

苏州市食源性单核细胞增生李斯特菌的全基因组测序分析

王小龙, 汤全英, 邹文燕, 崔家瑞, 董泽丰, 张梦寒, 朱莉勤*

(苏州市疾病预防控制中心病原微生物与生物检验科, 苏州 215004)

摘 要: 目的 应用高通量测序技术分析苏州市食源性单核细胞增生李斯特菌(*Listeria monocytogenes*, Lm)的毒力基因携带情况、分子分型、遗传进化谱系及遗传进化关系等分子特征。**方法** 对 2016—2020 年分离自食品的 42 株 Lm 进行全基因组测序, 运用 CLC Genomics Workbench 21.0.4 软件进行组装及毒力基因和耐药基因分析; 通过与 BIGSdb-Lm 数据库比对获得谱系、克隆群(clone complexes, CC)、血清群、多位点序列分型(multilocus sequence typing, MLST)、核心基因组多位点序列分型(core genome multilocus sequence typing, cgMLST); 利用柏熠微生物分析平台 v4.0 构建最大似然树。**结果** 42 株 Lm 共包含两个谱系, 谱系 I 和谱系 II, 以谱系 II 为主(83.3%)。血清群分为 II_a、II_b 和 II_c, 以 II_a 为主(57.1%)。42 株 Lm 分为 11 个 CC 型, 11 个序列型(sequence type, ST 型), 优势型别是 CC9、CC8 和 CC121, 占比 61.9%。菌株携带毒力基因数量均在 30 个以上, 涉及 LIPI-1、LIPI-2、LIPI-3 3 个毒力岛。LIPI-1 中 *actA* 检出率为 76.2%, *prfA*、*plcA*、*hly*、*mpl*、*plcB* 检出率均为 100.0%。LIPI-2 中 *inlF* 的检出率为 81.0%, *inlB* 检出率为 97.6%, *inlA*、*inlC*、*inlJ*、*inlK*、*inlP* 等 5 种基因检出率均为 100.0%。只有 1 株菌携带 LIPI-3。菌株携带耐药基因有 *FosX*、*mprF*、*lin*、*norB*、*tetM*、*dfrG* 等 6 个基因, 携带 3 种以上毒力基因的菌株数量达到 78.6%。**结论** 苏州市食源性 Lm 的分子型别较为多样且具有优势型别, 普遍携带较多毒力基因和多个耐药基因, 应加强监测。

关键词: 单核细胞增生李斯特菌; 食源性; 全基因组测序

Whole genome sequencing analysis of foodborne *Listeria monocytogenes* in Suzhou

WANG Xiao-Long, TANG Quan-Ying, ZOU Wen-Yan, CUI Jia-Rui,
DONG Ze-Feng, ZHANG Meng-Han, ZHU Li-Qin*

(Pathogenic Microbiology and Biological Laboratory, Suzhou Center for Disease Control and Prevention, Suzhou 215004, China)

ABSTRACT: Objective To analyze the molecular characteristics of foodborne *Listeria monocytogenes* (Lm) in Suzhou by high-throughput sequencing technology, including virulence gene carrying status, molecular typing,

基金项目: 苏州市医学重点学科项目(SZ XK202117)、苏州市重大疾病、传染病预防和控制关键技术项目(GWZX202002)、苏州市卫生青年骨干人才“全国导师制”培训项目(QNGG2022030)

Fund: Supported by the Medical Key Discipline of Suzhou (SZ XK202117), the Key Technologies for Prevention and Control of Major Diseases and Infectious Diseases in Suzhou (GWZX202002), and the “National Tutor System” Training Program for Health Youth Backbone Talents in Suzhou (QNGG2022030)

***通信作者:** 朱莉勤, 主任技师, 主要研究方向为病原微生物检测。E-mail: 335945900@qq.com

***Corresponding author:** ZHU Li-Qin, Chief Technician, Pathogenic Microbiology and Biological Laboratory, Suzhou Center for Disease Control and Prevention, Suzhou 215004, China. E-mail: 335945900@qq.com

genetic evolutionary lineage and genetic evolutionary relationship. **Methods** The whole genomes of 42 strains of *Lm* isolated from food during 2016 to 2020 were sequenced. CLC Genomics Workbench 21.0.4 software was used to assemble the genomes, and analyze their drug-resistance genes and virulence genes. Lineage, clone complexes (CC), serogroup, multilocus sequence typing (MLST), core genome multilocus sequence typing (cgMLST) were obtained by aligning with the BIGSdb-*Lm* database. The maximum likelihood tree was constructed using the Baiyi microbial analysis platform v4.0. **Results** The 42 strains of *Lm* contained 2 lineages, lineage I and lineage II, and lineage II was the predominant (83.3%). The serogroups were divided into II_a, II_b and II_c, with II_a being the predominant (57.1%). The 42 strains of *Lm* were divided into 11 CC types (also 11 sequence types), and the dominant types were CC9, CC8 and CC121, accounting for 61.9%. Each strain carried more than 30 virulence genes, involving LIPI-1, LIPI-2 and LIPI-3. The detection rate of *actA* in LIPI-1 was 76.2%, and the detection rates of *prfA*, *plcA*, *hly*, *mpl*, and *plcB* were all 100.0%. In LIPI-2, the detection rate of *inlF* was 81.0%, that of *inlB* was 97.6%, and that of *inlA*, *inlC*, *inlJ*, *inlK*, and *inlP* were all 100.0%. Only one strain carried LIPI-3. The *Lm* strains carried 6 drug resistance genes, such as *FosX*, *mprF*, *lin*, *norB*, *tetM*, *dfrG*, and 78.6% of the strains carried more than 3 virulence genes. **Conclusion** The molecular types of foodborne *Lm* in Suzhou are diverse but have dominant types. The strains generally carried many virulence genes and multiple drug resistance genes, and monitoring should be strengthened.

