

# 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

曾献莹, 吕素玲, 谭冬梅, 瞿聪, 李秀桂

广西壮族自治区疾病预防控制中心, 广西南宁 530028

**摘要:**目的 分析广西即食食品中单核细胞增生李斯特菌(以下简称单增李斯特菌)的耐药性、分子特征和毒力特征,更好地了解即食食品中单增李斯特菌的遗传特点、耐药情况及其潜在的健康风险。方法 采用肉汤稀释法对 158 株即食食品中单增李斯特菌进行药敏测定,同时对其进行全基因组测序(WGS),分析其序列 ST 型、血清群、血清型、CC 型、谱系、耐药基因及毒力基因。结果 2011—2020 年广西即食食品中单增李斯特菌以 1/2a, 3a 血清型为主,优势 ST 型为 ST8/CC8 和 ST87/CC87。研究菌株均对 AMP、PEN、TET、MEM、SXT 敏感,4 株分离株耐受 CIP,2 株单增李斯特菌分别耐受 ERY 和 VAN。仅对红霉素耐药的 1 株分离株携带 *tet(M)*、*msr(D)*、*mef(A)* 耐药基因。*actA*、*inlF*、*inlK* 的携带率分别为 79.74%、48.73%、55.69%,其余毒力基因携带率为 100%。46.20%(73/158)的菌株携带 12 个毒力基因,24 株高毒力单增李斯特菌产生潜在高致病菌株。结论 广西即食食品中单增李斯特菌存在的获得性耐药基因和高毒力基因对公众健康构成严重风险,应该对即食食品加工和服务环境采取有效的食品安全措施。

**关键词:**单增李斯特菌;全基因组测序;抗生素耐药性;毒力基因

中图分类号:R155.5 文献标志码:A 文章编号:1003-8507(2024)22-4080-06

DOI:10.20043/j.cnki.MPM.202404454

## Antimicrobial resistance, virulence profile, and molecular characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from ready-to-eat food, Guangxi, 2011–2020

ZENG Xian-ying, LV Su-ling, TAN Dong-mei, QU Cong, LI Xiu-gui

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

**Abstract: Objective** To comprehensively analyze the occurrence, virulence characteristics, and molecular typing of *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) isolated from ready-to-eat (RTE) food in Guangxi. By investigating the genetic attributes, antibiotic resistance and potential health risks of *L. monocytogenes*, this research contributes to our understanding of this pathogen. **Methods** We analyzed 158 isolates of *L. monocytogenes* from RTE foods collected in Guangxi between 2011 and 2020. Whole genome sequencing (WGS) was performed on all isolates and antimicrobial resistance were determined by broth microdilution. The study included the determination of sequence types (STs), serotype, serogroup, lineage, clonal complexes (CC), acquired resistance genes and the presence of *L. monocytogenes* pathogenicity islands (LIPIs). **Results** Ready-to-eat meats had the highest detection rate of *L. monocytogenes* among RTE foods in Guangxi. The predominant serotypes were 1/2a, 3a. ST8/CC8 and ST87/CC87 were the dominant sequence types (STs) in RTE foods. All isolates were found to be susceptible to ampicillin (AMP), penicillin (PEN), tetracycline (TET), meropenem (MEM), and trimethoprim-sulfamethoxazole (SXT). Four isolates were resistant to ciprofloxacin. Two isolates were resistant to erythromycin and vancomycin respectively. Acquired antimicrobial phenotypes were *tet(M)*, *msr(D)* and *mef(A)* of an isolate resistant to erythromycin. Most of the isolates carried *actA* (79.74%), *inlF* (48.73%), *inlK* (55.69%) and all isolates carried other virulence genes. 46.20% (73/158) of the isolates harboured 12 virulence genes. It can be a potential public health risk due to its high harboring rate of 17 or 18 virulence genes. **Conclusion** Ready-to-eat meats had the highest detection rate of *L. monocytogenes* among RTE foods in Guangxi. Acquired resistance genes and hypervirulence genes existed in this bacterium from RTE foods origins, and can be a major risk for consumers and public health. It was suggested that effective food safety measures should be implemented in RTE foods processing and service environments.

