

基于高通量测序分析昆明官渡区市售芫荽 细菌污染状况

韩 龙, 李俊秋, 普志英, 赵泽宇, 周艺萍, 刘 云, 阚 欢*

(西南林业大学生命科学学院, 昆明 650224)

摘 要: **目的** 采用高通量测序技术分析昆明市官渡区市售芫荽细菌污染状况。**方法** 以昆明市官渡区超市及农贸市场售芫荽为样本, 采用高通量 16S rDNA 扩增子测序技术结合 FAPROTAX 功能群体预测分析市售芫荽样品细菌多样性, 重点关注潜在致病菌以及人类肠道菌群。**结果** 从全部样品共获得 833 个操作分类单元 (operational taxonomic units, OTUs), 经物种注释可归入细菌的 19 个门、288 个属。其中在全部或部分芫荽样品中检测到以下潜在致病菌 OTUs: 致腹泻和肠胃炎细菌, 如布氏弓形杆菌、脆弱拟杆菌、产碱普罗威登斯菌等; 致医院感染条件致病菌, 如抗辐射不动杆菌、土壤不动杆菌和奥斯陆莫拉氏菌。此外还检测到多种人类肠道菌群的 OTUs, 如产气柯林斯菌、长链多雷尔氏菌、大肠埃希氏菌等。**结论** 简单焯水或清洗后食用芫荽的饮食习惯存在巨大的食品安全隐患, 芫荽可能已成为食源性疾病传播的一条重要途径, 但并未受到足够重视。**关键词:** 芫荽; 高通量测序; 潜在致病菌; 食品微生物检测

Investigation on the situation of bacterial contamination in coriander sold in Guandu district of Kunming city based on high-throughput sequencing

HAN Long, LI Jun-Qiu, PU Zhi-Ying, ZHAO Ze-Yu, ZHOU Yi-Ping, LIU Yun, KAN Huan*

(School of Life Science, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the situation of bacterial contamination in coriander sold in Guandu district of Kunming city based on high-throughput sequencing by high-throughput sequencing technology. **Methods** Taking cilantro samples sold in supermarkets and farmers' markets in Guandu district of Kunming city as samples, the bacterial diversity of commercial cilantro samples was analyzed by using high-throughput 16S rDNA amplicon sequencing technology combined with FAPROTAX functional population prediction, with a focus on potential pathogenic bacteria and human intestinal flora. **Results** A total of 833 operational taxonomic units (OTUs) were observed. A total of 19 phyla and 288 genera were identified from the OTUs. The results showed that the following potential pathogenic bacteria OTUs were detected in all or part of coriander samples: Diarrhea and gastroenteritis (e.g. *Arcobacter butzleri*, *Bacteroides fragilis*, *Providencia alcalifaciens* and so on), and nosocomial infection (e.g. *Acinetobacter radioresistens*, *Aci. soli* and *Moraxella osloensis*). Furthermore, various human intestinal bacteria OTUs were also detected, e.g. *Collinsella aerofaciens*, *Dorea longicatena*, *Escherichia coli*, and so on. **Conclusion**

基金项目: 云南省重大科技专项(农业)(2018ZG004)

Fund: Supported by Major Scientific and Technological Special Project of Yunnan (Agriculture) (2018ZG004)

*通信作者: 阚欢, 硕士, 教授, 硕士生导师, 主要研究方向为林产品加工。E-mail: 13700650213@163.com

*Corresponding author: KAN Huan, Master, Professor, School of Life Science, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China. E-mail: 13700650213@163.com

Eating coriander after simply blanching or washing may bring hidden troubles for food safety and may have become an important route of transmission of foodborne diseases, but it doesn't seem to arouse sufficient attention yet.

KEY WORDS: coriander; high-throughput sequencing; potential pathogen; food microbiological detection

0 引言

芫荽是一种深受人们喜爱的提味蔬菜,人们通常将其作为佐料搭配熟食或作为凉拌菜配料进行食用。为保留芫荽的独特风味,以及烹饪时通常用量较少,人们往往在缺乏充分热处理的情况下只对其进行简单焯水甚至清洗后就直接食用。从食品安全的角度来看,任何未充分热处理的生鲜食品都可能成为食源性疾病的传播媒介。

