

研究报告

一种基于PCR技术的沙门氏菌血清分型试剂盒与传统血清分型方法比较

丁凤兰¹, 柳江山², 张小芳², 曲连海²

(1. 日照疾病预防控制中心, 山东日照 276826; 2. 北京美正生物科技有限公司, 北京 100110)

摘要:目的 评估一种基于PCR技术的沙门氏菌快速血清分型试剂盒效用,并与传统血清学分型鉴定方法进行对比,为研究人员提供一种更高效、简便的沙门氏菌血清学鉴定分型方法。方法 从本实验室菌株库中选取59株沙门氏菌,分别采用沙门氏菌血清分型PCR试剂盒和传统血清凝集法对所有菌株进行分型鉴定,比对两种分型方法的符合率。结果 59株沙门氏菌均通过传统血清凝集方法完成分型,分型率100%。59株菌株均通过沙门氏菌血清分型PCR试剂盒成功分型,分型率100%,两种方法鉴定沙门血清型符合率100%。结论 沙门氏菌血清分型PCR试剂盒能达到较高的分型率,大大缩短检测时间,减少常规血清分型的工作量及昂贵的血清消耗,节约成本,可以作为一种沙门氏菌快速血清分型方法进行应用。

关键词:沙门氏菌;沙门血清型;传统血清凝集法;PCR试剂盒;分子分型

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2022)04-0668-05

DOI:10.13590/j.cjfh.2022.04.006

Comparison of a PCR-based *Salmonella* serotyping kit with traditional serotyping methodsDING Fenglan¹, LIU Jiangshan², ZHANG Xiaofang², QU Lianhai²

(1. Rizhao Center for Disease Control and Prevention, Shandong Rizhao 276826, China;

2. Beijing Meizheng Biological Technology Co., Ltd., Beijing 100110, China)

Abstract: Objective To evaluate the efficacy of a polymerase chain reaction (PCR)-based rapid serotyping kit, compare it with traditional serological identification methods, and provide a more efficient and convenient method for serological identification of *Salmonella*. **Methods** Fifty nine *Salmonella* strains were selected from the strain library of our laboratory, and all the strains were typed and identified using the *Salmonella* serotyping PCR kit and the traditional serum agglutination method, and the coincidence rates of the two typing methods were compared. **Results** All 59 *Salmonella* strains were typed by traditional serum agglutination methods, and the typing rate was 100%. All 59 strains were successfully typed by the *Salmonella* serotyping PCR kit with a typing rate of 100%. The coincidence rate of the two methods was 100%. **Conclusion** The *Salmonella* serotyping PCR kit can achieve a high typing rate, greatly shorten the detection time, reduce the workload of routine serotyping and expensive serum consumption, and save costs. It can be used as a rapid serotyping method for *Salmonella* application.

Key words: *Salmonella*; *Salmonella* serotype; Traditional serum agglutination method; PCR kit; Molecular typing

沙门氏菌(*Salmonella*)是一种常见的食源性致病菌,寄生在人类和动物肠道中。沙门氏菌具有复杂的抗原结构,一般可分为菌体(O)抗原、鞭毛(H)抗原和表面(Vi)抗原3种。目前,根据Kauffman-White(K-W)血清型分型方法,基于沙门氏菌菌体抗原及鞭毛抗原的差异,可分为2579种沙门氏菌血清型^[1]。其中部分血清型,如肠炎沙门氏菌和鼠伤

寒沙门氏菌等,能够使宿主产生呕吐、腹泻等多种食源性疾病症状^[2-3]。据估计,每年因沙门氏菌感染而引起的食物中毒事件占食源性疾病的70%~80%^[4]。对此,世界卫生组织(World Health Organization, WHO)在2000年创立了全球范围内的沙门氏菌监测网,在世界范围内,对沙门氏菌等食源性致病菌进行监测和防控^[5]。沙门氏菌血清分型在常规监测、病原学检测及菌株溯源中有着重要作用,具有重要的公共卫生学意义。

自Kauffmann-White抗原表首次发布后^[6],传统血清凝集法成为沙门氏菌的主要分型方法,我国

收稿日期:2021-12-30

作者简介:丁凤兰 女 副主任技师 研究方向为预防医学

E-mail: rzcdc@163.com

GB 4789.4—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验沙门氏菌检验》中详细规定了沙门氏菌血清凝集法的步骤。传统血清凝集法应用普遍、准确度高,重复性好,但也存在一些不足之处:(1)血清凝集确认过程较慢,需要反复试验,耗费试剂且耗时较长;(2)进口沙门氏菌诊断血清效价较高,但价格较昂贵,提高了检测成本;(3)血清凝集结果判读存在一定的主观判读偏差,对实验人员有较高的经验要求;(4)部分菌株存在自凝集现象,无法使用传统分型方法分型。

