

李红欢,陈 朔,康立超,等. 食源性单增李斯特菌毒力岛基因检测与致病性[J]. 江苏农业科学,2019,47(14):193-196.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.14.045

# 食源性单增李斯特菌毒力岛基因检测与致病性

李红欢<sup>1</sup>, 陈 朔<sup>1</sup>, 康立超<sup>2</sup>, 钱凌霄<sup>1</sup>, 张奇文<sup>1</sup>, 杜冬冬<sup>1</sup>, 马 勋<sup>1</sup>

(1. 石河子大学动物科技学院, 新疆石河子 832003; 2. 新疆农垦科学院分析测试中心, 新疆石河子 832003)

**摘要:** 为了解食源性单增李斯特菌分离株的毒力岛 1(LIPI-1)和毒力岛 2(LIPI-2)的基因及致病性。利用 PCR 方法对 8 株分离株 LIPI-1 和 LIPI-2 进行基因检测,小鼠腹腔接种分离菌株悬液  $5 \times 10^7$  CFU/只,进行致病性的初步试验。结果显示,LIPI-1 的 6 个毒力基因除 *actA* 基因检出率为 50.0% 外,*hly*、*prfA*、*plcA*、*plcB*、*mpl* 的检出率为 100.0%; LIPI-2 中 *inlA*、*inlB*、*inlC* 基因检出率为 100.0%,*inlD* 和 *inlE* 基因检出率分别为 87.5% 和 75.0%,*inlF* 和 *inlG* 毒力因子基因的检出率较低,分别为 50.0% 和 37.5%。小鼠致病性试验显示,8 株分离株均能致死小鼠,致死率在 50.0% ~ 100.0%。其中,LM5567 和 LM5570 在 5 d 内全部死亡,致死率为 100.0%,表明这 2 株菌对小鼠有强致病力。说明 LIPI-1 基因检出率高于 LIPI-2 的基因检出率;菌株的致病性与毒力岛基因的携带率无明显相关,但分离株对小鼠均有致病性,提示食品安全不容忽视。本研究为食源性单增李斯特菌毒力岛基因携带率与致病力的关系提供铺垫。

**关键词:** 食源性单增李斯特菌;毒力岛 1(LIPI-1);毒力岛 2(LIPI-2);致病性;基因检出率

**中图分类号:** S852.61 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)14-0193-04

李斯特菌属包括单增李斯特菌(*Listeria monocytogenes*, LM 或 *L. monocytogenes*)、绵羊李斯特菌(*L. ivanovi*)、英诺克李斯特菌(*L. ivanovi*)、罗氏李斯特菌(*L. rocourtiae*)、默氏李

斯特菌(*L. marthii*)、西尔李斯特菌(*L. seeligeri*)、格氏李斯特菌(*L. grayi*)和威尔斯李斯特菌(*L. welshimeri*) 8 种菌<sup>[1]</sup>,其中,LM 是食源性李斯特菌病的条件性致病菌,与人的疾病密切相关,可穿越肠道屏障、血脑屏障和胎盘屏障<sup>[2]</sup>,在临床上引起脑炎、脑膜炎、流产和死胎等,同时该菌可引起家禽坏死性肝炎和心肌炎的病理变化<sup>[3]</sup>。对于人类,特别是新生儿、孕妇、老年人及免疫功能缺陷者易引起疾病,致死率达 20% ~ 30%<sup>[4-5]</sup>,在新生儿和免疫力低下的人群中更高达 70%<sup>[6]</sup>。许多国家已将此菌列为食品微生物安全检测项目,

收稿日期:2018-04-28

基金项目:国家自然科学基金(编号:31360614)。

作者简介:李红欢(1994—),女,新疆额敏人,硕士研究生,主要从事人兽共患致病机制与防控研究。E-mail:354950802@qq.com。

通信作者:马 勋,教授,主要从事病原微生物分子诊断、致病机理研究。E-mail:maxun779@126.com。

[3] Mauricio R M, Mould F L, Dhanoa M S, et al. A semi-automated *in vitro* gas production technique for ruminant feedstuff evaluation[J]. Animal Feed Science & Technology, 1999, 79(4): 321-330.

