

DOI: 10.13376/j.cbls/2016017

文章编号: 1004-0374(2016)01-0124-05

福氏志贺菌O-抗原磷酸乙醇胺修饰研究进展

张凤兰, 徐 潇, 权亚茹, 崔生辉*

(中国食品药品检定研究院, 北京 100050)

摘要: 福氏志贺菌是发展中国家引起痢疾的主要致病菌。福氏志贺菌 O- 抗原除噬菌体介导的糖基化和 (或) 乙酰化外, 最近发现一种新的修饰方式磷酸乙醇胺修饰, 其机制为由质粒携带的 *opt* 基因编码磷酸乙醇胺转移酶在 O- 抗原的鼠李糖 II 或 (和) 鼠李糖 III 上添加磷酸乙醇胺基团, 从而形成血清型 Xv、4av 和 Yv 福氏志贺菌, 并表达 MASF IV-1 抗原。人工转化携带 *opt* 基因的质粒到无 MASF IV-1 抗原表达的不同血清型福氏志贺菌中, 转化菌株都能表达 MASF IV-1 抗原。在某些血清型福氏志贺菌中, O- 抗原的磷酸乙醇胺修饰与糖基化、乙酰化修饰之间相互作用。现对福氏志贺菌的 O- 抗原磷酸乙醇胺修饰机制及其与糖基化、乙酰化修饰间的相互作用进行了综述。

关键词: 磷酸乙醇胺修饰; O- 抗原; 福氏志贺菌; 糖基化; 乙酰化

中图分类号: R378.2 **文献标志码:** A

Progress of O-antigen phosphoethanolamine modification of *Shigella flexneri*

ZHANG Feng-Lan, XU Xiao, QUAN Ya-Ru, CUI Sheng-Hui*

(National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China)

Abstract: *Shigella flexneri* is the major pathogen causing bacillary dysentery in the developing countries. Besides phage-encoded glucosylation and/or O-acetylation, O-antigen of *S. flexneri* modification with phosphoethanolamine (PEtN) has been identified lately. The plasmid-carried *opt* gene encodes the phosphoethanolamine transferase adding a PEtN on O-antigen rhamnose II and/or rhamnose III. O-antigen PEtN modification of serotype X, 4a and Y strains convert the hosts into MASF IV-1 positive “variant” Xv, 4av and Yv serotypes respectively. The plasmid-carried *opt* gene is able to transform all *S. flexneri* serotypes to make them express MASF IV-1 epitope. Among various serotypes, the PEtN modification of O-antigen may interact with glucosylation and O-acetylation process. Now *S. flexneri* - O antigen ethanolamine phosphate modification mechanism and its interaction with glycosylation, acetylated modification were reviewed.

Key words: phosphoethanolamine modification; O-antigen; *Shigella flexneri*; glucosylation; O-acetylation

志贺菌是细菌性痢疾的主要病原菌。全世界每年由志贺菌引起的痢疾病例有 1.647 亿, 其中 69% 的痢疾病例和 61% 的死亡病例为 5 岁以下的儿童^[1]。志贺菌表面有两种抗原: O- 抗原和 K- 抗原。O- 抗原是志贺菌血清分型的依据; K- 抗原虽在血清学分型上无意义, 但可阻止 O- 抗原与相应抗血清的凝集反应。根据 O- 抗原的不同, 志贺菌分为 4 个群, 即 A 群 (痢疾志贺菌)、B 群 (福氏志贺菌)、C 群 (鲍氏志贺菌) 和 D 群 (宋内志贺菌)。在我国以福氏志贺菌感染为主, 在 2001-2010 年间, 福氏志贺菌

发病率为 76.2%^[2]。福氏志贺菌的 O- 抗原多糖骨架经糖基化和 (或) 乙酰化或磷酸乙醇胺 (PEtN) 修饰后, 形成了不同的血清型。到目前为止, 福氏志贺菌至少分为 19 个血清型: 1a、1b、1c (或 7a)、1d、2a、2b、3a、3b、4a、4av、4b、5a、5b、X、Xv、Y、Yv、6 和 7b^[3-8]。磷酸乙醇胺修饰是最近发现的一种