云南是西南地区食源性疾病相对高水平集中区^[1]。某些基于病例问卷调查的流行病学文献显示芫荽与伤寒、副伤寒的发病存在一定关联,但相关研究并未开展微生物检测^[2-4]。向正华等^[5]和马晨等^[6]所做的市场抽样检测则显示芫荽中大肠菌群经常超标严重,甚至检出肠道致病菌。然而上述文献报道中的检测方法都主要以纯培养为基础,其存在某些显著的技术局限性,如:许多微生物至今无法在实验室培养;需预设检测目标;只能检测活菌。此外,新鲜蔬菜(包括水果)在质量安全监管中,主要检测农药残留和重金属,涉及微生物的检测并不多^[7]。因此,芫荽可能存在严重的有害微生物污染问题,并可能已成为重要的食源性疾病传播媒介但并没有引起消费者的足够重视。高通量测序技术克服了纯培养技术的某些局限性,在食品安全领域为更加全面了解某一食品潜在致病菌的多样性提供了新的技术选择,虽然目前采用高通量测序技术开展市售新鲜蔬菜有害微生物污染研究的工作甚少,但应用潜力巨大^[8-10]。

本研究拟以伤寒、副伤寒发病数多年位居昆明市前列的官渡区为采样区^[11],从城镇居民日常购买蔬菜的两大渠道即超市和农贸市场采集芫荽样品,通过高通量 16S rDNA 扩增子测序结合 FAPROTAX 功能群体预测分析样品的细菌多样性,重点关注潜在致病菌以及人体肠道菌群污染,为进一步针对芫荽的食源疾病防控策略以及日常安全烹饪规范的制定提供理论依据,并为探索高通量测序技术应用与食品微生物检测的可行性提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

芫荽样品:2019 年 10 月从云南省昆明市官渡区位于市中心、城郊结合部以及城郊的 3 个子区域采集来自超市以及农贸市场 2 个渠道的芫荽样品各一组,命名为超市组(SM)和农贸市场组(FM),共采集样品 6 组。相同渠道采样点间距均大于 8 公里以上,无明显相关。

试剂:无菌生理盐水(0.85%, *m/V*); NaCl(分析纯,国药集团化学试剂有限公司)。

1.2 主要仪器

TS-2102C 立式恒温振荡器(上海天呈实验仪器制造有限公司); 5804R 台式高速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司); NovaSeq 6000 高通量测序平台(美国 Illumina 公司)。

1.3 方法

1.3.1 芫荽样品表面菌体回收

250 mL 锥形瓶装 90 mL 生理盐水,放入一定量玻璃珠,灭菌备用;芫荽只取通常食用的叶片和叶柄,剪成小段,每 10 g 加入上述一瓶生理盐水中,于立式恒温振荡器室温下振荡(300 r/min, 30 min);振荡结束,将悬液倒入离心管离心(8000 r/min, 15 min, 4 °C),去除上清液保留沉淀(沉淀中含有回收的菌体),放入-80 °C超低温冰箱保存。

1.3.2 高通量 16S rDNA 扩增子测序

回收菌体送至天津诺禾致源生物信息科技有限公司(Novogene)进行测序,主要技术指标:菌体基因组 DNA 提取采用 CTAB/SDS 法;扩增引物对为 341F(5'-CCTAYGG GRBGCASCAG-3') 和 806R(5'-GGACTACNNGGGTATC TAAT-3'),扩增区域为细菌 16S rDNA V3V4 高变区;扩增子测序平台为 Illumina NovaSeq 6000。

1.3.3 数据分析

使用软件 QIIME software Version 1.9.1 进行 Observed-species 与 Shannon 2 个 α -多样性指数的计算; β -多样性的分析同样使用 QIIME software Version 1.9.1 计算 Unifrac metric matrix 并进行 UPGMA(Unweighted Pair-group Method with Arithmetic Means)分析及其图形绘制,这是一种能够直观展现样品间相似相异性的聚类分析方法;组间群落结构差异显著性检验采用 Anosim 在 R software 中进行分析;细菌群体功能采用 FAPROTAX 进行预测,该软件数据库对细菌物种功能的注释基于已发表的文献^[12]。

2 结果与分析

2.1 芫荽样品整体细菌多样性

全部 6 个样品的命名:超市的芫荽样品按照采样子区域由市中心向外分别命名为 SM1(采自市中心)、SM2(采自城郊结合部)和 SM3(采自城郊),同理农贸市场的芫荽样品则分别命名为 FM1、FM2 和 FM3。均一化处理下机有效序列(cutoff=57454)并以 97%一致性阈值进行 α -多样性分

析。6 个样品的 Good's Coverage 指数均为 0.999 说明在均一化选取的数据量下, 各样品的物种数已覆盖该样品的绝大多数物种。从全部 6 个样品共获得 833 个操作分类单元 (operational taxonomic units, OTUs), 经物种注释可归入细菌的 19 个门、288 个属, 其中有许多 OTUs 无明确分类地位说明可能存在细菌潜在新类群。各样品 α -多样性指数见表 1, Observed species 指数显示了样品中细菌物种的数目, 表明芫荽样品普遍携带有物种多样性丰富的细菌。虽然部分样品间物种数目差异较大, 如 SM3 与 SM2 以及 FM3 与 FM2, 但在同时考虑均匀度之后如 Shannon 指数所示, 则两者间物种多样性差异相对变小说明部分差异物种虽然存在但相对丰度很低。

