

单增李斯特菌生态行为模型构建及机制研究进展

朱玉婷¹, 郑家铭¹, 刘弘², 刘阳泰¹, 李卓思¹, 王翔¹, 董庆利¹

(1.上海理工大学 医疗器械与食品学院, 上海 200093; 2.上海市疾病预防控制中心, 上海 200336)

摘要: **目的** 探究食品中的单增李斯特菌随食品链相关条件的变化而发生的“生长-失活-再生长”生态行为规律。**方法** 以热加工为失活条件, 综述单增李斯特菌生态行为的影响因素、模型构建和相关机制。**结果** 单增李斯特菌在“生长-失活”过程中, 细胞的历史生长条件会对其失活特性产生影响, 在“失活-再生长”过程中, 细胞的历史生理状态会影响其修复再生长的延滞期。**结论** 食品链中细菌的生长和失活是连续的过程, 有必要研究在连续的环境条件变化过程中细胞的生态行为, 以期为食品风险评估和食品安全防控提供支持。

关键词: 单增李斯特菌; 生态行为; 失活模型; 损伤; 修复

中图分类号: TS201.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-3563(2021)13-0049-08

DOI: 10.19554/j.cnki.1001-3563.2021.13.007

Research Progress on Ecological Behavior Model Construction and Mechanism of *Listeria monocytogenes*

ZHU Yu-ting¹, ZHENG Jia-ming¹, LIU Hong², LIU Yang-tai¹, LI Zhuo-si¹, WANG Xiang¹, DONG Qing-li¹

(1.School of Medical Instrument and Food Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China; 2.Shanghai Center for Disease Control and Prevention, Shanghai 200336, China)

ABSTRACT: To explore the "growth-inactivation-regrowth" ecological behavior of *Listeria monocytogenes* in food with the change of food chain related conditions, this paper reviewed the influencing factors, model development and related mechanisms of the ecological behavior of *L. monocytogenes* under the condition of thermal processing. It is found that in the process of "growth-inactivation", the historical growth conditions of cells have an influence on their inactivation characteristics, while in the process of "inactivation-regrowth", the lag period of cells has been influenced by the historical physiological state. Therefore, the growth and inactivation of *L. monocytogenes* in food should not be modeled as two separate processes. It is necessary to study the ecological behavior of the cells during continuous changes in environmental conditions, with a view to providing support for food risk assessment and food safety.

KEY WORDS: *Listeria monocytogenes*; ecological behavior; thermal inactivation models; sub-lethal injury; recovery

单增李斯特菌 (*Listeria monocytogenes*) 是常见的食源性致病菌, 在肉类、蛋类、乳制品和蔬菜等食品中均有检出, 感染后致死率高达 27%^[1-2]。据国家食源性疾病预防网的数据, 仅 2011—2017 年我国就

报道了 562 例单增李斯特菌感染病例^[3]。此外, 研究发现单增李斯特菌比大多非芽孢菌具有更强的耐热性^[4]和较强的环境适应能力, 其可在低温、高渗等不利环境下存活^[5]。这些特性使得分布在自然界和食品加工环境

收稿日期: 2021-04-25

基金项目: 国家自然科学基金青年基金 (31801455); 上海市农委 2021 年度科技兴农项目 (2021-02-08-00-12-F00782)

作者简介: 朱玉婷 (1995—), 女, 上海理工大学硕士生, 主攻食品微生物安全。

通信作者: 王翔 (1987—), 男, 博士, 上海理工大学讲师, 主要研究方向为食品微生物安全。

中的单增李斯特菌成为重要的食品安全隐患。

目前,热加工仍是食品工业过程中灭活微生物的最主要方式,随着消费者对食物的营养成分和感官特性有更高的需求,温和热加工成为食品加工的一个趋势^[6],在温和热加工后可能并非所有致病菌都能被杀死。食品中存活的致病菌会表现出 3 种不同生理状态的细胞:正常细胞、死亡细胞和亚致死损伤细胞^[7]。包括损伤细胞在内存活的细菌种群可能在后续运输、储藏的环境中修复损伤并恢复至正常生理状态,其致病力也可能恢复^[8-9],给食品安全带来潜在的危害。食品链中细菌生长和失活的状态合称为生态行为(Ecological behavior)^[10]。应用预测微生物学,建立细胞生长和失活动力学模型,可以有效地评估在食品加工过程中控制致病菌的有效性,从而为降低食源性致病菌的患病风险提供准确依据。

针对单增李斯特菌在热加工食品中的存活细胞所带来的食品安全问题,尽管目前国内外研究者对在不同培养环境或处理条件下的生长和失活动力学模型的构建等方面进行了大量的研究,但食品中单增李斯特菌的热加工前生长、热加工及其随后的修复再生长不是独立的过程,应当在连续过程中研究其生态行为。文中重点介绍单增李斯特菌热失活动力学影响因素和随后修复再生长的细胞生理状态的研究进展,以期预测单增李斯特菌的定量风险和相关标准的制定提供理论依据。

1 单增李斯特菌的热失活动力学

1.1 单增李斯特菌的热失活动力学模型

预测微生物学运用数学模型描述和预测微生物

在特定环境中生长、存活和失活的特征,并对其进行定量分析,是在食品加工过程中进行微生物控制和食品质量管理的有力工具^[11]。依据失活曲线的形状又可分为线性模型和非线性模型,通过失活模型曲线的形状和参数,可描述单增李斯特菌在不同环境、不同温度下热失活的结果和细胞耐热性的变化。

