

不同培养条件对禽源沙门菌菌毛基因表达的影响

龚建森¹,王鑫¹,韩先干²,朱春红¹,俞燕¹,刘学贤¹,徐步^{1*}

(1. 中国农业科学院家禽研究所,扬州 225125;2. 中国农业科学院上海兽医研究所,上海 200241)

摘要:旨在研究不同血清型禽源沙门菌菌毛基因分布特征及不同培养条件下菌毛基因的表达差异。通过 PCR 方法对鸡白痢沙门菌、鸡伤寒沙门菌、鼠伤寒沙门菌和肠炎沙门菌的 17 种沙门菌菌毛操纵子基因进行检测。同时,应用 RT-PCR 方法对肉汤静置、肉汤震荡与平板静置 3 种培养条件下菌毛基因的表达情况进行检测。研究结果显示,被检测的 4 种血清型禽源沙门菌株的菌毛基因型各不相同,其中 10 种菌毛基因为保守基因,而其它 7 种存在差异性分布。RT-PCR 检测发现,不同血清型菌株在 3 种培养条件下菌毛基因的表达存在一定差异,其中鸡白痢沙门菌和肠炎沙门菌在肉汤静置培养条件下表达的菌毛基因数量显著高于其它 2 种培养条件($P < 0.05$),而鸡伤寒沙门菌和鼠伤寒沙门菌在 3 种培养条件下表达的菌毛基因数量差异较小($P > 0.05$)。结果提示:4 种血清型禽源沙门菌株具有不同的菌毛基因类型,鸡白痢沙门菌与肠炎沙门菌的菌毛基因表达数量与其培养方式存在相关性。

关键词:禽源沙门菌;菌毛基因;血清型;细菌培养

中图分类号:S852.612

文献标志码:A

文章编号:0366-6964(2014)01-0116-07

Effects of Different Bacterial Culture Condition on the Expression of Avian *Salmonella* Fimbrial Genes

GONG Jian-sen¹, WANG Xin¹, HAN Xian-gan², ZHU Chun-hong¹, YU Yan¹, LIU Xue-xian¹, XU Bu^{1*}

(1. Poultry Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Yangzhou 225125, China;

2. Shanghai Veterinary Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 200241, China)

Abstract: The objective of the present study was to investigate the distribution of fimbrial genes in some avian *Salmonella* serotypes and the expression differences of fimbrial genes under different bacterial culture conditions. Seventeen kinds of fimbrial operon genes in *Salmonella pullorum*, *Salmonella gallinarum*, *Salmonella typhimurium* and *Salmonella enteritidis* were detected by PCR, and expression of fimbrial genes in the above *Salmonella* strains under three different culture conditions which include static broth, shaken broth and static plate were detected by RT-PCR. Results showed that the four *Salmonella* serotypes had different fimbrial genotypes, 10 of which were conservative, and the distribution of the other 7 fimbrial genes was different. RT-PCR detection results showed that the expression of fimbrial genes in different serotypes cultured under three conditions had some differences, as the expression of fimbrial genes in *Salmonella pullorum* and *Salmonella enteritidis* cultured on static broth was more than that of others ($P < 0.05$), while the difference in *Salmonella gallinarum* and *Salmonella typhimurium* was not significant ($P > 0.05$). The results revealed that the four *Salmonella* serotypes had different fimbrial genotypes and the bacterial culture condition significantly impacted the expression of fimbrial genes in *Salmonella pullorum* and *Salmonella enteritidis*.

