

## 南方食品中沙门氏菌污染调查及分型

陈玲<sup>1,2</sup>, 张菊梅<sup>1\*</sup>, 杨小鹃<sup>1</sup>, 吴清平<sup>1</sup>, 徐明芳<sup>2</sup>

<sup>1</sup>广东省微生物研究所, 省部共建华南应用微生物国家重点实验室, 广东省菌种保藏与应用重点实验室, 广东省微生物应用新技术公共实验室, 广州 510070

<sup>2</sup>暨南大学生命科学技术学院, 广州 510632

**摘要:**【目的】系统调查我国南方代表性地区食品中沙门氏菌污染情况, 并对分离株进行血清分型和肠杆菌基因间重复共有序列聚合酶链式反应 (Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus Polymerase Chain Reaction, ERIC-PCR) 分型研究, 为溯源和控制食品中沙门氏菌的污染提供数据。【方法】采用定性法和最大可能数 (Most Probable Number, MPN) 法对七大类食品 (肉与肉制品、水产品、速冻食品、熟食、蔬菜、乳制品和食用菌) 中的沙门氏菌进行检测。利用血清分型和分子分型确定南方沙门氏菌血清型的分布和优势血清型, 研究分离株的遗传多样性。【结果】从 400 份食品样品共检出 75 份沙门氏菌阳性样品, 污染率为 18.8% (75/400)。其中, 97.3% (73/75) 的阳性样品污染水平均低于 10 MPN/g。对 93 株分离株进行血清分型, 分属 9 个群、29 种血清型。优势血清型为德尔卑沙门氏菌 (*Salmonella* Derby) 和鼠伤寒沙门氏菌 (*Salmonella* Typhimurium)。利用 ERIC-PCR 对 96 株沙门氏菌 (包括 93 株分离株和 3 株标准株) 进行分型研究发现, 在相似系数为 0.75 时可分为 15 个聚类簇, 56 种型别, 分离株的基因型别呈现多样性。【结论】南方食品中沙门氏菌的污染率较高, 但污染水平低。S. Derby 和 S. Typhimurium 为优势血清型。初步建立了沙门氏菌 ERIC-PCR 指纹图谱数据库, 南方食品中沙门氏菌的血清型和基因型呈现多样性。

**关键词:** 沙门氏菌, 污染调查, 血清分型, 肠杆菌基因间重复共有序列聚合酶链式反应

**中图分类号:** X172      **文献标识码:** A      **文章编号:** 0001-6209(2013)12-1326-08

沙门氏菌作为引起食物中毒的常见食源性致病菌之一, 对人和动物危害极大。在我国, 每年发生的细菌性食物中毒事件中, 由沙门氏菌引起的食物中毒屡居首位, 约占 40%<sup>[1]</sup>。目前, 国内对沙门氏菌的监控往往是在暴发相关的食品安全事故后进行跟进, 对其污染状况的了解在很大程度上缺乏数据, 因

此, 进行沙门氏菌的食品污染系统性调查相当必要。沙门氏菌的菌属型别繁多, 但能引起人类或动物沙门氏菌病的主要是肠道沙门氏菌种, 它可产生肠毒素, 导致宿主产生腹泻等食源性疾病以及其他症状<sup>[2]</sup>。所以对沙门氏菌分离株进行分型具有重要意义, 同时可以追溯沙门氏菌病暴发的源头。沙门

基金项目: 国家科技部港澳台科技合作专项 (2013DFH30070); 广东省教育部产学研结合项目 (2012B090400017)

\* 通信作者。Tel/Fax: +86-20-37656160; E-mail: zhangjm926@126.com

作者简介: 陈玲 (1988-), 女, 广东汕头人, 硕士研究生, 主要从事食品微生物安全研究。E-mail: angusy0662@sina.com

收稿日期: 2013-06-13; 修回日期: 2013-08-27

氏菌的分型可分为表型分型方法和分子分型方法<sup>[3]</sup>。沙门氏菌表型分型主要有血清分型、生化分型和噬菌体分型。近年来,分子分型技术发展迅速,它将分子生物学技术与流行病学理论相结合,发展出了肠杆菌基因间重复共有序列聚合酶链式反应(Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus Polymerase Chain Reaction, ERIC-PCR)、脉冲场凝胶电泳(Plused Field Gel Electrophoresis, PFGE)、多位点序列分析(Multi-locus Sequence Typing, MLST)、多位点可变重复序列分析(Multi-locus Variable Numbers Tandem Repeat Analysis, MLVA)等<sup>[4]</sup>。其中,PFGE技术因其易标准化、可重复性强、分辨率高,现作为“金标准”;但它步骤比较繁琐、耗时耗费,存在着一定的局限性<sup>[5]</sup>。而ERIC-PCR技术具有操作简便、重复性强,灵敏度高、鉴别能力强、所需仪器设备简单、成本低等优点,成为细菌基因分型、流行病学调查研究领域里强有力的工具<sup>[6]</sup>。

