

- [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¹,盛跃颖²,宋元君¹,屠丽红¹,张曦¹,陈敏¹

(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 1136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** 1136 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—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

different among pandemic strains with same serotypes, and isolates with or without *orf8* gene could not be distinguished by PFGE. **Conclusion** New serovariants of pandemic were emerging, and the results of PFGE and *orf8* gene detection suggested there was gene mutation among pandemic strains.

Key words: *Vibrio parahaemolyticus*; pandemic strains; serotype; *tdh*; *trh*; GS-PCR; *orf8*; food-borne pathogens

副溶血性弧菌(VP)最初发现于1950年的一起食物中毒事件,此后陆续有关于该菌引起的腹泻报道^[1]。1996年出现O3:K6血清型流行株^[2],该流行菌型在环太平洋地区多地流行,欧洲相关国家也有所报道。2000年Matsumoto等^[3]通过对大流行菌株与非流行菌株*toxR_S*基因序列的分析建立了GS-PCR的方法,用于区分大流行株与非流行株,此后GS-PCR被广泛应用于大流行株的判断。再后研究人员陆续发现了与O3:K6大流行株相似的其他血清型变种^[4-5]。2003年有学者在GS-PCR基础上考虑*tdh*基因建立了一套双重PCR体系,用于识别流行株^[6]。随着f237噬菌体在流行菌株中的发现,提示f237可能与O3:K6及其血清型变种的大流行有关^[7],经检测超过96%的大流行株具有该噬菌体的*orf8*片段。

VP是引起上海地区夏秋腹泻的主要病原之一,发病率为76.47人次/10万^[8]。本研究以GS-PCR作为筛选方法,从血清型、毒力基因和大流行株分子标识方面对2010—2012年上海市相关菌株进行分析。

1 材料与方法

1.1 菌株来源

1136株VP来自2010—2012年上海市腹泻病监测点医院的肠道门诊患者(947株)、食源性疾病食品监测样品(80株)和食物中毒事件(包括来自患者104株和可疑食品株5株)。对照菌株副溶血性弧菌WP-1(O4:K12,*tdh*+,*trh*-、GS-PCR-、*orf8*-)、副溶血性弧菌AQ4037(O3:K6,*tdh*-、*trh*+,GS-PCR-、*orf8*-)、副溶血性弧菌总10-96(O3:K6,*tdh*+,*trh*-、GS-PCR+、*orf8*+)为

上海市疾病预防控制中心保存。菌株接种3%NaCl营养琼脂,37℃培养18 h,培养物用于血清分型,DNA提取,脉冲场凝胶电泳(PFGE)分型。

1.2 方法

1.2.1 菌株血清分型

血清分型使用VP11种O分型血清(O1-O11)及65种K分型血清(K1-K71),均购自日本Denka-Seiken。K抗原分型直接取新鲜3%NaCl营养琼脂培养物进行玻片凝集。O抗原分型以0.85%生理盐水悬浮培养物制成约7个麦氏单位的均匀悬液,121℃高压1 h后取裂解液进行玻片凝集。血清型以O抗原型与K抗原型(O:K)组合表示,O抗原不可分群和K抗原不可分型分别以OUT和KUT(untypeable, UT)表示。

1.2.2 菌株DNA提取

取新鲜3%NaCl的营养琼脂培养物以500 μl TE缓冲液(10 mmol/L Tris·1 mmol/L EDTA,pH=8.0)制成约1个麦氏单位的均匀菌悬液,100℃加热10 min,12 000×g离心15 min,取上清以TE做10倍稀释作为DNA模板。

1.2.3 *tdh*、*trh*、*toxR_S*、*orf8*基因的PCR检测

PCR引物由上海生工合成,引物序列见表1。4对引物分别进行PCR反应,反应体系为:Premix Taq™(TaKaRa Code:RR901A)12.5 μl,按终浓度加入相应体积各引物,DNA模版1.5 μl,以蒸馏水补足至25 μl。PCR循环25次;产物5 ml加载于1%琼脂糖凝胶中250 V电压下电泳30 min。

表1 PCR反应的引物及反应条件

Table 1 Primer pairs and reaction conditions used in PCR

引物	序列(5'-3')	预期产物/bp	终浓度/(nmol/L)	退火温度/℃	参考文献
<i>tdh</i>	F: GTAAAGGTCTCTGACTTTGGAC R: TGGAATAGAACCTTCATCTTCACC	270	200 200	52	[9]
<i>trh</i>	F: TTGGCTTCGATATTTCACTATCT R: CATAACAAACATATGCCATTCC	486	400 400	52	[9]
<i>toxR_S</i> new (GS-PCR)	F: TAATGAGGTAGAACAA R: ACGTAACGGGCCTACA	651	300 300	45	[3]
<i>orf8</i>	F: GTTCGGCATACAGTTGAGG R: AACTACAGCAGGAGTGAG	746	200 200	52	[7]

