

人空肠弯曲菌 FlaA 蛋白重组表达与免疫血清制备以及间接 ELISA 检测血清抗体的方法建立及初步应用

童欣^{1,2}, 赵霞², 陆康妍², 夏洁², 黄金林¹

(1.扬州大学江苏省人兽共患病学重点实验室, 江苏扬州 225000; 2.宜兴市红十字会血站, 江苏宜兴 214200)

摘要:目的 表达与纯化空肠弯曲菌(*C. jejuni*) FlaA 蛋白, 建立检测人 *C. jejuni* 抗体的 ELISA 诊断试剂盒。方法 对 *C. jejuni* 的 FlaA 蛋白进行生物信息学分析, 构建 pET-28a-flaA 重组质粒, 通过 BL21(DE3) 感受态细胞的转化, 进行重组蛋白的表达。用免疫雌性新西兰大白兔, 制备相应多克隆抗血清, 筛选最佳包被浓度, 优化实验条件, 建立间接 ELISA 的检测方法, 并检测 58 份腹泻患者血清和 697 份健康献血者血清样本, 评价方法的灵敏度和特异度。结果 成功构建 pET-28a-flaA 重组质粒, 通过原核表达系统获得的重组蛋白均有较高表达量, Western blot 鉴定证实重组蛋白与阳性血清反应性强, 可作为检测靶抗原, 建立并优化间接 ELISA 检测方案, 检测结果基本符合临床结论, 特异度和灵敏度分别为 75% 和 99.86%。结论 成功表达并纯化 *C. jejuni* FlaA 重组蛋白并建立以 FlaA 作为包被抗原的间接 ELISA 方法。

关键词: 空肠弯曲菌; FlaA 蛋白; 质粒重组; 蛋白表达纯化; 间接酶联免疫吸附试验; 多克隆抗体

中图分类号: R378.3; R446.61 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2026)03-050-06

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2026.03.009

Recombinant Expression of the Human *Campylobacter jejuni* FlaA Protein, Preparation of Immuniserum, and Establishment and Preliminary Application of an Indirect ELISA Assay for the Detection of Serum Antibodies

TONG Xin^{1,2}, ZHAO Xia², LU Kangyan², XIA Jie², HUANG Jinlin¹ (1. Jiangsu Key Laboratory of Zoonosis, Yangzhou University, Jiangsu Yangzhou 225000, China; 2. Yixing Blood Center, Jiangsu Yixing 214200, China)

Abstract: Objective To express and purify the *Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*) FlaA protein and to develop an ELISA diagnostic kit for detecting *C. jejuni* antibodies in humans. **Methods** Bioinformatic analysis of the *C. jejuni* FlaA protein was performed, and the recombinant plasmid pET-28a-flaA was constructed. The recombinant protein was expressed by transforming BL21(DE3) competent cells. Female New Zealand white rabbits were immunized to prepare the corresponding polyclonal antiserum. The optimal coating concentration was screened, experimental conditions were optimized, and an indirect ELISA assay was established. The assay was then applied to serum samples from 58 patients with diarrhea and 697 healthy blood donors to evaluate the sensitivity and specificity of the method. **Results** The pET-28a-flaA recombinant plasmid was successfully constructed. The recombinant protein obtained via the prokaryotic expression system exhibited high expression levels. Western blot analysis confirmed that the recombinant protein reacted strongly with positive sera and could serve as a target antigen. An optimized indirect ELISA protocol was established, and the test results were generally consistent with clinical findings, with specificity and sensitivity of 75% and 99.86%, respectively. **Conclusions** The *C. jejuni* FlaA recombinant protein is successfully expressed and purified, and an indirect ELISA method using FlaA as the coating antigen is established.

