

非定型 *Salmonella* Typhimurium 流行系統の 遺伝的特徴

新井暢夫[†] (国研農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生
研究部門 人獣共通感染症研究領域 腸管病原菌
グループ)



はじめに

サルモネラ属菌は人や動物の腸管に感染・定着し、消化器症状を主体とした病態を引き起こすグラム陰性通性嫌気性桿菌である。本菌は2菌種6亜種から構成され、さらに菌体(O)抗原、鞭毛(H)抗原の組み合わせによって血清型が決定される。これまでに2,600を超える血清型が報告されており、人や動物のサルモネラ症の原因となる血清型の多くは、*Salmonella enterica* subsp. *enterica* に属する。サルモネラ属菌は食中毒起因菌として広く知られ、しばしば畜産物を介して人へ伝播する。他方、獣医学領域において、サルモネラ症は酪農、養牛、養豚経営における主要な損耗要因の一つであり、適切な制御が求められる疾病である。また、サルモネラ属菌はしばしばネズミ、野鳥などといった野生動物からも分離され、これらが農場内に侵入することで汚染が広がるリスクがある。このため、サルモネラ属菌の制御に向けて、人・動物・環境における本菌の状況を個別に捉えるのではなく、「ワンヘルス」の理念に基づき包括的に理解することが重要である。

サルモネラ属菌は血清型によって宿主域が異なっており、例えば血清型 Typhi 及び Paratyphi A の宿主は人であり、血清型 Gallinarum は鶏、Abortusequi は馬といったように、その宿主域が限定されている。一方で、血清型 Typhimurium, Enteritidis などは、人、牛、豚、鶏など多様な動物種に感染することが可能である。このような宿主域の広い血清型では、しばしば人と動物で同じ遺伝系統の菌群が浸潤、拡散することがある。例を挙げると、1990～2000年代の人と動物において *S.* Typhimurium のファージ型 DT104 という特定のクロー

ンが拡散した [1]。世界各地で分離された DT104 は複数のクラスの抗菌薬に対する耐性を獲得しており、治療の難治化を伴うなど、公衆衛生及び家畜衛生上の大きな問題となった。本稿では、近年世界的な流行系統として注目されている Sequence Type 34 (ST34) 非定型 *S.* Typhimurium について、その世界的な分離状況や遺伝的特徴を中心に紹介する。

ST34 非定型 *S.* Typhimurium の世界的な分離状況

サルモネラによる食中毒において *S.* Typhimurium (抗原構造 4,[5],12:i:1,2) の占める割合は大きく、EU では例年 *S.* Enteritidis に次いで第2位に位置している [2-6]。わが国においても1980年代から2000年代初頭にかけて *S.* Typhimurium は原因血清型の上位であった [7]。近年でも本血清型は上位10血清型に位置しており、公衆衛生の観点から重要な血清型であると言える [8]。このような中、抗原構造が *S.* Typhimurium と類似した *S.* 4,[5],12:i:- が世界各地で人及び動物から分離されはじめた。EU では2009年において *S.* 4,[5],12:i:- による食中毒の発生件数は圏外(11位以下)であったが、2010年には4位となり、2011年から2021年に至るまで血清型 Enteritidis, Typhimurium に続く第3位となっている [2-6]。また、抗原構造表に基づくと、*S.* Typhimurium と *S.* 4,[5],12:i:- は異なる血清型として扱われる。一方で、菌の全ゲノム塩基配列情報に基づく分子系統解析(全ゲノム系統解析)によって、これまでに分離されてきた *S.* 4,[5],12:i:- は基本的に *S.* Typhimurium の単相変異株(非定型 *S.* Typhimurium) と考えるのが妥当である。

同一菌種あるいは同一の血清型であっても、各種の変異や遺伝子構造のダイナミックな変化(獲得・脱落)を経て、集団内に遺伝的な多様性が生じる。非定型 *S.*

[†] 連絡責任者：新井暢夫 (国研農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門 人獣共通感染症研究領域 腸管病原菌グループ 研究員)

