

肠毒素大肠杆菌攻毒小鼠模型的建立以及疫苗候选株保护效果的评价

王志斌, 姜普林, 曾年华, 李淑琴, 王令春, 李燕, 熊仕秋, 张兆山

张兆山, 李淑琴, 王令春, 北京生物工程研究所 北京市 100071
王志斌, 姜普林, 曾年华, 广州军区疾病预防控制中心 广东省广州市 510507
李燕, 熊仕秋, 中山大学基础医学院 广东省广州市 510089
王志斌, 1995年毕业于同济医科大学, 学位学士, 助理研究员, 主要从事流行病学研究。
国家高新技术研究发展计划资助项目(863计划), No. 2004AA215212
通讯作者: 张兆山, 100071, 北京市丰台区东大街20号, 北京生物工程研究所. zhangzs@nic.bmi.ac.cn
电话: 010-66948834 传真: 010-63833521
收稿日期: 2006-07-25 接受日期: 2006-08-10

Establishment of mice models following intranasal challenge with enterotoxigenic *Escherichia coli* strains and evaluation of protective effect following intranasal immunization with vaccine candidates

Zhi-Bin Wang, Pu-Lin Jiang, Nian-Hua Zeng, Shu-Qin Li, Ling-Chun Wang, Yan Li, Shi-Qiu Xiong, Zhao-Shan Zhang

Zhao-Shan Zhang, Shu-Qin Li, Ling-Chun Wang, Beijing Institute of Biotechnology, Beijing 100071, China
Zhi-Bin Wang, Pu-Lin Jiang, Nian-Hua Zeng, Center for Disease Prevention and Control, Guangzhou Military Command, Guangzhou 510507, Guangdong Province, China
Yan Li, Shi-Qiu Xiong, Pre-clinical College of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510089, Guangdong Province, China
Supported by the Hi-Tech Research and Development Program (863 Program) of China, No. 2004AA215212
Correspondence to: Zhao-Shan Zhang, Beijing Institute of Biotechnology, 20 Dongda Street, Beijing 100071, China. zhangzs@nic.bmi.ac.cn
Received: 2006-07-25 Accepted: 2006-08-10

Abstract

AIM: To establish the mice models following intranasal challenge with enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) strains E44813, E44815, E11881A, and evaluate the immune effect of vaccine candidates FE1, FE3, FE6 following intranasal immunization.

METHODS: The histopathological response in the lungs and the clearance of ETEC from the lungs was measured following intranasal challenge of BALB/c mice with LD₅₀-dose ETEC strains E44813, E44815 and E11881A. The protective effect of vaccine candidates FE1, FE3 and FE6 were evaluated using the established models.

RESULTS: A large quantity of lymphocytes, macrophages, neutrophils, and plasma cells were found in the lungs of mice. Multifocal bronchopneumonia was the main pathological feature under microscope following intranasal challenge with ETEC strains E44813, E44815, and E11881A. The bacteria were cleared from the lungs of the mice at a slow rate over 1-wk period and till the 7th day, bacteria at 10⁵ levels were still detected. After high titers of antibodies were detected in mice intranasally immunized with vaccine candidates FE1, FE3, and FE6, the mice were challenged by LD₅₀-dose E44813, E44815, and E11881A intranasally. No deaths occurred, and low numbers of lymphocytes were the main pathological feature. The bacteria were rapidly cleared from the lungs of the mice over 1-wk period, and no bacteria were detected at the 7th day. The numbers of the bacteria were significantly different between the experimental group and control group (0 CFU/g vs 6.2×10⁵, 5.4×10⁵, 2.3×10⁵ CFU/g, *P* < 0.05).

CONCLUSION: Intranasal challenge of Balb/c mice with ETEC strains may provide a useful method to evaluate the vaccine. This study also demonstrates that the vaccine candidate FE1, FE3 and FE6 have good protective effect.