Keywords: *Campylobacter jejuni*; FlaA protein; recombinant plasmid; protein expression and purification; indirect ELISA; polyclonal antibody

空肠弯曲菌(*Campylobacter jejuni*, *C. jejuni*) 是近年来国内外公认的致腹泻病原菌之一^[1], 导致了全球 16% 的食源性腹泻^[2], 其致病机制复杂^[3], 人类感染 *C. jejuni* 的途径主要是食用被污染的禽肉和水等^[4-5]。目前已有不少研究发现, 鞭毛在 *C. jejuni* 的致病过程发挥重要作用, 其不仅介导细菌的运动, 帮助其黏附、侵袭细胞, 还参与毒力蛋白的分泌以及逃

避宿主天然免疫应答, 是其重要的抗原成分^[6-7]。*C. jejuni* 鞭毛丝蛋白由两个高度同源的蛋白组成, 其中 FlaA 是主要成分^[8]。目前, 该病原菌主要通过常规富集培养、生化鉴定^[9]或 PCR 法进行检测^[10], 耗时长, 对仪器和人员素质要求较高, 不利于临床高通量检测, 而 ELISA 试剂盒灵敏度高、操作简单、成本较低, 适用于高通量床旁检测。因此, 本研究基于 *C. jejuni*

作者简介: 童欣(1996-), 女, 硕士研究生, 主管技师, 研究方向: 病原微生物的免疫学检验, E-mail: 2505195117@qq.com。

通讯作者: 黄金林(1969-), 男, 博士, 二级教授, 研究方向: 人畜共患病原微生物与食品安全, E-mail: jinlin@yzu.edu.cn。

NCTC1168菌株的FlaA蛋白进行重组表达,制备相应多克隆抗血清,同时建立并优化检测人*C. jejuni*抗体的间接ELISA方法,并从包被抗原、阳性血清稀释度、包被液、包被时间、封闭液、封闭时间、一抗和二抗作用时间、二抗稀释度、显色时间等方面进行条件优化,以获得特异性强、灵敏度高、重复性好的检测方法,为临床检测该疾病提供技术支持。

1 材料与方 法

1.1 研究对象 58例腹泻病例血清样本由宜兴市人民医院检验科提供,697例健康无偿献血者样本由宜兴市红十字会血站提供,均保存于-22℃备用。4月龄健康雌性新西兰大白兔,1.8~2.2 kg/只,购自北京明康博润科技有限责任公司,实验动物操作均符合扬州大学实验动物伦理委员会规定(批准号:07140020210615-1)。

1.2 仪器与试剂 大肠埃希菌BL21(DE3)、*C. jejuni* NCTC 11168菌株、结肠弯曲菌、金黄色葡萄球菌由本实验室保存;质粒载体(Novagen公司);弗氏完全佐剂、弗氏不完全佐剂、HRP标记羊抗兔IgG抗体、牛血清白蛋白(BSA)、异丙基硫代半乳糖苷(IPTG)、BCA蛋白定量试剂盒(美国Sigma公司);SUNRISE-BASIC酶标仪(瑞士TECAN公司);全自动细菌培养仪(美国BD公司)。

1.3 方 法

1.3.1 FlaA蛋白的生物信息学分析:在NCBI的GeneBank数据库中,检索来源于*C. jejuni* NCTC 11168菌株的flaA的基因序列及对应的氨基酸序列,通过ExPasy ProtParam tool和PONDR在线工具对FlaA蛋白的分子量、理论等电点、亲水性和疏水性及无规则卷曲区域等理化性质进行分析;通过SignalP分析蛋白信号肽;运用STRING在线预测与FlaA蛋白相互作用的蛋白;通过PREDICTED ANTIGENIC PEPTIDES在线预测FlaA蛋白的抗原决定簇和平均抗原倾向性指数。

1.3.2 重组质粒的构建与鉴定:根据1.3.1获得的flaA基因构建质粒,命名为pET-28a-flaA,蓝白斑筛选阳性克隆,扩大培养后,提取质粒,酶切后进行琼脂糖电泳鉴定。初步鉴定为阳性的克隆送生物公司测序。

