

范子秋, 曹青, 肖敏, 等. 畜禽屠宰环节中单增李斯特菌的分离鉴定及分离株生物学特性分析 [J]. 畜牧与兽医, 2025, 57 (3): 58-65.
FAN Z Q, CAO Q, XIAO M, et al. Identification and characteristics analysis of *Listeria monocytogenes* in slaughter process livestock and poultry [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2025, 57 (3): 58-65.

畜禽屠宰环节中单增李斯特菌的分离鉴定及 分离株生物学特性分析

范子秋¹, 曹青¹, 肖敏², 王子坚², 马永辉¹, 芝吉¹, 赵学慧¹, 张浩浩¹,
何曾文¹, 邓静¹, 马金锐¹, 崇倩¹, 张坤中¹, 薛慧文^{1*}, 苟惠天^{1*}

(1. 甘肃农业大学动物医学院, 甘肃 兰州 730070;
2. 甘肃省动物疫病预防控制中心, 甘肃 兰州 730030)

摘要: 通过对畜禽屠宰环境和畜禽肉中单增李斯特菌 (*Listeria monocytogenes*, LM) 的污染情况及其分离株生物学特性进行分析, 以便为畜禽屠宰和销售环节中 LM 风险监测提供数据, 为防控 LM 的污染奠定基础。随机采取屠宰场环境、畜禽胴体及污水样品, 参照国标方法经增菌、分离, 对可疑为 LM 的菌落进行 PCR 鉴定, 对分离菌株进行血清分型、多位点序列分型 (MLST)、生物被膜形成能力、生长曲线和消毒剂最小抑菌浓度 (MIC) 的分析。结果: 1 239 份样本检出 58 株单增李斯特菌, 检出率为 4.68%, 胴体、屠宰环境、屠宰污水在各自样本中检出率分别为 4.81%、4.80%、3.48%; 58 株 LM 有 1/2a (8.62%)、1/2b (44.83%)、1/2c (46.55%) 这 3 种血清型, 19 种序列型 (ST); 25 株 LM 分离株生物被膜和生长能力强于参考株; 甲醛溶液、苯扎溴铵、碘溶液和氢氧化钠 4 种消毒剂对 7-10 株 LM 分离株的 MIC 值高于参考株。综上, 畜禽屠宰场及农贸市场中存在 LM 污染, 且菌株具有一定的抗逆性。

关键词: 单增李斯特菌; 多位点序列分型; 血清型; 生长曲线; 消毒剂耐受

中图分类号: S855 **文献标志码:** A **文章编号:** 0529-5130(2025)03-0058-08

Identification and characteristics analysis of *Listeria monocytogenes* in slaughter process livestock and poultry

FAN Ziqiu¹, CAO Qing¹, XIAO Min², WANG Zijian², MA Yonghui¹, ZHI Ji¹, ZHAO Xuehui¹, ZHANG Haohao¹,
HE Zengwen¹, DENG Jing¹, MA Jingrui¹, CHONG Qian¹, ZHANG Kunzhong¹, XUE Huiwen^{1*}, GOU Huitian^{1*}

(1. College of Veterinary Medicine, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China;
2. Animal Disease Control and Prevention Center of Gansu Province, Lanzhou 730030, China)

Abstract: This study was to analyze the contamination of *Listeria monocytogenes* (LM) in slaughterhouses in Gansu Province and the biological characteristics of LM isolates. Carcasses or environmental samples and sewage samples from slaughterhouses were collected and randomly separated and identified according to National Standard. Then, serotype, multilocus sequence type (MLST), biofilm-forming ability, growth curve and disinfectant minimum inhibitory concentration (MIC) of LM were analyzed. The results showed that there were 58 strains of LM detected in 1 239 samples, with a separation rate was 4.68%, and 4.81% (14/291) from carcass and environment, 4.80% (40/833) and 3.48% (4/115) in sewage, respectively. The 58 strains of LM showed three serotypes: 1/2a (8.62%), 1/2b (44.83%), 1/2c (46.55%), and 19 ST types. There were 25 LM isolates with higher biofilm and growth ability, compared with those of the standard isolates. However, there were 7-10 LM isolates with higher MIC to formaldehyde solution, benzal ammonium bromide, iodine solution and sodium hydroxide to standard strains. There was LM pollution in the livestock slaughterhouses and agricultural products market, and those bacteria possessed certain stress resistance. Therefore, standardizing the disinfection process for the appliances, environment and other aspects in slaugh-

收稿日期: 2024-03-22; 修回日期: 2025-01-28

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31960726, 32060822); 甘肃省现代丝路寒旱农业科技支撑项目 (GSLK-2022-17); 甘肃省农业科技支撑项目 (KJZC-2024-20); 甘肃省青年博士支持项目 (2024QB-077)

第一作者: 范子秋, 男, 硕士

* 通信作者: 薛慧文, 教授, 研究方向为兽医公共卫生, E-mail: xuehw@gsau.edu.cn; 苟惠天, 教授, 研究方向为兽医公共卫生, E-mail: gouht@gsau.edu.cn。

ter houses and livestock and poultry products markets and optimizing the use of disinfectants would reduce the risk of human and animal infection with LM in the slaughtering process.