收稿日期:2013-07-29

基金项目:国家自然科学基金(31101833);国家公益性行业(农业)科研专项(201303044);江苏省六大人才高峰项目(NY-024);扬州市科技攻关项目(YZ2011091;2012080)

作者简介:龚建森(1980-),男,江苏扬州人,硕士,主要从事禽病防治研究,E-mail:jjsensen@163.com

*通信作者:徐步,研究员,E-mail:bu_xu@aliyun.com

Key words: avian *Salmonella*; fimbrial gene; serotype; bacterial culture

沙门菌是革兰阴性、细胞内寄生的一种肠道菌。该菌广泛存在于自然界中,不仅能引起畜禽及其他动物发生急性、慢性或隐性感染,而且还能通过污染食品导致人的食物中毒,对人类健康造成威胁。由沙门菌引起的食物中毒是所有细菌性食物中毒中比例最高、危害最广的一种,占细菌性食物中毒的42.6%~60%^[1-3]。研究表明,沙门菌感染的禽群是通过食物链传给人的沙门菌最为常见的储存库之一。从家禽和禽产品中分离出沙门菌的报道明显多于其它动物,造成这一结果的主要原因是由于沙门菌在被感染的家禽中能通过水平传播和垂直传播造成广泛流行,而这与作为食品动物的家禽饲养数量巨大是密切相关的^[4-6]。目前,全世界已发现的沙门菌血清型总数超过2 600种,其中约10%来源于禽类^[7]。对禽源沙门菌而言,通常根据其对其宿主的依赖性分为两类,一类是专嗜性的鸡白痢沙门菌与鸡伤寒沙门菌,主要感染鸡与火鸡;另一类是泛嗜性的禽副伤寒沙门菌,包含多种血清型,其中以肠炎沙门菌与鼠伤寒沙门菌为代表,可以感染各种禽类^[8-11]。

菌毛是细菌表面的丝状蛋白附属物,又称柔毛或纤毛,是细菌与宿主细胞相互作用的关键因子。对沙门菌而言,菌毛在疫苗免疫与诊断试剂研发等领域具有极其重要的意义^[12-15]。对 GenBank 中已公开沙门菌全基因组序列的分析表明,有35种菌毛操纵子存在于沙门菌中,不同血清型沙门菌通常含有5~14种菌毛操纵子^[16](如亚利桑那沙门菌含有5种,邦戈尔沙门菌含有8种,肠道沙门菌含有11~14种),但关于不同菌毛基因在体外培养条件下的表达情况报道较少。为了研究不同培养方式对禽源沙门菌菌毛基因表达的影响,本研究选取4种具有代表性的禽源沙门菌为研究对象,对3种不同体外培养条件下菌毛基因的表达情况进行了检测,探讨不同血清型禽源沙门菌菌毛基因类型与体外表达的差异,为进一步研究禽源沙门菌感染机理、预防用疫苗与诊断试剂提供理论依据以及试验素材。

1 材料与方法

1.1 菌株

鸡白痢沙门菌 CVCC79201(1,9,12:-,-)、鸡伤寒沙门菌 CVCC539(1,9,12:-,-)、鼠伤寒沙门菌鸡源分离株 ST0801(1,4,5,12:i:1,2)和肠炎沙门菌

鸡源分离株 SE0902(1,9,12:g,m:1,7)均由中国农业科学院家禽研究所保存并提供;禽多杀性巴氏杆菌 CVCC44801 购自中国兽医药品监察所。

1.2 主要试剂

细菌基因组 DNA 快速抽提试剂盒购自上海生物工程有限公司;Taq DNA 聚合酶、DNA Marker DL2000、RNA PCR Kit、RNAiso Plus 均购自宝生物工程(大连)有限公司;沙门菌属诊断血清(30种)购自宁波天润生物药业有限公司;改良马丁培养基为自行配制。

1.3 引物

根据 GenBank 中已公开的部分沙门菌菌毛操纵子基因序列信息,用 DNASTar(5.01)软件分析设计引物,用于 PCR 及 RT-PCR 扩增。引物由上海英潍捷基公司合成(表1)。

