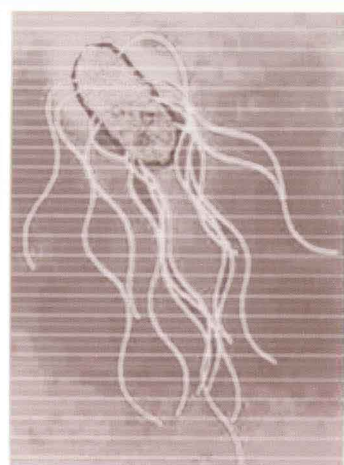
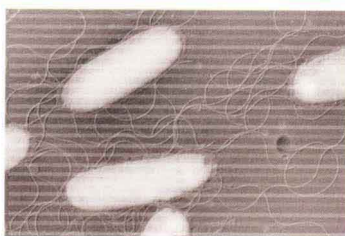
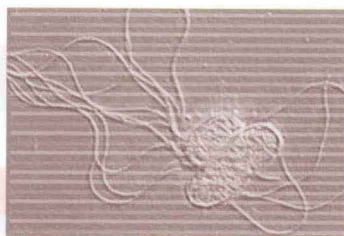


肠道沙门氏菌 分子检测与分子分型

曹际娟 主编



中国质检出版社
中国标准出版社

肠道沙门氏菌 分子检测与分子分型

曹际娟 主 编

中国质检出版社
中国标准出版社

北 京

图书在版编目 (CIP) 数据

肠道沙门氏菌分子检测与分子分型/曹际娟主编.

—北京:中国标准出版社, 2013. 7

ISBN 978-7-5066-7154-5

I. ①肠… II. ①曹… III. ①病原细菌—沙门氏杆菌属 x 分子生物学—检测②病原细菌—沙门氏杆菌属—分子生物学—生物分型 IV. ①R378. 2

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2013) 第 079596 号

中国质检出版社
中国标准出版社 出版发行

北京市朝阳区和平里西街甲 2 号 (100013)
北京市西城区复外三里河北街 16 号 (100045)

网址: www.spc.net.cn

电话: (010) 64275360 68523946

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

各地新华书店经销

*

开本 787×1092 1/16 印张 13.25 字数 292 千字

2013 年 7 月第一版 2013 年 7 月第一次印刷

*

定价 49.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换

版权专有 侵权必究

举报电话: (010) 68510107

编委会名单

主 编 曹际娟

副主编 许龙岩 郑秋月 徐君怡 荣 策

编 委 (按拼音排序)

曹冬梅	简中友	姜 丽	贾俊涛
刘 冉	刘 宇	刘 洋	卢熠川
雷质文	马惠蕊	那 晗	齐震玉
宋慧君	史媛媛	田 卓	汤慕瑾
王 刚	王金玲	王秋艳	徐 杨
袁慕云	于 灵	赵 昕	张丕桥

序

沙门氏菌是一种常见的食源性致病菌。自 1885 年美国病理学家 Daniel Elmer Salmon 首次分离至今，人类对其研究已有百余年之久。在此百载之间，沙门氏菌曾给人类社会带来了无法磨灭的灾难。据美国疾病预防控制中心 2011 年的统计数据显示：在该国每年沙门氏菌感染患者超过 100 万人，几乎 400 起死亡病例都与沙门氏菌感染有关。最近一次的沙门氏菌疫情爆发于 2012 年 7 月的欧洲，系 *Salmonella* Thompson 污染所致。据统计，超过 1060 起沙门氏菌感染病例均源于此次疫情，最终造成 4 人死亡。沙门氏菌由两个种组成，即肠道沙门氏菌与邦戈尔沙门氏菌。前者的血清型种类极为丰富，涵盖了 2600 余种血清型，其中包含了诸如肠炎沙门氏菌、鼠伤寒沙门氏菌、伤寒沙门氏菌、副伤寒沙门氏菌等几种传播途径广泛、侵染宿主繁多、感染症状严重的强致病性血清型。本书针对肠道沙门氏菌这个种进行细致地阐述。

目前，肠道沙门氏菌的检测主要采用传统的生化培养法，而血清型的划分则是根据血清学的凝集试验。传统的检测方法与分型手段历经了无以计数的验证与考量，在检测结果的准确性上显然毋庸置疑，但检测周期过长一直是传统方法难以克服的症结之处。分子生物学检验技术的高速发展给予了检验检疫事业丰足的福祉。作为一种新兴的检验手段，其一方面继承了传统方法准确无误的优点，同时又承载了其与生俱来的高效率、高灵敏的特点，业已成为检验检疫技术发展的方向。本书一方面详尽地介绍了国际上先进的病原菌分子检测与分子分型的技术原理，在此基础上，又以肠道沙门氏菌的几种强致病性血清型作为实例，阐明了不同检测技术的具体应用，力求在理论及实践的两个层面上尝试剖析国际主流的分子生物学检验检疫技术。

