

## 研究报告

## 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

章乐怡<sup>1</sup>, 林梅芬<sup>1</sup>, 李毅<sup>1</sup>, 胡玉琴<sup>1</sup>, 洪程基<sup>1</sup>, 谢爱蓉<sup>1</sup>, 梅玲玲<sup>2</sup>, 张云怡<sup>2</sup>

(1. 温州市疾病预防控制中心, 浙江 温州 325000; 2. 浙江省疾病预防控制中心, 浙江 杭州 310051)

**摘要:**目的 了解温州市近十年单核细胞增生李斯特菌分离株的血清型、毒力基因及分子分型特征。方法 用聚合酶链式反应(PCR)方法对单核细胞增生李斯特菌进行血清型及毒力基因检测;用多位点序列分型(MLST)方法对单核细胞增生李斯特菌进行分子分型,并绘制 MLST 数据的最小生成树。结果 97 株单核细胞增生李斯特菌分离株分为 4 种血清型,以血清型 1/2b、1/2a 为优势血清型,占比分别为 48.45% (47/97)、35.05% (34/97);而毒力基因 *iap*、*prfA* 基因阳性率均为 100.00% (97/97),*hlyA*、*inlA* 基因阳性率均为 97.94% (95/97),*plcB* 基因阳性率为 96.91% (94/97)。其中患者分离株 5 种毒力基因阳性率均为 100.00% (6/6)。97 株单核细胞增生李斯特菌分离株得到 20 个 MLST 型别,其中 ST87 型是优势型别,其次为 ST121 和 ST9,ST1 和 ST779 型是患者特有的,ST2、ST3、ST5 型分布于食品和患者分离株。结论 温州市不同来源的单核细胞增生李斯特菌分离株分子型别呈多态性,食品和患者分离株存在相同的 ST 型,且这些菌株大部分携带毒力基因,具有潜在的致病性,因此食品中单核细胞增生李斯特菌污染的潜在风险不容忽视。

**关键词:**单核细胞增生李斯特菌;多位点序列分型;分子分型;血清学分型;毒力基因;食源性致病菌;温州

中图分类号:R155 文献标志码:A 文章编号:1004-8456(2018)05-0468-05

DOI:10.13590/j.cjfh.2018.05.004

### Study of serotyping, virulence genes and molecular typing of *Listeria monocytogenes* isolates in Wenzhou, China

ZHANG Leyi<sup>1</sup>, LIN Meifen<sup>1</sup>, LI Yi<sup>1</sup>, HU Yuqin<sup>1</sup>, HONG Chengji<sup>1</sup>,  
XIE Airong<sup>1</sup>, MEI Lingling<sup>2</sup>, ZHANG Yunyi<sup>2</sup>

(1. Wenzhou Center for Disease Control and Prevention, Zhejiang Wenzhou 325000, China;

2. Zhejiang Provincial Center for Disease Control and Prevention, Zhejiang Hangzhou 310051, China)

**Abstract: Objective** To determine the main serogroups, virulence genes and molecular typing of *Listeria monocytogenes* isolates in Wenzhou, and investigate clustering patterns and pathogenicity of the local strains. **Methods** Polymerase chain reaction (PCR) was applied to determine the serogroups and virulence genes of the isolates. Multilocus sequence typing (MLST) was used to identify molecular types of the strains. **Results** Ninety-seven strains were divided into four serogroups. The major serogroups were 1/2b (48.45%, 47/97) and 1/2a (35.05%, 34/97). The positive rate of pathogenicity gene *iap* and *prfA* were both 100.00% (97/97). All strains from patients carried five virulence genes, the overall hemolysin gene *hlyA* and *inlA* were 97.94% (95/97) and *plcB* was 96.91% (94/97). These ninety-seven strains were divided into twenty MLST types including the prevalent ST87, ST121 and ST9, patient-specific ST1 and ST779 as well as ST2, ST3 and ST5 that were found both in food and in patients. **Conclusion** This result demonstrated a high prevalence and genetic polymorphism of *Listeria monocytogenes* from diverse sources in Wenzhou. The majority of isolates carried pathogenicity-related genes, which posed a potential threat to the public health. The surveillance and management should be strengthened to prevent the infectious listeriosis.

