

研究报告

不同来源肠炎沙门菌毒力基因特征分析

牛莉娅¹, 秦丽云², 徐保红², 王燕¹, 杨新英¹, 孙殿兴¹, 郭玉梅²

(1. 白求恩国际和平医院传染肝病科, 河北 石家庄 050082;

2. 石家庄市疾病预防控制中心, 河北 石家庄 050011)

摘要:目的 研究石家庄地区不同来源的肠炎沙门菌毒力基因携带情况的差异及特点。方法 收集石家庄地区早市生禽销售点、生禽屠宰场及食物中毒标本中分离出的肠炎沙门菌124株, 对其中8种毒力基因(*invA*、*sopE*、*agfA*、*spvR*、*hilA*、*stn*、*pefA*、*shdA*)进行聚合酶链式反应(PCR)检测。结果 肠炎沙门菌具有不同的毒力基因谱型, 8种毒力基因在不同来源的肠炎沙门菌中均有检出, 其中毒力基因 *invA*、*sopE*、*stn*、*hilA*、*spvR*、*pefA* 在食物中毒分离株中的携带率高, 均在94%以上。食物中毒分离株与早市生禽销售点分离株的8种毒力基因携带率差异无统计学意义($P > 0.05$), 而生禽屠宰场分离株与食物中毒和早市生禽销售点分离株之间差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 石家庄地区早市生禽销售点检出的肠炎沙门菌中易致病的高风险株较多, 应加强对生禽的卫生监督与防控。

关键词:食物中毒; 肠炎沙门菌; 毒力基因; 生禽; 屠宰场; 销售点; 食源性致病菌

中图分类号: R155 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2017)04-0412-06

DOI: 10.13590/j.cjfh.2017.04.005

Analysis of the characteristics of *Salmonella enteritidis* virulence genes from different origins

NIU Li-ya¹, QIN Li-yun², XU Bao-hong², WANG Yan¹, YANG Xin-ying¹,
SUN Dian-xing¹, GUO Yu-mei²

(1. Department of Infectious and Liver disease, Bethune International Peace Hospital, Hebei Shijiazhuang 050082, China; 2. Shijiazhuang Center for Disease Control and Prevention, Hebei Shijiazhuang 050011, China)

Abstract: Objective To investigate the differences and characteristics of virulence genes carried by *Salmonella enteritidis* from different sources in Shijiazhuang City. **Methods** One hundred and twenty-four strains of *Salmonella enteritidis* isolated from morning markets of raw and poultry stalls, slaughterhouses and food poisoning specimens in Shijiazhuang area were collected. Eight virulence genes (*invA*, *sopE*, *agfA*, *spvR*, *hilA*, *stn*, *pefA*, *shdA*) were detected by polymerase chain reaction (PCR). **Results** *Salmonella enteritidis* might have different virulence gene profiles. The above eight virulence genes were detected in different strains. The carrying rate of virulence genes *invA*, *sopE*, *stn*, *hilA*, *spvR* and *pefA* in the food poisoning strains was higher than 94%. There was no difference in the carrying rate of 8 virulence gene between the morning raw poultry stalls isolates and the patient strains, but was different with the slaughterhouse strains. **Conclusion** There were more risks of food poisoning caused by *Salmonella enteritidis* from morning markets, and the hygiene supervision should be strengthened to prevent and control foodborne disease.

Key words: Food poisoning; *Salmonella enteritidis*; virulence genes; raw poultry; slaughterhouse; stall of sale; foodborne pathogens

沙门菌病是世界范围内最重要的食源性致病

菌之一^[1-2], 目前已确认的2 500多种血清型中, 肠炎沙门菌和鼠伤寒沙门菌是全世界范围内最常见的血清型^[3-4]。近年来在我国许多地区, 肠炎沙门菌成为引发沙门菌病的最主要血清型^[5-8], 具有重要的流行病学意义。据报道^[9-10], 石家庄地区近年来非伤寒沙门菌病例中, 肠炎沙门菌也占据首位。

沙门菌之所以能够致病, 是因为有许多毒力基因的存在, 这些毒力基因主要分布在沙门菌的染色

收稿日期: 2017-06-28

基金项目: 河北省卫生计生委 2017 年度医学科学研究重点课题 (20170964)

