

研究报告



一株 ST477 型单增李斯特菌的全基因组测序及 *inlA* 基因遗传多样性

王亚鸽 闫鹤*

华南理工大学食品科学与工程学院 广东 广州 510640

摘要:【背景】单增李斯特菌是一种重要的条件致病菌,不同型别菌株在宿主范围和毒力等方面存在差异。内化素基因 *inlA* 在入侵宿主上皮细胞中具有重要作用。【目的】研究单增李斯特菌序列型 (Sequence type, ST) 为 477 菌株的基因组特征及内化素基因 *inlA* 的遗传多样性。【方法】使用相关软件对测序数据进行多位点序列分型 (Multilocus sequence typing, MLST)、单核苷酸多态性 (Single nucleotide polymorphism, SNP) 及基因 *inlA* 遗传多样性分析。【结果】MLST 进化分析结果显示,分离自不同国家的菌株具有较近亲缘关系。以分离自中国食品的 ST477 型菌株为参考菌株,通过 SNP 分析表明,加拿大食品中的 ST9 型菌株发生的突变位点最少(91–93 个)。7 株复合克隆系 (Clonal complex, CC) 为 9 的菌株其 *inlA* 基因序列间核苷酸相似性为 29.8%–100%。【结论】初步分析了 ST477 型别菌株的进化及基因组特征,同时研究了部分 CC9 克隆系菌株 *inlA* 基因突变情况,为研究 ST477 型别菌株的进化及单增李斯特菌的毒力提供基础数据。

关键词: 单增李斯特菌, ST477 型别, 内化素基因, 进化分析

Whole-genome sequencing of a *Listeria monocytogenes* ST477 and genetic diversity of *inlA* gene

WANG Ya-Ge YAN He*

School of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou, Guangdong 510640, China

Abstract: [Background] *Listeria monocytogenes* is an important opportunistic pathogen. There are some differences in host range and virulence among different strains. Internalin gene *inlA* play an important role in host epithelial cells invasion. [Objective] Analyze the genomic characteristics of the *Listeria monocytogenes* ST477 isolate and investigate the genetic diversity of gene *inlA*. [Methods] Multilocus sequence typing (MLST), single nucleotide polymorphism (SNP) and *inlA* genetic diversity were analyzed based on the sequencing data with software. [Results] MLST analysis showed that isolates from different countries have close relationship. Based on the SNP analysis, ST9 strains isolated from Canadian food owned the fewest mutation sites (91–93) by aligning six CC9 isolates against the chromosome of the ST477. The nucleotide homology of seven *inlA* gene sequences was 29.8%–100%. [Conclusion] We

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (31571934); Science and Technology Planning Project of Guangdong Province (2014A020214001, 2016A020219001)

*Corresponding author: E-mail: yanhe@scut.edu.cn

Received: 07-11-2018; Accepted: 07-03-2019; Published online: 13-03-2019

基金项目: 国家自然科学基金(31571934); 广东省科技计划项目(2014A020214001, 2016A020219001)

*通信作者: E-mail: yanhe@scut.edu.cn

收稿日期: 2018-11-07; 接受日期: 2019-03-07; 网络首发日期: 2019-03-13

preliminarily analyzed the evolution of ST477 isolate and investigate the mutation type of *inlA* gene belonging to CC9. This study provides basic data for analysis of the evolution of ST477 strains and the virulence of *L. monocytogenes*.

Keywords: *Listeria monocytogenes*, ST477 subtype, Internalin gene, Phylogenetic analysis

单增李斯特菌(*Listeria monocytogenes*)是一类重要的食源性条件致病菌,可引起人和动物李斯特菌病,主要感染免疫力低下(老年人、孕妇及新生儿)和免疫缺陷人群,临床症状包括败血症、脑膜炎、流产和死胎等^[1]。近几年,通过食物传播引起的李斯特菌病的暴发被频繁报道^[2-3],中国虽然关于李斯特菌病的报道较少^[4-5],但多位学者从各地多种食品中均分离出单增李斯特菌^[6-8],其风险不容忽视。

多位点序列分型(Multilocus sequence typing, MLST)方法是一种基于 7 个管家基因(*abcZ*, *bglA*, *cat*, *dapE*, *dat*, *ldh*, *lhkA*)的核苷酸序列确定菌株之间的高度差异性,进而揭示流行病学及分子进化的分析方法^[9]。细菌在长期进化过程中基因组信息存在差异,随着全基因组测序水平的发展,单核苷酸多态性(Single nucleotide polymorphism, SNP)已经成为确定细菌关联性的分析方法^[10]。单增李斯特菌的一些毒素及相关基因对于细菌的侵染及宿主细胞内的生存具有重要作用。其中表面蛋白内化素可促进该菌入侵宿主上皮细胞,基因 *inlA* 编码的内化素 A (InlA)通过与上皮细胞的钙粘蛋白受体相互作用,调节菌体被上皮细胞摄入的过程。研究表明,基因 *inlA* 的有效突变会导致翻译提前终止(Premature stop codon, PMSC),进而降低细菌入侵宿主上皮细胞的能力^[11]。

