

· 论 著 ·

猪肉中16种 β -内酰胺类抗生素 UPLC-Q-Orbitrap检测方法研究

潘晓东, 黄百芬, 张京顺, 蔡增轩

浙江省疾病预防控制中心, 浙江 杭州 310051

摘要: **目的** 采用高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱质谱法(UPLC-Q-Orbitrap)快速筛查并定量分析猪肉中16种 β -内酰胺类抗生素。**方法** 样品采用乙腈提取溶剂进行超声提取,离心取上清液,经HLB固相萃取柱净化,采用Waters HSS T3色谱柱(100 mm \times 2.1 mm, 1.8 μ m)分离,梯度洗脱。质谱采用正离子扫描,Targeted SIM/dd-MS²监测模式,在10 min内完成对样品中分析物的分离和一级、二级质谱扫描。比较样品与对照品的色谱保留时间、一级质谱和二级质谱,确定样品中是否含有被测抗生素,并对阳性样品进行定量分析。**结果** 16种 β -内酰胺类抗生素在5~400 ng/mL范围内具有良好的线性关系(相关系数均 >0.99),检出限为0.08~0.41 μ g/kg,回收率为85.5%~116.7%,相对标准偏差(RSD)为3.6%~12.8%。采用本方法对20份市售猪肉样品检测,其中1份检出青霉素G 28 μ g/kg,氨苄西林 18.5 μ g/kg。**结论** UPLC-Q-Orbitrap法分辨率高,能减少样品基质干扰,提高定性和定量检测结果的准确性;且检测过程简便,分析时间短,检测效率高,适合对猪肉中 β -内酰胺类抗生素进行筛查和定量检测。

关键词: 高效液相色谱;四极杆/静电场轨道阱质谱;猪肉; β -内酰胺类抗生素;定量分析

中图分类号: R155.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 2096-5087 (2019) 11-1100-05

Screening and quantification of 16 β -lactam antibiotics in pork by UPLC-Q-Orbitrap

PAN Xiao-dong, HUANG Bai-fen, ZHANG Jing-shun, CAI Zeng-xuan

Zhejiang Provincial Center for Disease Control and Prevention, Hangzhou, Zhejiang 310051, China

Abstract: Objective To screen and quantify 16 kinds of β -lactam antibiotics in pork by high performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbit trap mass spectrometry (UPLC-Q-Orbitrap). **Methods** The pork samples were extracted by ultrasound with acetonitrile, then the supernatant was centrifuged and purified by HLB solid phase extraction column. The analytes were separated by Waters HSS T3 column (100 mm \times 2.1 mm, 1.8 μ m) with gradient elution. Mass spectrometry adopted positive ion scanning and targeted SIM/dd-MS² monitoring mode to complete the separation of analytes in samples and mass spectrometry analysis within 10 minutes. The chromatographic retention time and fragments in mass spectrometry were compared with prepared standards to determine whether the samples contained the antibiotics tested, then the positive samples were quantified. **Results** The 16 kinds of β -lactam antibiotics had good linear relationship in the range of 5~400 ng/mL (all the correlation coefficients >0.99). The detection limits ranged from 0.08 μ g/kg to 0.41 μ g/kg, recovery rate ranged from 85.5% to 116.7%, and relative standard deviation (RSD) ranged from 3.6% to 12.8%. One of twenty pork samples detected was found penicillin G (28 μ g/kg) and ampicillin (18.5 μ g/kg). **Conclusion** UPLC-Q-Orbitrap has high resolution and can reduce matrix interference to improve the accuracy. This method is simple, fast and efficient, thus can be used to screen and quantify β -lactam antibiotics in pork.

Key words: High performance liquid chromatography; Quadrupole/electrostatic field orbit trap mass spectrometry; Pork; β -lactam antibiotics; Quantitative analysis

DOI: 10.19485/j.cnki.issn2096-5087.2019.11.005

基金项目: 浙江省分析测试科技计划项目(2018C37018);浙江省医药卫生科技计划项目(2019316301);省部共建项目(WKJ-zj-1917)

