

基因组学在食品安全微生物监控中的应用

高惠敏, 颜春荣, 张 蕾, 徐春祥*

(江苏省食品药品监督检验研究院, 南京 210008)

摘 要: 随着测序技术和生物信息学的发展, 基于高通量的全基因组测序技术在食品安全领域的运用越来越广泛, 尤其在食源性疾病暴发病原的检测与诊断上具有明显的优势。与传统的检测手段相比, 基于全基因组测序的检测技术具有覆盖面广、灵敏度高和遗传信息丰富的优点。本文综述了基因组测序技术的主要方法及基本原理, 总结了国内外全基因组测序技术用于食源性微生物检测和监控的研究进展, 探讨了基因组学技术在致病菌监测中仍待解决的问题, 并对基因组学在食品安全检测领域的应用进行了分析和展望。

关键词: 基因组测序; 食源性微生物; 生物信息学; 细菌分型

Application of genomics in food safety microbial monitoring

GAO Hui-Min, YAN Chun-Rong, ZHANG Lei, XU Chun-Xiang*

(Jiangsu Institute for Food and Drug Control, Nanjing 210008, China)

ABSTRACT: With the development of sequencing technology and bioinformatics, high-throughput based whole genome sequencing has been widely used in the field of food safety, especially in the detection and diagnosis of pathogen outbreaks. Compared with the traditional detection methods, whole genome sequencing detection technology has the advantages of wide coverage, high sensitivity and rich genetic information. This paper reviewed the main methods and basic principles of whole genome sequencing technology used in the field of food safety, summarized the research progress of whole genome sequencing technology for foodborne microbiological detection, discussed the problems to be solved in the application of genomics in pathogen monitoring, and analyzed and prospected the application of genomics in the field of food safety detection.

KEY WORDS: whole genome sequencing; foodborne microorganism; bioinformatics; bacterial typing

1 引 言

组学包括基因组学、转录组学、蛋白质组学和代谢组学等, 通过先进的生物信息学分析方法, 组学可以为减少和降低微生物食品安全危害提供建议^[1]。与其他组学方法在食品安全方面的研究相比, 基因组学是应用最早和最广泛的。特别是针对细菌菌株, 全基因组测序已经开始取代

其他分子方法比如脉冲场凝胶电泳(pulsed field gel electrophoresis, PFGE)技术, 成为细菌分型的主要选择^[2]。从监管和公共卫生机构角度, 全基因组测序技术可在几天内确定病原, 为及时监控并召回被污染食品、有效诊治患者提供强有力技术支撑^[3-5]。因此, 如何方便地使用高通量基因组测序及其获得的信息已成为食品产业和食品安全专家们迫切需要解决的问题。本文主要对基因组学在食品安全领

基金项目: “十三五”国家重点研发计划项目(2017YFC1600806)、江苏省市场监督管理局科技计划项目(KJ196039)

Fund: Supported by the National Key Research and Development Projects During the 13th Five-year Plan (2017YFC1600806) and the Science and Technology Plan Project of Market Supervision Administration of Jiangsu Province (KJ196039)

***通讯作者:** 徐春祥, 研究员级高级工程师, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: xcx70@163.com

***Corresponding author:** XU Chun-Xiang, Professor, Jiangsu Institute for Food and Drug Control, Beijing West Road, No.6, Gulou District, Nanjing 210008, China. E-mail: xcx70@163.com

域的应用现状和发展趋势进行概述,并重点阐述基因组学在食源性致病菌检测及疫情防控中的应用,探讨基因组学技术在食品安全领域应用的利弊和未来前景,为基因组学在食品安全领域应用的进一步发展提供参考。

