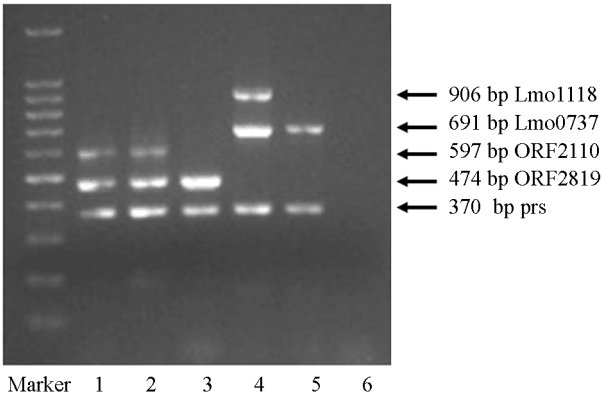


图 2 分子血清型多重 PCR 电泳图

2.5 24 株 LM 分离株 MLST 基因分型结果

MLST 分型共鉴定出 11 个序列型 (Sequence type, ST), 其中易引起单增李斯特菌病的常见 ST 型 (ST87, ST9, ST2) 菌株占 50% (12/24), 并发现 1 个新的 ST 型, 即 ST1011, 目前已提交巴斯德研究所 MLST 数据库. ST87 分布最为广泛, 其次是 ST705, ST9 和 ST2, 具体分布见图 3.

2.6 24 株 LM 分离株耐药谱与血清型、ST 型 UPGMA tree 分析结果

进化树结果显示: 血清型相同的菌株, 其亲缘关系较近. 首先, 血清型和 ST 型之间对应关系紧密, 如 ST87 与 1/2b 型单增李斯特菌对应, ST2 与 4b 型 LM 对应. 此外, 部分 ST 型可对应于同一血清型, 例如 ST705 和 ST9 对应于 1/2c 型 LM; ST155, ST11, ST101, ST121 和 ST8 都对应于 1/2a 型 LM. 其次, 耐受苯唑西林和同时耐受苯唑西林—头孢噻肟的单增李斯特菌 MLST 分型有明显集中趋势, 主要集中在 ST705, ST87 和 ST2 上. 江北区(JB)、江津区(JJ)、南岸区(NA)、合川区(HC)分离到的菌株同源性较高, 大多数耐受苯唑西林, 且血清型均为谱系 II; 而北碚区(BB)分离到的菌株大多耐受苯唑西林—头孢噻肟, 且血清型均为谱系 I, 具体分布见图 4.

