

调查研究

三文鱼来源副溶血性弧菌的血清分型、毒力基因及耐药性研究

古小莉,李惠青,徐瑞文,柯常亮,陈洁文,黄珂

(中国水产科学研究院南海水产研究所,农业农村部水产品加工重点实验室,农业农村部水产品贮藏保鲜质量安全风险评估实验室,广东广州 510300)

摘要:目的 对2019年广州市售三文鱼中副溶血性弧菌的血清型、毒力基因分布及耐药特征进行研究,为防控因食用三文鱼引起副溶血性弧菌食源性疾病提供数据支持。方法 根据GB 4789.7—2013方法对90份广州市售三文鱼样品进行副溶血性弧菌分离、定量及血清分型,分离株的鉴定及耐药性分析采用全自动微生物鉴定仪分析,通过PCR扩增对毒力基因进行检测。结果 90份三文鱼样品中,有16份检出副溶血性弧菌,总检出率为17.78%,阳性样品污染量范围为3.6~93 MPN/g,其中批发市场的检出率(27.50%)最高。MPN计数阳性管分离得到的72株副溶血性弧菌经血清凝集共分出11个O群血清型,分型率为80.56%,其中O11、O9和O6群为主要血清型,占51.39%,其他血清型分布较分散。72株副溶血性弧菌均含有*tlh*基因,且均未检测到*trh*和*tdh*基因。药敏分析发现,全部分离株对碳青霉烯类、单酰胺环类、氨基糖苷类、喹诺酮类和硝基呋喃类等5类18种抗生素敏感。分离株对氨苄西林高度耐药,耐药率达97.22%,少数分离株对哌拉西林(1.39%)和复方新诺明(5.56%)耐药。6.94%的分离株同时对2种抗生素耐药,未出现多重耐药。结论 广州市售三文鱼受到副溶血性弧菌污染程度较高,分离株的血清型呈多样化,主要为非致病株,但具有一定程度的耐药,存在危害健康的潜在风险。

关键词:三文鱼;副溶血性弧菌;血清型;毒力基因;耐药性

中图分类号:R155

文献标识码:A

文章编号:1004-8456(2022)06-1250-07

DOI:10.13590/j.cjfh.2022.06.019

Serotype, virulence and drug resistance of *Vibrio parahaemolyticus* from salmon

GU Xiaoli, LI Huiqing, XU Ruiwen, KE Changliang, CHEN Jiewen, HUANG Ke

(Key Laboratory of Aquatic Product Processing, Ministry of Agriculture, Laboratory of Quality and Safety Risk Assessment for Aquatic Product on Storage and Preservation Ministry of Agriculture, South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangdong Guangzhou 510300, China)

Abstract: Objective To provide data for prevention and control of foodborne diseases caused by *Vibrio parahaemolyticus* from salmon, the serotype, virulence gene and drug resistance of *Vibrio parahaemolyticus* from salmon in Guangzhou in 2019 were studied. **Methods** The isolation, quantification and serotype of *Vibrio parahaemolyticus* in 90 salmon samples were detected based on GB 4789.7—2013. Identification and drug resistance were carried out by automatic microbial identification system, and the virulence genes were detected by PCR amplification. **Results** *Vibrio parahaemolyticus* was detected in 16 samples of 90 salmons (17.78%). The contamination level of positive samples ranged from 3.6 to 93 MPN/g, of which the highest detection rate was found in wholesale market (27.50%). Seventy two strains which were isolated from positive MPN counting tubes were serotyped into 11 groups by serum agglutination test, the total typing-rate was 80.56%. The isolates were concentrated on serum group O11, O9 and O6 serotypes, accounting for 51.39%. Seventy two isolates carried *tlh* gene, while *tdh* and *trh* gene were not detected. The antibiotic sensitivity analysis revealed that all of the isolates were sensitive to 5 types and 18 kinds of antibiotics such as carbapenems, monobactams, aminoglycosides, quinolones and nitrofurans, 97.22% of the isolates were resistant to ampicillin. A few isolates were resistant to piperacillin (1.39%) and co-trimoxazole (5.56%), 6.94% of the isolates were resistant to 2 antibiotics, and none of the isolates showed multi-drug resistance. **Conclusion** The salmons from Guangzhou market

收稿日期:2021-12-24

基金项目:中国水产科学研究院南海水产研究所中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金资助(2019TS20);国家农产品质量安全风险评估重大专项(GJFP201800901)

作者简介:古小莉 女 副研究员 研究方向为水产品质量安全 E-mail:lilet_ku@163.com

通信作者:黄珂 女 副研究员 研究方向为水产品质量安全 E-mail:xiamike@163.com

were highly contaminated by *Vibrio parahaemolyticus*, and the serotypes of isolates were diverse. The isolates were nonpathogenic, and they were drug resistance to some extent, which indicated potential risks to human health.