Key Words: Enterotoxigenic *Escherichia coli*; Challenge test; Mouse model; Vaccine candidate; Protective effect

Wang ZB, Jiang PL, Zeng NH, Li SQ, Wang LC, Li Y, Xiong SQ, Zhang ZS. Establishment of mice models following intranasal challenge with enterotoxigenic *Escherichia coli* strains and evaluation of protective effect following intranasal immunization with

■背景资料

目前国内外尚未有适合于ETEC疫苗免疫保护评价的理想动物模型. 限制了ETEC疫苗的研究和评价. 鼻饲攻击小鼠作为研究病理和免疫反应的模型已经应用于其他肠道病原体.

■研究前沿

建立理想的攻毒动物模型,是疫苗研制中重要环节。研究ETEC攻毒试验小动物模型,为观察ETEC致病性和评价疫苗候选株的免疫效果提供了简便易行的新途径,对ETEC候选疫苗的研发有推动作用。

vaccine candidates. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006;14(28):2753-2758

摘要

目的: 建立肠毒素大肠杆菌攻毒小鼠模型以及应用模型对疫苗候选株免疫效果进行评价。

方法: 通过鼻饲半数致死量(LD₅₀)肠毒素大肠杆菌E44813, E44815和E11881A观察小鼠肺病理学变化、肺部细菌清除情况变化,建立肠毒素大肠杆菌鼻饲小鼠模型;应用鼻饲小鼠模型观察疫苗候选株FE1, FE3, FE6保护效果。

结果: 鼻饲LD₅₀剂量肠毒素大肠杆菌小鼠的病理特征是肺组织存在大量的淋巴细胞、巨噬细胞、中性粒细胞和浆细胞,为多病灶支气管炎,肺部细菌清除缓慢,至第7天仍能检测到10⁵数量级的细菌。应用疫苗候选株免疫后进行攻毒,小鼠没有发病和死亡,病理特征主要是淋巴细胞少量增多,肺部细菌清除迅速,至第7天已检测不到细菌,与对照有显著性差异(0 CFU/g vs 6.2×10⁵, 5.4×10⁵, 2.3×10⁵ CFU/g, *P*<0.05)。

结论: 肠毒素大肠杆菌鼻饲小鼠模型能够为疫苗筛选和评价提供了有效途径,同时也证实了疫苗候选株FE1, FE3, FE6具有良好的免疫保护效果。

关键词: 肠毒素大肠杆菌; 攻毒实验; 小鼠模型; 疫苗菌株; 保护效果

王志斌, 姜普林, 曾年华, 李淑琴, 王令春, 李燕, 熊仕秋, 张兆山. 肠毒素大肠杆菌攻毒小鼠模型的建立以及疫苗候选株保护效果的评价. *世界华人消化杂志* 2006;14(28):2753-2758
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/2753.asp>

0 引言

肠毒素大肠杆菌(enterotoxigenic *Escherichia coli*, ETEC)是引起儿童细菌性腹泻的最主要致病菌之一^[1], 常因食品或水源污染导致暴发或流行, 是迫切需要解决的公共卫生问题^[2]。尽管肠毒素大肠杆菌疫苗的研制, 被WHO列为优先开发的项目, 目前还没有肠毒素大肠杆菌疫苗应用于人群免疫。限制疫苗研制的瓶颈之一是缺乏理想的适于评价ETEC致病性和疫苗候选株的动物模型, 2003年Byrd *et al*^[3]利用野生型ETEC菌株H10407和B7A鼻饲攻击BALB/c小鼠, 在一定剂量范围内可以引起小鼠肺部细胞的病变甚至死亡, 认为可以作为动物模型评价疫苗候选株