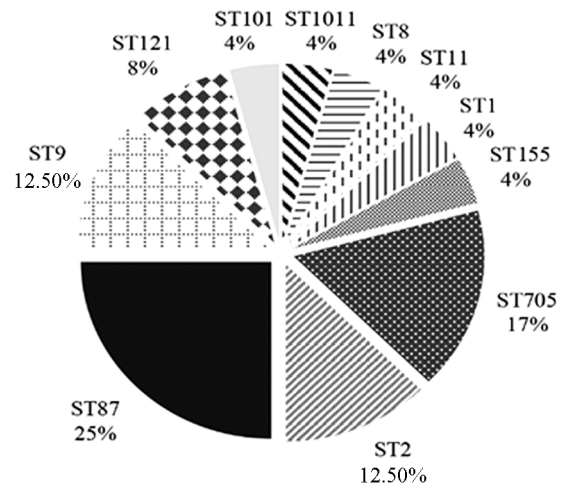


图 3 24 株 LM 分离株 ST 型结果分布图

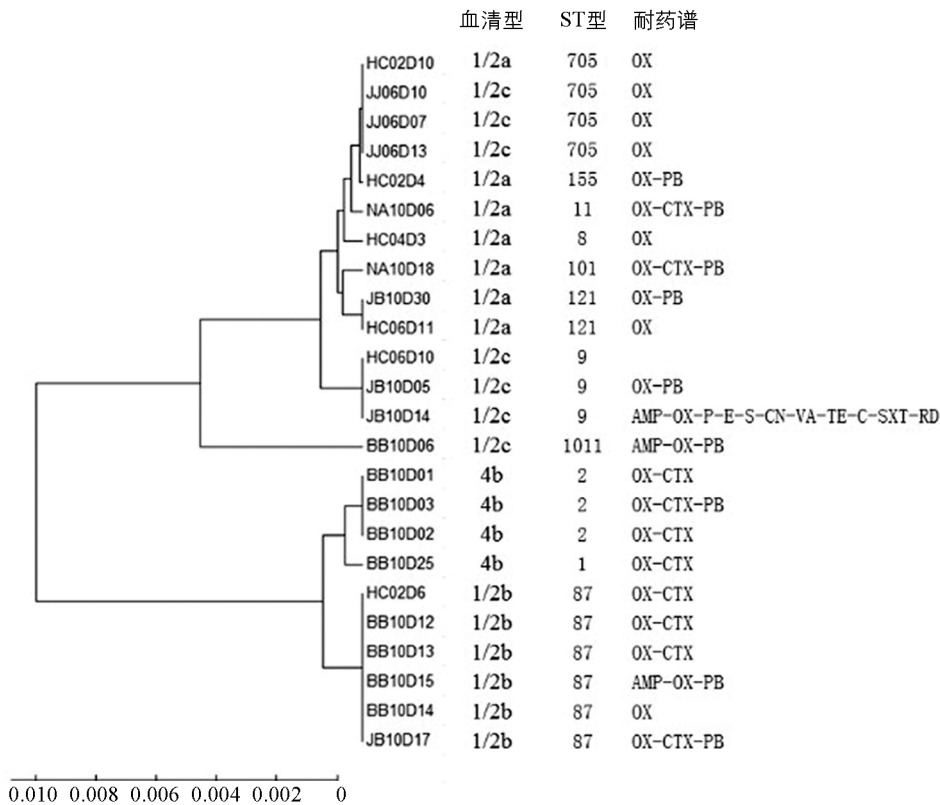


图 4 耐药谱与血清型、ST 型 UPGMA tree 分析图

3 讨论

单增李斯特菌广泛存在于自然界中, 食入被 LM 污染的食品是单增李斯特菌病暴发的主要原因. 在对国内已报道的肉品中 LM 污染情况分析发现, 虽然 2010 年后单增李斯特菌总体分离率较此前有所下降,

但肉品中 LM 的污染率仍然处在较高水平^[15]。且在各类肉品检测结果中,鸡肉中 LM 污染率显著高于其他各类肉品^[16]。因此,鉴定和监测超市鸡肉中 LM 的污染情况,可以确定适当的防控措施,最大限度地减少鸡肉中 LM 的存在,这对于公共卫生安全极为重要。在本研究中,LM 的分离率为 22.2%(24/108),该结果低于蒋兴祥等^[17]的报道(53.3%,16/30),高于乌日娜等^[18]的报道(8.33%,10/120),而与吴晓芳等^[19]的报道基本一致(25%,10/40)。

LM 的血清型共分为 13 种。其中,血清型 1/2a,1/2b,1/2c 和 4b 最易引起人类感染李斯特菌病,也是中国食品中分离 LM 菌株的优势血清型^[20]。有研究显示,超过 95% 的人类李斯特菌病是由血清型 4b,1/2a 和 1/2b 造成的^[21]。本试验中 24 株 LM 大多为 1/2a,1/2b 和 1/2c 型,另有 4 株致病性较强的 4b 型菌株,该结果与 Sosnowski 等^[22]报道的基本一致。虽然鸡肉中致病性 LM 血清型污染率很高,但目前我国李斯特菌病报道的较少,可能与我国对该菌的监测系统和检测水平不高有关。