1.3.3 重组蛋白的表达与纯化:将测序正确的感受态细胞过夜培养,第二天随机挑取1个单克隆,置于37℃,200r/min摇床中培养至吸光度(A)值为0.6~0.8;加入终浓度为1mmol/L IPTG,分别在37℃、25℃、16℃下,于200r/min摇床中进行蛋白诱导表达16~18h,以未加入IPTG的菌液作为对照。取试表达结果阳性的10 μl菌液过夜培养,第二天取1ml培养至A值为0.6~0.8,诱导表达16~18h,离心收集菌液底部沉淀,用超声仪破碎细胞,离心,将上清液上样至亲和层析柱,循环上样三次,分别使用含20、50、

250mmol/L咪唑的PBS溶液进行蛋白洗脱。经SDS-PAGE电泳鉴定后,将含较高纯度的目标蛋白溶液透析过夜,第二天取透析液于截留分子量为10kDa的浓缩管中,离心浓缩,至体积约1ml,采用BCA试剂盒法检测蛋白浓度。

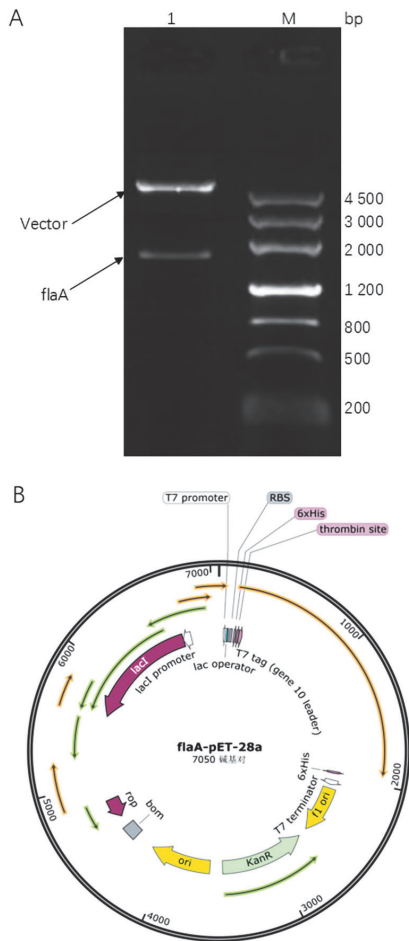
1.3.4 重组蛋白的变复性:离心菌液,将底部沉淀进行超声破碎,4℃,15 000 r/min,离心20min,取沉淀进行电泳。用变性缓冲液(8mmol/L尿素PBS, pH 7.2)室温密封搅拌4h,冰水浴超声45min,离心保留上清液,分别取沉淀和上清液20 μl用于SDS-PAGE电泳检测。取上清液至亲和层析柱重复三次,分别使用洗杂液(50mmol/L咪唑)和洗脱液(250mmol/L咪唑)纯化蛋白,于复性缓冲液中透析,取20 μl电泳,之后逐步降低复性缓冲液中变性剂的浓度,每次更换透析液时取20 μl进行SDS-PAGE电泳。

1.3.5 动物免疫与抗血清制备:以重组的His-FlaA蛋白作为免疫原,选取2只雌兔,其中实验组1只,阴性对照组1只,首次免疫取300 μg纯化蛋白与0.5 ml弗氏完全佐剂充分混匀进行背部皮下多点免疫,每间隔两周加强免疫,阴性对照组同步注射等量生理盐水,四次加强免疫后7~10天,采集兔颈动脉全血,收集血清,饱和硫酸铵沉淀法粗提后,测定血清效价并将血清保存于-70℃备用。实验后续使用的阳性血清是以*C. jejuni* NCTC11168菌株、结肠弯曲菌、金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌作为免疫原,免疫流程同上,并以灭活细菌作为包被抗原进行间接ELISA,测定阳性、阴性血清效价及验证特异性。

1.3.6 间接ELISA方法的建立与优化:

1.3.6.1 抗原包被浓度和血清稀释度的确定使用ELISA方阵试验:具体操作步骤如下:用缓冲液稀释重组蛋白,包被于96孔酶标板上,每孔100 μl,按照每孔2、4、6、8、16、18、20、24 μg/ml共8个浓度包被过夜,PBST洗板三次后,每孔150 μl PBST封闭包被1 h, PBST洗板三次,将阳性、阴性血清分别按照1:100、1:200、1:400、1:800共4个梯度稀释,每孔100 μl,37℃孵育1 h, PBST洗板三次,HRP标记的二抗按1:8 000稀释,每孔100 μl,37℃孵育45 min, PBST洗板五次,TMB显色,设置空白对照。测定A值,选择阳性A值大于1.00,阴性A值小于0.15,阳性A值与阴性A值之比(P/N)最大时的蛋白包被浓度和血清稀释倍数为最佳工作浓度。

1.3.6.2 其余ELISA条件的优化:将抗原、阳性血清按确定的最佳浓度稀释,以单一变量的方式,分别优化酶标二抗稀释浓度、封闭液种类、封闭时间、血清稀释液种类、血清作用时间、酶标二抗作用时间、显色液作用时间、显色时间,进行ELISA试验。选择P/N值最大时的条件。



A. pET-28a-flaA 酶切电泳图谱; B. pET-28a-flaA 质粒图谱。
图2 重组质粒图谱

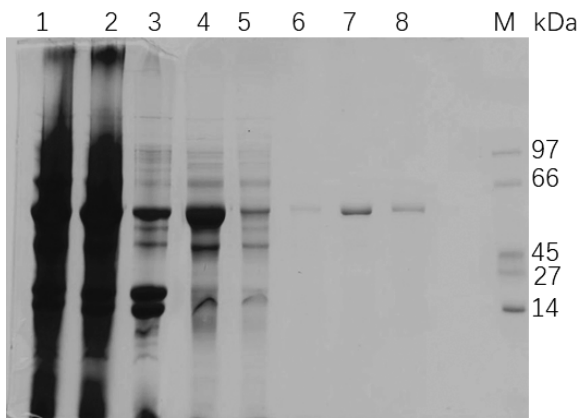
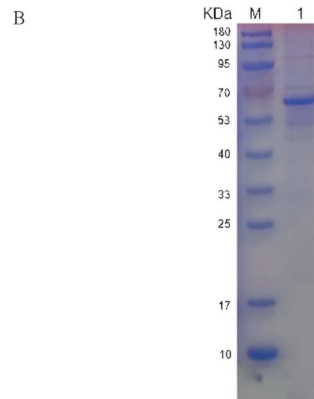
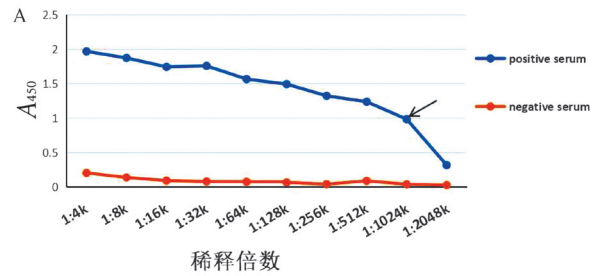