1.1.1 对数线性模型

一级线性动力学模型(Bigelow Model)的形式简单,在失活研究中通常以线性模型中获得的参数 D 值来表示单增李斯特菌热抗性。如 Zhu 等^[12]用线性模型描述了单增李斯特菌在杏仁粉中的失活行为,通过模型拟合所得到的 D 值与水分活度(a_w)值呈负相关,说明单增李斯特菌的热抗性在低水分活度环境下更强。Kim 等^[13]通过线性模型和 D 值描述了包括单增李斯特菌在内的 4 种不同致病菌经不同温度(15, 25, 35, 45 °C)培养后细菌细胞热抗性的变化情况。

线性模型简单实用,在食品工业中具有广泛的适用性。在单增李斯特菌的热失活中,由于细胞群中的异质性、细胞凝聚行为、死亡细胞对细胞群体的保护,以及在热处理中细胞的热适应性,在处理环境中脂肪和蛋白质等物质的存在等原因,导致微生物在热处理中出现偏离一阶动力学的现象^[14],因此在实际食品加工场景中,需要考虑到热处理中存在的偏差,以避免食物热加工的不足或过度。

1.1.2 非线性模型

传统的微生物热失活和新的热处理技术并不一定遵循一阶线性动力学,细胞的热失活曲线会表现出明显的非线性现象。部分热失活动力学模型见表 1,非线性模型随失活曲线形状的变化有多种形式。

表 1 单增李斯特菌热失活研究中常用的动力学模型

Tab.1 Inactivation mechanical model commonly used in the thermal inactivation of *Listeria monocytogenes*

模型	公式	参考文献
Geeraerd model	$y(t) = y_{res} + \lg \left[\frac{(10^{y_0 - y_{res} - 1}) \exp(k_{max} S_1)}{\exp(k_{max} t) + \exp(k_{max} S_1) - 1} + 1 \right]$	[15]
Weibull-tail-model	$y(t) = y_{res} + \lg \left[(10^{y_0 - y_{res} - 1}) 10^{-\left(\frac{t}{\sigma}\right)^p} + 1 \right]$	[16]
No-shoulder Geeraerd model	$y(t) = y_{res} + \lg \left[(10^{y_0 - y_{res} - 1}) \exp(k_{max} t) + 1 \right]$	[15]
No-tail Geetaerd model	$y(t) = y_0 + \frac{k_{max} t}{\ln 10} + \lg \left\{ \frac{\exp(k_{max} S_1)}{1 + [\exp(k_{max} S_1) - 1] \exp(k_{max} t)} \right\}$	[15]
Weibull model	$y(t) = y_0 - \left(\frac{t}{\sigma} \right)^p$	[17]
Bigelow model	$y(t) = y_0 - \frac{t}{D}$	[18]

Weibull 模型是单增李斯特菌热失活研究中常用的模型之一，此模型参数可表示微生物存活量与处理时间的关系以及存活曲线的趋势。单增李斯特菌在酸化培养液^[19]或食品基质^[20]中培养后，热抗性增强，Weibull 模型可描述其在等温热处理下的失活行为。该模型参数的可变化性和参数间的相关性使得此模型可灵活地描述单增李斯特菌细胞的存活曲线。

在单增李斯特菌相关的热失活研究中，非线性的热失活曲线有多种表现形式，可能会呈现出带“肩”或“尾”的形状，以表明细菌在热失活中热抗性本身存在的差异和受到环境等因素作用发生的变化。由表 1 可知，Weibull 模型和 Geeraerd 模型可通过公式变形，描述单增李斯特菌带“肩”和拖“尾”不同的热失活曲线。Wang 等^[6]使用带“肩”的 Geeraerd 模型（No-tail Geeraerd model）描述了 3 株混合的单增李斯特菌分别在液体和固体培养基中的热失活行为，相较于在液体培养基中，其“肩”值和 D 值在固体培养基更高，表明单增李斯特菌在固体培养基中的热抗性更强。Sibanda 等^[21]的研究中引用 3 种可描述拖“尾”失活或存活曲线的模型（Weibull-tail model, No-shoulder Geeraerd model, Weibull model），预测和评估了单增李斯特菌在奶酪中经应激反应后的细菌存活状态，其存活曲线呈现“拖尾”形状，表明单增李斯特菌在应激处理后耐受性逐渐增强。

1.2 “生长-热失活”生态行为的影响因素

在单增李斯特菌的热处理中，不同的条件会影响细胞的结构和功能，从而影响单增李斯特菌在热处理前后的存活状态和生理特性。单增李斯特菌的热抗性与多种因素相关，主要包括菌株变异性^[22]、细菌细胞的生理状态等（见图 1），同时细胞的生理状态又受到细胞生长的历史环境和热处理环境的影响，这些因素均会不同程度地影响单增李斯特菌的耐热性^[4]。在单增李斯特菌“生长-热失活”这一生态行为过程中，细菌的历史环境条件是影响后续热处理的重要因素。

在热处理过程中，影响单增李斯特菌细胞热抗性的历史环境条件包括细胞的生长阶段、培养温度、培养基质的特性等。通常来说，单增李斯特菌稳定期细

胞的耐热性相较于指数生长期的细胞，其热抗性更强，指数生长期的细胞对热更为敏感^[4]。有研究发现，单增李斯特菌稳定期细胞的热抗性比指数期细胞高出 3~11 倍^[23]。细菌的历史培养温度同样会对其耐热性产生影响，在允许细胞生长的合理温度范围内，培养温度越高可导致其在热处理中有更强的耐热性^[24-25]。Ypab 等^[26]在冷藏温度（10℃）环境下培养的单增李斯特菌具有更高的热抗性。另外，单增李斯特菌热抗性会随热应激时间的增加而增强^[27]，这说明单增李斯特菌热抗性不仅与热处理培养的温度有关，还与接受温度影响的时间相关。

