

不同时期分离的鼠伤寒沙门氏菌全基因组学分析研究

梁丽^{1,2#}, 石继春^{2#}, 陈驰¹, 龙新星², 叶强^{1,2*}, 徐颖华^{1*} (1. 中国食品药品检定研究院 卫健委生物技术产品检定方法及其标准化重点实验室, 北京 102629; 2. 中国医学细菌保藏管理中心, 北京 102629)

摘要 目的: 了解不同时期分离鼠伤寒沙门氏菌的基因组多态性。方法: 采用solexa高通量测序技术对12株分离于1954–1980年与2018–2020年的鼠伤寒沙门氏菌标准菌株进行全基因组测序, 以此进行菌株的多位点序列分型(MLST)分析; 应用生物信息分析软件对测序菌株基因组的基因功能注释, 并对预测的毒力基因、耐药基因、插入元件(IS)、前噬菌体和CRISPR序列进行比较分析。通过比较基因组分析拟合泛基因组和核心基因组积累曲线, 与来源于其他国家已发表的代表性菌株构建系统发育分子进化树。结果: 不同时期分离的12株鼠伤寒沙门氏菌的染色体全基因组序列大小无明显差异, 约为4.8 Mbp。共发现5种不同MLST型别, 以ST19为主(66.6%)。注释结果显示每株鼠伤寒沙门氏菌基因组含有大量(>20个)耐药基因; 同时也发现不同菌株基因组之间毒力基因、IS、前噬菌体和CRISPR序列数量不尽相同; 比较基因组分析证实鼠伤寒沙门氏菌核心基因组相对稳定, 而泛基因组所含基因持续增加、高度可变。系统发育进化树显示, 来源不同时期和国家的15株分离菌株形成3个不同进化分支, 分子进化聚类与菌株的分离年代和地域无明显相关性。结论: 解析了12株不同时期分离的鼠伤寒沙门氏菌标准菌株的全基因组序列, 发现不同时期分离的菌株基因组数据和分子进化无明显相关性, 这些结果不仅为后续探究鼠伤寒沙门氏菌耐药机制与遗传进化规律等研究奠定基础, 同时也对标准菌株监管提供科学数据支持。

关键词: 鼠伤寒沙门氏菌; 全基因组测序; 毒力基因; 耐药基因

中图分类号: R181.8 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777(2022)12-1403-11

doi:10.16153/j.1002-7777.2022.12.010

Whole-genomic Sequence Analysis of *Salmonella Typhimurium* Isolated in Different Periods

Liang Li^{1,2#}, Shi Jichun^{2#}, Chen Chi¹, Long Xinxing², Ye Qiang^{1,2*}, Xu Yinghua^{1*} (1. NHC Key Laboratory of Research on Quality and Standardization of Biotech Products, National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 102629, China; 2. Chinese Medical Bacteria Preservation Research Center, Beijing 102629, China)

Abstract Objective: To understand the genomic polymorphisms of *Salmonella typhimurium* isolated in different periods. **Methods:** Solexa high-throughput sequencing technology was used to sequence the whole

基金项目: 国家重点研发计划项目(编号 2018YFC1603900); 医学微生物资源平台运行与服务(编号 NIMR-2021)

作者简介: 梁丽 Tel: (010) 53852674; E-mail: 41808396@qq.com

石继春 Tel: (010) 53852672; E-mail: shijichun@nifdc.org.cn

通信作者: 叶强 Tel: (01053852686); E-mail: qiangyee@nifdc.org.cn

徐颖华 Tel: (010) 53852692; E-mail: xuyh@nifdc.org.cn

genome of 12 strains of *S. typhimurium* isolated in 1954-1980 and 2018-2020. Based on the genomic sequences of these strains, the multi-locus sequence typing (MLST) analysis was conducted. The gene function of the genomes of the sequenced strains were annotated using bioinformatics software, and those predicted virulence genes, resistance genes, insertion elements (IS), prophage and CRISPR sequences were analyzed comparatively. Based on comparative genomic analysis, the pan-genome and core genome accumulation curves were fitted. The phylogenetic evolutionary tree was constructed with published representative strains from other countries. **Results:** There was no significant difference in the whole genome sequence of the chromosomes of 12 strains of *S. typhimurium* isolated in different periods, which was about 4.8 Mbp. A total of five distinct MLST types were found, among which ST19 was the predominant (66.6%). The annotation results shows that each strain contained a large number of (>20) drug resistance genes. It was also found that the number of virulence genes, IS, prophages and CRISPR sequences varied among the genomes of different strains. Comparative genomic analysis confirmed that the core genome of *S. typhimurium* was relatively stable, while the pan-genome contains continuously increasing and highly variable genes. The phylogenetic tree revealed that 15 isolated strains from different periods and countries formed three different evolutionary branches, and the molecular evolution clustering had no obvious correlation with isolation time and region of these strains. **Conclusion:** The complete genome sequences of 12 strains of *S. typhimurium* isolated in different periods were analyzed, and there were no obvious correlation between the genomic data and molecular evolution of these strains isolated in different periods. These results not only laid a foundation for the subsequent studies on the drug resistance mechanism and genetic evolution of *S. typhimurium*, but also provided scientific data support for the regulation of standard strains. **Keywords:** *Salmonella typhimurium*; whole genome sequences; virulence genes; drug resistance genes