收稿日期: 2015-08-20; 修回日期: 2015-10-27

基金项目: 中国食品药品检定研究院中青年基金 (1010030112111)

*通信作者: E-mail: cuishenghui@aliyun.com

重要的 O- 抗原修饰方式, 添加 PEtN 基团形成的 Xv 血清型在中国曾经代替 2a 血清型成为中国的优势血清型。

1 福氏志贺菌O-抗原结构及其修饰方式

除 6 型外, 18 个血清型福氏志贺菌的 O- 抗原都具有相同的由四糖重复单位构成的多糖骨架, 即 N- 乙酰氨基葡萄糖 - 鼠李糖 I- 鼠李糖 II- 鼠李糖 III, 在多糖骨架的不同糖基上糖基化和 (或) 乙酰化和 (或) 磷酸乙醇胺 (PEtN) 修饰后, 形成了不同的血清型。糖基化或乙酰化修饰是由整合到菌株基因组中的噬菌体携带的基因 *gtrA*、*gtrB*、*gtr (I, II, IV, V, X)* 或 *oac* 编码的糖基转移酶 GtrA (glycosyltransferase A)、糖基转移酶 GtrB、糖基转移酶 Gtr (I, II, IV, V, X) 或 O- 乙酰化酶 (O acetylase, Oac) 介导完成的^[9]。磷酸乙醇胺修饰是由质粒携带的 O- 抗原磷酸乙醇胺转移酶编码因子 (O-antigen phosphoethanolamine transferase, *opt*, 又名 “*lpt-O*”) 介导在四糖骨架的鼠李糖 II (rhamnoseII, Rha^{II}) 或 (和) 鼠李糖 III (Rha^{III}) 添加磷酸乙醇胺基团, 形成 Xv、4av 和 Yv 血清型, 表达 MASF IV-1 (或 E1037) 表面抗原^[10]。

2 Xv、4av和Yv血清型福氏志贺菌的发现

2.1 Xv血清型的发现

2001 年, 在河南省首次发现 X 的变异菌株, 在 2002-2006 年间, X 的变异菌株代替了 2a 血清型成为优势菌株。2006-2007 年间, X 的变异菌株也成为陕西、甘肃和安徽及上海的优势血清型。X 的变异菌株与单价型抗血清 IV 和单价群抗血清 7,8 凝集, Pryamukhina 和 Khomenko^[11] 将其命名为 4c。而单克隆抗体检测, X 的变异菌株与单克隆抗体 MASF IV-1 凝集, 不与 IV 和 MASF IV-2 凝集, Carlin 和 Lindberg^[12] 将其命名为 4x。Ye 等^[6] 测序发现 X 变异菌株并未携带特异性 IV 型葡萄糖基转移酶基因 *gtrIV*, 而携带特异性 X 型葡萄糖基转移酶基因 *gtrX*, 并携带能使 Y 血清型转变为 X 血清型的血清转换噬菌体 sfX, 故 Ye 等将其命名为 “Xv” (“v” 代表 “variant”)。

我国 Xv 血清型为多地区起源。1997-2006 年, Zhang 等^[13] 对河南、甘肃、安徽、陕西等 4 个省分离的 25 株 Xv 志贺菌及其他血清型的志贺菌进行基因组测序, 应用最大可能方法建立系统发育树。25 株 Xv 都在同一发育谱系 I 中, 其中 23 株又被分为

3 个不同的系统发育群 1、2、3 群 (其他 2 株 Xv 被分在 3 个群外)。从 3 个群的 Xv 中筛选出 18 个特异的 SNP, 将其分为 5 个 SNP 型别 (SGs)。河南省以 1 群 (SG2) 为主, 甘肃省以 2 群 (SG3 和 SG4) 为主, 安徽省以 3 群 (SG5) 为主^[13]。

