DOI:10.3969/j.issn.1002－2694.2020.00.167

·实验研究·

2014－2019年阜阳市食品和病人分离单增李斯特菌的分子特征分析

孟昭倩[1]，段　然[2]，吕东月[2]，郭国侠[1]，郭靓子[1]，卜　戈[1]

摘　要：目的　比较分析阜阳市食品和病人分离单增李斯特菌的毒力基因、分子型别，建立阜阳市单增李斯特菌分子特征信息数据库，为防控单增李斯特菌病提供科学依据。**方法**　对阜阳市2014－2019年分离自食品和病人的55株单增李斯特菌，用聚合酶链反应（PCR）检测其毒力基因 *prfA*、*plcB*、*hly*、*actA*、*iap*、*inlA*；用脉冲场凝胶电泳（PFGE）技术进行分子分型及同源性分析；用多位点序列分型（MLST）技术进行分子分型和聚类分析。**结果**　55株单增李斯特菌全部携带 *prfA*、*plcB*、*hly*、*actA*、*iap*、*inlA* 基因；PFGE将其分为21个带型，相似度60.3%～100%；MLST将其分为14个ST型，ST9型为优势型别；3株病人分离菌株的PFGE带型和ST型互不相同，其中2株病人来源菌株分别与食品分离株具有相同PFGE带型和ST型。**结论**　阜阳市食品和病人中分离的单增李斯特菌均携带6个毒力基因，食品分离菌株的分子型别呈现出多样性，其中存在同型别单增李斯特菌持续性污染现象，病人分离菌株具有与食品来源菌株相同的PFGE带型和ST型，提示食源性感染的风险较高。

关键词：单增李斯特菌；毒力基因；PFGE；MLST
中图分类号：R378.1　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1002－2694(2020)12－1019－06

Molecular characteristics of *Listeria monocytogenes* isolated from food and patients in Fuyang City, 2014－2019

MENG Zhao-qian[1], DUAN Ran[2], LYU Dong-yue[2], GUO Guo-xia[1], GUO Liang-zi[1], BU Ge[1]

(1.*Fuyang Municipal Center for Disease Control and Prevention, Fuyang* 236000, *China*;
2.*National Institute for Communicable Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing* 102206, *China*)

Abstract: The aims of this study were to investigate the pathogenicity and molecular types of *Listeria monocytogenes* isolated from food and patients, to establish a database of molecular characteristics of *L. monocytogenes* and to provide a reference for the prevention and control of listeriosis in Fuyang City. A total of 55 *L. monocytogenes* strains were detected for the virulence genes *prfA*, *plcB*, *hly*, *actA*, *iap* and *inlA* by PCR, and subtyped by pulsed field gel electrophoresis (PFGE) and multi-locus sequence typing (MLST). Six virulence genes were found to be carried by all *L. monocytogenes* strains. The strains were divided into 21 pulsotypes (PT) and 14 sequence types (ST), among which ST9 was predominant. Three *L. monocytogenes* strains from clinical cases showed different pulsotypes and sequence types. Two clinical isolates showed an identical PFGE pattern and sequence type to those of some food isolates. The *L. monocytogenes* strains isolated from food and clinical cases in Fuyang showed genetic diversity. The strains from food and clinical cases with identical PT and ST types implied a potential link between food contamination and human infections.

Keywords: *Listeria monocytogenes*; virulence genes; PFGE; MLST

国家科技重大专项（No.2018ZX10713003-002-005）
通讯作者：卜　戈，Email：865202817@qq.com；
ORCID:0000-0002-5486-4758
作者单位：1.安徽省阜阳市疾病预防控制中心，阜阳　236000；
2.中国疾病预防控制中心传染病预防控制所，北京　102206

Supported by the National Science and Technology Major Project (No.2018ZX10713003-002-005)
Corresponding author: Bu Ge, Email: 865202817@qq.com

单核细胞增生李斯特菌（*Listeria monocytogenes*，Lm）简称单增李斯特菌，属于李斯特菌属，

为革兰阳性短小杆菌,广泛分布于自然界,是重要的食源性人兽共患病原菌之一[1]。可引起人和多种动物的胃肠炎、脑膜炎、败血症、流产等[2]。该菌环境耐受性较强,温度要求不高,0 ℃～45 ℃均能生存和繁殖。研究表明,李斯特菌病散发和暴发的重要原因是食入被 Lm 污染的食品[3],主要感染者为免疫力低下的人群、孕妇和新生儿[4-5],据报道新生儿感染该菌死亡率最高达 56%[6]。为了解 Lm 的流行病学特性,本研究对阜阳市 2014－2019 年从食品和病人样本中分离的 55 株 Lm 进行毒力基因、MLST 和 PFGE 分型分析,以建立 Lm 分子特征数据库,为本地单增李斯特菌病的预防控制提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材 料

