微生物学报
*Acta Microbiologica Sinica*
2024, 64(5): 1331–1347
http://journals.im.ac.cn/actamicrocn
DOI: 10.13343/j.cnki.wsxb.20230631

Review 综 述

# 单增李斯特菌耐药外排泵研究进展

夏菁，罗亚如，宋厚辉，程昌勇*

浙江农林大学动物科技学院·动物医学院 浙江省畜禽绿色生态健康养殖应用技术研究重点实验室 动物健康互联网检测技术浙江省工程研究中心 浙江省动物医学与健康管理国际科技合作基地 中澳动物健康大数据分析联合实验室，浙江 杭州 311300

夏菁, 罗亚如, 宋厚辉, 程昌勇. 单增李斯特菌耐药外排泵研究进展[J]. 微生物学报, 2024, 64(5): 1331-1347.

XIA Jing, LUO Yaru, SONG Houhui, CHENG Changyong. Advances in efflux pump-mediated multidrug resistance of *Listeria monocytogenes*[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2024, 64(5): 1331-1347.

**摘　要：**单增李斯特菌是一种重要的人兽共患食源性胞内致病菌，广泛存在于自然环境中且易污染动物性食品，人及动物感染后可引起严重的李斯特菌病，死亡率高达30%。单增李斯特菌通常对多种药物敏感，然而，因不合理使用抗菌药或消毒剂形成的选择压力导致李斯特菌多重耐药情况的报道日渐增多。外排泵蛋白是细菌中一类重要的蛋白，可参与机体多种生物学过程，包括影响细菌对抗生素敏感性、促进有毒化合物泵出、影响细菌毒力等。本文综述了近年来关于单增李斯特菌耐药外排泵的功能及调控机制的研究进展，为深入理解李斯特菌耐药等环境适应机制及有效控制该病原污染传播和筛选抗感染药物新靶点提供理论基础。

**关键词：**单增李斯特菌；外排泵；多重耐药；毒力

资助项目：浙江省自然科学基金(LQ22C180001)；国家自然科学基金(32172849，31972648)；浙江农林大学人才启动项目(2019FR041)

This work was supported by the Natural Science Foundation of Zhejiang Province (LQ22C180001), the National Natural Science Foundation of China (32172849, 31972648), and the Talent Launching Project of Zhejiang A&F University (2019FR041).

*Corresponding author. Tel: +86-571-63745865; E-mail: lamge@zafu.edu.cn

Received: 2023-10-14; Accepted: 2024-02-29; Published online: 2024-03-05

# Advances in efflux pump-mediated multidrug resistance of *Listeria monocytogenes*

**XIA Jing, LUO Yaru, SONG Houhui, CHENG Changyong***

Key Laboratory of Applied Technology on Green-Eco-Healthy Animal Husbandry of Zhejiang Province, Zhejiang Provincial Engineering Research Center for Animal Health Diagnostics & Advanced Technology, Zhejiang International Science and Technology Cooperation Base for Veterinary Medicine and Health Management, China-Australia Joint Laboratory for Animal Health Big Data Analytics, College of Animal Science and Technology & College of Veterinary Medicine, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China

**Abstract:** *Listeria monocytogenes*, a major zoonotic food-borne intracellular pathogen, is ubiquitous in the natural environment and easily contaminates animal-derived food products. The consumption of the contaminated food can cause severe listeriosis in both humans and animals, with the mortality rate reaching up to 30%. The antimicrobial therapy is the only feasible approach for treating *L. monocytogenes* infection since *L. monocytogenes* is susceptible to multiple antimicrobials. However, the reports of multidrug-resistant strains are increasing due to the selective pressure exerted by the irrational use of antimicrobials or disinfectants. The antimicrobial resistance mechanisms of *L. monocytogenes* are complex. Efflux pump proteins are crucial in bacteria and participate in various biological processes. Specifically, they can influence bacterial sensitivity to antibiotics, facilitate the efflux of toxic compounds, and affect bacterial virulence. Over the last two decades, scholars have conducted research on the efflux pumps-mediated resistance of *L. monocytogenes*, identifying several efflux pump proteins associated with the efflux of antibiotics or toxic compounds. Additionally, some efflux pumps are involved in the virulence expression process of *L. monocytogenes*. This paper reviews the research advances in the functions and regulatory mechanisms of efflux pumps in multidrug-resistant *L. monocytogenes*. It provides a theoretical foundation for probing into the environmental adaption mechanisms of *L. monocytogenes*, curbing the spread of this pathogen, and identifying new drug targets for combating infections.
**Keywords:** *Listeria monocytogenes*; efflux pump; multidrug resistance; virulence

单增李斯特菌(*Listeria monocytogenes*, Lm)是一种重要的人兽共患食源性胞内致病菌,其广泛分布于自然界中，具有很强的环境适应能力(如抗氧化应激能力、能在 4−45 ℃范围内存活、耐高渗环境、抗酸应激能力等)[1]。Lm 能在多种食品(如肉及肉制品、乳制品、蔬菜、水果、鱼等)及加工环境中存活，人及动物摄入被 Lm 污染的食品后，可导致严重的侵袭性感染，称为李斯特菌病[2-3]。细菌首先穿过肠道屏障，进入血液循环，然后在肝和脾等靶器官进行增殖扩散，可穿过血脑屏障和胎盘屏障，进而引发败血症、脑膜炎和流产等严重疾病[4]。Lm 主要感染老年人、孕妇和免疫力低下的人群，是致死率最高的食源性致病菌之一(可高达 20%−30%)，被世界卫生组织(World Health Organization, WHO)列为“零容忍”食源性病原菌[5-6]。过去 20 年，在欧美等国家已报道了多起食源性李斯特菌病的暴发事件，绝大多数的李斯特菌感染是由食用被 Lm

✉ actamicro@im.ac.cn, ☎ 010-64807516

污染的即食食品引起的[7-8]。近年来对我国不同省市 Lm 污染情况调查发现，在不同食品加工过程中都存在 Lm 污染[9-10]。目前，有效抗菌药物治疗是针对 Lm 感染唯一可行的办法，Lm 通常对多种药物敏感，但由于过度使用抗菌药而施加的选择压力，耐药包括多重耐药(multidrug resistance, MDR) Lm 的报道在逐渐增多[11-13]。

根据已有报道，Lm 的耐药机制比较复杂，包括可移动元件介导的耐药基因转移、药物作用靶点的改变、药物的外排作用、钝化酶或灭活酶的产生、生物被膜等多种机制[11,14-16]。其中，外排泵蛋白作为细菌中一类重要的蛋白，可参与机体多种活动。作为 Lm 产生 MDR 的机制之一，外排泵不仅可介导 Lm 对多种抗菌药或有毒化合物的外排，如抗生素、重金属、消毒剂、染料等其他抗菌化合物[15,17-18]，同时还参与调控宿主先天免疫过程[19]。近 20 年来，国内外许多学者已经开展 Lm 耐药外排泵的相关研究，发现了多个与抗生素或有毒化合物泵出相关的外排蛋白，同时，一些外排泵还参与了 Lm 毒力表达过程。本文主要对 Lm 耐药外排泵的研究进展进行综述，并结合本实验室相关研究，进行讨论。

# 1 单增李斯特菌耐药外排泵的结构分类

根据底物转移的特性、作用机制和能量来源，Lm 外排泵可以分为两大类，即：初级活性转运蛋白和次级活性转运蛋白。初级活性转运蛋白利用腺苷三磷酸(adenosine triphosphate, ATP)水解释放的化学能作为动力，包含 ATP 依赖转运蛋白(ATP-binding cassette, ABC)家族；次级活性转运蛋白利用 $H^+$或 $Na^+$穿过内膜的电化学势作为驱动力，包括易化因子超家族(major facilitator superfamily, MFS)、多药和有毒化合物排出(multidrug and toxic-compound extrusion, MATE)家族以及小多重耐药(small multidrug resistance, SMR)家族[20]。另外 3 种在其他细菌中报道的耐药外排泵类型，耐药结节分化(resistance nodulation cell division, RND)家族、变形杆菌抗菌化合物外排(proteobacterial antimicrobial compound efflux, PACE)家族和药物/代谢物外排(drug/metabolic efflux, DME)家族蛋白在 Lm 中尚未见报道。下面将对 Lm 中不同种类外排泵的报道进行综述与讨论。

# 2 单增李斯特菌不同结构耐药外排泵的功能及调控机制

## 2.1 ABC 家族外排泵

ABC 家族外排泵是利用 ATP 水解的能量将药物逆着其浓度梯度排出细胞的初级活性转运蛋白，是所有旁系同源蛋白家族中最大的家族，包含 ABC 转运蛋白，也包括不参与转运但是参与 DNA 修复、基因表达调节等过程的 ABC 型 ATP 酶[21]。在乳酸乳球菌中发现的 MDR 转运蛋白 LmrA 是革兰阳性菌中最早发现的 ABC 家族外排泵，LmrA 不仅帮助乳酸乳球菌转运柔红霉素和溴化乙锭(ethidium bromide, EtBr)，还可以提高乳酸乳球菌在高盐环境下的存活[22]。Lm 中已经报道的 ABC 家族外排泵主要有 CadAC、AnrAB、VirAB 和 VgaL (图 1)。

### 2.1.1 CadAC

CadAC 是 Lm 中报道的第一个外排泵，它的发现源于对 Lm 镉耐受的研究。在最初的研究中，Lebrun 等[23]证明 Lm 对镉的耐受是质粒介导的，对关键因素进一步探索发现，位于 Tn*5422* 转座子上的 CadAC 操纵子是介导镉耐受的关键基因[17]。之后由于 *cadA* 不同基因亚型的发现，该 *cadA* 被命名为 *cadA1*。根据发现时间的先后，另外 3 个 *cadA* 分别被命名为 *cadA2*、*cadA3* 和 *cadA4*[24-26]。1998−1999 年，美国暴发了与热狗