培养基质通过影响细菌生理状态来改变单增李斯特菌的热抗性，主要影响因素包括基质的营养成分、pH、水分活度和类型。Casadei 等^[28]将单增李斯特菌的 ScottA 菌株经饥饿培养后，其细胞的热抗性显著提高。同时，在较低 pH 值环境中培养也会提高单增李斯特菌细胞的热抗性^[15]。如 Mazzotta 等^[29]将单增李斯特菌和大肠杆菌 O157:H7 分别在 pH 值为 5 的环境中培养 18~24 h，2 种食源性致病菌的热抗性均有所提高，同时单增李斯特菌的耐热性提高更为明显。另外，不同类型的酸对单增李斯特菌热抗性的影响并不相同，Farber 和 Pagotto^[15]在研究中观测到盐酸对诱导细菌耐热性的增强是有效的，醋酸和乳酸作用并不明显。培养环境的水分活度对细菌细胞的热抗性也有明显的影响。Van 等^[30]的研究结果表明，在低水分活度环境中，单增李斯特菌表现为热抗性最强的食源性致病菌。通常在培养液中添加 NaCl 等盐类物质以降低环境中的水分活度，同时单增李斯特菌的耐热性会随培养液中 NaCl 含量不同而发生变化^[31]。如 ScottA 菌株只在质量分数为 2.5%和 5%NaCl 的培养液中会提高其细胞热抗性^[23]。上述细菌细胞在经某种环境应激培养后，对随后暴露在更高水平应激下细胞的保护现象^[32]，即增强细胞对后续更强的相同或不同应激抗性的现象可称之为“交叉保护”。不同类型的培养或食品基质对细菌热抗性也有不同的影响，如 Casadei 等^[28]将单增李斯特菌的 ScottA 菌株培养在脂肪富集的培养基或食品中（如黄油或奶油等乳制品），相较于培养在 TSB 液体培养基中的细菌，乳制品中的细菌热抗性更强；Wang 等^[6]比较了单增李斯特菌

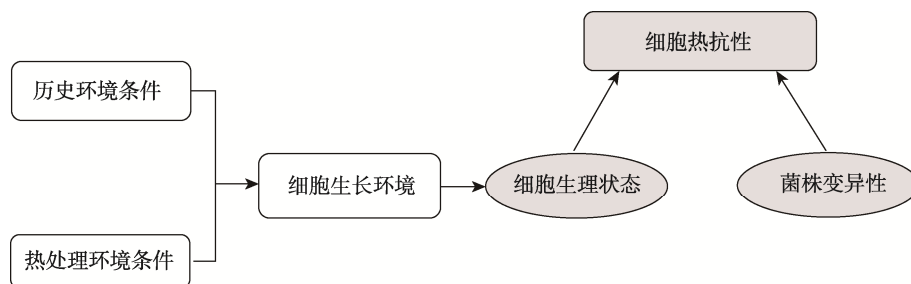


图 1 单增李斯特菌细胞热抗性的影响因素

Fig.1 Factors influencing heat resistance of *Listeria monocytogenes*

在固/液态培养基中经 60 °C 热处理后细菌细胞的存活状况,结果表明,在固态环境中细菌的热抗性更强。

综上所述,在单增李斯特菌“生长-热失活”过程中,生长过程对热失活的影响主要通过细菌的热抗性变化表现出来。单增李斯特菌热抗性不仅与细菌自身生长阶段有关,还与培养基和食品基质的物化特性有关。在实际的食品热加工中,单增李斯特菌往往存在于更为复杂的环境中,存在多种因素对细菌热抗性造成影响,在研究单增李斯特菌热失活特性的过程中有必要将其历史生长环境和条件考虑在内。

2 “热失活-再生长”生态行为的影响因素

单增李斯特菌经热处理后,一部分在存活细胞中处于亚致死状态的细胞发生不可逆转的损伤而死亡,另一部分发生可逆损伤的细胞可在适宜微生物细胞生长的环境下修复损伤,并恢复繁殖或致病的能力。这种受损细胞从假死状态恢复其因损伤而丧失的能力的现象称之为“复苏”^[33]。修复后的热损伤单增李斯特菌细胞的生长特性如延滞期(λ)、生长速率($\mu_{\max}$)可能会发生一定的变化。在“热失活-再生长”生态行为的过程中,前热处理强度、修复温度、修复培养基组成及其物化特性等条件均会影响受损细菌修复后的生长特性。

Bannenberg 等^[34]将 23 株单增李斯特菌经 60 °C 热应激处理,热损伤细胞在富集培养液中恢复生长的延滞期为 4.7~15.8 h,未经热应激细菌的延滞期为 1.4~2.7 h,两者相比表明热损伤单增李斯特菌修复后再生长的延滞期呈增大趋势。Xuan^[35]和 Fang^[36]等将不同温度的热处理与其他非热处理结合作用于单增李斯特菌,比较了在不同修复温度下的生长参数,结果表明,不同类型的应激处理对细胞的延滞期有不同影响,且细胞的延滞期随前热处理时间的增加而延长。这表明“复苏”后的亚致死热损伤细胞生长延滞期可能与损伤修复所需的时间相关,延滞期通常呈延长趋势^[37]。Hansen 等^[38]将单增李斯特菌在不同 pH(5.6 和 6.2)的牛肉馅中经热处理后置于 10 °C 下培养,损伤率为 95.0%~99.9%的单增李斯特菌受损细胞可以进一步修复并生长;当损伤程度超过 99.9%时,损伤细胞无法再生长,且在 pH 较低的食品基质中观测到细胞更长的延滞期。

