

1 株罕见的可疑沙门氏菌鉴定结果的确认与分析

罗俊, 王晓冲, 黎舜华, 王娜娜, 应国红*

(深圳市药品检验研究院, 深圳 518057)

摘要: **目的** 确认盲样考核样品中分离到的罕见可疑沙门氏菌。**方法** 依据 GB 4789.4-2016《食品安全国家标准 食品微生物检验 沙门氏菌检验》将可疑沙门氏菌通过分离纯化、生化鉴定、16S 测序、Ribo-printer 基因指纹鉴定、MALDI Biotyper 质谱鉴定以及血清型分型等方法对其进行确认。**结果** 全自动细菌鉴定/药敏系统对该分离菌的鉴定结果为大肠埃希菌, 而 16S 测序结果为沙门氏菌属, 基因指纹鉴定结果为沙门氏亚利桑那亚种, 质谱鉴定结果为沙门氏菌双相亚利桑那亚种, 且血清型分型也表明该菌应为 IIIb 型, 综合判断该检出菌应为沙门氏菌双相亚利桑那亚种。**结论** 采用基于不同原理的多种鉴定手段联用的鉴定方法更能确保实验结果的可靠有效。

关键词: 沙门氏菌双相亚利桑那亚种; 鉴定; 盲样考核

Identification and analysis of the uncommonly suspected *Salmonella*

LUO Jun, WANG Xiao-Chong, LI Shun Hua, WANG Na-Na, YING Guo-Hong*

(Shenzhen Institute for Drug Control, Shenzhen 518057, China)

ABSTRACT: Objective To confirm of the uncommonly suspected *Salmonella* isolated from the unknown sample. **Methods** Isolation and purification of suspected *Salmonella* were conducted according to the GB 4789.4-2016 *National food safety standard-Food microbiological examination-Salmonella*, and it was confirmed by biochemical identification, 16S sequencing, Ribo-printer automatic microbial gene fingerprint identification system, MALDI Biotyper microbial identification time of flight mass spectrometry and serotyping. **Results** The identification result of automatic bacterial identification/drug sensitivity system was *Escherichia coli*. The identification result of 16S sequencing was *Salmonella*. The identification result of gene fingerprint identification system was *Salmonella arizonae*/IIIb. The identification result of was *Salmonella enterica* subsp. *diarizonae*, and serotyping also indicated that the type was IIIb, so the detected bacteria should be *Salmonella enterica* subsp. *diarizonae*. **Conclusion** The combination of multiple identification methods can ensure the reliability of the experimental results.

KEY WORDS: *Salmonella enterica* subsp. *diarizonae*; identification; assessment of unknown sample

1 引言

沙门氏菌是引起细菌性食物中毒的重要病原菌之一, 广泛存在于自然界, 极易污染食物、水源等, 对人类健康造成极大威胁。据统计由沙门氏菌引起的食物中毒事件在

世界各国的细菌性食物中毒种类中常列榜首^[1-3], 因此, 沙门氏菌检测在食品安全检验中具有重要意义^[4-6], 并在我国食品安全国家标准中被列为常规的检验项目^[7]。

沙门氏菌双相亚利桑那亚种 (*Salmonella enterica* subsp. *diarizonae*) 为肠道沙门菌 III b 亚种, 最早是在冷血

*通讯作者: 应国红, 主任药师, 主要研究方向为药品、食品、化妆品微生物学检验。E-mail: 1150324055@qq.com

*Corresponding author: YING Guo-Hong, Chief Pharmacist, Shenzhen Institute for Drug Control, Shenzhen 518057, China. E-mail: 1150324055@qq.com

动物中发现的,广泛存在于禽类、家养哺乳类动物中,偶可感染人类,引起胃肠炎,但国内外均少有报道。曲梅等曾对 5 株来自散发腹泻患者粪便样品的可疑双相亚利桑那亚种利用 VITEK、实时荧光定量 PCR、血清凝集、以及 MLST 分型等方法对该菌进行了分离鉴定^[8,9]。王志伟、刘杰等也曾用 VITEK 检出过沙门氏菌双相亚利桑那亚种^[10,11]。但目前利用 Phoenix100 全自动细菌鉴定/药敏系统对该菌进行生化鉴定的研究较少。

