

## 论著

## 北京市食源性非伤寒沙门菌的分子分型和耐药性研究

张晓媛,王迪,陈倩

(北京市疾病预防控制中心营养与食品卫生所 食物中毒诊断溯源技术北京市重点实验室,北京 100013)

**摘要:**目的 了解北京市食源性非伤寒沙门菌的分子特征及耐药情况。方法 对2004—2010年北京市食源性致病菌监测网收集的100株沙门菌进行脉冲场凝胶电泳(PFGE)分型和抗生素敏感性检测。结果 100株非伤寒沙门菌通过PFGE分型分为62个不同的带型,每个带型包含1~11株菌。抗生素敏感性结果显示,100株菌中有55株菌表现为对至少1种抗生素耐药,其中多重耐药菌株15株。菌株对各抗生素的耐药率为萘啶酸40%、四环素30%、氯霉素15%、庆大霉素10%、甲氧苄啉/磺胺甲恶唑10%、环丙沙星9%、头孢西丁1%、头孢噻肟0%。结论 沙门菌PFGE带型和耐药谱均与血清型存在很高的一致性。提示北京市食源性非伤寒沙门菌的耐药情况比较严重,开展对该菌分子分型与耐药特征分析的联合监测意义重大。

**关键词:**食品;非伤寒沙门菌;分子分型;耐药;食源性致病菌;脉冲场凝胶电泳

**中图分类号:**R155;R378.2+2 **文献标志码:**A **文章编号:**1004-8456(2015)03-0232-06

**DOI:**10.13590/j.cjfh.2015.03.003

Molecular subtyping and antibiotic resistance of nontyphoidal *Salmonella* isolated from food in Beijing

ZHANG Xiao-ai, WANG Di, CHEN Qian

(Institute for Nutrition and Food Hygiene, Beijing Center for Disease Prevention and Control, Beijing Key Laboratory of Diagnostic and Traceability Technologies for Food Poisoning, Beijing 100013, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the molecular characteristics and antibiotic resistance of nontyphoidal *Salmonella* isolated from food in Beijing. **Methods** A total of 100 strains were isolated from foodborne pathogenic bacteria monitoring network in Beijing from 2004 to 2010, and were analyzed by PFGE and antimicrobial susceptibility test. **Results** The isolates were divided into 62 PFGE pattern, and each contains 1-11 strains. The result of antimicrobial susceptibility test showed that 55 strains were resistant to at least one antibiotic, including 15 multidrug resistant strains. The resistance rate to the eight antibiotics were nalidixic acid (40%), tetracycline (30%), chloramphenicol (15%), gentamicin (10%), trimethoprim/sulfamethoxazole (10%), ciprofloxacin (9%), cefoxitin (1%), and cefotaxime (0%). **Conclusion** PFGE profiles, antibiotic resistance patterns and serotypes of *Salmonella* showed high consistency. The antibiotic resistance of foodborne nontyphoidal *Salmonella* in Beijing was serious, and enhancing the joint monitoring of molecular subtyping and antibiotic resistance has significant importance.

**Key words:** Food; nontyphoidal *Salmonella*; molecular subtyping; antibiotic resistance; foodborne pathogens; Pulsed field gel electrophoresis

非伤寒沙门菌是常见的食源性致病菌,能够使人类引起发热、腹泻、腹痛,甚至败血症等症状或疾病,每年全球约有15万人死于非伤寒沙门菌感染<sup>[1]</sup>。沙门菌广泛存在于自然界,不仅感染人畜,还极易污染食品、水源及其他物品。食品传播是引起人类沙门菌感染的主要途径,其中肉类和禽类产

品是主要的污染源<sup>[2]</sup>。近年来,非伤寒沙门菌的耐药性问题日趋严重,主要原因是抗生素在临床抗感染治疗中的大量使用和食源性动物中作为促生长剂的广泛使用。为了解北京市食源性非伤寒沙门菌的分子型别分布和耐药性特征,本研究对2004—2010年从食品中分离的非伤寒沙门菌进行了脉冲场凝胶电泳(PFGE)分型和耐药性分析。

