

# 单核细胞增生李斯特氏菌微量生化鉴定试剂盒应用效果研究

李艳嫦<sup>1</sup>, 李泽康<sup>1</sup>, 张焕彬<sup>1</sup>, 姜翠红<sup>1</sup>, 蔡芷荷<sup>1,2\*</sup>, 徐环<sup>1</sup>

<sup>1</sup>广东环凯微生物科技有限公司, 广东 广州

<sup>2</sup>广东环凯生物科技有限公司, 广东 肇庆

收稿日期: 2024年1月22日; 录用日期: 2024年5月2日; 发布日期: 2024年5月13日

## 摘要

目的: 评价本实验室研制的一步加样单核细胞增生李斯特氏菌微量生化鉴定试剂盒(简称EasyID)的可靠性和便捷性。方法: 采用39株测试菌(目标菌25株和非目标菌14株), 对EasyID和其他两个厂家同种生化鉴定试剂盒(以下简称GS1、GS2)及传统管状生化鉴定套盒(以下简称CTG)进行测试, 以GB4789.30-2016中提供的标准生化反应为参考。结果: 在同等条件下, 25株目标菌单核细胞增生李斯特氏菌在EasyID和GS1培养24 h, 各项生化反应结果与标准反应符合率均为100%, 但GS2和CTG需延长培养至48 h各项生化反应结果与标准反应符合率才达到100%; 14株非目标在EasyID和GS1培养24 h, 各项生化反应结果与标准反应符合率均为100%, 但GS1、GS2和CTG需延长至48 h各项生化反应结果与标准反应符合率才达到100%。结论: EasyID操作便捷、反应速度和准确性优于GS1、GS2和CTG, 因而可替代传统管状生化鉴定套盒应用于食源性致病菌单核细胞增生李斯特氏菌生化鉴定中。

## 关键词

微量生化鉴定, 单核细胞增生李斯特氏菌

## Study on the Application Effect of Microchemical Identification Kit for *Listeria monocytogenes*

Yanchang Li<sup>1</sup>, Zekang Li<sup>1</sup>, Huanbin Zhang<sup>1</sup>, Cuihong Jiang<sup>1</sup>, Zhihe Cai<sup>1,2\*</sup>, Huan Xu<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Guangdong Huankai Microbial Sci & Tech. Co. Ltd., Guangzhou Guangdong

<sup>2</sup>Guangdong Huankai Biologic Sci & Tech. Co. Ltd., Zhaoqing Guangdong

Received: Jan. 22<sup>nd</sup>, 2024; accepted: May 2<sup>nd</sup>, 2024; published: May 13<sup>th</sup>, 2024

\*通讯作者。

文章引用: 李艳嫦, 李泽康, 张焕彬, 姜翠红, 蔡芷荷, 徐环. 单核细胞增生李斯特氏菌微量生化鉴定试剂盒应用效果研究[J]. 食品与营养科学, 2024, 13(2): 169-176. DOI: 10.12677/hjfn.2024.132021

## Abstract

**Objective:** To evaluate the reliability and convenience of EasyID, a one-step sampling kit for the identification of *Listeria monocytogenes*. **Methods:** 39 strains (25 target strains, 14 non-target strains) were tested, EasyID and two other biochemical test kits (GS1, GS2) and the traditional tubular biochemical test kit (CTG) were tested, and the standard biochemical reaction provided in GB4789.30-2016 was taken as reference. **Results:** Under the same culture condition, all the biochemical reaction results of 25 target strains of *Listeria monocytogenes* in EasyID and GS1 for 24 hours were in accordance with the standard reaction rate of 100%, however, GS2 and CTG had to be cultured for 48 h before the coincidence rate of all biochemical reaction results with standard reaction reached 100%, and the coincidence rate of all biochemical reaction results with standard reaction was 100% for 14 non-target strains cultured for 24 h in EasyID and GS1, however, GS1, GS2 and CTG need to be extended to 48 hours before the agreement rate of all biochemical reaction results with standard reaction can reach 100%. **Conclusion:** EasyID is easier to operate, faster and more accurate than GS1, GS2 and CTG. Therefore, it can be used in the biochemical identification of food borne pathogenic bacteria *Listeria monocytogenes* instead of the traditional tubular biochemical identification kit.