作者简介: 牛莉娅 女 主治医师 研究方向为感染性疾病的临床诊治 E-mail: 83040073@qq.com

通信作者: 郭玉梅 女 主管技师 研究方向为病原菌分子分型与耐药 E-mail: guokexin2199@163.com

体和质粒中,包括编码结构性毒力因子(菌毛、鞭毛、脂多糖、荚膜)的基因、肠毒素基因和某些调节基因^[11-12]。近年来,随着现代分子生物学技术的不断发展和应用,对沙门菌毒力基因的研究不断深入。通过查阅国内外文献,本研究选定了沙门菌较为热点的8种毒力基因(*invA*、*sopE*、*agfA*、*spvR*、*hilA*、*stn*、*pefA*、*shdA*)进行调查分析。其中,*invA*为沙门菌的主要毒力因子,该基因决定了沙门菌的侵袭力,与其致病性密切相关^[13-14]。*sopE*基因,与宿主细胞的侵入有关^[15]。*hilA*是SPII-III型分泌系统的中心调节子,直接控制*inv/spa*操纵子的表达,且所有组成部分的产物都是分泌组织起作用所必须的^[16-17]。*stn*肠毒素基因是沙门菌感染机制中重要的毒力因子之一,其编码产物能诱发小鼠肠腔液体分泌反应^[18]。毒力质粒上的*spv*(*Salmonella* plasmid virulence)基因与沙门菌在宿主细胞内的存活和快速生长有关,毒力表现为细胞毒性,其表达是依赖于*spvR*的正向调控^[19-20]。质粒上还有一些其他的基因座可能在感染阶段发挥了重要作用,如菌毛操纵子*pef*,主要由4个相关基因(*pefA*、*pefB*、*pefC*、*pefD*)编码,作用是通过伴侣诱导的装配途径调节细菌对肠上皮细胞的粘附^[21]。菌毛是位于菌体表面的纤细结构,由AgfA、AgfB和AgfC三个亚基组成^[22]。菌毛和鞭毛的共同作用,使沙门菌黏附于宿主肠道上皮细胞并在肠粘膜定植,从而感染宿主。ShdA是一个大型的外膜蛋白特异性识别和结合蛋白,参与沙门菌在回肠末端淋巴结和盲肠的定植^[23]。

据报道^[24-26],引起沙门菌食物中毒的食品,超过90%是肉类等动物性产品,特别是家禽及其制品。本研究通过对2013—2016年石家庄地区4起肠炎沙门菌食物中毒事件分离株,5个早市不同生禽销售点、3家大型生禽屠宰场分离株的毒力基因携带情况进行调查和比较分析,为石家庄地区肠炎沙门菌的监测提供科学的试验数据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株来源

收集2013—2016年石家庄地区4起肠炎沙门菌致食物中毒事件中分离留存的肠炎沙门菌17株(分离自不同患者或食物),5个早市中不同流动生禽销售点检出的肠炎沙门菌51株,3家大型生禽屠宰场检出的肠炎沙门菌56株,共计124株。

1.1.2 主要仪器与试剂

Veriti型PCR扩增仪(美国AB),xcel型全自动

毛细管电泳仪(德国Qiagen)。亚硒酸盐胱氨酸增菌液、尿素酶生化管、SS琼脂、HE琼脂均购自北京陆桥技术股份有限公司,沙门显色培养基(法国科马嘉),API 20E(法国梅里埃),沙门菌属诊断血清(宁波天润生物药业有限公司),5×Buffer、Taq酶、脱氧核糖核苷三磷酸(dNTP)、聚合酶链式反应(PCR)引物均购自大连宝生物工程有限公司,测序由上海生工生物工程技术有限公司完成。

1.2 方法

1.2.1 细菌DNA模板的制备

采用煮沸法提取细菌的DNA模板,刮取纯培养菌落至200 μl无菌纯水中制成菌悬液,100℃煮沸10 min,冰浴5 min,4℃10 000 r/min离心5 min,取上清液作为DNA模板,-20℃保存备用。无菌纯水作为阴性模板对照。