**Keywords:** *Listeria monocytogenes*; Whole genome sequencing (WGS); Antibiotic resistance; Virulence genes

基金项目:广西自然科学基金项目(2018GXNSFAA050039)

作者简介:曾献莹(1989—),女,硕士,副主任技师,研究方向:食源性致病菌相关研究

通信作者:吕素玲, E-mail: 38662631@qq.com

由于具有高死亡率,侵袭性李斯特氏菌病是最严重的食源性疾病之一<sup>[1]</sup>。单核细胞增生李斯特氏菌(简称单增李斯特菌)是导致侵袭性李斯特氏菌病的重要原因。侵袭性李斯特菌病的高危人群是孕妇,婴儿,老年人或免疫功能低下人群,会出现败血症、脑膜炎、早产、流产和死胎等症状<sup>[2]</sup>。全球范围内李斯特菌病死亡率高达 20% 至 40%<sup>[3]</sup>。目前,至少已鉴定出 13 种单增李斯特菌血清型(1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4b, 4c, 4e, 7)和四个遗传多样性谱系(I-IV),谱系 I 和 II 是引起人类疾病的主要谱系<sup>[4-6]</sup>。血清型 1/2a、1/2b、1/2c 和 4b 是中国食品来源单增李斯特菌优势血清型<sup>[7]</sup>。

随着抗生素的广泛使用,食品中的单增李斯特菌也出现多重耐药的情况<sup>[8]</sup>。另外,通过基因水平转移或突变获得耐药基因使单增李斯特菌获得耐药性<sup>[9]</sup>。这些耐药菌株可能通过食物链的形式传播给人类,因此监测单增李斯特菌的耐药性及耐药基因是十分必要的。

即食食品(Ready-to-eat, RTE)被认为是感染李斯特菌病的主要来源。即食食品是不经处理(清洗或烹煮)进行食用且长时间存放在冰箱或冷藏温度条件下的食品。由于单增李斯特菌能够形成生物膜,在冷藏温度(2℃-4℃)下生长并能耐受高浓度的 NaCl<sup>[7]</sup>,因此单增李斯特菌易于在即食食品中生长。而即食食品种类繁多,目前没有相关报道广西即食食品中单增李斯特菌的污染情况。

全基因组测序(whole genome sequencing, WGS)是深入分析细菌分离株的有力工具。本研究对广西即食食品中单增李斯特菌进行全基因组测序,分析其分子特征、耐药基因和毒力基因,揭示其耐药特点和分子遗传多样性,了解广西即食食品中单增李斯特菌的污染情况,确定潜在的高风险即食食品种类,为其风险防控提供参考数据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 菌株来源** 158 株即食食品来源单增李斯特菌来自 2011—2020 年广西壮族自治区各县市疾控中心分离上报,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。根据样品类别特性,158 株单增李斯特菌分属 8 种即食食品种类:熟肉制品来源 70 株、中式凉拌菜来源 22 株、焙烤及油炸类食品来源 27 株、寿司来源 12 株、冷冻饮品来源 11 株、水产品来源 9 株、混合食品来源 5 株和蔬菜沙拉来源 2 株。

药敏试验质控菌株为金黄色葡萄球菌 ATCC29213 (*Staphylococcus aureus*) 和肺炎链球菌

ATCC49619 (*Streptococcus pneumoniae*)。

**1.1.2 主要试剂和仪器** 脑心浸液肉汤(BHI)、脑心浸液琼脂(BHA)、DNA 提取试剂盒(Qiagen, 德国)、李斯特菌定制药敏检测板(上海星佰生物技术有限公司),均在有效期内使用。Qubit Fluorometer 2.0 (Invitrogen, 美国)、Hiseq X Ten (Illumina, 美国)、小型高速离心机(Eppendorf, 德国)、恒温培养箱(3M, 美国)。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 药敏实验** 按照药敏试剂盒使用说明,采用微量肉汤法定量测定抗生素 MIC,包含七类 8 种抗生素:青霉素类:氨苄西林(Ampicillin, AMP)、青霉素(Penicillin, PEN);大环内酯类:红霉素(Erythromycin, ERY);四环素类:四环素(Tetracycline, TET);碳青霉烯类:美罗培南(Meropenem, MEM);氟喹诺酮类:环丙沙星(Ciprofloxazole, CIP);复方磺胺类:复方新诺明(Trimethoprim/Sulfamethoxazole, SXT);氨基糖苷类:万古霉素(Vancomycin, VAN)。按照 CLSI 和 EUCAST 标准判读结果并确定耐药表型<sup>[10-11]</sup>。

