·调查报告与分析·

贵州省城市污水中人类肠道病毒捕获与基因特征分析

苏飞，张富敏，王寅寅，唐小敏

贵州省疾病预防控制中心实验中心病毒科，贵阳 550004
通信作者：唐小敏，E-mail：tangxiaomingmu@163.com

【摘　要】目的 基于贵州省城市污水管网，分析未经处理的城市污水中的人肠道病毒（HEVs）的污染状况，并确定污水中病毒血清型。**方法** 2024 年 11 月—2025 年 1 月，采集贵州省贵阳市（南明区）、遵义市（新蒲新区）、六盘水市（钟山区）及铜仁市（碧江区）监测点污水进水口水样，采用阴离子膜超声波洗脱法，将 10 份富集病毒的污水样接种于人横纹肌肉瘤细胞（RD）和人脊灰病毒受体基因的鼠肺细胞（L20B）；经细胞培养获得的病毒阳性分离物提取 RNA，采用逆转录聚合酶链反应（RT-PCR）扩增肠道病毒 VP1 基因，对获得性肠道病毒基因序列进行鉴定与系统发育分析。**结果** 从 10 份污水样品中分离得到 26 株脊髓灰质炎病毒（PV）疫苗相关株，11 株非脊髓灰质炎病毒（NPEV）。经鉴定，PV 疫苗相关Ⅰ型毒株为 10 株、Ⅲ型为 16 株；26 株 PV 疫苗相关株与 Sabin 株相比 VP1 区核苷酸变异个数均<10 个；另外，NPEV 包括 7 株埃可病毒 11 型（E11）、1 株埃可病毒 6 型（E6）以及柯萨奇病毒 B 组 2 型（CVB2）、3 型（CVB3）和 5 型（CVB5）各 1 株。进化分析显示，7 株 E11 病毒株属于 D5 基因亚型。**结论** 贵州城市污水管网的污水样品中可检出 HEVs，但未发现脊灰野病毒（WPV）或疫苗衍生脊灰病毒（VDPV）。监测地区污水中的病毒检测数据证实了 HEV 潜在的环境污染，可为制定废水管理政策标准提供参考依据。

【关键词】 污水；人类肠道病毒；基因型；系统进化；贵州省

Capturing and genetic characterization of human enteroviruses in municipal sewage in Guizhou province

SU Fei, ZHANG Fumin, WANG Yinyin, TANG Xiaomin (*Virology Department*, *Laboratory Center*, *Guizhou Provincial Center for Disease Control and Prevention*, *Guiyang* 550004, *China*)
Corresponding author: TANG Xiaomin, E-mail: tangxiaomingmu@163.com

【Abstract】 Objective To analyze the contamination status of human enteroviruses (HEVs) in untreated municipal sewage and identify viral serotypes based on the municipal sewage network in Guizhou province. **Methods** Influent sewage samples were collected from monitoring sites in Guiyang city (Nanming district), Zunyi city (Xinpu new district), Liupanshui city (Zhongshan district), and Tongren city (Bijiang district) in Guizhou province from November 2024 to January 2025. Ten virus-enriched sewage samples were processed by a combined anion-exchange membrane adsorption-elution and ultrasound-assisted elution method. The concentrated viral particles were then inoculated into human rhabdomyosarcoma (RD) cells and mouse L20B cells expressing the human poliovirus receptor. RNA was extracted from virus-positive isolates obtained through cell culture, followed by reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) to amplify the VP1 gene of enteroviruses. Genetic sequencing and phylogenetic analysis were performed to characterize the obtained viral strains. **Results** A total of 26 poliovirus (PV) vaccine-related strains and 11 non-polio enterovirus (NPEV) strains were isolated from the 10 sewage samples. Of the PV strains, 10 were of serotype I and 16 were of serotype Ⅲ. All the 26 PV vaccine-related strains exhibited fewer than 10 nucleotide variations in the VP1 region compared to the Sabin reference strains. The NPEV strains included seven echovirus 11 (E11) strains, one echovirus 6 (E6) strain, and one strain each of coxsackieviruses B2 (CVB2), B3 (CVB3), and B5 (CVB5). Phylogenetic analysis revealed that the seven E11 strains belonged to the genetic subcluster D5. **Conclusions** HEVs were detected in sewage samples from the municipal sewage system of Guizhou province, while no wild poliovirus or vaccine-derived poliovirus was identified. Viral surveillance data confirm the potential environmental contamination by HEVs and could inform the development of wastewater management policy standards.