Keywords: *Listeria monocytogenes*; MLST; serotype; growth curve; disinfectant tolerance

单核细胞增生性李斯特菌 (*Listeria monocytogenes*, LM) 简称单增李斯特菌, 隶属李斯特菌属, 革兰阳性短杆状, 兼性厌氧或需氧, 在 2~45 °C 均可生长, 广泛存在于如植被、土壤、地表水等环境中^[1]。在 LM 血清型中 1/2a、1/2b 和 4b 这 3 种血清型相比于其他血清型致病性更强^[2], 可引起人畜李斯特菌病, 病死率高达 20%~30%^[3]。在 20 世纪 80 年代 LM 被确定为重要的食源性病原菌^[4]。

畜禽屠宰环节是造成 LM 污染肉品的重要途径。在印度旁遮普邦, 从肉店和屠宰场采集的山羊肉、绵羊肉和拭子样本中 LM 的检出率分别为 1.82%、3.21% 和 6.66%^[5]; 比利时北部的 3 个肉牛、生猪屠宰场的样品, 牛、猪胴体中 LM 的检出率分别为 46% 和 22%^[6]。国内学者研究发现, 牛羊养殖场和屠宰环境中的 5 214 份样本中, LM 分离率分别 0.5%、9.4%^[7]; 天津市生鱼肉中 LM 检出率为 6.2%^[8]; 苏州市各类肉食品的 LM 检出率为 6.4%^[9]。由此可见, 屠宰环节中 LM 的存在, 是污染肉类产品的主要原因, 具有引起人畜感染李斯特菌的潜在风险。本研究对甘肃省畜禽屠宰场环境及畜禽肉中 LM 的污染情况进行调查, 对 LM 分离菌株的生物学特性进行分析, 以便为畜禽屠宰环节中 LM 风险监测提供数据, 为防控 LM 的污染提供参考。

1 材料与方法

1.1 菌株及样品

LM ATCC19115 购自美国细胞培养物保藏中心,

2023 年 3 月至 2023 年 10 月间, 于甘肃省 6 地市屠宰场环境、污水和畜禽胴体表面随机采集的 1 239 份样品, 具体样品信息见表 1。

1.2 试剂

LM 肉汤 (LB1 和 LB2)、LM 显色培养基、PAL-CAM 琼脂基础、脑心浸液肉汤 (BHI)、吡啶黄、萘啶酮酸均购自广东环凯微生物科技有限公司; 胰酪大豆胨液体培养基购自海博生物技术有限公司; LM 诊断血清试剂盒购自日本生物科学研究所有限公司; 细菌基因组 DNA 提取试剂盒购自天根生化科技 (北京) 有限公司; 结晶紫染色液购自北京 Solarbio 科技有限公司; 无水乙醇、甲醇购自 Corning 公司。

1.3 仪器

卧式恒温振荡器购于精骥有限公司; PCR 仪购于艾本德公司; 恒温培养箱购于上海珂淮仪器有限公司; 立式自动压力蒸汽灭菌器购于厦门致微仪器有限公司; 电热恒温鼓风干燥箱购于上海跃进医疗器械有限公司。

1.2 样品采集

使用沾取灭菌生理盐水的棉拭子在畜禽胴体、屠宰环境表面揩抹多次 (面积不小于 5 cm²) 后, 将棉拭子置于含 5 mL 灭菌生理盐水离心管, 污水直接用 50 mL 离心管盛取, 将离心管放入有冰袋的采样箱中, 尽快送实验室 4 °C 保存。

表 1 样品来源

地区	n	不同样本			不同动物品种			
		胴体	环境	污水	猪	牛	羊	鸡
定西市	427	90	307	30	256	60	55	56
白银市	284	101	132	51	284	0	0	0
平凉市	153	0	143	10	48	30	27	48
庆阳市	160	50	104	6	51	10	38	61
天水市	132	23	102	7	68	20	22	22
甘南州	83	27	45	11	0	50	33	0
总计		261	833	115	707	170	175	187

1.3 菌株分离鉴定

参考 GB 4789.30—2016 《食品安全国家标准 食品微生物学检验 单核细胞增生性李斯特菌检验》的

方法进行分离。将样品放入 35 mL LB1 增菌液中, 30 °C 培养 22~26 h, 吸取 100 μL 转接于 10 mL LB2 增菌液中, 30 °C 培养 22~26 h。取增菌液分别用三

区划线法接种于 PALCAM 培养基和 LM 显色培养基上, 37 °C 培养 24~48 h, 观察培养基上生长的菌落。挑取可疑菌落接种于 TSB 培养基中, 37 °C 过夜培养后, 将培养物使用细菌 DNA 提取试剂盒提取 DNA, 以 DNA 为模板使用 LM 通用引物 Prs (表 2) 进行 PCR 扩增, 经 1% 琼脂糖凝胶电泳鉴定, 确认为李斯特菌属的细菌, 再用 LM 特异性引物 Lom2234 (表 2) 进行 PCR 扩增^[10], 经 1% 琼脂糖凝胶电泳鉴定 LM。并使用参考株 ATCC19115 作为阳性对照, ddH₂O 作为阴性对照。