复合克隆系(Clonal complex, CC) 9 是在中国流行度最高的三大克隆系之一^[6,12-13]。但目前对于单增李斯特菌 CC9 克隆系的进化关系及基因特点少有报道,更无针对序列型(Sequence type, ST)为 477 菌株的研究。本研究以分离自中国食品的 ST477 型别的单增李斯特菌为研究对象,进行比较基因组学分析并研究基因 *inlA* 的遗传多样性,

旨在为单增李斯特菌的传播及毒力检测提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 菌株

单增李斯特菌 NH1 分离自河北省某大型超市的冷冻食品^[14]。

1.2 主要试剂和仪器

脑心浸出液肉汤(Brain heart infusion broth, BHI),广州环凯微生物科技有限公司;细菌基因组 DNA 快速提取试剂盒,北京博迈德生物技术有限公司。Pacbio RS II 测序仪, Pacific Biosciences 公司。

1.3 基因组测序与注释

将菌株 NH1 划线接种至 BHI 琼脂培养基,37 °C 培养过夜,再挑取单菌落至 BHI 中,37 °C 培养 12–16 h。DNA 提取按照细菌基因组 DNA 快速提取试剂盒说明书进行。将得到的总 DNA 通过 Pacbio RS II 测序仪进行全基因组测序,得到 937 153 条测序片段,利用 HGAP (Hierarchical genome assembly process)进行拼接组装,将完整的基因组序列提交至 NCBI GenBank 数据库,获得该菌株 GenBank 登录号为 CP021325,并通过 PGAP (Prokaryotic genome annotation pipeline)进行基因预测与功能注释。采用 Glimmer 3.02 软件进行开放阅读框(Open reading frame, ORF)预测,将所有预测蛋白序列与非冗余蛋白数据库 NR、Swiss-Prot 数据库、eggNOG (Evolutionary genealogy of genes : Non-supervised Orthologous Groups)数据库进行 BLASTp ($E < 1e-10$)比对,完成蛋白序列功能注释。

1.4 MLST 进化分析

PasteurMLST 数据库中已登记的 ST477 型别

单增李斯特菌有 2 株, 分别为 SLCC1798 和 Lm_0080。SLCC1798 于 1964 年分离自菲律宾病人, Lm_0080 于 1988 年分离自日本病人。将单增李斯特菌 NH1 的管家基因序列与 8 株 CC9 菌株的管家基因序列进行 MLST 分析, 包括 2 株 ST477 型别的 SLCC1798 和 Lm_0080, 5 株 ST9 型别的 10-5025 (NZ_CP007194)、10-5026 (NZ_CP007195)、10-5027 (NZ_CP007196)、SHL006 (NZ_APIF00000000)、SLCC2479 (NC_018589) 及 1 株 ST122 型别的 SLCC2372 (NC_018588)。根据 PasteurMLST 数据库(<http://bigsd.b.pasteur.fr/listeria/listeria.html>), 确定 7 个管家基因(*abcZ*, *bglA*, *cat*, *dapE*, *dat*, *ldh*, *lhkA*)的等位基因号。归纳 9 株菌的 7 个等位基因的代号和 ST 型别, 根据每株菌的 7 个管家基因的序列, 按照 *abcZ-bglA-cat-dapE-dat-ldh-lhkA* 的顺序拼接成 9 条序列, 利用软件 MEGA 5.0 中的 Neighbor-Joining 法构建管家基因的系统发育树(1 000 Bootstrap), 分析 9 株菌的进化关系。

1.5 SNP 分析

PasteurMLST 数据库中登记的 2 株 ST477 型别菌株无全基因组序列, 因此, 对其余 7 株 CC9 克隆系菌株进行全基因组水平上的差异分析。以 NH1 为参考菌株, 通过软件 GATK 和 SAMtools 确定每个菌株的 SNPs。用 VarScan 软件进行 SNP 信息的检测, 并过滤掉测序深度和比对质量值较低的位点。将每个基因组的 SNPs 拼接为一个序列, 利用软件 MEGA 5.0 构建进化树(1 000 Bootstrap)。

