论著

# 北京市人源性单核细胞增生李斯特菌耐药特征及分子分型研究

王丽丽，陈倩

（北京市疾病预防控制中心营养与食品卫生所 食物中毒诊断溯源技术北京市重点实验室，北京 100013）

**摘 要：目的** 研究北京市人源性单核细胞增生李斯特菌的血清学分型、耐药及分子特征。**方法** 对 2013—2015 年北京市李斯特菌病专项监测中分离的 32 株单核细胞增生李斯特菌进行 PCR 法血清学分型和 PFGE 分型，并采用 CLSI 和 EUCAST 推荐的微量肉汤稀释法检测菌株对 12 种抗生素的敏感性。**结果** 32 株单核细胞增生李斯特菌共分为 4 种血清型，其中位居前 2 位的血清型是 1/2b 和 1/2a，分别为 17 株和 12 株，4b 血清型 2 株，1/2c 血清型 1 株。32 株菌经 *Asc* I 酶切共分为 23 种 PFGE 带型，分为 4 个簇，相同血清型李斯特菌的 PFGE 带型聚集成簇，两种分型方法一致性为 93.75%（30/32）。32 株单核细胞增生李斯特菌均对青霉素、氨苄西林、复方新诺明及红霉素敏感，大部分菌株对其他 8 种抗生素的 MIC 值较小，但有少数菌株对苯唑西林和四环素的 MIC 值较大，高达 32、64 μg/ml。**结论** 北京市人源性单核细胞增生李斯特菌血清型以 1/2b 和 1/2a 为主，PFGE 图谱与血清学分型存在一定相关性，耐药率普遍较低，但需加强耐药趋势监测。

**关键词：**患者；单核细胞增生李斯特菌；血清型；耐药性；脉冲场凝胶电泳；北京；食源性致病菌

**中图分类号：**R155 **文献标志码：**A **文章编号：**1004-8456（2016）04-0426-05

**DOI：**10.13590/j.cjfh.2016.04.004

## Molecular subtyping and antibiotic resistance of *Listeria monocytogenes* isolated from patients in Beijing

WANG Li-li, CHEN Qian

（Institute for Nutrition and Food Hygiene, Beijing Center for Disease Prevention and Control, Beijing Key Laboratory of Diagnostic and Traceability Technologies for Food Poisoning, Beijing Center for Disease Prevention and Control, Beijing 100013, China）

**Abstract: Objective** To study the subtyping, antimicrobial resistances and molecular characteristics of *Listeria monocytogenes* isolated from patients in Beijing. **Methods** 32 strains isolated from patients from 2013 to 2015 were characterized by serotyping with PCR, pulsed field gel electrophoresis (PFGE) and antimicrobial susceptibility testing. **Results** 32 *Listeria monocytogenes* isolates included 4 serotypes of 1/2b (17 strains), 1/2a (12 strains), 4b (2 strains) and 1/2c (1 strains). Digested by *Asc* I, 23 PFGE patterns were identified and divided into 4 clusters. The PFGE patterns of the same *Listeria* serotype were in the same cluster. The consistency of the two classification methods was 93.75% (30/32). All strains were sensitive to penicillin, ampicillin, sulfamethoxazole and erythromycin. Most of the strains had low MIC values to the other 8 kinds of antibiotics, but a few strains had high MIC values to oxacillin and tetracycline, even to 32 or 64 μg/ml. **Conclusion** The dominant serotypes of *Listeria monocytogenes* isolated from patients in Beijing were 1/2b and 1/2a. There were some correlations between serotypes and PFGE patterns. Resistance rate was low, but more attention should be paid to the resistance trend monitoring.