表 2 菌种鉴定引物

引物名称	引物序列 (5'→3')	产物长度/bp
Prs-F	GCTGAAGAGATTGCGAAAGAAG	370
Prs-R	CAAAGAAACCTTGGATTTCGGG	
Lmo2234-F	TGTCCAGTTCATTTTAACT	420
Lmo2234-R	TTCGTTCTGCTGTACGA	

1.4 血清型鉴定

使用日本生物研究所的 LM 诊断血清试剂盒鉴定分离株血清型。O 抗原鉴定: 挑取纯化过的单菌落于 BHI 培养基过夜培养, 用 0.2% NaCl 溶液将细菌浓度调整至 10 mg/mL。121 °C 热处理 30 min, 3 000 r/min 离心 20 min 弃上清液, 用少量 0.2% NaCl 溶液重悬。将一滴 O 抗原血清滴在载玻片上, 再加入 10 μL 待测样品轻轻混匀, 并轻微晃动载玻片, 1 min 内观察到凝集现象为阳性。H 抗原鉴定: 使用克雷基氏试管法筛选运动性强的菌株, 将筛选的菌株接种于 BHI 液体培养基 30 °C 过夜培养后, 加入 1% 福尔马林生理盐水溶液, 在试管中加入 0.5 mL 菌液和两滴 H 抗原血清混匀, 置于 51 °C 水浴 1 h, 观察凝集现象, 若管底有棉絮状沉淀则为阳性。最后根据血清阳性结果判定对应血清型。

1.5 多位点序列分型 (MLST)

根据巴斯德研究所网站 (https://bigsdb.pasteur.fr/cgi-bin/bigsdb/bigsdb.pl?db=pubmlst_listeria_seqdef) 提供的 7 条管家基因设计引物 (表 3), 提取分离株 DNA 作为模板, 进行 PCR 扩增, 1% 琼脂糖凝胶电泳验证, 送往西安擎科公司测序。在巴斯德研究所网站数据库比对测序结果以确定菌株序列型 (ST)。

1.6 细菌生长曲线测定

根据不同来源、血清型及 ST 型从 LM 分离株中选取 25 株, 及参考株 ATCC19115。将分离株和参考株接种于 BHI 培养基中 37 °C 过夜培养, 将 $OD_{600\text{nm}}$ 值

调节为 0.2, 后转接到新鲜 BHI 培养基中 37 °C 培养。从 3 h 开始, 每小时测定菌液 $OD_{600\text{nm}}$ 值, 每组 3 个重复, 并绘制生长曲线。

表 3 MLST 管家基因引物

引物名称	引物序列 (5'→3')	产物长度/bp
abcZ-F	TCGCTGCTGCCACTTTTATCCA	607
abcZ-R	TCAAGGTCGCCGTTTAGAG	
bglA-F	GCCGACTTTTTATGGGGTGGAG	458
bglA-R	CGATTAAATACGGTGCCGACATA	
cat-F	ATTGGCGCATTTTGATAGAGA	555
cat-R	AGATTGACGATTCTGCTTTTG	
dapE-F	CGACTAATGGGCATGAAGAACAAG	523
dapE-R	ATCGAACTATGGGCATTTTTACC	
dat-F	GAAAGAGAAGATGCCACAGTTGA	557
dat-R	TGCGTCCATAATACACCATCTTT	
ldh-F	GTATGATTGACATAGATAAAGA	702
ldh-R	TATAAATGTCGTTTCATACCAT	
lhkA-F	AGAATGCCAACGACGAAACC	527
lhkA-R	TGGAAACATCAGCAATAAAC	

1.7 微孔板测定细菌生物被膜形成能力

选取 1.6 相同的 LM 分离株及参考株 ATCC19115 进行生物被膜形成能力的测定。挑取单菌落接种于 BHI 培养基, 37 °C 培养过夜后, 将菌液浓度调节至 $OD_{600\text{nm}}$ 值为 0.2, 再以 1:100 比例稀释。在 96 孔细胞板中加入 200 μL 菌液, 每株菌做 6 个重复, 阴性对照使用 BHI 培养基, 37 °C 培养 48 h 后, 弃去液体培养基, 用无菌 PBS 清洗 3 次除去浮游菌, 再用 200 μL 甲醇固定 20 min, 待甲醇干燥后加入 200 μL 结晶紫染色 10 min, 蒸馏水清洗 3 次以上, 干燥后加入 200 μL 90% 酒精脱色 10 min, 测定 $OD_{595\text{nm}}$ 值。