1.2.4 PFGE分子分型

PFGE试验操作参照Parsons等^[10]的方法稍作修改。菌悬液浓度调整至2.5~3.0麦氏单位,限制

性内切酶选用Not I(TaKaRa Code:1166A),菌株染色体DNA于37℃下酶切4 h,电泳条件设置为初始脉冲10 s,终末脉冲35 s,脉冲夹角120°,电泳时间

为 19 h。电泳结束后,凝胶以 EB (1 μg/ml) 染色 30 min 后,紫外下成像、拍照。

1.3 结果分析与判断

GS-PCR 阳性菌株判为大流行株。携带 *tdh* 基因和/或 *trh* 基因的菌株判为产毒株。PFGE 图谱使用 Bionumerics v6.0 软件进行分析。PFGE 图谱聚类以 DICE 法计算相似度,以 UPGMA 法建树。将条带数据按照条带的位置转化为二分类数据,并以此构建最小生成树。构建最小生成树,差异 < 4 的菌株归为同一聚类。

2 结果

2.1 VP 总体情况

1 136 株 VP,可分为 52 个血清型(群)。其中 GS-PCR 阳性菌株 64.5% (733/1 136),产毒株 88.6% (1 007/1 136)。除 3 株外,GS-PCR 阳性菌株 *tdh* 均阳性,未见 GS-PCR 阳性菌株携带 *trh*。携带 *orf8* 的菌株占 60.8% (691/1 136),其中 94.3% 的 GS-PCR 阳性菌株 *orf8* 阳性,GS-PCR 阴性菌株未见携带 *orf8* 片段,见表 2。

2.2 GS-PCR 阳性菌株的血清分型、PFGE 分子分型结果

733 株 GS-PCR 阳性菌株包含 11 种血清型,以 O3: K6 血清型最常见(76.8%),其次为 O4: K68 (9.4%)、O1: K25 (6.8%)、O1: K36 (4.5%) 等。除 2 株 O3: K6 和 1 株 O1: K33 菌株外,其他大流行株均为产毒株,且产毒株均只携带 *tdh* 基因,未见 *trh* 基因。O4: K8、O4: K9、O3: K29 等其他血清型 GS-PCR 未见阳性,见表 2。

从 PFGE 分型结果来看,大流行菌株之间遗传距离更为接近,大部分基本处于同一聚类,且特定血清型(如 O1: K36 和 O4: K68)PFGE 分型常常不能区分。非流行菌株(如 O3: K29 和 O4: K8 等)血清型彼此之间距离较远,且非流行株不同血清型的菌株之间可用 PFGE 进行很好的区分,且与大流行菌株遗传关系也相对较远,见图 1。

O1: K33、O3: K3、O10: K60 是此前未见报道的大流行血清型变种,这 3 种血清型的菌株相对于非大流行菌株,其与大流行血清型其他变种(如: O3: K6、O1: K25、O4: K68、O1: K36)的遗传关系更为密切,见图 1。部分血清型存在 GS-PCR 阳性与阴性菌株同时存在的现象,如 O1: K25。同一血清型中,尽管 GS-PCR 阳性的菌株之间 PFGE 分型上仍存在差异,但其遗传距离相对更为接近,而 GS-PCR 阴性菌株与阳性菌株之间遗传距离相对 GS-PCR 阳性菌株之间更远(见图 2)。这些与流行株具有相同血清