国家食品药品监督管理总局为提升国家食品安全风险监测的微生物检测能力,于 2018 年 8 月开展国家食品安全抽检监测承检机构盲样考核,本实验室参加了其中的沙门氏菌项目,并从中分离到 1 株可疑沙门氏菌。现结合沙门氏菌检测工作中的相关经验,分析本次能力验证实验工作中出现的问题及解决方案,以期后续相关检验工作提供思路。

2 材料和方法

2.1 样品来源

考核样品来自中国食品药品检定研究院,下文简称为 1#样品。

沙门氏菌阳性对照品(鼠伤寒沙门氏菌 ATCC14028)来自于本实验室保藏。

2.2 材料和仪器

缓冲蛋白胨水(buffered peptone water, BPW)、四硫磺酸钠煌绿(tatrathionate broth, TTB)增菌液、亚硒酸盐胱氨酸(selenite cystine, SC)增菌液、亚硫酸铋(bismuth sulfite, BS)琼脂、木糖赖氨酸脱氧胆盐(xylose lysinedesoxycholate, XLD)琼脂、沙门氏菌显色培养基、三糖铁(triple sugar iron, TSI)琼脂、沙门氏菌干制生化鉴定试剂盒、TSA 琼脂、Swarm 琼脂(北京陆桥技术有限责任公司);沙门氏菌鉴定用多价血清(泰国 S&A 公司);沙门氏菌属诊断血清(宁波天润生物药业有限公司)。

DPH-9272 电热恒温培养箱(上海一恒科学有限公司);1287 型生物安全柜(美国热电公司);Axio Lab.A1 显微镜(德国卡尔蔡司公司);Phoenix100 全自动细菌鉴定/药敏系统(美国 BD 公司);Ribo printer 全自动微生物基因指纹鉴定系统;MALDI Biotyper 微生物鉴定飞行时间质谱(美国 BD 公司)

2.3 实验方法

样品前处理按照组织方要求的作业指导书进行,后续实验操作依据 GB 4789.4-2016《食品安全国家标准 食品微生物检验 沙门氏菌检验》^[8]进行。

2.3.1 样品处理与前增菌

将 90 mL 已灭菌的 BPW 预热至 45 °C,在生物安全柜

中取其中 20 mL BPW 加入检样瓶内,待巧克力样品融化后加入无菌均质袋内。取 20 mL 灭菌 BPW 清洗检样瓶,将洗液加入均质袋,再取 20 mL 灭菌 BPW 重复清洗 1 次,最后向均质袋加入 30 mL 灭菌 BPW,充分均质混匀,(36±1) °C 增菌培养 14 h。

2.3.2 增菌与分离培养

取前增菌溶液各 1 mL 转种于 10 mL 四硫磺酸钠煌绿(TTB)增菌液和 10 mL 亚硒酸盐胱氨酸(SC)增菌液中,分别于(42±1) °C(TTB)和(36±1) °C(SC)培养 24 h;取上述 TTB 及 SC 增菌液各 1 环,分别划线接种于亚硫酸铋(BS)琼脂平板、沙门氏菌显色培养基和 XLD 琼脂平板,于(36±1) °C 培养 24 h(XLD 平板和沙门氏菌显色培养基平板)和 48 h(BS 平板),培养基结束后观察平板上的菌落特征。并同步做阳性对照。

2.3.3 疑似菌鉴定

(1) 生化鉴定

从选择性平板上分别挑取 2 个以上特征菌落,划线接种到营养琼脂平板上,挑取纯化后的菌落按照生化鉴定试剂盒使用说明书进行生化鉴定实验操作,经初筛确认为可疑沙门氏菌的菌株,做革兰氏染色镜检,确定其为革兰染色阴性杆菌后,采用 Phoenix100 BD 全自动细菌鉴定/药敏系统(下文简称 Phoenix100)上机确认。

