

综述

沙门菌分子血清分型的鉴定方法与研究进展

伊廷存^{1,2}, 孟静^{1,2}, 姚现琦³, 霍胜楠^{1,2}, 王伟³, 程祥龙^{1,2}, 郭颖慧^{1,2}

(1. 山东省食品药品检验研究院, 山东 济南 250101; 2. 国家市场监管重点实验室肉及肉制品监管技术, 山东 济南 250101; 3. 临沂金锣文瑞食品有限公司, 山东 临沂 276000)

摘要: 综述沙门菌分子血清分型的鉴定方法与研究进展。介绍了沙门菌编码3种抗原(O、H、Vi)的相关基因及其表达机制, 阐述了以血清型特异性标记基因为靶点进行沙门菌分子血清分型鉴定的方法及应用进展。本文回顾了沙门菌血清分型的鉴定方法及研究进展, 为进一步开展沙门菌分子血清型鉴定研究奠定了基础。

关键词: 沙门菌; 分子血清分型; 鉴定; 全基因组测序

中图分类号: R155 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-8456(2023)01-0142-06

DOI: 10.13590/j.cjfh.2023.01.022

Identification methods and research progress of molecular serotype of *Salmonella*YI Tingcun^{1,2}, MENG Jing^{1,2}, YAO Xianqi³, HUO Shengnan^{1,2}, WANG Wei³,
CHENG Xianglong^{1,2}, GUO Yinghui^{1,2}

(1. Shandong Institute of Food and Drug Inspection, Shandong Ji'nan 250101, China; 2. Key Laboratory of Supervising Technology for Meat and Meat Products for State Market Regulation, Shandong Ji'nan 250101, China; 3. Linyi Jinluo Win Ray Food Co., Ltd., Shandong Linyi 276000, China)

Abstract: The identification methods and research progress of molecular serotyping of *Salmonella* are reviewed. The related genes encoding three antigens (O, H and Vi) of *Salmonella* are introduced. The methods and research progress of molecular serotype identification of *Salmonella* with serotype specific marker genes as targets are described. This paper reviews the identification methods and research progress of *Salmonella* serotype, which lays a foundation for further identification of molecular serotype of *Salmonella*.

Key words: *Salmonella*; molecular serotype; identification; whole genome sequencing

沙门菌是动物和人类的主要病原体,是造成伤寒、副伤寒等食源性疾病的病因之一。沙门菌通过污染猪肉、鸡肉、鸡蛋、牛肉和牛奶等传播给人类^[1],造成人类食物中毒或严重的公共卫生危害^[2]。沙门菌进入食物链的途径是复杂多样的,可能发生在与食品相关的一个或多个环节中,食品行业因受到沙门菌污染而造成的经济损失正在不断扩大。因此采用适当的工具鉴定沙门菌物种水平(如血清型等),可以极大地提高对沙门菌的控制。

沙门菌用不同的分类系统来描述菌种^[3],其中最经典的是 Kauffman-White 血清型分类方案^[4]。基于菌体 O 抗原、鞭毛 H 抗原和荚膜 Vi 抗原,将沙门菌分为 46 种 O 抗原 114 种 H 抗原^[5]。该分类方案

是应用最早和最广泛的鉴定方法,是目前沙门菌亚种分类的基础^[6]。但该方法费时费力^[7],且鉴定可能出现假阳性结果^[8]。随着分子生物学的发展,聚合酶链式反应(Polymerase chain reaction, PCR)方法、多重 PCR 法、多位点可变数串联重复分析等多种分子血清分型方法,尤其是全基因组测序(Whole-genome sequencing, WGS)的应用^[9],极大地促进了分子血清型分型的研究,如识别编码某些抗原的特定基因的检测方法和基于特定基因组标记检测血清型的方法^[10],同时还促进了采用计算机和生物信息技术预测血清型工具的研发。

1 沙门菌血清分型

沙门菌含有多种抗原性物质,如脂蛋白、糖蛋白、脂多糖等,可与宿主的血清发生免疫学反应。沙门菌的血清分型是基于特定抗体与特定分离株的特征性抗原的血清学反应进行鉴定和区分的。沙门菌的抗原性物质主要有菌体 O 抗原、鞭毛 H 抗

收稿日期:2021-12-30

作者简介:伊廷存 男 高级工程师 研究方向为食品生物安全检测技术研究 E-mail:151210074@qq.com

通信作者:霍胜楠 女 研究员 研究方向为食品生物安全质量管理与检测技术开发 E-mail:huosn@163.com

原和荚膜 Vi 抗原。

1.1 沙门菌 O 抗原

沙门菌 O 抗原是一种体细胞抗原,是暴露在革兰氏阴性菌外膜脂多糖层成分中的多糖类成分。O 抗原的多样性取决于糖的类型、结构顺序和各单糖之间的链接方式,相同的 O 抗原结构分为同一血清群,目前将沙门菌分为 46 种血清群^[11]。