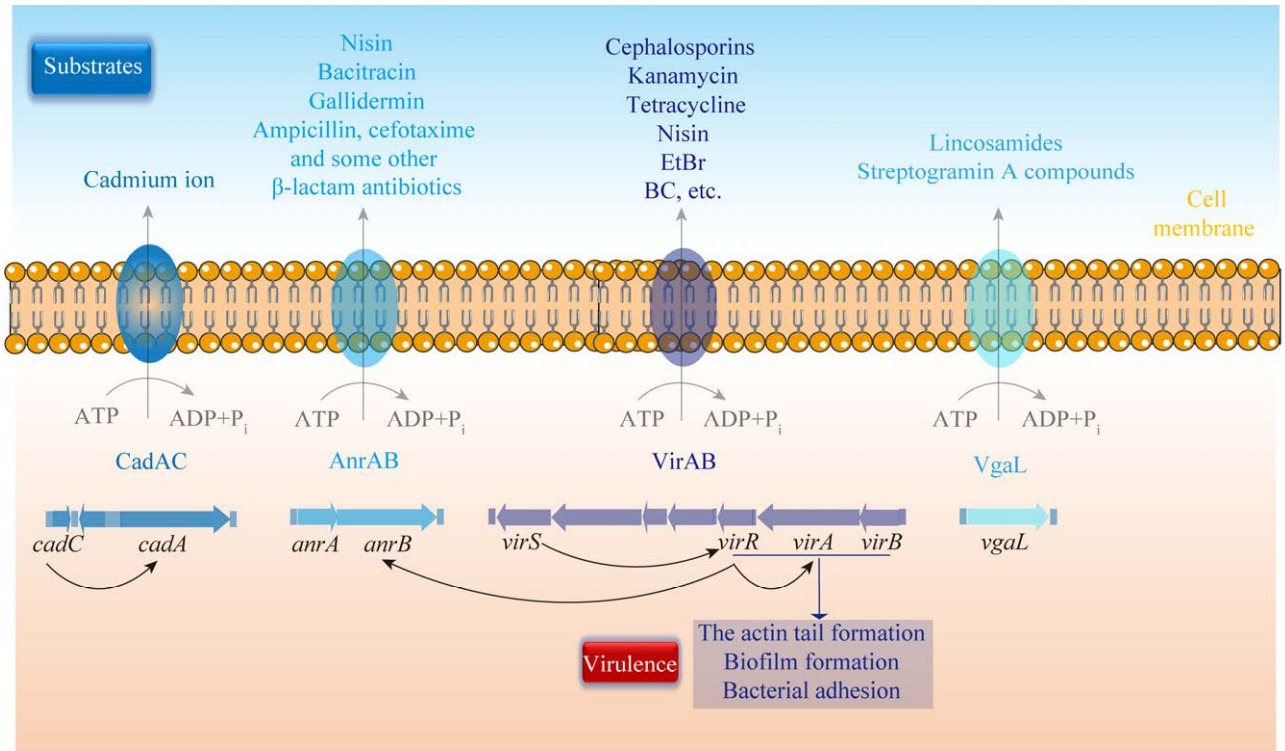


**图 1　单增李斯特菌 ABC 家族耐药外排泵蛋白功能和调控图示**

Figure 1　Diagrammatic representation of the ABC superfamily efflux pumps conferring antimicrobial resistance in *Listeria monocytogenes*. EtBr: Ethidium bromide; BC: Benzalkonium chloride.

污染有关的李斯特菌感染事件，Nelson 等[24]对引起此次疫情的分离株进行基因组测序，发现菌株内质粒 pLM80 (约 80 kb)携带 CadA，因序列与 *cadA1* 不同，被命名为 *cadA2*，同时该质粒还携带介导苯扎氯铵(benzalkonium chloride, BC)耐受的基因。Mullapudi 等[25]通过对 Lm 菌株 EGD-e 的基因组分析发现，其也携带镉耐受基因，因序列存在差异，因此被命名为 *cadA3*。1983 年，美国曼彻斯特暴发李斯特菌病，通过实验室细菌培养，分离出 Lm 菌株，命名为 Scott A[26]。Briers 等[26]对 Scott A 的基因组分析后，根据序列相似度将其携带的镉耐受基因命名为 *cadA4*，但并未对 CadA4 的功能进行验证。为了对 CadA4 的功能进行解析，Parsons 等[27]进行了一系列实验。他们发现镉暴露可以诱导 *cadA4* 表达；在大蜡螟模型中的毒力评估表明，*cadA4* 正常表达会减弱细菌毒力；生物被膜实验表明 *cadA4* 失活会降低细菌生物被膜的形成，证明 CadA4 确实参与细菌抵抗镉应激，同时还与细菌毒力表达和生物被膜形成相关[27]。

根据报道，Lm 中的 CadA 介导 $Cd^{2+}$外排，CadC 是负调控蛋白，这和金黄色葡萄球菌中的 CadAC 作用方式一致[28]。CadC 除了调控 CadA 之外，还被证明可能是广泛的毒力基因表达抑制基因。Pombinho 等[29]发现 CadC 在 Lm 感染后期会高度表达，下调在胃肠道中生存所需的基因来促进 Lm 毒力，进而促进细菌感染。

### 2.1.2　AnrAB

在对 Lm 菌株 EGD-e 序列分析时，Collins 等[30]发现 AnrB (由 *lmo2115* 编码)可以介导 Lm 对乳酸链球菌素(nisin)的天然耐药；*anrB* 缺失后，Lm 对杆菌肽敏感性升高最显著(8 倍)，对抗

菌肽 gallidermin 敏感性升高 4 倍，同时对氨苄西林、青霉素 G、头孢呋辛、头孢噻肟等 β-内酰胺类抗生素敏感性显著升高，证明 AnrB 是介导 MDR 的外排泵。

AnrAB 位于同一个操纵子中，AnrB 是介导 MDR 的外排泵，AnrA (由 *lmo2114* 编码)则是相应的 ATP 结合蛋白，其上游的假定启动子包含一个与 VirR 介导的调控相关的保守回文序列，因此被认为很可能受 VirR 调控[30]。VirR 是双组份调控系统(two-component system, TCS) VirSR 中的响应调控蛋白，是 Lm 中重要的毒力调控因子，研究表明，VirR 的缺失严重降低了菌株在细胞和小鼠中的毒力与侵袭性[31]。目前，AnrAB 介导 MDR 的确切机制尚不清楚。

#### 2.1.3 VirAB

菌株 LM-49 是通过转座子突变筛选出的生物被膜强表达菌株，Zhu 等[32]通过对其序列进行分析，发现一个假定的 ABC 型转运蛋白可以负调控 Lm 生物被膜的形成，该转运蛋白之后被命名为 VirAB，在 EGD-e 中分别由 *lmo1746* 和 *lmo1747* 编码。与野生株相比，*virAB* 缺失株形成生物被膜的能力下降，对头孢菌素类抗生素、nisin 和 EtBr 的敏感性增加；当培养基中分别添加亚致死浓度的 BC、卡那霉素和四环素时，缺失株均表现出不同程度的生长缺陷[33]。通过对调控机制的进一步研究，Grubaugh 等[34]发现 VirAB 表达也受 VirSR 的调控。已知 VirAB 和 AnrAB 均受 VirSR 调控，VirAB 与细菌对 nisin 的耐药相关，但却与杆菌肽耐药无关，表明 VirR 对杆菌肽耐药的调控机制不依赖于 VirAB，更可能依赖于 AnrAB[34]。另外，*virAB* 缺失株和 *virR* 缺失株在体外噬斑形成和体内毒力方面也表现出相似的缺陷，肌动蛋白尾巴会变短，表明这些缺失株的毒力降低都是基于肌动蛋白的运动性移动和传播的能力降低，证明 VirAB 与 VirR 在同一通路中发挥作用，调控细菌毒力和耐药所需基因的表达[34]。同时，VirAB 和 VirS 都与黏附相关，但与群集运动无关；VirAB 和 VirS 对细菌生物被膜的形成都至关重要，它们可以作为一个整体在生物被膜的形成中发挥作用[16]。

因此，TCS VirSR 和两个 ABC 型外排泵 VirAB、AnrAB 组成了复杂的 TCS/ABC 转运系统(VirAB-VirSR-AnrAB)，成为了独特的耐药模式。Jiang 等[18]通过对 VirAB-VirSR-AnrAB 系统研究发现，它们不仅介导对 nisin、杆菌肽的耐药，同时还介导菌株对头孢菌素类抗生素、EtBr 和 BC 耐药或耐受。在该系统中，两种 ABC 转运蛋白 VirAB 和 AnrAB 在头孢噻肟耐药中发挥着不同的作用，前者仅负责抗生素感知，作为 VirSR 信号传导的感应器，而后者则有助于抗生素的运输[18]。另外，VirAB 可以促进菌株对卡那霉素和四环素的耐药，证明 VirAB 确实是 MDR 外排泵[18]。

