

## 论著

## 食源性气单胞菌属种水平监测和表型特征研究

王闻卿<sup>1,2</sup>, 苏靖华<sup>1</sup>, 傅慧琴<sup>1</sup>, 郑英杰<sup>2</sup>, 朱林英<sup>1</sup>, 傅益飞<sup>1</sup>, 孙乔<sup>1</sup>

(1. 上海市浦东新区疾病预防控制中心, 上海 200136; 2. 复旦大学公共卫生学院, 上海 200032)

**摘要:**目的 调查上海市浦东新区食源性气单胞菌的属种分布和表型特征。方法 2011年5~11月,对采集自上海市浦东新区2个农贸市场的3种生鲜食品(共291份)进行气单胞菌属的选择性分离和属种水平鉴定;分析菌株表型特征的差异性。结果 291份生鲜食品样品中,74份阳性,总检出率25.4%。其中肉制品阳性检出率最高,为34.1%(43/126);水产品 and 蔬菜阳性检出率分别为18.9%(17/90)和18.7%(14/75)。经系统生化鉴定的74株气单胞菌属菌株包括:嗜水气单胞菌23株,维隆气单胞菌温和生物变种35株,豚鼠气单胞菌16株。溶血试验和蛋白酶表达测试显示分别有51株菌 $\beta$ 溶血素阳性,59株菌蛋白酶试验阳性,两者皆阳性的菌株有48株。抗生素敏感性试验表明,多数菌株对头孢噻肟、头孢他啶、头孢吡肟、庆大霉素、环丙沙星、左氧氟沙星呈现高度敏感,但对氨苄西林呈现高度耐药;对含青霉素酶药物(奥格门丁)的耐药能力存在种水平的差异;3种气单胞菌均存在低水平的多重耐药(MDR)。结论 上海市浦东新区农贸市场流行季节供应的主要生鲜食品气单胞菌属污染程度较高,除嗜水气单胞菌外的其他气单胞菌株也具有毒力因子,虽然目前耐药水平较低,但仍需加强基于食物链的食源性疾病的综合监测。

**关键词:**气单胞菌属;监测;表型特征;毒力因子;食源性致病菌

中图分类号:R155;R378.3 文献标志码:A 文章编号:1004-8456(2014)01-0001-05

**Monitoring and phenotype characteristics study on food-borne *Aeromonas* species**WANG Wen-qing, SU Jing-hua, FU Hui-qin, ZHENG Ying-jie, ZHU Lin-ying, FU Yi-fei, SUN Qiao  
(Shanghai Pudong New Area Center for Disease Control and Prevention, Shanghai 200136, China)

**Abstract: Objective** To investigate the distribution and phenotype characteristics of food borne *Aeromonas* spp. in Pudong New Area. **Methods** *Aeromonas* strains were isolated and identified to species level in 3 types of fresh food samples collected from 2 markets during May to November in 2011, and the difference of phenotype characteristics among isolates were analyzed. **Results** 74 strains of *Aeromonas*, including 23 strains of *A. hydrophila*, 35 strains (12.0%) of *A. veronii* biovar sobia and 16 strains of *A. caviae*, were isolated from 291 samples. The highest isolation rate was 34.1% in meat product, followed by 18.9% in aquatic product and 18.7% in vegetable. Of all the 74 isolated strains, 51 strains produced  $\beta$ -hemolysin, 59 strains produced protease, and 48 strains produced both  $\beta$ -hemolysin and protease. Antimicrobial susceptibility tests to 12 antibiotics showed most strains were highly susceptible to Cefotaxime, Cefazidime, Cefepime, Gentamicin, Ciprofloxacin and levofloxacin, while highly resistant to Ampicillin and the antibiotic resistance rate to Amoxicillin-Clavulanic acid had statistical difference among species. Low level of multi-drug resistance (MDR) existed in *Aeromonas* spp. **Conclusion** Fresh foods in markets were highly contaminated by *Aeromonas* spp. during prevalent seasons. *Aeromonas* strains other than *A. hydrophila* also carried virulence factors. Though resistance to antibiotics was not serious, integrated monitoring of food borne disease based on food chain was necessary.