O 抗原合成所需的基因主要位于染色体上的一个调节子中,该调节子位于 *galF* 和 *gnd* 基因之间^[11],O54 和 O67 除外。大多数 O 抗原生物合成基

因都位于一个称为 *rfb* 簇的基因组岛中^[12],其序列多样性反映了 O 抗原结构的多样性。编码 O 抗原生物合成和组装的酶主要有 3 种不同类型的基因^[13]:(1)核苷酸糖合成基因,编码参与形成 O 亚基的糖类合成酶的基因,如 *rmlBDAC*、*ddhDABC*、*tyv*;(2)糖转移酶基因,编码转移酶的基因,将糖残基组装到 O 亚基中,如 *wbaVUN*、*wbaP*、*wbaBCD*;(3)O 单元加工基因,编码 O 亚基加工和组装成 O 抗原的基因,如 *wzx*、*wzy*、*wzz*^[14]。图 1 展示了 9 种沙门菌血清群的 *rfb* 簇基因种类。

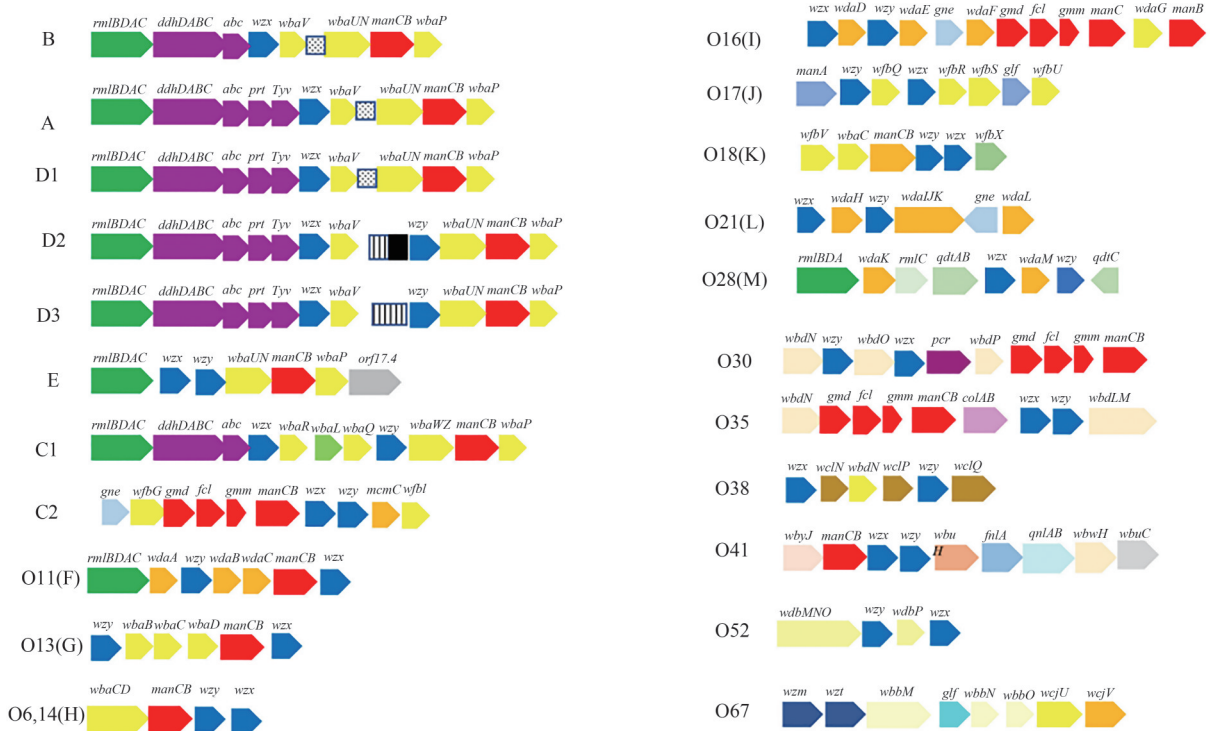


图 1 9 种沙门菌血清群(A、B、C₁、C₂、D₁、E₁、F 和 G) *rfb* 基因簇展示图^[7]

Figure 1 *rfb* gene cluster display of 9 *Salmonella* serogroups (A, B, C₁, C₂, D₁, E₁, F and G)^[7]

