

陈浩浩,张艳芳,潘晓明,等. 抗生素诱导的微生物组耗损后促进空肠弯曲菌在小鼠肠道定植 [J]. 中国实验动物学报, 2021, 29(6): 793-799.

Chen HH, Zhang YF, Pan XM, et al. Antibiotic-induced microbiome depletion promotes the colonization of *Campylobacter jejuni* in the intestines of mice [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2021, 29(6): 793-799.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2021.06.011

抗生素诱导的微生物组耗损后促进空肠弯曲菌 在小鼠肠道定植

陈浩浩¹, 张艳芳¹, 潘晓明¹, 高素华¹, 张辉², 楼宏强^{1*}

(1. 金华职业技术学院医学院分子生物学实验室, 浙江 金华 321007; 2. 金华市食品药品检验检测研究院动物中心, 浙江 金华 321000)

【摘要】 目的 通过抗生素诱导肠道微生物组耗损建立一种空肠弯曲菌在 C57BL/6 小鼠肠道定植的方法。**方法** 将 36 只 C57BL/6 小鼠分为正常组、对照组及实验组, 头孢哌酮钠舒巴坦钠 (50 mg/mL) 连续灌胃 2 d 后, 灌胃空肠弯曲菌 200 μ L, 在建模后第 1 ~ 3 天, 收集肠道内容物进行 16S rDNA 法分析细菌多样性, 收集建模后 1 ~ 7 d 的动物粪便, 探针法 qPCR 检测粪便空肠弯曲菌 *HipO* 基因, 取建模后第 1 ~ 3 天及第 7 天小鼠肠道组织, 免疫荧光法检测肠弯曲菌定植, HE 染色观察病理学改变。**结果** 建模后实验组回肠的乳酸杆菌属、盲肠及结肠的拟杆菌属被抑制, 肠球菌属相对丰度较高, 第 1 天实验组检测到较高丰度的弯曲菌属。在建模后第 1 ~ 3 天, 实验组动物粪便中能检测到较高拷贝数的空肠弯曲菌, 肠道管腔内可见明显的免疫荧光标记的空肠弯曲菌, 而肠道黏膜基本完整, 未见明显的炎症细胞浸润。**结论** 经头孢哌酮钠舒巴坦钠诱导的微生物组耗损后能促进空肠弯曲菌在小鼠肠道内的短期定植。

【关键词】 空肠弯曲菌; 小鼠; 定植; 探针法 qPCR; 16S rDNA 分析

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2021) 06-0793-07

Antibiotic-induced microbiome depletion promotes the colonization of *Campylobacter jejuni* in the intestines of mice

CHEN Haohao¹, ZHANG Yanfang¹, PAN Xiaoming¹, GAO Suhua¹, ZHANG Hui², LOU Hongqiang^{1*}

(1. Medical Molecular Biology Laboratory, School of Medicine, Jinhua Polytechnic, Jinhua 321007, China.

2. Animal Center, Jinhua Food and Drug Inspection and Testing Research Institute, Jinhua 321000)

Corresponding author: LOU Hongqiang. Email: xyjwk@163.com

【Abstract】 Objective To establish a method of *Campylobacter jejuni* colonization in the intestine of C57BL/6 mice through antibiotic-induced microbiome depletion. **Methods** Thirty-six C57BL/6 female mice were divided into normal, control and experimental groups. After 2 days of cefoperazone sodium and sulbactam sodium intragastric administration (50 mg/mL), 200 μ L of *Campylobacter jejuni* were administered intragastrically. 16S rDNA analysis was performed to detect intestinal contents on days 1 ~ 3 post modeling. Animal feces were collected, and the *HipO* gene of *Campylobacter jejuni* was detected by TaqMan qPCR on days 1 ~ 7 post modeling. Immunofluorescence was used to detect the colonization of *Campylobacter jejuni* in the intestinal tissues of mice at 1, 2, 3 and 7 days, and the pathological changes

[基金项目] 浙江省基础公益研究计划项目 (LGF18H190004), 金华市科学技术研究计划项目 (2021-4-112)。

Funded by Basic Public Welfare Research Project of Zhejiang Province (LGF18H190004), Science and Technology Research Project of Jinhua City (2021-4-112)。