[4] Menke K H, Raab L, Salewski A, et al. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*[J]. Journal of Agricultural Science, 1979, 93(1): 217-222.

[5] Makkar H P, Becker K. Purine quantification in digesta from ruminants by spectrophotometric and HPLC methods[J]. British Journal of Nutrition, 1999, 81(2): 107.

[6] Zinn R A, Owens F N. A rapid procedure for purine measurement and its use for estimating net ruminal protein synthesis[J]. Canadian Journal of Animal Science, 1986, 66(1): 157-166.

[7] 庞发根. 博落回(*Macleaya C.* (Willd.) R. Br.)抗癌活性成分的研究[D]. 沈阳:沈阳药科大学,2005.

[8] 程 辟,曾建国. 苯并吡啶类生物碱及其衍生物合成研究进展[J]. 有机化学,2012,32(9):1605-1619.

[9] Zeng J G, Liu Y S, Liu W, et al. Integration of transcriptome, proteome and metabolism data reveals the alkaloids biosynthesis in *Macleaya cordata* and *Macleaya microcarpa*[J]. PLoS One, 2013, 8(1): e53409.

[10] Stiborova M, Vostalova J, Zdarilova A A, et al. *Macleaya cordata*

extract and Sangrovit genotoxicity: Assessment *in vivo* [J]. Biomedical Papers, 2008, 152(1): 35-39.

[11] Aguilar-Hernandez J A, Urias-Estrada J D, Lopez-Soto M A, et al. Evaluation of isoquinoline alkaloid supplementation levels on ruminal fermentation, characteristics of digestion, and microbial protein synthesis in steers fed a high-energy diet[J]. Journal of Animal Science, 2016, 94(1): 267-274.

[12] Estrada-Angulo A, Aguilar-Hernandez A, Osuna-Perez M, et al. Influence of quaternary benzophenanthridine and protopine alkaloids on growth performance, dietary energy, carcass traits, visceral mass, and rumen health in finishing Ewes under conditions of severe temperature-humidity index[J]. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 2016, 29(5): 652-658.

[13] 张志红,黄江丽,何 力,等. 博落回提取物对湖羊瘤胃体外发酵和甲烷排放的影响[J]. 江西科学,2017,35(1):1-4,11.

[14] 金恩望,卜登攀,王加启,等. 利用批次培养法研究植物精油对瘤胃体外发酵的影响[J]. 甘肃农业大学学报,2014(2):5-12,20.

[15] 龙 森,景成福,袁 波,等. 植物精油对瘤胃发酵的调控作用[J]. 动物医学进展,2013,34(1):107-111.

[16] Chaucheyras-Durand F, Walker N D, Bach A. Effects of active dry yeasts on the rumen microbial ecosystem: past, present and future[J]. Animal Feed Science & Technology, 2008, 145(1/2/3/4): 5-26.

并对进口食品提出检验该菌的严格要求<sup>[7]</sup>。

*LM* 是革兰氏阳性、无芽胞兼性厌氧胞内寄生菌,广泛存在于自然界中,有较强的环境适应性,可在低温、高盐、酸碱等不利的环境下生长繁殖<sup>[8]</sup>,通过多种途径进入食品及食品加工环境。*LM* 是侵袭性胞内菌,主要通过污染的食物经口进入到宿主的胃肠道内,在细菌的黏附侵袭等相关毒力因子的作用下进入到宿主细胞内,通过血液和淋巴循环系统到达各组织器官,最终引起全身感染<sup>[9]</sup>。其感染过程包括内化、逃离吞噬泡、宿主细胞内的极向运动和细胞内的传播,整个感染过程都有相应的毒力因子参与,这些毒力因子与 *LM* 致病性有关,参与其主要的致病过程,编码这些毒力因子的 *L* 毒力基因常聚类于毒力岛。*LM* 主要有毒力岛 1 (LIPI-1) 和毒力岛 2 (LIPI-2) 2 个毒力岛,毒力岛 1 (LIPI-1) 与单增李斯特菌的胞内感染相关<sup>[10]</sup>,主要由 *prfA*、*plcA*、*hly*、*mpl*、*actA* 和 *plcB* 6 个毒力基因组成,毒力岛 2 (LIPI-2) 与单增李斯特菌的黏附、侵袭有关,由 *inlA*、*inlB*、*inlC* 等多个内化素组成。