对于单增李斯特菌热损伤修复所需的温度,一般研究中认为 37 °C 是细胞的最佳修复温度^[39]。不同的修复温度对损伤菌修复生长的延滞期有较大影响,且修复温度越低,延滞期差异可能越明显^[40]。如 Xuan 等^[35]将热损伤单增李斯特菌分别培养在 10, 15, 25, 30 °C 下进行修复,其受损前后的生长速率并无明显差异,未受损/修复后细胞的延滞期分别为 3.34~

4.95 h 和 3.81~30.20 h,受损细胞修复后生长所需的延滞期明显增大,且在较低温度(10, 15 °C)下,延滞期的差异更为显著。

在适宜温度下,修复培养基的组成成分和特性对单增李斯特菌热损伤细胞的影响较大^[41]。在含有特定抑制化合物的选择性培养环境中,单增李斯特菌热损伤细胞的生长状态会受到此化合物的作用。如 SILVA^[42]和 MUNOZ^[43]等在单增李斯特菌修复环境中添加不同浓度的酚类物质,随着酚类物质浓度的增加,存活细胞再次繁殖生长的延滞期随之增加,且最大生长速率也随之降低。在类似抑菌物质(如氯(ClO_2))的综合研究中^[44]发现,单增李斯特菌经氯和热处理后,虽然细胞的延滞期同样延长,但是最大生长速率与历史处理无关。当修复环境中含有氯化钠等盐类物质时,修复环境中的水分活度的变化同样会影响损伤细胞的修复。如 Gabriel 等^[45]表示,当损伤细胞存活的环境温度 >36 °C 时, a_w 的增大会导致亚致死热损伤细胞生长延滞期的增加,即所需的修复时间增加;当 a_w 以 0.958 为界限时,损伤细胞恢复生长所需的延滞期与热处理温度呈相反的关系。相反的,培养基中存在二价阳离子或酵母提取物等物质时,则表现出促进损伤细胞修复的作用。如 Lan 等^[37]在单增李斯特菌损伤修复的研究中,在修复培养液中添加 Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} 等阳离子可显著提高损伤细胞的修复比例,离子浓度和修复比例呈正比趋势。

综上所述,在“热失活-再生长”生态行为过程中,单增李斯特菌亚致死热损伤细胞修复后细胞的生长特性不仅与细胞自身受损程度相关,还与修复环境的变化有关。为了将微生物预测模型能更好地应用于食源性致病菌的风险评估中,热损伤细菌修复后生长特性的变化与细胞损伤程度和修复环境这 2 个因素间的关系需进一步深入探究。“热失活-再生长”过程中,历史条件对细胞生理状态的影响是此生态行为建模需要考虑的重要因素。

3 单增李斯特菌生态行为的机制

3.1 环境因素对细菌热抗性作用机制

环境因素对单增李斯特菌热抗性的作用主要通过不同环境因素对细菌生理状态、胞内物质和结构的变化来影响。主要环境因素包括培养细胞的温度、水分活度和 pH 值。不同的培养温度会改变单增李斯特菌细胞膜中脂肪酸和蛋白质的合成。由于在较高温度下生长的细胞,其胞内热休克蛋白(HSPs)的含量会相对较高,细胞膜等细胞结构在热处理中稳定性会增强^[46],因此培养温度越高,单增李斯特菌的热抗性越强。在水分活度较低的环境中,细胞悬浮在高渗介质中会发生“质壁分离”,从而保持细胞膜的完整性,防止膜蛋白变性,降低温度对细胞内部的影响^[47];热

处理环境中的水分活度一般通过添加氯化钠、氯化镁和磷酸盐等盐类物质来改变, 由于培养环境中 Ca^{2+} , Mg^{2+} 等二价阳离子的存在同样能够在热处理中增强细胞结构的稳定性^[48], 因此在低水分活度的环境中单增李斯特菌的热抗性较强。相反的, 在较低 pH 的处理环境中, 单增李斯特菌胞内的 (如胞内酶和营养运输等) 功能和特性被破坏, 且细胞膜的通透性发生改变, 从而加速细胞质的酸化, 致使单增李斯特菌的细胞在高酸性环境下对温度更为敏感^[49], 从而在较高的酸性环境中, 细菌的热抗性有所降低。

3.2 热处理中细菌结构的变化

在食品热加工特别是温和热加工过程中, 食品基质中的单增李斯特菌可能并没有完全被灭活, 部分细胞会以亚致死损伤的状态存活。通常热处理对细胞的伤害方式呈多靶式, 绝大多数细胞的成分均会发生亚致死损伤^[33]。不同强度或 (和) 不同环境中的热处理会造成单增李斯特菌细胞群发生不同程度、不同性质的损伤。一般认为单增李斯特菌细胞的热损伤以代谢损伤和结构损伤的形式表现出来, 代谢损伤表现为暂时丧失生长繁殖的能力, 结构损伤则是表现为无法在选择性条件下形成可见菌落^[50]。