[作者简介] 陈浩浩 (1984—), 男, 讲师, 硕士, 研究方向: 人兽共患病。Email: 20101044@jhc.edu.cn

[通信作者] 楼宏强 (1977—), 男, 教授, 博士, 研究方向: 病原生物学。Email: xyjwk@163.com

were observed by HE staining. **Results** In the experimental group, the *Lactobacillus* of the ileum and *Bacteroides* of the cecum and colon were inhibited. Additionally, the relative abundance of *Enterococcus* was increased, and a higher abundance of *Campylobacter* was detected on day 1. Higher *Campylobacter jejuni* copy numbers were detected in the feces of the experimental group by TaqMan qPCR on days 1~3, and immunofluorescence-labeled *Campylobacter jejuni* were clearly observed in the intestinal lumen. The intestinal mucosa was mainly intact and showed no obvious inflammatory cell infiltration. **Conclusions** Microbiome depletion induced by cefoperazone sodium and sulbactam sodium promoted the short-term colonization of *Campylobacter jejuni* in the intestine of mice.

【Keywords】 *Campylobacter jejuni*; mice; colonization; TaqMan qPCR; 16S rDNA analysis

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

我国的李春岩院士团队在 20 世纪 90 年代时从吉兰-巴雷综合征患者粪便里成功分离出了空肠弯曲菌(*Campylobacter jejuni*, *C. jejuni*), 并经口灌胃构建了周围神经损伤的依沙巴布考克鸡模型^[1]。此外研究人员用空肠弯曲菌菌株灌胃家兔^[2]、小型猪^[3]以及豚鼠^[4]等, 也观察到了实验动物出现神经病理损伤。然而对于这些实验动物的使用是比较有限的, 不仅成本高、可重复性差, 还缺乏足够的免疫和遗传工具来深入研究这些动物^[5]。小鼠通常作为首选的感染动物模型, 却没有在空肠弯曲菌感染相关模型中得到广泛应用^[6-7]。研究显示, 小鼠肠道菌群, 尤其是拟杆菌属、梭状芽孢杆菌及乳酸杆菌等, 竞争性阻止了空肠弯曲菌在小鼠肠道内的定植, 从而使小鼠不易感空肠弯曲菌^[8-9]。

抗生素诱导的微生物组耗损(antibiotic-induced microbiome depletion)是近几年兴起的一种可替代无菌小鼠用于研究肠道微生物群在某些病理条件下作用的新方法^[10-12]。通常认为, 动物肠道内的共生菌群能阻止外源性病原体的侵入, 是宿主防御的重要组成部分^[13]。肠道菌群以多种方式抵抗病原体, 包括消耗病原体生存必需的营养、产生细菌素和有机酸、改变肠腔内的 pH 值或者利用肠道内有限的氧气等^[14-15], 而抗生素打破了肠道菌群的平衡, 还导致细菌裂解、碳源释放以及胆汁酸水平的升高^[16]。本研究利用头孢哌酮钠舒巴坦钠诱导肠道微生物组耗损, 建立一种空肠弯曲菌在 C57BL/6 小鼠肠道定植的方法, 为后续空肠弯曲菌致病性相关的研究提供基础条件。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

36 只 8 ~ 10 周龄 SPF 级 C57BL/6 雌性小鼠, 体重 18 ~ 20 g, 购自杭州医学院【SCXK(浙)2019-

0002】, 饲养于金华市食品药品检验检测研究院动物中心【SYXK(浙)2021-0009】, 给予灭菌饮用水及食物, 昼夜各半循环照明, 湿度恒定, 温度控制在 22 ~ 25℃。所有的动物实验经金华职业技术学院实验动物伦理委员会批准(审批号: JHCDW2021003), 在整个实验过程中, 如果小鼠表现出极度痛苦或体重下降超过 15% 的迹象, 就对其实施安乐死。空肠弯曲菌购自中国工业微生物菌种保藏中心(CICC22936, ATCC33291), 接种于哥伦比亚血琼脂平板上, 微需氧条件下 42℃ 培养 48 h。

1.1.2 主要试剂与仪器

注射用头孢哌酮钠舒巴坦钠购自辉瑞制药, QIAamp® FAST DNA Stool Mini Kit 购自 QIAGEN 公司, 细菌基因组 DNA 提取试剂盒购自天根生化科技(北京)有限公司, iTaq Universal Probes supermix 及兔抗空肠弯曲菌多克隆抗体购自 Bio-Rad 公司, 驴抗兔 IgG H&L 二抗购自 Abcam 公司, PCR 引物及荧光探针由上海生工生物工程有限公司合成, 16S rDNA 法测序及分析委托上海天昊生物科技有限公司完成。荧光定量 PCR 仪(CFX96, Bio-Rad 公司, 美国), 正置荧光显微镜(BX53, 奥林巴斯, 日本)。