## Keywords

Microbiochemical Identification, *Listeria monocytogenes*

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

单核细胞增生李斯特氏菌(*Listeria monocytogenes*)是一种典型的能够寄生于巨噬细胞、上皮细胞、内皮细胞和肝细胞胞内的寄生菌,一旦引起人畜共患传染病的发生,其病死率高达 20%~70% [1] [2] [3] [4]。美国 FDA 规定即食食品中不得检出单核细胞增生李斯特氏菌,而世界卫生组织将其列为 20 世纪 90 年代四大食源性致病菌之一。单核细胞增生李斯特氏菌隶属于李斯特菌属,根据《伯杰氏鉴定细菌学手册》第 9 版,将李斯特菌属分为 7 种:单核细胞增生李斯特菌、伊氏李斯特菌、无害李斯特菌、威氏李斯特菌、利斯氏李斯特菌、格氏李斯特菌、默氏李斯特菌。对人和动物具有致病力的有单核细胞增生李斯特氏菌和伊氏李斯特菌,其余均为非致病菌[5] [6] [7]。鉴于单核细胞增生李斯特氏菌在我国的检出率居高不下,一直以来我国食品致病菌限量标准 GB 29921 规定,不得在肉制品中检出单核细胞增生李斯特氏菌 [8]。GB4789.30 中规定了单核细胞增生李斯特氏菌常规分离、鉴定方法。依据国标的生化鉴定原则,结合微量生化鉴定较传统生化试验方法具有快速性、准确性、微量化和操作简便等优点,我们实验室研制了单核细胞增生李斯特氏菌微量生化鉴定试剂盒:主要研究内容包括将单核细胞增生李斯特氏菌生化鉴定重要生化反应的七叶苷、甘露醇、葡萄糖、麦芽糖、鼠李糖、木糖、MR、VP 共 8 种基质进行微量干燥负载于一种载体中,并全新的应用了一步加样分液技术。这试剂盒微量干燥技术延长了试剂盒的保质期,一步分液技术使操作简单且可大大减少接种工作量和错加、漏加概率,而可视化的观察窗使对结果的观察更加便利。为评价本实验室研制的生化鉴定试剂盒的鉴定性能,特与传统管状生化鉴定套盒以及其他两厂家微量生化鉴定试剂盒进行对比,现将对比结果报道如下。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 材料与试剂

1) 试剂: 本实验室研制的单核细胞增生李斯特氏菌微量生化鉴定试剂盒(以下简称 EasyID), 批号为 A0024T; 国内 A 公司单核细胞增生李斯特氏菌生化鉴定试剂盒(以下简称 GS1), 批号为 190510; 国内 B 公司生产的单核细胞增生李斯特氏菌生化鉴定试剂盒(以下简称 GS2), 批号为 20190709; 广东环凯微生物科技有限公司生产的传统管状生化鉴定套盒(以下简称 CTG), 批号为 5109273; 血平板批号 J1977Y。

