DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20251218007
引用格式: 郭艳东, 徐鑫, 段明伟, 等. 2022—2023 年保山市食源性单增李斯特菌污染状况、分子特征及耐药性研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(8): 118–126.
GUO YD, XU X, DUAN MW, *et al*. Study on the contamination status, molecular characteristics and antimicrobial resistance of foodborne *Listeria monocytogenes* in Baoshan City, 2022—2023 [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(8): 118–126. (in Chinese with English abstract).

2022—2023 年保山市食源性单增李斯特菌污染状况、分子特征及耐药性研究

郭艳东[1#], 徐　鑫[2,3#], 段明伟[1], 黄雪娟[4], 张　爱[2,3], 罗晋怡[2,3], 王惜梅[1], 张雪辉[2,3*], 米　飞[2,3*]

(1. 保山中医药高等专科学校基础医学院, 保山　678000; 2. 云南省公共卫生与生物安全重点实验室, 昆明　650500; 3. 云南省高校营养与食品安全重点实验室, 昆明　650500; 4. 昆明市盘龙区人民医院, 昆明　650500)

摘　要: 目的　了解保山市食品中单增李斯特菌(*Listeria monocytogenes*, Lm)的污染状况、分子特征、毒力基因和耐药基因携带情况, 以及耐药谱特征等。**方法**　对保山市售食品中分离的 Lm 进行全基因组测序, 使用 BioNumeric 7.6 软件进行拼接组装, 分析其分子特征; 采用肉汤稀释法对 12 株 Lm 菌株进行药敏测定。**结果**　本研究共采集和分离食物样本 229 份, 检出 Lm 共 12 株, 总体污染率为 5.24%。5 类食物样本中 Lm 的检出率无统计学差异(P>0.05), 但各食物污染率有差异。5 个地区 Lm 的总污染率无统计学差异(P>0.05), 但各地区污染率有差异。Lm 分属于 2 个遗传谱系, 谱系 I 有 7 株(58.33%), 谱系 II 有 4 株(33.33%), 有 1 株来源于生鲜肉制品的菌株未分型; 共分为 3 种血清群, 包括 1/2a-3a (4, 33.33%)、1/2b-3b-7 (4, 33.33%)及 4b-4d-4e (4, 33.33%); 分为 6 个序列型(sequence type, STs), 以 ST8 (25%)为优势 ST 型; 分属于 6 个克隆群(clonal complex, CC), 以 CC8 (25%)为优势 CC 群。保山食源性 Lm 分离株普遍携带重要的毒力基因, 100%的 Lm 携带全部的 *LIPI-1* 和 *LIPI-2* 的主要毒力基因, 而 *LIPI-3* 和 *LIPI-4* 的携带率较低, 仅 2 株 Lm 携带 *LIPI-3*, 3 株 Lm 携带 *LIPI-4*。100%的分离株携带主要耐药基因 *fosX*、*mprF*、*lin* 和 *sul*。药敏结果显示: 12 株 Lm 对红霉素及美罗培南的耐药率分别为 83.33% (10/12)及 33.33% (4/12), 共出现了 2 种耐药表型, 单重耐药、双重耐药菌株分别有 6 株、4 株, 其中以红霉素和美罗培南双重耐药为主, 占 33.33% (4/12)。**结论**　保山多种食品存在 Lm 污染, 检出菌株遗传多样性高, 含常见致病型别, 普遍携带重要毒力基因, 致病性强, 具暴发风险, 且 Lm 对红霉素、美罗培南等临床常用药普遍耐药, 需加强全市食品监测, 并规范临床及兽医用药以防控风险。

关键词: 单增李斯特菌; 全基因组测序; 污染状况; 毒力基因; 耐药基因

收稿日期: 2025-12-18
基金项目: 国家自然科学基金项目(32160551); 云南省“兴滇英才”支持计划青年人才项目(XDYC-QNRC-2022-0229); 云南省基础研究计划项目(202501AT070097); 保山中医药高等专科学校校级科技创新团队项目(2025t001); 保山中医药高等专科学校科技计划科学研究项目(2024k001); 保山中医药高等专科学校百名中青年学术技术带头人项目(2024zd002); 保山市科技计划项目(2023bskj029); 云南省教育厅科学研究基金项目(2023J1793)
#郭艳东和徐鑫为共同第一作者
第一作者: 郭艳东(1995—), 女, 硕士, 讲师, 主要研究方向为营养与食品卫生学。E-mail: 1309316692g@qq.com
徐鑫(1999—), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为营养与食品卫生学。E-mail: 1497200834@qq.com
***通信作者:** 张雪辉(1975—), 男, 高级实验师, 主要研究方向为卫生检验。E-mail: 420797538@qq.com
米飞(1986—), 男, 博士, 副教授, 主要研究方向为食品微生物学。E-mail: mifei99@126.com

Study on the contamination status, molecular characteristics and antimicrobial resistance of foodborne *Listeria monocytogenes* in Baoshan City, 2022—2023

GUO Yan-Dong[1#], XU Xin[2,3#], DUAN Ming-Wei[1], HUANG Xue-Juan[4], ZHANG Ai[2,3], LUO Jin-Yi[2,3], WANG Xi-Mei[1], ZHANG Xue-Hui[2,3*], MI Fei[2,3*]

(1. *Basic Medical College of Baoshan College of Traditional Chinese Medicine*, *Baoshan* 678000, *China*; 2. *Yunnan Key Laboratory of Public Health and Biosafety*, *Kunming* 650500, *China*; 3. *Key Laboratory of Nutrition and Food Safety of Yunnan Universities*, *Kunming* 650500, *China*; 4. *Panlong District People's Hospital*, *Kunming* 650500, *China*)