1.2 方法

1.2.1 动物模型构建及分组

将小鼠随机分为 3 组, 分别为正常组($n=6$)、对照组($n=15$)及实验组($n=15$), 适应性喂养 7 d 后, 实验组灌胃 200 μ L 的注射用头孢哌酮钠舒巴坦钠(50 mg/mL), 第 2 天重复灌胃 1 次, 对照组使用 200 μ L 生理盐水灌胃替代, 正常组不做任何处理。第 3 天实验组和对照组分别灌胃 200 μ L 含空肠弯曲菌(4.0 麦氏浊度, 约 1.2×10^9 CFU/mL)生理盐水溶液, 建模完成^[12,17]。

1.2.2 小鼠肠道细菌多样性分析

在建模后第 1、2、3 天, 麻醉小鼠(每组 3 只), 脱颈安乐死, 立即解剖小鼠, 取末端回肠、近端结肠

及盲肠,收集内容物,参照 QIAamp® FAST DNA Stool Mini Kit 说明书步骤分离纯化 DNA,送生物技术公司进行 16S rDNA 法鉴定细菌种属。

1.2.3 探针法 qPCR 检测粪便空肠弯曲菌

建模后第 1~7 天,每日收集小鼠新鲜粪便,提取粪便细菌 DNA。另于第 7、14 天取末端回肠、近端结肠及盲肠,收集内容物,微需氧条件下 42℃ 液体培养液增菌培养 24 h,收集菌液,采用细菌基因组 DNA 提取试剂盒提取 DNA。取 5 μL 作为模板,分别 10 μmol/L *HipO* 上下游引物及探针各 0.5 μL (序列见表 1),2 × iTaq Universal Probes supermix 10 μL,ddH₂O 3.5 μL。94℃ 3min;93℃ 30 s,55℃ 45 s,40 个循环;Bio-Rad CFX96 PCR 仪上进行扩增,同时扩增已知梯度浓度的空肠弯曲菌 DNA,构建 Cq 值和拷贝数的对数拟合曲线方程,之后根据各样本扩增产物 Cq 值进行拷贝数的绝对定量。

1.2.4 组织学检测

分别在建模后第 1、2、3、7 天,取动物的回肠、结肠及盲肠组织,4%多聚甲醛溶液固定,梯度乙醇脱水,石蜡包埋、切片,经脱蜡,水化,柠檬酸钠缓冲液抗原修复,TritonX-100 透膜,加封闭液后湿盒中

37℃ 孵育 30 min。弃封闭液,加一抗(兔抗空肠弯曲菌,1:100)4℃ 孵育过夜,加二抗(Donkey Anti-Rabbit IgG H&L Alexa Fluor® 647,1:200)37℃ 孵育 1 h,DAPI 染色,抗淬灭荧光封片剂封片,荧光显微镜拍照计数。对建模后第 3、7 天的回肠、盲肠及结肠石蜡切片进行苏木精、伊红染色后拍照。

1.3 统计学分析

所有数据均采用平均值 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,两组间数据分析采用独立样本 *t* 检验, $P < 0.05$ 表示差异具有显著性。

2 结果

2.1 16S rDNA 法鉴定回肠、结肠及盲肠细菌种属

委托生物公司进行了肠道内容物 16S rDNA 测序法分析了细菌群落组成(见图 1),结果显示,对照组回肠内容物中乳酸杆菌属(*Lactobacillus*)相对丰度较高,盲肠及结肠内容物中拟杆菌属(*Bacteroides*)相对丰度较高,实验组肠道内容物中皆是肠球菌属(*Enterococcus*)相对丰度较高。另外,在建模后第 1 天实验组肠道中检测到较高丰度的弯曲菌属(*Campylobacter*)。

表 1 空肠弯曲菌 *HipO* 基因特异性引物及探针序列

Table 1 *HipO* gene-specific primers and probe sequences of *C. jejuni*

名称 Name	引物序列(5'-3') Primers sequences(5'-3')
<i>HipO</i> 上游引物 <i>HipO</i> sense primer	GAATTGTACCTTAAGTGCAGC
<i>HipO</i> 下游引物 <i>HipO</i> antisense primer	AGGCACGCCTAACTATAGCT
探针 Probe	FAM-CTCCTTGCTCATCTTTAGGATAAATTCCTTCAC-TAMRA