(2) 16s 测序

将上述疑似菌的纯培养物进行 16S rDNA 基因 PCR 及测序,16S rDNA 通用引物序列为 27f(5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3') 和 1492r(5'-GGT TACCTT GTT ACG ACT T-3')。PCR 产物送至广州艾基生物技术有限公司进行测序,测序结果提交美国国立生物技术信息中心进行 blast 比对,即可分析得出细菌最可能所属的菌种。

(3) Ribo printer 全自动微生物基因指纹鉴定系统

用接种棒将上述疑似菌纯培养物转移至加有 200 μL 缓冲液的离心管中,充分振荡混匀制得菌悬液。从离心管中取 30 μL 菌悬液至载样架小管中,再将载样架插入热处理工作站中,25 min 后,依次在载样架小管中加入裂解液 A 和 B。样品处理完毕后进 Ribo printer 全自动微生物基因指纹鉴定系统^[12](下文简称 Ribo printer)操作即可。

(4) MALDI Biotyper 微生物鉴定飞行时间质谱

用无菌接种环挑取适量上述疑似菌纯培养物涂在质谱仪样品检测板上,迅速点样 0.5 μL 的甲酸覆盖加样的位置,随后再点样 1 μL α-氰基-4-羟基肉桂酸溶液覆盖。室温放置,待基质液干燥后,将检测板放入质谱仪检测。将质控菌株大肠埃希菌 ATCC8739 作为校准靶点。先通过基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF-MS)采集多肽和蛋白质的谱峰,再按质量大小排序形成特征的峰谱,即指纹图,通过每种细菌独特的

蛋白组成来鉴定细菌, 应用于不同菌株的鉴定与区分。以线性正性模式用最大频率(20 ~ 200 Hz)采集相对分子质量 2~20 kDa 的图谱, 用 Biotyper 软件对所采集的谱图进行分析即可。

(5) 血清学鉴定及分型

将生化鉴定结果为沙门氏菌的菌株进行血清学鉴定及分型。

①检查培养物有无自凝性

在洁净的玻璃片上滴加 1 滴生理盐水, 取待鉴定培养物于生理盐水中, 混合均匀, 将玻片轻轻摇动 30~60 s, 在黑色背景下观察反应, 无自凝现象。

②多价菌体抗原(O)鉴定及分型

在玻片上划分 2 个区域, 其中 1 个滴 1 滴多价菌体(O)抗血清, 另 1 个区域滴 1 滴生理盐水, 再分别挑取 1 环 TSA 纯培养物与其混合, 用无菌接种环将 2 个区域内的菌苔研成乳状液。将玻片倾斜摇动混合 1 min, 以黑暗背景观察凝集现象; O 多价凝集筛选后再用同样的方法对相应的因子进行 O 血清的分型, 直至最后得出阳性菌株对

应的 O 抗原。

③多价菌体抗原(H)鉴定及分型

在玻片上划分 2 个区域, 其中 1 个滴 1 滴多价菌体(H)抗血清, 另 1 个区域滴 1 滴生理盐水, 再分别挑取 1 环 TSA 纯培养物与其混合, 用无菌接种环将 2 个区域内的菌苔研成乳状液。将玻片倾斜摇动混合 1 min, 以黑暗背景观察凝集现象; 查阅常见沙门氏菌抗原表, 针对上述 O 抗原结果, 有目标性的进行 H 抗原检测。具体方法是: 在无菌平板中倒入 Swarm 琼脂, 待凝固后将菌株点种在平板的中央, 于 37 °C 培养 24 h, 取扩散生长后的菌落边缘部位用 O 抗原检测的方法进行 H 抗原的凝集实验。