〒305-0856 つくば市観音台3-1-5 ☎・FAX 029-838-7750 E-mail : narai@affrc.go.jp

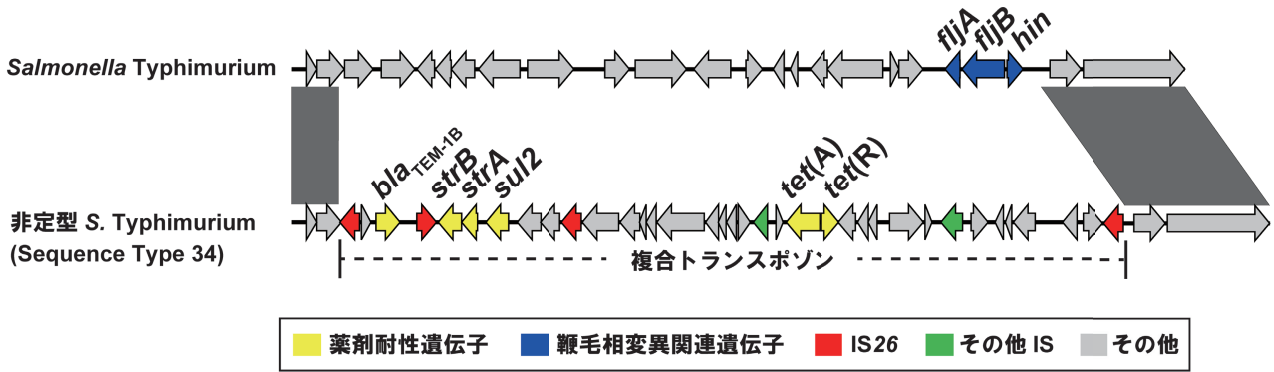


図1 S. Typhimurium 及び sequence type 34 非定型 S. Typhimurium の2相鞭毛抗原遺伝子周辺領域の構造比較

Typhimurium において、これまで複数の遺伝系統が報告されてきたが、特に multilocus sequence typing (MLST) によって ST34 という遺伝子型に型別される菌株の分離頻度が増加している。公共データベースの Enterobase(公開サイト: <https://enterobase.warwick.ac.uk/>) には、古くは1990年代初頭のヨーロッパ由来 ST34 株が登録されており、その後、本遺伝子型株の登録数は年々上昇している。2015年における登録数は S. Typhimurium で最もメジャーな ST19 と同水準となり、2018年においては ST19 を上回る登録数であった [9]。なお、2023年12月時の ST34 と ST19 の登録数は、それぞれ 28,023 株、46,971 株となっている。地理的には、ST34 非定型 S. Typhimurium は当初ヨーロッパを中心に分離報告があったが、その後、北米、オセアニア、アジア、アフリカといったように世界各地で人及び各種動物から分離されるようになった [10-14]。これまでに、ST34 非定型 S. Typhimurium による人の集団感染事例はヨーロッパを中心に報告されており、豚肉やその加工品を原因とする事例が問題となっている [15-17]。また、畜産物と直接的な関連がある可能性は低い、特に2021年から2022年にかけて発生したチョコレートの原因とする事例について、汚染の疑われる製品が113カ国に流通したことから WHO の国際食品安全当局ネットワークにおいてグローバルアラートが発出された [18]。2022年4月時点での本事例におけるサルモネラ症の発症者は、ヨーロッパを中心に11カ国151例に上るなど規模の大きな事例であった。

サルモネラ属菌に限らず、広範囲な地域に拡散した遺伝系統は、しばしば多剤耐性株で構成される。前述の DT104 について、本ファージ型のすべてが多剤耐性株ではなく、複数の薬剤耐性遺伝子を獲得後、グローバルに拡散されたと考えられている [1]。多剤耐性 DT104 は、基本的にアンピシリン、クロラムフェニコール、ストレプトマイシン、サルファ剤、テトラサイクリンに耐性を示し、これらの抗菌薬への耐性を規定する遺伝子は *Salmonella* Genomic Island-1 (SGI-1) と呼ばれる染

色体上の特定領域にまとまって存在する [19]。SGI-1 は、進化の過程で DT104 が獲得した因子であると考えられており、実験的に水平伝播することが証明されている [20]。また、これまでにサルモネラの他の血清型や他菌種において、さまざまな SGI-1 のバリエントが報告されており、多剤耐性を規定する因子として注目されている [21]。これらの抗菌薬は、所属するクラスの類似の抗菌薬を含め、家畜領域での使用実績があるため、本クローンの拡散の背景の一つに抗菌薬による選択圧があった可能性が考えられる。他方、ST34 非定型 S. Typhimurium も多剤耐性株で構成され、多くがアンピシリン、ストレプトマイシン、サルファ剤、テトラサイクリンに耐性を示す (R-type ASSuT) [22]。本遺伝子型では、本来2相 H 抗原遺伝子が存在する染色体領域が広範囲に欠失し、代わりに上述の4薬剤耐性を規定する遺伝子が搭載された複合トランスポゾンが存在する (図1)。さらに、染色体上の別の領域には重金属抵抗性を規定する遺伝子がまとまって存在する可動性遺伝子の ICEmST が存在する [10]。銅は増体量の向上などを目的に家畜の飼料添加物として使用されており、特に離乳期の豚用飼料に多く含有されている [23]。銅は抗菌作用を示すことが広く知られており、飼料中の銅濃度は菌を選択し得る濃度で含まれる場合がある。このため、ST34 非定型 S. Typhimurium は抗菌薬のみならず重金属によっても選択されてきた可能性が考えられる。