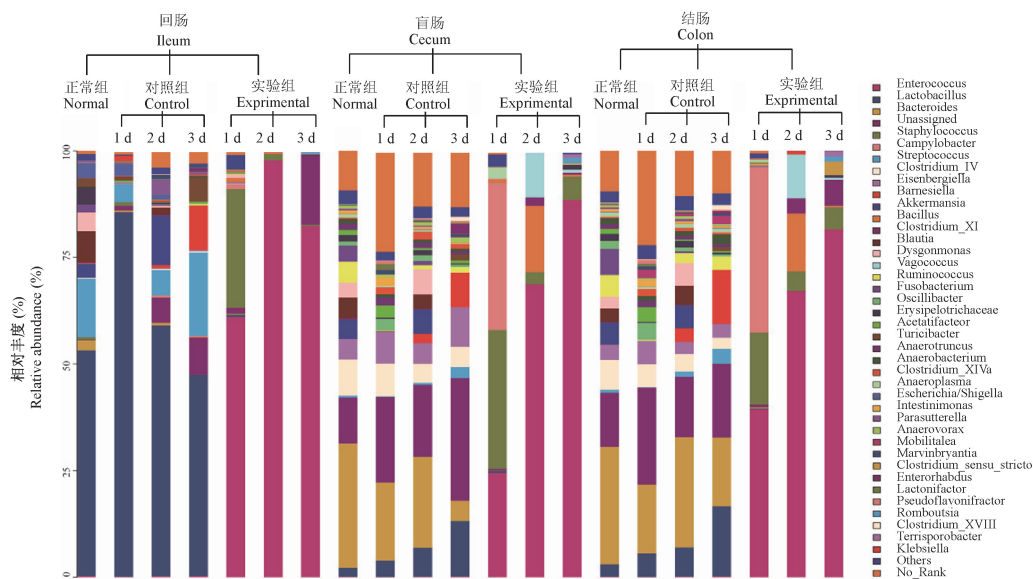


图 1 16S rDNA 测序分析 3 组肠道内容物细菌群落结构结果

Figure 1 Bacterial community structure of the intestinal contents in 3 groups analyzed by 16S rDNA sequencing method

2.2 小鼠粪便检出空肠弯曲菌

建模后收集小鼠粪便,持续 7 d,利用探针法 qPCR 检测空肠弯曲菌 *HipO* 基因,得出 Cq 值(见图 2)和拷贝数的对数拟合曲线方程 $y = -0.303x + 13.379$ ($R^2 = 0.9995$),将各样本的 Cq 值代入公式后计算拷贝数。结果显示,在建模后第 1~3 天的实验组动物粪便中能检测到较高拷贝数的空肠弯曲菌($P < 0.01$,见表 2),而对照组动物粪便仅在第 1 天检出较高拷贝数的空肠弯曲菌。对实验组第 7、14 天肠道内容物增菌培养后,在第 7 天的盲肠和结肠内容物中检测到了较高拷贝数的空肠弯曲菌,分别为 (1850 ± 116) 及 (1238 ± 182) ,在第 14 天的结肠内容物空肠弯曲菌拷贝数 (2990 ± 195) 。

2.3 空肠弯曲菌在小鼠肠道定植

我们对建模后第 1、2、3 及 7 天时小鼠的回肠、结肠及盲肠组织进行了空肠弯曲菌(红色)的免疫荧光染色。结果显示,第 1、2 及 3 天实验组的回肠、结肠、盲肠管腔内可见明显的红色荧光标记的空肠弯曲菌,第 7 天时肠道内未见明显的红色标记(见图 3)。

表 2 绝对定量 2 组空肠弯曲菌 *HipO* 基因拷贝数

Table 2 Absolute quantification of *C. jejuni HipO* gene copy number in 2 groups

组别 Groups	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D14
对照组 Control	2236 ± 243	391 ± 222	1243 ± 815	594 ± 520	796 ± 369	461 ± 181	367 ± 233	381 ± 145
实验组 Experimental	$2.54 \times 10^6 \pm 2.32 \times 10^5^*$	$4.61 \times 10^5 \pm 1.46 \times 10^5^*$	$8717 \pm 1030^*$	912 ± 384	635 ± 185	632 ± 192	712 ± 172	615 ± 302

注:与对照组相比, * $P < 0.01$ 。

Note. Compared with control, * $P < 0.01$.

