

## 食源性疾病

## 一起疑似产气荚膜梭菌腹泻暴发事件实验室检测分析

赵凤玲<sup>1</sup>,高翔<sup>1</sup>,甄博琚<sup>1</sup>,张萍<sup>1</sup>,罗宇馨<sup>1</sup>,王润萍<sup>1</sup>,黄震<sup>1</sup>,李颖<sup>2,3</sup>,邹林<sup>1</sup>(1. 北京市通州区疾病预防控制中心,北京 101100;2. 北京市顺义区疾病预防控制中心,北京 101300;  
3. 北京市顺义区疾病预防控制中心微生物感染性疾病检测工作站,北京 101300)

**摘要:**目的 分析一起疑似由产气荚膜梭菌导致腹泻暴发事件的实验室检测结果,为产气荚膜梭菌食物中毒实验室检测策略的改进奠定基础。方法 采集暴发事件中4例病例肛拭子样本,应用荧光PCR方法检测肛拭子及其增菌液中 *cpa* 基因与 *cpe* 基因。对肛拭子样本进行产气荚膜梭菌分离培养,对部分分离单菌落进行产气荚膜梭菌毒力基因检测和脉冲场凝胶电泳(PFGE)分子分型。结果 4例病例样本中均检测到 *cpa* 基因和 *cpe* 基因。从病例1样本中挑取并鉴定为产气荚膜梭菌的18个单菌落中获得1个 *cpe+* 菌落,构成比为5.56%(1/18);从病例2样本中挑取并鉴定为产气荚膜梭菌的6个单菌落中获得1个 *cpe+* 菌落,构成比为16.7%(1/6);病例3未分离到 *cpe+* 菌落,病例4未分离到产气荚膜梭菌。11株产气荚膜梭菌菌株包括A型和C型两种,包含5种PFGE带型,分离自病例1和病例2的 *cpe+* 阳性菌株PFGE带型一致。结论 本次暴发事件可能由产气荚膜梭菌导致,综合使用各种实验室检测方法可在产气荚膜梭菌诊断标准滞后的情况下协助暴发事件分析。

**关键词:**产气荚膜梭菌;腹泻;暴发;多克隆;脉冲场凝胶电泳;毒力基因

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2023)07-1109-05

DOI:10.13590/j.cjfh.2023.07.021

**Laboratory detection and analysis of a suspected diarrhea outbreak  
caused by *Clostridium perfringens***

ZHAO Fengling<sup>1</sup>, GAO Xiang<sup>1</sup>, ZHEN Bojun<sup>1</sup>, ZHANG Ping<sup>1</sup>, LUO Yuxin<sup>1</sup>, WANG Runping<sup>1</sup>,  
HUANG Zhen<sup>1</sup>, LI Ying<sup>2,3</sup>, ZOU Lin<sup>1</sup>

(1. Tongzhou District Center for Disease Control and Prevention, Beijing 101100, China; 2. Shunyi District Center for Disease Control and Prevention, Beijing 101300, China; 3. Workstation for Microbial Infectious Disease, Shunyi District Center for Disease Control and Prevention, Beijing 101300, China)

**Abstract: Objective** To provide basic data for modification of laboratory testing for outbreaks caused by *Clostridium perfringens* (*C. perfringens*), a diarrhea outbreak that may have been caused by polyclonal infection of *C. perfringens* was analyzed. **Methods** Anal swab samples of 4 patients with diarrhea were collected. *cpa* and *cpe* genes and *C. perfringens* in original swab samples and enriched samples were detected via real time PCR. Toxin gene test and pulsed field gel electrophoresis (PFGE) were performed for some *C. perfringens* isolates. **Results** *cpa* and *cpe* genes were positive in samples of 4 patients. One *cpe+* isolate was obtained from 18 isolates of *C. perfringens* from patient 1, and the composition ratio was 5.56% (1/18). One *cpe+* isolate was obtained from 6 isolates of *C. perfringens* in patient 2, and the composition ratio was 16.7% (1/6). No *cpe+* isolate was obtained from patient 3, and *C. perfringens* was not isolated from patient 4. Two types (A type and C type) and 5 PFGE patterns were identified in 11 isolates of *C. perfringens*. Two *cpe+* isolates from patient 1 and patient 2 had identical PFGE patterns. **Conclusion** This outbreak might have been caused by *C. perfringens*. Considering the delays caused by the implementation of diagnostic standards, comprehensive use of laboratory detection methods can improve the response time of outbreak analysis.