本研究通过系统调查南方代表性地区不同类型食品中沙门氏菌的分布情况和污染水平,揭示其分布规律;利用传统血清分型和ERIC-PCR分子分型研究沙门氏菌的多样性,对预防和控制食品中沙门氏菌的污染研究提供借鉴和参考。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

**1.1.1 样品:**根据GB 4789.1-2010<sup>[7]</sup>中样品的采集规则进行采样。于2012年2-8月采集南方四省8个城市(深圳、汕头、海口、三亚、北海、南宁、福州和厦门)7大类食品(肉与肉制品、水产品、速冻食品、熟食、蔬菜、乳制品和食用菌)共400份样品,每个城市50份,在每个城市根据经济发展水平和地域分布情况选取超市、集贸市场的采样点均为6个。

**1.1.2 沙门氏菌标准菌株:**肠炎沙门氏菌(*Salmonella* Enteritidis CMCC 50335)、伤寒沙门氏菌(*Salmonella* Typhi CMCC 50098)、鼠伤寒沙门氏菌(*Salmonella* Typhimurium ATCC 14028)由广东省微生物研究所菌种保藏中心提供。

**1.1.3 培养基和试剂:**四硫磺酸钠煌绿(TTB)增菌液、亚硒酸盐胱氨酸(SC)增菌液、HKM沙门氏菌属显色培养基平板、MID 64和MID 65鉴定系统及其配套试剂(广东环凯微生物科技有限公司);XLT4

培养基及其添加剂(美国BD-Difco公司);沙门氏菌全套诊断血清(宁波天润生物药业有限公司),泰国沙门氏菌诊断血清(泰国S&A公司);API 20E生化鉴定试剂条及其配套试剂(法国生物梅里埃公司);Ezup柱式细菌基因组DNA抽提试剂盒(上海生工生物工程有限公司);HS<sup>TM</sup> Mix(广州东盛生物科技有限公司);引物ERIC2(5'-AAGTAAGTGACTGGGGTGACCG-3')<sup>[8]</sup>由华大基因科技有限公司合成。

### 1.2 沙门氏菌的分离和鉴定

定性法参照GB 4789.4-2010<sup>[9]</sup>。

定量法参照GB 4789.3-2010<sup>[10]</sup>所述最大可能数(Most Probable Number, MPN)法制定沙门氏菌的定量检测方案,步骤如下:取25 g(mL)样品加入已装有225 mL TTB增菌液的无菌均质袋中拍打混匀,制成1:10的样品匀液,取1:10样品匀液1 mL至9 mL的TTB增菌液中,制成1:100的样品匀液,按照上述方法制成1:1000的样品匀液;将3种浓度(1:10, 1:100, 1:1000)的样品匀液各3管(10 mL/管),放于42℃培养24 h;划线显色培养基和选择性培养基、纯化、鉴定和保种。

### 1.3 血清分型

按照沙门氏菌属诊断血清的说明书进行分离株血清分型,查阅GB 4789.4-2010和伯杰氏细菌鉴定手册中Kauffmann-White抗原表<sup>[11]</sup>,根据测定得到的抗原结果确定分离株的血清型。

### 1.4 ERIC-PCR分型

运用细菌基因组DNA抽提试剂盒提取菌株的DNA,具体步骤参照说明书。按照相关文献的组分和用量配置PCR反应体系<sup>[12]</sup>,总PCR反应体系为25 μL:2 × HS<sup>TM</sup> Mix 12.5 μL,ERIC2 0.8 μmol/L,模板40 ng,加超纯水补齐。PCR条件:94℃预变性,5 min;94℃变性,1 min;52℃退火,1 min;72℃延伸,3 min;共进行35循环;最后72℃终延伸,10 min。进行ERIC-PCR扩增后,取5 μL PCR产物上样于1 × TAE配制的2%琼脂糖凝胶(含Gold View染料),电压100V电泳35 min,然后用凝胶成像系统进行分析处理图像。最后,运用Gel-pro Analyzer 4.0和NTSYS-pc 2.10e软件对沙门氏菌ERIC-PCR指纹图谱进行聚类分析。

## 2 结果和分析

### 2.1 沙门氏菌污染调查

**2.1.1 阳性样品分布情况:**从400份食品中共检出

75 份沙门氏菌阳性样品,阳性率为 18.8%。按照食品类型分析(表 1),肉与肉制品沙门氏菌阳性率最高(58.1%),其次是速冻食品,而食用菌和奶制品未检出沙门氏菌。

表 1. 按照食品类型分类的沙门氏菌阳性样品分布情况

Table 1. Number of *Salmonella* positive samples in different foods

Category of food	Sample number	Positive sample number	Overall% positive samples	Isolated strains number
Meat product	74	43	58.1	55
Seafood	80	13	16.3	17
Frozen product	56	12	21.4	14
Edible mushroom	54	0	0	0
Ready-to-eat food	80	5	6.3	5
Vegetables	32	2	6.3	2
Dairy	24	0	0	0
Total	400	75	18.8	93