**Key words:** *Aeromonas* spp.; monitoring; phenotype characteristic; virulence factor; food-borne pathogens

气单胞菌是一种水生微生物,属于弧菌科气单

胞属。以往认为只有嗜水气单胞菌具有致病力,其他气单胞菌均为非致病菌或条件致病菌,然而目前研究发现气单胞菌的其他生物种也具有致病力,世界各地报道的腹泻散发、暴发及食物中毒事件证明,气单胞菌是引起人类腹泻的常见食源性病原菌之一<sup>[1-3]</sup>。现阶段,食物原料在家庭厨房的交叉污染是食源性疾病粪-口传播的有效途径,为了解上海市浦东地区食品中气单胞菌的污染情况及表型特征,对辖区内3类生鲜食品进行月度采样和监测,为

收稿日期:2013-09-23

基金项目:国家科技重大专项(2012ZX10004201);卫生行业科研专项(201202006);上海市浦东新区卫生系统重点学科建设(PWZxk2010-09)

作者简介:王闻卿 男 本科 研究方向为微生物检验

E-mail:wwq95@163.com

通讯作者:孙乔 女 主任医师 研究方向为流行病学

E-mail:qsun@pdcdc.sh.cn

开展食品危险性评估及食源性疾病综合监测提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 样品来源

2011年5~11月,每月定点从上海市浦东新区2家农贸市场随机采集生鲜食品共计291份,其中肉制品126份、鱼介类水产品90份、蔬菜75份,每份样品采样量>250g,当天送达实验室检测。

#### 1.1.2 试剂

碱性蛋白胨水(AP)、营养琼脂平板、哥伦比亚血平板、克氏双糖琼脂斜面(KIA)、葡萄糖氧化-发酵培养基(O-F试验)、0%、6% NaCl肉汤(上海市疾病预防控制中心腹泻病试剂供应中心)、气单胞菌属选择性分离培养基、水解酪蛋白琼脂平板(MH)、抗生素药敏纸片:氨苄西林(AMP)、奥格门丁(AMC)、头孢噻肟(CTX)、头孢他啶(CAZ)、头孢吡肟(FEP)、丁胺卡那(AK)、庆大霉素(GN)、四环素(TE)、环丙沙星(CIP)、左氧氟沙星(LEV)、氯霉素(C)、复方新诺明(SXT)(OXOID公司,英国)、氧化酶试剂、生化鉴定条API 20NE(生物梅里埃公司,法国)、1%脱脂蔗糖胰蛋白胨琼脂平板(海博生物有限公司,青岛)、药敏试验对照菌株大肠埃希菌ATCC 25922和毒力表型对照菌株嗜水气单胞菌ATCC 7966由本实验室保存。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 样品处理和分离程序及属种的生化鉴定

按照参考文献[4]的方法,取25g食品样品剪碎,加入225ml AP混匀震荡,置28℃培养18h后,接种气单胞菌选择性琼脂平板,置28℃培养24h,挑取绿色、中等大小、湿润的疑似典型菌落进行氧化酶试验,氧化酶试验阳性者接种KIA,同时进行O-F试验及盐耐量试验。初筛生化结果为O-F试验阳性、硫化氢阴性、0%和6% NaCl肉汤不生长者,纯化于营养琼脂平板,36℃培养18h,重新验证氧化酶试验后使用API 20NE鉴定到种水平。

#### 1.2.2 表型特征分析

溶血试验:按照参考文献[5]的方法,将阳性菌株接种于哥伦比亚血平板,28℃培养24h,如菌落周围出现β溶血圈,则判为阳性。

蛋白酶试验:按照GB/T 18652—2002<sup>[6]</sup>的方法,将阳性菌株接种于1%脱脂奶蔗糖胰蛋白胨平板,28℃培养24h,如菌落周围出现清晰、透明的溶蛋白圈,则判为阳性。