**Key words:** *Clostridium perfringens*; diarrhea; outbreak; polyclonal; pulsed field gel electrophoresis; toxin gene

收稿日期:2023-01-27

作者简介:赵凤玲 女 主管技师 研究方向为病原微生物学

E-mail:fenglingzhao@126.com

通信作者:邹林 男 副主任技师 研究方向为病原微生物学

E-mail:39890303@qq.com

产气荚膜梭菌(*Clostridium perfringens*, Cp)为厌氧革兰阳性粗大杆菌,可以产生芽胞<sup>[1]</sup>,广泛分布于自然界的水源、土壤、尘埃,且能以正常菌群存在于人肠道内<sup>[2]</sup>。按照产气荚膜梭菌携带外毒素 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\epsilon$ 、 $\iota$ 特征可将该菌分成A( $\alpha$ )、B( $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\epsilon$ )、C( $\alpha$ 、 $\beta$ )、D

( $\alpha$ 、 $\epsilon$ )、E( $\alpha$ 、 $\iota$ )5个型<sup>[3-4]</sup>,A型和C型产气荚膜梭菌与人致病密切相关,A型产气荚膜梭菌引起人类气性坏疽和食物中毒<sup>[5]</sup>,C型产气荚膜梭菌导致食物中毒的事件也有报告<sup>[6]</sup>。所有产气荚膜梭菌均携带 $\alpha$ 毒素基因。除外毒素,部分A型和C型产气荚膜梭菌可产生肠毒素(Clostridium perfringens enterotoxin, CPE),是导致食物中毒的直接致病因子<sup>[7-8]</sup>。产气荚膜梭菌CPE、 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\epsilon$ 、 $\iota$ 、 $\beta$ 2毒素对应检测基因分别为*cpe*、*cpa*、*cpb*、*etx*、*iA*、*cpb2*。文献报道该菌在美国导致食物中毒排在细菌病原的第2位<sup>[9]</sup>。国内近年也多次报告产气荚膜梭菌食物中毒事件,且多数事件中报告从病例或食品中分离到携带*cpe*的产气荚膜梭菌<sup>[10-13]</sup>。国内产气荚膜梭菌食物中毒事件诊断标准相对滞后,分子生物学筛查、细菌分子分型、毒素基因检测等试验手段并未包含在1997年发布的WS/T7—1996《产气荚膜梭菌食物中毒诊断及处理原则》中,因此该病原导致的食源性实验室应对仍存不足。

2021年12月北京市某区学校发生腹泻病例聚集事件,由于本次暴发事件获得样本少,因此实验室依靠深度挖掘病原特征辅助该事件判定,为产气荚膜梭菌食物中毒实验室检测策略的改进奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 流行病学资料

8例病例集中出现腹痛、腹泻症状,在某医院就诊时被识别到病例发病时间和空间聚集性。病例均为男性,为同一所中学学生。疾病预防控制中心(以下简称疾控中心)对病例所在学校开展调查并进行病例搜索,病例定义为腹泻 $\geq 3$ 次/d。经调查,8例病例居住在同一楼层4个宿舍,8人均无发热、呕吐症状,粪便性状均为稀便,腹泻次数4~12次/24h。病例均长期在学校食堂就餐。首发病例和最后发病病例发病时间间隔为15h。经过病例搜索,调查人员在该学校未发现其他腹泻病例。所有病例在医院就诊,被给予对症治疗后症状缓解。4例病例配合调查人员采集到肛拭子样本,样本保存于4℃运送培养基,2h内转移至区疾控中心进行病原学检测。

#### 1.1.2 主要仪器与试剂

CHEF MAPPER II型脉冲场电泳仪(美国伯乐公司),VITEK 2 Compact全自动细菌鉴定仪(法国梅里埃),ABI-ViiA7荧光聚合酶链式反应(Polymerase chain reaction, PCR)仪(美国赛默飞公司)。