#### 2.1.4 VgaL

Chesneau 等[35]对细菌基因组序列分析表明，Lm 中 Lmo0919 与葡萄球菌 Vga 蛋白存在亲缘关系；将 Lmo0919 异源表达于葡萄球菌中，发现其可以介导对林克酰胺类抗生素和链阳霉素 A 化合物的耐药，因此认为该基因可以介导抗生素耐药。Lmo0919 随后被 Crowe-Mcauliffe 等[36]命名为 *vgaL*。为了解 VgaL 介导的耐药表型，Dar 等[37]在 Lm 中缺失 VgaL，发现菌株对林可霉素敏感性升高了 4 倍，而没有影响对其他抗生素的敏感性；证明 *vgaL* 编码的蛋白具有林可霉素特异耐药性。

Dar 等[37]进一步对 *vgaL* 的 5′UTR 调控序列进行解析，发现该基因可能具有双茎、终止子/反终止子结构。即使在林可霉素存在的情况下，从反终止子中缺失 8 个核苷酸也使调节子处于

组成性“关闭”状态，使细菌对抗生素变为敏感；相反，从反-反终止子中缺失 8 个核苷酸会释放反终止子，使其干扰终止子结构，这样在没有抗生素的情况下也会导致本构性通读(即“开放”状态)，并导致细菌对林可霉素的耐药性增加[37]。这表明，*vgaL* 介导的林可霉素依赖性激活是由该基因 5′UTR 中终止子/反终止子结构的结构性相互作用介导的[37]。除了 VgaL，Lm 中还报道了另一林可霉素耐药蛋白 HflXr (由 *lmo0762* 编码)，Duval 等[38]通过对 HflXr 功能研究表明，VgaL 在 Lm 对林可霉素的固有耐药中起主要作用，而 HflXr 可以部分恢复 VgaL 的缺失，因此在林可霉素存在情况下，VgaL 和 HflXr 很可能起协同作用。

## 2.2 MFS 外排泵

MFS 外排泵是最大的次级转运蛋白家族，存在于从细菌、植物到哺乳动物的所有门中。基于保守基序比对的生物信息学分析表明，MFS 转运蛋白可以分为两组，分别含有 12 个或 14 个跨膜螺旋或片段(transmembrane helices or segments, TMS)。该家族中包含多种转运蛋白，如金黄色葡萄球菌中的 NorA 和 QacA，不同菌株之间同源性通常不高。综合已有报道，MFS 外排泵通常受 TetR 型、MarR 型或 MerR 型转录抑制因子的调控[39]。Lm 中已经报道的 MFS 外排泵主要有 MdrL、Lde、MdrT 和 MdrM (图 2)。

### 2.2.1 MdrL

MdrL 是 Lm 中报道的第一个 MDR 外排泵。MdrL 位于 Lm 染色体上(由 *lmo1409* 编码)，Mata 等[15]发现当该基因缺失后，菌株不能外排 EtBr，对大环内酯类抗生素、头孢噻肟和部分重金属离子($Zn^{2+}$、$Co^{2+}$和 $Cr^{2+}$)的最小抑制浓度均明显降低。随着研究的深入，研究人员发现 MdrL 的底物范围不止于此。Mereghetti 等[40]调查 97 株不

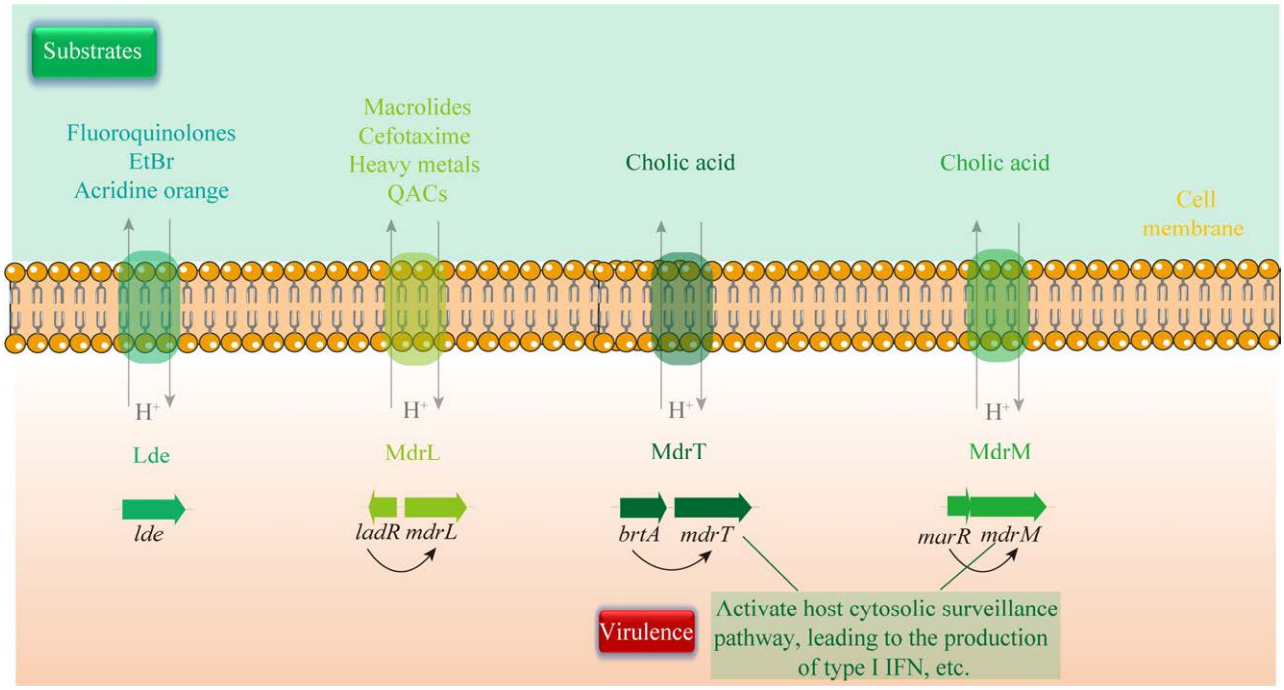


**图 2 单增李斯特菌 MFS 耐药外排泵蛋白功能和调控图示**

Figure 2 Diagrammatic representation of the MFS efflux pumps conferring antimicrobial resistance in *Listeria monocytogenes*. EtBr: Ethidium bromide; QACs: Quaternary ammonium compounds.

同来源的 Lm 对季铵盐类消毒剂(quaternary ammonium compounds, QACs)耐受的结果表明，约 7%的 Lm 对 BC 的最小抑菌浓度(minimal inhibitory concentration, MIC)值较高，可能和 MdrL 的过度表达有关，提示 MdrL 与菌株对 BC 等 QACs 的耐受也相关。以上研究的 MdrL 都是由染色体编码的，而 Romanova 等[41]发现 MdrL 也可以由质粒携带，同样介导对 QACs 的耐受。Huillet 等[42]证明 PadR 型的调控因子 LadR (由 *lmo1408* 编码)可以负调控 MdrL，且 MdrL 不受全局调控因子 PrfA 的调控。

徐雅梦等[43-44]及 Jiang 等[45]进一步证明 MdrL 外排泵介导 Lm 对 BC 的耐受，但与之前的报道不同，*mdrL* 的缺失对头孢噻肟耐药性和 EtBr 外排无影响；且证明 Lm 的调控子 LadR 通过与 *mdrL* 基因启动子区域特异性结合实现对外排泵 MdrL 的负调控。由于 BC 在食品工业中广泛使用，MdrL 有利于 Lm 在食品加工环境中生存，这引发对消毒剂耐受 Lm 在食品加工环境中持留的担忧。Yu 等[46]将 Lm 暴露于逐渐增加的 BC 浓度下，不仅导致菌株对 BC 的耐受，还导致对其他几种具有不同作用原理的抗菌剂的适应，包括头孢噻肟、环丙沙星和 EtBr，这表明 BC 消毒剂具有选择抗生素耐药性的能力；反复暴露于 BC 后，大多数菌株对酸、碱、渗透压、乙醇和氧化应激的敏感性都增加了。进一步研究发现菌株对 BC 的高耐受与 MdrL 相关，但是对头孢噻肟等的交叉耐药却与 MdrL 不相关，提示有其他的耐药机制存在；证明 Lm 持续暴露于 BC 压力，不仅可以增强 MdrL 的表达，同时很可能也诱导了其他耐药外排泵的表达[46]。

### 2.2.2 Lde

Godreuil 等[47]对 488 株法国人源 Lm 进行耐药情况检测时发现，有 5 株 Lm 对氟喹诺酮类抗生素耐药；进一步研究证明，外排泵 Lde (由 *lmo2741* 编码)介导该表型。研究团队同时发现，Lde 除了介导对氟喹诺酮类抗生素耐药外，还可以增加菌株对 EtBr 和染料吖啶橙的耐受[47]。对国内 Lm 分离株的研究也证明了 Lde 过表达是介导菌株对氟喹诺酮类抗生素耐药的机制之一；Jiang 等[48]对 18 株零售食品源 Lm (其中 15 株对环丙沙星耐药，另外 3 株敏感)的研究表明，Lde 过度表达与 Lm 对环丙沙星的耐药密切相关，对于一些其他细菌中常见的喹诺酮类抗生素耐药基因均未检测到[49]。除了在菌株水平，Lismond 等[50]还发现，当 Lm 感染 J774 巨噬细胞时，Lde 可以和真核外排泵合作，共同降低细胞内环丙沙星的浓度，以减弱环丙沙星对细胞内细菌靶标的活性。

