

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

李薇薇¹ 郭云昌¹ 占利² 马国柱³ 杨祖顺⁴ 刘成伟⁵ 申志新⁶ 王迪⁷ 张晓媛⁷
宋晓红⁸ 余波⁹ 贾华云¹⁰ 李秀桂¹¹ 张秀丽¹² 杨小蓉¹³ 杨大进¹ 裴晓燕¹

¹国家食品安全风险评估中心风险监测部,北京 100022;²浙江省疾病预防控制中心微生物检验所,杭州 310051;³陕西省疾病预防控制中心病原微生物与生物检验所,西安 710054;⁴云南省疾病预防控制中心卫生检验中心,昆明 650034;⁵江西省疾病预防控制中心营养与食品安全所,南昌 330029;⁶河北省疾病预防控制中心微生物检验所,石家庄 050024;⁷北京市疾病预防控制中心营养与食品卫生所 100013;⁸山西省疾病预防控制中心消毒监测科,太原 030012;⁹湖北省疾病预防控制中心卫生检验检测研究所,武汉 430079;¹⁰湖南省疾病预防控制中心微生物检验科,长沙 410005;¹¹广西壮族自治区疾病预防控制中心微生物检验所,南宁 530028;¹²河南省疾病预防控制中心卫生检测检验中心,郑州 450046;¹³四川省疾病预防控制中心微生物检验所,成都 610044

通信作者:裴晓燕,Email:pxycfsa@qq.com

【摘要】 目的 分析我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。方法 将 2017 年食品安全风险监测即食食品中分离的单核细胞增生李斯特菌作为研究菌株,共 239 株,分离自 27 个省份。对菌株进行全基因组测序,分析其谱系、克隆群(CC)、序列分型(ST)和血清群;通过 VFDB 和 BIGSdb-Lm 数据库获得其毒力基因分布;采用微量肉汤稀释法检测菌株对 8 种抗生素的敏感性;采用核心基因组多位点序列分型方法(cgMLST)进行分子分型。结果 实验菌株分属在 3 个谱系,以谱系 II 为主,共 155 株(64.9%);血清群以 II a 为主,共 133 株(55.6%);分为 23 个 CC 型,以及 1 个未分 CC 型的 ST619,其中 CC8、CC101 和 CC87 为优势 CC 型,共占 49.4%(118 株);仅 4.6%(11 株)的菌株携带耐药基因,主要为甲氧苄啶耐药基因(7 株,2.9%)。所有菌株均携带单核细胞增生李斯特菌毒力岛(LIPI)1,携带 LIPI-3 和 LIPI-4 的菌株分别占 13.8%(33 株)和 14.2%(34 株),ST619 同时携带 LIPI-3 和 LIPI-4。51.5%(123 株)的菌株携带应激生存岛(SSI)1,10 株 CC121 菌株均携带 SSI-2。核心基因组多位点序列分型方法能将不同谱系、血清群和 CC 型的菌株明显分开,共分为 24 个亚群,与 CC 型基本保持一致。结论 我国即食食品中菌株以 II a 型血清群为主,CC8、CC101 和 CC87 为优势 CC 型,其中,CC87 为流行性高毒菌株。基于全基因组测序的分型方法 cgMLST 分辨力高,可用于我国食源性疾病的监测和暴发识别。

【关键词】 李斯特菌,单核细胞增生; 分子流行病学; 全基因组测序; 核心基因组多位点序列分型; 即食食品

基金项目:国家重点研发计划(2017YFC1601503);北京市优秀人才培养资助-青年骨干个人项目(2015000021469G186)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-9624.2020.02.012

Molecular epidemiology of *Listeria monocytogenes* isolated from ready-to-eat food in 2017 in China

Li Weiwei¹, Guo Yunchang¹, Zhan Li², Ma Guozhu³, Yang Zushun⁴, Liu Chengwei⁵, Shen Zhixin⁶, Wang Di⁷, Zhang Xiaoli⁷, Song Xiaohong⁸, Yu Bo⁹, Jia Huayun¹⁰, Li Xiugui¹¹, Zhang Xiuli¹², Yang Xiaorong¹³, Yang Dajin¹, Pei Xiaoyan¹

