

基于微球液态阵列分子技术的沙门菌血清分型研究

柯碧霞 何冬梅 谭海玲 曾洪辉 杨彤 李柏生 柯昌文

511430 广州,广东省疾病预防控制中心病原微生物所(柯碧霞、何冬梅、谭海玲、李柏生、柯昌文); 510440 广州,广东省生物制品与药物研究所耐药监测室(曾洪辉、杨彤)

通信作者:柯昌文, Email: kecw1965@aliyun.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2016.08.017

【摘要】 **目的** 了解基于微球液态阵列分子技术对广东省腹泻病例沙门菌分离株的分型效果。**方法** 在微球液态阵列分子平台上应用SSA试剂盒对沙门菌人源株进行分子血清分型。**结果** 2010—2014年广东省人源沙门菌4 942株分为189种血清型,前100种血清型占有菌株的98.08%(4 847/4 942),其中98%可用SSA试剂盒完整分型;采用SSA试剂盒检测198株菌O抗原,可检出181株;用SSA检测H抗原的结果(98.32%,528/537)与传统血清凝集试验结果相符;*fljB*基因的符合率为93.09%(175/188),*fljB*基因假阴性率为7.35%(9/134),假阳性率为7.41%(4/54);*sdf*基因和*Vi*基因符合率均为100%;用SSA试剂盒检测12株血清不能分型的沙门菌,有11株能成功分型。**结论** SSA试剂盒能对96%以上的广东省人源沙门菌株进行分子血清分型,其结果与传统方法符合率超过98%。基于微球液态阵列分子技术的血清分型法比传统方法更具有高通量且快速的特点。

【关键词】 沙门菌;血清分型;基于微球的液态阵列分子技术

基金项目:广东省省级科技计划项目(2013B060400012,2014A020219004);中美新发和再发传染病合作项目(1U2GGH000018-01)

Study on *Salmonella* serotyping by use of Microsphere-based Liquid Array method Ke Bixia, He Dongmei, Tan Hailing, Zeng Honghui, Yang Tong, Li Bosheng, Ke Changwen
Institute of Pathogenic Microorganism, Guangdong Provincial Center for Disease Control and Prevention, Guangzhou 511430, China (Ke BX, He DM, Tan HL, Li BS, Ke CW); Drug Resistance Monitoring Laboratory, Guangdong Provincial Institute of Biological Products and Material Medicine, Guangzhou 510440, China (Zeng HH, Yang T)

Corresponding author: Ke Changwen, Email: kecw1965@aliyun.com

【Abstract】 **Objective** To understand the effect of serotyping on *Salmonella* isolates, by use of Microsphere-based Liquid Array method, among diarrhea patients, in Guangdong. **Methods** *Salmonella* isolated from humans in Guangdong province were serotyped on the Microsphere-based Liquid Array platform with SSA kit. **Results** A total of 4 942 *Salmonella* strains with 189 serotypes, were identified in Guangdong province in 2010–2014. The top 100 serotypes accounted for 98.08% (4 847/4 942) of all the strains. 98% of the top 100 species serotypes could completely be serotyped with SSA kit. In order to detect O antigen among 198 isolates with SSA kit, 181 strains were carrying the O antigen, with the coincidence rate as 100%. However, under the SSA, 98.32% (528/537) of the H antigen could be detected and were consistent with the traditional serum agglutination test. The coincidence rate of *fljB* gene was 93.09% (175/188), with false negative rate and false positive rate of *fljB* gene as 7.35% (9/134) and 7.41% (4/54) respectively. The coincidence rate of *sdf* gene and *Vi* gene were 100%. 11 out of the 12 *Salmonella* strains could not be serotyped under the traditional methods but were successfully serotyped by the molecular serotyping method. **Conclusions** Using the SSA kit, more than 96% of the anthropogenic *Salmonella* strains could be serotyped in Guangdong province. Comparing with the traditional methods, the coincidence rate of serotyping appeared over 98%. Under the Microsphere-based Liquid Array techniques, the molecular serotyping method appeared faster and more accurate on *Salmonella* serotyping than those traditional methods.

