

• 综 述 •

食源性致病菌菌株变异性在微生物风险评估中的研究进展

田世红¹, 王翔¹, 李红梅¹, 白莉², 刘弘³, 张希斌⁴, 董庆利¹

1 上海理工大学 医疗器械与食品学院, 上海 200093

2 国家食品安全风险评估中心, 北京 100021

3 上海市疾病预防控制中心, 上海 200336

4 新希望六和股份有限公司, 北京 100102

田世红, 王翔, 李红梅, 等. 食源性致病菌菌株变异性在微生物风险评估中的研究进展. 生物工程学报, 2020, 36(11): 2334–2344.

Tian SH, Wang X, Li HM, et al. Strain variability of foodborne pathogens in microbiological risk assessment — a review. Chin J Biotech, 2020, 36(11): 2334–2344.

摘 要: 菌株变异性是影响食源性致病菌风险评估结果准确性的一个重要因素, 它普遍存在于单核细胞增生李斯特氏菌、沙门氏菌等各种食源性致病菌中。菌株变异性是菌株之间的固有差异, 不能通过改变试验方法或改善试验方案消除。本文针对近年来菌株变异性的研究内容, 基于菌株变异性对风险评估结果的影响, 从食品链中变异性的来源、食源性致病菌表型变异性以及整合菌株生长、失活变异性到预测微生物模型中的方法三个方面进行综述, 并指出目前菌株变异性研究中的不足, 提出深入研究菌株变异性机制, 扩展不同来源变异性的比较, 进一步整合基因表达、蛋白质和细胞代谢等菌株变异性于预测模型中的建议。

关键词: 食源性致病菌, 菌株变异性, 风险评估

Received: March 24, 2020; **Accepted:** June 23, 2020

Supported by: Youth Program of National Natural Science Foundation of China (No. 31801455).

Corresponding author: Qingli Dong. Tel: +86-21-55271117; E-mail: dongqingli@163.com

国家自然科学基金青年项目 (No. 31801455) 资助。

网络出版时间: 2020-07-07

网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1998.Q.20200706.1326.003.html>

Strain variability of foodborne pathogens in microbiological risk assessment — a review

Shihong Tian¹, Xiang Wang¹, Hongmei Li¹, Li Bai², Hong Liu³, Xibin Zhang⁴, and Qingli Dong¹

¹ School of Medical Instrument and Food Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China

² China National Center for Food Safety Risk Assessment, Beijing 100021, China

³ Shanghai Municipal Center for Disease Control & Prevention, Shanghai 200336, China

⁴ New Hope Liuhe Co., Ltd, Beijing 100102, China

Abstract: Strain variability is one of the most important factors to influence the accuracy of foodborne pathogens risk assessment, such as *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp. Strain-to-strain variation is defined as the inherent differences among identically treated strains of the same microbial species. The differences cannot be eliminated by changing test methods or improving test protocols. This review addresses presently related studies of strain variability. Based on the effect of strain variability on the outcome of risk assessment, we summarize sources of variabilities in food chain, strain phenotypic variabilities and the methods to integrate strain variability in growth and inactivation into predictive modelling, and indicate the inadequacies in the study of strain variability. We suggest further study the mechanism of strain variability, expand the comparison of variability among different sources, and integrate the variability of gene expression, protein and cell metabolism into the predictive modelling.

Keywords: foodborne pathogens, strain variability, risk assessment

食品微生物风险评估作为风险分析体系的核心和基础,为加强风险管理和风险交流提供了重要的技术支撑^[1]。目前国际上广泛采用的微生物风险评估步骤是危害识别、危害特征描述、暴露评估和风险描述。自2000年以来,随着全球范围内微生物风险评估原则被采用,基于风险的食品安全管理已然出现。食源性致病菌可引起人体严重的腹泻或感染。据世界卫生组织(WHO)2019年报道,全球食源性疾病患病人数约6亿,其中死亡人数约为42万^[2]。在中国,从1964年到2010年,仅食源性的李斯特菌病一项就有147个突发事件^[3]。变异性是影响微生物风险评估结果准确性的一个重要因素。它是系统的函数,不可消除。如图1所示,变异性的来源主要包括初始微生物污染水平变异性、食品储藏条件(时间-温度)变异性、菌株变异性 and 群体异质性等,均会影响消费时致病菌的暴露量,最终影响风险评估结果的准确性,其中菌株差异对风险评估结果造成的影响不可忽略。

菌株变异性是指同一种属不同菌株之间在生理特性、生长特性、失活特性或遗传特性等方面的差异性^[4],是菌株之间存在的固有差异,不能通过改变试验方法或改善试验方案来消除^[5]。目前已有不少研究涉及菌株表型变异性(生长特性和失活特性、毒力、生物膜形成能力和耐药性等)以及将菌株变异性整合到预测模型中的方法。然而,如何将目前研究中庞大的数据运用并整合到微生物风险评估的具体环节中仍然是一个挑战。例如,将菌株毒力变异性合并到剂量效应模型中,优化将菌株生长或失活变异性整合到预测模型中的方法等。此外,在风险评估过程中,变异性的来源主要包括微生物源和非微生物源,其中菌株造成的变异性不可忽略,同时将各个来源变异性的大小进行比较并排序是实施合理风险评估措施的重要手段之一。已有研究比较了菌株差异性和生长历史两个因素对单核细胞增生李斯特氏菌热抗性(*D*值)变异性大小的影响,发现两个因素