抗生素敏感性试验<sup>[7]</sup>:使用改良K-B法,结果

判断按照2012年版美国临床实验室标准化委员会(CLSI)颁布的敏感(S)、中度敏感(I)、耐药(R)值。

## 2 结果

### 2.1 气单胞菌属种检出率及种的分布

291份样品气单胞菌检出率为25.4%(74/291),其中嗜水气单胞菌检出率为7.9%(23/291),维隆气单胞菌温和生物变种检出率为12.0%(35/291),豚鼠气单胞菌检出率为5.5%(16/291)。3类样品中,肉制品检出率最高,肉制品与水产品中气单胞菌检出率比较差异有统计学意义( $\chi^2=6.076, P=0.014$ ),肉制品与蔬菜中气单胞菌检出率比较差异有统计学意义( $\chi^2=5.531, P=0.019$ ),水产品与蔬菜中气单胞菌检出率比较差异无统计学意义( $\chi^2=0.001, P=0.971$ )。肉制品及水产品以检出维隆气单胞菌温和生物变种为主,蔬菜以检出嗜水气单胞菌为主,3类生鲜食品中气单胞菌属种的分布构成见表1。

表1 3类生鲜食品中气单胞菌属种的分布构成

Table 1 Distribution of *Aeromonas* spp. in fresh food

样品	种的鉴定结果	检出率/%	构成比/%
肉制品 <sup>a</sup>		34.1(43/126)	
	维隆气单胞菌温和生物变种	19.1(24/126)	55.8(24/43)
	嗜水气单胞菌	8.7(11/126)	25.6(11/43)
	豚鼠气单胞菌	6.3(8/126)	18.6(8/43)
水产品 <sup>b</sup>		18.9(17/90)	
	维隆气单胞菌温和生物变种	8.9(8/90)	47.1(8/17)
	嗜水气单胞菌	6.7(6/90)	35.3(6/17)
	豚鼠气单胞菌	3.3(3/90)	17.6(3/17)
蔬菜 <sup>c</sup>		18.7(14/75)	
	维隆气单胞菌温和生物变种	4.0(3/75)	21.4(3/14)
	嗜水气单胞菌	8.0(6/75)	42.9(6/14)
	豚鼠气单胞菌	6.7(5/75)	35.7(5/14)
合计		25.4(74/291)	

注:3类生鲜食品检出率比较, $P_{a-b} < 0.05, P_{a-c} < 0.05, P_{b-c} > 0.05$

### 2.2 气单胞菌属种的毒力表型特征

74株气单胞菌进行溶血及蛋白酶活性检测,68.9%(51/74)菌株溶血试验阳性,79.7%(59/74)菌株蛋白酶试验阳性,64.9%(48/74)菌株溶血试验及蛋白酶试验同时阳性,83.8%(62/74)菌株至少有1种毒力因子阳性。不同种气单胞菌间,80%以上的维隆气单胞菌温和生物变种、嗜水气单胞菌产溶血素及蛋白酶,78.3%~80.0%的气单胞菌同时产溶血素及蛋白酶;豚鼠气单胞菌仅有12.5%菌株产溶血素,而蛋白酶试验阳性率为68.8%,2项检测试验均为阳性的菌株为12.5%。3种气单胞菌毒力表型特征见表2。

### 2.3 抗生素耐药表型特征

74株气单胞菌对第3代头孢菌素(头孢噻肟,

表2 3种气单胞菌的毒力表型特征

Table 2 Distribution of virulent factors in 3 kinds of

类别	阳性率/%		
	$\beta$ 溶血	蛋白酶	$\beta$ 溶血+蛋白酶
维隆气单胞菌温和生物变种	85.7(30/35)	82.9(29/35)	80.0(28/35)
嗜水气单胞菌	82.6(19/23)	82.6(19/23)	78.3(18/23)
豚鼠气单胞菌	12.5(2/16)	68.8(11/16)	12.5(2/16)
合计	68.9(51/74)	79.7(59/74)	64.9(48/74)

头孢他啶)和第4代头孢菌素(头孢吡肟)敏感性均超过90%;对青霉素酶抑制剂药物奥格门丁呈中度

耐药,耐药率为39.1%~62.5%,对丁胺卡那中度耐药率为6.3%~34.3%;对氨苄西林呈高度耐药,耐药率为85.7%~100%,嗜水气单胞菌及豚鼠气单胞菌对氨苄西林耐药率达100%;对复方新诺明、四环素有不同程度耐药,耐药率分别为20%~34.8%、43.5%~62.5%。嗜水气单胞菌对奥格门丁的耐药率高于维隆气单胞菌温和生物变种( $\chi^2 = 3.928, P = 0.047$ )及豚鼠气单胞菌( $\chi^2 = 5.299, P = 0.021$ ),对其他种类抗生素耐药性比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。气单胞菌耐药表型结果见表3。

