

- immune health challenge[J]. Trends Food Sci Technol, 2019, 86(2):209-216.
- [14] REITSMA M, BASTIAAN-NET S, SFORZA S, et al. Purification and characterization of *Anacardium occidentale* (cashew) allergens Ana o 1, Ana o 2, and Ana o 3[J]. J Agric Food Chem, 2016, 64(5):1191-1201.
- [15] XIA L X, WILLISON L N, PORTER L, et al. Mapping of a conformational epitope on the cashew allergen Ana o 2; a discontinuous large subunit epitope dependent upon homologous or heterologous small subunit association [J]. Mol Immunol, 2010, 47(9):1808-1816.
- [16] VAN DER VALK J P, GERTH VAN WIJK R, VERGOUWE Y, et al. sIgE Ana o 1, 2 and 3 accurately distinguish tolerant from allergic children sensitized to cashew nuts[J]. Clin Exp Allergy, 2017, 47(1):113-120.
- [17] SATHE S K, SZE-TAO K W C, WOLF W J, et al. Biochemical characterization and *in vitro* digestibility of the major globulin in cashew nut (*Anacardium occidentale*) [J]. J Agric Food Chem, 1997, 45(8):2854-2860.
- [18] GASSER B, SALOHEIMO M, RINAS U, et al. Protein folding and conformational stress in microbial cells producing recombinant proteins: a host comparative overview[J]. Microbial Cell Factories, 2008, 7(1):11-28.

## 研究报告

# 成都市海产品中副溶血性弧菌耐药特征及多位点序列分型

尤祯丹<sup>1,2</sup>, 蒋玉涵<sup>1,2</sup>, 陈传君<sup>1,2</sup>, 蒲春如<sup>1,2</sup>, 蒋艳<sup>1,2</sup>, 杜娟兰<sup>1,2</sup>, 邓英<sup>3</sup>, 张白玉<sup>3</sup>, 严立恒<sup>3</sup>, 韩国全<sup>1,2</sup>, 颜其贵<sup>3</sup>  
(1. 四川农业大学食品学院, 四川 雅安 625014; 2. 四川农业大学食品加工与安全研究所, 四川 雅安 625014; 3. 四川农业大学动物医学院, 四川 成都 611130)

**摘要:**目的 了解成都市不同种类的海产品中副溶血性弧菌的污染程度、耐药情况、毒力基因分布、基因分型情况, 为成都市食源性副溶血性弧菌流行及其风险评估提供基础数据。方法 参照 GB 4789.7—2013《食品安全国家标准 食品微生物学检验 副溶血性弧菌检验》, 从不同种类的海产品中分离副溶血性弧菌疑似菌株, 通过生化试验及 16S rDNA 测序进行准确鉴定; 采用纸片扩散法对分离株进行药敏试验, 通过聚合酶链式反应 (PCR) 检测与其致病性相关的 2 个毒力基因, 对分离株进行多位点序列分型分析。结果 从采集的 380 份海产品中共 104 份样品检出副溶血性弧菌, 总检出率为 27.4%。药敏试验表明, 97.1% (101/104) 的分离株具有耐药性, 其中对氨苄西林的耐药率最高 (95.2%, 99/104)。分离株 *trh* 基因携带率为 12.5% (13/104), *tdh* 基因携带率为 1.0% (1/104); 104 株分离株共分为 38 个 ST 型, 其中 ST1801、ST392、ST413 型分离率较高, 分离株未出现流行克隆群。结论 流通过程中不同种类海产品副溶血性弧菌污染率、耐药情况、毒力基因分布存在差异, 可能与养殖环境、运输条件等有关。

**关键词:** 副溶血性弧菌; 耐药性; 毒力基因; 多位点序列分型

中图分类号: R155 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2020)01-0015-05

DOI: 10.13590/j.cjfh.2020.01.003

## Antimicrobial resistance and multilocus sequence typing analysis of *Vibrio parahaemolyticus* from seafood in Chengdu

YOU Zhendan<sup>1,2</sup>, JIANG Yuhan<sup>1,2</sup>, CHEN Chuanjun<sup>1,2</sup>, PU Chunru<sup>1,2</sup>, JIANG Yan<sup>1,2</sup>, DU Juanlan<sup>1,2</sup>, DENG Ying<sup>3</sup>, ZHANG Baiyu<sup>3</sup>, YAN Liheng<sup>3</sup>, HAN Guoquan<sup>1,2</sup>, YAN Qigui<sup>3</sup>  
(1. Sichuan Agricultural University Food College, Sichuan Ya'an 625014, China; 2. Institute of Food Processing and Safety of Sichuan Agricultural University, Sichuan Ya'an 625014, China; 3. Sichuan Agricultural University College of Veterinary Medicine, Sichuan Chengdu 611130, China)

