

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*
54 (11):1248–1255; 4 November 2014
ISSN 0001–6209; CN 11–1995/Q
<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>
doi: 10.13343/j.cnki.wsxb.2014.11.002

沙门氏菌 $1,4, [5], 12:i:-$ 耐药性和遗传特征研究进展

杨小鹏, 吴清平*, 张菊梅, 郭伟鹏

广东省微生物研究所, 省部共建华南应用微生物国家重点实验室, 广东省菌种保藏与应用重点实验室, 广东省微生物应用新技术公共实验室, 广东 广州 510070

摘要:近 10 年来, 一种与鼠伤寒沙门氏菌具有相似抗原的非典型沙门氏菌血清型 $1,4, [5], 12:i:-$ 在全球多个国家检出率大幅度增加, 目前已被列为引起人类沙门氏菌病的主要血清型之一。沙门氏菌 $1,4, [5], 12:i:-$ 菌株具多重耐药特性, 存在分别以质粒和染色体介导的两种主要的多重耐药菌株(西班牙株系和欧洲株系)。多个抗生素抗性基因(bla_{TEM} 、 bla_{CTX-M_1} 、 $aac(3)-IV$ 、 $aadA2$ 、 $cmlA1$ 、 $sul1$ 、 $sul2$ 、 $dfrA12$ 、 $strA-strB$ 、 $tet(A)$ 和 $tet(B)$) 在 $1,4, [5], 12:i:-$ 耐药菌株中检出。遗传特征分析显示, 沙门氏菌 $1,4, [5], 12:i:-$ 与鼠伤寒沙门氏菌具有很高的遗传相似度, 并且推测是由于多个独立的遗传事件的改变, 导致鼠伤寒沙门氏菌变异而产生不同的 $1,4, [5], 12:i:-$ 株系。对于沙门氏菌 $1,4, [5], 12:i:-$ 相关快速、准确检测方法的建立及致病、耐药机制研究将是今后的重要方向。

关键词:沙门氏菌 $1,4, [5], 12:i:-$ 鼠伤寒沙门氏菌

中图分类号: R37 **文章编号:** 0001-6209 (2014) 11-1248-08

沙门氏菌(*Salmonella* spp.) 是公共卫生学上具有重要意义的人畜共患病原菌, 在世界各地的食物中毒事件中, 沙门氏菌引起的中毒病例常列榜首^[1]。目前全世界已发现约 2600 种沙门氏菌血清型^[2], 其中肠炎沙门氏菌(*Salmonella* Enteritidis) 和鼠伤寒沙门氏菌(*S. Typhimurium*, STM) 是引起人类感染的主要血清型^[3-4]。21 世纪以来, 一种与 STM 具有相似的抗原形式, 并在遗传关系上与之紧密联系的非典型沙门氏菌血清型 $1,4, [5], 12:i:-$ 在全球多个国家检出率大幅度增加, 呈现上升趋势, 并引起多次危害严重的沙门氏菌疫情的暴发。鉴于沙门氏菌 $1,4, [5], 12:i:-$ 对食品安全和人类健康的严重威胁, 本文从污染情况、耐药性、遗传特征分析、

检测鉴定 4 个方面阐述沙门氏菌 $1,4, [5], 12:i:-$ 的研究现状, 以期为今后开展相关研究提供依据。

1 沙门氏菌 $1,4, [5], 12:i:-$ 全球污染和暴发流行情况

由于在 20 世纪 90 年代以前一直将沙门氏菌 $1,4, [5], 12:i:-$ 归为 STM, 所以很少有相关的报道。最早的记录是在 1946 年由 Edwards 和 Brunner 分离出 3 株仅具第 I 相鞭毛抗原的“STM”^[5]。在过去的二十多年, 沙门氏菌 $1,4, [5], 12:i:-$ 在全球多个国家的多种样本, 包括动物(鸡、牛、猪、甲鱼等)、食品(禽肉、猪肉、香肠等), 以及人类粪便、血液中分离

基金项目:国家科技部港澳台科技合作专项(2013DFH30070); 广州市科技计划项目资助(2010U1-E00611)

* 通信作者。Tel/Fax: +86-20-87688132; E-mail: wuqp203@163.com

作者简介:杨小鹏(1980-), 女, 助理研究员, 主要从事食品微生物安全研究。E-mail: youngxj@126.com

收稿日期: 2014-02-12; **修回日期:** 2014-05-06

发现。

在亚洲,沙门氏菌_{1,4, [5],12:i:-}自 1993 年首次分离于泰国^[6]后,由其引起的患病人数不断增加,被列为泰国引起沙门氏菌病的 5 种主要血清型之一^[7-8]。迄今为止,在台湾^[9],韩国^[10],中国^[11]等国家均有_{1,4, [5],12:i:-}引起食源性疾病的报道。

在欧洲,研究发现沙门氏菌_{1,4, [5],12:i:-}引起人类感染与猪肉及其制品有关。自沙门氏菌_{1,4, [5],12:i:-}于 1997 年在西班牙被报道后^[12],检出率不断增加,成为西班牙猪体中最常见和猪肉制品中第二常见的血清型^[13]。2006 年,污染了沙门氏菌_{4,5,12:i:-}DT193 的猪肉食品引起卢森堡两次沙门氏菌病暴发,133 人患病,1 人死亡^[14]。2005 - 2008 年,沙门氏菌_{1,4, [5],12:i:-}的检出率在法国从第 11 位上升到第 3 位^[15],更在 2010、2011 年发生由污染了_{4, [5],12:i:-}的干猪肉香肠引起的沙门氏菌病大暴发^[16-17]。近年来,英国、德国、意大利、瑞士也发生多起因食用被_{1,4, [5],12:i:-}污染的食品而导致的散发性和暴发流行食物中毒事件^[18-21]。