如图 1 所示, 芫荽样品中相对丰度排名前 10 的细菌属为: 未分类的蓝细菌(unidentified-Cyanobacteria)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、莱略特氏菌属(*Lelliottia*)、泛菌属(*Pantoea*)、欧文氏菌属(*Erwinia*)、鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)、果胶杆菌属(*Pectobacterium*)、气单胞菌属(*Aeromonas*)和丛毛单胞菌属(*Comamonas*)(这些细菌属在相应样品中的占比按上述顺序

在图 1 中从左到右排列以柱形高低表示)。这 10 个优势细菌属在不同样品中的占比各不相同, 它们相对丰度相加在各样品中占比大约介于 72%~86%, 其中未分类的蓝细菌、不动杆菌属和假单胞菌属在整体上有着明显相对较高的占比。不动杆菌属的细菌种为需氧的革兰氏阴性杆菌, 其中有些是能够引起医院感染的条件致病菌, 可长时间在环境以及医疗工作者的手上存活^[13]。

表 1 芫荽样品 α -多样性指数
Table 1 α -diversity indices of coriander samples

样品	Observed species 指数	Shannon 指数
SM1	321	3.190
SM2	372	4.552
SM3	513	4.691
FM1	591	5.198
FM2	570	5.043
FM3	342	4.573

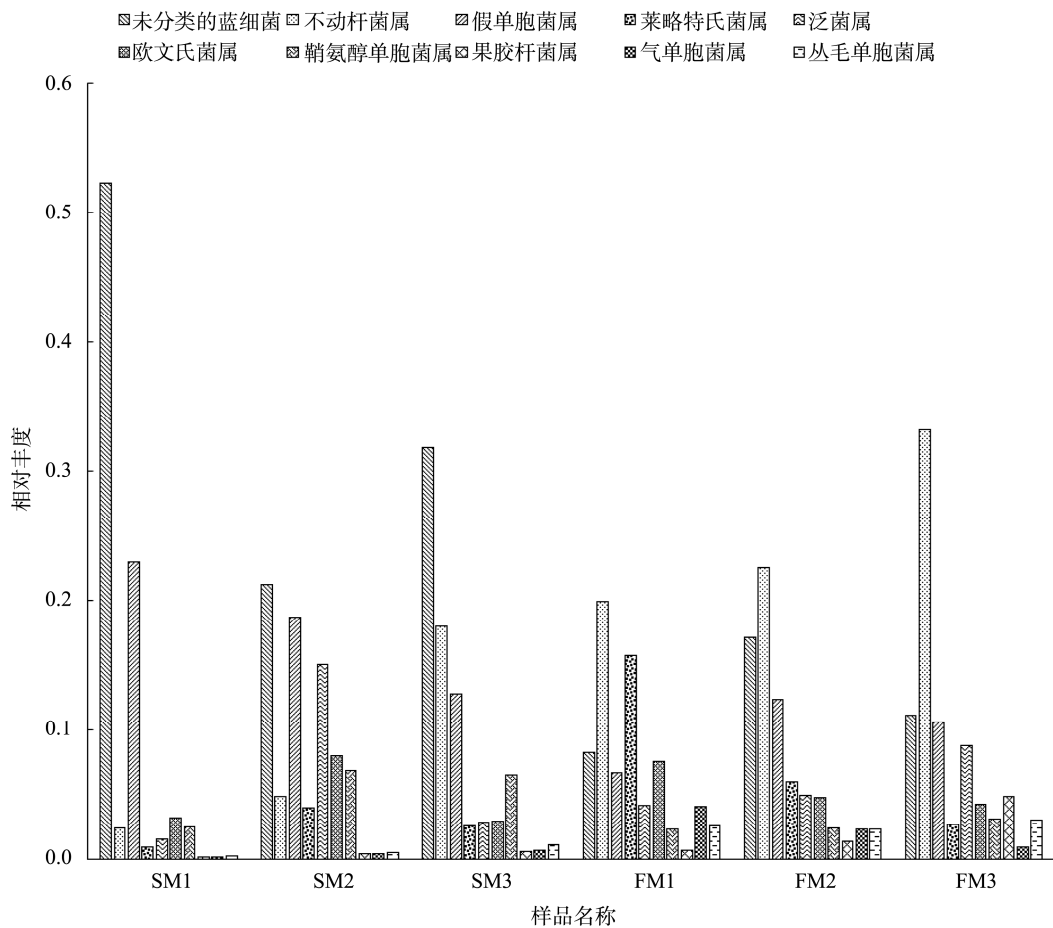


图 1 相对丰度排名前 10 细菌属及其在芫荽样品中的占比
Fig.1 Top 10 bacterial genera in relative abundance and their proportion in coriander samples