【Keywords】 sewage; human enteroviruses; genotype; phylogeny; Guizhou province

污水是多元信息的大混杂，含有多种可感染人类的病毒[1]。2020 年，新型冠状病毒感染（coronavirus disease 2019, COVID-19）的大流行造成了前所未有的挑战和困难，但通过监测污水中的 COVID-19 为疾病提供了极好的早期预警[2]。人类肠道病毒（human enteroviruses, HEVs）在污水中高浓度存在，

开放获取：CC BY-NC-ND 4.0　DOI：10.11847/zgggws1147834
基金项目：国家自然科学基金（81860594）；贵州省疾病预防控制中心 2024 年新技术、新方法项目（2024-E-6 技）
第一作者：苏飞（1975—），本科，副主任医师，研究方向：肠道病毒检测。
收稿日期：2025-04-30　修回日期：2025-05-20　录用日期：2025-08-05
利益冲突：不存在　伦理审查：免除审查　出版授权：全体作者已与编辑部签署作者贡献声明及版权转让协议

并通过污水引起急性水传播性疾病[3]。20 世纪 60 年代初，污水中肠道病毒监测首先用于脊髓灰质炎病毒（poliovirus, PV）的监测，随后扩展到多种病原体，其中也包括了非脊髓灰质炎肠道病毒（non-polio enteroviruses, NPEV）[4]。因此，在污水中肠道病毒检测（enteroviruses, EVs）可以作为由这一组病毒引起的疾病的早期预警指标。贵州省位于中国的西南部，既往研究表明，该地区早在 2004 年曾发现 2 例Ⅰ型疫苗衍生脊髓灰质炎病毒（vaccine-derived poliovirus, VDPV）感染病例，并引发了疫苗衍生脊灰病毒循环事件（circulating vaccine-derived poliovirus, cVDPV）[5]。值得注意的是，2008—2017 年贵州省手足口病年均报告死亡率持续位居全国前五位[6]，这些 EVs 相关疾病的流行特征提示可能存在持续性病毒污染扩散风险，对区域公共卫生安全构成潜在威胁。然而，目前针对贵州地区污水中 EVs 特征监测仍未厘清，且尚未建立病毒基因型分布及变异趋势的研究体系。因此，本研究以贵州省城市污水管网为研究对象，采用“阴离子膜吸附–超声波洗脱”技术富集污水中病毒颗粒；在此基础上，采用组织培养及基因序列分析，了解本地区 EVs 的基因型多样性及分子进化特征，为贵州地区相关 EVs 传染病防控策略提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 *采集点布设* 选择贵阳市（南明区）、遵义市（新蒲新区）、六盘水市（钟山区）及铜仁市（碧江区）作为监测点，其日均污水量均超 2 万吨，覆盖人口均超 30 万人，可系统反映贵州地区城市群污水特征。采集点设置在污水进水口。采集时间为 2024 年 11 月—2025 年 1 月。

1.2 *主要试剂和设备* QIAamp Viral RNA Mini Kit 试剂购于德国 Qiagen 公司；One step RT-PCR 试剂购于大连 TaKaRa 公司；LAB-LEMCO′ POWDER 购于英国 Oxoid 有限公司；水样病毒富集系统（BDFJ-01）购于广州程淇生物技术有限公司；阴离子纤维素膜（Advantec）购于日本 Toyo Roshi Kaisha 有限公司；Ⅱ级 A2 型生物安全柜（1379）购于 Thermo Fisher（苏州）公司；实时荧光定量 PCR 仪（QuantStudio^{TM}5）购于美国 Thermo Fisher Scientific 公司；基因扩增仪（T100^{TM} Thermal Cycler）购于美国 Bio-Rad 公司；凝胶成像分析系统（ChemiDoc^{TM} XRS+）购于美国 Bio-Rad 公司。人横纹肌肉瘤细胞（human rhabdomyosarcoma cells, RD）和人脊灰病毒受体基因的鼠肺细胞（mouse L cells expressing the human poliovirus receptor, L20B）来源于中国疾病预防控制中心病毒病所脊灰病毒实验室。

1.3 *方法*

1.3.1 *采集方法* 按照《城市污水病原监测和入境航空器污水病原监测技术手册》（2024 年版）[7]执行。使用水质自动采样器进行 24 h 混合采样（采集速度为 100 mL/h），自动采样器冷藏温度设定为（4±2）℃，并提前测试设备防止堵塞。每日收集样本量 2 400 mL。污水采集完毕后摇匀混合，随后分装 1 000 mL 至无菌瓶中，冷藏运至贵州省疾病预防控制中心 EVs 检测实验室。每个采集点每月采集 1 次，具体在每月第 1 个周的周一采集，连续采集 24 h 的污水样本，周三送达省级实验室。采集过程中，注意个人防护和消毒。