沙门氏菌是最常见食源性致病菌之一，研究发现家禽及其禽制品为食源性沙门氏菌传播与爆发感染的主要宿主。尽管其感染的主要临床症状为发热、腹泻，但严重感染者可危及生命^[1-2]。根据WHO统计，每年由于沙门氏菌感染所引起的死亡人数超过20万，对公众饮食和健康造成极大威胁^[3]。

当前已报道的沙门氏菌血清型超过2600种，但在食源性分离株中，仍以鼠伤寒沙门氏菌 (*Salmonella typhimurium*) 和肠炎沙门氏菌 (*Salmonella enteritidis*) 为主^[4-5]。随着高通量测序技术的发展，获得了海量的微生物基因组信息^[6]。为了进一步了解鼠伤寒沙门氏菌基因组多态性，本研究应用高通量测序技术对不同时期分离的鼠伤寒沙门氏菌标准菌株进行全基因组测序，分析不同菌株基因组中所含毒力基因、耐药基因、插入元件 (Insertion Sequence, IS)、前噬菌体和CRISPR序列，筛选核心和泛基因组，探讨不同时期和来源的分离菌株遗传进化关系。

1 材料和方法

1.1 菌株

12株不同时期分离的代表性鼠伤寒沙门氏菌

来源于中国食品药品检定研究院中国医学细菌保藏管理中心 (表1)。

1.2 主要试剂和仪器

胰蛋白胨大豆培养基 (北京三药科技开发公司, 批号: 20210703) 以及普通营养琼脂培养基 (北京三药科技开发公司, 批号: 20210510); DNA提取试剂盒为购自QIAGEN公司产品; 其他试剂均为国产分析纯。细菌培养为37℃培养孵房 (设备编号: 中检院QQQ054); HiSeq 2500基因组测序仪购自Illumina公司。

1.3 细菌培养和基因组提取

将12株鼠伤寒沙门氏菌复苏后分别接种至胰蛋白胨大豆培养基中, 培养过夜后, 按细菌全基因组提取说明书的要求对培养物进行DNA提取, 然后将DNA样品均放置-70℃保存备用。

1.4 全基因组测序

参考文献^[7], 应用Solexa高通量测序技术对各株菌株进行全基因组测序, 即将细菌DNA应用超声仪打断、切胶回收后, 然后分别按照TruSeqTM DNA Sample Prep Kit-Set A (Illumina) 和TruSeq PE Cluster Kit (Illumina) 说明书要求将纯化DNA利用

制备基因组文库和扩增,最后上机测序。

1.5 生物信息学分析

应用velvet 1.2.03进行下机数据拼装、glimmer 3.02进行基因预测和直系同源簇(Cluster of Orthologous Group, COG)分类。基于获得全基因组序列进行不同菌株的多序列位点(Multi-locus Sequence Typing, MLST) (<https://pubmlst.org/organisms/salmonella-spp>)分析。参考文献^[8],对测序菌株基因组中毒力因子、耐药基因、插入序列(IS)元件、前噬菌体和CRISPRs序列预测分析。同时对12株测序菌株的核心基因组(Core-genome)与泛基因组(Pan-genome)比较分析,并以此绘制拟合积累曲线。此外,将上述测序菌株的基因组与已发表的5株鼠伤寒沙门氏菌代表性菌株,包括LT2株(NCBI登录号:AE008693,分离地为美国)、D23580株(NCBI登录号:FN424405,分离地为马拉维)、SARA7株(NCBI登录号:SAMN03470052,分离地为挪威)、

T000240株(NCBI登录号:AP011957,分离地为日本)、DT7株(NCBI登录号:ERS007590,分离地为英国)基因组进行核心基因的系统发育进化树分析。

1.6 统计学分析

应用SPSS 20软件对不同时期分离菌株基因组大小、所含毒力基因、耐药基因、IS、前噬菌体和CRISPR序列数量进行单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 鼠伤寒沙门氏菌全基因组基本特征

通过将不同菌株的测序数据进行拼装和生物信息学分析,结果显示,不同时期分离鼠伤寒沙门氏菌的菌株基因组大小无明显差异(P 值均 > 0.05),12株菌株染色体全基因组序列大小约为4.8 Mbp,包含有4,733~5,173个基因不等,平均编码基因占整个基因组序列约为86.3%,GC含量相似,平均GC含量为53.2%,见表1。