ABSTRACT: Objective To investigate the contamination status, molecular characteristics, virulence genes, antibiotic resistance genes and resistance profiles of *Listeria monocytogenes* (Lm) in foods from Baoshan City. **Methods** Whole-genome sequencing was performed on Lm strains isolated from retail foods in Baoshan. The sequences were assembled using BioNumerics 7.6 software, and their molecular characteristics were subsequently analyzed. In parallel, antimicrobial susceptibility testing was conducted on the 12 Lm strains using the broth dilution method. **Results** A total of 229 food samples were collected and analyzed, yielding 12 Lm isolates with an overall contamination rate of 5.24%. No statistically significant difference was observed in Lm detection rates among the 5 food categories (P>0.05), although numerical variations in contamination existed across categories. Similarly, the overall contamination rates across the 5 sampling regions showed no statistically significant difference (P>0.05), despite observable variations among individual regions. The Lm isolated were classified into 2 genetic lineages: Lineage I comprised 7 strains (58.33%), and Lineage II comprised 4 strains (33.33%). One strain isolated from raw meat products remained untyped. They were classified into 3 kinds of serogroups: 1/2a-3a (4 strains, 33.33%), 1/2b-3b-7 (4 strains, 33.33%) and 4b-4d-4e (4 strains, 33.33%). The 6 sequence types (STs) were identified, with ST8 (25%) being the dominant type. The isolates fell into 6 clonal complexe (CC), with CC8 (25%) as the predominant group. All isolates carried key virulence genes, with 100% harboring complete *LIPI-1* and *LIPI-2* gene clusters, while *LIPI-3* and *LIPI-4* were less frequent (2 and 3 strains, respectively). All isolates carried major resistance genes *fosX*, *mprF*, *lin* and *sul*. Antimicrobial susceptibility testing revealed resistance rates of 83.33% (10/12) to erythromycin and 33.33% (4/12) to meropenem. The 2 kinds of resistance patterns were observed: 6 strains showed single-drug resistance, and 4 strains showed dual resistance, primarily to erythromycin and meropenem (33.33%, 4/12). **Conclusion** Lm contamination is detected in various retail foods in Baoshan. The isolates exhibits high genetic diversity and included common pathogenic sequence types. All strains universally carry key virulence genes, indicating strong pathogenicity and potential outbreak risk. Moreover, widespread resistance to clinically important antibiotics, such as erythromycin and meropenem, is observed. Strengthened food monitoring across the city, along with standardized clinical and veterinary antibiotic use, is recommended to prevent and control the associated risks.

KEY WORDS: *Listeria monocytogenes*; whole-genome sequencing; contamination status; virulence genes; antibiotic resistance genes

0　引　言

单增李斯特菌是一种广泛分布在自然界中的人畜共患的食源性致病菌, 主要通过污染各种食品, 尤其是肉与肉制品、新鲜食用菌[1–3], 引起食源性疾病的暴发和流行。免疫力低下人群常因食用了被单增李斯特菌污染的食品, 引起败血症、脑膜炎, 以及流产、死产或新生儿败血症的妊娠相关疾病, 全球范围内单增李斯特菌病的死亡率高达20%~40%[4]。目前, 已有研究确认单增李斯特菌至少包含13 种血清型(包括 1/2a、1/2b、1/2c、3a、3b、3c、4a、4b、4ab、4c、4d、4e 及 7), 并可分为 4 个遗传谱系(I~IV), 其中谱系I和谱系II是导致人类感染的主要类型[5–7]。在我国食品源分离株中, 血清型 1/2a、1/2b、1/2c 和 4b 占主导地位[8]。随着抗生素的广泛应用, 国内多项监测数据显示, 单增李斯特菌对不同药物的耐药现象逐渐显现, 且多重耐药菌株亦有检出, 整体耐药形势趋于严峻[9–10]。

本研究基于全基因组测序(whole-genome sequencing, WGS)对保山市 5 类食物中的单增李斯特菌进行分离鉴定、血清学分型、毒力基因检测、全基因组测序, 并进行多位点序列分型和药敏验证实验, 以了解保山市食物中单增李斯特菌的污染情况, 掌握单增李斯特菌的分子流行病学特征和耐药情况, 为保山市食源性单增李斯特菌的监测和预防控制提供依据。

1 材料与方法

1.1 菌株来源

选择云南省保山市为采样点。为确保样本的代表性并减少选择偏倚, 本研究采用了多阶段随机抽样的方法。样本采集工作贯穿 2022 年 9 月至 2023 年 12 月, 覆盖了不同季节(秋、冬、春、夏), 以反映气候变化对单增李斯特菌流行情况的影响。采样点覆盖了保山市主要城区的各类销售渠道, 包括农贸市场、生鲜超市及零售店; 具体采样点通过随机数字表法从各渠道的名单中抽取确定。在每一个选定的采样点, 不同批次的样品亦通过简单随机抽样的方式获取, 以确保样本来源的分散性和随机性。共采集 229 份市售生鲜肉、卤肉熟肉、水产品、昆虫、人工菌样本。从 229 份食品中分离到 12 株单增李斯特菌(7 份来源于生鲜肉、1 份卤肉熟肉、1 份水产品、3 份人工菌), 本研究以这 12 株单增李斯特菌为研究对象, 以单增李斯特菌参考菌株 ATCC 19115 为阳性对照。

1.2 仪器与试剂

Illumina Miseq 测序平台(北京擎科生物有限公司); BioNumeric 7.6 软件(比利时 Applied-Maths 公司)。

细菌基因组 DNA 纯化试剂盒(北京全式金生物技术股份有限公司); 商品化的革兰阳性菌药敏检测板[复兴诊断科技(上海)有限公司]; 以上试剂耗材均在有效期内。

1.3 方 法

1.3.1 全基因组测序

在 DNA 提取及文库构建过程中, 以无菌去离子水代替样本作为阴性对照, 参与整个实验流程, 以监测试剂及环境的污染情况。随后, 采用 Illumina Miseq 测序仪进行测序, 测序深度设定为 100x。测序完成后使用 CLC Genomics Workbench 25.0.2 软件的 de novo 模块进行基因组组装, 组装完成后通过 N50、contig 数量等指标评估基因组的组装质量。基于基因组数据, 使用 MEGA11 构建邻接法系统发育树, 设置 Bootstrap 检验(1000 次重复)以评估节点支持率。

1.3.2 多位点序列分型及谱系分型

MLST 分型基于 7 个管家基因进行分析, 包括 *abcZ*、*bglA*、*cat*、*dapE*、*dat*、*ldh* 和 *lhkA*。基于基因组测序结果将组装后的菌株 contigs 逐个上传到 BIGSdb-LM 数据库中 MLST 模块进行分析, 获得每个菌株的谱系、克隆群(clonal complex, CC)及序列型(sequence type, ST), 仅相差 1 个等位基因的归为 1 个克隆群。