1.2 沙门菌 H 抗原

H 抗原由鞭毛蛋白质构成,多数沙门菌有 1 相 H 抗原(H1)和 2 相 H 抗原(H2),少数只有单相抗原 H1,极少数有三相抗原或 R 型抗原。H 抗原由多种抗原因子组成,如鞭毛抗原 H:e,n,x 是由 3 个独立的抗原因子 e、n 和 x 组成。在 Kauffman-White 方案中,沙门菌有 114 种 H 抗原,由 99 种不同抗原因子组合而成^[15]。

鞭毛抗原是由 *fliC*、*fliB* 和 *flpA* 编码组装而成,基因 *fliC* 编码 H1 抗原,基因 *fliB* 编码 H2 抗原,*flpA* 编码三相抗原或 R 抗原。*fliC*、*fliB* 和 *flpA* 基因通过相位变化机制协调表达编码鞭毛蛋白^[16]。该相位转换机制由可逆调节元件 *hin* 负责。Hin 重组酶介导操纵子开启,启动基因 *fliB* 和 *fliA* 的表达,*fliB* 基因与 *fliA* 基因构成操纵子负调节因子用于 *fliC* 表达,从而抑制 *fliC* 的表达,见图 2。*fliB* 负责鞭毛甲

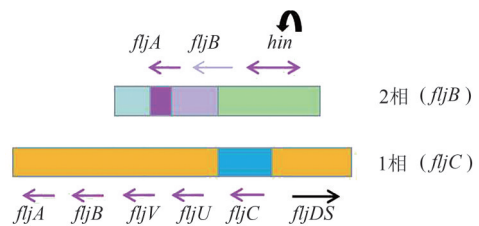


图 2 *fliC* 和 *fliB* 基因表达的原理示意图

Figure 2 Schematic diagram of *fliC* and *fliB* expression

基化,*fliC* 编码鞭毛丝蛋白,*fliD* 编码鞭毛器的丝帽蛋白,基因 *fliS* 能促进鞭毛蛋白的输出^[17]。

大多数沙门菌菌株含有 *fliC* 和 *fliB* 两个鞭毛蛋白基因,*fliC* 基因存在于所有的沙门菌细胞中,*fliB* 基因仅存在于肠道沙门菌亚种 I、II、IIIb 和 Vi 中^[18]。编码不同鞭毛抗原的等位基因之间存在明显的序列异质性,而编码相同鞭毛抗原的等位基因具有同源性^[15],这一特性被用于开发对特定抗原或抗原组

特异的引物探针确定沙门菌血清型。

1.3 沙门菌 Vi 抗原基因

Vi 抗原是伤寒血清型沙门菌产生的毒力荚膜多糖 (Vi), 是一种保护性抗原, 又称荚膜抗原。Vi 多糖是一种线性均聚物^[19], 由 α -1, 4-N-乙酰半乳糖胺糖醛酸 (GalNAcA) 组成, 60%~70% 的单体单元在 C3 位被 O-乙酰化^[20]。荚膜抗原 Vi 生物合成所需的基因位于称为沙门菌致病岛 7 (SPI-7) 的 133.5 kb 染色体区域。基因座 *viaB* 编码 Vi 多糖, 由 10 个基因组成: *twiBCDE* 用于 Vi 多糖生物合成; *vexABCDE* 用于输出 Vi 抗原; *twiA* 由未关联的调节器 *rcsB-rcsC* 激活^[21]。

如图 3 所示, 在 *viaB* 基因座中, *twiB* 编码脱氢酶, *twiC* 编码差向异构酶, *twiE* 编码糖基转移酶, *twiD* 的作用尚不清楚^[22]。



图 3 基因座 *viaB* 基因示意图

Figure 3 Schematic diagram of gene locus *viaB*

2 沙门菌分子血清分型方法

传统血清分型具有多个缺点, 例如低通量、高费用、需要专业知识以及一套全面的抗血清, 因此各国科研工作者致力于研究沙门菌分子血清分型方法, 替代传统血清分型方法, 以提供更快、更具区分性和更准确的沙门菌分型技术。