1.3.2 *病毒富集* 病毒富集前，将污水样本分装至离心管中，4 ℃，1 000 g 条件下离心 30 min；随后将上清液转移到烧杯中，然后加入 2.5 mol $MgCl_2$，至其终浓度为 0.05 mol。在磁力搅拌器上用 0.5 N HCl 调节 pH 值至 3.5～4.0。选用 Advantec 纤维素膜（孔径 0.45 μm，直径 142 mm）。将污水样本以 10 mL/min 流速循环通过水样病毒富集系统，1 000 mL 样本过滤完毕后取出纤维素酯膜并折叠放至一次性培养皿内，用无菌剪剪碎纤维素酯膜至 50 mL 离心管（管内含 10 mL 3% 的牛肉膏浸出液）。随后，采用超声波破碎仪进行洗脱，频率 30 khz，时长约 1 min，吸出上清液加至离心管中（洗脱 2 次，分别加至 2 支 15 mL 离心管），调至 pH 7.0，然后，3 000 r/min，30 min；吸取上清液，用 0.22 μm 针式过滤器过滤除菌，过滤液收集至 5 mL 冻存管用于病毒分离培养。

1.3.3 *病毒分离培养* 采用 RD 和 L20B 细胞进行病毒分离培养。RD 与 L20B 细胞经常规培养分别接种于 24 孔板中。长成单层细胞后，污水富集第 1 次洗脱液接种 5 孔，每孔 200 μL，第 2 次洗脱液接种 3 孔，每孔 200 μL，每板分别设置细胞对照，置于 36 ℃ 5% CO_2 培养箱中静置培养，每日观察细胞病变效应（cytopathic effects, CPE），连续培养 2 代，每代观察 5 d。如出现 CPE，两种细胞之间须交叉接种及传代[8]。

1.3.4 *病毒 RNA 提取* 按照 RNA 提取试剂盒说明书，取 140 μL 病毒阳性分离物进行核酸提取，提取到 RNA 的体积约为 50 μL，用于后续实验。RNA –75 ℃ 保存备用，避免反复冻融。

1.3.5 *L20B 阳性分离物型内鉴定* 使用国家脊灰实验室提供的 PV RT-PCR ITD 6.0 和 VDPV 5.2 试剂，按照试剂盒说明书采用实时荧光定量逆转录聚合酶链式反应（reverse transcription quantitative real-time polymerase chain reaction, RT-qPCR）对 L20B 阳性分离物进行 PV 型内鉴定。

1.3.6 *逆转录聚合酶链反应*（reverse-transcription

polymerase chain reaction, RT-PCR）扩增与 EVs 分型对病毒阳性分离物，提取病毒 RNA。参照文献合成 VP1 特异性引物 [9]，使用 One step RT-PCR 试剂进行 VP1 基因序列扩增，RT-PCR 反应条件：50 ℃ 30 min。94 ℃ 2 min。94 ℃ 30 s，50 ℃ 30 s，72 ℃ 80 s，40 个循环。72 ℃ 7 min。扩增产物经凝胶成像系统观察与鉴定，随后进行序列测定。测序结果用 DNAStar（Lasergene）程序包编辑整理后，采用肠道病毒分子定型软件 Enterovirus Genotyping Tool Version 0.1 判断血清型别（http://www.rivm.nl/mpf/enterovirus/typingtool）。