2 基因组测序与生物信息学分析

2.1 基因组测序的演变和现状

自 1975 年由 Sanger 和 Coulson 开创的链终止法(一代测序)开始, DNA 测序技术在过去的 40 多年间经历了飞速的发展,早期 DNA 测序主要依赖 Sanger 测序技术,该技术利用在 PCR 反应体系中加入双脱氧的核苷酸使 PCR 反应提前终止原理来确定 DNA 序列的碱基组成,如 1995 年科学家首次通过桑格测序技术测定了流感嗜血杆菌的全基因组^[6];国际人类基因组测序联盟(International Human Genome Consortium, IHGSC)也通过该技术测定了人类基因组,该项目花费近 30 亿美元并耗时 13 年之久^[7,8]。Sanger 测序技术为 DNA 测序的发展奠定了基础,尽管 Sanger 测序技术精度高,但该测序技术成本高、通量低,越来越不能满足分子生物研究的需求。

随着科技的进步和高通量测序需求的增加,二代测序技术应运而生。与一代测序相比,二代测序的核心策略是边合成边测序,每次反应可产生上百万个 DNA 序列,大大提高了测序的速度,降低了测序的成本。第二代测序主要包括 Roche 公司的 454 技术、Illumina 公司的 Solexa、Hiseq 技术和 ABI 公司的 Solid 技术,其中以 Illumina 的 Hiseq 和 Roche 的 454 测序应用较为广泛^[9,10]。两者在测序原理上大同小异,但在测序长度上有着显著差异,因而适用于不同类型的研究。Hiseq 测序读长较短(~250 bp)适用于包含许多菌株的测序项目以及重测序。而 Roche 454 测序读长较长,平均 500 bp 左右,更适用于宏基因组种群丰度测序。最近 10 年,以 Illumina、Roche 454 为代表的高通量测序技术的诞生带动了细菌基因组测序的第二次革命^[9,10]。这些测序平台还可以对小的细菌基因组(<10 Mb)进行规模化测序,2015 年康奈尔大学曾对分离自美国不同熟食店的 200 种单增李斯特菌进行基因组测序,多次建库高通量序列的输出可以同时高达 96 个菌株进行测序,最终使得每一个菌株全基因组测序的成本低于 100 美元。针对不同样品的建库和测序要求,将来的测序成本还会继续下降,单样品的测序成本将从大于 50 美元降至低于 10 美元^[11]。

二代测序技术的出现提高了测序的效率,降低了测序成本,但其也具有明显的劣势,较短的测序长度增加了基因组组装的难度。以 PacBio 技术为代表的三代测序技术的出现弥足了这一缺陷。PacBio 是美国太平洋生物科学公司(Pacific Biosciences, <http://www.pacb.com/>)推出的单分

子实时 DNA 测序技术(single molecular real time sequencing, SMRT),其主要特点是序列读长长,目前平均序列读长在 10 kb 以上,最长可达 40 kb,更适用于解决比较基因组问题^[12-14]。三代测序平台利用序列读长中成千上万的碱基对与短读长数据进行杂交分析可以完成对多种细菌的基因组测序^[15]。在微生物组菌型分型方面, PacBio 的长读长单分子测序还可以弥补短读长测序技术提供的分辨率不足的问题,进一步区分遗传特征较近的菌株^[16,17]。已完成测序的基因组也可以单独构建单分子数据,如对分离自鸡中的鼠伤寒沙门氏杆菌进行的测序等^[18]。

2.2 用于分析细菌全基因组数据的生物信息学工具

细菌的全基因组测序离不开生物信息学分析,包括基因组的组装、比对以及分型等。如何使用这些生物信息分析工具将大量短的基因组碎片整合以及将大量来源不同的基因组数据进行有效比对是目前数据分析面临的巨大挑战。生物信息担负了将计算与用户界面连接的重任。