2.1 基于 O 抗原编码基因的检测

针对编码 O 抗原基因建立沙门菌血清型的鉴定方法, 主要以 *rfb* 簇基因设计特异性引物, 采用 PCR 方法检测血清型。2003 年, FITZGERALD 等^[23]基于 *wzx* 基因的一个区域开发了一种检测血清组 O:6, 14 特异性的 PCR 检测方法。随后在 2006 年又开发了基于肠炎沙门菌血清群 O17 和 O18 的 *rfb* 基因靶标的特异性 PCR 检测方法^[24], 促进了沙门菌分子血清分型的研究。LUK 等^[25]以沙门菌血清群 B 的 *rfbJ*、沙门菌血清群 C2 的 *rfbJ* 和沙门菌血清群 D 的 *rfbS* 基因设计特异性引物, 建立了能够鉴定和区分沙门菌血清群 A、B、C₂ 和 D 的多重 PCR 方法。FITZGERALD 等^[26]报告了基于微珠的多重悬浮阵列检测美国 6 种最常见血清群 (B、C₁、C₂、D、E 和 O₁₅) 以及副伤寒 A 型血清型的方法, 该方法以 O 抗原 *rfb* 基因簇的 DNA 序列作为 PCR 引物和探针, 能够高通量快速检测常见的沙门菌血清群。LIU 等^[27]采用比较基因组学方法筛选 O 抗原编码基因, 获得 32 个血清群特异性片段, 根据这些特异性片段建立

了多重 PCR, 经过验证具有很强的特异性, 能够识别 A、B、C₁、C₂ 和 D 等 5 个沙门菌血清群。

2.2 基于 H 抗原编码基因的检测

不同沙门菌具有不同 H 抗原基因, 是由于其编码 H 抗原的基因具有丰富的序列多样性。凌志强等^[28]以副甲伤寒杆菌鞭毛抗原基因 DNA 核苷酸序列设计特异寡核苷酸引物, 建立一种套式 PCR 检测方法, 刘华伟等^[29]以 H 抗原特异相设计引物, 建立多重 PCR 扩增反应, 通过优化实现了对沙门菌常见 H 抗原的多重 PCR 扩增。NABERHAUS 等^[30]以基因 *fliA*、*fliB* 和 *invA* 等为靶标基因开发了一种多重实时 PCR, 可以快速区分肠炎沙门菌血清型 4、[5]、12:i:- 和肠炎沙门菌鼠伤寒血清型。郑之北等^[31]以沙门菌编码 H 抗原的 *fliC* 和 *fliB* 基因为目标基因, 选取其保守片段设计上游通用引物, 选取可变片段设计下游特异性引物, 上游引物的 5' 端用生物素标记, 下游引物的 5' 端连接特定的 TAG 序列, 建立多重 PCR 反应, 并与含 anti-TAG 序列的编码磁珠混合液杂交分型, 经检验 31 种沙门菌 H 抗原间无交叉反应, 且重复性良好, 其敏感度为 95.1%, 特异度为 100%。MCQUISTON 等^[32]开发了一种基于编码 H 抗原的 *fliC* 和 *fliB* 基因为靶向基因确定血清型的微阵列高通量检测系统, 既实现了检测的高通量, 又保持了与 Kaufmann-White 血清分型方案的完整性。

2.3 基于 Vi 抗原编码基因的检测

viaB 基因座编码的 Vi 抗原并不是存在于所有沙门菌血清型中, 这一特性为鉴定沙门菌血清提供了依据。HASHIMOTO 等^[33]基于编码 Vi 抗原的核苷酸序列开发一种巢式 PCR, 能够检测所有伤寒沙门菌菌株以及副伤寒沙门菌。

2.4 基于 O、H、Vi 抗原编码基因的检测

沙门菌血清型的高度多样性对分子血清分型方法提出了相当大的挑战, 依靠单独 O 抗原编码基因或 H 抗原编码基因无法准确全面鉴定沙门菌血清, 因此开发基于 O、H、Vi 抗原编码基因的检测方法成为研究的热点。HIROSE 等^[34]以编码 O、H 和 Vi 抗原基因 *tyv* (*rfbE*)、*pri* (*rfbS*)、*fliC-d*、*fliC-a* 和 *viaB* 设计引物建立了快速鉴定肠沙门菌伤寒血清型和副伤寒 A 血清型的多重 PCR, 准确鉴定临床上分离的伤寒沙门菌血清型和甲型副伤寒沙门菌。

ZUO 等^[35]以合成体细胞抗原的 *wzx* 和 *wzy*、鞭毛抗原的 *fliC* 和 *fliB* 及编码 III 型分泌系统的 *SSAR* 基因, 设计血清型特异性引物和探针, 对 5 868 株沙门菌进行分型比较研究, 证明了基于探针熔解曲线的多重连接反应检测和常规血清分型结果的一致性, 为分子血清分型提供了一种快速、准确且有前景的工具。

YANG 等^[36]使用泛基因组分析探索了 60 种具有相似抗原基因并显示高鉴别率的血清型独特基因标记,开发了一种实时多重 PCR 方法,可在单个 96 孔板测定中区分 60 种最常见的沙门菌血清型。与传统血清型比较,实时 PCR 对 199 种沙门菌和 29 种非沙门菌具有 100% 的特异性。