表1 12株鼠伤寒沙门氏菌基因组特征

菌株名称	分离时间	菌株来源	基因组大小 / bp	基因数量	编码基因 GC 含量 /%	编码区比例 /%	平均基因大小 /bp
CMCC (B) 50115	1955	英国	4,822,300	4,775	53.4	86.1	870
CMCC (B) 50222	1978	美国	4,885,472	4,881	53.3	86.2	863
CMCC (B) 50333	1954	中国	4,894,627	5,116	53.2	87.5	837
CMCC (B) 50362	1980	中国	4,940,147	5,173	53.2	87.3	834
CMCC (B) 50712	1957	捷克	4,742,570	4,733	53.3	86.9	871
CMCC (B) 50970	2018	中国	5,014,426	4,979	53.3	85.5	861
CMCC (B) 50975	2019	中国	5,116,187	5,085	53.1	85.6	861
CMCC (B) 50976	2019	中国	4,882,747	4,928	53.4	86.2	854
CMCC (B) 50977	2019	中国	4,887,407	5,010	53.3	86.4	843
CMCC (B) 50944	2019	美国	4,892,835	5,000	53.29	87.26	854
CMCC (B) 47576	2020	中国	4,886,311	5,071	52.9	87.0	838
CMCC (B) 47580	2020	中国	5,026,261	5,038	53.0	84.8	846

基于全基因组序列的MLST分析结果显示,在分离1980年之前的菌株中,有4株为ST19型,另一株为ST15型;而近几年分离菌株中也有4株仍

为ST19型,其余菌株分别为ST34、17和40型,见表2。

表2 12株鼠伤寒沙门氏菌 MLST 分析

菌株名称	<i>aroC</i>	<i>dnaN</i>	<i>hemD</i>	<i>hisD</i>	<i>purE</i>	<i>sucA</i>	<i>thrA</i>	ST
CMCC (B) 50115	10	7	12	9	5	9	2	19
CMCC (B) 50222	10	7	12	9	5	9	2	19
CMCC (B) 50333	10	7	12	9	5	9	2	19
CMCC (B) 50362	10	7	12	9	5	9	2	19
CMCC (B) 50712	2	7	9	9	5	9	12	15
CMCC (B) 50970	10	7	12	9	5	9	2	19
CMCC (B) 50975	10	19	12	9	5	9	2	34
CMCC (B) 50976	10	7	12	9	5	9	2	19
CMCC (B) 50977	10	7	12	9	5	9	2	19
CMCC (B) 50994	10	7	12	9	5	9	2	19
CMCC (B) 47576	8	8	11	11	5	11	15	17
CMCC (B) 47580	19	20	3	20	5	22	22	40

2.2 耐药基因和毒力基因分析

基因组耐药基因注释分析,发现对每株鼠伤寒沙门氏菌含有大量、且数量不等的耐药基因,见表3。其中分离于2019年的CMCC (B) 50975菌株基因组中含有32种耐药基因,针对16类抗生素(表3)。预测显示,12株菌株基因组均含有抗氨基糖苷类、杆菌肽、氯霉素、磷霉素、春雷霉素、大环内酯物类、四环素类、多粘菌素耐药基因。进一步分析发现多种耐药基因可针对一种抗生素,例如预测6种耐药基因均可产生对氨基糖苷类耐药、3种耐药基因可产生对氯霉素类耐药。

通过对测序菌株基因组中毒力基因注释分析发现,12株鼠伤寒沙门氏菌基因组中含有182~224种数量不等的毒力因子,包括一些在鼠伤寒沙门氏

菌基因组保守存在,主要可归类为细菌黏附、毒素、分泌系统、血清抗性和免疫逃避等(图1)。而不同菌株之间毒力基因差异也不尽相同,例如发现毒力基因数量最多菌株CMCC (B) 47576与CMCC (B) 47580相比较,发现多了一组4个与细菌黏附相关基因(*prgK*、*prgJ*、*prgI*和*prgH*)。此外,在CMCC (B) 50333菌株发现,与同样都分离早期CMCC (B) 50172相比较,一系列毒力相关基因增多,包括与细菌菌毛相关4个基因(*pefD*、*pefC*、*pefA*和*pefB*)、表面分泌蛋白(*spaO*和*invB*)。