收稿日期:2014-12-16

基金项目:首都卫生科研发展专项(首发2011-1013-02);北京市预防研究中心行业定额(2012-BJCDC-12)

作者简介:张晓媛 女 助理研究员 研究方向为食品微生物

E-mail:zhangxiaoi\_0922@163.com

通讯作者:陈倩 女 主任技师 研究方向为食品微生物

E-mail:cchenqian@263.net

## 1 材料和方法

## 1.1 材料

## 1.1.1 试验菌株

试验菌株共100株,其中98株为2004—2010年北京市食源性致病菌监测网收集的食品分离株,来源

包括生鸡肉(55株)、生羊肉(19株)、生猪肉(7株)、生牛肉(4株)、熟肉制品(5株)、水产品(5株)和其他(3株)。另外2株分离自一起食物中毒事件的病人粪便。抗生素敏感性试验使用的质控菌株为大肠埃希菌(ATCC 25922),由本实验室保藏。

### 1.1.2 主要仪器与试剂

VITEK 浊度仪(法国 BioMérieux),脉冲场凝胶电泳仪及配套设备、凝胶成像系统均购自美国 Bio-Rad,试验用去离子水系统,水浴摇床,台式高速离心机,温箱( $36 \pm 1$ ) $^{\circ}\text{C}$ 。

培养基脑心浸液和琼脂粉(北京陆桥技术股份有限公司),Seakem Gold 琼脂糖(美国 Cambrex Bio Science Rockland),蛋白酶 K(德国 Merck),限制性内切酶 *Xba* I(北京六合通经贸有限公司),冻干型细菌定量药敏测定盒、MH 肉汤、细菌稀释液均购自天津金章科技发展有限公司。

## 1.2 方法

### 1.2.1 抗生素敏感性试验

测试抗生素包括:四环素(TET,四环素类,0.06~64  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )、环丙沙星(CIP,喹诺酮类,0.03~32  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )、萘啶酸(NAL,喹诺酮类,0.125~128  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )、头孢西丁(FOX,其他 $\beta$ -内酰胺类,0.016~16  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )、头孢噻肟(CTX,第三代头孢菌素类,0.25~256  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )、庆大霉素(GEN,氨基糖苷类,0.06~64  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )、甲氧苄啶/磺胺甲恶唑(TMP/SMZ,磺胺类,0.5/9.5~32/608  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )、氯霉素(CHL,酰胺醇类,0.25~256  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )。

采用冻干型细菌定量药敏测定盒定量测定菌株的最小抑菌浓度(MIC)。将待测菌株和质控菌株大肠埃希菌(ATCC 25922)接种到脑心肉汤管中,过夜培养;挑取菌液划线接种于脑心平板,过夜培养;挑取单个菌落,再次划线接种于脑心平板,过夜培养 18~24 h;挑取 3~5 个菌落,均匀悬浮于 1.5 ml 细菌稀释管中,调至 0.5 麦氏浊度;取 100  $\mu\text{l}$  稀释于 10 ml MH 肉汤管中,混匀,缓慢倒入 V 型无菌槽内,用多道移液器向已经加好抗生素的 96 孔药敏板中加入菌悬液,每孔 50  $\mu\text{l}$ 。每块 96 孔板对应一株待测菌株。最后 A12~H12 不加任何抗生素的孔里 4 个(A12~D12)加菌液作为该菌生长对照,4 个(E12~H12)不加菌液作为空白对照。将接种好的 96 孔药敏板加盖,置于培养箱中( $36 \pm 1$ ) $^{\circ}\text{C}$  培养 24 h(培养箱中放置水槽以保持湿度)。同时以相同的操作测定标准质控菌株。

