

论著

广西单核细胞增生李斯特菌的流行率、毒力特征和分子分型研究

曾献莹,吕素玲,瞿聪,李秀桂,谭冬梅

(广西壮族自治区疾病预防控制中心,广西南宁 530028)

摘要:目的 比较广西不同种类食品中单核细胞增生李斯特菌(以下简称单增李斯特菌)的流行情况、毒力特征和分子分型特征,更好地了解单增李斯特菌的遗传特点及其传播的潜力。方法 对来自2002—2020年的210株单增李斯特菌进行全基因组测序(WGS),分析其序列分型(ST)、克隆群(CC)型及毒力基因。结果 2002—2020年广西53.8%单增李斯特菌分离株来源于肉与肉制品,59.0%分离株来自于谱系II,优势ST型为ST8和ST9。79.4%菌株携带LIPI-1基因(*hly*、*prfA*、*plcA*、*plcB*、*mpl*、*actA*),83.7%菌株携带LIPI-2基因(*inlC*、*inlF*、*inlJ*、*inlK*)。17.6%菌株携带LIPI-3基因(*llsA*、*llsB*、*llsD*、*llsG*、*llsH*、*llsP*、*llsX*、*llsY*)。结论 肉与肉制品是广西单增李斯特菌检出率最高的食品类型,分子分型结果证实了单增李斯特菌种群具有高度的遗传多样性,WGS的高分辨力可用于监测食源性单增李斯特菌病的暴发。毒力基因的分布表明广西单增李斯特菌存在不同程度毒力基因的缺失,应警惕高致病性的菌株引起的食源性暴发事件。

关键词:单增李斯特菌;全基因组测序;多位点序列分型

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2023)08-1133-07

DOI:10.13590/j.cjfh.2023.08.001

Prevalence, virulence profiling, and molecular typing of *Listeria monocytogenes* isolated in Guangxi

ZENG Xianying, LYU Suling, QU Cong, LI Xiugui, TAN Dongmei

(Guangxi Zhuang Autonomous Region Center for Disease Prevention and Control, Guangxi Nanning 530028, China)

Abstract: Objective This study aimed to comprehensively analyze the prevalence, virulence characteristics, and molecular typing of *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) isolated from various food sources in Guangxi. By investigating the genetic attributes and potential transmission mechanisms of *L. monocytogenes*, this research contributes to our understanding of this pathogen. **Methods** A total of 210 *L. monocytogenes* strains collected from 2002 to 2020 in Guangxi were subjected to whole genome sequencing (WGS) analysis. The study included the determination of sequence types (STs), clonal complexes (CC), and the presence of *L. monocytogenes* pathogenicity islands (LIPIs). **Results** Of the *L. monocytogenes* isolates, 53.8% were traced back to meat and meat products from 2002 to 2020 in Guangxi. Among these isolates, 59.0% belonged to lineage II. The predominant STs were ST8 and ST9. Virulence gene analysis revealed that 79.4% of isolates carried LIPI-1 genes (*hly*, *prfA*, *plcA*, *plcB*, *mpl*, and *actA*), while 83.7% carried LIPI-2 genes (*inlC*, *inlF*, *inlJ*, and *inlK*). Furthermore, 17.6% of isolates carried LIPI-3 genes (*llsA*, *llsB*, *llsD*, *llsG*, *llsH*, *llsP*, *llsX*, and *llsY*). **Conclusion** Meat and meat products in Guangxi showed the highest prevalence of *L. monocytogenes*. Molecular typing results demonstrated a high genetic diversity among *L. monocytogenes* strains. The discriminatory power of WGS makes it a valuable tool for monitoring foodborne listeriosis outbreaks. The distribution of virulence genes indicated that *L. monocytogenes* of Guangxi had different degree of deletion of virulence genes, underscoring the importance of vigilance regarding highly pathogenic strains that could potentially cause foodborne outbreaks.

Key words: *Listeria monocytogenes*; whole genome sequencing; multilocus sequence typing

收稿日期:2022-12-07

基金项目:广西自然科学基金项目(2018GXNSFAA050039)

作者简介:曾献莹 女 主管技师 研究方向为食源性致病菌相关研究 E-mail:342442133@qq.com

通信作者:谭冬梅 女 主任技师 研究方向为食源性致病菌相关研究 E-mail:1457217431@qq.com

单核细胞增生李斯特菌(以下简称单增李斯特菌)是一种能引起严重李斯特菌病的食源性革兰氏阳性菌,主要会导致孕产妇早产、流产和死胎,引起老人和免疫力低下人群脑膜炎、败血症以及引起新生儿全身感染^[1]。单增李斯特菌能够在多种温度和pH条件下生长,对盐有显著的耐受性^[2]。人类和动