わが国の家畜に分布する S. Typhimurium と非定型株の遺伝的特徴と流行系統

非定型 S. Typhimurium はわが国の家畜のサルモネラ症においても注視される血清型であり、2016年度に全国の家畜保健衛生所に対して行われたアンケート調査によると、1998年以降に記録された家畜のサルモネラ症のうち、非定型 S. Typhimurium の占める割合は、乳用牛で第2位 (9.1%)、肉用牛で第3位 (12.1%)、豚で第3位 (4.4%) であった (農林水産省委託事業平成28年度戦略的監視・診断体制整備推進事業)。この

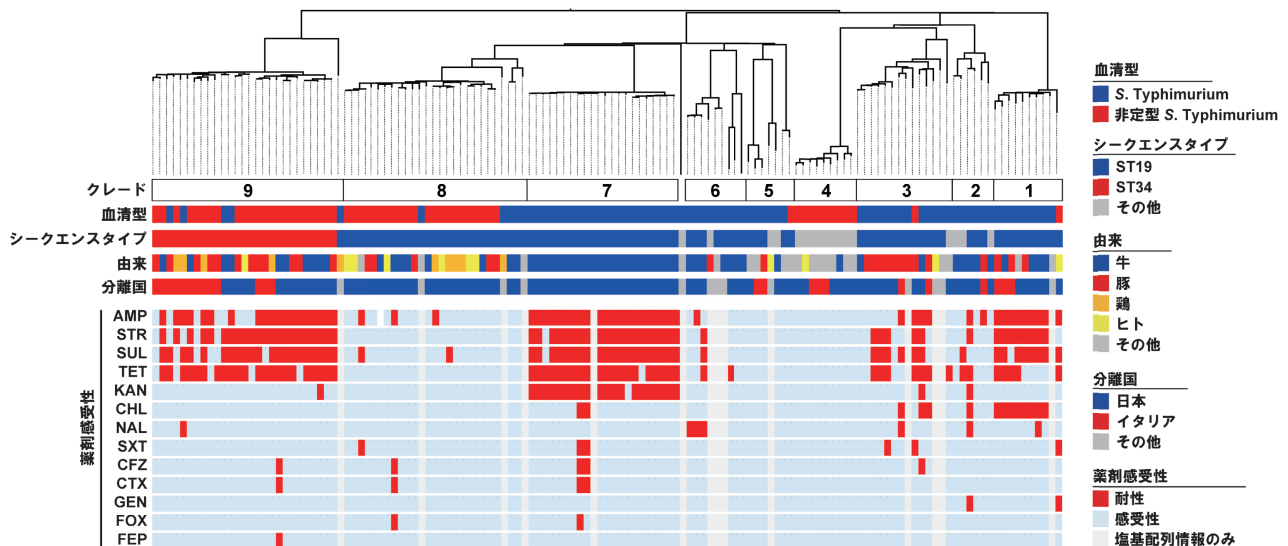


図2 S. Typhimurium 及び非定型 S. Typhimurium の全ゲノム系統解析

国内外で分離された S. Typhimurium と非定型 S. Typhimurium 計 131 株の共通ゲノム領域から検出された SNPs に基づく分子系統樹。系統樹に付したカラムは、各株の疫学情報及び薬剤感受性を示す。

各略号は次の抗菌薬を表す：AMP：アンピシリン，STR：ストレプトマイシン，SUL：サルファ剤，TET：テトラサイクリン，KAN：カナマイシン，CHL：クロラムフェニコール，NAL：ナリジクス酸，SXT：ST 合剤，CFZ：セファゾリン，CTX：セフォタキシム，GEN：ゲンタマイシン，FOX：セフォキシチン，FEP：セフェピム

ように、非定型 S. Typhimurium は家畜のサルモネラ症制御を考える上で重要な血清型であるが、国内に分布する本菌の遺伝的背景や特徴が不明であった。すなわち、これまで分離されてきた S. Typhimurium との関連、及び海外株との遺伝的関係性が明らかではなかった。そこで、筆者らは国内のさまざまな材料から分離された S. Typhimurium 及び非定型株と、非定型 S. Typhimurium によるサルモネラ症が顕在化しているヨーロッパを代表してイタリア由来株を含めた全ゲノム系統解析を実施した [24]。その結果、国内に分布する非定型株を含めた S. Typhimurium は大きく 9 つのクレードに区分できることが明らかとなった (図 2)。特徴的なクレードとして、多剤耐性 DT104 がクレード 1、非 DT104 多剤耐性 S. Typhimurium がクレード 7 に集約された。他方、非定型 S. Typhimurium は主にクレード 4、8、9 に分かれた。クレード 4 は鞭毛相変異に関与する遺伝子内に点変異が生じたことで単相化した菌株で構成され、野鳥や環境材料からの分離株であった。クレード 8 はクレード 7 と比較的近縁な関係にあり、2 相 H 抗原遺伝子を欠失したことで単相化している。そしてクレード 9 はイタリアと日本由来株が混在しており、ST34 で構成された。さらに、クレード 9 の染色体上には ST34 特異的な複合トランスポゾンと ICE_mST が存在することが確認された。このため、わが国においても世界的な流行系統である ST34 非定型 S. Typhimurium が浸潤していることが明らかとなった。