【Key words】 *Salmonella*; Serotype; Microsphere-based Liquid Array

Fund programs: Guangdong Province Science and Technology Plan Projects (2013B060400012,

2014A020219004); China-United States Collaborative Program on Emerging and Re-emerging Infectious Diseases (1U2GGH000018-01)

沙门菌的血清学分型是了解沙门菌感染和流行的重要分型工具。目前使用的考夫曼-怀特表(Kauffmann-White Scheme)是由 WHO 标准合作中心和巴斯德研究所沙门菌研究中心修订后的沙门菌血清分型表,其中通过种/亚种、O 抗原、1 相 H 抗原和 2 相 H 抗原对沙门菌进行血清分型。玻片凝集法是传统的沙门菌血清分型方法,一般需时 3 d 才能完成 O 和 H 抗原的检测。有些沙门菌需反复传代或诱导才能检测到抗原,完成分型需时更长(5~7 d)。而对于粗糙型沙门菌和极少数沙门菌用传统的玻片凝集法不能进行血清分型。应用基于微球的液态阵列分子技术在当天同时完成大量的沙门菌血清分型,且对粗糙型沙门菌和不能分型沙门菌进行血清分型^[1-2]。广东省从 2010 年起在全省 30 家哨点医院开展食源性疾病监测,至 2014 年从该监测系统共分离到 4 942 株沙门菌。为此本研究应用微球液态阵列分子技术对其中腹泻病例分离株进行血清型测定,并与传统血清分型结果比对,分析评价该项技术在广东省公共卫生微生物实验室检测沙门菌血清型的可行性。

材料与方法

1. 菌株来源:所选 200 株菌为 2010—2014 年广东省食源性疾病监测中从腹泻病例粪便中分离到的 89 种不同血清型的沙门菌。

2. 仪器和试剂:超微量分光光度计为德国 IMPLLEN 公司产品;LUMINEX200 基于微球的液态阵列分子分析仪是美国 MERCKMILLIPORE 公司产品;PCR 仪为美国 BIORAD 公司产品。xMAP® Salmonella Serotyping Assay Kit (SSA) 和基于微球的液态阵列分子分析仪器配套校准验证试剂盒是美国 Luminex 公司产品,HotStarTaqMasterMix 是美国 Qiagen 公司产品,InstaGene matrix 为美国 BIORAD 公司产品,沙门菌全套诊断血清为丹麦 SSI 公司产品。

3. 试验方法:用 InstaGene matrix 提取菌株核酸;用超微量分光光度计测定核酸浓度,并稀释至 100 ng/μl;用 SSA 试剂盒中的引物和 HotStarTaqMasterMix PCR 反应液进行多重 PCR 扩增;多重 PCR 产物与用 SSA 试剂盒中的微球进行杂交和染色;然后在基于微球的液态阵列分子分析仪上进行数据读取;最后用仪器配套的软件进行数据

分析。

结 果

1. 广东省沙门菌病例分离株血清型分布概况:2010—2014 年广东省食源性疾病监测中从腹泻病例粪便分离到沙门菌 4 942 株,除 12 株不能分型外(采用丹麦 SSI 沙门菌诊断血清分型),共分到 189 种血清型,分型率为 99.76%。其中 99.21% 的菌株为常见的 A~F 群,只有 39 株(0.79%)为 A~F 群以外的血清型,分别为 O:13(G)群、O:6,14(H)群、O:16(I)群、O:18(K)群、O:28(M)群、O:35(O)群、O:40(R)群、O:43(U)群、O:47(X)群。广东省腹泻病例沙门菌感染中最常见的 5 种血清型分别为 Typhimurium (26.94%)、14,5,12:i:- (17.65%)、Enteritidis (14.20%)、Stanley (10.34%)、Derby (3.75%),前 5 位血清型占有所有菌株的 72.88%(表 1)。排在前 100 位的血清型占有所有菌株的 98.09%,在 2010—2014 年有 84 种血清型只分离到 1 株菌。SSA 试剂盒能同时检测 7 种 O 抗原和 35 种 H 抗原,显示居前 100 位的血清型有 15 种涉及到的 O 抗原或 H 抗原不在 SSA 试剂盒检测范围内,其余 85 种能用 SSA 试剂盒分型的血清型数量占前 100 位血清型菌株数的 98%。SSA 试剂盒也能检测到 100 位后的沙门菌完整血清型或血清型部分抗原信息。因此,应用 SSA 试剂盒可对广东省腹泻病例中 96% 以上(98%, 98.09%)的沙门菌进行分子血清分型。