图3 His-FlaA 的 SDS-PAGE 电泳图谱

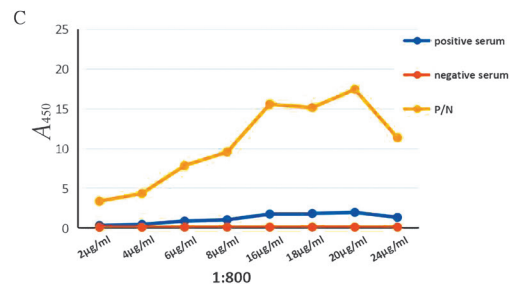
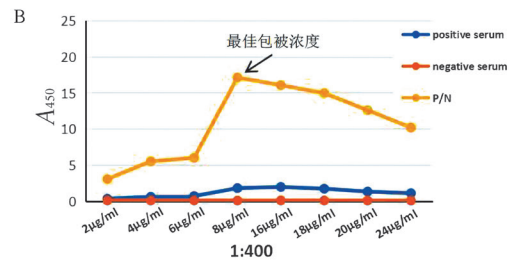
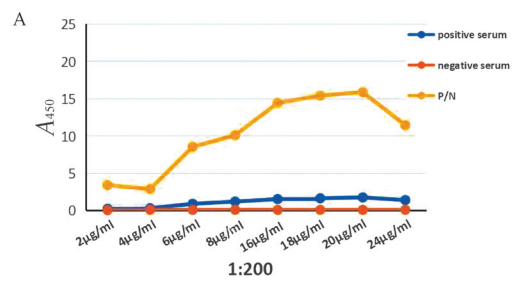
2.5 阳性血清效价 *C. jejuni* NCTC11168 菌株、结肠弯曲菌、金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌相对应的阳性血清效价分别为 1:1 024k、1:512k、1:1 024k、1:1 024k，阴性血清测得 A_{450} 值均 <0.15 。

2.6 间接 ELISA 的建立与条件优化 当 His-FlaA 蛋白包被浓度为 $8 \mu\text{g/ml}$ ，血清稀释度为 1:400 时，*C. jejuni* 阳性血清 A 值为 1.84，阴性血清 A 值为 0.11 (部分 P/N 结果见图 5)。酶标二抗稀释浓度 1:8 000，考虑

经济因素，封闭液及血清稀释液种类选择 PBST，封闭时间 2 h，血清作用时间 1.5 h，酶标二抗作用时间 30 min，显色时间 5 min 时，P/N 值最大。



A. His-FlaA 多克隆抗血清效价; B. His-FlaA 免疫印记图谱。
图4 His-FlaA 的免疫生物学活性



A. 1:200 血清稀释度; B. 1:400 血清稀释度; C. 1:800 血清稀释度。
图5 不同抗原包被浓度及血清稀释度的 P/N 值

2.7 阴、阳性临界值 用建立的方法检测阴性样本115份,测得 A_{450} 值,计算得到平均值0.08,标准差0.05, $\bar{x}+3s$ 为0.24, $\bar{x}+2s$ 为0.19, 即当血清样品的 A_{450nm} 值 ≤ 0.19 为阴性, A_{450nm} 值 ≥ 0.24 为阳性, 介于两数值之间为灰区。

2.8 敏感性试验 结果显示, 阳性血清稀释度为1:1 600时, A 值为0.40, 结果为阳性; 当稀释度为1:3 200时, A 值为0.10, 结果为阴性。

2.9 特异性试验 结果显示, 本方法只对 *C. jejuni* 阳性血清有较好的反应, 而其他几种致腹泻病原菌

的阳性血清 A 值均小于0.19。

2.10 重复性试验 结果见表1, 批内和批间变异系数均小于15%。

2.11 初步应用 用建立的方法检测697份健康人群血清样本, 共测得1份阳性血清, 灵敏度为99.86%, A 值0.97, 倍比稀释后进行复检, A 值0.10, 确认结果为阴性, 与细菌培养结果均相符。58份腹泻病例血清样本中共测得3份阳性血清, 对应的测序结果均为 *C. jejuni* 阳性, 另外1份测序为 *C. jejuni* 阳性样本, 但ELISA结果为阴性, 特异度为75%。

表1 重复性试验结果

样品类型	样品编号	批内			批间		
		平均数	标准差	变异系数	平均数	标准差	变异系数
阳性血清	1	1.82	0.087	4.79%	1.77	0.069	3.90%
	2	1.88	0.057	3.06%	1.93	0.083	4.30%
	3	1.85	0.052	2.82%	1.82	0.096	5.27%
阴性血清	4	0.09	0.011	11.59%	0.08	0.009	11.25%
	5	0.09	0.011	12.36%	0.08	0.010	12.51%
	6	0.08	0.010	12.69%	0.09	0.013	14.44%