1.1.1 菌株来源 共 55 株 Lm 纳入本研究,其中 3 株病人菌株分别分离自早产孕妇的胎膜(胎死宫内)、早产婴儿的脑脊液、肝硬化败血症病人的血液;52 株食品株分离于 2014－2019 年阜阳市食品安全风险监测样品,样品采集按照安徽省食品安全风险监测工作方案要求,采集于本市几个综合性超市、农贸市场、餐饮店的生畜肉、熟肉、沙拉和豆制品等。

1.1.2 主要试剂和仪器 培养基(北京陆桥技术有限责任公司)、DNA 提取试剂(江苏百世诺医疗科技有限公司)、限制性内切酶 *Asc*I(New England Biolabs)、毒力基因和管家基因引物合成于生工生物工程(上海)股份有限公司。全自动微生物鉴定仪 VITEK2(法国梅里埃公司)、全自动核酸提取仪(台湾圆点奈米技术开发有限公司)、凝胶成像及脉冲场凝胶电泳系统(美国 Bio-Rad 公司)扩增仪、电泳仪(DYY-C6 北京市六一仪器厂)。所用培养基和试剂均在有效期内使用。

1.2 方 法

1.2.1 菌株复苏和培养 取－80 ℃磁珠冻存管保存的 55 株 Lm,用 Lm 显色培养基复苏培养。36 ℃培养 24 h,菌落为蓝色,周围有白色晕环,镜检为革兰阳性小杆菌,在动力培养基 25 ℃培养 48 h 呈倒伞型,所有菌株均经生化鉴定或全自动微生物鉴定仪 VITEK2 鉴定确认为 Lm。

1.2.2 模板制备 将鉴定后的 55 株 Lm 接种于脑心浸琼脂平板,36 ℃培养 24 h,取 2～3 个菌落接种于 5 mL LB 增菌肉汤,36 ℃ 260 r/min 过夜震荡培养,按照核酸提取试剂盒说明书提取 DNA,即为扩增模板。

1.2.3 毒力基因检测 采用 PCR 方法检测 Lm 的 6 个毒力基因 *prfA*、*plcB*、*hly*、*actA*、*iap*、*inlA*。扩增条件:94 ℃ 5 min;94 ℃ 50 s,55 ℃ 50 s,72 ℃ 50 s,30 个循环;72 ℃ 10 min。取 5 μL 扩增产物进行电泳,220 V 20 min。Lm 的 6 个毒力基因的检测引物[7-9]及产物大小见表 1。

表 1 单增李斯特菌毒力基因检测引物序列及产物长度

Tab.1 Primers used for *Listeria monocytogenes* virulence gene detection

Primer	Sequence(5′－3′)	Product length/bp
prfA-F	CTGTTGGAGCTCTTCTTGGTGAAGCAATCG	1 060
prfA-R	AGCAACCTCGGTACCATATACTAACTC	
PlcB-F	CAGCTCCGCATGATATTGAC	732
PlcB-R	CTGCCAAAGTTTGCTGTGAA	
actA-F	AAACAGAAGAGCAGCCAAGC	571
actA-R	TTCACTTCGGGATTTTCGTC	
hly-F	ACGCAGTAAATACATTAGTG	372
hly-R	AATAAACTTGACGGCCATAC	
iap-F	TTTGCTAAAGCGGGTATCTC	205
iap-R	AGCCGTGGATGTTATCGTAT	
inlA-F	CCGCACTCACTAACTTAGAG	580
inlA-R	GTTGTTTCTTTGCCGTCCAC	

1.2.4 分子分型

1.2.4.1 PFGE 分型 根据国家致病菌识别网技术规范单增李斯特菌 PFGE 操作程序,制备 55 株 Lm 和沙门菌标准株(H9812)DNA 胶块,用限制性内切酶 *Asc*Ⅰ和 *Xba* Ⅰ分别对 Lm 和沙门菌标准株(H9812)DNA 胶块进行酶切 37 ℃ 3 h,电泳 19 h,初始转换时间 4.0 s,终末转换时间 40.0 s,电泳染色后经凝胶成像系统拍照,转化为 tif 格式,再用 BioNumerics7.6 软件对获得的 PFGE 电泳图谱进行聚类分析。