3 结果与分析

3.1 增菌培养与平板分离

1#样品 BPW 增菌液、TTB 增菌液呈均匀的巧克力色混浊液, SC 增菌液呈现均匀的砖红色混浊液。

1#样品经 2 次增菌后划线到 3 种选择性平板上进行分离培养, 均发现可疑或典型菌落(见表 1)。

表 1 可疑沙门氏菌在不同培养基上的菌落特征
Table 1 Colony characteristics of suspected *Salmonella* on different media

样品编号	XLD	沙门氏菌显色培养基	BS
1#	圆形菌落, 带黑色中心, 周边半透明, 扁平	蓝绿色圆形菌落, 表面湿润	黑色的圆形菌落, 有金属光泽、边缘整齐、表面湿润
阳性对照	黑色的圆形菌落, 菌落周边无色或粉色	紫红色的圆形菌落, 表面湿润	黑色的圆形菌落, 有金属光泽、边缘整齐、表面湿润

表 2 可疑沙门氏菌的生化反应结果
Table 2 Biochemical results of suspected *Salmonella*

实验项目	1#样品分离菌	鼠伤寒沙门氏菌	大肠埃希菌
斜面	K	K	A
底层	A	A	A
三糖铁琼脂	+	+	+
产气	+	+	+
产硫化氢	-	+	-
赖氨酸脱羧酶	+	+	+
氰化钾	-	-	-
靛基质	-	-	+
尿素	-	-	-
甘露醇	+	+	+
山梨醇	+	+	+
ONPG	+	-	-
Phonenix100 BD 全自动细菌鉴定/药敏系统	大肠埃希菌 <i>Escherichia coli</i> (confidence=99%)	沙门氏菌某些种 <i>Salmonella species</i> (confidence=99%)	大肠埃希菌 <i>Escherichia coli</i> (confidence=99%)

注: "K"为产碱; "A"为产酸; "+"为阳性; "-"为阴性。

3.2 生化鉴定

针对上述选择性平板上出现可疑或典型菌落的样品进行生化鉴定实验,挑取 TSA 平板上纯化后的菌落按照生化鉴定试剂盒使用说明书进行操作,实验结果表明 1#样品中分离得到的菌株为可疑沙门氏菌;但经全自动细菌鉴定/药敏系统确认结果却为大肠埃希菌。为确认上机结果的可靠性,用生化鉴定试剂盒、全自动细菌鉴定/药敏系统分别对大肠埃希菌及鼠伤寒沙门氏菌标准菌株进行实验。结果见表 2。从表 2 中可知,1#样品分离菌、大肠埃希菌和鼠伤寒沙门氏菌在生化反应上,差别很明显,大肠埃希菌斜面不产碱、ONPG 为阴性及靛基质阳性,而 1#样品分离菌斜面产碱、ONPG 阳性、靛基质阴性,两者经全自动细菌鉴定/药敏系统上机确认却均为大肠埃希菌;鼠伤寒沙门氏菌经上机确认为沙门氏菌某些种。由此可见,全自动细菌鉴定/药敏系统对 2 株标准菌株的鉴定结果基本可信,而 1#样品分离菌的鉴定结果值得探究。

3.3 其他鉴定方法的验证

为考察全自动细菌鉴定/药敏系统结果可靠性,采用 16S 测序、Ribo printer 以及 MALDI Biotyper 等鉴定手段,对 1#样品中分离到的可疑菌进行鉴定。

以上 3 种辅助鉴定手段原理各不一样,分别从 DNA、RNA 以及蛋白质水平进行鉴定,取 1#样品分离菌及鼠伤寒沙门氏菌(阳性对照)的 TSA 纯培养物采用上述 3 种方法分别测试,结果见表 3,由此可见,1#样品分离菌 3 种鉴定手段结果均指向沙门氏菌,16S 测序只能鉴定到属的水平,Ribo printer(图 1)和 MALDI Biotyper(图 2)鉴定结果均能匹配到种的水平,但两者鉴定结果略有差别,仪器给出的相似度值或分值如下:与 Ribo printer 菌库中匹配度最高的菌株相似度值为 0.86(该设备相似度 ≥ 0.85 为可信结果),而 MALDI Biotyper 分值为 2.396(该设备分值 2.000 以上为可信结果,2.300~3.000 为高度可信结果,满分 3.000),由此可见 MALDI Biotyper 的鉴定结果更可信,而查询 Ribo printer 菌库得知,本次鉴定结果相似度较低的原因可能是由于该设备菌库中没有与目标微生物同源性较高的菌株,至此可以基本判定全自动细菌鉴定/药敏系统得到大肠埃希菌的结果不可信。

