

阪崎克罗诺肠杆菌致病性机理研究进展

刘 咪, 杨保伟*, 夏效东, 王 新, 席美丽

(西北农林科技大学食品科学与工程学院, 陕西 杨凌 712100)

摘 要: 阪崎克罗诺肠杆菌是一种革兰氏阴性无芽孢肠道杆菌, 可导致新生儿和免疫功能不全的婴幼儿严重脑膜炎、菌血症和坏死性结肠炎, 是一种非常重要的食源性条件致病菌。目前, 国内外对阪崎克罗诺肠杆菌的致病性及其致病机理的研究报道非常有限。本文通过阪崎克罗诺肠杆菌外膜蛋白A、脂多糖、生物膜、宿主细胞骨架、铁获得机制、海藻糖的存在、超广谱 β -内酰胺酶的产生和细胞间相互作用等方面对阪崎克罗诺肠杆菌的致病性机理进行综述。

关键词: 阪崎克罗诺肠杆菌; 致病性; 机理; 进展

Progress in Understanding the Pathogenic Mechanism of *Cronobacter sakazakii*

LIU Mi, YANG Bao-wei*, XIA Xiao-dong, WANG Xin, XI Mei-li

(College of Food Science and Engineering, Northwest A&F University, Yangling 712100, China)

Abstract: *Cronobacter sakazakii* is a gram-negative, sporeless enteric bacillus, and is one of the very important opportunistic foodborne pathogens associated with meningitis, septicemia, and necrotizing enterocolitis in neonates and immunocompromised infants. However, information regarding the pathogenicity and pathogenic mechanism of *Cronobacter sakazakii* is still limited and not well documented. In this paper, we reviewed the recent progress in the study of the pathogenic mechanism of *Cronobacter sakazakii* with reference to outer membrane protein A, lipopolysaccharides, biofilm, the host cell cytoskeleton, iron acquisition mechanism, the presence of trehalose, the presence of extended-spectrum β -lactamases, and intercellular interaction.

Key words: *Cronobacter sakazakii*; pathogenicity; mechanism; progress

中图分类号: Q935

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2014) 09-0329-05

doi:10.7506/spkx1002-6630-201409064

阪崎克罗诺肠杆菌 (*Cronobacter sakazakii*) 是一种常见的寄生于人和动物肠道内的革兰氏阴性无芽孢杆菌, 有周生鞭毛、能运动、兼性厌氧, 为肠道正常菌群之一^[1]。阪崎克罗诺肠杆菌最初被认为是肠杆菌科肠杆菌属中阴沟肠杆菌的生物变型菌, 并被命名为黄色阴沟肠杆菌 (yellow pigmented *Enterobacter cloacae*), ATCC29544被认定为此变形的模式菌株。直到1980年, Farmer等^[2]将其收集的57株阪崎克罗诺肠杆菌进行了DNA杂交、生化反应、黄色菌落产物及抗生素敏感性等一系列实验, 结果发现黄色阴沟杆菌与柠檬酸杆菌属和肠杆菌属中的细菌有41%~50%的相关性, 但其表型和DNA相似性与肠杆菌属中的阴沟肠杆菌更加接近 (50%), 因此将其分类划归于肠杆菌属^[3]。目前, 克罗诺菌属作为一种新属, 包括5个种 (*Cronobacter sakazakii*、*Cronobacter malonaticus*、*Cronobacter dublinensis*、*Cronobacter muyyensis*和

Cronobacter turicensis), 和一个阪崎克罗诺肠杆菌基因种1 (*Cronobacter genomospecies group 1*)^[4-5]。随着新一代DNA测序技术的发展, 功能基因组学方法已应用于阪崎克罗诺肠杆菌致病机制及进化研究。至今已有3个阪崎克罗诺肠杆菌完成全基因组测序 (*Cronobacter sakazakii* ATCC BAA-894、ES15和SP291)^[6-9], 另有4个阪崎克罗诺肠杆菌基因组完成拼接^[7]。其中, BAA-894菌株的染色体大小为4.4 Mb, 两个质粒分别为31 kb的pESA2和131 kb的pESA3^[6]。pESA2携带许多在其他阪崎克罗诺肠杆菌没有的新基因, 其编码的一个四型分泌系统可能介导该质粒的接合转移^[10]。