続いて、筆者らは各クレードを区別すべき遺伝子型と

捉え、遺伝子型特異的な一塩基多型 (SNP: single nucleotide polymorphism) を標的とした型別法を構築した [24]。本法を過去 40 年間に日本国内の牛及び豚から分離された S. Typhimurium と非定型株に適用したところ、1990 年代には牛と豚において多剤耐性 DT104 で構成される SNP1 型、2000 年代の牛では SNP7 型、そして 2010 年以降において SNP9 型が牛と豚のどちらにおいても最優勢となったことが明らかとなった。なお、本解析で型別された SNP9 型の 99% は非定型 S. Typhimurium であった。このため、近年のわが国の家畜における非定型 S. Typhimurium によるサルモネラ症の顕在化の背景には、ST34 非定型 S. Typhimurium の侵入と拡散があったことが示唆された。

ST34 非定型 S. Typhimurium の小進化と薬剤耐性

前述の通り、近年のわが国の家畜において最優勢の ST34/SNP9 型であるが、どのように S. Typhimurium から派生したのか、牛及び豚由来株間の遺伝的な関係性が不明であった。そこで、筆者らが ST34/SNP9 型株について全ゲノム系統解析を実施したところ、日本国内に分布する ST34/SNP9 型株は大きく 2 つの系統 (クレード 9-1、9-2) に区分できることが明らかとなった (図 3) [25]。両者のゲノム構造の違いとして、2 相 H 抗原遺伝子である *fljB* 周辺の欠失範囲が挙げられる。ST34 非定型 S. Typhimurium は *fljB* を保有していないことで単相化しているが、クレード 9-1 と比べてクレード 9-2 では *fljB* 周辺の欠失範囲が拡大している (図 4)。筆者らは