近年来,分子分型技术发展迅速,其中,聚合酶链式反应(Polymerase chain reaction, PCR)技术是基于对沙门氏菌不同抗原决定簇的研究,选取其中编码 O、H1、H2 抗原的特异性基因,进行引物探针设计,从而对沙门氏菌实现准确分型。该方法能够快速确定沙门氏菌血清型,能够在一定程度上弥补传统血清凝集法的缺陷。

本研究选取北京美正生物科技有限公司研发的沙门氏菌血清型分子鉴定试剂盒(PCR-探针法),该试剂盒选取沙门氏菌中负责编码 O、H1、H2 抗原的 12 段特异性基因,设计最优引物探针,制备 12 种预混液,进行 PCR 鉴定。只需将 PCR 结果输入特定 Excel 结果判读表中,即可自动识别并得出血清分型结果。该试剂盒理论上可检测 127 种常见沙门氏菌血清型,基本覆盖我国常见的沙门氏菌血清菌型。本研究将该试剂盒方法与传统血清学鉴定方法进行对比试验,以评估 PCR 试剂盒的检测效用。

1 材料与仪器

1.1 菌株

从本实验室保存的沙门氏菌库中挑取 59 株沙门氏菌,其中包含标准菌株 15 株(序号 1~15)。菌株信息见表 1。

1.2 主要仪器与试剂

荧光定量 PCR 仪(美国 BIORAD 公司),恒温培养箱(上海森信实验仪器有限公司),金属加热器(北京天根生化科技有限公司),低温高速离心机(德国 Eppendorf 公司)。

59 株沙门氏菌(本实验室分离,详细信息见表 1),沙门氏菌 O、H1、H2 诊断血清(泰国 S&A 公司)(有效期至 2022 年 5 月 11 日),沙门氏菌血清型分子鉴定试剂盒(PCR-探针法)(北京美正生物科技有限公司),Luria-Bertani(LB)培养基(有效期至 2023 年 7 月 20 日)、营养琼脂(北京陆桥技术有限公司)(有效期至 2022 年 6 月 7 日),细菌基因组核酸提取试剂盒(北京美正生物科技有限公司)。

表 1 59 株沙门氏菌菌株信息

Table 1 Information on 59 *Salmonella* Strains

序号	菌株名称	序号	菌株名称	序号	菌株名称
1	CICC 10420	21	鼠伤寒 2	41	7351-16
2	CICC 10437	22	鼠伤寒 3	42	May-52
3	CICC 10867	23	鼠伤寒 4	43	DPCS
4	CICC 10871	24	阿贡纳	44	11
5	CICC 21481	25	肠炎	45	13
6	CICC 21482	26	鼠伤寒 5	46	14
7	CICC 21483	27	饲料 1-1	47	15
8	CICC 21484	28	饲料 1-3	48	25
9	CICC 21485	29	饲料 2-1	49	26
10	CICC 21486	30	饲料 3-1	50	HN-2
11	CICC 21487	31	饲料 3-3	51	HN-6
12	CICC 21488	32	饲料 4-1	52	A-7
13	ATCC14028	33	饲料 4-3	53	AC-11
14	ATCC9150	34	饲料 5-4	54	156
15	ATCC13076	35	14028	55	dm3
16	196	36	7230	56	QB5
17	626	37	Apr-51	57	H2004
18	114	38	Jun-51	58	7434-1
19	A-3029	39	Jul-51	59	WS-1
20	鼠伤寒 1	40	Sep-51		

1.2 方法

1.2.1 菌株活化

将选取的 59 株沙门氏菌分别划线接种至 LB 培养基上,置于 37 °C 培养箱过夜培养,备用。

1.2.2 血清凝集鉴定方法

按照泰国 S&A 公司提供的沙门氏菌血清诊断操作步骤进行传统血清分型鉴定,查阅 Kauffman-White(K-W)血清型分型表,根据测定得到的抗原式确定沙门氏菌的血清型。方法如下:

(1)挑取待测沙门氏菌单菌落划线接种在半固体 LB 营养琼脂斜面,37 °C 培养过夜,备用。

(2)用胶头滴管吸取适量沙门氏菌 A-F 群多价抗 O 血清,滴加于干净的载玻片表面,同时用生理盐水做对照。

(3)用接种环从斜面顶部取适量菌体,将其充分分散于血清中,用接种环将菌体研成乳状液。将玻片倾斜摇动混合 1 min,并对着黑色背景进行观察。任何凝集现象皆为阳性反应。

(4)再用 O1、O2、O4、O5、O6(1)、O6(2)、O7、O8、O9、O10、O12、O14、O15、O19、O20、O22、O23、O25、O27、O34 和 O46 等 O 单因子血清进行定型。

(5)使用同 O 血清型鉴定相同的方法确定沙门氏菌的 H 抗原。先做 H 多价血清,再做 H 单价血清。

(6)确定一个位相后继续做位相诱导培养,确定另一相 H 抗原后,再按 WKLM 表进行型别诊断。具体步骤为取少量该菌点接种于含有 H 抗原诱导相抗血清的半固体营养琼脂培养基中,37 °C 培养过夜后就可得到只暴露有另一相鞭毛的菌株,再进行 H 项单因子凝集试验以确定 H 相抗原型;查阅

Kauffman-White(K-W)血清型分型表,根据测定得到的抗原式确定沙门氏菌的血清型。

1.2.3 沙门氏菌血清型分子鉴定试剂盒分型方法

(1)将选取的 59 株沙门氏菌分别划线接种至 LB 培养基上,置于 37 °C 培养箱过夜培养,备用。

(2)核酸提取:从 LB 培养基上挑取状态良好的单菌落,使用商品化的试剂盒提取沙门氏菌基因组 DNA,具体步骤参照试剂盒说明书进行,提取结束后,核酸置于-20 °C 保存备用。

(3)PCR 鉴定:从试剂盒中取出 12 支预混液,充分融化,涡旋后短暂离心,各取 22.5 μL 预混液置于 PCR 管中,将提取好的菌株核酸取 2.5 μL 分别加入 12 种预混液中,盖好管盖,短暂离心,立即进行 RT-PCR 扩增反应。根据 PCR 结果读取 CT 值,将所有 CT 值输入特定的 Excel 结果判读表内,即可自动得出血清分型结果。

2 结果

传统血清凝集法可完全分型 59 株,分型率 100%,共分出 20 种血清型。PCR 试剂盒法对 59 株菌株有明确血清分型,分型率 100%。两种方法结果匹配率 100%,血清型完全对应。具体分型结果见表 2。

3 讨论

本研究采用传统血清凝集法和 PCR 试剂盒法两种方法对 59 株沙门氏菌进行血清鉴定分型实验,传统血清凝集法对 59 株菌株完全分型,分型率 100%;PCR 试剂盒法成功分型 59 株,分型率 100%,两种方法的分型结果完全一致,符合率 100%。

目前,针对沙门氏菌血清分型,有以下几种方法:传统血清凝集法、噬菌体分型法、PCR 技术、脉冲场凝胶电泳(Pulsed field gel electrophoresis, PFGE)以及全基因组测序等。其中,传统血清凝集法是沙门氏菌血清分型的经典方法,具有准确度高,检测范围广,应用普遍等优点,但也存在耗时长、操作复杂的缺点,且检测结果容易受到血清质量的影响^[7]。虽然进口血清性能优秀,但部分进口血清成品昂贵,提高了血清凝集成本。噬菌体分型法在沙门血清分型中的应用主要是利用噬菌体的宿主专一性完成,烈性噬菌体特异性裂解某种沙门氏菌,形成明显噬菌斑,通过对噬菌体的特异性分析,将沙门氏菌分成不同型别^[8]。该方法特异性高,成本较低,实用性较好。但不足之处在于重复性差,且由于噬菌体种类限制仅能区分有限的型别,同时,该方法对噬菌体有着非常严格的标准化要求,难以获得。

脉冲场凝胶电泳 PFGE 技术在 20 世纪 80 年代已经开始发展,目前技术成熟且应用普遍。PFGE 法在将菌株 DNA 用限制性内切酶剪切后,经过凝胶电泳进行分离,分析染色体的基因图谱,从而确定菌株间的亲缘关系并分别归类^[9]。因此,PFGE 法在菌株分类、溯源、疫情分析中应用普遍^[10]。但 PFGE 法操作较繁琐,过程费时费力,结果对比分析复杂,难以在基层实验室中推广。全基因组测序技术在近几年发展迅速,该技术对一组生物基因组的全部基因进行序列测定,可以通过分析基因组序列对细菌进行分型^[11]。该方法虽检测结果信息量大,准确性高,重复性好,但结果分析难度较高,成本昂贵,且许多实验室没有全基因组测序的条件,应用普遍性较差。