KEY WORDS: *Listeria monocytogenes*; foodborne; whole genome sequencing

0 引言

单核细胞增生李斯特菌(*Listeria monocytogenes*, *Lm*)属于革兰氏阳性兼性厌氧菌,是导致人类李氏杆菌病的主要病原菌^[1]。李氏杆菌病是一种高致死率的人畜共患病,对老年人、免疫缺陷人群、新生儿、怀孕妇女尤其危险,能导致败血症、脑膜炎、乙型脑炎、流产和死产^[1-3]。*Lm*分布广泛且对环境的耐受能力强,4℃的环境中仍可生长繁殖,可对食用的肉、奶、蛋、水产品、蔬菜及冷冻食品等造成不同程度的污染^[4-5]。

分子分型是对 *Lm* 进行监测的重要手段。*Lm* 常见的分子分型方法有:脉冲场凝胶电泳(pulsed-field gel electrophoresis, PFGE)分型、多位点序列分型(multilocus sequence typing, MLST)和克隆群(clone complexes, CC)型。PFGE 分型分辨力高,但操作费时费力。MLST 是利用 7 个管家基因(*abcZ*、*bglA*、*cat*、*dapE*、*dat*、*ldh*、*lhcA*)的不同组合进行分型。CC 型也是基于 MLST 分型的 7 个基因位点来划分的,同一个 CC 型中任意两个菌株之间的 ST 基因位点差别不超过 1 个^[6-8]。MLST 分型和 CC 型便于不同区域之间的型别比较或同一区域不同时间的主要型别变化分析,但这 2 种方法由于监测的基因位点较少,分辨力有限。核心基因组多位点序列分型 1748 (core genome multilocus sequence typing 1748, cgMLST1748)分型采用了 1748 个核心基因组位点进行分型,是随着全基因组测序技术的发展新出现的分型方法。cgMLST 分型可以监测一千多个基因位点,应该具有更高的分辨力和更好的溯源效果,但该方法没有 MLST 分型和 CC 型普及,监测效果需要更多的数据

积累。本研究对苏州市 42 株食源性 *Lm* 进行全基因组测序,并对其进行 MLST 型别、CC 型别及 cgMLST 分型,并对三者进行比较。此外利用测序数据分析菌株毒力基因及耐药基因携带情况,亲缘关系演化情况,旨在掌握苏州市食源性 *Lm* 的分子特征和分布特点,为长期监测和快速溯源提供基础数据,也为不同监测方法的适用情景提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

42 株 *Lm* 分离自 2016—2020 年在苏州市 6 个区和 4 个县级市抽检的食品,涵盖生鲜肉、预制肉、熟肉、水产品及其制品、蔬菜、寿司等 6 个类别。按照 GB 4789.30—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 单核细胞增生李斯特氏菌检验》对样品进行处理,增菌后采用李斯特菌显色平板进行初步鉴定, VITEK 2 Compact 全自动微生物鉴定系统进行确认鉴定。

李斯特菌显色平板(上海欣中公司); LB 增菌液、木糖发酵管、鼠李糖发酵管(北京陆桥公司); VITEK 2 革兰氏阳性菌鉴定卡(法国 bioMérieux 公司); 血平板(广东环凯公司); 核酸提取试剂盒(瑞士罗氏公司); 1 mol/L Tris-HCl、0.5 mol/L 乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA)(北京索莱宝科技有限公司); Qubit dsDNA BR Assay Kit 试剂盒(美国 Life Invitrogen 公司); DNA Prep Tagmentation 试剂盒、Miseq Reagent Kit V2 试剂盒(美国 Illumina 公司)。

1.2 仪器与设备

MagNA Pure 24 System 全自动核酸提取纯化仪(瑞士罗氏

公司); Qubit 3.0 Fluorometer 荧光定量仪(美国 Life Invitrogen 公司); Miseq Illumina 测序仪(美国 Illumina 公司); VITEK 2 Compact 全自动微生物鉴定系统(法国 bioMérieux 公司)。