Key words: Salmon; *Vibrio parahaemolyticus*; serotype; virulence gene; drug resistance

副溶血性弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*)是革兰氏阴性杆菌,广泛存在于近岸海域和海产品中。副溶血性弧菌是沿海国家及地区引起食源性疾病的主要病原菌之一,在我国沿海地区是引发细菌性食物中毒的首位病原菌^[1-3]。感染副溶血性弧菌能引起呕吐、腹泻等症状胃肠疾病,严重时可导致脱水、休克^[4]。美国疾病预防控制中心(Centers for Disease Control and Prevention, CDC)数据显示,美国每年约有45 000人因食用受副溶血性弧菌污染的食物导致疾病发生^[5]。日本厚生劳动省统计,2000—2010年日本平均每年约有1 800人次因副溶血性弧菌导致食物中毒^[6]。据估算,我国每年因副溶血性弧菌感染而导致食源性疾病发病约495.1万人次^[7]。生食或食用未煮熟的水产品是引起副溶血性弧菌食源性疾病发生的主要原因^[8]。

随着食品生产流通的全球化,食用三文鱼的人群和地域不断扩大,三文鱼已成为最受欢迎的生食水产品之一,三文鱼的食用安全也越来越受到消费者的关注。除寄生虫外,副溶血性弧菌是三文鱼食用安全的主要风险因子^[9]。1999—2016年广州地区三文鱼监测数据显示,三文鱼中副溶血性弧菌污染呈逐年上升的趋势^[9],为持续跟踪市售三文鱼中副溶血性弧菌的污染状况,掌握其致病性和耐药情况,降低消费者食用三文鱼引发副溶血性弧菌食物中毒风险,本研究对2019年广州市售的三文鱼中副溶血性弧菌进行血清分型、毒力基因及耐药性分析,以期对副溶血性弧菌引发的食源性疾病的控制提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株

副溶血性弧菌 ATCC17802、大肠埃希氏菌(*Escherichia coli*) ATCC 25922 均购自广东环凯微生物科技有限公司。副溶血性弧菌 ATCC33846 购自中国普通微生物菌种保藏管理中心。

1.1.2 主要仪器与试剂

KS18 生物安全柜(美国赛默飞公司); Vitek 2 Compact 全自动细菌鉴定及药敏分析仪(法国梅里埃公司); 5430R 型离心机(德国艾本德公司); T00 型 PCR 仪(美国伯乐公司); DYY-8C 型电泳仪(北京六一仪器公司); Tanon3500 凝胶成像仪(上海天

能科技有限公司)。

3%NaCl 碱性蛋白胨水、3%NaCl 胰蛋白胨大豆琼脂(广东环凯微生物科技有限公司); 弧菌显色培养基(法国科玛嘉公司); 无菌盐水(0.45%NaCl)、革兰氏阴性细菌 GN 鉴定卡、革兰氏阴性菌药敏试验卡 AST-GN14、AST-GN65(法国梅里埃公司); 副溶血性弧菌 O 群血清(宁波天润生物公司); 引物、细菌 DNA 提取试剂盒(广州艾基生物公司); 琼脂糖(美国西格玛公司); DL2000 DNA Marker(大连宝生物工程技术有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 样品采集及副溶血性弧菌的检验

2019年5—10月从广州市售卖三文鱼的各类销售场所(批发市场、农贸市场、超市、餐饮店)共采集三文鱼样品90份(批发市场40份、农贸市场25份、超市15份和餐饮店10份)。副溶血性弧菌的检验参照 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》^[10]方法,采用最大或然数(Most probable number, MPN)法进行定量检测。将样品用3%NaCl 碱性蛋白胨水按10倍梯度制备3个适宜连续稀释度的稀释液,每个稀释度接种3支3%NaCl 碱性蛋白胨水试管于36℃培养18~24 h。将所有显示生长的增菌液于弧菌显色培养基平板上划线分离,一支试管划线一块平板,36℃培养24 h。挑取弧菌显色平板上的可疑菌株,使用 Vitek 2 Compact 全自动细菌鉴定及药敏分析仪进行鉴定。

1.2.2 血清分型

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》玻片凝集法对副溶血性弧菌分离株 O 群血清进行鉴定分型。