统计学分析显示,5株分离早期的鼠伤寒沙门氏菌基因组中所含的毒力基因和耐药基因数量与近几年分离菌株无显著性差异(P 值均 >0.05)。

表 3 12 株鼠伤寒沙门氏菌基因组耐药基因注释分析结果

菌株名称	耐药基因数量	预测耐药基因的产生抗性的抗生素*
CMCC (B) 50115	21	氨基糖苷类(5)、杆菌肽(1)、氯霉素(2)、依诺沙星(1)、磷霉素(2)、春雷霉素(1)、大环内酯物类(1)、青霉素(1)、多粘菌素(1)、四环素(1)、其他(5)
CMCC (B) 50222	21	氨基糖苷类(5)、杆菌肽(1)、氯霉素(2)、依诺沙星(1)、磷霉素(2)、春雷霉素(1)、大环内酯物类(1)、青霉素(1)、多粘菌素(1)、四环素(1)、其他(5)
CMCC (B) 50333	22	氨基糖苷类(6)、杆菌肽(1)、氯霉素(2)、依诺沙星(1)、磷霉素(3)、春雷霉素(1)、大环内酯物类(1)、青霉素(1)、多粘菌素(1)、四环素(1)、其他(5)
CMCC (B) 50362	22	氨基糖苷类(6)、杆菌肽(1)、氯霉素(2)、依诺沙星(1)、磷霉素(2)、春雷霉素(1)、大环内酯物类(1)、青霉素(1)、多粘菌素(1)、四环素(1)、其他(5)
CMCC (B) 50712	24	氨基糖苷类(6)、杆菌肽(1)、氯霉素(3)、依诺沙星(1)、磷霉素(3)、春雷霉素(1)、大环内酯物类(1)、青霉素(1)、多粘菌素(1)、四环素(1)、其他(5)
CMCC (B) 50970	28	氨基糖苷类(5)、杆菌肽(1)、氯霉素(3)、依诺沙星(1)、磷霉素(2)、春雷霉素(1)、大环内酯物类(1)、青霉素(2)、多粘菌素(1)、奇霉素(1)、磺酰胺(1)、链霉素(1)、妥布霉素(1)、四环素(2)、其他(5)
CMCC (B) 50975	32	氨基糖苷类(5)、杆菌肽(1)、邻氯青霉素(1)、氯霉素(4)、依诺沙星(1)、磷霉素(2)、春雷霉素(1)、大环内酯物类(1)、奈替米星(1)、巴龙霉素(1)、青霉素(1)、多粘菌素(1)、奇霉素(1)、磺酰胺(3)、妥布霉素(1)、四环素(2)、其他(5)
CMCC (B) 50976	20	氨基糖苷类(4)、杆菌肽(1)、氯霉素(2)、依诺沙星(1)、磷霉素(2)、春雷霉素(1)、大环内酯物类(1)、青霉素(1)、多粘菌素(1)、四环素(1)、其他(5)
CMCC (B) 50977	21	氨基糖苷类(5)、杆菌肽(1)、氯霉素(2)、依诺沙星(1)、磷霉素(2)、春雷霉素(1)、大环内酯物类(1)、青霉素(1)、多粘菌素(1)、四环素(1)、其他(5)
CMCC (B) 50994	22	氨基糖苷类(6)、杆菌肽(1)、氯霉素(2)、依诺沙星(1)、磷霉素(2)、春雷霉素(1)、大环内酯物类(1)、青霉素(1)、多粘菌素(1)、四环素(1)、其他(5)
CMCC (B) 47576	28	氨基糖苷类(5)、杆菌肽(1)、氯霉素(3)、邻氯青霉素(1)、磷霉素(3)、春雷霉素(1)、大环内酯物类(1)、单内酰环类(1)、奈替米星(1)、巴龙霉素(1)、青霉素(1)、多粘菌素(1)、磺酰胺类(1)、四环素(1)、其他(5)
CMCC (B) 47580	27	氨基糖苷类(5)、杆菌肽(1)、氯霉素(3)、依诺沙星(1)、磷霉素(3)、春雷霉素(1)、大环内酯物类(1)、青霉素(2)、多粘菌素(1)、奇霉素(1)、磺酰胺类(1)、四环素(1)、其他(5)

注：括号中数字代表所包含的耐药基因数量。

2.3 前噬菌体、CRISPRs序列和移动元件分析

分析结果发现不同鼠伤寒沙门氏菌菌株基因组中所含有前噬菌体数量差异较大,其中在CMCC(B)50712和CMCC(B)50975基因组中仅发现2个前噬菌体序列,而在CMCC(B)47576中存在8个前噬菌体。此外,12株鼠伤寒沙门氏菌基因组中所含CRISPRs序列也不尽相同,从59~106个数量不等,见图1。

生物信息学分析结果也显示,12株鼠伤寒沙

门氏菌基因组中含有多种不同IS元件,不同菌株之间IS种类略有差别,CMCC(B)50115、CMCC(B)50712和CMCC(B)47576菌株基因组仅含其中3种,而CMCC(B)50975则包含7种(表4)。但经统计学分析,结果显示分离早期菌株基因组中所含的前噬菌体、CRISPRs序列和移动元件数量与2018-2020年分离的菌株无显著性差异(P 值均 >0.05)。

表4 12株鼠伤寒沙门氏菌基因组中所含有IS元件

菌株编号	基因组中所含有IS种类
CMCC(B)50115	ISSen1、ISSen7、ISSty2
CMCC(B)50222	ISSen1、ISSen7、IS200F、IS1351
CMCC(B)50333	ISSen1、ISSen7、IS200F、IS1351
CMCC(B)50362	ISSen1、ISSen7、IS200F、IS1351、ISSty2
CMCC(B)50712	IS1230B、IS200F、IS1351
CMCC(B)50970	ISSen1、ISSen7、IS200F、IS1351、IS26
CMCC(B)50975	ISSen1、ISSen7、IS200F、IS1351、IS15DIV、ISVsa3、IS1A、
CMCC(B)50976	ISSen1、ISSen7、IS200F、IS1351
CMCC(B)50994	ISSen1、ISSen7、IS200F、IS1351
CMCC(B)47576	IS1239、IS1548、ISSag5
CMCC(B)47580	IS1562、ISSpy1、IS1548、ISSag5