图 3);对照组在第 1 天结肠可见少量的红色标记,其他时间段未见红色明显红色荧光标记。

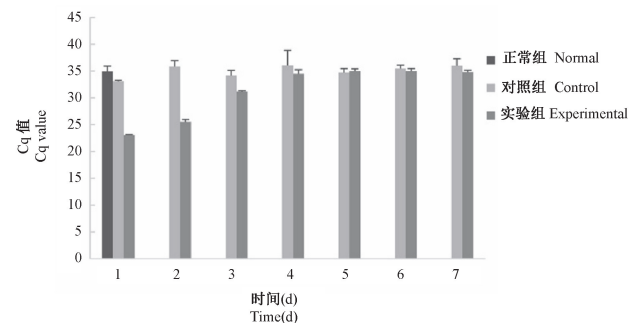
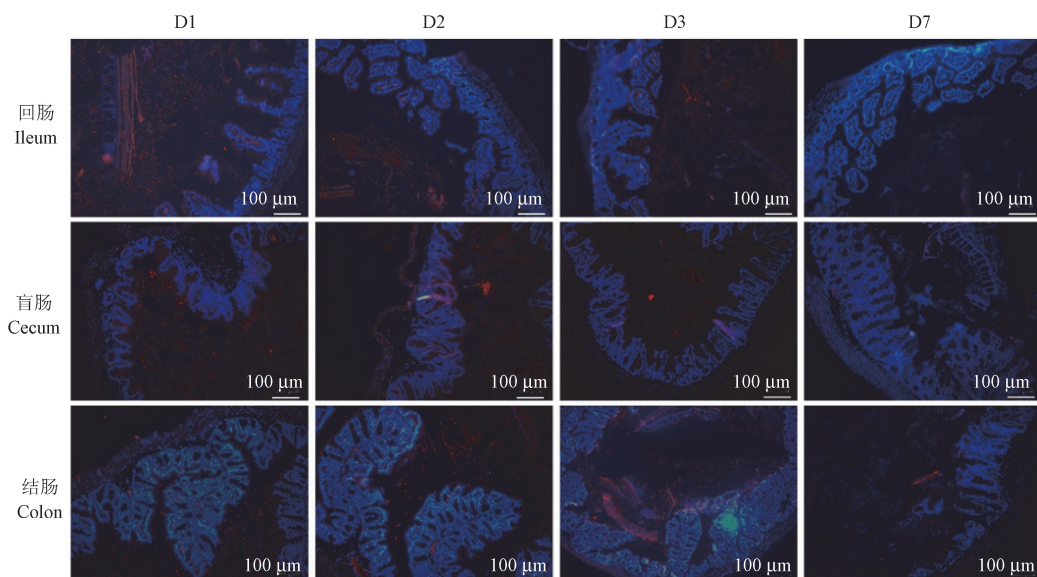


图 2 探针法 qPCR 检测 3 组空肠弯曲菌 *HipO* 基因的 Cq 值

Figure 2 Cq value of *C. jejuni HipO* gene in 3 groups detected by TaqMan qPCR

2.4 空肠弯曲菌短期定植未引起小鼠肠道炎症反应

建模后第 3、7 天的回肠、盲肠及结肠 HE 染色结果显示,实验组小鼠肠道黏膜基本完整,未见明显的炎症细胞浸润(见图 4)。



注:其中红色荧光为空肠弯曲菌,蓝色为 DAPI 染色。

图 3 建模后第 1、2、3 及 7 天小鼠肠道组织免疫荧光染色

Note. The red fluorescence is *C. jejuni*, the blue is DAPI staining.

Figure 3 Immunofluorescence staining of mouse intestinal tissue at 1, 2, 3 d and 7 d post modeling