### 1.2.2 PFGE 分型

参照国际食源性致病菌分子分型监测网络 PulseNet 中沙门菌 PFGE 分型的标准操作方法进

行<sup>[3]</sup>,主要试验参数如下:细菌悬液浓度用 VITEK 浊度仪调至 4.0~4.2 麦氏浊度;取 400  $\mu\text{l}$  菌悬液加等量的胶制备胶块;使用 *Xba* I 限制性内切酶(40 U),37  $^{\circ}\text{C}$  酶切 3 h;缓冲液为 0.5  $\times$  TBE;电泳电压为 6 V/cm;电泳参数为 2.2 s~63.8 s,19 h;胶块电泳后使用 GelRed 染色,纯水脱色,读取电泳图谱。PFGE 图像录入 BioNumerics 软件包进行处理,识别图像条带,经统一的分子质量标准进行校准,标定条带位置,必要时进行手工校正,在 PFGE 图像中 < 20.5 kbp 的条带忽略不计。PFGE 分子量标准为沙门菌 H9812 的 *Xba* I 酶切片段。PFGE 电泳图谱中,每条泳道代表 1 株菌,在限制性内切酶的切割下,不同的菌株会呈现不同的条带数和片段大小。将条带数和位置相同的菌株归为同一 PFGE 型别。用 BioNumerics 软件对电泳图像进行数据分析,构建聚类树状图。聚类图类型根据非加权配对算术平均法构建,条带位置差异容许度设为 1.0%。

## 2 结果

### 2.1 PFGE 分型结果

100 株非伤寒沙门菌通过 PFGE 分型分为 62 个带型,每个带型包含 1~11 株菌。其中 18 个带型包含的菌株数多于 1 株,其余 44 个带型只包含 1 株菌,如图 1 所示。PFGE 聚类与血清型存在很高的一致性,如 3 株吉韦沙门菌(簇 A)、3 株明斯特沙门菌(簇 B)、4 株猪霍乱沙门菌(簇 H)、2 株肯塔基沙门菌(簇 J)、3 株母班达卡沙门菌(簇 L)分别具有相同的 PFGE 带型;22 株肠炎沙门菌分为 9 种带型,各带型包含 1~9 株菌,不同菌株间的 PFGE 带型相似度为 78.6%~100%,同属于簇 C;18 株德尔卑沙门菌分为 11 个型别,各带型包含 1~4 株菌,其中 17 株聚成簇 D;7 株山夫登堡沙门菌分为 5 种带型,同属于簇 E;2 株婴儿沙门菌形成簇 F;7 株印第安纳沙门菌分为 7 种不同的带型,聚成簇 G;3 株鼠伤寒沙门菌分为 3 种带型,形成簇 I;10 株阿贡纳沙门菌分为 8 种不同的带型,同属于簇 K。其他仅包括 1 株菌的血清型,各自具有不同的 PFGE 图谱,且不同血清型的菌株无相同带型或者成簇现象存在。

病人生物样品中分离的 2 株德尔卑沙门菌(2007HD345、2007HD346)与从生肉中分离的 2 株德尔卑沙门菌(2006HD16、2007HD12794)具有相同的 PFGE 带型,见图 2。