1.4 菌毛基因的 PCR 扩增

取过夜培养的菌液按 DNA 快速抽提试剂盒要求制备 DNA 模版,设禽多杀性巴氏杆菌 CVCC44801 作为阴性对照株。PCR 反应体系为25 μL ,其中 ddH₂O 15.3 μL ,BF 2.5 μL ,Mg²⁺ 2 μL ,dNTP 2 μL ,上下游引物各 1 μL ,模板 1 μL ,Taq 酶 0.2 μL 。检测 *fimA*、*csgA*、*lpfD*、*pegA*、*safC*、*stbD*、*stiA*、*sthB*、*stcC*、*stjB*、*pefD*、*sefA*、*stkA* 基因的反应条件:94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min;94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 40 s,55 $^{\circ}\text{C}$ 退火 40 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 50 s,30 个循环;72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min;检测 *bcfC*、*stfA*、*stdB*、*steB* 基因的反应条件:94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min;94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 1 min,58 $^{\circ}\text{C}$ 退火 1 min,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min,30 个循环;72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。所有菌毛基因均重复检测 3 次,扩增结束后各取 5 μL 于 1.5% 琼脂糖凝胶电泳,紫外灯下观察并记录结果。

1.5 不同培养条件下菌毛基因的 RT-PCR 扩增

取过夜培养的菌液按 1:50 接种量分别加入改良马丁肉汤或涂布改良马丁琼脂平板,在 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下采用肉汤静置、肉汤震荡、平板静置 3 种方式培养 24 h 后收获细菌。使用 RNAiso Plus 试剂提取细菌总 RNA,提取的 RNA 沉淀用适量的 DEPC 水溶解后,进行琼脂糖电泳检测,分光光度计检测 RNA 纯度和含量,保证 RNA 样品质量可靠;经检测合格的总 RNA 参照 RNA PCR Kit 要求逆转录成 cDNA,进一步检测相关菌毛基因的表达并统计分析。

表 1 沙门菌菌毛基因检测用引物序列

Table 1 Primers used for the identification of fimbrial genes of *Salmonella*

引物名称 Primer	引物序列(5'-3') Primer sequence (5'-3')	产物大小/bp Product size	基因序列号 Accession number
<i>fimA</i> -F <i>fimA</i> -R	ATTAGGGTTGGTGTTATCTGC CCTCTACTATTGCGAGTCTGA	305	KC405525.1
<i>bcfC</i> -F <i>bcfC</i> -R	ACAGCGACTGGCAGCACA CACCGTCGCCGCATACTT	422	AF129435.1
<i>csgA</i> -F <i>csgA</i> -R	GCATTTCGCAGCAATCGTA TGCCAAAACCAACCTGAC	409	U43280.1
<i>lpfD</i> -F <i>lpfD</i> -R	AGGCTGTGGTTCTCTGG TTTGGTGAATTTTCGTGGC	488	U18559.1
<i>pegA</i> -F <i>pegA</i> -R	ATAAACGGAGAAGTGGTGG GGCAGAAAAGTTCAGGGTA	363	CP003047.1
<i>saFC</i> -F <i>saFC</i> -R	TCCCCAACTCAGTCCGTA GGTCTGCCGTGGAATCTC	459	AJ311844.1
<i>stbD</i> -F <i>stbD</i> -R	ACGCCCTATTCCAGTAAAC CCAGGTATCTCGGTCCATT	360	AM933173.1
<i>stiA</i> -F <i>stiA</i> -R	AGACCATGCCTGAAGATCG GCAGACACCGCCAAAGAC	336	CP006048.1
<i>sthB</i> -F <i>sthB</i> -R	AAACTGCTGTGATTGTCTGG CCTTATGCTTCGCCTTAC	242	CP003047.1
<i>stfA</i> -F <i>stfA</i> -R	GCTGCCGCACTGGTTATG AGCGTCGCCCAATTTGAT	384	CP001144.1
<i>stdB</i> -F <i>stdB</i> -R	GCCACATCAACCGAAAT CCAGAACCAGGTCTACGC	477	JF711969.1
<i>stcC</i> -F <i>stcC</i> -R	AATGTGCGGTAATCCTGTG ATGGCGGTACGATGCTAT	232	CP006602.1
<i>stjB</i> -F <i>stjB</i> -R	TTACCCCACTGCCAAACA GCCTGAAATACGTGCTCC	301	CP001138.1
<i>pefD</i> -F <i>pefD</i> -R	AATCTCATTCATCACCTGTG CGTGAGTCGCTGTTCTGG	279	CP004058.1
<i>sefA</i> -F <i>sefA</i> -R	CAGGCAGCGTTACTATT GGTTGTGACAGGGACATTTA	336	EF553334.1
<i>stkA</i> -F <i>stkA</i> -R	AAATAACGGTGAAGGCAACT CTGAATCTGAGCGAATGTG	343	CP004086.1
<i>steB</i> -F <i>steB</i> -R	GGTGCCAGCGTCGTTTCT ATGTGGGCGATGGAGTGC	503	JF965571.1