1.3 全基因组测序、组装及最大似然树的构建

-80℃保存的菌株经李斯特菌显色平板 36℃培养 24 h 后,挑取蓝色有晕菌落接种血平板 36℃培养 20 h。挑取菌落于缓冲溶液(20 mmol/L Tris-HCl, 5 mmol/L EDTA)重悬,用 MagNA Pure 24 System 全自动核酸提取仪提取核酸。用 Qubit 3.0 Fluorometer 荧光定量仪测定 DNA 浓度。按 Illumina DNA Prep Tagmentation 试剂盒操作说明书进行文库构建。用 Illumina Miseq 测序仪进行测序,测序深度设定为 $\geq 100\times$ 。

将测序获得的原始序列(Raw reads)在 CLC Genomics Workbench 21.0.4 软件上用 Trimming 模块去除低质量数据, 然后进行从头拼装(De Novo Assembly), 对组装后的 contigs 用菌株编号命名。利用柏熠微生物分析平台 v4.0, 以北京 Lm 分离株(NCBI Locus: CP015593)作为参考序列进行全基因组组装和最大似然树的构建(maximum likelihood tree, ML tree), 将输出结果上传到 iTOL 线上平台(<https://itol.embl.de/>)进行图形美化和信息注释。

1.4 血清型分型

本研究对菌株采用聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)血清型分类方法。BIGSdb-Lm 数据库中 PCR 血清型有 II_a、II_b、II_c、IV_a、IV_b 共 5 个型别。将组装后的菌株 contigs 逐个上传到 BIGSdb-Lm 数据库(<https://bigsdb.pasteur.fr/listeria/>) PCR-serogroup 模块进行分析, 获得每个菌株的 PCR 血清型。

1.5 谱系、CC 型、MLST 分型及 cgMLST 分型

MLST 分型和 CC 型所依据的 7 个管家基因分别是 *abcZ*、*bglA*、*cat*、*dapE*、*dat*、*ldh*、*lhcA*。Lm 谱系结果也是基于上述 7 个基因位点划分的, 可分为 I、II、III 和 IV 4 个谱系。将组装后的菌株 contigs 逐个上传到 BIGSdb-Lm 数据库(<https://bigsdb.pasteur.fr/listeria/>) MLST 模块进行分析, 获得每个菌株的谱系, CC 型及 MLST 分型。利用 BioNumerics v8.0 软件进行 MLST 型、CC 型及 PCR 血清型聚类图的绘制。cgMLST 是依据 1748 个基因位点来分型的。将组装后的菌株 contigs 逐个上传到 BIGSdb-Lm 数据库(<https://bigsdb.pasteur.fr/listeria/>) cgMLST1748 模块进行分析, 获得每个菌株 cgMLST 型别。

1.6 毒力基因及耐药基因分析

毒力基因分析基于毒力因子数据库(virulence factors database, VFDB)。耐药基因的查找基于 CARD 数据库和 ResFinder 数据库。这两种数据库内置于 CLC Genomics Workbench 21.0.4 软件 Find Resistance with Nucleotide DB 模块中。将组装后的菌株 contigs 提交到上述模块中进行数据比对, 再将比对结果逐个导出, 用 Excel 2007 进行结果统计和数据分析。利用 BioNumerics v8.0 软件进行菌株毒力基因聚类图的绘制。