目前,分析细菌全基因组数据主要有 2 种策略,全基因组单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)分析和全基因组多位点序列分型(whole genome multi locus sequence typing, wgMLST)^[19]。2 种策略都是建立在基因测序基础上,根据碱基变异来对细菌的种类或株系进行区分,不同在于选择的分型基因数量和基因长度差异。全基因组的 SNP 分析由于通过全基因组水平的变异区分细菌间的差异,具有更高的分辨率,能达到区分同种不同种群细菌的效果。这些分析的主要工作流程包括:测序质量控制、有效的基因组组装、变体的识别以及基于变异分型。质控是对测序产生的原始数据进行去接头、过滤低质量片段、得到“Clean data”的过程。质量控制通常会过滤掉 5%~15% 低质量的序列,有助于提高后续分析的准确性^[20]。全基因组的比对(mapping)和从头组装分析从灵敏度和速度上都有大幅度提高^[21]。但是系统发育和分型结果不需要这些耗时的流程,其分析工具主要包括:基于核基因组的 K-mer 分析和泛基因组 SNP 检测、基于 de Bruijn 图分析 SNP 插入缺失位点\较大的变异检测、读长仅比对到感兴趣的 MLST 序列上和基因的检测、生态位应用如沙门氏菌血清型分型等^[22,23]。

测序技术的发展使得海量的 DNA 序列被测定,这需要更加高效的分析软件用于管理和分析 DNA 数据,挖掘有用的遗传变异信息,进而促进了生物信息学的发展。由于计算量较大,多数生物信息学软件都开发应用于 Linux 操作系统,需要研究者们用命令行操作软件和具有一定编程基础,这提高了对研究者的要求,一定程度上限制了其在应用型研究单位的推广应用。因此,现代生物信息学的发展更倾向于图形化和基于网络的友好用户界面,这就使得研究者们不需要深厚的编程技能就能将最先进的运算技

术应用于他们的数据。虽然直观的用户界面适合单个或小数量的基因组分析,但是由于要从服务器端调用大量的数据以及缺乏分析的灵活性,这些基于网络的用户界面还不适合分析高通量的数据。尽管如此,基于云计算的数据存储和计算成本较低的食品安全分析渠道在不久的将来会得到长足的发展^[24]。

3 全基因组测序在食源性疾病疫情识别、监控和病原溯源上的应用

近年,基因组测序已广泛应用于食源性致病菌的特征检测,如沙门氏菌、埃希氏菌、李斯特菌、弯曲杆菌和弧菌等^[25,26]。食源性致病菌的基因组信息为更好地了解这些病原菌的遗传组成、种群结构和亲缘关系等提供了新的视角。在食品安全领域,越来越多的研究机构和监管部门将全基因组测序技术应用于食源性疾病疫情爆发的识别和监测,并基于此技术进行疾病溯源追踪和污染调查等。

全基因组测序助力快速识别食源性病原聚集性疫情。关于全基因组测序与食源性疾病暴发识别相关的报道大约开始于 2011 年^[27]。2011 年 5 月,德国暴发食源性肠出血型大肠杆菌 O104:H4 型疫情,同年 6 月,科研人员基于 Illumina 的 HiSeq 2000 测序平台首先完成了大肠杆菌 O104:H4 型的基因组图谱,并研制出诊断试剂盒,为全球范围内的病情诊断、疫情监测和污染源调查提供了有力支持^[28]。2013 年 9 月,美国疾控中心宣布启动基于全基因组测序技术的生物学检测项目,收集分离自全美病人、食品及环境中的所有单增李斯特菌株系,采用全基因组测序技术用于单增李斯特菌的分子分型,以便快速准确鉴定可疑的致病食品。在开展此项目后三年内,结合流行病学和产品追溯数据,共监测和解决多达 14 次单增李斯特菌小规模暴发事件^[29,30]。

基于全基因组测序的分型技术不仅可以快速检测病原菌,而且具有较高的准确度和分辨率。2014 年,研究者发现肠炎沙门氏菌的全基因组序列可以提高对该菌血清型分型的准确性^[31]。Den-Bakker 等^[32]的研究也表明,全基因组测序有助于提高肠炎沙门氏菌血清型暴发的检测能力。SeqSero 是一款基于全基因组测序数据推出的对沙门氏菌血清分型软件。目前,最新版本 SeqSero2 已经作为一线分型方法被美国等多国公共卫生和食品安全实验室使用^[33,34]。2019 年,针对 2007~2016 年发生在加拿大魁北克省沙门氏菌病散发病例,研究者评估了 4 种基于全基因组测序的分型方法。结果发现 4 种分型方法皆可将暴发菌株分为 4 个不同的系统发育簇,与流行病学数据相一致,而脉冲场电泳则无法区分以上不同的暴发事件^[25]。有报道曾利用全基因组测序结合宏基因组学方法对沙门氏菌和产志贺菌属大肠杆菌血清分型和细菌耐药性决定因素进行 SWOT