### 2.2 耐药性分析

在测试的 8 种抗生素中,对所有抗生素均敏感的菌株共 45 株,其余 55 株菌株对至少 1 种抗生素耐药。耐药率高的前 3 种抗生素分别是:萘啶酸

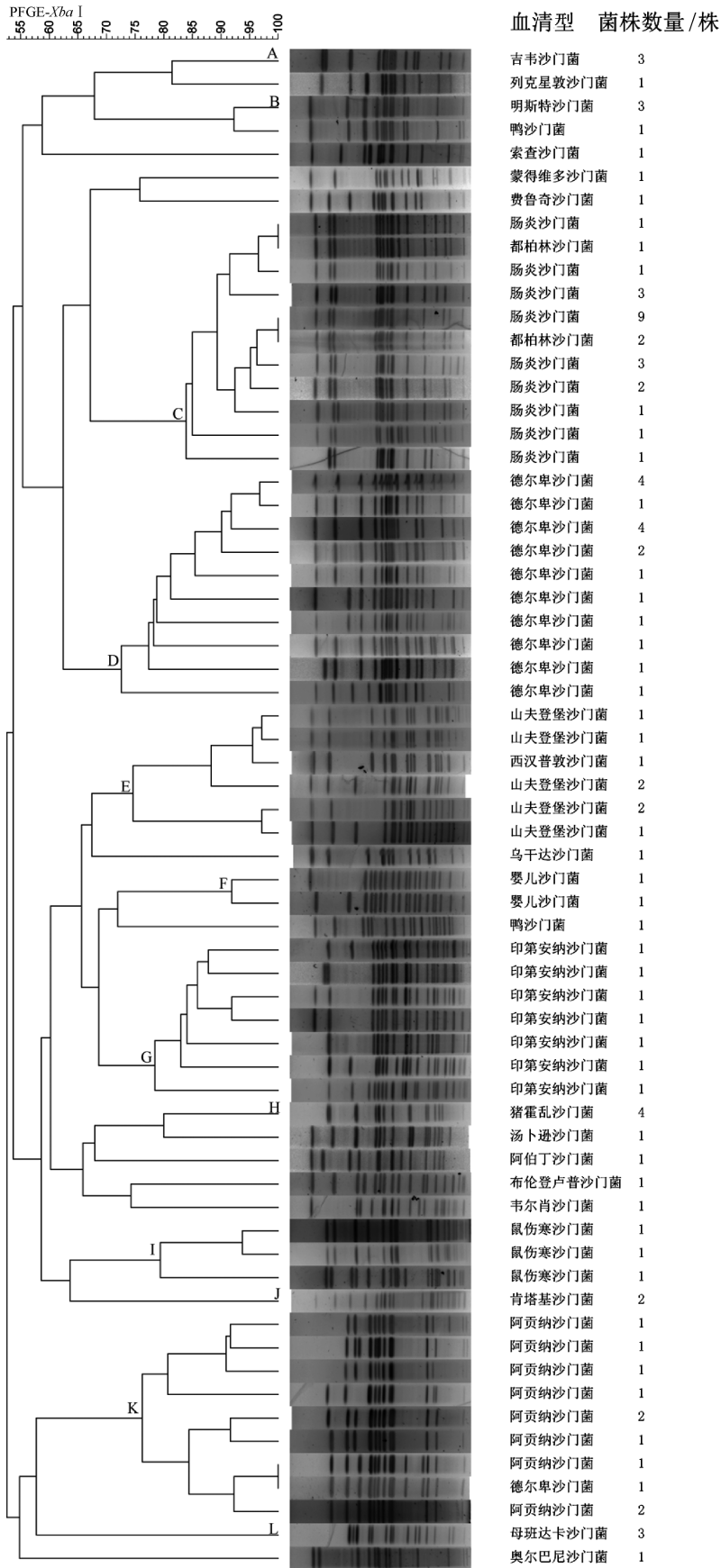


图 1 100 株非伤寒沙门菌 PFGE 聚类图

Figure 1 PFGE patterns of nontyphoidal *Salmonella* strains

(40%)、四环素(30%)、氯霉素(15%)，见表 1。菌株的耐药性与血清型存在一定的关联性：某些血清

型菌株对测试的 8 种抗生素均敏感，如阿贡纳沙门菌、山夫登堡沙门菌和猪霍乱沙门菌；某些血清型



注:R为耐药;S为敏感;I为中介

图2 18株德尔卑沙门菌PFGE聚类结果及药敏结果

Figure 2 PFGE patterns and antibiotics resistance of eighteen *Salmonella derby* strains