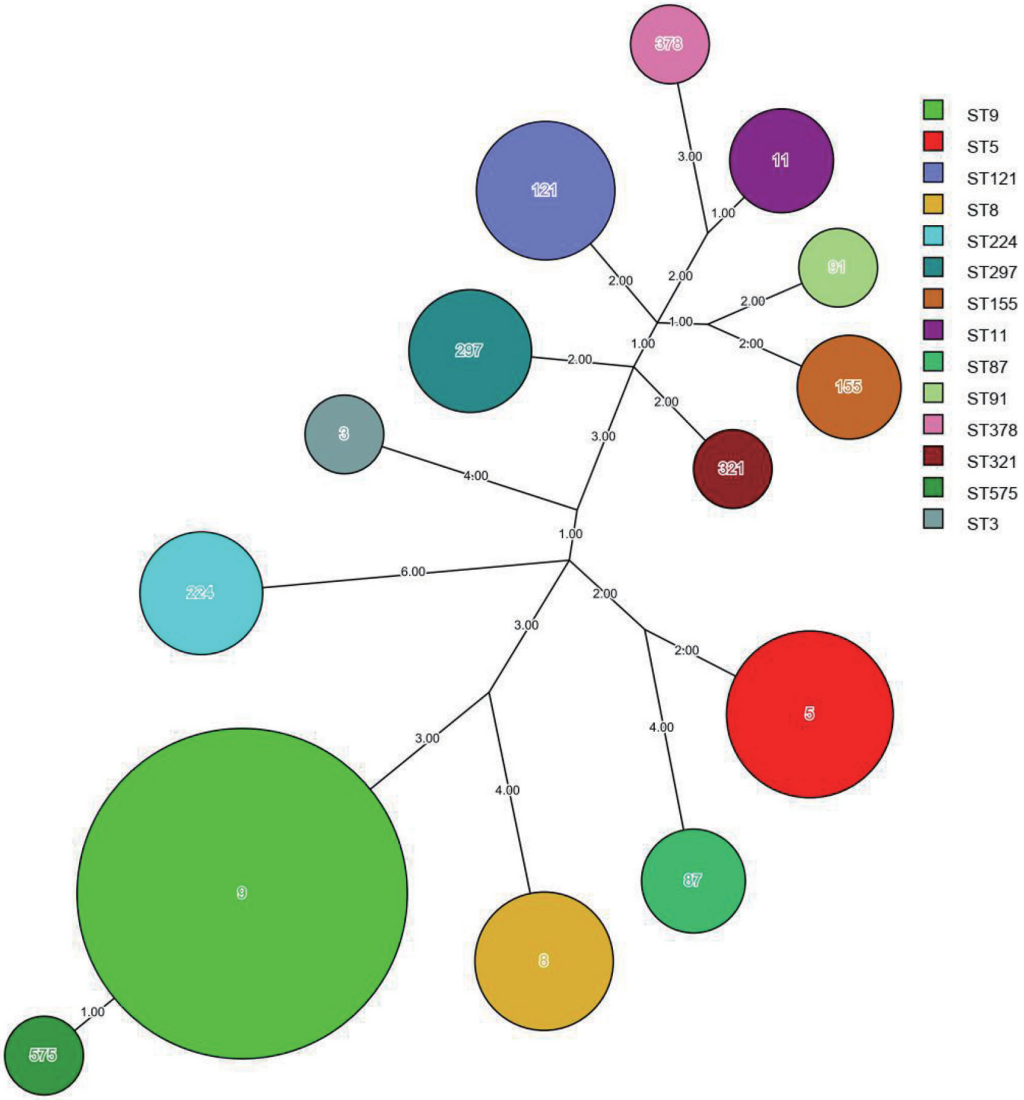
1.2.4.2 MLST 分型 采用 *abcZ*、*bglA*、*cat*、*dapE*、*dat*、*ldh*、*lhkA* 共 7 对管家基因引物进行扩增,扩增条件:94 ℃ 4 min;94 ℃ 30 s,52 ℃ 30 s(*blgA* 基因退火温度为 45 ℃),72 ℃ 2 min,25 个循环;72 ℃ 10 min。单增李斯特菌 7 个管家基因引物序列、产物长度见参考文献[10]、经电泳结果确认后将扩增产物送北京擎科生物科技有限公司进行双向测序。测序结果用 Seqman 软件检验与拼接,以 Mega 软件截取比对序列,结果与 Lm 的 MLST 数