在美洲,沙门氏菌_{1,4, [5],12:i:-}已被列为美国引起人类沙门氏菌病的 6 种主要血清型之一,2007 年污染了沙门氏菌_{4,5,12:i:-}的冷冻禽肉派引起波及多个州的沙门氏菌病暴发流行^[22]。在加拿大、巴西、智利等国家,沙门氏菌_{1,4, [5],12:i:-}引起的人类疾病也在不断增加^[23-24]。

2 沙门氏菌_{1,4, [5],12:i:-}耐药性

沙门氏菌_{1,4, [5],12:i:-}在进化过程中产生了严重的多重耐药 (Multidrug Resistance, MDR) 现象,随着其检出率的大幅度增加,_{1,4, [5],12:i:-}MDR 菌株也在全球多个国家被报道。_{1,4, [5],12:i:-}菌株对主要的抗菌药物: Ampicillin (A), Chloramphenicol (C), Kanamycin (K), Streptomycin (S), Sulfamethoxazole (Su), Tetracycline (T), Trimethoprim (Tm), Gentamicin (G), 表现不同的敏感性,产生泛耐药和多重耐药。

近 20 年,欧洲存在两种主要的_{1,4, [5],12:i:-}MDR 菌株,一种是 20 世纪 90 年代末出现的以质粒介导的 ACSuGSTTm 耐药特性的_{1,4, [5],12:i:-}菌株^[12,25],称作西班牙株系 (Spanish clone),主要是噬菌体 U302 型。另一种是 21 世纪以来,在欧洲多个

国家出现染色体介导的 ASSuT 耐药特性的_{1,4, [5],12:i:-}菌株^[16,29],称作欧洲株系 (European clone),主要是 DT193 型和一些 DT120 型。

研究发现具 ACSuGSTTm 耐药特性的_{1,4, [5],12:i:-}菌株多具有较大的、非接合性的携带毒力基因 *spvC* 的 pUO-STmRV1 类质粒或 *spvC* 阴性的 pUO-STmR1 质粒^[25-26],并携带 *bla*_{TEM}、*aac*(3)-IV、*aadA2*、*cmlA1*、*sul1*、*dfrA12*、*tet*(A) 等抗药性基因^[26-27]。García^[27]发现于 2000 - 2003 年分离自西班牙的 ACSuGSTTm 耐药特性_{4, [5],12:i:-}菌株含有可变区为 *dfrA12-orfF-aadA2* 的传统 I 类整合子 (InI)、可变区为 *sul3* 和 *estX-psp-aadA2-cmlA1-aadA1* 的非典型整合子 (type III In-*sul3*),以及含四环素抗性基因 (*tet*(A)) 的转座子 *Tn1721*,并且所有抗性基因和可移动基因元件都位于含 *IncA/C* 或 *IncA/C + IncN* 的且携带毒力基因 *spvC* 的约 150 - 200 kb 的 pUO-STmRV1 质粒上。相继研究中,García^[28]发现欧洲_{4, [5],12:i:-}MDR 菌株中还存在其他的耐药质粒,包括具 *IncA/C* 的 pMVN-STmRV1 和 pMVN-STmRV2 质粒 (属于 pUO-STmRV1 类质粒),具 *IncR* 的 pMVN-STmRV3-RV6 质粒,以及分别具 *IncFII*s-ST1、*IncFIB*-ST17 的 pMVN-STmVR1 和 pMVNSTmVR2 质粒。

具 ASSuT 耐药特性的_{1,4, [5],12:i:-}菌株在西班牙、意大利、丹麦、英国、法国、捷克都分离到,多携带 *bla*_{TEM}、*strA-strB*、*tet*(B)、*sul2* 抗性基因^[24,29-30]。2006 年,在卢森堡暴发的两次食物中毒事件中分离的_{4,5,12:i:-}菌株均是 ASSuT 耐药模式^[14]。同时对 ASSuT 耐药特性的意大利 STM 和_{1,4, [5],12:i:-}菌株分析发现,他们都具有位于染色体上与“ASSu”抗药性相关的抗性区域 1 (resistance region 1, RR1) 和与“T”抗药性相关的抗性区域 2 (resistance region 2, RR2),这 2 个区域被插入片段 IS26 包围,所有菌株都具有相同的 RR1 和 RR2 区域基因,以及 *bla*_{TEM}、*strA-strB*、*sul2*、*tet*(B) 抗性基因,说明 RR1、RR2 在 STM 和_{1,4, [5],12:i:-}菌株具有高度保守性^[31]。

此外,在加拿大和美国出现 ACSSuT 耐药菌株^[23,32],在泰国出现 ACKGSuTm^[6]、ACSSuTG^[7] 耐药菌株。Mulvey^[23]分析 766 株加拿大_{4, [5],12:i:-}临床分离株,11.9% 是 ASSuT 耐药菌株,且由 2003 年的 2 株增加到 2010 年的 35 株;另外一种主