*LM* 的毒力因子与其致病性有密切联系,研究表明,当 *LM* 缺少某些重要的毒力因子时,*LM* 的毒力将大大降低<sup>[11]</sup>。因此,研究食源性 *LM* 毒力因子携带率与致病力的关系对于人类李斯特菌病的监控、暴发流行的监测以及追踪污染源有重大意义。

1 材料与方法

1.1 菌株与试验动物

本试验所用食品源单增李斯特菌,由新疆农垦科学院食品检测中心分离鉴定,石河子大学动物科技学院预防兽医学实验室保存(表 1)。48 只 6~8 周昆明小鼠购自石河子大学动物实验中心。

表 1 8 株食品源 *LM* 分离株信息

编号	时间	来源	样品名称
LM4786	2014-08-26	兵团卫生局	冷冻鱼糜制品
LM4788	2014-08-26	兵团卫生局	冷冻鱼糜制品
LM5470	2014-09-09	兵团卫生局	调理肉制品
LM5474	2014-09-09	兵团卫生局	调理肉制品
LM5563	2014-09-15	农六师	调理肉制品
LM5567	2014-09-15	农六师	调理肉制品
LM5570	2014-09-15	农六师	调理肉制品
LM5573	2014-09-15	农六师	调理肉制品

1.2 培养基和主要试剂

脑心浸液培养基(BHI),购自青岛高科技园海博生物技术有限公司;2×PCR Mix、超纯水,均购于北京东盛生物公司;DNA Marker(2000),购于北京东盛生物公司;琼脂糖,购于 Biowest 公司;琼脂,购于 Biotopped 公司。

1.3 引物设计与合成

参考 GenBank 中登录的 *LMF2365* 基因全长序列(AE017262),用 Primer 5.0 软件设计毒力因子基因引物(表 2),毒力岛 1 部分基因引物设计参考文献[12],引物由华大基因公司合成。

表 2 毒力岛基因引物序列、扩增产物大小

毒力岛	目的基因	PCR 引物序列 (5'→3')	PCR 产物大小 (bp)
毒力岛 1 (LIPI-1)	<i>hly</i>	F:CTGAATTCGGCTGTACTAAAGAGCAGTTGC;R:ATGGATCCTTAGCCCCAGATGGAGATATTTCTA	743
	<i>prfA</i>	F:GGAAAACATAGAAAAAGTGCG;R:AAAACGATTGGGGGATGAGAC	373
	<i>plcA</i>	F:TTTATTGCTCGTGTCAGTT;R:CCATTCTATCCCAGGTAC	371
	<i>plcB</i>	F:GATAACCCGACAAATACTGA;R:CCACCGATTGATTGAAATA	286
	<i>mpl</i>	F:TCAAGTGGACGCAGAAAC;R:AAGCCATAATGAACAAACG	399
	<i>actA</i>	F:CTTGTGCTTTTCGTGATAGG;R:TTCGCTGAATAGTGGTGAT	353
毒力岛 2 (LIPI-2)	<i>inlA</i>	F:CCTAGCAGGTCTAACCGCAC;R:GTGTAAGATCGCTAATTTGG	255
	<i>inlB</i>	F:AAAGCACGATTTTCATGGGAG;R:ACATAGCCTTGTTCGTCGG	146
	<i>inlC</i>	F:TAGTGTTAATTGTAGGTCTGTG;R:TCAATCTAGTTAGTCCACCTGTAT	570
	<i>inlD</i>	F:CGTATCTTAGTAACCTCTGGCTGTA;R:TATTTGATTTCCGTCTAA	432
	<i>inlE</i>	F:CACAGAAGTTTATTTGGAAGAGAA;R:TTCATCCCCAGTAATCGGTAAC	727
	<i>inlF</i>	F:TGTATAGTTTTCGCTTTGGGAGGTA;R:GGAAAAATGGGCATATAGTGTGAG	1 079
	<i>inlG</i>	F:GGAAAAATGGGCATATAGTGTGAG;R:ACAGCCGCGCCAGTCGTAT	776