1 阪崎克罗诺肠杆菌的致病性

阪崎克罗诺肠杆菌作为一种条件致病菌, 能导致严重的新生儿脑膜炎、小肠结肠炎和菌血症, 是近几年来

收稿日期: 2013-05-30

作者简介: 刘咪 (1990—), 女, 硕士研究生, 研究方向为微生物食品安全。E-mail: liumi1007@163.com

*通信作者: 杨保伟 (1974—), 男, 副教授, 博士, 研究方向为食品安全。E-mail: ybwsheng@163.com

受到广泛关注的一种非常重要的食源性致病菌。1岁以下婴儿、出生体重偏低和未满28 d的新生儿被认为是阪崎克罗诺肠杆菌最容易感染的人群,其死亡率高达50%。免疫力低下的成年人食用阪崎克罗诺肠杆菌污染的食物也能导致疾病^[11]。尽管在阪崎克罗诺肠杆菌感染的临床治疗中使用抗生素可以使患者康复,但患者往往伴有严重的神经系统后遗症和发育障碍等症状^[12]。虽然目前已经从很多食品样本(包括肉类、奶酪、蔬菜、谷物、草药、香料和超高温瞬时杀菌牛奶等)和环境样本(工厂和家庭),甚至昆虫中检出该菌,但在很多情况下,婴幼儿配方粉(powdered infant formula, PIF)被认为是阪崎克罗诺肠杆菌主要的污染来源和传播介质,相关研究也表明只有婴儿配方粉与婴幼儿脑膜炎的爆发相联系^[5,13-14]。

人被阪崎克罗诺肠杆菌感染后会出现各种病症,初期表现为发热、精神萎靡和嗜睡。阪崎克罗诺肠杆菌侵入脑微血管上皮细胞后,会引起血脑屏障,并存在于脑巨噬细胞中影响细胞因子的分泌,导致严重的大脑疾病^[15-16]。阪崎克罗诺肠杆菌引起的新生儿脑膜炎常引起脑梗塞、脑脓肿和囊中形成等并发症,可能导致新生儿迅速死亡,幸存者也可能患有严重的后遗症如脑积水、四肢瘫痪、智力发育不全导致的永久性精神和物质功能伤害。阪崎克罗诺肠杆菌感染还经常伴随坏死性小肠结肠炎(necrotizing Enterocolitis, NEC),以小肠坏死和小肠壁积气为特征,是新生儿中最常见的胃肠道病发生事件,在早产儿中有2%~5%的发生率,并且在出生时有13%的新生儿体质量低于1.5 kg。坏死性结肠炎与肠道局部缺血、肠道微生物生长和肠腔中与配方食品有关系的过量蛋白质基质的存在具有很大的关系^[12,17]。

研究表明,将阪崎克罗诺肠杆菌经酪蛋白氨基酸酵母浸膏培养液培养后侵袭乳鼠,灌胃饲养后将乳鼠处死,无菌解剖,取肠、肝和肾等组织器官,制做切片,HE染色后显微镜下观察其组织器官,可发现乳鼠肠、肝、肾均发生明显病变。这些病变主要包括结肠和直肠黏膜血管扩张充血、皱襞变短、上皮细胞变性或水肿、核变圆或消失、平滑肌细胞核浓缩、排列紧密,肝组织出现弥漫性点状坏死和局部脂肪变性,肾组织中肾小管变性、肾小球体细胞增生、肾小管上皮细胞变性、数量减少、静曲管上皮细胞变性、并伴有细胞崩解和间接水肿^[1]。由此表明,阪崎克罗诺肠杆菌能够引起肌体器官的损伤,对肌体具有潜在危害,由它引起的食源性安全问题不容忽视。