1.8 屠宰场消毒剂对分离菌株的最小抑菌浓度 (MIC) 测定

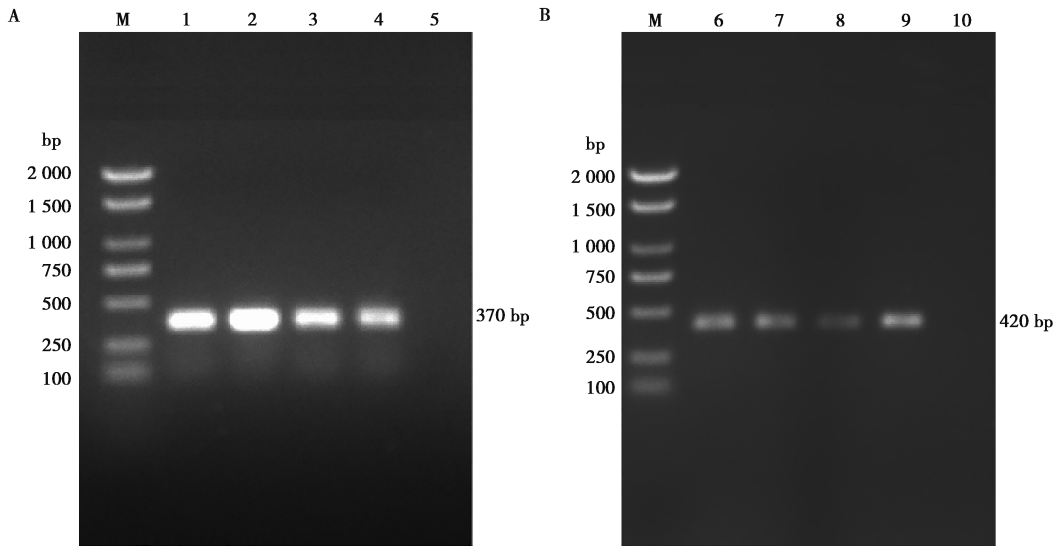
选取 1.6 相同的 LM 分离株及参考株 ATCC19115 进行 MIC 的测定。使用 BHI 培养基在 37 °C 培养新鲜菌液, 过夜后用 BHI 肉汤培养基调节浓度使 $OD_{600\text{nm}}$ 值达到 1.0。再用 BHI 培养基稀释到 1:1 000 备用。选取 0.2% 甲醛溶液、0.2% 苯扎溴铵、0.5% 碘溶液和 2% 氢氧化钠 4 种消毒剂, 用蒸馏水在 EP 管中连续 2 倍比稀释。将消毒剂按不同稀释度加入 96 孔板中, 每孔 100 μL, 再加入稀释菌液, 每孔 100 μL。轻微振荡混匀, 置于 37 °C 培养, 20~24 h 后测定 $OD_{600\text{nm}}$ 值。

2 结果

2.1 单增李斯特菌 PCR 鉴定

样本经增菌、分离后选取可疑菌落，通过扩大培养后用菌液提取 DNA，采用 Prs 引物扩增后，经 1%

的琼脂糖凝胶电泳检测，在 370 bp 位置处观察一条清晰明亮的条带（图 1A），与预期片段大小相符，表明为李斯特菌属；再经 Lom2234 引物扩增，1% 的琼脂糖凝胶电泳检测，得到大小为 420 bp 目的片段（图 1B），符合预期大小，确定为 LM。



1, 6. 阳性对照; 5, 10. 阴性对照; 2, 3, 4, 7, 8, 9. 分离菌株。

图 1 LM 引物 Prs (A) 和 LM 引物 Lom2234 (B) 扩增电泳产物

2.2 菌株检出情况

经分离培养和 PCR 方法从 1 239 份样品中分离 LM58 株，检出率为 4.68%。6 个地区样本中，天水、定西、庆阳、甘南检出率从高到低分别为 9.85% (13/132)、8.90% (38/427)、3.75% (6/160)、1.20% (1/83)，白银市和平凉市未分离出 LM。1 239 份来自畜禽屠宰场中动物的样本均检出 LM，其中猪样品 26 株，检出率 3.68%；牛样品 12 株，检出率 7.05%；羊样品 9 株，检出率 6.28%；鸡样品 8 株，检出率 4.28%。1 239 份来胴体、环境和污水样本均检出 LM，其中胴体样品检出率最高，为 7.33%

(14/191)；其次为器具环境样品，检出率 4.80% (40/833)；污水样品检出率最低，为 3.48% (4/115)。将鉴定为 LM 的 58 株分离株按分离地区编号，分别为 DX2023LM01 ~ DX2023LM38、QY2023LM01 ~ QY2023LM06、TS2023LM01 ~ TS2023LM13 和 GN2023LM01。

2.3 分离株血清型鉴定

用 LM 血清鉴定试剂盒检测 58 株 LM 分离株，结果显示血清型为 3 种：1/2a (8.62%)、1/2b (44.83%)、1/2c (46.55%)，优势血清型为 1/2b 和 1/2c (表 4)。

表 4 LM 分离株血清型统计

血清型	O 抗原								H 抗原				菌株数量/株
	I	II	IV	V	VI	VII	VIII	IX	A	B	C	D	
1/2a	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	5
1/2b	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	26
1/2c	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	27