**Key words:** *Listeria monocytogenes*; multilocus sequence typing; molecular typing; serotyping; virulence genes; foodborne pathogens; Wenzhou

单核细胞增生李斯特菌 (*Listeria monocytogenes*,

以下简称单增李斯特菌)是兼性胞内寄生的人畜共患致病菌。该菌可通过穿透肠道屏障、血脑屏障和胎盘屏障而引起胃肠炎、败血症、脑膜炎、流产等。单增李斯特菌的主要易感人群包括孕妇、新生儿、免疫低下人群和老年人等<sup>[1-3]</sup>。

单增李斯特菌的致病力与多种毒力基因编码的

收稿日期:2018-07-20

基金项目:国家重点研发计划(2017YFC1601503);浙江省医药卫生科技计划(2018KY034)

作者简介:章乐怡 女 主任技师 研究方向为食品安全与检验

E-mail:zhleyi@126.com

蛋白密切相关,已报道的毒力基因包括 *hlyA*、*iap*、*prfA*、*inlA*、*plcB* 等。由 *hlyA* 基因编码的溶血素是基本的致病因子;*iap* 基因编码的 P60 蛋白是与侵袭性有关的蛋白质;*prfA* 基因编码的蛋白是单增李斯特菌调控转录激活因子,可调控和转录多种单增李斯特菌的毒力基因;*inlA* 基因编码内化素,与单增李斯特菌黏附与侵入宿主细胞有关;*actA* 基因编码肌动蛋白<sup>[4-5]</sup>。

单增李斯特菌具有多种血清型和基因,可分 13 个血清型,其中 1/2a、1/2b、1/2c、4b 型均可导致人类感染,绝大多数暴发或散发病例由 4b 血清型引起<sup>[6]</sup>。对该菌的血清型和基因型的分布分析是进行单增李斯特菌监测和溯源的重要方法。

本研究主要对近十年来温州市 91 株单增李斯特菌食品分离株及 6 株患者分离株进行血清学分型和多位点序列分型(MLST),并进行相关毒力基因的检测,了解这些菌株的血清型、致病相关基因的分布情况,并建立温州市单增李斯特菌分子分型数据库,有助于种群分析和分子流行病学研究,并为单增李斯特菌引起的食源性疾病溯源提供基础数据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 菌株来源

2007—2017 年温州市各类食品中分离的 91 株单增李斯特菌及 2013—2017 年从患者中分离的 6 株单增李斯特菌。食品类别分别为冷冻鱼肉制品、熟肉制品、生畜肉、生禽肉、凉拌菜、水产品等。6 例病例中有 2 例为新生儿,2 例发热待查,1 例血三系下降待查,1 例为败血症的流产孕妇(患风湿性心脏

病等基础疾病)。患者年龄从新生儿至 78 岁不等。

#### 1.1.2 主要仪器与试剂

全自动微生物分析系统 VITEK 2 Compact(法国生物梅里埃),Mastercycler® ep gradient S 梯度 PCR 仪(德国艾本德),Qsep100 全自动核酸蛋白分析系统-毛细管电泳仪(台湾 BIOptic)。

单增李斯特菌血清分型试剂(日本生研会社),细菌基因组 DNA 提取试剂盒(德国 Qiagen),培养基均购自北京陆桥技术有限责任公司,所有试剂均在有效期内使用。9 对毒力基因引物序列<sup>[7]</sup>、MLST 7 个管家基因均由杭州擎科生物科技有限公司合成。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 模板 DNA 的提取