2 致病机理

对致病菌毒力因子的研究是揭示毒力因子与宿主的相互作用及其致病机理的关键。目前,对阪崎克罗诺肠

杆菌的致病性机理研究还不太深入和全面。阪崎克罗诺肠杆菌不同菌种和不同菌株间均具有不同的毒力特性,也具有不同的定殖、黏附和侵入能力^[14,18]。Cruz等^[4]研究表明,从人体和非人体中分离的43株阪崎克罗诺肠杆菌中,86%的分离株可以黏附HEp-2细胞,35%具有侵入性,26%可以形成生物膜,充分体现了阪崎克罗诺肠杆菌的毒力多样性。为更好了解阪崎克罗诺肠杆菌的致病性,本文将从外膜蛋白A、脂多糖和宿主细胞骨架等方面阐述阪崎克罗诺肠杆菌的致病机理。

2.1 外膜蛋白A(outer membrane protein, OmpA)

OmpA是革兰氏阴性细菌中最主要的毒力因子之一。OmpA有很多功能,是阪崎克罗诺肠杆菌噬菌体的结合位点,也是F-菌毛介导的接合反应的中间体。OmpA的存在既可维持外膜蛋白和正常细胞形态结构的完整性,也可以在外膜中形成小的非特异性扩散通道。当阪崎克罗诺肠杆菌侵入宿主细胞后,OmpA可以激发宿主产生应激防御反应,但OmpA的存在却可以帮助阪崎克罗诺肠杆菌抵御宿主细胞中抗血清和中性粒细胞的抗菌活性^[19]。

研究表明,OmpA对阪崎克罗诺肠杆菌向人脑微血管内皮细胞渗透至关重要,该蛋白的表达对脑膜炎的发生有着非常重要的意义^[15,19-20]。通过配位体免疫印迹分析,OmpA被认为是阪崎克罗诺肠杆菌中最重要的纤连结合蛋白。OmpA可以结合纤连蛋白,促使其侵入脑上皮细胞。小鼠模型研究表明该蛋白的表达会影响新生小鼠脑膜炎的发生,在100%致死率的小鼠模型中均检测到了OmpA,未检测到OmpA的感染小鼠中未发现任何临床致病表现^[20]。此外,OmpA对血清凋亡具有抗性,表达OmpA的细菌可以成功穿越小肠屏障以及脑和血液中多种屏障,并且会在感染动物体内导致肠细胞的凋亡^[20]。相反,不表达OmpA的突变株则不能有效的结合肠上皮细胞,侵入能力降低,也不能造成肠细胞的凋亡,而且,对凋亡血清非常敏感^[3-4,20]。

2.2 脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)

LPS是革兰氏阴性细菌细胞外壁中非常重要的结构和功能分子,也是一种非常重要的毒力因子。LPS的脂酰链嵌入到细菌的外膜,糖链则暴露于细菌的表面,并具有抗原性,也称作内毒素。革兰氏阴性细菌细胞裂解时释出,无特异性的致病作用,具有一定的耐热性。

2007年,Townsend等^[21]发现婴儿配方奶粉中含有细菌脂多糖——LPS,该LPS具有热稳定性,能增加小肠上皮细胞通透性,促使细菌侵入宿主肠壁而致病。该研究小组将纯化的肠杆菌LPS与阪崎克罗诺肠杆菌一起注射到乳鼠腹腔后,能明显提高阪崎克罗诺肠杆菌穿透血脑屏障的能力,该研究虽未证明阪崎克罗诺肠杆菌产生LPS,但推测阪崎克罗诺肠杆菌的致病性与细菌LPS有明显的关联^[12,15]。近年来,多项研究发现阪崎克罗诺肠杆菌细胞内

可以合成两种脂多糖, 而且已经阐明其LPS的结构及其合成途径相关基因^[22-24]。

2.3 生物膜的产生

生物膜(biofilm)是微生物细胞与外界环境相互作用的接口, 通常镶嵌在一种内源性的黏稠基质中, 被称为胞外聚合物(extracellular polymeric substance, EPS)^[25]。微生物EPS的产生可以增加细胞对外界环境压力的抵抗力, 由于细菌所处的环境及表面介质不同, 不同菌株形成生物膜的能力和生物膜的种类也存在差异。阪崎克罗诺杆菌EPS的产生增加了该菌在不同环境下的存活能力^[13]。