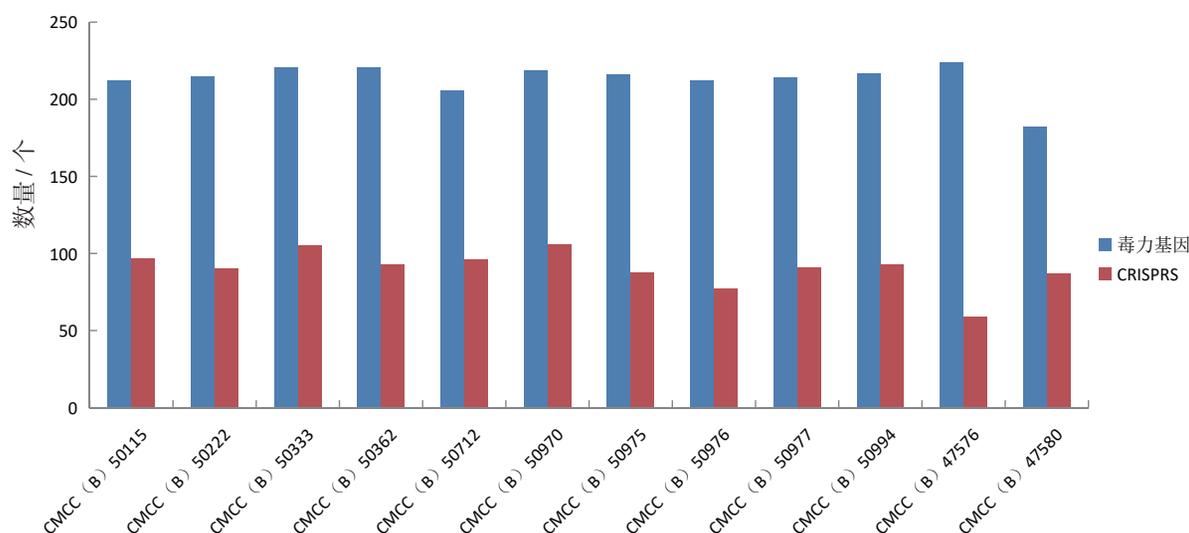


图1 12株鼠伤寒沙门氏菌基因组中毒力基因和CRISPRs序列分析

2.4 鼠伤寒沙门氏菌的泛基因组和核心基因组分析

应用比较基因组学分析，并拟合了12株鼠伤寒沙门氏菌核心基因组和泛基因组的积累曲线，见图2。结果证实，随着不同菌株测序基因组的数量增加，鼠伤寒沙门氏菌的泛基因组所含基因数量随之增加，12株菌株的泛基因组所含基因数量高达7613个，远多于单独每株菌株所含的基因组数量；而核心基因组则随着测试菌株数量的增加而逐渐趋于稳定，所含基因数量维持在3600个左右。

通过基因COG功能注释分析发现核心基因组中

所含基因功能主要集中在与氨基酸转运和代谢、碳水化合物运输和代谢、转录、能量生产和转化、细胞壁、细胞膜、细胞外膜生物合成、无机离子及辅酶转运和代谢与翻译、核糖体结构与生物合成相关，占核心基因组中已知功能基因所占比例为68.5%。而在泛基因组中值得关注的是，所含重组和修复、细胞运动相关基因数量分别高达248和145个，远远高于核心基因的129和99个，见图3。