表1 各血清型菌株对8种抗生素耐药情况

Table 1 Resistance to 8 antibiotics of different serotype strains

血清型 (分析菌株数/株)	耐药菌株数/株(耐药率/%)							
	四环素	环丙沙星	萘啶酸	头孢西丁	头孢噻肟	庆大霉素	甲氧苄啉/ 磺胺甲恶唑	氯霉素
肠炎沙门菌(22)	6(27.3)	1(4.5)	21(95.5)	1(4.5)	0(0)	1(4.5)	1(4.5)	1(4.5)
德尔卑沙门菌(18)	13(72.2)	0(0)	2(11.1)	0(0)	0(0)	0(0)	1(5.6)	3(16.7)
阿贡纳沙门菌(10)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
印第安纳沙门菌(7)	5(71.4)	7(100)	7(100)	0(0)	0(0)	5(71.4)	5(71.4)	7(100)
山夫登堡沙门菌(7)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
猪霍乱沙门菌(4)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
都柏林沙门菌(3)	0(0)	0(0)	3(100)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
吉韦沙门菌(3)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
明斯特沙门菌(3)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
鼠伤寒沙门菌(3)	2(66.7)	1(33.3)	2(66.7)	0(0)	0(0)	2(66.7)	2(66.7)	2(66.7)
母班达卡沙门菌(3)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
其他血清型(17)	4(23.5)	0(0)	5(29.4)	0(0)	0(0)	2(11.8)	1(5.9)	2(11.8)
合计(100)	30(30.0)	9(9.0)	40(40.0)	1(1.0)	0(0)	10(10.0)	10(10.0)	15(15.0)

注:其他血清型包括阿伯丁沙门菌(1株)、奥尔巴尼沙门菌(1株)、鸭沙门菌(2株)、布伦登卢普沙门菌(1株)、费鲁奇沙门菌(1株)、婴儿沙门菌(2株)、肯塔基沙门菌(2株)、列克星敦沙门菌(1株)、蒙得维多沙门菌(1株)、索查沙门菌(1株)、汤卜逊沙门菌(1株)、乌干达沙门菌(1株)、韦尔肖沙门菌(1株)、西汉普顿沙门菌(1株)共14种血清型17株沙门菌菌株。其中1株奥尔巴尼沙门菌、1株汤卜逊沙门菌、2株肯塔基沙门菌对四环素耐药;1株奥尔巴尼沙门菌、1株鸭沙门菌、1株婴儿沙门菌、2株肯塔基沙门菌对萘啶酸耐药;2株肯塔基沙门菌对庆大霉素耐药;1株韦尔肖沙门菌对甲氧苄啉/磺胺甲恶唑耐药;1株奥尔巴尼沙门菌和1株韦尔肖沙门菌对氯霉素耐药

菌株呈现出对某一种抗生素高耐药率,如95.5%的肠炎沙门菌对萘啶酸耐药、72.2%的德尔卑沙门菌对四环素耐药;某些血清型菌株表现为对多种抗生素耐药,如印第安纳沙门菌,100%的印第安纳沙门菌对环丙沙星、萘啶酸和氯霉素耐药,71.4%的印第安纳沙门菌对四环素、庆大霉素、甲氧苄啉/磺胺甲恶唑耐药。

在55株耐药菌株中,有22株对2种或者2种以上的抗生素耐药,其中2种抗生素耐药7株,3种抗生素耐药4株,4种抗生素耐药4株,5种抗生素耐药3株,6种抗生素耐药4株。其中对3种及3种以上抗生素耐药的多种耐药菌株有15株。多重耐药菌株包括7株印第安纳沙门菌、2株鼠伤寒沙门菌、2株肠炎沙门菌、2株肯塔基沙门菌、1株德尔卑

沙门菌和1株奥尔巴尼沙门菌,耐药谱见表2。

表2 对抗生素的多重耐药情况

Table 2 Multidrug resistance of isolated strains

多重耐药谱	耐药菌株数及血清型
TET + NAL + GEN	2株肯塔基沙门菌
TET + NAL + CHL	1株奥尔巴尼沙门菌
TET + TMP/SMZ + CHL	1株德尔卑沙门菌
TET + NAL + GEN + CHL	1株肠炎沙门菌
TET + CIP + NAL + TMP/SMZ	1株肠炎沙门菌、1株印第安纳沙门菌
CIP + NAL + TMP/SMZ + CHL	1株印第安纳沙门菌
CIP + NAL + GEN + TMP/SMZ + CHL	1株印第安纳沙门菌
TET + CIP + NAL + GEN + CHL	1株印第安纳沙门菌
TET + NAL + GEN + TMP/SMZ + CHL	1株鼠伤寒沙门菌
TET + CIP + NAL + GEN + TMP/SMZ + CHL	3株印第安纳沙门菌、1株鼠伤寒沙门菌