本书共分 6 章，分别由辽宁出入境检验检疫局、广东出入境检验检疫局、深圳出入境检验检疫局的几十位长期从事食品微生物检验检疫的一线技术人员编纂而成。第 1 章主要概述了沙门氏菌属的分类、命名、特征、流行病学及传

统的生化鉴定方法，由曹际娟、荣策、雷质文编写。第2章简介了病原菌分子检测的几种核心技术，其中包括普通PCR、荧光PCR、焦磷酸测序、飞行质谱、高效液相色谱等，由郑秋月、徐君怡、荣策撰文。第3章以肠道沙门氏菌的几种强致病性血清型为例，阐明了病原菌分子检测技术的具体应用，由许龙岩、袁慕云、荣策、汤慕瑾等执笔。第4章综述了病原菌分子分型的几种核心技术，其中包括DiversiLab系统、PFGE的聚类分析、PFGE的非计量多维尺度分析，由许龙岩、袁慕云、卢熠川、贾俊涛等撰写。第5章举例说明了几种核心分子分型技术在肠道沙门氏菌分型分析中的应用，由许龙岩、袁慕云等撰述。第6章主要摘录了诸如金黄色葡萄球菌、肠出血性大肠杆菌、单增李斯特菌等几种常见致病菌的分子检测方法，由徐杨撰稿。曹际娟负责本书内容的统筹以及语言的润色。

感谢所有参编人员为本书做出的贡献！

限于编者才疏学浅，通篇难免纰漏之处，恳请读者指摘斧正！

曹际娟

2013年5月

目 录

第 1 章 绪 论	1
1.1 沙门氏菌的分类与命名	1
1.2 沙门氏菌的特征	5
1.3 沙门氏菌病及发病机理	9
1.4 肠道沙门氏菌培养与生化鉴定方法	12
本章参考文献	31
第 2 章 病原菌分子生物学检测技术基本原理	34
2.1 PCR 检测技术	34
2.2 实时荧光定量 PCR 检测技术	40
2.3 焦磷酸测序检测技术	45
2.4 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱检测技术	49
2.5 PCR 结合变性高效液相色谱检测技术	53
2.6 其他分子生物学检测技术	60
本章参考文献	66
第 3 章 肠道沙门氏菌分子检测技术的应用	68
3.1 实时荧光 PCR 检测肠道沙门氏菌	68
3.2 三色荧光实时多重 PCR 检测肠道沙门氏菌	105
3.3 焦磷酸测序检测肠道沙门氏菌、肠炎沙门氏菌和鼠伤寒沙门氏菌	134
3.4 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱检测肠道沙门氏菌	143
3.5 PCR 结合变性高效液相色谱检测肠道沙门氏菌	146
本章参考文献	152
第 4 章 病原菌分子分型技术基本原理	158
4.1 DiversiLab 系统分子分型技术	158
4.2 脉冲场凝胶电泳图谱的聚类分析技术	162
4.3 脉冲场凝胶电泳图谱的非计量多维尺度分析技术	168
本章参考文献	169
第 5 章 分子分型技术在肠道沙门氏菌分型分析中的应用	171
5.1 沙门氏菌 DiversiLab 系统分子分型方法	171

5.2 沙门氏菌脉冲场凝胶电泳图谱聚类分析分子分型方法	176
5.3 沙门氏菌脉冲场凝胶电泳图谱结合非计量多维尺度分析分子分型方法	181
本章参考文献	186
第 6 章 食品中病原菌分子检测方法	188
6.1 实时荧光 PCR 法	188
6.2 基质辅助激光解吸附电离飞行时间质谱法	191
6.3 PCR 结合变性高效液相色谱法	194
本章参考文献	201

1.1.1.3 根据抗原结构进行分类

1926年, Phillip Bruce White 出版了“Further studies of the *Salmonella* group”一书, 开启了沙门氏菌抗原结构的深入研究。

1944年, Earle K. Borman 提出了这样一个分类建议。Borman 将沙门氏菌属划分为3个种, 分别是“*Salmonella* Choleraesuis” “*Salmonella* Typhosa” “*Salmonella* Kauffmannii”。这种分类原则一方面结合了抗原特征, 另一方面又结合了菌种的生理生化特征。例如“*Salmonella* Choleraesuis”的定义为: “O抗原为Ⅶ, H抗原为c或5或两者均有, 不发酵树胶醛糖的沙门氏菌。”根据这种定义, 前两个种仅能代表这两个血清型的沙门氏菌本身, 而“*Salmonella* Kauffmannii”代表的是除前两个血清型以外所有的沙门氏菌。