1.2.3 毒力基因 *tlh*、*tdh* 和 *trh* 分析

挑取副溶血性弧菌于3%NaCl 胰蛋白胨水培养基36℃增菌18 h,将增菌液离心收集菌体,用细菌 DNA 提取试剂盒提取副溶血性弧菌 DNA。采用 PCR 法扩增 *tlh*、*tdh* 和 *trh* 基因。PCR 引物由广州艾基生物公司合成,引物序列见表 1^[11]。PCR 反应体系(20 μL):TaqMIX 10 μL,基因组 DNA 模板 1 μL,上下游引物各 1 μL,ddH₂O 7 μL。PCR 反应条件:94℃预变性 5 min;94℃变性 30 s,60℃退火 30 s,72℃延伸 30 s,27 循环;72℃延伸 5 min。将扩增产物进行琼脂糖凝胶电泳。以标准菌株 ATCC17802

表1 引物序列

Table 1 Sequences of primers

基因	引物	序列(5'-3')	扩增长度/bp
<i>tlh</i>	TLH-F	AAAGCGGATTATGCAGAAGCACTG	450
	TLH-R	GCTACTTCTAGCATTCTCTGTC	
<i>tdh</i>	TDH-F	GTAAAGGTCTCTGACTTTTGGAC	270
	TDH-R	TGGAATAGAACCCTCATCTTCACC	
<i>trh</i>	TRH-F	TTGGCTTCGATATTTTCAGTATCT	500
	TRH-R	CATAACAAACAATGCCCATTTCCG	

为 *tlh* 和 *trh* 阳性对照, ATCC33846 为 *tdh* 阳性对照, 无菌水为阴性对照。

1.2.4 药物敏感性实验

用无菌棉签取适量菌落于无菌盐水中制成麦氏浊度为 0.5~0.63 的菌悬液, 取 145 μ L 菌悬液加入 3 mL 无菌盐水中制成药敏用菌液。将药敏用菌液填充至革兰氏阴性药敏卡 AST-GN14 及 AST-GN65, 采用 Vitek 2 Compact 全自动细菌鉴定及药敏分析仪进行药敏试验。选择大肠埃希氏菌 ATCC 25922 为药敏质控菌株。AST-GN14 及 AST-GN65 药敏卡共有 8 大类 24 种抗生素, 包括 β -内酰胺类:

氨苄西林、阿莫西林、哌拉西林、头孢唑林、头孢氨苄、头孢泊肟、头孢维星、头孢噻唑、头孢他啶、头孢曲松、头孢吡肟; 碳青霉烯类: 美罗培南、亚胺培南; 单酰胺环类: 氨基糖苷类: 阿米卡星、庆大霉素、妥布霉素; 喹诺酮类: 环丙沙星、恩诺沙星、马波沙星、左氧氟沙星; 四环素类: 四环素; 硝基呋喃类: 呋喃妥因; 磺胺类: 复方新诺明。

2 结果

2.1 副溶血性弧菌检出情况

2019 年广州市售三文鱼中副溶血性弧菌检出总体情况见表 2。90 份三文鱼样品中共检出了 16 份副溶血性弧菌阳性样品, 总检出率为 17.78%, 阳性样品污染量范围是 3.6~93 MPN/g。其中, 来源于批发市场的三文鱼中副溶血性弧菌检出率最高, 为 27.50%, 农贸市场、超市和餐饮店的检出率分别是 12.00%、6.67% 和 10.00%。从 MPN 计数中副溶血性弧菌阳性管共分离出 72 株副溶血性弧菌, 其中批发市场的分离株数最多, 为 50 株。

表2 副溶血性弧菌检出情况

Table 2 Detection of *Vibrio parahaemolyticus* in salmon

采样点	样品数	阳性样品数	检出率/%	阳性样品编号[污染量/(MPN/g), 分离株数]	分离株数
批发市场	40	11	27.50	P2(16,4), P3(15,4), P6(21,4), P11(93,5)	50
				P12(28,5), P15(35,6), P19(29,5), P20(3,6,1)	
				P23(35,6), P37(29,5), P38(27,5)	
农贸市场	25	3	12.00	N5(93,5), N8(36,6), N13(11,3)	14
超市	15	1	6.67	S6(9,4,3)	3
餐饮店	10	1	10.00	R3(28,5)	5
合计	90	16	17.78	—	72

2.2 血清型分布

72 株副溶血性弧菌分离株经 O 群血清凝集实验, 共分出 11 种血清群。除 14 株未分型外, 其余 58 株分属于 11 个不同的 O 群, O 群血清分型率为 80.56%(58/72)(表 3)。O11、O9 和 O6 群为主要血清型, 这 3 种血清群占 51.39%(37/72), 其中 O11 群为最主要血清群, 占总数的 25.00%(18/72), 其他血清型分布相对分散。