注:TET:四环素、CIP:环丙沙星、NAL:萘啶酸、FOX:头孢西丁、CTX:头孢噻肟、GEN:庆大霉素、TMP/SMZ:甲氧苄啉/磺胺甲恶唑、CHL:氯霉素

病人生物样品中分离的2株德尔卑沙门菌(2007HD345、2007HD346)与从生肉中分离的2株德尔卑沙门菌(2006HD16、2007HD12794)具有相同的耐药谱,对四环素耐药,对其他7种抗生素均敏感,见图2。

### 3 讨论

本研究对2004—2010年北京市100株食源性非伤寒沙门菌进行了PFGE分型和耐药性分析,结果显示,沙门菌PFGE带型和耐药谱均与血清型存在很高的一致性,即相同血清型的沙门菌具有相同或相似的PFGE带型和耐药谱特征。结合血清型、分子分型和耐药谱分析,本研究揭示了北京市食源性非伤寒沙门菌主要的耐药菌群有4个:耐萘啶酸的肠炎沙门菌、耐四环素的德尔卑沙门菌、多耐药(耐四环素、环丙沙星、萘啶酸、庆大霉素、甲氧苄啶/磺胺甲恶唑、氯霉素)的印第安纳沙门菌、多耐药(耐四环素、萘啶酸、庆大霉素、甲氧苄啶/磺胺甲恶唑、氯霉素)的鼠伤寒沙门菌。

本研究涉及的沙门菌血清型大都是临床重要的致病菌。如鼠伤寒和肠炎沙门菌是引起我国和其他国家婴幼儿腹泻的主要血清型,非伤寒沙门菌临床分离株约80%为鼠伤寒和肠炎沙门菌<sup>[4]</sup>;阿贡纳沙门菌曾在法国引起疾病暴发,波及104名婴儿<sup>[5]</sup>;此外,德尔卑沙门菌、山夫登堡沙门菌等都是常见的食物中毒致病菌<sup>[6]</sup>。随着食品贸易的国际化,食品分发途径变得快速和多样,使得食源性疾病的发生模式由暴发转为多点散发,传统的血清分型已经不能满足在食源性疾病暴发中准确溯源的需求。PFGE是目前在沙门菌疾病溯源中被广泛使用的分型方法,而建立食源性病原菌的分子分型本底数据库,了解食品中非伤寒沙门菌的流行病学分布规律及PFGE分型特点,对于非伤寒沙门菌的监测、暴发调查尤为重要。本研究中2株由食物中毒事件分离的德尔卑沙门菌与食物源菌株具有相同的PFGE带型,提示了其食品来源;同时这两株菌与同PFGE带型的食品来源菌株显示相同的耐药谱特征,提示这2株德尔卑沙门菌对四环素的耐药特征可能先于食物污染之前的环节获得。

随着抗生素的广泛使用和选择性压力的产生,沙门菌的多重耐药率从上世纪90年代以来持续增高<sup>[7]</sup>,我国非伤寒沙门菌耐药问题也日趋严重<sup>[8-11]</sup>。如2006—2012年上海市低年龄组病例分离的肠炎沙门菌对环丙沙星和三代头孢耐药的菌株分别占约1/2和2/3<sup>[8]</sup>;在对婴幼儿分离非伤寒沙门菌的研究中,78.95%的分离株具有不同程度的耐药性,甚至有些菌株具有对14种抗生素的耐药性<sup>[9]</sup>。目