3.4 血清学鉴定及分型

依法对 1#样品分离菌株进行血清学鉴定,结果表明 1#样品分离菌与 O Poly.A-S、OMC、OMD、OME、OMF 不凝集,与 OMG 及 Poly.H 凝集,生理盐水对照未发生凝集反应。

表 3 基于不同鉴定原理的可疑沙门氏菌鉴定结果

Table 3 Identification results of suspected *Salmonella* based on different identification principles

鉴定项目	1#样品分离菌	鼠伤寒沙门氏菌(阳性对照)
16S 测序	沙门氏菌属 <i>Salmonella</i>	沙门氏菌属 <i>Salmonella</i>
Ribo printer 全自动微生物基因指纹鉴定系统	沙门氏亚利桑那亚种 <i>Salmonella arizonae</i> /IIIb	鼠伤寒沙门氏菌 <i>Salmonella typhimurium</i>
MALDI Biotyper 微生物鉴定飞行时间质谱	沙门氏菌双相亚利桑那亚种 <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>diarizonae</i>	鼠伤寒沙门氏菌 <i>Salmonella typhimurium</i>

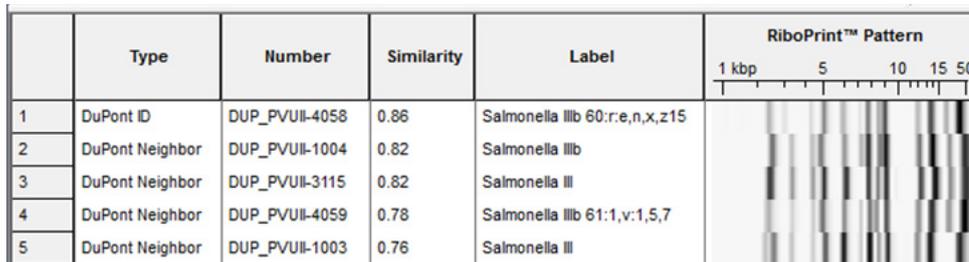


图 1 Ribo printer 全自动微生物基因指纹鉴定结果

Fig.1 Results of Ribo printer automatic microbial gene fingerprint identification system

Rank (Quality)	Matched Pattern	Score Value	NCBI Identifier
1 (****)	<i>Salmonella</i> sp. <i>ferreica</i> s1 <i>Clariasonae</i> CIP B2 3117 CIP	2.396	39204

图 2 MALDI Biotyper 微生物鉴定飞行时间质谱鉴定结果

Fig.2 Results of MALDI Biotyper microbial identification time of flight mass spectrometry

根据血清学鉴定结果进一步对该菌株进行血清学分型。用 OMG 多价血清对应的单因子逐一进行凝集反应实验, 结果与 O60 发生凝集, 其余不凝集, 初步判定为 60 群, 查询 GB 4789.4-2016 的附录 B 中常见沙门氏菌抗原表得知 1#样品分离菌不在常见沙门氏菌抗原表中。

根据已知 O 群结果, 查阅《沙门菌属血清型诊断》^[13], 缩小 H 多价血清范围, 发现 H 多价 3 凝集, 再分别利用单因子逐一验证, 结果发现 Hr 凝集, 其余均不凝集, 故确定 H 抗原第一相为 Hr, 查阅《沙门菌属血清型诊断》得知 H 抗原第 2 相应为 H 多价 2 血清对应的其中 1 种或多种单因子血清; 于是将该分离菌做位相变异实验, 在蔓延生长的菌苔边缘取菌检查, 用 H 多价 2 对应的单因子血清逐一验证, 发现 He, n, x 凝集, 其余均不凝集。综上该分离菌株的血清型应为: O 抗原为 60; H 抗原第 1 相为 r, 第 2 相为 e, n, x, 如表 2。