**2.1.2 阳性样品 MPN 计数情况:**在检出的 75 份阳性样品中,定量法检出 33 份,其中 2 份 MPN 值介于 10 - 110 MPN/g,该样品是深圳肉馅(15 MPN/g)和南宁鸭肉(110 MPN/g),其余 31 份样品 MPN 值介于 0.3 - 10 MPN/g。结果表明 97.3% (73/75) 阳性样品污染程度均低于 10 MPN/g,说明食品中沙门氏菌的污染率虽然较高,但是整体污染水平比较低。

## 2.2 沙门氏菌血清分型

75 份沙门氏菌阳性样品经生化鉴定后共分离出 93 株沙门氏菌。血清分型结果为,分离株分属 9 个群、29 种血清型(见表 2)。其中德尔卑沙门氏菌(*Salmonella* Derby)和鼠伤寒沙门氏菌(*Salmonella* Typhimurium)检出率最高,分别检出 14 株和 13 株。除布索沙门氏菌(*Salmonella* Bousso)和波莫纳沙门氏菌(*Salmonella* Pomona)外,其他均在 A ~ F 群范围内,优势血清群为 B 群。另外,检出勒斯扯峨纳沙门氏菌(*Salmonella* Ness-ziona)、格罗斯出浦沙门氏菌(*Salmonella* Glostrup)、科瓦利斯沙门氏菌(*Salmonella* Corvallis)、奥尔巴尼沙门氏菌(*Salmonella* Albany)、利物浦沙门氏菌(*Salmonella* Liverpool)、*S. Bousso* 和 *S. Pomona* 7 种国内鲜有报道的沙门氏菌血清型。同时发现在同一份样品中分离出了不同血清型的沙门氏菌,其中检出两种血清

型的有 18 份,表明同一份食品样品可被多种沙门氏菌污染。

**2.2.1 按照食品类型分类沙门氏菌血清型:**7 大类食品中(表 2),从肉与肉制品分离的沙门氏菌菌株数最多,为 55 株,检出 19 种血清型,其中,阿贡纳沙门氏菌(*Salmonella* Agona)、波茨坦沙门氏菌(*Salmonella* Potsdam)、林登堡沙门氏菌(*Salmonella* Lindenburg)、*S. Glostrup*、肯塔基沙门氏菌(*Salmonella* Kentucky)、*S. Albany*、吉韦沙门氏菌(*Salmonella* Give)、韦太夫雷登沙门氏菌(*Salmonella* Weltevreden)和山夫登堡沙门氏菌(*Salmonella* Senftenberg)9 种血清型仅在肉与肉制品中检出,而主要血清型是 *S. Derby* 和 *S. Typhimurium*;其次是从水产品中检出 14 种血清型,其中圣保罗沙门氏菌(*Salmonella* Saintpaul)、布伦登卢普沙门氏菌(*Salmonella* Braenderup)、*S. Ness-ziona*、纽波特沙门氏菌(*Salmonella* Newport)、利奇菲尔德沙门氏菌(*Salmonella* Litchfield)和 *S. Pomona* 6 种血清型仅在水产品中检出;从速冻食品中检出 8 种血清型,其中乌干达沙门氏菌(*Salmonella* Uganda)仅在速冻食品中检出;从熟食和蔬菜中分别检出 4 种和 2 种血清型。

**2.2.2 按照检测城市分类沙门氏菌血清型:**检测的 8 个城市中(表 2),北海检出 13 种血清型,其中 5 种血清型仅北海检出,分别为 *S. Saintpaul*、*S. Potsdam*、*S. Kentucky*、*S. Liverpool* 和 *S. Bousso*;厦门检出 8 种血清型,其中 3 种血清型仅厦门检出,分别为 *S. Agona*、*S. Ness-ziona* 和巴累利沙门氏菌(*Salmonella* Bareilly);三亚检出 7 种血清型,其中 3 种血清型仅三亚检出,分别为 *S. Lindenburg*、*S. Give* 和 *S. Pomona*;福州检出 8 种血清型,其中 2 种血清型仅福州检出,为 *S. Glostrup* 和 *S. Litchfield*;海口检出 5 种血清型,其中 2 种血清型仅海口检出,为 *S. Newport* 和 *S. Uganda*;南宁、深圳、汕头分别检出 13、6 和 1 种血清型。不同城市沙门氏菌的血清型存在一定差异,其各个城市优势血清型不明显,可能与每个城市的样品量小有关,但可以说明南方流行的沙门氏菌血清型较为复杂,呈现多样性分布。