1963年, W. H. Ewing 借鉴多方观点, 建议将沙门氏菌属划分为3个种, 即“*Salmonella* Choleraesuis” “*Salmonella* Typhi” “*Salmonella* Enteritidis”。前两者因其在公共健康领域的重要地位而作为种名, 无可厚非。至于第三个种的种名, Ewing 认为应该采用除前两者以外最早命名的沙门氏菌血清型的名称, 即 Gaertner 在1888年命名的 *Salmonella* Enteritidis。

1966年, Fritz Kauffmann 基于沙门氏菌的抗原理论, 提出了较为完善的抗原分类表, 即考夫曼怀特抗原分类表 (Kauffman and White classification scheme)。此分类表根据不同沙门氏菌的O抗原与H抗原的差别, 将沙门氏菌描述成各种血清型。Kauffmann 给“种”下了这样一个定义“A species is a group of related serofermentative phage-types”, 即“一个物种就是一类具有相关的血清发酵噬菌体型的群体”, 并同时认为“一个血清型即为沙门氏菌的一个种, 并应采用斜体来书写菌名”。在我们今天看来, Kauffmann 的分类原则将会使得沙门氏菌属拥有2610个种, 这显然不符合微生物分类学的要求。但其沙门氏菌血清型划分原则是值得肯定的, 才使得考夫曼怀特抗原分类表沿用至今。

1.1.1.4 根据遗传学特征进行分类

20世纪70年代后, 随着核苷酸序列分析技术的迅猛发展, 许多沙门氏菌血清型的全基因组序列被人们所获得。因此, 采用遗传学特征作为分类指证的方法被广泛接受, 这也使得沙门氏菌的分类及命名系统更富有科学性。

1973年, Crosa 通过DNA与DNA杂交试验证明所有血清型的沙门氏菌在种的水平上具有相关性。后来的研究表明, 沙门氏菌的所有血清型菌株形成了1个DNA杂交群及7个“亚群”(“亚群”实际上就是今天沙门氏菌属的“亚种”), 其中“亚群5” *Salmonella bongori* 稍有例外, 其杂交特征有异于其余6个“亚群”。这样一来, “亚群5” *Salmonella bongori* 被单独划分为一“组”(“组”实际上就是今天沙门氏菌属的“种”), 其余6个“亚群”被划分成另一“组”, 这一划分观点被当时学术界普遍赞同。

此后, 学术界展开了关于这两“组”沙门氏菌代表名称的讨论。由于 *Salmonella bongori* 在提出以前并不表示某一血清型, 因此 *Salmonella bongori* 顺理成章地作为其中一“组”的名称。而使用什么名称来命名另一“组”成为了一个棘手的难题。自 *Salmonella* Choleraesuis 出现在细菌名称表上以来, 就一直享有着命名的优先权, 因此将其作为另一

“组”的名称，并作为其模式菌种。但这样一来，就使得 *Salmonella Choleraesuis* 即代表一个种，又代表一个血清型。此外，由于 *Salmonella Choleraesuis* 的生化特性（不发酵阿拉伯糖和海藻糖）有异于大多数沙门氏菌。因此另一“组”的名称一直悬而未决。

1986 年，系统细菌学国际委员会肠杆菌科委员在第 14 界国际微生物会议上，建议将另一“组”的名称定为 *Salmonella enterica*，并作为其模式菌种。此名称是由 Kauffmann 和 Edwards 在 1952 年提出来的，并且从未用于血清型的命名。此命名系统方法收录在 Ewing 1986 年出版的“*The 4th edition of Edward’s and Ewing’s Identification of Enterobacteriaceae*”（《第四版爱德华-埃文肠杆菌科鉴定》）一书中。

1987 年，WHO 的代表 Le Minor 和 Popoff 向 Judicial Commission of the International Committee of Systematic Bacteriology（系统细菌学国际委员会的裁决委员会）正式地提出了名为“Request for an Opinion”的请求意见。这个请求首先被美国等一些国家广泛接受。

不过，裁决委员会最终没有采纳这个建议。裁决委员会认为，若采纳这项建议，*Salmonella Typhi* 及 *Salmonella Choleraesuis* 的地位就会严重下降，这将使人们忽视其危害的重要性。裁决委员会最终认定 *Salmonella Choleraesuis* 仍然作为公认的模式菌种，并等待新方案的出现。

此后，Euzebay（1999 年）、Ezaki（2000 年）及 Kawamura（2000 年）等仍向裁决委员会提出各种修改版“请求意见”。最终，裁决委员会在 2005 年接受了 Le Minor 和 Popoff 在 1987 年提出的建议，即决定采用 *Salmonella enterica* 作为沙门氏菌属的模式菌种。至此，现行的沙门氏菌分类及命名原则已经基本形成。