1.6 内化素基因序列比对分析

PasteurMLST 数据库中无 2 株 ST477 型别菌株的 *inlA* 基因序列, 因此, 通过 PasteurMLST 数据库提取出其他 7 个 CC9 克隆系菌株基因组中 10 个内化素基因的核苷酸序列, 以 NH1 为参考菌株, 进行基因同源性比较。进一步从每个分离株的 *inlA* 基因序列中获得翻译的蛋白序列, 确定该基因 PMSC 的突变类型^[11], 并根据 *inlA* 基因的核苷酸序列, 利用软件 MEGA 5.0 构建进化树(1 000 Bootstrap)。

2 结果与分析

2.1 NH1 基因组的基本特征

单增李斯特菌 NH1 的基因组全长为 3 002 491 bp, (G+C)mol% 含量为 37.92%, 共有 2 995 个编码基因。将其编码的对应蛋白序列与 eggNOG 数据库比对, 完成同源基因注释分类(图 1)。结果表明, 共有 2 370 个蛋白获得 COG 功能注释, 占全部基因的 79.13%, 分布于 20 个 COG 的条目中。这些基因大多与细菌的代谢有关。其中参与碳水化合物转运和代谢的基因有 294 个, 占比 9.82%; 与转录相关的基因有 254 个, 占比 8.48%; 参与氨基酸转运和代谢的基因有 237 个, 占比 7.91%。噬菌体作为微生物基因重组及获得外源基因的重要因素之一, 研究表明单增李斯特菌的噬菌体相关基因可调节宿主的毒性, 而且可协助细菌在细胞内生存^[15-17]。NH1 基因组中检测到 13 个与噬菌体相关的基因, 分布于转录、一般功能预测、未知功能及信号转导机制, 即 K、R、S 及 T 四个分类单元。

2.2 MLST 分析

根据 PasteurMLST 数据库比对 7 个管家基因, 确定单增李斯特菌 NH1 的分型为 ST477 (*abcZ-6*, *bglA-5*, *cat-6*, *dapE-4*, *dat-1*, *ldh-183*, *lhkA-1*), 属于 CC9 克隆复合体。该克隆系菌株在全球范围内广泛分布, 且在食品中的分离率较高^[18]。研究表明, 分离自中国的 CC9 克隆系的代表 ST 型为 ST9^[12-13], 而对于 ST477 型别菌株少有报道。因此, 本研究对我们已完成测序的 ST477 型别菌株与 2 株分离自临床的 ST477 型别, 以及 5 株 ST9 型别和 1 株 ST122 型单增李斯特菌进行 MLST 进化分析(图 2)。进化分析结果表明, 3 种不同 STs 型别菌株分为 4 个进化谱系。其中, 3 株 ST477 型别菌株, 1 个食品菌株, 2 个临床菌株位于同一个分支; 4 株 ST9 型别菌株, 包括 3 个食品菌株, 1 个临床菌株位于同一个分支; 1 株未知来源的 ST9 和临床 ST122 型别菌株分别单独为一个进化谱系。同时, 分离自不同国家的菌株位于同一个分支, 存在较近的亲缘关系。

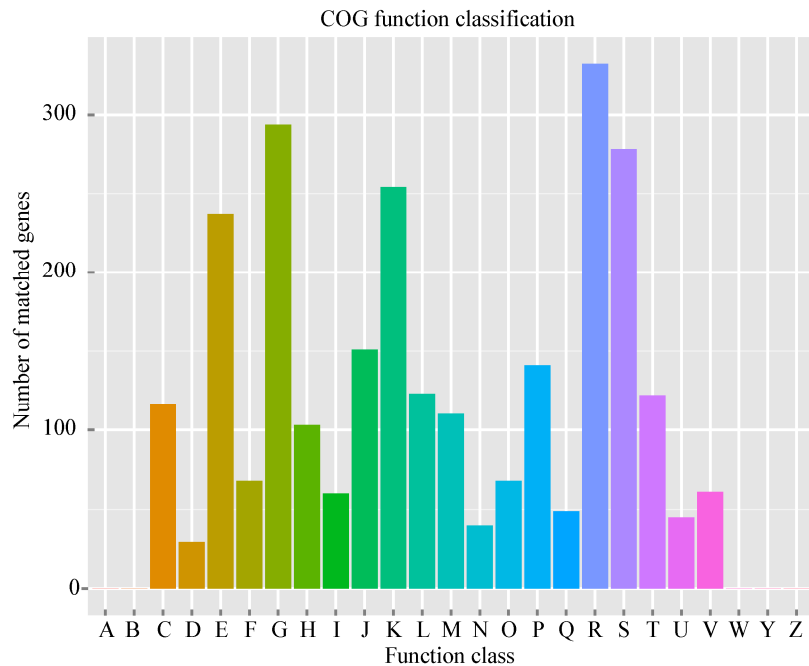


图 1 单增李斯特菌 NH1 蛋白质 eggNOG 聚类分析

Figure 1 Gene distribution based on eggNOG classification of *L. monocytogenes* NH1

