



技术主题

Technology Feature

PCR 技术在快速检测沙门氏菌中的应用

沈兰[✉], 王锐萍[✉], 史海涛[✉], 庞贤鹏[✉]

海南师范大学生命科学学院, 海口, 571158

✉ 通讯作者: haitao-shi@263.net ✉ 作者

医学检验杂志, 2012 年, 第 1 卷, 第 1 篇 doi: 10.5376/jmiq.cn.2012.01.0001

收稿日期: 2012 年 02 月 22 日

接受日期: 2012 年 05 月 25 日

发表日期: 2012 年 05 月 31 日

本文首次发表在《基因组学与应用生物学》(2012 年第 31 卷第 1 期 90-94 页)上。现依据版权所有人授权的许可协议, 采用 Creative Commons Attribution License 对其进行授权, 再次发表与传播。只要对原作有恰当的引用, 版权所有人允许并同意第三方无条件的使用与传播。

建议最佳引用格式:

引用格式(中文):

沈兰等, 2012, PCR 技术在快速检测沙门氏菌中的应用, 医学检验杂志(online) Vol.1 No.1 pp.1-6 (doi: 10.5376/jmiq. cn.2012.01.0001)

引用格式(英文):

Shen et al., 2012, Applications of PCR Technologies on Rapid Detection of *Salmonell*, Yixue Jianyan Jianyi Zazhi (online) Vol.1 No.1 pp.1-6 (doi: 10.5376/jmiq.cn.2012.01.0001)

摘 要 本文总结了 PCR 检测沙门氏菌过程中被检目标基因的选择、引物的特异性以及国内外检测沙门氏菌的一些实例分析了 PCR 检测沙门氏菌在引物选择上存在的问题, 简述了在传统 PCR 技术基础上发展起来的检测沙门氏菌新方法。

关键词 沙门氏菌; 被检目标基因; 引物特异性; PCR 技术

Applications of PCR Technologies on Rapid Detection of *Salmonell*

Shen Lan[✉], Wang uiping[✉], Shi Haitao[✉], Pang Xianpeng[✉]

Centre for Viticulture & Enology, College of Life Sciences, Hainan Normal University, Haikou, 571158

✉ Corresponding author, haitao-shi@263.net ✉ Authors

Abstract This paper summarized the target gene selection and primer specificity in the PCR procedures of *Salmonella* detection. Some practical case studies at home and abroad were listed as examples. We also analyzed the problems happened on primer choosing in the PCR detection of *Salmonella* and introduced some modified approached for *Salmonella* detection developed based on traditional PCR technologies.

Keywords *Salmonella*; Target gene; Primer specificity; PCR technique

传统的沙门氏菌检测方法是以表面抗原为基础, 依靠生化反应和血清学实验进行检测(Shen et al., 2011), 具有检测周期长、所需试剂繁多、费时、敏感性低等缺陷。随着分子生物学技术的不断发展和进步, 针对沙门氏菌开展的快速检测方法得到迅速发展, 现代分子生物学技术如核酸杂交技术、限制性片段长度多态性分析(RFLP)、核苷酸序列分析、聚合酶链式反应(PCR)技术等, 已经在沙门氏菌的准确、快速检测和鉴定中起重要的作用。

应用 PCR 技术检测沙门氏菌, 主要集中在快速检测体系的建立、检测灵敏度的提高上, 其核心是选择被检目标基因。本文概述了 PCR 技术在检测沙门氏菌过程中目标基因的选择、存在的问题以及其它检测沙门氏菌的技术与手段。

1 沙门氏菌被检目标基因选择及 PCR 检测实例

沙门氏菌的检测可以通过对多种特定基因的 PCR 检测, 如编码 O 抗原基因, 编码 H 抗原基因, 编码 vi 抗原的基因, 与沙门氏菌致病性有关的基因以及其它基因等, 根据检测目的, 可选择对不同基因进行检测, 从而达到在不同水平上检测和鉴定沙门氏菌。

1.1 沙门氏菌属的检测

1.1.1 编码组氨酸操纵子基因的检测

组氨酸操纵子是细菌中控制组氨酸降解为可利用碳源和氮源的遗传单位。黄金林等(2002)根据沙门氏菌组氨酸转运操纵子基因序列设计 PCR 引物, 成功扩增出 495 bp 的沙门氏菌特异条带, 从而建立了应用 PCR 进行沙门氏菌快速检测的方



