

食源性疾病

2019—2021年武汉市致泻大肠埃希菌分子分型与耐药性研究

费筱媛¹, 陈小红², 赵滢¹, 周军波¹, 黄烈泓¹, 龙一兵¹

(1. 武汉市疾病预防控制中心, 湖北 武汉 430000; 2. 武汉市第三医院, 湖北 武汉 430000)

摘要:目的 了解2019—2021年湖北省武汉市腹泻患者来源致泻大肠埃希菌的毒力基因分布、耐药情况以及种群多样性。方法 定期收集来自武汉市5家医疗机构的致泻大肠埃希菌菌株并通过生化反应和飞行时间质谱进行确认。对经确认的菌株进行药敏试验以及多重PCR检测毒力基因。采用脉冲场凝胶电泳技术和多位点序列分型技术对收集的菌株进行分子分型。通过聚类比对和构建最小生成树进行同源性分析。结果 收集到59株致泻大肠埃希菌,共检出3种基因型别。其中检出产肠毒素大肠埃希菌(ETEC)29株,占比最高为49.15%;肠集聚性大肠埃希菌(EAEC)、肠致病性大肠埃希菌(EPEC)各检出15株,占比均为25.42%。59株致泻性大肠埃希菌对除多黏菌素E外的11种抗生素表现出不同程度的耐药,对氨苄西林(67.80%)、茶啶酸(61.02%)、四环素(45.76%)、复方新诺明(37.29%)、头孢噻肟(30.51%)、氯霉素(13.56%)表现出较高的耐药性。EAEC和EPEC均存在14种不同的脉冲场凝胶电泳带型,均可被分为11种不同的ST型别。ETEC存在28种不同的脉冲场凝胶电泳带型,可被分为10种不同的ST型别,且超过50%的ETEC属于同一种优势克隆复合体CC-10。结论 武汉市食源性致泻大肠埃希菌的污染长期存在且耐药情况严重,其中EAEC和EPEC型别多样,ETEC的优势克隆复合体CC-10被广泛检出。

关键词:致泻大肠埃希菌; 毒力基因; 多重耐药; 脉冲场凝胶电泳; 多位点序列分型; 最小生成树

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2023)08-1212-08

DOI:10.13590/j.cjfh.2023.08.012

Molecular type and antimicrobial resistance analysis of diarrheagenic *Escherichia coli* in Wuhan from 2019 to 2021

FEI Xiaoyuan¹, CHEN Xiaohong², ZHAO Ying¹, ZHOU Junbo¹, HUANG Liehong¹, LONG Yibing¹

(1. Wuhan Center for Disease Control & Prevention, Hubei Wuhan 430000, China;

2. Wuhan Third Hospital, Hubei Wuhan 430000, China)

Abstract: Objective This study aimed to investigate the distribution of virulence genes, antibiotic resistance, and molecular types of diarrheagenic *Escherichia coli* (DEC) in Wuhan, Hubei Province, China. **Methods** DEC strains identified through biochemical means and a time-of-flight mass spectrometer were routinely collected from five medical institutions. Multiple polymerase chain reactions and drug sensitivity tests were carried out. The molecular characteristics of DEC strains were determined using pulsed field gel electrophoresis (PFGE) and multi-locus sequence typing. Homology analysis was carried out based on clustering analogy and the minimum spanning tree. **Results** A total of 59 DEC strains were collected, including 29 strains of enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC, 49.15%), 15 strains of enteroaggregative *Escherichia coli* (EAEC, 25.42%), and 15 strains of enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC, 25.42%). The resistance rates of DEC to the 11 antibiotics (except polymyxin E) varied, and were especially high for the following: ampicillin (67.80%), nalidixic acid (61.02%), tetracycline (45.76%), cotrimoxazole (37.29%), cefotaxime (30.51%), and chloramphenicol (13.56%). As determined by PFGE, both EAEC and EPEC had 14 different bands, belonging to 11 different sequence types (STs); whereas ETEC had 28 different bands belonging to 10 different STs. In addition, more than 50% of STs from ETEC were classified as clonal complexes (CC)-10. **Conclusion** The contamination of DEC persists in Wuhan, and antimicrobial resistance is at a critical level. The genotypes from EAEC and EPEC are relatively scattered based on molecular detection and typing of DEC. CC-10, the dominant clone complex of ETEC, is widely

收稿日期:2022-10-26

基金项目:湖北省卫生计生委员会科研专项(WJ2018H255);武汉市卫生健康委医学科研专项(WX21Q13)

作者简介:费筱媛 女 检验技师 研究方向为病原生物鉴定及分子分型 E-mail:305553109@qq.com

通信作者:龙一兵 男 副主任技师 研究方向为食品安全卫生与食源性疾病 E-mail:472272099@qq.com

distributed in Wuhan.