PCR 技术目前已被广泛应用在微生物鉴定中,人们通过对沙门氏菌不同血清型的基因序列分析,找出不同血清型的特异性编码基因,设计引物探针,在核酸水平上对菌株进行鉴定及分型。该方法操作高效便捷,用时较短,仅数小时即可得出结果,且结果判读清晰简单,只要有分子生物学基础的实验人员均可使用,对仪器耗材等要求也不高。同时,一些沙门氏菌由于自凝集及培养状态无法用血清凝集的方式有效分型^[12],而 PCR 检测的方式不受细菌状态的影响,一定程度上弥补了传统方法的不足,满足了快速检测的需求。目前已有不少研究人员开始尝试用 PCR 法进行沙门氏菌血清分型,周燕霞等^[13]2019 年对 33+6 株沙门氏菌进行传统的玻片血清凝集分型和分子血清分型试剂盒两种方法的对比试验,结果显示两种方法匹配率高达 94.9%(37/39),但试剂盒所能检测的血清型仅 64 种。王娟等^[14]2015 年采用 PCR 试剂盒法对分离自山东生猪屠宰场的 298 株沙门氏菌进行血清分型,全部菌株均成功分型,共检测出 9 种血清型,分别为德尔卑沙门氏菌($n=78$)、鼠伤寒沙门氏菌($n=59$)、汤普逊沙门氏菌($n=45$)、阿贡纳沙门氏菌($n=40$)、肠炎沙门氏菌($n=25$)、罗米他沙门氏菌($n=18$)、策维埃沙门氏菌($n=15$)、拉古什沙门氏菌($n=12$)、奥里塔蔓林沙门氏菌($n=6$)。以上结果表明,PCR 技术与传统血清凝集法结果符合率较高,可以作为沙门菌分型鉴定的补充方法进行推广使用。市面上也出现了许多基于 PCR 技术设计的沙门血清分型试剂盒,方婷子等^[15]于 2017 年采用多重 PCR 技术对 21 种沙门血清型进行鉴定,鉴定率高达 98.7%(77/78)。该研究使用普通 PCR 技术,在 PCR 过程之后还需进行凝胶电泳,观察条带分布才能得到最终结果。本研究中使用的试剂盒采用 RT-PCR 技术,无需凝

表 2 59 株沙门氏菌的两种血清鉴定方法结果对比

Table 2 Comparison of the results of two serum identification methods for 59 *Salmonella* strains