表 2. 食品中沙门氏菌血清分型结果

Table 2. Serotype of *Salmonella* Isolates in food

No.	Strains	Source	Serotype	No.	Strains	Source	Serotype
1	SZ253	Meat product	S. Derby	48	BH002-1	Meat product	S. Tshiongwe
2	SZ255	Seafood	S. Stanley	49	BH002-2	Meat product	S. Potsdam
3	SZ261	Ready-to-eat food	S. Heiderberg	50	BH003	Meat product	S. Typhimurium
4	SZ272	Meat product	S. Typhimurium	51	BH004-1	Meat product	S. Corvallis
5	SZ286	Meat product	S. Enteritidis	52	BH004-2	Meat product	S. Kentucky
6	SZ288	Seafood	S. Braenderup	53	NN002	Meat product	S. Meleagridis
7	SZ297	Frozen product	S. Heiderberg	54	NN003-1	Meat product	S. Corvallis
8	ST401	Meat product	S. Derby	55	NN003-2	Meat product	S. Albany
9	HK501	Meat product	S. London	56	NN004-1	Meat product	S. Meleagridis
10	HK502	Meat product	S. London	57	NN004-2	Meat product	S. Senftenberg
11	HK506	Seafood	S. Newport	58	NN005	Meat product	S. Derby
12	HK509	Ready-to-eat food	S. Derby	59	NN652-1	Meat product	S. Typhimurium
13	HK521	Meat product	S. Derby	60	NN652-2	Meat product	S. Derby
14	HK522	Meat product	S. Typhimurium	61	NN657	Seafood	S. Braenderup
15	HK532-1	Frozen product	S. Derby	62	NN667	Frozen product	S. London
16	HK532-2	Frozen product	S. Uganda	63	NN671-1	Meat product	S. Albany
17	SY551	Meat product	S. London	64	NN671-2	Meat product	S. Weltevreden
18	SY552-1	Meat product	S. London	65	NN672-1	Meat product	S. Typhimurium
19	SY552-2	Meat product	S. Derby	66	NN672-2	Meat product	S. Meleagridis
20	SY556	Seafood	S. Derby	67	NN678	Ready-to-eat food	S. Meleagridis
21	SY560	Ready-to-eat food	S. London	68	NN679	Ready-to-eat food	S. Meleagridis
22	SY571-1	Meat product	S. Give	69	NN681	Frozen product	S. Typhimurium
23	SY571-2	Meat product	S. Lindenburg	70	NN696	Frozen product	S. Enteritidis
24	SY572	Meat product	S. Weltevreden	71	FZ001-1	Meat product	S. Glostrup
25	SY587	Meat product	S. London	72	FZ001-2	Meat product	S. Tshiongwe
26	SY590-1	Seafood	S. Tshiongwe	73	FZ002	Meat product	S. Tshiongwe
27	SY590-2	Seafood	S. Pomona	74	FZ003	Meat product	S. Enteritidis
28	SY595	Vegetables	S. Tshiongwe	75	FZ701	Meat product	S. Derby
29	BH601-1	Meat product	S. Stanley	76	FZ702	Meat product	S. Okefoko
30	BH601-2	Meat product	S. Bousso	77	FZ722	Meat product	S. Tshiongwe
31	BH602	Meat product	S. Derby	78	FZ736-1	Meat product	S. Albany
32	BH603	Meat product	S. Typhimurium	79	FZ736-2	Meat product	S. Senftenberg
33	BH605	Seafood	S. Braenderup	80	FZ738	Seafood	S. Litchfield
34	BH606	Seafood	S. Saintpaul	81	FZ747	Frozen product	S. Enteritidis
35	BH622-1	Meat product	S. Tshiongwe	82	XM001	Meat product	S. Agona
36	BH622-2	Meat product	S. Typhimurium	83	XM002	Meat product	S. Weltevreden
37	BH623-1	Seafood	S. Typhimurium	84	XM003	Meat product	S. Albany
38	BH623-2	Seafood	S. Liverpool	85	XM004	Meat product	S. Derby
39	BH624	Seafood	S. Derby	86	XM752	Meat product	S. Derby
40	BH631	Frozen product	S. Typhimurium	87	XM755-1	Seafood	S. Ness-ziona
41	BH632-1	Frozen product	S. Bousso	88	XM755-2	Seafood	S. Bareilly
42	BH632-2	Frozen product	S. Corvallis	89	XM766	Frozen product	S. Typhimurium
43	BH636	Meat product	S. Corvallis	90	XM780	Vegetables	S. Bareilly
44	BH638	Seafood	S. Enteritidis	91	XM782	Frozen product	S. Enteritidis
45	BH640	Seafood	S. Okefoko	92	XM786	Meat product	S. Typhimurium
46	BH647	Frozen product	S. Corvallis	93	XM797	Frozen product	S. Enteritidis
47	BH001	Meat product	S. Typhimurium				

### 2.3 沙门氏菌 ERIC-PCR 分型

运用 ERIC-PCR 方法对分属 9 个群、29 种血清

型的 93 株沙门氏菌分离株以及 3 株沙门氏菌标准菌株进行扩增, 根据电泳谱带绘制 ERIC 图谱 (图

1)。结果发现 96 株沙门氏菌 ERIC-PCR 产物进行凝胶电泳产生的带型稳定,条带数目为 6-18 条,片段大小约为 230-4000 bp。分离株的基因型呈现多态性分布,按照 75% 的基因同源性,可分为 15 个大簇(E1-E15),其中 E8 簇包含 10 株沙门氏菌,7 种血清型,为血清型种类较多的簇;E4 簇包含 13 株沙门氏菌,6 种血清型;E6 簇包含 6 株沙门氏菌,4 种血清型;E9 簇包含 21 株沙门氏菌,4 种血清型。其他簇的菌株组成相对较少,血清型也比较单一。