同时，Rakic-Martinez 等[51]的研究证明 Lm 在环丙沙星中的持续暴露会产生和消毒剂诱导一样的耐药增强现象。他们发现在环丙沙星(2 μg/mL)和 BC (10 μg/mL)存在条件下诱导菌株，Lm 不仅会产生对上述两种化合物的耐药，同时对庆大霉素、EtBr、化疗药物四苯基氯化磷(tetraphenylphosphonium chloride, TPP)的 MIC 值都有所升高[51]。尤其在 BC 诱导株中，*lde* 的表达升高了 5 倍，而其他 MFS 型外排泵的表达并未发生变化，因此推测 MIC 值的升高与外排泵如 Lde 的过表达密切相关[51]。然而，Jiang 等[52]对暴露于浓度逐渐增加的环丙沙星筛选出的耐药 Lm 菌株进行分析发现，环丙沙星诱导菌株对 EtBr 产生交叉耐药，未出现对 BC 交叉耐药的菌株；在环丙沙星诱导菌株中，*lde* 的表达水平升高，证明外排泵 Lde 在 Lm 对环丙沙星和 EtBr (而不是 BC)的耐药过程中起重要作用。同时，作者还证明，Lde 不受 SOS 反应(SOS response)的中央调节子 LexA 的调控[52]。Lde 具体的调控机制尚未见报道。

#### 2.2.3 MdrT 和 MdrM

通过转座子突变文库的筛选，Crimmins 等[19]发现，在 Lm 感染宿主过程中，MFS 型外排泵 MdrT (由 *lmo2588* 编码)和 MdrM (由 *lmo1617* 编码)可以激活宿主先天免疫的胞质监测途径，引起 IFN-β 的释放，促进 Lm 的感染。MdrT 和 MdrM 分别受其上游调控因子 *tetR* (后被 Quillin 等[53]命名为 *brtA*)和 *marR* 负调控；当调控因子缺失，MdrT 和 MdrM 过度表达，会引起 IFN-β 的大量产生。MdrL 外排泵的负调控因子 LadR 也可以调控 *mdrM* 的表达，但弱于 MarR 的作用[19]。为研究 MdrT 和 MdrM 在 Lm 感染过程中可以激活宿主先天免疫的胞质监测途径的机制，Woodward 等[54]采用反相高效液相色谱对各 MDR 菌株的活性样品进行分离和分析发现，MdrT 和 MdrM 过度表达的 Lm 菌株培养上清液中存在高水平的 c-di-AMP，且 Lm 上清液诱导 IFN-β 的活性与 c-di-AMP 浓度呈线性相关，证明 Lm 在细胞内感染过程中，MdrT 和 MdrM 等转运蛋白有利于 c-di-AMP 的输出，进而激活宿主先天免疫的胞质监测途径，引起 IFN-β 的释放。除了 MdrT 和 MdrM 外，MdrM 的同源蛋白 MdrA 和 MdrC (4 个外排泵组成 MdrMTAC)共同参与对I型干扰素的诱导释放，MdrMTAC 在细胞内生长过程中转录上调，并促进宿主细胞对 I 型干扰素的反应，证明 MdrT 和 MdrM 与细菌毒力表达密切相关[55]。当 MdrMTAC 缺失后，菌株不能产生和释放肽聚糖，Lm 对亚致死浓度的万古霉素转为敏感，而 c-di-AMP 深度参与了这一表型的产生，这些结果表明 MdrMTAC 介导 c-di-AMP 的分泌，调节肽聚糖合成，进而帮助细菌响应细胞壁应激[55]。

除了促进宿主先天免疫反应外，MdrM 和 MdrT 还可以影响 Lm 在感染过程中遇到的富含胆汁的脏器中的存活，如肝脏、脾脏和胆囊。Quillin 等[53]发现 MdrM 和 MdrT 可以被胆汁成分胆酸强力和特异性诱导表达，这种诱导是由 BrtA 介导的；当在胆酸存在的情况下，BrtA 失去了与 *mdrT* 启动子结合和抑制的能力，但目前尚不清楚这是因为胆酸直接与 BtrA 蛋白结合还是由于其清洁剂性能干扰了 BtrA 的结构导致的。MdrT 可以外排胆酸，证明胆酸是外排泵 MdrT 的底物；*mdrT* 缺失株在体外暴露于胆酸或胆汁时，以及在体内感染小鼠的胆囊和肝脏定殖能力都显著减弱[53]。Schwartz 等[56]也发现，转录调节因子 BrtA 的功能缺失，会解除 MdrT 表达的抑制，引起 IFN-β 的过度激活，增强 Lm 的毒力，但是菌株在多种小鼠感染模型中的定殖反而显著减弱，这表明分泌 c-di-AMP 的外排泵 MdrT 不受调控的表达，以一种未知的机制显著限制了 Lm 在体内的毒力，提示 MdrT 精准调控对于 Lm 感染的重要性。

### 2.3 MATE 家族外排泵

MATE 家族外排泵在 20 多年前才首次被发现，最初被认为属于 MFS，然而通过系统分析以及进一步研究发现，MATE 家族与 MFS 在基因序列以及蛋白结构上都存在差异，MATE 家族有一个保守的折叠结构，包含 12 个跨膜螺旋(TM)，排列成两束 6 个螺旋[57]。MATE 家族外排泵利用 $Na^+$跨膜或 $H^+$跨膜引起的电化学势作为驱动力，在革兰阴性菌中报道较多，包括 NorM、YdhE、VmrA、VcmA、AbeM、PmpM[58-59]等。在革兰阳性菌中 MATE 成员也有不少报道，如金黄色葡萄球菌中的 MepA[60]、艰难梭菌的 CdeA[61]等。Lm 中目前报道的耐药 MATE 家族外排泵只有一个：FepA (图 3)。

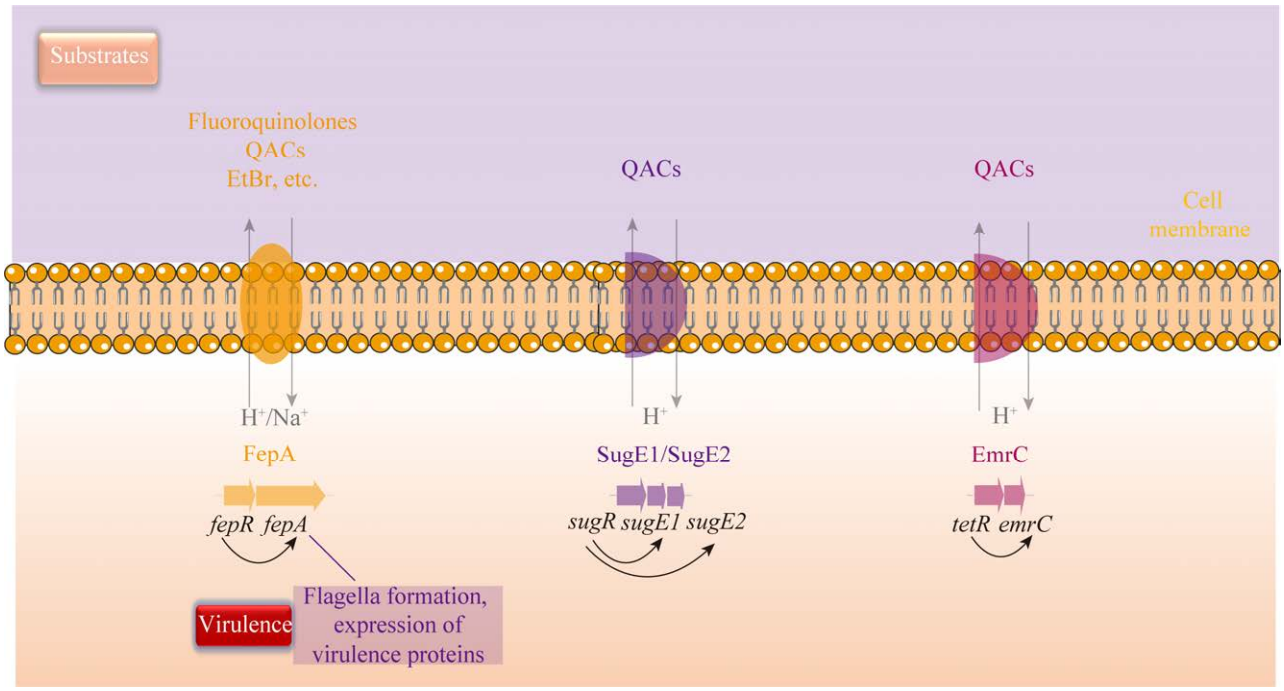


**图 3 单增李斯特菌 MATE 和 SMR 家族(本文)耐药外排泵蛋白功能和调控图示**

Figure 3 Diagrammatic representation of the MATE and SMR (this manuscript) superfamily efflux pumps conferring antimicrobial resistance in *Listeria monocytogenes*. EtBr: Ethidium bromide; QACs: Quaternary ammonium compounds.

