

产单核细胞李斯特菌分子分型技术的最新研究进展

李文静¹, 刘凌云², 解媛², 史简¹, 李雪¹, 陆书华²

(1. 济宁医学院临床医学院, 山东济宁 272067; 2. 济宁医学院附属医院检验科, 山东济宁 272000)

摘要: 随着科学技术的发展与成熟, 分子分型技术备受关注, 其中, 脉冲场凝胶电泳及全基因组测序已成为多种细菌分型的金标准, 而基于电泳的分子分型技术、多位点序列分型、多毒力位点序列分型、分子血清分型也各有优缺点和适用范围。该文拟对产单核细胞李斯特菌分子分型技术进行详细阐述, 旨在为临床李斯特菌病的暴发流行、同源性分析提供研究方法, 为食源性疾病的监测、预警、风险评估及溯源提供参考依据。

关键词: 产单核细胞李斯特菌; 分子分型技术; 食源性疾病; 追踪溯源

中图分类号: R446.5; R378.994 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2023) 06-200-05

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2023.06.036

Advances in Molecular Typing Techniques of *Listeria Monocytogenes*

LI Wenjing¹, LIU Lingyun², XIE Yuan², SHI Jian¹, LI Xue¹, LU Shuhua² (1. School of Clinical Medicine, Jining Medical University, Shandong Jining 272067, China; 2. Department of Clinical Laboratory, the Affiliated Hospital of Jining Medical College, Shandong Jining 272000, China)

Abstract: With the development and maturity of science and technology, molecular typing technology has attracted much attention, among which, pulsed field gel electrophoresis and whole genome sequencing have become the gold standard for a variety of bacterial typing, and electrophoretic-based molecular typing technology, multilocus sequence typing, multi-virulence site sequence typing, and molecular serotyping also have their advantages and disadvantages and applicable ranges. In this paper, the molecular typing technique of *Listeria Monocytogenes* was described in detail, aiming to provide research methods for the outbreak and homology analysis of clinical *Listeria Monocytogenes*, and provide reference basis for monitoring, warning, risk assessment, and traceability of foodborne diseases.

Keywords: *Listeria monocytogenes*; molecular typing method; foodborne disease; trace source

产单核细胞李斯特菌 (*Listeria Monocytogenes*, LM), 是一种食源性致病菌, 广泛存在于自然界中, 食用受该菌污染的食物可导致人类感染并可能引起严重的李斯特菌病, 该病主要发生在某些特定人群中, 如孕妇、新生儿、免疫功能低下者和患有基础疾病的老年人, 临床表现为脑膜炎、败血症、胎儿早产、孕妇流产, 甚至导致人类死亡, 该病死亡率高达 20% ~ 30%^[1-2]。李斯特菌病潜伏期长达 70 天, 这使得追踪其流行病学来源变得十分困难^[3]。近年来, 分子分型技术作为李斯特菌病流行病学调查的重要工具, 在明确 LM 致病性、遗传相关性、追踪污染源、确定传播途径、控制疫情暴发等方面具有重要意义。通过对 LM 分离株进行分子分型可以建立临床病例和可疑食物之间的联系, 有利于污染源的追踪。目前, LM 分子分型技术主要包括两大类, 一类是基于电泳的分型技术, 另一类是基于测序的分型技术。本文就 LM 分子分型技术的最新研究进

展进行详细综述。

1 基于电泳的分型技术

1.1 脉冲场凝胶电泳 (pulsed-field gel electrophoresis, PFGE) PFGE 最早是由哥伦比亚大学的 SCHWARTZ 和 CANTOR 于 1984 年开发的一种用于分离大分子 DNA 或染色体的方法。该方法灵敏度高、分辨率强、重复性好, 在国内外得到广泛应用, 特别是在菌株鉴定和追踪污染源方面发挥了重要作用, 被认为是细菌分子分型的金标准^[4]。PFGE 的基本原理是基于酶切产生的大小不等的 DNA 片段在脉冲电场中迁移速率的不同将 DNA 片段分离, 经溴化乙锭 (EtBr, EB) 染色后在凝胶上出现按 DNA 大小排列的电泳条带, 根据可视化条带的差异进行菌株型别的判断。PAŽIN 等^[5]人使用限制性核酸内切酶 APAI 对香肠中分离出的 10 株 LM 进行脉冲场凝胶电泳技术 (PFGE) 分型, 结果显示所有菌株的电泳图谱之间无条带差异, 菌株亚型无法