比较基因型别和血清型之间的关系,发现相同血清型可能分在同一个簇,例如 14 株 *S. Derby* 可分为 5 种基因型别,均被分在 E9 簇之中,可见其基因型别差异性很小,具有很高的相似度。与之类似的

还有 *S. Senftenberg*、斯坦利沙门氏菌 (*Salmonella Stanley*)、海德堡沙门氏菌 (*Salmonella Heidelberg*)、*S. Liverpool* 和伦敦沙门氏菌 (*Salmonella London*);但相同血清型也可能分在不同的簇,例如 13 株鼠伤寒沙门氏菌可分为 5 种基因型别,却分布在 E1、E3、E4、E8 不同的 4 个簇之中,造成这一结果可能由于这些菌株分离自不同地区不同食品种类的沙门氏菌在进化上产生了变异。与之类似的还有奥凯福科沙门氏菌 (*Salmonella Okefoko*)、茨昂威沙门氏菌 (*Salmonella Tshiongwe*)、*S. Enteritidis*、*S. Braenderup*、火鸡沙门氏菌 (*Salmonella Meleagridis*)、*S. Bousso* 和 *S. Corvallis*。

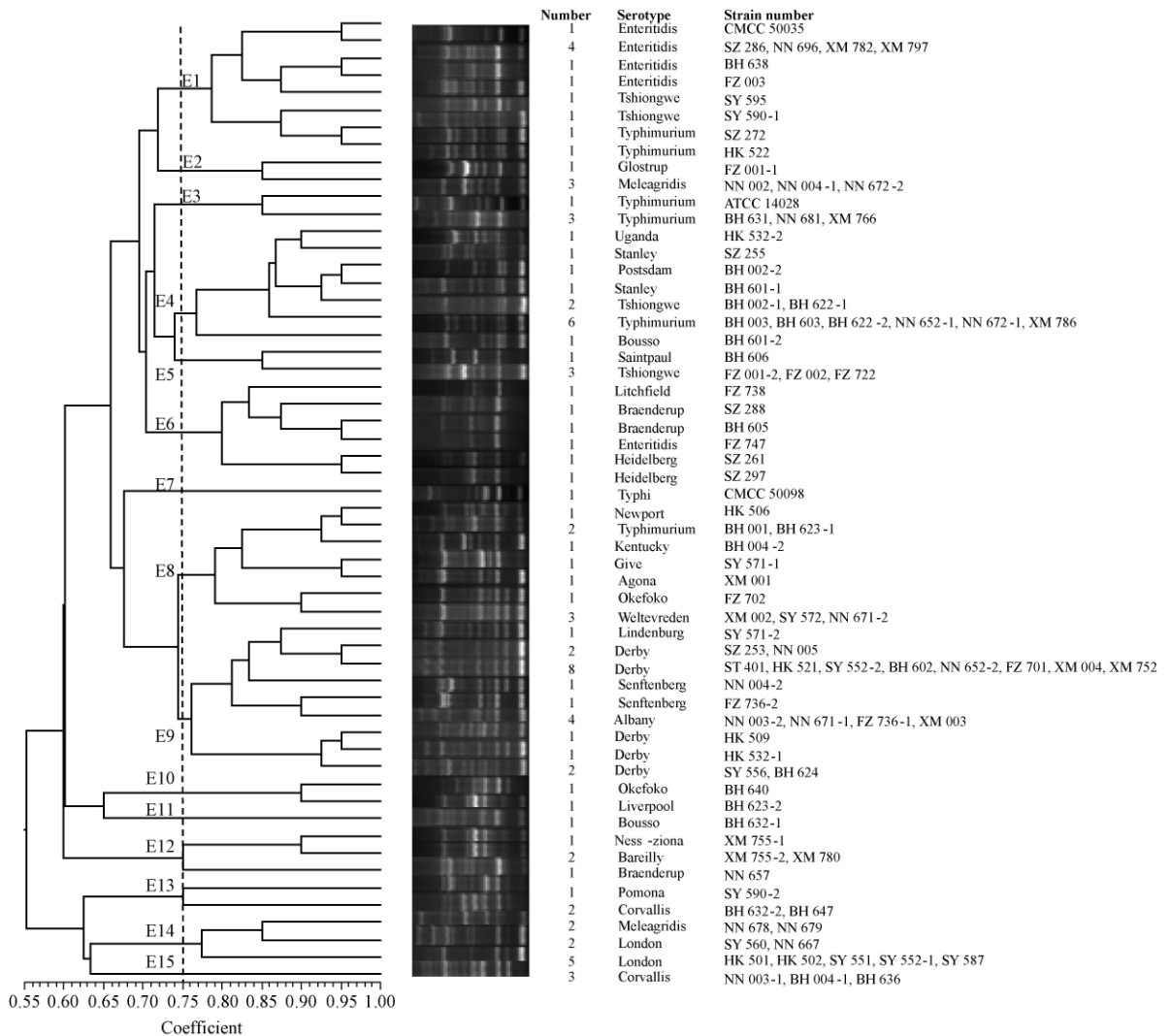


图 1. 96 株沙门氏菌 ERIC-PCR 指纹图谱的聚类分析

Figure 1. Dendrogram of ERIC-PCR patterns of 96 *Salmonella* strains. The numbers behind the ERIC-PCR profiles are the numbers of *Salmonella* isolates that have the same ERIC-PCR pattern of each serotype.