2.2 4av血清型的发现

1978 年, 4a 血清型福氏志贺菌首次被鉴定, 其 N- 乙酰葡萄糖氨基的 6 位连接葡萄糖基, 表达 IV 抗原。2009 年, Perepelov 等^[14] 利用核磁共振发现 2 株 4a 的变异菌株 (分别从澳大利亚和俄罗斯分离的 G1668 和 1359 菌株) 中 3 位鼠李糖上连有磷酸乙醇胺基团 (PEtN) 基团。在 4b 及其他血清型的福氏志贺菌中也未曾发现过磷酸乙醇胺修饰。因血清凝集反应与 Xv 相同, 都与单克隆抗体 MASF IV-1 凝集, Sun 等^[10] 将 4a 的变异菌株命名为 “4av”。

2.3 Yv血清型的发现

2013 年, 在中国安徽省和河南省分离到 Yv 血清型。应用日本生研公司 (Denka Seiken, Japan) 的多克隆血清和瑞典 AB 公司 (Reagensia AB, Sweden) 的单克隆抗体鉴定, Yv 与单价抗血清 IV 和单克隆抗体 MASF IV-1 凝集, 不与 4 型特异单克隆血清 MASF IV-2 反应, PCR 方法也未扩增出 4 血清型的特异基因 *gtrIV*。因此, 延续 Xv、4av 的命名, Sun 等^[8] 将其命名为 “Yv”。与 Yv 凝集特性相似的还有以前发现的命名为 “4s”^[15]、“4X”^[16] 或是 “Y”^[17] 的菌株, 说明 Yv 血清型在自然界已存在多年。

Yv 血清型中用 PCR 方法能够扩增出 *gtrII* 或 *gtrX* 基因。*gtrII* 和 *gtrX* 分别来自噬菌体 SfII 和 SfX, 分别是血清 2 型和群特异性抗原 7,8 的特异性基因。应用 Yv 与其他血清型的 PFGE 结果推导出 Yv 是由 Y、2a 和 Xv 血清型通过不同的转化方式转化而来: (1) Yv 可由 Y 血清型获得 *optII* 基因转化而来; (2) Yv 由 2a 血清型的 *gtrII* 或 *gtrB* 基因失活后, 获得 *optIII* 基因转化而来; (3) Yv 由 Xv 的 *gtrX* 失活后, 获得 *optII* 基因转化而来^[8]。虽然, 自然界中分离 Yv 的几率较低, 但因 Xv 和 2a 为我国的优势血清型, 所以应该重视这个新血清型。

3 磷酸乙醇胺修饰机制

3.1 质粒介导的O-抗原磷酸乙醇胺修饰

2009 年, Perepelov 等^[14] 在 4av 血清型菌株中首次发现福氏志贺菌中含有 PEtN 基团, 但对其修饰机制并不清楚。2012 年, Sun 等^[10] 利用磁共振

技术对 Xv 的 O-脂多糖结构进行分析,发现与 X 的 O-脂多糖结构不同的是, Xv 的 O-脂多糖上的 RhaII 上连接有 PEtN 基团。在此之前,早已在大肠杆菌、空肠弯曲杆菌等其他菌种中发现过 PEtN 修饰基因^[18-19],因此,利用 tBLASTn 和 BLASTP 软件将已知的其他菌种的 PEtN 基因与 Xv 菌株的染色体和质粒序列进行比对以检索同源序列。从 Xv 菌株中找到 1 个来自于质粒的特异同源序列,推测编码 PEtN 蛋白的基因来源于质粒^[10]。

应用 PCR 和 Southern 杂交技术,发现 Xv 血清型菌株中含有 pSFxv_2 质粒,大小为 6.85 kb,携带有 *opt* 基因。序列结构分析(motif analysis)显示,*opt* 基因编码的 PEtN 蛋白的 C 末端含有硫酸酯酶结构域,属于硫酸酯酶家族。应用 NMR 技术发现, Xv、4av 或 Yv 血清型中,质粒 pSFxv_2 或 pSFyv_2 携带的 *opt* 基因在 O 抗原的 Rha^{II} 和 / 或 Rha^{III} 上介导 PEtN 修饰,表达 MASF IV-1 抗原^[10]。