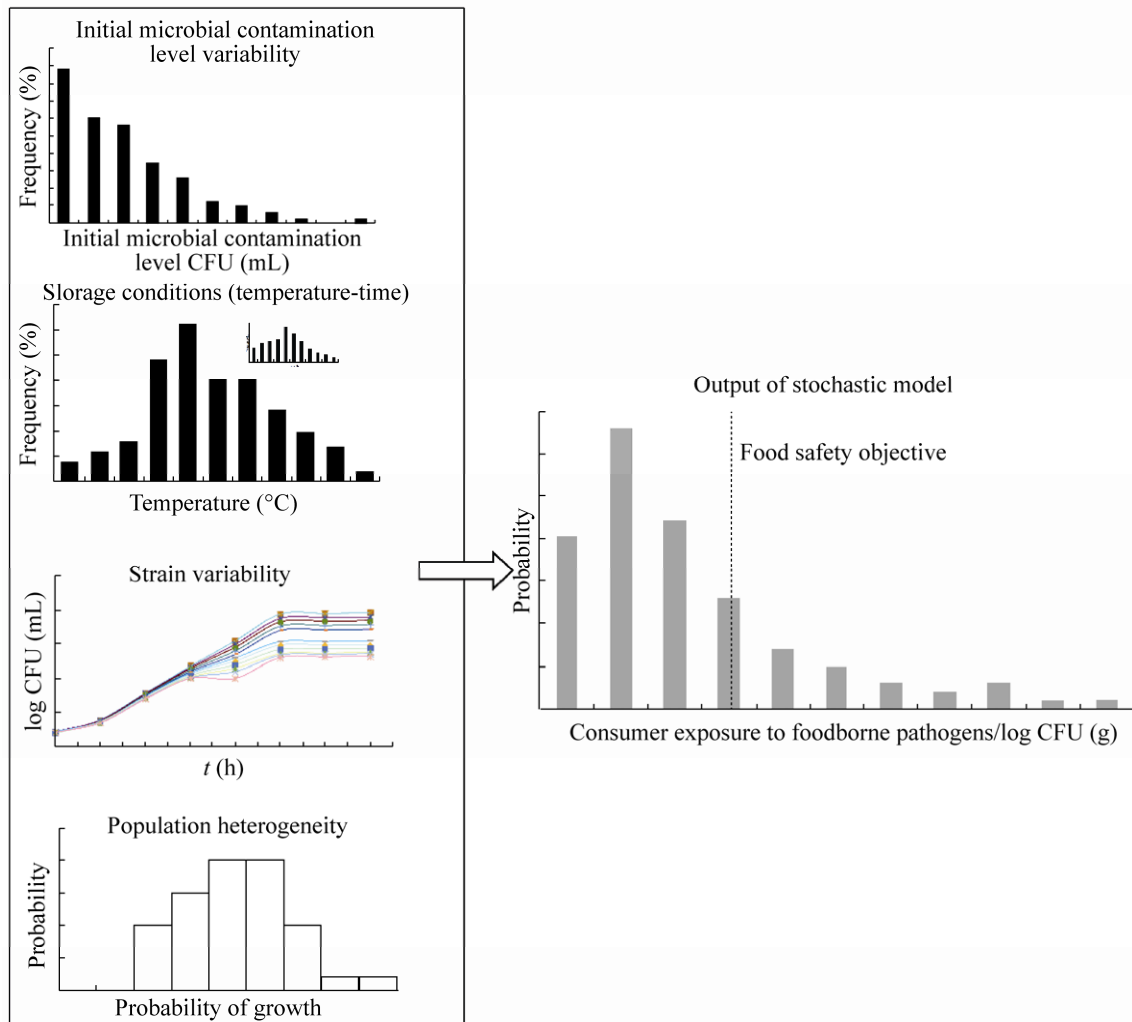


图1 不同来源变异性对消费者食源性致病菌暴露量的影响

Fig. 1 Influence of different sources of variability on the consumer exposure to foodborne pathogen.

对 D 值的影响大小相等^[6]。因此, 定量各个因子对变异性大小的影响, 并且按影响大小对因子进行排序, 对预测结果的真实性和风险评估结果的准确性有重要的作用。菌株变异性对微生物行为(生长或失活)预测和风险评估具有重要的意义。

目前, 有关菌株变异性的研究已有很多, 然而由于面临诸多问题, 菌株变异性研究仍然需要进一步探讨。本文从食品链中变异性的来源、菌株表型变异性的研究进展以及整合菌株变异性到预测模型中的方法三个方面分述菌株变异性的研究进展, 总结菌株变异性研究的不足, 以期为进一步将菌株

变异性整合到风险评估中提供理论参考。

1 食品链中变异性的来源

不同来源的变异性影响着微生物风险评估结果的准确性。在食品链中, 变异性的来源主要有微生物源和非微生物源。其中, 微生物变异性的来源包括菌株、生物学重复实验、平行实验和生长历史带来的变异性等, 非微生物来源包括食品中食品基质特性变异性、食品贮藏/运输温度-时间变异性性和食品加工温度-时间变异性等。将不同来源的变异性进行比较和排序, 对实施合理的食品