Guérin 等[62]对两株分别对诺氟沙星和环丙沙星敏感(菌株 BM4715)和高度耐药(菌株 BM4716)的 Lm 菌株进行基因组分析发现，一个 TetR 型转录调控因子 FepR (由 *lmo2088* 编码)发生突变，导致其下游的 MATE 型外排泵 FepA (由 *lmo2087* 编码)高水平表达，证明 FepA 的过度表达是 Lm 对氟喹诺酮类抗生素产生高水平耐药的原因，FepA 受到 FepR 的负调控。除了介导氟喹诺酮类抗生素耐药，FepR 的突变也被证明与 QACs 的耐受相关。Bland 等[63]在研究食品加工环境源 Lm 对商业消毒剂和抗生素之间交叉耐药性的现状时发现，*fepR* 突变在低水平适应 QACs 后的抗生素敏感性降低中发挥了作用。

FepR 突变与 QACs 耐受的相关性在更系统的序列研究中得到了证明。Douarre 等[64]对消毒剂适应株和亲本菌株进行比较基因组学研究，核心基因组单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)分析在 94%的适应菌株中发现了转录调节因子 *fepR* 的各种突变，而其他基因的突变频率较低；通过计算机预测和蛋白质同源性建模来评估突变对蛋白质结构和功能的影响，发现 75%的错义突变位于蛋白质的 HTH 结构域，即位于 DNA 相互作用位点内，这些突变会降低调控因子的活性，导致负责环丙沙星抗性增强的外排泵即 FepA 的过度表达。提示反复暴露于亚抑制性消毒剂浓度可诱导 Lm 对这些化合物的耐受性增加，同时可诱导 Lm 对抗生素的交叉耐药，两者都增加了 Lm 在食品生产环境中的持久存活能力和食品污染的风险。Bolten 等[65]

也指出，在低剂量 BC 诱导下，多数 Lm 菌株的 *fepR* 基因会发生突变，导致菌株对 BC 耐受浓度升高；但是并没有显著提高这些耐受菌株在食品加工环境推荐使用的消毒剂浓度中的存活能力。这些结果表明，在食品加工环境使用推荐浓度的 BC 进行消毒时，无论菌株是否耐受低水平的 BC，推荐浓度的 BC 对于 Lm 或其他李斯特属的细菌杀灭作用是相似的，提示我们不必对 BC 耐受 Lm 菌株过于担心，但持续监测仍然是必需的[65]。

本实验室在 Lm 菌株 EGD-e 的研究中发现，当 FepA 缺失后，菌株对头孢噻肟、消毒剂(QACs，如苯扎溴铵、BC)及染料(EtBr、吖啶橙等)的敏感性升高，但未发现对氟喹诺酮类抗生素的敏感性发生变化。值得注意的是，FepA 可以通过影响多个鞭毛相关基因转录影响鞭毛合成，导致 Lm 运动性降低；进一步分析发现，缺失 FepA 后，Lm 多个毒力蛋白表达水平下降，使得菌株在细胞内感染和小鼠模型中毒力均下降(数据未发表)。证明 FepA 除了介导抗生素和有毒化合物的外排，还可以促进单增李斯特菌鞭毛形成和参与细菌感染过程。

## 2.4 SMR 家族外排泵

SMR 家族外排泵是已知的结构最小的次级转运蛋白，大小约为 100−140 个氨基酸，是包含 4 个跨膜 α 螺旋结构域的小蛋白[66]。SMR 蛋白转运动力来自电化学质子泵的能量，革兰阳性菌中 SMR 蛋白经典底物包括防腐剂、QACs、染料以及四环素类、氟喹诺酮类等抗生素[66-68]。大肠埃希菌中的 EmrE 是 SMR 家族外排泵的典型代表，可以提高大肠埃希菌对多种 QACs、四环素、EtBr 等的耐受[68]；革兰阳性菌金黄色葡萄球菌中的 Smr 主要介导对 QACs、EtBr 等染料的耐受[67]。目前，Lm 中报道的 SMR 家族外排泵有 BcrABC、EmrE、EmrC、QacH、Sug1/Sug2 等，几乎都与消毒剂，特别是 QACs 的耐受相关。姜晓冰等[69]曾对 Lm 对季铵盐类消毒剂的耐药机制进行过综述，该综述已对 QacH、BcrABC 和 EmrE 进行详细介绍，此处不再赘述，仅介绍 EmrC 和 SugE1/SugE2 (图 3)。

### 2.4.1 EmrC

Kremer 等[14]在对 96 株引起成人脑膜炎的 Lm 菌株基因组分析时发现了一个新质粒 pLMST6，该质粒携带 BC 耐受基因 *emrC*，降低了菌株对食品加工业中使用的消毒剂的敏感性；与 *emrC* 阴性的 Lm 菌株相比，*emrC* 阳性的 Lm 菌株可以在较高水平的 BC 浓度下生长，并且对阿莫西林和庆大霉素的 MIC 值升高。这些结果表明，食品加工环境中消毒剂的不当使用会对 Lm 菌株产生筛选，可能会导致疾病风险的增加[14]。Kropac 等[70]进一步对携带 *emrC* 基因的质粒 pLMST6 的流行情况调查发现，1.6% (7/436)不同来源的 Lm 携带 pLMST6，pLMST6 仅增加 Lm 对 QACs 的耐受性，对非季铵盐类消毒剂以及氨苄西林、四环素和庆大霉素等抗生素的敏感性没有影响；携带该质粒的菌株毒力也有所提高。同时，结果还提示 *emrC* 很可能受一个 TetR 型的转录因子的调控，但具体调控机制并未证明[70]。相较于其他介导 QACs 耐药或耐受的基因，如 *qacH*，*ermC* 的流行率相对较低。Chmielowska 等[71]在对 287 株鱼、鱼产品和食品加工厂源 Lm 进行药物敏感性和耐药基因分析发现，40%菌株对 BC 耐受，其中 83%的 BC 耐受菌株携带 *qacH*，有 12 株 Lm 携带编码 EmrC 的 pLMST6-like 质粒 pLIS3；另外，56%菌株对镉耐受，共检测到 3 种不同的镉外排泵基因(*cadA1*、*cadA2* 和 *cadA4*)，其中以 *cadA1* 流行率最高，88%镉耐受 Lm 携带 *cadA1*。

### 2.4.2 SugE1/SugE2

Jiang 等[72]发现操纵子 *lmo0852*/*lmo0853*/

*lmo0854* (相应命名为 *sugR*/*sugE1*/*sugE2*)可以促进 Lm 菌株 EGD-e 对 QACs 的耐受。SugE1 和 SugE2 是两个 SMR 型外排泵，SugR 是 TetR 型转录调控因子。SugE1 和 SugE2 均可以介导菌株对 QACs 的耐受，表明两者功能重合；在 BC 存在条件下，任一个 *sugE* 的缺失会导致另一个 *sugE* 基因的转录水平显著升高[72]。此外，SugR 通过结合操纵子启动子区域负调控 *sugE* 基因的转录[72]。

除了 BC，溴化十六烷基三甲基铵(cetyltrimethylammonium bromide, CTAB)也是常用的 QACs 之一。Schulz 等[73]在研究中发现 Lm 对不同 QACs 的适应机制也不尽相同：一方面，所有对 BC 耐受的诱导菌株都只携带 *fepR* 基因的突变，与前述报道一致，*fepR* 编码 TetR 型转录调节因子，其启动子区域的突变导致外排泵 FepA 的过度表达；另一方面，CTAB 耐受却与 *sugR* 基因的突变有关，该基因调控外排泵 SugE1 和 SugE2 的表达，表明 Lm 对 BC 和 CTAB 耐受的诱导机制是不同的，但是 FepA 和 SugE1/2 至少可以部分相互补偿。值得注意的是，缺乏 FepA 或 SugE1/2 的李斯特菌株仍然可以获得对 BC 和 CTAB 的耐受性；基因组分析揭示，其他外排系统的过度表达可以弥补被删除的外排系统，即使在没有这两种外排系统的情况下，也可以分离出耐受菌株，这些菌株都携带了二酰基甘油激酶编码基因 *lmo1753* (*dgkB*)的突变。DgkB 将二酰基甘油转化为磷脂酸，随后再用于合成磷脂，这表明膜组成的改变可能是第 3 种适应机制[73]。证明在对 QACs 的耐受中，Lm 中多个以 QACs 为底物的外排泵可以起到协同作用，当其中一个或两个外排泵受到抑制时，其他同底物外排泵的表达会增强，以帮助细菌提高外排 QACs 的能力，但具体补偿机制尚不清楚。

单增李斯特菌目前已报道的 4 种耐药外排泵功能及调控机制总结在图 4 和表 1。

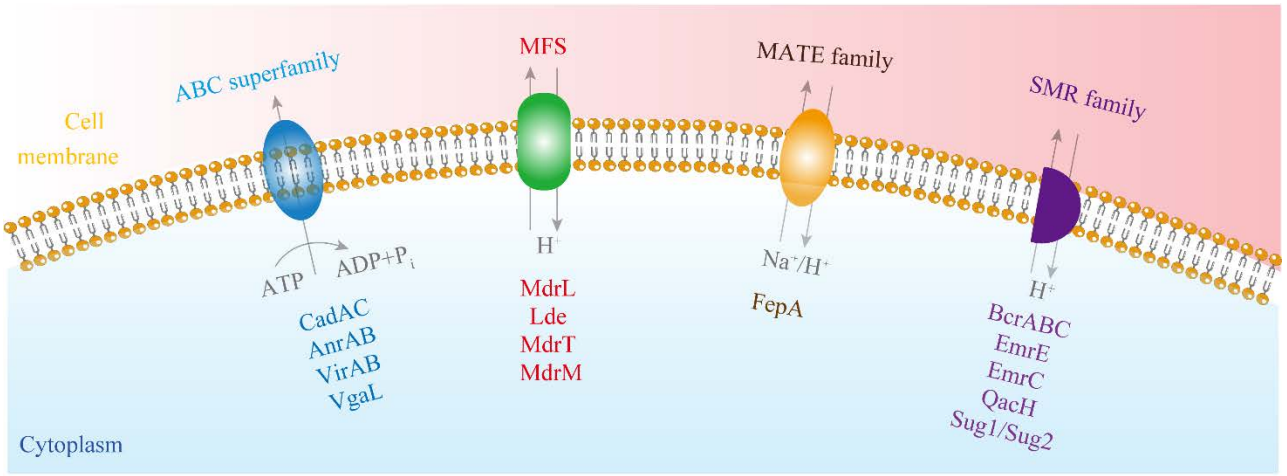


**图 4 单增李斯特菌目前已报道的 4 种耐药外排泵的图示**

Figure 4 Diagrammatic representation of the four reported efflux pumps families conferring antimicrobial resistance in *Listeria monocytogenes*. The ATP-binding cassette (ABC) superfamily, the major facilitator superfamily (MFS), the multidrug and toxic-compound extrusion (MATE) family, and the small multidrug resistance (SMR) family.