### 3 讨论

沙门氏菌是常见的食源性致病菌,开展食品中沙门氏菌的污染调查工作,是保障公共卫生的重要措施之一。肉类(尤其是禽肉)、海产品、蛋类等许多食品都与沙门氏菌病有关,其原因是这几类食品中含有丰富的营养成分,使沙门氏菌生长繁殖速度快,当人类摄入含大量沙门氏菌的食品,就会引起细菌性感染,进而引发食物中毒<sup>[13]</sup>。本研究采用定性法和定量法对南方四省8个城市7类食品样品进行沙门氏菌分离鉴定,并对分离株进行血清分型和ERIC-PCR分型。结果显示,从400份食品样品中检出75份阳性样品,总阳性率为18.8%。在检测的7类食品中,肉与肉制品、速冻食品和水产品的沙门氏菌阳性检出率较高,熟食和蔬菜较低,食用菌和蔬菜未检出,由此可见生肉类为沙门氏菌污染主要食品,国内其他省份也有相关报道<sup>[14-15]</sup>。在检测的8个城市中,广西的北海、南宁,福建的福州、厦门沙门氏菌检出率高于文献报道的检出率<sup>[16-17]</sup>。由于国内缺乏沙门氏菌在各大类食品中的污染水平数据,这对于从源头上进行风险评估和控制沙门氏菌危害造成一定困难。于是本研究结合定性法和定量法检测沙门氏菌,更为真实地反映食品样品沙门氏菌污染情况。MPN计数结果发现,97.3% (73/75) 阳性样品污染程度均低于10 MPN/g,未达到导致沙门氏菌病的数量<sup>[18]</sup>,但由于食品中丰富的营养物质支持沙门氏菌的生长繁殖,可能会导致污染程度加重的风险,因此值得引起重视。

在全球范围内,最常见的血清型是 *S. Enteritidis*, 其次为 *S. Typhimurium*, 特别在发达国家中,非伤寒沙门氏菌(*nontyphoidal Salmonellae*, NTS)感染主要由 *S. Typhimurium* 和 *S. Enteritidis* 两种血清型引起的<sup>[19]</sup>。在我国部分地区近年来的沙门氏菌感染以 *S. Enteritidis*、*S. Derby* 和 *S. Typhimurium* 为主<sup>[20-22]</sup>。本研究将93株沙门氏菌分离株进行血清分型,分属9个群、29种血清型,其中优势血清群为B群,优势血清型为 *S. Derby* 和 *S. Typhimurium*。除此以外,主要的血清型还有 *S. Tshiongwé*、*S. Enteritidis* 和 *S. London*, 同时分离出了 *S. Ness-ziona*, *S. Glostrup*, *S. Corvallis*, *S. Albany*, *S. Liverpool*, *S. Bousso* 和 *S. Pomona* 7种国

内相对少见的沙门氏菌血清型。这可能与经济全球化、旅游业、畜牧业发展迅速,而引起菌株的散播和自然环境变化引起的菌株变异相关。

传统的分型方法难以区分相同血清型沙门氏菌的差异, Lim 等<sup>[23]</sup> 对57株不同血清型的沙门氏菌进行ERIC-PCR方法分型,结果显示ERIC-PCR能有效区分沙门氏菌血清型。Rasschaert 等<sup>[24]</sup> 对80株不同血清型和5株未定血清型的沙门氏菌分型,发现应用ERIC-PCR对少数菌株的分型时具有很高的分辨率,但是当其用于大量菌株的分型时,基因型与血清型分型结果比对不完全。本研究利用ERIC-PCR对96株沙门氏菌(其中93株分离株和3株标准株)进行分型发现,相似系数为0.75时可分为15个聚类簇,56种基因型别,表明ERIC-PCR分型的分辨率更高,可进一步区分同一血清型的沙门氏菌,并且基因型别与血清型具有一定的相关性。基因型别相同则血清型相同,血清型相同基因型别可能不同。分离株的基因型呈现多样性,其原因可能与沙门氏菌的变异及来源不同有关。

本研究对我国南方地区食品中沙门氏菌的污染情况进行了较为系统地调查,并对沙门氏菌分离株进行了分型研究,初步了解沙门氏菌污染水平及分布规律,建立了沙门氏菌ERIC-PCR指纹图谱。而不同血清型沙门氏菌的耐药机理和毒力因子研究将是下一步工作的重点。