作者简介: 潘晓东, 博士, 副研究员, 主要从事理化检验工作

通信作者: 潘晓东, E-mail: xdpan@cdc.zj.cn

在工业化养殖中, β -内酰胺类抗生素常作为饲料添加剂促进牲畜的生长^[1-3], 然而由于不合理使用、滥用及不遵守休药期等, 导致动物性食品中抗生素类药物残留日趋严重, 产生的危害不容忽视。目前, β -内酰胺类抗生素的测定方法主要有微生物法、免疫法和理化法三大类^[4]。微生物法可靠、成本低, 但操作时间长, 过程复杂, 靠肉眼辨别误差大; 免疫法操作简单、快速, 但易产生假阳性。上述两种方法均不能识别出 β -内酰胺类抗生素的种类。理化类检测方法常用的有高效液相色谱法、液相色谱-质谱联用法等^[5-8]。高效液相色谱法具有分离速度快、效率高和操作自动化等优点, 适于测定基质单一、含量较高的样品; 液相色谱-质谱联用法较其他方法具有更高的选择性和灵敏度; 高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱质谱法 (UPLC-Q-Orbitrap) 具有高分辨率、高质量精度和宽动态范围等优点^[9-10]。本研究采用 UPLC-Q-Orbitrap 结合固相萃取柱技术, 旨在建立快速筛查及定量分析猪肉中 16 种 β -内酰胺类抗生素的方法, 现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂 Thermo Vanquish UHPLC 超高效液相色谱仪 (美国 Thermo 公司); Thermo Orbitrap Q Exactive 质谱仪 (美国 Thermo 公司); Trace finder 2.1 和 Xcalibur 2.1 工作站 (美国 Thermo-fisher 公司); Beckman Allegra x-22R 离心机 (德国 beckman 公司)。抗生素标准品 (Dr. Ehrenstorfer 公司): 青霉素 G、青霉素 G-D7 (作为同位素内标)、头孢氨苄、氨苄西林、青霉素 V、苯尼西林、阿莫西林、甲氧西林、苯唑西林、萘西林、头孢匹林、氯唑西林、头孢唑啉、阿洛西林、双氯西林、哌拉西林和头孢噻唑; 甲醇、乙腈 (色谱纯, Merck 公司); 甲酸 (色谱纯, 美国 ACS); 超纯水 (电阻率为 18.2 M Ω ·cm, Millipore 公司超纯水器制备); HLB 固相萃取柱 (Waters Oasis, 6 cc/150 mg, Waters 公司)。

1.2 方法

1.2.1 配置标准溶液 分别称取适量的上述抗生素标准品, 用甲醇溶解, 并定容至刻度, 配制成 100 μ g/mL 的标准储备液, 避光保存于 -20 $^{\circ}$ C 冰箱。使用时用 10% 甲醇水溶液逐级稀释。

1.2.2 样品前处理 采用固相萃取法。取猪后腿肉切成小块状, 经高速均质机匀浆后, 称取 5.0 g 置于 50 mL 聚丙烯离心管中, 加入 0.1% 甲酸的乙腈 10 mL 和 1 μ g/mL 的同位素内标液 20 μ L (最终溶液内标的

浓度为 20 ng/mL), 混匀, 超声提取 20 min, 10 000 r/min 离心 8 min, 取上清液, 过玻璃纤维滤纸, 滤液待净化。HLB 固相萃取柱依次用 6 mL 甲醇和 6 mL 水活化。将滤液以 2 mL/min 的速度过柱, 弃去流出液, 用 10 mL 甲醇-水 (5%) 淋洗, 减压抽干, 用 6 mL 甲醇洗脱。洗脱液于 40 $^{\circ}$ C 氮气吹干, 用初始流动相溶解残余物, 定容至 1.0 mL, 12 000 r/min 离心 3 min, 取上清液过 0.22 μ m 尼龙膜后待测。

1.2.3 色谱条件 Water HSS T3 色谱柱 (100 mm \times 2.1 mm, 1.8 μ m); 流动相 A: 含 0.1% 甲酸的水, 流动相 B: 含 0.1% 甲酸的乙腈; 流速: 0.30 mL/min; 柱温: 35 $^{\circ}$ C; 进样量: 5 μ L。梯度洗脱: 0~1 min, 5% B; 1~3 min, 30% B; 3~7 min, 60% B; 7~7.5 min, 95% B; 7.5~8.5 min, 95% B; 8.5~8.6 min, 5% B; 8.6~10 min, 5% B。