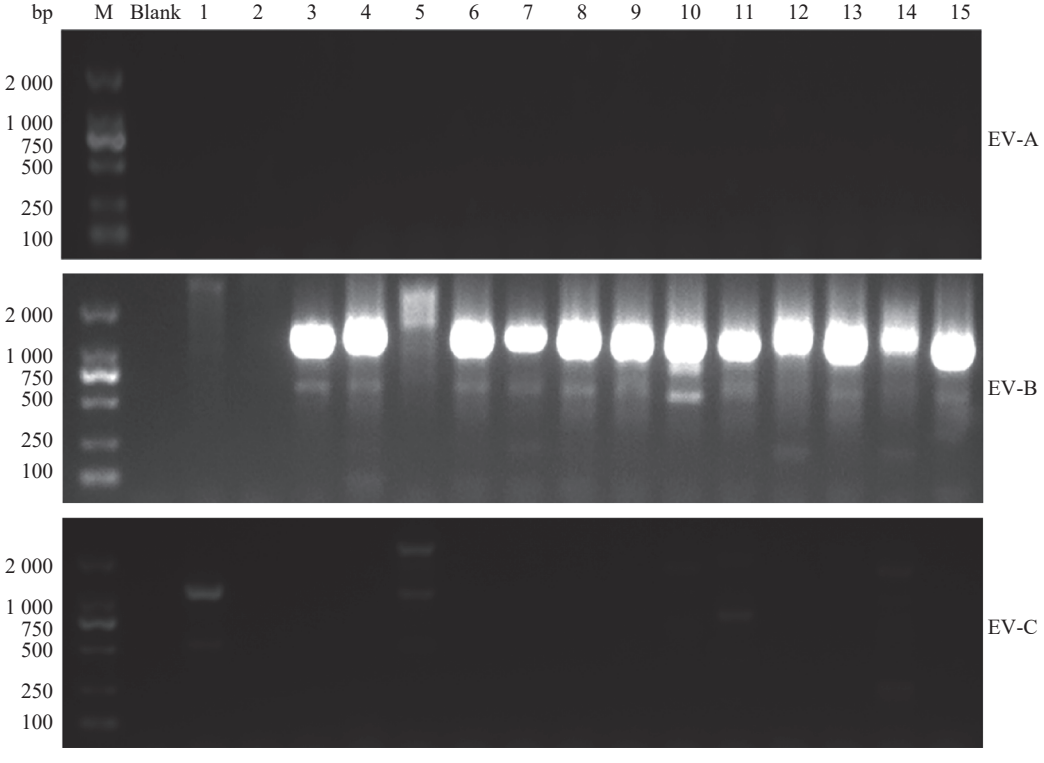
1.3.7　系统进化分析　使用 MAFFT v7.490 软件进行多重序列比对。trimAl v.1.4.1 软件（Multiple Sequence Alignment, MSA）自动修剪多序列比对结果，去除对比对准确性和系统发育分析有负面影响的部分。序列分析、整理和拼接使用 BioEdit v7.1.9。使用 TBtools（https://github.com/CJ-Chen/TBtools/releases）导出参考序列。利用 MEGA11，采用邻接法，通过 1 000 次引导重复构建最大似然距离模型的系统发生树。使用 FigTree v1.4.2（http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/）对系统进化树进行可视化分析。

2 结　果

2.1　污水采集基本情况　2024 年 11 月—2025 年 1 月，4 个采集点共采集 10 份污水样（六盘水市采集点仅在 2025 年 1 月采集了污水样）。采集点采样周期内进水温度为 8.6～23.6 ℃，其中，六盘水市采集点 2025 年 1 月份水温最低，而铜仁市采集点 2024 年 11 月份水温最高；采集周期内日污水处理量平均为 6.77 万吨/天，其中，遵义市采集点日污水处理量最高，平均为 11.27 万吨/天，而贵阳市采集点日污水处理量最低，平均为 3.81 万吨/天；另外，采集周期内各理化指标如下：化学需氧量（chemical oxygen demand）平均为 169 mg/L，总悬浮物平均为 106 mg/L、pH 值为 6.8～8.7 及氨氮平均含量为 20.12 mg/L。

2.2　污水中 EVs 细胞分离培养　采用 RD 和 L20B 细胞对 10 份污水病毒富集样本进行组织分离培养。所有样本均连续培养 2 代，并使用倒置显微镜逐日对照正常细胞系（RD 和 L20B）进行观察。结果显示，病毒在 RD 细胞上主要表现为细胞圆缩与脱落；病毒在 L20B 细胞上发生的 CPE，主要表现为细胞变圆，间隙增大，并出现细胞脱落。

2.3　PV 型内鉴定与 EVs VP1 基因扩增（图 1）　首先，通过 RT-qPCR 进行 PV 型内鉴定，结果显示未检出脊灰野病毒（wild poliovirus, WPV）和 VDPV。再使用 EVs A 组、B 组及 C 组引物进行 RT-PCR 扩增，结果显示，除 A 组未见扩增产物外，而 B 组和 C 组扩增产物在 1 000 bp 处可观察到目的条带。