2.2 芫荽样品潜在致病细菌与人类肠道菌群多样性

经 FAPROTAX 功能预测, 所有芫荽样品皆检测到潜在致病细菌 OTUs(表 2), 其中有些 OTUs 在所有样品中都能检测到, 而其他一些 OTUs 只存在于某些样品。这些潜在致病细菌 OTUs 按照所致疾病可大致分为两组, 一组为致肠胃炎或腹泻, 另一组为致医院感染。前者有布氏弓形杆菌 (*Arcobacter butzleri*)、脆弱拟杆菌 (*Bacteroides fragilis*)、大肠埃希氏菌 (*Escherichia coli*) 和产碱普罗威登斯菌 (*Providencia alcalifaciens*), 其中大肠埃希氏菌虽是人体常见肠道细菌, 但其某些血清型具有致病性, 如肠出血性大肠杆菌 O157:H7^[14-15]; 后者则有抗辐射不动杆菌 (*Acinetobacter radioresistens*)、土壤不动杆菌 (*Acinetobacter soli*) 和 奥 斯 陆 莫 拉 氏 菌 (*Moraxella*

osloensis), 医院感染主要与免疫力低下群体接触条件致病菌有关^[16-18]。

除了潜在致病细菌 OTUs, 在所有芫荽样品中还检测到多样性丰富的人类肠道菌群 OTUs(表 3)^[19-22]。其中假小链双歧杆菌(*Bifidobacterium pseudocatenulatum*)、产气柯林斯菌(*Collinsella aerofaciens*)、长链多雷尔氏菌(*Dorea longicatena*)、大肠埃希氏菌(*Escherichia coli*)和格氏乳杆菌(*Lactobacillus gasseri*)在所有芫荽样品中都有分布; 陪伴粪球菌(*Coprococcus comes*)、粪副拟杆菌(*Parabacteroides merdae*)和食葡萄糖罗斯拜瑞氏菌(*Roseburia inulinivorans*)在大多数样品($3 \leq n \leq 5$)中被检测到。人类肠道菌群的存在, 说明芫荽样品受到人类粪便的直接或间接污染, 很可能成为粪口途径传播肠道致病菌的媒介。

表 2 芫荽样品潜在致病细菌多样性及其在样品中的相对丰度
Table 2 Diversity and relative abundances of potential pathogens in coriander samples

细菌物种	SM1	SM2	SM3	FM1	FM2	FM3
肠胃炎/腹泻:						
布氏弓形杆菌	0	0	0	3.48×10^{-5}	0	0
脆弱拟杆菌	0	0	0	6.96×10^{-5}	0	0
大肠埃希氏菌	7.54×10^{-3}	2.61×10^{-3}	1.90×10^{-3}	1.24×10^{-2}	3.13×10^{-3}	4.82×10^{-3}
产碱普罗威登斯菌	0	0	0	2.44×10^{-4}	3.48×10^{-5}	1.22×10^{-4}
医院感染:						
抗辐射不动杆菌	2.44×10^{-4}	3.13×10^{-4}	3.60×10^{-3}	1.34×10^{-3}	1.48×10^{-3}	1.93×10^{-3}
土壤不动杆菌	3.66×10^{-4}	6.09×10^{-4}	2.68×10^{-3}	1.39×10^{-3}	3.74×10^{-3}	6.79×10^{-4}
奥斯陆莫拉氏菌	1.74×10^{-5}	0	1.74×10^{-5}	0	0	3.48×10^{-5}

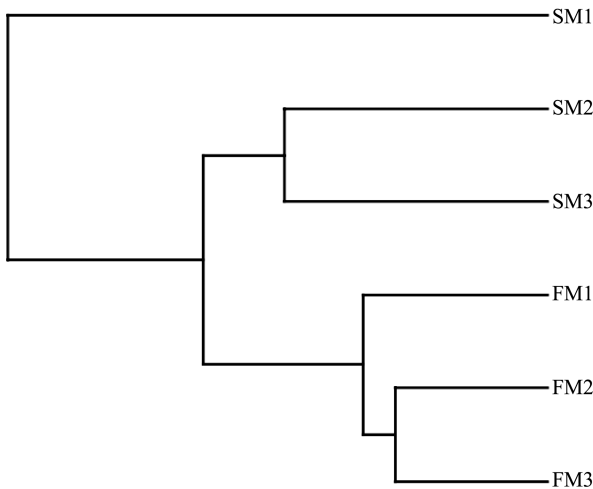
表 3 芫荽样品人类肠道菌群多样性及其相对丰度
Table 3 Diversity and relative abundances of human intestinal microflora in coriander samples