1.2.4 质谱条件 电喷雾离子源 (HESI); 毛细管温度: 320 $^{\circ}$ C; 加热温度: 350 $^{\circ}$ C; 鞘气 (N_2) 流速: 35 L/min; 辅助气 (N_2) 流速: 10 L/min; 喷雾电压: 3.5 kV; 透镜电压: 55 V; 采用正离子扫描的 Targeted SIM/dd-MS² 模式; SIM 扫描的分辨率 R: 70 000, AGC target: 1×10^5 , 最大驻留时间: 100 ms, 分离窗口: m/z 2.0; dd-MS² 扫描的分辨率 R: 35 000, AGC target: 1×10^5 , 最大驻留时间: 50 ms, 分离窗口: m/z 2.0; 碰撞能量 (NCE): 45; 强度阈值: 1×10^4 ; 动态排除: 10 s。监测母离子 m/z 值的误差 (ppm) = $(|M - M_0| \div m) \times 10^6$, 式中, M 为离子质量的实测值, M_0 为离子质量的理论值, m 为离子的质量数。仪器每 7 日采用 Pierce LTQ Velos ESI 正离子校正溶液 (美国 Thermo 公司) 进行质量数校正。17 种 β -内酰胺类抗生素的准确质量数、碎片离子和保留时间见表 1。

1.2.5 方法验证 添加不同量的混合标准溶液配成低、中、高 (5、20、100 μ g/kg) 三个浓度的加标样品, 每个浓度的加标样品平行测定 6 次, 按照上述试验方法测定 16 种 β -内酰胺类抗生素的回收率 ($n=6$) 和相对标准偏差 (RSD), 评价方法的正确度和精密度。以青霉素 G-D7 作为同位素内标 (加标量 20 ng/mL), 内标法测定。

2 结果

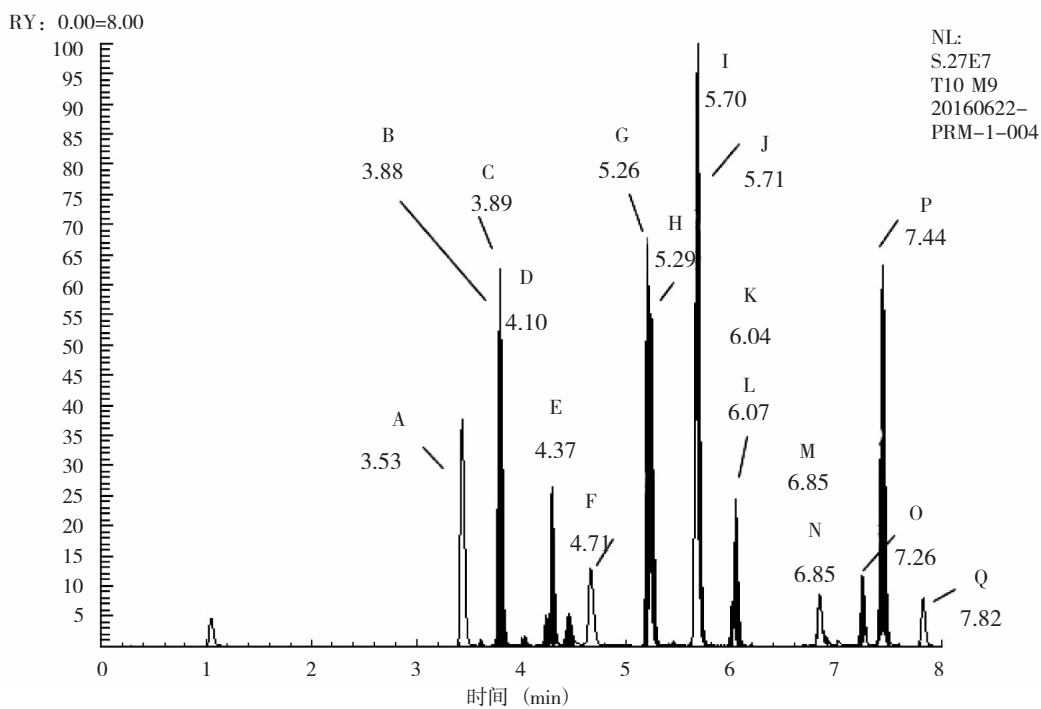
2.1 色谱和质谱条件的优化 比较乙腈-水、甲醇-水和乙腈-0.1% 甲酸作为流动相对 16 种 β -内酰胺类抗生素的分离和色谱峰形, 结果显示: 流动相中不加甲酸时, β -内酰胺类抗生素峰形不佳, 偏宽且有