核酸提取试剂盒(硕世公司,货号:SDKF60102),食源性致病菌(金黄色葡萄球菌、沙门菌、致泻大肠埃希菌、单核细胞增生李斯特菌、克罗诺杆菌属、小肠结肠炎耶尔森氏菌、弧菌属、志贺菌、蜡样芽胞杆菌、气单胞菌属、产气荚膜梭菌、弯曲菌属)核酸多重实时荧光PCR检测试剂盒(卓诚惠生公司,货号:A552L-25T),腹泻病毒(轮状病毒、诺如病毒)核酸检测试剂盒(美正公司,货号:DZ20003-3-48T),腹泻病毒(札如病毒、星状病毒、腺病毒)核酸检测试剂盒(美正公司,货号:DZ20012-3-48T),Premix Ex Taq™(Probe qPCR)试剂盒(Takara公司,货号:RR390A),产气荚膜梭菌*cpe*、*cpa*、*cpb*、*etx*、*iA*、*cpb2*基因扩增引物和探针由中国疾病预防控制中心传染病所提供,脑心浸液肉汤(Brain heart infusion, BHI)、胰酪亚硫酸盐环丝氨酸(Tryptose sulfite cycloserine, TSC)琼脂、哥伦比亚血平板为北京陆桥公司产品,厌氧培养袋为日本三菱公司产品,全自动细菌鉴定ANC卡(法国梅里埃),Tris-HCl、乙二胺四乙酸(Ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA)、十二烷基硫酸钠(Sodium dodecyl sulfate, SDS)、Tris-硼酸EDTA缓冲液(Tris-borate-EDTA buffer, TBE)、蛋白酶K等脉冲场凝胶电泳试剂均为索莱宝公司产品,内切酶*Sma*I、*Xba*I均为NEB公司产品,所有试剂均在有效期内使用。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 病例肛拭子未增菌和增菌后荧光PCR检测

将肛拭子样本插入3 mL BHI液体培养基,混匀后取出200  $\mu$ L未增菌状态BHI,用磁珠法提取核酸,并进行食源性致病菌多重荧光PCR检测和腹泻病毒荧光PCR检测,检测方法均参照相应试剂盒说明书。将插入肛拭子的BHI进行37℃ 18 h厌氧培养,取200  $\mu$ L增菌后BHI提取核酸,与未增菌状态时提取的核酸共同进行产气荚膜梭菌*cpe*基因和*cpa*基因检测,扩增条件为95℃ 10 min,95℃ 15 s,60℃ 1 min,45个循环,Ct值 $\leq 40$ 为阳性。

#### 1.2.2 分离培养

取未增菌时插入肛拭子的BHI 1 mL,以及厌氧增菌18 h后的BHI 1 mL分别加入空平皿,倾注20 mL高压后冷却至46℃ TSC培养基,37℃厌氧培养24 h。根据各平皿中可疑菌落数量,每个样本增菌前后所对应培养平皿中均挑取一定数量可疑产气荚膜梭菌单菌落进行生化鉴定和产气荚膜梭菌*cpe*、*cpa*、*cpb*、*etx*、*iA*、*cpb2*基因检测。

#### 1.2.3 分子分型检测

将完成毒力基因检测的产气荚膜梭菌分离株进行脉冲场凝胶电泳分子分型。产气荚膜梭菌内

切酶使用 *Sma* I ;分子量标准使用沙门菌 H9812,内切酶使用 *Xba* I ,电泳条件 0.5~40 s,电泳时间为 20 h,指纹图谱导入 BioNumerics 7.6 软件构建聚类图。

## 2 结果

### 2.1 病例肛拭子未增菌和增菌后荧光 PCR 检测

4 例病例肛拭子未增菌状态下提取核酸检测产气荚膜梭菌 *cpa* 基因均为阳性,病例 1、2、4 检测 *cpe* 基因也为阳性;4 例病例肛拭子厌氧增菌 18 h 后提取核酸检测产气荚膜梭菌 *cpa* 和 *cpe* 基因荧光 PCR 结果均为阳性,Ct 值见表 1。4 例病例的肛拭子未增菌状态下提取核酸,金黄色葡萄球菌、沙门菌、致泻大肠埃希菌、单核细胞增生李斯特菌、克罗诺杆菌属、小肠结肠炎耶尔森氏菌、弧菌属、志贺菌、蜡