2.3 毒力基因

采用 PCR 法检测 72 株副溶血性弧菌的 3 种毒力基因(*tlh*、*tdh* 和 *trh*), 结果显示分离株均检出 *tlh* 基因, *tlh* 基因携带率为 100%, *tdh* 和 *trh* 基因均未检出。部分分离株电泳结果如图 1 所示。

2.4 药物敏感性分析

72 株副溶血性弧菌对 24 种抗生素的整体耐药情况结果见表 4。全部菌株对阿莫西林、美洛培南、氨基糖苷类、亚胺培南、头孢氨苄、头孢泊肟、头孢噻唑、头孢他啶、头孢曲松、头孢吡肟、阿米卡星、庆大霉素、妥布霉素、环丙沙星、恩诺沙星、马波沙星、左氧

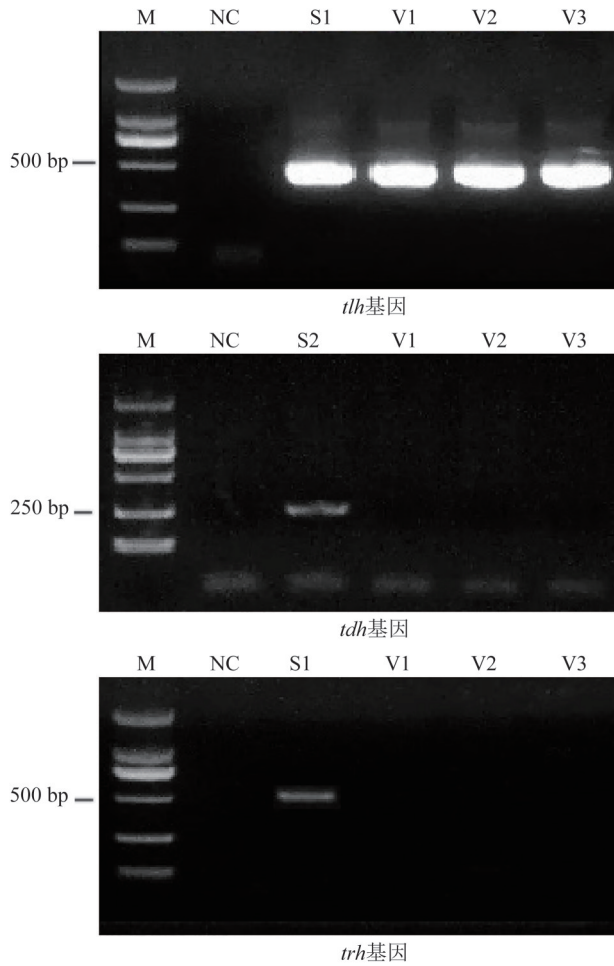
表3 副溶血性弧菌血清型分布

Table 3 Serotype distribution of *Vibrio parahaemolyticus* isolates

O 群	菌株数	占比/%
O1	5	6.94
O2	3	4.17
O3	2	2.78
O5	1	1.39
O6	9	12.50
O7	2	2.78
O8	2	2.78
O9	10	13.89
O10	3	4.17
O11	18	25.00
O12	3	4.17
未分型	14	19.44

氟沙星、呋喃妥因等 18 种抗生素敏感。分离株对氨苄西林、复方新诺明和哌拉西林 3 种抗生素产生耐药, 耐药率分别是 97.22%、5.56% 和 1.39%。分离株只产生中介敏感的抗生素有 3 种, 其中对头孢唑林中介敏感率最高, 达 62.50%, 只有少量菌株对头孢维星和四环素中介敏感。

72 株副溶血性弧菌的耐药谱和中介谱见表 5。



注:M:DL2000 Marker;NC:阴性对照;S1:ATCC 17802;S2:ATCC33846;V1-V3:部分副溶血性弧菌分离株

图1 部分副溶血性弧菌分离株的毒力基因检测结果

Figure 1 PCR amplification of virulent genes in *Vibrio parahaemolyticus* isolates

23.61%的菌株表现出单一耐药氨苄西林。同时耐受2种抗生素的菌株占6.94%,耐药谱分别为氨苄西林-复方新诺明和氨苄西林-哌拉西林。62.50%的菌株表现为单一中介敏感,同时对2种抗生素中介敏感的菌株占6.94%。