1.3.3 毒力基因及耐药基因的检测

基于全基因组测序结果, 将组装后的菌株 contigs 逐个上传到 BIGSdb-LM 数据库中比对毒力基因及耐药基因的携带情况。

1.3.4 药物敏感性试验

本研究依据美国临床和实验室标准化员会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)推荐的单增李斯特菌药物敏感性试验标准, 选择氨苄西林(ampicillin, AMP)、青霉素(penicillin, PEN)、红霉素(erythromycin, ERY)、万古霉素(vancomycin, VAN)、环丙沙星(ciprofloxacin, CIP)、四环素(tetracycline, TET)、美罗培南(meropenem, MEM)和复方新诺明(trimethoprim-sulfamethoxazole, SMZ) 8 种抗生素进行药敏验证。药物敏感试验中敏感性应用最小抑菌浓度(minimal inhibitory concentration, MIC)表示, 选用复兴诊断科技长沙有限公司的单增李斯特菌药敏板进行验证, 药敏板上抗生素的浓度见表 1。具体操作流程见图 1, 每批次检测均设置阳性对照孔(ATCC 29212、ATCC 29213 或 ATCC 49619 之一)及阴性对照孔(仅含培养基, 无细菌接种), 以验证药敏板质量及实验操作的有效性。根据单增李斯特菌药物敏感性试验执行标准(CLSI M45-A3)及欧盟药敏试验标准及欧盟药敏试验标准委员会(European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, EUCAST)得到相应敏感(S)、中介(I)和耐药(R)的结果, S 表示菌株可被抗菌药物的有效浓度抑制产生临床疗效; R 则表示菌株无法被常规药物浓度抑制, 其临床疗效不可靠; I 指其疗效介于敏感及耐药之间。判断标准见表 2。由于表现为中介及耐药的单增李斯特菌使用抗生素推荐剂量时临床疗效均较低, 且缺乏中介及耐药的折点判定标准, 故本研究将单增李斯特菌的耐药性判为敏感及耐药进行分析, 耐药包括中介及耐药。

1.4 数据处理

数据的统计分析依托于 SPSS 25.0 软件。通过蒙特卡洛 Fisher 检验比较各组数据, 检验水准设定为双侧 α=0.05, 若 P<0.05, 则判定差异存在统计学意义。图形绘制分别利用 ArcGIS 10.8 软件及 ChiPlot 在线图表制作工具完成。

2 结果与分析

2.1 单增李斯特菌检出情况

共采集 229 份样品, 检出单增李斯特菌 12 株, 总检出率 5.24%。不同种类食品中, 全部食品均检出单增李斯特菌, 水产品、昆虫类检出率最高(9.09%), 其次为人工菌类(5.77%)、生鲜肉制品(5.43%)、卤肉熟肉类(2.70%)。不同种类食品中单增李斯特菌检出率差异无统计学意义(P>0.05), 见表 3。

表 1　药敏板中抗生素的质量浓度梯度(μg/mL)

Table 1　Mass concentration gradients of antibiotics in the antimicrobial susceptibility testing panel (μg/mL)

抗生素	反应孔孔号											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
AMP	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.06	0.03	POS
PEN	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.06	0.03	POS
TET	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.06	0.03	POS
MEM	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.06	0.03	0.015	0.0075	POS
SMZ	8/152	4/76	2/38	1/19	0.5/9.5	0.25/4.8	0.12/2.4	0.06/1.2	0.03/0.6	0.015/0.3	0.0075/0.15	POS
ERY	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.06	0.03	POS
VAN	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.06	0.03	POS
CIP	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.06	0.03	NEG

注: 复方新诺明为甲氧苄啶和磺胺甲噁唑的复合药物。POS 为阳性对照孔(positive controll), NEG 为阴性对照孔(negative control well)。

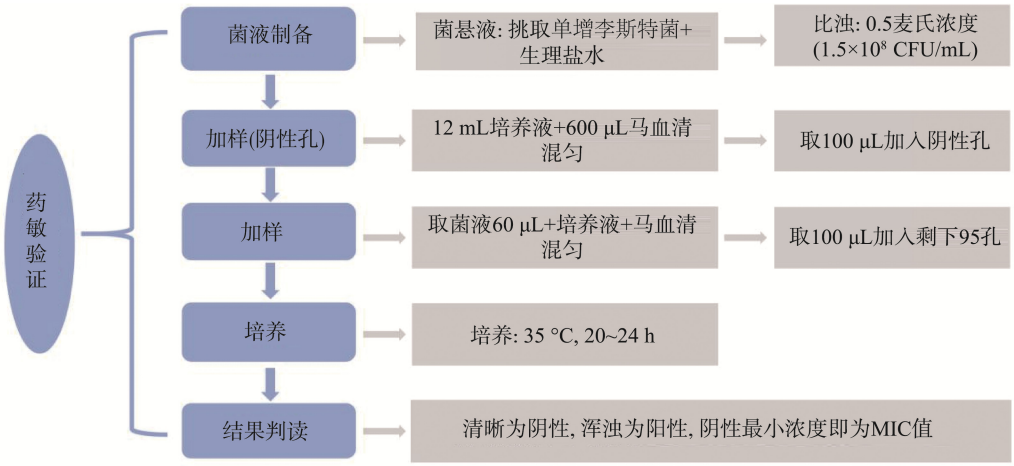


图 1　单增李斯特菌药敏验证的实验步骤

Fig.1　Experimental steps for antimicrobial susceptibility testing of *Listeria monocytogenes*

表 2　单增李斯特菌的药敏试验判定标准

Table 2　Interpretive criteria for the antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes*

抗生素	MIC/(μg/mL)		
	敏感(S)	中介(I)	耐药(R)
AMP	≤2	-	-
PEN	≤2	-	-
TET	-	-	-
MEM	≤0.25	-	-
SMZ	≤0.5/9.5	-	-
ERY*	≤1	-	-
VAN	-	-	-
CIP	-	-	-

注: *参考 EUCAST, 其他参考 CLSI M45-A3, -表示无抑菌浓度。

229 份食物样品采自保山 5 个地区, 所有地区均有单增李斯特菌检出。共检出 12 株单增李斯特菌, 检出率为 5.24%, 其中腾冲市分离菌株最多, 有 4 株, 占 9.76%; 其次有 2 株来自昌宁县, 占 4.76%; 3 株来自隆阳区, 占 5.00%; 2 株来自龙陵县, 占 4.08%; 1 株来自施甸县, 占 2.70%。不同地区来源食品中单增李斯特菌的检出率差异无统计学差异(P>0.05), 见表 4。

表 3　保山市不同食品类型中单增李斯特菌的检出率比较

Table 3　Comparison of the detection rates of *Listeria monocytogenes* in different food types in Baoshan City