2.5 基于全基因组测序的分型

世界各地的公共卫生和食品安全机构正在采用 WGS 来取代用于表征沙门菌的传统方法,用于监测和疫情应对^[37]。WGS 的最新进展提高了执行病原体表征的能力,同时改进了追溯调查以确定暴发期间食源性疾病的来源^[38]。目前基于 WGS 的血清型预测工具主要有 3 种,分别是 SeqSero、SeqSero2 和 SISTR(*Salmonella in silico* Typing Resource)。

SeqSero 是一种基于网络的血清分型工具,可以使用基于沙门菌血清型决定因素数据库的全基因组序列数据预测许多沙门菌血清型。SeqSero 提取细胞表面抗原的相关基因组,例如 *rfb* 基因簇以确定 O 抗原,*fliC* 和 *fliB* 确定 H1 和 H2 抗原,使用 BLAST 与数据库进行比对,根据 White-Kauffmann-Le Minor 方案确定血清型。SeqSero2 是对 SeqSero 进行算法转换和功能更新的版本,具有更快的分析速度和更高的准确度。SISTR 也是根据 White-Kauffmann-Le Minor 方案确定血清型,使用决定沙门菌血清型(*wzx/wzy*、*fliC* 和 *fliB* 等位基因)数据库和 330 位点 cgMLST 分析数据,对沙门菌进行血清型预测。UELZE 等^[39]通过比较发现,对沙门菌血清型预测 SISTR 最高为 94%,SeqSero2 为 87%,SeqSero 为 81%,表明 SISTR 最适合用于沙门菌公共卫生监测的自动化常规血清分型。

3 讨论

传统血清学和 White-Kauffmann-Le Minor 方案一直是沙门菌血清分型的黄金标准,通过对沙门菌属体细胞(O)、鞭毛(H)和荚膜(Vi)抗原在内的表面抗原进行分析,将沙门菌分为 2 600 多种血清型。但该方法需要维持 250 多种不同的高质量分型抗血清和 350 种不同的抗原,而且从分离菌株到鉴定血清分型需要 3~12 d,甚至更长,存在措施成本高、劳动密集、耗时且不敏感等问题,由于体细胞和鞭毛抗原的丢失,某些分离物仍然存在部分分型或无法分型的缺点。PCR 技术的发展促使科研工作者致力于研发分子血清鉴定方法,以改善传统血清分型的不足。

基于 PCR 的血清分型方法主要使用负责体细胞和鞭毛抗原表达的标记基因,如 LUK 等^[25]、

NABERHAUS 等^[30]、HIROSE 等^[34]开发的基于 O 抗原和 H 抗原编码基因的多重 PCR 方法,实现了对沙门菌血清型的快速鉴定。但 PCR 方法一般只能检测单一血清型或几种血清型,不能诊断大量血清型。ZUO 等^[35]、YANG 等^[36]采用比较基因组学方法广泛筛选沙门菌血清型的靶点基因,并设计微阵列检测技术,实现了高通量检测沙门菌血清型。采用 PCR 技术对沙门菌进行血清分型,大大减少了血清亚型分型所需的时间,而且显著提高了完全血清型分型的速度,但该方法仍不能完全替代传统方法,因为它不能检测所有表型抗原类型。

采用全基因组测序技术,可以有效地利用大规模基因组选择血清型特异性基因标记,开发血清型分型工具,建立庞大的沙门菌血清型数据库,从而高效、快速、准确、可重复地实现对沙门菌的血清型分型。但基于 WGS,血清型表征方法存在成本高昂并且需要额外的生物信息学分析技术,限制了其大规模的使用和标准化的推行。然而基于 DNA 的方法来表征沙门菌等病原体已成为普遍做法,且血清型信息仍然是减轻沙门菌病负担的食品安全和公共卫生活动的基石,所以血清学为基础的分型仍是沙门菌亚型分析的主要研究方向^[40]。

沙门菌的分子血清分型是一种很有前景的快速检测方法,而 WGS 方法则代表了一种前所未有的追踪病原体的新方法,因此使用 WGS 开展沙门菌血清型亚型分析正在被进一步研究,有望成为检测和溯源食源性病原体的食品安全标准方法,提高食品行业溯源和控制沙门菌的能力,为调查食源性疾病暴发和追溯来源提供有力保障。