**Abstract: Objective** To find out the contamination, antimicrobial resistance, virulence gene distribution and genotyping of *Vibrio parahaemolyticus* in different kinds of marine products in Chengdu. Increase the basic data on the prevalence and risk assessment of foodborne *Vibrio parahaemolyticus* in Chengdu. **Methods** According to GB 4789.7-

收稿日期: 2019-12-26

作者简介: 尤祯丹 女 硕士生 研究方向为水产品质量安全控制 E-mail: 9634246434@qq.com

通信作者: 韩国全 男 副教授 研究方向为微生物与食品安全及农产品加工与品质控制 E-mail: hans\_980306@sicau.edu.cn

2013, suspected strains of *Vibrio parahaemolyticus* were isolated from different marine products and accurately identified by biochemical tests and 16S rDNA sequencing. The antimicrobial resistance test of the isolated strains was carried out by Kirby-Bauer disk diffusion method. Two virulence genes related to its pathogenicity were detected by polymerase chain reaction (PCR), and then the isolated strains were typed by multilocus sequence typing. **Results** A total of 104 strains of *Vibrio parahaemolyticus* were isolated from 380 seafood samples collected, with an overall detection rate of 27.4%. Antimicrobial resistance test showed that 97.1% (101/104) of the isolates had resistance, of which the drug resistance rate to ampicillin was the highest (95.2%, 99/104). The harboring rate of *trh* gene among the isolated strains was 12.5% (13/104), and was 0.1% (1/104) for *tdh* gene. 104 isolates were divided into 38 ST types, of which ST1801, ST392 and ST413 were at high level. No epidemic clone group was found in the isolates. **Conclusion** There were differences in the contamination rate, antimicrobial resistance, and virulence genes distribution of *Vibrio parahaemolyticus* in different kinds of marine products, which might be related to the breeding environment and transportation conditions.

**Key words:** *Vibrio parahaemolyticus*; antimicrobial resistance; virulence gene; multilocus sequence typing

副溶血性弧菌 (*Vibrio parahaemolyticus*, VP) 属于弧菌属弧菌科,革兰阴性菌,是引起我国食源性腹泻的主要原因之一,也是全球水产品相关感染性腹泻的主要原因之一<sup>[1-3]</sup>。

随着人们对日常膳食中营养要求的改变,海产品成为消费者补充优质蛋白的主要选择之一。在海产品中由副溶血性弧菌引起的食物中毒事件占据多数,在我国沿海地区消费者因摄入海产品后被副溶血性弧菌感染的风险逐年增加<sup>[4-7]</sup>。随着我国物流行业迅速发展,内陆地区的海产品种类及数量不断增多,感染副溶血性弧菌的风险提升,对公共健康产生一定影响,但是非沿海城市的检测及研究相对较少<sup>[8]</sup>。近些年由于抗生素在水产养殖以及医疗行业的广泛运用,使得副溶血性弧菌的耐药性增加,对食品安全的把控无疑是较大的挑战。

本研究旨在调查成都市海产品中副溶血性弧菌的污染及耐药情况,并对其毒力基因的携带情况进行检测,采用多位点序列分型 (MLST) 分析其遗传多样性,从遗传进化的角度分析不同 ST 型菌株之间的差异,为研究副溶血性弧菌的传播及该类食品安全风险评估提供基础数据,并对海产品加工、销售等提出有利建议。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 样品和菌株来源

2018年9月—2019年6月在成都市水产市场、超市水产区随机采集不同种类海产品380份,每份大于100g,采集的海产品中包括文蛤、花蛤、蛏子、对虾、青蟹。采集的样品装入样品袋后放入冰盒,并在当天运回实验室进行处理。从样品采集至分离株鉴定共需5d,后续试验则分批次陆续进行。