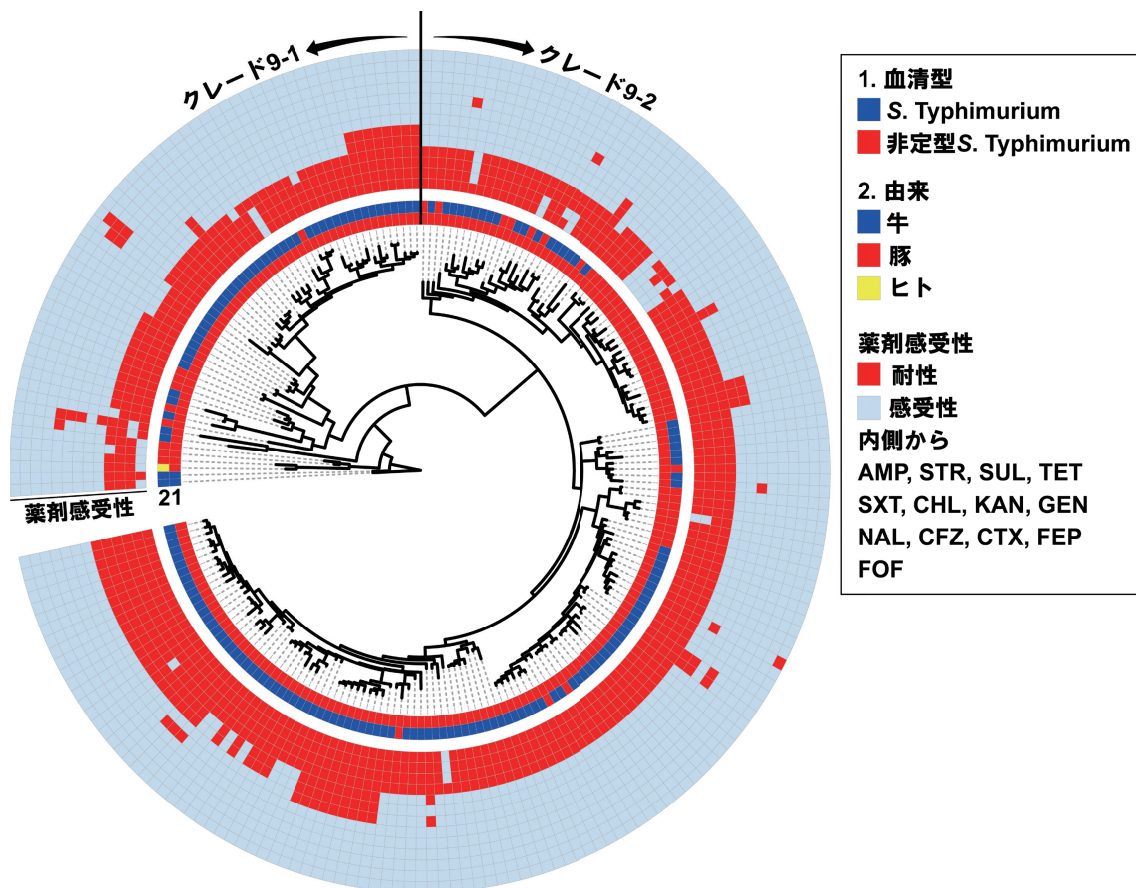


図3 ST34/SNP9型 *S. Typhimurium* 及び非定型 *S. Typhimurium* の全ゲノム系統解析

国内で分離された ST34/SNP9 型 計 214 株の共通ゲノム領域内の SNPs に基づく分子系統樹。系統樹に付したカラムは、内側から各株の疫学情報、薬剤感受性を示す。薬剤の略号は FOF：ホスホマイシンを除き、図2と同様。

fljB 及びその周辺領域の欠失には、複合トランスポゾンの両端に存在する挿入配列 (IS: insertion sequence) が関与すると考えている。すなわち、まず ST34 非定型 *S. Typhimurium* の祖先である *S. Typhimurium* の *fljB* 近傍に複合トランスポゾンが挿入され、その後、進化の過程において IS の分子内転移によって転移前後の *fljB* を含む遺伝領域が欠失することで ST34 非定型 *S. Typhimurium* が発生したと推測している (図4)。その後、本仮説を支持するデータとして、IS による *fljB* 周辺の欠失は、*in vitro*, *in vivo* 両方で実験的に生じることが報告された [26]。

また、クレード 9-1 及び 9-2 において、牛及び豚由来株間で数個の一塩基変異 (SNV: single nucleotide variant) が認められるのみ、あるいは SNV が検出されない菌株セットが確認された。これは牛及び豚において同一由来株が分布していたことを示唆するデータであり、動物種を越えたサルモネラ属菌の拡散を防ぐためには、動物種を問わず、関係者間で広く情報を共有することが求められる。

ST34/SNP9 型株の多くは ASSuT の耐性パターンを

示すのに加えて、近年の分離株では多剤耐性化が進行している [25]。具体的には、ASSuT に加えてクロラムフェニコール、トリメトプリムに耐性を示す株が増加している (R-type ASSuTCTm)。これらの菌株では、元々のサルファ剤耐性と合わせり ST 合剤に耐性を示すことになる。時間的な観点では、1998 年から 2017 年に国内の牛及び豚から分離された ST34/SNP9 型 計 214 株のうち、ASSuTCTm を示す菌株の割合は、2014 年以前には 2.6% であったのに対して、2015 年以降には 26% となった。これらの菌株のクロラムフェニコール及びトリメトプリム耐性を規定する遺伝子はプラスミドに搭載されていることが確認され、ST34/SNP9 型株はプラスミドを獲得することで多剤耐性化が進行していると考えられる。加えて、公衆衛生及び家畜衛生の両面から注視されているプラスミド性コリスチン耐性遺伝子を搭載したプラスミドが牛由来株より検出された (図5)。興味深いことに、当該プラスミドの塩基配列は、東南アジアの人、中国の鶏より分離された大腸菌が保有するプラスミドと非常に似ていることが分かった (図5)。これらの菌株間に直接的な疫学的関連がある可能性は低