注：“+”表示阳性，“-”为阴性。

2.4 分离株 MLST 分型

分离株 DNA 经 PCR 扩增、电泳验证、测序，结果显示 58 株 LM 分离株 ST 型分为 19 种和 11 个克隆

群，均属于谱系 I 和谱系 II (表 5)。其中 ST2 型最多 (8 株)，ST9、ST34 和 ST122 同属于 CC9 克隆群，其数量最多 (12 株)。

表 5 LM 分离株 ST 型分类情况

ST 型	克隆群	谱系	菌株数量/株	ST 型	克隆群	谱系	菌株数量/株
1	CC1	I	1	41	CC3	I	3
2	CC2	I	8	56	CC18	II	1
5	CC5	I	1	60	CC59	I	5
7	CC7	II	1	63	CC1	I	3
8	CC8	II	2	85	CC7	II	1
9	CC9	II	6	87	CC87	I	3
12	CC7	II	4	122	CC9	II	2
23	CC7	II	5	141	CC155	II	3
34	CC9	II	4	181	CC1	I	1
39	CC3	I	4				

2.5 细菌生长曲线

选取分离株与参考株 ATCC19115 测定 12 h 内生长能力, 结果显示, 25 株 LM 分离株生长曲线趋势与

参考株 ATCC19115 基本一致 (图 2), 25 株分离株在 5 h 进入对数生长期, 8 h 后逐渐平稳。所测 25 株 LM 分离株生长能力大部分高于参考株。

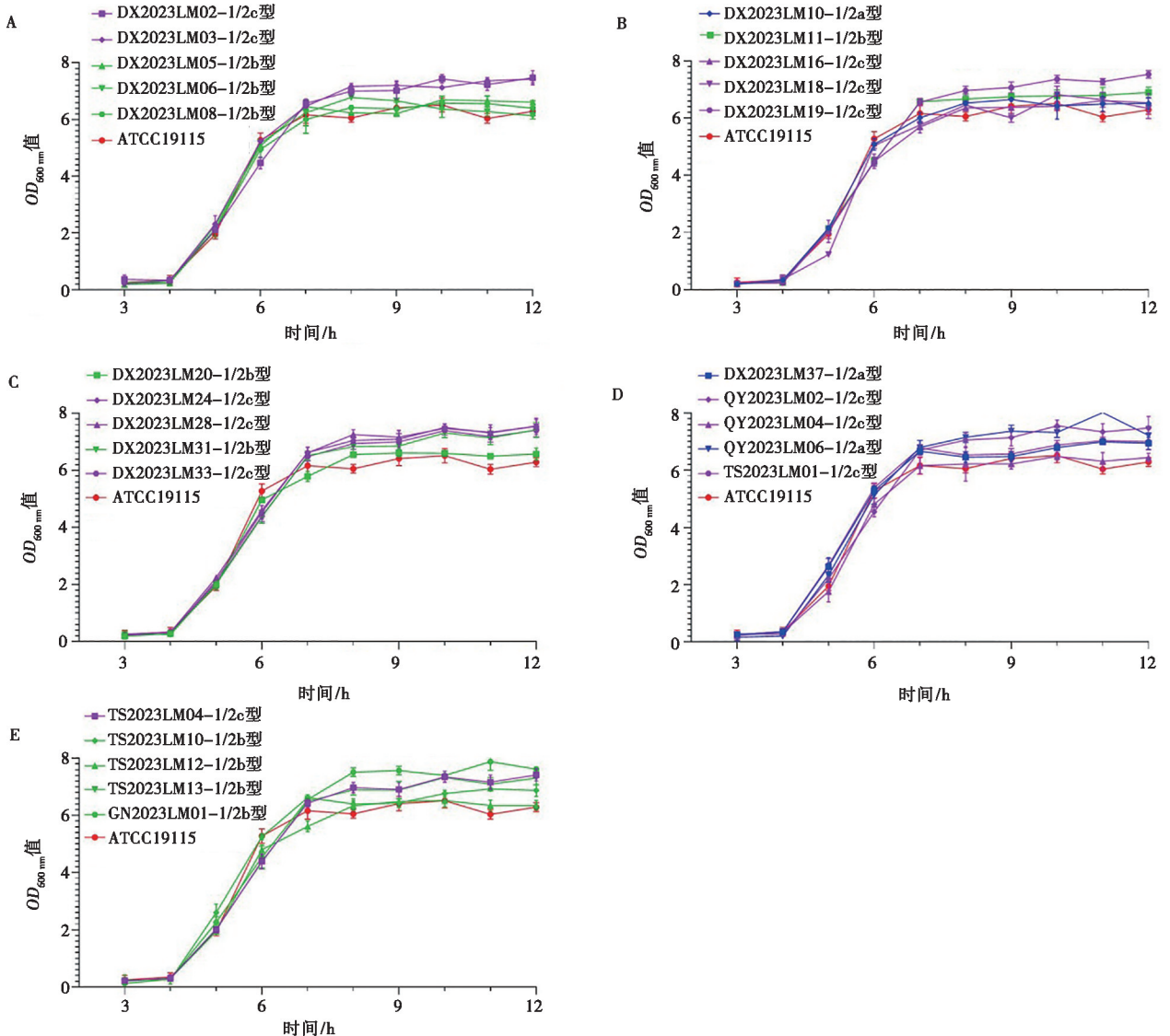


图 2 LM 分离株生长曲线

2.6 细菌生物被膜形成能力

25株LM分离株及参考株ATCC19115生物被膜形成能力测定结果如图3所示,参考株在600nm处的吸光度为1.8281。除分离株DX2023LM18与

QY2023LM04在600nm处的吸光度分别为1.9670和1.9523外,其余分离株在600nm处的吸光度都在2.0以上,其中分离株TS2023LM13与QY2023LM06在600nm处的吸光度达到3.3377和3.3376。