1.1.2 现行的沙门氏菌属分类及命名原则

根据国际公认的分类及命名原则，沙门氏菌属由两个种组成，即 *Salmonella enterica*（肠道沙门氏菌种）与 *Salmonella bongori*（邦戈尔沙门氏菌种）。其中，*Salmonella enterica* 包含 6 个亚种，分别是 *S. enterica* subsp. *enterica*（肠道沙门氏菌亚种）、*S. enterica* subsp. *salamae*（萨拉曼沙门氏菌亚种）、*S. enterica* subsp. *arizonae*（亚利桑那沙门氏菌亚种）、*S. enterica* subsp. *diarizonae*（双相亚利桑那沙门氏菌亚种）、*S. enterica* subsp. *houtenae*（豪顿沙门氏菌亚种）以及 *S. enterica* subsp. *indica*（因迪卡沙门氏菌亚种）。其中绝大部分血清型属于 *Salmonella enterica*，只有罕见的几十种血清型属于 *Salmonella bongori*（见表 1-1）。此外，不同种及亚种的沙门氏菌的生化特性存有差异（见表 1-2）。

表 1-1 沙门氏菌种及亚种血清型统计表

沙门氏菌属的种及亚种	血清型种类	占总数百分比	常见栖息环境 *
<i>Salmonella enterica</i>			
subsp. <i>enterica</i> (I)	1547	59.27%	恒温动物
subsp. <i>salamae</i> (II)	531	20.34%	冷血动物及环境

续表 1-1

沙门氏菌属的种及亚种	血清型种类	占总数百分比	常见栖息环境 *
subsp. <i>arizonae</i> (IIIa)	100	3.83%	冷血动物及环境
subsp. <i>diarizonae</i> (IIIb)	341	13.07%	冷血动物及环境
subsp. <i>houtenae</i> (IV)	73	2.80%	冷血动物及环境
subsp. <i>indica</i> (VI)	13	0.50%	冷血动物及环境
<i>Salmonella bongori</i> (V)	23	0.88%	冷血动物及环境
总计	2610		
* 所有菌株均能感染人类。			

表 1-2 沙门氏菌种及亚种之间生化特征的比较

种	<i>Salmonella enterica</i>						<i>Salmonella bongori</i>
亚种	<i>enterica</i> (I)	<i>salamae</i> (II)	<i>arizonae</i> (IIIa)	<i>diarizonae</i> (IIIb)	<i>houtenae</i> (IV)	<i>indica</i> (VI)	<i>bongori</i> (V)
生化反应							
半乳糖醇	+	+	—	—	—	D	+
ONPG (2 h)	—	—	+	+	—	D	+
丙二酸盐	—	+	+	+	—	—	—
白明胶酶	—	+	+	+	+	+	—
山梨醇	+	+	+	+	+	—	+
KCN	—	—	—	—	+	—	+
D-酒石酸盐	+	—	—	—	—	—	—
半乳糖醛酸酯	—	+	—	+	+	+	+
β 葡萄糖苷酸酶	D	D	—	+	—	D	—
黏酸盐	+	+	+	— (70%)	—	+	+
水杨苷	—	—	—	—	+	—	—
乳糖	—	—	— (75%)	— (75%)	—	D	—
注：+：有超过 90% 的菌株呈阳性； —：有超过 90% 的菌株呈阴性； D：不同血清型的沙门氏菌反应结果不同。							

属于 *S. enterica* subsp. *enterica* 的沙门氏菌血清型通常采用分离地的罗马字母名称来命名，例如 *Salmonella* Lsrael (以色列沙门氏菌)。血清型的书写方式为“正体且首字母大写”，例如 *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotype Typhimurium (鼠伤寒沙门氏

菌)。为了方便起见，通常可以简写成 *Salmonella* serotype Typhimurium、*Salmonella* ser. Typhimurium 或直接简写成 *Salmonella* Typhimurium、*S.* Typhimurium。

不属于 *S. enterica* subsp. *enterica* 的沙门氏菌血清型通常没有罗马字母名称。血清型的书写方式为抗原公式，即“O 抗原：H 抗原第 1 相：H 抗原第 2 相”，例如 *S. enterica* subsp. *salamae* serovar 48 : z₈₁ : 1, 5, 7。此外，若某血清型的沙门氏菌在 1966 年以前已经拥有罗马字母的血清型名称，则得以保留。

沙门氏菌血清型的抗原公式采用的是 Kauffman and White classification scheme，又名 White-Kauffmann-Le Minor scheme。此抗原表由 WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*（位于巴黎的巴斯德协会）负责更新。现行版本为 2007 年发行的第九版，启用日期为 2007 年 1 月 1 日。此外，巴斯德协会也同样负责沙门氏菌新血清型的发布工作，最近一次更新于 2010 年，并发表在“Research in Microbiology”杂志上。