3.2 介导磷酸乙醇胺修饰的 *opt* 基因变异

Xv 血清型中所含质粒 pSFxv_2 长度为 6 850 bp, Yv 血清型所含质粒 pSFyv_2 比 pSFxv_2 多 2 bp。两种质粒的同源性较高,都含有 *opt* 基因,两者有 81 bp 的差异。测序发现 Yv 和 4av 的 *opt* 基因同源性较高,其与 Xv 的 *opt* 基因有 11 bp 和 7 aa 的差异,分别被命名为“*optIII*”和“*optII*”。尽管 *optII* 和 *optIII* 基因都能使 O 抗原磷酸化,但两者有明显的区别: Yv 和 4av 中 *optIII* 基因编码的 PEtN 转移酶易在 Rha^{III} 上磷酸化;而 Xv 中的 *optII* 基因编码的 PEtN 转移酶易在 Rha^{II} 上磷酸化。*optIII* 基因变异可能是由于进化的选择压力所致。在 Y 和 4a 的 Rha^{III} 上没有修饰基因,因此, *optIII* 易在 Rha^{III} 上添加 PEtN 基团;而 X 的 Rha^{III} 上已有葡萄糖基占据,因此, *optII* 只能在 Rha^{II} 上 PEtN 修饰^[20]。

此外,不同菌株 Xv 中的 *optII* 基因也有变异。Zhang 等^[13]对在中国不同省份分离的 25 株 Xv 中的质粒 pSFxv_2 测序发现,所有的 Xv 中都含有 *optII* 基因,但 *optII* 基因有 3 个变异体,变异体与初始发现的 *optII* 序列有 1~2 bp 的差异,但未影响 *optII* 基因的编码。虽在 3 株 X 菌株中发现质粒 pSFxv_2,但因 *optII* 基因有 1 bp 缺失导致 *optII* 基因功能缺失。一株 Yv 的 *optIII* 基因与初始发现的 *optIII* 序列也有 1 bp 的差异,未影响 *optIII* 基因的编码^[13]。

4 O-抗原磷酸乙醇胺修饰与糖基化、乙酰化间的相互作用

4.1 自然界中磷酸乙醇胺修饰与糖基化、乙酰化间的相互作用

Xv 血清型 Rha^{III} 上的葡萄糖基影响了 PEtN 修饰方式,使 *optII* 基因在 Rha^{II} 上发生 PEtN 修饰,而在 Yv 和 4av 血清型的 Rha^{III} 上没有葡萄糖基,因此, *optIII* 易在 Yv 和 4av 血清型的 Rha^{III} 上添加 PEtN 基团。多数野生型 Yv 的 PEtN 修饰在 Rha^{III} 上单磷酸化,少量在 Rha^{II} 和 Rha^{III} 上双磷酸化。当在 Rha^{III} 单磷酸化时,大约一半 N-乙酰葡萄糖胺(GlcNAc)的 6 位发生乙酰化,而在 Rha^{II} 和 Rha^{III} 上双磷酸化时, GlcNAc 无乙酰化。因此,在 Rha^{II} 和 Rha^{III} 上的双磷酸化阻止了 GlcNAc 的乙酰化,而 Rha^{III} 单磷酸化时没有影响乙酰化^[20]。