¹Department of Risk Surveillance, China National Center for Food Safety Risk Assessment, Beijing 100022, China; ²Microbiology Laboratory, Zhejiang Provincial Center for Disease Control and Prevention, Hangzhou 310051, China; ³Institute of Pathogen Microbiology and Bio-Testing, Shaanxi Provincial Center for Disease

Control and Prevention, Xian 710054, China; ⁴Division of Health Inspection, Yunnan Provincial Center for Disease Control and Prevention, Kunming 650034, China; ⁵Institute of Nutrition and Food Safety, Jiangxi Provincial Center for Disease Control and Prevention, Nanchang 330029, China; ⁶Microbiology Laboratory, Hebei Provincial Center for Disease Control and Prevention, Shijiazhuang 050024, China; ⁷Institute of Nutrition and Food Safety, Beijing Provincial Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100013, China; ⁸Division of disinfection Surveillance, Shanxi Provincial Center for Disease Control and Prevention, Taiyuan 030012, China; ⁹Institute of Health Inspection, Hubei Provincial Center for Disease Control and Prevention, Wuhan 430079, China; ¹⁰Microbiology Laboratory, Hunan Provincial Center for Disease Control and Prevention, Changsha 410005, China; ¹¹Microbiology Laboratory, Guangxi Provincial Center for Disease Control and Prevention, Nanning 530028, China; ¹²Institute of Health Inspection, Henan Provincial Center for Disease Control and Prevention, Zhengzhou 450046, China; ¹³Microbiology Laboratory, Sichuan Provincial Center for Disease Control and Prevention, Chengdu 610044, China

Corresponding author: Pei Xiaoyan, Email: pxycfsa@qq.com

【 Abstract 】 Objective To analyze the molecular characteristics of *Listeria monocytogenes* strains from ready-to eat food in China. **Methods** A total of 239 *Listeria monocytogenes* strains isolated from ready-to-eat food in 2017, all strains underwent whole-genome sequencing (WGS), and comparisons uncovered population structure derived from lineages, clonal complex, serogroups, antimicrobial susceptibility and virulence, which were inferred in silico from the WGS data. Core genome multilocus sequence typing was used to subtype isolates. **Results** All strains were categorized into three different lineages, lineage II was the predominant types in food, and IIa was the main serogroups. CC8, CC101 and CC87 were the first three prevalent CCs among 23 detected CCs, accounting for 49.4%. Only 4.6% (11 isolates) of tested strains harbored antibiotic resistance genes, which were mostly trimethoprim genes (7 isolates, 2.9%). All strains were positive for LIPI-1, and only a part of strains harbored LIPI-3 and LIPI-4, accounting for 13.8% (33 isolates) and 14.2% (34 isolates), respectively. ST619 carried both LIPI-3 and LIPI-4. 51.5% (123 isolates) of strains carried SSI-1, and all CC121 strains harbored SSI-2. Different lineages, serogroups and CCs can be separated obviously through cgMLST analysis, and 24 sublineages were highly concordant with CCs. **Conclusion** II a was the main serogroups in ready-to-eat food isolates in China; CC8, CC101 and CC87 were the prevalent CCs, and CC87 isolates was hypervirulent isolates, cgMLST method can be adopted for prospective foodborne disease surveillance and outbreaks detection.

【 Key words 】 *Listeria monocytogenes*; Molecular epidemiology; Genome-wide sequencing; Core genome multilocus sequence typing; Ready-to-eat food

Fund program: National Key Research and Development Program of China (2017YFC1601503); Young Talent Project of Beijing Excellent Talents Funding (2015000021469G186)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-9624.2020.02.012

单核细胞增生李斯特菌在自然界中广泛存在,是重要的食源性致病菌之一,人主要通过摄入被污染的食物致病^[1],在外界环境耐受力强,可在高盐、低温等环境生长,形成生物膜可长期在食品生产加工企业存活。李斯特菌病虽然发生率低,但住院率和病死率高,易感人群包括孕产妇、新生儿、老人和免疫缺陷的病例^[2],主要引起胃肠炎、败血症、神经系统感染及母婴感染,如流产、早产、死胎等^[3]。各国陆续报道单核细胞增生李斯特菌引起的食源性疾病暴发,目前我国尚无报告。2010 年我国建立国家食品安全风险监测网络,在全国范围内对采集不用食品种类样品开展单核细胞增生李斯特菌污染监测,并于 2013 年在部分省份开展单增李斯特菌病感染病例的专项监测,以加强我国单增李斯特菌及单增李斯特菌病的监测、溯源及危险因素分析等。本研究对 2017 年食品安全风险监测即食食品