食品类型	采样量	检出数	检出率/%	P
生鲜肉	129	7	5.43	0.580
卤肉熟肉	37	1	2.70	
水产品、昆虫	11	1	9.09	
人工菌	52	3	5.77	
合计	229	12	5.24	

表 4　保山市不同地区单增李斯特菌检出率比较

Table 4　Comparison of detection rates of *Listeria monocytogenes* in different areas of Baoshan City

地区来源	采样量	检出数	检出率/%	P
隆阳区	60	3	5.00	0.736
腾冲市	41	4	9.76	
施甸县	37	1	2.70	
昌宁县	42	2	4.76	
龙陵县	49	2	4.08	
合计	229	12	5.24	

2.2 谱系与血清型

基于基因组信息, 本研究成功对 12 株单增李斯特菌进行谱系分型, 分型结果显示: 单增李斯特菌主要属于谱系I和谱系II。其中谱系I菌株 7 株, 占 58.33%。谱系II菌株 4 株, 占 33.33%。有 1 株暂未确定其谱系分型, 编号为 CN193。

利用多重 PCR 血清分型方法对单增李斯特菌进行血清分型。结合基因组在 BIGSdb-LM 数据库中的分析结果, 本研究共成功对 12 株单增李斯特菌分为 3 种分子血清群, 分别为 1/2a-3a (4, 33.33%)、1/2b-3b-7 (4, 3.33%)及 4b-4d-4e (4, 33.33%)。

不同食品类型中分离的单增李斯特菌, 其血清群分布情况不同。人工菌类分离到血清型 1/2a-3a、4b-4d-4e 的菌株, 生鲜肉制品分离到血清型 1/2a-3a、1/2b-3b-7、4b-4d-4e 的菌株, 卤肉、熟肉制品分离到 4b-4d-4e 的菌株, 水产品、昆虫分离到血清型 1/2a-3a 的菌株。

分离自保山 5 个地区的单增李斯特菌的血清群分布情况不同, 隆阳区和昌宁县分离到血清型 1/2b-3b-7、4b-4d-4e 的菌株, 腾冲市分离到血清型 1/2a-3a、1/2b-3b-7、4b-4d-4e 的菌株, 施甸县与龙陵县仅分离到血清型 1/2a-3a 的菌株。对不同食品类型的单增李斯特菌的血清群分布统计分析显示无统计学差异(P>0.05), 见表 5; 对不同地区的单增李斯特菌的血清群分布统计分析显示无统计学差异(P>0.05), 见表 6。

2.3 ST 型、CC 型

对菌株进行 MLST 分型后, 结果显示存在 6 种不同的 ST 型(ST1、ST2、ST5、ST8、ST87、ST101), 并以 ST8 (5 株)为优势型别(图 2)。各 ST 型均呈现出血清群与 CC 群一一对应的关系, 其中 CC8 为优势克隆群。具体而言, 12 株菌的克隆群归属如下: CC8(含 3 株 ST8)、CC1(含 2 株 ST1)、CC2(含 2 株 ST2)、CC87(含 2 株 ST87)、CC5(含 1 株 ST5)以及 CC101(含 1 株 ST101)。

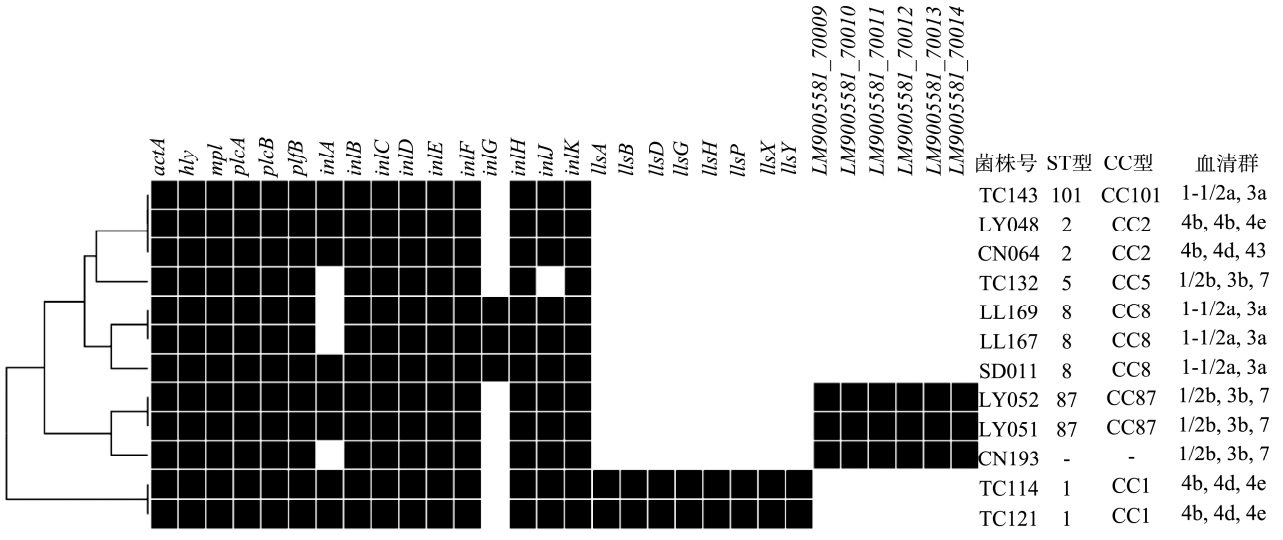
表 5 保山市不同食品来源的单增李斯特菌的血清群分布
Table 5 Distribution of serogroups of *Listeria monocytogenes* from different food sources in Baoshan City

食品来源	菌株数	血清群			P
		1/2a-3a	1/2b-3b-7	4b-4d-4e	
生鲜肉	129	1	4	2	0.371
卤肉熟肉	37	0	0	1	
水产品、昆虫	11	1	0	0	
人工菌	52	2	0	1	
合计	229	4	4	4	

表 6 保山市不同地区来源的单增李斯特菌的血清群分布
Table 6 Distribution of serogroups of *Listeria monocytogenes* from different regions in Baoshan City

地区来源	菌株数	血清群			P
		1/2a-3a	1/2b-3b-7	4b-4d-4e	
隆阳区	60	0	2	1	0.572
腾冲市	41	1	1	2	
施甸县	37	1	0	0	
昌宁县	42	0	1	1	
龙陵县	49	2	0	0	
合计	229	4	4	4	