1.4 菌株培养

将-80℃保存的 8 株菌种取出,于 BHI 固体培养基上划线,并于 37℃培养 20 h,挑取单个菌落接种于 BHI 液体培养基中,置于 37℃、180 r/min 的恒温摇床中培养 16~18 h,置于 4℃备用。

1.5 分离株毒力岛基因 PCR 扩增及检测

PCR 扩增体系:10 μL 2×PCR mix,6 μL 超纯水,2 μL 菌液,上游引物(25 mmol/L),下游引物(25 mmol/L)各 1 μL,总体积 20 μL。

PCR 扩增条件:(1) *hly*:95℃ 5 min;94℃ 40 s,60℃ 30 s,72℃ 1 min,35 个循环;72℃ 10 min。(2) *prfA*、*plcA*、

*plcB*、*actA*、*mpl*:94℃ 5 min;94℃ 50 s,55℃ 50 s,72℃ 50 s,30 个循环;72℃ 10 min。(3) *inlA*、*inlB*、*inlC*、*inlD*、*inlE*、*inlF*、*inlG*:95℃ 5 min;94℃ 60 s,55℃ 60 s,72℃ 60 s,35 个循环;72℃ 10 min。

取 20 μL 扩增产物于 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测,与标准 DS2000 DNA Marker 比较。

1.6 分离株对小鼠的致病性试验

将 8 株 *LM* 接种于 BHI 中,于 37℃培养 24 h,12 000 r/min 离心 2 min,弃上清液,用无菌 PBS 洗涤 2 次,制备成浓度为 10<sup>8</sup> CFU/mL 的菌悬液,取此菌悬液经小鼠腹腔注射 0.5 mL/只,每组 6 只,连续 10 d 观察小鼠死亡情况。

2 结果与分析

2.1 分离株毒力岛基因 PCR 扩增结果

用 LIPI-1 相应的引物分别对 *hly*、*prfA*、*plcA*、*plcB*、*actA*、*mpl* 基因进行 PCR 扩增,PCR 产物经过 1.5% 琼脂糖凝胶电泳,与 DS2000 相比,片段长度分别约为 743、373、371、286、286、399 bp,均符合预期(图略),表明分离株中含有相应的毒力岛基因。

用 LIPI-2 相应的引物分别对 *inlA*、*inlB*、*inlC*、*inlD*、*inlE*、*inlF*、*inlG* 基因进行 PCR 扩增,PCR 产物经过 1.5% 琼脂糖凝胶电泳,与 DS2000 相比,片段长度分别大约为 255、146、570、432、727、1079、776 bp,均符合预期(图略),表明分离株中含有相应的毒力岛基因。

2.2 分离株毒力岛基因的检测结果

采用 PCR 方法检测分离株的毒力岛基因,LIPI-1 和 LIPI-2 基因在菌株中的检出率(表 3)显示,不同毒力基因的检出率不同。LIPI-1 有 5 个毒力基因的检出率为 100.0%,分别为 *hly*、*prfA*、*plcA*、*plcB* 和 *mpl*; *actA* 基因的检出率为 50.0%。LIPI-2 有 3 个毒力基因的检出率为 100%,分别为 *inlA*、*inlB* 和 *inlC*; *inlD* 基因的检出率为 87.5%; *inlE* 基因的检出率为 75.0%; *inlF* 和 *inlG* 2 个毒力基因检出率相对较低,仅为 50.0% 和 37.5%。由此可见,8 株分离株中 LIPI-1 毒力岛基因检出率高于 LIPI-2。