中分离的单核细胞增生李斯特菌开展分子流行病学特征分析,以掌握其种群结构分布特征,为即食食品限量标准的制定、李斯特菌病的溯源等提供基础数据和技术支持。

材料与方 法

1. 菌株来源:将 2017 年食品安全风险监测即食食品中分离的单核细胞增生李斯特菌作为研究菌株,共 239 株;分离自 27 个省份,其中,浙江(41 株)、陕西(21 株)、云南(20 株)、江西(17 株)、河北(12 株)、北京(11 株)、湖北(10 株)、山西(10 株)、湖南(10 株)、广西(9 株)、四川(9 株)和河南(9 株)分离的菌株数量占 74.9%。

2. 仪器与试剂:恒温培养箱(美国 3M 公司),小型高速离心机(德国 Eppendorf 公司),脑心浸液琼

脂 (brain heart agar, BHA) 和脑心浸液肉汤 (brain heart infusion, BHI) 购自英国 OXOID 公司, 全基因组 DNA 提取试剂盒 (德国 Qiagen 公司)。

3. 全基因组测序: 选取 BHA 平板上的单菌落接种 BHI 过夜培养, 按照全基因组 DNA 提取试剂盒说明书完成 DNA 的提取, 并将样品送至深圳华大基因科技服务有限公司进行全基因组测序 (whole genome sequencing, WGS), 流程为: 对基因组 DNA 进行质控检测, 将检测合格的基因组 DNA 用物理方法随机打断成 300 bp 左右的片段, 经末端修复、连接 A 碱基, 将特定测序引物连接到 DNA 片段上, 经纯化、扩增后制备文库。文库质量检测合格后, 用 Illumina HiSeq X Ten PE150 进行测序。过滤掉低质量 reads 后, 将 raw data 导入基于 BioNumerics 7.6cn 软件建立的国家食源性疾病分子溯源网络 (TraNet) 进行组装和分析。

4. 多位点序列分型 (multilocus sequence typing, MLST)、谱系和血清分析: 实验菌株的序列分型 (sequence type, ST)、谱系和血清群^[4]均基于全基因组测序结果, 利用 BIGSdb-Lm 数据库 (<http://bigsdb.pasteur.fr/listeria/listeria.html>) 分析得到。克隆群 (clonal complex, CC) 型通过分类数据最小生成树确定, MLST 的 7 个等位基因中仅 1 个位点不同定为同一 CC 型。

5. 毒力基因分布: 实验菌株的毒力基因分布主要通过 VFDB 和 BIGSdb-Lm 数据库获得, 筛选的毒力基因包括: 单核细胞增生李斯特菌毒力岛 (*Listeria pathogenicity island*, LIPI) 1、3 和 4, 应激生存岛 (*stress survival islet*, SSI) 1 和 2, 通过 BLASTN 软件进行比对, 设定核苷酸最小一致性为 80%。

6. 耐药基因和耐药谱分析: 实验菌株耐药基因的筛选通过 ABRicate 软件中 ResFinder 数据库完成^[5], 核苷酸最小一致性设定为 75%, 最小覆盖设定为 90%; 生物杀灭剂和重金属抗性基因, 包括 *bcrABC*、*cadAC*、*emrE*、*qacA*、*Tn6188 qac* 通过 BIGSdb-Lm 数据库, 利用 BLASTN 软件完成, 设定核苷酸最小一致性为 80%。采用微量肉汤稀释法检测实验菌株对氨苄西林、青霉素、甲氧苄啶/磺胺甲噁唑、美罗培南、四环素、红霉素、万古霉素和环丙沙星 8 种抗生素的敏感性。