前,喹诺酮类药物是治疗非伤寒沙门菌感染的首选药物,但是在本研究中,食源性非伤寒沙门菌对两种喹诺酮类药物(环丙沙星和萘啶酸)均检出了耐药菌株,尤其需要注意的是印第安纳沙门菌对两种喹诺酮类药物的耐药率均高达100%,而且该血清型对其他4种抗生素也有很高的耐药率,只对头孢西丁和头孢噻肟两种药物100%敏感;该结果提示食源性印第安纳沙门菌的耐药情况严重,如出现印第安纳沙门菌感染病例应考虑服用头孢菌素类抗生素。肠炎沙门菌是我国非伤寒沙门菌性腹泻或细菌性食物中毒最常见的血清型之一,本研究中肠炎沙门菌对萘啶酸也显示了高达95.5%的耐药率,并且有2株肠炎沙门菌为多重耐药菌,提示食源性肠炎沙门菌的耐药情况严重;而在PFGE分析中,40.9%(9/22)的肠炎沙门菌具有相同的PFGE带型,且这些菌株分离自不同的年份,提示某耐萘啶酸的肠炎沙门菌克隆在北京地区存在多年。总体而言,8种检测抗生素中,有7种出现了耐药菌;检测菌株中,55%(55/100)出现了耐药现象,15%(15/100)为多重耐药菌,提示应高度重视食源性非伤寒沙门菌的耐药情况,开展专项耐药监测,即时通报监测结果,为临床用药提供正确的依据,防止非伤寒沙门菌的进一步扩散。

### 参考文献

- [1] Majowicz S E, Musto J, Scallan E, et al. The global burden of nontyphoidal *Salmonella* gastroenteritis [J]. *Clin Infect Dis*, 2010, 50(6): 882-889.
- [2] Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Surveillance for foodborne disease outbreaks—United States, 2009-2010 [J]. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 2013, 62(3): 41-47.
- [3] Ribot E M, Fair M A, Gautom R, et al. Standardization of pulsed-field gel electrophoresis protocols for the subtyping of *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella*, and *Shigella* for PulseNet [J]. *Foodborne Pathog Dis*, 2006, 3(1): 59-67.
- [4] Vieira A, Jensen A R, Pires S M, et al. WHO global foodborne infections network country databank—a resource to link human and non-human source of *Salmonella* [J]. *Int Soc Vet Epidemiol Econ*, 2009, 643: 512-517.
- [5] Espié E, Weill F X, Brouard C, et al. National outbreak of *Salmonella* enterica serotype *Agona* infections in infants in France, linked to infant milk formula, investigation ongoing [J]. *Euro Surveill*, 2005, 10(3): E050310. 1.
- [6] 周晓红, 商晓春, 帅慧群, 等. 89株山夫登堡沙门菌脉冲场凝胶电泳分子分型及耐药性分析研究 [J]. *疾病监测*, 2012, 27(10): 764-767.
- [7] SU L H, CHU C H, CHU C, et al. Antimicrobial resistance in nontyphoidal *Salmonella* serotypes: a global challenge [J]. *Clinical Infectious Disease*, 2004, 39(4): 546-551.
- [8] 倪佳琳, 许浩, 胡雪明, 等. 2006—2012年上海市基于网络实

- 验室的肠炎沙门菌耐药监测[J]. 疾病监测, 2012, 28(5): 369-375.
- [9] 崔志刚, 王爱敏, 王鸣柳, 等. 婴幼儿腹泻感染的非伤寒沙门菌分子分型和耐药情况研究[J]. 疾病监测, 2014, 29(6): 428-431.
- [10] 张丽华, 朱学海, 郭主声, 等. 市售活鸡和腹泻患者中非伤寒沙门菌分子特征和耐药性研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2014, 26(6): 605-609.
- [11] 黄熙, 黄琼, 石玮, 等. 广州市非伤寒沙门菌感染流行病学负担分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2014, 26(3): 217-222.