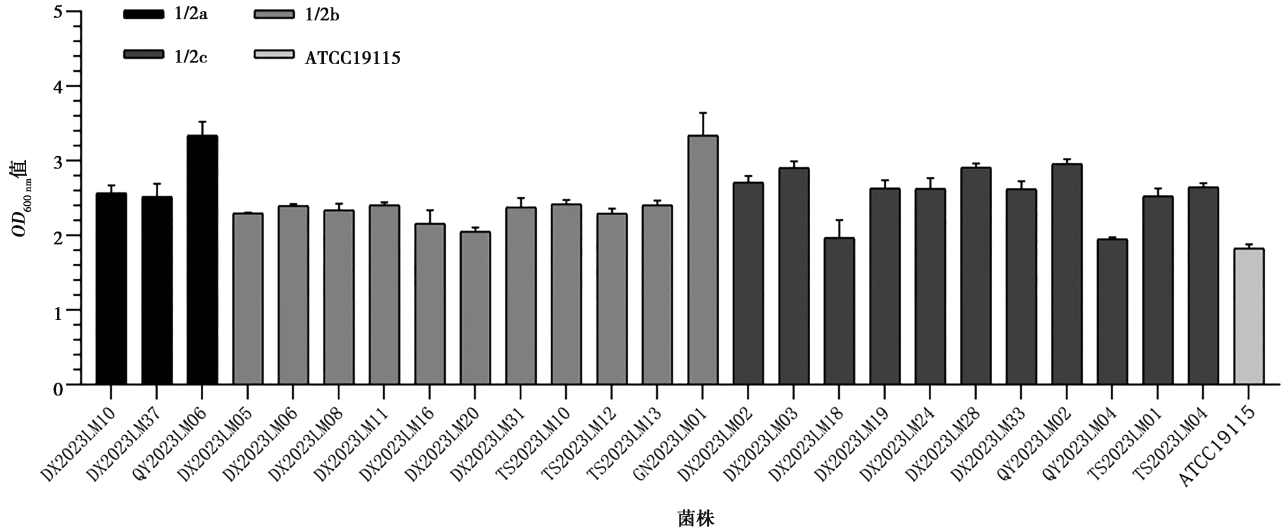


图3 LM分离株48h生物被膜形成情况

2.7 消毒剂对分离菌株的MIC

测定4种消毒剂对25株LM分离株与参考株

ATCC19115的MIC,每种药物均有7~10株LM分离株的MIC高于参考株ATCC19115(表6)。

表6 消毒剂对LM分离株的MIC

μg/mL

菌株	福尔马林	新洁尔灭	碘溶液	氢氧化钠	菌株	福尔马林	新洁尔灭	碘溶液	氢氧化钠
DX2023LM02	250	62.5	625	1250	DX2023LM31	125	62.5	312.5	2500
DX2023LM03	125	62.5	312.5	1250	DX2023LM33	125	125	312.5	1250
DX2023LM05	250	62.5	312.5	1250	DX2023LM37	250	62.5	625	1250
DX2023LM06	125	125	312.5	1250	GN2023LM01	125	62.5	312.5	1250
DX2023LM08	250	125	312.5	2500	QY2023LM02	125	62.5	312.5	2500
DX2023LM10	125	125	625	1250	QY2023LM04	250	125	312.5	1250
DX2023LM11	250	125	625	2500	QY2023LM06	250	125	625	2500
DX2023LM16	125	125	312.5	1250	TS2023LM01	125	62.5	312.5	1250
DX2023LM18	250	62.5	625	1250	TS2023LM04	125	62.5	312.5	2500
DX2023LM19	125	62.5	312.5	2500	TS2023LM10	125	62.5	312.5	1250
DX2023LM20	125	125	312.5	1250	TS2023LM12	125	125	625	1250
DX2023LM24	250	62.5	312.5	1250	TS2023LM13	250	62.5	312.5	2500
DX2023LM28	125	62.5	312.5	1250	ATCC19115	125	62.5	312.5	1250

3 讨论

LM属于食源性致病菌,可引起人畜李斯特菌病,病死率为18%,其中新生儿病死率高达73%^[11]。LM感染人类90%由于未完全加热的肉类及奶制品等,屠宰场是肉类生产必经环节,欧美多国均建立了