的免疫效果。在本研究中, 通过鼻饲野生型肠毒素大肠杆菌E44813, E44815和E11881A攻击BALB/c♀小鼠, 检测小鼠肺中的肠毒素大肠杆菌的清除率, 观察肺组织的病理学变化, 建立肠毒素大肠杆菌攻毒小鼠模型, 确立野生型肠毒素大肠杆菌攻击的LD₅₀。在此基础上, 应用肠毒素大肠杆菌鼻饲小鼠模型评价肠毒素大肠杆菌疫苗候选株FE1, FE3, FE6的免疫保护效果。

1 材料和方法

1.1 材料 野生型肠毒素大肠杆菌E44813, E44815和E11881A, 疫苗候选株FE1, FE3和FE6(表1)。BALB/c♀小鼠(8-10 wk)均由中山医科大学动物中心提供。HRP-羊抗鼠IgG, IgA购自美国Zymed公司。实验中所有化学试剂均为分析纯。CFA培养基(水解酪蛋白10 g/L, 酵母粉1.5 g/L, MgSO₄·7H₂O 0.05 g/L, MnCl₂ 0.005 g/L, 琼脂15 g/L, 调节pH至7.4); 麦康凯培养基(蛋白胨20 g/L, 乳糖10 g/L, 胆盐5 g/L, NaCl 5 g/L, 中性红 0.075 g/L, 琼脂15 g/L, pH7.4)。

1.2 方法 肠毒素大肠杆菌E44813, E44815和E11881A分别用CFA培养基和麦康凯培养基37℃培养18 h, 其中麦康凯培养基是用来鉴定所培养细菌是否纯的肠毒素大肠杆菌。将CFA培养基上的细菌刮落并用无菌的50 mmol/L PBS(pH7.2)悬浮, 室温下轻轻振摇30 min, 并用无菌PBS稀释至使用浓度, 供动物实验使用。

1.2.1 发病率和死亡率检测 198只BALB/c♀小鼠随机分成3组, 分别为肠毒素大肠杆菌E44813, E44815和E11881A组, 每组66只, 各组依据鼻饲浓度由低到高再分为6小组(分别是12, 12, 12, 12, 12和6只)。用乙醚轻度麻醉小鼠, 依次用0, 5×10⁹, 1×10¹⁰, 2×10¹⁰, 4×10¹⁰和8×10¹⁰菌密度鼻饲小鼠(对照用PBS), 每只小鼠鼻饲50 μL; 观察小鼠的发病情况和死亡情况, 连续观察7 d, 并计算出半数致死量(LD₅₀)。

1.2.2 肺部细菌清除检测 84只BALB/c♀小鼠随机分成4组, 分别为肠毒素大肠杆菌E44813, E44815, E11881A组和对照PBS组, 每组21只; 用乙醚轻度麻醉小鼠, 依次用各菌株的LD₅₀的菌密度鼻饲小鼠, 每只小鼠鼻饲50 μL; 每天从各组取3只小鼠进行麻醉处死, 无菌操作将小鼠的肺取出, 放入无菌的玻璃组织碾磨器中, 加入1 mL无菌PBS进行碾磨, 使细菌完全进入悬浮液中; 将悬浮液倍比稀释, 接种至CFA培养基和麦康凯培养基上37℃培养18 h, 计算细菌总数。

表 1 菌株的表型特征和来源

菌株名称	主要表型特征	来源
肠毒素大肠杆菌		
E44813(野生型)	CFA/1, LT, ST	卫生部中国药品生物制品检定所
E44815(野生型)	CS3, LT, ST	卫生部中国药品生物制品检定所
E11881A(野生型)	CS6, LT, ST	瑞典Svennerhom教授惠赠
载体及疫苗候选株		
志贺菌FWL01	(ipa--virg) ⁻ , Sm ^R , Asd ⁻ , ctxB	王恒樑 <i>et al</i> ^[4]
疫苗株FE1	FWL01(CFA/1, Asd ⁺)	本课题组构建 ^[5]
疫苗株FE3	FWL01(CS3, LTB/ST, Asd ⁺)	本课题组构建 ^[6]
疫苗株FE6	FWL01(CFA/1, Asd ⁺)	本课题组构建 ^[7]