**1.2.2 全基因组测序** 选取 BHA 上的单菌落接种 BHI 过夜培养,使用全基因组 DNA 提取试剂盒对待测菌株进行 DNA 提取,质控检测合格的 DNA 经超声波破碎仪打断成长度约为 350 bp 的片段,经末端修复,加 A 尾碱基,将测序接头连接到 DNA 片段,纯化、PCR 扩增后完成整个文库的制备。文库构建完成后,使用 Illumina 公司的 Hiseq X Ten 测序平台应用 PE150 上机试剂盒进行测序,测序数据质量要求为:基因组覆盖度 $\geq 95\%$ ,基因区覆盖度 $\geq 98\%$ ,整体覆盖深度 $\geq 100\times$ ,碱基数据质量值 $Q_{30}\geq 85\%$ 。将低质量 reads 过滤后,将 raw data 导入国家食源性分子溯源网络(TraNet)进行组装和分析。是基于 BioNumerics 7.6 (BN) 软件建立的,分析后的测序数据将下载至该软件数据库里。

**1.2.3 谱系、血清和 MLST 分析** 根据 WGS 的结果进行试验菌株的序列分型(Sequence typing, ST)、血清和谱系分析。组装和拼接好的 denovo 数据从 BioNumerics 7.6 软件数据库里导出,利用 TraNet 数据交付平台中的 MLST 分型模块、李斯特菌模块进行分析,即可获得待测菌株的血清群和 ST 型。多位点序列分析中 7 个等位基因中仅 1 个位点不同定义为同一克隆复合体(Clonal complex, CC)。依据巴斯德网站上公布的 ST-CC-Lineage 表确定谱系。

**1.2.4 毒力基因和耐药基因的分析** 使用抗性基因数据库 CARD 和 BN 7.6 软件查找待测菌株所携带的耐药基因。毒力基因分布主要通过毒力基因数据库 VFDB 和 BIGSdb-Lm 数据库获得,选择毒力基因包

括 LIPI - 1 (*prfA*, *hly*, *plcB*, *plcA*, *mpl*, *actA*)、LIPI - 2 (*inlA*, *inlB*, *inlF*, *inlK*, *inlC*, *inlJ*) 和 LIPI - 3 (*llsA*, *llsD*, *llsP*, *llsH*, *llsY*, *llsB*, *llsX*, *llsG*), 比对设定核苷酸最小一致性为 80%。

**1.2.5 统计学分析** 熟肉制品与非熟肉制品血清型数据差异运用 SPSS Statistics 25.0 统计软件进行分析, 使用卡方检验, 检验水准  $\alpha = 0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 2011—2020 年广西即食食品中单增李斯特菌血

表 1 2011—2020 年广西即食食品中单增李斯特菌血清型分布情况

Table 1 Distribution of serotypes of *L. monocytogenes* isolates from RTE foods in Guangxi 2011 - 2020

血清型	熟肉制品	烘烤及油炸类食品	中式凉拌菜	寿司	冷冻饮品	水产品	混合食品	蔬菜及沙拉	总计
1/2a,3a	25	12	8	11	7	2	1	1	67
1/2b,3b,7	27	5	8	1	2	5	2	1	51
4b,4d,4e	9	6	3	0	2	0	2	0	22
1/2c,3c	9	4	3	0	0	2	0	0	18
总计	70	27	22	12	11	9	5	2	158

158 株单增李斯特菌中 73 株 (46.20%) 分布于谱系 I 和 85 株 (53.79%) 分布于谱系 II。4 个血清群分布在两个谱系之间, II b (32.28%) 和 IV b (13.92%) 属于谱系 I, II a (42.41%) 和 II c (11.39%) 属于谱系 II (图 1)。