物主要通过受污染的食物或食物链感染单增李斯特菌^[3]。在美国、欧洲部分国家、印度和日本已经报道了由食物原材料和食品加工环境引起的李斯特菌病暴发,并追溯到7个主要来源:生肉、即食食品、生牛奶、巴氏灭菌奶、冰淇淋、渔业产品和蔬菜^[4-6],这种食源性致病菌给公共卫生带来了巨大的经济负担^[7]。

单增李斯特菌由4个进化谱系(I、II、III、IV)和至少12个鉴定的血清型组成。在大多数研究中,包含血清型1/2b、3b、4b、4d、4e和7在内的谱系I通常在人类临床分离株中被发现,而包含血清型1/2a、1/2c、3a和3c在内的谱系II从人和动物中零星分离,包含血清型4a和4c在内的III和IV谱系则很少见,主要在动物中被发现^[8-9]。在这12种血清型中,超过90%的人类李斯特菌病是由1/2a、1/2b和4b血清型的菌株引起,而与李斯特菌病暴发相关的大多数菌株属于4b血清型^[10]。在中国,血清型1/2a、1/2b和1/2c占食品中分离的单增李斯特菌的90%以上^[11]。

大多数李斯特菌病例是散发性的,为监测疫情和追踪污染源,高分辨率的分子分型方法有助于流行病学调查。基于序列的分型方法——全基因组测序(Whole genome sequencing, WGS)具有最高的分辨率,通过对整个目标细菌基因组测序,提供了巨大的系统发育关系信息, WGS比其他分型方法更易于比较、追踪和溯源^[12]。在食源性疾病暴发期间,对单增李斯特菌致病菌株进行亚型划分,以便进行趋势分析和相关食品的“召回和销毁”^[13]。另外, WGS能够将发生时间较长的病例联系起来,将散发性病例与受污染的食物联系起来,从而能够识别低水平的产品污染并取得预防性控制的效果^[14]。

单增李斯特菌含有的基因组岛—李斯特菌致病岛(*Listeria pathogenicity island*, LIPIs)在毒力方面发挥重要作用^[15-16]。LIPI-1在所有致病性单增李斯特菌中是相当保守的,含有参与宿主入侵和细胞生长的关键基因,主要由 *prfA*、*hly*、*plcA*、*plcB*、*mpl* 和 *actA* 6个基因组成^[15]。所有这些基因都是由毒力调控因子 *prfA* 基因控制, *hly* 基因编码溶菌酶 O, *actA* 基因编码肌动蛋白, *plcA* 和 *plcB* 基因编码磷脂酰肌醇磷脂酶 C^[17]。单增李斯特菌发病机制的核心是入侵和跨越宿主屏障的能力^[18],以及使用内分泌蛋白和各种分泌系统在细胞表面以外分泌蛋白质的能力^[19]。LIPI-2则由涉及单增李斯特菌毒力活性的内分泌蛋白家族组成,最近已有 *InlC*、*InlF*、*InlJ* 和 *InlK* 几种内分泌蛋白被鉴定出来^[20-22]。LIPI-3由8个基

因(*llsA*、*llsB*、*llsG*、*llsH*、*llsX*、*llsY*、*llsD*、*llsP*)组成,这些基因与产生李斯特菌溶解素 S (*Listeriolysin S*, LLS)和高毒力有关。LLS是翻译后修饰的溶血素,已被证明在多形核白细胞(Polymorphonuclear leukocytes, PMNs)中对单增李斯特菌的存活起作用,在小鼠模型中亦能起到形成毒力的作用^[23]。然而,研究发现一旦肠屏障被跨越,LLS不会对体内毒力产生影响^[24-25]。相反,它作为一种细菌素,破坏肠道微生物群,从而增强单增李斯特菌定居宿主的能力。由于 *llsX* 基因可能是单增李斯特菌的特异性基因,因此 *llsX* 可以作为 LIPI-3 致病岛的标记。

本研究目的是分析评估单增李斯特菌在广西不同食品中的流行情况,利用 WGS 方法分析食源性单增李斯特菌的序列分型(Sequence typing, ST)、克隆群(Clonal complex, CC)型和毒力基因分布以及分子分型的特点,揭示广西单增李斯特菌的基因组序列多样性,有助于更好地了解广西食源性单增李斯特菌的进化和遗传多样性。