**表 1　单增李斯特菌中不同耐药外排泵的功能及调控**

Table 1　Function and regulation of different antimicrobial resistance efflux pumps in *Listeria monocytogenes*

| Type | Efflux pumps | Genes | Substrates | Other functions | Regulatory genes | References |
|---|---|---|---|---|---|---|
| ABC | CadA | *lmo1100* (*cadA3*) | $Cd^{2+}$ | / | CadC | [17,23-26] |
| | AnrAB | *lmo2114*, *lmo2115* | Nisin, bacitracin, gallidermin, ampicillin, cefotaxime, and some other β-lactam antibiotics | / | VirR | [30] |
| | VirAB | *lmo1746*, *lmo1747* | Cephalosporins, kanamycin, tetracycline, nisin, EtBr, BC, etc. | Maintain the actin tail formation, promote biofilm formation, involved in bacterial adhesion | VirSR | [16,18,32-34] |
| | VgaL | *lmo0919* | Lincosamides, streptogramin A compounds | / | / | [35-38] |
| MFS | MdrL | *lmo1409* | Macrolides, cefotaxime, heavy metals, QACs | / | LadR | [15,40-46] |
| | Lde | *lmo2741* | Fluoroquinolones, EtBr, dye acridine orange | / | / | [47-50] |
| | MdrT | *lmo2588* | Cholic acid | Control the magnitude of a host cytosolic surveillance pathway, leading to the production of several cytokines, including type I IFN | BrtA | [19,53-56] |
| | MdrM | *lmo1617* | | | MarR | |
| MATE | FepA | *lmo2087* | Fluoroquinolones, QACs, EtBr, etc. | Promote flagella formation and expression of virulence proteins[a] | FepR | [62-65,73] |
| SMR | QacH, BcrABC, and EmrE | | | | | [69] |
| | EmrC | Plasmid-borne | QACs | / | TetR | [14,70-71] |
| | SugE1/SugE2 | *lmo0853*, *lmo0854* | QACs | / | SugR | [72-73] |

[a]: Conclusions from unpublished data in our lab.

## 3　单增李斯特菌不同结构耐药外排泵存在协同作用

在对共同底物的转运中，Lm 中不同结构的外排泵很可能起协同作用，比如 QACs。Lm 多个外排泵均以 QACs 为底物，包括 ABC 外排泵 VirAB、MFS 型外排泵 MdrL、MATE 型外排泵 FepA 和多个 SMR 型外排泵等，它们在介导 Lm 对 QACs 的耐受中起到协同作用，这已在其他报道和前述内容中进行叙述[69,73]。除了 QACs 作为多个外排泵共同底物存在协同效应外，对其他一些底物，如头孢菌素类抗生素等，Lm 不同外排泵也存在协同转运作用。

Lm 通常对多种抗菌药敏感，但它们对某些抗菌药具有固有或天然的耐药性，其中就包括头孢菌素类抗生素[74]。由于头孢菌素是治疗不明原因败血症最常用的抗生素，对头孢菌素的固有耐药显著降低了感染的治愈率[75]。Lm 对头孢菌素的固有耐药机制比较复杂，包括青霉素结合蛋白突变、TCS 系统(如 CesRK、LisRK)和其他

因子调控，当然也包括前述以头孢菌素为底物的外排泵，如 MdrL、AnrAB、VirAB 和 FepA 等[15,18,30,75-77]。它们共同介导了 Lm 对头孢菌素类抗生素如头孢噻肟的固有耐药。

关于 Lm 不同结构耐药外排泵协同作用的机制还有待更多研究。

## 4 结语

由于不合理使用抗菌药或消毒剂而施加的选择压力，耐药包括 MDR Lm 的报道在不断增多。不同耐药外排泵是导致 Lm 产生 MDR 的重要原因之一，多数外排泵参与抗生素、消毒剂等杀菌剂、重金属等的排出，少数外排泵还参与了细菌在宿主内的感染过程。也就是说，外排泵蛋白在 Lm 对抗外界压力、介导毒力方面都可能发挥作用，外排泵对于 Lm 的生存十分重要。加强对 Lm 耐药情况的监控，研究外排泵的功能及调控，有助于进一步了解 Lm 特性，帮助控制食源性 Lm 感染，也为找到新的抗李斯特菌药物靶点提供更多理论基础。

## 参考文献


[1] ZHANG HQ, LUO X, ASPRIDOU Z, MISIOU O, DONG PC, ZHANG YM. The prevalence and antibiotic-resistant of *Listeria monocytogenes* in livestock and poultry meat in China and the EU from 2001 to 2022: a systematic review and meta-analysis[J]. Foods, 2023, 12(4): 769.

[2] POIMENIDOU SV, CACCIA N, PARAMITHIOTIS S, HÉBRAUD M, NYCHAS GJ, SKANDAMIS PN. Influence of temperature on regulation of key virulence and stress response genes in *Listeria monocytogenes* biofilms[J]. Food Microbiology, 2023, 111: 104190.

[3] REDDING M, BOLTEN S, GU GY, LUO YG, MICALLEF SA, MILLNER P, NOU X. Growth and inactivation of *Listeria monocytogenes* in sterile extracts of fruits and vegetables: impact of the intrinsic factors pH, sugar and organic acid content[J]. International Journal of Food Microbiology, 2023, 386: 110043.

[4] FERNÁNDEZ-GÓMEZ P, OLIVEIRA M, COBO-DÍAZ JF, GONZÁLEZ-RAURICH M, MÚGICA-VIDAL R, ALBA-ELÍAS F, PRIETO M, ALVAREZ-ORDÓÑEZ A, LÓPEZ M. The background microbiota and sanitization agent drive the fate of *Listeria monocytogenes* in multispecies biofilms formed on a plasma-polymerized coating applied on stainless steel[J]. International Journal of Food Microbiology, 2023, 386: 110017.

[5] LI XR, HOSPITAL XF, HIERRO E, FERNÁNDEZ M, SHENG LN, WANG LX. Formation of *Listeria monocytogenes* persister cells in the produce-processing environment[J]. International Journal of Food Microbiology, 2023, 390: 110106.

[6] DENNY J, McLAUCHLIN J. Human *Listeria monocytogenes* infections in Europe: an opportunity for improved European surveillance[J]. European Communicable Disease Bulletin, 2008, 13(13): 8082.

[7] LIU X, CHEN WJ, FANG ZX, YU Y, BI J, WANG J, DONG QL, ZHANG HZ. Persistence of *Listeria monocytogenes* ST5 in ready-to-eat food processing environment[J]. Foods, 2022, 11(17): 2561.

[8] 朱雅慧, 王佳莹, 朱洪日, 张公亮, 侯红漫. 单增李斯特菌在模拟人体胃环境中的耐受性[J]. 中国食品学报, 2018, 18(12): 39-45.
ZHU YH, WANG JY, ZHU HR, ZHANG GL, HOU HM. Tolerance of *Listeria monocytogens* to the simulating human stomach[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2018, 18(12): 39-45 (in Chinese).

[9] 王岚, 贾华云, 陈帅, 刘晓革, 刘建琪, 张林青, 张红, 湛志飞. 冷冻饮品加工过程中单核细胞增生李斯特菌污染状况分析[J]. 实用预防医学, 2017, 24(11): 1289-1292.
WANG L, JIA HY, CHEN S, LIU XG, LIU JQ, ZHANG LQ, ZHANG H, ZHAN ZF. Contamination status of *Listeria monocytogenes* in the production process of frozen drinks[J]. Practical Preventive Medicine, 2017, 24(11): 1289-1292 (in Chinese).

[10] 彭俊, 杨淞, 王珏, 金丽仙. 昆明市西山区食品中单核细胞增生李斯特菌的污染状况调查[J]. 中国食品卫生杂志, 2014, 26(1): 74-76.
PENG J, YANG S, WANG J, JIN LX. Survey of *Listeria monocytogens* pollution in foods in Xishan County of Kunming[J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2014, 26(1): 74-76 (in Chinese).

[11] FERRI G, LAUTERI C, FESTINO AR, VERGARA A. ARGs detection in *Listeria monocytogenes* strains isolated from the Atlantic salmon (*Salmo salar*) food industry: a retrospective study[J]. Microorganisms, 2023, 11(6): 1509.

[12] OBAIDAT MM, AlSHEHABAT IA. High multidrug resistance of *Listeria monocytogenes* and association with water sources in sheep and goat dairy flocks in Jordan[J]. Preventive Veterinary Medicine, 2023, 215: 105922.

[13] KAYODE AJ, OKOH AI. Antimicrobial-resistant *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods: implications for food safety and risk assessment[J]. Foods, 2023, 12(6): 1346.

[14] KREMER PHC, LEES JA, KOOPMANS MM, FERWERDA B, ARENDS AWM, FELLER MM, SCHIPPER K, VALLS SERON M, van der ENDE A, BROUWER MC, van de BEEK D, BENTLEY SD. Benzalkonium tolerance genes and outcome in *Listeria monocytogenes* meningitis[J]. Clinical Microbiology and Infection: the Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 2017, 23(4): 265.e1-e7.

