

研究报告

我国首例由丁酸梭菌引起婴儿 E 型肉毒中毒实验室诊断研究

董银苹¹,江涛¹,赵帅²,慕毓³,徐进¹,王伟¹,石冉⁴,李凤琴¹

(1. 国家食品安全风险评估中心 国家卫生健康委员会食品安全风险评估重点实验室, 北京 100021; 2. 天津市疾病预防控制中心, 天津 300011; 3. 天津市北辰区疾病预防控制中心, 天津 300499; 4. 北京农学院食品科学与工程学院, 北京 102206)

摘要:目的 对一起疑似婴儿肉毒中毒进行实验室诊断研究。方法 对 1 例疑似婴儿肉毒中毒病例的粪便、食用过的食品和生活环境涂抹共计 30 份标本/样品进行梭菌分离鉴定及肉毒毒素检测,对分离菌株进行产毒试验。结果 将患儿粪便标本培养物上清液腹腔注射小鼠后可致小鼠出现典型肉毒毒素中毒表现(竖毛、呼吸困难并出现典型的蜂腰、四肢麻痹),继而死亡,且培养物上清液经胰酶处理后毒性增强,表现为小鼠出现中毒及死亡时间较未处理组明显缩短。但培养物上清液经 100 °C 加热处理后再次染毒动物,小鼠未出现中毒和死亡。混合型肉毒毒素诊断血清及单价抗 E 型肉毒毒素诊断血清可对小鼠起到保护作用。从患儿的粪便标本中分离到 G⁺芽胞杆菌,该菌在哥伦比亚血平板上呈不规则半透明扁平菌落,边缘根状生长,并携带 E 型肉毒毒素产毒基因,16S rRNA 将其鉴定为丁酸梭菌,产毒试验结果显示该菌株可产 E 型肉毒毒素。结论 这起婴儿中毒事件是由感染产 E 型肉毒毒素的丁酸梭菌引起。

关键词:E 型肉毒毒素;丁酸梭菌;婴儿肉毒中毒

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2020)05-0499-05

DOI:10.13590/j.cjfh.2020.05.005

Laboratory investigation of the first infant botulism case caused by type E botulinum neurotoxin producing *Clostridium butyricum* in China

DONG Yinping¹, JIANG Tao¹, ZHAO Shuai², MU Yu³, XU Jin¹,
WANG Wei¹, SHI Ran⁴, LI Fengqin¹

(1. National Health Commission Key Laboratory of Food Safety Risk Assessment, China National Center for Food Safety Risk Assessment, Beijing 100021, China; 2. Tianjin Centers for Disease Control and Prevention, Tianjin 300011, China; 3. Tianjin Beichen District Center for Disease Control and Prevention, Tianjin 300499, China; 4. Food Science and Engineering College, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China)

Abstract: Objective Laboratory investigation was performed on a suspected case of infant botulism. **Methods** Thirty samples of stool, left-over food and environment swabs related to the case were collected, *Clostridium* spp. isolation, identification and toxicity determination by mouse assay were carried out, and toxin production for isolate was conducted.

Results Mice injected with the stool culture supernatant showed the typical signs of botulism including irritable, dyspnea, bellows breathing and quadriplegia followed by death. The toxicity of the stool culture supernatant was enhanced after the treatment by trypsinization but ceased after being heated at 100 °C. The polyvalent antibody against botulinum neurotoxins (BoNTs) and the monovalent antibody against BoNT type E could protect mice from death. One gram-positive *Clostridium* isolate was cultured from infant stool sample. The morphology of the colony on the Columbia blood agar plate showed characteristics of irregular, translucent and flat with rootlike growth. It was positive for type E BoNT-encoding gene and identified as *C. butyricum* by 16S rRNA sequencing. Toxin production test illustrated that the *C. butyricum* isolate could produce type E BoNT. **Conclusion** This was an infant botulism caused by type E BoNT-producing *C. butyricum*.