安全措施至关重要。

有关不同来源变异性大小比较的研究较少。2015年, Aryani 等^[6-7]比较了不同变量下生物学重复变异性、平行实验变异性和菌株变异性对单核细胞增生李斯特氏菌生长特性的影响。研究结果均表明, 菌株变异性等于或大于生物学重复实验变异性大小, 都大于平行实验变异性。此外, 作者借用其他文献的相关数据, 比较了菌株、平行实验、生物学重复实验、生长历史等变异性对单核细胞增生李斯特氏菌热抗性特性影响的大小, 结果显示, 生长历史变异性和菌株变异性大小几乎相等^[6]。2017年, Den Besten 等^[8]比较了菌株生长和热失活特性变异性与其他来源的变异性(如贮藏过程中温度-时间变异性、初始微生物污染水平变异性等)对食品中微生物最终污染水平的影响大小。结果显示, 在大多数场景下, 菌株变异性对最终产品中微生物污染水平的影响最大, 其次是牛奶加热温度、家庭贮藏温度、家庭贮藏时间等, 该研究结果进一步证明了菌株变异性及整合菌株变异性对于风险评估中的重要性。

总体来说, 变异性的来源很多, 而关于各种来源变异性比较和排序的相关研究较少, 需要进一步将微生物来源的变异性和非微生物来源的变异性进行比较和排序, 为实施合理的食品安全措施提供依据, 以充分认识变异性在风险评估中的重要作用。此外, 与其他来源的变异性相比, 菌株对总体变异性的影响很大, 不可忽略。

2 菌株表型变异性

菌株变异性包括菌株表型(生长和失活、毒力、生物膜形成能力和耐药性等)变异性、基因表达变异性、蛋白质功能变异性和代谢变异性等。目前, 在微生物风险评估中以表型信息或数据输入为主, 因此, 从以下4个方面来概述菌株表型变异性的研究进展。

2.1 生长和失活变异性

菌株生长和失活变异性体现为菌株生长和失活参数的差异。预测微生物模型定量体现菌株在“食品链”中的数量变化, 不同参数的分布影响风险评估的“暴露评估”结果, 进而影响风险特征描述结果, 最终影响风险评估结果的准确性。

表1总结了近年来关于菌株生长或失活变异性的相关研究。对于同一细菌的不同菌株, 用实验数据拟合得到的生长或失活参数, 如迟滞期(λ)、最大比生长速率(μ_{\max})、生理状态(α)、菌株能够生长的最小pH值(pH_{\min})、菌株能够生长的最小温度(T_{\min})、菌株能够生长的最大水分活度($\alpha_{w\max}$)、 D 值和 z 值等, 都可能存在较大差异。例如, Aryani 等^[6]的研究中20株单核细胞增生李斯特氏菌的 pH_{\min} 值范围是4.43–4.68, $\alpha_{w\max}$ 的范围是1.81–2.15。另外研究还发现这20株单核细胞增生李斯特氏菌的 D 值在55℃、60℃和65℃下的范围分别是9.2–30.2、0.58–4.1、0.075–0.57 min, 其 z 值的范围是4.4–5.7℃^[11]。菌株生长和失活的变异性还体现在应激条件处理后菌株响应的变异性, 即交叉保护现象的变异性。例如, Lianou 等^[9]研究了酸适应后30株沙门氏菌在pH 3.0条件下失活的数据, 研究结果显示大多数的沙门氏菌在酸适应后抗性比没有酸适应的沙门氏菌抗性小, 但是也有菌株抗性不变或减少。因此, 菌株的生长或失活特征存在变异性, 且这种变异性在不同种食源性致病菌中广泛存在。此外, 相关文献的研究结果显示, 生长和失活条件(如温度、pH值、水分活度等)影响菌株变异性的变化, 生长或失活条件越苛刻, 菌株生长或失活变异性越大^[14-15]。总体来说, 虽然有关菌株生长和失活变异性的研究很多, 但目前现有数据依然有限。根据相关文献中的数据, 我们比较了由元分析得到的菌株变异性 and 由单一研究得到的菌株变异性(图2), 可以发现荟萃分析(Meta-analysis)的菌株变异性比单一研究中菌株变异性大。因此, 大量的实验数据仍需要收集整理, 以便把研究结果运用到风险评估过程中。

表 1 菌株生长或失活变异性的相关研究

Table 1 Relevant researches about strain growth or inactivation variability

Strains	Strain numbers	Conditions	Parameters	References
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	17	Temperature	μ_{\max}	[9]
<i>Escherichia coli</i>	48	Temperature, acid adaptation	<i>D</i> -value	[10]
<i>Salmonella</i>	30	Temperature, acid adaptation	Population reduction, scale parameter, shape parameter	[11]
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	50	pH, NaCl	μ_{\max}	[12]
<i>Listeria monocytogenes</i>	20	Temperature, pH, α_w , undissociated acid	μ_{\max} , pH _{min} , [NaCl] _{max} , T_{\min}	[7]
<i>Listeria monocytogenes</i>	20	Temperature	<i>D</i> -value, <i>z</i> -value	[6]
<i>Escherichia coli</i>	188	Temperature, pH, lactic acid	Growth/no growth probability	[13]
<i>Salmonella</i>	60	pH, α_w	μ_{\max}	[14]
<i>Staphylococcus aureus</i>	34	Temperature	λ , μ_{\max} , α	[15]