序号	菌株名称	传统血清凝集法检测结果	PCR 试剂盒检测结果
1	CICC 10420	鼠伤寒沙门氏菌	鼠伤寒沙门氏菌
2	CICC 10437	乙型副伤寒沙门氏菌	乙型副伤寒沙门氏菌
3	CICC 10867	伤寒沙门氏菌	伤寒沙门氏菌
4	CICC 10871	伤寒沙门氏菌	伤寒沙门氏菌
5	CICC 21481	婴儿沙门氏菌	婴儿沙门氏菌
6	CICC 21482	婴儿沙门氏菌	婴儿沙门氏菌
7	CICC 21483	鼠伤寒沙门氏菌	鼠伤寒沙门氏菌
8	CICC 21484	鼠伤寒沙门氏菌	鼠伤寒沙门氏菌
9	CICC 21485	海德堡沙门氏菌	海德堡沙门氏菌
10	CICC 21486	圣保罗沙门氏菌	圣保罗沙门氏菌
11	CICC 21487	海德堡沙门氏菌	海德堡沙门氏菌
12	CICC 21488	肯塔基沙门氏菌	肯塔基沙门氏菌
13	ATCC 14028	鼠伤寒沙门氏菌	鼠伤寒沙门氏菌
14	ATCC 9150	甲型副伤寒沙门氏菌	甲型副伤寒沙门氏菌
15	ATCC 13076	肠炎沙门氏菌	肠炎沙门氏菌
16	196	鼠伤寒沙门氏菌	鼠伤寒沙门氏菌
17	626	肠炎沙门氏菌	肠炎沙门氏菌
18	114	鼠伤寒沙门氏菌	鼠伤寒沙门氏菌
19	A-3029	肯塔基沙门氏菌	肯塔基沙门氏菌
20	鼠伤寒 1	鼠伤寒沙门氏菌	鼠伤寒沙门氏菌
21	鼠伤寒 2	鼠伤寒沙门氏菌	鼠伤寒沙门氏菌
22	鼠伤寒 3	鼠伤寒沙门氏菌	鼠伤寒沙门氏菌
23	鼠伤寒 4	鼠伤寒沙门氏菌	鼠伤寒沙门氏菌
24	阿贡纳	阿贡纳沙门氏菌	阿贡纳沙门氏菌
25	肠炎	肠炎沙门氏菌	肠炎沙门氏菌
26	鼠伤寒 5	鼠伤寒沙门氏菌	鼠伤寒沙门氏菌
27	饲料 1-1	阿贡纳沙门氏菌	阿贡纳沙门氏菌
28	饲料 1-3	阿贡纳沙门氏菌	阿贡纳沙门氏菌
29	饲料 2-1	渥兴顿沙门氏菌	渥兴顿沙门氏菌
30	饲料 3-1	阿贡纳沙门氏菌	阿贡纳沙门氏菌
31	饲料 3-3	阿贡纳沙门氏菌	阿贡纳沙门氏菌
32	饲料 4-1	阿贡纳沙门氏菌	阿贡纳沙门氏菌
33	饲料 4-3	阿贡纳沙门氏菌	阿贡纳沙门氏菌
34	饲料 5-4	渥兴顿沙门氏菌	渥兴顿沙门氏菌
35	14028	鼠伤寒沙门氏菌	鼠伤寒沙门氏菌
36	7230	德尔卑沙门氏菌	德尔卑沙门氏菌
37	Apr-51	圣保罗沙门氏菌	圣保罗沙门氏菌
38	Jun-51	婴儿沙门氏菌	婴儿沙门氏菌
39	Jul-51	肠炎沙门氏菌	肠炎沙门氏菌
40	Sep-51	火鸡沙门氏菌	火鸡沙门氏菌
41	7351-16	肠炎沙门氏菌	肠炎沙门氏菌
42	May-52	婴儿沙门氏菌	婴儿沙门氏菌
43	DPCS	德尔卑沙门氏菌	德尔卑沙门氏菌
44	11	哈瓦那沙门氏菌	哈瓦那沙门氏菌
45	13	海德堡沙门氏菌	海德堡沙门氏菌
46	14	鼠伤寒沙门氏菌	鼠伤寒沙门氏菌
47	15	肯塔基沙门氏菌	肯塔基沙门氏菌
48	25	肠炎沙门氏菌	肠炎沙门氏菌
49	26	肠炎沙门氏菌	肠炎沙门氏菌
50	HN-2	印第安纳沙门氏菌	印第安纳沙门氏菌
51	HN-6	圣保罗沙门氏菌	圣保罗沙门氏菌
52	A-7	乌干达沙门氏菌	乌干达沙门氏菌
53	AC-11	猪霍乱沙门氏菌	猪霍乱沙门氏菌
54	156	伦敦沙门氏菌	伦敦沙门氏菌
55	dm3	汤卜逊沙门氏菌	汤卜逊沙门氏菌
56	QB5	维也纳沙门氏菌	维也纳沙门氏菌
57	H2004	乌干达沙门氏菌	乌干达沙门氏菌
58	7434-1	印第安纳沙门氏菌	印第安纳沙门氏菌
59	WS-1	猪霍乱沙门氏菌	猪霍乱沙门氏菌

胶电泳,根据 PCR 结果即可进行结果判读,省时省力。本研究所用试剂盒的数据库中包含了 127 种常

见沙门血清型,是市面上覆盖型别较多的试剂盒。目前该试剂盒仍在不断优化扩充数据库,力求满足

更多沙门氏菌分型需求。

综上所述,本研究基于荧光定量 PCR 法建立的沙门氏菌血清分型试剂盒,与传统血清学分型方法对比,59 株沙门氏菌血清型鉴定结果符合率 100%,且该方法能够在 2 小时内快速鉴定沙门氏菌血清型,高效快捷,结果准确,能够满足基层实验室快速血清学鉴定分型的实验要求,提高工作效率,具有实际应用价值。