细菌物种	SM1	SM2	SM3	FM1	FM2	FM3
粪拟杆菌	0	1.22×10^{-4}	0	1.74×10^{-4}	0	0
脆弱拟杆菌	0	0	0	6.96×10^{-5}	0	0
单形拟杆菌	0	0	0	3.48×10^{-5}	5.22×10^{-5}	0
普通拟杆菌	0	0	0	0	8.70×10^{-5}	0
假小链双歧杆菌	1.04×10^{-4}	3.48×10^{-5}	1.39×10^{-4}	3.48×10^{-5}	1.04×10^{-4}	3.48×10^{-5}
产气柯林斯菌	2.78×10^{-4}	8.70×10^{-5}	2.44×10^{-4}	1.39×10^{-4}	1.39×10^{-4}	5.40×10^{-4}
灵巧粪球菌	0	0	1.22×10^{-4}	0	6.96×10^{-5}	0
陪伴粪球菌	6.96×10^{-5}	1.74×10^{-5}	2.26×10^{-4}	0	9.05×10^{-4}	3.48×10^{-5}
一致粪球菌	0	0	4.18×10^{-4}	0	0	0
长链多雷尔氏菌	6.44×10^{-4}	2.16×10^{-3}	5.40×10^{-4}	1.91×10^{-4}	3.66×10^{-4}	8.01×10^{-4}
大肠埃希氏菌	7.54×10^{-3}	2.61×10^{-3}	1.90×10^{-3}	1.24×10^{-2}	3.13×10^{-3}	4.82×10^{-3}
格氏乳杆菌	1.74×10^{-4}	8.70×10^{-5}	3.48×10^{-5}	1.57×10^{-4}	3.48×10^{-5}	3.48×10^{-5}
粪副拟杆菌	1.74×10^{-5}	1.74×10^{-5}	0	0	5.22×10^{-5}	0
食葡萄糖罗斯拜瑞氏菌	3.48×10^{-4}	5.22×10^{-5}	2.96×10^{-4}	0	1.04×10^{-4}	5.05×10^{-4}
布氏瘤胃球菌	0	0	4.00×10^{-4}	0	0	0

上述茺荳样品中检测到的潜在致病细菌 OTUs 和人类肠道菌群 OTUs 相对丰度都普遍较低, 只有大肠杆菌是优势细菌物种, 可能与茺荳并不是它们的良好生长环境有关。但在食品安全国家标准中如 GB 29921—2013《食品安全国家标准-食品中致病菌限量》, 致病细菌要求零检出或极低限量, 因此只要检测到潜在致病细菌 OTUs 的存在就应引起足够重视。

2.3 2 种购买渠道茺荳细菌多样性比较

人们通常认为超市售卖的食品相较农贸市场售卖的更干净。将茺荳样品按照购买渠道分为超市组(SM)和农贸市场组(FM)进行组间差异比较。UPGMA 聚类树(图 2)显示, 虽然样品间在细菌群落组成上都存在不同程度的差异, 但农贸市场组的样品(FM1、FM2 和 FM3)明显相较超市组的样品聚成一簇, 说明农贸市场的茺荳有着相较超市茺荳更加相似的细菌群落组成。然而超市组, 只有 SM2 和 SM3 倾向聚成一簇, SM1 在细菌群落组成上则明显相异于其他所有样品包括同为超市来源的。



注: 图中标尺为每单位 Weighted Unifrac 距离在聚类树上的长度。
图 2 基于 Weighted Unifrac 距离的样品细菌群落 UPGMA 聚类树
Fig.2 UPGMA clustering of bacterial communities based on Weighted Unifrac distance

为验证超市组茺荳与农贸市场组茺荳的细菌群落结构差异是否具有统计学显著性, 采用 Anosim 分析进行检验。结果为 $R\text{-value} = 0.6296$, $P\text{-value} = 0.1$, $R\text{-value}$ 大于 0, 说明超市与农贸市场组间差异大于组内样品间差异, 但 $P\text{-value}$ 未小于 0.05, 说明这种差异不具有统计显著性, 可能与 SM1 样品细菌群落结构如 UPGMA 聚类树所示明显不同于组内其他样品有关。