法, 并研制成适合临床应用的检测试剂盒, 通过对粪便、水、饲料和畜产品等样品的沙门氏菌检测, 与传统检测方法的特异性和敏感性一致。陈晓玲等(2009)利用组氨酸转运操纵子基因序列设计 PCR 引物, 对 PCR 快速检测沙门氏菌进行了研究, 能有效检测核酸最低起始量为 129 ng。

1.1.2 *invA* 基因簇的检测

Cocolin 等(1998)设计了一对 PCR 引物, 扩增 *invA* 基因, 对食品中的沙门氏菌进行检测, 被检的 75 份样品阳性反应与传统检测方法结果一致, 证明了 PCR 可作为一种有效的沙门氏菌检测方法。王军等(1999)利用该基因保守序列设计 PCR 引物, 扩增产物为 284 bp 特异性 DNA 片段, 对粪便样品进行检测, 与传统的细菌培养法相比, 沙门氏菌检出率更高, 其实验结果表明 PCR 技术用于沙门氏菌肠炎诊断, 具有简便、快速、敏感等优点。

1.1.3 *hlyA* 基因的检测

Guo 等(2000)设计一对 PCR 引物对 *hlyA* 基因进行检测, 结果表明 PCR 检测沙门氏菌灵敏度高, 特异性强, 可用于快速检测新鲜农产品中的沙门氏菌。张敬平等(2008)针对 *hlyA* 基因设计引物, 对沙门氏菌和非沙门氏菌进行特异性 PCR 扩增, 结果检测沙门菌株和模拟样品均出现特异性扩增条带与实际相符。该方法具有简单、迅速、特异性好和敏感性高的特点。

1.1.4 对肠毒素基因 *stx* 的检测

Stx 基因是鼠伤寒沙门氏菌感染机制中一个较为重要的毒力因子。钟伟军等(2008)根据 *stx* 基因的核苷酸序列设计了一对引物和荧光探针, 通过对反应体系和反应条件的摸索, 建立了检测沙门氏菌的核酸荧光定量 PCR 法, 该方法能特异和敏感检测出沙门氏菌。

1.1.5 对 *hns* 基因的检测

陈建辉等(2009, 海峡预防医学杂志, 15(31): 55-57)针对 *hns* 与 *invA* 基因序列合成 2 对 PCR 引物, 检测沙门氏菌标准菌株和其它菌属的菌株, 并对临床分离株 137 株进行验证, 结果沙门氏菌标准菌株 *hns* 和 *invA* 基因均为阳性, 137 株沙门氏菌临床分离株 *hns* 和 *invA* 基因的阳性率分别为 100% 和 99.3%, 其它菌属的菌株无特异性条带。

1.1.7 对编码 I 型菌毛主要基因 *fimA* 的检测

沙门氏菌 I 型菌毛亚单元主要由 *fimA* 基因编码, Cohen 等(1996)针对 *fimA* 基因设计引物对食品中的沙门氏菌进行了检测。文钧等(1995, 中华流行病学杂志, 16(3): 186)用一对寡核苷酸引物扩增沙门氏菌的鞭毛素基因 *fimA*, 将沙门氏菌的检测时间减少至 5 h, 同时保持了敏感性和特异性高的优点。

1.1.8 对 16 SrRNA、23 SrRNA 基因的检测

李君文等(2000)以 16 SrRNA 基因为模板设计了一对特异性引物, 经过优化反应条件, 使沙门氏菌检测的敏感性达到 3~5 cfu。Trkov 和 Avguštin (2003)基于 16 SrRNA 设计引物, 使检测沙门氏菌特异性更好, 对沙门氏菌和非沙门氏菌进行了检测, 结果 78 株沙门氏菌均为阳性, 23 株非沙门氏菌包括变形杆菌都为阴性。Chiu 等(2005)对 16 SrRNA~23 SrRNA 内转录间隔区基因进行序列分析并设计出检测沙门氏菌的 PCR 引物, 对沙门氏菌和非沙门氏菌进行检测, 结果表明, 沙门氏菌均可以在 312 bp 处扩增出目的条带, 非沙门氏菌全为阴性。经过 8 h 的前增菌, PCR 的检出限可以达到 1~9 CFU/g。