Key words: Diarrheagenic *Escherichia coli*; virulence genes; multidrug resistance; pulsed field gel electrophoresis; multilocus sequence typing; minimum spanning tree

由病原微生物或寄生虫引起的感染性腹泻是发展中国家面临的严峻公共卫生问题。在我国,致泻大肠埃希菌(Diarrheagenic *Escherichia coli*, DEC)是引起感染性腹泻的主要病原体之一^[1]。根据其携带的毒力基因所致的临床症状不同,常见的DEC可分为肠致病性大肠埃希菌(Enteropathogenic *Escherichia coli*, EPEC)、肠侵袭性大肠埃希菌(Enteroinvasive *Escherichia coli*, EIEC)、产肠毒素大肠埃希菌(Enterotoxigenic *Escherichia coli*, ETEC)、肠出血性大肠埃希菌(Enterohemorrhagic *Escherichia coli*, EHEC)和肠集聚性大肠埃希菌(Enteraggative *Escherichia coli*, EAEC)^[2]。DEC广泛存在于外界环境中,可通过食物等途径进入人体引发个体或群体的消化道疾病^[3]。

目前,基于分子水平的细菌分型方法发展迅速。其中脉冲场凝胶电泳(Pulsed field gel electrophoresis, PFGE)技术因分辨率高、结果稳定,是从分子水平追溯菌株同源性的金标准^[4]。而依据管家基因序列测定的多位点序列分型(Multilocus sequence typing, MLST)技术在分析细菌间的亲缘关系和种群多样性方面更具优势^[5]。结合不同地区对DEC的监测分析发现,不同地区DEC的流行趋势不同,存在分区域监测的必要。而近年来关于武汉市DEC的耐药性、毒力基因和种群多样性方面的报道较少。本研究主要通过2019—2021年武汉市收集腹泻患者来源的DEC进行PFGE和MLST分子分型、耐药性分析和毒力基因检测,以期了解武汉市DEC的种群特征和多重耐药情况,为武汉市DEC的防治提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株来源

2019—2021年定期收集武汉市5家医疗机构(3家三甲医院和2家社区卫生服务中心)来自于腹泻患者的DEC菌株,经质谱鉴定和生化鉴定,共59株。以大肠埃希菌ATCC 25922作为质控菌株,购于中国医学细菌保藏管理中心(CMCC)。

1.1.2 主要仪器与试剂

VITEK 2 Compact全自动细菌鉴定及药敏分析系统(法国梅里埃),ABI 7500荧光定量PCR仪(美国赛默飞),自动菌液加样系统(美国赛默飞),

CHEF Mapper PFGE仪、Gel Doc XR+凝胶成像系统均购自美国伯乐,MALDI-TOF飞行时间质谱仪(美国布鲁克)。

增菌肉汤和血平板均购自北京陆桥技术股份有限公司,蛋白酶K、限制性内切酶Xba I均购自日本TaKaRa,Seakem Gold Agar(瑞士Lonza),Gel Red(美国西格玛),5种DEC荧光定量PCR试剂盒(北京卓诚惠生生物科技股份有限公司);96孔革兰阴性细菌药敏板(上海星佰生物技术有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 菌株鉴定

依据GB 4789.6—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 致泻大肠埃希氏菌检验》中推荐的方法进行菌株鉴定^[6]。用一次性无菌接种环挑取血平板上的单个菌落至无菌磷酸盐缓冲液中,制成麦氏浓度为0.45~0.55的均匀菌悬液。将革兰阴性菌鉴定卡的输样管插入菌悬液中送至生化鉴定仪鉴定,用一次性无菌接种环蘸取血平板上的单个菌落均匀薄涂于靶板上形成菌膜,菌膜干后用移液器滴加1 μL基质液。待基质液晾干后将靶板送至飞行时间质谱仪进行鉴定。

1.2.2 荧光定量PCR

用无菌棉拭子刮取可疑菌落至无菌磷酸盐缓冲液中制成均匀菌悬液,100 °C高温裂解10 min,待冷却后,高速离心3 min(12 000 r/min, r=10 cm),吸取上清液作为PCR扩增模板。后续按照5种DEC荧光定量PCR试剂盒说明书配制扩增体系进行毒力基因检测和毒力基因分型。

1.2.3 药物敏感试验

参照《2022年国家食源性疾病监测工作手册》^[7]推荐的方法进行药物敏感试验。用一次性无菌接种环挑取血平板上的单个菌落至无菌磷酸盐缓冲液中,制成麦氏浓度为0.45~0.55的均匀菌悬液。稀释菌悬液至适宜浓度,吸取100 μL稀释液加入96孔革兰阴性细菌微量药敏板条。将加样完毕的药敏板送至37 °C恒温培养箱中培养18~20 h。从培养箱中取出药敏板,肉眼判读各孔结果,经数据分析得到最低抑菌浓度值,并依据美国临床和实验室标准协会的标准对试验结果得到的12种抗生素的耐药性进行界定^[8]。

1.2.4 PFGE分子分型

参照中国国家致病菌识别网推荐的方法对分

离到的病原菌进行 PFGE 实验及聚类分析^[9]。刮取血平板上的新鲜菌苔悬浮于 2 mL 的灭菌去离子水中,制成麦氏浓度 4.0~4.5 之间的菌悬液。用 1% Seakem Gold 包埋菌体,经蛋白酶 K 消化,50 °C 预热的蒸馏水和 TE 溶液清洗,制备胶块备用。选用沙门菌 H9812 为标准菌株,截取 2 mm 宽度的胶块置于终浓度为 50 U *Xba* I 的酶切体系中 37 °C 酶切 4 h。使用 CHEF Mapper PFGE 仪进行电泳。电泳结束经核酸染料染色,纯水漂洗后使用凝胶成像系统获取图谱,并导入至 BioNumerics 7.6 软件进行图像处理及分子分型。