鉴于上述 $R\text{-value}$ 值大于 0, 可进一步探讨组间物种差异。图 3 所示, 两组茺荳大部分细菌 OTUs 是共有的,

共计 527 个, 但农贸市场组有着近两倍于超市组的特有细菌 OTUs 数。通过 Simper 分析可知, 这些共有 OTUs 中对两组间差异贡献度排名前 10 的细菌物种分别为(贡献度由大到小): 约翰不动杆菌(*Acinetobacter johnsonii*)、大黄欧文氏菌(*Erwinia rhapontici*)、潘尼鞘氨醇单胞菌(*Sphingomonas panni*)、中间气单胞菌(*Aeromonas media*)、拉里摩尔农杆菌(*Agrobacterium larrymoorei*)、叶际鞘氨醇单胞菌(*Sphingomonas phyllosphaerae*)、唾液乳杆菌(*Lactobacillus salivarius*)、大肠埃希氏菌、类动胶杜榭氏菌(*Duganella zoogloeoidea*)和 鞣 丸 酮 丛 毛 单 胞 菌(*Comamonas testosteroni*), 它们在组间的差异体现在相对丰度的明显不同。

特有细菌 OTUs 重点关注潜在致病细菌和人类肠道菌群(表 2、表 3)。3 种潜在致病菌 OTUs 是农贸市场组特有的, 即布氏弓形杆菌、脆弱拟杆菌和产碱普罗威登斯菌, 而超市组无特有潜在致病菌 OTUs。在人类肠道细菌 OTUs 上, 有 3 种是农贸市场组特有的, 即脆弱拟杆菌、单形拟杆菌(*Bacteroides uniformis*)和普通拟杆菌(*Bacteroides vulgatus*), 而超市组则特有 2 种人类肠道细菌 OTUs 即一致粪球菌(*Coprococcus eutactus*)和布氏瘤胃球菌(*Ruminococcus bromii*)。但整体上如表 3 所示, 大多数人类肠道细菌 OTUs 为两组茺荳所共有。

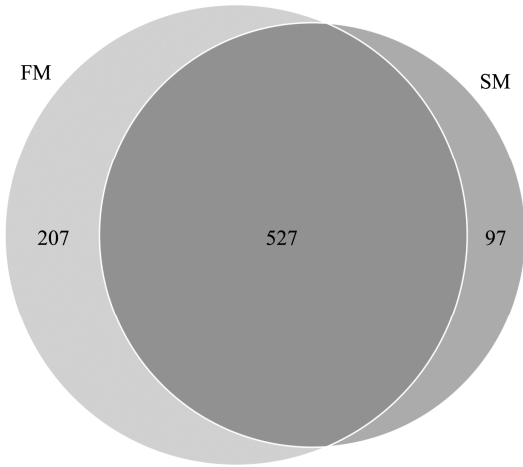


图 3 超市组与农贸市场组茺荳间共有和特有 OTUs 数 Venn 图
Fig.3 Venn diagram of OTU relation between supermarket group and farmers' market group

3 结论与讨论

本研究利用高通量扩增子测序技术从昆明市官渡区市售茺荳样品中检测到多样性丰富的细菌物种, 并通过 FAPROTAX 功能群体预测鉴定出潜在致病细菌 OTUs, 包括常被忽视的条件致病菌。这些细菌物种是基于纯培养的常规食品微生物检测以及相关研究报道中较少被提及的,

例如 GB 29921—2013。这说明基于高通量扩增子测序的检测相较于基于纯培养的可不加预设更全面地揭示食品中污染细菌的多样性,尤其是可能存在的潜在致病菌类群。配合 FAPROTAX 可更加方便地从庞大细菌多样性数据中发现特定功能的群体,尤其当这些群体相对丰度较低时,人们往往更容易注意到相对丰度较高的优势类群,但低丰度群体如本研究所关注的潜在致病菌和人类肠道细菌,其存在具有特殊意义。在其他环境, FAPROTAX 在从庞大数据中鉴定潜在致病菌方面也同样显示出良好的适用性,例如 YANG 等^[23]利用高通量测序结合该软件从北运河水样品中检测到相比传统方法多样性更加丰富的致病细菌,其中不动杆菌属(*Acinetobacter*)是优势菌属。

所有茼蒿样品中都检测到多种人类肠道菌群的 OTUs,推测市售茼蒿可能普遍直接或间接受到人类粪便污染,加之前述检测到的潜在致病菌,可认为市售茼蒿如果按照传统饮食习惯只进行简单焯水或清洗后就食用的话,很可能成为传播食源性疾病的重要媒介。因此,针对茼蒿及其他生食提味蔬菜在源头和流通过程中的污染溯源以及烹饪中即保留香味又充分除菌的加工工艺改进都有待进一步研究。