LM感染监测系统^[12]。因此,调查和分析畜禽屠宰、动物产品屠宰过程中LM的污染情况是预防LM感染人和动物的关键环节。

本研究从1239份样品中分离鉴定出58株LM,总分离率为4.68%。与2020—2021年间甘肃省屠宰环境LM分离率(1%)相比有所增加,特别是定西

市在本研究中分离率高达 8.90%，而在此前报道中并未检出^[13]，其原因可能是由于屠宰场设备的长期使用，台面、案板等破损开裂，造成卫生死角，导致消毒不彻底，残存的 LM 菌株继续繁殖^[14]。与上海市食源性食品中 LM 分离率 7.1%^[15]相比略低，表明 LM 分离率可能与不同地区和不同环境条件有关。

本研究从 58 株 LM 分离株鉴定出 3 种血清型，分别为 1/2a、1/2b 和 1/2c 型，其中 1/2b 和 1/2c 血清型占总数的 91.37%，为本研究的优势血清型，与报道的其他省份 1/2a 为优势血清型^[9]不同，可能与地域不同有关。

本研究 58 株 LM 分离株共有 19 种 ST 型，都属于谱系 I 和 II。其中，血清型为 1/2b 型的 LM 分离株全部属于谱系 I，谱系 II 包含所有血清型为 1/2a 和 1/2c 型的 LM 分离株，可见血清型与 ST 型之间有一定的对应性。国内报道过的主要 ST 型（ST8、ST9 和 ST87）^[16]，本研究都有出现，占总数的 18.9%。在世界范围内引起李斯特菌病的常见 ST 型共 7 种（ST1、ST2、ST3、ST5、ST6、ST8、ST9）^[17]，本次分离出 5 种（ST1、ST2、ST5、ST8、ST9），占菌株总数 32.1%。此外，本研究 LM 分离株中还有其他 ST 型，与上述 ST 型同属一个克隆群。

本试验从 58 株 LM 分离株中挑选 25 株具有地区代表性菌株与参考菌株 ATCC19115 进行生长曲线和生物被膜形成能力测定，发现所选 25 株分离株生长能力和生物被膜形成能力大部分强于参考株，这可能与分离株在野生环境中传代，获得了更强的生存能力有关。本研究还发现，分离株生物被膜形成能力与细菌谱系有关，谱系 II（1/2a、1/2c）分离株普遍强于谱系 I（1/2b），这与相关报道相符^[18]。由于 LM 野生株生存能力强，增加了人畜感染 LM 的风险，使李斯特菌病的防控更加困难。

本研究选用屠宰企业使用的不同类别的 4 种消毒剂对 25 株 LM 分离株和参考菌株 ATCC19115 的 MIC 检测表明，LM 分离株均对消毒剂抗性增加。碘溶液 MIC 值为 312.5 ~ 625 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，远高于相关报道^[19]。苯扎溴铵对 10 株 LM 分离株的 MIC 值为 125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，高于报道的季铵盐类 MIC 值为 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ^[20]。氢氧化钠有 8 株 LM 分离株 MIC 值为 2 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，高于 2 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 作用 15 min 可以杀灭志贺菌等食源性致病菌的报道^[21]。甲醛溶液 MIC 值在 125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上，高于 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 甲醛溶液杀灭常见细菌的报道^[22]。分析于 LM 分离株产生消毒剂抗性的原因，可能是屠宰场和农贸市场环境复杂，卫生死角诸多，使细菌暴露于亚致死浓度的消毒剂中^[23]，进而对消毒剂产生耐受，这种现象在 LM 中

尤为明显^[24]。本次的 LM 分离株对消毒剂都有一定的耐受能力，这对有效杀灭 LM 造成困难。

本研究对 1 239 份样品分离鉴定及对分离的 LM 菌株分析可见，畜禽屠宰过程中依然存在 LM 污染状况，分离率有所上升，存在人感染 LM 的风险。本次所采样的 6 个地区中，仅在定西等 4 个地区分离出 LM，相比于未分离出 LM 的地区，有 LM 分离场所都存在消毒前清洁不充分和消毒后冲洗不完全等情况，这会造造成待消毒的区域和器械残留如油脂、肉沫等有机成分，影响消毒剂的使用效果^[25]。在血清型方面，检出的 1/2a、1/2b 和 1/2c 型均具有致病性，增加了人畜暴露病原的机率。但本研究未分离到 4b 型，可能由于 4b 主要从临床途径分离^[26]，在环境中较少见。本次分离的 LM 有一定的抗逆性，尤其是生物被膜形成能力，有助于 LM 附着在器具、肉品表面，也提高了其对消毒剂的抵抗力。

综上，建议有关部门加强畜禽屠宰过程中的质量安全监管，尤其需要规范器具、场所等的消毒流程，也可以优化消毒剂的使用方式，以达到有效杀灭 LM 的目的，减少人畜感染 LM 的风险。