拖尾；甲醇-水为流动相时与乙腈-水为流动相时的分离效果基本一致，但前者柱压较高。因此，选用乙腈-0.1% 甲酸作为流动相，梯度洗脱，分离色谱图见图 1。本试验中，一级、二级质谱分辨率分别为

70 000 和 35 000，在此分辨率下检测各抗生素的灵敏度较好，色谱峰扫描点数均大于 12 个点，质量偏差均小于 5 ppm。

表 1 17 种 β-内酰胺类抗生素信息

| 抗生素 | 分子式 | 保留时间 (min) | 母离子理论值 (m/z) | 实际误差 Δppm | 碎片离子 (m/z) |
|---------------|---|------------|--------------|-----------|----------------------|
| 青霉素 G | C ₁₆ H ₁₇ N ₂ O ₄ S | 6.07 | 334.098 2 | 0.9 | 160.04/176.07 |
| 青霉素 G-D7 (内标) | C ₁₆ H ₂₄ N ₂ O ₄ S | 6.04 | 341.153 0 | 1.2 | 160.04/183.11 |
| 头孢氨苄 | C ₁₆ H ₁₇ N ₃ O ₄ S | 3.88 | 348.101 3 | 0.8 | 106.07/160.04/174.05 |
| 氨苄西林 | C ₁₆ H ₁₉ N ₃ O ₄ S | 4.71 | 350.116 9 | 1.2 | 106.07/160.04 |
| 青霉素 V | C ₁₆ H ₁₇ O ₅ N ₂ S | 3.89 | 350.093 1 | 0.5 | 106.07/114.00/160.04 |
| 苯尼西林 | C ₁₇ H ₂₀ N ₂ O ₅ S | 6.85 | 365.116 6 | 0.7 | 112.04/160.04/206.08 |
| 阿莫西林 | C ₁₆ H ₁₉ N ₃ O ₅ S | 4.10 | 366.111 8 | 0.8 | 114.04/160.04/207.08 |
| 甲氧西林 | C ₁₇ H ₂₀ N ₂ O ₆ S | 5.71 | 381.111 5 | 0.7 | 165.05/167.06/222.08 |
| 苯唑西林 | C ₁₉ H ₁₉ N ₃ O ₅ S | 6.85 | 402.111 8 | 0.6 | 144.04/160.04/243.08 |
| 萘西林 | C ₂₁ H ₂₂ N ₂ O ₅ S | 7.44 | 415.132 2 | 1.1 | 171.04/199.08/256.10 |
| 头孢匹林 | C ₁₇ H ₁₇ N ₃ O ₆ S ₂ | 3.53 | 424.063 2 | 1.0 | 152.02/181.04/292.06 |
| 氯唑西林 | C ₁₉ H ₁₈ ClN ₃ O ₅ S | 7.26 | 436.072 9 | 0.5 | 160.04/178.01/277.04 |
| 头孢唑啉 | C ₁₄ H ₁₄ N ₈ O ₄ S ₃ | 4.37 | 455.037 3 | 0.7 | 156.01/295.06/323.06 |
| 阿洛西林 | C ₂₀ H ₂₃ N ₅ O ₆ S | 5.26 | 462.144 2 | 0.6 | 130.06/218.09/246.09 |
| 双氯西林 | C ₁₉ H ₁₇ Cl ₂ N ₃ O ₅ S | 7.82 | 470.033 9 | 1.2 | 114.04/160.04/311.00 |
| 哌拉西林 | C ₂₃ H ₂₇ N ₅ O ₇ S | 5.70 | 518.170 4 | 0.5 | 143.08/160.04 |
| 头孢噻唑 | C ₁₉ H ₁₇ N ₅ O ₇ S ₃ | 5.29 | 524.036 3 | 1.1 | 126.01/210.02/241.04 |



注：A 为头孢匹林，B 为头孢氨苄，C 为青霉素 V，D 为阿莫西林，E 为头孢唑啉，F 为氨苄西林，G 为阿洛西林，H 为头孢噻唑，I 为哌拉西林，J 为甲氧西林，K 为青霉素 G-D7，L 为青霉素 G，M 为苯尼西林，N 为苯唑西林，O 为氯唑西林，P 为萘西林，Q 为双氯西林。

图 1 猪肉基质中 16 种 β-内酰胺类抗生素的 PRM 监测总离子图 (以青霉素 G-D7 为同位素内标，加标 20 μg/kg)