研究表明, 只要存在一定的营养条件和适宜的湿度, 部分阪崎克罗诺杆菌菌株就可以在不锈钢管、玻璃管、PVC塑料管腔内壁和硅胶等介质中吸附生存, 并形成生物保护膜, 抵御消毒剂等的杀伤作用^[12,25]。目前, 阪崎克罗诺杆菌生物膜的形成增加了它对消毒液的抗性已被相关研究证实^[26]。与此同时, 脂多糖的裂解可以导致阪崎克罗诺杆菌外膜变化, 增加其形成生物膜的能力^[24]。鞭毛的存在对阪崎克罗诺杆菌的黏附也起着很重要的作用^[12,26]。

2.4 宿主细胞骨架

宿主细胞骨架是一个排列成丝状的动态蛋白网络, 这种附属蛋白在细胞形状、与运动相关的细胞器官、染色体运动和吞噬作用等细胞功能中起着关键性作用^[20]。很多细菌病原体利用细胞骨架的多功能性来调节它们与宿主之间的相互作用, 如上皮细胞的侵入^[17]。破坏细胞的紧密联系可以提高致病菌的入侵效率^[27]。

细菌侵袭并穿越血脑屏障(blood-brain barrier)是细菌性脑膜炎发生的关键环节^[28]。血脑屏障由脑微血管内皮细胞及细胞间的紧密连接、血管基膜和星形胶质细胞的足突构成^[29]。目前, 体外培养的人脑微血管内皮细胞常被用作血脑屏障的体外模型用以研究细菌侵袭血脑屏障的机制。微丝和微管是真核细胞细胞骨架的主要组分, 微丝和微管的动态组装过程在维持细胞形态和协助细胞发挥生理功能方面起着重要的作用。研究表明, 阪崎克罗诺杆菌侵袭人脑微血管内皮细胞后, 细胞骨架结构发生明显的改变, 微丝和微管部分断裂、模糊、散在分布, 并且发生重新组装, 这些结果均表明微管和微丝都参与了阪崎克罗诺杆菌侵袭进入人脑微血管内皮细胞^[30-31]。

2.5 铁获得机制

铁是细菌最基本的微量元素之一, 它作为一些重要酶的辅因子参与细胞的基本新陈代谢, 包括电子转移、细胞呼吸和超氧化物代谢等^[32-33]。同时, 铁也是细菌致病机理的重要因素之一^[34-35], 在缺铁的生存环境中, 细菌产生一种高亲和的铁结合分子(如: 铁载体)来吸收环境

中的铁, 形成铁载体复合物。这种铁载体复合物通过特殊的铁吸收系统进入细菌胞内, 因此, 铁获得能力经常被认为是致病菌进入宿主肌体产生感染作用的先决条件^[32-33]。

Franco等^[5]在对阪崎克罗诺杆菌*Cronobacter sakazakii* BAA-894和苏黎世克罗诺杆菌*C. turicensis* z3032等的全基因测序中发现, 它们各自都含有相类似大小的质粒pESA3(131 kb)和pCTU1(138 kb), 且这些质粒的存在均和含铁细胞的活动有关。pESA3含有cpa基因和T6SS基因, pCTU1含有编码丝状血凝素的基因和特殊的与毒力黏附相关的转运基因, 表明它们是与毒力有关的质粒^[5]。生物信息学分析表明, pESA3和pCTU1质粒都含有一个类似RepFIB的基因repA和两个铁获得系统(eitCBAD和iucABCD/iutA), 这些质粒都编码一些潜在的毒力因子。与此同时, 所有经过测序的阪崎克罗诺杆菌菌株RepFIB质粒中都含有这两个铁获得系统(eitCBAD和iucABCD/iutA)。以repA为目标的聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)分析中发现, 大多数阪崎克罗诺杆菌都含有与RepFIB相类似的质粒。这些结果均表明, 携带铁获得系统编码基因质粒的特性与阪崎克罗诺杆菌的生存系统及其随后侵入宿主系统导致疾病有着非常密切的关系^[5]。