1.2.2 PCR反应体系与反应条件

沙门菌常见的毒力基因引物序列见表1。PCR反应体系(25 μl):5×Buffer 5.0 μl、dNTP 2.0 μl、Taq酶(5 U/μl)0.25 μl、上下游引物各0.5 μl、DNA模板0.5 μl、无菌纯水16.25 μl。反应条件:94℃预变性5 min;94℃变性30 s,55℃退火1 min,72℃延伸1 min,共进行30个循环;72℃终延伸7 min;4℃保存。

1.2.3 PCR产物分析

将毛细管电泳出现阳性条带的PCR产物纯化后,部分送上海生工双向测序,结果在GenBank进行在线比对,以验证PCR产物的正确性。

1.3 统计学分析

应用SPSS软件,对检出率的比较用卡方检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肠炎沙门菌8种毒力基因检出结果

对124株肠炎沙门菌8种毒力基因(*invA*、*sopE*、*agfA*、*spvR*、*hilA*、*stn*、*pefA*、*shdA*)的PCR检测结果见表2。毒力基因*invA*、*sopE*、*hilA*、*stn*的携带率较高,分别为92.7%(115/124)、91.9%(114/124)、89.5%(111/124)、83.1%(103/124),毒力基因*spvR*、*pefA*的携带率均为53.2%(66/124),毒力基因*shdA*、*agfA*携带率较低,分别为29.0%(36/124)和23.4%(29/124)。

2.2 不同来源的肠炎沙门菌毒力基因携带情况分析

124株肠炎沙门菌中,每种毒力基因携带率在不同来源菌株中不同,其中食物中毒分离株与早市生禽销售点分离株中各种毒力基因的携带情况相

表1 PCR引物序列
Table 1 Primer sequences used in this study

基因	位置	引物序列(5'-3')	产物大小/bp	参考文献
<i>invA</i>	SPII	F:GTGAAATATATCGCCACGTTCCGGCAA R:TCATCGCACCGTCAAAGGAACC	284	[27]
<i>sopE</i>	SPII	F:CAGACCCGTGAAGCTATACT R:AATTGCTGTGGAGTCCGGCAT	380	[28]
<i>agfA</i>	编码菌毛基因	F:GGATTCCACGTTGAGCATTT R:GTTGTTGCCAAAACCAACCT	312	[29]
<i>spvR</i>	毒力质粒	F:CAGGTTCTTCAAGTATCGCA R:TTGGCCGGAAATGGTCAGT	310	[28]
<i>hilA</i>	SPII	F:TTAACATGTCGCCAAACAGC R:GCAAACTCCCAGCATGTAT	216	[29]
<i>stn</i>	编码肠毒素基因	F:GAAGCAGCGCCTGTAAAATC R:GCTGACTCAGGTCTGTTGA	405	[29]
<i>pefA</i>	毒力质粒	F:ACACGCTGCCAATGAAGTGA R:ACTGCGAAAGATGCCACAGA	450	[28]
<i>shdA</i>	外膜蛋白基因	F:CTGACGTTAAGCGGCGATAA R:CGTCAACGTCTGTCAAGTGA	625	[29]

表2 肠炎沙门菌毒力基因检出情况
Table 2 Detection of eight virulence genes in *Salmonella enteritidis* species

来源	菌株数	阳性菌株数(携带率/%)							
		<i>invA</i>	<i>sopE</i>	<i>agfA</i>	<i>spvR</i>	<i>hilA</i>	<i>stn</i>	<i>pefA</i>	<i>shdA</i>
食物中毒	17	16(94.1)	16(94.1)	3(17.6)	17(100.0)	17(100.0)	17(100.0)	16(94.1)	1(5.9)
早市生禽销售点	51	50(98.0)	50(98.0)	18(35.3)	43(84.3)	46(90.2)	47(92.2)	40(78.4)	4(7.8)
生禽屠宰场	56	49(87.5)	48(85.7)	8(14.3)	6(10.7)	48(85.7)	39(69.6)	10(17.9)	31(55.4)
合计	124	115(92.7)	114(91.9)	29(23.4)	66(53.2)	111(89.5)	103(83.1)	66(53.2)	36(29.0)