基金项目: 山东省医药卫生科技发展计划项目 (202211000699): 肺炎克雷伯菌毒力特征与耐药性的研究; 济宁市重点研发计划 (2021YXNS027): 临床分离株单核细胞增生李斯特菌的流行及分子特征。

作者简介: 李文静 (1996-), 女, 硕士研究生在读, 检验医师 (初级), 研究方向: 细菌鉴定及耐药分析, E-mail: 2960741731@qq.com。

通讯作者: 陆书华 (1981-), 女, 副主任医师, 硕士生导师, 主要从事病原微生物学研究, E-mail: lushuhua010515@126.com。

区分。SHAKUNTALA 等^[6]人联合使用 APAI 酶和 ASCI 酶对印度东北部收集的 47 株动物源性 LM 分离株进行 PFGE 分析, 共发现 37 种脉冲型, 并指出双酶切的使用可以大幅度地提高 PFGE 对 LM 亚型的区分度。尽管 PFGE 是 LM 分子分型的金标准, 但它所需的专业设备昂贵、耗时耗力、对人员要求高、对条带的解释带有主观性、结果分析需要采用专门的软件, 所以在临床中未被广泛应用, 主要应用于科研及食品中 LM 的分型。

1.2 核糖体分型 (ribotyping, RT) RT 是基于编码核糖体的高度保守的基因序列, 用标记的大肠埃希菌 rRNA 探针与限制性内切酶切割 LM 全基因组所产生的 DNA 片段进行 Southern 杂交而获得带型差异的一种分子指纹技术^[7]。该技术灵敏度高、重复性好, 但需要用到放射性同位素、实验步骤繁琐、分辨力一般, 不能有效区分 1/2b 和 4b 型菌株。目前, 国际上已有完全自动化的微生物基因指纹鉴定系统 (automated ribotyping, AR), 它是基于 RT 原理, 经灭活、酶切、杂交、成像等自动化程序, 对细菌核糖体进行指纹图谱分析的自动化设备。DE CESARE 等^[8]人基于 AR 研究了 15 种不同的酶对 LM 菌株鉴别的适用性, 发现使用 EcoRI, PvuII 和 XhoI 三种限制性内切酶不仅对 LM 菌株有较高的鉴别力, 而且可以显著提高 4b 型菌株的区分度。AR 排除了人为因素对实验结果的影响, 操作简单、省时省力、高度标准化、重复性好、结果稳定, 但由于 AR 分辨率较低, 故其在菌株鉴定和分子分型方面的应用受限, 适于大样本量菌株的初步研究^[9]。

1.3 扩增片段长度多态性 (amplified fragment length polymorphism, AFLP) AFLP 又称选择性限制片段扩增, 它是限制性酶切产物经 PCR 扩增和电泳后得到不同分子量大小的 DNA 条带, 通过比较 DNA 条带的差异来检测 DNA 多态性的一种技术^[10]。目前, 国外学者关于 AFLP 在病原微生物方面的研究比较广泛, 国内尚不多见。LOMONACO 等^[11]人利用 AFLP 技术对环境及食品中的 108 株 LM 进行分析, 结果显示 AFLP 可将 LM 菌株分成两个遗传谱系, 包括谱系 I (血清型 1/2b, 4b, 3b) 和谱系 II (血清型 1/2a, 1/2c, 3a)。FONNESBECH VOGEL 等^[12]人指出, AFLP 技术能够区分 LM 和其他李斯特菌种, 并对 96 株 LM 进行了分型, 主要分为 2 个簇, 相似度为 82%。其中, I 簇包括 32 种 AFLP 类型, II 簇包括 13 种 AFLP 类型, 其余为其他李斯特菌种和反硝化菌株。AFLP 技术不仅具有重复性好、灵敏度高、分辨率高、DNA 用量少等优势, 还可以揭示菌株之间的进化关系, 适于基因组同源性高的生物群的研究, 但由于引物需要同位素标记,