1.2.5 MLST

根据 PUBMLST 网站提供的大肠埃希菌管家基因序列合成引物。具体序列和引物扩增条件见表 1。提取菌株的总 DNA 作为扩增模板,用 PCR 仪定向扩增管家基因序列。收集 PCR 产物经纯化后送至生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。拼接下机后的原始数据导入 PUBMLST 网站匹配 ST 型。将匹配完成的 ST 型导入 BioNumerics 7.6 软件构建最小生成树。

1.2.6 数据处理

采用 BioNumerics 7.6 软件对 PFGE 指纹图谱进行聚类分析。设定条带位置差异容许度 1%,优

化值 1%,通过非加权配对平均法计算相似系数。不同菌株基因型亲缘关系的判断以图谱相似系数作为依据^[10],相似系数≥85% 表现为高度同源的菌株,相似系数<50% 表现为亲缘关系较远。

1.3 统计学分析

使用软件 SPSS 22.0 进行统计学分析。根据变量的具体情况采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法进行比较。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 菌株鉴定结果及 DEC 毒力基因分型

经生化反应鉴定、飞行时间质谱鉴定及荧光定量 PCR 扩增后,共确认 59 株 DEC,可分为 3 种基因型别。其中,ETEC 占比最高为 49.15%(29/59),EAEC 和 EPEC 占比均为 25.42%(15/59)。2019—2021 年均均为 ETEC 检出率最高,EPEC 每年检出比例稳定,无较大波动。具体毒力基因分型和不同年份基因型别分布情况见表 2、表 3。

2.2 DEC 阳性病例性别比例构成

DEC 感染者男女比例接近 1:1,男性占 52.54%(31/59),女性占 47.46%(28/59)。不同基因型别的男女患者比例同样接近于 1:1。具体性别比例构成见表 4。

表 1 大肠埃希菌管家基因引物序列

Table 1 Primer sequences for MLST amplification of house-keeping genes of *E. coli*

管家基因	引物(5'-3')	片段长度/bp	退火温度/°C
<i>adk</i>	F:ATTCTGCTTGGCGCTCCGGG R:CCGTCAAATTTTCGCGTATTT	583	54
<i>fumC</i>	F:TCACAGGTCGCCAGCGCTTC R:GTACGCAGCGAAAAAGATTC	806	54
<i>gyrB</i>	F:TCGGCGACACGGATGACGGC R:GTCCATGTAGCGTTCACGG	911	60
<i>icd</i>	F:ATGGAAGTAAAGTAGTTGTCCGGCACA R:GGACGCAGCAGGATCTGTT	878	54
<i>mdh</i>	F:ATGAACTCGCACTCCTCGGCGCTGCTGGCGG R:TTAACGAACTCCTGCCAGAGCGATATCTTTCTT	932	60
<i>purA</i>	F:CGCGCTGATGAAAAGAGATGA R:CATACGGTAAGCCACGCAGA	816	54
<i>recA</i>	F:ACCTTTGTAGCTGTACCACG R:TCGTCGAAATCTACGGACCGGA	780	58

表 2 59 株 DEC 毒力基因分布情况

Table 2 Distribution of virulence genes of 32 strains of DEC

菌株类型	菌株数	毒力基因								
		<i>eae</i>	<i>stx1/stx2</i>	<i>uidA</i>	<i>ipaH</i>	<i>estIa</i>	<i>estIb</i>	<i>aggR</i>	<i>elt</i>	<i>astA/pic</i>
EPEC	15	+	-	+	-	-	-	-	-	-
	10	-	-	+	-	-	-	-	-	+
EAEC	3	-	-	+	-	-	-	+	-	+
	2	-	-	+	-	-	-	+	-	-
ETEC	4	-	-	+	-	-	+	-	+	-
	21	-	-	+	-	-	+	-	-	-
	4	-	-	+	-	-	-	-	+	-

注:+表示检出毒力基因,-表示未检出

表3 不同年份基因型别统计

菌株类型	2019年		2020年		2021年		合计	
	菌株数	占比/%	菌株数	占比/%	菌株数	占比/%	菌株数	占比/%
EAEC	4	19.05	7	35.00	4	22.22	15	25.42
EPEC	5	23.81	5	25.00	5	27.78	15	25.42
ETEC	12	57.14	8	40.00	9	50.00	29	49.15

2.3 耐药监测结果分析

对59株DEC进行耐药性监测,结果表明,59株菌对除多黏菌素E外的11种抗生素均表现出不同程度的耐药。总耐药率超过50%的抗生素有两种,即氨苄西林和萘啶酸。其中,氨苄西林的总耐药率