对不同食品类型的单增李斯特菌的 ST 分布统计分析显示无统计学差异(P>0.05), 见表 7; 对不同地区的单增李斯特菌的 ST 分布统计分析显示无统计学差异(P>0.05), 见表 8。



注: 图示中, 黑色表示毒力基因存在, 白色表示基因缺失; -表示未分型。

图 2 单增李斯特菌 ST 型、CC 群、血清群及毒力基因分布情况

Fig.2 Distribution of ST types, CC groups, serogroups and virulence genes *of Listeria monocytogenes*

表 7　保山市不同食品来源的单增李斯特菌的 ST 型分布

Table 7　Distribution of ST types of *Listeria monocytogenes* from different food sources in Baoshan City

食品来源	菌株数	ST						*P*
		1	2	5	8	87	101	
生鲜肉	129	1	1	1	0	2	1	0.391
卤肉熟肉	37	0	1	0	0	0	0	
水产品、昆虫	11	0	0	0	1	0	0	
人工菌	52	1	0	0	2	0	0	
合计	229	2	2	1	3	2	1	

表 8　保山市不同地区来源的单增李斯特菌的 ST 型分布

Table 8　Distribution of ST types of *Listeria monocytogenes* from different regions in Baoshan City

地区来源	菌株数	ST						*P*
		1	2	5	8	87	101	
隆阳区	60	0	1	0	0	2	0	0.091
腾冲市	41	2	0	1	0	0	1	
施甸县	37	0	0	0	1	0	0	
昌宁县	42	0	1	0	0	0	0	
龙陵县	49	0	0	0	2	0	0	
合计	229	2	2	1	3	2	1	

2.4　毒力基因携带情况

对 12 株单增李斯特菌的毒力基因分析显示, 所有菌株均携带毒力岛 1 (*LIPI-1*)的全部基因(*actA*、*hly*、*mpl*、*plcA*、*plcB*、*prfA*), 以及毒力岛 2 (*LIPI-2*)的大部分基因(*inlB*、*inlC*、*inlC2*、*inlD*、*inlE*、*inlF*、*inlH*、*inlI*、*inlK*、*inlL*、*inlP*)。对于 *LIPI-2* 上的其余基因, 其携带情况存在差异: 8 株携带 *inlA*, 3 株携带 *inlG*, 11 株携带 *inlJ*。此外, 2 株菌(ST1)携带毒力岛 3 (*LIPI-3*)上的基因(*llsA*、*llsB*、*llsD*、*llsG*、*llsH*、*llsP*、*llsX*、*llsY*), 其余 10 株不携带毒力岛 3 上的基因; 2 株菌(ST87)和 1 株未分型的菌株携带毒力岛 4 (*LIPI-4*)上的基因 *LM9005581-70009*、*LM9005581-70010*、*LM9005581-70011*、*LM9005581-70012*、*LM9005581-70013*、*LM9005581-70014*, 毒力岛 4 (LIPI-4)的基因在其余 9 株菌中均呈阴性。从生鲜肉(TC121)和人工菌(TC114)中分离到的两株菌均为 ST1 型, 其共同特征在于同时携带了 *LIPI-1*、*LIPI-2* 及 *LIPI-3* 上的毒力基因(图 3)。

所有菌株均携带调控基因(*lisR*、*cheY*、*virR*、*virS*、*stp*)、粘附入侵基因(*fbpA*、*dltA*、*gtcA*)、肽聚糖修饰基因(*oatA*、*pdgA*)、细胞内存活基因(*prsA2*、*svpA*、*lpeA*、*lplA1*)、表面蛋白锚定基因(*srtA*、*srtB*), 其他毒力基因(*lspA*), 90%以上的菌株携带调控基因(*agrC*)、黏附、入侵基因(*iap*、*lap*、*lapB*)、细胞内存活基因(*hpt*)、表面蛋白锚定基因(*lgt*)、胆盐耐受功能相关基因(*bsh*)、免疫调节基因(*lnt*A)、其他毒力基因(*purQ*)。

2.5　耐药基因携带情况及药物敏感性试验结果

耐药基因预测结果显示, *fosX*、*mprF*、*lin* 及 *sul* 这 8 种抗生素耐药基因在全部 12 株受试菌株中均被检出。除了 1 株未分型未携带 *norB* 抗生素耐药基因, 其余 11 株均携带 *norB* 抗生素耐药基因。所有菌株均不携带 TET 类耐药基因 *tetM*、氨基糖苷类耐药相关基因 *ant*(*6*)-*Ia*, *aacA4*、氯霉素耐药相关基因 *cat_CHL*、ERY 类耐药基因 *ermB*。

采用肉汤稀释法测定 8 种抗生素对 12 株单增李斯特菌的 MIC, 见表 9。除 TET 外, 其余药物 MIC50 均较低(≤4 μg/mL), *β*-内酰胺类(AMP、PEN)及 VAN MIC90 较

表 9　12 株单增李斯特菌抵抗 8 种抗生素的药敏结果

Table 9　Susceptibility profiles of 12 *Listeria monocytogenes* strains against 8 kinds of antibiotics

抗生素种类		MIC/(μg/mL)		
		MIC 范围	MIC50	MIC90
β-内酰胺类	AMP	0.250~0.500	0.500	0.500
β-内酰胺类	PEN	0.500~1.000	1.000	1.000
四环素类	TET	1.000~16.000	8.000	16.000
碳青霉素类	MEM	0.125~2.000	0.250	2.000
磺胺类	SMZ	0.015/0.300~0.030/0.600	0.015/0.300	0.030/0.600
大环内酯类	ERY	0.500~4.000	4.000	4.000
糖肽类	VAN	1.000~2.000	1.000	2.000
喹诺酮类	CIP	0.500~1.000	0.500	1.000

低(0.5~2.0 μg/mL), CIP 与 MEM MIC90 也仅为 1 μg/mL 和 2 μg/mL。ERY MIC50/MIC90 均为 4 μg/mL。TET 耐药突出, MIC 范围 1~16 μg/mL, MIC50 和 MIC90 分别达 8 μg/mL 和 16 μg/mL。复方新诺明高度敏感, MIC90 仅 0.03/0.6 μg/mL。显示单增李斯特菌对 ERY 的耐药率最高(10, 83.33%), 其次是 MEM (4, 33.33%)。未出现对 AMP、PEN 和 SMZ 耐药的菌株。见表 10。

对 2 种抗菌药物耐药的菌株有 4 株, 分离于人工菌中的 2 株菌(SD011、LL169)、生鲜肉中的 2 株菌(TC121、TC143)耐药谱均为 MEM-ERY。见表 10。