1.2 沙门氏菌的特征

沙门氏菌是一种常见的食源性致病菌。自 1885 年美国病理学家 Daniel Elmer Salmon 首次分离沙门氏菌至今，人类对其研究已有百余年之久。对于沙门氏菌进行深入的科学研究首先要建立在一个完善的分类学系统上。沙门氏菌分类学，即按照不同类型沙门氏菌的亲缘关系把它们安排成条理清楚的各种分类单元，其研究内容包括鉴定、分类及命名。沙门氏菌的鉴定指的是确定一个新的分离菌株是否归属于已命名的分类单元的过程。沙门氏菌鉴定的传统方法主要是根据形态学特征、培养特征、生理生化特征、抗原特征、噬菌体特征等。因此，了解上述特征对于沙门氏菌属的研究至关重要。

1.2.1 形态学特征

沙门氏菌隶属肠杆菌科沙门氏菌属，是一类常见的无芽孢革兰氏阴性菌。菌体呈直杆状（见图 1-1），直径在 $0.7\sim 1.5\mu\text{m}$ 之间，长度在 $2.0\sim 5.0\mu\text{m}$ 之间。仅少数沙门氏菌细胞壁表面包有荚膜，例如 *Salmonella* Typhi 的荚膜作为一种特殊的毒力因子，其仅感染人类而非动物。除 *Salmonella* Pullorum（鸡白痢沙门氏菌）、*Salmonella* Gallinarum（鸡沙门氏菌）以外，其余沙门氏菌表面均周生鞭毛并具有运动能力。同时，绝大多数沙门氏菌生长菌毛，能够对宿主细胞进行吸附。

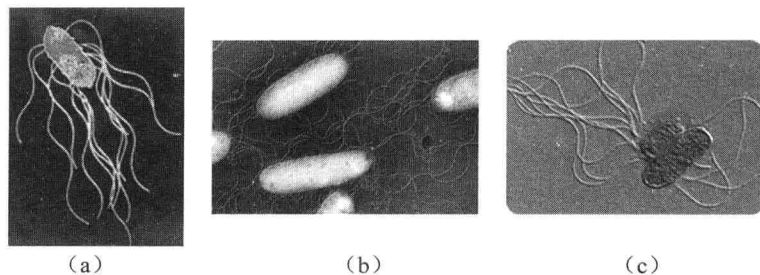


图 1-1 沙门氏菌显微结构图

1.2.2 培养特征

沙门氏菌在普通琼脂培养基上生长良好, $(36 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ 培养 18~24h 后, 能形成圆形、湿润、无色、表面光滑、边缘整齐、半透明或不透明的菌落。随着培养时间的增加, 菌落表面粗糙、边缘不整。在液体培养基中, 沙门氏菌呈均匀浑浊生长。

在 HE 琼脂培养基上 (hektoen enteric agar), $(36 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ 培养 18~24h 后, 菌落为蓝绿色或蓝色。多数菌落中心黑色或几乎全黑色。有些菌株为黄色, 中心黑色或几乎全黑色。

在 XLD 琼脂培养基上 (xylose, lysine, deoxycholate agar), $(36 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ 培养 18~24h 后, 菌落呈粉红色, 可能带有黑色中心。有些菌株可呈现大的带光泽的黑色中心, 或呈现全部黑色的菌落。有些菌株为黄色菌落, 可能带有黑色中心。

在 BS 琼脂培养基上 (bismuth sulfite agar), $(36 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ 培养 40~48h 后, 菌落为黑色有金属光泽、棕褐色或灰色。菌落周围培养基可呈黑色或棕色。有些菌株形成灰绿色的菌落, 周围培养基不变。

1.2.3 生理生化特征

沙门氏菌为需氧兼性厌氧菌, 在 $10 \sim 43^{\circ}\text{C}$ 均能生长, 在 $35 \sim 43^{\circ}\text{C}$ 、pH 6.8~7.8、低盐、高水活度条件下最宜生长。沙门氏菌在普通水中不易生长, 但也可以存活 2~3 周; 在冰水、粪便中可生存 1~2 个月; 在低食盐含量的腌肉中可存活 2~3 个月; 在乳制品及肉类制品中可生存数月。

目前, 灭活沙门氏菌常用的方法有冷藏、紫外线处理及热处理。虽然超低温冷藏 (-75°C) 与低温冷藏 (-20°C) 可以破坏菌体代谢机制, 但对于细胞的损伤却是微乎其微。紫外线对于食品的色泽与口感影响甚微, 但其仅能抑制食品表面沙门氏菌的生长。热处理是消灭沙门氏菌最常用的方法。试验表明, 在 55°C 加热 90min 或 60°C 加热 12min 均可使菌体消亡。据美国农业部建议, 75°C 加热至少 10min 能有效降低沙门氏菌对食品污染的概率。