2 结果与分析

2.1 谱系与毒力基因分析

由图 1 可知, 42 株 Lm 大多属于谱系 II, 占 83.3%, 其余属于谱系 I, 未发现谱系 III 和谱系 IV。42 株 Lm 携带

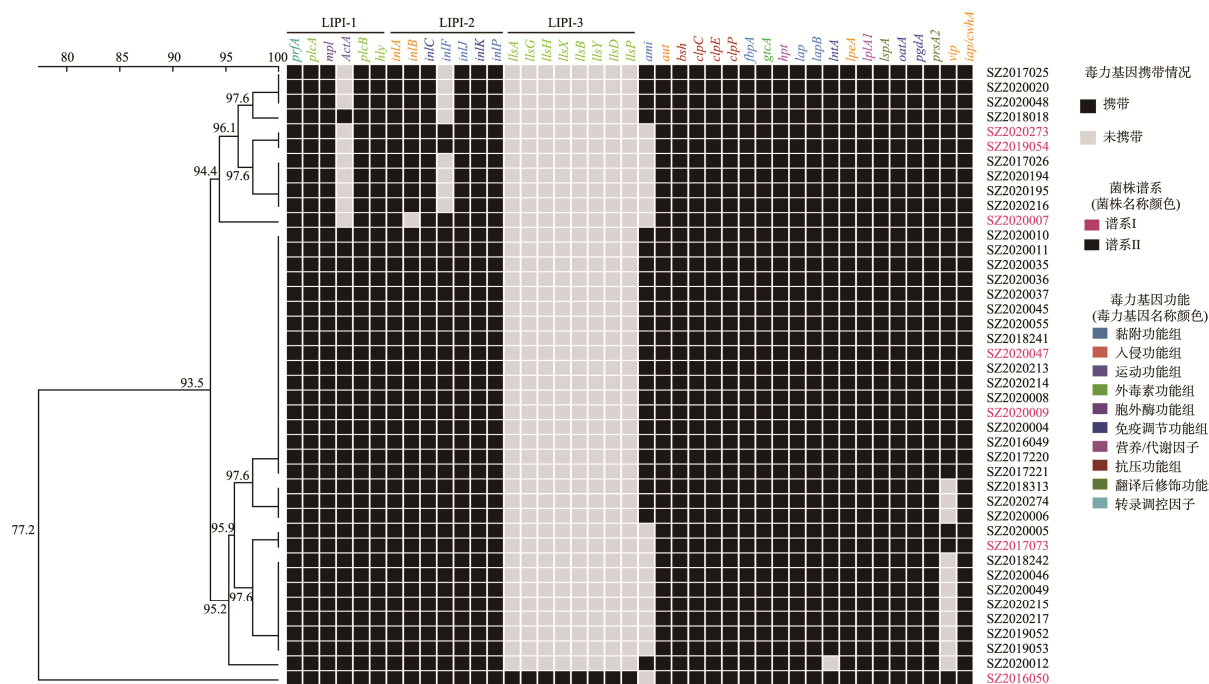


图 1 42 株 Lm 毒力基因携带情况聚类图

41 种毒力基因, 功能包括黏附、入侵、运动、外毒素、抗压等。本研究检出了毒力岛 LIPI-1、LIPI-2 和 LIPI-3。LIPI-1 主要由 *prfA*、*plcA*、*hly*、*mpl*、*actA* 和 *plcB* 等 6 个毒力基因组成^[7,9], 其中 *actA* 检出率为 76.2%, 其他 5 种毒力基因检出率均为 100.0%。LIPI-2 与 Lm 的黏附、侵袭有关, 由 *inlA*、*inlB*、*inlC* 等多个内化素组成^[9], 本研究检出了 7 个相关基因, 分别为 *inlA*、*inlB*、*inlC*、*inlF*、*inlJ*、*inlK*、*inlP*, 其中 *inlF* 的检出率为 81.0%, *inlB* 检出率为 97.6%, 其他 5 种基因检出率均为 100.0%。LIPI-3 编码李斯特菌溶血素 S, 共包含 8 种基因, 只有 SZ2016050 携带该毒力岛的 8 种基因, 其他菌株不携带相关基因。携带毒力基因最多的菌株为 SZ2016050, 携带 40 种毒力基因。所有菌株携带的毒力基因数量均在 30 个以上。

2.2 耐药基因分析

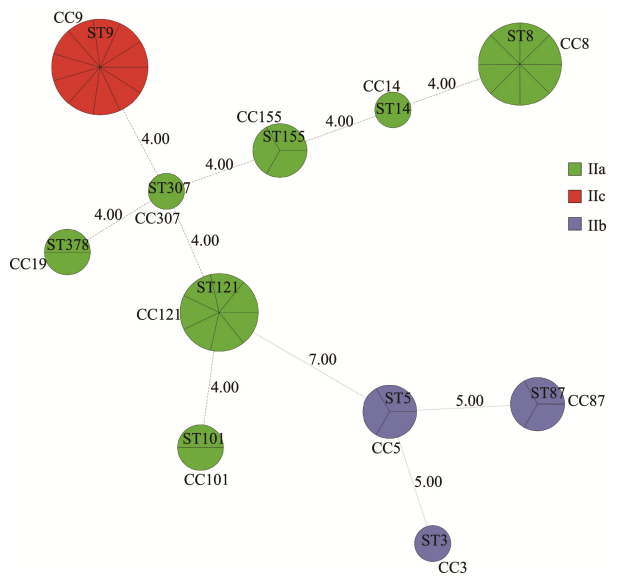
42 株 Lm 的耐药基因检出情况见表 1。42 株 Lm 携带 *mprF*、*FosX*、*lin*、*tetM*、*dfrG*、*norB* 等 6 种耐药基因, 分别与耐受多肽类、磷霉素类、林可酰胺类、四环素类、甲氧苄啶类、氟喹诺酮类抗生素有关。检出率最高的 3 种耐药基因分别为 *FosX*、*mprF* 和 *lin*, 检出率分别为 100.0%、95.2% 和 71.4%。*tetM* 和 *dfrG* 检出率较低, 均为 7.1%。共发现了 6 种多重耐药模式, 其中以 *mprF*+*FosX*+*norB*+*lin* 占比最高, 达到 47.6%。在多重耐药菌株中, *mprF*+*FosX*+*lin* 出现的频率最高, 达到 87.9%。携带 3 种以上耐药基因的比例高达 78.6%。

表 1 42 株 Lm 的耐药基因检出情况		
Table 1 Antimicrobial resistance genotype of 42 strains of Lm		
耐药基因	阳性菌株数量	阳性菌株比例/%
<i>FosX</i>	42	100.0
<i>mprF</i>	40	95.2
<i>lin</i>	30	71.4
<i>norB</i>	22	52.4
<i>tetM</i>	3	7.1
<i>dfrG</i>	3	7.1
<i>norB</i> + <i>mprF</i> + <i>FosX</i>	1	2.4
<i>FosX</i> + <i>norB</i> + <i>lin</i>	2	4.8
<i>mprF</i> + <i>FosX</i> + <i>lin</i>	7	16.7
<i>mprF</i> + <i>FosX</i> + <i>tetM</i> + <i>dfrG</i>	1	2.4
<i>mprF</i> + <i>FosX</i> + <i>norB</i> + <i>lin</i>	20	47.6
<i>mprF</i> + <i>FosX</i> + <i>lin</i> + <i>tetM</i> + <i>dfrG</i>	2	4.8
携带 3 种以上毒力基因合计	33	78.6