Key words: Type E botulinum neurotoxin; *Clostridium butyricum*; infant botulism

收稿日期:2020-06-22

作者简介:董银苹 女 副研究员 研究方向为食品微生物学

E-mail:dongyiping@cfsa.net.cn

通信作者:李凤琴 女 研究员 研究方向为食品微生物学

E-mail:lifengqin@cfsa.net.cn

婴儿肉毒中毒(infant botulism, IB)是由于婴儿摄入产肉毒毒素(botulinum neurotoxins, BoNTs)梭状芽胞杆菌的芽胞后,芽胞在婴儿肠道内繁殖并产毒导致。约 95% 的 IB 发生在 1.5~6 月龄婴儿,2~4 月龄为中毒高发期^[1-3]。BoNTs 是一种强神经毒

素,多由肉毒梭菌(*Clostridium botulinum*)产生,少部分由丁酸梭菌(*C. butyricum*)和巴氏梭菌(*C. baratii*)产生。BoNTs 依据抗原性不同,可分为 A、B、C、D、E、F、G 七个型别,其中能引起人类中毒的为 A、B、E、F 四型,以 A、B 最为常见,E 型较少,F 型则更为罕见^[4]。

丁酸梭菌因其能产生高浓度的丁酸而得名,广泛分布于环境及食品中,是一种人和动物肠道的正常菌群。在日本、韩国等亚洲国家,丁酸梭菌被作为益生菌用于食品加工^[5],但丁酸梭菌的某些株又可引起 IB,污染源包括食品、土壤、葆婴人员密切接触、宠物接触等^[4,6-10]。自 1986 年意大利首次报道了第一例由丁酸梭菌引起的 IB 病例以来,该菌的致病性才被科学界所认知,随后日本、爱尔兰、英国、美国等国家也相继出现确诊病例^[6-8,11]。截至目前,世界范围内仅有来自上述 5 个国家的 6 起、共计 8 例由丁酸梭菌引起 IB 的报道。我国虽有 E 型肉毒中毒的报道,但未见由丁酸梭菌引起的 IB 病例报道。本研究对我国首例丁酸梭菌引起的 E 型 IB 病例进行实验室诊断。

2019 年 9 月 7 日,天津市某医院报告 1 例疑似肉毒毒素中毒的婴儿病例。患儿女,5 月龄,既往体健,9 月 6 日早 9:00 左右无明显诱因出现精神反应弱,表现为拒乳、不哭不闹、活动减少、伴呻吟,并逐渐加重。经多家医院转诊并给予头孢静脉点滴抗感染及补液等治疗后未见明显好转,于 9 月 6 日 23:30 至天津某大型医院就诊,9 月 7 日 00:32 收至内科重症监护室。经医生检查发现患儿瞳孔散大,光反应消失,肌力下降并出现呼吸衰竭。医院经会诊后诊断为“疑似肉毒毒素中毒”。流行病学调查结果显示,患儿居住天津市某辖区,近 2 月一直喂食婴儿配方粉,辅食曾添加益生菌菌粉、羊奶小馒头、葡萄和桔子。曾有赴北京动物园外出游玩史,家庭环境卫生尚可,保育人员有注重育儿卫生的良好习惯。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 主要仪器与试剂

普通聚合酶链式反应(PCR)仪(美国 Bio-Rad),生物安全柜,冷冻离心机,厌氧培养装置(法国梅里埃)。

庖肉肉汤(cooked meat medium,CMM)培养基、胰蛋白胨葡萄糖酵母浸膏(trypticase-peptone-glucose-yeast,TPGY)肉汤培养基、哥伦比亚血琼脂平板、革兰染液均购自北京陆桥技术责任有限公司,2×Pfu PCR Master Mix(天根生化科技有限公

司),DNA 提取试剂盒(天根生化科技有限公司),0.45 μm 滤器,胰酶(活力 1:250,美国 Gibco),多价及单价抗肉毒毒素诊断血清(兰州生物制品研究所)。