由于沙门氏菌的血清型种类繁多, 因此生化反应也较为复杂, 其一般的生化特征为: 发酵葡萄糖、麦芽糖、甘露醇和山梨醇产气 (除 *Salmonella Pullorum*、*Salmonella Gallinarum*), 不发酵乳糖、蔗糖和侧金盏花醇, 不产生吡嗪, VP 试验呈阴性, 不分解尿素, 对苯丙氨酸不脱氨, 多数菌株能产生硫化氢。

1.2.4 抗原特征

沙门氏菌具有复杂的抗原结构。据世界卫生组织 2007 年的统计数据, 目前全世界范围内已经发现 2610 个血清型的沙门氏菌, 在我国也已经检出 292 个血清型 (2006 年统计)。沙门氏菌具有 4 种抗原, 分别是菌体抗原 (O antigen)、鞭毛抗原 (H antigen)、荚膜抗原 (K antigen) 及纤毛抗原。O 抗原和 H 抗原是沙门氏菌的主要抗原, 也是血清型鉴别的物质基础, 其中 O 抗原是每个菌株均有的成分 (见图 1-2)。

1.2 沙门氏菌的特征

O 抗原全称为 Ohne Hauch antigen，其中“ Ohne”“Hauch”系德语，前者译为“没有”，后者译为“鞭毛”。 Ohne Hauch antigen 的本意可理解为除鞭毛部分以外的抗原，即

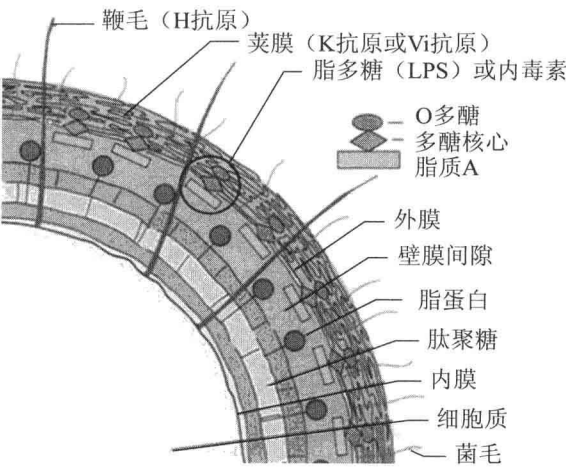


图 1-2 沙门氏菌抗原结构图

母配合数字来表示。根据这一原则可将所有沙门氏菌划分为 46 个 O 群（见表 1-3）。

所谓的菌体抗原。O 抗原存在于细胞壁表面，化学本质为脂多糖（LPS），其特异性由 LPS 的多糖链中单糖单位排列顺序决定。由于任何沙门氏菌都具有一种或多种不同的 O 抗原，同时，O 抗原的热稳定性很强，100℃加热 2.5h 或 121℃加热 2h 均无法破坏其抗原性。因此，采用 O 抗原作为沙门氏菌血清分型的物质基础，其凝集反应呈颗粒状。目前已应用的沙门氏菌 O 抗原共有 67 种，分别以阿拉伯数字 1、2、3……67 表示。为便于分型，将具有共同 O 抗原的各个血清型的沙门氏菌归入一群，以大写英文字母

表 1-3 沙门氏菌的 O 群及相关的 O 抗原

O 群 (以数字来命名)	O 群 (以字母来命名)	各种血清型存在的抗原	某些血清型中可能存在的抗原	O 群 (以数字来命名)	O 群 (以字母来命名)	各种血清型存在的抗原	某些血清型中可能存在的抗原
2	A	2, 12	1	17	J	17	无
4	B	4, 12	1; 5; 27	18	K	18	6; 14
7	C ₁	6, 7	14; (Vi)	21	L	21	无
8	C ₂	8	6; 20	28	M	28	无
9	D ₁	9, 12	1; (Vi)	30	N	30	无
9, 46	D ₂	9, 46	无	35	O	35	无
9, 46, 27	D ₃	9, 12, 46, 27	1	38	P	38	无
3, 10	E ₁	3, 10	15; 15, 34	39	Q	39	无
1, 3, 19	E ₄	1, 3, 19	10; 15	40	R	40	1
11	F	11	无	41	S	41	无
13	G	13	1; 22; 23	42	T	42	1
6, 14	H	6, 14	1; 24; 25	43	U	43	无
16	I	16	无	44	V	44	1