清型和 ST 分型分布特点 所有分离株分为 4 个不同的血清型 1/2a, 3a, 1/2b, 3b, 7, 1/2c, 3c, 4b, 4d, 4e (表 1)。主要血清型为 1/2a, 3a (67, 42.41%), 其次为 1/2b, 3b, 7 (51, 32.28%), 4b, 4d, 4e (22, 13.92%) 和 1/2c, 3c (18, 11.39%)。熟肉制品中检出的优势血清型为 1/2b, 3b, 7, 占比 38.57% (27/70), 熟肉制品与非熟肉制品血清型分布无统计学意义 ( $\chi^2 = 3.208, P = 0.361 > 0.05$ )。

(9.49%)、ST9/CC9 (7.59%) 和 ST101/CC101 (6.33%)。

表 2 即食食品中单增李斯特菌 ST 型分布情况 (前 10)

Table 2 Distribution of ST of *L. monocytogenes* isolates from RTE foods (Top 10)

STs	CC	谱系	血清型	菌株数/(%)
ST8	CC8	II	1/2a,3a	37(23.42)
ST87	CC87	I	1/2b,3b,7	23(14.56)
ST145	CC2	I	4b,4d,4e	15(9.49)
ST9	CC9	II	1/2c,3c	12(7.59)
ST101	CC101	II	1/2a,3a	10(6.33)
ST3	CC3	I	1/2b,3b,7	9(5.70)
ST121	CC121	II	1/2a,3a	8(5.06)
ST122	CC122	II	1/2c,3c	6(3.80)
ST31	CC31	II	1/2a,3a	4(2.53)
ST5	CC5	I	1/2b,3b,7	4(2.53)
ST330	CC288	I	1/2b,3b,7	4(2.53)
ST1	CC1	I	4b,4d,4e	4(2.53)

### 2.2 2011—2020 年广西即食食品中单增李斯特菌抗

生素耐药特点 158 株单增李斯特菌 8 种不同类别抗生素的最小抑菌浓度 MIC 分布值 (其中 50% (MIC<sub>50</sub>) 或 90% (MIC<sub>90</sub>) 的生长受到抑制) 见表 3。158 株单增李斯特菌对 AMP、PEN、TET、MEM、SXT 敏感, 2.53% 分离株对 CIP 有耐药性, 0.63% 分离株分别对 ERY、VAN 有耐药性。如表 4 所示, 6 株分离株 (158 株测试菌株的 3.8%) 具有耐药性: 1 株对 ERY、1 株对 VAN、4 株对 CIP。

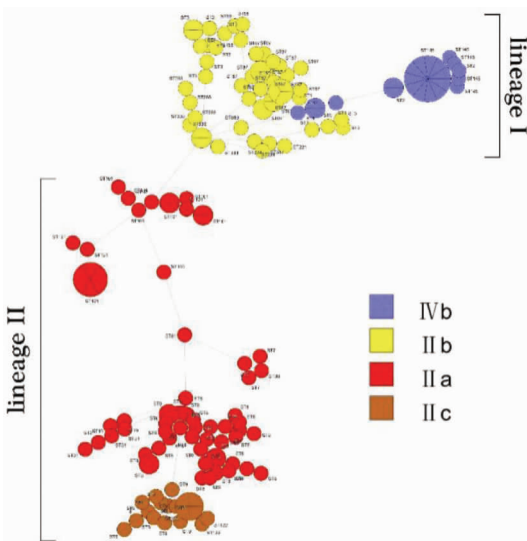


图 1 广西即食食品单增李斯特菌 23 个 STs 最小生成树

Fig. 1 The minimum spanning tree of the 23 ST's from *Listeria monocytogenes* in Guangxi

158 株单增李斯特菌分为 23 个不同的 ST 型, 进一步分析为 18 个 CC 型和 1 个单体 (表 2, 图 2)。ST8/CC8 占比 23.42%, 是本研究的优势 ST 型。其他 ST 型分别是 ST87/CC87 (14.56%)、ST145/CC2