菌株接种于脑心肉汤增菌,37 °C 培养过夜。培养物按 DNA 提取试剂盒的操作说明进行染色体 DNA 的提取。

#### 1.2.2 血清学分型

单增李斯特菌常规血清学分型按血清说明书进行。单增李斯特菌的血清学分型参照 DOUMITH 等<sup>[8]</sup>建立的多重聚合酶链式反应(PCR)法进行,血清学分型引物见表 1。多重 PCR 扩增体系(50 μl):2 × TaqMaster Mix 25 μl, *lmo0737*、*orf2819*、*orf2110* 的上下游引物(10 μmol/L)各 1 μl, *lmo1118* 引物(10 μmol/L)1.5 μl, *prs* 引物(10 μmol/L)0.5 μl, DNA 模板 2 μl, 灭菌水补齐至 50 μl。扩增条件:94 °C 预变性 3 min;94 °C 变性 30 s,53 °C 退火 69 s,72 °C 延伸 69 s,35 个循环;72 °C 延伸 7 min。扩增后用 Qsep100 全自动核酸蛋白分析系统-毛细管电泳仪,对条带进行分析,判断血清型。

表 1 单增李斯特菌血清学分型引物

Table 1 List of *Listeria monocytogenes* genes and primers used in the PCR assay

引物名称	引物序列(5'-3')	扩增片段大小/bp	血清特异性
<i>lmo0737</i>	F: AGGCTTCAAGGACTTACCC	691	1/2a, 1/2c, 3a, 3c
	R: ACGATTCTGCTGCCATTC		
<i>lmo1118</i>	F: AGGGGTCTTAAATCCTGGAA	906	1/2c, 3c
	R: CGGCTTGTTCGGCATACTTA		
<i>orf2819</i>	F: AGCAAAATGCCAAAACCTCGT	471	1/2b, 3b, 4b, 4d, 4e
	R: CATCACTAAAGCCTCCCATTC		
<i>orf2110</i>	F: AGTGGACAATTGATTGGTGAA	597	4b, 4d, 4e
	R: CATCCATCCCTTACTTTGGAC		
<i>prs</i>	F: GCTGAAGAGATTGCGAAAGAAG	370	李斯特菌属所有菌株
	R: CAAAGAAACCTTGGATTTCGGC		

#### 1.2.3 毒力基因检测

毒力基因 PCR 引物设计与合成参照文献<sup>[9-10]</sup>,引物信息见表 2。以提取的单增李斯特菌 DNA 为模版,按照 Premix Taq 试剂说明书进行 PCR 扩增。反应体系(25 μl):Premix Taq 预

混液 12.5 μl,上、下游引物各 0.5 μl,模板 2 μl,其余用水补足。反应条件:94 °C 预变性 5 min;94 °C 变性 30 s,52 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 60 s,35 个循环;72 °C 延伸 10 min。反应结束后在毛细管电泳仪进行电泳,观察结果。

表2 单增李斯特菌毒力基因引物

Table 2 List of *Listeria monocytogenes* toxin genes and primers used in the PCR assay

引物名称	引物序列(5'-3')	扩增片段大小/bp
<i>inlA</i>	F:AATCTAGCACCCTGTCGGG	733
	R:TGTGACCTCTCTTTACGGGC	
<i>hlyA</i>	F:GTTAATGAACCTACAAGHCCTTCC	702
	R:AACCGTTCTCCACCATTCCCA	
<i>iap</i>	F:ACAAGCTGCACCTGTTGCAG	131
	R:TGACAGCGTGTGTAGTAGCA	
<i>prfA</i>	F:CCCAAGTAGCAGGACATGCTAA	571
	R:GATATCACAAAGCTCACGAG	
<i>plcB</i>	F:GATAACCCGACAAATACTGACGTAATAAC	503
	R:TCATCTGAGCAAAATCTTTTGCTACCATGTC	