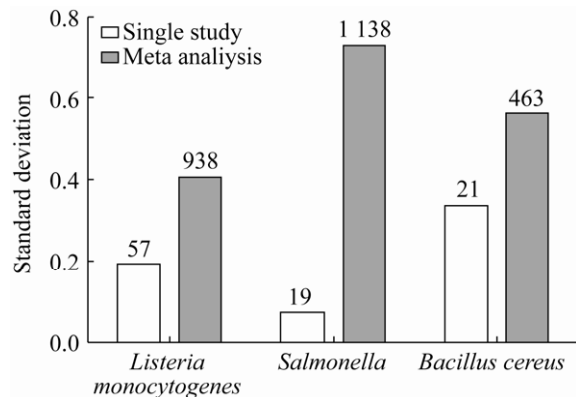


图 2 单核细胞增生李斯特氏菌、沙门氏菌和蜡样芽胞杆菌热抗性的变异性大小 (其中单核细胞增生李斯特氏菌的数据分别来自于 Aryani^[6]和 van Asselt 等^[16]的研究; 沙门氏菌的数据分别来自于 Gurtler^[17]和 van Asselt 等^[16]的研究; 蜡样芽胞杆菌分别来自于 Helgason 和 Schmidt 以及 van Asselt 等^[18-20]的研究; 黑色方框代表单一研究中菌株变异性大小; 灰色方框代表荟萃分析中的菌株变异性大小, 方框上的数字代表菌株数量)

Fig. 2 Magnitude of variability in thermal resistance variability of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* and *Bacillus cereus* strains. Black box represents variability of the three species obtained by one single study. Data were from Aryani et al.^[6], van Asselt et al.^[16], Helgason et al.^[18] and Schmidt et al.^[19]. Grey box represents variability of the two species obtained by the meta-analysis. Data were from Gurtler et al.^[17] and van Asselt et al.^[20]. The figures above the box represent the number of strains.

2.2 毒力变异性

在风险评估中, 危害特征描述 (剂量反应模型) 的建立需要掌握菌株毒力的相关信息。准确描述菌株毒力差异以及如何将这种差异合并到剂量效应模型中对微生物风险评估至关重要。然而, 在目前的定量风险评估中, 还没有辨别菌株差异对微生物剂量效应模型的影响, 意味着现有方法没有考虑菌株毒力变异性或无毒菌株的存在, 这是风险评估不确定性的一个重要来源。

单核细胞增生李斯特氏菌在菌属水平上具有致病性, 而在种内其毒力和致病能力也存在显著差异。单核细胞增生李斯特氏菌有 4 个进化谱系和 13 个血清型。98% 的病因归于 3 个血清型 (1/2a, 谱系 II; 1/2b 和 4b, 谱系 I)^[20]。传统的分型方法只能分辨主要的菌株类型。分子分型方法, 例如脉冲电场凝胶电泳和多位点序列分型, 由于具有更高的分辨率, 可将菌株进一步分型。已有研究显示不同序列型 (Sequence type, ST) 的单核细胞增生李斯特氏菌潜在致病能力也存在显著差异, 如 Ciolacu 等^[22]的研究结果显示不同 ST 型菌株的侵袭效率的范围是 0.98%–2.78%。不同血清型、来源和 ST 型菌株毒力或潜在致病能力存在较大变异性。

沙门氏菌有 2 500 多种血清型, 其中肠炎和鼠

伤寒等是引发人体感染的主要血清型,其他血清型很少引发疾病。相关疾病的暴发也只与很少的血清型相关。研究发现沙门氏菌不同血清型菌株的毒力存在差异性^[22-23],相同血清型之间也存在变异性^[24],且菌株毒力变异性与血清型无关^[24],人体来源的沙门氏菌的毒力较强。此外,相同毒力基因不同来源沙门氏菌的致病性也不同^[24]。菌株毒力强弱与毒力基因的存在与否无关^[23]。沙门氏菌的毒力基因常位于毒力岛上,有小部分毒力基因位于质粒中,毒力岛和质粒与沙门氏菌侵袭、定植和粘附宿主细胞等密切相关。沙门氏菌毒力变异性的成因受多种因素共同作用影响。

由此可见,菌株毒力变异性与菌株本身、血清型和来源等密切相关。菌株毒力变异性会影响危害特征描述和剂量效应模型的结果,其中剂量效应模型受菌株生长和失活变异性和菌株毒力变异性的共同影响。因此,在微生物风险评估过程中,需考虑菌株不同表型变异性。

2.3 生物膜形成能力变异性

生物膜是指被细胞自身产生的聚合物或其他胞外物质包围而形成的微生物群落^[26]。在食品环境中,致病菌可在传送带、切割表面、管道、墙壁等食品接触表面形成生物膜^[27]。相比于游离细胞,生物膜里的细菌可以抵抗更加严苛的环境条件和抗菌药物^[28],从而产生食品安全隐患,造成巨大的经济损失。目前已有许多清除生物膜的措施,包括乳酸、次氯酸和过氧化氢等常用控制措施。然而,不同菌株对杀菌手段的抗性不同,造成了不恰当的安全处理,加大了生物膜的清除难度。

菌株生物膜形成能力存在变异性^[28-30],而且致病菌生物膜形成能力的变异性受到培养环境、营养条件、血清型、菌株来源、接触材料等因素的影响,还受菌株的 ST 型的影响^[31-32]。此外,一些研究报道,抗性强的菌株初始黏附力和早期生物膜形成能力强,但是在长期的黏附阶段中,

其生物膜形成能力和抗性弱的菌株没有显著性差异^[33-34]。但是, Ochiai 等^[35]的研究结果显示抗性强的菌株比抗性弱的菌株生物膜形成能力更强,而 Nilsson 等^[27]的研究表明抗性强的菌株生物膜形成能力弱。这表明生物膜形成能力与菌株抗性不一定存在联系。这种差异可能是菌株、实验操作等差异引起的,需要进一步验证。