似,差异无统计学意义($P > 0.05$),见图1。上述两类菌株中毒力基因 *invA*、*sopE*、*spvR*、*hilA*、*stn*、*pefA* 的携带率均高于毒力基因 *agfA*、*shdA*,差异有统计学意义($P < 0.05$)。而生禽屠宰场分离株与食物中毒分离株和早市生禽销售点分离株的部分毒力基因的携带情况不同,其中毒力基因 *spvR*、*pefA* 的携带率明显低于后两类菌株,而毒力基因 *shdA* 的携带率明显高于后两类菌株。

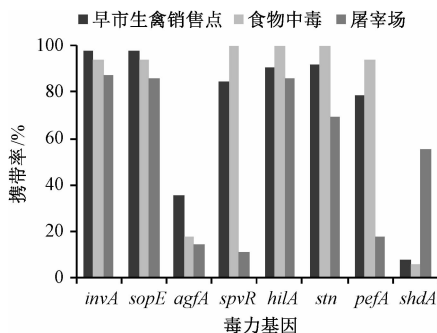


图1 不同来源肠炎沙门菌毒力基因携带率比较
Figure 1 Comparison of the prevalence rate of virulence genes of *Salmonella enteritidis* isolates from different originates

2.3 肠炎沙门菌食物中毒分离株毒力基因谱型

食物中毒肠炎沙门菌分离株毒力基因谱型分为5个,其中优势谱型为 *invA + sopE + spvR + hilA + stn + pefA*,占70.6%(12/17),见图2。

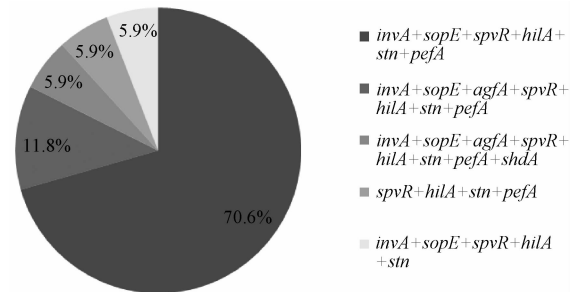


图2 肠炎沙门菌食物中毒分离株毒力基因谱型分布
Figure 2 Distribution of virulence genes of *Salmonella enteritidis* isolates from food poisoning

2.4 早市生禽销售点分离的肠炎沙门菌毒力基因谱型

早市生禽销售点检出的肠炎沙门菌分离株毒力基因谱型分为11个,其中优势谱型也是 *invA + sopE + spvR + hilA + stn + pefA*,占41.2%(21/51),见图3。

2.5 生禽屠宰场分离的肠炎沙门菌毒力基因谱型

石家庄地区生禽屠宰场检出的肠炎沙门菌分离株毒力基因谱型更为分散,分为16个,其中优势谱型是 *invA + sopE + hilA + stn + shdA*,占41.1%(23/56),见图4。

2.6 三者优势毒力基因谱型的比较

本研究所有肠炎沙门菌中,食物中毒分离株和

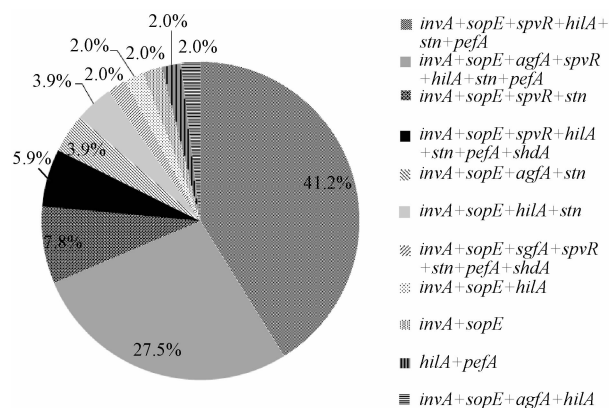


图3 肠炎沙门菌早市生禽销售点分离株毒力基因谱型分布

Figure 3 Distribution of virulence genes of *Salmonella enteritidis* isolates from different morning markets of raw and poultry stalls