对样品 DNA 质量要求严格、制备和进行凝胶电泳所需时间长以及对带型的解释和分析带有主观性而受到一定的限制。

1.4 限制性片段长度多态性 (restriction fragment length polymorphism, RFLP) RFLP 是一种利用限制性内切酶特异性识别双链 DNA 的某一段序列, 并在特定位置进行 DNA 双链切割, 进而产生长度大小不等的限制性片段, 经电泳、转膜后, 比较 DNA 多态性的基因分型技术^[13]。RIP 等^[14]人针对 LM 设计了一种基于 hly 基因的 PCR-RFLP 新方法, 该方法可将 LM 区分为三个谱系组: 谱系 I (血清型 1/2b, 3b, 4b, 4d, 4e 和 7)、谱系 II (血清型 1/2a, 1/2c, 3a 和 3c) 和谱系 III (血清型 4a 和 4c), 并用其他方法验证了 PCR-RFLP 方法的有效性和可靠性, 认为该法可作为 LM 血清型谱系组分类的一种替代方法。RFLP 技术操作简单、无需探针标记、实验设备比较普及、成本低、不依赖自动化设备, 但通量低、部分结果不容易判断, 适于硬性条件不好的实验室进行低通量的分子检测。

1.5 多位点串联重复序列分型 (multilocus variable number of tandem repeat analysis, MLVA) MLVA 是通过检测基因组中特定位点上串联重复序列可变拷贝数之间的差异来推断菌株间遗传进化关系的一种分子分型技术^[15]。近年来, MLVA 已被广泛应用于 LM 菌株分型。MARTÍN 等^[16]采用 MLVA 对从肉制品和肉制品加工厂中分离的 113 株 LM 进行分型, 共获得 27 个不同的 MLVA 谱, Simpson 多样性指数为 0.907, 证实了 MLVA 是鉴别 LM 菌株的一种常用的、快速的、可靠的亚型分型方法。MIYA 等^[17]通过比较 MLVA, MLST, PFGE 和 Ribotyping, 发现这四种技术鉴别能力大小排序为: MLVA>PFGE>MLST>Ribotyping, 其中, MLVA 对 4b 型菌株的鉴别能力最高, 它可将 4b 型菌株分为三组 (ECI, EC1a 和 ECII), 结果更容易解释。MLVA 只需常规的 PCR 和标准的琼脂糖凝胶电泳即可完成, 结果可在 DNA 提取后不到 8h 内获得, 具有简便、快速、经济、高通量、重复性好、分辨率高等优点, 不仅能确定基因多态性, 而且能揭示菌株群体遗传的结构特征, 可作为减轻 PFGE 工作量的一种有用的筛选方法。此外, 该技术将检测结果数字化, 减少了在结果分析过程中的主观因素, 便于不同实验室间结果的比较^[18]。

1.6 随机扩增多态性 DNA (random amplified polymorphic DNA, RAPD) RAPD 又称任意引物 PCR, 是由 WILLIAMS 和 WELSH 于 1990 年首次提出并发展起来的一项新的遗传标记技术, 该技术^[19]是以 PCR 为基础, 利用随机合成的寡核苷酸片段作

为引物,在低退火温度下扩增目的基因组DNA,经凝胶电泳分离,分析扩增产物DNA片段多态性的一种分子生物技术。BYUN等^[20]人为了解进口或国产肉类中LM的流行病学特点,利用RAPD技术对54株LM分离株进行分子流行病学研究,发现用三种引物组合可将LM分为40个类型,并且证实了韩国与美国牛肉分离株、韩国与丹麦猪肉分离株之间的亲缘关系,上述结果表明,RAPD不仅可作为LM流行病学研究中一种有效的分型工具,还可以揭示LM菌株间的遗传进化关系。该技术简单、快速、灵敏、成本低、DNA用量少,结果易于解释,但由于它采用的是随机引物扩增并使用了较低的退火温度,故它的稳定性及重复性较差,可用于少量菌株的快速分型及流行病学追踪。