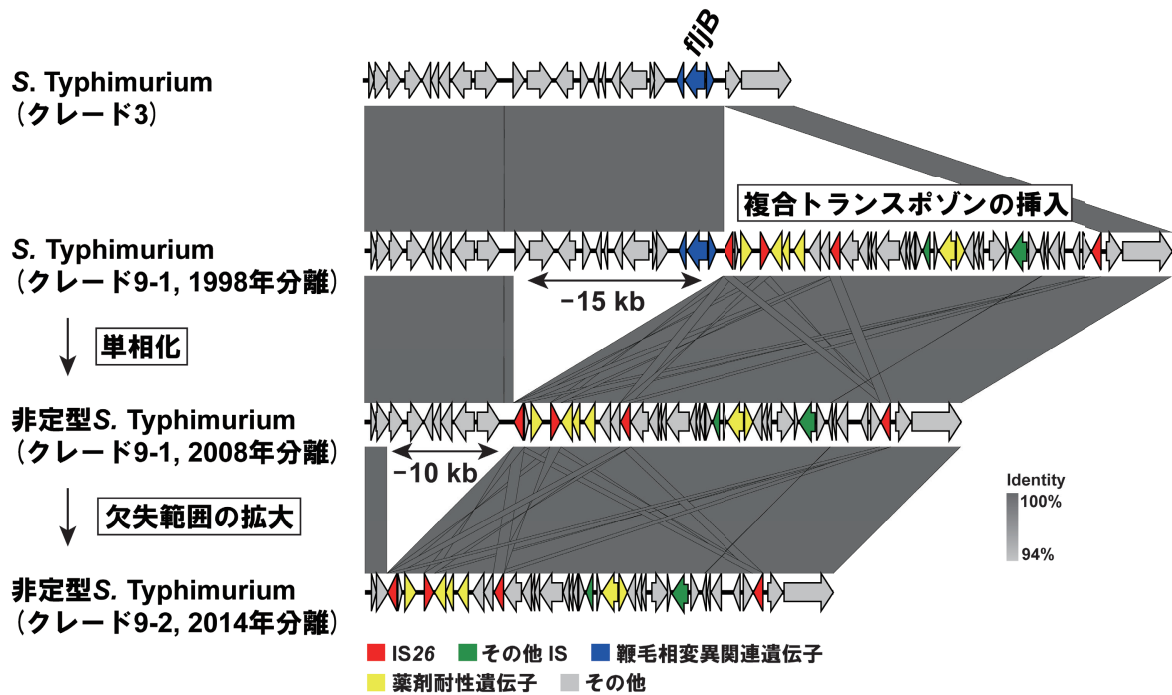


図4 2相H抗原遺伝子周辺の構造比較から推測される *S. Typhimurium* の単相化機構

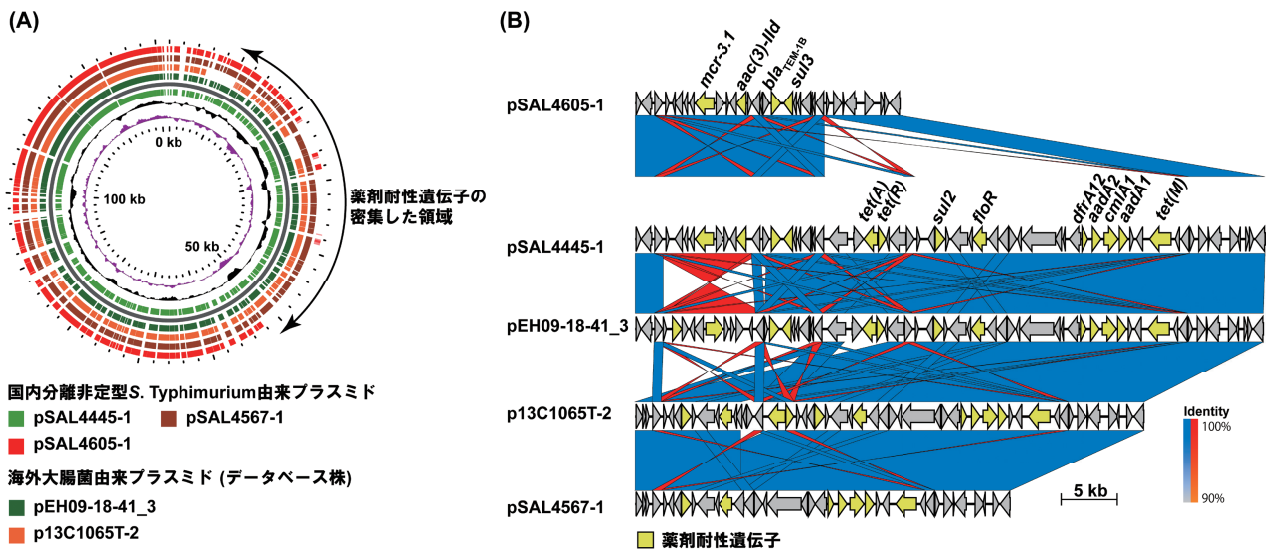


図5 ST34/SNP9型非定型 *S. Typhimurium* が保有する多剤耐性プラスミドと海外データベース株由来プラスミドの構造比較

- (A) 内側から次のプラスミドを示す; pSAL4445-1 (日本, 牛, 非定型 *S. Typhimurium*, アクセッション番号: AP023301.1), pEH09-18-41_3 (ラオス, 人, 大腸菌, アクセッション番号: CP063506.1), p13C1065T-2 (中国, 鶏, 大腸菌, アクセッション番号: CP019261.1), pSAL4567-1 (日本, 牛, 非定型 *S. Typhimurium*, アクセッション番号: AP023307.1), pSAL4605-1 (日本, 牛, 非定型 *S. Typhimurium*, アクセッション番号: AP023314.1).
- (B) 各プラスミドの薬剤耐性遺伝子が密集した領域の構造比較。

く、伝播経路は不明である。当該プラスミドが、どのようなソース・経路を介して国内のST34/SNP9型株にたどり着いたのか、今後の更なる研究の発展が望まれる。

おわりに

本稿では、近年人と動物で問題となっている非定型 *S.*

Typhimurium の流行系統について、国内外の分離状況や遺伝的特徴を中心に紹介した。このST34型株は遅くとも1990年代から分離されはじめ、その後、四半世紀ほどで世界各地の人、動物に拡散した。加えて、本クローンは現在も世界的に拡大傾向にあるとともに、外来遺伝子を獲得するなどして進化を続けている。サルモネ