2 结 果

2.1 菌毛基因的 PCR 检测

17 种沙门菌菌毛基因的 PCR 检测结果见表 2。在上述被检测的菌毛基因中, *fimA*、*bcfC*、*csgA*、*lpfD*、*safC*、*stbD*、*stiA*、*sthB*、*stfA* 和 *stdB* 这 10 种

菌毛基因存在于所调查的 4 种不同血清型的禽源沙门菌中;而其余 7 种基因中,*stcC*、*stjB* 和 *stkA* 仅存在于鼠伤寒沙门菌中;*pegA*、*sefA* 和 *steB* 存在于鼠伤寒沙门菌之外的 3 种血清型中;*pefD* 存在于鸡白痢沙门菌之外的 3 种血清型中。而阴性对照菌株禽多杀性巴氏杆菌均未检测出上述菌毛基因。

表 2 禽源沙门菌菌毛基因的分布

Table 2 Distribution of fimbrial genes in avian *Salmonella*

菌毛基因 Fimbrial gene	沙门菌菌株 <i>Salmonella</i> strains				<i>P. multocida</i> CVCC44801
	<i>S. pullorum</i> CVCC79201	<i>S. gallinarum</i> CVCC539	<i>S. typhimurium</i> ST0801	<i>S. enteritidis</i> SE0902	
<i>fimA</i>	+	+	+	+	-
<i>bcfC</i>	+	+	+	+	-
<i>csgA</i>	+	+	+	+	-
<i>lpfD</i>	+	+	+	+	-
<i>pegA</i>	+	+	-	+	-
<i>safC</i>	+	+	+	+	-
<i>stbD</i>	+	+	+	+	-
<i>stiA</i>	+	+	+	+	-
<i>sthB</i>	+	+	+	+	-
<i>stfA</i>	+	+	+	+	-
<i>stdB</i>	+	+	+	+	-
<i>stcC</i>	-	-	+	-	-
<i>stjB</i>	-	-	+	-	-
<i>pefD</i>	-	+	+	+	-
<i>sefA</i>	+	+	-	+	-
<i>stkA</i>	-	-	+	-	-
<i>steB</i>	+	+	-	+	-

+, 阳性; -, 阴性。下表同

+, Positive; -, Negative. The same as below

2.2 不同培养条件下菌毛基因的 RT-PCR 检测

通过 RT-PCR 分别检测不同培养方式(肉汤静置、肉汤震荡、平板静置)细菌菌毛基因 mRNA 的转录情况,结果见表 3。在上述被检测的菌毛基因中,鼠伤寒沙门菌转录的菌毛基因最多(14 种),其次分别是鸡伤寒沙门菌(13 种)、肠炎沙门菌(13 种)和鸡白痢沙门菌(12 种)。其中肠炎沙门菌的 *steB* 基因、鸡白痢沙门菌的 *stdB* 基因与鸡伤寒沙门菌的 *stdB*

基因在 3 种培养方式下均没有检测到转录产物,而鼠伤寒沙门菌含有的 14 种菌毛基因均可检测到转录产物。

比较不同培养方式发现,鸡白痢沙门菌在肉汤静置培养条件下转录的菌毛基因数量最丰富(11/12),其次分别为肉汤震荡(6/12)与平板静置(5/12),肠炎沙门菌也与之相似(13/14、9/14、4/14),经 χ^2 检验表明,上述 2 种血清型菌株在不同培养条件

表 3 不同培养条件下禽源沙门菌菌毛基因的转录

Table 3 Transcription of fimbrial genes of avian *Salmonella* under different culture conditions