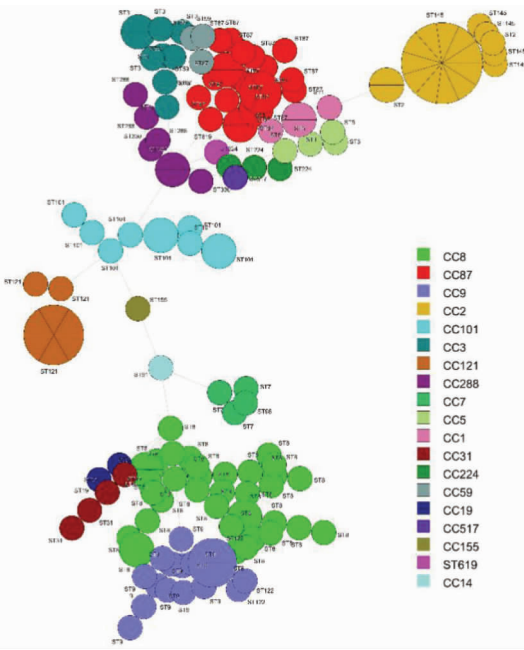


图 2 广西 158 株单增李斯特菌 CC 型和 ST 型的最小生成树  
Fig. 3 The minimum spanning tree of the STs and CC from 158 *Listeria monocytogenes* in Guangxi

增李斯特菌均携带 *FosX*、*lin*、*mprF* 基因, 42 株 (26.58%) 携带 *norB* 基因, 所有菌株均未携带 *blaA* 基因 (图 3)。对 ERY 耐药的 1 株单增李斯特菌携带在 *tet(M)*、*msr(D)*、*mef(A)* 等耐药基因。5 株对 VAN 和 CIP 耐药的分离株未携带其他耐药基因。

**2.3 2011—2020 年广西即食食品中单增李斯特菌毒力基因分布特点** 158 株单增李斯特菌对 LIPI 1 中的 *prfA*、*hly*、*plcB*、*plcA*、*mpl* 基因的携带率是 100%, *actA* 基因携带率 79.74% (126/158)。LIPI 2 中毒力基因 *inlA*、*inlB*、*inlC* 和 *inlJ* 的携带率均为 100%, 毒力基因 *inlF*、*inlK* 的携带率分别为 48.73%、55.69%。24 株 (15.18%) 分离株携带 LIPI 3 的 8 个毒力基因。携带 9 种、10 种、11 种、12 种、17 种、18 种毒力基因的分离株比例为 2.53% (4/158)、33.54% (53/158)、2.53% (4/158)、46.20% (73/158)、8.23% (13/158)、6.96% (11/158)。46.20% 的菌株携带 12 个毒力基因, 血清型主要分布在 1/2a, 3a (55) 和 1/2c, 3c (18), 主要来源于熟肉制品、焙烤及油炸类食品 and 中式凉拌菜。高毒力菌株为携带 17 或 18 个毒力基因的菌株, 以缺失 *actA* 或 (和) *inlF*、*inlK* 为主要特征, 血清型以 1/2b, 3b, 7 为主, 分布在熟肉制品等六个样品类别。

对 158 株单增李斯特菌进行抗生素抗性基因的预测, 根据基因匹配识别度 90% 以上的原则, 所有单

表 3 158 株单增李斯特菌药敏结果

Table 3 MIC Distribution of 158 *L. monocytogenes* Isolates

抗生素	最小抑菌浓度 MIC/( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 菌株数量													$\mu\text{g}/\text{mL}$		耐药率 (%)
	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.06	0.03	0.015	0.007	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>	
AMP	■	■	■	■		6	53	97	2					0.250	0.500	0.00
PEN	■	■	■	■	16	51	80	10	1					0.500	1.000	0.00
TET	■	■	■	■	30	98	26	4						1.000	2.000	0.00
MEM			■	■	■	■	■	4	118	36				0.125	0.125	0.00
SXT			■	■	■	■		4	12	20	96	26	0.015	0.030	0.00	
ERY	■	■	1				3	21	129	4			0.125	0.250	0.63	
VAN	■	■	1		20	134	3						1.000	2.000	0.63	
CIP	■	■	2	2	1	111	31	1					1.000	1.000	2.53	

注: 表中深灰色区域为该抗生素耐药范围; 浅灰色区域为该抗生素中介范围; 无色区域为该抗生素敏感范围。

表 4 158 株广西即食食品中单增李斯特菌获得耐药性菌株情况

Table 4 Acquired resistance among 158 isolates of Guangxi RTE food *L. monocytogenes*