**Key words:** Patient; *Listeria monocytogenes*; serotype; drug resistance; pulsed field gel electrophoresis; Beijing; foodborne pathogenic bacteria

**收稿日期：**2016-04-11

**基金项目：**国家卫生和计划生育委员会公益性行业科研专项（201302005）；首都卫生科研发展专项（2014-4-1013）；北京市预防研究中心公益应用类课题（2014-BJYJ-10）

**作者简介：**王丽丽 女 主管技师 研究方向为食源性疾病 E-mail：wangll4585@163.com

**通信作者：**陈倩 女 主任技师 研究方向为病原微生物实验室检测 E-mail：cchenqian@263.net

单核细胞增生李斯特菌（*L. monocytogenes*，Lm）是一种较强致病性的食源性人畜共患病的病原菌，该菌具有潜在广泛扩散性，健康人群和牲畜为该菌的携带者。低温冷藏的即食食品特别是动物性食品被认为是主要的传染源，曾引起多次世界范围的大流行，2011 年李斯特菌污染的哈密瓜导致 33 人死亡、1 名孕妇流产[1]；2015 年美国蓝铃（Blue Bell）

冰淇淋引起 10 人感染、其中 3 人死亡[2]。近年来,我国及欧美国家经食品感染的李斯特菌病患者呈上升趋势,特别是妊娠期女性、新生儿和免疫力低下的患者更易感染。单核细胞增生李斯特菌进入人体是否发病与食用菌量和宿主的年龄、免疫状态有关,感染后主要表现为败血症、脑膜炎、单核细胞增多及孕妇流产等,且临床死亡率高达 20% ~ 70%[3-4]。普通人群的发病率为 0.7/10 万,而妊娠期女性为 12/10 万。Lm 可侵袭母胎界面导致胎儿严重感染,胎儿死亡率高达 30%[5-6]。

单核细胞增生李斯特菌的血清型有 13 种,食源性及人源性菌株的血清型别集中在 1/2a、1/2b、1/2c和 4b 等少数血清型[7]。传统血清凝集方法步骤繁琐、耗时,目前多采用特异性扩增单核细胞增生李斯特菌(LMO)基因 *lmo0737*、*lmo1118* 和开放阅读框(ORF)基因 *ORF2819*、*ORF2110* 的多重 PCR 方法对单核细胞增生李斯特菌进行血清学分型。基于核酸分析的脉冲场凝胶电泳技术(pulsed field gel electrophoresis,PFGE)具有分辨率高、重复性好、分型能力强的特点,已成为食源性疾病溯源的“金标准”。通过对电泳条带的分析比较可以鉴定菌株是否同源。通过 PFGE 技术,包括中国在内的多个国家卫生部门成功溯源并控制了多起食源性疾病的暴发[8]。由 Lm 引起的李斯特菌病通常需要青霉素、氨苄青霉素、复方新诺明、庆大霉素等抗生素治疗。由于抗生素在动物饲养中的广泛应用、临床治疗中的滥用及过度治疗,单核细胞增生李斯特菌在应对抗生素生存压力的条件下会产生耐药性[9-10]。研究表明,我国食源性单核细胞增生李斯特菌的耐药性已由单一耐药向多重耐药发展[11-13],多重耐药菌株数量逐渐增加,耐药谱也随之发生改变,这给临床用药的选择提出很大的挑战。

北京市自 2013 年起开展李斯特菌病专项监测,截至 2015 年,共监测到 32 名李斯特菌病患者,其中包括孕产妇、新生儿、老人、儿童及免疫力低下的患者。为了解北京市人源性单核细胞增生李斯特菌的血清型、耐药特征及 PFGE 型别分布,为北京市人源性单核细胞增生李斯特菌的分子诊断和溯源提供依据,本研究对 2013—2015 年李斯特菌病患者中分离的单核细胞增生李斯特菌进行了血清型、抗生素敏感性分析和 PFGE 分型。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 菌株来源

本次试验所用菌株为 2013—2015 年分离自北京市李斯特菌病患者的 32 株单核细胞增生李斯特菌,均分离自胎盘(8 株)、外周血(15 株)、脑脊液(8 株)、胸水(1 株)等人体的无菌部位,其中孕产妇分离株 12 株、新生儿及婴幼儿分离株 7 株、免疫力低下患者分离株 13 株。单核细胞增生李斯特菌研究用标准菌株(CMCC 50041)、药敏质控菌为肺炎链球菌(ATCC 49619)和金黄色葡萄球菌(ATCC 29213)均购自北京陆桥技术股份有限公司。脉冲场凝胶电泳分子量标准菌株沙门菌(H9812)由中国疾病预防控制中心提供。