1 材料与方法

1.1 菌株来源

210株广西单增生李斯特菌株(食品200株,患者7株,从业人员3株)来自2002—2020年广西壮族自治区各个疾控中心,由食品安全风险监测点分离上报并经广西壮族自治区疾病预防控制中心微生物检验所鉴定复核。

1.2 主要仪器及试剂

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)、脑心浸液肉汤(Brain heart infusion, BHI)(英国OXOID公司),全基因组DNA提取试剂盒(德国Qiagen公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 WGS

选取BHA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,并将样品送至北京诺禾致源科技股份有限公司进行WGS。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300bp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。过滤低质量reads后,将raw data导入基于BioNumerics 7.6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,分析后的测序数据将下载至该软件数据库里。

1.3.2 多位点序列分型、谱系和血清分析

试验菌株的序列分型(Sequence typing, ST)、谱系和血清群均基于 WGS 结果。将 BioNumerics 7.6 软件数据库里的 denovo 数据导出,登录 TraNet 数据交付平台,利用 MLST 分型模块、李斯特菌模块对 denovo 数据进行分析,即可获得试验菌株的多位点序列分型(Multilocus sequence typing, MLST)分型、血清型数据。CC 型可通过分类数据最小生成树确定,MLST 的 7 个等位基因中仅 1 个位点不同定位同意 CC 型。谱系依据法国巴斯德网站上公布的 ST-CC-Lineage 表确定。

1.3.3 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 LIPI1、LIPI2 和 LIPI3,通过 BLASTN 软件进行比对,设定核苷酸最小一致性为 80%。

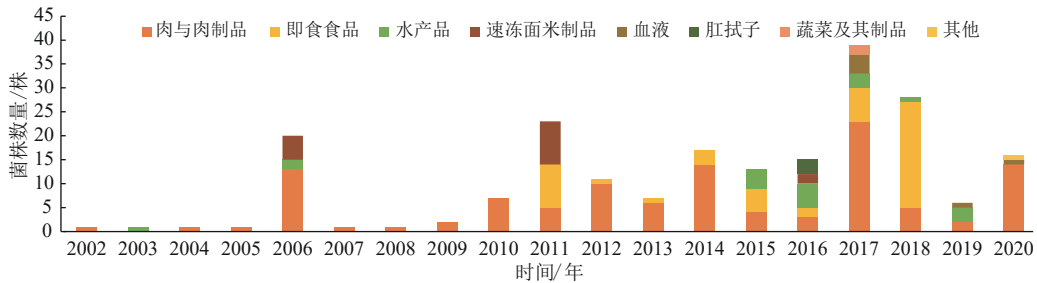


图1 2002—2020年广西单增李斯特菌分布情况

Figure 1 Distribution of *Listeria monocytogenes* isolates from foods in Guangxi from 2002 to 2020

通过 WGS 对比,210 株单增李斯特菌分离株分为两个谱系(图 2),大多数分离株分组在谱系 II ($n=124$),其余的分布在谱系 I ($n=86$)。在两个谱系之间,将分离株分为 4 个血清群: II a (43.3%)、II b (29.1%)、II c (15.7%) 和 IV b (11.9%)。血清组 IV b 和 II b 属于谱系 I,血清组 II a 和 II c 属于谱系 II。

210 株单增李斯特菌来自 4 种不同的血清型 1/2a, 3a、1/2b, 3b, 7、1/2c, 3c、4b, 4d, 4e, 见表 1, 其中 1/2a 和 3a 为优势血清型,占比 43.3%。4 种血清型在 5 种不同食物中的分布不具有显著性差异 ($\chi^2=16.074, P=0.188>0.05$)。在 210 株分离株中,有 11.9%(25/210)确认为 4b、4d、4e 血清型,其中 20.0%(5/25)来自于病例血液标本。

2.2 广西单增李斯特菌主要 ST 型分布特点

210 株单增李斯特菌分离株分为 29 个不同的 ST 型,通过进一步分析分为 20 个 CC 型和 1 个单体(图 3,表 2)。在 29 个 ST 型中,ST8/CC8(19.0%) 和 ST9/CC9(12.9%) 为优势 ST 型,其次是 ST87/CC87 (11.9%)、ST3/CC3 (7.1%) 和 ST121/CC121 (7.1%)、ST101/CC101(4.8%)。谱系 I 对应的 ST 型大多为 ST87 和 ST3,血清型为 1/2b、3b、7,谱系