2. 基于微球液态阵列分子技术对沙门菌分型:

(1) 菌株血清型及抗原式:2010—2014 年广东省食源性疾病监测中从腹泻病例粪便中分离 200 株 89 种血清型沙门菌的抗原式及菌株数见表 2。

表 1 2010—2014 年广东省腹泻病例沙门菌分离株前 20 位的血清型分布

排位	血清型	菌株数	比例 (%)	排位	血清型	菌株数	比例 (%)
1	Typhimurium	1 328	26.94	11	Thompson	59	1.20
2	14,5,12:i:- ^a	870	17.65	12	Infantis	46	1.05
3	Enteritidis	700	14.20	13	Saintpaul	44	1.00
4	Stanley	510	10.34	14	Albany	42	0.96
5	Derby	185	3.75	15	Litchfield	40	0.91
6	Rissen	133	2.70	16	Corvallis	31	0.71
7	London	92	1.87	17	Virchow	30	0.68
8	Weltevreden	92	1.87	18	Hadar	25	0.57
9	Agona	80	1.62	19	Bareilly	22	0.50
10	Newport	60	1.22	20	Kottbus	21	0.48

注:^a无血清型仅列抗原式

表2 89种血清型沙门菌的相应抗原式及菌株数

血清型	抗原式	菌株数	血清型	抗原式	菌株数	血清型	抗原式	菌株数
Aarhus	18:z4,z23:z64	1	IIIb(6),14:z10:z ^a	(6),14:z10:z	1	Pakistan	8:1,v:1,2	1
Aberdeen	11:i:1,2	1	Inchpark	6,8:y:1,7	1	Paratyphi A	1,2,12:a:-	2
Agona	4,12:f,g,s:-	1	Indiana	4,12:z:1,7	2	Paratyphi B	4,5,12:b:1,2	2
Albany	8,20:z4,z24:-	3	Infantis	6,7:r:1,5	4	Parkroyal	3,19;l,v;1,7	1
Amoutive	28:d:1,5	1	Irumu	6,7:l,v:1,5	1	Potsdam	6,7:l,v:e,n,z15	3
Amsterdam	3,10:g,m,s:-	1	Isangi	6,7:d:1,5	1	Poona	13,22:z:1,6	3
Anatum	3,15:e,h:1,6	1	Istanbul	8:z10:e,n,x	1	Pomona	28:y:1,7	1
Bardo	8:e,h:1,2	1	Java	4,5,12:b:1,2	2	Putten	13,23:d:l,w	1
Bareilly	6,7:y:1,5	3	Johannesburg	1,40:b:e,n,x	1	Rding	4,5,12:e,h:1,5	1
Bovismorbificans	6,8,20:r:i:1,5	2	Javiana	9,12:l,z28:1,5	2	Reading	4,12:e,h:1,5	1
Braenderup	6,7:e,h:e,n,z15	3	Kastrup	6,7:e,n,z15:1,6	1	Rissen	6,7,14:f,g:-	1
Chailey	6,8:z4,z23:-	2	Kentucky	8,20:i:z6	3	Saintpaul	4,12:e,h:1,2	1
Choleraesuis	6,7:c:1,5	1	Kingabwa	43:y:1,5	1	Sandiego	4,5,12:e,h:e,n,z15	2
Corvallis	8,20:z4,z23:-	2	Konstanz	8:b:e,n,x	1	Schleissheim	4,5,12:b:-	4
Dabou	8,20:z4,z23:l,w	1	Kottbus	6,8:e,h:1,5	1	Senftenberg	1,3,19:g,s,t:-	2