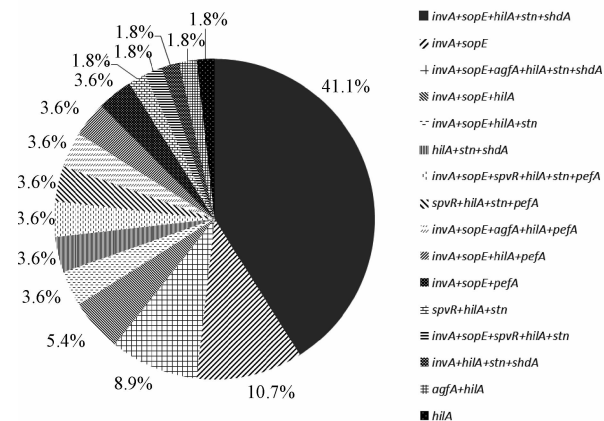


图4 肠炎沙门菌生禽屠宰场分离株毒力基因谱型分布

Figure 4 Distribution of virulence genes of *Salmonella enteritidis* isolates from different slaughterhouses

早市生禽销售点分离株的优势毒力基因谱型一致,较生禽屠宰场分离株的优势毒力基因谱型多两种毒力基因 *spvR*、*pefA*,少一种毒力基因 *shdA*。

3 讨论

肠炎沙门菌是非伤寒沙门菌血清型之一,是最早发现能够引起大规模食物中毒的沙门菌血清型,也是近年来我国沙门菌食物中毒暴发和流行案例的主要病原^[30-33]。据国内外报道^[34-38],沙门菌的毒力基因谱型与血清型的关系并不一致。本研究也显示,同为肠炎沙门菌血清型,可以表现出不同的毒力基因谱型,且其毒力基因谱型也会受到菌株来源的影响。

本研究发现石家庄地区肠炎沙门菌中毒力岛(SPII)上的基因(*invA*、*sopE*、*hilA*)和编码肠毒素的基因(*stn*)携带率均在80%以上,具有较高的遗传稳定性,与国内外报道^[35,38-39]较为一致。而编码菌毛和外

膜蛋白的基因(*agfA*、*shdA*)携带率低,均在30%以下,与国外报道^[23,40]一致,菌毛和外膜蛋白在该血清型菌株致病过程中的作用有待进一步探讨。

虽然菌株的致病性受诸多毒力基因元件相互调控及感染宿主本身免疫状态等多因素的影响,但毒力基因的存在是菌株致病的前提,毒力基因携带情况的不同,影响着菌株致病性的强弱。本研究结果中,食物中毒分离株毒力基因 *invA*、*sopE*、*stn*、*hilA*、*spvR*、*pefA* 的携带率较高,均在94%以上,同时携带这6种毒力基因的谱型为食物中毒分离株的优势谱型。根据国内外研究报道^[13-21],这6种毒力基因分布在SPII、毒力质粒及编码肠毒素的基因上,均与菌株的致病性关系密切,因此,可以认为同时携带这6种毒力基因的菌株是更易引起食物中毒的高风险株。这些高风险株的存在,对人群健康存在着潜在的严重威胁^[41-42]。

本研究中,2013—2016年石家庄地区5个早市不同生禽销售点检出的肠炎沙门菌与食物中毒分离株的毒力基因携带情况差异无统计学意义($P > 0.05$),绝大部分为高风险株,有导致食源性疾病暴发的潜在风险,应引起食品监管部门的重视。而生禽屠宰场检出的沙门菌菌株毒力基因谱型更加多样性,根据毒力基因谱型比较,生禽屠宰场分离株中高风险株少(3.6%),与食物中毒分离株比较差异明显,并且绝大多数菌株缺少毒力质粒相关基因 *spvR* 和 *pefA*。沙门菌在肠道定居、侵入上皮组织以及刺激肠液外渗等都与其所携带的毒力质粒密切相关^[19]。生禽屠宰场分离株毒力质粒的携带率低,降低了该来源菌株的致病性。根据以上数据,早市生禽销售点分离株中的高风险株较生禽屠宰场分离株多,提示肠炎沙门菌高风险株的污染更可能出现在生禽食品的终端销售环节。故鉴于此次研究结果,食品卫生监管中应该加强对各早市生禽销售点储存和销售环节的卫生监督,做好生熟食的分类与存放工作,防止食源性疾病的暴发。

参考文献

[1] Group OFW. Monitoring the incidence and causes of diseases potentially transmitted by food in Australia: annual report of the OzFoodNet network, 2011 [J]. Communicable Diseases Intelligence Quarterly Report, 2015, 39(2): 236-264.