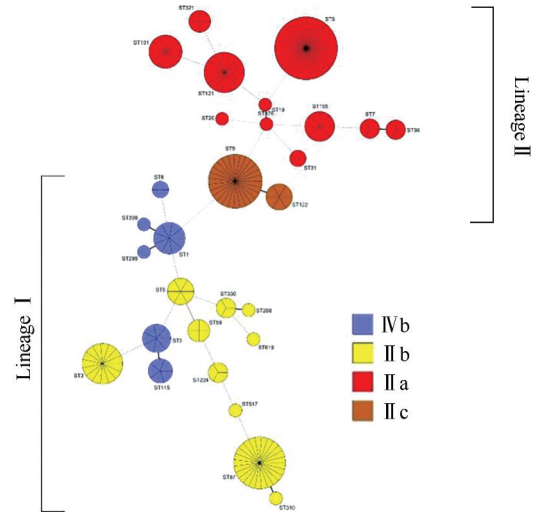
1.3.4 统计学分析

采用 SPSS 22.0 统计软件分析数据,对不同食品类别的单增李斯特菌血清型分布进行 χ^2 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 广西单增李斯特菌分布情况

2002—2020 年共收集单增李斯特菌 210 株,其中肉与肉制品来源 113 株,占比 53.8%;即食食品 50 株,占比 23.8%;水产品 19 株,占比 9.0%;速冻米面制品 16 株,占比 7.6%(图 1)。2016 年有 3 株单增李斯特菌来自从业人员健康体检;有 6 株单增李斯特菌来源于患者,其中 4 株来自婴幼儿,分别检出于 2017、2019、2020 年,有 1 株单增李斯特菌于 2020 年从婴幼儿眼部分泌物检出。



注:每个圆对应一个序列类型;圆的大小与分离株的数量成正比,圆内的颜色代表分离株的血清群

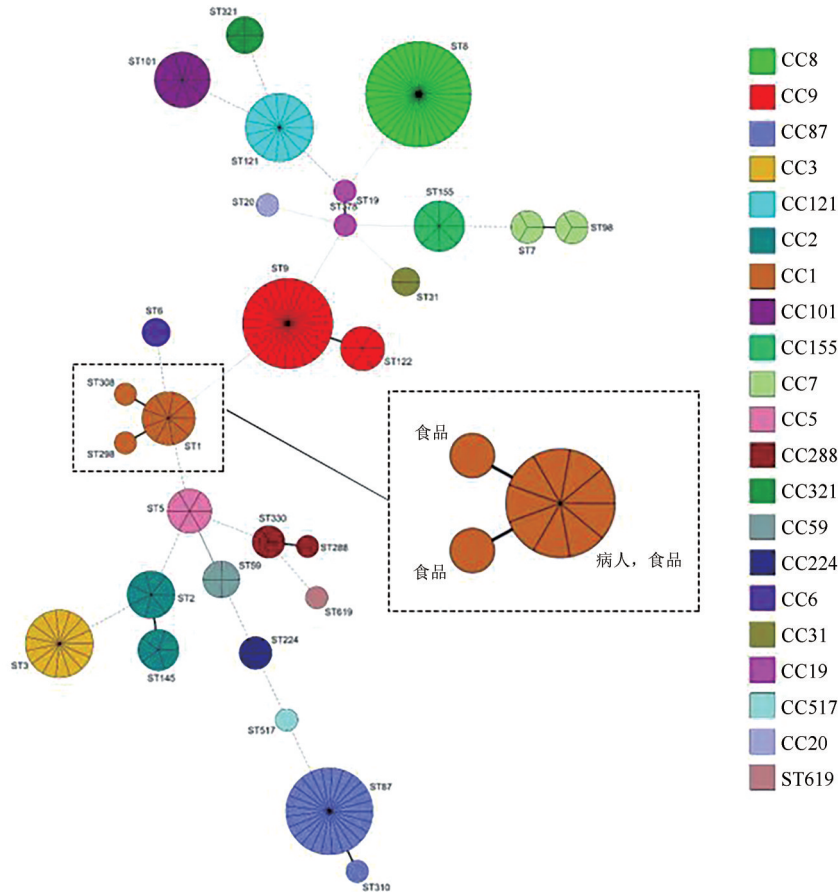
图2 2002—2020广西单增李斯特菌的 29 个 STs 最小生成树
Figure 2 The minimum spanning tree of the 29 STs from *Listeria monocytogenes* in Guangxi from 2002 to 2020

II 对应的 ST 型大多为 ST8 和 ST9,血清型为 1/2a、3a。肉与肉制品中分离的单增李斯特菌对应的主要 ST 型为 ST9 和 ST8,血清型为 1/2a、3a。即食食品对应的主要 ST 型别为 ST8,水产品主要对应 ST3,

表1 2002—2020年单增李斯特菌血清型分布情况

Table 1 Distribution of serotypes of *Listeria monocytogenes* isolates in Guangxi from 2002 to 2020