菌株	血清型	年度	来源	最小抑菌浓度 MIC/( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )			获得性耐药基因
				ERY	VAN	CIP	
DZ2017080	1/2b, 3b, 7	2017	中式凉拌菜	8			<i>tet(M)</i> 、 <i>msr(D)</i> 、 <i>mef(A)</i>
DZ2016028	1/2a, 3a	2016	冷冻饮品		8		/
DZ2016014	4b, 4d, 4e	2016	混合食品 (盒饭)			4	/
DZ2016026	1/2b, 3b, 7	2016	水产品			4	/
DZ2018030	1/2a, 3a	2018	寿司			8	/
DZ2018031	1/2a, 3a	2018	寿司			8	/

注: “/”表示没有检测到任何耐花基因。

### 3 讨论

李斯特菌病是一种主要通过即食食品传播的高死亡率的食源性疾病。现代快节奏生活方式的改变使人们用于准备食物的时间减少,对即食食品和外卖食品的需求增加,因此通过即食食品感染单增李斯特菌的风险也增加。本研究即食食品中单增李斯特菌主要来源于熟肉制品,其次是焙烤及油炸类食品 and 中式凉拌菜,与国家监测的结果是基本一致的<sup>[12]</sup>。国家标准 GB31607-2021《散装即食食品中致病菌限量》对部分或未经热处理的散装即食食品中规定不得检出单核细胞增生李斯特菌<sup>[13]</sup>。这表明熟肉制品来源的单增李斯特菌是污染即食食品的高风险菌株。焙烤及油炸类食品经高温制作后依然存在感染单增李斯特菌的风险,有可能是制作过程中存在生熟交叉污染的可能。单增李斯特菌在低温条件下能大量繁殖,中式凉拌菜常于低温储存易于污染,因此应该对冷藏地点进行适当清洗并定期消毒,建议于低温存放的食品应加热后再食用。

对即食食品中单增李斯特菌进行血清分型,有助于初步识别其与食物类别潜在健康风险。本研究中 8 类即食食品分属于谱系 I (46.20%) 和谱系 II (53.79%), 优势血清型为 1/2a, 3a, 这与国内其他省市研究的结果一致<sup>[14-16]</sup>。21 世纪初,谱系 II 血清型 1/2a 的单增李斯特菌已经取代血清型 4b, 成为引起人李斯特菌病的主要血清型,这可能是由于这种血清型在日益流行的即食食品中频繁检出有关<sup>[17]</sup>。血清型 1/2b, 3b, 7 主要分布在病人来源菌株中,且基因多态性最低,重组水平最低。而本研究中熟肉制品中单增李斯特菌血清型 1/2b, 3b, 7 超过 1/2a, 3a 成为优势血清型,下一步我们应该进一步探究熟肉制品中血清型变化的原因。

WGS 分析显示广西即食食品中单增李斯特菌分为 23 个 ST 型, ST8/CC8 (23.42%)、ST87/CC87 (14.56%) 为优势 ST 型,与其他研究报道的我国优势型别 (ST8、ST9、ST87、ST101) 相近<sup>[8,18-20]</sup>。值得注意的是,本研究中 ST145/CC2 占比 9.49%, 谱系 I, 血清型为 4b, 4d, 4e, 该型别在国内外鲜有报道。国内有关研究在昆明滇池湖中的红嘴鸥中检出 ST145, 认为该型别可能沿着鸟类迁徙路线传播<sup>[21]</sup>。本研究中该型别分布于焙烤及油炸类食品,超过 ST9/CC9 成为广西即食食品中单增李斯特菌主要的 ST 型别,这表明以该型别为主的焙烤及油炸类食品对消费者构成潜在的健康风险,提醒我们持续监测和关注 ST145 型别的单增李斯特菌暴发情况。