注: A: RNA 加工和修饰; B: 染色质结构和动力学; C: 能量生产和转换; D: 细胞周期调控、细胞分裂和染色体分配; E: 氨基酸转运和代谢; F: 核苷酸转运和代谢; G: 碳水化合物转运和代谢; H: 辅酶转运和代谢; I: 脂质转运和代谢; J: 翻译、核糖体结构和生物合成; K: 转录; L: 复制、重组和修复; M: 细胞壁/细胞膜/胞外被膜生物合成; N: 细胞运动; O: 翻译后修饰、蛋白质转换、伴侣; P: 机离子转运和代谢; Q: 次级代谢产物的生物合成、转运和代谢; R: 一般功能预测; S: 功能未知; T: 信号转导机制; U: 胞内运输、分泌和囊泡运输; V: 防御机制; W: 胞外结构; Y: 细胞核结构; Z: 细胞骨架。

Note: A: Processing and modification; B: Chromatin structure and dynamics; C: Energy production and conversion; D: Cell cycle control, cell division, chromosome partitioning; E: Amino acid transport and metabolism; F: Nucleotide transport and metabolism; G: Carbohydrate transport and metabolism; H: Coenzyme transport and metabolism; I: Lipid transport and metabolism; J: Translation, ribosomal structure and biogenesis; K: Transcription; L: Replication, recombination and repair; M: Cell wall/membrane/envelope biogenesis; N: Cell motility; O: Posttranslational modification, protein turnover, chaperones; P: Inorganic ion transport and metabolism; Q: Secondary metabolites biosynthesis, transport and catabolism; R: General function prediction only; S: Function unknown; T: Signal transduction mechanisms; U: Intracellular trafficking, secretion, and vesicular transport; V: Defense mechanisms; W: Extracellular structures; Y: Nuclear structure; Z: Cytoskeleton.

Chenal-Francisque 等^[18]研究表明单增李斯特菌大部分复合克隆系菌株存在全球分布的情况,而 CC9 克隆系菌株在欧洲和西半球的流行率较高。Angelo 等^[2]通过 PFGE 和 wgMLST 对 2014–2015 年美国暴发的李斯特菌病的相关单增李斯特菌进行分析,结果表明本次暴发的污染菌株是以苹果为介质进行全国范围的传播。刘二龙等^[19]对我国出入境口岸动物源性食品中分离的单增李斯特菌进行 MLST 分析,结果表明存在潜在传播和暴发的李斯特菌病分子亚型。而且,越来越多研究表明,

随着食品贸易的国际化,单增李斯特菌可通过贸易食品进行洲际间传播^[20-21]。

2.3 SNP 分析

以 NH1 为参考菌株,对 5 株 ST9 型别和 1 株 ST122 型别菌株进行全基因组水平的 SNP 分析,共发现 291 个非同义突变位点。其中,3 株来自加拿大的食品菌株 10-5026、10-5025 和 10-5027 中检测到的 SNPs 数量较少(分别为 91、93 和 93 个),来自中国和英国的临床菌株(分别为 SHL006 和 SLCC2372)的 SNPs 为 113 个和 127 个,而未知来