血清型	肉与肉制品	即食食品	水产品	速冻米面制品	蔬菜及其制品	血液	肛拭子	其他	总计
1/2a,3a	48	27	6	5	1	1	3	0	91
1/2b,3b,7	31	12	11	6	1	0	0	0	61
1/2c,3c	21	6	1	5	0	0	0	0	33
4b,4d,4e	13	5	1	0	0	5	0	1	25
总计	113	50	19	16	2	6	3	1	210



注:ST619为未分型的CC型

图3 2002—2020年广西210株单增李斯特菌ST型和CC型最小生成树

Figure 3 The minimum spanning tree of the STs and CC from 210 *Listeria monocytogenes* in Guangxi from 2002 to 2020

表2 2002—2022年单增李斯特菌ST型特点

Table 2 Sequence types characteristics of *Listeria monocytogenes* isolates from 2002 to 2020

STs	CC	谱系	血清型	菌株数/%	样品类别
ST8	CC8	II	1/2a,3a	40(19.0)	肉与肉制品(19);即食食品(13);肛拭子(3);水产品(3);速冻米面制品(2)
ST9	CC9	II	1/2c,3c	27(12.9)	肉与肉制品(20);即食食品(1);水产品(1);速冻米面制品(5)
ST87	CC87	I	1/2b,3b,7	25(11.9)	肉与肉制品(14);即食食品(6);水产品(3);速冻米面制品(2)
ST3	CC3	I	1/2b,3b,7	15(7.1)	肉与肉制品(5);即食食品(2);水产品(5);速冻米面制品(3)
ST121	CC121	II	1/2a,3a	15(7.1)	肉与肉制品(10);即食食品(1);水产品(2);速冻米面制品(2)
ST101	CC101	II	1/2a,3a	10(4.8)	肉与肉制品(3);即食食品(7)
ST1	CC1	I	4b,4d,4e	9(4.3)	肉与肉制品(4);即食食品(1);血液(4)
ST155	CC155	II	1/2a,3a	8(3.8)	肉与肉制品(7);速冻米面制品(1)
ST2	CC2	I	4b,4d,4e	7(3.3)	肉与肉制品(6);水产品(1)
ST122	CC9	II	1/2c,3c	6(2.9)	肉与肉制品(5);即食食品(1)
ST5	CC5	I	1/2b,3b,7	6(2.9)	肉与肉制品(5);即食食品(1)
ST7	CC7	II	1/2a,3a	6(2.9)	肉与肉制品(2);即食食品(3);蔬菜及其制品(1)

速冻米面制品主要对应 ST9,10 株来自临床病例分离株对应 ST 型别是 ST1(n=4)、ST8(n=3)、ST6(n=2)、ST20(n=1)。

2.3 广西单增李斯特菌毒力基因分布特点

210 株单增李斯特菌中,有 1 株来自牛排的分离株,未检测到任何毒力基因,其余 209 株分离株

中有 79.4%(166/209)包含 LIPI-1 6 个基因,包括 *hly*、*prfA*、*plcA*、*plcB*、*mpl* 和 *actA*。20.6%(43/209)分离株缺失 *actA* 基因,其中 26 株为谱系 I,17 株为谱系 II。在所有分离株中检测与内分泌有关 LIPI-2 基因(*inlC*、*inlF*、*inlJ*、*inlK*),209 株分离株均含有 *inlC* 基因和 *inlK* 基因,*inlF* 和 *inlJ* 在菌株间分布不均匀。在 15 株菌中未检测到 *inlF* 基因,这些分离株均来自非临床来源,以谱系 II 为主且均为 ST121 型别和 CC121 克隆群。在 19 株菌中未检测到 *inlJ* 基因,以谱系 I 为代表,以 ST3 型和 CC3 克隆群为主。因此,175 株(83.7%)单增李斯特菌携带 LIPI-2 基因。37 株菌携带 LIPI-3 的 8 个基因(*llsA*、*llsB*、*llsD*、*llsG*、*llsH*、*llsP*、*llsX*、*llsY*),占菌株数的 17.6%,且均属于谱系 I 菌株。来自临床来源的 10 株单增李斯特菌中,6 株(血液标本 5 株、眼部分泌物 1 株)缺乏 LIPI-1 的 *actA* 基因但拥有 LIPI-3 的 8 个毒力基因,其余 4 株(3 株肛拭子、1 株血液)则含有 LIPI-1 的 6 个毒力基因但缺失 LIPI-3 的 8 个毒力基因。