#### 1.1.2 主要仪器与试剂

VITEK2 全自动细菌生化鉴定系统(法国梅里埃),水浴摇床(德国 JULABO),脉冲场凝胶电泳仪及配套设备、凝胶成像系统、CFX96 PCR 仪均购自美国 Bio-Rad。

Lm 显色培养基(法国 CHROMagar),VITEK GPI 鉴定卡(法国 bioMérieux),Seakem Gold 琼脂糖(美国 Cambrex Bio Science Rockland),蛋白酶 K(德国 Merck),限制性内切酶 *Xba* I(日本 Takara),限制性内切酶 *Asc* I(美国 NEB),溶菌酶(美国 Sigma),李氏菌增菌肉汤 LB1、LB2 及脑心浸液培养基均购自北京陆桥技术股份有限公司,调节阳离子浓度的营养肉汤培养液及革兰阴性需氧菌药敏检测板均购自上海星佰有限公司。引物由上海生工生物技术有限公司合成。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 血清学分型

采用 PCR 方法对单核细胞增生李斯特菌进行血清学分型[14],目的基因、引物序列及产物片段大小如表 1 所示。将待检菌株划线接种 BHI 平板,37 ℃培养 24 h,挑取菌落溶解于 100 μl 无菌纯水的离心管中制成浓菌悬液,100 ℃煮沸 10 min,13 000 r/min 离心 5 min,取上清保存于 −20 ℃备用。PCR 反应体系:2×PCR mix 12.5 μl、模板 DNA 1 μl、100 μmol/L 的上下游引物各 1 μl、纯水 9.5 μl,总体积 25 μl。PCR 反应参数:94 ℃预变性 4 min;94 ℃变性 30 s;退火时间 30 s;72 ℃延长 2 min;30 个循环,再 72 ℃延长 10 min。取 5 μl PCR 扩增产物在 2% 琼脂糖中电泳,胶块在 Gelred 中染色,观察电泳结果,并对其进行分析。

#### 1.2.2 抗生素敏感试验

根据临床和实验室标准化协会(CLSI)和欧洲抗菌药物敏感试验委员会(EUCAST)推荐的单核细胞增生李斯特菌耐药试验抗生素选择原则,结合相关临床用药和研究,选择 12 种抗生素,分别为青霉素(PEN)、苯唑西林(OXA)、氨苄西林(AMP)、万古

表 1 单核细胞增生李斯特菌血清学分型引物

Table 1 Primers for *L. monocytogenes* srotyping

| 目的基因 | 引物序列(5′-3′) | 片段大小/bp |
|---|---|---|
| *lmo0737* | F:AGGGCTTCAAGGACTTACCC | 691 |
| | R:ACGATTTCTGCTTGCCATTC | |
| *lmo1118* | F:AGGGGTCTTAAATCCTGGAA | 906 |
| | R:CGGCTTGTTCGGCATACTTA | |
| *ORF2819* | F:AGCAAAATGCCAAAACTCGT | 471 |
| | R:CATCACTAAAGCCTCCCATTG | |
| *ORF2110* | F:AGTGGACAATTGATTGGTGAA | 597 |
| | R:CATCCATCCCTTACTTTGGAC | |
| *Prs* | F:GCTGAAGAGATTGCGAAAGAAG | 370 |
| | R:CAAAGAAACCTTGGATTTGCGG | |

霉素(VAN)、克林霉素(CLI)、四环素(TET)、庆大霉素(GEN)、达托霉素(DAP)、红霉素(ERY)、氯霉素(CHL)、环丙沙星(CIP)和复方新诺明(TMP-SMZ)。采用 CLSI 推荐的微量肉汤稀释法开展抗生素敏感性试验,定量测定致病菌的最低抑菌浓度(MIC)。参照 2013 年 CLSI 药敏标准(M45-A2)[15]及 2015 年 EUCAST 标准[16]进行结果判读。