表3 74株气单胞菌属种对12种抗生素的耐药表型特征(%)

Table 3 Antimicrobial susceptibilities of 74 *Aeromonas* strains to 12 antimicrobial agents

抗生素	维隆气单胞菌温和生物变种 <sup>a</sup> (n=35)			嗜水气单胞菌 <sup>b</sup> (n=23)			豚鼠气单胞菌 <sup>c</sup> (n=16)		
	R	I	S	R	I	S	R	I	S
氨苄西林	85.7	2.9	11.4	100.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0
奥格门丁*	22.9	60.0	17.1	47.8	39.1	13.0	12.5	62.5	25.0
头孢噻肟	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0	0.0	6.3	93.8
头孢他啶	0.0	2.9	97.1	0.0	0.0	100.0	6.3	0.0	93.8
头孢吡肟	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0
丁胺卡那	0.0	34.3	65.7	0.0	17.4	82.6	0.0	6.3	93.8
庆大霉素	0.0	14.3	85.7	0.0	4.3	95.7	0.0	0.0	100.0
四环素	57.1	2.9	40.0	43.5	21.7	34.8	62.5	0.0	37.5
环丙沙星	0.0	5.7	94.3	8.7	4.3	87.0	0.0	12.5	87.5
左氧氟沙星	0.0	0.0	100.0	8.7	0.0	91.3	0.0	0.0	100.0
氯霉素	2.9	8.6	88.6	13.0	8.7	78.3	18.8	12.5	68.8
复方新诺明	20.0	0.0	80.0	34.8	0.0	65.2	31.3	0.0	68.8

注: \*表示3种气单胞菌对奥格门丁耐药率比较: $P_{a-b} < 0.05, P_{a-c} > 0.05, P_{b-c} < 0.05$ 。

## 2.4 气单胞菌的多重耐药谱 MDR

在测试的74株气单胞菌中,有27株为耐3种以上抗生素的多重耐药菌,构成比达36.5%。维隆气单胞菌温和生物变种、嗜水气单胞菌、豚鼠气单胞菌多重耐药率依次为31.4%、39.1%、43.8%。按照耐药模式可分为10类,以耐3种抗生素为主,占59.3%,除R1型(耐氨苄西林-奥格门丁-四环素,12.2%)、R3型(耐氨苄西林-四环素-复方新诺明,8.1%)模式耐药率较高外,其他MDR耐药型的频率在1.4%~5.4%。分别有2株和1株气单胞菌的MDR达到5种和6种抗生素;2株嗜水气单胞菌(分别分离自鸡肉、蛤蜊)的MDR对氟喹诺酮类抗生素(环丙沙星、左氧氟沙星)产生耐药。多重耐药菌中四环素敏感的仅有2株,对氨苄西林完全耐药。气单胞菌多重耐药MDR型谱见表4。

## 3 讨论

近年来,国内外对弧菌科中由某些弧菌属的种(诸如O139群霍乱弧菌、副溶血性弧菌和创伤弧菌等)所引发的食源性暴发案例的追溯提示,不能忽略同为弧菌属的气单胞菌属某些种导致的食源性

表4 74株气单胞菌多重耐药MDR型谱

Table 4 Distribution of MDR patterns in 74 *Aeromonas* strains

MDR 耐药型谱		维隆气单胞菌温和生物变种 (n=35)	嗜水气单胞菌 (n=23)	豚鼠气单胞菌 (n=16)	合计 (n=74)
R1	AMP-AMC-TE	6	2	1	9
R2	AMP-TE-C	0	0	1	1
R3	AMP-TE-SXT	3	1	2	6
R4	AMP-AMC-C-SXT	0	1	0	1
R5	AMP-AMC-TE-SXT	1	3	0	4
R6	AMP-CAZ-TE-SXT	0	0	1	1
R7	AMP-TE-C-SXT	0	0	2	2
R8	AMP-AMC-TE-C-SXT	1	0	0	1
R9	AMP-CIP-LEV-C-STX	0	1	0	1
R10	AMP-TE-CIP-LEV-C-SXT	0	1	0	1
合计		11	9	7	27