3 讨论

本研究结果表明,2019年广州市售三文鱼受到副溶血性弧菌污染的检出率为17.78%,低于2016年的检出率(35.38%)^[9],但明显高于国内不同地区三文鱼中副溶血性弧菌的检出率(4.7%~6.9%)^[12-14]。广州市售三文鱼中的副溶血性弧菌污染程度较高,可能在养殖、运输和销售过程中受到了较高等度的副溶血性弧菌污染。

本研究调查的三文鱼中副溶血性弧菌分离株的血清型分布呈多样化,O11为最主要血清群,与相关报道中不同地区水产品中以O1^[15-16]、O2^[17-18]或O5^[19-20]为主的血清群分布并不相似。已有研究

表4 副溶血性弧菌药敏试验结果

Table 4 Drug sensitivity of *Vibrio parahaemolyticus* isolates

抗生素种类	抗生素	敏感S		中介敏感I		耐药R	
		株数	占比/%	株数	占比/%	株数	占比/%
青霉素	氨苄西林	1	1.39	1	1.39	70	97.22
	阿莫西林	72	100	0	0	0	0
	哌拉西林	65	90.28	6	8.33	1	1.39
	头孢唑啉	27	37.50	45	62.50	0	0
β-内酰胺类	头孢氨苄	72	100	0	0	0	0
	头孢泊肟	72	100	0	0	0	0
	头孢维星	71	98.61	1	1.39	0	0
	头孢噻唑	72	100	0	0	0	0
	头孢他啶	72	100	0	0	0	0
	头孢曲松	72	100	0	0	0	0
	头孢吡肟	72	100	0	0	0	0
	美洛培南	72	100	0	0	0	0
碳青霉烯类	亚胺培南	72	100	0	0	0	0
	氨曲南	72	100	0	0	0	0
单酰胺环类	阿米卡星	72	100	0	0	0	0
氨基糖苷类	庆大霉素	72	100	0	0	0	0
	妥布霉素	72	100	0	0	0	0
	环丙沙星	72	100	0	0	0	0
喹诺酮类	恩诺沙星	72	100	0	0	0	0
	马波沙星	72	100	0	0	0	0
	左氧氟沙星	72	100	0	0	0	0
四环素类	四环素	70	97.22	2	2.78	0	0
硝基呋喃类	呋喃妥因	72	100	0	0	0	0
磺胺类	复方新诺明	68	94.44	0	0	4	5.56

表5 副溶血性弧菌耐药谱和中介谱分布

Table 5 Resistant and mediate resistance spectrum distribution of *Vibrio parahaemolyticus* isolates

耐药谱	中介谱	数量	百分比/%
氨苄西林		17	23.61
氨苄西林	哌拉西林	1	1.39
氨苄西林	头孢唑啉	41	56.94
氨苄西林	四环素	2	2.78
氨苄西林	哌拉西林-头孢维星	1	1.39
氨苄西林	哌拉西林-头孢唑啉	4	5.56
氨苄西林-复方新诺明		4	5.56
氨苄西林-哌拉西林		1	1.39
	氨苄西林	1	1.39

证实O1、O2、O3和O5这4种血清型均可引起食物中毒^[21],分离株中这4种可引起食物中毒的血清占15.28%(11/72),表明广州市售三文鱼中具有导致副溶血性弧菌中毒的潜在风险。此外,分离株中有19.44%(14/72)的菌株O抗原未定型,与相关报道水产品中副溶血性弧菌血清分型率较低^[22]的研究结果相似,原因可能与分离株存在一些新的O抗原有关^[23]。

对72株副溶血性弧菌的毒力基因携带情况分析,发现全部菌株均携带tlh基因,与白瑶等^[24]、林朝等^[25]的研究结果一致。研究还发现分离株均未检出trh和tdh基因,已有许多的研究报道来源于环境及水产品中的副溶血性弧菌中毒力基因trh和

tdh 的携带率极低^[24-28],与本研究结果大致相同。通常由 *trh* 基因和 *tdh* 基因编码的耐热直接相关溶血素(Thermostable related hemolysin, TRH)和耐热直接溶血毒素(Thermostable direct hemolysin, TDH),是导致副溶血性弧菌致病的主要因子^[29]。分子流行病学研究显示,产溶血性毒素的副溶血性弧菌与食源性疾病暴发密切相关^[17,22,29],表明本研究分离的副溶血性弧菌致病的风险较低。已有研究报道未携带 *trh* 和 *tdh* 毒力基因的副溶血性弧菌仍能产生毒性作用,引起急性胃肠疾病^[30]。因此,尽管本次研究中的副溶血性弧菌未携带毒力基因 *trh* 和 *tdh*,仍有致病的可能性。