表4 DEC阳性病例性别比例构成

菌株类型	男		女		性别比
	菌株数	占比/%	菌株数	占比/%	
EAEC	7	46.67	8	53.33	1:1.14
EPEC	8	53.33	7	46.67	1.14:1
ETEC	16	55.17	13	44.83	1.23:1
合计	31	52.54	28	47.46	1.11:1

最高为67.80%,共有40株菌对氨苄西林表现出耐药;有36株菌对萘啶酸耐药,总耐药率为61.02%。同时,表现为高耐药率的抗生素还有四环素(45.76%)、复方新诺明(37.29%)、头孢噻肟(30.51%)、氯霉素(13.56%),各抗生素具体耐药情况见表5。

表5 DEC药敏试验结果

Table 5 Results of antimicrobial susceptibility testing of DEC

抗生素	2019年(n=21)		2020年(n=20)		2021年(n=18)		合计(n=59)		P值
	耐药菌株数	耐药率/%	耐药菌株数	耐药率/%	耐药菌株数	耐药率/%	耐药菌株数	耐药率/%	
氨苄西林	14	66.67	12	60.00	14	77.78	40	67.80	0.499
头孢他啶	0	0.00	1	5.00	0	0.00	1	1.69	0.371
氨苄西林/舒巴坦	0	0.00	0	0.00	2	11.11	2	3.39	0.095
亚胺培南	0	0.00	0	0.00	2	11.11	2	3.39	0.095
四环素	8	38.10	8	40.00	11	61.11	27	45.76	0.290
萘啶酸	9	42.86	11	55.00	16	88.89	36	61.02	0.025
多黏菌素E	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	—
头孢西丁	0	0.00	1	5.00	1	5.56	2	3.39	0.562
氯霉素	1	4.76	3	15.00	4	22.22	8	13.56	0.276
头孢噻肟	8	38.10	5	25.00	5	27.78	18	30.51	0.631
复方新诺明	6	28.57	8	40.00	8	44.44	22	37.29	0.566
环丙沙星	1	4.76	0	0.00	2	11.11	3	5.08	0.297

注:—表示该项不统计

分别统计2019—2021年DEC的耐药结果发现,萘啶酸的耐药率呈逐年上升趋势且差异有统计学意义($\chi^2=7.415, P<0.05$)。亚胺培南和氨苄西林/舒巴坦在2019—2020年的监测中未发现耐药株,在2021年分别监测到2株耐药株(表5)。分析菌株的耐药表型发现,2019—2020年可监测到非耐药菌株,2021年所有菌株均对受试抗生素表现出不同的耐药性。同时,多重耐药菌株(耐药抗生素种类 ≥ 3 种)的数量呈逐年上升趋势且差异有统计学意义($\chi^2=6.642, P=0.036$),见表6。

表6 DEC多重耐药情况

Table 6 Multidrug resistance of DEC

年份	耐药菌株数	多重耐药菌株数	占比/%
2019年	21	4	19.05
2020年	20	7	35.00
2021年	18	8	44.44
合计	59	19	32.20

2.4 PFGE分子分型聚类结果

15株EAEC菌株中有1株菌核酸降解,共得到14条完整的条带,可分为14种带型,相似系数范围

为65.5%~81.8%,未出现高度同源的菌株,具体聚类图谱见图1。15株EPEC菌株中存在1株菌核酸降解,共得到14条完整的条带,可分为14种带型,相似系数范围为60.0%~93.8%。其中编号为19-60和2021-WH-EC-0032的菌株相似系数为93.8%,在遗传关系上高度同源,具体聚类图谱见图2。29株ETEC中有1株菌核酸降解,可分为28种不同的带型,相似系数范围为51.6%~98.0%。共存在5组高度同源的菌株,分别为:19-126、2021-WH-EC-0065、2021-WH-EC-0087、2021-WH-EC-0155和2021-WH-EC-0156;19-33、19-87、20-103和20-182;19-88、19-89和20-104;19-93、19-125和2021-WH-EC-0086;19-34和20-101。具体聚类图谱见图3。

2.5 MLST分型结果

将56株测序成功DEC的下机结果拼接比对共分为28个ST型,存在两个优势克隆复合体CC-10和CC-28(图4A)。其中ST1491、ST48、ST4和ST218为优势型别,占比分别为11.86%(7/59)、10.17%(6/59)、8.47%(5/59)和8.47%(5/59)。其