4.2 转化菌株中磷酸乙醇胺修饰与糖基化、乙酰化间的相互作用

4.2.1 质粒 pSFxv_2 或 pSFyv_2 能够转化且稳定存在于各种血清型的福氏志贺菌中

质粒具有较强的移动性,理论上质粒 pSFxv_2 或 pSFyv_2 可以分布在所有血清型的福氏志贺菌中。然而,自然界中除了 Xv、4av 和 Yv 血清型外,其他血清型福氏志贺菌中未发现此质粒。Sun 等^[21]将从 Xv 菌株中提取的质粒 pSFxv_2 分别构建成对氨苄青霉素耐药的质粒 pSFxv_2-amp 和对卡那霉素耐药的质粒 pSFxv_2-kan。然后,他们分别将质粒 SFxv_2-amp 转化对氨苄青霉素敏感的 11 种不同血清型的福氏志贺菌株 1a、1b、2a、2b、3a、4a、4b、5a、X、Y 和 6,而质粒 pSFxv_2-kan 转化对卡那霉素敏感的菌株 1c 和 1d。转化菌株分别在含有氨苄青霉素或卡那霉素的 LB 平板上过夜培养后,均获得耐药生长的转化菌株,并能够表达 MASF IV-1 抗原,因此,分别将转化菌株命名为“1av、1bv、2av……”。从转化菌株中提取出 质粒 pSFxv_2-amp 和 pSFxv_2-kan,并能用 PCR 方法从质粒提取物中扩增出 *opt* 基因。这说明质粒 pSFxv_2-amp 或 SFxv_2-kan 能够转化进各种血清型的福氏志贺菌中。稳定性试验发现质粒, pSFxv_2-amp 或 SFxv_2-kan 能在转化菌株中稳定存在。此外,通过接合作用试验发现质粒 pSFxv_2 可通过接合作用在不同血清型福氏志贺菌株间移动^[21]。

4.2.2 含有质粒pSFxv_2的转化菌株都表达MASF IV-1抗原

应用日本生研公司的多克隆血清和瑞典 AB 公司的单克隆抗体试剂检测转化菌株, 除了 4b 和 5a 的转化菌株外, 其他血清型的转化菌株都能与 MASF IV-1 单克隆抗体反应。其中, 除 1a、1b、2b 和 Y 的转化菌株与 MASF IV-1 抗体反应较弱外, 其他血清型的转化菌株反应较强。虽然 4bv 和 5av 未与 MASF IV-1 抗体反应, 但其 O 抗原结构分析发现, 4bv 和 5av 均表达 MASFIV-1 抗原^[21]。此外, 转化菌株 6v 与先前孟加拉国报道的非典型 6 血清型菌株特性相似^[16-17], 都与 6 型特异单克隆血清 VI 和 MASF IV-1 单克隆抗体凝集, 因此, 6v 血清型可能在自然界中已经存在。

4.2.3 转化菌株中磷酸乙醇胺修饰与糖基化、乙酰化间的相互作用

带有 *opt* 基因的质粒 pSFxv_2 转化不同血清型的福氏志贺菌后, 在 O 抗原 Rha^{II} 和 (或) Rha^{III} 上发生 PEtN 修饰, PEtN 修饰与其结合点或是临位的糖基化和 (或) 乙酰化间相互竞争和 (或) 相互抑制。例如: (1) PEtN 修饰与糖基化相互竞争。血清型 3a 和 X 在 Rha^{II} 上没有修饰基团, 而在 Rha^{III} 上有糖基, 与群抗原 7,8 反应。转化菌株 3av 和 Xv 中的 Rha^{III} 上的 PEtN 修饰与糖基化竞争, 使 Rha^{III} 上糖基减少。因此, 在凝集反应中, 3av 的群抗原 7,8 反应阴性, Xv 的 7,8 反应比 X 弱。(2) PEtN 修饰与糖基化、乙酰化间相互抑制。血清型 Y、4a 和 4b 的 O-抗原 Rha^{III} 上无糖基或乙酰基。因此, 转化菌株 Yv、4av、4bv 的 Rha^{II} 和 Rha^{III} 上都有 PEtN 修饰。Y 的 N-乙酰葡萄糖胺 (GlcNAc) 上无糖基, 而血清型 4a 和 4b 的 GlcNAc 的 6 位糖基抑制了 4av、4bv Rha^{II} 上的 PEtN 修饰, 因此, 转化菌株 4av 和 4bv 上的 PEtN 基团量仅为 Yv 的 50%。反之, 磷酸乙醇胺修饰也抑制了 GlcNAc 的 6 位糖基化, 4av 和 4bv 的糖基量为 4a 和 4b 的 80%。此外, Rha^{II} 和 Rha^{III} 上的 PEtN 修饰也抑制了 4bv Rha^I 上的 2 位乙酰化, 致使 4bv Rha^I 上的乙酰基团比 4b 减少 50%, 从而使凝集反应中与 6 型特异血清的反应比 4b 弱^[21]。