[15] MATA MT, BAQUERO F, PÉREZ-DÍAZ JC. A multidrug efflux transporter in *Listeria monocytogenes*[J]. FEMS Microbiology Letters, 2000, 187(2): 185-188.

[16] JIANG XB, REN SY, GENG YM, JIANG CY, LIU GS, WANG HL, YU T, LIANG Y. Role of the VirSR-VirAB system in biofilm formation of *Listeria monocytogenes* EGD-e[J]. Food Research International, 2021, 145: 110394.

[17] LEBRUN M, AUDURIER A, COSSART P. Plasmid-borne cadmium resistance genes in *Listeria monocytogenes* are similar to *cadA* and *cadC* of *Staphylococcus aureus* and are induced by cadmium[J]. Journal of Bacteriology, 1994, 176(10): 3040-3048.

[18] JIANG XB, GENG YM, REN SY, YU T, LI Y, LIU GS, WANG HL, MENG HC, SHI L. The VirAB-VirSR-AnrAB multicomponent system is involved in resistance of *Listeria monocytogenes* EGD-e to cephalosporins, bacitracin, nisin, benzalkonium chloride, and ethidium bromide[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2019, 85(20): e01470-e01419.

[19] CRIMMINS GT, HERSKOVITS AA, REHDER K, SIVICK KE, LAUER P, DUBENSKY TW Jr, PORTNOY DA. *Listeria monocytogenes* multidrug resistance transporters activate a cytosolic surveillance pathway of innate immunity[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2008, 105(29): 10191-10196.

[20] KUMAWAT M, NABI B, DASWANI M, VIQUAR I, PAL N, SHARMA P, TIWARI S, SARMA DK, SHUBHAM S, KUMAR M. Role of bacterial efflux pump proteins in antibiotic resistance across microbial species[J]. Microbial Pathogenesis, 2023, 181: 106182.

[21] LUBELSKI J, KONINGS WN, DRIESSEN AJM. Distribution and physiology of ABC-type transporters contributing to multidrug resistance in bacteria[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR, 2007, 71(3): 463-476.

[22] van VEEN HW, VENEMA K, BOLHUIS H, OUSSENKO I, KOK J, POOLMAN B, DRIESSEN AJ, KONINGS WN. Multidrug resistance mediated by a bacterial homolog of the human multidrug transporter MDR1[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1996, 93(20): 10668-10672.

[23] LEBRUN M, LOULERGUE J, CHASLUS-DANCLA E, AUDURIER A. Plasmids in *Listeria monocytogenes* in relation to cadmium resistance[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1992, 58(9): 3183-3186.

[24] NELSON KE, FOUTS DE, MONGODIN EF, RAVEL J, DeBOY RT, KOLONAY JF, RASKO DA, ANGIUOLI SV, GILL SR, PAULSEN IT, PETERSON J, WHITE O, NELSON WC, NIERMAN W, BEANAN MJ, BRINKAC LM, DAUGHERTY SC, DODSON RJ, DURKIN AS, MADUPU R, et al. Whole genome comparisons of serotype 4b and 1/2a strains of the food-borne pathogen *Listeria monocytogenes* reveal new insights into the core genome components of this species[J]. Nucleic Acids Research, 2004, 32(8): 2386-2395.

[25] MULLAPUDI S, SILETZKY RM, KATHARIOU S. Diverse cadmium resistance determinants in *Listeria monocytogenes* isolates from the Turkey processing plant environment[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2010, 76(2): 627-630.

[26] BRIERS Y, KLUMPP J, SCHUPPLER M, LOESSNER MJ. Genome sequence of *Listeria monocytogenes* Scott A, a clinical isolate from a food-borne listeriosis outbreak[J]. Journal of Bacteriology, 2011, 193(16): 4284-4285.

[27] PARSONS C, LEE SM, JAYEOLA V, KATHARIOU S. Novel cadmium resistance determinant in *Listeria*

*monocytogenes*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2017, 83(5): e02580-e02516.

[28] ENDO G, SILVER S. CadC, the transcriptional regulatory protein of the cadmium resistance system of *Staphylococcus aureus* plasmid PI258[J]. Journal of Bacteriology, 1995, 177(15): 4437-4441.

[29] POMBINHO R, VIEIRA A, CAMEJO A, ARCHAMBAUD C, COSSART P, SOUSA S, CABANES D. Virulence gene repression promotes *Listeria monocytogenes* systemic infection[J]. Gut Microbes, 2020, 11(4): 868-881.

[30] COLLINS B, CURTIS N, COTTER PD, HILL C, ROSS RP. The ABC transporter AnrAB contributes to the innate resistance of *Listeria monocytogenes* to nisin, bacitracin, and various beta-lactam antibiotics[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2010, 54(10): 4416-4423.

[31] MANDIN P, FSIHI H, DUSSURGET O, VERGASSOLA M, MILOHANIC E, TOLEDO-ARANA A, LASA I, JOHANSSON J, COSSART P. VirR, a response regulator critical for *Listeria monocytogenes* virulence[J]. Molecular Microbiology, 2005, 57(5): 1367-1380.

[32] ZHU XN, LONG F, CHEN YH, KNØCHEL S, SHE QX, SHI XM. A putative ABC transporter is involved in negative regulation of biofilm formation by *Listeria monocytogenes*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2008, 74(24): 7675-7683.

[33] 耿忆敏, 任思雨, 于涛, 姜晓冰. VirAB 在单核细胞增生李斯特菌耐药性及生物被膜形成中的作用[J]. 微生物学通报, 2021, 48(2): 471-479.
GENG YM, REN SY, YU T, JIANG XB. Role of VirAB in antimicrobial resistance and biofilm formation of *Listeria monocytogene*[J]. Microbiology China, 2021, 48(2): 471-479 (in Chinese).

[34] GRUBAUGH D, REGEIMBAL JM, GHOSH P, ZHOU Y, LAUER P, THOMAS W DUBENSKY JR, HIGGINS DE. The VirAB ABC transporter is required for VirR regulation of *Listeria monocytogenes* virulence and resistance to nisin[J]. Infection and Immunity, 2018, 86(3): e00901-e00917.

[35] CHESNEAU O, LIGERET H, HOSAN-AGHAIE N, MORVAN A, DASSA E. Molecular analysis of resistance to streptogramin A compounds conferred by the Vga proteins of staphylococci[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2005, 49(3): 973-980.

[36] CROWE-MCAULIFFE C, MURINA V, TURNBULL KJ, KASARI M, MOHAMAD M, POLTE C, TAKADA H, VAITKEVICIUS K, JOHANSSON J, IGNATOVA Z, ATKINSON GC, O'NEILL AJ, HAURYLIUK V, WILSON DN. Structural basis of ABCF-mediated resistance to pleuromutilin, lincosamide, and streptogramin A antibiotics in Gram-positive pathogens[J]. Nature Communications, 2021, 12: 3577.

[37] DAR D, SHAMIR M, MELLIN JR, KOUTERO M, STERN-GINOSSAR N, COSSART P, SOREK R. Term-seq reveals abundant ribo-regulation of antibiotics resistance in bacteria[J]. Science, 2016, 352(6282): aad9822.

[38] DUVAL M, DAR D, CARVALHO F, ROCHA EPC, SOREK R, COSSART P. HflXr, a homolog of a ribosome-splitting factor, mediates antibiotic resistance[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2018, 115(52): 13359-13364.

[39] PASQUA M, GROSSI M, ZENNARO A, FANELLI G, MICHELI G, BARRAS F, COLONNA B, PROSSEDA G. The varied role of efflux pumps of the MFS family in the interplay of bacteria with animal and plant cells[J]. Microorganisms, 2019, 7(9): 285.

[40] MEREGHETTI L, QUENTIN R, MARQUET-VAN der MEE N, AUDURIER A. Low sensitivity of *Listeria monocytogenes* to quaternary ammonium compounds[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2000, 66(11): 5083-5086.

[41] ROMANOVA N, FAVRIN S, GRIFFITHS MW. Sensitivity of *Listeria monocytogenes* to sanitizers used in the meat processing industry[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68(12): 6405-6409.

[42] HUILLET E, VELGE P, VALLAEYS T, PARDON P. LadR, a new PadR-related transcriptional regulator from *Listeria monocytogenes*, negatively regulates the expression of the multidrug efflux pump MdrL[J]. FEMS Microbiology Letters, 2006, 254(1): 87-94.

[43] 徐雅梦, 姜晓冰, 于涛, 王海磊, 石磊. MdrL 外排泵在单核细胞增生李斯特菌对苯扎氯铵耐受中的作用[J]. 微生物学通报, 2018, 45(6): 1273-1282.
XU YM, JIANG XB, YU T, WANG HL, SHI L. Role of efflux pump MdrL in tolerance to benzalkonium chloride in *Listeria monocytogenes*[J]. Microbiology China, 2018, 45(6): 1273-1282 (in Chinese).

[44] 徐雅梦, 姜晓冰, 于涛. 单核细胞增生李斯特菌 LadR 蛋白对外排泵 MdrL 的调控机制研究[J]. 生物技术通报, 2018, 34(12): 166-171.
XU YM, JIANG XB, YU T. Regulation of efflux pump MdrL by LadR in *Listeria monocytogenes*[J].

Biotechnology Bulletin, 2018, 34(12): 166-171 (in Chinese).

[45] JIANG XB, YU T, XU YM, WANG HL, KORKEALA H, SHI L. MdrL, a major facilitator superfamily efflux pump of *Listeria monocytogenes* involved in tolerance to benzalkonium chloride[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2019, 103(3): 1339-1350.