1.1.2 实验动物

无特定病原体(SPF)级美国癌症研究所(ICR)雄性小鼠,体质量为 15~20 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,生产许可证号:SCXK(京)2016-0006。动物饲养于温度为 20~23 ℃、相对湿度为 40%~60%的环境中,动物房许可证号:SYXK(京)2014-0043,按体质量随机分组,3 只/笼,自由进食饮水,并在试验的前一夜禁食但自由进水。

1.2 方 法

1.2.1 溶液配制

明胶磷酸盐缓冲液(GBS):分别称取明胶 2 g 和磷酸氢二钠 4 g,置于 1 000 mL 蒸馏水中,pH=6.2。加热溶解后,121 ℃ 高压灭菌 15 min 备用。

1.2.2 样品/标本采集

采集患儿粪便标本 1 份(约 5 mL)、患儿食用剩余婴儿配方粉 1 份(约 200 g)、患儿食用的益生菌菌粉 3 份(其中 1 份为已打开小包装的剩余样品、1 份为未打开小包装样品、1 份为未打开大包装的新购入样品)、家庭配奶用桌子表面涂抹样品 9 份、患儿垫子涂抹样品 1 份、家庭冰箱内壁涂抹样品 5 份、家庭配奶用水 1 份、家庭成员手涂抹样品 4 份、患儿喂食品涂抹样品 5 份(奶瓶内壁、奶瓶嘴、安抚奶嘴、水瓶内壁、水瓶嘴),共计 30 份样品/标本。涂抹采样使用 3 M Swab 涂抹棒对环境物体表面进行涂抹后置于涂抹管内(管内含 10 mL 缓冲蛋白胨水)。

1.2.3 样品/标本处理

参照 GB 4789.12—2016《食品安全国家标准食品微生物学检验 肉毒梭菌及肉毒毒素检验》^[12]方法对样品/标本增菌培养后进行菌株的分离及毒素检测。粪便、婴儿配方粉和益生菌菌粉按 1:1 质量比加入等量 GBS 稀释,涂抹及液体样品充分混匀。处理后的每份样品/标本取 2 mL 分别接种于 10 mL CMM 及 10 mL TPGY 肉汤培养基内,每份样品/标本每种培养基接种两个平行管。接种后的 CMM 和 TPGY 肉汤培养基分别于 37 和 28 ℃ 厌氧培养 5 d。

另取 1 mL 稀释后的粪便标本于 5 mL 离心管内,加入等体积无水乙醇,混匀后室温静置 1 h,用于直接进行标本中梭菌的分离。

1.2.4 肉毒毒素检测

将 1.2.3 中培养 5 d 后的 CMM 和 TPGY 培养液分别经 4 000×g 离心 15 min,上清液经 0.45 μm

滤膜过滤后,每种培养液均分成三组进行如下处理:第一组经 100 ℃ 煮沸 10 min;第二组按体积比加入 10% 的胰酶后 37 ℃ 作用 1 h;第三组不做任何处理。将上述三组培养液分别以 0.5 mL/只的剂量腹腔注射染毒小鼠,每组注射 3 只,注射后 96 h 内观察小鼠的中毒反应及死亡情况,同时分别设 A 型肉毒毒素阳性对照组及 GBS、CMM、TPGY 阴性对照组。

1.2.5 肉毒毒素分型

取 1.2.4 中检测为阳性的培养液,经 4 000×g 离心 15 min,上清液经 0.45 μm 滤膜过滤后,分别与 A、B、E、F 单价肉毒毒素诊断血清及多价肉毒毒素诊断血清等体积混合,37 ℃ 作用 45 min 后,分别以 0.5 mL/只的剂量腹腔注射小鼠,每种混合液注射 3 只,注射后 96 h 内观察小鼠的中毒反应及死亡情况,同时设 A 型肉毒毒素阳性对照组和 GBS、相应肉汤培养基阴性对照组。