表 2 肠毒素大肠杆菌E44813, E44815和E11881A鼻饲BALB/c小鼠的死亡数

菌株和剂量	攻毒后的天数							合计
	1	2	3	4	5	6	7	
E44813								
0	0	0	0	0	0	0	0	0/12
5 × 10 ⁹	0	0	0	0	0	0	0	0/12
1 × 10 ¹⁰	0	2	1	2	1	0	0	6/12
2 × 10 ¹⁰	0	4	3	2	0	1	0	10/12
4 × 10 ¹⁰	0	8	4					12/12
8 × 10 ¹⁰	0	6						6/6
E44815								
0	0	0	0	0	0	0	0	0/12
5 × 10 ⁹	0	0	0	0	0	0	0	0/12
1 × 10 ¹⁰	0	1	1	0	0	0	0	2/12
2 × 10 ¹⁰	0	3	2	1	1	0	0	7/12
4 × 10 ¹⁰	0	7	4	1	0	0	0	12/12
8 × 10 ¹⁰	0	5	1					6/6
E11881A								
0	0	0	0	0	0	0	0	0/12
5 × 10 ⁹	0	0	0	0	0	0	0	0/12
1 × 10 ¹⁰	0	0	0	1	0	0	0	1/12
2 × 10 ¹⁰	0	1	2	1	0	0	1	5/12
4 × 10 ¹⁰	0	6	2	2	1	1	0	12/12
8 × 10 ¹⁰	0	3	2	1				6/6

1.2.3 病理检测 28只BALB/c♀小鼠随机分成4组, 分别为肠毒素大肠杆菌E44813, E44815, E11881A组和对照PBS组, 每组7只; 用乙醚轻度麻醉小鼠, 依次用各菌株的LD50的菌密度鼻饲小鼠,每只小鼠鼻饲50 μL,连续观察7 d. 每天麻醉处死1只/组, 无菌操作将小鼠的肺取出, 用40 g/L甲醛浸泡, 后用石蜡包埋, 5 μm切片, 并用苏木精和伊红染色. 用显微镜观察炎症反应和肺部的病理改变.

1.2.4 抗体检测 每组24只小鼠, 直接用肠毒素大肠杆菌E44813, E44815和E11881A鼻饲攻击, 每7 d检测1次血清抗体IgG和粪便中的IgA^[8-9], 共检测4次.

1.2.5 候选疫苗保护实验 21只BALB/c♀小鼠用疫苗候选株FE3, 用50 μL 2×10⁹的菌密度鼻饲免疫BALB/c♀小鼠2-3次, 检测血清和粪便中的IgG

和IgA, 如抗体显著升高, 则改用肠毒素大肠杆菌E44815的50 μL LD50的菌密度鼻饲攻击小鼠, 观察小鼠的发病情况和病理变化; 依照病理检测方法, 每天处死3只小鼠, 无菌操作将小鼠的肺取出, 其中一部分肺组织用40 g/L甲醛浸泡, 作病理变化观察使用; 与此同时, 称取另一部分肺组织, 放入无菌的玻璃组织碾磨器中, 加入1 mL无菌PBS进行碾磨, 使细菌完全进入悬浮液中, 将悬浮液倍比稀释, 接种至CFA培养基和麦康凯培养基上37℃培养18 h, 计算细菌总数. 以同样PBS免疫的一组小鼠做平行对照. 同样方法, 用FE1, FE6免疫后, 用E44813和E11881A攻击, 观察保护效果.

2 结果

2.1 肠毒素大肠杆菌的致病性和免疫反应

■创新盘点
本研究首次建立了肠毒素大肠杆菌攻毒小鼠模型, 为其他细菌疫苗的研制评价提供了新思路.