续

O 群 (以数字来命名)	O 群 (以字母来命名)	各种血清型 存在的抗原	某些血清型 中可能存在的抗原	O 群 (以数字来命名)	O 群 (以字母来命名)	各种血清型 存在的抗原	某些血清型 中可能存在的抗原
45	W	45	无	57		57	无
47	X	47	1	58		58	无
48	Y	48	无	59		59	1
50	Z	50	无	60		60	无
51		51	1	61		61	无
52		52	无	62		62	无
53		53	1	63		63	无
54 (暂定)		54	21; 3; 3, 15; 4, 12; 8, 20; 6, 7	65		65	无
55		55	无	66		66	无
56		56	无	67		67	无

H 抗原 (Hauch antigen) 指的是菌体鞭毛的纤毛部分, 由鞭毛蛋白亚基构成, 其凝集反应呈松散的絮状。H 抗原的热稳定性不高, 乙醇及碱处理易变性。鞭毛蛋白的 C' 末端和 N' 末端均为保守末端, 其赋予鞭毛纤维状的结构。鞭毛蛋白肽链的中间区域为抗原可变区, 暴露在鞭毛的表面。沙门氏菌属是肠杆菌科中唯一一类具有两相 H 抗原的微生物, 即 H 抗原的第 1 相及第 2 相。第 1 相称为特异相, 采用小写字母 a、b、c……z、z₁、z₂、z₃……z₈₈ 表示, 常为一部分血清型菌株所具有。第 2 相称为非特异相, 采用阿拉伯数字 1、2……7 表示, 常为许多沙门氏菌所共有。绝大多数菌株具有两相, 称为双相菌。仅有一相者称之为单相菌, 例如 *Salmonella* Enteritidis (肠炎沙门氏菌)。极少数血清型因为其本身不存在鞭毛而无任何一相, 称为无相菌, 例如 *Salmonella* Pullorum。尽管沙门氏菌 H 抗原具有双相变异的特点, 但通常情况下, 在同一时间同一菌株仅表达两相中的一相。隶属相同 O 群的沙门氏菌又可根据它们的 H 抗原的差异再细分成若干不同的血清型, 这正是沙门氏菌血清型的划分原则。

K 抗原全称系德语 “Kapsel antigen”, 译为“荚膜抗原”, 其中 “Kapsel” 等同于英语 “capsule”。由于 K 抗原常与菌株毒力有关, 故也称之为 Vi 抗原 (Virulence antigen)。K 抗原存在于细菌细胞壁外表面, 由聚-N-乙酰-D-半乳糖胺糖醛酸组成, 稳定性较差, 经传代培养、热处理或石炭酸处理后易消失。*Salmonella* Typhi、*Salmonella* paratyphi C (丙型副伤寒沙门氏菌) 等表面常包有 K 抗原, 可阻止 O 抗原与其相应抗体发生凝集反应。若菌株经过 100℃ 热处理, 方能暴露细菌表面的 O 抗原并恢复其抗原特性。

纤毛抗原，又称菌毛抗原（fimbrial antigen），化学本质为蛋白质。菌毛是大多数沙门氏菌表面生长的毛发状细胞器，用于附着宿主细胞或其他细菌细胞。目前，已经有基于菌毛抗体快速检测 *Salmonella* Enteritidis 的技术得以应用。

1.2.5 噬菌体特征

噬菌体是一种能够侵染细菌、真菌、放线菌等微生物的细菌病毒。沙门氏菌表面具有噬菌体特异性受体，使得噬菌体的侵染具有高度特异性。通常一种噬菌体只能侵染沙门氏菌的某种血清型，甚至是同一血清型的特定菌株。因此，噬菌体分型可对血清型进行更细化的分类，即可区分同血清型的不同菌株，在病原菌溯源分析中起到了重要的作用。此外，不同噬菌体型的沙门氏菌对于人类危害的程度也有一定的差异。例如具有多重耐药性的 *Salmonella* Typhimurium phagetype 104（鼠伤寒沙门氏菌噬菌体型 104）就是一种侵害能力极强的噬菌体型，因而得到全世界广泛的关注。

1.3 沙门氏菌病及发病机理

沙门氏菌病，即由不同血清型沙门氏菌感染各种动物而引起的多种疾病的总称，主要症状表现为肠炎、败血症、伤寒、副伤寒等。此疾病遍布于世界各地，是一种重要的人畜共患疾病。据 CDC（Centers for Disease Control and Prevention USA，美国疾病预防控制中心）2011 年的统计数据显示：在该国每年沙门氏菌感染患者超过 100 万，其中 2 万余人接受医院治疗，几乎 400 起死亡病例都与沙门氏菌感染有关。最近一次沙门氏菌疫情爆发于 2012 年 7 月的欧洲，系 *Salmonella* Thompson（汤卜逊沙门氏菌）污染所致。由于荷兰 Foppen 食品公司生产的熏三文鱼受到沙门氏菌的污染，致使荷兰数百人染病。据统计，超过 1060 起沙门氏菌感染病例均源于此次疫情，最终造成 4 人死亡。此外，由于抗菌类药物广泛的使用，致使沙门氏菌的耐药性日益增强、发病率逐渐上升，因而备受全世界的广泛关注。