7. 核心基因组多位点序列分型 (core genome MLST, cgMLST): cgMLST 分析框架采用法国巴斯德的方法, 包括单核细胞增生李斯特菌 EGD-e 参考菌株上 1 748 个高度保守的核心基因^[6], 根据 cgMLST

等位基因不同不超过 150 个的定义亚群 (sublineage, SL)。cgMLST 的分析及最大可能系统树通过 BioNumerics 7.6cn 软件完成。

结 果

1. 菌株基本信息: 239 株单核细胞增生李斯特菌菌株分别来自流通环节 (144 株, 60.3%) 和餐饮环节 (95 株, 39.7%), 采样时间为 2017 年 2—11 月, 以 7—9 月为主 (160 株, 66.9%), 包装类型以散装 (包括自行简易包装) 为主, 只有 3 株来自预包装食品, 其中 2 株分离自网店食品, 1 株分离自乳制品。食品类别主要以中式凉拌菜、寿司、生食蔬菜、沙拉和熟肉制品为主, 详见表 1。

表 1 2017 年中国即食食品中分离的 239 株单核细胞增生李斯特菌食品类别分布情况

食品类别	菌株数量	构成比 (%)
中式凉拌菜	55	23.0
寿司	48	20.1
生食蔬菜	34	14.2
沙拉	26	10.9
熟肉制品	24	10.0
烧烤类食品	14	5.9
米面制品	13	5.4
水果	13	5.4
焙烤及油炸食品	7	2.9
生食水产品	3	1.3
乳与乳制品	2	0.9
合计	239	100.0

2. 谱系、血清、ST 型和 CC 型分布: 239 株实验菌株分属于 3 个谱系 (I、II 和 III), 以谱系 II 为主, 共 155 株 (64.9%); 分为 5 个血清群, 以 II a 为主, 共 133 株 (55.6%); 分为 23 个 CC 型, 以及 1 个未分 CC 型的 ST619, 其中 CC8、CC101 和 CC87 为优势 CC 型, 共占 49.4% (118 株); 分为 33 个 ST 型, 9 株菌 ST 型未命名, CC87 包括 ST87 和 ST310 菌株, CC9 包括 ST9、ST122 和 ST1113, CC7 包括 ST7 和 ST12, CC1 包括 ST1、ST308 和 ST515, CC2 包括 ST2 和 ST145, CC5 包括 ST5 和 ST1032, CC288 包括 ST288 和 ST330, CC14 包括 ST14 和 ST91, 其余 CC 型仅包含 1 种 ST 型。详见表 2 和图 1。

3. 耐药基因和毒力岛分布: 单核细胞增生李斯特菌对磷霉素天然耐药, 均携带 *fosX* 基因, 未发现氟喹诺酮类耐药基因, 只有 11 株菌株携带耐药基

表 2 2017 年中国即食食品中分离的 239 株单核细胞增生李斯特菌谱系、血清和 CC 型分布情况

分型	菌株数量(株)	构成比(%)
I	83	34.7
II b	60	25.1
CC87	32	13.4
CC288	7	2.9
CC3	7	2.9
CC5	7	2.9
CC288	7	2.9
CC224	3	1.3
CC59	2	0.8
ST619	2	0.8
IV b	23	9.6
CC1	14	5.9
CC2	9	3.8
II	155	64.9
II a	133	55.6
CC8	50	20.9
CC101	36	15.1
CC7	14	5.9
CC121	10	4.2
CC19	8	3.3
CC155	4	1.7
CC37	3	1.3
CC14	2	0.8
CC321	2	0.8
CC18	1	0.4
CC204	1	0.4
CC31	1	0.4
II c	22	9.2
CC9	22	9.2
III	1	0.4
IV a	1	0.4
CC131	1	0.4
合计	239	100.0