分析,结果发现实际表型和基于全基因组测序的分型预测数据高度一致^[2]。以上研究表明,全基因组测序可能为食源性病原体识别提供了目前最高水平的菌株识别能力。

全基因组测序不仅能提高细菌分型的分辨率和准确度,还能提供从分型中无法获得的辅助信息,如揭示系统发育关系,用于回顾性识别环境来源和疾病溯源追踪。而常规的脉冲场凝胶电泳等分子分型技术仅能对病原菌基因组中的部分变异情况进行分析,无法全面反映菌株整体的遗传变异信息^[2]。2008 年李斯特菌疫情在加拿大大规模暴发,脉冲场凝胶电泳基因分型发现暴发是由 2 种亲缘关系较远的株系造成的,而全基因组测序分析则发现引起暴发的 2 种李斯特菌株系遗传分化较小,存在较近的共同祖先,分化主要来自于噬菌体插入拷贝数的差异^[35]。类似案例还发生在火鸡肉中的 2 种李斯特菌暴发上,一次发生在 1998~1999 年,另一次在 2002 年,经测序发现 2 次暴发菌株的变异主要来自于是否存在插入质粒序列^[36]。2017 年,王旭等^[37,38]通过比较基因组学分析,表明原噬菌体是单增李斯特菌 WaX12 微进化的主要原因。该研究运用 Illumina 测序技术对一株中国单增李斯特菌 WaX12 的基因组进行了测定,发现其基因组与 Finland 1998 相似度较高但原噬菌体的数量存在差异,其中 2 个噬菌体分别来自于大肠杆菌和粪球菌。越来越多的研究表明,全基因组测序为食源性疾病暴发的精准溯源提供了有力技术支撑^[39,40]。

随着基因组测序技术的发展,基于全基因组测序的分子分型已经成为国际上监测和预防食源性疾病流行与暴发的金标准技术。2015 年,美国食品及药品管理局的 Genome Trakr project 项目率先启动了对食品和植物加工品中单增李斯特菌和沙门氏菌的监测工作,并陆续开展对大肠杆菌、空肠弯曲菌、弧菌以及阪崎肠杆菌等其他食源性病原菌的全基因组测序监测工作^[41~43]。此外,阿根廷、爱尔兰、英格兰、土耳其、比利时和墨西哥都已建立了全基因组测序技术的实验室。2015 年欧盟食品安全局已经将全基因组测序技术用于食品中重要食源性致病菌的鉴定、分子分型、耐药、血清分型等。2019 年 9 月,由国家食品安全风险评估中心牵头的我国首个基于全基因组测序技术的食源性疾病分子溯源网络建成并投入使用,以应用于病因食品的快速准确识别^[44]。

4 宏基因组学在食品微生物中的运用

宏基因组测序,作为一类近年来应用广泛的高通量测序技术,为食品安全检测提供了一种极为高效灵敏的微生物检测手段^[45,46]。宏基因组(metagenomics)是以特定环境样品中整个微生物群落基因组作为研究对象,无需分离培养,直接提取环境样本的 DNA 进行高通量测序。此方法避免了微生物从食品、环境或临床样本中分离培养的步骤,