2.6 海藻糖的存在

干燥的婴幼儿配方奶粉的 a_w 仅为0.2, 显然, 阪崎克罗诺杆菌能在如此干燥的环境中存活很大程度上依赖于该菌对渗透压的抗性。一般来说, 细菌通过增加对渗透压的抗性来保护自己主要是通过胞内快速积聚K⁺等离子来实现。此外, 累积的抗渗透压成分还包括脯氨酸、甘氨酸三甲内盐和海藻糖等^[36]。干燥实际上可以看作是渗透压力的一种极端形式, 细胞需要在无水分的情况下保持生物完整性。根据水分置换原理, 多羟基化合物(如: 海藻糖)可以替代大分子周围的一层水膜防止细胞损伤^[37]。Breeuwer等^[38]研究发现, 阪崎克罗诺杆菌对干燥和渗透压存在显著的抗性, 并且分析了阪崎克罗诺杆菌在干燥条件下的存活状况与海藻糖在细胞中积累水平之间的相关性。其中, 在稳定期, 阪崎克罗诺杆菌中蛋白质中海藻糖的含量为0.04 $\mu\text{mol}/\text{mg}$, 而干燥的静止期细胞内, 含量则上升到0.23 $\mu\text{mol}/\text{mg}$, 海藻糖含量增加到5倍以上。该研究结果充分表明, 海藻糖在细胞内的累积确实与阪崎克罗诺杆菌的干燥抗性有关。另外, 在对数生长期的阪崎克罗诺杆菌培养基中添加海藻糖也可提高干燥处理后该菌的存活率^[13,38]。与其他菌株相比, 虽然阪崎克罗诺杆菌的抗热性并没有随着海藻糖的积累或添加而显著提高, 但其却产生了具有更强的抵抗干燥和渗透压的能力, 这种对干燥和渗透压抗性的提高直接或间接的增强了阪崎克罗诺杆菌的致病能力^[13]。

2.7 超广谱 β -内酰胺酶 (extended spectrum β -lactamases, ESBL)

ESBLs是近几年临床微生物界非常热门的名词,它是一种水解酶,存在于某些革兰氏阴性杆菌中,导致这些菌对大部分 β -内酰胺类抗生素产生强大的耐药性^[34]。ESBLs的产生由细菌的基因控制,它可通过染色体复制传给下一代,但真正可怕的是这类基因可由质粒(plasmid)和转座子(transposon)传播给另一个种属的不同细菌。借助这种能力,ESBLs编码基因可在细菌间快速传播,在大量使用抗生素的环境中,不具有ESBLs的细菌很容易遭到淘汰,导致ESBLs菌有逐年增加的趋势^[39]。ESBLs菌不仅造成严重的院内感染问题,增加病人死亡率,同时给医师的抗生素治疗造成了极大的困扰^[34]。

Zhou Xianfeng等^[40]从30种婴儿配方奶粉中分离出7株阪崎克罗诺肠杆菌和6株肺炎克雷伯氏杆菌(*Klebsiella pneumoniae*),药敏研究结果表明,每种菌株都对 β -内酰胺抗生素有不同水平的抗性,但是对氟喹诺酮和氨基糖苷类抗生素敏感。其中有一株阪崎克罗诺肠杆菌和一株肺炎克雷伯氏杆菌几乎对所有的头孢菌素都具有抗性,双纸片协同实验结果发现这两株分离菌含有超广谱 β -内酰胺酶。这是中国首次报道从婴幼儿配方粉中分离的阪崎克罗诺肠杆菌产生ESBLs,这将意味着阪崎克罗诺肠杆菌对婴幼儿的感染越来越难以被控制,微生物学家和临床治疗医师们需投入更多的精力来预防阪崎杆菌导致的感染^[40-42]。

2.8 一氧化氮作用(细胞间相互作用)