注:CC:克隆群;ST:序列分型;ST619 为未分型的 CC 型

因,占 4.6%,包括 *dfrG*、*tet(M)*、*tet(K)*、*tet(S)*、*VanC4XY*、*aadD*、*ant(6)-Ia*、*aph(3')*-III a、*blaZ*、*cat*、*erm(B)*、*lnuA*、*lnuB*、*mef(A)*和 *msr(D)*。其中携带甲氧苄啶耐药基因 *dfrG* 菌株数最多,共 7 株,其次是四环素类耐药基因 *tetM*,共 6 株,其余耐药基因均只有 1 株菌携带,1 株菌最多携带 7 个耐药基因。所有菌株均完成对氨苄西林、青霉素、甲氧苄啶/磺胺甲噁唑、美罗培南、四环素、红霉素、万古霉素和环丙沙星耐药表型的检测,仅发现对四环素、甲氧苄啶/磺胺甲噁唑和红霉素耐药的菌株,携带 *dfrG* 的

7 株菌对甲氧苄啶/磺胺甲噁唑的最小抑菌浓度(minimal inhibitory concentration, MIC)最低为 0.25/9.5 $\mu\text{g/ml}$,最高的>8/152 $\mu\text{g/ml}$;携带四环素耐药基因的 8 株菌均对四环素耐药, MIC \geq 32 $\mu\text{g/ml}$;携带大环内酯类抗生素耐药基因的 3 株菌对红霉素均耐药, MIC 最高>32 $\mu\text{g/ml}$ 。所有菌株均不携带 *cadAC*、*emrE*、*qacA*、*Tn6188 qac* 基因,只有 2 株菌携带 *bcrABC*。

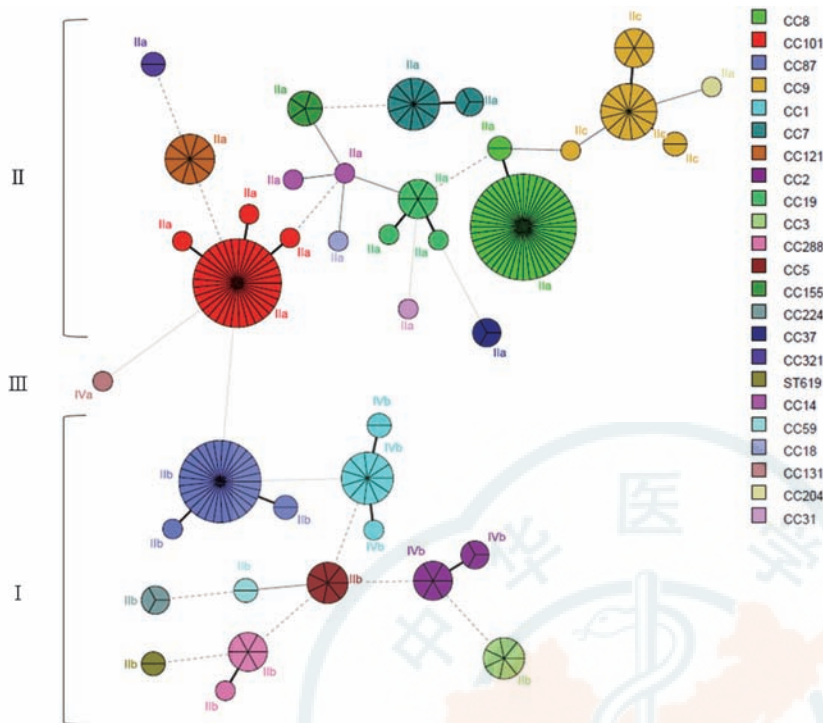
239 株单核细胞增生李斯特菌均携带 LIPI-1, 6 个基因 *prfA*、*plcA*、*hly*、*mpl*、*actA*、*plcB* 均阳性。33 株菌携带 LIPI-3 的 8 个基因 *IlsA*、*IISG*、*IIsH*、*IIsX*、*IIsB*、*IIsY*、*IISD*、*IISP*,占菌株数的 13.8%,且均属于谱系 I 菌株。34 株菌携带 LIPI-4,占 14.2%,均为谱系 I 中 II b 血清群的菌株,32 株为 CC87,2 株为 ST619 菌株,且 ST619 的菌株同时携带 LIPI-3 和 LIPI-4。123 株菌携带 SSI-1,占 51.5%,10 株菌携带 SSI-2,且均为谱系 II 的 CC121 菌株。