表 4 可疑沙门氏菌的血清型鉴定和分型结果
Table 4 Serotype classification and identification results of suspected *Salmonella*

菌株 编号	血清型鉴定		O 抗 原	血清型分型		VI 抗 原
	多价 抗原 (O)	多价 抗原 (H)		H 抗原		
				第 1 相	第 2 相	
1#样品 分离菌	OM G	Poly.H	60	r	e, n, x	-
对照 实验	-	-	-	-	-	-

注: “-”表示无凝集现象。

4 结论与讨论

无论是基于何种原理的鉴定手段, 都有其自身局限性, 各有优缺点。本文中的 16S 测序, 因 16S rRNA 基因高变区的序列无法告诉我们特征微生物的种属信息, 只有保守区的差异才对鉴定有一些价值, 然而由于获知的信息比较有限, 所以 16S 测序只能鉴定到种属水平, 无法达到菌株水平的鉴定分析, 但该方法普及率高, 商业化运作较为成熟, 实验室不需要自行拥有相关设备, 将分离好的可疑菌纯培养物外送第三方实验室即可, 单株菌的检测成本非常低。当实验室做定性检验, 且实验室鉴定手段有限时, 16S 测序不失为一种选择, 特别是分离得到的可疑菌落其生化鉴定结果又不可信时, 对确认检验结果十分必要。

Ribo printer 是基于核糖体分型技术, 使用常用限制性内切酶消化目标菌 DNA 产生基因片段, 该基因片段经过电泳分离后转移到硝酸纤维素膜上, 与其 DNA 探针杂交, 该探针包含编码高度保守 16S RNA 和 23S RNA 的 DNA 片段及间隔序列, 杂交后化学发光产生信号由相机

捕获传至工作站处理, 产生“条形码”状条带图像(Ribo printer)模式即 rRNA 基因指纹图, 并与数据库比较从而达到细菌鉴定、分型的目的。该方法适用于分析菌株间, 尤其是相似度、同源性较高菌株间的细微差异, 因此被广泛应用于制药企业的微生物污染调查中。但由于其菌种库的局限性, 当遇到像文中的特定微生物时, 并不能给出准确的结果, 且耗材成本非常高。

这时就需要其他的鉴定手段辅助, 如文中的 MALDI Biotyper, 该设备拥有丰富的菌种数据库, 鉴定快速, 检验耗材成本低廉。一般在定性检验时, 往往会挑选大量的可疑菌进行确认, 如果所有的可疑菌株均通过生化鉴定确认, 工作量会非常大, 而且非常耗时, 甚至影响检验时限, 上述特点使其在做高通量菌株筛选时优势明显。但该方法设备购置成本较高, 仪器维护成本较高, 对实验室环境控制较为严格。

而生化鉴定结果一直以来都是作为国标中的金标准, 是报告中必须的数据支撑。因此全自动细菌鉴定/药敏系统的鉴定结果也很关键。国标 GB 4789.4-2016 规定生化鉴定结果为沙门氏菌, 且血清学鉴定凝集时, 才可判定检出沙门氏菌, 两者缺一不可。但因不同的检测机构血型学分型能力有差异, 对检验者的能力和经验也有一定要求, 所以血清学分型一直作为选做项目。本文中 1#样品分离菌如果按照国标去检验, 会发现其生化反应与血清学分型结果均在国标中找不到依据, 但如果依赖全自动的生化鉴定设备, 也会有报错的风险。如本文所述, 1#样品分离菌采用全自动细菌鉴定/药敏系统进行生化鉴定, 结果显示为大肠埃希菌, 若不对该结果进一步确认, 则很可能造成假阴性结果。最后笔者通过对分离菌进行 16S 测序、Ribo printer、MALDI Biotyper 以及血清学分型等多种手段联合验证, 确认了 Phoenix100 的生化鉴定结果不可信, 该分离菌应为沙门氏菌亚利桑那亚种。由此可见, 为了得到准确的鉴定结果, 基于不同原理的多种鉴定手段联用才更能确保实验结果的可靠有效。