质控菌株为大肠埃希菌 (*Escherichia coli*, ATCC 25922),由四川农业大学动物医学院提供。

#### 1.1.2 主要仪器与试剂

T100 Thermal Cycler 聚合酶链式反应 (PCR) 扩增仪、Gel Doc XR+凝胶成像系统、SUB-CELL GT 水平电泳槽、Powerpac Universal 164-5070 电泳仪均购自美国 Bio-Rad, SW-CJ-2FD 洁净工作台,电热恒温培养箱,LEGEND MICRO21R 离心机。

硫代硫酸盐柠檬酸盐胆盐蔗糖琼脂培养基 (TCBS)、Mueller-Hinton (M-H) 肉汤、胰蛋白胨、琼脂均购自北京索莱宝生物科技有限公司,胰蛋白胨大豆肉汤培养基 (TSB)、副溶血性弧菌生化鉴定管均购自青岛海博生物技术有限公司,DL-2000 DNA Marker、Goldview 核酸染料均购自宝生物工程 (大连) 有限公司,1.1×T3 Super PCR Mix、2×T5 Super PCR Mix (Colony)、琼脂糖均购自成都擎科梓熙生物技术有限公司,细菌 DNA 提取试剂盒 (美国 OMEGA)、氯化钠、氨苄西林 (AMP, 10 μg/片)、头孢唑啉 (KZ, 30 μg/片)、头孢噻吩 (KF, 30 μg/片)、庆大霉素 (GEN, 10 μg/片)、阿米卡星 (AK, 30 μg/片)、阿莫西林 (AML, 20 μg/片)、头孢呋辛 (CFM, 30 μg/片)、头孢吡肟 (FEP, 30 μg/片)、环丙沙星 (CIP, 5 μg/片)、氧氟沙星 (OFLX, 5 μg/片)、复方新诺明 (SXT, 1.25 μg/片)、四环素 (TET, 30 μg/片)、氯霉素 (C, 30 μg/片) 均购自杭州微生物试剂有限公司。本试验所用引物合成及测序均由成都擎科梓熙生物技术有限公司完成。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 菌株分离纯化

参照 GB 4789.7—2013《食品安全国家标准 食品微生物学检验 副溶血性弧菌检验》<sup>[9]</sup>的方法对样品进行处理、增菌、分离纯化。用无菌接种环蘸取增菌液划线接种于 TCBS 平板,在培养箱中 (36±1) °C 培养 18~24 h,挑取圆形绿色可疑单菌落接种于 3% 氯化钠胰蛋白胨大豆琼脂平板进行纯化,在培养箱中 (36±1) °C 培养 18~24 h。

### 1.2.2 分子生物学及生化反应鉴定

分子生物学鉴定:DNA 提取采用细菌 DNA 提取试剂盒,按照说明书对分离株进行 DNA 提取,提取的 DNA 模板于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。对分离株进行 16S rDNA 扩增,使用常用的 27F、1492R 引物对,最后对扩增产物进行测序。PCR 反应体系( $25\text{ }\mu\text{l}$ ): $2\times\text{T5 Super PCR Mix (Colony)}$   $12.5\text{ }\mu\text{l}$ ,上下游引物( $10\text{ }\mu\text{mol/L}$ )各  $1\text{ }\mu\text{l}$ ,DNA 模板  $2\text{ }\mu\text{l}$ ,灭菌超纯水补齐体系。扩增程序: $98\text{ }^{\circ}\text{C}$  预变性  $3\text{ min}$ ;  $98\text{ }^{\circ}\text{C}$  变性  $30\text{ s}$ ,  $55\text{ }^{\circ}\text{C}$  退火  $30\text{ s}$ ,  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$  延伸  $30\text{ s}$ , 35 个循环;  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$  延伸  $5\text{ min}$ ,  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存。

生化反应鉴定:参照 GB 4789.7—2013<sup>[9]</sup>的方法,对分离株进行革兰镜检及生化鉴定,并按标准判定。

### 1.2.3 药敏试验

根据美国临床和实验室标准协会(CLSI)中纸片扩散法(K-B法)<sup>[10]</sup>对分离株进行 13 种常用抗生素敏感性测试,用大肠埃希菌(ATCC 25922)作为质控菌株。在培养箱中( $36\pm 1$ ) $^{\circ}\text{C}$ 培养  $16\sim 18\text{ h}$ 内记录不同抗生素产生的抑菌圈直径,并使用 CLSI 相关标准<sup>[10]</sup>对测量结果进行判定,判定为耐药(R)、中介(I)、敏感(S)。