4.cgMLST 分型结果:谱系 I 中 1 748 个等位基因差异数最大为 1 251 个,谱系 II 为 1 423 个。通过 cgMLST 分析,共分为 24 个 SL 型,基本与 CC 型一致。按照 1 748 个基因位点中, \leq 10 个等位基因差异认为同源,9~24 个等位基因差异认为可能相关,>25 个等位基因差异认为非同源的标准,共识别 26 组疑似同源菌株,其中 32 株 SL87 菌株中有 6 组疑似同源菌株,见图 2。

讨 论

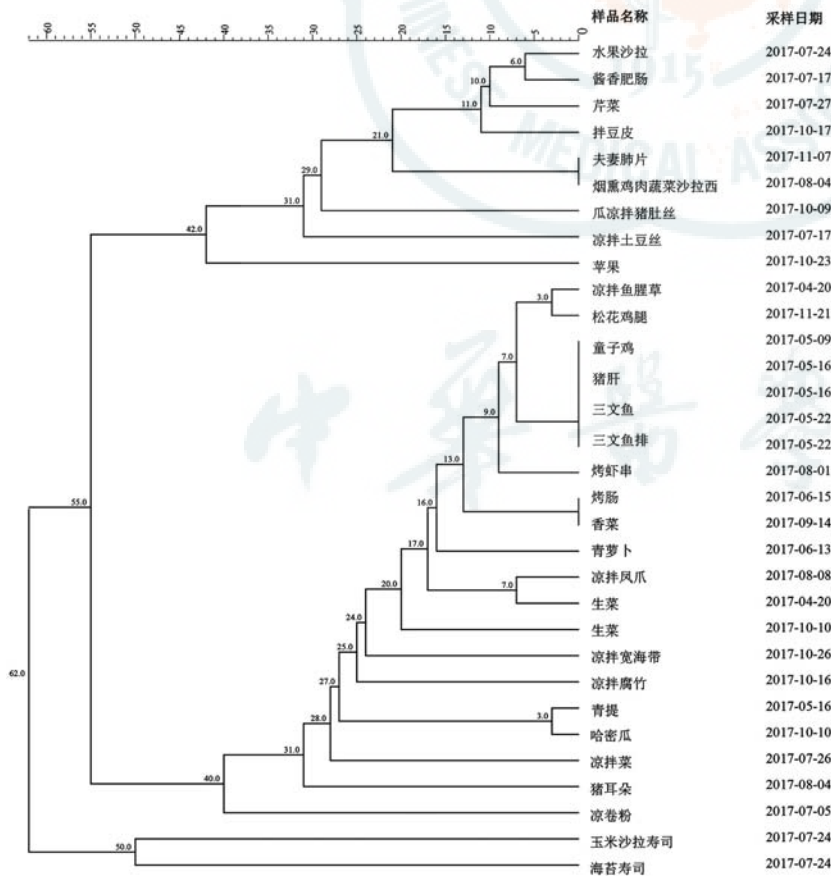
单核细胞增生李斯特菌为胞内寄生菌,可导致侵袭性感染,即食食品中菌株分布及分子流行病学特征对评估其对人群健康的影响极为重要。数据显示肉与肉制品、水产动物及中式凉拌菜等单核细胞增生李斯特菌检出率较高^[7],本研究即食食品分离菌株也多来自中式凉拌菜、寿司、生食蔬菜和沙拉等。国际食品法典委员会于 2007 年正式发布《应用食品卫生通则控制即食食品中单增李斯特菌的准则》^[8]。我国 GB29921-2013《食品中致病菌限量》设定肉制品中不得检出单核细胞增生李斯特菌^[9],修订时根据监测和评估结果拟增加乳制品、水产制品、即食果蔬制品和冷冻饮品中单核细胞增生李斯特菌限量标准,从而有效控制食品中的致病菌污染。