2.2 线性范围、检出限和定量限 本实验条件下,标准溶液的浓度分别为5、10、20、50、100、200、400 ng/mL,含同位素内标20 ng/mL,以不同浓度标准品的质谱响应值与内标的响应值的比值绘制标准曲线。所有抗生素在标准曲线范围内线性良好,相关系数均>0.99。在空白基质样品中添加低浓度目标物,以信噪比S/N=3时对应的浓度为方法的检出限,以S/N=10为定量限。见表2。

表2 16种β-内酰胺类抗生素的线性方程、检出限和定量限

| 抗生素 | 线性方程 | R ² | 检出限 (μg/kg) | 定量限 (μg/kg) |
|------|-----------------------|----------------|----------------|----------------|
| 青霉素G | y = -0.060 8+0.065 2x | 0.995 | 0.12 | 0.36 |
| 头孢氨苄 | y = -0.075 6+0.087 6x | 0.993 | 0.15 | 0.45 |
| 氨苄西林 | y = -0.082 5+0.117 9x | 0.995 | 0.09 | 0.27 |
| 青霉素V | y = -0.097 5+0.132 4x | 0.996 | 0.13 | 0.39 |
| 苯尼西林 | y = -0.030 1+0.027 1x | 0.996 | 0.08 | 0.24 |
| 阿莫西林 | y = -0.130 5+0.009 8x | 0.994 | 0.41 | 1.23 |
| 甲氧西林 | y = -0.482 5+0.330 5x | 0.996 | 0.08 | 0.24 |
| 苯唑西林 | y = -0.009 4+0.021 4x | 0.996 | 0.21 | 0.63 |
| 萘西林 | y = 0.014 8+0.195 8x | 0.996 | 0.14 | 0.42 |
| 头孢匹林 | y = -0.072 4+0.070 5x | 0.995 | 0.16 | 0.48 |
| 氯唑西林 | y = -0.015 5+0.027 3x | 0.994 | 0.12 | 0.36 |
| 头孢唑啉 | y = -0.024 5+0.021 9x | 0.995 | 0.22 | 0.66 |
| 阿洛西林 | y = -0.098 5+0.172 2x | 0.996 | 0.16 | 0.48 |
| 双氯西林 | y = -0.007 6+0.019 5x | 0.993 | 0.09 | 0.27 |
| 哌拉西林 | y = -0.023 9+0.132 5x | 0.995 | 0.24 | 0.72 |
| 头孢噻唑 | y = -0.055 3+0.054 4x | 0.995 | 0.31 | 0.93 |

2.3 回收率和精密度 猪肉样品中16种β-内酰胺类抗生素的平均回收率为85.5%~116.7%,RSD为3.6%~12.8%。

2.4 样品检测 采用本方法对购自超市的20份猪肉样品进行检测,其中1份猪肉样品中检出青霉素G 28 μg/kg、氨苄西林 18.5 μg/kg。

3 讨论

UPLC-Q-Orbitrap 质谱法具有高分辨率,可带来更好的质量精度,但同时也会降低响应的灵敏度并减少采集的扫描点数。本实验采用 Targeted SIM/dd-MS² 监测模式,类似三重四极杆质谱的MRM或SRM模式^[11-12],通过选择性地监测目标离子及其二级质谱碎片,可以提高质谱扫描采集的扫描点数。质谱鉴定需要丰富的带有结构信息的碎片离子来保证。UPLC-Q-Orbitrap 质谱在进行二级扫描时,可获得对应母离子的全碎片信息。β-内酰胺类抗生素主要的裂解方式为[M+H]⁺的β-内酰胺环和碳氮键的断

裂及少部分[M+Na]⁺断裂^[13]。本实验主要以[M+H]⁺的β-内酰胺环和碳氮键的断裂碎片作为定量的离子,其质谱响应度相对较高。由于内酰胺环裂解现象的普遍性,以及裂解碎片反映化合物的特征,内酰胺环的碎片离子常被用于液质连用中的定量或定性离子。

样品前处理技术是抗生素残留分析的关键步骤,直接影响检测结果。肉类基质复杂,含有较多的蛋白质、多肽、磷脂和糖类等物质,其中残留的抗生素含量高低不一。抗生素残留检测常用的样品前处理方法有液液萃取、固相萃取、加速溶剂萃取和基质分散固相萃取等^[14-17],各有优缺点,本实验采用固相萃取法,乙腈萃取后,经过HLB固相萃取柱净化,能减少样品基质的干扰,同时采用同位素内标青霉素G-D7来校正基体的干扰。