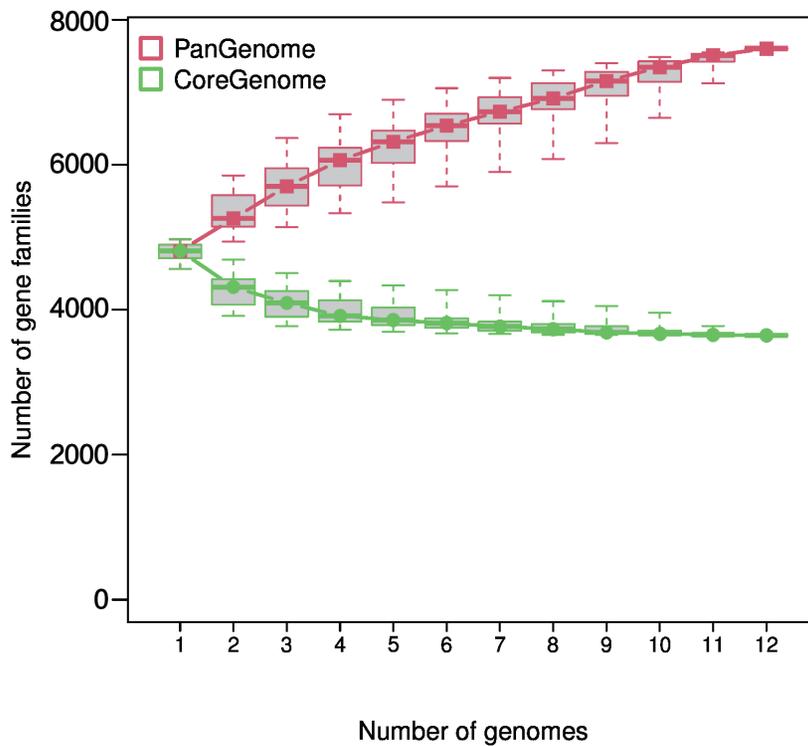
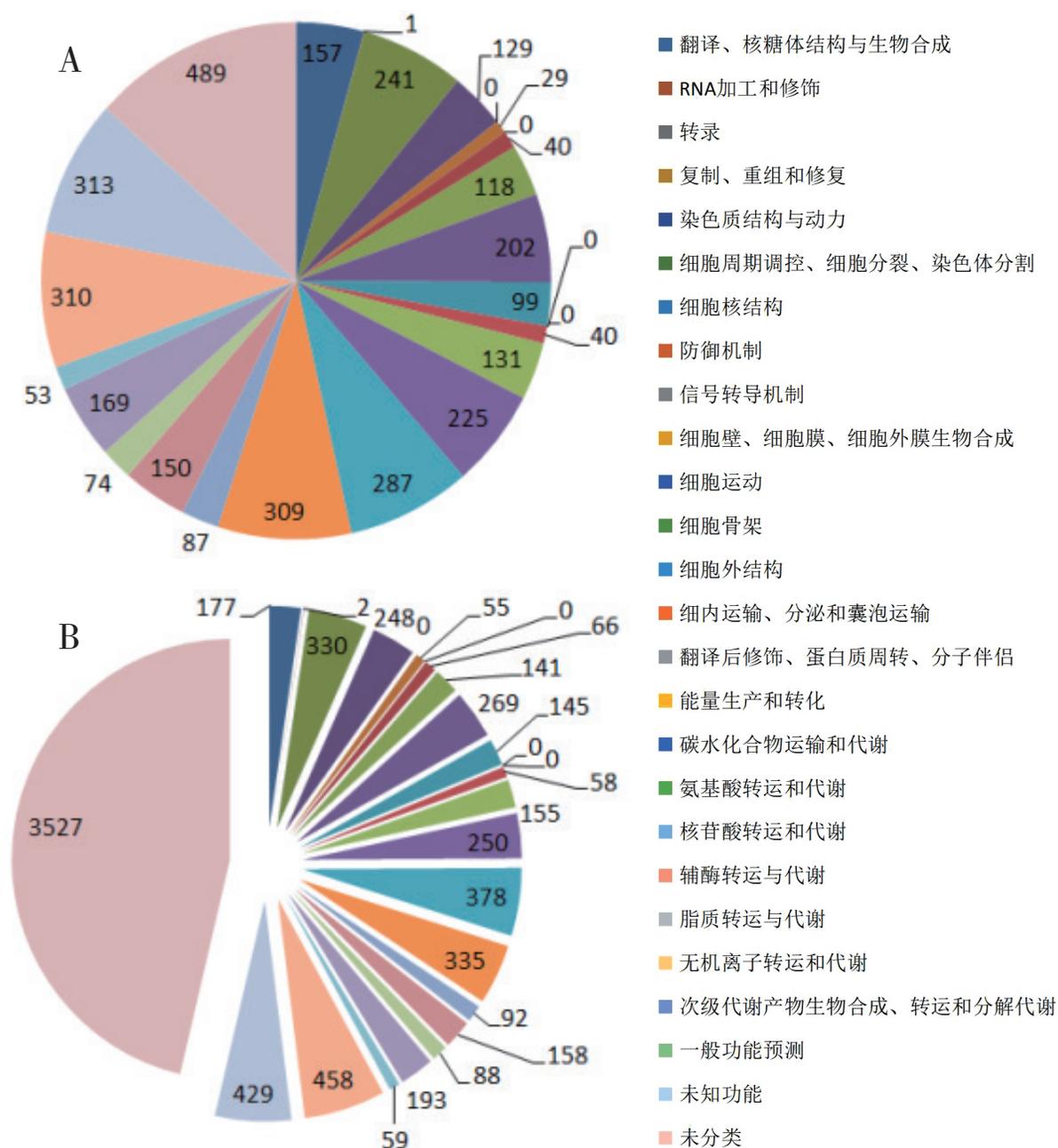


图2 12株鼠伤寒沙门氏菌泛基因组和核心基因组的积累曲线分析



A: 核心基因组; B: 泛基因组 (B)。

图3 12株鼠伤寒沙门氏菌核心基因组和泛基因组所含基因的COG功能分类

2.5 系统发育分析

基于不同菌株全基因组核心基因的系统进化发育树分析结果显示15株不同鼠伤寒沙门氏菌分成3个不同进化分支,见图4。CMCC(B) 47576和CMCC(B) 47580在处于进化树最末端形成一个独立进化小分支。不同分离时期和来源分散分布在不同进化分支中,与进化聚类无明显相关性,见图4。

分支。而其余绝对大多数菌株则形成一个大进化分支,并以此在内部又被各分成不同亚分支,例如,CMCC(B) 47576和CMCC(B) 47580在处于进化树最末端形成一个独立进化小分支。不同分离时期和来源分散分布在不同进化分支中,与进化聚类无明显相关性,见图4。