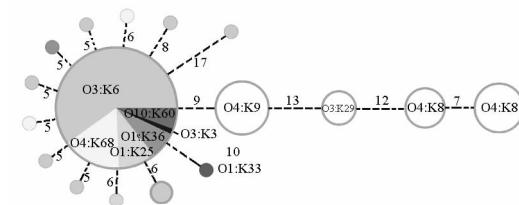
表 2 各血清型、毒力基因型、GS-PCR、*orf8* 菌株数量分布

Table 2 Isolates number distribution in serotype, virulence

factor, GS-PCR and *orf8* gene

血清型	GS-PCR +	<i>orf8</i> +	<i>tdh, trh</i>			菌株总数
			<i>tdh</i> +	<i>trh</i> -	<i>tdh-trh</i> +	
O3: K6	563	539	561			563
O4: K68	69	61	69			69
O1: K25	50	50	50			54
O1: K36	33	25	33			33
O1: KUT	6	5	8		19	45
O3: KUT	4	4	5	1	1	23
O5: KUT	1	1	1		4	18
O2: K3	1	1	7			9
O10: K60	4	4	4			4
O3: K3	1	1	1			1
O1: K33	1					1
O4: K8			125			125
O4: K9			48			48
O3: K29			21			22
O10: KUT			1	1	5	15
O1: K56			8	1		10
O2: KUT					2	10
O4: KUT			2			9
O8: K41			7			7
O3: K7			3			6
O4: K13			2			6
O8: K22			2			2
O8: KUT			3			5
O2: K28			1			5
O1: K1				1		4
O4: K63			3			3
O3: K59			1	1		2
O6: K18					2	2
O8: K21			1			1
OUT: K19			1			1
O3: K65				1		1
其他						32
合计	733	691	968	6	33	1 136

注:其他血清型包括 O1: K20、O10: K46、O11: K19、O11: K40、O2: K20、O3: K1、O3: K33、O3: K48、O3: K5、O3: K56、O4: K10、O4: K4、O4: K42、O4: K55、O5: K3 各 1 株,O3: K31、O3: K60、O4: K12、O5: K17 各 2 株,O11: KUT 4 株,O4: K34 5 株



注:图中颜色只用于区分不同的血清型,其面积并不代表构成比

图 1 O1: K33、O3: K3、O10: K60 等大流行菌株与其他流行株与非流行的关系

Figure 1 Relationship between isolates with GS-PCR positive and negative, serotype of O1: K33, O3: K3, O10: K60 and others

型的非流行株,其毒力基因的携带,尤其是 *tdh*,也常显示为阴性。

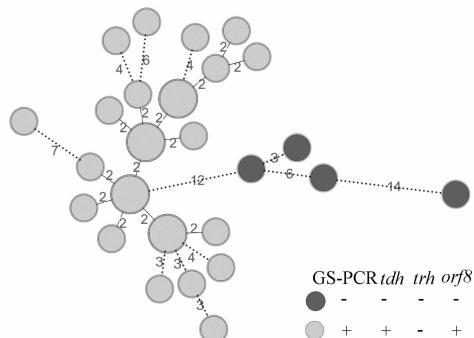


图2 O1: K25 血清型菌株流行株与非流行株 PFGE 差异

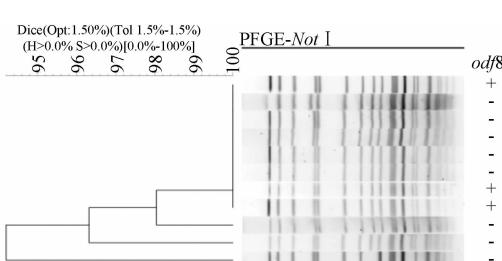
Figure 2 The difference of PFGE between pandemic and non-pandemic strains with O1: K25 serotype

2.3 f237 噬菌体 *orf* 8 片段在大流行菌株中的分布

大部分流行株携带噬菌体 f237 的 *orf* 8 片段,但仍有 5.7% (42/733) 的流行株 *orf* 8 片段缺失,主要集中在 5 个血清型中,O1: K36 (24.2%)、O1: KUT (16.7%)、O4: K68 (11.6%)、O3: K6 (4.3%)、O1: K33。除个别菌株外,这些 *orf*/8 缺失的大流行菌株基本都携带 *tdh*,见表 3。这些 *orf*/8 片段缺失的菌株在 PFGE 分型上常常与非缺失菌株不能区分或仅存在少数条带的差异,见图 3。

表3 GS-PCR 阳性各血清型菌株 *orf*8 和 *tdh* 基因的分布Table 3 Distribution of *orf*8 and *tdh* gene among serotypes with GS-PCR positive

血清型	<i>orf</i> 8 +		<i>orf</i> 8 -	
	<i>tdh</i> +	<i>tdh</i> -	<i>tdh</i> +	<i>tdh</i> -
O3: K6	539		22	2
O4: K68	61		8	
O1: K25	50			
O1: K36	25		8	
O1: KUT	5		1	
O10: K60	4			
O3: KUT	4			
O2: K3	1			
O3: K3	1			
O5: KUT	1			
O1: K33			1	
合计	691		39	3