1.2.6 梭菌的分离及鉴定

用接种环取粪便标本与无水乙醇直接混合室温静置 1 h 后的混合液一环,分别划线接种于哥伦比亚血琼脂平板及卵黄琼脂平板培养基;另取经 5 d 厌氧培养后的 CMM 和 TPGY 培养液各 1 mL,加入等体积无水乙醇,充分混匀并室温静置 1 h 后用接种环取一环,分别划线接种于哥伦比亚血琼脂平板及卵黄琼脂平板培养基。上述接种后的哥伦比亚血琼脂平板及卵黄琼脂平板培养基均置于 37 ℃ 厌氧培养 48 h 后进行菌落形态观察,同时挑取可疑菌落传代培养后进行革兰染色镜检及 16S rRNA 基因克隆测序。

1.2.7 肉毒毒素产毒基因检测

取 1.2.6 中分离到的单克隆可疑菌落,划线接种于哥伦比亚血琼脂平板,37 ℃ 厌氧培养 24 h,按 DNA 提取试剂盒操作步骤要求提取 DNA,参照 GB 4789.12—2016^[12] 方法对 A、B、E、F 四型肉毒毒素毒力基因 (*bont/a*、*bont/b*、*bont/e*、*bont/f*) 进行 PCR 检测。引物序列见表 1。

表 1 A、B、E、F 四型肉毒毒素产毒基因 PCR 检测用引物序列

Table 1 List of primer sequences for *bont/a*, *bont/b*,

bont/e and *bont/f* genes

基因型别	引物序列(5'-3')
A(<i>bont/a</i>)	GTGATACAACCAGATGCTAGTTATAG
	AAAAACAAGTCCCAATTATTAACCTT
B(<i>bont/b</i>)	GAGATGTTTGTGAATATTATGATCCAG
	GTTCATGCATTAATATCAAGGCTGG
E(<i>bont/e</i>)	CCAGCGGTTGTCAAGAATTTTAT
	TCAAATAAATCAGGCTCTGCTCCC
F(<i>bont/f</i>)	GCTTCATTAAGAACGGAAGCAGTGCT
	GTGGCGCCTTTGTACTCTTTCTAGG

1.2.8 引起中毒的梭菌分离株产毒能力验证

挑取分纯后携带肉毒毒素产毒基因的梭菌分离株单菌落,分别接种于 10 mL CMM 和 TPGY 肉汤培养基内,接种后的 CMM 和 TPGY 肉汤培养基分别于 37 和 28 ℃ 厌氧培养 5 d。培养后的培养物按照 1.2.4 和 1.2.5 所述方法进行肉毒毒素检测和毒素分型。

2 结果

2.1 毒素检测结果

患儿粪便标本经 CMM 和 TPGY 培养后,其培养物上清液腹腔注射小鼠,2 h 后小鼠出现竖毛、呼吸困难并呈现蜂腰、四肢麻痹等典型的肉毒毒素中毒症状继而死亡;但将培养物加热煮沸 10 min 后腹腔注射小鼠,小鼠未出现中毒表现和死亡;若将培养物经胰酶处理后腹腔注射小鼠,小鼠在 1~1.5 h 左右也出现中毒表现并死亡。上述小鼠中毒和死亡表现与腹腔注射 A 型肉毒毒素阳性对照小鼠的中毒表现一致。其他样品培养物上清液注射小鼠后,未见小鼠有异常表现。

2.2 肉毒毒素血清分型

患儿粪便标本经 CMM 和 TPGY 培养后,培养物上清液与 A、B、F 单价肉毒毒素诊断血清混合后腹腔注射小鼠,小鼠均仍出现典型肉毒中毒症状并死亡;而培养物上清液与 E 型单价肉毒毒素诊断血清和多价混合型肉毒毒素诊断血清混合后腹腔注射小鼠,小鼠均无死亡。