2.3 PCR 血清型与 CC 型分析

由图 2 可知, 42 株菌分属 II_a、II_b、和 II_c 3 个血清型, 其

中 II_a 为优势血清型, 占 57.1%。42 株菌分为 11 种 CC 型, 本研究结果 ST 型与 CC 型数字基本是一致的, 只有一种 ST 型与 CC 型数字不一致, 即 ST378 型属于 CC19。CC9、CC8、CC121 属于优势型别, 共占 61.9%, 与侯配斌等^[10]报道的山东省食源性分离株的检测结果相近。北京 110 株分离自肉类产品的 Lm, ST9 和 ST121 是优势型别, 共占 50.9%^[11], 本研究这两种型别检出率为 42.9%, 比其略低。康立超等^[12]报道的新疆食源性 Lm 中 CC9、CC8、CC121 也是其主要型别, 但其另一主要型别 CC1 在我市未检出。PCR 血清型和 CC 型具有一定相关性。II_c 血清型都为 CC9, II_b 血清型包括 CC3、CC5、CC87, 其余 7 个 CC 型都属于 II_a 血清型。



注: 圆圈大小及分区个数表示菌株数, 连线上数字代表等位基因的差数。

图 2 42 株 Lm 的 MLST 分型及血清型聚类图
Fig.2 MLST typing and serotype clustering diagram of 42 strains of Lm

2.4 MLST 分型、cgMLST 分型、全基因组进化树

由图 3 可知, 经 MLST 分型, 42 株菌分为 11 种 STs, ST9、ST8、ST121 属于 MLST 优势型别, 分别占 26.2% (11/42)、19.0% (8/42)、16.7% (7/42)。42 株 Lm 分为 21 种 cgMLST 型, 以 BIGSdb-Lm 数据库 closest profile ID 的数字来命名型别。每个 cgMLST 型包含 1~8 株菌, 12 种型别仅含 1 株菌, 优势型别是 11860 和 20540, 分别占 19.0% (8/42) 和 14.3% (6/42)。同一种 cgMLST 型所包含菌株的 ST、CC、谱系、PCR 血清型都是相同的, 而同样的 ST 型可能包含几个不同的 cgMLST 型, 如 20540 型包含 6 株 ST9, 但 11 株 ST9 分属于 5 个 cgMLST 型。进化树分为 11 个进化分支, 与 MLST 分型具有一一对应关系。相同的 cgMLST 型别都聚集在一起或者具有较近的进化距离。主要样品类型(数量大于 5)在各进化分支的分布较为分散, 与各进化分支之间没有明显的相关关系。