1.2 对沙门氏菌特定血清群检测

1.2.1 对 *rfb* 基因的检测

Luk 等(1993)分别设计引物, 对沙门氏菌 *rfbJ* 和 *rfbS* 基因序列进行检测, 从而检测 A、B、C2、D 群沙门氏菌。Shah 等(2005)利用鸡沙门氏菌和雏沙门氏菌 *rfbS* 基因核苷酸的多态性, PCR 扩增出 *rfbS* 血清型特异性多态序列, 从而成功检测出鸡沙门氏菌和雏沙门氏菌。

1.2.2 对特定血清群基因的分子分析

Fitzgerald 等(2003)对沙门氏菌血清群 O:6,14 抗原基因族 *rfb* 进行了分子分析, 并建立了血清组特异性 PCR 分析方法, 从而提供了灵敏、特异性的快速检测 O:6,14 血清群沙门氏菌的方法。Fitzgerald 等(2006)还通过对编码沙门氏菌 O17 和 O18 抗原蛋白基因 *rfb* 的位点进行了序列分析, 建立了灵敏、特异、快速识别沙门氏菌血清群 O17 和 O18。

1.2.3 对编码沙门氏菌毒性质粒相关的毒力因子基因的检测

沙门氏菌的质粒既编码毒力因子, 又参与编码调控蛋白, 控制毒力因子的产生。Mahon 和 Lax



(1993)特异性检测到具有 *spvR* 基因的沙门氏菌。

1.3 对沙门氏菌血清型的检测

1.3.1 对编码 H1 相抗原的 *fliC* 基因的检测

Wei 和 Joys (1985)对检测出的 *fliC* 基因序列进行分析, 发现两个保守性 100%的区域和一个伤寒沙门氏菌特有的区域, 李景鹏等(1997)设计引物对 *fliC* 基因的保守区进行扩增, 特异性的检测了沙门氏菌。Sonne-Hansen 和 Jenabian (2005)利用沙门氏菌编码 H1 的鞭毛蛋白 *fliC* 基因的可变性, 对 96 株沙门氏菌进行了检测, 结果表明, 传统血清分型方法确定为不可分型的菌株, 采用序列分型技术分型是一个很好的选择。

1.3.2 对编码 Vi (Virulence)抗原基因的检测

Vi 抗原与沙门氏菌的毒力有关, 伤寒沙门氏菌的 Vi 抗原表达由基因 *ViaA* 和 *ViaB* 决定, *ViaB* 基因的功能是编码 Vi 多糖的结构基因。对编码 vi 抗原基因的检测, 可以对具有 vi 抗原的特定血清型沙门氏菌的检测。Baker 等(2005)对 60 株伤寒沙门氏菌和 48 个伤寒病人的血样的进行了 Vi 抗原基因的 PCR 检测, 被检的 48 个血样中有 42 个 PCR 检测结果为阳性伤寒沙门氏菌。这一结果表明, 可以通过 PCR 对伤寒病人的 vi 抗原基因的检测, 达到对已经接种伤寒疫苗地区伤寒发病率的监测。

1.3.3 多种抗原相结合确定沙门氏菌血清型

Song 等(1993)利用伤寒沙门菌的 H 抗原和 Vi 抗原基因引物作 PCR 扩增检测伤寒沙门菌, 结果两种基因扩增都有较高特异性和敏感性, 可提高伤寒病的诊断率, 使该病得到快速诊断和早期治疗。Hirose 等(2002)根据编码 O、H 和 vi 抗原的基因 *tyv(rfbE)*、*prt(rfbS)*、*fliC-d*、*fliC-a* 和 *viaB*, 快速准确的检测出临床症状为伤寒和副伤寒的血清型菌株。Lim 等(2003)通过同时扩增 *rfbJ*、*fliC* 和 *fliB* 基因检测出鼠伤寒沙门氏菌。