药敏结果表明,分离的 72 株副溶血性弧菌对 24 种抗生素的敏感性大体一致,大部分菌株对氨苄西林呈耐药(97.22%),与国内外的研究报道一致^[31-35]。全部分离株对碳青霉烯类、单酰胺环类、氨基糖苷类、喹诺酮类和硝基呋喃类药物 100% 敏感,因此治疗因食用三文鱼感染副溶血性弧菌可首选碳青霉烯类、单酰胺环类、氨基糖苷类、喹诺酮类和硝基呋喃类药物。从分离株的耐药谱来看,分离株中有 6.94% 菌株同时对 2 种药物耐药,未出现多重耐药菌株。

以往不同来源水产品中副溶血性弧菌的药敏研究结果显示,黄渤海区贝类中有 68.48% 副溶血性弧菌出现 2 种以上药物耐药,其中 9.7% 产生了多重耐药^[36];青岛养殖海水虾中副溶血性弧菌对氨苄西林和阿莫西林高度耐药,有 6% 的菌株出现多重耐药现象^[37];常见海水产品及淡水产品的多重耐药率分别为 4.8% 和 3.1%^[34]。与之相比,本研究中的副溶血性弧菌耐药程度低于上述来源的副溶血性弧菌。分离株的耐药情况与 2016 年研究结果^[9]相比,耐药谱发生了变化,不仅中介敏感的哌拉西林出现了耐药菌株,分离株的双重耐药率也提高了,表明三文鱼中副溶血性弧菌耐药情况已逐渐复杂化。

从药敏结果中还可以看出,副溶血性弧菌分离株耐药和中介敏感的抗生素集中在早期使用的抗生素如 β -内酰胺类药物的青霉素(氨苄西林)和一代头孢(头孢唑林)。说明这些使用时间较长抗生素的耐药基因,已在环境中普遍存在。

综上所述,2019 年从广州各销售场所采集的三文鱼受副溶血性弧菌污染程度较高,分离的菌株存在一定程度的耐药情况。分离株虽然没有携带致病的毒力基因 *tdh* 和 *trh*,但现存的血清类型对人类健康具有潜在威胁。今后应加强三文鱼中副溶血性弧菌的致病性和耐药情况的监测,防范因食用三

文鱼而引发食源性疾病的暴发,提高三文鱼的食用安全水平。

参考文献

- [1] 毛雪丹,胡俊峰,刘秀梅. 2003—2007 年中国 1060 起细菌性食源性疾病流行病学特征分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2010, 22(3): 224-228.
- [2] MAO X D, HU J F, LIU X M. Epidemiological characteristics of bacterial foodborne disease during the year 2003—2007 in China [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2010, 22(3): 224-228.
- [3] 严纪文,马聪,朱海明,等. 2003—2005 年广东省水产品中副溶血性弧菌的主动监测及其基因指纹图谱库的建立[J]. 中国卫生检验杂志, 2006, 16(4): 387-391.
- [4] YAN J W, MA C, ZHU H M, et al. Establishment of fingerprinting database and surveillance on marine products for *Vibrio parahaemolyticus* in Guangdong from 2003 to 2005 [J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2006, 16(4): 387-391.
- [5] 李迎月,何洁仪,张维蔚,等. 广州市市售水产品食源性致病菌污染状况调查[J]. 中国食品卫生杂志, 2015, 27(3): 294-297.
- [6] LI Y Y, HE J Y, ZHANG W W, et al. Analysis on foodborne pathogenic bacteria contamination in retailed aquatic products in Guangzhou [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2015, 27(3): 294-297.
- [7] HONDA T, HIDA T, AKEDA Y, et al. Sixty years of *Vibrio parahaemolyticus* research[J]. Microbe Magazine, 2008, 3(10): 462-466.
- [8] Centers for Disease Control and Prevention. *Vibrio* species causing vibriosis[Z/OL]. (2019-03-05) [2022-04-13]. <https://www.cdc.gov/vibrio/faq.html>.
- [9] 日本总务省统计局. 食物中毒统计调查[Z/OL]. (2022-04-13) [2022-02-16]. https://www.e-stat.go.jp/stat-search?_page=1&layout=dataset&toukei=00450191&metadata=1&data=1. Statistics Bureau of the Ministry of General Affairs of Japan. Statistical survey of food poisoning [Z/OL]. (2022-04-13) [2022-02-16]. https://www.e-stat.go.jp/stat-search?_page=1&layout=dataset&toukei=00450191&metadata=1&data=1.
- [10] 毛雪丹,胡俊峰,刘秀梅. 用文献综述法估计我国食源性副溶血性弧菌病发病率[J]. 中华疾病控制杂志, 2013, 17(3): 265-267.
- [11] MAO X D, HU J F, LIU X M. Study on incidence of foodborne disease caused by *Vibrio parahaemolyticus* by literature review method [J]. Chinese Journal of Disease Control & Prevention, 2013, 17(3): 265-267.
- [12] SCALLAN E, HOEKSTRA R M, ANGULO F J, et al. Foodborne illness acquired in the United States: Major pathogens [J]. Emerging Infectious Diseases, 2011, 17(1): 7-15.
- [13] 古小莉,李惠青,吕晓瑜,等. 生食三文鱼中副溶血性弧菌污染调查及耐药性分析[J]. 水产科学, 2018, 37(2): 267-270.
- [14] GU X L, LI H Q, LYU X Y, et al. Infection survey and drug resistance of *Vibrio parahaemolyticus* in raw Atlantic salmon [J]. Fisheries Science, 2018, 37(2): 267-270.
- [15] 国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局.