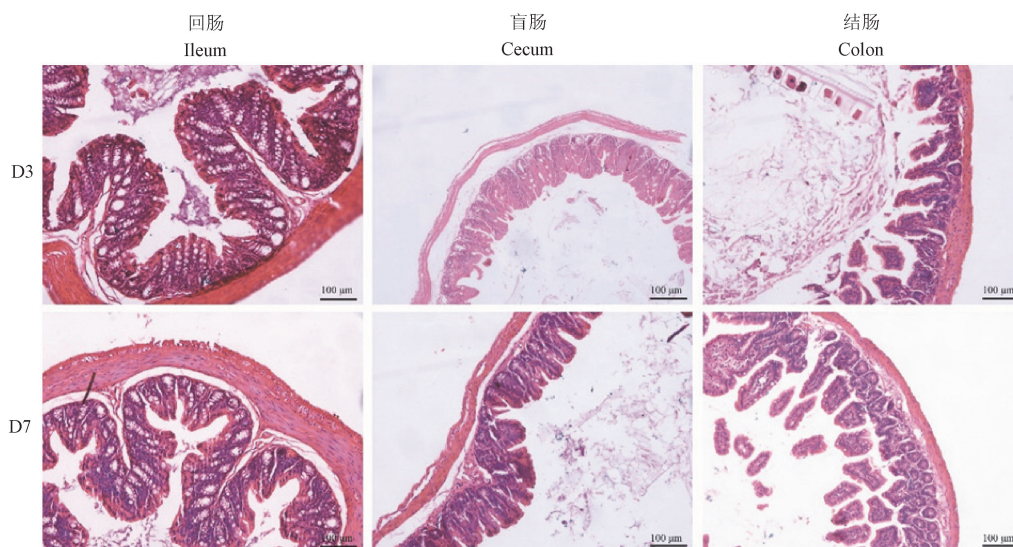


图 4 建模后第 3、7 天小鼠肠道组织 HE 染色

Figure 4 HE staining of mouse intestinal tissue at 3, 7 d post modeling

3 讨论

空肠弯曲菌的宿主较广泛,包括禽类和哺乳类动物,也是弯曲杆菌属中最主要的引起全球范围内人类胃肠炎的致病菌之一。空肠弯曲菌不能在小鼠的消化道内定植,小鼠肠道菌群被认为是阻止了空肠弯曲菌定植的重要因素之一^[16,18],动物的肠道有大量微生物定居,每克结肠粪便中的细菌含量超过 10^{11} 个^[13]。在本研究中,利用头孢哌酮钠舒巴坦钠连续灌胃 2 d,诱导小鼠肠道微生物组耗损,引起肠道菌群平衡失调^[19],使空肠弯曲杆菌能够在小鼠肠道中定植。通过肠道内容物细菌群落组成分析结果表明,回肠中的乳酸杆菌,盲肠及结肠中的拟杆菌属,可能是对病原体提供定植抗性的重要菌群^[20-21]。

一般认为在新鲜粪便中出现或直接从动物肠道中培养出空肠弯曲菌,即可认为空肠弯曲菌在消化道内定植成功。在本研究中,在建模后的前 3 d 的小鼠粪便中都检出了较高拷贝数的空肠弯曲菌,此外在肠道组织切片中,通过免疫荧光染色也证实了空肠弯曲菌在小鼠肠道的定植。在对建模后第 7、14 天小鼠肠道内容物进行增菌培养后,仍能在结肠内容物中检出了少量的空肠弯曲菌,但组织病理学检测也未发现明显的炎性细胞浸润,提示空肠弯曲菌可能没有进入肠道组织的深部。空肠弯曲菌依

赖鞭毛的定向趋化运动,穿越黏膜表面黏液层到达空肠及回肠黏膜细胞表面定植。趋化蛋白 (chemotaxis protein, CheY) 负责将感觉信号从空肠弯曲菌的化学感受器传送到鞭毛,能调节鞭毛的顺时针旋转,研究显示,空肠弯曲菌的 CheY 失活后,其鞭毛的运动性和侵袭力没有改变,但丧失了化学趋化性,造成它不能在动物的肠道细胞内定植^[22-23]。刘硕^[24]采用经口灌胃攻毒昆明小鼠,收集粪便分离培养空肠弯曲菌,之后用分离菌株继续攻毒新一批小鼠,连续传代十八代,从而得到了毒力增强且稳定遗传的分离株。本研究采用建模的菌株为空肠弯曲菌质控标准菌株 ATCC33291,如果采用其他侵袭性及致病性更强的菌株,可能就会有不同的实验结果。