参考文献：

- [1] VIVANT A L, GARMYN D, PIVETEAU P. *Listeria monocytogenes*, a down-to-earth pathogen [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2013, 3: 87.
- [2] KATHARIOU S. *Listeria monocytogenes* virulence and pathogenicity, a food safety perspective [J]. *J Food Prot*, 2002, 65 (11): 1811-1829.
- [3] DE NOORDHOUT C M, DEVLEESSCHAUWER B, ANGULO F J, et al. The global burden of listeriosis: a systematic review and meta-analysis [J]. *Lancet Infect Dis*, 2014, 14 (11): 1073-1082.
- [4] RADOSHEVICH L, COSSART P. *Listeria monocytogenes*: towards a complete picture of its physiology and pathogenesis [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2018, 16 (1): 32-46.
- [5] ALKA, SINGH R, KAUR S, et al. *Listeria* contamination in chevon and mutton from retail meat shops and slaughter house environment of Punjab, India [J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2019, 366 (9): fnz111.
- [6] DEMAÎTRE N, VAN DAMME I, DE ZUTTER L, et al. Occurrence, distribution and diversity of *Listeria monocytogenes* contamination on beef and pig carcasses after slaughter [J]. *Meat Sci*, 2020, 169: 108177.
- [7] ZHAO Q, HU P, LI Q, et al. Prevalence and transmission characteristics of *Listeria* species from ruminants in farm and slaughtering environments in China [J]. *Emerg Microbes Infect*, 2021, 10 (1): 356-364.
- [8] 尤明亮. 2018 年天津市生食鱼类单增李斯特菌检测结果分析 [J]. *继续医学教育*, 2021, 35 (2): 59-60.
- [9] 朱莉勤, 王波, 张宁, 等. 苏州市食品中单增李斯特菌污染状况

- 及分子特征分析 [J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13 (3): 972-977.
- [10] 罗丽娟. 2015年四川某市农贸市场肉类食品中单增李斯特菌的病原学纵向监测及分子特征分析 [D]. 北京: 中国疾病预防控制中心传染病所, 2017.
- [11] CHEN S, MENG F, SUN X, et al. Epidemiology of human listeriosis in China during 2008-2017 [J]. Foodborne Pathog Dis, 2020, 17 (2): 119-125.
- [12] DESAI A N, ANYOHA A, MADOFF L C, et al. Changing epidemiology of *Listeria monocytogenes* outbreaks, sporadic cases, and recalls globally: a review of ProMED reports from 1996 to 2018 [J]. Int J Infect Dis, 2019, 84: 48-53.
- [13] 孙亚楠, 刘圆圆, 曹启航, 等. 甘肃省畜禽肉品中单核细胞增生李斯特菌污染情况的调查 [J]. 动物医学进展, 2021, 42 (10): 128-133.
- [14] CARPENTIER B, CERF O. Review: persistence of *Listeria monocytogenes* in food industry equipment and premises [J]. Int J Food Microbiol, 2011, 145 (1): 1-8.
- [15] 王少辉, 刘萍萍, 魏建超, 等. 上海市动物源性食品中单增李斯特菌的流行病学及生物被膜形成能力研究 [J]. 中国动物传染病学报, 2015, 23 (4): 31-36.
- [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.
- [17] WANG Y, ZHAO A, ZHU R, et al. Genetic diversity and molecular typing of *Listeria monocytogenes* in China [J]. BMC Microbiol, 2012, 12: 119.
- [18] JANEŽ N, ŠKRLJ B, STERNIŠA M, et al. The role of the *Listeria monocytogenes* surfactome in biofilm formation [J]. Microb Biotechnol, 2021, 14 (4): 1269-1281.
- [19] 徐庆华. 含碘消毒剂及其应用技术 [J]. 中国消毒学杂志, 2012, 29 (4): 316-318.
- [20] SOLTANI M, RAVINE T J, DAVIS J H Jr. Novel boronium salt exhibits substantial antibacterial activity when compared to a commercial quaternary ammonium disinfectant [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2021, 36: 127808.
- [21] 任涛, 徐成刚, 张桂红, 等. 几种常用消毒剂灭菌效果的比较 [J]. 养禽与禽病防治, 2006 (5): 14-16.
- [22] 王成桂, 李旋, 杨世平, 等. 6种消毒剂对养殖海水中细菌的杀灭效果 [J]. 安徽农业科学, 2015, 43 (16): 152-154.
- [23] RODRÍGUEZ-LÓPEZ P, RODRÍGUEZ - HERRERA J J, VÁZQUEZ-SÁNCHEZ D, et al. Current knowledge on *Listeria monocytogenes* biofilms in food-related environments: incidence, resistance to biocides, ecology and biocontrol [J]. Foods, 2018, 7 (6): 85.
- [24] MØRETRØ T, SCHIRMER B C T, HEIR E, et al. Tolerance to quaternary ammonium compound disinfectants may enhance growth of *Listeria monocytogenes* in the food industry [J]. Int J Food Microbiol, 2017, 241: 215-224.
- [25] HUA Z, KORANY A M, EL-SHINAWY S H, et al. Comparative evaluation of different sanitizers against *Listeria monocytogenes* biofilms on major food-contact surfaces [J]. Front Microbiology, 2019, 10: 2462.
- [26] FILIPELLO V, MUGHINI-GRAS L, GALLINA S, et al. Attribution of *Listeria monocytogenes* human infections to food and animal sources in Northern Italy [J]. Food Microbiol, 2020, 89: 103433.