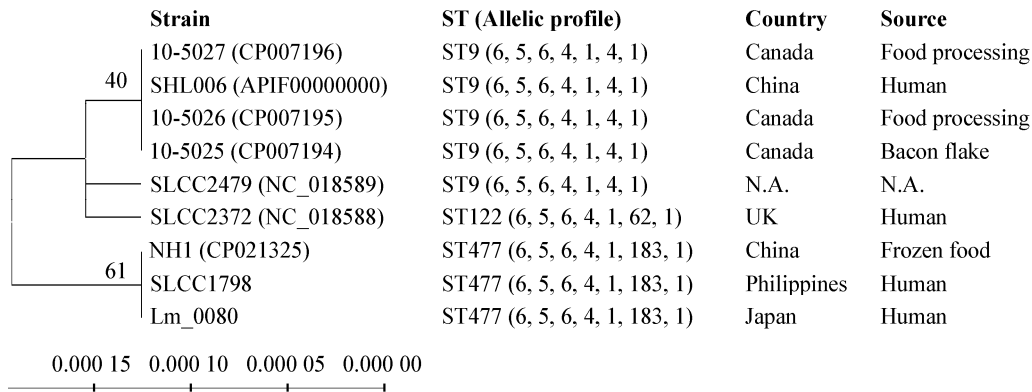


图 2 单增李斯特菌 MLST 聚类分析图

Figure 2 MLST genetic profile of *L. monocytogenes* isolates

注：括号内为 GenBank 登录号；分支点上的数字表示构建系统树时 1 000 次计算形成该节点的百分比；标尺长度代表进化距离。
Note: Numbers in parentheses are GenBank accession numbers; The bootstrap values (%) presented at the branches were calculated from 1 000 replications; The scale bar represents the evolutionary distance.

源菌株 SLCC2479 含有最多 SNPs (136 个)。为直观展示物种进化地位，基于 SNP 系统应用软件 MEGA 5.0 构建进化树，结果见图 3。4 株分离自不同国家食品的菌株聚为一个分支，1 株分离自中国临床的菌株单独为一个分支。与 MLST 聚类结果不同，ST477 型别菌株与 4 个 ST9 型菌株聚为一大类群(Group I)，一株 ST9 型与 ST122 型菌株聚为另一大类群(Group II)。

虽然目前没有明确的 SNP 标准规定菌株进

化关系，但 ST477 菌株与 3 株来自加拿大食品菌株的 SNP 差异数最少，说明其亲缘关系较近。该结果与 Zhang 等^[22]对分离自上海的单增李斯特菌基因组多样性进行研究的結果相似：来自中国的 2 株菌与来自加拿大的 2 株暴发菌株仅存在 11-97 个 SNP 差异，具有较近亲缘关系；进一步分析表明，这些菌株拥有共同的祖先，在不同环境下进化成为不同的分支。由图 3 可知，SNP 聚类结果与型别及地域无显著关系，但与宿主有一定联系。该结果

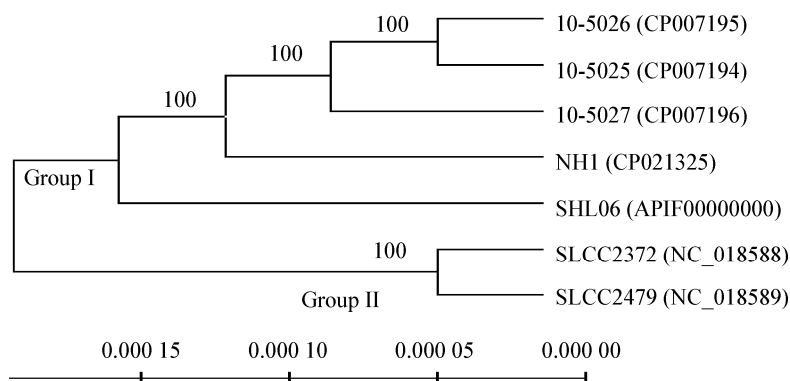


图 3 基于 7 株单增李斯特菌全基因组 SNPs 进化分析

Figure 3 Phylogenetic analysis of 7 *L. monocytogenes* whole genome SNPs

注：括号内为 GenBank 登录号；分支点上的数字表示构建系统树时 1 000 次计算形成该节点的百分比；标尺长度代表进化距离。
Note: Numbers in parentheses are GenBank accession numbers; The bootstrap values (%) presented at the branches were calculated from 1 000 replications; The scale bar represents the evolutionary distance.

与 Halbedel 等^[23]对分离自德国病人的 413 株单增李斯特菌的 SNP 进化分析结果相似。同时, Toledo 等^[24]对分离自智利不同来源的菌株进行 SNP 进化分析的结果表明, 临床和非临床菌株的分布具有显著差异。

2.4 内化素基因序列比对分析

以 NH1 为参考菌株, 对 6 株 CC9 克隆系菌株的 10 个内化素基因进行同源性比较。结果表明, 除基因 *inlA* 外, 其余 9 个内化素基因 *inlB*、*inlC*、*inlE*、*inlF*、*inlG*、*inlH*、*inlJ*、*inlK* 及 *inlP* 均在核苷酸水平上高度保守, 相似度达 100%。来自临床的菌株 SHL006 和 SLCC2372 及一株未知来源的菌株 SLCC2479 的 *inlA* 基因存在差异, 相似度为 99%。内化素基因 *inlA* 的突变已被广泛报道, 且有效突变会致使该基因翻译提前终止, 进而导致细菌毒力减弱^[12]。根据突变位点确定该基因 PMSC 的突变类型。目前已知的基因 *inlA* 的突变有 19 种类型^[25-26], 深入研究表明, 与临床和动物来源菌株相比, PMSC 突变情况在谱系 II 和食品及其环境的分离株中存在的概率显著较高^[11,26-27]。