单增李斯特菌对大多数抗生素敏感,治疗李斯特

菌病一线抗生素是 PEN 和 AMP。SXT, ERY, VAN 和氟喹诺酮类药物被用作治疗李斯特菌病的二线药物,特别用于青霉素过敏的患者。本研究中我们观察到所有菌株对 AMP、PEN、TET、MEM 和 SXT 敏感, 3.8% 的分离株对 ERY、VAN、CIP 有不同程度的耐药。本研究待测菌株均携带 *FosX*、*lin*、*mprF* 基因,这与文献报道的一致<sup>[21]</sup>。26.58% 的分离株携带 *norB* (编码喹诺酮类) 基因但未表现出环丙沙星的耐药性, 1 株对万古霉素, 4 株对环丙沙星耐药的测序分离株未携带其他耐药基因,这种表型和基因型的非一致性可能是因为喹诺酮类药物存在多种耐药机制以及耐药基因存在复杂的调控机制<sup>[22]</sup>。对红霉素耐药的 1 株分离株携带 *tet(M)*、*msr(D)*、*mef(A)* 等耐药基因,但未显示出四环素耐药性。该分离株来源于中式凉拌菜,血清型为 1/2b, 3b, 7, 由于即食食品即食入口,一旦感染单增李斯特菌会产生严重的疾病症状,这要求我们应定期监测单增李斯特菌的耐药情况,以便及早发现即食食品中抗生素耐药情况的变化。

单增李斯特菌毒力基因的存在可能与其致病程度有关联。本研究中有 32 株分离株缺失 *actA* 基因,其中的 13 株携带 LIPI-3 的毒力基因,血清型以 1/2b, 3b, 7 为主,以熟肉制品来源为主,均为谱系 I,这与 LIPI-3 只存在于谱系 I 的研究结论是一致的<sup>[7]</sup>。有研究表明,血清型 1/2b 的菌株不需要完整功能的 ActA 蛋白也可以引起小鼠死亡,提示可能存在其他机制使毒力因子与细胞相互作用。因此,广西即食食品中缺失 *actA* 基因的单增李斯特菌依然存在使人致病风险。所有的分离株至少携带 9 个以上的毒力基因,46.20% 的分离株携带完整的 LIPI-1 和 LIPI-2 毒力基因,这与单增李斯特菌中毒力基因相对保守有关,提示我们广西即食食品中的单增李斯特菌具有一定程度的致病性,应该加强食品安全风险监测。高毒力菌株 (含 17/18 个毒力基因) 主要是缺失 *actA* 或 (和) *inlF*、*inlK* 基因,分布于熟肉制品、焙烤及油炸食品、水产品、中式凉拌菜、蔬菜沙拉及混合食品,高毒力的单增李斯特菌所污染的即食食品可能导致人类面临严重的食源性疾病甚至死亡。

本研究旨在通过抗生素耐药测定和全基因组测序分析广西即食食品中单增李斯特菌耐药趋势、分子特征及毒力特性,以识别其潜在的致病性和耐药性。结果显示,广西即食食品中熟肉制品污染率较高,以血清型 1/2b, 3b, 7, ST87/CC87 为主,这提示熟肉制品是单增李斯特菌污染高风险食物,建议食用前充分加热,高危人群应尽量避免食用。所检测的分离株均携带毒力基因,存在潜在的致病风险,分离株耐药水平不高,少数菌株存在获得性耐药基因。因此,我们