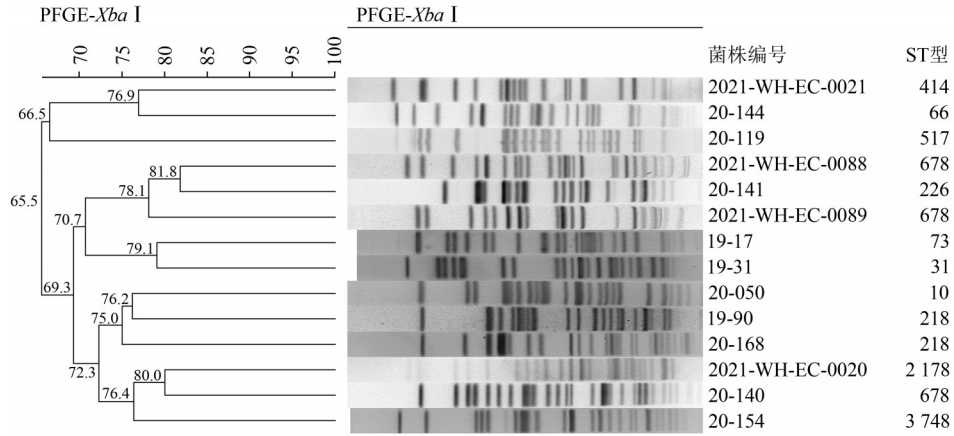


图1 14株EAEC聚类分析图谱

Figure 1 Cluster analysis of 14 EAEC strains

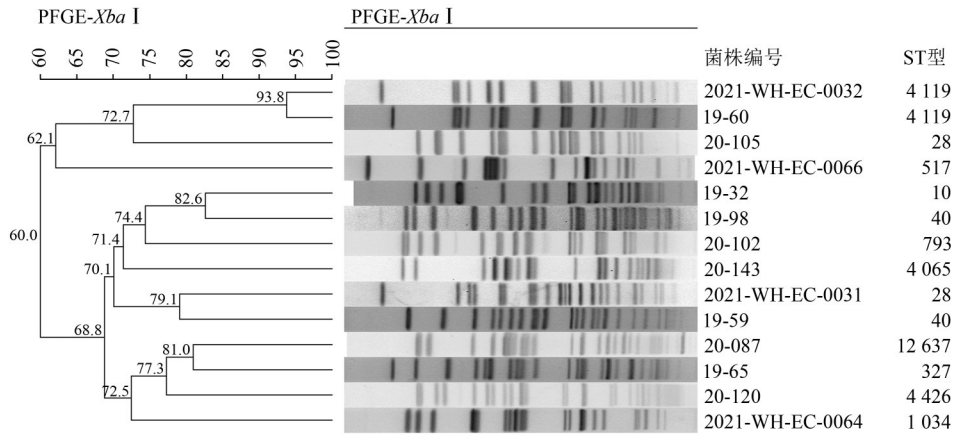


图2 14株EPEC聚类分析图谱

Figure 2 Cluster analysis of 14 EPEC strains

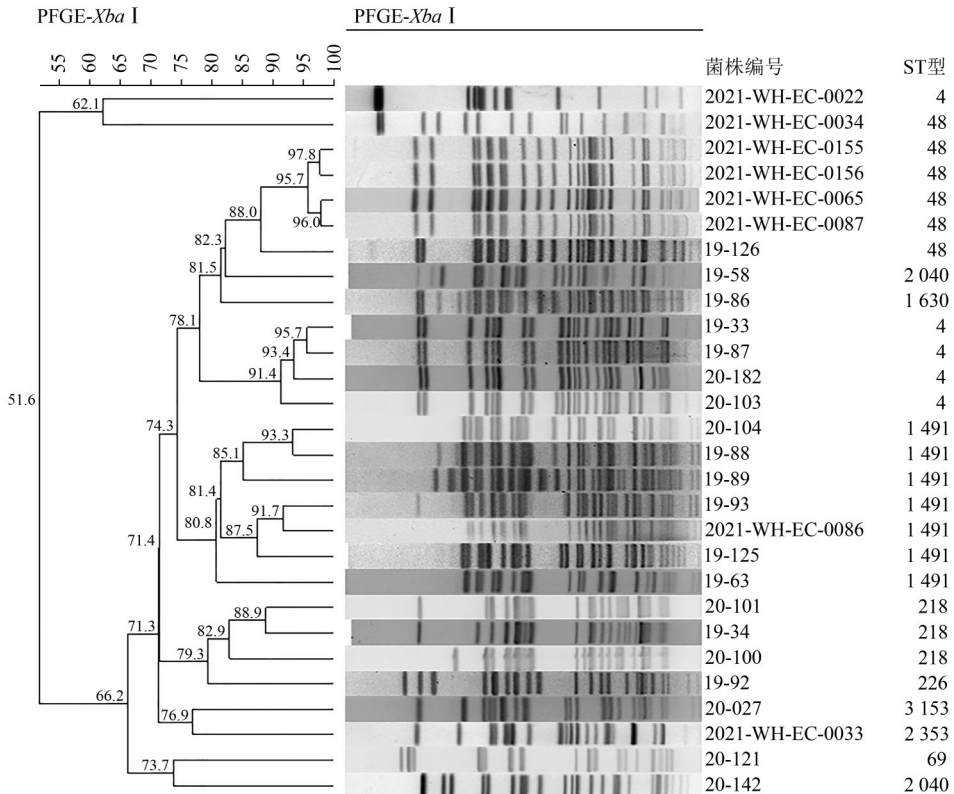
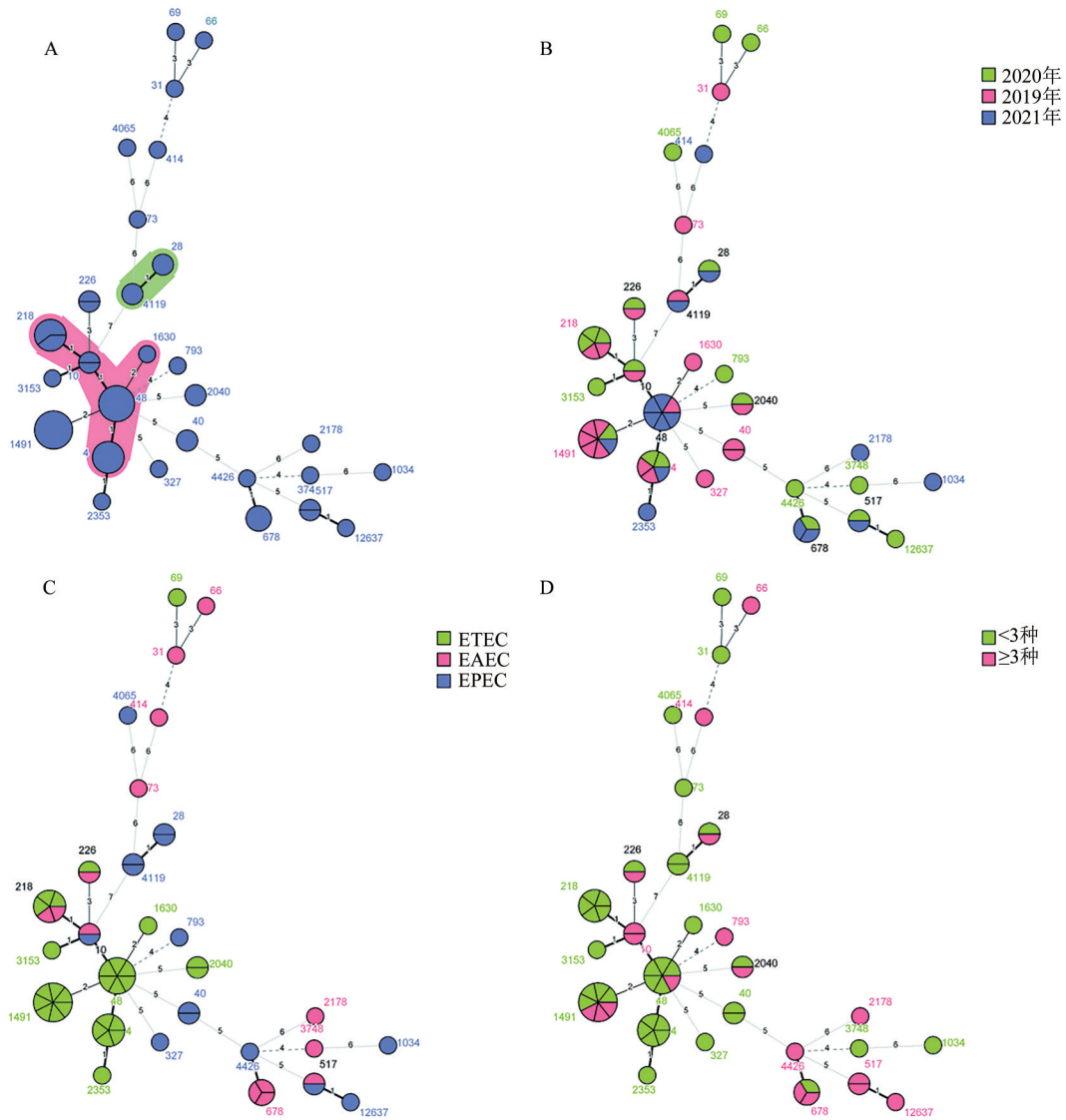


图3 28株ETEC聚类分析图谱

Figure 3 Cluster analysis of 28 ETEC strains



注:每个圆圈代表一种ST型别,圆圈被分成的份数代表每种型别包含的菌株数量;实线表示ST型别间相差1个或2个等位基因,虚线表示ST型别间存在≥3个等位基因的差异;A为2个优势克隆复合体,分别用红、绿色标注;B为根据分离年份分组的最小生成树;C为根据DEC类别分组的最小生成树;D为根据耐药种类分组的最小生成树

图4 56株DEC的最小生成树

Figure 4 Minimum spanning tree of 56 DEC

余型别仅含有1株或2株菌,进化关系较为分散。

采用软件 BioNumerics 7.6 分别构建了基于分离年份、所属类别以及耐药种类为分组的最小生成树(图4B、4C、4D)。根据分离年份分析,2019—2021年间每年均可检出ST4型和ST1491型;除ST48型于2019年和2021年分别检出外,其他型别在时间分布上表现出连续性。根据所属类别分析,部分EPEC菌株亲缘关系较近,仅存在1个或2个等位基因的差异;EAEC和EPEC菌株的ST型分布分散,不能形成明显的克隆群。ST218型、ST226型、ST10型和ST517型中包含不同类别的菌株,说明不同类别的DEC间存在ST型的交叉。根据耐药表型分析,多重耐药菌株分布零散,菌株间亲缘关系较远。