图3 O1: K36 血清型 *orf*8 + 与 *orf*8- 菌株 PFGE 图谱聚类Figure 3 Dendrogram of PFGE of *orf*8 + and *orf*8- isolates with O1: K36 serotype

3 讨论

3.1 上海地区大流行菌型血清型相对集中,但不断有新的血清型变种出现

综合文献报道,自 1996 年 O3: K6 大流行以来,不同国家和地区相继有多种与 O3: K6 关系相近的血清型变种被报导^[4-5],主要包括 O1: K25、O1: K33、O1: K41、O1: K56、O1: KUT、O2: K3、O3: K5、O3: K46、O3: K75、O3: KUT、O4: K4、O4: K10、O4: K12、O4: K68、O4: K8、O4: KUT、O5: K17、O5: K25、O5: KUT、O6: K18、O7: KUT 等。

此次研究提示上海地区大流行株中 97.5% 集中于 4 种血清型,即 O3: K6、O4: K68、O1: K25、O1: K36,以 O3: K6 最为常见。其他大流行株在构成上相对较少,但其中 3 种血清型,O10: K60、O3: K3、O1: K33,此前未见报道。从 PFGE 分型结果来看,此 3 种血清型变种与其他大流行血清型变种遗传关系密切。新的血清型变种的出现将使腹泻疾病的控制面临挑战,尽管目前这些新的血清型变种相对于 O3: K6 在总的流行菌株中构成相对较低,但参考 O3: K6 及其血清型变种的出现和流行,其流行趋势值得关注。

3.2 大流行菌株遗传上仍在继续演变

PFGE 可反应菌株之间短期的遗传关系,从 O1: K25 血清型的 PFGE 结果来看,同为大流行菌株但 PFGE 图谱仍存在差异,在不考虑外源性遗传物质插入时,PFGE 型别的变化实际上反映的是菌株染色体上特定酶切位点的变异。从长远看 PFGE 各型别在构成上是不固定的,且不断有新的 PFGE 型别出现。*orf*8 基因是伴随 f237 噬菌体插入到 VP 染色体的外来遗传物质,该片段对于 VP 的环境适应能力和致病性的作用尚且未知,但并非全部 GS-PCR 阳性菌株都携带噬菌体 f237 的 *orf*8 基因,*orf*8 片段的缺失可能是由于在 VP 的进化过程中丢失了噬菌体 f237 的部分或全部片段^[6],也可能是这些菌株并未被 f237 噬菌体所感染。从 O1: K36 血清型菌株来看,这些 *orf*8 片段缺失的流行株与 *orf*8 未缺失菌株在 PFGE 上常常不可区分或仅存在细微的差别,说明这些 *orf*8 缺失菌株与未缺失菌株具有相同的祖先。无论是未被 f237 感染还是被 f237 感染后丢失部分或全部 f237 片段,*orf*8 片段的缺失与否都说明流行株依然在进行着一定程度的变迁。

Masatoshi^[6]认为 *tox R_S* 基因变异(GS-PCR 阳性)是大流行菌株的必要但不充分条件,而 *orf*8 是大流行株的充分但非必要条件。不可否认仅依靠一种或几种遗传标识物鉴别流行株,仍存在一定的争议^[11]。以 PCR 方法来区分大流行菌株与非流行菌株具有简便的特点,但不能全面展现大流行菌株

间的遗传关系,PFGE分型技术能展现菌株之间的遗传关系,但对于反映类似 $orf8$ 基因的插入或缺失时常常不够灵敏,因此以PCR和PFGE的结合来反映VP的流行状况不失为一种可行的手段。