综上所述,不同菌株的生物膜形成能力存在差异,且差异大小受多种因素的影响。生物膜在食品加工、贮藏等过程中的转移和形成增大了致病菌清除难度,造成风险评估结果的不确定性。生物膜形成能力差异性的机制需要进一步深入研究。

2.4 耐药性变异性

近 10 年,抗生素的消费量提高了将近 40%,耐药性问题已然成为全球威胁^[36]。此外,菌株耐药性增大了抗生素临床治疗失败的可能性。

单核细胞增生李斯特氏菌对抗生素很敏感,但是由于抗生素在相关领域内得到充分运用,导致该菌的耐药性越来越高^[37-38]。已有大量文献研究证明不同来源的单核细胞增生李斯特氏菌菌株对单一或不同抗生素的耐药性存在差异^[39-44]。单核细胞增生李斯特氏菌获得耐药性的主要机制是通过移动遗传因子(如质粒)在不同菌株之间的转运^[38,45-46],这也可能是不同菌株耐药性存在差异性的原因^[43]。

沙门氏菌也普遍存在菌株耐药性变异性。如 Wang 等和 Han 等^[47-48]的研究结果显示。沙门氏菌耐药性的机制主要包括 5 种^[49-52],分别是:靶位点的改变;抗生素因水解或其结构改变而降解或失活;胞内抗菌药物有效浓度降低;群体感应现象;生物膜的形成。沙门氏菌耐药机制变异性是菌株耐药性变异性的根源。

菌株耐药性变异性在食源性致病菌中普遍存在。菌株耐药性变异性的根源是其耐药机制的变异性。耐药性变异性的存在是临床环节中抗生素治疗失败的主要因素之一,它增大了风险评估的难度,

影响风险评估结果的准确性。针对这一现象,应开展大规模的食源性致病菌耐药性普查,构建食源性致病菌耐药信息数据库,寻找致病菌产生耐药性变异性的规律,揭示其潜在的耐药机制^[53]。

3 整合菌株生长、失活变异性到预测微生物模型中的方法

通常,通过两种典型的定量模型预测食品链中微生物的生长或失活,即确定性模型和随机模型。其中确定性模型是通过输入单一数值得到单一输出值,而随机模型是通过输入数学分布得到一个分布形式的输出。目前在预测建模中,通常将菌株的动力学数据以分布(如泊松分布、贝叶斯方程等)的形式整合到预测微生物模型中^[54-55]。Ross和McMeekin等^[56]提出了“相对速率”的方法,美国农业部(USDA)和食品安全检验局(FSIS)用此方法进行了即食食品中单核细胞增生李斯特氏菌的风险评估^[57]。这种整合菌株变异性的方法是根据经验得来的,且因为使用菌株数量有限,难

以应用于相关研究中^[14]。有的研究则通过蒙特卡洛模拟模型、拉丁超立方等方法,将菌株变异性合并到微生物预测模型中^[58]。例如,2011年,Lianou等^[14]以累积密度分布的形式整合菌株变异性到生长模型中,并且用蒙特卡洛模拟的方法,形成了一个优化的随机模型。蒙特卡洛模拟的输出分布结果由多个输入分布决定。如图3所示,输出分布(c_1 和 c_2)结果由两个输入分布(a_1, a_2, b_1 和 b_2)决定^[59]。这种方法在一定程度上弥补了前者的不足,但所用菌株数量有限等问题依然不能彻底解决。因此,需要更好的将菌株差异整合到预测模型中的方法。

综上所述,菌株生长和失活特性变异性通常以数学分布的形式合并到预测微生物模型中。但是目前为止,由于菌株生长和失活特性变异性受多种因素的影响而呈现出多样性和复杂性,因此需要进一步改善或提出更好的整合菌株变异性的方法,降低菌株动力学特性变异性对风险评估结果的影响。