[2] ADAMS D A, GALLAGHER K M, JAJOSKY R A, et al. Summary of notifiable diseases—United States, 2011 [J]. Mmwr Morbidity and Mortality Weekly Report, 2013, 60(53): 1-117.

[3] YANG X T, JIN K, YANG F, et al. Nontyphoidal *Salmonella* gastroenteritis in Baoshan, Shanghai, China, 2010 to 2014: an etiological surveillance and case-control study [J]. Journal of Food Protection, 2017, 80(3): 482-487.

- [4] FADLALLAH S M, SHEHAB M, CHEAITO K, et al. Molecular epidemiology and antimicrobial resistance of *Salmonella* species from clinical specimens and food items in Lebanon[J]. J Infect Dev Ctries, 2017, 11(1):19-27.
- [5] 魏琼, 刘翔, 张燕飞, 等. 宁夏地区食源性与人源沙门菌耐药性与血清型对比研究[J]. 中国抗生素杂志, 2016, 41(9): 707-709.
- [6] 郭惠, 童晶, 刘庭君, 等. 2012年—2013年徐州地区肠炎沙门菌主动监测和流行特征分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2015, 25(21):3707-3708.
- [7] 杨劲松, 陈爱平, 陈建辉, 等. 2009—2010年福建省分离自沙门菌病患者的肠炎沙门菌分子特征研究[J]. 预防医学论坛, 2013, 19(4):241-242.
- [8] 沈福杰, 宿飞, 王宇, 等. 上海市黄浦区沙门氏菌感染特征及主要血清型分析[J]. 中华疾病控制杂志, 2012, 16(11): 958-961.
- [9] 秦丽云, 郭玉梅, 吕国平, 等. 2011至2012年石家庄地区沙门菌食物中毒分离株分子流行病学特征[J]. 微生物学杂志, 2014, 34(1):84-87.
- [10] 郭玉梅, 秦丽云, 徐保红, 等. 石家庄2013年鸡肉沙门菌污染状况分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2014, 24(19): 2867-2868.
- [11] 曹恬雪, 蒋文灿, 何文成, 等. 沙门氏菌毒力因子的研究进展[J]. 中国预防兽医学报, 2014, 36(4):331-334.
- [12] 陈冬平, 罗薇. 沙门氏菌毒力相关因子研究进展[J]. 西南民族大学学报(自然科学版), 2012, 38(5):770-775.
- [13] CARLI K T, UNAL C B, CANER V, et al. Detection of *Salmonella* in chicken feces by a combination of tetrathionate broth enrichment, capillary PCR, and capillary gel electrophoresis[J]. Journal of Clinical Microbiology, 2001, 39(5):1871-1876.
- [14] 黄冠军, 刘天强, 杨晓玲, 等. 沙门氏菌入侵基因研究进展[J]. 亚太传统医药, 2013, 9(11):65-67.
- [15] HAPFELMEIER S, EHRBAR K, STECHER B, et al. Role of the *Salmonella* pathogenicity island 1 effector proteins *sipA*, *sopB*, *sopE*, and *sopE2* in *Salmonella enterica* subspecies 1 serovar typhimurium colitis in streptomycin-pretreated mice[J]. Infection and Immunity, 2004, 72(2):795-809.
- [16] QUEIROZ M H, MADRID C, PAYTUBI S, et al. Integration host factor alleviates H-NS silencing of the *Salmonella enterica* serovar typhimurium master regulator of SPI1, *hilA* [J]. Microbiology, 2011, 157(9):2504-2514.
- [17] MAIN-HESTER K L, COLPITTS K M, THOMAS G A, et al. Coordinate regulation of *Salmonella* pathogenicity island 1 (SPI1) and SPI4 in *Salmonella enterica* serovar typhimurium [J]. Infection and Immunity, 2008, 76(3):1024-1035.
- [18] 黄建华, 徐心晶. 鼠伤寒沙门菌肠毒素基因功能与毒力作用的研究[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2001, 21(1): 10-13.
- [19] 焦旸, 黄瑞. 沙门菌质粒毒力基因 *spv* 的研究[J]. 国际流行病学传染病学杂志, 2004, 31(2):119-120.
- [20] 方艳红, 孙裴, 魏建忠, 等. 沙门菌毒力基因研究进展[J]. 动物医学进展, 2010, 31(S1):190-193.
- [21] NICHOLSON B, LOW D. DNA methylation-dependent regulation of *pef* expression in *Salmonella typhimurium* [J]. Molecular Microbiology, 2000, 35(4):728-742.
- [22] 朱春红. 肠炎沙门氏菌 SEF14 菌毛功能探索[D]. 扬州:扬州大学, 2010.
- [23] KINGSLEY R A, AMSTERDAM K, KRAMER N, et al. The *shdA* gene is restricted to serotypes of *Salmonella enterica* subspecies I and contributes to efficient and prolonged fecal shedding[J]. Infection and Immunity, 2000, 68(5):2720-2727.
- [24] 石颖, 杨保伟, 师俊玲, 等. 陕西关中畜禽肉及凉拌菜中沙门氏菌污染分析[J]. 西北农业学报, 2011, 20(7):22-27.
- [25] KUANG X H, HAO H H, DAI M H, et al. Serotypes and antimicrobial susceptibility of *Salmonella* spp. isolated from farm animals in China[J]. Frontiers in Microbiology, 2015, 6:602.
- [26] LAI J, WU C M, WU C B, et al. Serotype distribution and antibiotic resistance of *Salmonella* in food-producing animals in Shandong Province of China, 2009 and 2012 [J]. International Journal of Food Microbiology, 2014, 180(3):30-38.
- [27] RAHN K, DE GRANDIS S A, CLARKE R C, et al. Amplification of an *invA* gene sequence of *Salmonella typhimurium* by polymerase chain reaction as a specific method of detection of *Salmonella* [J]. Molecular and Cellular Probes, 1992, 6(4):271-279.
- [28] PASMANS F, VAN I F, HEYNDRIKX M, et al. Host adaptation of pigeon isolates of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar typhimurium variant copenhagen phage type 99 is associated with enhanced macrophage cytotoxicity [J]. Infection and Immunity, 2003, 71(10):6068-6074.
- [29] SMITH K P, GEORGE J, CADLE K M, et al. Elucidation of antimicrobial susceptibility profiles and genotyping of *Salmonella enterica* isolates from clinical cases of salmonellosis in New Mexico in 2008 [J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2010, 26(6):1025-1031.
- [30] 黄冰, 周勇, 龙佳丽, 等. 由肠炎沙门菌引起的食物中毒的病原检测与同源性分析[J]. 检验医学与临床, 2015, 12(14):2135-2136.
- [31] 张艳, 王睿, 查涛, 等. 一起肠炎沙门菌食物中毒病原学检测与溯源分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2016, 26(6): 872-874.
- [32] 洪觉新, 蔡文锋, 许丹, 等. 一起肠炎沙门菌引起的食源性疾病暴发事件的流行病学调查[J]. 华南预防医学, 2014, 40(3):270-273.
- [33] 郑文龙, 杨溢联, 赵帅, 等. 一起幼儿园肠炎沙门菌食物中毒事件的调查[J]. 疾病监测, 2015, 30(7):602-603.
- [34] 沈伟伟, 裘丹红, 盛莹, 等. 台州市食源性沙门菌耐药性、毒力因子及分子分型研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2013, 25(4):315-323.
- [35] 庄孝飞, 周秀娟, 许学斌, 等. 2008—2012年上海市肠炎沙门氏菌分离株毒力基因筛查与 ERIC-PCR 分型[J]. 食品科学, 2015, 36(14):165-170.
- [36] OSMAN K M, MAROUF S H, ERFAN A M, et al. *Salmonella enterica* in imported and domestic day-old turkey poults in Egypt: repertoire of virulence genes and their antimicrobial resistance profiles [J]. Revue Scientifique Et Technique, 2014, 33(3): 1017-1026.
- [37] JAISWAL S, SAHOO P K, RYAN D, et al. Altered virulence potential of *Salmonella enteritidis* cultured in different foods: a