Derby	4,12:f,g:-	4	Lansing	38:i:1,5	1	Singapore	6,7:k:e,n,x	4
Djugu	6,8:z10:e,n,x	1	Litchfield	6,8:l,v:1,2	5	Stanley	4,5,12:d:1,2	8
Duesseldorf	6,8:z4,z24:-	1	Liverpool	1,3,19:d:e,n,z15	2	Teddington	4,12,27:y:1,7	2
Enteritidis	9,12:g,m:-	6	Livingstone	6,7:d:l,w	2	Tennessee	6,7:z29:-	4
Ferruch	8:1,v:1,5	1	London	3,10:l,v:1,6	5	Thompson	6,7:k:1,5	3
Fillmore	6,8:e,h:e,n,x	1	Madelia	6,14,25:y:1,7	1	Typhi	9,12,Vi:d:-	4
Gaminara	16:d:1,7	1	Mbandaka	6,7:z10:e,n,z15	2	Typhimurium	4,5,12:i:1,2	4
Give	3,10:l,v:1,7	1	Meleagridis	3,10:e,h:l,w	8	Uzaramo	1,6,14,25:z4,z24:-	1
Goldcoast	6,8:r:l,w	1	Montevideo	6,7:g,m,s:-	1	Virchow	6,7:r:1,2	3
Hadar	6,8:z10:e,n,x	1	Moualine	47:y:1,6	1	Virginia	8:d:1,2	1
Havana	13,23:f,g:-	1	Muenchen	6,8:d:1,2	2	Wandsworth	39:b:1,2	1
Hindmarsh	8,r:1,5	1	Muenster	3,10:e,h:1,5	1	Warnow	6,8:i:1,6	1
Hvittingfoss	16:b:e,n,x	3	Newport	6,8:e,h:1,2	3	Weltevreden	3,10:r:z6	5
14,5,12:i:- ^a	4,[5],12:i:-	11	Ngor	1,3,19:l,v:1,5	3	Weston	16:e,h:z6	1
II6,7:g,m,s:- ^a	6,7:g,m,s:-	1	Othmarschen	6,7:g,m,t:-	1	不能分型	-	12

注:^a无血清型仅列抗原式

(2)O抗原检测:SSA试剂盒能检测的O群抗原为B、C1、C2、D、E和G群及甲型副伤寒。200株沙门菌中有198株能用传统血清凝集试验确定O抗原,采用SSA试剂盒检测,其中181株菌能检测出O抗原(表3),与传统血清凝集试验结果的符合率为100%;其余17株,包括F群(O11)、H群(O6,14)、I群(O16)、K群(O18)、M群(O28)、P群(O38)、Q群(O39)、R群(O40)、U群(O43)和X群(O11),采用SSA试剂盒检测结果均为阴性。

(3)H抗原检测:SSA试剂盒的H抗原目标基因有35个,分别为a、b、c、d、j、eh、i、k、r、z10、z29、z6、y、L-complex、v、z28、EN-complex、x、z15、1-complex、2、5、6、7、z24、G-complex、f、(m/g,m)、(m/m,t)、p、s、t-1、z51、z4-complex。本次所用的沙门菌株除p、(m/m,t)和z51这3个抗原不涉及外,其余的32个抗原均涉及(图1)。200株菌所包含的H抗原共有537个,有34种不同的H抗原,其中z23和w两个基因不在SSA的检测范围内。98.32%(528/537)的

表3 198株沙门菌O抗原的SSA试剂盒检测结果

检测菌株	株数	检测结果
B群(O:4)	46	B群(+)
C1群(O:7)	41	C1群(+)
C2群(O:8)	43	C2群(+)
D群(O:9)	13	D群(+)
E群(O:3,10,19)	31	E群(+)
G群(O:13)	5	G群(+)
Para A	2	Para A(+)
其他群	17	(-)