3 讨论

近年来由于广谱抗生素的滥用,多重耐药菌株的数量逐年增加。本研究通过对59株DEC进行耐药监测发现,武汉市DEC对氨苄西林和萘啶酸表现出高耐药性(耐药率>50%)。对大肠埃希菌有良好抑菌作用的抗生素复方新诺明的耐药率也趋于40%,且呈逐年上升趋势。经对多重耐药菌株统计,武汉市多重耐药DEC的数量逐年增加。2021年武汉市DEC多重耐药率为44.44%,虽低于安徽省(57.10%)和福建省(50.00%)^[11-12],但武汉市多重耐药菌中对6种及以上抗生素耐药的菌株占比49.15%,高于北京市监测数据(31.58%)^[12]。本研究在2021年监测到2株对亚胺培南等9种抗生素耐药的耐碳青霉烯类肠杆菌目细菌(CRE),提示武

武汉市 DEC 的耐药情况严重,广谱耐药菌株的数量较多。建议临床用药应结合耐药情况合理选择,避免多种抗生素同时使用,减少广谱耐药菌株的产生。

本研究结果显示,武汉市流行的 DEC 主要以 ETEC 为主,占 49.15%,其次为 EAEC 和 EPEC,分别占比 25.42%。结合 PFGE 和 MLST 分型结果分析可知,15 株 EAEC 和 15 株 EPEC 均包括 11 种 ST 型别和 14 种不同的 PFGE 带型,且多数 ST 型别间存在 3 个及以上等位基因的差异,提示 EAEC 和 EPEC 菌株间亲缘关系较远,具有丰富的遗传多样性。29 株 ETEC 可分为 10 种不同的 ST 型别,同时 PFGE 聚类结果显示存在 5 组高度同源的菌株。多数 ST 型别间仅存在 1~2 个等位基因的差异,提示 ETEC 菌株间亲缘关系密切。ETEC 中有 15 株菌归属同种克隆复合体 CC-10,且这 15 株菌来源于不同个体和不同年份,提示此种克隆谱系在武汉市广泛存在,需重点关注。

目前,全基因组测序技术(Whole genome sequencing, WGS)因能获得完整的基因组信息受到广泛关注^[13]。相较于 PFGE 和 MLST 分型技术而言,WGS 虽能获得更多的遗传信息,但对检测人员的技术和数据分析能力要求更高。不同的测序方法获得的基因组序列存在差异,为得到准确基因组信息,需结合几代测序结果分析,进一步提高了成本。管家基因是一类高度保守的基因,但在中性进化和适应性进化的条件下会发生突变^[14-15]。本研究选择的 PFGE 和 MLST 分型技术已较为全面地探究了菌株间亲缘关系和种群多样性。同时,本研究根据耐药表型和亲缘关系筛选出部分有进一步研究价值的菌株,例如:武汉市广泛存在的 CC-10 克隆谱系以及 2 株 ST48 型 CRE。在忽略高成本的情况下,WGS 在研究基因组遗传变异和进化趋势方面具有绝对优势^[13]。后续将通过 WGS 研究 2 株 CRE 的耐药机制和武汉市 CC-10 克隆谱系的进化趋势。

通过近 3 年监测发现,武汉市 DEC 的耐药情况严重,广谱耐药菌株数量较多。结合两种分子分型检测发现,武汉市 EAEC 和 EPEC 型别多样,CC-10 克隆谱系作为 ETEC 的优势克隆群在武汉市广泛存在。本研究分析了 2019—2021 年武汉市 DEC 的种群多样性及耐药特征,为武汉市 DEC 的防控和暴发预警提供科学依据。

参考文献

[1] 时全,黄新明,李朝阳,等.致泻大肠埃希菌感染在腹泻病中地位的研究[J].中国卫生检验杂志,2005,15(1):5-8.
SHI Q, HUANG X M, LI C Y, et al. Study on the position of the

influence of lapactic *E. coli* in diarrhea [J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2005, 15(1): 5-8.