表 10 单增李斯特菌总体耐药情况

Table 10 Overall drug resistance of *Listeria monocytogenes*

菌株编号	ERY	MEM	AMP、PEN、SMZ	耐药谱
SD011	R	R	S	MEM-ERY
LY051	S	S	S	-
LY048	R	S	S	ERY
LY052	S	S	S	-
TC121	R	R	S	MEM-ERY
TC143	R	R	S	MEM-ERY
CN193	R	S	S	ERY
LL167	R	S	S	ERY
TC132	R	S	S	ERY
LL169	R	R	S	MEM-ERY
CN064	R	S	S	ERY
TC114	R	S	S	ERY

注: -代表无耐药谱。

3 讨论与结论

单增李斯特菌引发的李斯特菌病, 是一种以低发病率、高死亡率及长潜伏期为特征的食源性疾病, 现已被视为全球一项严峻的公共卫生挑战。本次调查发现, 229 份食品中单增李斯特菌检出率为 5.24%, 与本团队的研究结果云南省食品中单增李斯特菌检出率 5.24%一致, 低于河南省某市 2018—2022 年食品中单增李斯特菌检出率 9.3%[11], 高于湖南省食品中单增李斯特菌检出率 2.47%[12]。LI 等[13]研究发现, 2008—2016 年中国 28 个省份食品中单增李斯特菌平均检出率为 4.42%, 也低于本研究。另外, 检测结果显示保山市食品中单增李斯特菌的污染主要流行在水产品、昆虫、人工菌、生鲜肉 3 类食品中, 检出率最高的是水产品、昆虫(9.09%), 高于云南淡水鱼中单增李斯特氏检出率菌 1.82%[14], 其次是人工菌(5.77%), 低于贵州省新鲜食用菌中单增李斯特菌检出率 9.62%[15], 较高的还有生鲜肉(5.43%), 低于河南省某市的生鲜肉类检出率 28%[11]。综上所述, 保山市食品中单增李斯特菌的污染状况需引起关注, 尤其值得注意的是, 水产品、昆虫、人工菌及生鲜肉被鉴定为本地单增李斯特菌污染的高风险食品, 应作为未来监测与防控工作的重点。

对食品中的单增李斯特菌开展血清分型分析, 可为初步判断其与食品来源及相关健康风险的关联提供参考。本研究分离的菌株主要归属于谱系I和II, 其中谱系II在食品中较为常见, 广泛存在于自然环境和农场中, 也是动物和散发性人类病例中的主要分离株; 而谱系I则与多数人类李斯特菌病暴发相关, 具有更强的致病性[16]。血清型包括 1/2b-3b-7、4b-4d-4e 和 1/2a-3a, 该分布情况与国内其他地区的已有研究结果基本一致[17]。大多数临床病例是由 1/2a、1/2b 和 4b 这 3 种血清型的单增李斯特菌引起的[13,18]。本研究中单增李斯特菌的血清群是散发性病例中常见的血清型, 还分离到常引起人类李斯特菌病暴发的 4b 血清型的菌株。由此, 本研究中分离的单增李斯特菌具有引起人类李斯特菌病的潜在风险。另外, 血清型 1/2b-3b-7 常见于病人来源的菌株, 其基因多态性与重组水平均相对较低。本研究中, 该血清型在生鲜肉样本中占比超过 1/2a-3a, 成为优势血清型, 这一分布特点与常见情况有所不同。因此, 后续需进一步分析生鲜肉中单增李斯特菌血清型构成变化的主要原因。

本研究在保山市食品样本中共鉴定出 6 种单增李斯特菌的 ST 型, 其中 ST8(属于 CC8 复合群)占比最高(25%), 为当地优势型别。该结果与我国其他地区已报道的主要流行型别一致[16,19]。此外, 值得注意的是, 本研究还分离到 2 株 ST87 菌株, ST87 被认为是我国临床李斯特菌病的主要克隆[20]。

单增李斯特菌的毒力潜能主要由其携带的毒力基因决定。本研究从保山市食品中分离的所有单增李斯特菌均检出完整存在的 *LIPI-1*, 这与其毒力基因相对保守的特点相符。该毒力岛包含 6 个核心毒力基因, 其在细胞内存活与致病过程中发挥关键作用, 其中 *hly*、*plcA*、*plcB* 及 *mpl* 参与吞噬体逃逸过程, *act* 基因调控细菌运动及细胞间扩散, 而 *prfA* 作为全局调控因子, 协调毒力基因的表达, 基因缺失其毒力会降低[21–23]。然而本研究中所有菌株均有 *prfA* 基因, 表明本地菌株普遍具有潜在的致病风险。因此, 需加强对当地食品中单增李斯特菌的监测与管理, 以预防因高毒力菌株污染可能引发的严重食源性疾病乃至死亡事件。

单增李斯特菌普遍对多数抗生素敏感, 其中 PEN 和 AMP 是治疗李斯特菌病的一线药物, 而 SMZ、ERY 和 VAN 则常作为二线选择, 尤其适用于对 PEN 过敏的患者。本研究结果显示, 所有受试菌株均对 AMP、PEN 和 SMZ 敏感, 但 83.33%的菌株对 ERY 表现出了不同程度的耐药性, 33.33%的分离株对 MEM 有不同程度的耐药, 双重耐药的菌株有 3 株, 耐药谱为 MEM-ERY, 尽管整体耐药现象尚不突出, 但出现了双重耐药型菌株, 且已有文献指出单增李斯特菌对抗生素的敏感性正逐年下降[24–25], 这共同提示保山地区食品中的该菌存在潜在风险。此外, 所有菌株均携带 *fosX*、*mprF*、*lin*、*sul* 基因, 与已有报道一致[26–29]。但药敏验证结果发现其出现大量耐药基因但表型不耐药的现象, 也发现部分耐药表型的菌株中未检测到相应的耐药基因。本研究中的单增李斯特菌的耐药基因与耐药表型无相