1.2.3 PFGE 分型

参照国际食源性致病菌病原细菌分子分型监测网络 PulseNet 中单核细胞增生李斯特菌 PFGE 分型的标准操作方法[17]进行,主要试验参数如下:细菌悬液浓度用 bioMérieux 麦氏比浊仪调至 6.0 ~ 6.5;使用 *Asc* I 限制性内切酶(40 U),37 ℃酶切 4 h;电泳参数为 4 ~ 40 s,19 h;胶块电泳后使用 GelRed 染色,纯水脱色,读取电泳图谱;沙门菌标准株 H9812 作为分子量标准,使用 *Xba* I 限制性内切酶酶切。

数据分析:用 BioNumerics 软件对电泳图像进行数据分析,构建聚类树状图。聚类图类型根据非加权配对算术平均法(UPGMA)构建,条带位置差异容许度设为 1.0%。

## 2 结果

### 2.1 血清分型结果

32 株人源性单核细胞增生李斯特菌分属为 4 种血清型(1/2a、1/2b、1/2c 和 4b),以 1/2b 和 1/2a 为主,分别为 17 株(53.1%)和 12 株(37.5%),4b 血清型有 2 株,1/2c 血清型有 1 株。

### 2.2 耐药结果

32 株单核细胞增生李斯特菌对 CLSI 推荐监测的 3 种抗生素青霉素、氨苄西林及复方新诺明均 100% 敏感。参照 2015 年 EUCAST 的标准,全部研究菌株对红霉素 100% 敏感。对其他没有国际统一标准的 8 种抗生素 MIC 值稍有不同,其中 32 株菌对万古霉素、庆大霉素的 MIC 值完全一致,分别为 1、≤0.5 μg/ml。大部分菌株对其他 6 种无国际统一标准抗生素的 MIC 值较小,但有少数菌株对苯唑西林和四环素的 MIC 值差异较大,MIC 值高达 32、64 μg/ml。32 株单核细胞增生李斯特菌对 12 种抗生素不同浓度测试 MIC 值的菌株数量、MIC 值范围、$MIC_{50}$ 以及 $MIC_{90}$ 如表 2 所示。

表 2 32 株单核细胞增生李斯特菌对 12 种抗生素的敏感性结果

Table 2 Antibiotic susceptibility of 32 *L. monocytogenes* against 12 antibiotics

| 抗生素 | 不同浓度测试 MIC 值的菌株数量/株 | | | | | | | | | MIC 范围/(μg/ml) | $MIC_{50}$/(μg/ml) | $MIC_{90}$/(μg/ml) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0.25 | 0.5 | 1 | 2 | 4 | 8 | 16 | 32 | 64 | | | |
| 青霉素(PEN) | 24 | 7 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.25 ~ 1 | 0.25 | 0.5 |
| 苯唑西林(OXA) | 0 | 0 | 0 | 1 | 20 | 9 | 1 | 1 | 0 | 2 ~ 32 | 4 | 8 |
| 氨苄西林(AMP) | 28 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | ≤0.25 ~ 1 | ≤0.25 | 0.5 |
| 万古霉素(VAN) | 0 | 0 | 32 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | ≤0.5 ~ 1 | 1 | 1 |
| 克林霉素(CLI) | 3 | 7 | 11 | 11 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | ≤0.125 ~ 2 | 1 | 2 |
| 四环素(TET) | 0 | 17 | 11 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | ≤0.5 ~ 64 | ≤0.5 | 1 |
| 庆大霉素(GEN) | 0 | 32 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | ≤0.5 | ≤0.5 | ≤0.5 |
| 达托霉素(DAP) | 1 | 0 | 9 | 21 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 ~ 8 | 2 | 2 |
| 红霉素(ERY) | 31 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | ≤0.25 ~ 0.5 | ≤0.25 | ≤0.25 |
| 氯霉素(CHL) | 0 | 0 | 0 | 0 | 21 | 11 | 0 | 0 | 0 | 4 ~ 8 | 4 | 8 |
| 环丙沙星(CIP) | 0 | 1 | 23 | 7 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.5 ~ 4 | 1 | 2 |
| 复方新诺明(TMP-SMZ) | 31 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | ≤0.25/4.75 ~ 0.5/9.5 | ≤0.25/4.75 | ≤0.25/4.75 |