样芽胞杆菌、气单胞菌属、弯曲菌属、诺如病毒、扎如病毒、轮状病毒、腺病毒、星状病毒荧光 PCR 检测结果均为阴性。

病例 1 肛拭子未增菌状态下分离并鉴定为产气荚膜梭菌的 18 个单菌落中,获得 1 个 *cpe*+单菌落,构成比为 5.56%(1/18);病例 2 肛拭子未增菌状态中分离并鉴定为产气荚膜梭菌的 6 个单菌落中,获得 1 个 *cpe*+单菌落,构成比为 16.7%(1/6);病例 3 肛拭子未增菌状态分离并鉴定为产气荚膜梭菌的 46 个单菌落中,未获得 *cpe*+单菌落;病例 4 肛拭子未增菌状态未分离到产气荚膜梭菌(表 1)。病例 1、3 肛拭子厌氧增菌 18 h 后分离并鉴定为产气荚膜梭菌单菌落分别为 17 和 47 个,病例 2、4 肛拭子厌氧增菌 18 h 后未分离到产气荚膜梭菌(表 1)。

表 1 荧光 PCR 检测 Ct 值分布和产气荚膜梭菌分离培养结果

Table 1 Distribution of Ct values by real time PCR and results isolation and culture of *C. perfringens*

病例编号	荧光 PCR Ct 值				Cp 分离培养					
	肛拭子未增菌		肛拭子厌氧增菌液		肛拭子未增菌			肛拭子厌氧增菌		
	<i>cpe</i> 基因	<i>cpa</i> 基因	<i>cpe</i> 基因	<i>cpa</i> 基因	挑取可疑菌落数量	鉴定为 Cp 菌落数量	<i>cpe</i> 阳性菌落数量	挑取可疑菌落数量	鉴定为 Cp 菌落数量	<i>cpe</i> 阳性菌落数量
1	32.11	31.32	31.23	22.29	20	18	1	20	17	0
2	33.14	33.07	33.20	32.15	8	6	1	5	0	0
3	NA	36.48	37.36	20.98	50	46	0	50	47	0
4	36.02	35.42	37.57	36.23	20	0	0	20	0	0

注:Cp为产气荚膜梭菌英文简称,NA为无扩增曲线

### 2.2 分离培养、菌株毒素基因和菌株分型

从病例 1、2、3 中共选出 11 个单菌落(包含全部 *cpe*+单菌落)进行 *cpb*、*etx*、*iA* 和 *cpb2* 基因检测,检测结果和菌株分型见表 2。11 株产气荚膜梭菌菌株包括 A 型和 C 型两种。

表 2 菌株毒力基因检测结果分布

Table 2 Distribution of toxin genes detection

病例编号	菌株来源	菌株编号	毒力基因分布						分型
			<i>cpe</i>	<i>cpa</i>	<i>cpb</i>	<i>etx</i>	<i>iA</i>	<i>cpb2</i>	
1	肛拭子未增菌状态	Cp1-1	+	+	-	-	-	-	A
		Cp1-2	-	+	+	-	-	-	C
	厌氧增菌 18 h 后	Cp1-3	-	+	+	-	-	-	C
		Cp1-4	-	+	+	-	-	-	C
2	肛拭子未增菌状态	Cp2-1	+	+	-	-	-	-	A
		Cp2-2	-	+	-	-	-	-	A
		Cp2-3	-	+	-	-	-	-	A
3	肛拭子未增菌状态	Cp3-1	-	+	-	-	-	-	A
		Cp3-2	-	+	+	-	-	-	C
	厌氧增菌 18 h 后	Cp3-3	-	+	+	-	-	-	C
		Cp3-4	-	+	+	-	-	-	C

### 2.3 菌株 PFGE 分子分型

11 株产气荚膜梭菌共分 5 种 PFGE 带型,2 株 A 型 *cpe*+菌株(分离自病例 1 的 Cp1-1 和分离自病例 2 的 Cp2-1)为 P1 带型;分离自病例 1 的另外 3 株 C 型菌(Cp1-2、Cp1-3、Cp1-4)为 P2 带型;分离自病

例 2 的另外 2 株 A 型菌(Cp2-2、Cp2-3)为 P3 带型;分离自病例 3 的 3 株 C 型菌(Cp3-2、Cp3-3、Cp3-4)为 P4 带型,另 1 株分离自病例 3 的 A 型菌(Cp3-1)为 P5 带型,见图 1。