要的 ACSSuT 耐药菌株,多携带 *bla*_{TEM}、*floR*、*strA*–*strB*、*sul2*、*tet* (A) 或 *bla*_{PSE-1}、*floR*、*aadA2*、*sul1* 和 *tet* (G) 基因。

另外,德国 4, [5],12:i:–MDR 菌株中发现了由质粒介导的超广谱 β-内酰胺酶(Extended spectrum β-lactamases, ESBLs) [33]。8 株分离自猪(6 株)、羊、牛的 4, [5],12:i:–菌株表达 ESBL CTX-M-1 酶,都具有位于 35–100 kb Inc11 (7 株)或 IncN (1 株)质粒上的 *bla*_{CTX-M-1} 基因。

深入揭示耐药机理是预防多重耐药性产生的前提。目前这些沙门氏菌 1, 4, [5],12:i:–耐药性和抗性基因方面的研究,还不能揭示 1, 4, [5],12:i:–MDR 菌株产生的原因,但对了解抗性基因的演化及传播,毒力进化和流行规律分析具有重要意义。

3 沙门氏菌 1, 4, [5],12:i:–的遗传特征分析

3.1 分子分型和系统进化分析

沙门氏菌 1, 4, [5],12:i:–引起人类食源性疾病的不断增加,带来严重危害,因此研究这种新现血清型的进化机制,以及与其它血清型的遗传关系尤为重要。传统的血清学鉴定方法显示,1, 4, [5],12:i:–菌株可能是 *S. Typhimurium* (1, 4, [5],12:i:1, 2),也可能是 *S. Lago* (4,5,12:i:1,5)、*S. Agama* (4,12:i:1,6)、*S. Tsevie* (4,12:i:e,n,z15)、*S. Gloucester* (1,4,12,27:i:1,w) 等一些罕见血清型的单相变种,不能判断 1, 4, [5],12:i:–菌株的起源。然而,通过噬菌体分型(Phage Typing)、脉冲场凝胶电泳(Pulsed-Field Gel Electrophoresis, PFGE)、多位点序列分析(Multilocus Sequence Typing, MLST)、多位点可变数目串联重复序列分析(Multiplelocus Variable-Number Tandem-Repeats Analysis, MLVA)以及基因序列分析等研究发现,1, 4, [5],12:i:–与 STM 具有很高的遗传相似度,推测 1, 4, [5],12:i:–可能是 STM 的 I 相单相菌变种。

Echeita 等 [25] 分析发现缺失 *fljB* 基因的西班牙 4,5,12:i:–菌株具有存在于 DT104、U302 型 STM 中的保守序列(162 bp)和 STM 特有的 *fljB* 下游元件 IS200 片段(1000 bp)。噬菌体对沙门氏菌的裂解具有高度特异性,de la Torre 等 [13] 研究发现西班牙 4, 5,12:i:–菌株为 U302、DT208、DT139 型,这些均是

STM 的典型噬菌体型。1, 4, [5],12:i:–菌株还具有 STM 特异的 *mdh* (malic acid dehydrogenase) 基因 [7]。多项研究显示,1, 4, [5],12:i:–菌株具有和 STM 相同或相似的 PFGE 图谱 [7,13]、MLST 序列型 [34–35] 及 MLVA 图谱 [36]。根据这些研究结果推测,1, 4, [5],12:i:–菌株属于 STM 的一个变种,而且起源于 STM 的进化发展。

前噬菌体的整合是引起沙门氏菌血清型基因多样性的主要原因之一。Trupschuch [18] 研究发现 DT193 型(分离自欧洲多个国家和美国)、U291 型(美国)和 U302 型(西班牙) 4, [5],12:i:–菌株都具有 STM 特有的噬菌体整合位点 Gifsy-1、Gifsy-2、ST64B,而 U302 型西班牙菌株同时还具有 P22/ST64T 和 W104 位点。进一步比较 DT193 型 4, [5],12:i:–ASSuT 耐药菌株和 LT2 型 STM 的 tRNA 基因发现,36 个区域两者完全相同,5 个区域在大小上有细微差别,仅 2 个区域(*thrW*、*pheR*)两者不同。这些分析结果进一步说明 4, [5],12:i:–菌株与 STM 具有很高的遗传相似度。与 LT2 型 STM *thrW* 位点不同的是,DT193 型 4, [5],12:i:–菌株的 *thrW* 位点附近插入了一段 18.4 kb 的新基因岛(genomic island)。90% 德国 DT193 型 4, [5],12:i:–菌株(共 242 株),以及卢森堡、澳大利亚、法国、荷兰、意大利的 DT193 型 4, [5],12:i:–菌株都具有该基因岛。这一基因岛在 1, 4, [5],12:i:–进化发展中的作用以及其存在是否与该菌株的迅速传播扩散有关还在进一步研究。

这些从不同角度的分析,都表明沙门氏菌 1, 4, [5],12:i:–与 STM 具有很高的遗传相似度,是 STM 的 I 相单相菌变种,为更深入地研究其进化机制指明了方向。