注:浓度单位为 μg/ml

### 2.3 PFGE 分型与聚类结果

对 32 株人源性单核细胞增生李斯特菌分离株基因组 DNA 经 *Asc* I 酶切后,将 PFGE 图谱进行聚类分析,结果如图 1 所示。32 株人源性单核细胞增生李斯特菌共分为 23 种 PFGE 型别,同源性为 63.7% ~100%,带型分布分散,优势带型不明显。采用 BioNumerics 进行菌株间聚类分析,可将 32 株菌的 23 种 PFGE 带型分为 4 个簇,各簇包含菌株数不等,其中簇Ⅱ和簇Ⅳ菌株数较多,分别为 16 株和 11 株,簇Ⅰ和簇Ⅲ分别为 2 株和 3 株。

从图 1 中可以看出单核细胞增生李斯特菌 PFGE 图谱的聚集性与血清型有一定的联系。簇Ⅰ为 4b 血清型,簇Ⅱ为 1/2b 血清型,簇Ⅲ为 1/2a 血清型,簇Ⅳ以 1/2a 血清型(9 株)为主,另有 1/2b 和

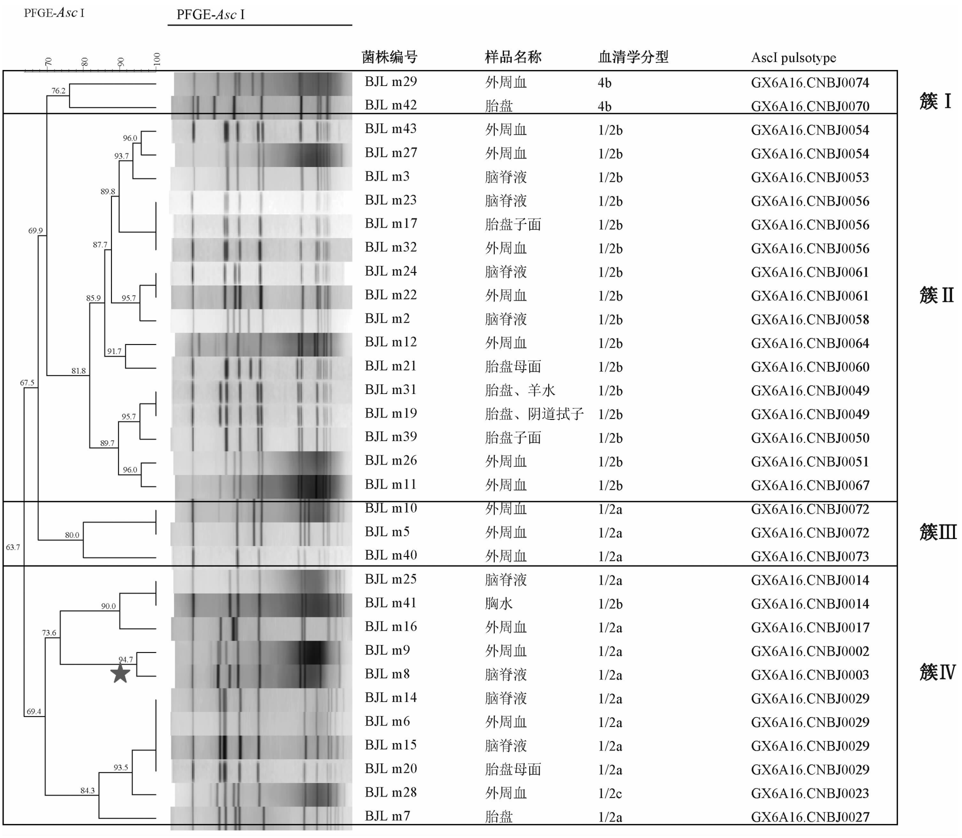


图 1　北京市 32 株人源性单核细胞增生李斯特菌 PFGE 聚类图

Figure 1　PFGE clusters of 32 *L. monocytogenes* strains from patients

1/2c 血清型各 1 株。17 株 1/2b 血清型单核细胞增生李斯特菌分为 13 种 PFGE 带型，其中 16 株聚集成簇Ⅱ，1 株编号为 BJLm41 的菌株与 1 株 1/2a 血清型的编号为 BJLm25 菌株相似度为 100%，同为 GX6A16. CNBJ0014 带型，位于簇Ⅳ中。12 株 1/2a 血清型分为 8 种 PFGE 带型，主要构成簇Ⅲ和Ⅳ，其中簇Ⅳ中 4 株菌 PFGE 带型相似度为 100%，同为 GX6A16. CNBJ0029 带型。2 株 4b 血清型分为 2 种不同的 PFGE 带型，聚为簇Ⅰ，相似度为 76. 2%。1 株 1/2c 血清型为 1 种 PFGE 带型，位于簇Ⅳ中。