■应用要点

建立的ETEC鼻饲小鼠模型,为进一步理解感染肠毒素大肠杆菌后的病理和免疫反应以及为评价疫苗的保护效果提供了有效途径,具有较强的临床指导意义。

2.1.1 发病率和LD₅₀ 给小鼠鼻饲各种剂量活肠毒素大肠杆菌E44813, E44815和E11881A, 检测他们的发病率和LD₅₀. E44813比E44815和E11881A毒性更大, LD₅₀分别是 1.02×10^{10} CFU/mL, 1.69×10^{10} CFU/mL, 2.0×10^{10} CFU/mL(表2). 鼻饲毒株后小鼠均有发病, 发病率为100%, 临床症状主要有嗜睡、呼吸缓慢、弓背、反应迟钝、皮毛蓬松、光泽度较差易脱落、食欲下降、摄食差、严重者双眼有分泌物. 鼻饲PBS后小鼠只是在第1天有皮毛蓬松和食欲下降, 第2天恢复正常, 皮毛光洁、反应灵敏、食欲好、摄食正常.

2.1.2 细菌清除率 在7 d的观察期间, 实验组小鼠肺部细菌都以一个比较稳定的速度下降, 至第7天后仍然能从感染小鼠肺部中检测到大量细菌, 鼻饲E44813, E44815和E11881A组第7天为 6.2×10^5 CFU/g, 5.4×10^5 CFU/g, 2.3×10^5 CFU/g, 3组之间比较无显著性差异($P>0.05$); 而对照组未能检测到细菌.

2.1.3 病理变化 鼻饲肠毒素大肠杆菌E44813, E44815和E11881A后, 小鼠肺部发生了组织病理学改变, 通过显微镜观察多病灶支气管肺炎是主要的病理特征. 24 h以后观察, 肺组织有不同程度的炎症, 浸润的炎症细胞早期(1-4 d)以淋巴细胞为主(50%-90%), 巨噬细胞为辅(10%-50%), 伴有少量的中性粒细胞(10%); 后期(5-7 d)以中性粒细胞为主(50%-80%), 淋巴细胞为辅(20%-50%), 伴有少量的巨噬细胞(10%-20%); 个别肺组织存在少量浆细胞; 部分区域存在细胞变性, 以血管和支气管周围变性最为明显, 并伴有少量炎症细胞浸润; 部分肺组织血管高度扩张, 广泛淤血, 伴有出血、水肿. 用PBS鼻饲小鼠的肺没有发现任何病理改变.

2.1.4 抗体变化 鼻饲肠毒素大肠杆菌E44813, E44815和E11881A, 小鼠血清抗体IgG增长缓慢, 第28天分别为1:293, 1:267, 1:240.

2.2 疫苗候选株的免疫保护反应

2.2.1 发病率 应用疫苗候选株FE1, FE3, FE6免疫后, 产生保护性抗体后用相应毒株E44813, E44815和E11881A进行攻击, 3组小鼠没有出现死亡, 只是在攻击后的第1至2天小鼠出现了弓背、皮毛蓬松等现象, 而后恢复正常.

2.2.2 细菌清除率 鼻饲疫苗组小鼠先用疫苗候选株进行免疫, 产生保护性抗体后用相应毒株进行攻击, 对照组只用PBS进行免疫, 而后也用相应毒株进行攻击, 同时测定小鼠肺部细菌的

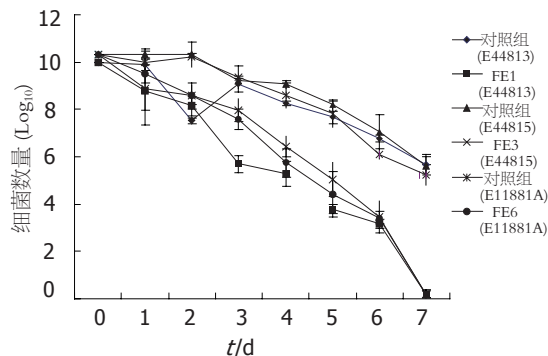


图1 免疫保护后攻毒的实验组和对照组肺部细菌清除情况.