菌毛基因 Fimbrial gene	肉汤静置 Static broth				肉汤震荡 Shaken broth				平板静置 Static plate			
	SP	SG	ST	SE	SP	SG	ST	SE	SP	SG	ST	SE
<i>fimA</i>	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+
<i>bcfC</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
<i>csgA</i>	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-
<i>lpfD</i>	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-
<i>pegA</i>	+	+	NT	+	-	-	NT	-	-	-	NT	-
<i>sa fC</i>	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-
<i>stbD</i>	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-
<i>stiA</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>sthB</i>	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-
<i>stfA</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
<i>stdB</i>	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>stcC</i>	NT	NT	+	NT	NT	NT	+	NT	NT	NT	+	NT
<i>stjB</i>	NT	NT	+	NT	NT	NT	+	NT	NT	NT	+	NT
<i>pefD</i>	NT	+	+	+	NT	+	+	+	NT	+	+	+
<i>sefA</i>	+	+	NT	+	+	+	NT	+	+	+	NT	+
<i>stkA</i>	NT	NT	+	NT	NT	NT	+	NT	NT	NT	+	NT
<i>steB</i>	+	+	NT	-	+	+	NT	-	+	+	NT	-

SP. *S. pullorum* CVCC79201; SG. *S. gallinarum* CVCC539; ST. *S. typhimurium* ST0801; SE. *S. enteritidis* SE0902; NT. Not tested

下转录的菌毛基因数量有显著差异 ($P < 0.05$); 而鼠伤寒沙门菌和鸡伤寒沙门菌 3 种培养方式的菌毛基因表达数量差异较小 ($P > 0.05$)。总体而言, 肉汤培养尤其是肉汤静置的培养方式所转录的菌毛基因种类要高于固体培养方式, 主要体现在鸡白痢沙门菌和肠炎沙门菌这 2 种血清型中。

3 讨论

沙门菌可以合成多种菌毛, 不同菌毛由相应的菌毛基因簇编码表达, 在介导细菌黏附于各种宿主组织细胞, 促进细菌在巨噬细胞中生存与繁殖以及在肠黏膜表面形成生物被膜等方面发挥了极其重要的作用^[17-22]。本研究以 17 种沙门菌常见菌毛基因为研究对象, 根据 GenBank 中已公开的基因序列设计特异性检测引物, 通过 PCR 方法对 4 种禽源沙门菌的代表菌株进行相关菌毛基因的检测, 结果发现

有 10 种菌毛基因存在于上述 4 种禽源沙门菌菌株中, 推测上述菌毛基因为禽源沙门菌的保守基因; 而其它 7 种菌毛基因中, *stcC*、*stjB* 和 *stkA* 仅存在于鼠伤寒沙门菌中, *pegA*、*sefA* 和 *steB* 存在于非鼠伤寒沙门菌的血清型, *pefD* 存在于鸡白痢沙门菌之外的血清型。国外相关研究表明, 沙门菌菌毛基因簇在不同血清型中的特异性分布可能与其遗传进化、宿主嗜性、致病性等方面存在一定的联系^[23-25]。通过比较发现, 同属 D 群的鸡白痢沙门菌、鸡伤寒沙门菌和肠炎沙门菌这 3 种血清型沙门菌的菌毛基因类型较为相似, 而与 B 群的鼠伤寒沙门菌存在一定的差异性。由此推测, 上述菌毛基因可能与沙门菌血清群存在相关性, 但仍需通过更多菌株进一步研究进行验证。