8 株食源性 *LM* 分离株中,*LM5570* 和 *LM5470* 仅存在 *actA* 毒力基因的缺失,毒力岛基因的携带率最高,为 92.31% (12/13),*LM5563* 和 *LM5567* 缺失 *inlE*、*inlF*、*inlG* 基因,毒力岛基因的携带率最低,为 76.92% (10/13),其余 *LM* 分离株均缺失 2 个毒力基因。

表 3 LIPI-1 和 LIPI-2 基因在菌株中的检出率

菌株	LIPI-1						LIPI-2						
	<i>hly</i>	<i>prfA</i>	<i>plcA</i>	<i>plcB</i>	<i>mpl</i>	<i>actA</i>	<i>inlA</i>	<i>inlB</i>	<i>inlC</i>	<i>inlD</i>	<i>inlE</i>	<i>inlF</i>	<i>inlG</i>
<i>LM4786</i>	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-
<i>LM4788</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
<i>LM5470</i>	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>LM5474</i>	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+
<i>LM5563</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
<i>LM5567</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
<i>LM5570</i>	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>LM5573</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
检出率(%)	100.0	100.0	100.0	100.0	100.00	50.0	100.0	100.0	100.0	87.5	75.0	50.0	37.5

注:“+”表示检出;“-”表示未检出。

2.3 不同分离株对小鼠致病性试验

采用对小鼠腹腔注射细菌悬液  $5 \times 10^7$  CFU/只,感染小鼠 12 h 均表现精神沉郁、行动缓慢、食欲低下,接种的小鼠死亡时间集中在 3 ~ 5 d,6 d 后不再有小鼠死亡。*LM5567*、*LM5570* 菌株接种小鼠在 5 d 内全部死亡,死亡率为 100.00%;*LM4786*、*LM4788*、*LM5470* 和 *LM5474* 菌株接种小鼠死亡率为 83.33%,其中 *LM5470* 和 *LM5474* 菌株接种小鼠,4 d 内死亡 5 只小鼠,*LM4786* 和 *LM4788* 菌株接种小鼠,6 d 内死亡 5 只小鼠。*LM5573* 菌株接种小鼠,5 d 内死亡 4 只,死

亡率为 66.67%。*LM5563* 菌株接种小鼠,5 d 内死亡 3 只小鼠,死亡率为 50.00%。*LM5570* 和 *LM5470* 毒力岛基因的携带率最高(12/13),死亡率为 100.00% 和 83.33%;*LM5567* 和 *LM5563* 毒力岛基因的携带率最低(10/13),死亡率为 100.00% 和 50.00%;*LM5474*、*LM4786*、*LM4788* 和 *LM5573* 基因携带率为 84.62% (11/13),死亡率分别为 83.33%、83.33%、83.33% 和 66.67%(表 4)。表明 8 株分离株均能致死小鼠,但不同分离株致死率不同,且与基因携带率无明显相关。

表 4 小鼠死亡时间及死亡率

菌株	小鼠死亡数(只)										死亡率(%)
	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d	8 d	9 d	10 d	
<i>LM4786</i>	0	0	0	1	3	1	0	0	0	0	83.33
<i>LM4788</i>	0	0	0	0	4	1	0	0	0	0	83.33
<i>LM5470</i>	1	0	3	1	0	0	0	0	0	0	83.33
<i>LM5474</i>	0	0	2	3	0	0	0	0	0	0	83.33
<i>LM5563</i>	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0	50.00
<i>LM5567</i>	0	0	1	2	3	0	0	0	0	0	100.00
<i>LM5570</i>	0	0	1	2	3	0	0	0	0	0	100.00
<i>LM5573</i>	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	66.67