据库(http://www.mlst.net)进行比对获得管家基因编号及 ST 型别的唯一序列号。运用 BioNumerics 7.6 软件进行聚类分析。

2　结　果

2.1　毒力基因分布　3 株病人分离菌株和 52 株食品分离菌株的 6 种毒力基因 *prfA*、*plcB*、*hly*、*actA*、*iap*、*inlA* 全部为阳性。

2.2　MLST 分型结果　55 株 Lm 共分为 14 个 ST 型，其中 52 株食品株 Lm 分为 13 个 ST 型，包括 ST9 型(24 株)、ST5 型(6 株)、ST121 型(4 株)、ST8 型(4 株)、ST297 型(3 株)、ST11 型(2 株)、ST155 型(2 株)、ST224 型(2 株)、ST3 型(1 株)、ST87 型(1 株)、ST321 型(1 株)、ST378 型(1 株)、ST575 型(1 株)。病人分离的 3 株 Lm 分别为 ST87 型、ST91 型和 ST224 型。ST87 型、ST224 型为食品和病人菌株共有型别。所有菌株以 ST9 为优势型别(24/55，43.64%)，其次为 ST5 型(6/55，10.91%)、ST121/ST8(4/55，7.27%)，ST224/ST297(3/55，5.45%)(图 1)。优势的 ST9 型菌株在 2014—2018 年均有出现。



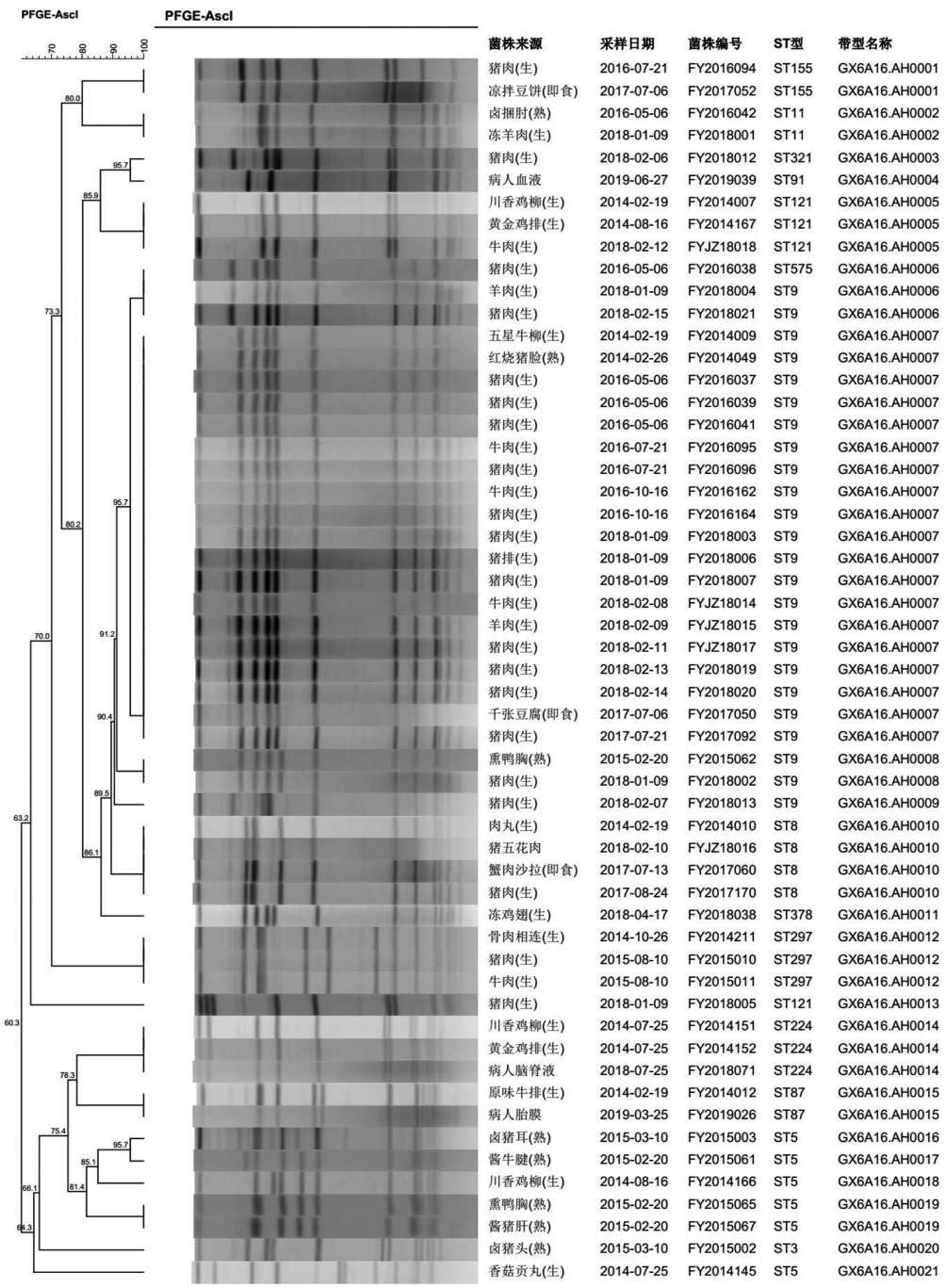
Note: Each circle represents a single ST. The diameter of the circle was proportional to the number of strains. The number of different alleles between STs was on the lines between ST.