1.3.4 16 SrRNA、23 SrRNA 保守序列的检测

Lagatolla 等(1996)通过对 16 SrRNA、23 S rRNA 保守序列的 PCR 扩增, 可以区分不同的血清型的沙门氏菌。

2 PCR 引物设计特异性问题

PCR 检测沙门氏菌存在的主要问题是引物特异性的问题, 引物特异性低常导致误检、漏检。Rahn 等(1992)针对 *invA* 基因设计的一对引物扩增片段大

小为 284 bp, 但有非目的片段扩增出来, 显然是特异性不够好; Fluit 等(1993)设计的引物对很多种细菌均扩增出多条非特异性条带; Kwang 等(1996)设计的引物对普通变形杆菌和蜂窝哈夫尼亚菌也可扩增出非特异性条带; Malomy 等(2003)比较了沙门氏菌属 PCR 扩增常用的 4 对引物, 结果发现其中三对引物存在的漏检问题。仅仅根据电泳扩增条带的结果很可能造成误判, 需进一步的实验验证。因此, 应用 PCR 技术检测沙门氏菌对设计的引物要进行必要的验证。

3 改进的沙门氏菌 PCR 检测方法

引物的设计应具有特异性, 但是要找到一对完全符合要求特异性基因并非易事, 传统 PCR 还存在其他方面的不足, 为此, 许多改进的 PCR 检测方法发展起来。

3.1 实时荧光定量 PCR 检测

Daum 等(2002)建立了荧光 PCR 对食物中毒患者的粪便和剩菜作了检测, 结果表明与传统方法检测的结果一致, 并且利用 Taqman PCR 法在 3 h 内检测出肌肉中的沙门氏菌, 从而证明了荧光 PCR 的时效性和准确性。张贻庆(2006, 中国卫生检验杂志, 16(7): 874-874)利用荧光探针与 PC 检测相结合, 对食物中毒病原菌进行检测, 结果可在 2 小时内得出结果, 同时还对病原菌作了定量分析。

3.2 多重 PCR 检测

邵碧英等(2007)建立了沙门氏菌属特异基因 *hut* 基因(495 bp)、*hila* 基因(490 bp)、*invA* 基因(284 bp)和 *hns* 基因(152 bp)间的多重 PCR 检测方法, 并进行了灵敏度测试, 结果表明, 建立的多重 PCR 检测结果与预期一致。

3.3 随机扩增多态性 DAN 检测

Nair 等(2000)利用 RFLP 技术在内的 3 种手段分别检测了来自不同国家的 6 株伤寒沙门菌, 结果其它 2 种分型方法都显示 6 株细菌为同一基因型, 而 AFLP 却检测到不同的基因型, 从而表明了 RFLP 技术的优越性。Shabarinath 等(2007)在对 14 株同种血清型的沙门氏菌菌株进行 RAPD 指纹分析时, 发现所有的血清型都具有独特 RAPD 指纹图, RAPD 在菌株遗传变异的区分上是一个强有力的工具, 是其它方法不可比拟的。



3.4 免疫捕捉 PCR (Immunocapture PCR)检测

张体银等(2009)采用免疫捕捉--通用引物 PCR (IC-UPPCR)检测食品中沙门氏菌,以细菌 16S rRNA 基因保守区设计特异性引物,结果表明该方法具有简单、快速、特异性好和敏感性高等特点,并可满足大批样品沙门氏菌筛选检测的要求,适用于食品卫生监管、商品检验检疫以及临床诊断等领域。

3.5 免疫磁珠分离 PCR(IMS-PCR)检测

王晓闻和杨永莉(2009)将免疫磁珠捕获的沙门氏菌用于 PCR 检测,此方法操作简便,用时短,检出率高。免疫磁珠捕获 PCR 技术检测牛乳中的沙门氏菌,检测灵敏度为 9 cfu/mL,所用时间共 7 h,使 PCR 检测沙门氏菌的灵敏度和时效性方面有了很大的提高。

4 结语

PCR 技术检测沙门氏菌具有快速、准确等是实用的价值,尤其是近年在传统 PCR 技术发展起来的荧光定量 PCR 技术,在缩短检出时间,提高检出率方面显示出更大的优势。但是分子生物学方法在检测的准确性上的误差仍然存在,与其它方法的联合使用,将是未来发展的方向。在具体实践和科研工作中,应根据检测的目标需要,选择合适的被检目标基因、适合的联合检测的方法,以进一步提高沙门氏菌的检出率、灵敏度,缩短检出时间。