应加强即食食品特别是熟肉制品中单增李斯特菌的监测,揭示其致病机制以助于有效预防,降低其对消费者和公共卫生健康构成重大风险。

**利益冲突声明** 本研究不存在任何利益冲突

## 参考文献

- [1] European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union one health 2022 zoonoses report [J]. EFSA Journal. European Food Safety Authority, 2023, 21(12): e8442.
- [2] World Health Organization. Listeriosis[EB/OL]. [2024-09-19]. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/listeriosis>.
- [3] Niu YL, Li WW, Xu BY, et al. Risk factors associated with food consumption and food-handling habits for sporadic listeriosis: a case-control study in China from 2013 to 2022 [J]. Emerging Microbes & Infections, 2024, 13(1): 2307520.
- [4] Tricoli MR, 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.
- [5] Heidarloo MN, Lotfollahi L, Yousefi S, et al. Analysis of virulence genes and molecular typing of Listeriamonocytogenes isolates from human, food, and livestock from 2008 to 2016 in Iran [J]. Tropical Animal Health and Production, 2021, 53(1): 127.
- [6] World Health Organization. Listeria monocytogenes in ready-to-eat (RTE) foods: Attribution, characterization and monitoring: Meeting report[EB/OL]. [2024-09-19]. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240034969>.
- [7] Li WW, Bai L, Fu P, et al. The epidemiology of listeria monocytogenes in China [J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2018, 15(8): 459-466.
- [8] Hassani S, Moosavy MH, Gharajalar SN, et al. High prevalence of antibiotic resistance in pathogenic foodborne bacteria isolated from bovine milk[J]. Scientific Reports, 2022, 12(1): 3878.
- [9] Moura A, Leclercq A, Vales G, et al. Phenotypic and genotypic antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes*: an observational study in France[J]. The Lancet Regional Health. Europe, 2024, 37: 100800.
- [10] Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria, 3rd edition[EB/OL]. [2024-09-19]. <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m45/>.
- [11] European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. EUCAST: clinical breakpoints and dosing of antibiotics[EB/OL]. [2024-09-19]. [https://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints](https://www.eucast.org/clinical_breakpoints).
- [12] 李薇薇,郭云昌,占利,等. 2017 年中国即食食品中单核细胞增生李斯特菌的分子流行病学特征 [J]. 中华预防医学杂志, 2020, 54(2): 175-180.  
Li WW, Guo YC, Zhan L, et al. Molecular epidemiology of *Listeria monocytogenes* isolated from ready-to-eat food in 2017 in China [J]. Chinese Journal of Preventive Medicine, 2020, 54(2): 175-180. (In Chinese)
- [13] 国家市场监督管理总局, 国家卫生健康委员会. GB 31607-2021 食品安全国家标准 散装即食食品中致病菌限量[S]. 北京: 中国标准出版社, 2021.  
The State Administration for Market Regulation, the National Health Commission. GB 31607-2021 National standards for food safety - Pathogenic bacteria limit in bulk ready-to-eat food[S]. Beijing: Standards Press of China, 2021. (In Chinese)
- [14] 汪忆梦,张凤娟,于明明,等. 2022 年潍坊市肉与肉制品中单增李斯特菌污染状况分析[J]. 食品安全导刊, 2023, (32): 13-15, 19.  
Wang YM, Zhang FJ, Yu MM, et al. Analysis on contamination of *Listeria monocytogenes* in meat and meat products sold in Weifang in 2022[J]. China Food Safety Magazine, 2023, (32): 13-15, 19. (In Chinese)
- [15] 林慧琳,叶玲清,叶海梅,等. 2011—2021 年福建省即食食品中单增李斯特菌的监测及菌株特征分析[J]. 中国人兽共患病学报, 2023, 39(10): 941-950.  
Lin HL, Ye LQ, Ye HM, et al. Monitoring of listeria monocytogenes in ready-to-eat foods and characterization of isolates in Fujian province from 2011 to 2021[J]. Chinese Journal of Zoonoses, 2023, 39(10): 941-950. (In Chinese)
- [16] Liu YT, Sun WX, Sun TM, et al. The prevalence of *Listeria monocytogenes* in meat products in China: A systematic literature review and novel meta-analysis approach [J]. International Journal of Food Microbiology, 2020, 312: 108358.
- [17] Bouymajane A, Rhazi filali F, Oulghazi S, et al. Occurrence, antimicrobial resistance, serotyping and virulence genes of *Listeria monocytogenes* isolated from foods [J]. Heliyon, 2021, 7(2): e06169.
- [18] Zhang YY, Dong SL, Chen HH, 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.
- [19] 蔡炯,陈潇,朱虹霖,等. 成都市冷藏即食预包装熟肉制品中单核细胞增生李斯特菌定量检测及污染风险研究 [J]. 中国食品卫生杂志, 2024, 36(4): 426-432.  
Cai J, Chen X, Zhu HL, et al. Research on quantitative and contamination level of *Listeria monocytogenes* from pre-packaged refrigerated ready-to-eat meat in Chengdu city [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2024, 36(4): 426-432. (In Chinese)
- [20] Zhu L, Ji X, Wu Y, et al, Huang X. Molecular characterization of *Listeria monocytogenes* strains isolated from imported food in China from 14 countries/regions, 2003 - 2018 [J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2023, 13: 1287564.
- [21] Gan L, Cao XL, Wang Y, 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.
- [22] Moura A, Leclercq A, Vales G, et al. Phenotypic and genotypic antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes*: an observational study in France [J]. The Lancet Regional Health. Europe, 2023, 37: 100800.