消化道具有复杂的免疫系统,包括免疫细胞、免疫组织和免疫作用因子等,它们之间通过持续有效的相互作用消除侵入的致病菌^[25-26]。当小鼠体内的免疫系统出现变化时,空肠弯曲菌就可以在其肠道内定植,有研究者在空肠弯曲菌攻击免疫缺陷的转基因小鼠前给予口服氨苄西林、万古霉素等广谱抗生素,结果发现空肠弯曲菌在结肠、肠系膜淋巴结及脾等部位定植^[8,17,27]。此外,空肠弯曲菌能有效地在无菌小鼠的肠道内定植,并向其免疫组织器官传播^[28]。可是不管是免疫基因缺陷小鼠还是无菌小鼠,都极大地改变了小鼠的免疫系统,不能

有效模拟空肠弯曲菌在健康人肠道的感染以及后续诱发的相关疾病。另外,近期高通量肠道宏基因组测序分析提示性别因素是对肠道菌群影响最大的^[29],在本研究中,为了肠道菌群保持相对一致,同组小鼠保持同笼饲养,另外饲养周期大于 2 周,所以选取了雌性的小鼠。那么性别或者激素是否会影响空肠弯曲菌的定植,这是一个值得继续深入研究的问题。

综上所述,本研究证实了经头孢哌酮钠舒巴坦钠诱导的微生物组耗损后能促进空肠弯曲菌在小鼠肠道内的短期定植,但如果要维持持续定植并产生致病性仍需要更深入的研究,寻找更合适的方案。

参 考 文 献(References)

- [1] 李春岩,薛平,刘瑞春,等.空肠弯曲菌致鸡格林-巴利综合征动物模型的初步研究[J].脑与神经疾病杂志,1994,2(2):68-69.
Li CY, Xue P, Liu RC, et al. A preliminary study on an animal model of Guillain-Barre syndrome caused by *Campylobacter jejuni* [J]. J Brain Nerv Dis, 1994, 2(2): 68-69.
- [2] 刘怀军,陈薇,刘瑞春,等.构建空肠弯曲菌致兔中枢神经系统病变的动物模型(英文)[J].中国临床康复,2006,10(16):174-177,197.
Liu HJ, Chen W, Liu RC, et al. Construction of rabbit animal model of lesion of central nervous system induced by *Campylobacter jejuni* [J]. Chin J Clin Rehabil, 2006, 10(16): 174-177, 197.
- [3] 薛峰,曾德新,徐飞,等.空肠弯曲菌致 GBS 动物模型的建立[J].中国动物检疫,2015,32(2):19-23.
Xue F, Zeng DX, Xu F, et al. Establishment of the animal model for *C. jejuni* induced GBS [J]. Chin Anim Health Inspection, 2015, 32(2): 19-23.
- [4] 杜凤萍. 吉兰-巴雷综合征源空肠弯曲菌周围神经病 Hartley 豚鼠模型建立[D]. 石家庄:河北医科大学;2013.
Du FP. Axonal degeneration followed by *Campylobacter jejuni* lulei Hartley guinea pig model [D]. Shijiazhuang: Hebei Medical University; 2013.
- [5] Dorrell N, Wren BW. The second century of *Campylobacter* research: recent advances, new opportunities and old problems [J]. Curr Opin Infect Dis, 2007, 20(5): 514-518.
- [6] 程雪婷,陈妍灵,黄晓东.空肠弯曲杆菌感染小鼠模型的研究进展[J].中国实验动物学报,2021,29(1):122-127.
Cheng XT, Chen YL, Huang XD. Advances in mouse models of *Campylobacter jejuni* infection [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2021, 29(1): 122-127.
- [7] 商宇伟,王楠,黄金林,等.空肠弯曲菌感染动物模型的研究进展[J].中国实验动物学报,2013,21(4):86-90.
Shang YW, Wang N, Huang JL, et al. Progress in animal models of *Campylobacter jejuni* infection [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2013, 21(4): 86-90.
- [8] O' Loughlin JL, Samuelson DR, Braundmeier-Fleming AG, et al. The intestinal microbiota influences *Campylobacter jejuni* colonization and extraintestinal dissemination in mice [J]. Appl Environ Microbiol, 2015, 81(14): 4642-4650.
- [9] Masanta WO, Heimesaat MM, Bereswill S, et al. Modification of intestinal microbiota and its consequences for innate immune response in the pathogenesis of campylobacteriosis [J]. Clin Dev Immunol, 2013, 2013: 526860.
- [10] Hernández-Chirilaque C, Aranda CJ, Ocón B, et al. Germ-free and antibiotic-treated mice are highly susceptible to epithelial injury in DSS colitis [J]. J Crohns Colitis, 2016, 10(11): 1324-1335.
- [11] Wang S, Qu Y, Chang L, et al. Antibiotic-induced microbiome depletion is associated with resilience in mice after chronic social defeat stress [J]. J Affect Disord, 2020, 260: 448-457.
- [12] Zarrinpar A, Chaix A, Xu ZZ, et al. Antibiotic-induced microbiome depletion alters metabolic homeostasis by affecting gut signaling and colonic metabolism [J]. Nat Commun, 2018, 9(1): 2872.
- [13] Xu J, Gordon JI. Honor thy symbionts [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003, 100(18): 10452-10459.
- [14] Kalliomäki MA, Walker WA. Physiologic and pathologic interactions of bacteria with gastrointestinal epithelium [J]. Gastroenterol Clin North Am, 2005, 34(3): 383-399.
- [15] Gantois I, Ducatelle R, Pasmans F, et al. Butyrate specifically down-regulates salmonella pathogenicity island 1 gene expression [J]. Appl Environ Microbiol, 2006, 72(1): 946-949.
- [16] Britton RA, Young VB. Role of the intestinal microbiota in resistance to colonization by *Clostridium difficile* [J]. Gastroenterology, 2014, 146(6): 1547-1553.
- [17] Brooks PT, Bell JA, Bejcek CE, et al. An antibiotic depleted microbiome drives severe *Campylobacter jejuni*-mediated Type 1/17 colitis, Type 2 autoimmunity and neurologic sequelae in a mouse model [J]. J Neuroimmunol, 2019, 337: 577048.
- [18] Lawley TD, Clare S, Walker AW, et al. Targeted restoration of the intestinal microbiota with a simple, defined bacteriotherapy resolves relapsing *Clostridium difficile* disease in mice [J]. PLoS Pathog, 2012, 8(10): e1002995.
- [19] Robinson CJ, Bohannan BJ, Young VB. From structure to function: the ecology of host-associated microbial communities [J]. Microbiol Mol Biol Rev, 2010, 74(3): 453-476.
- [20] Antonopoulos DA, Huse SM, Morrison HG, et al. Reproducible community dynamics of the gastrointestinal microbiota following antibiotic perturbation [J]. Infect Immun, 2009, 77(6): 2367