感染<sup>[8]</sup>。本次获得的生物监测基线数据表明,上海市浦东新区农贸市场在肠道病原的流行季节,气单胞菌属存在较高的污染水平,维隆气单胞菌温和生物变种检出率最高,其次为嗜水气单胞菌。食品中,以肉类污染程度最严重的,其次为水产类,本次监测数据与温州地区的报道接近<sup>[5]</sup>,表明气单胞菌的食源性污染在沿海地区广泛存在。肉类食品与

水产类食品中气单胞菌的检出率差异有统计学意义,改变了我们通常认为的弧菌类细菌在水产品中污染更加严重的经验认知,肉制品中气单胞菌属检出率较高可能与屠宰过程中微生物控制措施不严格、肉制品在运输、储存、销售过程中容易受到其他不洁食品污染有关。因此,肉制品作为一种易污染的食品原料,生产和销售单位应重视肉制品加工和运输链中微生物指标的控制,努力消除交叉污染的风险,以保证食品原料的安全性。蔬菜类和水产品中气单胞菌的污染结果表明,无独立包装的食品原料在肠道疾病流行季节,极易受到对温度有较高依存度的气单胞菌的污染,这些易污染食品的气单胞菌存在提示,需加强食品原料在销售过程中的微生物风险控制管理和产品的防污染包装,避免发生家庭厨房生熟食品的交叉污染现象,控制食源性暴露因子。

已知致病性的气单胞菌产生的溶血素与人体肠黏膜损伤有一定关系<sup>[9]</sup>,蛋白酶试验阳性的菌株通常认为具有致病性<sup>[6,10]</sup>,这是因为一些胞外蛋白酶虽不能直接致病,但可以活化其他致病因子,气单胞菌分泌的外毒素以无活性的前体形式存在的,必须经过蛋白酶将其前体 C 末端的蛋白降解后才具有生物学活性<sup>[11]</sup>。对 74 株分离株进行溶血素及蛋白酶试验结果显示,83.8% 气单胞菌至少产 1 种致病因子,64.9% 菌株同时产 2 种致病因子。维隆气单胞菌温和生物变种、嗜水气单胞菌中致病因子的高携带率说明,此 2 类菌致病性强,豚鼠气单胞菌尽管产溶血素率较低,但有 68.8% 菌株产蛋白酶,也具有一定程度的致病性。溶血试验及蛋白酶试验作为一种简便、可行、经济的方法,适合于基层实验室用于气单胞菌分离株毒力表型的鉴定<sup>[12]</sup>。

74 株气单胞菌对第 3 和 4 代头孢菌素呈现高度敏感性,对氨苄西林呈现高度耐药性,这是由于大部分气单胞菌自身可以持续产生  $\beta$ -内酰胺酶,使得青霉素类抗生素无效。本研究同时发现,尽管气单胞菌总体上对奥格门丁耐药程度不高,却有较高中介性的中介性,对该抗生素不敏感性(耐药性 + 中介性) > 75%,类似的情况也在丁胺卡那中同样存在。对复方新诺明,四环素有不同程度耐药。多重耐药方面,36.5% 菌株为多重耐药菌,以耐 3 种抗生素为主,占 59.3%,耐药情况呈现多样性。2 株气单胞菌耐 5 种抗生素,1 株耐 6 种抗生素,值得引起注意的是,其中 2 株嗜水气单胞菌同时对 2 种氟喹诺酮类抗生素产生耐药性。有研究表明,氟喹诺酮类抗生素对嗜水气单胞菌具有良好的抑菌效果,但是经过多次抑菌浓度诱导后,气单胞菌对氟喹诺酮类

抗生素耐药性迅速提高,抗生素若达不到杀菌效果浓度,将更加容易诱导细菌产生耐药性,并且种内传播频率高于属内传播<sup>[13]</sup>,导致嗜水气单胞菌较之气单胞属内其他种更加容易引起机会性感染,此外,也有报道弧菌耐药 R 质粒的传递具有不稳定性<sup>[14]</sup>,因此,需要通过持续监测,结合临床病例,了解气单胞菌耐药趋势的变化。