2 基于测序的分型技术

2.1 多位点序列分型 (multilocus sequence typing, MLST) MLST是参照法国巴斯德研究所的产单核细胞李斯特菌MLST数据库(<http://bigsd.b.pasteur.fr/listeria/listeria.html>)操作流程,对7个管家基因(abcZ, bglA, cat, dapE, dat, ldh, hka) PCR扩增片段进行测序和序列比对分析,确定其序列类型(sequence type, ST)的一种方法^[21]。LU等^[22]人对2008~2019年从中国患者的血液、脑脊液、胎膜、胎盘等标本中分离出的144株LM进行MLST分型研究,发现所有菌株被分为23个ST型,ST87(49株,34.0%)最常见,其次为ST1(18株,12.5%),ST8(10株,6.9%),ST619(9株,6.3%),ST7(7株,4.9%)和ST3(7株,4.9%)。ZHANG等^[23]人使用MLST技术对2014~2018年中国北京从临床感染病例中分离出的120株LM进行分型分析,所有菌株被分为25个ST型,ST8最常见,其次是ST87和ST5。CHEN等^[24]人利用MLST技术对中国43个代表性城市新鲜蔬菜中分离出的30株LM进行研究,30株LM被分为9个ST型,其中ST87和ST8占优势。CHEN等^[25]人报道从中国即食食品和巴氏杀菌乳中分离出的48株LM亦以ST87和ST8为主。综上所述,ST87,ST8和ST5在中国食品和临床分离菌中占优势,是引起中国人类李斯特菌病的主要序列型。然而,国外最常见和报道最广泛的序列型是ST1和ST9^[26]。加强上述常见ST型的长期监测不仅有利于李斯特菌病的预防与控制,还可以揭示LM菌株的种群结构,从广泛的地理、时间和流行病学来源推断菌株之间的进化关系。MLST是一种成熟的、国际通用的、基于群体的菌株分化技术,该技术特异性强、分辨率高、实验结果可在不同的实验室间共享。与PFGE相比,MLST更具鉴别力,能够进一步区分PFGE无法区分的类型,被广泛应

用于LM的流行病学调查和暴发期间特异性菌株的来源追踪。

2.2 多毒力位点序列分型 (multi-virulence-locus sequence typing, MVLST) MVLST是一种基于MLST用进化较快的毒力和毒力相关基因(prfA, inlB, inlC, dal, clpP和lisR)代替管家基因对病原微生物进行分型的一种新技术。ZHANG等^[27]人利用LM的3个毒力基因(prfA, inlB, inlC)和3个毒力相关基因(dal, lisR, clpP)对28株LM进行MVLST分析,发现与MLST相比,MVLST对血清型1/2a和4b的鉴别力更高。ZHANG等^[28]人利用MVLST技术对从中国食品中分离出的73株LM进行分析,共确定了18个毒力型,31.5%的分离株属于流行克隆,包括ECI, ECIV, ECV, ECVI, ECVIII和ECXI,其中以ECV为主。KIM等^[29]人对2002~2014年从美国奶牛场中分离出的121株LM进行MVLST分析,共鉴定出59个毒力型,25%的分离株被确定为流行克隆。LM在国内外广泛流行,相关部门应加强对食品卫生的管理与监督,尽量避免人类因食用受污染的食物而感染LM。MVLST鉴别能力高,分型能力强,适用于当地毒力和毒力相关基因进化更快的菌株的流行病学研究。

2.3 全基因组测序 (whole genome sequencing, WGS) WGS是在基因水平上对病原菌进行测序并分析其遗传信息的一种新兴技术。WGS作为一种流行病学工具不仅可以识别高度相关的LM,而且还可以用来检测与高毒力或特定致病模式相关的毒力岛的存在,在了解LM的遗传变异、地理起源、进化状况、未来监测方向、风险评估以及追踪溯源等方面发挥了重要作用,越来越多地被应用于疫情的检测和调查。GUIDI等^[30]人使用WGS方法对屠宰场中分离出的122株LM进行研究,共检出5个CCs: CC1-ST1(21.3%), CC6-ST6(22.9%), CC9-ST9(44.2%), CC121-ST121(10.6%)和CC193-ST193(0.8%),其中,CC9和CC121被定义为低毒性克隆,CC1和CC6被定义为高毒性克隆,并发现高毒性克隆CC1和CC6屠宰场中存在的时间更长,这些发现表明,高毒性LM克隆存在严重的食品污染风险,与人类李斯特菌病相关。LI等^[31]人应用WGS技术对中国11个省份2013~2019年收集的360株LM临床分离株进行遗传多样性分析,共检出25个CCs,其中CC87,CC8和CC5是引起人类李斯特菌病的常见克隆复合体,此外,他们还发现所有临床分离株LIPI-1,LIPI-3和LIPI-4均为阳性,且LIPI-4阳性菌株中的CC87,ST619,ST382,CC4和CC2已被证明具有高毒力。YIN等^[32]人