2.3 菌株分离和鉴定

2.3.1 分离株表型特征

将患儿粪便标本不增菌直接经无水乙醇处理或增菌后增菌液经无水乙醇处理后检测,均分别分离到疑似菌株,本研究主要针对从粪便增菌液中分离到的疑似菌株(编号为 TJ)进行鉴定和测序。分离株 TJ 经革兰染色,结果显示,菌株培养 72 h 后可产生芽胞,芽胞呈椭圆形,位于菌体一端,菌体在镜下呈典型的网球拍状(见图 1)。分离株在哥伦比亚血琼脂平板上呈不规则半透明扁平菌落,边缘根状生长,但在卵黄琼脂平板上生长不良(或不生长),菌落形态与哥伦比亚血琼脂平板上相似。分离株 TJ 菌落特征与肉毒梭菌截然不同,典型的肉毒梭菌在哥伦比亚血琼脂平板上呈圆形半透明菌落,菌落由内到外成迁延性生长;在卵黄琼脂平板上,菌落及周围培养基表面可见彩虹环样薄层;因此中毒相关标本分离株从菌落形态上虽符合梭菌特征但与肉毒梭菌形态不符。

2.3.2 16S rRNA 基因克隆测序结果

分离株 TJ 经 16S rRNA 基因克隆测序结果显



图1 分离株 TJ 革兰染色图

Figure 1 Gram staining of isolate TJ

示,该分离株序列与 GenBank 中已有的编号为 CFSA3989 和 4-1 等两株丁酸梭菌参考序列的匹配度为 100%,因此最终将其鉴定为丁酸梭菌。

2.3.3 肉毒毒素产毒基因检测结果

编号为 TJ 的丁酸梭菌分离株进行 A、B、E、F 四型肉毒毒素产毒基因 PCR 检测,结果可见,经 *bont/e* 基因引物扩增后,该菌可产生长度约 400 bp 的产物,这与 *bont/e* 基因(410 bp)产物大小一致(见图 2,每个检测均设置三个平行)。初步可判定该株丁酸梭菌分离株携带了 E 型肉毒毒素产毒基因。

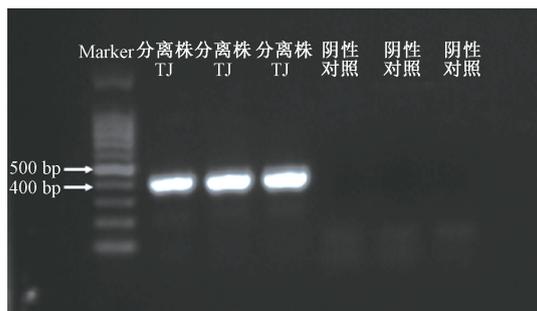


图2 分离株 TJ 的四型肉毒毒素产毒基因 PCR 检测结果

Figure 2 PCR detection of *bont* genes from isolate TJ

2.4 分离株产毒试验结果

将患儿粪便丁酸梭菌分离株 TJ 接种于 CMM 和 TPGY 培养基中,分别于 37 和 28 °C 厌氧培养 5 d,其培养物上清液按照要求处理后腹腔注射小鼠,并进行毒素分型,结果小鼠于注射 2 h 后出现临床表现同 2.1 的中毒症状和体征。毒素分型结果显示,将 E 型单价肉毒毒素诊断血清、多价混合型肉毒毒素诊断血清分别与 CMM 和 TPGY 培养物上清液混合后给小鼠腹腔注射,结果小鼠均无死亡,而 CMM 和 TPGY 培养物上清液分别于 A、B、F 单价肉毒毒素诊断血清混合后给小鼠腹腔注射,小鼠均死亡。证明该株丁酸梭菌分离株 TJ 可产生 E 型肉毒毒素。