H抗原用SSA检测的结果与传统血清凝集试验的结果相符,其中a、b、c、j、eh、i、k、r、z29、z6、y、z28、EN-complex、x、z15、1-complex、6、7、z24、G-complex、f、(m/g,m)、s、t-1、z4-complex 25个基因的符合率均为100%,有6个H抗原基因有漏检情况,含z23和w两个基因的菌株(19株)检测结果均为阴性。H抗原基因漏检情况:缺L-complex、H5、Hv、Hd基因各1株,缺Hz10和H2基因各2株。本次

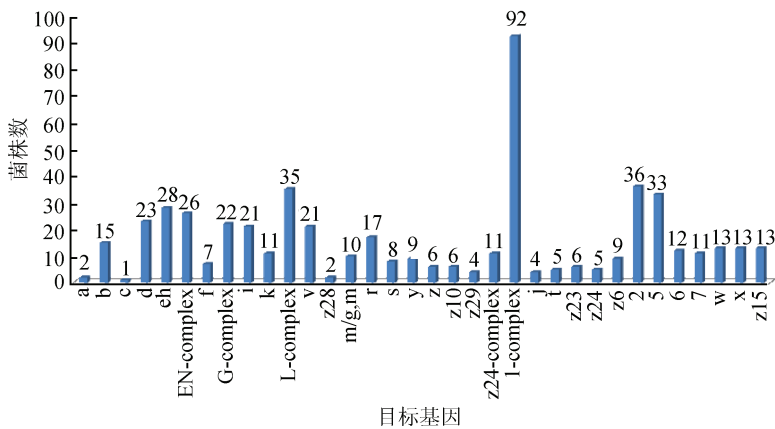


图 1 200 株沙门菌的 34 种 H 抗原数量

讨 论

2002—2006 年美国 CDC 在该国分离到的人源沙门菌超过 161 000 株, 约有 1 000 种血清型, 其中常见的 100 种血清型占 98%^[2]。因此 SSA 试剂盒是针对美国最常见的 100 种血清型沙门菌而设计^[1-2]。我国广东省 2010—2014 年分离的 4 942 株人源沙门菌有 189 种血清型, 前 100 种血清型占全部菌株的 98.08%; 居前 100 位血清型中有 15 种涉及到 O 或 H 抗原不列在 SSA

检测菌株有 5 株菌含有 H t 抗原, 只有 1 株用 SSA 能检测到 H t 抗原。

(4) 其他基因检测: SSA 试剂盒的其他目标基因 (additional targets, AT) 包括 *sdf*、*fljB* 和 *Vi* 3 个基因。本次采用传统血清凝集试验可明确血清型的 188 株菌中有 134 株为双相沙门菌, 54 株为单相沙门菌, 理论上双相沙门菌的 *fljB* 基因检测结果应为阳性, 而单相沙门菌的 *fljB* 基因检测结果应为阴性。134 株双相沙门菌中有 125 株为 *fljB* 基因检测结果为阳性, 9 株为阴性, 阴性率为 7.35% (9/134); 54 株单相沙门菌中有 50 株菌 *fljB* 基因检测结果为阴性, 4 株为阳性, 阳性率为 7.41% (4/54); *fljB* 基因的符合率为 93.09% (175/188)。*sdf* 基因是肠炎沙门菌的特异基因, 可将肠炎沙门菌和 *Gallinarum*、*Pullorum* 沙门菌区分开。本次明确血清型为肠炎沙门菌的有 6 株, *sdf* 基因均检测为阳性, 符合率为 100%; 另有 1 株血清型不确定沙门菌用 SSA 试剂盒检测为肠炎沙门菌, *sdf* 基因也检测为阳性。4 株伤寒沙门菌, *Vi* 基因检测 3 株为阳性, 1 株阴性, 符合率为 100%。