3.2 沙门氏菌 1, 4, [5],12:i:–单相鞭毛的遗传基础

沙门氏菌鞭毛相变现象决定着其鞭毛抗原的产生。沙门氏菌鞭毛相变是由一段可逆倒转的 DNA 序列(H 片段)引起的,H 片段的两端是倒转重复序列 *hixL* 和 *hixR*,在这 2 个序列之间发生位点特异性重组,导致 H 片段的倒位。H 片段位于第 II 相鞭毛抗原编码基因 *fljB* 操纵子上游,H 片段的倒位与否决定了 *fljB* 操纵子的启动子位置。H 片段上还有 *hin* 基因,它编码的 DNA 转化酶反式作用于 H 片段,使位于两端的倒转重复序列发生倒位。位于

fljB 下游的 *fliA* 基因,其表达产物可以与第 I 相鞭毛抗原编码基因 *fliC* 操纵子结合,抑制 *fliC* 表达。当 H 片段位于正向时,*fljB* 操纵子处于“开”状态,H 片段中 *fljB* 操纵子的启动子与 *fljB* 邻近,它可以启动 *fljB-fljA* 转录单元的转录,由于 *fljA* 得到表达,*fljA* 表达产物与 *fliC* 操纵子结合,使 *fliC* 基因不能表达,其结果是 FliJ 鞭毛蛋白表达,FliC 鞭毛蛋白不表达,表现为 II 相;相反,如果 H 片段发生倒位,位于反向时,*fljB* 操纵子处于“关”状态,*fljB* 操纵子的启动子反向,而且与 *fljB* 基因相距甚远,此时不能启动 *fljB-fljA* 转录单元的转录,*fljB* 和 *fljA* 均不能表达,而 *fliC* 基因正常表达,表现为 I 相^[24]。因此,在 *fljB-fljA*、*hin-hixL-hixR* 任何一个位点发生的缺失、插入和突变都可能导致第 II 相鞭毛蛋白不表达。

沙门氏菌 $\underline{1,4, [5]},12:i:-$ 菌株表现为第 II 相鞭毛缺失。Garaizar^[37]利用基因芯片分析缺失 *fljB* 基因的 4,5,12:i:-西班牙分离株,发现其与 LT2 型 STM 的不同在于 5 个区域(cluster I-V)的缺失,其中相关 *fljB-fljA* 区域的缺失(cluster V)是从 STM2758 至 STM2773 (*iroB*) 的 16 个基因的缺失,包括 *fljB*、*fljA*、*hin*、*iroB* 等。相继的研究中,Laorden^[38]发现分离于 2000-2007 年属于西班牙株系的多株 U302 型 4,5,12:i:-MDR 菌株,均缺少 *fljB*、*fljA*、*hin* 基因,且存在 4 种不同的缺失方式($\Delta fljAB-1 \sim \Delta fljAB-4$),缺失都开始于 STM2758 基因的同—核酸序列位点(93.6%),分别结束于 STM2773 (*iroB*) (57 株)、STM2774 (*iroC*) (2 株)、STM2814 (*emrA*) (1 株)。García^[39]在 U302、U310、DT193 型 4,5,12:i:-不同菌株中也发现相同的缺失方式($\Delta fljAB-1$ 、 $\Delta fljAB-2$)。而且,在 Garaizar、Laorden 和 García 研究中都发现插入片段 IS26 存在于 4,5,12:i:-菌株的缺失位点 DNA 首尾两端,推测是 IS26 片段引起基因的缺失。

PCR 和菌落杂交分析 28 株 4, [5],12:i:-美国分离株,发现美国菌株也存在多种不同的基因缺失方式,89% 菌株整个或部分丢失了 *fljB* 基因,仅 1 株不含 *hin* 基因^[40]。分析显示美国菌株具有不同于西班牙菌株的基因缺失方式,菌株发生了从 STM2694 至 STM2771 位点 76 个基因的缺失,其中包括 STM2757、*fljB*、*fljA*,保留了 *hin*、*iroB* 基因^[35]。

Lucarelli^[31]在 ASSuT 耐药特性的 $\underline{1,4, [5]},12:i:-$ 意大利菌株中也发现了 *fljB-fljA* 区间的多变性,全部菌株缺失 *fljB*、*hin* 基因,部分菌株同时缺失 *fljA*

基因,并且在这些菌株中也存在 IS26 片段,它们引起了 STM2769 位点和 *fljA-fljB-hin* 区域部分或全部缺失。27 株 2009-2010 年分离于意大利两次疾病暴发的 DT193 型 ASSuT 耐药特性 $\underline{1,4, [5]},12:i:-$ 菌株全部丢失 *fljA*、*fljB*、*hin* 基因^[20]。

这些研究结果从遗传学角度证实了 $\underline{1,4, [5]},12:i:-$ 菌株第 II 相鞭毛缺失。大部分西班牙菌株丢失了 *fljA*、*fljB*、*hin*、*iroB* 基因,保留了 STM2757;而一些美国分离株则是丢失了 *fljA*、*fljB*、STM2757 基因,*hin*、*iroB* 基因仍存在;意大利菌株则是与西班牙菌株和美国菌株都不相同的株系,它们缺失 *fljA*、*fljB*、*hin* 基因,但保留了 STM2757、*iroB* 基因。因此,推测可能是在不同位点发生了多个独立的缺失导致了 STM 的变异而产生新的血清型 $\underline{1,4, [5]},12:i:-$ 也可能是发生单一的突变,伴随着 *fljAB* 操纵子序列的重排或者是另外的缺失,因此产生了不同的 $\underline{1,4, [5]},12:i:-$ 株系^[24]。

分析发现 $\underline{1,4, [5]},12:i:-$ 菌株所具有的 pUO-STmRV1 类抗性质粒,以及染色体抗性区域(RR1、RR2)都存在多个 IS26 片段,导致上述基因缺失的 IS26 片段是否与其有关联,而且 pUO-STmRV1 类质粒也存在于 DT104 和 U302 的 STM 中,IS26 片段是否在其 $\underline{1,4, [5]},12:i:-$ 菌株进化中发挥重要作用,这些都有待进一步研究。