- [2] CROXEN M A, FINLAY B B. Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity [J]. Nature Reviews Microbiology, 2010, 8(1): 26-38.
- [3] 栾旭波,王小龙,史晓娟.一起细菌性食物中毒的病原学检测分析[J].河南预防医学杂志,2018,29(3):225-226.
LUAN X B, WANG X L, SHI X J. Etiological analysis of a foodborne disease caused by bacteria [J]. Henan Journal of Preventive Medicine, 2018,29(3):225-226.
- [4] YEUNG E Y H, GORN I. Use of pulsed-field gel electrophoresis to determine the source of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia [J]. Infectious Disease Reports, 2021, 13 (3) : 602-610.
- [5] MAIDEN M C, BYGRAVES J A, FEIL E, et al. Multilocus sequence typing: A portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1998, 95(6): 3140-3145.
- [6] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会,国家食品药品监督管理总局.食品安全国家标准 食品微生物学检验 致泻大肠埃希氏菌检验:GB 4789.6—2016[S].北京:中国标准出版社,2017.
National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China. GB 4789.4-2016 National food safety standard of *Escherichia coli* inspection [S]. Beijing: Standards Press of China, 2016.
- [7] 2022 年国家食源性疾病监测工作手册[S].国家食品安全风险评估中心,2022.
Manual of National Foodborne illness surveillance in 2022 [S]. China National Center for Food Safety Risk Assessment, 2022.
- [8] Clinical and Laboratory Standards Institute. M100-S27: performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-second informational supplement [S]. CLSI, USA, 2017.
- [9] Pulse Net China. 沙门氏菌 PFGE 标准实验步骤[Z]. 2008.
Pulse Net China. Standard operating procedures for pulse net PFGE of *Salmonella* [Z]. 2008.
- [10] TENOVER F C, ARBEIT R D, GOERING R V. How to select and interpret molecular strain typing methods for epidemiological studies of bacterial infections: A review for healthcare epidemiologists. Molecular Typing Working Group of the Society for Healthcare Epidemiology of America [J]. Infection Control and Hospital Epidemiology, 1997, 18(6): 426-439.
- [11] 李春,孟昭倩,王利,等.安徽省临床分离致泻性大肠埃希菌主要流行基因型及同源性分析[J].中国感染控制杂志,2022,21(2):111-120.
LI C, MENG Z Q, WANG L, et al. The main prevalent genotypes and homology of clinically isolated diarrhea- genic *Escherichia coli* in Anhui Province [J]. Chinese Journal of Infection Control, 2022,21(2):111-120.
- [12] 李东迅,彭华,闻艳红,等.2015 年北京市昌平区致泻性大肠埃希菌耐药性及脉冲场凝胶电泳分型研究[J].疾病监测,2017,32(3):247-251.
LI D X, PENG H, WEN Y H, et al. Antibiotic resistance and

- pulsed-field gel electrophoresis molecular type of diarrhoeagenic *Escherichia coli* isolated in Changping District of Beijing, 2015[J]. *Disease Surveillance*, 2017, 32(3):247-251.
- [13] KAGAMBÈGA A, LIENEMANN T, FRYE J G, et al. Whole genome sequencing of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serovar Typhimurium isolated from humans and poultry in Burkina Faso[J]. *Tropical Medicine and Health*, 2018, 46(1): 4.
- [14] 黄振洲, 于可艺, 代航, 等. 麦氏弧菌多位点序列分型方法的建立与应用[J]. *疾病监测*, 2020, 35(1): 75-80.
- HUANG Z Z, YU K Y, DAI H, et al. Establishment and application of multilocus sequence typing for *Vibrio metschnikovii* [J]. *Disease Surveillance*, 2020, 35(1): 75-80.
- [15] SHAN X Y, ZHOU H J, ZHANG J, et al. Multilocus variable-number tandem-repeat analysis of *Neisseria meningitidis* serogroup C in China [J]. *Epidemiology and Infection*, 2015, 143(14): 3001-3010.

(上接第 1191 页)

- 刘 弘(上海市疾病预防控制中心)
刘长青(河北省疾病预防控制中心)
刘成伟(江西省疾病预防控制中心)
刘兆平(国家食品安全风险评估中心)
刘守钦(济南市疾病预防控制中心)
刘烈刚(华中科技大学公共卫生学院)
刘爱东(国家食品安全风险评估中心)
孙长颢(哈尔滨医科大学)
李 宁(国家食品安全风险评估中心)
李 黎(中华预防医学会)
李凤琴(国家食品安全风险评估中心)
李业鹏(国家食品安全风险评估中心)
李国梁(陕西科技大学食品与生物工程学院)
李静娜(武汉市疾病预防控制中心)
杨 方(福州海关技术中心)
杨 钧(青海省卫生健康委员会卫生监督所)
杨大进(国家食品安全风险评估中心)
杨小蓉(四川省疾病预防控制中心)
杨杏芬(南方医科大学公共卫生学院)
肖 荣(首都医科大学公共卫生学院)
吴永宁(国家食品安全风险评估中心)
何更生(复旦大学公共卫生学院)
何来英(国家食品安全风险评估中心)
何洁仪(广州市疾病预防控制中心)
- 姜毓君(东北农业大学食品学院)
聂俊雄(常德市疾病预防控制中心)
贾旭东(国家食品安全风险评估中心)
徐 娇(国家卫生健康委员会食品标准与监测评估司)
徐海滨(国家食品安全风险评估中心)
高志贤(军事科学院军事医学研究院)
郭云昌(国家食品安全风险评估中心)
郭丽霞(国家食品安全风险评估中心)
唐振柱(广西壮族自治区疾病预防控制中心)
黄 薇(深圳市疾病预防控制中心)
黄锁义(右江民族医学院药学院)
常凤启(河北省疾病预防控制中心)
崔生辉(中国食品药品检定研究院)
章 宇(浙江大学生物工程与食品学院)
章荣华(浙江省疾病预防控制中心)
梁进军(湖南省疾病预防控制中心)
程树军(广州海关技术中心)
傅武胜(福建省疾病预防控制中心)
谢剑炜(军事科学院军事医学研究院)
赖卫华(南昌大学食品学院)
裴晓方(四川大学华西公共卫生学院)
廖兴广(河南省疾病预防控制中心)
熊丽蓓(上海市疾病预防控制中心)
樊永祥(国家食品安全风险评估中心)