(5) 血清学不能分型菌株的检测: 本次采用传统血清凝集试验不能分型的菌株有 12 株。用 SSA 试剂盒检测, 有 11 株能成功分型 (表 3)。其中 1 号菌株仍不能检出 H1 相抗原, 原因可能是该菌株的 H1 相抗原不在试剂盒检测范围内。11 和 12 号菌株用血清检测时 O 抗原与多种血清凝集, 但用 SSA 试剂盒检测很明确 O 抗原为 E 群。有 9 株菌用血清凝集试验不能检测出 H2 相, 2 株菌不能检出 H1 相, 用 SSA 试剂盒检测均可检出相应的 H1 相和 H2 相。

试剂盒检测范围内, SSA 试剂盒分型率为 98%; SSA 试剂盒也能检测到广东省分离菌株的 100 位后沙门菌完整血清型或血清型的部分抗原信息。因此, 应用 SSA 试剂盒可对广东省 96% 以上腹泻病例分离的沙门菌进行血清分子分型。

沙门菌的 O 抗原是由 *rfb* 基因编码。SSA 试剂盒针对 B、C1、C2、D、E、G 群和甲型副伤寒 O 抗原的 *rfb* 基因特异片段设计相应的引物和探针, 能在同一反应中同时检测这 7 种 O 抗原^[1]。本次检测有 198 株沙门菌采用 SSA 试剂盒检测 O 抗原, 其中 181 株为阳性, 结果与传统血清分型方法完全一致; 17 株为阴性 (因其 O 抗原不在试剂检测范围内)。故 SSA 试剂盒 O 抗原检测的敏感性和特异性均好, 且无交叉反应。采用 SSA 试剂盒检测 2 株粗糙型沙门菌均可检测到明确的 E 群 O 抗原。由于 E 群与 G 群均含多种 O 抗原, SSA 试剂盒检测虽能区分菌株是 E 群或 G 群, 但不能判断其亚群, 如 E1 群还是 E4 群, G1 群还是 G2 群。因此还需补充做传统血清凝集试验。

沙门菌的 H 抗原主要由 *fliC* 和 *fljB* 基因编码, 分

表 3 12 株不能分型的沙门菌株 SSA 试剂盒检测结果

菌株号	菌株抗原式	SSA 试剂盒检测			
		O 抗原	H 抗原	AT	分型
1	[3, 10:?:1, 5]	E	1-complex, 5	fljB+	-
2	[6, 8:e, h:?]	C2	eh, 1-complex, 5	fljB+	Kottbus
3	[4, 5, 12:?:?]	B	y, 1-complex, 7	fljB+	Teddington
4	[6, 7:k:?]	C1	k, EN-complex, x	fljB+	Singapore
5	[9, 12:g,?:-]	D	G-complex, m/g, m	sdf+	Enteritidis
6	[6, 8:r, i:?]	C2	r, 1-complex, 5	fljB+	Bovismorbificans
7	[6, 8:e, h:?]	C2	eh, 1-complex, 2	fljB+	Newport
8	[6, 7:k:?]	C1	k, 1-complex, 5	NEG	Thompson
9	[6, 8:e, h:?]	C2	eh, 1-complex, 2	NEG	Newport
10	[6, 8:e, h:?]	C2	eh, 1-complex, 5	fljB+	Kottbus
11	[?:g, s, t:-]	E	G-complex, s	NEG	Westhampton
12	[?:g, s, t:-]	E	G-complex, s	NEG	Westhampton