## 3　讨论

近年来，散在的李斯特菌病病例在很多国家时有报道。我国目前没有单核细胞增生李斯特菌暴发的相关报道，但存在由该菌引起的散发病例报告，针对临床分离菌株分子特征的研究尚属较少。本研究对 2013—2015 年北京市监测到的 32 名李斯特菌病病例分离到的单核细胞增生李斯特菌进行了血清型、抗生素敏感性分析和 PFGE 分型，病例来源包括孕产妇、新生儿、老人、儿童及免疫力低下的患者，初步掌握了北京市人源性单核细胞增生李斯特菌的血清型、耐药及分子特征。

本研究的 32 株人源性单核细胞增生李斯特菌血清分型结果与国内外报道的常见致病血清型相符。研究菌株以 1/2b 和 1/2a 为主，分别占 53. 1% 和 37. 5%，1/2c 血清型有 1 株，这与 2012 年河南省食源性单核细胞增生李斯特菌中 1/2b 血清型为主(85. 3%)一致[18]，但与北京地区生肉样本中以 1/2c 为优势血清型（占 47. 6%）不同[19]。同时，研究菌株中有 2 株致病性较强的 4b 血清型，应引起关注。

本研究所用 32 株人源性单核细胞增生李斯特菌的 PFGE 型别呈散在分布，说明菌株来自不同的克隆株，即菌株之间的相关性不大。BioNumerics 聚类分析结果表明，人源性单核细胞增生李斯特菌 PFGE 图谱的聚集性与血清型有一定的联系。大部分 1/2b 血清型单核细胞增生李斯特菌聚集成簇Ⅱ，1/2a 血清型构成簇Ⅲ和簇Ⅳ，2 株 4b 血清型单独成簇，少数菌株存在血清型与簇之间的交叉。如 1 株 1/2b 血清型菌株与 1 株 1/2a 菌株经 *Asc* I 酶切后带型相似度为 100%，可能是由于这 2 株菌的 *Asc* I 酶切位点相同所致。簇Ⅲ虽与簇Ⅳ同由 1/2a 血清型构成，但与 1/2b 血清型构成的簇Ⅱ的亲缘关系更近(67. 5%)，有待进一步研究。另外，虽然 4 株 1/2a 血清型菌株及部分菌株具有相似度 100% 的 PFGE 带型，但结合流行病学调查结果，菌株间不具有同源性。PFGE 分型对于散发病例分离菌株的意义没有暴发溯源明显，但获得的分型结果可作为数据积

累,为将来可能的暴发溯源提供数据支持。本研究所获得的菌株信息可以作为该菌在北京市流行的背景信息,为持续性监测打下基础,对于减少北京市特殊人群(孕产妇、新生儿、免疫低下人群等)李斯特菌病发病率、降低疾病社会负担具有重要的经济与社会效益。