分析生化鉴定系统报错的原因, 无外乎设备硬件、软件数据库以及样本生物活性等几方面原因, 首先笔者查询到 Phoenix100 的菌种库包含了沙门氏菌亚利桑那双相亚种, 说明在数据库匹配性上应该不存在问题, 而针对样本生物活性的问题, 笔者将文中可疑菌经多次传代, 反复上机, 结果均为大肠埃希菌, 同步用其他手段鉴定得到的结果也均指向沙门氏菌, 说明样本生物活性也应能满足要求, 再考虑设备硬件问题, 该设备每年均正常维保, 各种易耗损配件也均在有效期内, 但该设备服役年限将近 10 年, 是否存在其他未检测到的原因尚不明确。另外 Phoenix100 针对沙门氏菌亚利桑那双相亚种检测灵敏度的问题也有待进一步考证。

最后, 微生物鉴定手段多种多样, 除本文中提到的几

种方法之外, 还有利用酶联免疫反应的检测方法, 如免疫磁性分离技术、酶联免疫吸附实验 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)^[14]、斑点免疫金渗滤法^[15]、荧光免疫分析法 (fluorescence immunoassay, FIA)^[16]和全自动荧光免疫分析仪 (BioMerieux mini VIDAS automated immunoassay analyzer, VIDAS)^[17]; 利用分子生物学技术的方法, 如聚合酶链式反应技术 (polymerase chain reaction, PCR)、扩增片段长度多态性技术 (restriction fragment length polymorphism, AFLP)^[18]、环介导等温扩增技术 (loop-mediated isothermal amplification, LAMP)^[19]等; 其他还有电阻抗技术、生物传感器技术和微量热量测定法等^[20]。这些设备在不同的领域都有其独特的优势, 多种技术的联用还有待进一步研究。