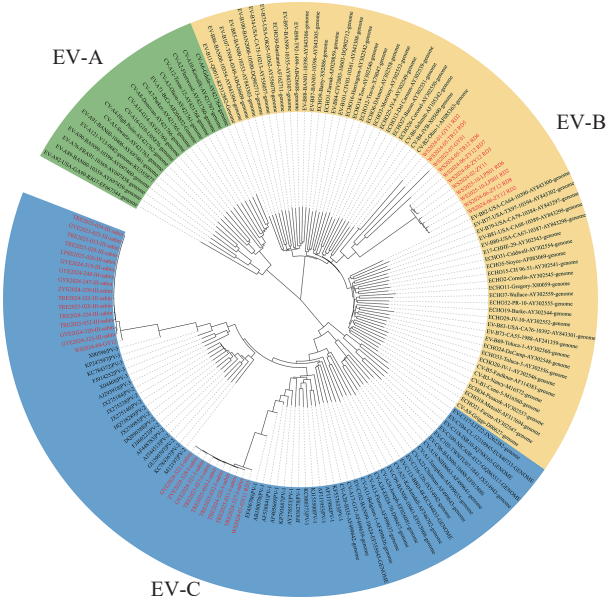


注：M：DL-2000 DNA Marker；Blank，空白对照；1～15：细胞阳性培养物。

图 1　EV-A 组、EV-B 组及 EV-C 组 EVs PCR 扩增

Fig. 1　PCR amplification of EVs in EV-A, EV-B, and EV-C groups

2.4 基因分型与分布(图 2、3) 通过分子定型及进化分析，从上述方法中分离得到 B 组和 C 组 EVs。B 组 EVs 均为 NPEV。经系统进化分析，得到 7 株埃可病毒 11 型(echovirus 11, E11)、1 株埃可病毒 6 型(echovirus 6, E6)以及柯萨奇病毒 B 组 2 型(coxsackievirus B2, CVB2)、3 型(CVB3)和 5 型(CVB5)病毒各 1 株。本研究检测到的 EV-C 组的血清型均为 PV。本研究收获的 26 株 PV，均为疫苗相关株，分别为 10 株 PV Ⅰ 型与 16 株 PV Ⅲ 型；与 Sabin 株相比 VP1 区核苷酸变异个数均小于 10 个。2024 年 11 月—2025 年 1 月，4 个采集点均检出 PV Ⅰ 型和 Ⅲ 型，未检出 Ⅱ 型；另外，六盘水市采集点未检出 PV Ⅰ 型毒株。在遵义市与六盘水市采集点主要检出 E11，而其他 B 组 EVs(E6、CVB2、CVB3、CVB5)则主要分布于贵阳市和铜仁市采集点。

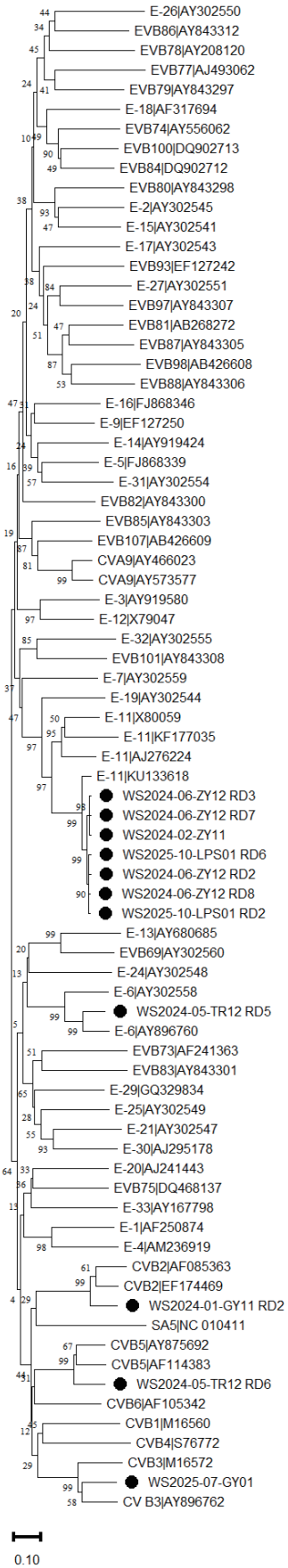


注：红色显示为本次研究从污水分离得到的病毒株。

图 2 基于 VP1 区 EV-A 组、EV-B 组及 EV-C 组 EVs 系统进化树

Fig. 2 Phylogenetic tree of EVs in EV-A, EV-B, and EV-C groups based on the VP1 region