可直接通过 DNA 提取和基因组测序直接检测,并且解决了难培养微生物检测和鉴定的问题^[47]。目前微生物的宏基因组学按照技术手段可分为 2 种: (1)通过细菌核糖体 16S rRNA 或真菌 18S rRNA 的扩增测序来对微生物分类^[48], (2)通过对原始 DNA 的直接建库测序。宏基因组学运用过程中的一个潜在问题是假阳性, 这些假阳性信号来自于外源 DNA(如宿主残留 DNA)的污染。而基于 16S rRNA 的微生物宏基因组技术, 因只根据 16S rRNA 的序列进行分型, 一些种的高可变区可能非常相近, 但能够区分它们的特异性片段可能不在扩增区域内, 导致无法准确区分近缘的微生物品系。

目前, 在食品安全领域, 宏基因组学的应用更侧重于对食源性病原体生物学的研究, 包括系统研究微生物群落结构及其功能基因等, 用于指导食品质量控制以及制订新防控措施等。近年来, 国内基于宏基因组测序用于发酵食品微生物的研究尤其集中, 以在食醋中的研究为例, 研究人员曾利用宏基因组测序结合代谢组学对镇江香醋中微生物群落分布和风味物质的变化进行了分析, 通过分析细菌群落和主要的风味物质在不同批次间均匀性和稳定性, 从而对镇江香醋的产品品质和质量进行评估^[49]。尽管目前微生物宏基因组学在食品安全中的运用还存在很多问题, 如目标样本测序丰度低、随机扩增方法和引物的选择难以做到无偏差覆盖等, 但它也具有巨大的潜力, 该技术的应用有利于更细致地描述食品中病原菌的生理状态, 有助于促进食品安全检测进入一个新阶段。

5 基因组学技术在食源性致病菌检测中存在的问题

尽管基因测序技术发展迅猛, 已为食品安全领域带来颠覆性变革。但是将基因组学技术完美地从研究实验室转化为现代食品安全实验室日常使用, 仍有很长一段路要走。首先, 通过基因组测序对细菌进行的分子分型是回顾性的, 基于此结果的预测是否能改变疫情暴发进展仍存在质疑。单独的基因组测序分析仍需有效结合流行病学调查和环境数据等才能给出更科学的理论指导。其次, 基因组测序只是单独的数据获得, 如何对海量的数据进行分析才是解决食品微生物安全问题的关键。对研究者来说, 丰富的生物信息学知识必不可少。数据分析也是对食品安全从业人员的一个巨大挑战。最后, 构建食源性疾病分子溯源网络涉及环境监控、采样、检测等多个流程。全网络监控成本较高且环境监控是一个持续的过程, 如何制定一个有效的监控计划是衡量整个防控和溯源项目的关键要素, 需要庞大的实践数据支撑。

6 总结与展望

全基因组测序改变了整个食源性疾病疫情监测的状

态, 改进过的分型检测技术可以检测到越来越多小疫情的暴发, 同时还能通过对监管过程中采集的样品进行回顾性分析加强检测与监管部门间的沟通合作, 促进防控措施的制订和施行。未来全基因组测序技术和生物信息学技术的发展应该更侧重于让食品安全从业人员更专注于去提出重要的生物学问题而不是纠结于如何分析复杂的数据^[1]。而组学技术在食品安全方面将不再是简单的呈现数据, 更多的是去探讨不同病原微生物间的关系以及病原体如何与微生物、食品环境等互动, 致力于研究这些技术如何更好的去推动食品安全事业的发展。