作者贡献

沈兰、王锐平完成文献调研、论文初稿写作。庞贤鹏协论文写作及修改。王锐平、史海涛指导研究生工作、修改并定稿本论文。全体作者均阅读了本文并同意论文全部内容。

致谢

本研究由国家自然科学基金重大国际合作项目(30910103916)资助,特此致谢。

参考文献

- Baker S., Sarwar Y., Aziz H., Haque A., Ali A., Dougan G., Wain J., and Haque A., 2005, Detection of Vi-negative *Salmonella enterica* serovar typhi in the peripheral blood of patients with typhoid fever in the faisalabad region of Pakistan, *J. Clin. Microbiol.*, 43(9): 4418-4425
- Chen X.L., Zhou L.Y., Wen S.J., and Xie Z.W., 2009, Identification and rapid detection of polymerase chain reaction of *Salmonella*, *Hubei Nongye Kexue (Hubei Agricultural Sciences)*, (3): 527-529 (陈晓玲, 周玲艳,

温仕杰, 谢振文, 2009, 沙门氏菌 PCR 快速检测技术研究, *湖北农业科学*, (3): 527-529

- Chiu T.H., Chen T.R., Hwanga W.Z., and Tsen H.Y., 2005, Sequencing of an internal transcribed spacer region of 16S-23S rRNA gene and designing of PCR primers for the detection of *Salmonella* spp. in food, *International Journal of Food Microbiology*, 97(3): 259-265
- Cocolin L., Manzano M., Cantoni C., and Comi G., 1998, Use of polymerase chain reaction and restriction enzyme analysis to directly detect and identify *Salmonella typhimurium* in food, *J. Appl. Microbiol.*, 85(4): 673-677
- Cohen H.J., Mechanda S.M., and Lin W., 1996, PCR amplification of the fimA gene sequence of *Salmonella typhimurium*, a specific method for detection of *Salmonella* spp, *Applied and Environmental Microbiology*, 62(12): 4303-4308
- Daum L.T., Barnes W.J., McAvin J.C., Neidert M.S., Cooper L.A., Huff W.B., Gaul L., Riggins W.S., Morris S., Salmen A., and Lohman K.L., 2002, Real-time PCR detection of *Salmonella* in suspected foods from a gastroenteritis outbreak in Kerr County, Texas, *Journal of Clinical Microbiology*, 40(8): 3050-3052
- Fitzgerald C., Gheesling L., Collins M., and Fields P.I., 2006, 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, *Appl. Environ. Microbiol.*, 72(12): 7949-7953
- Fitzgerald C., Sherwood R., Gheesling L.L., Brenner F.W., and Fields P.I., 2003, Molecular analysis of the rfb O antigen gene cluster of *Salmonella enterica* serogroup O:6,14 and development of a serogroup-specific PCR assay, *Appl. Environ. Microbiol.*, 69(10): 6099-6105
- Fluit A.C., Widjoatmodjo M.N., Box A.T., Torensma R., and Verhoef J., 1993, Rapid detection of *Salmonellae* in poultry with the magnetic immuno-polymerase chain reaction assay, *Applied Environmental Microbiology*, 59(5): 1342-1346
- Guo X., Chen J.R., Beuchat L.R., and Brackett R.E., 2000, PCR Detection of *Salmonella enterica* serotype Montevideo in and on raw tomatoes using primers derived from *hilA*, *Applied and Environmental Microbiology*, 66(12): 5248-5252
- Hirose K., Itoh K.I., Nakajima H., Kurazono T., Yamaguchi M.,