ラ属菌に限らず、病原細菌は遺伝子の獲得・欠失、変異の蓄積を経て進化することで、遺伝的な多様性が生じる。このため、国内外、都道府県、各地域内で対象とする菌の流行系統及びその特徴を把握することが、迅速かつ有効な治療・防疫対策につながる。

また、次世代シーケンサーの普及、解析技術の進歩に伴い、本稿で紹介したように、別菌種かつ疫学的関連が見当たらない菌株間で類似のプラスミドが検出されるような事例がしばしば報告されるようになった。流行系統の更なる拡散を防ぐのみならず、薬剤耐性遺伝子の拡散を防ぐためにも、国内外の人、動物、環境由来細菌の分布、薬剤耐性遺伝子の保有状況を包括的に理解することが必要である。このような取組の例として、国立感染症研究所が運営する GenEpid-J (Database of Pathogen Genomics and Epidemiology) は、人・動物・環境由来細菌のゲノムデータや疫学情報を蓄積し、薬剤耐性菌及び薬剤耐性遺伝子の分子疫学解析に利用されている。人獣共通感染症の原因となる病原細菌の人、動物へのリスクを低減するためには、「ワンヘルス」の理念に基づく研究分野の垣根を越えた体制の構築が重要である。

参 考 文 献

- [1] Leekitcharoenphon P, Hendriksen RS, Le Hello S, Weill FX, Baggesen DL, Jun SR, Ussery DW, Lund O, Crook DW, Wilson DJ, Aarestrup FM : Global Genomic Epidemiology of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium DT104, Appl Environ Microbiol, 82, 2516-2526 (2016)
- [2] European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control : The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2009, EFSA Journal, 9:2090 (2011)
- [3] European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control : The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2011, EFSA Journal, 11:3129 (2013)
- [4] European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control : The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2014, EFSA Journal, 13:4329 (2015)
- [5] European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control : The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017, EFSA Journal, 16:5500 (2018)
- [6] European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control : The European Union one health 2020 zoonoses report, EFSA Journal, 19:6971 (2021)
- [7] 国立感染症研究所：病原微生物検出情報 IASR グラフ細菌 2 (過去) サルモネラ血清型別割合, (<https://www.niid.go.jp/niid/ja/iasr/510-surveillance/iasr/graphs/2331-iasrgbak2.html>), (参照 2023-12-13)
- [8] 国立感染症研究所：病原微生物検出情報 IASR グラフ細菌 2008-2022 サルモネラ血清型別割合, (<https://www.niid.go.jp/niid/ja/typhi-m/iasr-reference/510-graphs/11320-iasrgb-arc.html>), (参照 2023-12-13)
- [9] Biswas S, Li Y, Elbediwi M, Yue M : Emergence and dissemination of mcr-carrying clinically relevant *Salmonella* Typhimurium monophasic clone ST34, Microorganisms, 7:298 (2019)
- [10] Petrovska L, Mather AE, AbuOun M, Branchu P, Harris SR, Connor T, Hopkins KL, Underwood A, Lettini AA, Page A, Bagnall M, Wain J, Parkhill J, Dougan G, Davies R, Kingsley RA : Microevolution of Monophasic *Salmonella* Typhimurium during Epidemic, United Kingdom, 2005-2010, Emerg Infect Dis, 22, 617-624 (2016)
- [11] Elnekave E, Hong S, Mather A, Boxrud D, Taylor A, Lappi V, Johnson T, Vannucci F, Davies P, Hedberg C, Perez A, Alvarez J : *Salmonella enterica* Serotype 4,[5],12:i:- in swine in the United States midwest: an emerging multidrug-resistant clade, Clin Infect Dis, 66, 877-885 (2018)
- [12] Arnott A, Wang Q, Bachmann N, Sadsad R, Biswas C, Sotomayor C, Howard P, Rockett R, Wiklendt A, Iredell J, Sintchenko V : Multidrug-resistant *Salmonella enterica* 4,[5],12:i:- sequence type 34, new south wales, Australia, 2016-2017, Emerg Infect Dis, 24, 751-753 (2018)
- [13] Mather A, Phuong T, Gao Y, Clare S, Mukhopadhyay S, Goulding D, Hoang N, Tuyen H, Lan N, Thompson C, Trang N, Carrique-Mas J, Tue N, Campbell J, Rabaa M, Thanh D, Harcourt K, Hoa N, Trung N, Schultsz C, Perron G, Coia J, Brown D, Okoro C, Parkhill J, Thomson N, Chau N, Thwaites G, Maskell D, Dougan G, Kenney L, Baker : New variant of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serovar Typhimurium associated with invasive disease in immunocompromised patients in Vietnam, mBio, 9, e01056-18 (2018)
- [14] Al-Gallas N, Khadraoui N, Hotzel H, Tomaso H, El-Adawy H, Neubauer H, Belghouthi K, Ghedira K, Gautam HK, Kumar B, Laouini D, Zarrouk S, Abbassi MS, Aissa RB : Quinolone resistance among *Salmonella* Kentucky and Typhimurium isolates in Tunisia: first report of *Salmonella* Typhimurium ST34 in Africa and qnrB19 in Tunisia, J Appl Microbiol, 130, 807-818 (2021)
- [15] Helmuth IG, Espenhain L, Ethelberg S, Jensen T, Kjeldgaard J, Litrup E, Schjørring S, Müller L : An outbreak of monophasic *Salmonella* Typhimurium associated with raw pork sausage and other pork products, Denmark 2018-19, Epidemiol Infect, 147:e315 (2019)
- [16] Pardos de la Gandara M, Fournet N, Bonifait L, Lefèvre S, Chemaly M, Grastilleur C, Cadel-Six S, Fach P, Pignault A, Brisabois A, Jourdan-Da Silva N, Weill FX : Countrywide multi-serotype outbreak of