### 1.2.4 毒力基因检测

参考文献[11-12]中对 *tdh*、*trh* 基因的扩增序列,见表 1。对阳性扩增的分离株进行 3 次重复扩增,过程中随机抽取扩增产物进行测序、比对,扩增过程设置阴性对照。PCR 反应体系( $20\text{ }\mu\text{l}$ ): $1\times\text{T3 Super PCR Mix}$   $17\text{ }\mu\text{l}$ ,上下游引物各  $1\text{ }\mu\text{l}$ ,DNA 模板  $1\text{ }\mu\text{l}$ 。扩增程序: $98\text{ }^{\circ}\text{C}$  预变性  $3\text{ min}$ ;  $98\text{ }^{\circ}\text{C}$  变性  $15\text{ s}$ ,  $62\text{ }^{\circ}\text{C}$  退火  $15\text{ s}$ ,  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$  延伸  $15\text{ s}$ , 35 个循环;  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$  延伸  $5\text{ min}$ ,  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存。PCR 产物于 1% 琼脂糖凝胶电泳  $20\text{ min}$  后,凝胶成像系统分析。

表 1 *tdh*、*trh* 引物序列及长度

目的基因	引物序列(5'-3')	目标长度/bp	参考来源
<i>tdh</i>	F: TCCCTTTTCCTGCCCC	269	[11-12]
	R: CCACTACCACTCTCATATGC		
<i>trh</i>	F: TTGGCTTCGATATTTTCAGTATCT	500	[11-12]
	R: CATAACAAACATATGCCATTTC		

### 1.2.5 MLST

本研究参考 PubMLST 数据库(<https://pubmlst.org/>)中提供的副溶血性弧菌七对管家基因(*recA*、*gyrB*、*dnaE*、*dtidS*、*pntA*、*pyrC*、*tnaA*)的扩增引物序列。PCR 反应体系( $20\text{ }\mu\text{l}$ ): $1\times\text{T3 Super PCR Mix}$   $17\text{ }\mu\text{l}$ ,上下游引物各  $1\text{ }\mu\text{l}$ ,DNA 模板  $1\text{ }\mu\text{l}$ 。PCR 产物于 1% 琼脂糖凝胶电泳  $20\text{ min}$  后,凝胶成像系统分析,

最后将 PCR 产物纯化后进行测序。

## 2 结果

### 2.1 副溶血性弧菌分离情况

结合 16S rDNA 测序、镜检及生化结果,380 份海产品中 104 份样品检出副溶血性弧菌,总检出率为 27.4%,每份样品分离纯化 1 株分离株,共 104 株,其中有 99 株测序结果和生化结果一致,其余 5 株重复试验后,根据 GB 4789.7—2013<sup>[9]</sup>结果判定为副溶血性弧菌。青蟹样品检出率最高(50.0%),花蛤样品检出率最低(11.8%),见表 2。

表 2 不同种类海产品副溶血性弧菌的污染情况

海产品	检测样品份数	检出样品份数(检出率/%)
对虾	120	56(46.7)
蛏子	51	15(29.4)
文蛤	87	11(12.6)
花蛤	102	12(11.8)
青蟹	20	10(50.0)
合计	380	104(27.4)

### 2.2 副溶血性弧菌分离株药敏试验

104 株副溶血性弧菌分离株对 13 种常见抗生素的耐药情况见图 1,97.1%(101/104)的菌株具有耐药性。分离株对 AMP 的耐药率最高(95.2%, 99/104),其次为 AML(76.9%, 80/104)和 KF(35.6%, 37/104)。耐药表型中 AML-AMP、KF-AMP、AML-AMP-KF 占比较高,分别为 76.0%(79/104)、35.6%(37/104)、34.6%(36/104)。多重耐药菌株占 7.7%(8/104),其中耐 3 类抗生素的占 5.8%(6/104),耐 4 类抗生素的占 1.9%(2/104)。104 株分离株中耐第一代头孢(KF、KZ)占 35.6%(37/104),耐第二代头孢(CXM)占 21.2%(22/104),耐第四代头孢(FEP)占 13.5%(14/104)。