参考文献

- [1] Bergholz TM, Moreno SAI, Wiedmann M. Omics approaches in food safety: Fulfilling the promise? [J]. Trends Microbiol, 2014, 22(5): 275–281.
- [2] Koutsoumanis K, Allende A, Avelino AR, et al. Whole genome sequencing and metagenomics for outbreak investigation, source attribution and risk assessment of food-borne microorganisms [J]. EFSA J, 2019, 17(12): 5898.
- [3] Ronholm J, Nasheri N, Petronella N, et al. Navigating microbiological food safety in the era of whole-genome sequencing [J]. Clin Microbiol Rev, 2016, 29(4): 837–857.
- [4] Taboada EN, Graham MR, Carrico JA, et al. Food safety in the age of next generation sequencing, bioinformatics, and open data access [J]. Front Microbiol, 2017, 8(909): 1–10.
- [5] Allard MW, Bell R, Ferreira CM, et al. Genomics of foodborne pathogens for microbial food safety [J]. Curr Opinion Biotechnol, 2018, 49: 224–229.
- [6] Fleischmann RD. Whole-genome random sequencing and assembly of *Haemophilus-influenza* [J]. Science, 1995, 269(5223): 496–512.
- [7] International Human Genome Sequencing Consortium (2001) initial sequencing and analysis of the human genome [Z].
- [8] Collins FS, Lander ES, Rogers J, et al. Finishing the euchromatic sequence of the human genome [J]. Nature, 2004, 431(7011): 931–945.
- [9] DePristo MA, Banks E, Poplin R, et al. A framework for variation discovery and genotyping using next-generation DNA sequencing data [J]. Nat Genet, 2011, 43(5): 491–498.
- [10] Besser J, Carleton HA, Gerner-Smidt P, et al. Next-generation sequencing technologies and their application to the study and control of bacterial infections [J]. Clin Microbiol Infect, 2017, 4: 335–341.
- [11] Baym M, Kryazhimskiy S, Lieberman TD, et al. Inexpensive multiplexed library preparation for megabase-sized genomes [J]. PLoS One, 2015, 10(5): e0128036.
- [12] Schadt EE, Turner S, Kasarskis A, et al. A window into third-generation sequencing [J]. Human Mol Genet, 2010, 19: R227–R240.
- [13] Van-Dijk EL, Jaszczyszyn Y, Naquin D, et al. The third revolution in sequencing technology [J]. Trends Genet, 2018, 34(9): 666–681.
- [14] Mantere T, Kersten S, Hoischen A. Long-read sequencing emerging in medical genetics [J]. Front Genet, 2019, 10: 426.
- [15] Bashir A, Klammer AA, Robins WP, et al. A hybrid approach for the automated finishing of bacterial genomes [J]. Nat Biotechnol, 2012, 30:

- 701–702.
- [16] 李桂澜, 匡华. 高通量测序技术在食品微生物检测中的应用[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, (15): 5091–5097.
- Li GL, Kuang H. Applications of high-throughput sequencing technologies for food microbiome detection [J]. J Food Saf Qual, 2019, (15): 5091–5097.
- [17] Beaulaurier J, Zhu S, Deikus G, et al. Metagenomic binning and association of plasmids with bacterial host genomes using DNA methylation [J]. Nat Biotechnol, 2018, 36: 61–69.
- [18] Carattoli A, Zankari E, Garcia-Fernandez A, et al. In silico detection and typing of plasmids using plasmidfinder and plasmid multilocus sequence typing [J]. Antimicrobial Agents Chemother, 2014, 58(7): 3895–3903.
- [19] Jagadeesan B, Gerner-Smidt P, Allard MW, et al. The use of next generation sequencing for improving food safety: Translation into practice [J]. Food Microbiol, 2019, 79: 96–115.
- [20] Paszkiewicz KH, Farbos A, O'Neill P, et al. Quality control on the frontier [J]. Front Genet, 2014, 5: 157.
- [21] Bankevich A, Nurk S, Antipov D, et al. SPAdes: A new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing [J]. J Computat Biol, 2012, 19(5): 455–477.
- [22] Gardner SN, Hall BG. When whole-genome alignments just won't work: kSNP v2 software for alignment-free SNP discovery and phylogenetics of hundreds of microbial genomes [J]. PLoS One, 2013, 8(12): e81760.
- [23] Zhang S, Yin Y, Jones MB, et al. *Salmonella* serotype determination utilizing high-throughput genome sequencing data [J]. J Clin Microbiol, 2015, 53(5): 1685–1692.
- [24] Fricke WF, Rasko DA. Bacterial genome sequencing in the clinic: Bioinformatic challenges and solutions [J]. Nat Rev Genet, 2014, 15(1): 49–55.
- [25] Vincent C, Usongo V, Berry C, et al. Comparison of advanced whole genome sequence-based methods to distinguish strains of *Salmonella enterica* serovar Heidelberg involved in foodborne outbreaks in Quebec [J]. Food Microbiol, 2018, 73: 99–110.
- [26] Llaena AK, Taboada E, Rossi M. Whole-genome sequencing in epidemiology of *Campylobacter jejuni* infections [J]. J Clin Microbiol, 2017. DOI: 10.1128/JCM.00017–17
- [27] Lienau EK, Strain E, Wang C, et al. Identification of a salmonellosis outbreak by means of molecular sequencing [J]. New England J Med, 2011, 364(10): 981–982.
- [28] Rohde H, Qin JJ, Cui YJ, et al. Open-source genomic analysis of shiga-toxin-producing *E. coli* O104: H4 [J]. New England J Med, 2011, 365(8): 718–724.
- [29] Jackson BR, Tarr C, Strain E, et al. Implementation of nationwide real-time whole-genome sequencing to enhance listeriosis outbreak detection and investigation [J]. Clin Infect Dis, 2016, 63(3): 380–386.
- [30] Kwong JC, Mercoulia K, Tomita T, et al. Prospective whole-genome sequencing enhances national surveillance of *Listeria monocytogenes* [J]. J Clin Microbiol, 2016, 54(2): 333.
- [31] Deng X, Desai PT, Den-Bakker HC, et al. Genomic epidemiology of *Salmonella enterica* serotype enteritidis based on population structure of prevalent lineages [J]. Emerg Infect Dis, 2014, 20(9): 1481–1489.
- [32] Den-Bakker HC, Allard MW, Bopp D, et al. Rapid whole-genome sequencing for surveillance of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis [J]. Emerg Infect Dis, 2014, 20(8): 1306–1314.
- [33] Zhang S, Yin Y, Jones MB, et al. *Salmonella* serotype determination utilizing high-throughput genome sequencing data [J]. J Clin Microbiol, 2015, 53(5): 1685.
- [34] Zhang SK, Den-Bakker HC, Li ST, et al. SeqSero2: Rapid and improved salmonella serotype determination using whole-genome sequencing data [J]. Appl Environ Microbiol, 2019, 85(23): e01746.
- [35] Gilmour MW, Graham M, Domselaar GV, et al. High-throughput genome sequencing of two *Listeria monocytogenes* clinical isolates during a large foodborne outbreak [J]. BMC Genom, 2010, 11: 120.
- [36] Lomonaco S. Novel epidemic clones of *Listeria monocytogenes*, United States, 2011 [J]. Emerg Infect Dis, 2013, 19(1): 147–150.
- [37] 王旭, 李骏, 张昭寰, 等. 一株含有 5 个原噬菌体的单增李斯特菌比较基因组分析[J]. 基因组学与应用生物学, 2017, 36(2): 670–685.
- Wang X, Li J, Zhang ZH, et al. Comparative genomic analysis of one *Listeria monocytogenes* containing five prophages [J]. Genom Appl Biol, 2017, 36(2): 670–685.
- [38] 王旭. 基于比较基因组学和转录组学技术揭示单增李斯特菌毒力因子的研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2016.
- Wang X. Research of virulence factor in *Listeria monocytogenes* revealed by comparative genomic and transcriptome analysis [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2016.
- [39] Allard M, Wang C, Kastanis G, et al. GenomeTrakr: A pathogen database to build a global genomic network for pathogen traceback and outbreak detection [J]. J Food Prot, 2015, 78(SA): 297.
- [40] Timme R, Leon MS, Allard M, et al. GenomeTrakr database 2015: WGS network for foodborne pathogen traceback [J]. J Food Prot, 2016, 79(SA): 227.
- [41] 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, (16): 5293–5298.
- Yi TC, Huo SN, Cheng XL, et al. Advances in traceability typing and identification of foodborne pathogens [J]. J Food Saf Qual, 2019, (16): 5293–5298.
- [42] Timme RE, Rand H, Leon MS, et al. GenomeTrakr proficiency testing for foodborne pathogen surveillance: An exercise from 2015 [Z]. 2018.
- [43] Llard M, Timme R, Sanchez M, et al. The GenomeTrakr database global WGS network for food-borne pathogen traceback [J]. J Food Prot, 2019, 82(S2): 133.
- [44] 我国首个基于全基因组测序技术的食源性致病菌溯源网络建成并投入使用[EB/OL]. [2019-09-17]. http://www.w.most.gov.cn/gnwkjdt/201909/t20190916_148798.htm
- China's first food borne disease molecular traceability network based on whole genome sequencing technology was established and put into use [EB/OL]. [2019-09-17]. http://www.most.gov.cn/gnwkjdt/201909/t20190916_148798.htm
- [45] 雷忠华, 陈聪聪, 陈谷. 基于宏基因组和宏转录组的发酵食品微生物研究进展[J]. 食品科学, 2018, (3): 330–337.
- Lei ZH, Chen CC, Chen G. Metagenomic and metatranscriptomic analysis of microbiota in fermented foods: Review of recent advances [J]. Food Sci, 2018, (3): 330–337.
- [46] 刘悦, 朱小亚, 蒋析文. 基于 NGS 的宏基因组学在微生物病原体鉴定中的应用[J]. 热带医学杂志, 2019, (11): 126–129.
- Liu Y, Zhu XY, Jiang XW. The application of next-generation sequencing