1.3.1 流行病学

病原体为各血清型的沙门氏菌，其中常见的非宿主适应血清型有 20 余种，宿主适应血清型有 10 余种。任何年龄段的人均能感染，但以婴儿老人居多。动物感染同样无年龄界限，但幼年禽畜及较成年者易感染。人类感染此病通常是由于与感染或带菌的动物、人及受污染的食品接触。而病畜则可通过乳汁、尿液、粪便、流产胎儿、胎衣及羊水排出病原体，污染水源及饲料来传染此病。此外，动物的传染途径还包括交配、人工授精、子宫内感染等。此病四季可见，但以夏秋季居多（人类感染）。

截至 2006 年的统计，在我国境内已检出了 292 种血清型的沙门氏菌。其主要分布于动物及食品中：人体检出 172 种，动物检出 146 种，食品检出 182 种，猪及猪肉检出 70

种,蛋类及其制品检出43种,禽类及其制品检出38种。除此以外,水的污染、食品污染、饲料污染、人及动物携带是沙门氏菌传播的重要途径。

2010年,上海市浦东新区计量质量检测所对5类840份食品沙门氏菌的污染状况、菌型分布进行分析。结果表明,沙门氏菌阳性检出率为4.29%(共36株),生禽畜肉所占比例高达91%,主要血清型为 *Salmonella* Typhimurium、*Salmonella* Derby 和 *Salmonella* Dublin。2006年至2011年,郑州市疾病预防控制中心对腹泻病监测点感染性腹泻病例的粪便标本进行沙门氏菌分离培养、血清学分型。在采集的3266份腹泻病人的标本中,共检出196株沙门氏菌,检出率为6.0%,分布于10个血清群,37个血清型。其中,血清型以 *Salmonella* Enteritidis 和 *Salmonella* Typhimurium 为主,各占29.59%和19.90%。2007年至2011年,宁夏回族自治区疾病预防控制中心对宁夏地区沙门氏菌分布特征进行分析。结果表明,宁夏地区5个城市检出的56株沙门氏菌中共有14个血清型,最常见的血清型为 *Salmonella* Enteritidis。2007年至2011年,福建省疾病预防控制中心开展了福州市饮食、公共场所从业人员沙门氏菌携带情况的调查。结果表明,71250名从业人员中检出沙门氏菌329株,检出率0.46%。其中B群为首位,占49.3%,其次为E1群,占24.32%,E2群最少,占0.6%。2012年,中国兽医药品监察所开展了北京地区健康肉鸡中沙门氏菌的携带情况调查。在该地区28个肉鸡养殖场的1310份样品中,总共分离出沙门氏菌54株。其中, *Salmonella* Enteritidis 和 *Salmonella* Javiana (爪哇安纳沙门氏菌)为两种优势血清型,所占比例分别为31.5%和25.9%。

1.3.2 发病机制

沙门氏菌对人及动物的致病力与一些毒力因子有关。已知的毒力因子有毒力质粒、内毒素及肠毒素等。

1.3.2.1 毒力质粒

正常情况下,大肠黏膜层固有的梭形细菌可产生挥发性有机酸来抑制沙门氏菌的生长。此外,肠道内的正常菌群可刺激肠道蠕动,也不利于沙门氏菌的附着。当不良因素致使肠道正常菌群失调时,沙门氏菌容易迁居于小肠下端和结肠。病菌迁居于肠道后,从回肠和结肠的绒毛顶端,经刷状缘进入上皮细胞,并在其中繁殖,感染邻近细胞或进入固有层,继续繁殖,被吞噬而进入局部淋巴结。机体受病菌侵害,刺激前列腺素分泌,从而激活腺苷酸环化酶,使血管内的水分、 HCO_3^- 和 Cl^- 向肠道外渗而引起急性回肠炎和结肠炎。此种毒力质粒可增强细菌对寄主肠黏膜上皮细胞的黏附与侵袭作用,提高细菌在网状内皮系统中存活和增殖的能力,并且与细菌的毒力呈正相关。

1.3.2.2 内毒素

脂多糖中的脂质A部分是另一种毒力因子,可引发沙门氏菌性败血症。具体症状为:发热,黏膜出血,白细胞减少,血小板减少,肝糖消耗,血糖降低,重者会因休克而死亡。