在热处理中, 单增李斯特菌细胞的部分结构和功能都会受到热的作用, 如细胞质膜、核糖体、DNA、RNA 和某些酶等 (见图 2)。由于细胞质膜是在热处理中更普遍受到影响的结构^[50], 细胞质膜受损后会丧失部分功能, 致使胞内物质渗漏 (如 Mg^{2+} 、 K^{+} 、氨基酸等), 胞内一些部位代谢发生变化, 使得细胞不仅丧失呼吸活性^[46], 渗透压和 pH 的稳态也会暂时失去^[51], 因此热处理对微生物细胞的致死作用可能是由于细胞膜上细微损伤的间接结果。DNA 分子在热处理中一般具有较高的稳定性, 在较低强度的热处理中, 单增李斯特菌存活细胞中基因突变的频率可能

受到热应激的影响而变大, 且 DNA 也更易受到内切酶的作用, 从而导致存活的热损伤细胞发生潜在的变异; 在较高灭菌温度下可造成 DNA 分子的变性, 其受损变性的结果在很大程度上依据酶的失活程度^[52]。相比 DNA 分子, RNA 和核糖体对热更为敏感。核糖体由 RNA 和蛋白质组成, 在较高温度的热处理下, 核糖体会发生不可逆变性^[53]; 与核糖体热稳定性相关的胞内蛋白或酶通常也会在热的诱导下发生变性或聚集, 以多种方式使胞内核糖体功能丧失^[54]。

一般热处理后细胞形态和结构的变化可通过扫描电镜或透射电子来观测。通过观测发现, 单增李斯特菌在轻微热处理下, 细胞壁和细胞膜大多可保持完整性; 经高温处理后大多细胞形态发生改变 (如细胞壁塌陷), 且细胞内含物凝聚, 并呈现出明显萎缩的状态^[55-56], 这表明热处理不可避免地使聚集在细胞壁附近的胞内蛋白变性, 使各类酶失去活性, 从而导致细胞受损或死亡。

3.3 热损伤菌的修复机制

单增李斯特菌热损伤细胞在修复过程中, 细菌细胞会依据不同程度的热处理和不同类型的损伤, 发生特定的代谢过程, 包括 ATP、DNA、RNA 和脂质等物质的合成和胞内存在的蛋白质大分子的重组^[33]。在适宜的培养环境中, 细菌受损的结构和成分通过特定的代谢过程被恢复到正常状态, 如热处理过程中被降解的核糖体、变性的蛋白质和塌陷的细胞壁等^[7]。Ma 等^[57]通过扫描和透射电镜, 观测损伤细菌在修复过程中细胞形态和结构发生的变化, 发现细菌修复损伤后的细胞壁、细胞膜和胞内结构均与正常细胞无显著差异, 且胞内金属离子渗漏水平、ATP 酶的活性和膜脂肪酸含量也恢复至正常细胞水平。另外, 在热处理过程中单增李斯特菌会通过增加特定的蛋白质产量来对不断变化的外界环境作出应激反应, 如热休克蛋白

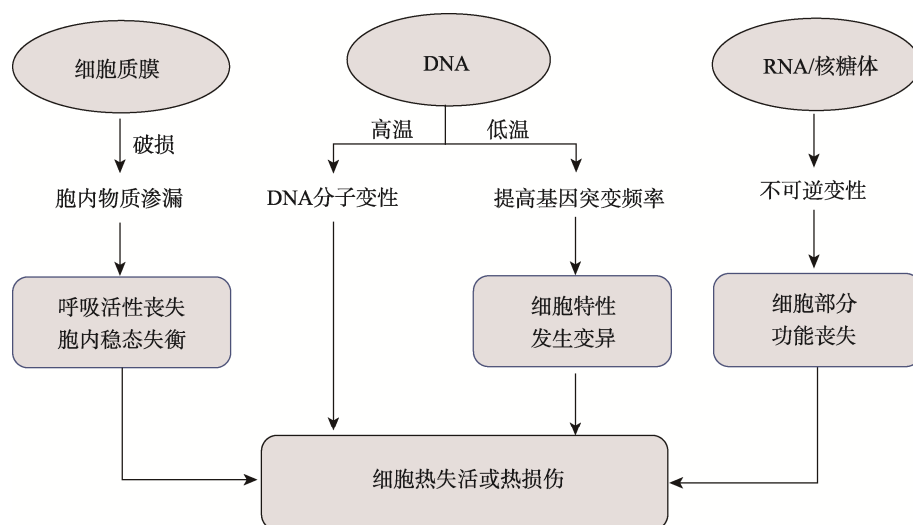


图 2 热处理中单增李斯特菌受损或失活的机制

Fig. 2 Mechanism of damage or inactivation of *Listeria monocytogenes* during heat treatment

(HSPs)。这类应激诱导蛋白质会抑制胞内大多数蛋白质的合成,以增加自身的产量,并通过重新折叠蛋白质或靶向破坏变性的蛋白质来帮助细菌存活,同时这些热休克蛋白还可能在DNA修复及复制,细胞分裂,以及维持蛋白质和膜稳定性的渗透物质的积累中发挥作用^[58],从而在细菌“生长-热失活-再生长”的生态行为中起到帮助细胞存活和促进细胞损伤修复的功能性作用。

在食品加工流通中,单增李斯特菌常会受到包括热处理在内的多种逆境共同胁迫,对于不同食品介质、不同胁迫或应激作用,单增李斯特菌所产生的损伤、应激耐受性和修复机制各不相同。为更好地控制食品中有害微生物的存在,保障食品的安全,还需要对单增李斯特菌损伤和修复的机制做进一步探索。