2.4 各菌株毒力岛基因与小鼠致病力的关系

含有相同毒力基因的 *LM* 菌株所表现的致病力并不相同,*LM5470* 和 *LM5570* 所含毒力因子相同,均缺少 *actA* 毒力因子,但小鼠死亡时间和死亡率并不同。感染 *LM5470* 的小

鼠,1 d 后开始死亡,4 d 内死亡 5 只,死亡率为 83.33%;感染 *LM5570* 的小鼠,3 d 后开始死亡,5 d 内 6 只实验小鼠全部死亡,死亡率为 100%。结果表明,*LM5570* 致病力较强于 *LM5470* 菌株。

*LM4788* 和 *LM5573* 所含毒力因子相同,均缺少 *inlF* 和 *inlG* 毒力因子,小鼠死亡时间和死亡率并不同;感染 *LM4788* 的小鼠,5 d 后开始死亡,6 d 内死亡 5 只,死亡率为 83.33%;感染 *LM5573* 的小鼠在 4 d 后开始死亡,5 d 内死亡 4 只,死亡率为 66.67%。结果表明,*LM5567* 致病力较 *LM4788* 强。

*LM5563* 和 *LM5567* 所含毒力因子相同,均缺少 *inlE*、*inlF* 和 *inlG* 毒力因子,但小鼠死亡时间和死亡率并不同。感染 *M5563* 的小鼠,5 d 内死亡 3 只小鼠,死亡率为 50.00%;感染 *LM5567* 的 6 只小鼠在 5 d 内全部死亡,死亡率为 100.00%。结果表明,*LM5567* 的致病力较 *LM5563* 强。

上述结果表明,含有相同的毒力岛基因的分离株对小鼠的致死率并不相同,菌株基因的携带率与其致病性无明显相关,表明对 *LIPI-1* 和 *LIPI-2* 的基因检测不足反映其与致病力的关系。

### 3 讨论

*LM* 一般经胃肠道感染,侵入肠上皮细胞后被单核巨噬细胞吞噬,并随着扩散到局部淋巴结,最后到达内脏器官,引起全身性感染<sup>[12]</sup>。李斯特菌整个感染过程中的每一步均有特定的毒力因子调控。*LM* 的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者下降。通过检测毒力基因,可以掌握这些毒力基因在 *LM* 中的分布,从而为评估 *LM* 分离株的致病性强弱提供理论基础。

本研究通过 PCR 技术检测了 8 株不同来源食源性 *LM* 分离株 *LIPI-1* 和 *LIPI-2* 的 13 个毒力基因,有研究表明 *LIPI-1* 毒力岛与 *LM* 的致病性密切相关,是细菌在细胞内存存必不可少的,具有高度的保守性<sup>[13]</sup>。本试验中 *LIPI-1* 基因除 *actA* 之外,其余基因均未缺失,检出率为 100.0%,具有较高的稳定性,*LIPI-1* 基因的检出率高于伊娜娜等的报道<sup>[14-15]</sup>,说明本区域的食源性 *LM* 分离株 *LIPI-1* 的基因的检出率较高。*LIPI-2* 与 *LM* 的黏附、侵袭有关,*inlA*、*inlB* 和 *inlC* 的检出率达 100.0%,*inlD*、*inlE*、*inlF* 和 *inlG* 的检出率分别是 87.5%、75.0%、50.0% 和 37.5%,*LIPI-1* 基因检出率高于 *LIPI-2* 基因,本试验结果与刘二龙等的报道<sup>[16-18]</sup>一致。

本研究中将不同分离株对小鼠进行致病性试验表明,8 株 *LM* 分离株均能致死小鼠,但不同分离株致死率不同,其致死率与所检测毒力岛基因携带率之间无明显相关,提示目前所检测的菌株数量或毒力岛基因不足以反映菌株的致病力,仍需进一步研究,但食品污染 *LM* 的安全不容忽视。