UPLC-Q-Orbitrap 高分辨质谱联用法能够快速筛查和定量分析猪肉中的16种β-内酰胺类抗生素。高分辨质谱的使用减少了样品中的基质干扰,显著提高了定性和定量结果的准确性;通过比对目标物质的碎片质谱图,有效提高了定性的准确性。本方法过程简便,分析时间短,测定结果准确,提高了实验室的检测效率,适合于猪肉中β-内酰胺类抗生素的检测。

参考文献

- [1] MUAZ K, RIAZ M, AKHTAR S, et al. Antibiotic residues in chicken meat: global prevalence, threats, and decontamination strategies: a review [J]. Journal of Food Protection, 2018, 81 (4): 619-627.
- [2] HUANG Z, PAN X D, HUANG B, et al. Determination of 15 β-lactam antibiotics in pork muscle by matrix solid-phase dispersion extraction (MSPD) and ultra-high pressure liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Food Control, 2016, 66: 145-150.
- [3] DI ROCCO M, MOLONEY M, O'BEIRNE T, et al. Development and validation of a quantitative confirmatory method for 30 β-lactam antibiotics in bovine muscle using liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 2017, 1500: 121-135.
- [4] 黄百芬, 吴丹青, 蔡增轩, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定牛奶中19种β-内酰胺类抗生素 [J]. 中国卫生检验杂志, 2010, 20 (1): 1-6.
- [5] 屠颖, 屠洁. β-内酰胺类抗生素分析方法进展 [J]. 国外医药 (抗生素分册), 2002, 23 (2): 73-77.
- [6] JANK L, MARTINS M T, ARSAND J B, et al. High-throughput method for the determination of residues of β-lactam antibiotics in bovine milk by LC-MS/MS [J]. Food Additives & Contaminants: Part A, 2015, 32 (12): 1992-2001.

- [7] DE ALMEIDA M P, REZENDE C P, FERREIRA F D, et al. Optimization and validation method to evaluate the residues of β -lactams and tetracyclines in kidney tissue by UPLC-MS/MS [J]. *Talanta*, 2015, 144: 922-932.
- [8] DORIVAL-GARCÍA N, JUNZA A, ZAFRA-GÓMEZ A, et al. Simultaneous determination of quinolone and β -lactam residues in raw cow milk samples using ultrasound-assisted extraction and dispersive-SPE prior to UHPLC-MS/MS analysis [J]. *Food Control*, 2016, 60: 382-393.
- [9] 贺美莲, 郭常川, 石峰, 等. Orbitrap 高分辨质谱技术在药物分析领域中的应用进展 [J]. *药物分析杂志*, 2019, 39 (1): 105-110.
- [10] SENYUVA H Z, GÖKMEN V, SARIKAYA E A. Future perspectives in OrbitrapTM-high-resolution mass spectrometry in food analysis: a review [J]. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 2015, 32 (10): 1568-1606.
- [11] 张晓艺, 张秀尧, 蔡欣欣, 等. 超高效液相色谱联用三重四极杆质谱法同时测定蜂蜜中氯霉素、甲硝唑和林可霉素 [J]. *预防医学*, 2019, 31 (2): 212-216.
- [12] 高何刚, 杜赛, 王瑞, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定蜂蜜中氯霉素和甲硝唑残留 [J]. *预防医学*, 2017, 29 (9): 969-972.
- [13] 郭泽琴, 霍佳丽, 王建华, 等. β -内酰胺类抗生素质谱裂解机理研究 [J]. *质谱学报*, 2014, 35 (1): 45-51.
- [14] 潘晓东, 吴平谷, 姜维. 基质固相分散-超高效液相色谱串联质谱法测定鸡肉中氯霉素残留 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2014, 24 (21): 3085-3086.
- [15] 潘晓东, 吴平谷, 姜维. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定鱼肉中氯霉素、甲砒霉素和氟甲砒霉素 [J]. *中国食品卫生杂志*, 2014, 26 (6): 572-574.
- [16] KIM C, RYU H D, CHUNG E G, et al. A review of analytical procedures for the simultaneous determination of medically important veterinary antibiotics in environmental water: sample preparation, liquid chromatography, and mass spectrometry [J]. *Journal of Environmental Management*, 2018, 217: 629-645.
- [17] MASIA A, SUAREZ-VARELA M M, LLOPIS-GONZALEZ A, et al. Determination of pesticides and veterinary drug residues in food by liquid chromatography-mass spectrometry: a review [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2016, 936: 40-61.