- 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.
- National Health and Family Planning Commission, National Food and Drug Administration. Food Safety national standards, Food microbiological analysis, Examination of *Vibrio parahaemolyticus*: GB 4789.7—2013[S]. Beijing: Standards press of China, 2013.
- [11] 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]. *Journal of Microbiological Methods*, 1999, 36(3): 215-225.
- [12] 郑文龙,王卓,董杰,等.天津市水产品中副溶血性弧菌及其致病性调查[J].环境与健康杂志,2015,32(6):540-543.
- ZHENG W L, WANG Z, DONG J, et al. *Vibrio parahaemolyticus* contamination and pathogenicity in aquatic products in Tianjin: A cross-sectional study[J]. *Journal of Environment and Health*, 2015, 32(6): 540-543.
- [13] 陈吉铭,何琴芬,张琴超,等.绍兴市生食鱼中副溶血性弧菌毒力基因及耐药性与分子分型研究[J].食品安全质量检测学报,2021,12(16):6680-6684.
- CHEN J M, HE Q F, ZHANG Q C, et al. Study on virulence gene, drug resistance, molecular typing of *Vibrio parahaemolyticus* in raw fish in Shaoxing[J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2021, 12(16): 6680-6684.
- [14] 李海麟,何洁仪,梁伯衡,等.广州市2009年-2014年生食水产品副溶血性弧菌监测结果分析[J].中国卫生检验杂志,2016,26(19):2830-2833.
- LI H L, HE J Y, LIANG B H, et al. Analysis of surveillance results of *Vibrio parahaemolyticus* in edible raw aquatic products in Guangzhou from 2009 to 2014[J]. *Chinese Journal of Health Laboratory Technology*, 2016, 26(19): 2830-2833.
- [15] 陈朱,吴南卫,陈人强,等.三亚市主动监测海产品副溶血性弧菌血清分型、毒力基因及耐药性研究[J].中国卫生检验杂志,2014,24(14):2112-2115.
- CHEN Z, WU N W, CHEN R Q, et al. Study on serotype, virulence genes and drug resistance of *Vibrio parahaemolyticus* isolates from seafood in Sanya[J]. *Chinese Journal of Health Laboratory Technology*, 2014, 24(14): 2112-2115.
- [16] 方叶珍,黄世旺,包芳珍,等.不同来源样品副溶血性弧菌分布现状及血清学和毒力基因研究[J].中国卫生检验杂志,2013,23(16):3222-3224.
- FANG Y Z, HUANG S W, BAO F Z, et al. Research on distribution, serogroups and virulence genes of *Vibrio parahaemolyticus* in different samples[J]. *Chinese Journal of Health Laboratory Technology*, 2013, 23(16): 3222-3224.
- [17] 吴青,韩海红,余东敏,等.北京市水产品污染与感染病例中副溶血性弧菌血清型和毒力基因型的比较研究[J].中国食品卫生杂志,2015,27(4):363-367.
- WU Q, HAN H H, YU D M, et al. Comparative study of serotypes and virulence genes of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from contaminated aquatic products and infection cases in Beijing[J]. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 2015, 27(4): 363-367.
- [18] 黎薇,方伟,柯昌文,等.广东省2003—2008年副溶血性弧菌血清学分型研究[J].中国病原生物学杂志,2009,4(7):485-488.
- LI W, FANG W, KE C W, et al. Study on the serotype of *Vibrio parahaemolyticus* isolates during 2003—2008 in Guangdong province, China[J]. *Journal of Pathogen Biology*, 2009, 4(7): 485-488.
- [19] 李毅财,赵峰,朱兰兰,等.黄渤海区域贝类中副溶血弧菌污染调查及血清学分型[J].南方农业学报,2012,43(2):241-244.
- LI Y C, ZHAO F, ZHU L L, et al. Investigations on contamination and serotype of *Vibrio parahaemolyticus* in shellfish obtained from Yellow Sea and Bohai Sea areas[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2012, 43(2): 241-244.
- [20] 程苏云,李恩民,张俊彦,等.不同来源的副溶血性弧菌生物学特性研究[J].中国食品卫生杂志,2006,18(2):112-114.
- CHENG S Y, LI E M, ZHANG J Y, et al. Biologic characteristics of *Vibrio parahaemolyticus* from different sources[J]. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 2006, 18(2): 112-114.
- [21] 李秀桂,黄彦,唐振柱,等.广西水产品中副溶血性弧菌主动监测及其危险性分析[J].实用预防医学,2009,16(4):1136-1138.
- LI X G, HUANG Y, TANG Z Z, et al. Active surveillance and risk assessment for *Vibrio parahaemolyticus* (VP) in aquatic products in Guangxi[J]. *Practical Preventive Medicine*, 2009, 16(4): 1136-1138.
- [22] 方伟,黎薇,柯昌文,等.2006—2008年广东省水产品和食物中毒患者副溶血性弧菌分离株血清分型研究[J].中国食品卫生杂志,2009,21(4):352-356.
- FANG W, LI W, KE C W, et al. Serotype of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from food-poisoning patients and aquatic products in Guangdong Province in 2006—2008[J]. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 2009, 21(4): 352-356.
- [23] 黄锐敏,陈辉,袁月明.2004—2006年深圳南山区副溶血性弧菌菌群菌型分布及耐药分析[J].中国卫生检验杂志,2007,17(7):1275-1276,1335.
- HUANG R M, CHEN H, YUAN Y M. Analysis of type and drug resistance of *Vibrio parahaemolyticus* during 2004—2006[J]. *Chinese Journal of Health Laboratory Technology*, 2007, 17(7): 1275-1276, 1335.
- [24] 白瑶,叶淑瑶,闫韶飞,等.2015年我国食源性副溶血性弧菌毒力基因及耐药特征研究[J].食品安全质量检测学报,2017,8(6):2318-2324.
- BAI Y, YE S Y, YAN S F, et al. Virulence and antimicrobial characteristics of foodborne *Vibrio parahaemolyticus* strains in China in 2015[J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2017, 8(6): 2318-2324.
- [25] 林朝,宋晓荷,巢国祥.不同来源副溶血性弧菌的血清分群和毒力基因检测[J].现代实用医学,2013,25(5):580-581.
- LIN C/Z, SONG X H, CHAO G X. Serological grouping and virulence gene detection of *Vibrio parahaemolyticus* from different sources[J]. *Modern Practical Medicine*, 2013, 25(5): 580-581.
- [26] 宋曼丹,严纪文,朱海明,等.不同来源副溶血性弧菌分离株的耐药性和毒力分析[J].中国卫生检验杂志,2011,21(11):2785-2787.
- SONG M D, YAN J W, ZHU H M, et al. Analysis on