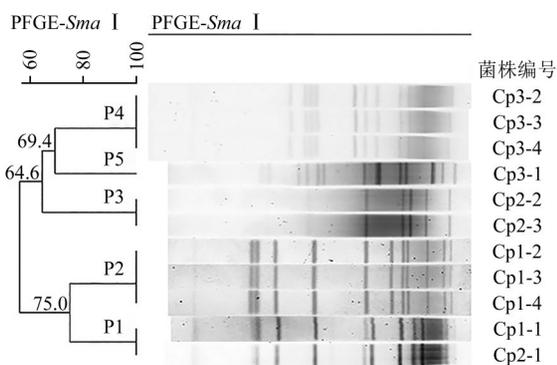


图 1 11 株产气荚膜梭菌菌株 PFGE 聚类图

Figure 1 PFGE clustering for 11 *C. perfringens* strains

## 3 讨论

产气荚膜梭菌在美国是排在第 2 位的导致食物中毒病原菌<sup>[9]</sup>,但其在中国大陆引起的暴发事件却远低于沙门菌、金黄色葡萄球菌、副溶血性弧菌、蜡样芽胞杆菌等常见食源性致病菌<sup>[10-11]</sup>。近年来,北京、广州等地区多次报道产气荚膜梭菌导致食物

中毒事件<sup>[12-18]</sup>,可见由该菌导致食物中毒事件在中国同样存在。实验室在暴发应对中较少将该菌纳入检验范围,且其厌氧培养过程与常见需氧致病菌培养过程不同<sup>[19]</sup>,该菌无法在其他需氧食源性致病菌培养过程中被“顺带培养”,继而造成由其导致暴发事件漏报问题。本事件中,8例病例均来自同一集中单位(学校),短期内(15 h)出现腹泻病例异常增多,所有病例有共同就餐史。虽然仅4例病例配合采到了肛拭子样本,但所有病例肛拭子中均筛查到 *cpa* 和 *cpe* 基因;3例病例成功分离到产气荚膜梭菌菌株,且2例病例分离到 PFGE 带型一致的 *cpe+* 菌株;所有病例除产气荚膜梭菌外的其他常见食源性病原分子筛查结果为阴性;基于以上结果,本次事件可判定为一起腹泻暴发事件,致病因子可能为产气荚膜梭菌。

本次暴发中仅采集到4例病例的肛拭子样本,所有产气荚膜梭菌都携带 *cpa* 基因,通过增菌前后 *cpa* 基因和 *cpe* 基因检测结果可以看出,肛拭子原液中产气荚膜梭菌及 *cpe+* 产气荚膜梭菌的载量均较低;而厌氧增菌后,病例1和病例3增菌液中 *cpa* 基因 Ct 值降低,即产气荚膜梭菌载量升高,但 *cpe* 基因 Ct 值均 >30,即增菌液中 *cpe+* 菌株载量未能显著提升,继而造成增菌后不易分离到 *cpe+* 菌落,这可能与使用 BHI 厌氧增菌对 *cpe+* 菌株选择性不佳有关。增菌导致致病性菌株(产气荚膜梭菌 *cpe+* 菌株和副溶血性弧菌 *tdh+* 菌株)在菌群中构成下降这一特征的机制,以及其他致病菌中是否同样存在值得继续关注。产气荚膜梭菌暴发事件中,应尽量使用未增菌样本进行细菌分离,进而提升 *cpe+* 菌株成功分离的概率。

进行 PFGE 分子分型的 11 株产气荚膜梭菌中共获得 5 种带型,均归属于 A 型(*cpa+*、*cpb-*、*etx-*、*iA-*)和 C 型(*cpa+*、*cpb+*、*etx-*、*iA-*)产气荚膜梭菌,该结果与 A 型和 C 型产气荚膜梭菌与人致病性相关的报道符合<sup>[20-21]</sup>。病例1和病例2分离到的 *cpe+* 菌株带型一致,说明两个例病例分离菌株具有同源性的可能性很高。除病例4未能分离到菌株外,病例1、2、3中分别分离到两种 PFGE 带型菌株,并且分布 5 种带型,说明各病例感染或定殖于肠道的产气荚膜梭菌呈现克隆多样化特征,与既往文献报道相似<sup>[10]</sup>。对于产气荚膜梭菌可出现多克隆感染的特征,实验室应在暴发应对中增加各病例样本分离菌株数量,以协助菌株同源性比对分析。