2) 测试菌株: 39 株试验菌株(见表 1), 均来自广东环凯微生物科技有限公司。

Table 1. Test strain

表 1. 试验用菌株

序	菌株名称	菌株编号	序	菌株名称	菌株编号
1	单核细胞增生李斯特氏菌	ATCC 19115	21	单核细胞增生李斯特氏菌	FSCC(I) 178666
2	单核细胞增生李斯特氏菌	CMCC(B)54002	22	单核细胞增生李斯特氏菌	FSCC(I) 178669
3	单核细胞增生李斯特氏菌	CMCC(B)54003	23	单核细胞增生李斯特氏菌	FSCC(I) 178670
4	单核细胞增生李斯特氏菌	CMCC(B)54004	24	单核细胞增生李斯特氏菌	FSCC(I) 178665
5	单核细胞增生李斯特氏菌	CMCC(B)54007	25	单核细胞增生李斯特氏菌	FSCC(I) 178758
6	单核细胞增生李斯特氏菌	CMCC(B)54008	26	英诺克李斯特氏菌	ATCC 33090
7	单核细胞增生李斯特氏菌	CMCC(B)54009	27	英诺克李斯特氏菌	CMCC(B)54103
8	单核细胞增生李斯特氏菌	CMCC(B)54010	28	英诺克李斯特氏菌	CMCC(B)54104
9	单核细胞增生李斯特氏菌	CMCC(B)54011	29	英诺克李斯特氏菌	CMCC(B)54106
10	单核细胞增生李斯特氏菌	CMCC(B)54012	30	英诺克李斯特氏菌	CMCC(B)54107
11	单核细胞增生李斯特氏菌	CICC 21583	31	英诺克李斯特氏菌	FSCC(I) 178720
12	单核细胞增生李斯特氏菌	FSCC(I) 178628	32	英诺克李斯特氏菌	FSCC(I) 178847
13	单核细胞增生李斯特氏菌	FSCC(I) 178632	33	英诺克李斯特氏菌	FSCC(I) 17801987
14	单核细胞增生李斯特氏菌	FSCC(I) 178643	34	威氏李斯特氏菌	CICC 21672
15	单核细胞增生李斯特氏菌	FSCC(I) 178645	35	格氏李斯特氏菌	ATCC 19120
16	单核细胞增生李斯特氏菌	FSCC(I) 178646	36	格氏李斯特氏菌	FSCC(I) 17801330
17	单核细胞增生李斯特氏菌	FSCC(I) 178657	37	格氏李斯特氏菌	FSCC(I) 178806
18	单核细胞增生李斯特氏菌	FSCC(I) 178661	38	斯氏李斯特氏菌	ATCC 35967
19	单核细胞增生李斯特氏菌	FSCC(I) 178663	39	伊氏李斯特氏菌	ATCC 19119
20	单核细胞增生李斯特氏菌	FSCC(I) 178664			

### 2.2. 仪器和设备

高压灭菌锅(Hirayama); DNP-9272 型恒温培养箱(广东环凯微生物科技有限公司)。

### 2.3. 方法

#### 2.3.1. EasyID 一步加样操作方法

掀开贴膜, 用微量移液器小心注入 2 mL 菌悬液于分液槽中, 贴回贴膜, 并依次抬起左右两侧数次,

使菌液液面达同一度，然后水平托起分液槽端，菌液自然分流到各反应孔中，贴紧薄膜并放回底座，再按说明书操作和相应条件进行培养。

### 2.3.2. GS1 操作方法

打开上盖，使用移液器分别向各个反应孔注入 200  $\mu\text{L}$  菌悬液(防止重复加样)，按说明书操作和相应条件进行培养。

### 2.3.3. GS2 操作方法

打开上盖，小心撕开封口膜并丢弃(谨防液态培养基溅出)，使用移液器分别向各个反应孔注入 100  $\mu\text{L}$  菌悬液(防止重复加，漏加)，按说明书操作和相应条件进行培养。

### 2.3.4. CTG 操作方法

逐管打开胶塞，使用移液器分别向各反应管加入 100  $\mu\text{L}$  菌悬液(防止重复加，漏加)，按说明书操作和相应条件进行培养。

### 2.3.5. 结果记录

按照相应试剂盒说明书进行结果记录。单核细胞增生李斯特氏菌生化特征与其他李斯特氏菌的区别 [9]，如下表 2。

**Table 2.** Biochemical characteristics of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria*

**表 2.** 单核细胞增生李斯特氏菌生化特征与其他李斯特氏菌的区别

菌种	七叶苷	甘露醇	葡萄糖	麦芽糖	鼠李糖	木糖	MR	VP	动力	过氧化氢酶	溶血反应
单核细胞增生李斯特氏菌( <i>L. monocytogenes</i> )	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+
英诺克李斯特氏菌( <i>L. innocua</i> )	+	-	+	+	v	-	+	+	+	+	-
威氏李斯特氏菌( <i>L. welshimeri</i> )	+	-	+	+	v	+	+	+	+	+	-
格氏李斯特氏菌( <i>L. grayi</i> )	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-
斯氏李斯特氏菌( <i>L. seeligeri</i> )	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
伊氏李斯特氏菌( <i>L. ivanovii</i> )	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+