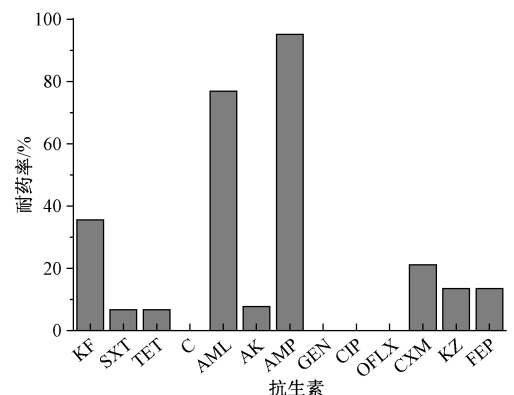


图 1 海产品中副溶血性弧菌的耐药情况  
Figure 1 Antimicrobial resistance of *Vibrio parahaemolyticus* in seafood

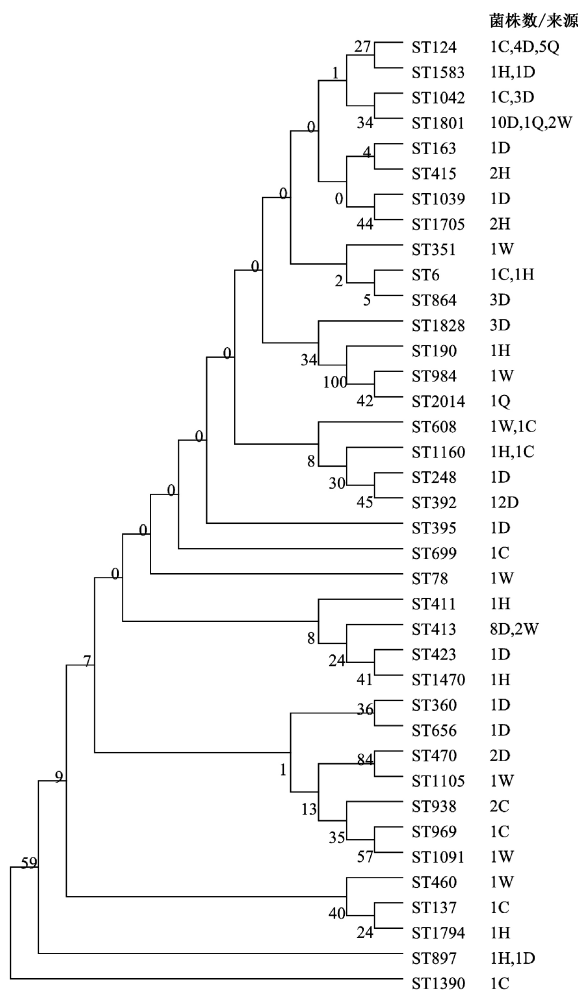
### 2.3 副溶血性弧菌分离株毒力基因检测

104株副溶血性弧菌分离株中毒力基因 *tdh*、*trh* 的检出率分别为 1.0% (1/104)、12.5% (13/104)，*trh* 基因检出率相对较高。*tdh+trh*-的菌株分离自对虾，*tdh-trh*+的菌株分离自对虾 (53.8%, 7/13)、花蛤 (38.5%, 5/13) 和蛭子 (7.7%, 1/13)，其中对虾中毒力基因检出率最高 (7.7%, 8/104)，蛭子检出率最低 (1.0%, 1/104)。

### 2.4 副溶血性弧菌分离株 MLST

本研究以 PubMLST 数据库 (<https://pubmlst.org/>) 中提供的副溶血性弧菌七对管家基因 (*recA*、

*gyrB*、*dnaE*、*dtdS*、*pntA*、*pyrC*、*tnaA*) 为靶基因，通过 PCR 扩增、产物测序以及数据库比对后获得相对应的等位基因谱和 ST 型。104株副溶血性弧菌有 9株未完全匹配，已提交数据库，其余菌株共分为 38个ST型，包括了38个单体，无流行克隆群出现，显示出一定的遗传多样性。其中 ST1801 (12.5%, 13/104)、ST392 (11.5%, 12/104)、ST413 (9.6%, 10/104) 型分离率较高。相同 ST 型可在不同批次、不同种类的样品中分离，不同 ST 型之间的遗传亲缘关系见图 2。