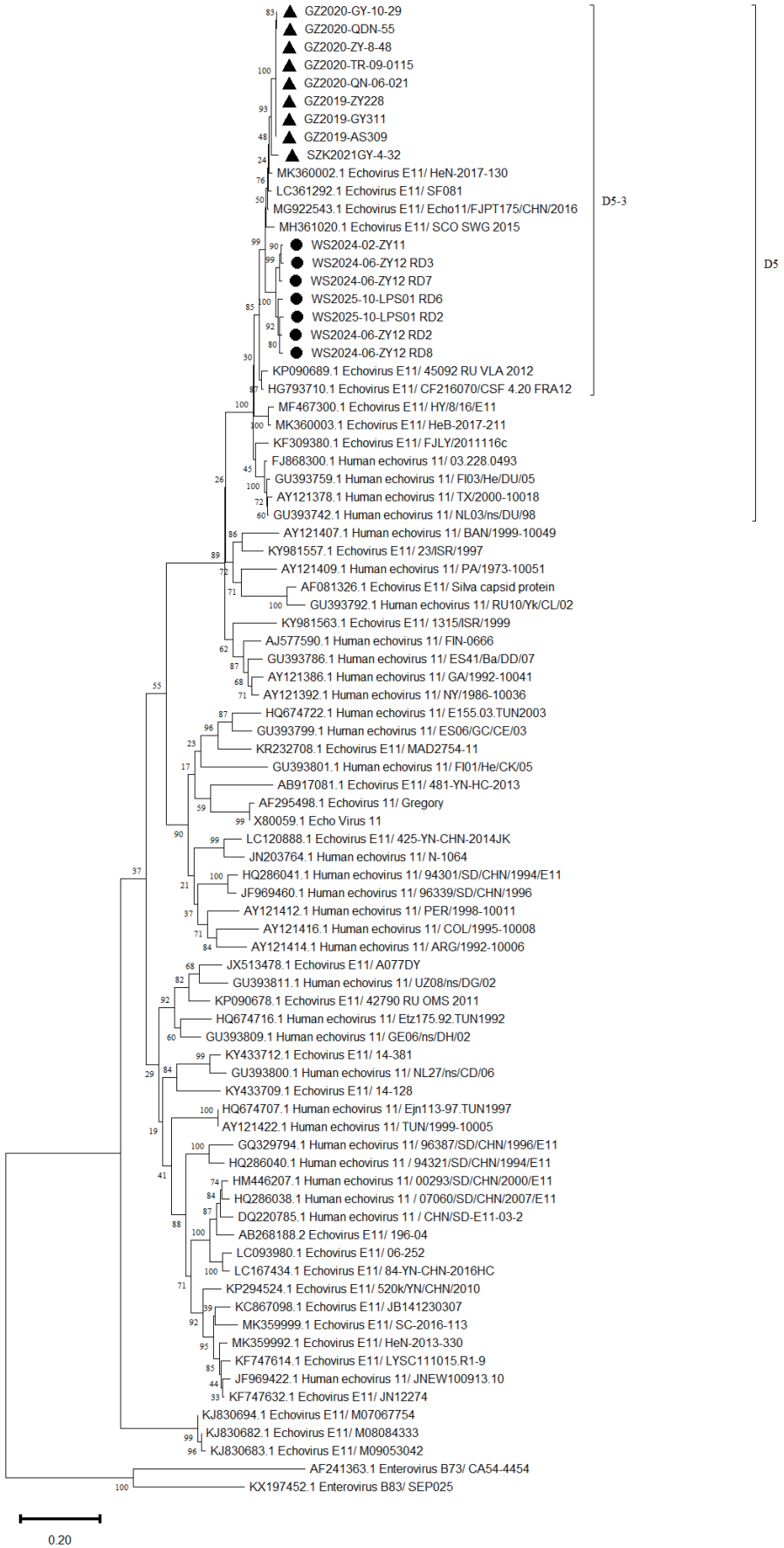
2.5 E11 系统进化分析(图 4) 从污水中分离得到 7 株 E11 毒株，基于 VP1 基因序列与各基因型参考株进行进化分析，结果显示，7 株 E11 毒株处于 D5 基因亚型分支上，进一步分析发现，本研究 7 株 E11 毒株属于 D5-3 簇。另外，分析显示，以往贵州省从手足口病分离得到的 E11 毒株也属于 D5 亚型，表明该病毒在贵州省人群与环境中存在传播循环。然而，进一步分析发现，污水中得到的 E11 毒株与人群中得到的 E11 毒株处于同一进化分支分为 2 个不同的簇，提示二者可能经历了不同的进化路径。



注：●本研究从污水分离得到的病毒株。

图 3 B 组 EVs 与各基因型参考株 VP1 区系统进化树

Fig. 3 Phylogenetic tree of EVs in group B and reference strains of various genotypes based on the VP1 region



注：●本研究从污水分离得到的病毒株；▲代表以往从贵州省手足口病中分离得到的病毒株。

图 4　埃可病毒 11 型分离株(污水)与埃可病毒 11 型各基因型参考株 VP1 区系统进化树

Fig. 4　Phylogenetic tree of echovirus 11 (Sewage) isolates and reference strains of various genotypes based on the VP1 region