注：+阳性；-阴性；V 反应不定。

## 3. 结果与分析

### 3.1. 四种生化鉴定试剂盒对目标菌单核细胞增生李斯特氏菌的鉴定效果比较

用 EasyID、GS1、GS2 与 CTG 四种生化鉴定试剂盒对 25 株单核细胞增生李斯特氏菌进行测试，结果见表 3：在相同培养条件下培养 24 h，EasyID 各项生化结果均与标准反应一致，符合率 100%；而 GS1 试剂盒缺少动力和过氧化氢酶反应项，这两项无结果，其他与标准反应的符合率均为 100%；在 GS2 上的 MR 反应稍迟缓，需培养至 48 小时才表现阳性，除此外其他均与标准反应一致；在 CTG 上 25 株目标菌在的麦芽糖、鼠李糖、MR 也是反应稍迟缓，需培养至 48 小时才表现为阳性，除此外其他均与标准反应

一致；由此可见，25 株目标菌在 EasyID 上所有反应最灵敏、最准确。

**Table 3.** The results of 25 target bacteria using four biochemical identification kits  
**表 3.** 四种生化鉴定试剂盒对 25 株目标菌单核细胞增生李斯特氏菌的鉴定结果

	EasyID	GS1	GS2	CTG	标准反应
七叶苷	25+	25+	25+	25+	+
甘露醇	25-	25-	25-	25-	-
葡萄糖	25+	25+	25+	25+	+
麦芽糖	25+	25+	25+	25*	+
鼠李糖	25+	25+	25+	25*	+
木糖	25-	25-	25-	25-	-
MR	25+	25+	9+, 16*	8+, 17*	+
VP	25+	25+	25+	25+	+
动力	25+	/	25+	25+	+
过氧化氢酶	25+	/	25+	25+	+
符合率	100%	100%	100%	100%	

注：“+”阳性反应；“-”阴性反应；“\*”表示需延长培养至 48 h 才显阳性；“+、-、\*前面数字”表示出现此结果的菌株数量；“/”表示该试剂盒无此反应。

### 3.2. 四种生化鉴定试剂盒对非目标菌的鉴定效果比较

用 EasyID、GS1、GS2 与 CTG 对 14 株非目标菌进行测试，结果见表 4：14 株非目标菌在相同培养条件下培养 24 h，在 EasyID 上各项反应结果与标准反应符合率为 100%；在 GS1 上 1 株英诺克李斯特氏菌、2 株格氏李斯特氏菌、1 株威氏李斯特氏菌 VP 反应稍迟缓，在 GS2 和 CTG 上 6 株英诺李斯特氏菌鼠李糖、7 株英诺李斯特氏菌和 1 株格氏李斯特氏菌 MR 和 VP、1 株威氏李斯特氏菌木糖和 VP、1 株斯氏李斯特氏菌和 1 株威氏李斯特氏菌的木糖、MR 和 VP 这些反应表现迟缓，延长培养至 48 小时，GS1、GS2 与 CTG 各项反应结果与标准反应符合率也是 100%。

由于英诺克李斯特氏菌和威氏李斯特氏菌鼠李糖标准反应不定，也就是说，同一个种不同菌株在此项反应有的表现阳性+、有的表现为阴性-；本在测试中 8 株英诺克李斯特氏菌有 6 株鼠李糖阳性+，有 2 株鼠李糖阴性-，而威氏李斯特氏菌 1 株鼠李糖阴性-，因此这两种测试菌中鼠李糖反应结果表示与标准反应的不同。