3 讨论

*C. jejuni*作为一种微需氧的螺旋状阴性杆菌, 已成为全球范围内细菌性、食源性腹泻的主要致病菌^[1]。在健康人群中, 该菌引发的肠炎通常是自限性的, 一般不需要抗菌药物的治疗。然而, 早期筛查不仅能实现与其他腹泻病原体的鉴别诊断, 明确 *C. jejuni* 感染, 还可以通过针对性治疗缩短病程、降低并发症风险。目前, *C. jejuni* 的致病机制尚未完全阐明^[2], 且国内缺乏商业化的检测试剂盒。而在发展中国家, *C. jejuni* 引起的病历报告及耐药性案例呈逐年上升趋势^[3], 尤其是儿童感染^[4-5]。因此, 建立一种快速、经济且高特异性的检测方法迫在眉睫。

弯曲菌的毒力因子包括脂多糖、鞭毛蛋白、外膜蛋白和趋化因子等, 这些因子均参与了其致病过程^[6]。其中, 由 *flaA* 基因编码的 FlaA 蛋白是构成鞭毛的主要组分, 参与入侵和黏附宿主肠道细胞, 与致病性密切相关^[8], 基于此, 本研究选取 FlaA 蛋白作为检测靶标, 经过小部分临床样本验证, 表明该蛋白对 *C. jejuni* 阳性血清具有较好的检测性能。在灵敏度与特异度评估中, 本研究选取了数种常见的腹泻病原菌进行测试, 结果均为阴性, 证实该方法具有较高特异度。

目前, 各实验室已研究出多种新型的病原学快速检测体系, 如基于重组酶的等温扩增技术^[7]和基于核酸分子扩增的快速检测技术^[18-19], 其检测灵敏度可以达到102~103 CFU/ml, 甚至103~104 CFU/ml, 然而这些方法往往依赖昂贵仪器, 且存在引物非特异性扩增导致的假阳性风险^[20], 相比之下, 本研究建立的ELISA方法有效规避了上述问题, 特别适用于设备有限的基层医院: 试剂盒经济实用, 快速简便, 在获取血清样本后3h内就能得到结果; 重复性

好, 稳定性佳, 可作为致腹泻病原菌的初筛检测。

本研究也存在一定局限性, 在实际应用时, 出现了一例与测序结果不符的样本, 分析其原因为多方面的, 有些变异菌株产生的 FlaA 效价较低, 也有可能是因为建立的ELISA方法检测限较低, 易出现假阴性; 同时, 我们也发现脂血等异常标本会对本方法造成一定影响。由于阳性样本量过少, 本文结果只是初步的临床验证, 统计学代表性不足, 且无法区分急性感染和既往感染, 因此, 该方法的真实临床性能有待通过更大样本量的研究来进一步确认。

综上所述, 本研究成功制备了产量高、活性好的 FlaA 蛋白, 并基于该蛋白建立的ELISA检测方法快速、简便、特异度和灵敏度较高, 该体系为 *C. jejuni* 的致病机制及免疫方式等方面的研究提供了技术支持, 为试剂盒的批量生产及流行病学的调查提供了理论依据。

参考文献:

- [1] KAAKOUSH N O, CASTAÑO-RODRÍGUEZ N, MITCHELL H M, et al. Global epidemiology of *Campylobacter* infection[J]. *Clinical Microbiology Reviews*, 2015, 28(3): 687-720.
- [2] NEUSTAEDTER C M, ROBERTSON K, TSCHRIT-TER D, et al. A scoping review of factors associated with antimicrobial-resistant *Campylobacter* species infections in humans[J]. *Epidemiology and Infection*, 2023, 151: e100.
- [3] SS J L, MUTHURULANDI SETHUVEL D P, BASKARAN A, et al. Complete genome analysis of *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* isolated from bloodstream infection[J]. *Microbiology Resource Announcements*, 2021, 10(11): e00065-21.
- [4] OCEJO M, OPORTO B, LAVÍN J L, et al. Monitoring within-farm transmission dynamics of antimicrobial-resistant *Campylobacter* in dairy cattle using broth mi-