由于血清型对 LM 的分辨能力过低,因此,它不能对该菌进行准确溯源。而多位点序列分型(MLST)方法,是在多位点酶切电泳技术的基础上为研究菌群基因结构而设计的一种高分辨率分型技术。据文献报道,ST5,ST8,ST9 和 ST87 是引起食源性 LM 暴发的主要 ST 型,常造成人类感染单增李斯特菌病^[7-8]。在本次试验中,24 株 LM 鉴定出 11 个 ST 型,其中易引起单增李斯特菌病的常见 ST 型(ST87,ST9,ST2)菌株占 50%(12/24),并发现 1 个新的 ST 型,即 ST1011。进化树分析结果显示分离株血清型相同的菌株,亲缘关系较近。首先对比 MLST 与血清型发现,LM 血清型和 ST 型之间都有着十分紧密的对应关系,并且大部分 ST 型与血清型存在一一对应的关系,如 ST87 与 1/2b 型对应,ST2 与 4b 型对应;但也有 2 种或以上 ST 型可对应于同一血清型,例如 ST705 和 ST9 对应于 1/2c 型,ST155,ST11,ST101,ST121 和 ST8 都对应于 1/2a 型。其次,耐受苯唑西林和同时耐受苯唑西林—头孢噻肟的单增李斯特菌 MLST 分型有明显集中趋势,主要集中在 ST705,ST87 和 ST2 上;而 Wu 等^[14]的结果与该试验不一致,它主要集中在 ST8,ST1 和 ST87 上。MLST 分型技术可以较好地用于肉品中单增李斯特菌污染的分子溯源,但本研究仅从鸡肉中分离到 LM 并做 MLST 分型分析其危害性,未能对鸡肉中 LM 污染的来源进行深入研究。后续可从超市环境中中和鸡的屠宰加工车间采样分离 LM,与鸡肉中分离的 LM 进行分子分型研究,找出鸡肉中 LM 污染的关键风险点,为进一步降低鸡肉中 LM 的污染提供技术支持。

近年来,食品中分离出的 LM 对抗生素的耐药现象愈加严重,这无疑给食品安全带来了潜在性威胁。抗生素的广泛使用会导致耐药菌株的产生,刀丽梅等^[23]和周瑶琴等^[24]发现鸡源和牛源分离株中耐药菌占大部分,且表现为多重耐药现象。本试验中 LM 主要耐受苯唑西林、头孢噻肟和多粘菌素 B;对四环素、红霉素、氯霉素、环丙沙星敏感性较高,这与闫韶飞等^[25]和赵悦等^[26]的报道恰恰相反,与 Chen 等^[27]的报道结果不完全一致,而与王红等^[28]报道的结果较一致。另外,在本试验中部分菌株已对一线药物氨苄西林和青霉素产生了耐药性。24 株分离株中耐 2 种以上抗生素的有 7 株,多重耐药率为 29.2%,该结果与 Sosnowski 等^[22]的报道基本一致(27.4%,40/146),而高于 Wiczorek 等^[29]的报道(3.5%,2/57)。值得注意的是,这些耐药菌株大多分布在我国常见 LM 的 ST 型(ST87,ST705,ST9 和 ST2)中。其中,在 ST9 型菌株中发现 1 株对 11 种抗生素耐药的超级耐药菌,这与之前研究报道的 ST9 型菌株多重耐药现象较严重相符^[30]。应对该超级耐药菌株做进一步研究,这将有助于阐明 ST9 型菌株与多重耐药的关系。本研究还发现,分离株血清型相同的菌株,其耐药株 ST 型和引起单增李斯特菌病常见 ST 型具有相近的流行趋势,均主要分布在 ST87,ST9,ST705 型中,这三者之间是否具有一定的遗传进化关系,还需要做进一步研究。

目前,关于 LM 在鸡肉中致病性的研究较少,毒力基因编码的毒力因子是 LM 致病的分子基础。通过检测毒力基因,可以了解这些基因在重庆 LM 中的分布。LM 感染宿主的每一步均有特定的毒力基因编码的毒力因子的精确调控。*prfA* 是毒力岛上一个转录调控基因,对岛上其他基因的表达进行调控,它的缺