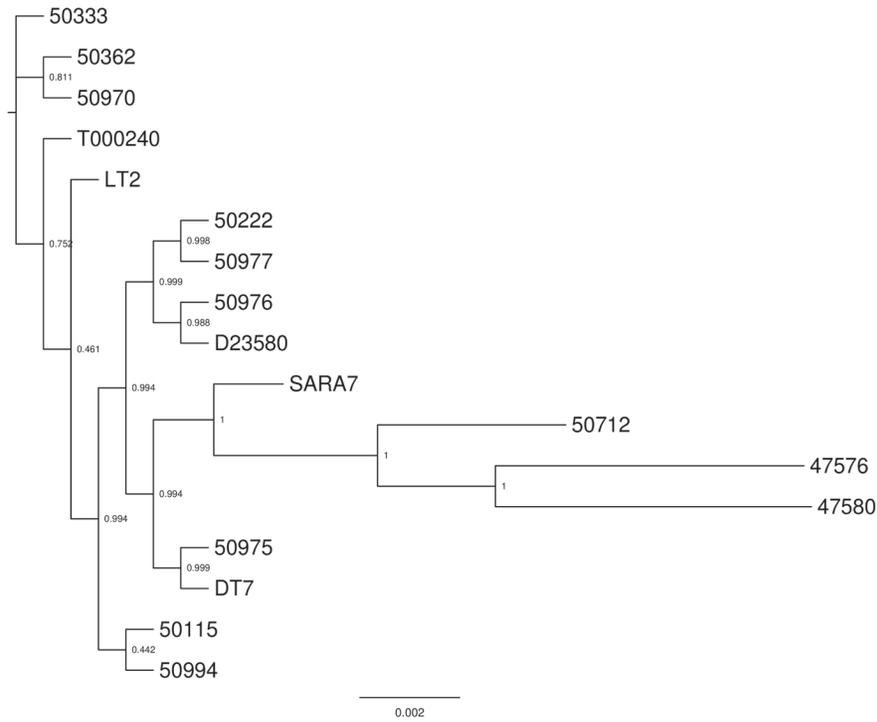


图4 基于15株鼠伤寒沙门氏菌核心基因组构建的系统进化发育树

3 讨论

本研究解析了12株不同时期分离的鼠伤寒沙门氏菌全基因组序列，并以此系统地进行了比较基因组学分析，丰富了我国鼠伤寒沙门氏菌标准菌株的基因组特征性背景材料。

在过去20年，随着分子生物学技术的发展，多种分子分型方法，例如MLST方法，不断被发展和应用于鼠伤寒沙门氏菌分子流行病学研究，监控细菌群体的分子变化^[9-10]。分析结果显示12株菌株中共发现5种ST型别，其中以ST19为主（66.6%），也进一步支持ST19为不同时期分离的鼠伤寒沙门氏菌最常见的ST型^[9]。借助高通量测序技术获得测序菌株的全基因组序列，可以一次性获得包括MLST等基于核苷酸序列分型的所有分子分型结果，表明全基因组测序分析在细菌群体分子分型研究方面的优势性。

大量研究发现，鼠伤寒沙门氏菌耐药性呈逐渐增多的趋势^[11-2,11]，在2014-2015年我国广州收集44株鼠伤寒沙门氏菌药敏试验结果证实，对氨苄青霉素和氯霉素耐药的菌株比率分别为86.4%和52.3%，且其中多重耐药菌株高达27株^[11]。细菌基因组所含有的耐药基因与其耐药性表型呈现良好相关性^[2]。理论上，菌株耐药抗生素种类越多，其基

因组所存在的耐药基因种类和数量也越多。本研究发现不同时期分离的每株鼠伤寒沙门氏菌均携带多种耐药基因，也提示菌株均有形成耐药基因所针对抗生素的抗性的潜力。前期研究证实，细菌的耐药性形成与其受到抗生素使用的进化压力密切相关^[2,12]。近期，来源全球31个国家中分离出的鼠伤寒沙门氏菌全基因组测序与耐药性回顾研究发现，在使用氨苄青霉素之前分离的3株菌株中就能产生TEM-1 β内酰胺酶，并随着抗生素广泛使用，耐药菌株逐渐增加^[13]。因此，考虑当前我国鼠伤寒沙门氏菌耐药性的现状，建议优化临床抗菌治疗与管理策略。

在鼠伤寒沙门氏菌侵袭性感染中，依赖多种毒力因子协同发挥作用，根据毒力基因编码的蛋白功能分类，主要包括参与编码粘附、分泌系统和免疫逃避等^[14-15]。本研究发现，12株测序菌株所含有大量数量毒力基因，不同时期分离菌株间所含有毒力基因数量无显著性差异，但一些菌株之间毒力基因仍存在一定差异，这些可能与菌株的致病力密切相关，表明在适应不同宿主环境过程中通过水平转移或其他进化机制获得一些毒力基因，以便更好生存^[10]。

大量研究结果发现病原菌基因组中含有前噬

菌体、CRISPRs序列和IS元件等特定基因序列，与细菌防御进化机制密切相关，呈现不同遗传多态性，帮助病原菌适应不同宿主环境生存^[16-17]。分析结果显示，12株测序菌株基因组存在数量不等的前噬菌体、CRISPRs序列和IS元件，与菌株分离时间无相关性，赋予菌株基因组遗传多态性。此外，本研究比较基因组学分析结果证实发现，鼠伤寒沙门氏菌的核心基因组所含基因为相对稳定型，而其泛基因组持续不断增长、高度可变，为开放型，推测与鼠伤寒沙门氏菌适应不同环境、多种宿主生存的特性密切相关^[10,13]。基于全基因组水平的系统发育进化树显示，不同分离时期和来源分散分布在不同进化分支中，分离时期和地域来源与分子进化聚类无明显相关性。