病例2和病例4在厌氧增菌后均未出现检测基因 Ct 值较增菌前显著下降,相反,病例4在增菌后 *cpa* 基因和 *cpe* 基因 Ct 值反而升高,说明病例4

肛拭子样本中产气荚膜梭菌载量低且大多处于“非存活状态”。产气荚膜梭菌及肠毒素特征基因在原始样本或增菌液中的荧光 PCR 检测对辅助事件分析有一定价值,值得推广应用。

文献报道产气荚膜梭菌导致食物中毒通常与疑似中毒食品或腹泻病例粪便中该菌载量分别大于  $10^5$  CFU/g 和大于  $10^6$  CFU/g 相关<sup>[22]</sup>,为满足定量检测需求,此类暴发事件应加强食品和病例粪便样本的采集,解决肛拭子样本细菌载量低以及无法进行粪便细菌计数的问题。本次事件处理中未能采集到病例的粪便标本也是本研究存在的局限性。

《产气荚膜梭菌食物中毒诊断标准及处理原则》中,该菌实验室诊断需要进行患者粪便或分离培养物的家兔肠祥试验测定肠毒素<sup>[23]</sup>,基层疾病预防控制中心通常不具备动物试验条件,因此在实验环境和实验方法均存在局限的情况下,综合使用分离培养、毒素 PCR 检测、分子分型等检测手段收集实验室证据,可以在检测和诊断标准滞后的情况下最大程度支撑事件分析与判定。我国应尽快加强产气荚膜梭菌暴发事件实验室应对的标准化建设。

## 参考文献

- [1] JIA Z, LIU Y H, HEANG C A, et al. Effect of combination of Oxyrase and sodium thioglycolate on growth of *Clostridium perfringens* from spores under aerobic incubation [J]. Food Microbiology, 2020, 89: 103413.
- [2] SCALLAN E, GRIFFIN P M, ANGULO F J, et al. Foodborne illness acquired in the United States—Unspecified agents [J]. Emerging Infectious Diseases, 2011, 17(1): 16-22.
- [3] XIN W, WANG J. *Clostridium perfringens* epsilon toxin: Toxic effects and mechanisms of action [J]. Biosafety and Health, 2019, 1(2): 71-75.
- [4] ROOD J I, ADAMS V, LACEY J, et al. Expansion of the *Clostridium perfringens* toxin-based typing scheme [J]. Anaerobe, 2018, 53: 5-10.
- [5] NAKANO V, IGNACIO A, LLANCO L, et al. Multilocus sequence typing analyses of *Clostridium perfringens* type A strains harboring *tpeL* and *netB* genes [J]. Anaerobe, 2017, 44: 99-105.
- [6] 李颖, 李长青, 王彦波, 等. 一起由 C 型产气荚膜梭菌引起的食源性疾病致病因子检测 [J]. 中国卫生检验杂志, 2016, 26(23): 3379-3381.
- [7] LI Y, LI C Q, WANG Y B, et al. Detection of food borne pathogenic factors caused by *Clostridium perfringens* [J]. China Industrial Economics, 2016, 26(23): 3379-3381.
- [8] MPAMUGO O, DONOVAN T, BRETT M M. Enterotoxigenic *Clostridium perfringens* as a cause of sporadic cases of diarrhoea [J]. Journal of Medical Microbiology, 1995, 43(6): 442-445.
- [9] KIU R, HALL L J. An update on the human and animal enteric pathogen *Clostridium perfringens* [J]. Emerging Microbes &