单核细胞增生李斯特菌主要分为 4 个谱系、13 个血清型,基于 PCR 分成 5 个血清群 II a、II b、



CC:克隆群;ST:序列分型;ST619为未分型的CC型

图1 2017年中国即食食品中分离的239株单核细胞增生李斯特菌谱系、血清和CC型生成树



所有菌株均为谱系 I、克隆群87型、II b血清群

图2 2017年中国即食食品中分离的32株亚群87单核细胞增生李斯特菌核心基因组多位点序列分型聚类图

II c、IV a和IV b^[10]。本研究中菌株主要为谱系 II,与食品和环境相关,但仍有 1/3 的菌株为谱系 I,与临床感染相关,近年由 1/2a 血清型菌株引起的暴发逐渐增多,本研究中约 1/2 的菌株为 II a 的菌株。由于即食食品或餐饮食品多不经处理直接入口,摄入后对易感人群极有可能引起严重感染。我国即食食品中优势 CC 型为 CC8、CC101 和 CC87,其中 CC87 菌株为我国特有的流行性高毒菌株,致病能力较强。

单核细胞增生李斯特菌耐药情况并不严重,四环素耐药是最常见的耐药表型,本研究中仅检出四环素、甲氧苄啶/磺胺甲噁唑和红霉素耐药菌株,耐药菌株分离自中式凉拌菜、寿司和生食蔬菜中。9 株菌携带四环素耐药基因, *tet(K)* 基因主要与外排泵有关, *tet(M)* 和 *tet(S)* 主要编码核糖体保护蛋白^[11]。7 株菌携带转座子 Tn 6198 上的 *dfpG* 基因^[12],按照 CLSI 的判定标准,4 株携带此基因的菌株未表现复方新诺明耐药,但 MIC 值高于其他敏感菌株。

单核细胞增生李斯特菌的毒力与黏附侵入细胞、胞内存活增殖、细胞间扩散能力密切相关。LIPI-1 相对保守,对细菌进入胞内存活定植至关重要,本研究中所有菌株携带 LIPI-1,目前各国监管部门认为所有单核细胞增生李斯特菌均可致病,统一管控。2008 年 LIPI-3 被发现,编码李斯特菌溶血素 S,与胃肠感染及暴发相关^[13-14],本研究中携带 LIPI-3 的菌株,均为谱系 I,占谱系 I 菌株的 39.8%,血清型为 II b 或 IV b,菌株主要分离自中式凉拌菜和生食蔬菜,各采样月份均有检出,中式凉拌菜和生食蔬菜均为我国传统家常饮食,食用污染食品后极易增加人群患病风险。LIPI-4 是新发现编码糖磷酸转移酶的毒力岛^[15]。本研究中携带 LIPI-4 的菌株主要为我

国流行菌株 CC87, 多分离自中式凉拌菜和即食果蔬类, 与侵袭性感染密切相关, 因此对孕产妇、新生儿等高危人群存在潜在的健康危害。本研究中近 50% 的菌株携带 SSI-1, 可增加菌株对酸、盐、胆汁、胃酸等环境的耐受能力^[16], 所有 ST121 菌株携带 SSI-2 可增加菌株在碱性和氧化应激条件下的生存能力^[17], 提示这部分菌株可在食品生产加工和流通环境中长期存活, 增加污染食品和致病风险。