3 讨论

肉毒毒素中毒在我国近 20 省区内均有发生,但由丁酸梭菌引起的病例至今仅有 1 例成人肉毒中毒报道。该病例 1994 年发生在我国江苏省,检测人员

在患者及患者家周围环境土壤中均分离到产 E 型肉毒毒素的丁酸梭菌^[13-14]。迄今为止,并无由丁酸梭菌引起 IB 的病例报道。究其原因,一方面 IB 不同于成人肉毒中毒,临床症状不典型,常以腹胀、便秘等为首发症状,临床进展常与重症肌无力、格林巴利综合征、脊髓灰质炎、代谢性疾病等混淆,因此临床经验有限,极易造成漏诊和误诊。另一方面,IB 的主要诊断依据既要依靠检测周期长、检测技术复杂的肉毒梭菌的分离鉴定,同时需要肉毒毒素检测,而小鼠生物学试验目前仍是肉毒毒素检测的“金标准”,由此导致全国范围内能完成此项检测的实验室屈指可数,从而阻碍了 IB 的临床确诊。再者,即便有疑似肉毒中毒的病例出现时,实验室检测往往仅局限于针对肉毒梭菌,而产肉毒毒素丁酸梭菌的菌落形态与肉毒梭菌差异较大,检测时往往会出现漏检现象。

本研究对患儿粪便标本进行肉毒毒素小鼠生物学试验时发现,培养物上清液腹腔注射小鼠后小鼠出现与 A 型肉毒毒素阳性对照相同的典型肉毒中毒症状。培养物上清液经加热后则对小鼠无毒性作用,但经胰酶处理后则毒性增强,表现为发病早(由 2 h 左右缩短至 1~1.5 h)、致死快等特点。以上结果均符合非蛋白水解型肉毒毒素中毒表现,这一结果进一步被 PCR 检测和毒素分型试验所证实,三个试验均证明该分离株可产生 E 型肉毒毒素。

由于除粪便以外的其他 29 份食品和环境样品中均未检出肉毒毒素和产毒梭菌,因此尚不能对本次感染进行溯源。但毫无疑问,患儿是由产 E 型肉毒毒素的丁酸梭菌感染引起的肉毒中毒。这也是我国首次报道由丁酸梭菌感染引起的 IB 病例。由于婴儿肠道功能发育特点等决定婴儿对梭菌孢子更易感,因此建议婴儿在保育过程中应注重家居环境和饮食清洁卫生,葆婴人员也要养成良好的卫生习惯,尽量避免婴儿接触梭菌等污染源。同时建议临床在婴儿人群中慎用丁酸梭菌等益生菌产品,降低梭菌暴露水平,减少 IB 病例发生。

参考文献

- [1] FENICIA L, ANNIBALLI F. Infant botulism[J]. Ann Ist Super Sanita, 2009, 45(2):134-146.
- [2] SHIREY T B, DYKES J K, LÚQUEZ C, et al. Characterizing the fecal microbiota of infants with botulism[J]. Microbiome, 2015, 23(3):54.
- [3] DERMAN Y, KORKEALA H, SALO E, et al. Infant botulism with prolonged faecal excretion of botulinum neurotoxin and *Clostridium botulinum* for 7 months[J]. Epidemiol Infect, 2014, 142(2):335-339.