关性, 原因可能与耐药表型检测的灵敏度、耐药基因的表达量或复杂的耐药机制有关, 包括由质粒和转座子等移动遗传元件介导的耐药基因转移、药物靶标的改变、外排泵、灭活酶的产生以及生物膜的形成等[30], 以及是否存在其他耐药机制, 需进一步深入研究。另外, 本研究中参照 CLSI 推荐的单增李斯特菌药敏标准(M45-A3), TET、VAN 及 CIP 没有耐药敏感性折点标准, 无法判断其耐药性, 但若多数菌株的抗生素 MIC 值较低, 则较高 MIC 值的菌株可能为耐药菌株。如本研究中有 7 株单增李斯特菌抗 TET 的 MIC>8 μg/mL; 有 4 株单增李斯特菌抗 VAN 的 MIC>2 μg/mL。另外, 所有单增李斯特菌抗 CIP 的 MIC 为 0.5 μg/mL 及 1 μg/mL, 提示 MIC 值偏大的菌株很可能有耐药倾向, 需引起重视。还应长期监测其 MIC、MIC50 及 MIC90 的变化, 这对研究耐药趋势及指导临床用药有重要意义。

本研究发现保山地区菌株血清型呈现 1/2a-3a、1/2b-3b-7 及 4b-4d-4e 多型并存的格局, 其形成可能与保山地区特色产业链的选择压力密切相关。一方面, 当地养殖业普遍预防性使用 TET 类及大环内酯类抗生素, 不仅可能直接筛选并富集了适应性更强的动物源血清型 1/2a-3a, 也可能通过共选择机制驱动了相关耐药特征的传播, 进而解释了 ERY 耐药表型的普遍性。另一方面, 人工菌产业特有的高湿、富营养环境, 为李斯特菌提供了形成生物膜、增强环境持久性的理想生态位, 可能进一步筛选出 1/2b、4b 等谱系I菌株中环境适应性更强的克隆。综上, 保山地区养殖业的抗生素使用模式与人工菌产业的特殊微环境, 共同构成了驱动本地菌株种群进化与耐药性发展的关键生态动力, 塑造了具有地域特征的血清型分布与耐药谱。

综上, 本研究系统揭示了保山市食品中单增李斯特菌的污染现状与风险特征, 包括主要污染食品种类、优势血清型(1/2a-3a、1/2b-3b-7、4b-4d-4e)、分子特征、毒力基因携带情况及耐药趋势, 为后续监测与研究提供了依据。结果显示, 水产品与人工菌的污染率较高, 属于高风险食品, 建议食用前充分加热, 高危人群需谨慎食用。所有分离株均携带毒力基因且存在双重耐药现象, 提示其具有潜在致病风险。因此, 有必要加强对相关食品的持续监测, 并进一步探究其致病机制, 以降低该菌对公众健康构成的威胁。然而, 作为一项区域性、探索性研究, 本研究存在样本量有限的客观不足, 这可能导致对部分稀有型别或耐药特征的检出能力受限, 分析结果的普适性有待进一步验证。未来研究应着力于扩大采样覆盖面、增加分离株数量, 并整合临床菌株进行比对分析, 以期更全面地评估其公共卫生风险, 为制定精准的干预措施提供依据。

参考文献

[1] 何源, 邓辉, 王文斟, 等. 2020—2022 年重庆市食源性单核细胞增生李斯特菌流行状况及耐药研究[J]. 现代预防医学, 2023, 50(24): 4532–4536.
HE Y, DENG H, WANG WZ, *et al*. Prevalence and antimicrobial resistance of foodborne *Listeria monocytogenes* in Chongqing from 2020 to 2022 [J]. Modern Preventive Medicine, 2023, 50(24): 4532–4536.

[2] 张俊君, 王莹莹, 杨囡, 等. 2010—2019 年咸阳市食品及芝麻酱加工环节中单增李斯特菌污染状况及其分子流行病学特征分析[J]. 中国人兽共患病学报, 2023, 39(10): 957–965.
ZHANG JJ, WANG YY, YANG N, *et al*. Contamination status and molecular epidemiological characteristics of *Listeria monocytogenes* in foods and processing environments of sesame paste in Xianyang from 2010 to 2019 [J]. Chinese Journal of Zoonoses, 2023, 39(10): 957–965.

[3] MATLE I, MBATHA KR, MADOROBA E. A review of *Listeria monocytogenes* from meat and meat products: Epidemiology, virulence fac-tors, antimicrobial resistance and diagnosis [J]. Onderstepoort Journal of Veterinary Research, 2020, 87(1): e1–e20.

[4] TCHOUMI SY, CHUKWU CW. A multi-population approach to epidemiological modeling of *Listeriosis transmission* dynamics incorporating food and environmental contamination [J]. Healthcare Analytics, 2024, 5: 100344.

[5] TRICOLI RM, MASSARO C, ARRIGO I, *et al*. Characterization of *Listeria monocytogenes* strains isolated in palermo (Sicily and Italy) during the years 2018–2020 from severe cases of *Listeriosis* [J]. Antibiotics, 2024, 13(1): 57.

[6] NAGHIZADEH MH, LIDA L, SABER Y, *et al*. Analysis of virulence genes and molecular typing of *Listeria monocytogenes* isolates from human, food, and livestock from 2008 to 2016 in Iran [J]. Tropical Animal Health and Production, 2021, 53(1): 127–127.

[7] World Health Organization. *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat (RTE) foods: Attribution, characterization and monitoring: Meeting report [Z]. [2024-09-19]. https: //www.who.int/publications/i/item/9789240034969

[8] WEIWEI L, LI B, PING F, *et al*. The epidemiology of *Listeria monocytogenes* in China [J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2018, 15(8): 459–466.

[9] 汪忆梦, 于明明, 刘德辉, 等. 2020—2023 年潍坊市畜禽肉和临床样本中单增李斯特菌的遗传多样性、毒力因子和抗生素耐药性研究[J]. 中国人兽共患病学报, 2025, 41(6): 629–635.
WANG YM, YU MM, LIU DH, *et al*. Genetic diversity, virulence factors and antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* in meat and clinical samples in Weifang City from 2020 to 2023 [J]. Chinese Journal of Zoonoses, 2025, 41(6): 629–635.

[10] 刘洋, 周厚德, 游兴勇, 等. 2016—2020 年江西省市售熟肉制品中单增李斯特菌污染情况调查及耐药研究[J]. 现代预防医学, 2022, 49(2): 236–240.
LIU Y, ZHOU HD, YOU XY, *et al*. Contamination status and antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat meat products in Jiangxi Province from 2016 to 2020 [J]. Modern Preventive Medicine, 2022, 49(2): 236–240.