4 沙门氏菌 $\underline{1,4, [5]},12:i:-$ 的鉴定

由于对沙门氏菌 $\underline{1,4, [5]},12:i:-$ 认识不足和对其 O 抗原鉴定的不完整,导致其分类、命名和抗原形式混乱^[4],因此很难对不同国家和不同研究者报道的菌株进行比较分析,无法判断菌株进化方向和流行趋势。鉴于此,欧洲食品安全局(European Food Safety Authority,EFSA)提出了建议方法^[4]:要求在进行 $\underline{1,4, [5]},12:i:-$ 菌株鉴定时,首先鉴定出其完整的 O 抗原;当遇到第 II 相 H 抗原为阴性时,进行鞭毛诱导;如果诱导实验结果显示第 II 相 H 抗原为阴性,则可利用 Tennant 等^[41]2010 年建立的区分 STM、 $\underline{1,4, [5]},12:i:-$ 和其它血清型的多重 PCR 方法来确认是否为 $\underline{1,4, [5]},12:i:-$ 菌株。该多重 PCR 方法以 *fljB* 和 IS200 片段为靶基因, $\underline{1,4, [5]},12:i:-$ 菌株和 STM 可以产生 1000 bp 的 IS200 片段,STM 同时产生 1389 bp *fljB* 基因片段。而 S. Lago,

S. Agama 等和 STM 具有相同 O 抗原和第 I 相抗原 (Hi) 的血清型则只产生 250 bp 的 IS200 片段, 其它血清型则不含 IS200 片段。进一步发现 *S. Farsta* (4,12:i:e,n,x) 也具有 1000 bp 的 IS200 片段, 则需再通过第 II 相鞭毛的血清鉴定与 STM 区分^[4]。Barco^[42] 利用 Tennant 的多重 PCR 方法分析血清学鉴定为 1,4, [5], 12:i:- 的 154 株菌株, 存在 15 株“不一致”菌株, 14 株 *fljB* 基因阳性, 1 株 IS200 片段阴性。

Prendergast^[43] 以 *fljC*、*fljB1*、2、*fljB*/IS200 为靶位点建立多重荧光定量 PCR 检测 1,4, [5], 12:i:- 并与 Tennant 方法进行对比。两种方法都正确地鉴定了 54 株 STM 菌株、101 株单相菌和 43 株与 STM 具有共同 O 或 H1 或 H2 抗原的沙门氏菌, 一致性达到 100%。在这些菌株中也存在“不一致”菌株, 血清学鉴定第 II 相鞭毛阴性的 20 株菌株, PCR 显示 *fljB1*、2 基因阳性。

由于 1,4, [5], 12:i:- 菌株发生不同程度的基因缺失导致第 II 相鞭毛抗原蛋白不表达, 对于这些主要以 *fljB* 为靶基因的分子检测方法和血清学鉴定“不一致”的情况, 分析可能是在 *fljB* 基因以外其他区域 (如 *fljA*、*hin*、*hixL*、*hixR*) 的缺失、插入和突变导致了第 II 相鞭毛蛋白的不表达, 或者也可能是由在 *fljB* 基因引物结合位点以外的其它 *fljB* 区域发生的缺失和突变引起。因此, 仅仅针对 *fljB* 基因的检测方法存在一定局限性。对 *hin-fljB-fljA* 区间以及附近其他相关位点更加明确的序列分析研究, 将是进一步深入了解沙门氏菌 1,4, [5], 12:i:- 遗传特征, 建立准确检测方法的基础。

5 展望

新现血清型沙门氏菌 1,4, [5], 12:i:- 近年来检出率大幅度增加, 目前已成为全球引起人类沙门氏菌病的主要血清型之一。沙门氏菌 1,4, [5], 12:i:- 与 STM 具有很高的遗传相似度, 推测 1,4, [5], 12:i:- 血清型可能是 STM 的 I 相菌单相变种, 并且是多个独立的遗传事件的改变, 导致了 STM 的变异而产生不同的 1,4, [5], 12:i:- 株系。这些研究和发现为探讨沙门氏菌 1,4, [5], 12:i:- 的起源及进化机制提供了大量有益的启示。沙门氏菌 1,4, [5], 12:i:- 在进化过程中丢失和获得了一些重要基因, 因此从与

致病性和耐药性相关的角度揭示这些基因的功能和演变, 并在分子水平上阐明其代谢调控途径, 将成为沙门氏菌 1,4, [5], 12:i:- 致病和耐药机制研究的重要方向。另一方面, 寻找和发现新的检测靶点, 建立沙门氏菌 1,4, [5], 12:i:- 快速、准确的检测方法, 也将是今后重要的研究方向。

我们实验室近年来在全国范围内开展了食品中沙门氏菌污染调查和风险监测, 分离和鉴定了大量 STM 及其单相菌。目前为止, 采用传统血清法和 Tennant 的多重 PCR 方法鉴定了 10 株 4,5,12:i:- 菌株, 这些菌株分离自广州、北海、太原的牛肉样品, 污染调查以及对分离菌株耐药性和遗传特性分析工作还在继续进行, 以期明确我国沙门氏菌 1,4, [5], 12:i:- 的流行状况和菌株遗传多样性特点。