- Moriya K., Ezali T., Kawamora Y., Tamura K., and Watanabe H., 2002, Selective amplification of *tyv* (*rfbE*), *prt* (*rfbS*), *viaB* and *fliC* genes by multiplex PCR for identification of *Salmonella enterica* serovars typhi and paratyphi A, *Journal of Clinical Microbiol.*, 40(2): 633-636
- Huang J.L., Jiao X.A., Wen Q.Y., Pan Z.M., Zhang X.R., Zhang R.K., and Liu X.F., 2002, Application of polymerase chain reaction for rapid detection of *Salmonella*, *Yangzhou Daxue Bao (Journal of Yangzhou University)*, 23(3): 5-7, 11 (黄金林, 焦新安, 文其乙, 潘志明, 张小荣, 张如宽, 刘秀梵, 2002, 应用聚合酶链反应快速检测沙门氏菌, *扬州大学学报*, 23(3): 5-7, 11)
- Kwang J., Littledike E.T., and Keen J.E., 1996, Use of the polymerase chain reaction for *Salmonella* detection, *Letters in Applied Microbiology*, 22(1): 46-51
- Lagatolla C., Dolzani L., Tonine E., Lavenia A., Di Michele M., Tommasini T., and Monti-Bragadin C., 1996, PCR ribotyping for characterizing *Salmonella* isolates of different serotypes, *Journal Clinical Microbiology*, 34(10): 2440-2443
- Li J.P., Li C.M., Ding N.Z., Wu D., Zhou J., and Shi S.Y., 1997, Detection of salmonella by polymerase chain reaction, *Dongbei Nongye Daxue Xuebao (Journal of Northeast Agricultural university)*, 28(1): 80-84 (李景鹏, 李成梅, 丁乃峥, 吴丹, 周静, 石绍业, 1997, 应用聚合酶链反应快速检测沙门氏菌, *东北农业大学学报*, 28(1): 80-84)
- Li J.W., Shi X.Q., Chao F.H., and Wang X.W., 2000, Detection and identification of pathogenic enterobacteria by PCR, *Zhonghua Weishengwuxue He Mianyixue Zazhi (Chinese Journal of Microbiology and Immunology)*, 20(3): 89-92 (李君文, 史秀全, 晁福寰, 王新为, 2000, 肠道致病菌 PCR 检测与鉴定研究, *中华微生物学和免疫学杂志*, 20(3): 89-92)
- Lim Y. H., Hirose K., Izumiya H., Arskwa E., Takahashi H., Terajiman J., Itoh K.I., Tamura K., Kim S.I., and Watanabe H., 2003, Multiplex polymerase chain reaction assay for selective detection of *Salmonella enterica* serovar typhimurium, *Jpn. Infect. Dis.*, 56(4): 151-155
- Luk J.M., Kongmuang U., Reeves P.R., and Lindberg A.A., 1993, Selective amplification of abequose and paratose synthase genes (*rfb*) by polymerase chain reaction for identification of *Salmonella* major serogroups (A, B, C2, and D), *Journal of Clinical Microbiology*, 31(8): 2118-2123
- Mahon J., and Lax A.J., 1993, A quantitative polymerase chain reaction method for the detection in avian faeces of *Salmonellas* carrying the *spvR* gene, *Journal of Epidemiol Infect*, 111(3): 455-464
- Malomy B., Hooffar J., Bunge C., and Helmuth R., 2003, Multicenter validation of the analytical accuracy of *Salmonella* PCR: Towards an international standard, *Applied and Environmental Microbiology*, 69(1): 290-296
- Nair S., Schreiber E., Thong K.L., Pang T., and Altwegg M., 2000, Genotypic characterization of *Salmonella typhi* by amplified fragment length polymorphism fingerprinting provides increased discrimination as compared to pulsed-field gel electrophoresis and ribotyping, *Journal of Microbiol. Methods*, 41(1): 35-43
- Rahn K., De Grandis S.A., Clarke R.C., McEwen S.A., Galán J.E., Ginocchio C., Curtiss R., and Gyles C.L., 1992, Amplification of an *invA* gene sequence of *Salmonella typhimurium* by polymerase chain reaction as a specific method of detection of *Salmonella*, *Mol. Cell Probes*, 6(4): 271-279
- Shabarinath S., Kumar H.S., Khushiramani R., Karunasaga I., and Karunasagar I., 2007, Detection and characterization of *Salmonella* associated with tropical seafood, *International Journal of Food Microbiology*, 114(2): 227-233
- Shah D.H., Park J.H., Cho M.R., Kim M.C., and Chae J.S., 2005, Allele-specific PCR method based on *rfbS* sequence for distinguishing *Salmonella gallinarum* from *Salmonella pullorum*: Serotype specific *rfbS* sequence polymorphism, *J. Microbiol. Methods*, 60(2): 169-177
- Shao B.Y., Chen B., Tang M.Y., Wu Q., and Zhang T.Y., 2007, Development of multiplex PCR detection method for *Salmonella*, *Shipin Kexue (Food science)*, 28(10): 489-492 (邵碧英, 陈彬, 汤敏英, 吴谦, 张体银, 2007, 沙门氏菌多重 PCR 检测方法的建立, *食品科学*, 28(10): 489-492)
- Shen L., Shi H.T., Wang R.P., Liu D., and Pang X.P., 2011, An invasive species red-eared slider (*Trachemys scripta elegans*) carrying *Salmonella* pathogens in Hainan Island, *Molecular Pathogens*, Vol.2 No.4 (doi: 10.5376/mp.2011.02.0004)