4 结语

食品链中单增李斯特菌的生态行为与细菌生存的环境因素相关,该菌热失活及其损伤菌的研究大多基于微生物细胞生存的特定模拟环境或实验室理想条件下,实际食品链中致病菌存活的条件会受到环境、人为不定性因素、食品中背景微生物、食品自身结构及营养组成的影响。此外,受损单增李斯特菌修复后,其正常细胞的生长特性(生长延滞期、生长速率)可能会发生一定变化,其中胞内发生的相关代谢活动变化的机制还尚未有确切的研究结论。

针对单增李斯特菌热失活过程中生态行为研究存在的不足,提出以下2点研究建议:有必要研究在动态的环境条件中微生物细胞连续的生态行为,并引入历史生长环境、亚致死损伤、不同食品基质和背景微生物等因素,建立相应的动态模型;可从基因组学、代谢组学等角度来对单增李斯特菌的生态行为过程做出更准确的预测和描述。

参考文献:

- [1] THOMAS J, GOVENDER N, MCCARTHY K M, et al. Outbreak of *Listeriosis* in South Africa Associated with Processed Meat[J]. *New England Journal of Medicine*, 2020, 382: 632—643.
- [2] 江荣花, 杜建萍, 崔旻, 等. 整合低温乳化香肠加工过程交叉污染的单增李斯特菌定量风险评估[J]. *食品科学*, 2018, 39(23): 143—150.
JIANG Rong-hua, DU Jian-ping, CUI Yang, et al. Quantitative Risk Assessment of Cross-contamination of *Listeria Monocytogenes* during Low-Temperature Emulsified Sausage Processing[J]. *Food Science*, 2018, 39(23): 143—150.
- [3] 范张玲. 李斯特菌的流行病临床及病原学特征初探[M]. 北京: 中国医学科学院, 2019: 16—26.
- [4] DOYLE M E, MAZZOTTA A S, WANG T, et al. Heat Resistance of *Listeria Monocytogenes*[J]. *Journal of Food Protection* 2001, 64(3): 410—429.
- [5] HARTER E, WAGNER E M, ZAISER A, et al. Stress Survival Islet 2, Predominantly Present in *Listeria Monocytogenes* Strains of Sequence Type 121, is Involved in the Alkaline and Oxidative Stress Responses[J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 2017, 83(16): 827—842.
- [6] WANG X, DEVLIEGHERE F, GEERAERD A, et al. Thermal Inactivation and Sublethal Injury Kinetics of *Salmonella Enterica* and *Listeria Monocytogenes* in Broth Versus Agar Surface[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2017, 243: 70—77.
- [7] ATES M B, RODE T M, SKIPNES D, et al. Survival of Sublethally Injured *Listeria* in Model Soup after Non-isothermal Heat and High-Pressure Treatments[J]. *European Food Research & Technology*, 2016, 243(6): 1—8.
- [8] YOSHIKO NAKAURA, KAZUYA M, et al. *Listeria Monocytogenes* Cells Injured by High Hydrostatic Pressure and Their Recovery in Nutrient-Rich or-Free Medium during Cold Storage[J]. *High Pressure Research*, 2019, 39(2): 324—333.
- [9] MORIMATSU K, INAOKA T, NAKAURA Y, et al. Injury and Recovery of *Escherichia Coli* Cells in Phosphate-Buffered Saline after High Hydrostatic Pressure Treatment[J]. *Food Science and Technology Research*, 2019, 25(3): 479—484.
- [10] METSELAAR K I, ABEE T, ZWIETERING M H. Modeling and Validation of the Ecological Behavior of Wild-Type *Listeria Monocytogenes* and Stress-Resistant Variants[J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 2016, 82(17): 53—89.
- [11] 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(3): 92—95.
LIU Shan-na. Research Progress of Growth Prediction Model of *Listeria Monocytogenes*[J]. *Journal of Tianjin Agricultural College*, 2018, 25(3): 92—95.
- [12] ZHU Mei-jun, SONG Xia, SHEN Xiao-ye, et al. *Listeria Monocytogenes* in Almond Meal: Desiccation Stability and Isothermal Inactivation[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 16—89.
- [13] KIM C, ALREFAEI R, BUSHLAIBI M, et al. Influence of Growth Temperature on Thermal Tolerance of Leading Foodborne Pathogens[J]. *Food Science & Nutrition*, 2019, 7(12): 4027—4036.
- [14] LI Rui, XIAO xi, ZHANG Li-hui, et al. Inactivation Kinetics of Food-Borne Pathogens Subjected to Thermal Treatments: A Review[J]. *Int J Hyperthermia*, 2018,