图 1　55 株单增李斯特菌 MLST 分析

Fig.1　MLST analysis of 55 *Listeria monocytogenes* isolates

2.3　PFGE 分型结果　55 株 Lm 菌经 *Asc*Ⅰ酶切电泳后共分为 21 个带型(PT 型)，相似度 60.3%～100%。其中 GX6A16.AH0007(19/55)为优势 PT 型，且均为 ST9 型菌株。图 2 的聚类分析显示，52

株食品菌株中存在同一年份分离菌株分属于不同分支,而不同年份分离菌株有相同型别的现象。2016和2018年食品分离的3株菌均为GX6A16.AH0006型,其中2株为ST9型,1株为ST575型;2017年在同一超市熟食柜、同时采样的两种凉拌菜分离的菌株其PT型和ST型均不相同,千张豆腐分离菌株FY2017050为GX6A16.AH0007和ST9型,而凉拌豆饼分离菌株FY2017052为GX6A16.AH0001和ST155型别。3株病人分离菌株的PT型和ST型互不相同;2018年病人脑脊液分离菌株FY2018071和2014年食品分离菌株2014151、2014152的PT型和ST型完全一致,分别为GX6A16.AH0014和ST224型;2019年病人胎膜分离的菌株FY2019026和2014年食品分离菌株2014012的PT型和ST型完全一致,分别为GX6A16.AH0015和ST87型;2019年病人血液分离菌株FY2019039为GX6A16.AH0004和ST91型。