5 MASF IV-1 抗原的鉴定

目前, MASF IV-1 抗原的鉴定金标准为用瑞士 AB 试剂公司的 MASF IV-1 单克隆抗体进行凝集试验, 但 MASF IV-1 单克隆抗体比较昂贵, 不易购买。2013 年, 王建平等^[22] 用血清型 036_Yv (O-抗原

PEtN 修饰) 菌株免疫兔子后制备出针对 O-抗原 PEtN 修饰的特异抗血清, 能特异性与携带 PEtN 基团的 Xv、4av 和 Yv 血清型发生凝集, 效价为 1:32。此外, 2015 年, 阿根廷研究者利用 Xv 型福氏志贺菌株研制出了 AA479 抗血清, 同样能够鉴定 PEtN 修饰的福氏志贺菌, 与单克隆抗体 MASF IV-1 鉴定的一致率为 100%^[23]。

对 MASF IV-1 抗原决定基因 *opt* 建立 PCR 鉴定方法, 能够对 Xv、4av 和 Yv 血清型进行快速鉴定。罗霞等^[24-25] 针对 O 抗原合成基因 *wzx*、IV 型抗原决定基因 *gtrIV*、7;8 群抗原决定基因 *gtrX* 和 MASF IV-1 抗原决定基因 *opt* 建立了对 Xv 和 4av、Yv 血清型鉴定的 PCR 方法。制备出 PEtN 修饰特异抗血清及建立 Xv、4av 和 Yv 的 PCR 鉴定方法, 为 Xv、4av 和 Yv 血清型福氏志贺菌引起的痢疾检测和监测提供了便利。

磷酸乙醇胺修饰为近年发现的一种新的福氏志贺菌血清型修饰方式, 血清型 Xv 在中国曾经超越 2a 成为优势血清型, 说明磷酸乙醇胺修饰具有很大的优势。因质粒具有高移动性, 在选择压力的情况下, 携带有 *opt* 基因的质粒在自然界中也可能通过结合作用形成新的血清型。因此, 加强对 4av、Xv 和 Yv 的监测及对磷酸乙醇胺修饰的致病力、耐药性等研究, 是预防志贺菌痢疾的重要手段之一。

[参 考 文 献]

- [1] Kotloff KL, Winickoff JP, Ivanoff B, et al. Global burden of *Shigella* infections: implications for vaccine development and implementation of control strategies. *Bull World Health Organ*, 1999, 77: 651-66
- [2] Chang Z, Lu S, Chen L, et al. Causative species and serotypes of *Shigellosis* in mainland China: systematic review and meta-analysis. *PLoS One*, 2012, 7: e52515
- [3] El-Gendy A, El-Ghorab N, Lane EM, et al. Identification of *Shigella flexneri* subserotype 1c in rural Egypt. *J Clin Microbiol*, 1999, 37: 873-4
- [4] Stagg RM, Cam PD, Verma NK. Identification of newly recognized serotype 1c as the most prevalent *Shigella flexneri* serotype in northern rural Vietnam. *Epidemiol Infect*, 2008, 136: 1134-40
- [5] Foster RA, Carlin NI, Majcher M, et al. Structural elucidation of the O-antigen of the *Shigella flexneri* provisional serotype 88-893: structural and serological similarities with *S. flexneri* provisional serotype Y394 (1c). *Carbohydr Res*, 2011, 346: 872-6
- [6] Ye C, Lan R, Xia S, et al. Emergence of a new multidrug-resistant serotype X variant in an epidemic clone of *Shigella flexneri*. *J Clin Microbiol*, 2010, 48: 419-26
- [7] Luo X, Sun Q, Lan R, et al. Emergence of a novel *Shigella*