综上所述，本研究解析了12株不同时期分离的鼠伤寒沙门氏菌标准菌株全基因组序列，获得不同菌株的全基因组特征信息，发现不同时期分离菌株的基因组数据无明显相关性。证实了鼠伤寒沙门氏菌具有相对稳定核心基因组型，而其泛基因组为开放型的。这些结果不仅为鼠伤寒沙门氏菌分子流行病学、耐药机制以及遗传进化规律等后续研究奠定基础，同时也为相关标准菌株的监管提供数据参考。

【致谢：感谢上海人类基因组研究中心朱永强和金磊给予的帮助。】

参考文献：

- [1] Patra SD, Mohakud NK, Panda RK, et al. Prevalence and Multidrug Resistance in Salmonella Enterica Typhimurium: an Overview in South East Asia[J]. World Microbiol Biotechnol, 2021, 37 (11) : 185.
- [2] Rincón-gamboa SM, Poutou-piñales RA, Carrascal-camacho AK. Antimicrobial Resistance of Non-Typhoid Salmonella in Meat and Meat Products[J]. Foods, 2021, 10 (8) : 1731.
- [3] Havelaar AH, Kirk MD, Torgerson PR, et al. World Health Organization Global Estimates and Regional Comparisons of the Burden of Foodborne Disease in 2010[J]. PLoS Med, 2015, 12 (12) : e1001923.
- [4] Schultz BM, Melo-gonzalez F, Salazar GA, et al. New Insights on the Early Interaction Between Typhoid and Non-typhoid Salmonella Serovars and the Host Cells[J]. Front Microbiol, 2021, 12: 647044.
- [5] Scallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ, et al. Foodborne Illness Acquired in the United States—Major Pathogens [J]. Emerg Infect Dis, 2011, 17 (1) : 7-15.
- [6] Ford L, Wang Q, Stafford R, et al. Seven Salmonella Typhimurium Outbreaks in Australia Linked by Trace-Back and Whole Genome Sequencing[J]. Foodborne Pathog Dis. 2018, 15 (5) : 285-292.
- [7] 王珊珊, 石继春, 杜宗利, 等. 乳酶生生产用菌种的全基因组序列分析研究[J]. 中国医药生物技术, 2020, 15 (6) : 577-583.
- [8] Xu Y, Zhu Y, Wang Y, et al. Whole Genome Sequencing Revealed Host Adaptation-focused Genomic Plasticity of Pathogenic Leptospira[J]. Sci Rep, 2016, 6: 20020.
- [9] Zhang K, Ge H, He J, et al. Salmonella Typhimurium ST34 Isolate Was More Resistant than the ST19 Isolate in China, 2007-2019[J]. Foodborne Pathog Dis, 2022, 19 (1) : 62-69.
- [10] Gómez-baltazar A, Vázquez-garcidueñas MS, Larsen J, et al. Comparative Stress Response to Food Preservation Conditions of ST19 and ST213 Genotypes of Salmonella Enterica Serotype Typhimurium[J]. Food Microbiol, 2019, 82: 303-315.
- [11] 程招敏, 蓝锴, 柏彩英, 等. 鼠伤寒沙门菌分子分型及耐药性特点[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37 (12) : 1601-1603.
- [12] Gómez-baltazar A, Vázquez-garcidueñas MS, Larsen J, et al. Comparative Stress Response to Food Preservation Conditions of ST19 and ST213 Genotypes of Salmonella Enterica Serotype Typhimurium[J]. Food Microbiol, 2019, 82: 303-315.
- [13] Tran-dien A, Le Hello S, Bouchier C, et al. Early Transmissible Ampicillin Resistance in Zoonotic Salmonella Enterica Serotype Typhimurium in the Late 1950s: a Retrospective, Whole-genome Sequencing Study[J]. Lancet Infect Dis, 2018, 18 (2) : 207-214.
- [14] Herrero-fresno A, Olsen JE. Salmonella Typhimurium Metabolism Affects Virulence in the Host—A Mini-review[J]. Food Microbiol, 2018, 71: 98-110.
- [15] Lucas RL, Lee CA. Unravelling the Mysteries of Virulence Gene Regulation in Salmonella Typhimurium[J]. Mol Microbiol, 2000, 36 (5) : 1024-33.

- [16] Vyas P, Harish. Anti-CRISPR Proteins as a Therapeutic Agent against Drug-resistant Bacteria[J]. Microbiol Res, 2022, 257: 126963.
- [17] Watson BNJ, Steens JA, Staals RHJ, et al. Coevolution between Bacterial CRISPR-Cas Systems and their Bacteriophages[J]. Cell Host Microbe, 2021, 29 (5) : 715-725.

(收稿日期 2022年2月7日 编辑 肖妍)