- cumulative effect of differential gene expression and immunomodulation [J]. International Journal of Food Microbiology, 2016, 230(4):64-72.
- [38] CHAUDHARY J H, NAYAK J B, BRAHMBHATT M N, et al. Virulence genes detection of *Salmonella* serovars isolated from pork and slaughterhouse environment in Ahmedabad, Gujarat [J]. Veterinary World, 2015, 8(1):121-124.
- [39] HAN J, GOKULAN K, BARNETTE D, et al. Evaluation of virulence and antimicrobial resistance in *Salmonella enterica* serovar enteritidis isolates from humans and chicken- and egg-associated sources[J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2013, 10(12):1008-1015.
- [40] COLLINSON S K, EMODY L, MULLER K H, et al. Purification and characterization of thin, aggregative fimbriae from *Salmonella enteritidis* [J]. Journal of Bacteriology, 1991, 173(15):4773-4781.
- [41] 陈龙, 李茂辉, 康元环, 等. 吉林省猪源沙门菌毒力基因检测及耐药性分析[J]. 中国兽医杂志, 2015, 51(11):82-84.
- [42] SUEZ J, PORWOLLIK S, DAGAN A, et al. Virulence gene profiling and pathogenicity characterization of non-typhoidal *Salmonella* accounted for invasive disease in humans [J]. PLoS One, 2013, 8(3):e58449.