- flexneri* serotype 1d in China. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2012, 74: 316-9
- [8] Sun Q, Lan R, Wang J, et al. Identification and characterization of a novel *Shigella flexneri* serotype Yv in China. *PLoS One*, 2013, 8: e70238
- [9] Allison GE, Verma NK. Serotype-converting bacteriophages and O-antigen modification in *Shigella flexneri*. *Trends Microbiol*, 2000, 8: 17-23
- [10] Sun Q, Knirel YA, Lan R, et al. A novel plasmid-encoded serotype conversion mechanism through addition of phosphoethanolamine to the O-antigen of *Shigella flexneri*. *PLoS One*, 2012, 7: e46095
- [11] Pryamukhina NS, Khomenko NA. Suggestion to supplement *Shigella flexneri* classification scheme with the subserovar *Shigella flexneri* 4c: phenotypic characteristics of strains. *J Clin Microbiol*, 1988, 26: 1147-9
- [12] Carlin NI, Lindberg AA. Monoclonal antibodies specific for *Shigella flexneri* lipopolysaccharides: clones binding to type IV, V, and VI antigens, group 3,4 antigen, and an epitope common to all *Shigella flexneri* and *Shigella dysenteriae* type 1 stains. *Infect Immun*, 1987, 55: 1412-20
- [13] Zhang N, Lan R, Sun Q, et al. Genomic portrait of the evolution and epidemic spread of a recently emerged multidrug-resistant *Shigella flexneri* clone in China. *J Clin Microbiol*, 2014, 52: 1119-26
- [14] Perepelov AV, L'Vov VL, Liu B, et al. A new ethanolamine phosphate-containing variant of the O-antigen of *Shigella flexneri* type 4a. *Carbohydr Res*, 2009, 344: 1588-91
- [15] Qiu S, Wang Z, Chen C, et al. Emergence of a novel *Shigella flexneri* serotype 4s strain that evolved from a serotype X variant in China. *J Clin Microbiol*, 2010, 49: 1148-50
- [16] Talukder KA, Dutta DK, Safa A, et al. Altering trends in the dominance of *Shigella flexneri* serotypes and emergence of serologically atypical *S. flexneri* strains in Dhaka, Bangladesh. *J Clin Microbiol*, 2001, 39: 3757-9
- [17] Carlin NI, Rahman M, Sack DA, et al. Use of monoclonal antibodies to type *Shigella flexneri* in Bangladesh. *J Clin Microbiol*, 1989, 27: 1163-6
- [18] Kanipes MI, Lin S, Cotter RJ, et al. Ca²⁺-induced phosphoethanolamine transfer to the outer 3-deoxy-D-manno-octulosonic acid moiety of *Escherichia coli* lipopolysaccharide. A novel membrane enzyme dependent upon phosphatidylethanolamine. *J Biol Chem*, 2001, 276: 1156-63
- [19] Cullen TW, Madsen JA, Ivanov PL, et al. Characterization of unique modification of flagellar rod protein FlgG by *Campylobacter jejuni* lipid A phosphoethanolamine transferase, linking bacterial locomotion and antimicrobial peptide resistance. *J Biol Chem*, 2012, 287: 3326-36
- [20] Knirel YA, Lan R, Senchenkova SN, et al. O-antigen structure of *Shigella flexneri* serotype Yv and effect of the *lpt-O* gene variation on phosphoethanolamine modification of *S. flexneri* O-antigens. *Glycobiology*, 2013, 23: 475-85
- [21] Sun Q, Knirel YA, Lan R, et al. Dissemination and serotype modification potential of pSFxv_2, an O-antigen P_{ETN} modification plasmid in *Shigella flexneri*. *Glycobiology*, 2014, 24: 305-13
- [22] 王建平, 罗霞, 徐建国, 等. 福氏志贺菌 O - 抗原磷酸乙醇胺修饰特异抗血清的制备. *疾病监测*, 2013, 28: 940-2
- [23] van der Ploeg CA, Roge AD, Bordagarria XL, et al. AA479 antiserum: new reagent for the serotype characterization of atypical variants of *Shigella flexneri*. *Rev Argent Microbiol*, 2015, 47: 36-40
- [24] 罗霞, 王建平, 孙强正. 福氏志贺菌Xv血清型聚合酶链反应鉴定方法的建立及应用. *疾病监测*, 2014, 29: 833-6
- [25] 罗霞, 王建平, 孙强正. 福氏志贺菌4av和Yv血清型PCR鉴定方法的建立及应用. *中国人兽共患病学报*, 2015, 31: 501-5