参考文献

- [1] Swaminathan B, Gerner-Smidt P, Barrett T. Focus on *Salmonella*. *Foodborne Pathogens and Disease*, 2006, 3: 154-156.
- [2] Guibourdenche M, Roggentin P, Mikoleit M, Fields PI, Bockemuhl J, Grimont PA, Weill FX. Supplement 2003-2007 (No. 47) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme. *Research in Microbiology*, 2009, 161: 26-29.
- [3] Centers for Disease Control and Prevention [CDC]. *Salmonella* annual summary tables 2009. 2009, available online at <http://www.cdc.gov/ncezid/dfwed/PDFs/SalmonellaAnnualSummaryTables2009.pdf>
- [4] European Food Safety Authority [EFSA]. The community summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from animals and food in the European Union in 2008. *EFSA Journal*, 2010, 8: 261.
- [5] European Food Safety Authority [EFSA]. Scientific opinion on monitoring and assessment of the public health risk of “*Salmonella* Typhimurium-like” strains. *EFSA Journal*, 2010, 8(10): 1826.
- [6] Boonmar S, Bangtrakulnonth A, Pornruangwong A, Samornsuk S, Kaneko K, Ogawa M. Significant increase in antibiotic resistance of *Salmonella* isolates from human beings and chicken meat in Thailand. *Veterinary Microbiology*, 1998, 62: 73-80.
- [7] Amavisit P, Boonyawiwat W, Bangtrakulnont A. Characterization of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium and monophasic *Salmonella* serovar 1,4, [5], 12:i:- isolates in Thailand. *Journal of Clinical*

Microbiology, 2005, 43: 2736-2740.

- [8] Pornruangwong S, Sriyapai T, Pulsrikarn C, Sawanpanyalert P, Boonmar S, Bangtrakulnonth A. The epidemiological relationship between *Salmonella enterica* serovar Typhimurium and *Salmonella enterica* serovar 4, [5],12:i:- isolates from humans and swine in Thailand. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 2008, 39 (2): 288-296.
- [9] Chiu CH, Su LH, Chu CH, Wang MH, Yeh CM, Weill FX, Chu C. Detection of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serovar Typhimurium phage types DT102, DT104 and U302 by multiplex PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 2006, 44: 2354-2358.
- [10] Lee DY, Lee E, Min JE, Kim SH, Oh HB, Park MS. Epidemic by *Salmonella* I 4, [5], 12: i:- and characteristics of isolates in Korea. *Infection and Chemotherapy*, 2011, 43 (2): 186-190.
- [11] Li B, Ke B, He D, Tan H, Wang C, Liang Z, Liu M, Chen J, Ke C. Antimicrobial resistance patterning and pulsed field gel electrophoresis (PFGE) typing for non-typhoidal *Salmonella* isolated from diarrhea cases in Guangdong province, China. *Chinese Journal of Microbiology and Immunology*, 2012, 32 (6): 542-548. (in Chinese)
李柏生, 柯碧霞, 何冬梅, 谭海玲, 王晨, 梁兆铭, 刘美真, 陈经雕, 柯昌文. 广东省腹泻病例非伤寒沙门菌耐药谱和 PFGE 分型研究. 中华微生物学和免疫学杂志, 2012, 32 (6): 542-548.
- [12] Echeita M, Aladueña A, Cruchaga S, Usera M. Emergence and spread of an atypical *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotype 4, 5, 12: i:- strain in Spain. *Journal of Clinical Microbiology*, 1999, 37: 3425.
- [13] de la Torre E, Zapata D, Tello M, Mejía W, Frías N, García Peña FJ, Mateu EM, Torre E. Several *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotype 4,5,12:i:- phage types isolates from swine samples originate from serotype Typhimurium DT U302. *Journal of Clinical Microbiology*, 2003, 41: 2395-2400.
- [14] Mossong J, Marques P, Ragimbeau C, Huberty-Krau P, Losch S, Meyer G, Moris G, Strottner C, Rabsch W, Schneider F. Outbreaks of monophasic *Salmonella enterica* serovar 4, [5], 12: i:- in Luxembourg, 2006. *Eurosurveillance*, 2007, 12 (6): 719.
- [15] Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments [AFSSA]. Opinion of the French Food Safety Agency Concerning two Draft Amendments to Orders for Controlling Salmonellae in the *Gallus gallus* Species. Maisons-Alfort: La Directrice Generale, 2009-SA-0182, 22.
- [16] Bone A, Noel H, Le Hello S, Pihier N, Danan C, Raguenaud ME, Salah S, Bellali H, Vaillant V, Weill FX, Jourdan-da Silva N. Nationwide outbreak of *Salmonella enterica* serotype 4, 12: i:- infections in France, linked to dried pork sausage, March-May 2010. *Eurosurveillance*, 2010, 15 (24): 19592.
- [17] Gossner CM, van Cauteren D, Le Hello S, Weill FX, Terrien E, Tessier S, Janin C, Brisabois A, Dusch V, Vaillant V, Jourdan-da Silva N. Nationwide outbreak of *Salmonella enterica* serotype 4, [5], 12: i:- infection associated with consumption of dried pork sausage, France, November to December 2011. *Eurosurveillance*, 2012, 17 (5): 20071.
- [18] Trupschuch S, Gomez JAL, Ediberidze I, Flieger A, Rabsch W. Characterisation of multidrug-resistant *Salmonella* Typhimurium 4, [5], 12: i:- DT193 strains carrying a novel genomic island adjacent to the thrW tRNA locus. *International Journal of Medical Microbiology*, 2010, 300 (5): 279-288.
- [19] Peters T, Hopkins KL, Lane C, Nair S, Wain J, de Pinna E. Emergence and characterization of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium phage type DT191a. *Journal of Clinical Microbiology*, 2010, 48 (9): 3375-3377.
- [20] Barco L, Ramon E, Cortini E, Longo A, Dalla Pozza MC, Lettini AA, Dionisi AM, Olsen JE, Ricci A. Molecular characterization of *Salmonella enterica* serovar 4, [5],12:i:- DT193 ASSuT strains from two outbreaks in Italy. *Foodborne Pathogens and Disease*, 2014, 11 (2): 138-144.
- [21] Gallati C, Stephan R, Hächler H, Malorny B, Schroeter A, Nüesch-Inderbinen M. Characterization of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar 4, [5], 12: i:- clones isolated from human and other sources in Switzerland between 2007 and 2011. *Foodborne Pathogens and Disease*, 2013, 10 (6): 549-554.
- [22] Centers for Disease Control and Prevention [CDC]. Investigation of outbreak of human infections caused by *Salmonella* serotype I 4, [5], 12:i:- 2007. Atlanta, GA: CDC, 2007.
- [23] Mulvey MR, Finley R, Allen V, Ang L, Bekal S, Bailey SEI, Haldane D, Hoang L, Horsman G, Louie Marie, Robberts L, Wylie J, McCracken M, Langner S, Ahmed R, Tabor H, Gilmour M. Emergence of multidrug-