提取 7 株 CC9 型单增李斯特菌的 *inlA* 基因序列, 长度约为 2 400 bp, (G+C)mol% 含量为 37.4%。其中, ST122 型菌株(SLCC2372)中基因 *inlA* 的序列完整, 3 株来自加拿大的 ST9 型菌株与 ST477

菌株中基因 *inlA* 突变类型相同(PMSC type 4), 另外 2 株 ST9 型菌株(SHL006 和 SLCC2479)中基因 *inlA* 突变类型相同(PMSC type 7) (表 1)。Manuel 等^[27]对 191 株不同来源(动物、食品病人及相关环境)单增李斯特菌的 *inlA* 基因序列进行分析, 结果表明, 不同来源菌株缩短序列的类型存在 3 种情况(PMSC type 4、PMSC type 7 和 PMSC type 12), 其中 90% 为 PMSC type 4。本研究结果表明, 突变类型 PMSC type 4 和 PMSC type 7 的基因序列与完整序列的相似度分别为 29.8% 和 77.3%; PMSC type 4 与 PMSC type 7 的序列长度相同但相似度为 52.6%。

根据 7 株 CC9 克隆系菌株携带的 *inlA* 的核苷酸序列构建系统进化树, 该进化树含有 3 个簇, 同一突变类型的菌株序列聚在一个分支: 具有完整 *inlA* 基因序列的 ST122 型菌株单独为一个分支; 4 株 PMSC type 4 型菌株聚为一个分支(ST477 和 ST9); 2 株 PMSC type 7 型菌株聚为一个分支(ST9)。图 4 表明, PMSC type 4 和 PMSC type 7 均由完整序列菌株进化而来, 且 PMSC type 7 与原始菌株 *inlA* 基因的进化关系更近。该分析结果与 SNP 进化分析结果不同。Palma 等^[28]对 56 株 ST14 和 ST121 的单增李斯特菌进行分析, 结果表明 ST14 型别菌株的 *inlA* 基因均为完整序列, 所有的 ST121

表 1 不同菌株 *inlA* 基因相似度

Table 1 Pairwise identity among *inlA* from different strains

| 菌株 Strain | 来源 Source | 长度 Length (bp) | 类型 Subtype | 相似度 Identity (%) | | | | | | | |
|--------------|-----------------|-------------------|---------------|---------------------|---------|---------|---------|--------|----------|----------|--|
| | | | | NH1 | 10-5025 | 10-5026 | 10-5027 | SHL006 | SLCC2479 | SLCC2372 | |
| NH1 | Frozen food | 2 402 | 4 | 100.0 | | | | | | | |
| 10-5025 | Bacon flake | 2 402 | 4 | 100.0 | 100.0 | | | | | | |
| 10-5026 | Food processing | 2 402 | 4 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | | | | | |
| 10-5027 | Food processing | 2 402 | 4 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | | | | |
| SHL006 | Human | 2 402 | 7 | 52.6 | 52.6 | 52.6 | 52.6 | 100.0 | | | |
| SLCC2479 | N.A. | 2 402 | 7 | 52.6 | 52.6 | 52.6 | 52.6 | 100.0 | 100.0 | | |
| SLCC2372 | Human | 2 403 | / | 29.8 | 29.8 | 29.8 | 29.8 | 77.3 | 77.3 | 100.0 | |

注: /: *inlA* 基因为全长。

Note: /: Full-length *inlA*.

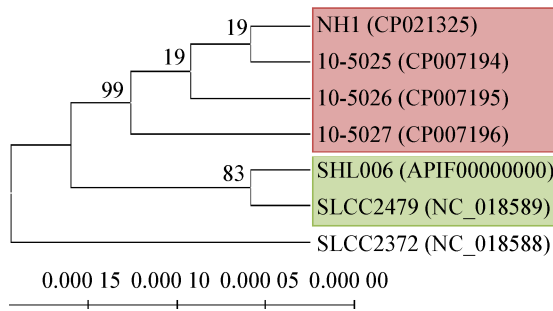


图4 基于7个单增李斯特菌的 *inlA* 序列的最大似然树
Figure 4 Maximum likelihood tree of 7 *L. monocytogenes* isolates based on *inlA* sequence

注: 括号内为 GenBank 登录号; 分支点上的数字表示构建系统树时 1 000 次计算形成该节点的百分比; 标尺长度代表进化距离。

Note: Numbers in parentheses are GenBank accession numbers; The bootstrap values (%) presented at the branches were calculated from 1 000 replications; The scale bar represents the evolutionary distance.