参考文献

- [1] Shinoda S. Sixty years from the discovery of *Vibrio parahaemolyticus* and some recollections[J]. Biocontrol Sci, 2011, 16(4):129-137.
- [2] Okuda J, Ishibashi M, Hayakawa E, et al. Emergence of a unique O3: K6 clone of *Vibrio parahaemolyticus* in Calcutta, India, and isolation of strains from the same clonal group from Southeast Asian travelers arriving in Japan[J]. J Clin Microbiol, 1997, 35(12):3150-3155.
- [3] Matsumoto C, Okuda J, Ishibashi M, et al. Pandemic spread of an O3: K6 clone of *Vibrio parahaemolyticus* and emergence of related strains evidenced by arbitrarily primed PCR and *toxRS* sequence analyses[J]. J Clin Microbiol, 2000, 38(2):578-585.
- [4] Nair G B, Ramamurthy T, Bhattacharya S K, et al. Global dissemination of *Vibrio parahaemolyticus* serotype O3: K6 and its serovariants[J]. Clin Microbiol Rev, 2007, 20(1):39-48.
- [5] Serichantalegs O, Bhuiyan N A, Nair G B, et al. The dominance of pandemic serovars of *Vibrio parahaemolyticus* in expatriates and sporadic cases of diarrhoea in Thailand, and a new emergent serovar (O3: K46) with pandemic traits[J]. J Med Microbiol, 2007, 56(5):608-613.
- [6] Okura M, Osawa R, Iguchi A, et al. Genotypic analyses of *Vibrio parahaemolyticus* and development of a pandemic group-specific multiplex PCR assay[J]. J Clin Microbiol, 2003, 41(10):4676-4682.
- [7] Nasu H, Iida T, Sugahara T, et al. A filamentous phage associated with recent pandemic *Vibrio parahaemolyticus* O3: K6 strains[J]. J Clin Microbiol, 2000, 38(6):2156-2161.
- [8] 刘弘, 陆屹, 高围激, 等. 2008年上海市食源性疾病监测[J]. 中国食品卫生杂志, 2011, 32(2):126-131.
- [9] Bej A K, Patterson D P, Brasher C W, et al. Detection of total and hemolysin-producing *Vibrio parahaemolyticus* in shellfish using multiplex PCR amplification of *tl*, *tdh* and *trh*[J]. J Microbiol Methods, 1999, 36(3):215-225.
- [10] Parsons M B, Cooper K L, Kubota K A, et al. PulseNet USA standardized pulsed-field gel electrophoresis protocol for subtyping of *Vibrio parahaemolyticus*[J]. Foodborne Pathog Dis, 2007, 4(3):285-292.
- [11] Raghunath P. Genetic markers of pandemic *Vibrio parahaemolyticus*: are they truly unique? [J]. Foodborne Pathog Dis, 2011, 8(5):653-654.

论著

8起副溶血性弧菌食物中毒分子流行病学特征分析

刘丽萍¹,徐岚¹,李薇薇²,裴晓燕²,郭云昌²

(1. 镇江市疾病预防控制中心,江苏 镇江 212000; 2. 国家食品安全风险评估中心,北京 100021)

摘要:目的 调查并分析镇江及周边部分地区8起副溶血性弧菌食物中毒的分子流行病学特征。方法 对经API生化鉴定的40株副溶血性弧菌进行毒力基因(*tdh*和*trh*)及功能基因(*toxRS/new*和*orf8*)测定、血清学分型和脉冲场凝胶电泳(PFGE)分型。结果 *tdh*阳性率为85.0% (34/40),*trh*阳性率为5.0% (2/40),*toxRS/new*阳性率为50.0% (20/40),*orf8*阳性率为42.5% (17/40);血清型以O3: K6为主;PFGE分型显示A~B群间相似度>80%。**结论** 镇江及周边部分地区8起食物中毒事件中的副溶血性弧菌主要为O3: K6大流行克隆,且具有高度同源性。

关键词:副溶血性弧菌; 血清型; O3: K6大流行克隆; 脉冲场凝胶电泳; 食源性致病菌; 食物中毒

中图分类号:R155.3;R181.2;R183.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1004-8456(2014)01-0009-05

Molecular epidemiology traits of 8 *Vibrio parahaemolyticus* food poisoning incidents

LIU Li-ping, XU Lan, LI Wei-wei, PEI Xiao-yan, GUO Yun-chang

(Zhenjiang Center for Disease Control and Prevention, Jiangsu Zhenjiang 212000, China)

Abstract: Objective To analyze the molecular epidemiology traits of *Vibrio parahaemolyticus* in Zhenjiang and surrounding areas. **Methods** 40 *Vibrio parahaemolyticus* strains were collected from the samples of food poison incidents occurred in Zhenjiang and surrounding areas in 2011. Biochemical identification, *tdh*, *trh* and *toxRS/new* gene detection, serotyping and pulse-field gel electrophoresis (PFGE) were applied to these strains. **Results** The positive rate of *tdh*, *trh*, *toxRS/new* and *orf8* were 85.0%, 5.0%, 50.0% and 42.5%, respectively. The prevalent serotype was O3: K6 (32/40).

收稿日期:2013-09-23

基金项目:江苏省自然科学基金项目(BK2010350),镇江市卫生科技重点专项项目(SH2011068)

作者简介:刘丽萍 女 主管技师 研究方向为病原生物学 E-mail:631651115@qq.com