(下转第60页)

- Allergy Asthma & Immunology, 2025, 135(2): 171-179, e2.
- [15] JI J, CHEN K B, DONG J Y, et al. Associations between air pollution and outpatient visits for allergic rhinitis in Lanzhou, China[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2023, 30(39): 91453-91465.
- [16] WANG J Y, LU M X, AN Z, et al. Associations between air pollution and outpatient visits for allergic rhinitis in Xinxiang, China[J]. Environmental Science and Pollution Research International, 2020, 27(19): 23565-23574.
- [17] 马慧. 过敏性紫癜儿童血清过敏原特异性IgE抗体检测分析及与空气质量关系的初步研究[J]. 中国免疫学杂志, 2022, 38(22): 2782-2786.
- MA H. Serum allergen-specific IgE antibody in children with Henoch-Schonlein pur-pura and its relationship with air quality[J]. Chinese Journal of Immunology, 2022, 38(22): 2782-2786.
- [18] LI S, WU W, WANG G, et al. Association between exposure to air pollution and risk of allergic rhinitis: a systematic review and meta-analysis[J]. Environmental Research, 2022, 205: 112472.
- [19] AKDIS C A, AKDIS M, BIEBER T, et al. Diagnosis and treatment of atopic dermatitis in children and adults: European academy of allergology and clinical immunology/American academy of allergy, asthma and immunology/PRAC-TALL consensus report[J]. Allergy, 2006, 61(8): 969-987.
- [20] ORELLANO P, REYNOSO J, QUARANTA N, et al. Short-term exposure to particulate matter (PM10 and PM2.5), nitrogen dioxide (NO2), and ozone (O3) and all-cause and cause-specific mortality: systematic review and meta-analysis[J]. Environ Int, 2020, 142: 105876.
- [21] CHEN J, HOEK G. Long-term exposure to PM and all-cause and cause-specific mortality: a systematic review and meta-analysis[J]. Environ Int, 2020, 143: 105974.
- [22] 翟达, 王文婷, 桂玉婷, 等. 2018-2023年西安地区12486例疑似过敏性疾病患者过敏原特异性IgE检测结果回顾性分析[J]. 现代检验医学杂志, 2024, 39(6): 167-173.
- ZHAI D, WANG W T, GUI Y T, et al. Retrospective analysis of allergen-specific IgE test results in 12486 patients with suspected allergic diseases in Xi'an from 2018 to 2023[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2024, 39(6): 167-173.
- [23] SIO Y Y, CHEW F T. Risk factors of asthma in the Asian population: a systematic review and meta-analysis[J]. Journal of Physiological Anthropology, 2021, 40(1): 22.
- [24] WANG H, LI X B, CHU X J, et al. Ambient air pollutants increase the risk of immunoglobulin E-mediated allergic diseases: a systematic review and meta-analysis[J]. Environmental Science and Pollution Research International, 2022, 29(33): 49534-49552.
- 收稿日期: 2025-11-19
修回日期: 2025-12-17
- (上接第54)
- croditilution and long-read whole genome sequencing[J]. Scientific Reports, 2023, 13(1): 12529.
- [5] MOURKAS E, TAYLOR A J, MÉRIC G, et al. Agricultural intensification and the evolution of host specialism in the enteric pathogen *Campylobacter jejuni*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2020, 117(20): 11018-11028.
- [6] SUBRAMANIAN S, KEARNS D B. Functional regulators of bacterial flagella[J]. Annual Review of Microbiology, 2019, 73: 225-246.
- [7] CARROLL K C, PFALLER M A. 临床微生物学手册[M]. 王辉, 马筱玲, 钱渊, 等译. 第12版. 北京: 中华医学电子音像出版社, 2021: 996.
- CARROLL K C, PFALLER M A. Manual of clinical microbiology[M]. Translated WANG H, MA X L, QIAN Y, et al. 12th Edition. Beijing: Chinese Medical Multimedia Press, 2021: 996.