### 参考文献

- [1] Yang BW, Qu D, Zhang XL, Shen JL, Cui SH, Shi Y, Xi ML, Sheng M, Zhi S, Meng JH. Prevalence and characterization of *Salmonella* serovars in retail meats of marketplace in Shaanxi, China. *International Journal of Food Microbiology*, 2010, 141 (12): 63-72.
- [2] Wang H, Wang J, Zhu P. Advance on pullorum disease. *The Chinese Livestock and Poultry Breeding*, 2008, 12 (6): 61-62. (in Chinese)  
王辉, 王江红, 朱开萍. 禽沙门氏菌病的研究进展. *中国畜禽种业*, 2008, 12 (6): 61-62.
- [3] Wattiau P, Boland C, Bertrand S. Methodologies for *Salmonella enterica* subsp. *enterica* subtyping: gold standards and alternatives. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77 (22): 7877-7885.
- [4] Hyeon JY, Chon JW, Park JH, Kim MS, Oh YH, Choi IS, Seo KH. A comparison of subtyping methods for

- differentiating *Salmonella enterica* serovar Enteritidis isolates obtained from food and human sources. *Osong Public Health and Research Perspectives*, 2013, 4 (1): 27-33.
- [5] Rivoal K, Protais J, Quéguiner S, Boscher E, Chidaine B, Rose V, Gautier M, Baron F, Grosset N, Ermel G, Salvat G. Use of pulsedfield gel electrophoresis to characterize the heterogeneity and clonality of *Salmonella* serotype Enteritidis, Typhimurium and Infantis isolates obtained from whole liquid eggs. *International Journal of Food Microbiology*, 2009, 129 (2): 180-186.
- [6] Peng Y, Jin J, Wu C, Yang J, Li X. Orthogonal array design in optimizing ERIC-PCR system for fingerprinting rat's intestinal microflora. *Journal of Applied Microbiology*, 2007, 103 (6): 2095-2101.
- [7] 中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化管理委员会. GB 4789.1-2010 食品安全国家标准食品微生物学检验总则. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [8] Versalovic J, Koeth T, Lupski R. Distribution of repetitive DNA sequences in eubacteria and application fingerprinting of bacterial genomes. *Nucleic Acids Research*, 1991, 19 (24): 6823-6831.
- [9] 中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化管理委员会. GB 4789.4-2010 食品安全国家标准食品微生物学检验沙门氏菌检验. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [10] 中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化管理委员会. GB 4789.3-2010 食品安全国家标准食品微生物学检验大肠菌群计数. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [11] Buchanan RE, Gibbons NE. 伯杰氏细菌鉴定手册. 中国科学院微生物研究所, 北京农业大学, 等译. 第八版. 北京: 科学出版社, 1984: 399-442.
- [12] Li Y, Fang TH, Zhu HW, Su P, Wei JZ, Yin ZJ. The analysis of ERIC-PCR genomic polymorphism of *Salmonella* isolated strains in pig carcass. *Journal of Animal Veterinary Advances*, 2011, 10 (13): 1694-1698.
- [13] Foley SL, Lynne AM, Nayak R. *Salmonella* challenges: prevalence in swine and poultry and potential pathogenicity of such isolates. *Journal of Animal Science*, 2008, 86 (14): 149-162.
- [14] Li RC, Lai J, Wang Y, Liu SL, Li Y, Liu KY, Shen JZ, Wu CM. Prevalence and characterization of *Salmonella* species isolated from pigs, ducks and chickens in Sichuan Province, China. *International Journal of Food Microbiology*, 2013, 163 (1): 14-18.
- [15] Cui SH, Li JY, Sun ZY, Hu CQ, Jin SH, Li FQ, Guo YC, Ran L, Ma Y. Characterization of *Salmonella enterica* isolates from infants and toddlers in Wuhan, China. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2009, 63 (1): 87-94.
- [16] Lv S, Wei C, Yao X, Li X. Study on the contaminative status and serotype distribution and drug resistant spectrum of *Salmonella* in food in Guangxi, 2010. *Applied Preventive Medicine*, 2012, 18 (3): 137-141. (in Chinese)  
吕素玲, 韦程媛, 姚雪婷, 李秀桂. 2010年广西食品中沙门氏菌污染状况和血清型分布及耐药谱的研究. 应用预防医学. 2012, 18 (3): 137-141.
- [17] Zhang Z, Chen X. Surveillance and analysis of foodborne pathogens in nine kinds of food samples in Fujian. *Chinese Journal of Zoonoses*, 2005, 21 (12): 1119-1123. (in Chinese)  
张振华, 陈小萍. 福建省9类食品中致病菌污染监测与分析. 中国人畜共患病杂志. 2005, 21 (12): 1119-1123.
- [18] 代娟. 快速检测肠道致病菌的PCR技术的研究. 西华大学的学位论文, 2007.
- [19] Ridley A, Threlfall EJ. Molecular epidemiology of antibiotic resistance genes in multiresistant epidemic *Salmonella* Typhimurium DT 104. *Microbial Drug Resistance*, 2009, 4 (2): 113-118.
- [20] Sun J, You X, Zeng Y, Liu C, Zhu Y, Wang Y, Luo L. Analysis of contamination status of foodborne *Salmonella* surveillance within Jiangxi Province from 2009 to 2011. *Experimental and Laboratory Medicine*, 2012, 30 (2): 126-129. (in Chinese)  
孙吉昌, 游兴勇, 曾艳兵, 刘成伟, 朱应飞, 王亚林, 罗林飞. 2009年至2011年江西省食品中沙门氏菌污染状况调查. 实验与检验医学, 2012, 30 (2): 126-129.
- [21] Yao X, Tang Z, Liu Z, Li X, Huang L, Liang Y. Surveillance and analysis of *Salmonella* in food samples in Guangxi from 2010 to 2011. *Practical Preventive Medicine*, 2012, 19 (12): 1817-1820. (in Chinese)  
姚雪婷, 唐振柱, 刘展华, 李秀贵, 黄立嵘, 梁玉裕. 2010-2011年广西食品中沙门菌监测与分析. 实用预防医学, 2012, 19 (12): 1817-1820.
- [22] 刘斌. 沙门氏菌血清分型分子靶点的发掘及鉴定体系的建立. 上海交通大学的学位论文, 2012.
- [23] Lim HK, Lee KH, Hong CH, Bahk GJ, Choi WS. Comparison of four molecular typing methods for the differentiation of *Salmonella* spp. *International Journal of Food Microbiology*, 2005, 105 (3): 411-418.