本次研究存在的局限性:由于气单胞菌尚未列入食品常规监测项目范围,相关的检测方法也仅限于嗜水气单胞菌,缺乏细化的菌种分类标准。本研究中采用系统生化板条来进行气单胞菌种内的鉴定,故只能鉴定到最常见的 3 种气单胞菌,不能再进行深入的种内区分。随着气单胞种别鉴定方法快速发展,如基于 *gyrB*、*rpoD* 基因的分子生物学方法<sup>[15-16]</sup>,或者基于质谱技术的细菌鉴定方法<sup>[17-18]</sup>,将成为解决这个问题的新思路。

本次监测结果表明,上海市浦东新区生鲜食品中气单胞菌污染程度较高,除嗜水气单胞菌外的其他气单胞菌株也具有毒力因子,对人体健康是一种潜在危害。为减少气单胞菌引起的感染,有必要对辖区内销售的食品开展长期的气单胞菌监测,实时分析其耐药性及毒力表型变化,逐步建立基于食物链的食源性疾病综合监测,切实保障人民群众食品安全。

(志谢:感谢上海市疾病预防控制中心微生物检验科许学斌副主任技师在论文撰写中给予的指导。)

## 参考文献

- [1] Parker J L, Shaw J G. *Aeromonas* spp. clinical microbiology and disease[J]. J Infect, 2011, 62(2): 109-118.
- [2] Janda J M, Abbott S L. The genus *Aeromonas*: taxonomy, pathogenicity, and infection[J]. Clin Microbiol Rev, 2010, 23(1): 35-73.
- [3] 黄艳, 韦小瑜, 吴成梅, 等. 一起嗜水气单胞菌引起的食物中毒调查[J]. 中国食品卫生杂志, 2012, 24(4): 391-393.
- [4] 谭海芳. 分步筛选试验在检测致病性气单胞菌中的应用研究[J]. 现代医院, 2006(2): 12-14.
- [5] 章乐怡, 李毅, 马雪莲, 等. 食品中气单胞菌的检测及其毒力与耐药性分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2010(12): 3470-3472.
- [6] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB/T 18652—2002 致病性嗜水气单胞菌检验方法[S]. 北京, 中国标准出版社, 2002.
- [7] Clinical and laboratory standards institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-second informational supplement M100-S22[S]. 2012.
- [8] von Graevenitz A. The role of *Aeromonas* in diarrhea: a review. Infection[J]. 2007, 35(2): 59-64.
- [9] 王闻卿, 赵冰, 詹铭. 浦东新区腹泻样本中气单胞菌的分离鉴定及耐药性分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2011(6): 1434-1435.
- [10] 廖远泉, 钟政荣, 沈继龙. 气单胞菌感染研究进展[J]. 热带医学杂志, 2009(3): 343-346.

- [11] 吴倩, 闫芳, 刘风波. 嗜水气单胞菌的研究进展[J]. 畜禽业, 2010(2):28-31.
- [12] 徐景野, 许国章, 金春光, 等. 致病性气单胞菌毒力检测与分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2008(5):936-937.
- [13] 王美珍, 陈昌福, 刘振兴, 等. 嗜水气单胞菌对四环素类和氟喹诺酮类药物的耐药性研究[J]. 华中农业大学学报, 2011(1):89-93.
- [14] Kuwahara S. Antibiotic resistance of vibrio cholerae: special considerations of R-plasmids[J]. Chinese Journal of Microbiology, 1978,11(3):99-103.
- [15] Pablos M, Huys G, Cnockaert M, et al. Identification and epidemiological relationships of *Aeromonas* isolates from patients with diarrhea, drinking water and foods [J]. Int J Food Microbiol, 2011, 147(3):203-210.
- [16] Soler L, Yanez M A, Chacon M R, et al. Phylogenetic analysis of the genus *Aeromonas* based on two housekeeping genes[J]. Int J Syst Evol Microbiol, 2004, 54(5):1511-1519.
- [17] 陈信忠, 龚艳清, 郭书林. MALDI-TOF-MS 在病原微生物鉴定中的研究进展[J]. 生物技术通报, 2012(6):43-48.
- [18] Lartigue M F. Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry for bacterial strain characterization[J]. Infect Genet Evol, 2013(13):230-235.