通常人们认为超市售卖的食品更加干净,研究中农贸市场组茼蒿样品展现出相较超市组具有更多的细菌物种种类,且 3 种潜在肠道致病菌 OTUs 也只在农贸市场组样品中检测到,本研究结果似乎也支持这种说法。但考虑到多种人类肠道细菌 OTUs 在两组样品中都被检测到,说明不论超市售还是农贸市场售茼蒿都可能普遍直接或间接受到人类粪便污染,因此从这 2 种渠道购买的茼蒿按照日常饮食习惯食用时都可能具有较大的食品安全隐患。类似的,张可可等^[24]采用国标法(主要基于纯培养技术)对郑州市大型超市和农贸市场生鲜果蔬样品的随机抽样检测,结果显示即食生鲜果蔬中存在潜在的食源性致病菌污染风险。随着城镇人口增加以及大量超市的涌现,开展针对超市商品的微生物污染风险评估将变得更加重要。

研究中高通量测序技术在一定程度上克服了需预设目标菌、只能检测活菌以及某些微生物不可培养等纯培养检测技术所存在的局限性,展现出其作为免培养技术的相对优势。但由于致病细菌存在种内血清学分型并与其致病能力大小相关,而高通量测序技术由于不涉及菌株分离培养,因此无法开展后续生理生化测定,因此检测到的致病细菌在文中只能作为潜在病原体看待不能完全确证。此外,二代高通量测序技术由于测序长度限制,无法对细菌整个 16S rRNA 基因全长进行测序,只能选择该基因的高变区作为扩增以及测序对象,从而降低了种一级的分辨率,通常在属一级探讨细菌多样性相对更加可靠。但本研究获得的更加全面的细菌物种信息扩展了对茼蒿细菌多样性的认识,并可指导开展针对性的纯培养研究,尤其针对那些日

常检测中容易被忽视的细菌物种。随着测序技术的发展,如三代测序技术成熟后还可开展 16S rRNA 基因全长序列测序分析从而获得更精确的基于高通量测序的微生物检测分析结果,也可尝试将致病菌某些特征性的、与致病相关的功能基因纳入测序基因名目进行多基因联合分析从而确定致病性的有无,相关研究有待进一步探索。

参考文献

- [1] 王若宇, 黄柏石, 潘卓林, 等. 中国居民食源性疾病的地理分布及影响因素分析[J]. 世界地理研究, 2020, 29(1): 168–180.
WANG RY, HUANG BS, PAN ZL, *et al.* Spatial pattern evolution of the distribution of foodborne illness in China and its influence mechanism [J]. World Region Stud, 2020, 29(1): 168–180.
- [2] 李昭毅, 高岚, 邓军. 遵义市某学院社区甲型副伤寒流行因素分析[J]. 遵义医学院学报, 2007, 30(3): 385–387.
LI ZY, GAO L, DENG J. Analysis on the epidemiological factors of paratyphoid fever type A (Typhoid fever) in one community of a college of Zunyi city [J]. Acta Acad Med Zunyi, 2007, 30(3): 385–387.
- [3] 高金霞. 玉溪市红塔区伤寒、副伤寒高发危险因素研究[D]. 北京: 中国疾病预防控制中心, 2009.
GAO JX. Study on epidemic characteristics and risk factors of typhoid and paratyphoid in Hongta district in Yuxi city [D]. Beijing: Chinese Center for Disease Control and Prevention, 2009.
- [4] 阳波. 云南省元江县甲型副伤寒暴发流行风险因素分析及传染来源追踪调查[D]. 北京: 中国疾病预防控制中心, 2012.
YANG B. Analysis of the risk factors for an outbreak of paratyphoid fever and tracking investigation of the infectious resource in Yuanjiang county, Yunnan province [D]. Beijing: Chinese Center for Disease Control and Prevention, 2012.
- [5] 向正华, 林党荣, 陈娟, 等. 玉溪市中心城区餐饮业卫生状况调查[J]. 职业与健康, 2008, 24(8): 749–750.
XIANG ZH, LIN DQ, CHEN J, *et al.* Investigation of the sanitary status in the catering industry in the downtown area of Yuxi city [J]. Occup Health, 2008, 24(8): 749–750.
- [6] 马晨, 陈雪华, 钱程. 海口市市售新鲜蔬菜微生物污染分析[J]. 浙江农业科学, 2015, 56(3): 396–401.
MA C, CHEN XH, QIAN C. Analysis of microbiological contamination in fresh vegetables sold in Haikou city [J]. J Zhejiang Agric Sci, 2015, 56(3): 396–401.
- [7] 代晓航, 郭灵安, 魏超. 生菜中肠杆菌污染分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2014, 24(7): 1011–1013.
DAI XH, GUO LA, WEI C. Analysis of Enterobacteriaceae contamination in fresh lettuce [J]. Chin J Health Lab Technol, 2014, 24(7): 1011–1013.
- [8] COCOLIN L, MATARAGAS M, BOURDICHON F, *et al.* Next generation microbiological risk assessment meta-omics: The next need for integration [J]. Int J Food Microbiol, 2018, 287: 10–17.
- [9] PERUZY MF, MURRU N, YU Z, *et al.* Determination of the microbiological contamination in minced pork by culture dependent and 16S amplicon sequencing analysis [J]. Int J Food Microbiol, 2019, 290: 27–35.
- [10] 戴陈伟, 许勇, 武昌俊, 等. 基于高通量测序技术的食源性病原体检测应用进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(18): 6007–6012.