- resistant *Salmonella enterica* serotype 4, [5], 12:i:- involving human cases in Canada: results from the Canadian Integrated Program on Antimicrobial Resistance Surveillance (CIPARS), 2003–10. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2013, 68 (9): 1982–1986.
- [24] Switt AI, Soyer Y, Warnick LD, Wiedmann M. Emergence, distribution, and molecular and phenotypic characteristics of *Salmonella enterica* serotype 4, 5, 12:i:-. *Foodborne Pathogens and Disease*, 2009, 6: 407–415.
- [25] Echeita MA, Herrera S, Usera MA. Atypical, *fljB*-negative *Salmonella enterica* subsp. *enterica* strain of serovar 4,5,12:i:- appears to be a monophasic variant of serovar Typhimurium. *Journal of Clinical Microbiology*, 2001, 39: 2981–2983.
- [26] Guerra B, Soto S, Argüelles J, Carmen Mendoza M. Multidrug resistance is mediated by large plasmid carrying a class 1 integron in the emerged *Salmonella enterica* Serotype [4, 5, 12:i:-]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2001, 45: 1305–1308.
- [27] García P, Guerra B, Bances M, Mendoza MC, Rodicio MR. IncA/C plasmids mediate antimicrobial resistance linked to virulence genes in the Spanish clone of the emerging *Salmonella enterica* serotype 4, [5], 12:i:-. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2011, 66 (3): 543–549.
- [28] García P, Hopkins KL, García V, Beutlich J, Mendoza MC, Threlfall J, Mevius D, Helmuth R, Rodicio MR, Guerra B. Diversity of plasmids encoding virulence and resistance functions in *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium monophasic variant 4, [5], 12:i:- strains circulating in Europe. *PLoS One*, 2014, 9 (2): e89635.
- [29] Hopkins KL, Kirchner M, Guerra B, Granier SA, Lucarelli C, Porrero MC, Jakubczak A, Threlfall EJ, Mevius DJ. Multiresistant *Salmonella enterica* serovar 4, [5], 12:i:- in Europe: a new pandemic strain? *Eurosurveillance*, 2010, 15 (22): 19580.
- [30] Lucarelli C, Dionisi AM, Torpdahl M, Villa L, Graziani C, Hopkins K, Threlfall J, Caprioli A, Luzzi I. Evidence for a second genomic island conferring multidrug resistance in a clonal group of *Salmonella* Typhimurium and its monophasic variant circulating in Italy, Denmark and United Kingdom. *Journal of Clinical Microbiology*, 2010, 48: 2103–2109.
- [31] Lucarelli C, Dionisi AM, Filetici E, Owczarek S, Luzzi I, Villa L. Nucleotide sequence of the chromosomal region conferring multidrug resistance (R-type ASSuT) in *Salmonella* Typhimurium and monophasic *Salmonella* Typhimurium strains. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2012, 67 (1): 111–114.
- [32] Centers for Disease Control and Prevention [CDC]. The emergence and antimicrobial resistance of *Salmonella* serotype I 4, [5], 12:i:- in the United States, 2006. Atlanta, GA: CDC, 2006.
- [33] Rodríguez I, Jahn S, Schroeter A, Malorny B, Helmuth R, Guerra B. Extended-spectrum β -lactamases in German isolates belonging to the emerging monophasic *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium 4, [5], 12:i:- European clone. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2012, 67 (2): 505–508.
- [34] Alcaine SD, Soyer Y, Warnick LD, Su WL, Sukhnand S, Richards J, Fortes ED, McDonough P, Root TP, Dumas NB, Grohn Y, Wiedmann M. Multilocus sequence typing supports the hypothesis that cow- and human-associated *Salmonella* isolates represent distinct and overlapping populations. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72: 7575–7585.
- [35] Soyer Y, Switt AM, Davis MA, Maurer J, McDonough PL, Schoonmaker-Bopp DJ, Dumas NB, Root T, Warnick LD, Grohn YT, Wiedmann M. *Salmonella enterica* serotype 4, 5, 12:i:-, an emerging *Salmonella* serotype that represents multiple distinct clones. *Journal of Clinical Microbiology*, 2009, 47 (11): 3546–3556.
- [36] Kurosawa A, Imamura T, Tanaka K, Tamamura Y, Uchida I, Kobayashi A, Hata E, Kanno T, Akiba M, Yukawa S, Tamura Y. Molecular typing of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium and serotype 4, 5, 12:i:- isolates from cattle by multiple-locus variable-number tandem-repeats analysis. *Veterinary Microbiology*, 2012, 160 (1–2): 264–268.
- [37] Garaizar J, Porwollik S, Echeita A, Rementeria A, Herrera S, Wong R, Frye J, Usera M, McClelland M. DNA microarray-based typing of an atypical monophasic *Salmonella enterica* serovar. *Journal of Clinical Microbiology*, 2002, 40: 2074–2078.
- [38] Laorden L, Herrera-León S, Martínez I, Sánchez A, Kromidas L, Bikandi J, Rementeria A, Echeita A, Garaizar J. Genetic evolution of the Spanish multidrug-resistant *Salmonella enterica* 4, 5, 12:i:- monophasic variant. *Journal of Clinical Microbiology*, 2010, 48: 4563–4566.