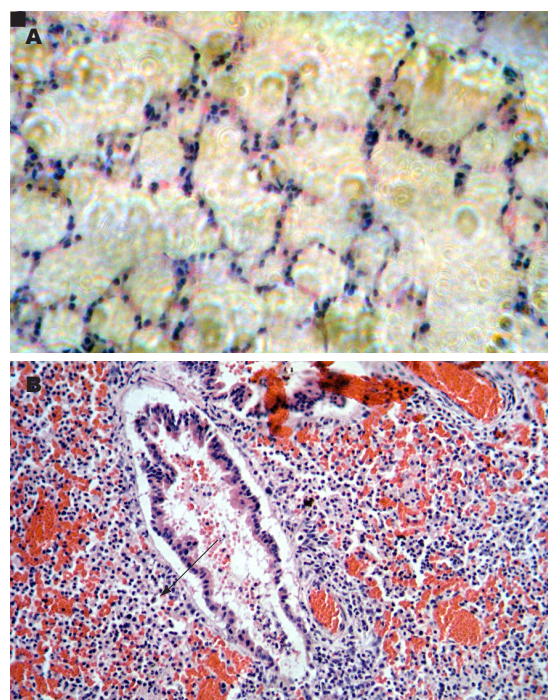


图2 小鼠肺组织病理切片($\times 80$). A: 疫苗免疫保护后攻毒的实验组; B: PBS免疫保护后攻毒的实验组.

清除率. 在7 d的观察期间, 免疫组和对照组肺部细菌都以一个比较稳定的速度下降, 至第6天后从实验小鼠肺部中已经不能检测到对应的攻毒细菌, 而对照组仍然能检测到大量攻毒细菌. 免疫组FE1, FE3, FE6第7天肺部细菌检测数量均为0 CFU/g, 而对照组E44813, E44815和E11881A组第7天分别为 6.2×10^5 CFU/g, 5.4×10^5 CFU/g, 2.3×10^5 CFU/g. 免疫组和对照组比较有显著性差异($P<0.05$), 而两组组内比较无显著性差异($P>0.05$)(图1).

2.2.3 病理变化 免疫保护后攻毒的实验组小鼠肺部在第1, 2天有轻微的炎症反应. 第3至第4天开始恢复正常. 通过显微镜观察肺组织, 早期(1-3 d)发现肺组织存在少量炎症细胞, 以淋巴

细胞为主(90%), 伴有少量的巨噬细胞(10%); 后期(4-7 d)没有发现炎症细胞, 一切正常. 对照组小鼠肺部发生了组织病理学改变, 通过显微镜观察多病灶支气管肺炎是主要的病理特征. 24 h以后观察, 肺组织有不同程度的炎症, 浸润的炎症细胞早期(1-4 d)以淋巴细胞为主(50%-90%), 巨噬细胞为辅(10%-50%), 伴有少量的中性粒细胞(10%); 后期(5-7 d)以中性粒细胞为主(50%-80%), 淋巴细胞为辅(20%-50%), 伴有少量的巨噬细胞(10%-20%); 个别肺组织存在少量浆细胞; 部分区域存在细胞变性, 以血管和支气管周围变性最为明显, 并伴有少量炎症细胞浸润; 部分肺组织血管高度扩张, 广泛淤血, 伴有出血、水肿(图2).

2.2.4 抗体变化 每组21只小鼠, 用疫苗候选株FE1, FE3和FE6进行免疫, 每7 d. 检测1次血清抗体IgG和粪便中的sIgA, 共检测4次. 血清抗体IgG增长迅速, 第28天分别为1:2080, 1:2347, 1:1440. 粪便中sIgA增长比较缓慢, 第28天分别为1:29, 1:28, 1:27.