3 讨论

本研究收集的 210 株单增李斯特菌中 53.8% 分离株来自肉与肉制品,其次分别来自即食食品(23.8%)、水产品(9.0%)、速冻米面制品(7.6%),说明广西肉与肉制品中单增李斯特菌的检出率最高。即食食品一般是不需要加工处理或烹饪煮熟之后的食品,23.8% 分离株分布于即食食品,说明单增李斯特菌可能会存在于受污染的、生的食物原料中,在加工贮存过程中转移至即食食品。特别是散装食品缺乏严密的包装,可能更容易发生交叉污染。众所周知,冷冻是保证食品质量和最大限度地减少食源性病原体发病率的极好方法。本研究中 7.6% 的单增李斯特菌分离株来自速冻米面制品中,这与单增李斯特菌在冷藏温度下可以生长,且能在冷冻储存期间存活有关^[26]。本研究中报告于临床病例的单增李斯特菌分离株较少,6 株临床分离株分别来自 2017、2019、2020 年,这说明哨点医院检验能力的增强和临床医生对单增李斯特菌首诊和报告意识的提高。

了解人类是如何感染单增李斯特菌的不同谱系是非常重要的。本研究中,所有的单增李斯特菌属于谱系 I 和 II,这与美国、日本、波兰、许多欧洲国家及我国以前的研究一致^[27-29]。单增李斯特菌的不同遗传谱系具有不同的毒力潜力,通常谱系 I 的菌株比谱系 II 的菌株更具毒性^[30-32]。前期研究结果表明,59.0% 的单增李斯特菌分离株属于 II 谱系,这表明人类更有可能感染毒力较低的菌株。这一结

果可能部分解释了单增李斯特菌在食品中的流行率很高,而李斯特菌病的发病率很低。

本研究通过 WGS 分析广西单增李斯特菌的分子流行病学特征,将不同谱系、血清群和克隆群的菌株明显分开,共分为 29 个 ST 型,与克隆群基本保持一致。ST8/CC8(19.0%)和 ST9/CC9(12.9%)为本研究优势 ST 型,这与许多研究结果一致^[33-34]。值得注意的是,在中国中部三大城市中检出的单增李斯特菌分离株优势 ST 型为 ST5^[35],在南京进行的一项即食食品的调查表明,ST5 和 ST121 是两个最主要的 ST 型^[36]。本研究中 ST121 型和 ST5 型分别有 15 株(7.1%)、6 株(2.9%),提示应注意观察这两种 ST 型别的传播。ST87 是中国临床上李斯特菌病的主要 ST 型,与中枢神经系统和产妇及新生儿感染密切相关^[37],本研究从 4 类 25 份食品样品中均能检出 ST87 型,提示临床上感染的 ST87 型有可能通过进食受单增李斯特菌污染的食物而发生。

通过构建最小生成树分析了 210 株分离株的遗传关系。结果表明,广西单增李斯特菌的遗传多样性较高,某些食品分离株与人类单增李斯特菌有关,ST1 在食品和人类中都被分离出来。而单增李斯特菌 ST6 在全球范围内分布,并且有跨界传播给人类的危险^[13]。WGS 的高分辨率有助于加强来自食品、环境和患者的单增李斯特菌分离株之间的联系,以检测更多的李斯特菌病,提供了流行病学重点调查的方向,最终解决更多的单增李斯特菌暴发事件。

毒力基因在单增李斯特菌中的存在情况可以反映单增李斯特菌株不同的危害水平。LIPI-1 中的 *actA* 基因通过介导肌动蛋白聚合来负责单核细胞增生李斯特氏菌在宿主细胞中的传播^[38]。本研究中仅 20.6% 的分离株缺失 *actA* 基因,低于之前的研究(85.90%)^[39],表明 *actA* 基因并不都存在于所有的单增李斯特菌中,低致病性的单增李斯特菌有可能发生毒力基因缺失。在细胞间扩散中起重要作用的 *inlC* 基因和直接参与通过肠屏障和随后的感染阶段的 *inlJ* 基因是单增李斯特菌的关键毒力因子^[40]。本研究中 83.7%(175/209)分离株存在 LIPI-2 中的 *inlC*、*inlF*、*inlJ*、*inlK* 4 个基因。17.6% 的菌株携带 LIPI-3 的 8 个基因,均为谱系 I 菌株,这些可能为高致病性菌株。尽管很多研究发现 LIPI-3 仅存在于单增李斯特菌的谱系 I,但在许多其他李斯特菌菌株中也发现了相应的基因簇或其残留^[16]。本研究中,临床来源的 10 株单增李斯特菌检出的毒力基因不同,不同的毒力基因表现出不同的毒力影响,在单增李斯特菌的致病性中起到重要的作用。