based metagenomics on microbial pathogen [J]. J Trop Med, 2019, (11): 126–129.

[47] Miller RR, Montoya V, Gardy JL, *et al.* Metagenomics for pathogen detection in public health [J]. Genome Med, 2013, 5: 81.

[48] Hansen T, Skånseng B, Hoorfar J, *et al.* Evaluation of direct 16S rDNA sequencing as a metagenomics-based approach to screening bacteria in bottled water [J]. Biosecur Bioterror, 2013, 11(1): 158–165.

[49] Xu W, Xu QP, Chen JH, *et al.* Ligustrazine formation in Zhenjiang aromatic vinegar: Changes during fermentation and storing process [J]. J Sci Food Agric, 2011, 91(9): 1612–1617.

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介



高惠敏, 博士, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: ghmghm2003@163.com



徐春祥, 研究员级高级工程师, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: xcx70@163.com

“茶学研究”专题征稿函

茶叶源于中国, 与咖啡、可可并称为世界三大饮料。茶叶可鲜食, 也可以加工精制备用, 具有降压、提神等多种保健功能, 且含有多种有机化学成分和无机矿物元素。国内外对茶叶市场需求稳定增长, 我国的茶产业增长潜力巨大, 茶已成为社会生活中不可缺少的健康饮品和精神饮品。

鉴于此, 本刊特别策划了“茶学研究”专题, 主要围绕茶叶的贮藏保鲜、精深加工、品质评价、生物化学和功能性成分、香气成分分析、污染物分析检测、茶树生长代谢、茶叶资源的质量标准化等方面展开论述和研究, 综述及研究论文均可。

鉴于您在该领域丰富的研究经历和突出的学术造诣, 本刊主编吴永宁研究员特别邀请您为本专题撰写稿件, 综述、研究论文、研究简报均可, 以期进一步提升该专题的学术质量和影响力。

本专题计划在 2021 年 3 月出版, 请在 2021 年 1 月 30 日前通过网站或 E-mail 投稿。我们将快速处理并经审稿合格后优先发表。

希望您能够通过各种途径宣传此专题, 并积极为本专题推荐稿件和约稿对象。

同时, 希望您能够推荐该领域的相关专家并提供电话和 E-mail。

感谢您的参与和支持!

投稿方式:

网站: www.chinafoodj.com(注明茶学研究专题)

E-mail: jfoodsqa@126.com(注明茶学研究专题)

《食品安全质量检测学报》编辑部