- Song J.H., Cho H., Park M.Y., Na D.S., Moon H.B., and Pai C.H., 1993, Detection of *Salmonella typhi* in the blood of patients with typhoid fever by polymerase chain reaction, *Journal of Clinical Microbiology*, 31(6): 1439-1443
- Sonne-Hansen J., and Jenabian S.M., 2005, Molecular serotyping of *Salmonella*: Identification of the phase I H antigen based on partial sequencing of the *fliC* gene, *APMIS*, 113(5):340-348
- Trkov M., and Avguštin G., 2003, An improved 16S rRNA based PCR method for the specific detection of *Salmonella enterica*, *International Journal of Food Microbiology*, 80(1): 67-75
- Wang J., Zhang W.G., Yu A.H., Wang Q.L., Liu Y.Q., and Ma L.R., 1999, Primary application of PCR to rapid diagnosis *Salmonella Enterocolitis*, *Zhongguo Renshou Gonghuanbing Zazhi (Chinese Journal of Zoonoses)*, (1): 43-44 (王军, 张为国, 虞爱华, 王全立, 刘耀清, 马立人, 1999, 聚合酶链反应对沙门氏菌肠炎快速诊断的初步应用, *中国人兽共患病杂志*, (1): 43-44)
- Wang X.W., and Yang Y.L., 2009, Detection of *Salmonella* in milk by combination of immunomagnetic separation and PCR, *Shanxi Nongye Daxue Xuebao (Ziran kexue Ban) (Journal of Shanxi Agricultural University (Natural Science Edition))*, 29(4): 289-293 (王晓闻, 杨永莉, 2009, 免疫磁珠捕获-PCR 检测牛乳中沙门氏菌的研究, *山西农业大学学报(自然科学版)*, 29(4): 289-293)
- Wei L.N., and Joys T.M., 1985, Covalent structure of three phase-1 flagellar filament proteins of *Salmonella*, *Journal of Molecular Biology*, 186(4): 791-803
- Zhang J.P., Ling X., Chen Y., Ni P.H., Wu J.L., and Xiao Y., 2008, Study on PCR detection for *hlyA* gene in *Salmonella*, *Zhongguo Weisheng Jianyan Zazhi (Chinese Journal of Health Laboratory Technology)*, 18(12): 2608-2609, 2708 (张敬平, 凌霞, 陈悦, 倪培华, 吴家林, 肖勇, 2008, PCR 检测沙门菌 *hlyA* 基因的方法研究, *中国卫生检验杂志*, 18(12): 2608-2609, 2708)
- Zhang T.Y., Huang X.R., Zheng J., Shao B.Y., Huang C.J., Chen B., and Tang M.J., 2009, Immunocapture-universal primer PCR detection of *Salmonella* sp. in foods, *Shipin Kexue (Food Science)*, (12): 233-236 (张体银, 黄晓蓉, 郑晶, 邵碧英, 黄嫦娇, 陈彬, 林杰, 汤敏英, 2009, 免疫捕捉-通用引物 PCR 检测食品中沙门氏菌, *食品科学*, (12): 233-236)
- Zhong W.J., Zhao M.Q., Deng Z.P., Chen J.D., and Xu Y.F., 2008, Establishment and preliminary application of real-time PCR method for detection of *Salmonella* in food, *Zhongguo Yufang Shouyi Xuebao (Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine)*, 30(3): 220-224 (钟伟军, 赵明秋, 邓中平, 陈金顶, 徐艳芳, 2008, 荧光定量 PCR 快速检测食品中沙门氏菌方法的建立及初步应用, *中国预防兽医学报*, 30(3): 220-224)