关于培养方式对沙门菌菌毛表达影响的研究较少, 主要集中于 *fim* 操纵子编码的 SEF21 菌毛 (I

型菌毛)、csg 操纵子编码的 SEF17 菌毛、sef 操纵子编码的 SEF14 菌毛等少数几种沙门菌菌毛,如培养的温度、pH 值、培养方式、缓冲体系等都均可影响菌毛的体外表达,说明不同培养基与培养方式对沙门菌菌毛表达有较大影响^[26-29]。根据预试验结果,本研究选用了自行研制的改良马丁培养基,采用 3 种培养方式,通过 RT-PCR 定性检测不同菌毛基因的体外表达情况。发现应用不同培养方式以及在不同血清型菌株之间,菌毛基因的表达存在着显著的差异,如鸡白痢沙门菌和肠炎沙门菌 2 种血清型菌株在肉汤静置培养条件下表达的菌毛基因数量最丰富,而鸡伤寒沙门菌和鼠伤寒沙门菌 2 种血清型菌株在 3 种培养条件下菌毛基因的表达差异并不显著。另外,除鼠伤寒沙门菌之外的 3 种血清型各有 1 种菌毛基因没有检测到表达产物,是否与培养条件的不同引起菌毛基因表达的差异,或不同血清型菌株中可能存在的菌毛基因失活有关^[16],需进一步研究探讨。

目前沙门菌疫苗及诊断试剂的生产大多通过发酵罐深层通气培养方式来提高菌数。但是,如何在保证菌数的前提下使菌毛抗原能够充分表达,从而提高疫苗的免疫原性和确保诊断试剂的抗原广谱性仍值得进一步深入研究。本研究结果,不仅对探寻获得全面完整抗原的沙门菌最适培养条件奠定基础,同时也可以为检测沙门菌疫苗有效构成提供新的评估方法。

4 结 论

检测、分析鸡白痢沙门菌、鸡伤寒沙门菌、鼠伤寒沙门菌和肠炎沙门菌菌毛基因类型的差异以及与血清型之间的关联;同时检测肉汤静置、肉汤震荡与平板静置 3 种不同培养方式对菌毛基因表达的影响。鸡白痢沙门菌与肠炎沙门菌的菌毛基因表达与其培养方式存在显著相关性,而鸡伤寒沙门菌与鼠伤寒沙门菌在 3 种培养条件下菌毛基因的表达差异不显著。

参考文献:

[1] HERIKSTAD H, MOTARJEMI Y, TAUXE R V. *Salmonella* surveillance: a global survey of public health serotyping[J]. *Epidemiol Infect*, 2002, 129(1):1-8.

[2] 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.

- [3] ABBOTT S L, NI F C, JANDA J M. Increase in extraintestinal infections caused by *Salmonella enterica* subspecies II - IV[J]. *Emerg Infect Dis*, 2012, 18(4):637-639.
- [4] FOLEY S L, NAYAK R, HANNING I B, et al. Population dynamics of *Salmonella enterica* serotypes in commercial egg and poultry production[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2011, 77(13):4273-4279.
- [5] LIMAWONGPRANEE S, HAYASHIDANI H, OKATANI A T, et al. Prevalence and persistence of *Salmonella* in broiler chicken flocks[J]. *J Vet Med Sci*, 1999, 61(3):255-259.
- [6] SANCHEZ S, HOFACRE C L, LEE M D, et al. Animal sources of salmonellosis in humans[J]. *J Am Vet Med Assoc*, 2002, 221(4):492-497.
- [7] 张 燕, 朱 超. 我国沙门氏菌病和菌型分布概况[J]. *现代预防医学*, 2002, 29(3):400-401.
- [8] BARROW P A, FREITAS NETO O C. Pullorum disease and fowl typhoid-new thoughts on old diseases: a review[J]. *Avian Pathol*, 2011, 40(1):1-13.
- [9] BARROW P A, JONES M A, SMITH A L, et al. The long view: *Salmonella*—the last forty years[J]. *Avian Pathol*, 2012, 41(5):413-420.
- [10] 况彗星, 韦 婷. 禽沙门氏菌的检测与防治[J]. *中国家禽*, 2003, 25(4):4-7.
- [11] 徐仕忠. 家禽沙门氏菌病及其疫苗控制[J]. *中国家禽*, 2006, 28(17):48-50.
- [12] RAJASHEKARA G, MUNIR S, ALEXEYEV M F, et al. Pathogenic role of SEF14, SEF17, and SEF21 fimbriae in *Salmonella enterica* serovar enteritidis infection of chickens [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2000, 66(4):1759-1763.
- [13] ASLANZADEH J, PAULISSEN L J. Adherence and pathogenesis of *Salmonella enteritidis* in mice [J]. *Microbiol Immunol*, 1990, 34(11):885-893.
- [14] MIRMOMENI M H, SISAKHTNEZHAD S, SHARIFI A. Rapid detection of *Salmonella enteritidis* by PCR amplification of the *SefA* gene and its cloning [J]. *Pak J Biol Sci*, 2008, 11(3):428-432.
- [15] 朱春红, 吴 娟, 张伟娟, 等. 肠炎沙门氏菌 SEFA 基因表达和间接 ELISA 检测方法的初步建立[J]. *中国预防兽医学报*, 2010, 32(1):44-48.
- [16] 朱春红, 孟 霞, 厚华艳, 等. 沙门氏菌菌毛研究进展[J]. *中国动物传染病学报*, 2013, 21(2):68-74.
- [17] ZHU C, MENG X, DUAN X, et al. SEF14 fimbriae