[46] YU T, JIANG XB, ZHANG YG, JI SD, GAO WJ, SHI L. Effect of benzalkonium chloride adaptation on sensitivity to antimicrobial agents and tolerance to environmental stresses in *Listeria monocytogenes*[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 2906.

[47] GODREUIL S, GALIMAND M, GERBAUD G, JACQUET C, COURVALIN P. Efflux pump Lde is associated with fluoroquinolone resistance in *Listeria monocytogenes*[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2003, 47(2): 704-708.

[48] JIANG XB, ZHOU LJ, GAO DW, WANG YX, WANG DP, ZHANG ZG, CHEN MR, SU YY, LI L, YAN H, SHI L. Expression of efflux pump gene lde in ciprofloxacin-resistant foodborne isolates of *Listeria monocytogenes*[J]. Microbiology and Immunology, 2012, 56(12): 843-846.

[49] 姜晓冰, 于涛, 牛亚冰, 徐雅梦, 石磊, 王海磊. 单核细胞增生李斯特菌喹诺酮耐药机制研究[J]. 生物技术通报, 2016, 32(7): 234-241.
JIANG XB, YU T, NIU YB, XU YM, SHI L, WANG HL. Study on the quinolone-resistant mechanisms of *Listeria monocytogenes*[J]. Biotechnology Bulletin, 2016, 32(7): 234-241 (in Chinese).

[50] LISMOND A, TULKENS PM, MINGEOT-LECLERCQ MP, COURVALIN P, van BAMBEKE F. Cooperation between prokaryotic (Lde) and eukaryotic (MRP) efflux transporters in J774 macrophages infected with *Listeria monocytogenes*: studies with ciprofloxacin and moxifloxacin[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2008, 52(9): 3040-3046.

[51] RAKIC-MARTINEZ M, DREVETS DA, DUTTA V, KATIC V, KATHARIOU S. *Listeria monocytogenes* strains selected on ciprofloxacin or the disinfectant benzalkonium chloride exhibit reduced susceptibility to ciprofloxacin, gentamicin, benzalkonium chloride, and other toxic compounds[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77(24): 8714-8721.

[52] JIANG XB, YU T, XU P, XU XB, JI SD, GAO WJ, SHI L. Role of efflux pumps in the *in vitro* development of ciprofloxacin resistance in *Listeria monocytogenes*[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 2350.

[53] QUILLIN SJ, SCHWARTZ KT, LEBER JH. The novel *Listeria monocytogenes* bile sensor BrtA controls expression of the cholic acid efflux pump MdrT[J]. Molecular Microbiology, 2011, 81(1): 129-142.

[54] WOODWARD JJ, IAVARONE AT, PORTNOY DA. C-di-AMP secreted by intracellular *Listeria monocytogenes* activates a host type I interferon response[J]. Science, 2010, 328(5986): 1703-1705.

[55] KAPLAN ZEEVI M, SHAFIR NS, SHAHAM S, FRIEDMAN S, SIGAL N, NIR PAZ R, BONECA IG, HERSKOVITS AA. *Listeria monocytogenes* multidrug resistance transporters and cyclic di-AMP, which contribute to type I interferon induction, play a role in cell wall stress[J]. Journal of Bacteriology, 2013, 195(23): 5250-5261.

[56] SCHWARTZ KT, CARLETON JD, QUILLIN SJ, ROLLINS SD, PORTNOY DA, LEBER JH. Hyperinduction of host beta interferon by a *Listeria monocytogenes* strain naturally overexpressing the multidrug efflux pump MdrT[J]. Infection and Immunity, 2012, 80(4): 1537-1545.

[57] CLAXTON DP, JAGESSAR KL, MCHAOURAB HS. Principles of alternating access in multidrug and toxin extrusion (MATE) transporters[J]. Journal of Molecular Biology, 2021, 433(16): 166959.

[58] HE GX, KURODA T, MIMA T, MORITA Y, MIZUSHIMA T, TSUCHIYA T. An $H(^{+})$-coupled multidrug efflux pump, PmpM, a member of the MATE family of transporters, from *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Journal of Bacteriology, 2004, 186(1): 262-265.

[59] SU XZ, CHEN J, MIZUSHIMA T, KURODA T, TSUCHIYA T. AbeM, an $H^{+}$-coupled *Acinetobacter baumannii* multidrug efflux pump belonging to the MATE family of transporters[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2005, 49(10): 4362-4364.

[60] McALEESE F, PETERSEN P, RUZIN A, DUNMAN PM, MURPHY E, PROJAN SJ, BRADFORD PA. A novel MATE family efflux pump contributes to the reduced susceptibility of laboratory-derived *Staphylococcus aureus* mutants to tigecycline[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2005, 49(5): 1865-1871.

[61] DRIDI L, TANKOVIC J, PETIT JC. CdeA of *Clostridium difficile*, a new multidrug efflux transporter of the MATE family[J]. Microbial Drug Resistance, 2004, 10(3): 191-196.

[62] GUÉRIN F, GALIMAND M, TUAMBILANGANA F, COURVALIN P, CATTOIR V. Overexpression of the novel MATE fluoroquinolone efflux pump FepA in *Listeria monocytogenes* is driven by inactivation of its local repressor FepR[J]. PLoS One, 2014, 9(9): e106340.

[63] BLAND R, WAITE-CUSIC J, WEISBERG AJ, RIUTTA ER, CHANG JH, KOVACEVIC J. Adaptation to a commercial quaternary ammonium compound sanitizer leads to cross-resistance to select antibiotics in *Listeria monocytogenes* isolated from fresh produce environments[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 12: 782920.

[64] DOUARRE PE, SÉVELLEC Y, le GRANDOIS P, SOUMET C, BRIDIER A, ROUSSEL S. *FepR* as a central genetic target in the adaptation to quaternary ammonium compounds and cross-resistance to ciprofloxacin in *Listeria monocytogenes*[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 864576.

[65] BOLTEN S, HARRAND AS, SKEENS J, WIEDMANN M. Nonsynonymous mutations in *fepR* are associated with adaptation of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* spp. to low concentrations of benzalkonium chloride but do not increase survival of *L. monocytogenes* and other *Listeria* spp. after exposure to benzalkonium chloride concentrations recommended for use in food processing environments[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2022, 88(11): e0048622.

[66] BAY DC, ROMMENS KL, TURNER RJ. Small multidrug resistance proteins: a multidrug transporter family that continues to grow[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2008, 1778(9): 1814-1838.

[67] GRINIUS L, DREGUNIENE G, GOLDBERG EB, LIAO CH, PROJAN SJ. A staphylococcal multidrug resistance gene product is a member of a new protein family[J]. Plasmid, 1992, 27(2): 119-129.

[68] YERUSHALMI H, LEBENDIKER M, SCHULDINER S. EmrE, an *Escherichia coli* 12-kDa multidrug transporter, exchanges toxic cations and $H^+$ and is soluble in organic solvents[J]. The Journal of Biological Chemistry, 1995, 270(12): 6856-6863.

[69] 姜晓冰, 于涛, 徐雅梦, 任思雨. 单核细胞增生李斯特菌对季铵盐类消毒剂耐药机制研究进展[J]. 食品科学, 2016, 37(23): 273-279.
JIANG XB, YU T, XU YM, REN SY. Progress in understanding the mechanisms of the resistance to quaternary ammonium salt disinfectants in *Listeria monocytogenes*[J]. Food Science, 2016, 37(23): 273-279 (in Chinese).

[70] KROPAC AC, ESHWAR AK, STEPHAN R, TASARA T. New insights on the role of the pLMST6 plasmid in *Listeria monocytogenes* biocide tolerance and virulence[J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 1538.

[71] CHMIELOWSKA C, KORSAK D, SZUPLEWSKA M, GRZELECKA M, MAĆKIW E, STASIAK M, MACION A, SKOWRON K, BARTOSIK D. Benzalkonium chloride and heavy metal resistance profiles of *Listeria monocytogenes* strains isolated from fish, fish products and food-producing factories in Poland[J]. Food Microbiology, 2021, 98: 103756.

[72] JIANG XB, REN SY, GENG YM, YU T, LI Y, LIU L, LIU GS, WANG HL, SHI L. The sug operon involves in resistance to quaternary ammonium compounds in *Listeria monocytogenes* EGD-e[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2020, 104(16): 7093-7104.

[73] SCHULZ LM, DREIER F, de SOUSA MIRANDA LM, RISMONDO J. Adaptation mechanisms of *Listeria monocytogenes* to quaternary ammonium compounds[J]. Microbiology Spectrum, 2023, 11(5): e0144123.

[74] HOF H. Therapeutic options[J]. FEMS Immunology & Medical Microbiology, 2003, 35(3): 203-205.

[75] Krawczyk-BALSKA A, MARKIEWICZ Z. The intrinsic cephalosporin resistome of *Listeria monocytogenes* in the context of stress response, gene regulation, pathogenesis and therapeutics[J]. Journal of Applied Microbiology, 2016, 120(2): 251-265.

[76] ALLEN K, WAŁECKA-ZACHARSKA E, CHEN JC, KATARZYNA KP, DEVLIEGHERE F, MEERVENNE EV, OSEK J, WIECZOREK K, BANIA J. *Listeria monocytogenes*–an examination of food chain factors potentially contributing to antimicrobial resistance[J]. Food Microbiology, 2016, 54: 178-189.

[77] KALLIPOLITIS BH, INGMER H, GAHAN CG, HILL C, SØGAARD-ANDERSEN L. CesRK, a two-component signal transduction system in *Listeria monocytogenes*, responds to the presence of cell wall-acting antibiotics and affects beta-lactam resistance[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2003, 47(11): 3421-3429.