- Infections, 2018, 7(1): 1-15.
- [9] GRASS J E, GOULD L H, MAHON B E. Epidemiology of foodborne disease outbreaks caused by *Clostridium perfringens*, United States, 1998-2010[J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2013, 10(2): 131-136.
- [10] 付萍, 王连森, 陈江, 等. 2015年中国大陆食源性疾病暴发事件监测资料分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2019, 31(1): 64-70. FU P, WANG L S, CHEN J, et al. Analysis of foodborne disease outbreaks in China mainland in 2015[J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2019, 31(1): 64-70.
- [11] 韩海红, 寇柏洋, 马洁, 等. 2018年中国大陆食源性疾病暴发监测资料分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2022, 34(4): 822-829. HAN H H, KOU B Y, MA J, et al. Analysis of foodborne disease outbreaks in Chinese mainland in 2018 [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2022, 34(4): 822-829.
- [12] 张爽, 贾巧玲, 李颖, 等. 北京市顺义区2起产气荚膜梭菌食物中毒病原学分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2020, 32(4): 456-460. ZHANG S, JIA Q L, LI Y, et al. Analysis of the pathogenic characteristics of two food poisoning events caused by *Clostridium perfringens* in Shunyi District, Beijing [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2020, 32(4): 456-460.
- [13] 冀国强, 李颖, 张爽, 等. 一起产气荚膜梭菌食物中毒事件的实验室检测分析[J]. 疾病监测, 2020, 35(6): 547-551. JI G Q, LI Y, ZHANG S, et al. Laboratory analysis on one food poisoning event caused by *Clostridium perfringens* [J]. Disease Surveillance, 2020, 35(6): 547-551.
- [14] 张爽, 张巍巍, 李颖, 等. 一起由产气荚膜梭菌和肠聚集性大肠埃希菌共感染导致的聚集性腹泻事件病原学分析. 中国人兽共患病学报, 2021, 37(2): 183-187. ZHANG S, ZHANG W W, LI Y, et al. Pathogenic analysis of a cluster diarrhea event caused by co-infection with *Clostridium perfringens* and enteroaggregative *Escherichia coli* [J]. Chinese Journal of Zoonoses, 2021, 37(2): 183-187.
- [15] 于颖慧, 滕臣刚, 刘丽华, 等. 外送餐引起产气荚膜梭菌食物中毒流行病学调查分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2020, 32(5): 570-575. YU Y H, TENG C G, LIU L H, et al. Epidemiological investigation and analysis of *Clostridium perfringens* food poisoning caused by food delivery [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2020, 32(5): 570-575.
- [16] 张晓媛, 刘玉竹, 张鹏航, 等. 一起疑似产气荚膜梭菌食物中毒事件的病原学分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(18): 6022-6026. ZHANG X A, LIU Y Z, ZHANG P H, et al. Etiological analysis of a suspected food poisoning incidents of *Clostridium perfringens* [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2019, 10(18): 6022-6026.
- [17] 麻美芬, 崔艳, 黄抱抱, 等. 一起产气荚膜梭菌食物中毒事件现场流行病学调查[J]. 预防医学, 2018, 30(6): 624-625. MA M F, CUI Y, HUANG B B, et al. Field epidemiological investigation of a food poisoning incident caused by *Clostridium perfringens* [J]. Journal of Preventive Medicine, 2018, 30(6): 624-625.
- [18] 徐春风, 郑灿杰, 严晓莉, 等. 一起幼儿园食物中毒事件调查[J]. 预防医学, 2018, 30(6): 618-620. XU C F, ZHENG C J, YAN X L, et al. Investigation on a food poisoning incident in kindergarten [J]. Journal of Preventive Medicine, 2018, 30(6): 618-620.
- [19] 中华人民共和国卫生部. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 产气荚膜梭菌检验: GB 4789.13—2012[S]. 北京: 中国标准出版社, 2012. Ministry of Health of the People's Republic of China. National food safety standard-Microbiological examination of food-Examination of *Clostridium perfringens*: GB 4789.13—2012 [S]. Beijing: Standards Press of China, 2012.
- [20] SARKER M R, SINGH U, MCCLANE B A. An update on *Clostridium perfringens* enterotoxin [J]. Journal of Natural Toxins, 2000, 9(3): 251-266.
- [21] BA-THEIN W, INUI S, SHIMIZU T, et al. Genomic diversity in the *pfoA* Region of *Theta*-toxin-deficient strains of *Clostridium perfringens* [J]. Microbiology and Immunology, 1997, 41(8): 629-631.
- [22] MASLANKA S E, KERR J G, WILLIAMS G, et al. Molecular subtyping of *Clostridium perfringens* by pulsed-field gel electrophoresis to facilitate food-borne-disease outbreak investigations [J]. Journal of Clinical Microbiology, 1999, 37(7): 2209-2214.
- [23] 中华人民共和国卫生部. 产气荚膜梭菌食物中毒诊断及处理原则: WS/T 7—1996[S]. 北京: 中国标准出版社, 2000. Ministry of Health of the People's Republic of China. Diagnostic criteria and principles of management for food poisoning of *Clostridium perfringens*: WS/T 7—1996 [S]. Beijing: Standards Press of China, 2000.