失将直接导致 LM 毒力的下降^[31]。因此, LM 毒力基因携带率越高, 其致病性也将越强, 反之则导致致病性的消失或下降。本试验 24 株分离株中, 23 株均检测出 10 个毒力基因, 仅 1 株在 *inlB* 基因上出现基因缺失。这与宫照龙等^[11]和廖兴广等^[32]的研究结果基本一致。但有文献报道, LM 为了更好地适应环境, 其毒力基因在自然条件下都存在不同程度的缺失^[10,33]。因此, 我们在对 LM 毒力基因建立检测时, 要考虑到毒力基因缺失导致检测结果假阳性的问题, 从而更好地防控李斯特菌病的暴发。

参考文献:

- [1] VÁZQUEZ-BOLAND J A, KUHN M, BERCHE P, et al. *Listeria* Pathogenesis and Molecular Virulence Determinants [J]. *Clinical Microbiology Reviews*, 2001, 14(3): 584-640.
- [2] SCHLECH W F, LAVIGNE P M, BORTOLUSSI R A, et al. Epidemic *Listeriosis*—Evidence for Transmission by Food [J]. *The New England Journal of Medicine*, 1983, 308(4): 203-206.
- [3] DE NOORDHOUT C M, DEVLEESSCHAUWER B, ANGULO F J, et al. The Global Burden of *Listeriosis*: a Systematic Review and Meta-Analysis [J]. *The Lancet Infectious Diseases*, 2014, 14(11): 1073-1082.
- [4] WIECZOREK K, DMOWSKA K, OSEK J. Prevalence, Characterization, and Antimicrobial Resistance of *Listeria monocytogenes* Isolates from Bovine Hides and Carcasses [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(6): 2043-2045.
- [5] RAGON M, WIRTH T, HOLLANDT F, et al. A New Perspective on *Listeria monocytogenes* Evolution [J]. *PLoS Pathogens*, 2008, 4(9): e1000146.
- [6] CHENAL-FRANCISQUE V, LOPEZ J, CANTINELLI T, et al. Worldwide Distribution of Major Clones of *Listeria monocytogenes* [J]. *Emerging Infectious Diseases*, 2011, 17(6): 1110-1112.
- [7] WANG Y, ZHAO A L, ZHU R F, et al. Genetic Diversity and Molecular Typing of *Listeria monocytogenes* in China [J]. *BMC Microbiology*, 2012, 12: 119.
- [8] WANG Y, JIAO Y, LAN R T, et al. Characterization of *Listeria monocytogenes* Isolated from Human *Listeriosis* Cases in China [J]. *Emerging Microbes & Infections*, 2015, 4(1): 1-3.
- [9] PARISI A, LATORRE L, NORMANNO G, et al. Amplified Fragment Length Polymorphism and Multi-Locus Sequence Typing for High-Resolution Genotyping of *Listeria monocytogenes* from Foods and the Environment [J]. *Food Microbiology*, 2010, 27(1): 101-108.
- [10] 陈朔. 食源性单增李斯特菌的分离鉴定、药物敏感性及毒力因子的检测 [D]. 石河子: 石河子大学, 2016.
- [11] 宫照龙, 祝仁发, 叶长芸, 等. 118 株单核细胞增生李斯特菌的毒力基因检测 [J]. *疾病监测*, 2007, 22(5): 299-301.
- [12] 贾艳艳, 何雷, 郁川, 等. 洛阳地区鸡肉中单增李斯特菌毒力基因的分布研究 [J]. *河南农业科学*, 2015, 44(1): 135-138.
- [13] DOUMITH M, BUCHRIESER C, GLASER P, et al. Differentiation of the Major *Listeria monocytogenes* Serovars by Multiplex PCR [J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2004, 42(8): 3819-3822.
- [14] WU S, WU Q P, ZHANG J M, et al. Analysis of Multilocus Sequence Typing and Virulence Characterization of *Listeria monocytogenes* Isolates from Chinese Retail Ready-to-Eat Food [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 168.
- [15] LIU Y T, SUN W X, SUN T M, et al. The Prevalence of *Listeria monocytogenes* in Meat Products in China: a Systematic Literature Review and Novel Meta-Analysis Approach [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2020, 312: 108358.
- [16] INOUE S, NAKAMA A, ARAI Y, et al. Prevalence and Contamination Levels of *Listeria monocytogenes* in Retail Foods in Japan [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2000, 59(1/2): 73-77.
- [17] 蒋兴祥, 赵霞赞, 何婷婷. 生鸡肉中单核细胞增生李斯特菌的污染监测 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2007, 17(1): 119, 147.
- [18] 乌日娜, 刘翔, 郭邦成, 等. 银川市市售食品中单增李斯特菌污染状况分析研究 [J]. *安徽农业科学*, 2014, 42(18):

5958-5961.