3 讨 论

EVs 主要通过粪－口途径传播，感染者（包括无临床症状者）可通过粪便向外环境排出病毒。研究表明，EVs 在外环境中可存活数周至数月，且在此过程中仍能维持传染性[10]。目前全球多国已将污水 EVs 监测作为急性弛缓性麻痹（acute flaccid paralysis, AFP）病例监测体系的重要补充手段。在无 PV 流行但存在 AFP 监测薄弱环节，或已全面采用灭活脊髓灰质炎病毒疫苗（inactivated poliovirus vaccine, IPV）免疫策略的国家及地区，污水监测技术能有效捕获环境中潜在传播的 EVs 毒株，为评估 EVs 感染风险提供了关键流行病学证据[11]。污水中成分复杂，受环境、水量、水质、化学物品及微生物的影响较大；且与临床样本相比干扰因素较多，病毒载量低；因此，对病毒进行检测与培养前，需对污水中的病毒进行富集处理。目前，常用的富集方法主要有过滤法、吸附法、离心法与混凝法[12]。对于 EVs 的富集，目前较常用的方法是膜过滤法与聚乙二醇沉淀法，但研究表明，膜过滤法检出 PV 与 NPEV 高于聚乙二醇沉淀法[8]。本研究基于阴离子膜吸附联用超声波产生的剪切力可有效快速地解离病毒，且不影响病毒颗粒完整性，成功从 4 个监测点采集的所有污水样本中均分离得到 EVs，表明目前此方法可适用于污水中分离 EVs。

自 1988 年 WHO 通过消除脊髓灰质炎决议以来，WPV 的传播已大幅减少，并于 2015 年 9 月宣布Ⅱ型 WPV 已被消灭，次年要求全球同步停用含Ⅱ型的 PV 成分的脊灰减毒活疫苗（oral attenuated poliovirus vaccine, OPV）[13]；中国按照 WHO 决议停用三价 OPV，转换成注射 IPV 及二价 OPV 的序贯免疫策略[14]。免疫策略的调整，从三价 OPV 转向二价 OPV 后，必然会引起 PV 型别的变化，也可能会导致 VDPV 的流行发生新的改变。另外，研究发现，污水中发现 PV 及相关病毒的时间早于 PV 及相关病毒导致疾病的时间，能够及早发现 PV 及相关病毒的输入和传播[15]。与此同时，本研究从污水监测发现，从 4 个监测点检出 PV 疫苗相关株，其中包括Ⅰ型和Ⅲ型且核苷酸变异个数均小于 10 个，未检出 WPV 和Ⅱ型 PV；这一监测结果表明贵州省仍处于无 PV 状态，同时也间接证实了目前免疫策略的有效性。

本研究分离得到的 NPEV，均属于 HEV 的 B 组。这些 HEVs 可引起非特异性症状和全身性疾病，并且 E11、CVB3、CVB5 等均是我国常见的流行株。在儿童中 E11 可引起严重疾病，具有高发病率和死亡率[16]。有研究发现，在日本的 2 个污水厂 E11 被频繁检出，且显示出不同的血清型[17]。在本次研究中 E11 分离率较高，主要集中在遵义市与六盘水市采集点，另外 2 个采集点则未检出。E11 全球流行，根据 VP1 序列又可划分为 6 种基因型（A-F 型），其中，A 型、C 型和 D 型又进一步分为 A1-5、C1-4 和 D1-5[18]。不同地域区域，E11 优势型别不同。中国 2013 年 E11 以 A1 基因亚型为主，然而 2018 年 D5 基因亚型开始在中国大陆流行[19]。本研究从污水中分离得到的 7 株 E11 均属于 D5 基因亚型，进一步可划分为 D5-3。值得注意的是，D5 基因亚型分支上有 2019—2021 年从贵州省手足口病病例中分离得到的 E11，它与污水中的 E11 同属一个分支，表明本地区 E11 的优势基因型为 D5。此外，源自不同宿主的 E11 毒株分布于两个不同的系统进化簇，但其是否遵循差异化的进化路径仍有待进一步研究予以验证。

综上所述，本研究在城市污水监测中发现了多种能导致人类感染的 EVs，但未发现 WPV 与 VDPV。尽管本研究分离出污水中肠道病毒，但受限于样本采集的时空范围，未能检出本地区 A 组 EVs 的流行株[20–21]，其背后机制究竟源于病毒种间竞争抑制效应，抑或是受宿主免疫压力等复杂因素驱动，仍需通过持续的动态监测或机制研究进行系统解析。本研究将继续进行监测点样本的采集、病毒分离培养与鉴定；同时，将污水富集液直接提取 RNA 构建 EVs VP1 编码区扩增子检测体系，通过靶向下一代测序技术（NGS）以发现污水样本中丰富的 EV-A 组及其他 EVs 序列。未来将整合污水病毒载量数据与相关疾病、人口信息，构建实时预警平台；构建适应特殊环境下的病原监测新模式。

数据可用性声明 本研究中所有的原始数据均已在论文中得以全面展示。

参考文献

[1] Ariyadasa S, Taylor W, Weaver L, et al. Nonbacterial microflora in wastewater treatment plants: an underappreciated potential source of pathogens[J]. Microbiology Spectrum, 2023, 11(3): e0048123.