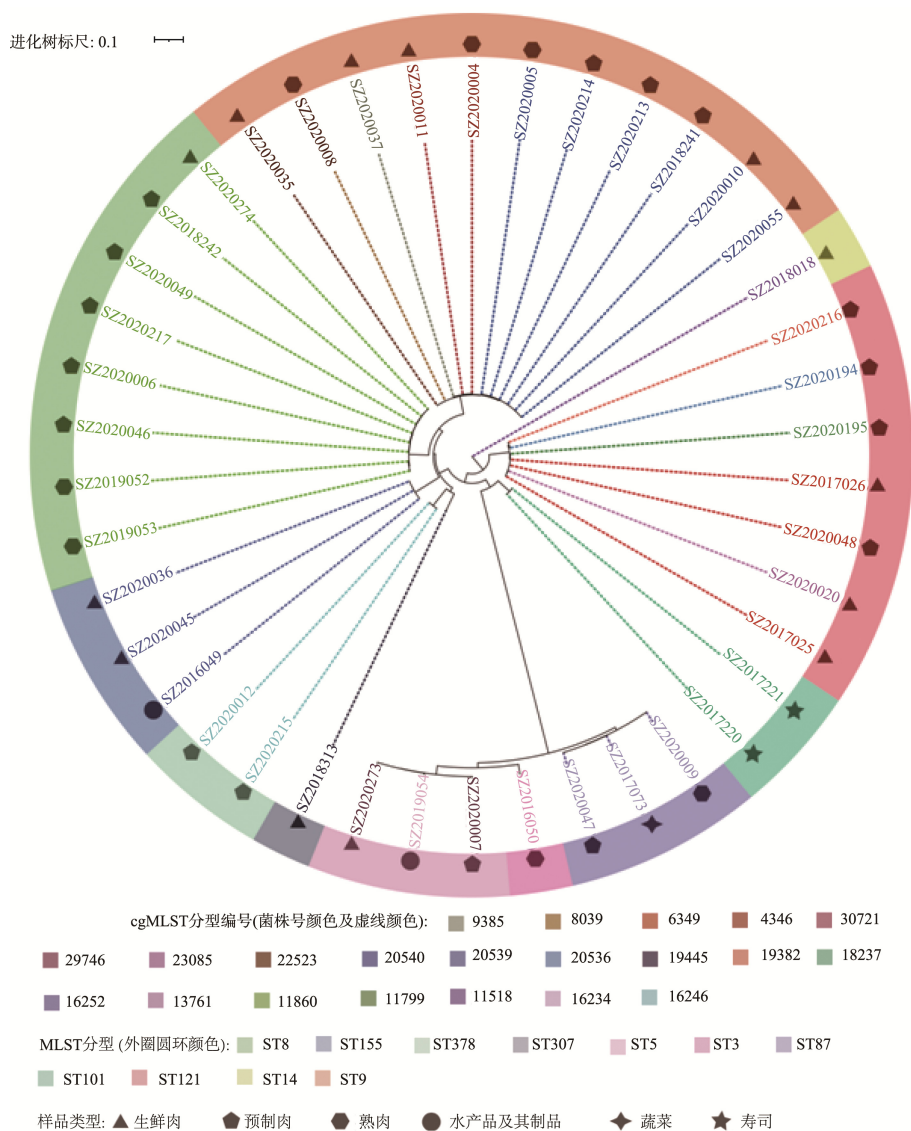


图 3 42 株 Lm 全基因组最大似然树
Fig.3 Whole genome ML tree of 42 strains of Lm

3 讨论与结论

根据细菌基因组的系统进化分析, Lm 可分为I、II、III和IV 4 个谱系。谱系I菌株通常从人类临床病例中分离出, 谱系II菌株通常是从食物和环境分离出来^[13-16]。本研究的食源性菌株主要为谱系II, 与上述报道相符。已发现的毒力岛有 LIPI-1、LIPI-2、LIPI-3 和 LIPI-4 4 个毒力岛, 与 Lm 对宿主组织的入侵及入侵之后的生存和定殖有关^[17]。本研究发现了 41 种毒力基因, 涉及 LIPI-1、LIPI-2、LIPI-3 3 个毒力岛, 未发现 LIPI-4, 与肇庆市检测结果相近, 其 13 株 Lm 检出 43 种毒力基因, 涉及 4 个毒力岛^[18]。Lm 对磷霉素天然耐药, 2017 年即食食品 239 株菌都携带 *FosX* 基因^[19], 2015—2019 年河南省 60 株临床 Lm 也都携带该基

因^[20], 本研究 42 株菌也全部携带。除 *FosX* 基因外, *tetM*、*dfpG* 检出的频率也较高^[11,19,21]。

中国引起李氏杆菌病的克隆群主要为 CC87、CC8 和 CC9。CC87 携带毒力岛 LIPI-1、LIPI-2、LIPI-3, 是临床分离株中最为流行的超级带毒克隆群之一^[22-25]。温州市和上海市分离的食源性 Lm 中 ST87 (CC87)均属于优势型别^[26-27]。苏州市分离株中 CC9 和 CC8 是主要型别, CC87 也有发现但所占比例不高(7.1%)。本研究的优势型别中 CC9 属于血清型II_c, CC8 和 CC121 属于血清型II_a, 与李薇薇等^[19]对 2017 年中国即食食品中分离的 Lm 的分子特征一致。但 PCR 血清型与菌株 CC 型之间的相关关系数据还比较少, 还有待更多的研究报道。

本研究 42 株 Lm 分为 11 种 ST 型和 21 种 cgMLST 型。

相同 ST 型菌株在 ML tree 上聚在一起, 同一 cgMLST 型别的菌株在 ML tree 上多数情况具有较其他菌株更近的进化距离, cgMLST 分型和 ML tree 所展现的遗传进化关系基本一致, 表现出较高的分辨力。cgMLST 分型可以区分一些 PFGE 分型和 MLST 分型难以区分的型别, 比如食源性 Lm 菌株 SZ2020020 和 SZ2020216, 两者 PFGE 分型 100% 相似^[28], 本次研究显示两者 MLST 分型均属 ST121 型。但是 SZ2020020 是 2020 年 3 月从苏州市姑苏区胥江菜场采集的生鸭子中分离得到, SZ2020216 是从 2020 年 8 月从往来无白丁旗舰店购买的预制黑椒牛排中分离得到, 产地为山东省济宁市梁山县。这两株菌的分离样品从采样时间、采样地点上均无交集, 但 PFGE 分型和 MLST 分型均无法区分是否属于同一菌株。cgMLST 发现两者分属于 cgMLST 13761 型和 cgMLST 19382 型, 在进化树上分布于同一进化分支但隔了一定的进化距离。cgMLST 是基于 1748 个核心基因进行分型, 相对于 MLST 分型和 PFGE 分型, 其利用的遗传信息更加丰富, 分辨力也更高, 在院感监测、暴发管理及溯源等方面的应用也越来越广泛^[29-31]。利用全基因组进化树来查看菌株的遗传进化关系需要具有运算能力较强的服务器, BIGSdb-Lm 数据库作为开放数据库, 可以方便的查询菌株的 cgMLST 型别, 可以作为地区日常监测的手段, 也方便不同实验室间的数据比对, 具有较高的应用价值。