### 1.2.4 MLST 分析

单增李斯特菌 MLST 分析方法参照法国巴斯德研究所的单增李斯特菌 MLST 数据库 ([http://bigsd.b.pasteur.fr/listeria/primers\\_used.html](http://bigsd.b.pasteur.fr/listeria/primers_used.html)) 操作流程,选择 7 个管家基因 (*abcZ*, *blgA*, *cat*, *dapE*, *dat*, *ldh*, *lhkA*) 部分片段序列进行 PCR 扩增<sup>[11]</sup>。PCR 反应条件:94 ℃ 预变性 4 min,94 ℃ 变性 30 s,52 ℃ 退火 30 s,72 ℃ 延伸 2 min,共 35 个循环;72 ℃ 延伸 10 min。PCR 产物经纯化后,进行双向测序。测序结果与单增李斯特菌 MLST 数据库进行比对,确定每个管家基因的序列号。7 个管家基因序列号的组合即为该菌株的 ST 型。运用 BioNumerics 7.5 生物信息学软件将本研究分离的 97 株单增李斯特菌株 ST 型别进行聚类分析,分析其遗传关系。

## 2 结果

### 2.1 血清学分型结果

97 株单增李斯特菌分为 4 种血清型:1/2a、1/2b、1/2c、4b,主要血清型为 1/2a 和 1/2b,分别为 34(35.05%) 和 47 株(48.45%),1/2c 和 4b 血清型分别为 9(9.28%) 和 7 株(7.22%),见表 3。

表3 97 株单增李斯特菌分离株的血清分布情况

Table 3 Distribution of serogroups among 97 *Listeria monocytogenes* isolates

来源	血清型				合计
	1/2a	1/2b	1/2c	4b	
生畜肉	3	2	1	0	6
冷冻鱼肉制品	9	32	7	1	49
熟肉制品	9	7	1	0	17
水产品	2	1	0	1	4
凉拌菜	0	1	0	0	1
生禽肉	10	1	0	3	14
患者	1	3	0	2	6
合计	34	47	9	7	97

### 2.2 毒力基因检测结果

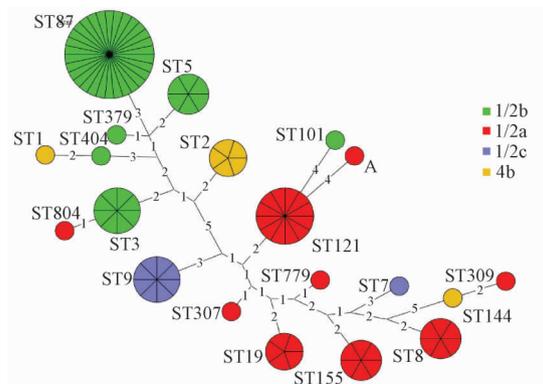
97 株单增李斯特菌毒力基因检测结果为 *iap*、*prfA* 基因全部为阳性,*hlyA*、*inlA* 基因阳性率均为 97.94% (95/97),*plcB* 基因阳性率为 96.91% (94/97),见表 4。其中患者分离株 5 种基因阳性率均为 100.00% (6/6)。

表4 97 株单增李斯特菌分离株的毒力基因检测结果

毒力基因	<i>monocytogenes</i> strains	
	阳性菌株数	阳性率/%
<i>inlA</i>	95	97.94
<i>hlyA</i>	95	97.94
<i>iap</i>	97	100.00
<i>prfA</i>	97	100.00
<i>plcB</i>	94	96.91

### 2.3 MLST 结果

经 MLST 分析,97 株单增李斯特菌共分为 20 种 ST 型,聚类分析结果见图 1。其中 ST87、ST121、ST9、ST155、ST8 型分别有 30、12、8、6、6 株。ST87 型为优势 ST 型,占 30.93% (30/97),其次为 ST121 型(12.37%,12/97),I、II、III 谱系均有。除 ST1、ST779 型是患者分离株特有的型别,ST2、ST3、ST5 在食品分离株和患者分离株中均存在,见表 5。