**Table 4.** The results of 14 non-target bacteria using three trace biochemical identification kits and traditional single tubes  
**表 4.** 四种生化鉴定试剂盒对 14 株非目标菌的鉴定结果

非目标测试菌株名称	数量(株)	测试组项目	七叶苷	甘露醇	葡萄糖	麦芽糖	鼠李糖	木糖	MR	VP	动力	过氧化氢酶	符合率
英诺克李斯特氏菌( <i>L. innocua</i> )	8	EasyID	8+	8-	8+	8+	6+, 2-	8-	8+	8+	8+	8+	100%
		GS1	8+	8-	8+	8+	6+, 2-	8-	8+	7+, 1*	8+	8+	100%
		GS2	8+	8-	8+	8+	6*, 2-	8-	1+, 7*	1+, 7*	8+	8+	100%
		CTG	8+	8-	8+	8+	6*, 2-	8-	1+, 7*	1+, 7*	8+	8+	100%

续表

威氏李斯特氏菌 ( <i>L. welshimeri</i> )	1	EasyID	1+	1-	1+	1+	1-	1+	1+	1+	1+	1+	100%
		GS1	1+	1-	1+	1+	1-	1+	1+	1*	/	/	100%
		GS2	1+	1-	1+	1+	1-	1*	1+	1*	1+	1+	100%
		CTG	1+	1-	1+	1+	1-	1*	1+	1*	1+	1+	100%
格氏李斯特氏菌 ( <i>L. grayi</i> )	3	EasyID	3+	3+	3+	3+	3-	3-	3+	3+	3+	3+	100%
		GS1	3+	3+	3+	3+	3-	3-	3+	1+, 2*	/	/	100%
		GS2	3+	3+	3+	3+	3-	3-	2+, 1*	2+, 1*	3+	3+	100%
		CTG	3+	3+	3+	3+	3-	3-	2+, 1*	2+, 1*	3+	3+	100%
斯氏李斯特氏菌 ( <i>L. seeligeri</i> )	1	EasyID	1+	1-	1+	1+	1-	1+	1+	1+	1+	1+	100%
		GS1	1+	1-	1+	1+	1-	1+	1+	1+	/	/	100%
		GS2	1+	1-	1+	1+	1-	1*	1*	1*	1+	1+	100%
		CTG	1+	1-	1+	1+	1-	1*	1*	1*	1+	1+	100%
伊氏李斯特氏菌 ( <i>L. ivanovii</i> )	1	EasyID	1+	1-	1+	1+	1-	1+	1+	1+	1+	1+	100%
		GS1	1+	1-	1+	1+	1-	1+	1+	1+	/	/	100%
		GS2	1+	1-	1+	1+	1-	1*	1*	1*	1+	1+	100%
		CTG	1+	1-	1+	1+	1-	1*	1*	1*	1+	1+	100%

注：“+”阳性反应；“-”阴性反应；“V”反应不定；“\*”表示需延长培养至 48 h 才显阳性；“+、-、\*前面数字”表示出现此结果的菌株数量；“/”表示该试剂盒无此反应。

#### 4. 结论与讨论

单核细胞增生李斯特氏菌属于革兰氏阳性小杆菌，过氧化氢酶阳性，氧化酶阴性。能发酵多种糖类，产酸不产气，如发酵葡萄糖、乳糖、水杨素、麦芽糖、鼠李糖、七叶苷、蔗糖(迟发酵)、山梨醇、海藻糖和果糖。不发酵木糖、甘露醇、肌醇、阿拉伯糖、侧金盏花醇、棉子糖、卫矛醇和纤维二糖。不利用枸橼酸盐，40%胆汁不溶解，吡啶、硫化氢、尿素、明胶液化、硝酸盐还原、赖氨酸和鸟氨酸均阴性，VP、甲基红和精氨酸双水解阳性[10] [11]。然而在研究过程中我们发现，不同菌株糖发酵活性差异较大，非常规的碳源总有少量菌株发酵缓慢，因而糖发酵孔在最短结果观察时间内结果是阴性的，培养需延长至最长结果时间，避免假阴性结果；同时 MR/VP 反应与测试菌接种量有直接关系，但如果同样接种量在不同测试组中有反应快慢差异，说明不同测试组试剂对测试菌促生长代谢性能有差异。