研究报告

不同阶段母乳中 10 种游离低聚糖的检测及含量分析

朱婧¹, 石羽杰², 吴立芳³, 孙赫南², 王鑫⁴, 王竹³, 关蕾², 余恺², 杨月欣³

(1. 北京市营养源研究所, 北京 100069; 2. 雀巢研究中心北京分部, 北京 100095; 3. 中国疾病预防控制中心营养与健康所, 北京 100050; 4. 北京中科邦尼国际科技有限责任公司, 北京 100069)

摘要:目的 检测不同阶段母乳中 10 种游离母乳低聚糖(human milk oligosaccharides, HMOS)的含量,并比较其在不同阶段母乳中的变化。方法 分别采集产后 0~7 d(初乳)、产后 8~15 d(过渡乳)、产后 16~180 d(成熟乳)的母乳,采用荧光标记 HMOS,通过超高效液相色谱-荧光检测法和标准曲线定量 10 种 HMOS。采用 Person 相关比较不同泌乳时间与 HMOS 含量的相关性,3 个泌乳阶段的组间差异采用单因素方差分析。结果 在选定的色谱条件下,10 种 HMOS 可完全分离并定量。10 种 HMOS 中,2'岩藻糖乳糖(2'FL)、3'唾液酸乳糖(3'SL)、6'唾液酸乳糖(6'SL)、乳糖-N-四糖(LNT)、乳糖-N-新四糖(LNnT)、乳糖-N-五糖 I(LNFP-I)与泌乳时间存在负相关关系,3'岩藻糖乳糖(3'FL)与泌乳时间存在正相关关系,上述 7 种 HMOS 在不同阶段母乳中差异有统计学意义($P < 0.05$),而 α -四糖(P_1)、乳糖-N-五糖 V(LNFP-V)、乳糖-N-新五糖(LNnFP-V)与泌乳时间无明显相关关系,在不同阶段母乳中含量差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 不同阶段母乳中 HMOS 的含量不同。10 种 HMOS 中,7 种 HMOS 与泌乳时间具有相关关系并且在不同泌乳阶段差异有统计学意义($P < 0.05$)。

关键词:母乳; 泌乳阶段; 母乳低聚糖; 超高效液相色谱; 检测

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2017)04-0417-06

DOI:10.13590/j.cjfh.2017.04.006

Detection and comparison of 10 human milk oligosaccharides during lactational stage

ZHU Jing¹, SHI Yu-jie², WU Li-fang³, SUN He-nan², WANG Xin⁴, WANG Zhu³,
GUAN Lei², YU Kai², YANG Yue-xin³

(1. Beijing Research Institute for Nutritional Resources, Beijing 100069, China; 2. Nestle Research Center Beijing Hub, Beijing 100095, China; 3. National Institute for Nutrition and Health, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100050, China; 4. Beijing Bonnysci Co., Ltd, Beijing 100069, China)

Abstract: Objective To detect 10 kinds of human milk oligosaccharides (HMOS) and compare their amounts during

收稿日期:2017-04-25

基金项目:北京市科学技术研究院青年骨干计划(201527)

作者简介:朱婧 女 助理研究员 研究方向为食物营养与功能评价 E-mail:juer120@hotmail.com

通信作者:杨月欣 女 研究员 研究方向为食物营养 E-mail:yxyang@263.net