- 2375.
- [21] Dethlefsen L, Huse S, Sogin ML, et al. The pervasive effects of an antibiotic on the human gut microbiota, as revealed by deep 16S rRNA sequencing [J]. PLoS Biol, 2008, 6(11): e280.
- [22] Reuter M, Ultee E, Tosefa Y, et al. Inactivation of the core cheVAWY chemotaxis genes disrupts chemotactic motility and organised biofilm formation in *Campylobacter jejuni* [J]. FEMS Microbiol Lett, 2020, 367(24): fnaa198.
- [23] Korolik V. The role of chemotaxis during *Campylobacter jejuni* colonisation and pathogenesis [J]. Curr Opin Microbiol, 2019, 47: 32-37.
- [24] 刘硕. 空肠弯曲菌连续灌胃经小鼠消化道定植后分离及分离株毒力变化的研究 [D]. 石家庄: 河北医科大学; 2016.
- Liu S. Study planting Isolation and virulence of isolates after *Campylobacter jejuni* gastrointestinal colonization of mice by continuous gavage [D]. Shijiazhuang: Hebei Medical University; 2016.
- [25] Diehl GE, Longman RS, Zhang JX, et al. Microbiota restricts trafficking of bacteria to mesenteric lymph nodes by CX(3)CR1 (hi) cells [J]. Nature, 2013, 494(7435): 116-120.
- [26] Buffie CG, Pamer EG. Microbiota-mediated colonization resistance against intestinal pathogens [J]. Nat Rev Immunol, 2013, 13(11): 790-801.
- [27] Stahl M, Ries J, Vermeulen J, et al. A novel mouse model of *Campylobacter jejuni* gastroenteritis reveals key pro-inflammatory and tissue protective roles for Toll-like receptor signaling during infection [J]. PLoS Pathog, 2014, 10(7): e1004264.
- [28] Chang C, Miller JF. *Campylobacter jejuni* colonization of mice with limited enteric flora [J]. Infect Immun, 2006, 74(9): 5261-5271.
- [29] Zhang XY, Zhong HZ, Li Y, et al. Sex- and age-related trajectories of the adult human gut microbiota shared across populations of different ethnicities [J]. Nat Aging, 2021, 1: 87-100.

[收稿日期] 2021-06-09