## 论著

# 上海地区副溶血性弧菌大流行菌株血清型及分子特征研究

陈洪友<sup>1</sup>, 盛跃颖<sup>2</sup>, 宋元君<sup>1</sup>, 屠丽红<sup>1</sup>, 张曦<sup>1</sup>, 陈敏<sup>1</sup>

(1. 上海市疾病预防控制中心, 上海 200336; 2. 上海医药高等专科学校, 上海 201318)

**摘要:**目的 了解上海地区大流行副溶血性弧菌(VP)大流行菌株血清型分布及分子特征。方法 对2010—2012年分离自腹泻患者和食品中的VP菌株进行血清分型,以GS-PCR辨别大流行株,以PCR检测菌株的毒力基因 $tdh$ 、 $trh$ 和大流行株分子标识f237噬菌体 $orf8$ 基因,以PFGE分型来分析菌株间的遗传关系。结果 136株VP可分为52个血清型(群),其中64.5%的菌株GS-PCR阳性,判定为大流行菌株,其血清型有11种,主要集中于O3:K6(76.8%)、O4:K68(9.4%)、O1:K25(6.8%)、O1:K36(4.5%)4种血清型。相对于非流行菌株,O10:K60、O3:K3、O1:K33三种血清型的菌株其PFGE图谱与已报道的大流行株更为接近,为新检测到的大流行血清型变种。大流行产毒株中仅能检测到 $tdh$ 基因,未检测到 $trh$ 基因,94.3%的大流行菌株携带噬菌体f237的 $orf8$ 基因,但有5.7%的大流行株 $orf8$ 基因缺失。相同血清型的大流行菌株其PFGE图谱存在差异,且 $orf8$ 基因的携带与否不能以PFGE进行区分。结论 上海地区VP大流行菌株血清型相对集中,且不断有新的血清型变种出现。从PFGE图谱的差异和 $orf8$ 基因的携带与否上来看,大流行菌株仍在演变。

**关键词:**副溶血性弧菌; 流行株; 血清型;  $tdh$ ;  $trh$ ; GS-PCR;  $orf8$ ; 食源性致病菌

中图分类号:R155.3 文献标志码:A 文章编号:1004-8456(2014)01-0005-05

## Serotypes and molecular characteristics of *Vibrio parahaemolyticus* pandemic strains in Shanghai

CHEN Hong-you, SHENG Yue-ying, SONG Yuan-jun, TU Li-hong, ZHANG Xi, CHEN Min  
(Shanghai Center for Disease Control and Prevention, Shanghai 200336, China)

**Abstract: Objective** The main purpose of this research was to describe the distribution of *V. parahaemolyticus* serotypes isolated from diarrhea cases and food in Shanghai and the molecular characteristics of pandemic strains. **Methods** GS-PCR was used to recognize pandemic strains.  $tdh$  gene,  $trh$  gene and  $orf8$  gene of phage f237 were detected by PCR after serotyping. PFGE was used to analyze the genetic relationship among isolates. **Results** 136 isolates were divided into 52 serotypes (groups). 64.5% of all isolates were GS-PCR positive which was the pandemic strains. 11 serotypes were found in pandemic strains in Shanghai, among which O3:K6 (76.8%), O4:K68 (9.4%), O1:K25 (6.8%), and O1:K36 (4.5%) were the main serotypes. Pandemic strains with serotypes of O10:K60, O3:K3 and O1:K33 were first reported, and their PFGE patterns were closer to the reported pandemic strains. Most pandemic strains only had  $tdh$  gene, and no  $trh$  gene positive. Except 5.7% strains, most pandemic strains were positive for  $orf8$  gene. PFGE patterns were

收稿日期:2013-09-25

基金项目:副溶血性弧菌流行菌型演变趋势及毒力因子进化研究(2010Y105);上海市公共卫生重点学科一卫生微生物学(12GWZX0801)

作者简介:陈洪友 男 主管医师 研究方向为致病性弧菌检测检验 E-mail:hychen@scdc.sh.cn

通讯作者:陈敏 男 主任技师 研究方向为病原微生物的实验室检测 E-mail:mchen@scdc.sh.cn