注：“菌株数/来源”中数字表示菌株数，字母 C、D、Q、W、H 分别表示蛭子、对虾、青蟹、文蛤、花蛤

图 2 38 个 ST 型中 7 个管家基因序列连接构建的进化树

Figure 2 Evolutionary tree constructed by linkage of 7 allele sequences in 38 ST types

### 3 讨论

本研究结果中出现 16S rDNA 测序结果与生化结果不一致，可能是弧菌属部分菌株的种间差异较小所致。本研究分析了成都市不同种类海产品中副溶血性弧菌的总体污染情况，总检出率为 27.4%，与 ROBERT-PILLOT 等<sup>[13]</sup> (31.1%) 和 COLY 等<sup>[14]</sup> (30.1%) 的结果较为一致，高于 KRIEM 等<sup>[15]</sup>

(8.4%) 的报道，低于 PARTHASARATHY 等<sup>[16]</sup> (65.87%) 的报道。检出率的差异可能与生长环境、体内富集情况、捕捞后处理方式、运输方式、样品新鲜度等有关，一般情况下近海地区副溶血性弧菌检出率比内陆地区高。由于冷链运输的快速发展，货物运送时间大幅缩短，非沿海地区海产品的种类、数量和新鲜度均有所提升，导致内陆地区副溶血性弧菌的流行变得较为广泛。

药敏试验结果表明,分离菌株对 AMP、AML 以及第一代头孢(KF 和 KZ)耐药性较严重,与 TRA 等<sup>[17]</sup>的报道较为一致。目前国内外研究中副溶血性弧菌对青霉素类、第一代头孢类抗生素耐药性较高。海产品中耐药情况不同可能与养殖用药、养殖水域、运输过程中的交叉污染等有关。多重耐药率不同地区会存在一定差异,相关部门应加强监测各地耐药情况。

毒力基因检测结果表明,*trh* 基因检出率相对较高,*tdh* 基因检出率较低,所采集的对虾比其他种类海产品的毒力基因检出率高。对虾中两种毒力基因检测率较高可能与其采样量相对较多有关。一般情况下 *tdh* 基因在食用海产品后腹泻患者的临床标本中检出率较高<sup>[18-19]</sup>。目前副溶血性弧菌的致病机制在不断探索中,切不可忽视其致病作用<sup>[20]</sup>。

MLST 是一种从分子生物学角度对致病菌分型的方法,具有较高的分辨能力,可作为国际间菌株比较的工具<sup>[21]</sup>。本研究中分离株分为 38 个 ST 型,无大克隆群出现,显示出一定的遗传多样性。相同 ST 型分离株耐药情况存在不同程度的差异,可能与细菌在不同环境中基因交换等有关<sup>[19]</sup>。由于致病性较强的副溶血性弧菌对公共健康及食品安全存在一定威胁,因此,海产品加工企业及销售加工地点改善处理环境、确认食品成熟度等至关重要,同时消费者应尽量避免生食,相关部门应加强监督,确保食品安全。

## 参考文献

[ 1 ] LIU J, BAI L, LI W, et al. Trends of foodborne diseases in China: lessons from laboratory-based surveillance since 2011 [ J ]. *Frontiers of Medicine*, 2018, 12(1):48-57.

[ 2 ] BAKER AUSTIN C, OLIVER J D, ALAM M, et al. *Vibrio* spp. infections [ J ]. *Nature Reviews Disease Primers*, 2018, 4(1):8.

[ 3 ] 宫霄欢, 陈洪友, 肖文佳, 等. 上海市 2014—2017 年成年人感染性腹泻门诊病例的季节分布及病原学特征分析 [ J ]. *中华流行病学杂志*, 2019, 40(8):889-894.

[ 4 ] LUO L F, GU Y Q, WANG X G, et al. Epidemiological and clinical differences between sexes and pathogens in a three-year surveillance of acute infectious gastroenteritis in Shanghai [ J ]. *Scientific Reports*, 2019(9):2913-2916.