菌株来源	采样日期	菌株编号	ST型	带型名称
猪肉(生)	2016-07-21	FY2016094	ST155	GX6A16.AH0001
凉拌豆饼(即食)	2017-07-06	FY2017052	ST155	GX6A16.AH0001
卤捆肘(熟)	2016-05-06	FY2016042	ST11	GX6A16.AH0002
冻羊肉(生)	2018-01-09	FY2018001	ST11	GX6A16.AH0002
猪肉(生)	2018-02-06	FY2018012	ST321	GX6A16.AH0003
病人血液	2019-06-27	FY2019039	ST91	GX6A16.AH0004
川香鸡柳(生)	2014-02-19	FY2014007	ST121	GX6A16.AH0005
黄金鸡排(生)	2014-08-16	FY2014167	ST121	GX6A16.AH0005
牛肉(生)	2018-02-12	FYJZ18018	ST121	GX6A16.AH0005
猪肉(生)	2016-05-06	FY2016038	ST575	GX6A16.AH0006
羊肉(生)	2018-01-09	FY2018004	ST9	GX6A16.AH0006
猪肉(生)	2018-02-15	FY2018021	ST9	GX6A16.AH0006
五星牛柳(生)	2014-02-19	FY2014009	ST9	GX6A16.AH0007
红烧猪脸(熟)	2014-02-26	FY2014049	ST9	GX6A16.AH0007
猪肉(生)	2016-05-06	FY2016037	ST9	GX6A16.AH0007
猪肉(生)	2016-05-06	FY2016039	ST9	GX6A16.AH0007
猪肉(生)	2016-05-06	FY2016041	ST9	GX6A16.AH0007
牛肉(生)	2016-07-21	FY2016095	ST9	GX6A16.AH0007
猪肉(生)	2016-07-21	FY2016096	ST9	GX6A16.AH0007
牛肉(生)	2016-10-16	FY2016162	ST9	GX6A16.AH0007
猪肉(生)	2016-10-16	FY2016164	ST9	GX6A16.AH0007
猪肉(生)	2018-01-09	FY2018003	ST9	GX6A16.AH0007
猪排(生)	2018-01-09	FY2018006	ST9	GX6A16.AH0007
猪肉(生)	2018-01-09	FY2018007	ST9	GX6A16.AH0007
牛肉(生)	2018-02-08	FYJZ18014	ST9	GX6A16.AH0007
羊肉(生)	2018-02-09	FYJZ18015	ST9	GX6A16.AH0007
猪肉(生)	2018-02-11	FYJZ18017	ST9	GX6A16.AH0007
猪肉(生)	2018-02-13	FY2018019	ST9	GX6A16.AH0007
猪肉(生)	2018-02-14	FY2018020	ST9	GX6A16.AH0007
千张豆腐(即食)	2017-07-06	FY2017050	ST9	GX6A16.AH0007
猪肉(生)	2017-07-21	FY2017092	ST9	GX6A16.AH0007
熏鸭胸(熟)	2015-02-20	FY2015062	ST9	GX6A16.AH0008
猪肉(生)	2018-01-09	FY2018002	ST9	GX6A16.AH0008
猪肉(生)	2018-02-07	FY2018013	ST9	GX6A16.AH0009
肉丸(生)	2014-02-19	FY2014010	ST8	GX6A16.AH0010
猪五花肉	2018-02-10	FYJZ18016	ST8	GX6A16.AH0010
蟹肉沙拉(即食)	2017-07-13	FY2017060	ST8	GX6A16.AH0010
猪肉(生)	2017-08-24	FY2017170	ST8	GX6A16.AH0010
冻鸡翅(生)	2018-04-17	FY2018038	ST378	GX6A16.AH0011
骨肉相连(生)	2014-10-26	FY2014211	ST297	GX6A16.AH0012
猪肉(生)	2015-08-10	FY2015010	ST297	GX6A16.AH0012
牛肉(生)	2015-08-10	FY2015011	ST297	GX6A16.AH0012
猪肉(生)	2018-01-09	FY2018005	ST121	GX6A16.AH0013
川香鸡柳(生)	2014-07-25	FY2014151	ST224	GX6A16.AH0014
黄金鸡排(生)	2014-07-25	FY2014152	ST224	GX6A16.AH0014
病人脑脊液	2018-07-25	FY2018071	ST224	GX6A16.AH0014
原味牛排(生)	2014-02-19	FY2014012	ST87	GX6A16.AH0015
病人胎膜	2019-03-25	FY2019026	ST87	GX6A16.AH0015
卤猪耳(熟)	2015-03-10	FY2015003	ST5	GX6A16.AH0016
酱牛腱(熟)	2015-02-20	FY2015061	ST5	GX6A16.AH0017
川香鸡柳(生)	2014-08-16	FY2014166	ST5	GX6A16.AH0018
熏鸭胸(熟)	2015-02-20	FY2015065	ST5	GX6A16.AH0019
酱猪肝(熟)	2015-02-20	FY2015067	ST5	GX6A16.AH0019
卤猪头(熟)	2015-03-10	FY2015002	ST3	GX6A16.AH0020
香菇贡丸(生)	2014-07-25	FY2014145	ST5	GX6A16.AH0021

图2 55株单增李斯特菌PFGE聚类图、序列型别

Fig.2 PFGE cluster diagram and sequence types of 55 *Listeria monocytogenes* strains

3 讨　论

Lm 是一种重要的食源性致病菌，在生畜肉、熟肉、沙拉等食品中均可检出。误食了被该菌污染的食物可引起李斯特菌病，尤其对免疫力低下的患者和围产期妇女造成的危害更为严重。近年来报告的李斯特菌病病例逐渐增多[11-15]。

Lm 的致病性与其所携带的毒力基因密切相关，目前已发现的毒力基因较多，这 6 个毒力基因 *prfA*、*plcB*、*hly*、*actA*、*iap*、*inlA* 功能较为清楚。*hly* 基因编码的溶血素是 Lm 的重要毒力因子，溶血素与 Lm 的致病性密切相关；*iap* 基因编码的 P60 蛋白是 Lm 的重要抗原，与侵袭性有关；*prfA* 是毒力调控基因，可转录和调控 Lm 的多种毒力基因；*inlA* 基因编码内化素，介导细菌侵入宿主细胞；*actA* 基因编码肌动蛋白，为细菌运动提供动力；*plcB* 编码磷脂酰胆碱磷脂酶，与细菌的扩散能力有关[16-18]。本研究从多类食品特别是熟肉、沙拉、凉拌菜等直接食用的食品中分离到的 Lm 均具有这 6 种毒力基因，提示这些食源性 Lm 对人们健康存在潜在威胁，有出现食源性感染性暴发疫情的可能性，应引起卫生监督部门的高度重视。