参考文献

- [1] DREVETS D A, BRONZE M S. *Listeria monocytogenes*: Epidemiology, human disease, and mechanisms of brain invasion [J]. FEMS Immunology & Medical Microbiology, 2008, 53(2): 151-165.
- [2] GILMOUR M W, GRAHAM M, VAN DOMSELAAR G, et al. High-throughput genome sequencing of two *Listeria monocytogenes* clinical isolates during a large foodborne outbreak [J]. BMC Genomics, 2010, 11: 120.
- [3] POCHOP J, KAČÁNIOVÁ M, HLEBA L, et al. Detection of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat food by Step One real-time polymerase chain reaction [J]. Journal of Environmental Science and Health Part B, Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes, 2012, 47(3): 212-216.
- [4] BUSANI L, CIGLIANO A, TAIOLI E, et al. Prevalence of *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* contamination in foods of animal origin in Italy [J]. Journal of Food Protection, 2005, 68(8): 1729-1733.
- [5] VAN NIEROP W, DUSÉ A G, MARAIS E, et al. Contamination of chicken carcasses in Gauteng, South Africa, by *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* and *Campylobacter* [J]. International Journal of Food Microbiology, 2005, 99(1): 1-6.
- [6] SWAMINATHAN B, GERNER-SMIDT P. The epidemiology of human listeriosis [J]. Microbes and Infection, 2007, 9(10): 1236-1243.
- [7] TOLEDO-ARANA A, DUSSURGET O, NIKITAS G, et al. The *Listeria* transcriptional landscape from saprophytism to virulence [J]. Nature, 2009, 459(7249): 950-956.
- [8] LIU D Y, LAWRENCE M L, WIEDMANN M, et al. *Listeria monocytogenes* subgroups IIIA, IIIB, and IIIC delineate genetically distinct populations with varied pathogenic potential [J]. Journal of Clinical Microbiology, 2006, 44(11): 4229-4233.
- [9] BUNDRANT B N, HUTCHINS T, DEN BAKKER H C, et al. Listeriosis outbreak in dairy cattle caused by an unusual *Listeria monocytogenes* serotype 4b strain [J]. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation: Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc., 2011, 23(1): 155-158.
- [10] ROBERTS A J, WILLIAMS S K, WIEDMANN M, et al. Some *Listeria monocytogenes* outbreak strains demonstrate significantly reduced invasion, *inlA* transcript levels, and swarming motility *in vitro* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75(17): 5647-5658.
- [11] 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.
- [12] RIBOT E M, FREEMAN M, HISE K B, et al. PulseNet: Entering the age of next-generation sequencing [J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2019, 16(7): 451-456.
- [13] ALLENDE A, BARBUDDHE S B, DEVLEESSCHAUWER B, et al. *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat (RTE) foods: Attribution, characterization and monitoring: Meeting report [R]. FAO/WHO, 2022.
- [14] JACKSON B R, TARR C, STRAIN E, et al. Implementation of nationwide real-time whole-genome sequencing to enhance listeriosis outbreak detection and investigation [J]. Clinical Infectious Diseases, 2016, 63(3): 380-386.
- [15] GONZÁLEZ-ZORN B, DOMÍNGUEZ-BERNAL G, SUÁREZ M, et al. *SmlL*, a novel membrane-damaging virulence factor in *Listeria* [J]. International Journal of Medical Microbiology: IJMM, 2000, 290(4-5): 369-374.
- [16] CLAYTON E M, DALY K M, GUINANE C M, et al. Atypical *Listeria innocua* strains possess an intact LIPI-3 [J]. BMC Microbiology, 2014, 14: 58.
- [17] SONI D K, SINGH M, SINGH D V, et al. Virulence and genotypic characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from vegetable and soil samples [J]. BMC Microbiology, 2014, 14: 241.
- [18] BERGMANN S, BEARD P M, PASCHE B, et al. Influence of internalin A murinisation on host resistance to orally acquired listeriosis in mice [J]. BMC Microbiology, 2013, 13: 90.
- [19] DESVAUX M, HÉBRAUD M. The protein secretion systems in *Listeria*: Inside out bacterial virulence [J]. FEMS Microbiology Reviews, 2006, 30(5): 774-805.
- [20] SABET C, LECUIT M, CABANES D, et al. LPXTG protein InlJ, a newly identified internalin involved in *Listeria monocytogenes* virulence [J]. Infection and Immunity, 2005, 73(10): 6912-6922.
- [21] NEVES D, JOB V, DORTET L, et al. Structure of internalin *InlK* from the human pathogen *Listeria monocytogenes* [J]. Journal of Molecular Biology, 2013, 425(22): 4520-4529.
- [22] BÉCAVIN C, BOUCHIER C, LECHAT P, et al. Comparison of widely used *Listeria monocytogenes* strains EGD, 10403S, and EGD-e highlights genomic variations underlying differences in pathogenicity [J]. MBio, 2014, 5(2): e00969-e00914.
- [23] COTTER P D, DRAPER L A, LAWTON E M, et al. Listeriolysin S, a novel peptide haemolysin associated with a subset of lineage I *Listeria monocytogenes* [J]. PLoS Pathogens, 2008, 4(9): e1000144.
- [24] QUEREDA J J, DUSSURGET O, NAHORI M A, et al. Bacteriocin from epidemic *Listeria* strains alters the host intestinal microbiota to favor infection [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2016, 113(20): 5706-5711.
- [25] QUEREDA J J, MEZA-TORRES J, COSSART P, et al. Listeriolysin S: A bacteriocin from epidemic *Listeria monocytogenes* strains that targets the gut microbiota [J]. Gut Microbes, 2017, 8(4): 384-391.
- [26] RYSER E, MARTH E H. *Listeria*, listeriosis, and food safety [J]. CRC Press, 2007.
- [27] KATHARIOU S. *Listeria monocytogenes* virulence and pathogenicity, a food safety perspective [J]. Journal of Food Protection, 2002, 65(11): 1811-1829.
- [28] PARIHAR V S, LOPEZ-VALLADARES G, DANIELSSON-THAM M L, et al. Characterization of human invasive isolates of *Listeria monocytogenes* in Sweden 1986-2007 [J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2008, 5(6): 755-761.
- [29] YANG Y, FU P, GUO Y C, et al. Analysis of antibiotic susceptibility of foodborne *Listeria monocytogenes* in China [J].