[11] 郭辽朴, 黄道靖, 赵桂让, 等. 2018—2022 年河南省某市食品中单核细胞增生李斯特菌污染状况调查[J]. 现代疾病预防控制, 2024, 35(6): 484–486.
GUO LP, HUANG DJ, ZHAO GR, *et al*. Investigation on contamination status of *Listeria monocytogenes* in foods in a city of Henan Province

from 2018 to 2022 [J]. Modern Diseases Control and Prevention, 2024, 35(6): 484–486.

[12] 郑美惠, 贾华云, 赖天兵, 等. 2014—2021 年湖南省市售食品中单核细胞增生李斯特菌污染监测分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2023, 35(11): 1593–1599.
ZHENG MH, JIA HY, LAI TB, *et al*. Surveillance and analysis of *Listeria monocytogenes* contamination in commercial foods in Hunan Province from 2014 to 2021 [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2023, 35(11): 1593–1599.

[13] LI W, BAI L, FU P, *et al*. The Epidemiology of *Listeria monocytogenes* in China [J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2018, 15(8): 459–466.

[14] 柴云美, 王高, 王淼, 等. 云南淡水鱼中单增李斯特氏菌污染状况及耐药性分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(4): 1468–1474.
CHAI YM, WANG G, WANG M, *et al*. Contamination status and antimicrobial resistance analysis of *Listeria monocytogenes* in freshwater fish in Yunnan Province [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(4): 1468–1474.

[15] 张黎黎, 王娅芳, 李磊, 等. 2022—2024 年贵州省市售新鲜食用菌中单增李斯特菌的污染情况分析[J]. 中外食品工业, 2025(2): 16–18.
ZHANG LL, WANG YF, LI L, *et al*. Analysis of contamination status of *Listeria monocytogenes* in commercial fresh edible fungi in Guizhou Province from 2022 to 2024 [J]. Chinese and Foreign Food Industry, 2025(2): 16–18.

[16] 周继福,王娉,郭佳,等.单核细胞增生李斯特菌进化家系的研究进展[J]. 食品科学,2021,42(21):263–270.
ZHOU JF, WANG P, GUO J, et al. Research progress on evolutionary lineages of Listeria monocytogenes [J]. Food Science, 2021, 42(21): 263–270.

[17] 曾献莹, 吕素玲, 谭冬梅, 等. 2011—2020 年广西即食食品中单增李斯特菌耐药性、毒力和分子特征研究[J]. 现代预防医学, 2024, 51(22): 4080–4085.
ZENG XY, LV SL, TAN DM, *et al*. Study on antimicrobial resistance, virulence and molecular characteristics of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods in Guangxi from 2011 to 2020 [J]. Modern Preventive Medicine, 2024, 51(22): 4080–4085.

[18] WANG Y, ZHAO A, ZHU R, *et al*. Genetic diversity and molecular typing of *Listeria monocytogenes* in China [J]. BMC Microbiology, 2012, 12: 119.

[19] 张璟, 兰光, 申艳琴, 等. 甘肃省食源性单核细胞增生李斯特菌耐药性和基因组特征研究[J]. 中国抗生素杂志, 2024, 49(6): 705–713.
ZHANG J, LAN G, SHEN YQ, *et al*. Study on antimicrobial resistance and genomic characteristics of foodborne *Listeria monocytogenes* in Gansu Province [J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2024, 49(6): 705–713.

[20] YIN Y, DOIJAD S, WANG W, *et al*. Genetic diversity of *Listeria monocytogenes* isolates from invasive listeriosis in China [J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2020, 17(3): 215–227.

[21] VAZQUEZ BJA, KUHN M, BERCHE P, *et al*. *Listeria pathogenesis* and molecular virulence determinants [J]. Clinical Microbiology Reviews, 2001, 14(3): 584–640.

[22] RODOLFO-ERIK VR, MARIA-DEL-RRSARIO EM, IRVING-JESUS SJ, *et al*. Association of *Listeria monocytogenes* LIPI-1 and LIPI-3 marker llsX with invasiveness [J]. Current Microbiology, 2019, 76(5): 637–643.

[23] PATANGE A, O'BYRNE C, BOEHM D, *et al*. The effect of atmospheric cold plasma on bacterial stress responses and virulence using *Listeria monocytogenes* knockout mutants [J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 2841.

[24] 王小龙, 汤全英, 邹文燕, 等. 苏州市食源性单核细胞增生李斯特菌的全基因组测序分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(8): 255–261.
WANG XL, TANG QY, ZOU WY, *et al*. Whole genome sequencing analysis of foodborne *Listeria monocytogenes* in Suzhou City [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2023, 14(8): 255–261.

[25] ROSSI F, AMADORO C, CONFICONI D, *et al*. Occurrence, diversity of *Listeria* spp. isolates from food and food-contact surfaces and the presence of virulence genes [J]. Microorganism, 2020, 8(2): 294.

[26] LIN G, XIAOLONG C, YAN W, *et al*. Carriage and potential long distance transmission of *Listeria monocytogenes* by migratory black-headed gulls in Dianchi Lake, Kunming [J]. Emerging Microbes & Infections, 2019, 8(1): 1195–1204.

[27] 刘雪杰, 陈伟伟, 林共德, 等. 福建省零售新鲜食用菌分离单核细胞增生李斯特菌全基因组测序及耐药分析[J]. 中国人兽共患病学报, 2024, 40(12): 1152–1158.
LIU XJ, CHEN WW, LIN GD, *et al*. Whole genome sequencing and antimicrobial resistance analysis of *Listeria monocytogenes* isolated from retail fresh edible fungi in Fujian Province [J]. Chinese Journal of Zoonoses, 2024, 40(12): 1152–1158.

[28] 周倩, 郑联, 向婧姝, 等. 2022 年贵州省食品及病人来源单增李斯特菌的抗生素敏感性及分子特征分析[J]. 中国人兽共患病学报, 2024, 40(7): 613–619.
ZHOU Q, ZHENG L, XIANG JS, *et al*. Analysis of antibiotic susceptibility and molecular characteristics of *Listeria monocytogenes* from food and patients in Guizhou Province, 2022 [J]. Chinese Journal of Zoonoses, 2024, 40(7): 613–619.

[29] WANG Y, JI Q, LI S, *et al*. Prevalence and genetic diversity of *Listeria monocytogenes* isolated from retail pork in Wuhan, China [J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 620482.

[30] LUQUE-SASTRE L, ARROYO C, FOX EM, *et al*. Antimicrobial resistance in *Listeria* species [J]. Microbiology Spectrum, 2018, 6(4): 1.

(责任编辑: 蔡世佳 安香玉)