参考文献

- [1] XU C G, REN X X, FENG Z, et al. Phenotypic characteristics and genetic diversity of *Salmonella enterica* serotype derby isolated from human patients and foods of animal origin[J]. *Foodborne Pathogens and Disease*, 2017, 14(10): 593-599.
- [2] YE Q H, SHANG Y T, CHEN M T, et al. Identification of novel sensitive and reliable serovar-specific targets for PCR detection of *Salmonella serovars* hadar and Albany by pan-genome analysis[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 605984.
- [3] BRENNER F W, VILLAR R G, ANGULO F J, et al. *Salmonella* nomenclature[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2000, 38(7): 2465-2467.
- [4] MINOR L L, BOCKEMÜHL J. Supplément 1987 (n° 31) au schéma de Kauffmann-White[J]. *Annales De l'Institut Pasteur / Microbiologie*, 1988, 139(3): 331-335.
- [5] RYAN M P, O'DWYER J, ADLEY C C. Evaluation of the complex nomenclature of the clinically and veterinary significant pathogen *salmonella*[J]. *Biomed Res Int*, 2017, 2017: 3782182.
- [6] WATTIAU P, BOLAND C, BERTRAND S. Methodologies for

- Salmonella enterica* subsp. *enterica* subtyping: Gold standards and alternatives[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77(22): 7877-7885.
- [7] SHI C L, SINGH P, RANIERI M L, et al. Molecular methods for serovar determination of *Salmonella*[J]. Critical Reviews in Microbiology, 2015, 41(3): 309-325.
- [8] DIEP B, BARRETTO C, PORTMANN A C, et al. *Salmonella* serotyping; comparison of the traditional method to a microarray-based method and an in silico platform using whole genome sequencing data[J]. Front Microbiol, 2019, 10: 2554.
- [9] TANG S L, ORSI R H, LUO H, et al. Assessment and comparison of molecular subtyping and characterization methods for *Salmonella*[J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 1591.
- [10] POPA G L, PAPA M I. *Salmonella* spp. infection - A continuous threat worldwide[J]. Germs, 2021, 11(1): 88-96.
- [11] LIU B, KNIREL Y A, FENG L, et al. Structural diversity in *Salmonella* O antigens and its genetic basis [J]. FEMS Microbiology Reviews, 2014, 38(1): 56-89.
- [12] XIANG S H, HAASE A M, REEVES P R. Variation of the *rfb* gene clusters in *Salmonella enterica*[J]. Journal of Bacteriology, 1993, 175(15): 4877-4884.
- [13] WANG L, ROMANA L K, REEVES P R. Molecular analysis of a *Salmonella enterica* group E1 *rfb* gene cluster: O antigen and the genetic basis of the major polymorphism[J]. Genetics, 1992, 130(3): 429-443.
- [14] SAMUEL G, REEVES P. Biosynthesis of O-antigens: Genes and pathways involved in nucleotide sugar precursor synthesis and O-antigen assembly [J]. Carbohydrate Research, 2003, 338(23): 2503-2519.
- [15] MCQUISTON J R, PARRENAS R, ORTIZ-RIVERA M, et al. Sequencing and comparative analysis of flagellin genes *fliC*, *fliB*, and *flpA* from *Salmonella*[J]. Journal of Clinical Microbiology, 2004, 42(5): 1923-1932.
- [16] SILVERMAN M, ZIEG J, HILMEN M, et al. Phase variation in *Salmonella*: Genetic analysis of a recombinational switch [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1979, 76(1): 391-395.
- [17] LIU Y, ZHANG D F, ZHOU X J, et al. Comprehensive analysis reveals two distinct evolution patterns of *Salmonella* flagellin gene clusters[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 2604.
- [18] MCQUISTON J R, FIELDS P I, TAUXE R V, et al. Do *Salmonella* carry spare tyres?[J]. Trends in Microbiology, 2008, 16(4): 142-148.
- [19] HU X M, CHEN Z J, XIONG K, et al. Vi capsular polysaccharide: synthesis, virulence, and application[J]. Critical Reviews in Microbiology, 2017, 43(4): 440-452.
- [20] SANTANDER J, WANDA S Y, NICKERSON C A, et al. Role of RpoS in fine-tuning the synthesis of Vi capsular polysaccharide in *Salmonella enterica* serotype Typhi[J]. Infection and Immunity, 2007, 75(3): 1382-1392.
- [21] SANTANDER J, ROLAND K L, CURTISS R 3rd. Regulation of Vi capsular polysaccharide synthesis in *Salmonella enterica* serotype Typhi[J]. Journal of Infection in Developing Countries, 2008, 2(6): 412-420.
- [22] ZHANG H, ZHOU Y, BAO H B, et al. Vi antigen biosynthesis in *Salmonella typhi*: Characterization of UDP-N-acetylglucosamine C-6 dehydrogenase (TviB) and UDP-N-acetylglucosaminuronic acid C-4 epimerase (TviC)[J]. Biochemistry, 2006, 45(26): 8163-8173.
- [23] FITZGERALD C, SHERWOOD R, GHEESLING L L, et al. Molecular analysis of the *rfb* O antigen gene cluster of *Salmonella enterica* serogroup O: 6, 14 and development of a serogroup-specific PCR assay[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69(10): 6099-6105.
- [24] FITZGERALD C, GHEESLING L, COLLINS M, et al. Sequence analysis of the *rfb* loci, encoding proteins involved in the biosynthesis of the *Salmonella enterica* O17 and O18 antigens: Serogroup-specific identification by PCR [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2006, 72(12): 7949-7953.
- [25] LUK J M, KONGMUANG U, REEVES P R, et al. Selective amplification of abequose and paratose synthase genes (*rfb*) by polymerase chain reaction for identification of *Salmonella* major serogroups (A, B, C2, and D)[J]. Journal of Clinical Microbiology, 1993, 31(8): 2118-2123.
- [26] FITZGERALD C, COLLINS M, VAN DUYNE S, et al. Multiplex, bead-based suspension array for molecular determination of common *Salmonella* serogroups[J]. Journal of Clinical Microbiology, 2007, 45(10): 3323-3334.
- [27] LIU B, ZHANG L D, ZHU X N, et al. PCR identification of *Salmonella* serogroups based on specific targets obtained by comparative genomics[J]. International Journal of Food Microbiology, 2011, 144(3): 511-518.
- [28] 凌志强, 盛清, 郑伟, 等. 甲型副伤寒沙门菌套式PCR检测方法的研究[J]. 浙江省医学科学院学报, 2003(4): 17-18, 25.
- LING Z Q, SHENG Q, ZHENG W, et al. Study on detection of *salmonella paratyphi A* (*S. paratyphi A*) DNA by nested polymerase chain reaction [J]. Acta Academiae Medicinae Zhejiang, 2003(4): 17-18, 25.
- [29] 刘华伟, 马立农, 郭蔼光, 等. 沙门菌常见H抗原特异相的PCR快速检测[J]. 西北农业学报, 2006, 15(2): 38-41.
- LIU H W, MA L N, GUO A G, et al. Rapid detection of *Salmonella* with familiar special phase of H antigen [J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 2006, 15(2): 38-41.
- [30] NABERHAUS S A, KRULL A C, BRADNER L K, et al. Emergence of *Salmonella enterica* serovar 4, [5], 12: i: - as the primary serovar identified from swine clinical samples and development of a multiplex real-time PCR for improved *Salmonella* serovar-level identification[J]. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation: Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc, 2019, 31(6): 818-827.
- [31] 郑之北, 郑伟, 濮小英, 等. 沙门菌H抗原的xTAG法鉴定[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2016, 36(12): 942-947.
- ZHENG Z B, ZHENG W, PU X Y, et al. Identification of *Salmonella* H antigens by xTAG technology[J]. Chinese Journal of Microbiology and Immunology, 2016, 36(12): 942-947.
- [32] MCQUISTON J R, WATERS R J, DINSMORE B A, et al. Molecular determination of H antigens of *Salmonella* by use of a microsphere-based liquid array[J]. Journal of Clinical Microbiology,