研究表明,阪崎克罗诺肠杆菌可在小鼠肠上皮细胞中诱导产生大量的一氧化氮,从而导致肠上皮细胞的凋亡,但是诱导产生大量一氧化氮的具体机制还不清楚。用保加利亚乳杆菌预处理小鼠模型可以减少一氧化氮的合成,并且可预防肠上皮细胞的凋亡^[3,43]。除保加利亚乳杆菌外,很多益生菌都可以预防阪崎克罗诺肠杆菌对肠上皮细胞的伤害,如:嗜热链球菌、鼠李糖乳杆菌和乳双歧杆菌等。这些益生菌可能是单独或以某种组合通过竞争排斥或抑制来置换已经黏附的阪崎克罗诺肠杆菌,阻止其对宿主的伤害^[3,44]。目前,很多研究结果均表明细菌间的相互作用可以影响致病过程,同时也从另一方面揭示了新生儿容易感染包括阪崎克罗诺肠杆菌在内的多种致病菌的部分原因,这可能是由于新生儿肠道内缺乏生态系统相对稳定的正常菌群,导致对阪崎克罗诺肠杆菌感染干预的缺失而造成的结果^[3,44]。

3 结 语

婴幼儿配方粉作为携带阪崎克罗诺肠杆菌的主要食品种类,近年来连续引发了多起与食品安全相关的事件

而备受国际相关组织、各国政府的高度重视和消费者的广泛关注,现行的乳粉卫生标准已不能够满足乳粉安全的要求,开展影响乳粉安全的食源性致病菌方面的研究急需而迫切。

阪崎克罗诺肠杆菌从被发现至今,人们对其致病性已有广泛并且一致的认识,但是对其致病机理目前研究较少,很多机制尚不完清楚,有待进一步深入。本文对已经报道的阪崎克罗诺肠杆菌的致病机制进行了初步总结,以期为进一步研究阪崎克罗诺肠杆菌提供参考。

参考文献:

- [1] 任立松,陈卓,马龙,等.阪崎肠杆菌新疆分离株侵袭乳鼠器官特征研究[J].新疆医科大学学报,2010,33(6):614-616.
- [2] FARMER J J, ASBURY M A, HICKMAN F W, et al. *Enterobacter sakazaki*: a new species of "Enterobacteriaceae" isolated from clinical specimens[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 1980, 30(3): 569-584.
- [3] 吴清平,董晓晖,张菊梅,等.阪崎肠杆菌分类与致病机制[J].微生物学报,2010,50(7):841-846.
- [4] CRUZ A, XICOHTENCATL-CORTES J, GONZALEZ-PEDRAJO B, et al. Virulence traits in *Cronobacter* species isolated from different sources[J]. Canadian Journal of Microbiology, 2011, 57(9): 735-744.
- [5] FRANCO A A, HU L, GRIM C J, et al. Characterization of putative virulence genes on the related repFIB plasmids harbored by *Cronobacter* spp.[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77(10): 3255-3267.
- [6] KUCEROVA E, CLIFTON S W, XIA Xiaoqin, et al. Genome sequence of *Cronobacter sakazakii* BAA-894 and comparative genomic hybridization analysis with other *Cronobacter* species[J]. PLoS One, 2010, 5(3): e9556.
- [7] JOSEPH S, DESAI P, JI Y, et al. Comparative analysis of genome sequences covering the seven cronobacter species[J]. PLoS One, 2012, 7(11): e49455.
- [8] SHIN H, LEE J H, CHOI Y, et al. Complete genome sequence of the opportunistic food-borne pathogen *Cronobacter sakazakii* ES15[J]. Journal of Bacteriology, 2012, 194(16): 4438-4439.
- [9] POWER K A, YAN Q, FOX E M, et al. Genome sequence of *Cronobacter sakazakii* SP291, a persistent thermotolerant isolate derived from a factory producing powdered infant formula[J]. Genome Announc, 2013, 1(2): e0008213.
- [10] BI Dexi, LIU Linmeng, TAI Cui, et al. SecReT4: a web-based bacterial typeIV secretion system resource[J]. Nucleic Acids Research, 2013, 41: 660-665.
- [11] DRUDY D, MULLANE N R, QUINN T, et al. *Enterobacter sakazakii*: an emerging pathogen in powdered infant formula[J]. Food Safety, 2006, 42: 996-1002.
- [12] 李秀桂.阪崎肠杆菌污染婴幼儿食品流行病学特征研究进展[J].大众科技,2009(9):137-139.
- [13] 赵志晶,曾明.阪崎肠杆菌的抵抗力及其机制研究[J].微生物学免疫学进展,2009,37(4):32-36.
- [14] MANGE J P, STEPHAN R, BOREL N, et al. Adhesive properties of *Enterobacter sakazakii* to human epithelial and brain microvascular endothelial cells[J]. BMC Microbiology, 2006, 6: 58. doi:10.1186/1471-2180-6-58.
- [15] TOWNSEND S M, HURRELL E, GONZALEZ GOMEZ I, et al. *Enterobacter sakazakii* invades brain capillary endothelial cells,