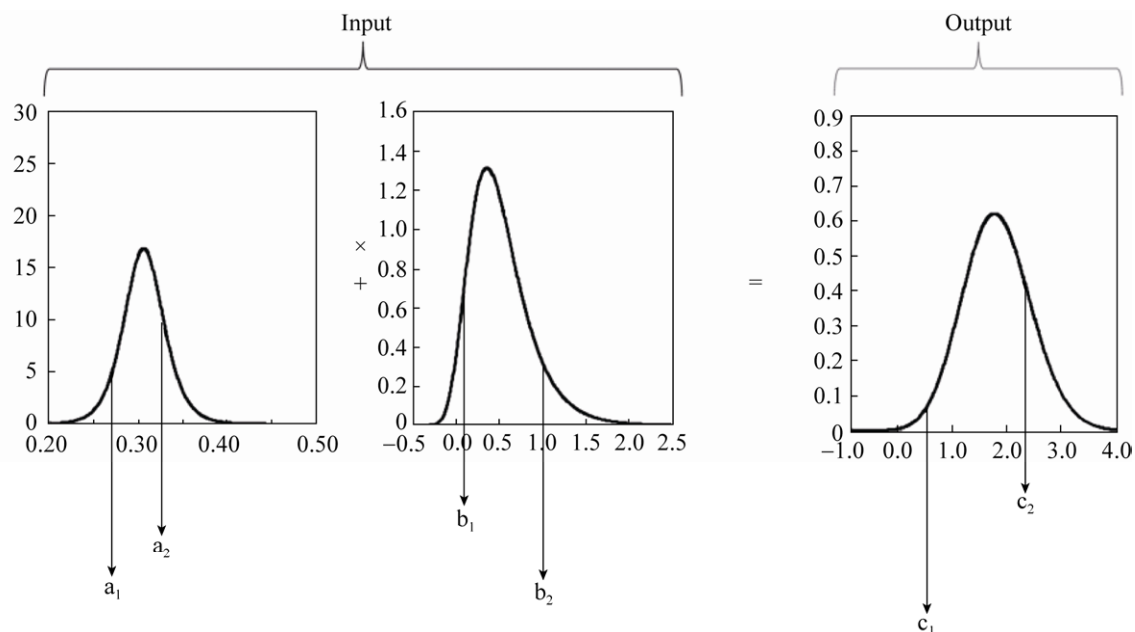


图3 蒙特卡洛模拟示意图

Fig. 3 Schematic diagram of Monte-Carlo simulation.

4 结论与展望

食源性致病菌菌株在生长和失活、毒力、生物膜形成能力和耐药性等方面均存在显著变异性,对风险评估结果的准确性有很大影响。虽然目前已有不少研究关注菌株变异性,比较菌株变异性和其他来源的变异性,同时应用相关的数学方法整合菌株生长或失活参数于预测微生物模型中,但是有关食源性致病菌菌株变异性的研究依然存在不足。针对风险评估中菌株变异性存在的问题,建议如下:首先,在扩充现有菌株表型变异性数据的基础上,从基因、蛋白质的细胞代谢等更深层次的水平上探究菌株表型变异性的机制;其次,将菌株变异性与食品特性变异性、食品贮藏/运输温度-时间变异性以及群体异质性等进行比较和排序,以便充分在食品安全设计中制定合理措施,降低主要来源变异性对食品安全的影响;最后,基于目前已有的将菌株表型变异性整合于预测模型方法的基础上,探寻将基因表达变异性、蛋白质变异性和代谢变异性整合到预测微生物模型中的方法。

REFERENCES

- [1] Sun WX, Du JP, Zhang CY, et al. Progress on risk assessment of *Salmonella* spp. during the raw chicken production chain. *Chin J Bioprocess Eng*, 2017, 15(2): 72–78 (in Chinese).
孙菡霞, 杜建萍, 张春艳, 等. 生鸡肉生产链中沙门氏菌风险评估的研究进展. *生物加工过程*, 2017, 15(2): 72–78.
- [2] World Health Organization Food Safety[EB/OL]. [2020-03-24] <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs399/en/>.
- [3] Zhou G, Ye K, Tume RK, et al. *Meat Safety in China*, Chichester, John Wiley & Sons, Ltd, 2017: 453–475.
- [4] Whiting RC, Golden MH. Variation among *Escherichia coli* O157:H7 strains relative to their growth, survival, thermal inactivation, and toxin production in broth. *Int J Food Microbiol*, 2002, 75(1/2): 127–133.
- [5] Nauta MJ. Separation of uncertainty and variability in quantitative microbial risk assessment models. *Int J Food Microbiol*, 2000, 57(1/2): 9–18.
- [6] Aryani DC, den Besten HMW, Hazeleger WC, et al. Quantifying variability on thermal resistance of *Listeria monocytogenes*. *Int J Food Microbiol*, 2015, 193: 130–138.
- [7] Aryani DC, den Besten HMW, Hazeleger WC, et al. Quantifying strain variability in modeling growth of *Listeria monocytogenes*. *Int J Food Microbiol*, 2015, 208: 19–29.
- [8] den Besten HMWD, Aryani DC, Metselaar KI, et al. Microbial variability in growth and heat resistance of a pathogen and a spoiler: All variabilities are equal but some are more equal than others. *Int J Food Microbiol*, 2017, 240: 24–31.
- [9] Niu L, Ba YB, Bai FJ, et al. Comparative study on growth heterogeneity of antimicrobial resistant *Vibrio parahaemolyticus*. *J Food Saf Qual*, 2018, 9(8): 88–95 (in Chinese).
牛丽, 巴永兵, 白凤佳, 等. 耐药性副溶血性弧菌生长异质性比较研究. *食品安全质量检测学报*, 2018, 9(8): 88–95.
- [10] Haberbeck LU, Wang X, Michiels C, et al. Cross-protection between controlled acid-adaptation and thermal inactivation for 48 *Escherichia coli* strains. *Int J Food Microbiol*, 2017, 241: 206–214.
- [11] Lianou A, Nychas GJE, Koutsoumanis KP. Variability in the adaptive acid tolerance response phenotype of *Salmonella enterica* strains. *Food Microbiol*, 2017, 62: 99–105.
- [12] Liu BX, Liu HQ, Pan YJ, et al. Comparison of the effects of environmental parameters on the growth variability of *Vibrio parahaemolyticus* coupled with strain sources and genotypes analyses. *Front Microbiol*, 2016, 7: 1–11.
- [13] Haberbeck LU, Oliveira RC, Vivijis B, et al. Variability in growth/no growth boundaries of 188 different *Escherichia coli* strains reveals that approximately 75% have a higher growth probability under low pH conditions than *E. coli* O157:H7 strain ATCC 43888. *Food Microbiol*, 2015, 45: 222–230.
- [14] Lianou A, Koutsoumanis KP. Effect of the growth environment on the strain variability of *Salmonella*