- 34(2): 177—188.
- [15] GEERAERD A H, HERREMANS C H, IMPE J. Structural Model Requirements to Describe Microbial Inactivation during a Mild Heat Treatment[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2000, 59(3): 185—209.
- [16] ALBERT I, MAFART P. A Modified Weibull Model for Bacterial Inactivation[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2005, 100(1): 197—211.
- [17] BOEKEL M. On the Use of the Weibull Model to Describe Thermal Inactivation of Microbial Vegetative Cells[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2002, 74(1): 139—159.
- [18] BIGELOW W D. The Logarithmic Nature of Thermal Death Time Curves[J]. *Journal of Infectious Diseases*, 1921, 29(5): 528—536.
- [19] FARBER J M, PAGOTTO F. The Effect of Acid Shock on the Heat Resistance of *Listeria Monocytogenes*[J]. *Letters in Applied Microbiology*, 1992, 15(5): 197—201.
- [20] DUFORT E L, JONATHAN S, ETZEL M R, et al. Inactivation Kinetics of Pathogens during Thermal Processing in Acidified Broth and Tomato Purée (pH 4.5)[J]. *Journal of Food Protection*, 2017, 80(12): 2014—2021.
- [21] SIBANDA T, BUYS E M. Modelling the Survival of *Listeria Monocytogenes* Strains in Soft Lactic Cheese Following Acid and Salt Stress Exposures[J]. *Letters in Applied Microbiology*, 2019, 69(4): 230—236.
- [22] 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[J]. *生物工程学报*, 2020, 36(11): 99—109.
- TIAN Shi-hong, WANG Xiang, LI Hong-mei, et al. Research Progress of Strain Variability of Foodborne Pathogenic Bacteria in Microbial Risk Assessment[J]. *Chinese Journal of Biological Engineering*, 2020, 36(11): 99—109.
- [23] ARYANI D C, DEN BESTEN H M W, HAZELEGER W C, et al. Quantifying Variability on Thermal Resistance of *Listeria Monocytogenes*[J]. *International Journal of Food Microbiology* 2015, 193: 130—138.
- [24] CEBRIÁN G, CONDÓN S, MAÑAS P. Physiology of the Inactivation of Vegetative Bacteria by Thermal Treatments: Mode of Action, Influence of Environmental Factors and Inactivation Kinetics[J]. *Foods*, 2017, 6(12): 107.
- [25] KIM C. Influence of Prior PH and Thermal Stresses on Thermal Tolerance of Foodborne Pathogens[J]. *Food Science & Nutrition*, 2019, 7(6): 2033—2042.
- [26] YPAB C, YAN Z A, JHCAB C, et al. Inactivation of *Listeria Monocytogenes* at Various Growth Temperatures by Ultrasound Pretreatment and Cold Plasma-Science Direct[J]. *LWT*, 2020, 118: 108635.
- [27] 马华威, 甘晖, 王园园, 等. 数学模拟动态低热处理罗非鱼皮诱导 *Listeria monocytogenes* 应激适应[J/OL]. *食品科学*, 2021: 1—19. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20210205.1748.081.html>.
- MA Hua-wei, GAN Hui, WANG Yuan-yuan, et al. Stress Adaptation of *Listeria Monocytogenes* Induced by Dynamic Low-heat Treatment of Tilapia Skin [J/OL]. *Food science*, 2021: 1—19. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20210205.1748.081.html>.
- [28] CASADEI M A, MATOS R E D, HARRISON S T, et al. Heat Resistance of *Listeria Monocytogenes* in Dairy Products as Affected by the Growth Medium[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2010, 84(2): 234—239.
- [29] MAZZOTTA A S. Thermal Inactivation of Stationary-Phase and Acid-Adapted *Escherichia Coli* O157:H7, *Salmonella* and *Listeria Monocytogenes* in Fruit Juices[J]. *Journal of Food Protection*, 2001, 64(3): 3—15.
- [30] VAN A E D, ZWIETERING M H. A Systematic Approach to Determine Global Thermal Inactivation Parameters for Various Food Pathogens[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2006, 107(1): 73—82.
- [31] 李长城, 白伟娟, 贾真, 等. 温度和盐含量对三文鱼中单增李斯特菌热失活的影响[J]. *食品工业*, 2018, 39(12): 50—53.
- LI Chang-cheng, BAI Wei-juan, JIA Zhen, et al. Effects of Temperature and Salt Content on Thermal Inactivation of *Listeria Monocytogenes* in Salmon[J]. *Food Industry*, 2018, 39(12): 50—53.
- [32] GARRE A, GA GONZÁLEZ-TEJEDOR, AZNAR A, et al. Mathematical Modelling of the Stress Resistance Induced in *Listeria Monocytogenes* during Dynamic, Mild Heat Treatments[J]. *Food Microbiology*, 2019, 84: 103238.
- [33] BEVILACQUA A, PETRUZZI L, SINIGAGLIA M, et al. Effect of Physical and Chemical Treatments on Viability, Sub-Lethal Injury and Release of Cellular Components from *Bacillus Clausii* and *Bacillus Coagulans* Spores and Cells[J]. *Foods*, 2020, 9(12): 1—12.
- [34] BANNENBERG J W, ABEE T, ZWIETERING M H, et al. Variability in Lag Duration of *Listeria Monocytogenes* Strains in Half Fraser Enrichment Broth after Stress Affects the Detection Efficacy Using the ISO 11290-1 Method[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2021, 337: 108914.
- [35] XUAN Xiao-ting, DING Tian, LI Jiao, et al. Estimation of Growth Parameters of *Listeria Monocytogenes* after Sublethal Heat and Slightly Acidic Electrolyzed Water (SAEW) Treatment[J]. *Food Control*, 2017, 71: 17—25.
- [36] FANG Tai-song, WU Yu-fan, XIE Ya-ni, et al. Inactivation and Subsequent Growth Kinetics of *Listeria Monocytogenes* after Various Mild Bactericidal Treatments[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 646735.
- [37] LAN Lin-shu, ZHANG Ru, ZHANG Xiang-lian, et al. Sublethal Injury and Recovery of *Listeria Monocytogenes* and *Escherichia Coli* O157:H7 after Exposure to