3 讨论

目前世界上还没有一种完全适合于ETEC疫苗免疫保护评价的理想动物模型. 鼻饲攻击小鼠作为研究病理和免疫反应的模型已经应用于其他肠道病原体, 例如鼻饲志贺菌攻击小鼠已经应用于痢疾疫苗候选株的评价. 本研究应用野生型ETEC E44813, E44815和E11881A鼻饲攻击小鼠, 观察小鼠的病理和免疫反应, 旨在试图建立评价ETEC疫苗候选株的动物模型. 鼻饲ETEC菌株LD₅₀的确定是实验成功的关键. 本文针对3种不同血清型菌毛抗原的ETEC菌株进行了研究. 由于菌株的毒性强弱不同, 用相同剂量的肠毒素大肠杆菌E44813, E44815和E11881A攻击小鼠, E44813致小鼠死亡的时间最早, E44815其次; 死亡率也以E44813最高, E44815其次, E44813毒株产生的炎症反应比E44815, E11881A更为严重. 其LD₅₀由低到高依次是E44813, E44815, E11881A, 说明E44813毒性最强. 同样以LD₅₀攻击小鼠, 血清中产生抗体的滴度仍然以E44813最高, E44815其次. 从以往有关人体感染肠毒素大肠杆菌的实验结果分析, 发现他与本研究中感染小鼠研究的结果有许多相同之处^[10-11]. 国外Levine和Coworkers针对E44813和B7A进行人体实验, 发现E44813毒性更强, 相同剂量感染人体发病率更高, 血清免疫学指标也更高^[12]. 然而, 其

病变的基本特征是相同的. 鼻饲LD₅₀的E44813, E44815和E11881A都引发了小鼠肺部严重的炎症, 都能在24 h内诱导肺泡产生大量的淋巴细胞和巨噬细胞及少量的中性粒细胞, 后期以中性粒细胞为主, 淋巴细胞为辅, 伴有少量的巨噬细胞. 在细支气管也发现了白细胞, 但是数量没有肺泡处多, 另外还可产生淋巴增生. 主要的病理特征显示为多病灶支气管肺炎, 通过对其他组织的病理切片观察, 显示炎症没有扩散到其他组织. 在确定了ETEC鼻饲LD₅₀的基础上, 应用疫苗候选株FE1, FE3, FE6对小鼠进行免疫保护实验. 用疫苗候选株免疫动物后, 在短短的28 d内就能够使小鼠体内产生高效价的保护性抗体. 而后用毒株攻击, 所有小鼠都没有死亡, 只是有轻度的不适. 肺部组织只有轻度的病理改变, 第3天以后肺部组织病理改变恢复正常, 与未免疫的对照组小鼠的病变特征和程度有明显不同. 免疫小鼠肺部细菌以比较快的速度被迅速清除, 在攻击6 d后, 就不能从肺部组织检测到攻毒菌株, 与对照组形成显著性差异($P<0.05$).

实验结果表明, 通过鼻饲ETEC E44813, E44815和E11881A活菌, 可以在小鼠肺组织中观察到有一定规律的病理学反应以及血清中的抗体的变化, 作为研究ETEC致病性的动物模型是可行的. 在应用ETEC鼻饲小鼠模型评价疫苗候选株免疫保护效果的研究中, 通过对比, 发现疫苗候选株FE1, FE3, FE6能够为小鼠抵抗肠毒素大肠杆菌感染提供有效的免疫保护, 为进一步人体实验提供了实验基础. 本研究建立的ETEC鼻饲小鼠模型, 为进一步理解感染肠毒素大肠杆菌后的病理和免疫反应以及为评价疫苗的保护效果提供了有效途径.