[2] Nghiem L D, Morgan B, Donner E, et al. The COVID-19 pandemic: considerations for the waste and wastewater services sector[J]. Case Studies in Chemical and Environmental Engineering, 2020, 1: 100006.

[3] Jose J P G, Mantaring S D, Guzman J P M D. The need for wastewater surveillance of enteroviruses in the philippines[J]. The Lancet Microbe, 2022, 3(8): e562.

[4] Bubba L, Benschop K S M, Blomqvist S, et al. Wastewater surveillance in Europe for non-polio enteroviruses and beyond[J]. Microorganisms, 2023, 11(10): 2496.

[5] 温宁, 樊春祥, 严冬梅, 等. 中国 2001—2013 年疫苗衍生脊髓灰质炎

病毒及病例流行病学特征分析 [J]. 中国疫苗和免疫, 2014, 20(3): 210-215.

[6] 李嘉铃, 韦俞伽, 董柏青, 等. 2008—2017 年我国手足口病发病和死亡变化趋势研究 [J]. 疾病监测, 2022, 37(2): 233-240.

[7] 姚孝元. 城市污水病原监测和入境航空器污水病原监测技术手册(2024 年版)[M]. 中国疾病预防控制中心环境与健康相关产品安全所, 2024: 1-83.

[8] Fang L, Chen M Z, Zhu S L, et al. A comparative study on environmental surveillance of enterovirus: Using a two-phase separation method and a filtration method with a mixed cellulose ester (MCE) membrane[J]. Biosafety and Health, 2023, 5(3): 174-180.

[9] Itani T, Chalapa V, Semenov A, et al. Laboratory diagnosis of nonpolio enteroviruses: a review of the current literature[J]. Biosafety and Health, 2023, 5(2): 112-119.

[10] Ndiaye N, Kébé O, Diarra M, et al. Non-polio enteroviruses circulation in acute flaccid paralysis cases and sewage in Senegal from 2013 to 2021[J]. International Journal of Infectious Diseases, 2024, 138: 54-62.

[11] Sayyad L, Harrington C, Castro C J, et al. Molecular epidemiology of enteroviruses from Guatemalan wastewater isolated from human lung fibroblasts[J]. PLoS One, 2024, 19(7): e0305108.

[12] 刘鹏, 车子凡, 张徐祥. 水环境中病毒检测技术研究进展 [J]. 环境监控与预警, 2021, 13(3): 1-7.

[13] Hampton L M, Farrell M, Ramirez-Gonzalez A, et al. Cessation of trivalent oral poliovirus vaccine and introduction of inactivated poliovirus vaccine - worldwide, 2016[J]. MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report, 2016, 65(35): 934-938.

[14] He H Q, Wang Y M, Deng X, et al. Immunogenicity of three sequential schedules with Sabin inactivated poliovirus vaccine and bivalent oral poliovirus vaccine in Zhejiang, China: an open-label, randomised, controlled trial[J]. The Lancet Infectious Diseases, 2020, 20(9): 1071-1079.

[15] Hill M, Pollard A J. Detection of poliovirus in London highlights the value of sewage surveillance[J]. The Lancet, 2022, 400(10362): 1491-1492.

[16] 李贝杰, 陈澜, 范前进, 等. 2021 年广东省广州市一株埃可病毒 11 型菌株的分离与鉴定 [J]. 疾病监测, 2024, 39(5): 655-660.

[17] Ozawa H, Yoshida H, Usuku S. Environmental surveillance can dynamically track ecological changes in enteroviruses[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2019, 85(24): e01604-19.

[18] Li J, Yan D M, Chen L, et al. Multiple genotypes of echovirus 11 circulated in China's mainland between 1994 and 2017[J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): 10583.

[19] 周晓芳, 寸建萍, 姜黎黎, 等. 云南省 4 株埃可病毒 11 型 VP1 基因特征分析 [J]. 病毒学报, 2021, 37(1): 140-145.

[20] 王宇, 任刚, 苏飞, 等. 2009—2017 年柯萨奇病毒 A 组 4 型贵州分离株的基因特征分析 [J]. 现代预防医学, 2021, 48(2): 312-315.

[21] 单竹周, 裴峰锋, 胡维, 等. 2017—2020 年黔东南地区手足口病病原构成及监测分析 [J]. 中国病原生物学杂志, 2022, 17(9): 1057-1060.