利用 WGS 分析中国侵袭性李斯特菌病病例中 LM 分离株的遗传多样性,发现 ST87 在中国占优势,系统发育树显示从临床病例和零售食品中分离出的 ST87 亲缘关系十分密切,这说明人类感染李斯特菌很有可能是由食品传播给人类的,因此,我们应多关注 ST87 的毒力因素及致病机理,为李斯特菌病的控制和预防打下坚实基础。WGS 具有高度鉴别力,对 LM 流行菌株的检测和分析更加准确,现已成为 LM 分子分型的新的金标准。尽管 WGS 在疫情调查中具有优势,但由于基础设施和资源的不足,对许多国家来说,WGS 的广泛应用仍然具有挑战性。

3 分子血清分型

除以上两大类分子分型技术外,分子血清分型 (molecular serotyping) 也是一种经典的区分 LM 的方法。分子血清分型^[34]是利用多重 PCR 扩增 LM 血清型目标基因 lmo0737, lmo1118, ORF2819, ORF2110 和 prs, 从而对 LM 进行血清型分型的一种技术。目前,LM 已鉴定出 14 种血清型,其中 1/2a, 1/2b 和 4b 型与 96% 以上的人类李斯特菌病有关,1/2a 在食物中常见,4b 在临床分离株中常见^[33]。SHEN 等^[35]人利用分子血清分型技术对中国 2018 ~ 2020 年食品中检测出的 81 株 LM 进行分析,研究发现 1/2a 占优势,分离物以猪肉为主,这与世界范围内之前所报道的一致。VALLEJO 等^[36]人利用分子血清分型技术对西班牙北部某地区 2010 ~ 2020 年从临床样本中分离出的 111 株 LM 进行研究,结果显示 4b 在临床感染病例中最常见 (53.2%, 59 株),其次是 1/2b (27%, 30 株), 1/2a (18.9%, 21 株) 和 1/2c (1 株), 该数据更加印证了 4b 在临床分离株中常见这一结论。分子血清分型是最常用和使用最广泛的分型技术,该技术简单、快速、重复性较好,特别适合于疫情暴发时的快速检测和李斯特菌病的长期监测。

4 总结与展望

产单核细胞李斯特菌 (LM) 作为一种食源性致病菌,严重威胁人类的生命健康。分子分型技术作为食源性疾病流行病学调查的重要工具必不可少,上述分型技术各有利弊,在实际应用中,可根据实验室条件及研究需求选择一种或联合使用多种分型技术。理想的分型技术应该具有快速、准确、灵敏度强、特异度高、重复性好的特点,WGS 对 LM 遗传相似的分离株的区分度更高,已成为 LM 分子分型的新的金标准,未来随着测序成本的下降,WGS 有可能取代其它分型技术成为细菌分子分型的有力工具,为细菌的致病性、耐药机制、流行病学监测提供有效依据。

参考文献:

- [1] TÜKENMEZ H, SINGH P, SARKAR S, et al. A highly substituted ring-fused 2-pyridone compound targeting PrfA and the efflux regulator BrtA in *Listeria monocytogenes*[J]. mBio, 2023, 14(3): e44923.
- [2] PEREIRA E, CONRAD A, TESFAI A, et al. Multinational outbreak of *Listeria monocytogenes* infections linked to enoki mushrooms imported from the republic of Korea 2016-2020[J]. Journal of Food Protection, 2023, 86(7): 100101.
- [3] KOOPMANS M M, BROUWER M C, VÁZQUEZ-BOLAND J A, et al. Human listeriosis[J]. Clinical Microbiology Reviews, 2023, 36(1): e0006019.
- [4] HUNT K, JORDAN K. Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) analysis of *Listeria monocytogenes*[J]. Methods in Molecular Biology, 2021, 2220: 79-88.
- [5] PAŽIN V, JANKULOSKI D, KOZAČINSKI L, et al. Tracing of *Listeria monocytogenes* contamination routes in fermented sausage production chain by pulsed-field gel electrophoresis typing[J]. Foods, 2018, 7(12): 198.
- [6] SHAKUNTALA I, PRINCE M A, DAS S, et al. Pulsed-field gel electrophoresis fingerprinting of *Listeria monocytogenes* isolates recovered from foods of animal origin and fishes in North-Eastern India[J]. Veterinary Research Forum, 2022, 13(1): 133-139.
- [7] PAGADALA S, PARVEEN S, RIPPEN T, et al. Prevalence, characterization and sources of *Listeria monocytogenes* in blue crab (*Callinectes sapidus*) meat and blue crab processing plants[J]. Food Microbiology, 2012, 31(2): 263-270.
- [8] DE CESARE A, BRUCE J L, DAMBAUGH T R, et al. Automated ribotyping using different enzymes to improve discrimination of *Listeria monocytogenes* isolates, with a particular focus on serotype 4b strains[J]. Journal of Clinical Microbiology, 2001, 39(8): 3002-3005.
- [9] LONDERO A, COSTA M, SUCARI A, et al. Comparison of three molecular subtyping techniques for *Listeria monocytogenes*[J]. Revista Argentina de Microbiologia, 2019, 51(4): 359-362.
- [10] BERTANI G, SAVO SARDARO M L, NEVIANI E, et al. AFLP protocol comparison for microbial diversity fingerprinting[J]. Journal of Applied Genetics, 2019, 60(2): 217-223.
- [11] LOMONACO S, NUCERA D, PARISI A, et al. Comparison of two AFLP methods and PFGE using strains of *Listeria monocytogenes* isolated from environmental and food samples obtained from Piedmont, Italy[J]. International Journal of Food Microbiology, 2011, 149(2): 177-182.
- [12] FONNESBECH VOGEL B, FUSSING V, OJENIYI B, et al. High-resolution genotyping of *Listeria monocytogenes* by fluorescent amplified fragment length polymorphism analysis compared to pulsed-field gel electrophoresis, random amplified polymorphic DNA analysis, ribotyping, and PCR-restriction