注: -不能分型

别编码H第一和第二相抗原。鞭毛蛋白基因*fliC*和*fliB*被协调调控,在一个单细胞中只能表达鞭毛的一相抗原^[3]。因此,用传统血清玻片凝集方法检测H抗原时需要做位相诱导试验才能检测到沙门菌的两相H抗原。SSA试剂盒的*fliC*和*fliB*基因相应引物和探针是针对15种H抗原、5种复合主要抗原和16种复合次要抗原,能在同一反应中同时检测35种H抗原。本文检测的200株沙门菌中,所有537个H抗原基因的特异性均好,无交叉反应。有19菌株(含H:z23,-w抗原)未检测到完整的两相H抗原,也仅是其H抗原不在试剂盒的检测范围内。有8株(4%)未检测到预期的H抗原基因,主要集中在H:d,-v,-z10,-z,-g,s,t,-1,5,-1,2,L-complex。部分基因没有检出是由于等位基因的多样性。本文中有1株菌未检测到H:1,5,原因可能是其H:1,5基因不在检测范围内。本文菌株中有5株含Ht抗原,采用SSA试剂盒只检测到1株,原因可能是其余4株菌的Ht抗原均由非Ht-1基因编码。此外,未检测到相应H抗原的菌株,应进一步分析其原因。

沙门菌为双相鞭毛抗原细菌,但也有单相菌(如肠炎沙门菌和伤寒沙门菌),为单相血清型。目前已发现有些菌株由典型的双相血清型变种为单相血清型^[4-5]。本文中采用SSA试剂盒有4株单相菌被检测为双相菌。可能的解释是当菌株*fliB*基因缺失,可导致最常见的单相血清型和单相变种,但用传统方法检测可能被鉴定为单相菌。例如,甲型副伤寒沙门菌(抗原式为1,2,12:a:-)含有一个*fliBH*:1,5等位基因,但是通常不表达^[6],但H:1,5等位基因可以检测到。此外,因部分*fliB*基因缺失成为单相菌的菌株用分子方法来检测也会得到不同的结果,这主要由*fliB*基因缺失的属性决定。如果*fliB*基因的某部分与特定的探针同源,且量足够多,引物可与靶标结合扩增,这部分基因可与探针反应,即使该抗原

不表达,采用传统方法无法检测到,但分子学方法却可检测到。

综上所述,尽管目前基于微球的液态阵列分子技术对沙门菌血清分型还不能完全替代传统血清学分型方法,但其具有诸多优点,特别是在处理沙门菌暴发事件时,可在数小时内不仅对暴发菌株进行分型,还可排除非暴发菌株,显著减轻实验室工作量。本文显示采用SSA试剂盒检测可解决广东省绝大部分人源沙门菌株的血清分型,且比传统方法更高通量更快速,可应用于食源性疾病的散发和暴发监测。

利益冲突 无

参 考 文 献

- [1] Fitzgerald C, Collins M, van Duyn S, et al. Multiplex, bead-based suspension array for molecular determination of common *Salmonella* serogroups [J]. *J Clin Microbiol*, 2007, 45 (10):3323-3334. DOI:10.1128/JCM.00025-07.
- [2] McQuiston JR, Waters RJ, Dinsmore BA, et al. Molecular determination of H antigens of *Salmonella* by use of a microsphere-based liquid array [J]. *J Clin Microbiol*, 2011, 49 (2):565-573. DOI:10.1128/JCM.01323-10.
- [3] Silverman M, Zieg J, Hilmen M, et al. Phase variation in *Salmonella*: genetic analysis of a recombinational switch [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1979, 76(1):391-395. DOI:10.1073/pnas.76.1.391.
- [4] Garaizar J, Porwollik S, Echeita A, et al. DNA microarray-based typing of an atypical monophasic *Salmonella enterica* serovar [J]. *J Clin Microbiol*, 2002, 40(6):2074-2078. DOI:10.1128/JCM.40.6.2074-2078.2002.
- [5] McQuiston JR, Fields PI, Tauxe RV, et al. Do *Salmonella* carry spare tyres? [J]. *Trends Microbiol*, 2008, 16(4):142-148. DOI:10.1016/j.tim.2008.01.009.
- [6] McClelland M, Sanderson KE, Clifton SW, et al. Comparison of genome degradation in paratyphi A and typhi, human-restricted serovars of *Salmonella entericath atcause typhoid* [J]. *Nat Genet*, 2004, 36(12):1268-1274. DOI:10.1038/ng1470.

(收稿日期:2016-02-24)

(本文编辑:张林东)