参考文献

- [1] MAJOWICZ S E, MUSTO J, SCALLAN E, et al. The global burden of nontyphoidal *Salmonella* gastroenteritis [J]. *Clinical Infectious Diseases*, 2010, 50(6): 882-889.
- [2] 王茂起,冉陆,王竹天,等. 2001 年中国食源性致病菌及其耐药性主动监测研究[J]. *卫生研究*, 2004, 33(1): 49-54.
WANG M Q, RAN L, WANG Z T, et al. Active surveillance of foodborne pathogens and their drug resistance in China in 2001 [J]. *Health Research*, 2004, 33(1): 49-54.
- [3] XIA S L, HENDRIKSEN R S, XIE Z Q, et al. Molecular characterization and antimicrobial susceptibility of *Salmonella* isolates from infections in humans in He'nan Province, China [J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2009, 47(2): 401-409.
- [4] 杨保伟,申进玲,席美丽,等. 2007—2008 年西安地区鸡肉源沙门氏菌相关特性分析[J]. *食品科学*, 2011, 32(19): 130-136.
YANG B W, SHEN J L, XI M L, et al. Analysis on the related characteristics of *Salmonella* from chicken in Xi'an from 2007 to 2008 [J]. *Food Science*, 2011, 32(19): 130-136.
- [5] 冉陆. 食源性致病菌及食源性疾病的监测动态[J]. *中国食品卫生杂志*, 2001, 13(4): 42-44.
RAN L. Monitoring trends of food-borne pathogens and food-borne diseases [J]. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 2001, 13(4): 42-44.
- [6] EDWARDS P R, KAUFFMANN F. A simplification of the kauffmann-white schema [J]. *American Journal of Clinical Pathology*, 1952, 22(7-ts): 692-697.
- [7] 许学斌,冉陆,朱超. 沙门菌分型血清对比研究(上海市, 1999 至 2007 年)[J]. *检验医学*, 2010, 25(1): 21-25.
XU X B, RAN L, ZHU C. A comparative study of *Salmonella* typing serum (Shanghai, 1999-2007) [J]. *Journal of Laboratory Medicine*, 2010, 25(1): 21-25.
- [8] RAKONJAC J, BENNETT N J, SPAGNUOLO J, et al. Filamentous bacteriophage: biology, phage display and nanotechnology applications [J]. *Current Issues in Molecular Biology*, 2011, 13(2): 51-76.
- [9] BESSER J. Pulsed-field gel electrophoresis for disease monitoring and control [J]. *Methods in Molecular Biology: Clifton, N J*, 2015, 1301: 3-7.
- [10] FAVIER G I, LUCERO ESTRADA C S M, LAZARTE OTERO V, et al. Prevalence, antimicrobial susceptibility, and molecular characterization by PCR and pulsed field gel electrophoresis (PFGE) of *Salmonella* spp. isolated from foods of animal origin in San Luis, Argentina [J]. *Food Control*, 2013, 29(1): 49-54.
- [11] KAGAMBÈGA A, LIENEMANN T, FRYE J G, et al. Whole genome sequencing of multidrug-resistant *Salmonella* enterica serovar Typhimurium isolated from humans and poultry in Burkina Faso [J]. *Tropical Medicine and Health*, 2018, 46: 4.
- [12] 胡豫杰,赫英英,王晔茹,等. 中国六省份零售整鸡中沙门菌血清型分布和耐药性特征研究[J]. *中华预防医学杂志*, 2018, 52(4): 372-377.
HU Y J, HE Y Y, WANG Y, et al. Serotype distribution and drug resistance characteristics of *Salmonella* in retail whole chickens in six provinces of China [J]. *Chinese Journal of Preventive Medicine*, 2018, 52(4): 372-377.
- [13] 周燕霞,任岩,王青龙,等. 沙门氏菌传统血清凝集分型和分子血清分型试剂盒方法比较[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(18): 6068-6077.
ZHOU Y X, REN Y, WANG Q L, et al. Comparison of traditional serum agglutination typing and molecular serotyping kits for *Salmonella* [J]. *Journal of Food Safety and Quality Testing*, 2019, 10(18): 6068-6077.
- [14] 王娟,刘鲜鲜,张倩,等. 山东生猪屠宰环节沙门氏菌血清型及耐药性测试[J]. *中国人兽共患病学报*, 2017, 33(6): 517-521.
WANG J, LIU X X, ZHANG Q, et al. *Salmonella* serotype and drug resistance test in Shandong pig slaughtering process [J]. *Chinese Journal of Zoonoses*, 2017, 33(6): 517-521.
- [15] 方婷子,史贤明,施春雷. 沙门氏菌血清型快速 PCR 鉴定方法的建立[J]. *中国食品学报*, 2017, 17(2): 212-219.
FANG T Z, SHI X M, SHI C L. Establishment of a rapid PCR method for identification of *Salmonella* serotypes [J]. *Chinese Journal of Food Science*, 2017, 17(2): 212-219.