PFGE 技术因分辨率高、分型能力强、重复性好的特点被誉为细菌性传染病病原分子分型的“金标准”[9]。通过对电泳条带的比较分析可以反映出不同菌株的相关性。本次聚类分析结果表现为多样性，55 株 Lm 分为 21 个 PT 型。3 株病人分离株为不同的 PT 型，存在病人菌株和食品菌株型别完全一致情况；52 株食品株中相同年份有多种带型共存，不同年份菌株存在相同的带型。说明食品销售环境中具有多种型别的 Lm 持续存在，有可能随着地区间食品运输和销售链进行扩散传播，因此食品安全需要加强对污染食品的监管。

MLST 通过比对 Lm 7 个管家基因的核苷酸序列多样性，进而研究菌株间的遗传相关性和种群结构的一种基因分型方法。本研究中使用 MLST 将 55 株 Lm 分为 14 个 ST 型，其中 52 株食品分离株中优势菌株为 ST9 型，其次为 ST5、ST121、ST8、ST297、ST224，与马爱静，霍哲等的研究结果相似[3,19]。3 株病人分离菌株型别各不相同，而有 2 株病人和食品分离菌株型别相同。2019 年分离于早产孕妇胎膜（胎死宫内）的菌株 FY2019026 和 2014 年食品分离株 2014012 的 PFGE 带型和 MLST 型别完全相同，为 GX6A16.AH0015 和 ST87 型，ST87 型菌株为单增李斯特菌病病例样本中多见型别[20]；菌株 FY2019039 分离于肝硬化败血症病人的血液，其 PFGE 带型和 MLST 型为 GX6A16.AH0004 和 ST91，暂未发现与其型别相同菌株；菌株 FY2018071 分离于早产婴儿的脑脊液，和 2014 年食品分离菌株 FY2014151、FY2014152 的 PFGE 带型和 MLST 型别完全相同，均为 GX6A16.AH0014 和 ST224 型，说明 Lm 的一些型别菌株可持续多年污染本地的食品并具有致病性，对人群具有较高的感染风险。这种食品株和病人株型别相同的现象在国内其他学者的研究中也有报道[20-21]。

由图 2 可以看出多数菌株 PT 型相同 ST 型相同；有些菌株 ST 型相同 PT 型不同，有些菌株 PT 型相同 ST 型不同，如 FY2016038、FY2018004、FY2018021 的 PT 型相同均为 GX6A16.AH0006，而 MLST 型菌株 FY2016038 为 ST575 型、菌株 FY2018004 和 FY2018021 为 ST9 型。PFGE 可分析细菌之间的相关性，追溯感染来源，MLST 通过分析每个管家基因的核苷酸序列特征，反映菌株间的遗传相关性、克隆性。对 ST 型、PT 型均一致的食品和病人菌株进行基因组测序分析，可进一步确定是否为相同或相近克隆来源菌株等。同一超市熟食柜、同时采样的两种凉拌菜，PT 型和 ST 型均不相同，PT 型为 GX6A16.AH0007 和 GX6A16.AH0001，ST 型为 ST9 和 ST155。说明该熟食柜同时存在多种型别的 Lm 污染，并且携带毒力基因，说明我市具有食源性李斯特菌病散发和暴发的潜在危险。应加强食源性 Lm 的病原监测、感染风险评估、食品卫生监管措施等。

本研究采用分子分型技术对阜阳市 2014—2019 年病人和食品样本中分离的 55 株 Lm 进行分子分型分析，同时检测其毒力基因，建立了 Lm 分子特征数据库，为本市李斯特菌病的预防控制提供了参考依据。

利益冲突：无

引用本文格式：孟昭倩，段然，吕东月，等.2014—2019 年阜阳市食品和病人分离单增李斯特菌的分子特征分析[J].中国人兽共患病学报，2020，36(12)：1019-1024. DOI：10.3969/j.issn.1002-2694.2020.00.167

参考文献：

[1] 吴学林，曹树珠，马勋.单核细胞增生性李斯特菌 srtA 基因的克隆与原核表达[J].石河子大学学报(自然科学版)，2015，33(2)：196-200.DOI：10.13880/j.cnki.65-1174/n.2015.02.014

[2] 崔焕忠，乔立桥，王义冲.单核细胞增生性李斯特菌的主要毒力因子及其致病机理[J].中国畜牧兽医，2010，37(1)：128-133.