4 参考文献

- 1 Levine MM. *Escherichia coli* that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic, and enteroadherent. *J Infect Dis* 1987; 155: 377-389
- 2 Black RE. Epidemiology of travelers' diarrhea and relative importance of various pathogens. *Rev Infect Dis* 1990; 12 Suppl 1: S73-S79
- 3 Byrd W, Mog SR, Cassels FJ. Pathogenicity and immune response measured in mice following intranasal challenge with enterotoxigenic *Escherichia coli* strains H10407 and B7A. *Infect Immun* 2003; 71: 13-21
- 4 王恒樑, 冯尔玲, 林云, 廖翔, 苏国富. 弗氏志贺菌2aT32株*asd*基因缺失突变体的构建. 军事医学科学院院刊 2000; 24: 81-87
- 5 郑继平, 王令春, 王凡, 罗刚, 李淑琴, 段海清, 黄翠芬, 张兆山. 肠毒素大肠杆菌定居因子CFA/1和CS6在减毒福氏志贺菌中的共表达. 生物化学和生物物理学报, 2003; 35: 1005-1010

■同行评价

肠毒素大肠杆菌攻毒小鼠模型的建立具有较强的临床指导意义, 因为肠毒素的损害是急性炎症反应的重要因素, 所以本论文内容重要, 信息量适中, 可以增加一些临床生化指标的监测, 内容新颖, 符合伦理学的要求. 不足之处是文中疫苗筛选实验对照组中缺少对疫苗安全性的监测.

- 6 刘陶陶, 李淑琴, 张兆山, 郑继平, 刘秀丽, 罗刚, 黄翠芬. 肠毒素大肠杆菌CS3定居因子抗原和融合肠毒素基因在减毒痢疾杆菌中的共表达. 生物化学和生物物理学报 2003; 35: 49-54
- 7 罗刚, 杨晓, 李淑琴, 张兆山. 肠毒素大肠杆菌定居因子CS6抗原基因在大肠杆菌中的表达. 军事医学科学院院刊 2004; 28: 232-234
- 8 王志斌, 曾年华, 姜普林, 李淑琴, 张兆山. 肠毒素大肠埃希菌载体活菌疫苗的安全性和免疫性研究. 中华流行病学杂志 2005; 26: 515-519
- 9 李淑琴, 张兆山, 陈添弥, 黄翠芬. 肠毒素大肠杆菌定居因子抗原I的酶联免疫吸附试验检测法. 解放军医学杂志 1988; 13: 271-273
- 10 Levine MM, Nalin DR, Hoover DL, Bergquist EJ, Hornick RB, Young CR. Immunity to enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Infect Immun* 1979; 23: 729-736
- 11 DuPont HL, Formal SB, Hornick RB, Snyder MJ, Libonati JP, Sheahan DG, LaBrec EH, Kalas JP. Pathogenesis of *Escherichia coli* diarrhea. *N Engl J Med* 1971; 285: 1-9
- 12 Levine MM, Black RE, Brinton CC Jr, Clements ML, Fusco P, Hughes TP, O'Donnell S, Robins-Browne R, Wood S, Young CR. Reactogenicity, immunogenicity and efficacy studies of *Escherichia coli* type 1 somatic pili parenteral vaccine in man. *Scand J Infect Dis Suppl* 1982; 33: 83-95

电编 李琪 编辑 张焕兰

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2006年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

中国学术期刊综合引证报告(2006)

本刊讯 由中国中西医结合学会主办, 根据《中国学术期刊综合评价数据库(CAJCED)》2005年6182种统计刊源析出的214万条中国期刊引文数据库及CNKI “中国期刊网”中心网站2005-01/12全文下载记录(1.5亿篇次)的大样本数据统计分析得到: 世界华人消化杂志[标准刊号: ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R; 类目名称: 医药科学\临床医学\呼吸及消化系统疾病(YK5.2.3)]总被引频次为2471, 影响因子为0.661, 5年影响因子为0.644, 即年指标为0.079, 他引总引比为0.73, 被引期刊数为491, 被引半衰期为4.6, 2005载文量为768, 基金论文比为0.44, Web即年下载率为0.6. [中国学术期刊(光盘版)电子杂志社; 中国科学文献计量评价研究中心].