- persists in human macrophages influencing cytokine secretion and induces severe brain pathology in the neonatal rat[J]. *Microbiology*, 2007, 153(10): 3538-3547.
- [16] TOWNSEND S M, HURRELL E, CAUBILLA-BARRON J. Characterization of an extended-spectrum beta-lactamase *Enterobacter hormaechei* nosocomial outbreak, and other *Enterobacter hormaechei* misidentified as *Cronobacter (Enterobacter) sakazakii*[J]. *Microbiology*, 2008, 154(12): 3659-3667.
- [17] MANOJ-KUMAR M N. *Enterobacter sakazakii*: a study on inactivation, detection and virulence[D]. Connecticut: University of Connecticut, 2006.
- [18] HAMBY S E, JOSEPH S, FORSYTHE S J, et al. In Silico identification of pathogenic strains of *Cronobacter* from biochemical data reveals association of inositol fermentation with pathogenicity[J]. *BMC Microbiology*, 2011, Sep 20;11:204. doi: 10.1186/1471-2180-11-204.
- [19] MITTAL R, WANG Y, HUNTER C J, et al. Brain damage in newborn rat model of meningitis by *Enterobacter sakazakii*: a role for outer membrane protein A [J]. *Laboratory Investigation*, 2009, 89: 263-277.
- [20] WU Qingping, DONG Xiaohui, ZHANG Jumei, et al. Taxonomy and pathogenic mechanism of *Cronobacter (Enterobacter sakazakii)*: a review[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2010, 50(7): 841-846.
- [21] TOWNSEND S, CAUBILLA-BARRON J, LOC-CARRILLO C. The presence of endotoxin in powdered infant formula milk and the influence of endotoxin and *Enterobacter sakazakii* on bacterial translocation in the infant rat[J]. *Food Microbiology*, 2007, 24(1): 67-74.
- [22] CAI Liping, LI Yanyan, TAO Guanjin, et al. Identification of three genes encoding for the late acyltransferases of lipid A in *Cronobacter sakazakii*[J]. *Marine Drugs*, 2013, 11(2): 377-386.
- [23] ZHANG Chan, LI Yanyan, TAO Guanjin, et al. Structural characterization of lipid A in food borne pathogen *Cronobacter sakazakii*[J]. *European Journal of Mass Spectrometry*, 2010, 16(4): 531-538.
- [24] WANG L, HU X, TAO G, et al. Outer membrane defect and stronger biofilm formation caused by inactivation of a gene encoding for heptosyltransferase I in *Cronobacter sakazakii* ATCC BAA-894[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2012, 112(5): 985-997.
- [25] HARTMANN I, CARRANZA P, LEHNER A, et al. Genes involved in *Cronobacter sakazakii* biofilm formation[J]. *Applied and Environment Microbiology*, 2010, 76(7): 2251-2261.
- [26] KIM H, RYU J H, BEUCHAT L R. Effectiveness of disinfectants in killing *Enterobacter sakazakii* insuspension dried on the surface of stainless steel, and in a biofilm[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(4): 1256-1265.
- [27] KIM K P, LOESSNER M J. *Enterobacter sakazakii* invasion in human intestinal Caco-2 cells requires the host cell cytoskeleton and is enhanced by disruption of tight junction[J]. *Infection and Immunity*, 2008, 76(2): 562-570.
- [28] KIM K S. Mechanisms of microbial traversal of the blood-brain barrier[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2008, 6: 625-634.
- [29] BIERING G, KARLASON S, CLARCK N C, et al. Three cases of neonatal meningitis caused by *Enterobacter sakazakii* in powdered milk[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 1989, 27(9): 2054-2056.