注:圆点大小表示菌株数,圆点周围数字表示 MLST 型别,线条中数字代表等位基因的差异数

图1 97 株单增李斯特菌 MLST 聚类分析结果

Figure 1 Clustering results of patterns obtained by MLST analysis of 97 *Listeria monocytogenes* isolates

## 3 讨论

从我国各地开展食品中单增李斯特菌的污染状况调查看,多种食品均可检出单增李斯特菌,包括生肉类、熟肉类、家禽类、水产品类、乳制品类及蔬菜类等。据文献<sup>[12-14]</sup>报道,生鲜肉类食品为许多地区单增李斯特菌污染率较高的一类食品。本研究中的 91 株单增李斯特菌食品分离株主要来自于冷冻鱼肉制品、熟肉制品、生畜肉、生禽肉、水产品等,其中冷冻鱼肉制品所占比例最高(53.85%,49/91),

表 5 97 株单增李斯特菌分离株的 MLST 分型结果  
Table 5 Multilocus sequence typing of 97 *Listeria monocytogenes* isolates

ST 型	管家基因序列号							分离菌株数		谱系	血清型
	<i>abcZ</i>	<i>bglA</i>	<i>cat</i>	<i>dapE</i>	<i>dat</i>	<i>ldh</i>	<i>lhkA</i>	食品	患者		
1	3	1	1	1	3	1	3	0	1	I	4b
2	1	1	11	11	2	1	5	4	1	I	4b
3	4	4	4	3	2	1	5	6	2	I	1/2b
5	2	1	11	3	3	1	7	5	1	I	1/2b
7	5	8	5	7	6	2	1	1	0	II	1/2c
8	5	6	2	9	5	3	1	6	0	II	1/2a
9	6	5	4	4	1	4	1	8	0	II	1/2c
19	7	6	19	6	1	24	1	5	0	II	1/2a
87	12	1	4	14	3	39	4	30	0	I	1/2b
101	7	15	15	8	6	14	9	1	0	II	1/2b
121	7	6	8	8	6	37	1	12	0	II	1/2a
144	22	11	21	24	17	31	13	1	0	III	4b
155	7	10	16	7	5	2	1	6	0	II	1/2a
307	7	29	8	4	1	2	1	1	0	II	1/2a
309	22	33	21	24	17	31	3	1	0	III	1/2a
404	3	1	8	1	3	1	4	1	0	I	1/2b
804	4	4	4	3	5	1	5	1	0	I	1/2a
379	2	1	4	3	3	1	5	1	0	I	1/2b
779	5	6	2	6	1	2	1	0	1	II	1/2a
A	36	21	40	3	6	37	1	1	0	—	1/2a

注:—表示无谱系,STA 型为数据库中不存在的 ST 型,已提交至数据库等待审核

与其他地区比较有一定的差异。

本研究中分离的单增李斯特菌血清型的分布与其他文献<sup>[13,15]</sup>基本一致。在所有分离的菌株中,1/2b 血清型占比最高(48.45%,47/97),其次为 1/2a(35.05%,34/97),这两种是散发性病例中常见的血清型,而经常引起人类李斯特菌病暴发的 4b 血清型在患者和食品分离株中均有存在。本研究中单增李斯特菌血清学分型的方法采用了传统血清学分型和 PCR 分型两种方法进行,结果基本符合,但传统血清学分型方法较为繁琐,且结果不易判断,推荐使用 PCR 分型方法,本研究血清学分型结果以 PCR 分型为准。按照 PCR 血清学分型文献<sup>[16-17]</sup>,因 3a、3c、4d、4e、3b、7 血清型在食品中和临床上极为罕见,故属于血清组 1/2a 或 3a、1/2c 或 3c、4b 或 4d 或 4e、1/2b 或 3b 或 7 的菌株一般可认为是 1/2a、1/2c、4b 和 1/2b 血清型。

