

单核细胞增生李斯特菌检测及日常防范

路舒敏

华北理工大学, 河北唐山, 063210;

摘要: 单核细胞增生李斯特菌 (*Listeria monocytogenes*, LM) 是一种常见的食源性致病菌, 属李斯特菌属, 在自然界中广泛存在且对外界不良环境抵抗力较强, 其致病机制与毒力因子的协同作用密切相关。其具备耐低温、适应环境能力强等特点, 易污染冷藏食品, 对孕妇、老年人、免疫力低下人群等高危群体威胁显著。随着民众对健康问题的重视, 对于单核细胞增生李斯特菌的检测需求增长。目前李斯特菌的检测方法包括 PCR、实时荧光 PCR、酶联免疫吸附实验等。快速精准的检验提高诊断正确性, 宣传相关知识帮助民众提高日常防范意识, 结合菌株生物学特性提供专业有效的防范措施, 降低李斯特菌病的发生风险时相关研究的重要目标。

关键词: 单核细胞增生李斯特菌; 毒力因子; 检测方法; 日常防范

DOI: 10.69979/3029-2808.26.04.067

1 单增李斯特菌的生物学特性

1.1 菌属分类

李斯特菌属广泛分布于自然环境当中, 包含单核细胞增生李斯特菌 (单增李斯特菌, *Listeria monocytogenes*)、绵羊李斯特菌 (*L. ivanovii*)、英诺克李斯特菌 (*L. innocua*)、西尔李斯特菌 (*L. seeligeri*)、威尔李斯特菌 (*L. welshimeri*)、格氏李斯特菌 (*L. grayi*) 等, 其中对人体致病的菌株仅有单核细胞增生李斯特菌^[1]。

1.2 血清学分型

单核细胞增生李斯特菌可分为3个谱系 (Lineage), 主要来自人类李斯特菌病的菌株包括 1/2b、3b、4ab、4b、4d、4e 和 7 血清型为谱系 I; 主要来自食品及动物李斯特菌病的菌株包括 1/2a、1/2c、3a 和 3c 血清型为谱系 II; 主要来自动物和环境样本的菌株包括 4a 和 4c 血清型为谱系 III^[2]。食品中单核细胞增生李斯特菌存在致病力的血清型主要为 1/2a、1/2c、4b 血清型, 可引发严重的食源性李斯特菌病^[3]。

1.3 形态学特点

单核细胞增生李斯特菌为革兰氏阳性菌, 其大小约为 $0.5 \mu\text{m} \times 1.0 \mu\text{m} \sim 0.5 \mu\text{m} \times 2.0 \mu\text{m}$, 直或稍弯曲状, 两端钝圆, 呈杆状和球杆状。在 $22^\circ \sim 25^\circ$ 有 4 根鞭毛运动活跃, 在 30° 时只形成 1 根鞭毛, 运动较缓^[4]。

2 生长特点

2.1 生长温度

单核细胞增生李斯特菌在 $2^\circ \sim 42^\circ$ 可生长, 最适生

长温度为 37° 左右, 温度越低菌体生长的延滞期越长^[5]。⁹²。低温耐受性强而高温耐受性弱, 温度过高菌株会失活^[6]。

2.2 PH 耐受性和水活度

单核细胞增生李斯特菌在碱性条件下的生存活力明显强于酸性条件, 菌株更适应于中性偏碱性的环境。同时菌株在低水活度环境中生长缓慢, 延滞时间和代时都延长。^[7]

2.3 生物膜

生物膜主要是由细菌自身分泌的 EPS 组成的附着性结构。在 4° 条件下, 生物膜可以抵抗常规消毒液, 提高菌株的存活能力。^[8]

3 毒力因子及治病机制

3.1 主要毒力因子

单核细胞增生李斯特菌通过各类毒力因子的协同作用, 完成入侵人体、免疫逃逸、细胞内繁殖与扩散的全过程, 最终引发李斯特菌病, 且对免疫力低下群体的致病效果更为显著。

3.1.1 溶血素 O (LL0)

溶血素 O 是由 hly 编码的与菌株溶血能力相关的毒力因子, 在单核细胞增生李斯特菌裂解吞噬体膜的过程中发挥与膜上胆固醇作用发生多聚反应从而引发细胞膜裂解的重要作用^[9]。⁶⁹⁴。促进菌株离开吞噬体进入细胞液, 机体内进行增殖扩散。溶血素 O 是多功能毒力因子, 还与细胞增殖、黏膜细胞外渗作用、细胞黏附因子在感染的内皮细胞上的表达等细胞反应有关^[10]。⁷⁴。