- 2011, 49(2): 565-573.
- [33] HASHIMOTO Y, ITHO Y, FUJINAGA Y, et al. Development of nested PCR based on the *ViaB* sequence to detect *Salmonella typhi*[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 1995, 33(11): 3082.
- [34] HIROSE K, ITOH K I, NAKAJIMA H, et al. Selective amplification of *tyv* (*rfbE*), *prt* (*rfbS*), *viaB*, and *fliC* genes by multiplex PCR for identification of *Salmonella enterica* serovars Typhi and Paratyphi A [J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2002, 40(2): 633-636.
- [35] ZUO L, JIANG M, JIANG Y X, et al. Multiplex ligation reaction based on probe melting curve analysis: A pragmatic approach for the identification of 30 common *Salmonella serovars* [J]. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 2019, 18(1): 39.
- [36] YANG S M, KIM E, KIM D, et al. Rapid real-time polymerase chain reaction for *Salmonella* serotyping based on novel unique gene markers by pangenome analysis[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 750379.
- [37] MOHAMMED M, THAPA S. Evaluation of WGS-subtyping methods for epidemiological surveillance of foodborne salmonellosis [J]. *One Health Outlook*, 2020, 2: 13.
- [38] IBRAHIM G M, MORIN P M. *Salmonella* serotyping using whole genome sequencing[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 2993.
- [39] UELZE L, BOROWIAK M, DENEKE C, et al. Performance and accuracy of four open-source tools for *in silico* serotyping of *Salmonella* spp. based on whole-genome short-read sequencing data [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2020, 86(5): e02265-e02219.
- [40] 伊廷存, 霍胜楠, 程祥龙, 等. 食源性致病菌溯源分型技术研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(16): 5293-5298.
- YI T C, HUO S N, CHENG X L, et al. Advances in traceability typing and identification of foodborne pathogens [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2019, 10(16): 5293-5298.