- enterica kinetic behavior. *Food Microbiol*, 2011, 28(4): 828–837.
- [15] Lindqvist R. Estimation of *Staphylococcus aureus* growth parameters from turbidity data: characterization of strain variation and comparison of methods. *Appl Environ Microbiol*, 2006, 72(7): 4862–4870.
- [16] van Asselt ED, Zwietering MH. A systematic approach to determine global thermal inactivation parameters for various food pathogens. *Int J Food Microbiol*, 2006, 107(1): 73–82.
- [17] Gurtler JB, Hinton A, Bailey RB, et al. *Salmonella* isolated from ready to-eat pasteurized liquid egg products: thermal resistance, biochemical profile, and fatty acid analysis. *Int J Food Microbiol*, 2015, 206: 109–117.
- [18] Helgason E, Okstad OA, Caugant DA, et al. *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, and *Bacillus thuringiensis* – one species on the basis of genetic evidence. *Appl Environ Microbiol*, 2000, 66(6): 2627–2630.
- [19] Schmidt TR, Scott EJ, Dyer DW. Whole-genome phylogenies of the family Bacillaceae and expansion of the sigma factor gene family in the *Bacillus cereus* species-group. *BMC Genomics*, 2011, 12: 430.
- [20] Orsi RH, Bakker HCD, Wiedmann M. *Listeria monocytogenes* lineages: genomics, evolution, ecology, and phenotypic characteristics. *Int J Med Microbiol*, 2011, 301(2): 1–96.
- [21] Ciolacu L, Nicolau AI, Wagner M, et al. *Listeria monocytogenes* isolated from food samples from a Romanian black market show distinct virulence profiles. *Int J Food Microbiol*, 2015, 209: 44–51.
- [22] Pielat A, Kuijpers A, Asch DV, et al. Phenotypic behavior of 35 *Salmonella enterica* serovars compared to epidemiological and genomic data. *Procedia Food Sci*, 2016, 7: 53–58.
- [23] Mcwhorter AR, Davos D, Chousalkar KK. Pathogenicity of *Salmonella* strains isolated from egg shells and the layer farm environment in Australia. *Appl Environ Microbiol*, 2015, 81(1): 405–414.
- [24] Kuijpers AFA, Marinovic AB, Wijnands LM, et al. Phenotypic prediction: linking *in vitro* virulence to the genomics of 59 *Salmonella enterica* strains. *Front Microbiol*, 2019, 9: 3182.
- [25] Sun X, Zhao G, Liu WH, et al. Comparative analysis of virulent genes and drug resistance of *Salmonella* isolated from different sources. *China Animal Health Inspection*, 2017, 34(5): 40–46 (in Chinese).
宋雪, 赵格, 刘文化, 等. 不同来源沙门氏菌的毒力基因检测与耐药性分析. *中国动物检疫*, 2017, 34(5): 40–46.
- [26] Costerton J, Lewandowski Z, Caldwell D, et al. Microbial biofilms. *Annu Rev Microbiol*, 1995, 49: 711–745.
- [27] Somers EB, Schoeni JL, Wong ACL. Effect of trisodium phosphate on biofilm and planktonic cells of *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium*. *Int J Food Microbiology*, 1994, 22(4): 269–276.
- [28] Nilsson RE, Ross T, Bowman JP. Variability in biofilm production by *Listeria monocytogenes* correlated to strain origin and growth conditions. *Int J Food Microbiol*, 2011, 150(1): 14–24.
- [29] Kadam SR, den Besten HMW, Stijn VDV, et al. Diversity assessment of *Listeria monocytogenes* biofilm formation: Impact of growth condition, serotype and strain origin. *Int J Food Microbiol*, 2013, 165(3): 259–264.
- [30] Zhao AJ. Study on formation characteristics of *Vibrio parahaemolyticus* biofilm[D]. Shanghai Ocean University, 2016 (in Chinese).
赵爱静. 副溶血性弧菌生物被膜形成特性的初步研究[D]. 上海海洋大学, 2016.
- [31] Poimenidou SV, Chrysadaku ME, Tzakoniati A, et al. Variability of *Listeria monocytogenes* strains in biofilm formation on stainless steel and polystyrene materials and resistance to peracetic acid and quaternary ammonium compounds. *Int J Food Microbiol*, 2016, 237: 164–171.
- [32] Smith A, Hearn J, Taylor C, et al. *Listeria monocytogenes* isolates from ready to eat plant produce are diverse and have virulence potential. *Int J Food Microbiol*, 2019, 299: 23–32.
- [33] Lunden JM, Miettinen MK, Autio TJ, et al. Persistent