- DAI CW, XU Y, WU CJ, *et al.* Application progress in food-borne pathogens detection based on high-throughput sequencing technology [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(18): 6007–6012.
- [11] 杨克江. 昆明市官渡区 2008—2017 年伤寒、副伤寒流行特征分析[J]. 医学信息, 2019, 32(9): 135–137.
- YANG KJ. Epidemiological characteristics of typhoid fever and paratyphoid fever in Guandu district of Kunming city from 2008 to 2017 [J]. *Med Inf*, 2019, 32(9): 135–137.
- [12] LOUCA S, PARFREY LW, DOEBELI M. Decoupling function and taxonomy in the global ocean microbiome [J]. *Science*, 2016, 353: 1272–1277.
- [13] SUNENSHINE RH, WRIGHT MO, MARAGAKIS LL, *et al.* Multidrug-resistant *Acinetobacter* infection mortality rate and length of hospitalization [J]. *Emerg Infect Dis*, 2007, 13(1): 97–103.
- [14] WYBO I, BREYNAERT J, LAUWERS S, *et al.* Isolation of *Arcobacter skirrowii* from a patient with chronic diarrhea [J]. *J Clin Microbiol*, 2004, 42(4): 1851–1852.
- [15] GUPTA AK, NAYDUCH D, VERMA P, *et al.* Phylogenetic characterization of bacteria in the gut of house flies (*Musca domestica* L.) [J]. *FEMS Microbiol Ecol*, 2012, 79: 581–593.
- [16] WANG T, COSTA V, JENKINS SG, *et al.* *Acinetobacter radioresistens* infection with bacteremia and pneumonia [J]. *IDCases*, 2019, 15: e00495.
- [17] ENDO S, YANO H, KANAMORI H, *et al.* High frequency of *Acinetobacter soli* among *Acinetobacter* isolates causing bacteremia at a Japanese tertiary hospital [J]. *J Clin Microbiol*, 2014, 52(3): 911.
- [18] MARUYAMA Y, SHIGEMURA T, AOYAMA K, *et al.* Bacteremia due to *Moraxella osloensis*: A case report and literature review [J]. *Brazil J Infect Dis*, 2018, 22(1): 60–62.
- [19] QIN J, LI R, RAES J, *et al.* A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing [J]. *Nature*, 2010, 464(4): 59–65.
- [20] Human Microbiome Jumpstart Reference Strains Consortium. A catalog of reference genomes from the human microbiome [J]. *Science*, 2010, 328: 994–999.
- [21] REICHARDT N, DUNCAN SH, YOUNG P, *et al.* Phylogenetic distribution of three pathways for propionate production within the human gut microbiota [J]. *ISME J*, 2014, 8: 1323–1335.
- [22] DUNCAN SH, AMINOV RI, SCOTT KP, *et al.* Proposal of *Roseburia faecis* sp. nov., *Roseburia hominis* sp. nov. and *Roseburia inulinivorans* sp. nov., based on isolates from human faeces [J]. *Int J Systemat Evolut Microbiol*, 2006, 56: 2437–2441.
- [23] YANG Y, HOU Y, MA M, *et al.* Potential pathogen communities in highly polluted river ecosystems: geographical distribution and environmental influence [J]. *Ambio*, 2020, 49(1): 197–207.
- [24] 张可可, 赵光华, 郝学飞, 等. 2015 年郑州市即食生鲜果蔬病原微生物调查与风险分析[J]. 河南预防医学杂志, 2017, 28(5): 325–328.
- ZHANG KK, ZHAO GH, HAO XF, *et al.* Investigation and risk analysis of pathogenic microorganisms on instant fresh fruits and vegetables in Zhengzhou in 2015 [J]. *Henan J Prev Med*, 2017, 28(5): 325–328.

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介



韩 龙, 博士, 助理研究员, 主要研究方向为微生物生态。

E-mail: longhan24@vip.qq.com



阚 欢, 硕士, 教授, 硕士生导师, 主要研究方向为林产品加工。

E-mail: 13700650213@163.com