均为缩短序列。Wu 等^[13]对分离自中国即食食品的 35 株存在突变的单增李斯特菌的 *inlA* 基因进行进化分析, 结果表明, *inlA* 进化结果与 MLST 进化结果一致。因此, 推测 *inlA* 与菌株的管家基因有相似的基因特征。

3 讨论与结论

本研究在基因组层面揭示了单增李斯特菌 CC9 克隆系不同 ST 型别菌株的关系, 同时分析了内化素基因 *inlA* 的遗传多样性。MLST 进化分析表明, 分离自中国食品的 ST477 型别单增李斯特菌与 2 株来自菲律宾和日本临床的 ST477 型别菌株具有较近亲缘关系。通过 SNP 分析发现, 分离自中国食品的 ST477 型别菌株与 3 株来自加拿大食品的 ST9 型别菌株的 SNP 差异数最少, 而且具有较近亲缘关系。基因 *inlA* 的核苷酸序列分析结果表明, 突变类型 PMSC type 4 和 PMSC type 7 的基因序列与完整序列的相似度分别为 29.8%和 77.3%; PMSC type 4 与 PMSC type 7 的序列长度相同但相似度为 52.6%。进化分析表明, PMSC type 4 和 PMSC type 7 均由完整序列菌株进化而来, 且 PMSC type 7 与原始菌株 *inlA* 基因的进化关系更

近。本研究在食源性单增李斯特菌的毒力及进化研究中具有一定的意义。

REFERENCES

- [1] Shetty A, McLauchlin J, Grant K, et al. Outbreak of *Listeria monocytogenes* in an oncology unit associated with sandwiches consumed in hospital[J]. Journal of Hospital Infection, 2009, 72(4): 332-336
- [2] Angelo KM, Conrad AR, Saupé A, et al. Multistate outbreak of *Listeria monocytogenes* infections linked to whole apples used in commercially produced, prepackaged caramel apples: United States, 2014-2015[J]. Epidemiology & Infection, 2017, 145(5): 848-856
- [3] Jackson BR, Tarr C, Strain E, et al. Implementation of nationwide real-time whole-genome sequencing to enhance listeriosis outbreak detection and investigation[J]. Clinical Infectious Diseases, 2016, 63(3): 380-386
- [4] Jiao Y, Zhang W, Ma JR, et al. Early onset of neonatal listeriosis[J]. Pediatrics International, 2011, 53(6): 1034-1037
- [5] Wang H, Wang Y, Zhang ZD, et al. Clinical and epidemiological characteristics of three cases of *Listeria monocytogenes* infection[J]. Chinese Journal of Zoonoses, 2015, 31(7): 678-680 (in Chinese)
王红, 王艳, 张正东, 等. 3 例单增李斯特菌感染的病原学、临床及流行病学特征分析[J]. 中国人兽共患病学报, 2015, 31(7): 678-680
- [6] Wu S, Wu QP, Zhang JM, et al. *Listeria monocytogenes* prevalence and characteristics in retail raw foods in China[J]. PLoS One, 2015, 10(8): e0136682
- [7] Ma AJ, Wang Y, Wang Y, et al. Molecular epidemiological characteristics of *Listeria monocytogenes* isolated from raw meat samples in some regions of Beijing, China[J]. Chinese Journal of Zoonoses, 2015, 31(5): 403-407 (in Chinese)
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
- [8] Li ZY, Jia JT, Zeng J, et al. Identification of *Listeria monocytogenes* from imported *Trachurus japonicus* and prokaryotic expression of flagellin[J]. Microbiology China, 2014, 41(6): 1160-1167 (in Chinese)
李正义, 贾俊涛, 曾静, 等. 进口竹荚鱼中单核细胞增生李斯特菌的鉴定及其鞭毛蛋白的原核表达[J]. 微生物学通报, 2014, 41(6): 1160-1167
- [9] Ragon M, Wirth T, Hollandt F, et al. A new perspective on *Listeria monocytogenes* evolution[J]. PLoS Pathogen, 2008, 4(9): e1000146
- [10] Ward TJ, Ducey TF, Usgaard T, et al. Multilocus genotyping assays for single nucleotide polymorphism-based subtyping of *Listeria monocytogenes* isolates[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2008, 74(24): 7629-7642
- [11] Nightingale KK, Windham K, Martin KE, et al. Select *Listeria monocytogenes* subtypes commonly found in foods carry distinct nonsense mutations in *inlA*, leading to expression of truncated and