参考文献

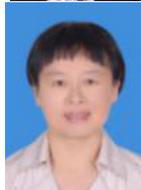
- Mcsorley SJ. Immunity to intestinal pathogens: Lessons learned from *Salmonella* [J]. *Immunol Rev*, 2015, 260(1): 168–182.
- Ramirez-Castillo FY, Loera-Muro A, Jacques M, et al. Waterborne pathogens: Detection methods and challenges [J]. *Pathog*, 2015, 4(2): 307–334.
- 江志杰, 王似锦, 高春. 食品中沙门氏菌检出能力验证结果与分析[J]. *食品安全质量检测学报*, 2015, 6(5): 1929–1935.
Jiang ZJ, Wang SJ, Gao C. Proficiency testing results and analysis of *Salmonella* detection ability in food [J]. *J Food Saf Qual*, 2015, 6(5): 1929–1935.
- 张红莉, 欧露真. 能力验证试验中沙门氏菌的分离与鉴定[J]. *食品安全质量检测学报*, 2016, 7(12): 4996–4999.
Zhang HL, Ou LZ. Isolation and identification of *Salmonella* in proficiency testing [J]. *J Food Saf Qual*, 2016, 7(12): 4996–4999.
- 孙晶, 王敬睿, 魏静元, 等. 食品中金黄色葡萄球菌和沙门氏菌检出能力验证结果与分析[J]. *食品安全质量检测学报*, 2017, 8(9): 3561–3564.
Sun J, Wang QR, Wei JY, et al. Proficiency testing results and analysis of detection ability of *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* in food [J]. *J Food Saf Qual*, 2017, 8(9): 3561–3564.
- 高晗, 何娟, 严礼. 3种沙门氏菌检测方法能力验证[J]. *食品安全质量检测学报*, 2017, 8(2): 510–515.
Gao H, He J, Yan L. Capability verification of three detection methods of *Salmonella* [J]. *J Food Saf Qual*, 2017, 8(2): 510–515.
- GB 29921-2013 食品安全国家标准 食品中致病细菌限量[S].
GB 29921-2013 National food safety standard-Food microbiological examination: Limit of pathogenic bacteria [S].
- 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[S].
GB 4789.4-2016 National food safety standard-Food microbiological examination-Salmonella [S].
- 曲梅, 黄瑛, 吕冰, 等. 引起腹泻的肠道沙门氏菌双相亚利桑那亚种病原学鉴定[J]. *中国预防医学杂志*, 2016, 17(6): 405–408.
Qu M, Huang Y, Lu B, et al. Etiological identification of *Salmonella* enterica subspecies diarizonae isolate [J]. *Chin Prev Med*, 2016, 17(6): 405–408.
- 王志伟, 徐琼, 陈欣钦, 等. 能力验证样品中沙门氏菌的分离与鉴定[J]. *食品研究与开发*, 2016, 37(7): 161–163.
Wang ZW, Xu Q, Chen XQ, et al. Isolation and identification of *Salmonella* in the proficiency testing sample [J]. *Food Res Dev*, 2016, 37(7): 161–163.
- 刘杰, 黄淑华, 陈磊, 等. 开封市首次检出2株亚利桑那沙门菌的鉴定与分析[J]. *河南预防医学杂志*, 2013, 24(4): 261–264.
Liu J, Huang SH, Chen L, et al. Two rare occurring *Salmonella* arizonae strains detected in Kaifeng city [J]. *Henan J Prev Med*, 2013, 24(4): 261–264.
- Liu JC, Jiang TM, Jiang AC, et al. Rapid bacterial identification with dupont qualicon riboprinter system [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2013, 34(13): 170–169.
- 朱超, 许学斌. 沙门菌属血清型诊断[M]. 上海: 同济大学出版社, 2009.
Zhu C, Xu XB. Serological diagnosis of *Salmonella*-species [M]. Shanghai: Tongji University Press, 2009.
- Alcocer I. Rapid detection of *Salmonella* Enteritidis in food by ELISA assay [J]. *Food Sci Technol*, 2003, 23(3): 401–408.
- Cao C, Jiao X, Liu H, et al. Rapid detection of O₉ antigen of *Salmonella* by dot immuno-gold filtration assay [J]. *Chin J Zoon*, 2005, 21(3): 210–212.
- Croci, Luciana, Palleschi, et al. Evaluation of a classic PCR method and an electrochemical ELISA method coupled with an FIA system for the detection of *Salmonella* in meat [J]. *Rev Méd De Chil*, 2003, 116(10): 985–992.
- Crowley E, Bird P, Fisher K, et al. Evaluation of VIDAS *Salmonella* (SLM) easy *Salmonella* method for the detection of *Salmonella* in a variety of foods: Collaborative study [J]. *J AOAC Int*, 2011, 94(6): 1821–1834.
- Vaz CSL, Streck AF, Tramontina T, et al. Use of a modified AFLP protocol to discriminate *Salmonella* enterica sub sp. enterica serovar Enteritidis isolates [J]. *Acta Sci Vet*, 2007, 35(1): 41–48.
- Kokkinos PA, Ziros PG, Bellou M, et al. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for the detection of *Salmonella*, in food [J]. *Food Anal Methods*, 2014, 7(2): 512–526.
- Bansal N, Drake MA, Piraino P, et al. Suitability of recombinant camel (*Camelus dromedarius*) chymosin as a coagulant for Cheddar cheese [J]. *Int Dairy J*, 2009, 19(9): 510–517.

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介



罗俊, 主管药师, 主要研究方向为食品微生物学检验。
E-mail: ljrobby@126.com



应国红, 主任药师, 主要研究方向为药品、食品、化妆品微生物学检验。
E-mail: 1150324055@qq.com