- [39] García P, Malorny B, Hauser E, Mendoza MC, Rodicio MR. Genetic Types, gene repertoire, and evolution of isolates of the *Salmonella enterica* serovar 4, 5, 12:i:-spanish clone assigned to different phage types. *Journal of Clinical Microbiology*. 2013, 51 (3): 973-978.
- [40] Zamperini K, Soni V, Waltman D, Sanchez S, Theriault EC, Bray J, Maurer JJ. Molecular characterization reveals *Salmonella enterica* serovar 4, [5],12:i:- from poultry is a variant Typhimurium serovar. *Avian Diseases*, 2007, 51: 958-964.
- [41] Tennant SM, Diallo S, Levy H, Livio S, Sow SO, Tapia M, Fields PI, Mikoleit M, Tamboura B, Kotloff KL, Nataro JP, Galen JE and Levine MM. Identification by PCR of non-typhoidal *Salmonella enterica* serovars associated with invasive infections among febrile patients in Mali. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2010, 4 (3), e621.
- [42] Barco L, Lettini AA, Ramon E, Longo A, Saccardin C, Pozza MC, Ricci A. A rapid and sensitive method to identify and differentiate *Salmonella enterica* serotype Typhimurium and *Salmonella enterica* serotype 4, [5],12:i:- by combining traditional serotyping and multiplex polymerase chain reaction. *Foodborne Pathogen and Disease*, 2011, 8: 741-743.
- [43] Prendergast DM, Hand D, Ni Ghallchóir E, McCabe E, Fanning S, Griffin M, Egan J, Gutierrez M. A multiplex real-time PCR assay for the identification and differentiation of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium and monophasic serovar 4, [5], 12:i:-. *International Journal of Food Microbiology*, 2013, 166 (1): 48-53.

Phenotypic and molecular characteristics of *Salmonella enterica* serotype 1,4, [5],12:i:- – A review

Xiaojuan Yang, Qingping Wu^{*}, Jumei Zhang, Weipeng Guo

Guangdong Institute of Microbiology, State Key Laboratory of Applied Microbiology Southern China, Guangdong Provincial Key Laboratory of Microbial Culture Collection and Application, Guangdong Open Laboratory of Applied Microbiology, Guangzhou 510070, Guangdong Province, China

Abstract: *Salmonella enterica* serotype 1,4, [5],12:i:- (*Salmonella* 1,4, [5],12:i:-), an emerging serotype antigenically related to *Salmonella* Typhimurium (1,4, [5],12:i:1,2) but lacking the second phase flagellar antigen, has been frequently detected in many countries over the last 10 years. Nowadays it seems to be one of the major serotypes responsible for human salmonellosis cases worldwide. In addition, multidrug resistance is quite common in *Salmonella* 1,4, [5],12:i:-, the two major clones (labelled as Spanish and European clones) show multidrug resistance to four or more unrelated classes of antimicrobials mediated by plasmids or chromosome. Some resistance determinants including *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M}, *aac*(3)-IV, *aadA2*, *cmlA1*, *sul1*, *sul2*, *dfrA12*, *strA-strB*, *tet*(A) and *tet*(B) have been found in these multidrug resistance strains. The genomic characterization of 1,4, [5],12:i:-isolates suggests that this serovar is likely to gather several clones or strains that have independently emerged from *S. Typhimurium*, and have changed through multiple independent events involving different clonal groups. In later study, emphasis should be paid on development of rapid and precise detection methods and study of pathogenic and resistance mechanisms of *Salmonella* 1,4, [5],12:i:-.

Keywords: *Salmonella* 1,4, [5],12:i:-, *Salmonella* Typhimurium

(本文责编: 张晓丽)

Supported by the International Science and Technology Cooperation Projects of National (2013DFH30070) and by the Science and Technology Projects of Guangzhou (2010U1-E00611)

^{*} Corresponding author. Tel/Fax: +86-20-87688132; E-mail: wuqp203@163.com

Received: 12 February 2014/Revised: 6 May 2014