参考文献

- [1] RADOSHEVICH L, COSSART P. *Listeria monocytogenes*: Towards a complete picture of its physiology and pathogenesis [J]. Nat Rev Microbiol, 2018, 16(1): 32–46.
- [2] MOHAN V, CRUZ CD, ARNOUD HMV, et al. Genomic diversity of *Listeria monocytogenes* isolates from seafood, horticulture and factory environments in New Zealand [J]. Int J Food Microbiol, 2021, 347: 1–13.
- [3] CHLEBICZ A, ŚLIŻEWSKA K. Campylobacteriosis, Salmonellosis, Yersiniosis, and Listeriosis as zoonotic foodborne diseases: A review [J]. Int J Environ Res Public Health, 2018, 15(5): 1–29.
- [4] SMITH AM, TAU NP, SMOUSE SL, et al. Outbreak of *Listeria monocytogenes* in South Africa, 2017–2018: Laboratory activities and experiences associated with whole-genome sequencing analysis of isolates [J]. Foodborne Pathog Dis, 2019, 16(7): 524–530.
- [5] SMITH A, HEARN J, TAYLOR C, et al. *Listeria monocytogenes* isolates from ready to eat plant produce are diverse and have virulence potential [J]. Int J Food Microbiol, 2019, 299: 23–32.
- [6] CHENAL-FRANCISQUE V, LOPEZ J, CANTINELLI T, et al. Worldwide distribution of major clones of *Listeria monocytogenes* [J]. Emerg Infect Dis, 2011, 17(6): 1110–1112.
- [7] CHEN Y, CHEN Y, POUILLON R, 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 [J]. PLoS One, 2020, 15(4): 1–24.
- [8] RAGON M, WIRTH T, HOLLANDT F, et al. A new perspective on *Listeria monocytogenes* evolution [J]. PLoS Pathog, 2008, 4(9): 1–14.
- [9] 李红欢, 陈朔, 康立超, 等. 食源性单增李斯特菌毒力岛基因检测与致病性[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(14): 193–196.
LI HH, CHEN S, KANG LC, et al. *Listeria* pathogenicity island genes detection and pathogenicity of food-borne *Listeria monocytogenes* [J]. Jiangsu Agric Sci, 2019, 47(14): 193–196.
- [10] 侯配斌, 陈玉贞, 李心朋, 等. 2013—2016 年山东省食品中单核细胞增生李斯特菌的血清型、耐药性及分子分型分[J]. 中华疾病控制, 2020, 24(2): 160–169.
HOU PB, CHEN YZ, LI XP, et al. Antibiotic resistance, serotype and molecular typing of *Listeria monocytogenes* from foods in Shandong Province from 2013 to 2016 [J]. Chin J Dis Control Prev, 2020, 24(2): 160–169.
- [11] 畅晓晖, 万晓楠, 张捷, 等. 北京地区食源性单增李斯特菌基因分型分析[J]. 中国公共卫生, 2022, 38(1): 105–109.
CHANG XH, WANG XN, ZHANG J, et al. Genotyping analysis on foodborn *Listeria monocytogenes* strains isolated in Beijing region [J]. Chin J Public Health, 2022, 38(1): 105–109.
- [12] 康立超, 钱晶, 杜冬冬, 等. 新疆食源性单增李斯特菌 MLST 分型及耐药性分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(15): 6255–6261.
KANG LC, QIAN J, DU DD, et al. Multilocus sequence typing and antibiotic resistance of food-borne *Listeria monocytogenes* in Xinjiang [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(15): 6255–6261.
- [13] 姚广, 陆玉颖, 张庆华, 等. 人源单核细胞增生李斯特菌的基因组进化及耐药性分析[J]. 吉林大学学报(医学版), 2021, 47(1): 180–186.
YAO G, LU YY, ZHANG QH, et al. Genomic evolution and drug resistance analysis of human derived *Listeria monocytogenes* [J]. J Jilin Univ (Med Ed), 2021, 47(1): 180–186.
- [14] 周继福, 王嫔, 郭佳, 等. 单核细胞增生李斯特菌进化家系的研究进展[J]. 食品科学, 2021, 42(21): 263–270.
ZHOU JF, WANG P, GUO J, et al. Progress in research on the evolutionary lineages of *Listeria monocytogenes* [J]. Food Sci, 2021, 42(21): 263–270.
- [15] ALIA A, ANDRADE MJ, CORDOBA JJ, et al. Development of a multiplex real-time PCR to differentiate the four major *Listeria monocytogenes* serotypes in isolates from meat processing plants [J]. Food Microbiol, 2020, 87: 103361–103367.
- [16] JIE S, TAO T, ZHU X, et al. A multiplex PCR detection method for milk based on novel primers specific for *Listeria monocytogenes* 1/2a serotype [J]. Food Control, 2017, 86: 183–190.
- [17] ZHANG Y, DONG S, CHEN H, et al. Prevalence, genotypic characteristics and antibiotic resistance of *Listeria monocytogenes* from retail foods in bulk in Zhejiang Province, China [J]. Front Microbiol, 2019, 10: 1–14.
- [18] 苏乐斌, 李柏生, 谭海芳, 等. 基于全基因组测序的单核细胞增生李斯特菌食品分离株分子特征分析[J]. 中国食品卫生, 2019, 31(6): 522–527.
SU LB, LI BS, TAN HF, et al. Molecular characterization analysis of