- [8] HENDERSON L D, MATHEWS-PALMER T, GULBRONSON C J, et al. Diversification of *Campylobacter jejuni* flagellar c-ring composition impacts its structure and function in motility, flagellar assembly, and cellular processes[J]. mBio, 2020, 11(1): e02286-19.
- [9] FERRARI S, ÅSTVALDSSON Å, JERNBERG T, et al. Validation of PCR methods for confirmation and species identification of thermotolerant *Campylobacter* as part of EN ISO 10272 - Microbiology of the food chain - Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp[J]. International Journal of Food Microbiology, 2023, 388: 110064.
- [10] 黄钰. 基于CRISPR-Cas12b的空肠弯曲菌检测系统的建立及初步应用[D]. 扬州: 扬州大学, 2021.
- HUANG Y. Development and preliminary application of CRISPR-Cas12b-based *Campylobacter jejuni* detection system[D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2021.
- [11] 高正琴. 空肠弯曲菌TaqMan-MGB双重探针实时荧光定量PCR快速检测[J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(6): 1-5, 15.
- GAO Z Q. Rapid detection of *Campylobacter jejuni* with TaqMan-MGB dual probe real-time fluorescence quantitative PCR[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2019, 34(6): 1-5, 15.
- [12] 李博, 陈辉, 鞠长燕, 等. 深圳地区不同来源空肠弯曲菌毒力基因分布及分子分型研究[J]. 现代检验医学杂志, 2016, 31(5): 107-109, 112.
- LI B, CHEN H, JU C Y, et al. Study on the differences of virulence genes and molecular typing in *Campylobacter jejuni* isolates from poultry products and diarrhea patients in shenzhen[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2016, 31(5): 107-109, 112.
- [13] BUNDURUS I A, BALTA I, STEF L, et al. Overview of virulence and antibiotic resistance in *Campylobacter* spp. livestock isolates[J]. Antibiotic, 2023, 12(2): 402.
- [14] TINEVEZ C, VELARDO F, RANC A G, et al. Restrospective multicentric study on *Campylobacter* spp. bacteremia in France: the *Campylobacter* study[J]. Clinical Infectious Diseases, 2022, 75(4): 702-709.
- [15] CHANG H L, ZHANG L, GE Y L, et al. A hospital-based case-control study of diarrhea in children in Shanghai[J]. Pediatric Infectious Disease Journal, 2017, 36(11): 1057-1063.
- [16] BRAVO V, KATZ A, PORTE L, et al. Genomic analysis of the diversity, antimicrobial resistance and virulence potential of clinical *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* strains from Chile[J]. PLOS Neglected Tropical Diseases, 2021, 15(2): e0009207.
- [17] LI X P, ZHU S Y, ZHANG X L, et al. Advances in the application of recombinase-aided amplification combined with CRISPR-Cas technology in quick detection of pathogenic microbes[J]. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2023, 11: 1215466.
- [18] ALARJANI K M, ELKHADRAGY M F, AL-MA-SOUD A H, et al. Detection of *Campylobacter jejuni* and *Salmonella typhimurium* in chicken using PCR for virulence factor *hipO* and *invA* genes (Saudi Arabia)[J]. Bioscience Reports, 2021, 41(9): BSR20211790.
- [19] LIU Y, XU M D, WANG J, et al. Detection of *Campylobacter jejuni* based on a Real-Time fluorescence Loop-Mediated isothermal amplification method[J]. BioMed Research International, 2022, 2022(1): 3613757.
- [20] JAINONTHEE C, CHAISOWWONG W, NGAM-SANGA P, et al. A cutoff determination of real-time loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for End-Point detection of *Campylobacter jejuni* in chicken meat[J]. Veterinary Sciences, 2022, 9(3): 122.
- 收稿日期: 2025-10-16
修回日期: 2025-11-18