- Slightly Acidic ELectrolyzed Water-Science Direct[J]. Food Control, 2019, 106: 106746.
- [38] HANSEN T B, KN C S. Factors Influencing Resuscitation and Growth of Heat Injured *Listeria Monocytogenes* 13-249 in Sous Vide Cooked Beef[J]. International Journal of Food Microbiology, 2001, 63(1): 135—147.
- [39] 宣晓婷, 丁甜, 刘东红. 食品中亚致死损伤单增李斯特菌的研究进展[J]. 食品科学, 2015, 36(3): 280—284. XUAN Xiao-ting, DING Tian, LIU Dong-hong. Research progress on *Listeria Monocytogenes* in Food[J]. Food Science, 2015, 36(3): 280—284.
- [40] YUE Si-yuan, LIU Yang-tai, WANG Xiang, et al. Modeling the Effects of the Preculture Temperature on the Lag Phase of *Listeria Monocytogenes* at 25 °C[J]. Journal of Food Protection, 2019, 82(12): 2100—2107.
- [41] WU V. A Review of Microbial Injury and Recovery Methods in Food[J]. Food Microbiology, 2008, 25(6): 735—744.
- [42] SILVA-ANGULO A B, ZANINI S F, RODRIGO D, et al. Growth Kinetics of *Listeria Innocua* and *Listeria Monocytogenes* under Exposure to Carvacrol and the Occurrence of Sublethal Damage[J]. Food Control, 2014, 37: 336—342.
- [43] MUNOZ M, GUEVARA L, PALOP A, et al. Prediction of Time to Growth of *Listeria Monocytogenes* Using Monte Carlo Simulation or Regression Analysis, Influenced by Sublethal Heat and Recovery Conditions[J]. Food Microbiology, 2010, 27(4): 468—475.
- [44] 林梓杰, 方太松, 胡丽丽, 等. 氯杀菌剂在食品加工中的应用及抑菌建模研究进展[J]. 包装工程, 2020, 41(21): 10—19. LIN Zi-jie, FANG Tai-song, HU Li-li, et al. Research Progress on Application of Chlorinated Fungicides in Food Processing and Antibacterial Modeling[J]. Packaging Engineering, 2020, 41(21): 10—19.
- [45] GABRIEL A A, NAKANO H. Influences of Simultaneous Physicochemical Stress Exposures on Injury and Subsequent Responses of *E coli* O157:H7 to Resuscitative and Inactivative Challenges[J]. International Journal of Food Microbiology, 2010, 139(3): 182—192.
- [46] CEBRIÁN G, CONDÓN S, MANAS P. Heat Resistance, Membrane Fluidity and Sublethal Damage in *Staphylococcus Aureus* Cells Grown at Different Temperatures[J]. International Journal of Food Microbiology, 2018, 289: 49—56.
- [47] SMITH J L, BENEDICT R C, HAAS M, et al. Heat Injury in *Staphylococcus Aureus* 196E: Protection by Metabolizable and Non-Metabolizable Sugars and Polyols[J]. Applied & Environmental Microbiology, 1983, 46(6): 1417—1419.
- [48] WANG Yan, HAO Fan, LU Wen-jie, et al. Enhanced Thermal Stability of *Lactic Acid Bacteria* during Spray Drying by Intracellular Accumulation of Calcium[J]. Journal of Food Engineering, 2020, 279: 109975.
- [49] TOMLINS R I, ORDAL Z J. Thermal Injury and Inactivation in Vegetative Bacteria[J]. Society for Applied Bacteriology Symposium Series, 1976, 5: 153—190.
- [50] RAY B. Sublethal Injury, Bacteriocins and Food Microbiology[J]. ASM News, 1993, 59: 285—291.
- [51] MARCÉN M, RUIZ V, SERRANO M J, et al. Oxidative Stress in *E coli* Cells upon Exposure to Heat Treatments[J]. International Journal of Food Microbiology, 2017, 241: 198—205.
- [52] MARCÉN M, CEBRIÁN G, RUIZ-ARTIGA V, et al. Protective Effect of Glutathione on *Escherichia Coli* Cells upon Lethal Heat Stress[J]. Food Research International, 2019, 121: 806—811.
- [53] NGUYEN H T T, CORRY J E L, MILES C A. Heat Resistance and Mechanism of Heat Inactivation in *Thermophilic Campylobacters*[J]. Appl Environ Microbiol, 2006, 72(1): 908—913.
- [54] LI H, MERCER R, BEHR J, et al. Heat and Pressure Resistance in *Escherichia Coli* Relates to Protein Folding and Aggregation[J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 11: 1—12.
- [55] LI Jiao, SUO Yuan-jie, LIAO Xin-yu, et al. Analysis of *Staphylococcus Aureus* Cell Viability, Sublethal Injury and Death Induced by Synergistic Combination of Ultrasound and Mild Heat[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2017, 39: 101—110.
- [56] LYU Rui-ling, WANG Dan-li, ZOU Ming-ming, et al. Analysis of *Bacillus Cereus* Cell Viability, Sublethal Injury and Death Induced by Mild Thermal Treatment[J]. Journal of Food Safety, 2019, 39(1): 125206.
- [57] MA Jing-jing, WANG Hu-hu, YU Lan-lin, et al. Dynamic Self-Recovery of Injured *Escherichia Coli* O157:H7 Induced by High Pressure Processing[J]. LWT-Food Science and Technology, 2019, 113: 108308.
- [58] MASAYUKI M, HIROKO F, KAORI N, et al. Molecular Strategy for Survival at a Critical High Temperature in *Escherichia Coli*[J]. PLOS ONE, 2011, 6(6): e20063.