单增李斯特菌是重要的胞内寄生菌之一,其致病性与其毒力基因密切相关,缺失毒力基因将导致其致病性的消失或下降。本研究中的分离株绝大多数具有 *iap*、*prfA*、*hlyA*、*inlA*、*plcB* 等毒力基因,患者分离株均携带这 5 种毒力基因,表明温州市食品中分离的单增李斯特菌具有潜在的致病力,有少数单增李斯特菌存在毒力基因丢失的现象。近几年温州市出现孕妇确诊李斯特菌感染引发败血症和流产的病例,也有非孕产妇患者感染李斯特菌的病例,提示温州市存在引起散发李斯特菌病或暴发食源性疾病的可能性。

MLST 是基于微生物核苷酸序列比对的一种基因分型方法,直接通过管家基因内 DNA 序列的比较,获得管家基因的确切变异,具有较高的分辨能力,而且其结果明确,使不同实验室间的结果比较更加便捷<sup>[18]</sup>。本研究针对温州市近 10 年食品来源的 91 株单增李斯特菌及近 5 年患者来源的 6 株单增李斯特菌分析的 MLST 共得到 20 个 ST 型别,其中以 ST87 型为优势 ST 型,其次为 ST121、ST9 型,ST87 型主要来源为冷冻鱼肉制品。单增李斯特菌 ST87 型曾是 2009—2014 年期间西班牙 2 次李斯特菌病的暴发元凶<sup>[19]</sup>。本研究中除 ST779、ST379、ST804 型外,其他 17 种 ST 型在巴斯德研究所的李斯特菌数据库([http://bigsdw.web.pasteur.fr/perl/bigsdw/bigsdw.pl?db=pubmlst\\_listeria\\_isolates\\_public&page=profiles](http://bigsdw.web.pasteur.fr/perl/bigsdw/bigsdw.pl?db=pubmlst_listeria_isolates_public&page=profiles))中均有患者分离株的资料,表明这些 ST 型的单增李斯特菌在不同程度上与人类李斯特菌病的暴发有关,至少有理论上的致病潜力。而 ST779 型在本研究的患者分离株出现,填补了数据库中患者资料的空白。本次研究中只有 ST2、ST3、ST5 型在食品和单增李斯特菌病例中均有检出。虽然这些病例最终没有确定是否为食源性疾病,但这些在食源性和人源性均有报道的 ST 型还是应引起关注,分离出 ST2、ST3、ST5 型别的食品类别没有特殊性,检测的几类食品中均存在。国内有文献<sup>[20]</sup>报道动物源性食品单增李斯特菌的 MLST 结果以 ST121 型最多,北京市和杭州市食品分离株均主要以 ST9、ST121 为优势型别<sup>[21-22]</sup>。故温州市

食品中分离的单增李斯特菌既具有较高的种群多样性,又具有一定地区特异性,有一半的ST型在浙江省其他地市出现,但部分ST型国内报道并不多。本研究中还有1株单增李斯特菌在数据库未发现对应的ST型,已提交数据库,等待确认新的ST型。

李斯特菌病感染主要发生在老年人、孕妇、新生儿以及免疫功能低下的人群。本研究中涉及的6例病例包括流产孕妇、新生儿、发热待查的中年和有败血症和风湿性心脏病等基础疾病的老年患者,人群特征基本符合李斯特菌病的特征。但是病例有限,对其感染的病因不详,缺少流行病学资料,今后需要加大对人源性单增李斯特菌的监测力度,结合温州市已有的食品中单增李斯特菌的数据,对检出的李斯特菌病病例要进一步溯源,进行污染途径调查和识别,为温州市食源性李斯特菌病的防控提供研究性数据。