随着研究的不断深入，单核细胞增生李斯特氏菌的生理学和发病机制逐渐被阐明：溶血素(hly)是单核细胞增生李斯特氏菌的主毒力因子之一，能使单核细胞增生李斯特氏菌逃避吞噬体的吞噬作用，损伤红细胞、巨噬细胞(裂解溶酶体膜和吞噬体膜)和血小板[12] [13]。因此，在本次试验中，虽然 8 株英诺克李斯特氏菌中有 6 株(鼠李糖阳性)与单核细胞增生李斯特氏菌典型特征一致，但英诺克李斯特氏菌不产溶血素在血平板上无溶血现象，而单核细胞增生李斯特氏菌产溶血素在血平板上产生清晰溶血圈。因此，结合血平板的溶血试验，测试的四种生化鉴定试剂盒均可将目标菌单核细胞增生李斯特氏菌和非目标菌进行有效区分。

本文比较研究的四种生化鉴定试剂盒性能，从操作便捷性角度比较，EasyID 采用一步加样法：把菌悬液一次加到鉴定条的分液槽里，左右端平再水平倾斜板条让样液自然流入各个反应孔；与 GS1、GS2 与 CTG 逐个加样操作比较，操作简单快捷，不但节省了人力物力，也降低了错加漏加的风险。从反应速

度和准确性比较, 测试的目标菌和非目标菌在 EasyID 上  $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  培养 24 h 各项反应结果均与标准一致, 而测试菌在 GS1、GS2 与 CTG 上  $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  培养均需延长至 48 h, MR 和 VP 迟缓反应较多, 容易导致假阴性。可见, EasyID 反应速度和准确性均优于 GS1、GS2 与 CTG。

总是来说, EasyID 具备一步加样方便便捷性、反应速度快准确性高等优势, 因而 EasyID 可作为传统管状生化试剂盒的替代试剂在常规鉴定中使用。

随着新技术的不断问世, 分子鉴定、免疫检测、色谱学检测等技术的日益成熟[14]-[20]。EasyID 微量生化鉴定试剂盒虽然操作简便, 但操作与结果判读对人的依赖程度仍然较高; 因此, EasyID 微量生化鉴定试剂盒有待进一步配套自动化设备和数据库, 实现智能化升级, 让广大检测人员的工作更加高效便捷。