- Journal of Hygiene Research, 2008, 37(2): 183-186.
- [30] WIEDMANN M, BRUCE J L, KEATING C, et al. Ribotypes and virulence gene polymorphisms suggest three distinct *Listeria monocytogenes* lineages with differences in pathogenic potential [J]. Infection and Immunity, 1997, 65(7): 2707-2716.
- [31] BORUCKI M K, KIM S H, CALL D R, et al. Selective discrimination of *Listeria monocytogenes* epidemic strains by a mixed-genome DNA microarray compared to discrimination by pulsed-field gel electrophoresis, ribotyping, and multilocus sequence typing [J]. Journal of Clinical Microbiology, 2004, 42(11): 5270-5276.
- [32] ZHOU X H, JIAO X N, WIEDMANN M. *Listeria monocytogenes* in the Chinese food system: Strain characterization through partial *actA* sequencing and tissue-culture pathogenicity assays [J]. Journal of Medical Microbiology, 2005, 54(Pt 3): 217-224.
- [33] 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.
- [34] ZHANG Y Y, DONG S L, CHEN H H, et al. Prevalence, genotypic characteristics and antibiotic resistance of *Listeria monocytogenes* from retail foods in bulk in Zhejiang province, China [J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 1710.
- [35] DU X, ZHANG X, WANG X, et al. Isolation and characterization of *Listeria monocytogenes* in Chinese food obtained from the central area of China [J]. Food Control, 2017, 74: 9-16.
- [36] WANG G, QIAN W, ZHANG X, et al. Prevalence, genetic diversity and antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* isolated from ready-to-eat meat products in Nanjing, China [J]. Food Control, 2015, 50: 202-208.
- [37] HUANG Y T, KO W C, CHAN Y J, et al. Disease burden of invasive listeriosis and molecular characterization of clinical isolates in Taiwan, 2000-2013 [J]. PLoS One, 2015, 10(11): e0141241.
- [38] KOCKS C, GOUIN E, TABOURET M, et al. *L. monocytogenes*-induced actin assembly requires the *actA* gene product, a surface protein [J]. Cell, 1992, 68(3): 521-531.
- [39] OLANIRAN A O, NZIMANDE S B T, MKIZE N G. Antimicrobial resistance and virulence signatures of *Listeria* and *Aeromonas* species recovered from treated wastewater effluent and receiving surface water in Durban, South Africa [J]. BMC Microbiology, 2015, 15: 234.
- [40] SHEN J, RUMP L, ZHANG Y, et al. Molecular subtyping and virulence gene analysis of *Listeria monocytogenes* isolates from food [J]. Food Microbiology, 2013, 35(1): 58-64.