[ 5 ] 李艳, 张晓蕾, 李金平, 等. 2013—2017 年感染性腹泻的病原体特点和流行特征 [ J ]. *中华医院感染学杂志*, 2019, 29(11):1732-1736.

[ 6 ] GUO S, LIN D, WANG L L, et al. Monitoring the results of foodborne diseases in sentinel hospitals in Wenzhou City, China from 2014 to 2015 [ J ]. *Iranian Journal of Public Health*, 2018, 47(5):674-681.

[ 7 ] PAUDYAL N, PAN H, LIAO X, et al. A meta-analysis of major foodborne pathogens in Chinese food commodities between 2006 and 2016 [ J ]. *Foodborne Pathogens and Disease*, 2018, 15(4):

187-197.

[ 8 ] 郝瑞娥, 姚素霞, 张秋香, 等. 山西省 2015—2016 年食源性疾病主动监测的病原学特征分析 [ J ]. *中国人兽共患病学报*, 2019, 35(9):852-856.

[ 9 ] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 副溶血性弧菌检验: GB 4789.7—2013 [ S ]. 北京: 中国标准出版社, 2013.

[ 10 ] Clinical and Laboratory Standards Institute. M45-A methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria; approved guideline [ S ]. Wayne: CLSI, 2006.

[ 11 ] LI N, ZHOU X J, SONG Q F, et al. Antimicrobial resistance, virulence, and molecular characterization of aquatic, clinical, and environmental *Vibrio parahaemolyticus* isolated from Ningbo, China [ J ]. *Journal of Food Safety*, 2019, 39(4):2650.

[ 12 ] WEST C K G, KLEIN S L, LOVELL C R. High frequency of virulence factor genes *tdh*, *trh*, and *tlh* in *Vibrio parahaemolyticus* strains isolated from a pristine estuary [ J ]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2013, 79(7):2247-2252.

[ 13 ] ROBERT-PILLOT A, COPIN S, HIMBER C, et al. Occurrence of the three major *Vibrio* species pathogenic for human in seafood products consumed in France using real-time PCR [ J ]. *International Journal of Food Microbiology*, 2014, 189(7):75-81.

[ 14 ] COLY I, SOW A G, SEYDI M, et al. *Vibrio cholerae* and *Vibrio parahaemolyticus* detected in seafood products from Senegal [ J ]. *Foodborne Pathogens and Disease*, 2013, 10(12):1050-1058.

[ 15 ] KRIEM M R, BANNI B, EL BOUCHTAOUI H, et al. Prevalence of *Vibrio* spp. in raw shrimps (*Parapenaeus longirostris*) and performance of a chromogenic medium for the isolation of *Vibrio* strains [ J ]. *Letters in Applied Microbiology*, 2015, 61(3):224-230.

[ 16 ] PARTHASARATHY S, DAS S C, KUMAR A. Occurrence of pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in crustacean shellfishes in coastal parts of Eastern India [ J ]. *Veterinary World*, 2016, 9(3):330-336.

[ 17 ] TRA V T, MENG L, PICHPOL D, et al. Prevalence and antimicrobial resistance of *Vibrio* spp. in retail shrimps in Vietnam [ J ]. *Berliner Und Munchener Tierarztliche Wochenschrift*, 2016, 129(1/2):48-51.

[ 18 ] 胡利春, 俞刚, 冯维, 等. 腹泻标本分离的副溶血性弧菌的 PFGE 分型与 *tdh* 毒力基因的检测 [ J ]. *中华医院感染学杂志*, 2019, 29(11):1619-1623.

[ 19 ] HUAN L, RONG T, YANG L, et al. A comprehensive epidemiological research for clinical *Vibrio parahaemolyticus* in Shanghai [ J ]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8:1043.

[ 20 ] LI L Z, MENG H M, GU D, et al. Molecular mechanisms of *Vibrio parahaemolyticus* pathogenesis [ J ]. *Microbiological Research*, 2019, 222:43-51.

[ 21 ] PASSALACQUA P L, ZAVATTA E, BIGNAMI G, et al. Occurrence of *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae* and *Vibrio vulnificus* in the Clam *Ruditapes Philippinarum* (Adams & Reeve, 1850) from Emilia Romagna and Sardinia, Italy [ J ]. *Italian Journal of Food Safety*, 2016, 5(1):5709.