- secreted internalin A, and are associated with a reduced invasion phenotype for human intestinal epithelial cells[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(12): 8764-8772
- [12] Wang Y, Zhao AL, Zhu RF, et al. Genetic diversity and molecular typing of *Listeria monocytogenes* in China[J]. *BMC Microbiology*, 2012, 12: 119
- [13] Wu S, Wu QP, Zhang JM, et al. Analysis of multilocus sequence typing and virulence characterization of *Listeria monocytogenes* isolates from Chinese retail ready-to-eat food[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 168
- [14] Yan H, Neogi SB, Mo ZY, et al. Prevalence and characterization of antimicrobial resistance of foodborne *Listeria monocytogenes* isolates in Hebei province of Northern China, 2005-2007[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2010, 144(2): 310-316
- [15] Rabinovich L, Sigal N, Borovok I, et al. Prophage excision activates *Listeria* competence genes that promote phagosomal escape and virulence[J]. *Cell*, 2012, 150(4): 792-802
- [16] Wang X, Li J, Zhang ZH, et al. Comparative genomic analysis of one *Listeria monocytogenes* containing five prophages[J]. *Genomics and Applied Biology*, 2017, 36(2): 670-685 (in Chinese)
王旭, 李俊, 张昭寰, 等. 一株含有 5 个原噬菌体的单增李斯特菌比较基因组分析[J]. *基因组学与应用生物学*, 2017, 36(2): 670-685
- [17] Kuenne C, Billion A, Mraheil MA, et al. Reassessment of the *Listeria monocytogenes* pan-genome reveals dynamic integration hotspots and mobile genetic elements as major components of the accessory genome[J]. *BMC Genomics*, 2013, 14: 47
- [18] Chenal-Francois V, Lopez J, Cantinelli T, et al. Worldwide distribution of major clones of *Listeria monocytogenes*[J]. *Emerging Infectious Diseases*, 2011, 17(6): 1110-1112
- [19] Liu EL, Yuan MY, Deng JY, et al. Multilocus sequence typing of *Listeria monocytogenes* isolated from imported and exported animal-derived foods[J]. *Food Science*, 2016, 37(12): 212-216 (in Chinese)
刘二龙, 袁慕云, 邓建英, 等. 出入境动物源性食品中单增李斯特菌的多位点序列分型分析[J]. *食品科学*, 2016, 37(12): 212-216
- [20] Moura A, Criscuolo A, Pouseele H, et al. Whole genome-based population biology and epidemiological surveillance of *Listeria monocytogenes*[J]. *Nature Microbiology*, 2016, 2(2): 16185
- [21] Fretz R, Pichler J, Sagel U, et al. Update: multinational listeriosis outbreak due to 'Quargel', a sour milk curd cheese, caused by two different *L. monocytogenes* serotype 1/2a strains, 2009-2010[J]. *EuroSurveillance*, 2010, 15(16): 19543
- [22] Zhang JM, Cao GJ, Xu XB, et al. Evolution and diversity of *Listeria monocytogenes* from clinical and food samples in Shanghai, China[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 1138
- [23] Halbedel S, Prager R, Fuchs S, et al. Whole-genome sequencing of recent *Listeria monocytogenes* isolates from Germany reveals population structure and disease clusters[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2018, 56(6): e00119-18
- [24] Toledo V, den Bakker HC, Hormazábal JC, et al. Genomic diversity of *Listeria monocytogenes* isolated from clinical and non-clinical samples in Chile[J]. *Genes*, 2018, 9(8): 396
- [25] Gelbířová T, Koláčková I, Pantůček R, et al. A novel mutation leading to a premature stop codon in *inlA* of *Listeria monocytogenes* isolated from neonatal listeriosis[J]. *New Microbiologica*, 2015, 38(2): 293-296
- [26] van Stelten A, Simpson JM, Ward TJ, et al. Revelation by single-nucleotide polymorphism genotyping that mutations leading to a premature stop codon in *inlA* are common among *Listeria monocytogenes* isolates from ready-to-eat foods but not human listeriosis cases[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2010, 76(9): 2783-2790
- [27] Manuel CS, van Stelten A, Wiedmann M, et al. Prevalence and distribution of *Listeria monocytogenes inlA* alleles prone to phase variation and *inlA* alleles with premature stop codon mutations among human, food, animal, and environmental isolates[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2015, 81(24): 8339-8345
- [28] Palma F, Pasquali F, Lucchi A, et al. Whole genome sequencing for typing and characterisation of *Listeria monocytogenes* isolated in a rabbit meat processing plant[J]. *Italian Journal of Food Safety*, 2017, 6(3): 6879