收稿日期: 2019-05-27 修回日期: 2019-07-12 本文编辑: 徐文璐

(上接第 1099 页)

低,且目前国内 EV71 疫苗安全性相关研究较少,研究人群规模也偏小^[16],因此未与其他企业 EV71 疫苗进行比较。下一步尚需对 EV71 疫苗开展更全面、科学的分析评价,包括流行病学效果与卫生经济学意义的评估及 3~5 年的安全性和有效性追踪观察,以完善和调整疫苗免疫策略,保证儿童安全接种疫苗。

参考文献

- [1] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 2017 年全国法定传染病疫情概况 [EB/OL]. (2018-02-26) [2019-08-17]. <http://www.nhc.gov.cn/jkj/s3578/201802/de926bdb046749abb7b0a8e23d929104.shtml>.
- [2] 吴晨, 吴昊澄, 丁哲渊, 等. 2008—2015 年浙江省手足口病流行特征分析 [J]. *疾病监测*, 2016, 31 (10): 831-834.
- [3] LI R, LIU L, MO Z, et al. An inactivated enterovirus 71 vaccine in healthy children [J]. *N Engl J Med*, 2014, 370 (9): 829-837.
- [4] ZHU F, XU W, XIA J, et al. Efficacy, safety, and immunogenicity of an enterovirus 71 vaccine in China [J]. *N Engl J Med*, 2014, 370 (9): 818-828.
- [5] HU Y M, WANG X, WANG J Z, et al. Immunogenicity, safety, and lot consistency of a novel inactivated enterovirus 71 vaccine in Chinese children aged 6 to 59 months [J]. *Clin Vaccine Immunol*, 2013, (12): 1805-1811.
- [6] 中华人民共和国卫生部, 国家食品药品监督管理局. 全国疑似预防接种异常反应监测方案 [S]. 2010.
- [7] 白云骅, 李丽, 张军楠, 等. 肠道病毒 71 型灭活疫苗上市后安全性主动监测 [J]. *中国公共卫生*, 2017, 33 (4): 65-67.
- [8] 杜进发, 钟革, 陆伟才, 等. 2016—2017 年广西肠道病毒 71 型灭活疫苗疑似预防接种异常反应监测结果分析 [J]. *应用预防医学*, 2018, 24 (5): 384-386.
- [9] 汪志国, 汤奋扬, 高君, 等. 肠道病毒 71 型灭活疫苗上市后安全性监测与评价 [J]. *江苏预防医学*, 2018, 29 (6): 626-629.
- [10] 辛秀梅, 张金凤, 热孜万, 等. 新疆疑似预防接种异常反应主动监测项目结果分析 [J]. *中国妇幼保健*, 2012, 27 (24): 3747-3749.
- [11] 沈金花, 陆红梅, 黄卓英, 等. 上海市松江区乙型肝炎疫苗安全性主动与被动监测 [J]. *职业与健康*, 2012, 28 (24): 3125-3127.
- [12] 王亚丽, 董锋, 王丹, 等. 美国疫苗上市后安全性监测给我们的启示 [J]. *中国药事*, 2015, 29 (9): 908-911.
- [13] 黄巍, 周晓红, 席胜, 等. 两种 EV71 型灭活疫苗安全性比较 [J]. *预防医学*, 2018, 30 (4): 356-358.
- [14] 刘世科, 陈伟, 王帆, 等. 婴幼儿接种 EV71 疫苗的安全性观察 [J]. *预防医学*, 2019, 31 (5): 505-507.
- [15] 戚小华, 李倩, 凌罗亚, 等. 浙江省 2010—2012 年麻疹成分疫苗疑似预防接种异常反应监测分析 [J]. *国际流行病学传染病学杂志*, 2013, 40 (5): 317-320.
- [16] 孙肖瑜, 魏晶娇, 李万仓, 等. 温州市 EV71 灭活疫苗的疑似预防接种异常反应分析 [J]. *预防医学*, 2018, 30 (6): 629-630.

收稿日期: 2019-07-08 修回日期: 2019-08-17 本文编辑: 姜申