- Salmonella* Bovismorbificans ST142 and monophasic *Salmonella* Typhimurium ST34 associated with dried pork sausages in France, September 2020* to January 2021, Euro Surveill, 28:2200123 (2023)
- [17] Napoleoni M, Villa L, Barco L, Lucarelli C, Tiengo A, Baggio G, Dionisi AM, Angellotti A, Ferretti E, Ruggeri S, Staffolani M, Rocchegiani E, Silenzi V, Morandi B, Blasi G : Monophasic Variant of *Salmonella* Typhimurium 4,[5],12:i:- (ACSSuGmTmp-Sxt Type) Outbreak in Central Italy Linked to the Consumption of a Roasted Pork Product (Porchetta), Microorganisms, 11:2567 (2023)
- [18] World Health Organization : Multi-country outbreak of *Salmonella* Typhimurium linked to chocolate products – Europe and the United States of America, (<https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2022-DON369>), (accessed 2023-12-13)
- [19] Boyd D, Peters GA, Cloeckaert A, Boumedine KS, Chaslus-Dancla E, Imberechts H, Mulvey MR : Complete nucleotide sequence of a 43-kilobase genomic island associated with the multidrug resistance region of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT104 and its identification in phage type DT120 and serovar Agona, J Bacteriol, 183, 5725–5732 (2001)
- [20] Doublet B, Boyd D, Mulvey MR, Cloeckaert A : The *Salmonella* genomic island 1 is an integrative mobilizable element, Mol Microbiol, 55, 1911–1924 (2005)
- [21] Mulvey MR, Boyd DA, Olson AB, Doublet B, Cloeckaert A : The genetics of *Salmonella* genomic island 1, Microbes Infect, 8, 1915–1922 (2006)
- [22] García P, Malorny B, Rodicio MR, Stephan R, Hächler H, Guerra B, Lucarelli C : Horizontal Acquisition of a Multidrug-Resistance Module (R-type ASSuT) Is Responsible for the Monophasic Phenotype in a Widespread Clone of *Salmonella* Serovar 4,[5],12:i:-, Front Microbiol, 7:680 (2016)
- [23] Medardus JJ, Molla BZ, Nicol M, Morrow WM, Rajala-Schultz PJ, Kazwala R, Gebreyes WA : In-feed use of heavy metal micronutrients in U.S. swine production systems and its role in persistence of multidrug-resistant salmonellae, Appl Environ Microbiol, 80, 2317–2325 (2014)
- [24] Arai N, Sekizuka T, Tamamura Y, Tanaka K, Barco L, Izumiya H, Kusumoto M, Hinenoya A, Yamasaki S, Iwata T, Watanabe A, Kuroda M, Uchida I, Akiba M : Phylogenetic Characterization of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium and Its Monophasic Variant Isolated from Food Animals in Japan Revealed Replacement of Major Epidemic Clones in the Last 4 Decades, J Clin Microbiol, 56, e01758–17 (2018)
- [25] Arai N, Sekizuka T, Tamamura-Andoh Y, Barco L, Hinenoya A, Yamasaki S, Iwata T, Watanabe-Yanai A, Kuroda M, Akiba M, Kusumoto M : Identification of a Recently Dominant Sublineage in *Salmonella* 4,[5],12:i:- Sequence Type 34 Isolated From Food Animals in Japan, Front Microbiol, 12:690947 (2021)
- [26] Wang Z, Gu D, Hong Y, Hu Y, Gu J, Tang Y, Zhou X, Zhang Y, Jiao X, Li Q : Microevolution of *Salmonella* 4,[5],12:i:- derived from *Salmonella enterica* serovar Typhimurium through complicated transpositions, Cell Rep, 42:113227 (2023)