目前基于全基因组序列的分析已成为流行病学调查、分子溯源的重要工具, 由于 cgMLST 分辨率高、重复性好, 有相对标准化的命名体系, 成为发达国家食源性暴发调查的重要手段^[18]。本研究发现 cgMLST 可以将不同谱系和 CC 型的菌株明显分开, 同时制定了判定标准用于暴发识别和调查。本研究掌握了即食食品中单核细胞增生李斯特菌种群结构分布特征, 建立了基于全基因组测序技术的标准化溯源分析框架及命名体系, 今后将与脉冲场凝胶电泳方法^[19]共同应用于食源性疾病暴发的识别和调查工作, 为早发现、早控制食源性疾病提供技术保障。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- Scallan E, Hoekstra RM, Griffin PM, et al. Foodborne illness acquired in the United States—major pathogens[J]. *Emerg Infect Dis*, 2011, 17(1):7-15. DOI:10.3201/eid1701.P11101.
- Motarjemi Y, Adams M. *Emerging Foodborne Pathogens*[M]. Abington: Woodhead Publishing Limited, 2006.
- Doganay M. Listeriosis: clinical presentation[J]. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 2003, 35(3):173-175. DOI: 10.1016/S0928-8244(02)00467-4.
- Doumith M, Buchrieser C, Glaser P, et al. Differentiation of the major *Listeria monocytogenes* serovars by multiplex PCR[J]. *J Clin Microbiol*, 2004, 42(8):3819-3822. DOI: 10.1128/JCM.42.8.3819-3822.2004.
- Zankari E, Hasman H, Cosentino S, et al. Identification of acquired antimicrobial resistance genes[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2012, 67(11):2640-2644. DOI: 10.1093/jac/dks261.
- Moura A, Criscuolo A, Pouseele H, et al. Whole genome-based population biology and epidemiological surveillance of *Listeria monocytogenes*[J]. *Nat Microbiol*, 2016, 2:16185. DOI: 10.1038/nmicrobiol.2016.185.
- Li W, Bai L, Fu P, et al. The Epidemiology of *Listeria monocytogenes* in China[J]. *Foodborne Pathog Dis*, 2018, 15(8):459-466. DOI: 10.1089/fpd.2017.2409.
- Luber P. The Codex Alimentarius guidelines on the application of general principles of food hygiene to the control of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods [EB/OL]. [2019-08-14]. <https://sci-hub.tw/10.1016/j.foodcont.2010.07.013>.
- 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. GB 29921-2013 食品安全国家标准 食品中致病菌限量[S]. 北京: 中国标准出版社, 2013.
- Orsi RH, den Bakker HC, Wiedmann M. *Listeria monocytogenes* lineages: genomics, evolution, ecology, and phenotypic characteristics[J]. *Int J Med Microbiol*, 2011, 301(2):79-96. DOI: 10.1016/j.ijmm.2010.05.002.
- Morvan A, Moubareck C, Leclercq A, et al. Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* strains isolated from humans in France[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2010, 54(6):2728-2731. DOI: 10.1128/AAC.01557-09.
- Bertsch D, Uruty A, Anderegg J, et al. Tn6198, a novel transposon containing the trimethoprim resistance gene *dhfrG* embedded into a Tn916 element in *Listeria monocytogenes*[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2013, 68(5):986-991. DOI: 10.1093/jac/dks531.
- Clayton EM, Hill C, Cotter PD, et al. Real-time PCR assay to differentiate *Listeriolysin S*-positive and -negative strains of *Listeria monocytogenes*[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2011, 77(1):163-171. DOI: 10.1128/AEM.01673-10.
- Cotter PD, Draper LA, Lawton EM, et al. *Listeriolysin S*, a novel peptide haemolysin associated with a subset of lineage I *Listeria monocytogenes*[J]. *PLoS Pathog*, 2008, 4(9):e1000144. DOI: 10.1371/journal.ppat.1000144.
- Mauray MM, Tsai YH, Charlier C, et al. Erratum: uncovering *Listeria monocytogenes* hypervirulence by harnessing its biodiversity[J]. *Nat Genet*, 2017, 49(6):970. DOI: 10.1038/ng0617-970d.
- Ryan S, Begley M, Hill C, et al. A five-gene stress survival islet (SSI-1) that contributes to the growth of *Listeria monocytogenes* in suboptimal conditions[J]. *J Appl Microbiol*, 2010, 109(3):984-995. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2010.04726.x.
- Harter E, Wagner EM, Zaiser A, et al. Stress survival islet 2, predominantly present in *Listeria monocytogenes* strains of sequence type 121, is involved in the alkaline and oxidative stress responses[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2017, 83(16). DOI: 10.1128/AEM.00827-17.
- Ruppitsch W, Pietzka A, Prior K, et al. Defining and evaluating a core genome multilocus sequence typing scheme for whole-genome sequence-based typing of *Listeria monocytogenes*[J]. *J Clin Microbiol*, 2015, 53(9):2869-2876. DOI: 10.1128/JCM.01193-15.
- 闫军, 遇晓杰, 裴晓燕, 等. 2016 年黑龙江省 17 家餐饮单位单核细胞增生李斯特菌污染及病原学分析[J]. *中华预防医学杂志*, 2019, 53(3):298-302. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-9624.2019.03.017.

(收稿日期: 2019-04-03)

(本文编辑: 梁明修)