## 基金项目

国家重点研发计划(No. 2018YFC1604201), 广州市科技计划项目(No. 201604016068)。

## 参考文献

- [1] Roasto, M., Meremäe, K., Kramarenko, T., *et al.* (2017) *Listeria monocytogenes* Prevalence in Ready-to-Eat Food Products. *Agraarteadus*, **28**, 25-31.
- [2] 沈莹. 单核细胞增生性李斯特菌在食品安全中的研究近况[J]. 中国热带医学, 2008, 8(3): 484-487.
- [3] Koopmans, M.M., Bijlsma, M.W., Brouwer, M.C., *et al.* (2017) *Listeria monocytogenes* Meningitis in the Netherlands, 1985-2014: A Nationwide Surveillance Study. *Journal of Infection*, **75**, 12-19. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2017.04.004>
- [4] Sheng, L., Edwards, K., Tsai, H.C., *et al.* (2017) Fate of *Listeria monocytogenes* on Fresh Apples under Different Storage Temperatures. *Frontiers in Microbiology*, **8**, Article 1396. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01396>
- [5] Zhu, Q., Gooneratne, R. and Hussain, M. (2017) *Listeria monocytogenes* in Fresh Produce: Outbreaks, Prevalence and Contamination Levels. *Foods*, **6**, 21. <https://doi.org/10.3390/foods6030021>
- [6] Thakur, M., Asrani, R.K. and Patial, V. (2018) *Listeria monocytogenes*: A Food-Borne Pathogen. In: Holban, A.M. and Grumezescu, A.M., Eds., *Foodborne Diseases*, Academic Press, Cambridge, 157-192. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811444-5.00006-3>
- [7] Kataoka, A., Wang, H., Elliott, P.H., *et al.* (2017) Growth of *Listeria monocytogenes* in Thawed Frozen Foods. *Journal of Food Protection*, **80**, 447-453. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-16-397R>
- [8] 中华人民共和国国家卫生健康委员会, 国家食品药品监督管理总局. GB 29921-2021 食品安全国家标准 预包装食品中致病菌限量[S]. 北京: 中国标准出版社, 2021.
- [9] 中华人民共和国国家卫生健康委员会, 国家食品药品监督管理总局. GB 4789.30-2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验 单核细胞增生李斯特氏菌检验[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [10] Orsi, R.H. and Wiedmann, M. (2016) Characteristics and Distribution of *Listeria* Spp., Including *Listeria* Species Newly Described Since 2009. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **100**, 5273-5287. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7552-2>
- [11] Yin, Y., Yao, H., Doijad, S., *et al.* (2019) A Hybrid Sub-Lineage of *Listeria monocytogenes* Comprising Hypervirulent Isolates. *Nature Communications*, **10**, Article No. 4283. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-12072-1>
- [12] Radoshevich, L. and Cossart, P. (2018) *Listeria monocytogenes*: Towards a Complete Picture of Its Physiology and Pathogenesis. *Nature Reviews Microbiology*, **16**, 32-46. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.126>
- [13] Buchanan, R.L., Gorris, L.G.M., Hayman, M.M., *et al.* (2017) A Review of *Listeria monocytogenes*: An Update on Outbreaks, Virulence, Dose-Response, Ecology, and Risk Assessments. *Food Control*, **75**, 1-13. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.12.016>
- [14] Wang, W., Liu, L., Song, S., *et al.* (2017) Identification and Quantification of Eight *Listeria* Monocytogene Serotypes from *Listeria* Spp. Using a Gold Nanoparticle-Based Lateral Flow Assay. *Microchimica Acta*, **184**, 715-724. <https://doi.org/10.1007/s00604-016-2028-8>
- [15] Hyden, P., Pietzka, A., Lennkh, A., *et al.* (2016) Whole Genome Sequence-Based Serogrouping of *Listeria monocytogenes* Isolates. *Journal of Biotechnology*, **235**, 181-186. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.06.005>

- [16] Day, J.B. and Hammack, T.S. (2019) Immuno-Detection and Differentiation of *Listeria monocytogenes* and *Listeria ivanovii* in Stone Fruits. *Journal of Applied Microbiology*, **127**, 1848-1858. <https://doi.org/10.1111/jam.14440>
- [17] Thouvenot, P., Vales, G., Bracq-Dieye, H., *et al.* (2018) MALDI-TOF Mass Spectrometry-Based Identification of *Listeria* Species in Surveillance: A Prospective Study. *Journal of Microbiological Methods*, **144**, 29-32. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2017.10.009>
- [18] Välimaa, A.L., Tilsala-Timisjärvi, A. and Virtanen, E. (2015) Rapid Detection and Identification Methods for *Listeria monocytogenes* in the Food Chain—A Review. *Food Control*, **55**, 103-114. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.02.037>
- [19] Mao, Y., Huang, X., Xiong, S., *et al.* (2016) Large-Volume Immunomagnetic Separation Combined with Multiplex PCR Assay for Simultaneous Detection of *Listeria monocytogenes* and *Listeria ivanovii* in Lettuce. *Food Control*, **59**, 601-608. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.06.048>
- [20] Law, J.W.F., Ab Mutalib, N.S., Chan, K.G., *et al.* (2015) An Insight into the Isolation, Enumeration, and Molecular Detection of *Listeria monocytogenes* in Food. *Frontiers in Microbiology*, **6**, Article 1227. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01227>