- [4] HARVEY S M, STURGEON J, DASSEY D E. Botulism due to *Clostridium baratii* type F toxin[J]. J Clin Microbiol, 2002,40(6):2260-2262.
- [5] CASSIR N, BENAMAR S, LA SCOLA B. *Clostridium butyricum*: from beneficial to a new emerging pathogen[J]. Clin Microbiol Infect, 2016,22(1):37-45.
- [6] WIJESINGHE R U, OSTER R J, HAACK S K, et al. Spatial, temporal, and matrix variability of *Clostridium botulinum* type E toxin gene distribution at great lakes beaches[J]. Appl Environ Microbiol, 2015,81(13):4306-4315.
- [7] AURELI P, FENICIA L, PASOLINI B, et al. Two cases of type E infant botulism caused by neurotoxicogenic *Clostridium butyricum* in Italy[J]. J Infect Dis, 1986,154(2):207-211.
- [8] ABE Y, NEGASAWA T, MONMA C, et al. Infantile botulism caused by *Clostridium butyricum* type E toxin [J]. Pediatr Neurol, 2008,38(1):55-57.
- [9] HATHEWAY C L, MCCROSKEY L M. Examination of feces and serum for diagnosis of infant botulism in 336 patients[J]. J Clin Microbiol, 1987,25(12):2334-2338.
- [10] FENICIA L, ANNIBALLI F, AURELI P. Intestinal toxemia botulism in Italy, 1984-2005 [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2007, 26(6):385-394.
- [11] DYKES J K, LÚQUEZ C, RAPHAEL B H, et al. Laboratory investigation of the first case of botulism caused by *Clostridium butyricum* type E toxin in the United States[J]. J Clin Microbiol, 2015, 53(10):3363-3365.
- [12] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会,国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 肉毒梭菌及肉毒毒素检验:GB 4789.12—2016[S]. 北京:中国标准出版社,2016.
- [13] MENG X, KARASAWA T, ZOU K, et al. Characterization of a neurotoxicogenic *Clostridium butyricum* strain isolated from the food implicated in an outbreak of food-borne type E botulism [J]. J Clin Microbiol, 1997,35(8):2160-2162.
- [14] MENG X, YAMAKAWA K, ZOU K, et al. Isolation and characterisation of neurotoxicogenic *Clostridium butyricum* from soil in China[J]. J Med Microbiol,1999,48(2):133-137.

研究报告

克罗诺杆菌属食品分离株种水平鉴定方法比较研究

张红芝,刘雪薇,魏腾,鲁珺琰,张曦

(上海市疾病预防控制中心,上海 200336)

摘要:目的 研究食品中分离克罗诺杆菌属种的鉴定方法,旨在建立稳定、可靠的种的鉴定方法。方法 本研究选择三种鉴定方法,包括生化鉴定(VITEK 2 Compact)法、基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)、全基因组测序,通过比较分析三种方法对19株克罗诺杆菌属的鉴定结果,阐述三种鉴定方法的优缺点及其适用性。结果 本研究中19株克罗诺杆菌属的鉴定结果显示,VITEK 2 Compact对阪崎克罗诺杆菌和丙二酸盐克罗诺杆菌的鉴定准确率只有67%和66%,而MALDI-TOF MS和全基因组测序的鉴定结果一致,因此可以判定MALDI-TOF MS能够快速、准确、高通量对克罗诺杆菌属进行种的鉴定。但是MALDI-TOF MS受限于数据库,不能鉴定到亚种的水平。结论 本研究结果提示VITEK 2 Compact法不适用于克罗诺杆菌属种的鉴定;全基因组测序鉴定结果准确可靠;MALDI-TOF MS可以实现快速、高通量、准确的鉴定,仍需要进一步研究克罗诺杆菌属3个亚种的蛋白指纹图谱特点,丰富蛋白指纹图谱数据库,使其能够准确鉴定克罗诺杆菌属的7个种和3个亚种。

关键词: 克罗诺杆菌属; 生化鉴定; 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱; 全基因组测序

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2020)05-0503-06

DOI:10.13590/j.cjfh.2020.05.006

Study on species identification of *Cronobacter* spp. in foods

ZHANG Hongzhi, LIU Xuewei, WEI Teng, LU Junyan, ZHANG Xi

(Shanghai Municipal Center for Disease Control and Prevention, Shanghai 200336, China)

Abstract: Objective To compare the species identification method of *Cronobacter* spp. in food, in order to establish rapid, high throughout identification method. **Methods** A total of 19 *Cronobacter* spp. in foods were identified with three

收稿日期:2020-06-01

基金项目:上海市第四轮公共卫生三年行动计划高端海外研修团队(GWTD2015S01)

作者简介:张红芝 女 副主任技师 研究方向为食源性病原菌检测与食品安全 E-mail: zhanghongzhi@scdc.sh.cn

通信作者:张曦 女 主任医师 研究方向为病原微生物 E-mail: zhangxi@scdc.sh.cn