- food-borne *Listeria monocytogenes* strains based on whole-genome sequencing [J]. Chin J Food Hyg, 2019, 31(6): 522–527.
- [19] 李薇薇, 郭云昌, 占利, 等. 2017 年中国即食食品中单核细胞增生李斯特菌的分子流行病学特征[J]. 中华预防医学, 2020, (2): 175–176.
- LI WW, GUO YC, ZHAN L, *et al.* Molecular epidemiology of *Listeria monocytogenes* isolated from ready-to-eat food in 2017 in China [J]. Chin J Prev Med, 2020, (2): 175–176.
- [20] 炊慧霞, 李薇薇, 崔管坡, 等. 河南省 2015 至 2019 年李斯特菌病分子流行病学特征[J]. 郑州大学学报(医学版), 2021, 56(6): 767–773.
- CUI HX, LI WW, CUI QP, *et al.* Molecular epidemiological characteristics of Listeriosis in Henan from 2015 to 2019 [J]. J Zhengzhou Univ (Med Sci), 2021, 56(6): 767–773.
- [21] 胡鹏威, 刘楚云, 王银秋, 等. 2009—2019 年深圳市南山区食源性单核细胞增生李斯特菌基因组特征分析[J]. 中华预防医学, 2021, 55(6): 774–779.
- HU PW, LIU CY, WANG YQ, *et al.* Genomic characterization of food-borne *Listeria monocytogenes* isolates from Nanshan district of Shenzhen during 2009—2019 [J]. Chin J Prev Med, 2021, 55(6): 774–779.
- [22] LI W, BAI L, MA X, *et al.* Sentinel Listeriosis surveillance in selected hospitals, China, 2013—2017 [J]. Emerg Infect Dis, 2019, 25(12): 2274–2277.
- [23] WANG Y, JI Q, LI S, *et al.* Prevalence and genetic diversity of *Listeria monocytogenes* isolated from retail pork in Wuhan, China [J]. Front Microbiol, 2021, 12: 1–14.
- [24] ZHANG X, NIU Y, LIU Y, *et al.* Isolation and characterization of clinical *Listeria monocytogenes* in Beijing, China, 2014—2016 [J]. Front Microbiol, 2019, 10: 1–11.
- [25] YIN Y, DOIJAD S, WANG W, *et al.* Genetic diversity of *Listeria monocytogenes* isolates from invasive Listeriosis in China [J]. Foodborne Pathog Dis, 2020, 17(3): 215–227.
- [26] 章乐怡, 林梅芬, 李毅, 等. 温州市单核细胞增生李斯特菌的毒力基因及血清学分型和分子分型研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2018, 30(5): 468–472.
- ZHANG LY, LIN MF, LI Y, *et al.* Study of serotyping, virulence genes and molecular typing of *Listeria monocytogenes* isolates in Wenzhou, China [J]. Chin J Food Hyg, 2018, 30(5): 468–472.
- [27] 成梦雅, 王文凯, 史贤明, 等. 上海市食源性单核细胞增生李斯特菌 MLST 分析及毒力基因分布[J]. 中国食品学报, 2019, 19(2): 223–229.
- CHENG MY, WANG WK, SHI XM, *et al.* MLST Subtyping and virulence genes detection of food-borne *Listeria monocytogenes* isolates in Shanghai [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2019, 19(2): 223–229.
- [28] 朱莉勤, 王波, 张宁, 等. 苏州市食品中单增李斯特菌污染状况及分子特征分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(3): 972–977.
- ZHU LQ, WANG B, ZHANG N, *et al.* Analysis of contamination status and molecular characteristics of *Listeria monocytogenes* in food in Suzhou City [J]. J Food Saf Qual, 2022, 13(3): 972–977.
- [29] ZHANG XA, LIU YZ, ZHANG PH, *et al.* Genomic characterization of clinical *Listeria monocytogenes* isolates in Beijing, China [J]. Front Microbiol, 2021, 12: 1–12.
- [30] HANSEN SK, ANDERSEN L, DETLEFSEN M, *et al.* Using core genome multilocus sequence typing (cgMLST) for vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* isolates to guide infection control interventions and end an outbreak [J]. J Glob Antimicrob Resist, 2021, 24: 418–423.
- [31] DENEKE C, UELZE L, BRENDENBACH H, *et al.* Decentralized investigation of bacterial outbreaks based on hashed cgMLST [J]. Front Microbiol, 2021, 12: 1–12.

(责任编辑: 郑丽 韩晓红)

作者简介



王小龙, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为病原微生物检测。
E-mail: changshoushan@163.com



朱莉勤, 主任技师, 主要研究方向为病原微生物检验。
E-mail: 335945900@qq.com