[24] Rasschaert G, Houf K, IM Berchts H, Grijspeerst K, Zutter JD, Heyndrickx M. Comparison of five repetitive sequence based PCR typing methods for molecular

discrimination of *Salmonella enterica* isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, 2005, 43 (8) : 3615-3623.

## Prevalence and characterization of *Salmonella* spp. from foods in South China

Ling Chen<sup>1,2</sup>, Jumei Zhang<sup>1\*</sup>, Xiaojuan Yang<sup>1</sup>, Qingping Wu<sup>1</sup>, Mingfang Xu<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Guangdong Institute of Microbiology, State Key Laboratory of Applied Microbiology, South China (The Ministry Province Joint Development), Guangdong Provincial Key Laboratory of Microbial Culture Collection and Application, Guangdong Open Laboratory of Applied Microbiology, Guangzhou 510070, China

<sup>2</sup> School of Life Science and Technology, Jinan University, Guangzhou 510632, China

**Abstract:** [Objective] In this study, we studied systematically the prevalence of *Salmonella* in foods from various parts of South China. Isolated strains were characterized by serotyping and enterobacterial repetitive intergenic consensus polymerase chain reaction (ERIC-PCR), to provide data support for effectively tracing the source of *Salmonella* and controlling food contamination. [Methods] In total 400 unique food samples were collected from retail markets in South China, including meat product (74), frozen product (56), seafood (80), mushroom (54), ready-to-eat food (80), vegetables (32), dairy (24). Food samples were examined by qualitative method according to national food safety standard (GB4789.4-2010) and most probable number (MPN) method. The predominant serotype of *Salmonella* was figured out when all isolated strains were characterized by serotyping using slide agglutination method. We also applied ERIC-PCR for genetic diversity analysis of *Salmonella* isolates. [Results] Of the total 400 food samples, 75 (18.8%) tested positive for *Salmonella*. The results showed that MPN value of 97.3% (73/75) positive samples below 10 MPN/g. Ninety-three *Salmonella* isolates were belonged to 9 groups and 29 different serovars. *Salmonella* Derby and *Salmonella* Typhimurium were the two predominant serovars. The isolated strains were further discriminated by ERIC-PCR. The results revealed 96 strains including 93 isolates, *Salmonella* Enteritidis CMCC 50335, *Salmonella* Typhi CMCC 50098 and *S. Typhimurium* ATCC 14028 were divided into 15 clustering groups and generated 56 genotypes according to the similarity coefficient of 0.75, which suggested various genotypes of *Salmonella*. [Conclusion] The overall prevalence of *Salmonella* was high, however lower contamination level in foods from cities of South China. *S. derby* and *S. typhimurium* were found to be predominant serovars. ERIC-PCR fingerprints database of *Salmonella* from food samples in South China were preliminarily established. *Salmonella* present in foods were phenotypically and genotypically diverse.

**Keywords:** *Salmonella* spp., prevalence, serotype, enterobacterial repetitive intergenic consensus polymerase chain reaction (ERIC-PCR)

(本文责编:王晋芳)

Supported by the Science and Technology Cooperation Projects of China (2013DFH30070) and by the Science and Technology Projects of Guangdong (2012B090400017)

\* Corresponding author. Tel/Fax: +86-20-37656160; E-mail: zhangjm926@126.com

Received: 13 June 2013/Revised: 27 August 2013