- fragment length polymorphism analysis[J]. Journal of Food Protection, 2004, 67(8): 1656-1665.
- [13] MEGHDADI H, KHOSRAVI A D, SHEIKH A F, et al. Isolation and characterization of *Listeria monocytogenes* from environmental and clinical sources by culture and PCR-RFLP methods[J]. Iranian Journal of Microbiology, 2019, 11(1): 7-12.
- [14] RIP D, GOUWS P A. PCR-restriction fragment length polymorphism and pulsed-field gel electrophoresis characterization of *Listeria monocytogenes* isolates from ready-to-Eat foods, the food processing environment, and clinical samples in South Africa[J]. Journal of Food Protection, 2020, 83(3): 518-533.
- [15] MATLE I, MBATHA K R, MADORABA E. A review of *Listeria monocytogenes* from meat and meat products: Epidemiology, virulence factors, antimicrobial resistance and diagnosis[J]. The Onderstepoort Journal of Veterinary Research, 2020, 87(1): e1-e20.
- [16] MARTÍN B, BOVER-CID S, AYMERICH T. MLVA subtyping of *Listeria monocytogenes* isolates from meat products and meat processing plants[J]. Food Research International, 2018, 106: 225-232.
- [17] MIYA S, KIMURA B, SATO M, et al. Development of a multilocus variable-number of tandem repeat typing method for *Listeria monocytogenes* serotype 4b strains[J]. International Journal of Food Microbiology, 2008, 124(3): 239-249.
- [18] FANG Rendong, JIANG Bing, XIE Jianhua, et al. An optimized multilocus variable-number tandem repeat analysis typing scheme for *Listeria monocytogenes* from three western provinces in China[J]. Journal of Food Protection, 2018, 81(12): 1956-1962.
- [19] OSEK J, LACHTARA B, WIECZOREK K. *Listeria monocytogenes* in foods-from culture identification to whole-genome characteristics[J]. Food Science Nutrition, 2022, 10(9): 2825-2854.
- [20] BYUN S K, JUNG S C, YOO H S. Random amplification of polymorphic DNA typing of *Listeria monocytogenes* isolated from meat[J]. International Journal of Food Microbiology, 2001, 69(3): 227-235.
- [21] HUANG Y T, KUO Yaowen, LEE M R, et al. Clinical and molecular epidemiology of human listeriosis in Taiwan[J]. International Journal of Infectious Diseases, 2021, 104: 718-724.
- [22] LU Binghuai, YANG Junwen, GAO Chunyan, et al. Listeriosis cases and genetic diversity of their *L. monocytogenes* isolates in China, 2008-2019[J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2021, 11: 608352.
- [23] ZHANG Xiaoi, LIU Yuzhu, ZHANG Penghang, et al. Genomic characterization of clinical *Listeria monocytogenes* isolates in Beijing, China[J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 751003.
- [24] CHEN Moutong, CHEN Yuetao, WU Qingping, et al. Genetic characteristics and virulence of *Listeria monocytogenes* isolated from fresh vegetables in China[J]. BMC Microbiology, 2019, 19(1): 119.
- [25] CHEN Yuetao, CHEN Moutong, WANG Juan, et al. Heterogeneity, characteristics, and public health implications of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods and pasteurized milk in China[J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 11: 642.
- [26] TOLEDO V, DEN BAKKER H C, HORMAZÁBAL J C, et al. Genomic diversity of *Listeria monocytogenes* isolated from clinical and Non-Clinical samples in Chile[J]. Genes(Basel), 2018, 9(8): 396.
- [27] ZHANG Wei, JAYARAO B M, KNABEL S J. Multi-virulence-locus sequence typing of *Listeria monocytogenes*[J]. Applied and Environment Microbiology, 2004, 70(2): 913-920.
- [28] ZHANG Yunyi, DONG Shilei, CHEN Honghu, 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.
- [29] KIM S W, HAENDIGES J, KELLER E N, et al. Genetic diversity and virulence profiles of *Listeria monocytogenes* recovered from bulk tank milk, milk filters, and milking equipment from dairies in the United States(2002 to 2014)[J]. PLoS One, 2018, 13(5): e197053.
- [30] GUIDI F, CENTOROTOLA G, CHIAVERINI A, et al. The slaughterhouse as hotspot of CC1 and CC6 *Listeria monocytogenes* strains with hypervirulent profiles in an integrated poultry chain of Italy[J]. Microorganisms, 2023, 11(6): 1543.
- [31] LI Weiwei, GUO Yunchang, CUI Qingpo, et al. Whole-genome sequencing-based characterization of clinical *Listeria monocytogenes* isolates in China, 2013-2019[J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2023, 20(4): 158-168.
- [32] YIN Yuelan, DOIJAD S, WANG Weiping, et al. Genetic diversity of *Listeria monocytogenes* isolates from invasive listeriosis in China[J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2020, 17(3): 215-227.
- [33] KAYODE A J, OKOH A I. Assessment of the molecular epidemiology and genetic multiplicity of *Listeria monocytogenes* recovered from ready-to-eat foods following the South African listeriosis outbreak[J]. Scientific Reports, 2022, 12(1): 20129.
- [34] MENON K V, SUNIL B, LATHA C. Prevalence and antibiotic resistance profile of *Listeria spp.* associated with seafoods from fish catchment areas in Kerala, India[J]. Veterinary World, 2021, 14(3): 777-783.
- [35] SHEN Jinling, ZHANG Guodong, YANG Jieli, et al. Prevalence, antibiotic resistance, and molecular epidemiology of *Listeria monocytogenes* isolated from imported foods in China during 2018 to 2020[J]. International Journal of Food Microbiology, 2022, 382: 109916.
- [36] VALLEJO P, CILLA G, LÓPEZ-OLAIZOLA M, et al. Epidemiology and clinical features of listeriosis in Gipuzkoa, Spain, 2010-2020[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 894334.

收稿日期: 2023-06-22

修回日期: 2023-09-13