[上接第125页]

- 举例 [1] 汪国华,马进,季适东,等. 急性出血坏死性胰腺炎的手术治疗[J]. *中级医刊*,1995,30(8):22-25.
- [2] BERRY R J,LI Z,ERICKSON J D,et al. Preventing neural tube defects with folic acid in China[J]. *N Engl J Med*,1999, 314: 1485-1490.
- 著作或编著:**[序号] 主要责任者. 文献题名[文献类型标志]. 其他责任者. 版本项(版次为第一版的不用标明). 出版地:出版者,出版年:起页-止页.
- 举例 图书:[3] 吴阶平,裘法祖,黄家驹. 外科学[M]. 4版. 北京:人民卫生出版社, 1979: 82-93.
- 译著:[4] ZIEGLER E E, FILER L J. 现代营养学[M]. 闻之梅,陈君石,译. 7版. 北京:人民卫生出版社, 1998: 126-129.
- 著作中的析出文献:**[序号] 析出文献主要责任者. 析出文献题名[文献类型标志]//原文献主要责任者. 原文献题名. 版本项. 出版地:出版者,出版年:析出文献起页-止页.
- 举例 [5] 白书农. 植物开花研究[M] // 李承森. 植物科学进展. 北京:高等教育出版社, 1998: 146-163.
- 会议文献中的析出文献:**[序号]析出文献主要责任者. 析出文献题名[文献类型标志/文献载体标志]//会议文献主要责任者. 会议文献题名:其他题名信息. 出版地:出版者,出版年:析出文献起页-止页[引用日期]获取和访问路径.
- 举例 [6] 董家祥,关仲英,王兆奎,等. 重症肝炎的综合基础治疗[C]//张定凤. 第三届全国病毒性肝炎专题学术会议论文汇编,南宁,1984. 北京:人民卫生出版社, 1985: 203-212.
- 科技报告:**著录格式同著作或编著.
- 举例 [7] World Health Organization. Factors regulating the immune response: report of WHO Scientific Group [R]. Geneva:WHO,1970:1-74.
- 法令、条例:**[序号]主要责任者. 题名[文献类型标志]. 公布日期.
- 举例 [8] 中华人民共和国全国人民代表大会. 中华人民共和国著作权法[A]. 2012-03-31.
- 标准:**[序号]主要责任者. 标准名称:标准编号[文献类型标志]. 出版地:出版者,出版年.
- 举例 [9] 全国文献工作标准化技术委员会第七分委员会. 科学技术期刊编排格式:GB / T 3179—1992 [S]. 北京:中国标准出版社,1992.
- 电子文献:**[序号]主要责任者. 题名[文献类型标志 / 文献载体标志]. 出版地:出版者,出版年(更新或修改日期) [引用日期]. 获取和访问路径.
- 举例 [10] 肖钰. 出版业信息迈入快道 [EB/OL]. (2001-12-19) [2002-04-15]. <http://www.creader.com/news/20011219/200112190019.html>.
- 专利文献:**[序号]专利申请者. 题名:专利国别,专利号[P]. 公告或公开日期.

3 声明

本刊已进入中国所有主要期刊数据库,本刊所付稿酬已包含这些数据库的稿酬。编辑部对来稿将作文字性修改,若涉及内容修改会与作者商榷。编辑部收到稿件后,于3个月内通知处理意见。投稿6个月后如未收到修稿或录用通知,作者可自行处理稿件,所收稿件纸质版概不退还。来稿一经采用,即收取版面费,按规定向作者支付稿酬,并赠送杂志。

4 投稿

投稿请登录《中国食品卫生杂志》网站 <http://www.zgspws.com>,并同时邮寄单位介绍信和稿件纸版1份(需第一作者、通信作者和副高以上作者签名)。来稿中应有清楚完整的作者通信地址、联系电话和E-mail地址。编辑部地址:北京市朝阳区广渠路37号院2号楼802室《中国食品卫生杂志》编辑部 邮政编码:100021 电话:010-52165596 E-mail:spws462@163.com