- Listeria monocytogenes* strains show enhanced adherence to food contact surface after short contact times. *J Food Prot*, 2000, 63(9): 1204–1207.
- [34] Wang, J, Ray AR, Hammons SR, et al. Persistent and transient *Listeria monocytogenes* strains from retail deli environments vary in their ability to adhere and form biofilms and rarely have inlA premature stop codons. *Foodborne Path Dis*, 2015, 12(2): 151–158.
- [35] Ochiai Y, Yamada F, Mochizuki M, et al. Biofilm formation under different temperature conditions by a single genotype of persistent *Listeria monocytogenes* strains. *J Food Prot*, 2014, 77(1): 133–140.
- [36] van Boeckel TP, Gandra S, Ashok A, et al. Global antibiotic consumption 2000 to 2010: an analysis of national pharmaceutical sales data. *Lancet Infect Dis*, 2014, 14(8): 742–750.
- [37] Granier SA, Moubareck C, Colaneri C, et al. Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* isolates from food and the environment in France over a 10-year period. *Appl Environ Microbiol*, 2011, 77(8): 2788–2790.
- [38] Kovacevic J, Sagert J, Wozniak A, et al. Antimicrobial resistance and co-selection phenomenon in *Listeria* spp. recovered from food and food production environments. *Food Microbiol*, 2013, 34(2): 319–327.
- [39] Safarpour DF, Barati S, Momtaz, et al. Comparison of shedding, and antibiotic resistance properties of *Listeria monocytogenes* isolated from milk, feces, urine, and vaginal secretion of bovine, ovine, caprine, buffalo, and camel species in Iran. *Jundishapur J Microbiol*, 2013, 6(3): 284–294.
- [40] Gomez D, Azon E, Marco N, et al. Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* from meat products and meat-processing environment. *Food Microbiol*, 2014, 42: 61–65.
- [41] Wieczorek K, Osek J. Prevalence, genetic diversity and antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* isolated from fresh and smoked fish in Poland. *Food Microbiol*, 2017, 64: 164–171.
- [42] Sanlibaba P, Tezel BU, Cakamk Gk. Prevalence and Antibiotic Resistance of *Listeria monocytogenes* isolated from Ready-to-Eat Foods in Turkey. *J Food Quality*, 2018, 7693782.
- [43] Arslan S, Baytur S. Prevalence and antimicrobial resistance of *Listeria* species and subtyping and virulence factors of *Listeria monocytogenes* from retail meat. *J Food Saf*, 2019, 39(1): e12578.
- [44] Sereno, MJ, Viana C, Pegoraro K, et al. Distribution, adhesion, virulence and antibiotic resistance of persistent *Listeria monocytogenes* in a pig slaughterhouse in Brazil. *Food Microbiol*, 2019, 84: 103234.
- [45] Charpentier E, Courvalin P. Minireview: Antibiotic resistance in *Listeria* spp. *Antimicrob Agents Chemother*, 1999, 43(9): 2103–2108.
- [46] Lungu B, O'Bryan CA, Muthaiyan A, et al. *Listeria monocytogenes*: Antibiotic resistance in food production. *Foodborne Path Dis*, 2011, 8(5): 569–578.
- [47] Wang JW, Sheng HJ, Xu WL, et al. Diversity of serotype, genotype, and antibiotic susceptibility of *Salmonella* prevalent in Pickled Ready-to-Eat Meat. *Front Microbiol*, 2019, 10: 2577.
- [48] Han XF, Peng JF, Guan XG, et al. Genetic and antimicrobial resistance profiles of *Salmonella* spp. isolated from ducks along the slaughter line in southwestern China. *Food Control*, 2020, 107: 106805.
- [49] Martins M, Mccusker M, Amaral L, et al. Mechanisms of antibiotic resistance in *Salmonella*: efflux pumps, genetics, quorum sensing and biofilm formation. *Lett Drug Des Discov*, 2011, 8(2): 114–123.
- [50] Piddock LJV, Ricci V. Role of mutation in the gyrA and parC genes of nalidixic-acid-resistant *Salmonella* serotypes isolated from animals in the United Kingdom. *J Antimicrob Chemother*, 1998, 41(6): 635–641.
- [51] Miro E, Verges C, Garcia I, et al. Resistance to quinolones and beta-lactams in *Salmonella enterica* due to mutations in topoisomerase-encoding genes, altered cell permeability and expression of an active efflux system. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 2004,

22(4): 204–211.

- [52] Giraud E, Cloeckert A, Kerboeuf D, et al. Evidence for active efflux as the primary mechanism of resistance to ciprofloxacin in *Salmonella enterica* serovar typhimurium. *Antimicrob Agents Chemother*, 2000, 44(5): 1223–1228.
- [53] Zhao Y, Li H, Zhang ZH, et al. Progress in studying antimicrobial resistance of foodborne pathogenic bacteria. *Chin J Bioprocess Eng*, 2018, 16(2): 1–10.
- [54] Delignette-muller ML, Rosso L. Biological variability and exposure assessment. *Int J Food Microbiol*, 2000, 58(3): 203–212.
- [55] Jeanne-Marie M, Leporq B, Michèle V, et al. Temperature effect on bacterial growth rate: quantitative microbiology approach including cardinal values and variability estimates to perform growth simulations on/in food. *Int J Food Microbiol*, 2005: 100(1/3): 179–186.
- [56] Ross T, Mcmeekin TA. Modeling microbial growth within food safety risk assessments. *Risk Anal*, 2010, 23(1): 179–197.
- [57] USFDA/USDA-FSIS (U.S. Food and Drug Administration/U.S. Department of Agriculture-Food Safety and Inspection Service). Quantitative assessment of the relative risk to public health from foodborne *Listeria monocytogenes* among selected categories of ready-to-eat foods, 2003.
- [58] Brul S, Bassett J, Cook P, et al. ‘Omics’ technologies in quantitative microbial risk assessment. *Trends Food Sci Technol*, 2012, 27(1): 12–24.
- [59] Membré JM, Valdramidis V. *Modeling in Food Microbiology: from predictive microbiology to exposure assessment*. Kidlington: ISTE Press Ltd, London, UK and Elsevier Ltd, 2016: 26–27.

(本文责编 郝丽芳)