3.1.2 内化素

内化素是由一组 inl 编码的富含亮氨酸的重复序列

的蛋白产物,内化蛋白 A (InlA) 和内化蛋白 B (InlB) 是仅存在在单增生斯特菌中的 2 种主要表面蛋白,是最早确定的介导细胞侵袭的毒力因子。InlA 的转录情况还影响单核细胞增生李斯特菌的致病性和侵袭力,其与上皮细胞的钙粘蛋白受体相互作用而作为穿越肠道上皮和胎盘屏障的必要因子。在菌株进入哺乳动物细胞所必需的毒力因子包括模拟细胞反应介导菌体的 InlB^{[9]695}。还有研究表明,在单增李斯特菌黏附在玻璃表面的过程中 InlA 和 InlB 必不可少。^{[10]73} 内化素是该菌能够感染孕妇,威胁围产期胎儿健康的主要原因。

3.1.3 磷脂酶

单核细胞增生李斯特菌可分泌 2 种不同的磷脂酶 C,分别是由 plcA 基因编码的磷脂酰肌醇特异性磷脂酶 C (PlcA) 和 plcB 基因编码的非特异性磷脂酰胆碱磷脂酶 C (PlcB)。磷脂酶协助病原体从巨噬细胞吞噬小体中逃逸的过程,促使菌体进入宿主细胞的细胞质当中,向周围传播。^[11] 磷脂酶有助于提高菌株的侵袭能力和扩散速度,是该菌引起机体从局部感染发展为全身感染的重要影响因素。

3.2 致病过程

单核细胞增生李斯特菌是食源性致病菌,主要通过侵袭宿主细胞进行繁殖扩散,引发李斯特菌病。该病具有潜伏期长的特点,患者感染初期不易发现,易延误治疗,导致病情加重^[12]。该菌易感染孕妇、老人、婴儿等免疫力低下的人群,致死率可达 30%左右。^[13] 该菌的感染过程主要包括三个阶段,黏附与侵袭,细胞内增值,细胞间扩散,疾病发生过程主要依赖与上文所述的毒力因子以及调控因子作用,可跨越肠道屏障,血脑屏障和胎盘屏障而致病。该病感染后临床表现主要为胃肠炎,败血症、脑膜炎甚至是死亡,感染的孕妇可能出现死胎、流产,围产期婴儿死亡等不良影响^[14]。

4 单核细胞增生李斯特菌的检测技术

单核细胞增生李斯特菌的检测主要包括传统方法检测以及新兴的分子生物学检测,免疫学检测等,该类检测技术朝着标准化,快速化,高通量化方向发展。

4.1 传统检测方法

4.1.1 核心原理

基于单增李斯特菌特异的生化代谢特征,将多种生化反应底物(糖、酶底物、指示剂等)预分装于无菌西林瓶中;待检菌经分离纯化后,接种至各西林瓶培养基,在适宜温度下培养;目标菌通过特异性代谢反应,使瓶内 pH 或氧化还原状态改变,指示剂发生颜色变化;对照标准反应模式,判定是否为单增李斯特菌^[15];

4.1.2 检测指标

- (1) 触酶阳性:分解 H_2O_2 产生气泡
- (2) 糖发酵:鼠李糖(+)、木糖(-)、七叶苷(+)、甘露醇(-)
- (3) MR/VP 试验:均阳性
- (4) 动力试验:伞状生长
- (5) 溶血、硝酸盐还原、尿素酶:均阴性

该方法利用商品化西林瓶进行检测稳定性较好且操作简便,结果直观清晰可见、安全性高;但是需要对检测菌株进行纯化培养,耗时较长,灵敏度有限,无法进行亚型区分,还需借助其他实验进行确认。

4.2 分子生物学检测技术

4.2.1 聚合酶链式反应(PCR)

PCR 核心就是在体外模拟 DNA 的天然复制过程,通过温度循环,把极微量的目标 DNA 片段指数级大量扩增,从几个拷贝扩增到上亿个,达到可检测、可分析的量。通常通过设计单增李斯特菌特异性基因序列引物完成该菌的特异性检测,依赖于菌的特异毒力基因或其 16s rRNA 中间保守区域为靶基因设计引物进行扩增^[16],根据扩增结果判断是否存在单核细胞增生李斯特菌感染。

4.2.2 实时荧光定量 PCR

实时荧光定量 PCR 在传统 PCR 的基础上将荧光染料加入反应体系,通过对荧光染料实时扫描检测实现定量检测。相较于传统 PCR 更加快速,高效,结果更加直观,该方法还具有特异性和一致性的特点。^[17]

4.2.3 数字 PCR

数字 PCR 是绝对核酸定量技术,可数出 DNA 分子的个数,特异性,灵敏度更高,但是价格昂贵,普及并不广泛。^[18]

4.3 免疫检测法

4.3.1 酶联免疫吸附实验

该实验主要原理是抗原与抗体的特异性结合联用酶催化底物显色,通过颜色深浅来定性或定量检测样本中是否存在目标物质(抗原或抗体)。该方法操作简便、灵敏、快速,可以做到短时间高通量的检测大量样品。

5 日常防范

5.1 家庭日常防范

冰箱使用应注意温度设定、生熟分区存放、定期清洁;