### 参考文献:

- [1] Hain T, Chatterjee S S, Ghaia R, et al. Pathogenomics of *Listeria* spp. [J]. International Journal of Medical Microbiology, 2007, 297(7/8): 541–557.
- [2] Swaminathan B, Gerner – Smidt P. The epidemiology of human

- listeriosis* [J]. Microbes and Infection, 2007, 9(10): 1236–1243.
- [3] Ramaswamy V, Cresence V J, Lekshmi M, et al. *Listeria*—Review of epidemiology and pathogenesis [J]. Journal of Microbiology, Immunology, and Infection, 2007, 40(1): 4–13.
- [4] Fonnesbech V B, Huss H H, Ojeniyi B, et al. Elucidation of *Listeria monocytogenes* contamination routes in cold – smoked salmon processing plants detected by DNA – based typing methods [J]. Applied & Environmental Microbiology, 2001, 67(6): 2586–2595.
- [5] Vlaemynck G, Lafarge V, Scotter S. Improvement of the detection of *Listeria monocytogenes* by the application of ALOA, adiagnostic, chromogenic isolation medium [J]. Journal of Applied Microbiology, 2000, 88(3): 430–441.
- [6] Klinger G, Beyene J, Shah P, et al. Do hyperoxaemia and hypocapnia add to the risk of brain injury after intrapartum asphyxia? [J]. Archives of Disease in Childhood – Fetal and Neonatal Edition, 2005, 90(1): 49–52.
- [7] 张淑红, 吴清平, 张菊梅. 显色培养基在单核细胞增生李斯特菌快速检测中的应用研究 [J]. 中国卫生检验杂志, 2007, 17(1): 43–45.
- [8] 陈云飞. 单增李斯特菌  $\Delta$ InlAB、 $\Delta$ InlABC 突变株的构建及部分生物学特性研究 [D]. 石河子: 石河子大学, 2015.
- [9] Dussurget O, Pizarrocerda J, Cossart P. Molecular determinants of *Listeria monocytogenes* virulence [J]. Annual Review of Microbiology, 2004, 58(1): 587–610.
- [10] Glaser P, Frangeul L, Buchrieser C, et al. Comparative genomics of *Listeria* species [J]. Science, 2001, 294(5543): 849–852.
- [11] Freitag N E, Port G C, Miner M D. *Listeria monocytogenes* — From saprophyte to intracellular pathogen [J]. Nature Reviews Microbiology, 2009, 7(9): 623–628.
- [12] 李秀娟, 赵冬, 潘琢, 等. 29 种毒力基因在 91 株食源性单核细胞增生李斯特氏菌中的分布 [J]. 中国人兽共患病学报, 2017, 33(11): 972–978.
- [13] Vázquezboland J A, Kuhn M, Berche P, et al. *Listeria* pathogenesis and molecular virulence determinants [J]. Clinical Microbiology Reviews, 2001, 14(3): 584–640.
- [14] 伊娜娜. 不同毒力单增李斯特菌 *LIPI-1* 全序列分析及致病性差异研究 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2012.
- [15] 乌日娜, 郭邦成, 陈福生. 宁夏食源性单增李斯特菌毒力基因的分布研究 [J]. 宁夏大学学报 (自然科学版), 2016, 37(2): 205–210.
- [16] 刘二龙, 袁慕云, 吕英姿, 等. 单增李斯特菌三重实时荧光 PCR 检测的建立及其毒力基因在分离菌株中分布 [J]. 中国人兽共患病学报, 2016, 32(5): 451–456.
- [17] Wiedmann M, Bruce J L, Keating C, et al. Ribotypes and virulence gene polymorphisms suggest three distinct *Listeria monocytogenes* lineages with differences in pathogenic potential [J]. Infection & Immunity, 1997, 65(7): 2707–2716.
- [18] 亢春雨. 食源性单核增生性李斯特氏菌的分布、遗传多态性及其毒理机制研究 [D]. 保定: 河北农业大学, 2015.