## 参考文献

- [ 1 ] ALLERBERGER F, WAGNER M. Listeriosis: a resurgent foodborne infection [J]. *Clinical Microbiology and Infection*, 2010,16(1):16-23.
- [ 2 ] THOMAS M K, VRIEZEN R, FARBER J M, et al. Economic cost of a *Listeria monocytogenes* outbreak in Canada, 2008 [J]. *Foodborne Pathog Dis*, 2015,12(12): 966-971.
- [ 3 ] ARSLAN F, MEYNET E, SUNBUL M, et al. The clinical features, diagnosis, treatment, and prognosis of neuroinvasive listeriosis: a multinational study [J]. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 2015, 34 ( 6 ): 1213-1221.
- [ 4 ] 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 Microbiol*, 2014, 14(1): 1-10.
- [ 5 ] 徐建国, 阚颀, 张建中, 等. 现场细菌学 [M]. 北京: 科学出版社, 2011.
- [ 6 ] HASEBE R, NAKAO R, OHNUMA A, et al. *Listeria monocytogenes* serotype 4b strains replicate in monocytes/macrophages more than the other serotypes [J]. *J Vet Med Sci*, 2017,79(6): 962-969.
- [ 7 ] 张岳灿, 于纪棉, 张玉琳, 等. 进口水产品中单增李斯特菌毒力基因调查 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2013, 23(15): 3117-3118, 3121.
- [ 8 ] 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.
- [ 9 ] 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): 4248-4255.
- [ 10 ] 陈伟伟, 洪锦春, 张巧姬, 等. 单核细胞增生李斯特菌的毒力基因检测及 PFGE 分型的研究 [J]. *中国食品卫生杂志*, 2007,19(1):21-25.
- [ 11 ] MARIE R, THIERRY W, FLORIAN H, et al. A new perspective on *Listeria monocytogenes* evolution [J]. *PLoS Pathog*, 2008, 4(9): e1000146.
- [ 12 ] 尹隶, 杜艳芬, 赫明雷, 等. 哈尔滨市鲜肉中单核细胞增生性李斯特菌的分离鉴定及耐药性分析 [J]. *中国预防兽医学报*, 2009, 31(12): 929-932.
- [ 13 ] 方叶珍, 包芳珍, 徐丹戈, 等. 江干区部分食品中单增李斯特菌污染状况分析 [J]. *中国食品卫生杂志*, 2009, 21(2): 142-143.
- [ 14 ] 崔京辉, 李达, 王永全, 等. 2004—2005 年北京市食品中单核细胞增生性李斯特菌的污染情况调查 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2006,6(12):1508-1509.
- [ 15 ] 潘军航, 梅玲玲, 张严峻, 等. 食品中单增李斯特菌血清型及耐药性监测 [J]. *中国公共卫生*, 2008,24(1):107-108.
- [ 16 ] ZHANG Y F, YE H E, HALL G, et al. Characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from retail foods [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2007,113(1):47-53.
- [ 17 ] KÉROUANTON A, MARAULT M, PETIT L, et al. Evaluation of a multiplex PCR assay as an alternative method for *Listeria monocytogenes* serotyping [J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2010,80(2):134-137.
- [ 18 ] CHAN M S, MAIDEN M C, SPRATT B G. Database-driven multi locus sequence typing (MLST) of bacterial pathogens [J]. *Bioinformatics*, 2001, 17(11):1077-1083.
- [ 19 ] PÉREZ-TRALLERO E, ZIGORRAGA C, ARTIEDA J, et al. Two outbreaks of *Listeria monocytogenes* infection, Northern Spain [J]. *Emerging Infectious Diseases*, 2014, 20(12): 2155-2157.
- [ 20 ] 刘萍萍, 王少辉, 赵秋华, 等. 上海市动物源性食品中单增李斯特菌的 MLST 分析 [J]. *中国动物传染病学报*, 2013, 21(4):18-22.
- [ 21 ] 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.
- [ 22 ] 俞骅, 潘劲草, 汪皓秋, 等. 杭州地区单核细胞增生李斯特菌食品分离株分子型别研究 [J]. *中国人兽共患病学报*, 2017, 33(3): 264-270.