[19] 吴晓芳, 程平庆, 徐德顺. 湖州市食品中单增李斯特菌的污染状况调查 [J]. 中国卫生检验杂志, 2007, 17(10): 1876-1877.

[20] LI W W, BAI L, FU P, et al. The Epidemiology of *Listeria monocytogenes* in China [J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2018, 15(8): 459-466.

[21] FUGETT E B, SCHOONMAKER-BOPP D, DUMAS N B, et al. Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE) Analysis of Temporally Matched *Listeria monocytogenes* Isolates from Human Clinical Cases, Foods, Ruminant Farms, and Urban and Natural Environments Reveals Source-Associated as Well as Widely Distributed PFGE Types [J]. Journal of Clinical Microbiology, 2007, 45(3): 865-873.

[22] SOSNOWSKI M, LACHTARA B, WIECZOREK K, et al. Antimicrobial Resistance and Genotypic Characteristics of *Listeria monocytogenes* Isolated from Food in Poland [J]. International Journal of Food Microbiology, 2019, 289: 1-6.

[23] 刀丽梅, 韩冠双, 曹立亭, 等. 12 株牛源肺炎克雷伯菌 ESBLs 类抗生素的耐药性与耐药基因检测 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2017, 39(5): 49-53.

[24] 周瑶琴, 游风, 高彤, 等. 鸡源致病性大肠杆菌的分离鉴定及耐药性分析 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2018, 40(5): 23-29.

[25] 闫韶飞, 裴晓燕, 杨大进, 等. 2012 年中国食源性单核细胞增生李斯特菌耐药特征及多位点序列分型研究 [J]. 中国食品卫生杂志, 2014, 26(6): 537-542.

[26] 赵悦, 付萍, 裴晓燕, 等. 中国食源性单核细胞增生李斯特菌耐药特征分析 [J]. 中国食品卫生杂志, 2012, 24(1): 5-8.

[27] CHEN Y T, CHEN M T, WANG J, et al. Heterogeneity, Characteristics, and Public Health Implications of *Listeria monocytogenes* in Ready-to-Eat Foods and Pasteurized Milk in China [J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 11: 642.

[28] 王红, 张正东, 陈燕梅, 等. 自贡市食品中单核细胞增生李斯特菌污染状况的调查及药敏结果分析 [J]. 现代预防医学, 2008, 35(23): 4679-4680, 4683.

[29] WIECZOREK K, OSEK J. Prevalence, Genetic Diversity and Antimicrobial Resistance of *Listeria monocytogenes* Isolated from Fresh and Smoked Fish in Poland [J]. Food Microbiology, 2017, 64: 164-171.

[30] YAN S F, WANG W, BAI L, et al. Antimicrobial Resistance, Virulence Profile, and Molecular Characterization of *Listeria monocytogenes* Isolated from Ready-to-eat Food in China, 2013-2014 [J]. 生物医学与环境科学, 2016, 29(6): 448-452.

[31] FREITAG N E, RONG L, PORTNOY D A. Regulation of the *prfA* Transcriptional Activator of *Listeria monocytogenes*: Multiple Promoter Elements Contribute to Intracellular Growth and Cell-to-Cell Spread [J]. Infection and Immunity, 1993, 61(6): 2537-2544.

[32] 廖兴广, 张秀丽, 刘辰, 等. 河南省食源性单增李斯特菌毒力基因的变化研究 [J]. 现代预防医学, 2011, 38(20): 4248-4250, 4255.

[33] 乌日娜, 郭邦成, 陈福生. 宁夏食源性单增李斯特菌毒力基因的分布研究 [J]. 宁夏大学学报(自然科学版), 2016, 37(2): 205-210.

责任编辑 周仁惠