- from *Salmonella enteritidis* play a role in pathogenicity to cell model *in vitro* and host *in vivo* [J]. *Microb Pathog*, 2013, 64C:18-22.
- [18] MORGAN E, CAMPBELL J D, ROWE S C, et al. Identification of host-specific colonisation factors of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium [J]. *Mol Microbiol*, 2004, 54(4):994-1010.
- [19] LEDEBOER N A, FRYE J G, MCCLELLAND M, et al. *Salmonella enterica* serovar Typhimurium requires the Lpf, Pef, and Tafi fimbriae for biofilm formation on HEp-2 tissue culture cells and chicken intestinal epithelium [J]. *Infect Immun*, 2006, 74(6):3156-3169.
- [20] BUMLER A J, TSOLIS R M, BOWE F A, et al. The pef operon of *Salmonella typhimurium* mediates adhesion to murine small intestine and is necessary for fluid accumulation in the infant mouse [J]. *Infect Immun*, 1996, 64(1):61-68.
- [21] BUMLER A J, TSOLIS R M, HEFFRON F. The lpf fimbrial operon mediates adhesion of *Salmonella typhimurium* to murine Peyer's patches [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1996, 93(1):279-283.
- [22] ZHU C H, HASSAN H M, WU S L, et al. The role of SEF14 fimbriae in pathogenesis and enhancing the immunity of *Salmonella enteritidis* [J]. *Afr J Microbiol Res*, 2009, 3(5):191-194.
- [23] SELANDER R K, BELTRAN P, SMITH N H, et al. Evolutionary genetic relationships of clones of *Salmonella* serovars that cause human typhoid and other enteric fevers [J]. *Infect Immun*, 1990, 58(7):2262-2275.
- [24] NORRIS T L, BUMLER A J. Phase variation of the lpf operon is a mechanism to evade cross-immunity between *Salmonella* serotypes [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999, 96(23):13393-13398.
- [25] KINGSLEY R A, BUMLER A J. Host adaptation and the emergence of infectious disease; the *Salmonella* paradigm [J]. *Mol Microbiol*, 2000, 36(5):1006-1014.
- [26] OCHOA-REPÁRAZ J, SESMA B, ALVAREZ M, et al. Humoral immune response in hens naturally infected with *Salmonella enteritidis* against outer membrane proteins and other surface structural antigens [J]. *Vet Res*, 2004, 35(3):291-298.
- [27] WALKER S L, SOJKA M, DIBB-FULLER M, et al. Effect of pH, temperature and surface contact on the elaboration of fimbriae and flagella by *Salmonella* serotype Enteritidis [J]. *J Med Microbiol*, 1999, 48(3):253-261.
- [28] CHUANG Y C, WANG K C, CHEN Y T, et al. Identification of the genetic determinants of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium that may regulate the expression of the type 1 fimbriae in response to solid agar and static broth culture [J]. *BMC Microbiol*, 2008, 25(8):126-137.
- [29] YOO A Y, YU J E, YOO H, et al. Role of sigma factor E in regulation of *Salmonella* Agf expression [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 430(1):131-136.

(编辑 白永平)