- [30] 方文刚, 张然, 李强. 阪崎杆菌侵袭人脑微血管内皮细胞对细胞骨架的影响[J]. *解剖科学进展*, 2010, 16(6): 510-513.
- [31] GIRI C P, SHIMA K, TALL B D, et al. *Cronobacter* spp. (previously *Enterobacter sakazakii*) invade and translocate across both cultured human intestinal epithelial cells and human brain microvascular endothelial cells[J]. *Microbial Pathogenesis*, 2012, 52(2): 140-147.
- [32] CROSA J H, WAISH C T. Genetics and assembly line enzymology of siderophore biosynthesis in bacteria[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2002, 66(2): 223-249.
- [33] CALDEERWOOD S B, MEKALANOS J J. Iron regulation of Shiga-like toxin expression in *Escherichia coli* is mediated by the fur locus[J]. *Journal of Bacteriology*, 1987, 169(10): 4759-4764.
- [34] SCHUBERT S, BIDE P, NASSIF X, et al. The siderophore receptor IroN, but not the high-pathogenicity island or the hemin receptor ChuA, contributes to the bacteremic step of *Escherichia coli* neonatal meningitis[J]. *Infection and Immunity*, 2004, 72(2): 1216-1220.
- [35] TORRES A G, REDFORD P, WELCH R A, et al. TonB-dependent systems of uropathogenic *Escherichia coli*: aerobactin and hemetransport and TonB are required for virulence in the mouse[J]. *Infection and Immunity*, 2001, 69(10): 6179-6185.
- [36] JO C, LEE N Y, KANG J I, et al. Radio-sensitivity of pathogens in inoculated prepared foods of animal origin[J]. *Food Microbiology*, 2005, 22(4): 329-336.
- [37] LESLIE S B, ISRAELI E, LIGHTHART B, et al. Trehalose and sucrose protect both membranes and proteins in intact bacteria during drying[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1995, 61(10): 3592-3597.
- [38] BREEUWER P, LARDEAU A, PETERZ M, et al. Desiccation and heat tolerance of *Enterobacter sakazakii*[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2003, 95(5): 967-973.
- [39] 腾琳, 苏芬, 甄永强, 等. 产超广谱 β -内酰胺酶细菌肺部感染及耐药性分析[J]. *中华医院感染学杂志*, 2012, 12(12): 948-949.
- [40] ZHOU Xianfeng, GAO Jianxin, HUANG Yaojian. Antibiotic resistance pattern of *Klebsiella pneumoniae* and *Enterobacter sakazakii* isolates from powdered infant formula[J]. *African Journal of Microbiology Research*, 2011, 19(5): 3073-3077.
- [41] TOWNSEND S, HURRELL E, FORSYTHE S. Virulence studies of *Enterobacter sakazakii* isolates associated with a neonatal intensive care unit outbreak[J]. *Bmc Microbiology*, 2008, 8: 64-72.
- [42] CAUBILLA-BARRON J, HURRELL E, TOWNSEND S, et al. Genotypic and phenotypic analysis of *Enterobacter sakazakii* strains from an outbreak resulting in fatalities in a neonatal intensive care unit in France[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2007, 45(12): 3979-3985.
- [43] HUNTER C J, WILLIAMS M, PETROSYAN M, et al. *Lactobacillus bulgaricus* prevents intestinal epithelial cell injury caused by *Enterobacter sakazakii*-induced nitric oxide both *in vitro* and in the newborn rat model of necrotizing enterocolitis[J]. *Infection and Immunity*, 2009, 77(3): 1031-1043.
- [44] COLADO M C, ISOLAURI E, SALMINEN S. Specific probiotic strains and their combinations counteract adhesion of *Enterobacter sakazakii* to intestinal mucus[J]. *Fems Microbiology Letters*, 2008, 285(1): 58-64.