## 论著

# DEHP 暴露对子代大鼠空间学习记忆能力和海马突触可塑性相关蛋白基因表达的影响

王永俊<sup>1,2</sup>, 李永宁<sup>2</sup>, 马宁<sup>2</sup>, 贾旭东<sup>2</sup>

(1. 中国疾病预防控制中心营养与健康所, 北京 100050;

2. 国家食品安全风险评估中心 卫生部食品安全风险评估重点实验室, 北京 100021)

**摘要:**目的 通过哺乳期暴露邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(di-2-ethylhexyl phthalate, DEHP), 研究 DEHP 对子代 SD 雄性大鼠空间学习记忆能力和突触可塑性相关蛋白基因表达的影响, 初步探讨其机制。方法 成熟 SD 大鼠妊娠后随机分为溶剂对照组(橄榄油)、DEHP 低剂量组(5 mg/kg BW)、中剂量组(50 mg/kg BW)和高剂量组(500 mg/kg BW)。分娩后第 1 天至断乳, 母鼠经口连续灌胃染毒 21 d。待子代大鼠出生后第 65~70 天, 进行 Morris 水迷宫测试; Real-Time PCR 法检测海马突触可塑性相关蛋白基因 mRNA 的表达情况。结果 Morris 水迷宫定位航行试验中, 500 mg/kg BW 剂量组潜伏期比对照组长, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 在空间探索试验中, 500 mg/kg BW 剂量组在目标象限路程百分比、目标象限停留时间百分比、穿越平台次数方面, 与对照组相比有所降低, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。Real-Time PCR 结果显示, 暴露于 50、500 mg/kg BW 组雄性子代大鼠海马内突触可塑性相关蛋白基因 *PSD95*、*CREB*、*PKA*、*CAMKII* mRNA 表达水平下调( $P < 0.05$ ); 500 mg/kg BW 剂量组海马内突触可塑性相关蛋白基因 *BDNF* mRNA 表达水平下调( $P < 0.05$ )。结论 一定剂量 DEHP 哺乳期暴露, 可影响子代大鼠的神经系统发育, 对空间学习记忆能力造成损害。海马内突触可塑性相关蛋白基因 *PSD95*、*CREB*、*PKA*、*CAMKII*、*BDNF* mRNA 表达受到抑制, 可能是其发生作用机制之一。

**关键词:** 邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯; 塑化剂; 大鼠; 哺乳期暴露; 空间学习记忆; 突触可塑性; 基因表达

中图分类号: R155; Q7; TQ414 文献标志码: A 文章编号: 1004-8456(2015)03-0237-05

DOI: 10.13590/j.cjfh.2015.03.004

## Effects of DEHP exposure on spatial learning and memory of offspring rats and on expressions of hippocampal synaptic plasticity related genes in rat's hippocampi

WANG Yong-jun, LI Yong-ning, MA Ning, JIA Xu-dong

(National Institute for Nutrition And Health, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100050, China)

**Abstract: Objective** The purpose is to evaluate the effects of di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) on the spatial learning and memory of offspring rats and on expressions of hippocampal synaptic plasticity related genes in rat's hippocampi by lactation exposure and explore the molecular mechanism of this process. **Methods** Mated female rats were assigned to four groups of 8 animals each based on a weight-balanced random allocation scheme after copulation. Mated female rats were administered different concentrations of DEHP (0, 5, 50, 500 mg/kg BW) by oral gavage with a metal catheter from PND 1 through PND 21. Spatial learning and memory were measured continuous 6 days for young adults (PND 65 days to

收稿日期: 2014-12-15

基金项目: 国家自然科学基金(81202212)

作者简介: 王永俊 男 硕士生 研究方向为营养与食品卫生 E-mail: wangyongjun519@163.com

通讯作者: 马宁 男 副研究员 研究方向为食品安全评估和食品毒理学 E-mail: maning@cfsa.net.cn

贾旭东 男 研究员 研究方向为食品毒理学 E-mail: jiaxudong@cfsa.net.cn