[3] 马爱静，王艳，王毅，等. 北京市一些地区生肉标本中单增李斯特菌的分离及其分子流行病学特征分析[J]. 中国人兽共患病学报，2015，31(5)：403-407. DOI：10.3969/ j.issn.1002-2694.2015.05.003

[4] 陈伟伟，吴晓敏，廖冬冬，等.2016 年福建省单核细胞增生李斯特菌临床病例及食品来源菌株的分子特征分析[J].中国人兽共患病学报，2019，35(2)：145-148. DOI：10.3969/ j.issn.1002-2694.2018.00.199

[5] 孙照琨，吴璇，陈蕊，等.李斯特菌病既往中国文献报告病例分析[J].中国微生态学杂志，2016，28(11)：1323-1326. DOI：10.13381/j.cnki.cjm.201611023

[6] 冯延芳，冉陆，张立实，等.2000－2009 年中国李斯特菌病文献报告病例分析[J].疾病监测，2011，26(8)：654-659.DOI：10. 3784/ j.issn. 1003-9961. 2011. 08. 021

[7] Montero D，Bodero M，Riveros G，et al. Molecular epidemiology and genetic diversity of *Listeria monocytogenes* isolates from a wide variety of ready-to-eat foods and their relationship to clinical strains from listeriosis outbreaks in Chile[J].Front Microbiol，2015，6：384. DOI：10.3389/fmicb.2015.00384

[8] Soni DK，Singh M，Singh DV，et al. Virulence and genotypic characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from vegetable and soil samples[J]. BMC Microbiol，2014，14：241. DOI：10.1186/s12866-014-0241-3

[9] 徐建国，阚飙，张建中，等. 现场细菌学[M]. 北京：科学出版社，2011：198-199.

[10] Ragon M，Wirth T，Hollandt F，et al. A new perspective on. *Listeria monocytogenes* evolution[J]. PLoS Pathog，4(9)：e1000146. DOI：10.1371/journal.ppat.1000146

[11] 王红，王艳，张正东，等.3 例单增李斯特菌感染的病原学、临床及流行病学特征分析[J].中国人兽共患病学报，2015，31(7)：678-680. DOI：10.3969/ j.issn.1002-2694.2015.07.018

[12] 周卫萍.单核细胞增多性李斯特菌致早产儿败血症 1 例报道[J].国际检验医学杂志，2016，37(21)：3092. DOI：10.3969/ j.issn.1673-4130.2016.21.063

[13] 张玲，陈曦，罗丽娟，等.一起单增李斯特菌引起新生儿败血症的溯源研究[J].传染病监测，2018，33(11)：936-939. DOI：10.3784/j.issn.1003-9961.2018.11.013

[14] 陈静，范俊杰，朱雪萍.新生儿单核细胞增生性李斯特菌败血症 17 例临床分析[J].重庆医学，2018，47(36)：4635-4636，4640. DOI：10.3969/ j.issn.1671-8348.2018.36.018

[15] 刘红秀，王丽霞.妊娠期产单核李斯特菌感染 2 例[J].大连医科大学报，2018，40(3)：278-281. DOI：10.11724/jdmu.2018.03.19

[16] 刘二龙，袁慕云，吕英姿，等.单增李斯特菌三重实时荧光 PCR 检测的建立及其毒力基因在分离菌株中分布[J].中国人兽共患病学报，2016，32(5)：451-456. DOI：10.3969/ j.issn.1002-2694.2016.05.007

[17] 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(5)：299-301.

[18] 祝仁发，叶长芸.单核细胞增生李斯特菌的毒力因子[J].中国食品卫生杂志，2007，19(2)：158-162.DOI：10.13590/j.cjfh.2007.02.020

[19] 霍哲，王晨，徐俊，等.2012－2015 年北京市西城区单核细胞增生李斯特菌多位点序列分型及耐药研究[J].中国食品卫生杂志，2017，29(3)：289-293. DOI：10.13590/j.cjfh.2017.03.007

[20] Wang Y，Jiao Y，Lan RT，et al. Characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from human Listeriosis cases in China[J]. Emerg Microbes Infect，2015，4(8)：e50. DOI：10.1038 / emi.2015.50

[21] 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. DOI：10.13590/j.cjfh.2018.05.004

收稿日期：2020-02-28 编辑：王晓欢

·读者·作者·编者·

缴纳相关费用须知

本刊所有进入“校样核红”阶段的稿件，请作者登录系统认真填写发票相关信息：①银行卡号及开户行请填写稿酬接收人个人的，请勿填写作者单位的账号；②请准确填写作者单位的发票抬头及纳税人识别号；③建议作者单位对公转账，不接收作者个人的转账，如为个人转账，发票抬头只能开具个人，因此造成发票无法报销的，由作者自行承担相关责任。