食物处理的卫生习惯:生熟分开、砧板刀具专用、充分洗手;

加热杀灭条件:食用存放冰箱食物中心温度达 $70^{\circ}C$ 以上并持续 2 分钟以上以杀灭单核细胞增生李斯特菌,

避免进食反复蒸煮的汤类食物^[19]。

5.2 高危人群防范

孕妇、老年人、免疫力低下者避免食用未经巴氏消毒的奶制品、软奶酪、生食水产品，以及流动摊贩售卖的食物，减低李斯特菌病发生的概率。

6 结语与展望

单核细胞增生李斯特菌虽是一重要食源性致病菌，但随着国家发展和人民生活水平的提高，人们对于健康问题越来越重视。医学界对于该菌的研究也越来越深入，医学检验技术将不断发展，致力于探索出更为快速高效的检测手段，且不断探索该菌的致病机制以为民众提供更具有规范性，可实施性的日常防范措施。

未来，检验技术将不断优化与创新，深入研究并提供多场景化防范措施完善，致力于从方方面面进行疾病的防范与高效诊断，促进国民健康向上向善发展。

参考文献

[1]周梦莹,蒲启康,任晨艳,等.致病性李斯特菌毒力因子蛋白组学及基因组学研究进展[J].现代预防医学,2015,42(04):694-697.

[2]Kuenne C, Billion A, Mraheil M A, 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(1):47.

[3]闫鹤,王彬,师宝忠,等.单核细胞增生李斯特菌血清型、耐药性研究[J].中国抗生素杂志,2010,35(10):774-778. DOI:10.13461/j.cnki.cja.004665.

[4]关红阳,王丹,马越,等.单核细胞增生李斯特菌生物学毒理特性及防控方法研究进展[J].农产品加工,2021,(07):71-76+79. DOI:10.16693/j.cnki.1671-9646(X).2021.04.018.

[5]刘珊珊.李斯特菌生长预测模型的研究进展[J].天津农学院学报,2018,25(03):92-95. DOI:10.19640/j.cnki.jtau.2018.03.020.

[6]王铁龙,周长会,高磊,等.常见食源性致病菌耐热性研究进展[J/OL].食品与发酵工业,1-10[2026-04-05].<https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.044628>.

[7]张聪恪,刘征,廖兴广,等.pH与低水活度对单核细胞增生李斯特菌生长的影响[J].中国卫生检验杂志,2003,(03):278-279.

[8]郝歌,黄雪娟,米飞.单核细胞增生李斯特菌生物膜形成机制的研究进展[J].卫生研究,2023,52(02):331-337. DOI:10.19813/j.cnki.weishengyanjiu.2023.02.026.

[9]周梦莹,蒲启康,任晨艳,等.致病性李斯特菌毒力因子蛋白组学及基因组学研究进展[J].现代预防医学,2015,42(04):694-697.

[10]关红阳,王丹,马越,等.单核细胞增生李斯特菌生物学毒理特性及防控方法研究进展[J].农产品加工,2021,(07):71-76+79. DOI:10.16693/j.cnki.1671-9646(X).2021.04.018.

[11]李钊,刘阳泰,李卓思,等.单增李斯特菌毒力因子及调控机制研究进展[J].食品与发酵工业,2024,50(11):327-335. DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.036727.

[12]袁丹,马红飞,周军波,等.对1例单核细胞增生李斯特菌感染患者的调查分析[J].医学动物防制,2026,42(05):518-521.

[13]CHENG Y, DONG Q L, LIU Y T, et al. Systematic review of *Listeria monocytogenes* from food and clinical samples in Chinese mainland from 2010 to 2019 [J]. Food Quality and Safety, 2022, 6:fyac021

[14]许文,张野,李彧,等.孕产妇及新生儿单核细胞增生李斯特菌感染的临床特征[J].中国感染控制杂志,2026,25(03):379-384.

[15]马力,沈锐.多方法分离鉴定食品中单核细胞增生李斯特菌[J].食品工程,2023,(04):44-46+64.

[16]栾晓宁.单增李斯特菌的快速检测方法研究进展[J].山东畜牧兽医,2024,45(04):81-83.

[17]叶慧敏,贾志凤.荧光定量PCR与传统分离鉴定法检测食品中单核细胞增生李斯特氏菌的对比研究[J].食品安全导刊,2025,19(33):101-105. DOI:10.16043/j.cnki.cfs.2025.33.014.

[18]张明明,肖剑,林秀敏,等.多重微滴数字PCR同时定量检测三种食源性致病菌DNA拷贝数[J].农业生物技术学报,2022,30(3):606-618.

[19]李敏,易蓉,潘芳,等.中美两国对肉食产品中单核细胞增生李斯特氏菌的防控规定对比[J].食品安全质量检测学报,2026,17(04):203-210. DOI:10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20250910003.

作者简介:路舒敏,2004.11.20,女,汉,安徽省芜湖市,在读本科生,研究方向:医学检验技术与微生物学。