抗生素能够有效治疗李斯特菌病,但是近年来不断出现临床耐药株。本研究对 32 株人源性单核细胞增生李斯特菌进行了 12 种抗生素的耐药表型分析,建立了北京市人源性单核细胞增生李斯特菌耐药图谱库。依据 CLSI 及 EUCAST 标准,32 株菌均对临床治疗李斯特菌病的一线药物氨苄西林和青霉素及二线治疗药物复方新诺明、红霉素敏感。其他 8 种抗生素虽然没有国际推荐的抗生素耐药敏感性折点,但是长期监测 MIC 值、MIC 范围、$MIC_{50}$及$MIC_{90}$的变化,对于研究单核细胞增生李斯特菌的耐药趋势意义重大。如对于某一种抗生素,大部分菌株的 MIC 值较小,少数菌株的 MIC 值明显高于其他菌株,则可以用分子生物学的方法,如耐药基因或者 PFGE 分型,研究其耐药机制。例如四环素极少用于治疗李斯特菌病,但已有 *tet* 耐药基因阳性的单核细胞增生李斯特菌报道。本试验中四环素 $MIC_{90}$为 1 μg/ml,但有 2 株菌的四环素 MIC 值为 64 μg/ml,而这 2 株菌同为 1/2a 血清型,且在聚类中单独为簇Ⅳ的一个小的分枝(图 1 中星号所示),相似度为 90%。这些异常增高的 MIC 值提示可能有耐药倾向。加强对临床分离株进行分子特征和耐药分析,通过耐药监测为临床医生提供及时、准确的抗生素敏感性资料,对指导临床合理选药,提高疗效,控制多重耐药菌流行有重大实用价值,并可用于协助制定抗生素在人和动物中的用药和供应政策。

## 参考文献

[1] CDC. Multistate outbreak of listeriosis linked to whole cantaloupes from Jensen Farms, Colorado (final update) [EB/OL]. (2012-08-27) [2016-01-15]. http://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/cantaloupes-jensen-farms/index.html.

[2] CDC. Multistate outbreak of listeriosis linked to blue bell creameries products (final update) [EB/OL]. (2015-06-10) [2016-01-15]. http://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/ice-cream-03-15/index.html

[3] Lorber B. Listeriosis[J]. Clin Intect Dis,1997,24(1):1-11.

[4] 郁庆福. 现代卫生微生物学[M]. 北京:人民卫生出版社,1995:119.

[5] Delgado A R. Listerellosis in pregnancy[J]. J Midwifery Womens Health,2008,53(3):255-259.

[6] Swaminathan B, Gemer-Smidt P. The epidemiology of human listeriosis[J]. Microbes Infect,2007,9(10):1236-1243.

[7] Palumbo J D, Borucki M K, Mandrell R E, et al. Serotyping of *Listeria monocytogenes* by enzyme linked immunosorbent assay and identification of mixed serotype cultures by colony immunoblotting[J]. J Clin Microbiol,2003,41(2):564-571.

[8] 王丽丽,马晓晨,滕仁明,等. 一起由肠炎沙门菌所致食源性疾病暴发疫情的病原学研究及溯源分析[J]. 中华预防医学杂志,2015,49(1):60-62.

[9] Denny J, McLauchlin J. Human *Listeria monocytogenes* infections in European opportunity for improved European surveillance[J]. Euro Surveill,2008,13(13):8082-8086.

[10] Lungu B, O'Bryan C A, Muthaiyan A, et al. *Listeria monocytogenes*: antibiotic resistance in food production [J]. Foodborne Pathog Dis,2011,8(5):569-578.

[11] 闫韶飞,裴晓燕,杨大进,等. 2012 年中国食源性单核细胞增生李斯特菌耐药特征及多位点序列分型研究[J]. 中国食品卫生杂志,2014,26(6):537-542.

[12] 赵悦,付萍,裴晓燕,等. 中国食源性单核细胞增生李斯特菌耐药特征分析[J]. 中国食品卫生杂志,2012,24(1):5-8.

[13] 王天姝,王艳,贺春月,等. 中国部分食品分离单增李斯特菌的抗菌药物敏感性及耐药基因检测[J]. 疾病监测,2013,28(3):224-229.

[14] 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.

[15] CLSI. M45-A2: methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria; approved guideline-second edition[S]. 2013.

[16] EUCAST. *Listeria monocytogenes* calibration of zone diameter breakpoints to MIC values, Version 1.2[S]. 2013

[17] PulseNet USA CDC. Standard operating procedures for PulseNet PFGE of *Listeria monocytogenes*[S]. USA: Centers for Disease Control and Prevention,2008.

[18] 炊慧霞,李文杰,张秀丽,等. 2012 年河南省食源性单核细胞增生李斯特菌血清分型及耐药性分析[J]. 中国卫生检验杂志,2014,24(12):1800-1803.

[19] 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.