- epidemiologic characteristics of hand, foot and mouth disease in Karamay in 2010 [J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2011, 21(11): 2785-2787.
- [27] 高玮, 潘迎捷, 赵勇, 等. 上海市水产品中副溶血性弧菌的分离、鉴定及毒力基因和血清型分布[J]. 食品与生物技术学报, 2011, 30(2): 278-282.
- GAO W, PAN Y J, ZHAO Y, et al. Isolation, identification, serotype and virulence of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from the aquatic products in Shanghai markets [J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2011, 30(2): 278-282.
- [28] 江艳华, 姚琳, 宋春丽, 等. 青岛市售贝类副溶血性弧菌污染状况及耐药性分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2012, 22(2): 375-377.
- JIANG Y H, YAO L, SONG C L, et al. Contamination status of *Vibrio parahaemolyticus* in shellfish from Qingdao markets and their antimicrobial resistance [J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2012, 22(2): 375-377.
- [29] 赵淑军, 赵球平, 叶恒平, 等. 副溶血性弧菌引起的食物中毒调查及病原学研究[J]. 公共卫生与预防医学, 2020, 31(2): 113-117.
- ZHAO S J, ZHAO Q P, YE H P, et al. Investigation on a food poisoning caused by *Vibrio parahaemolyticus* and its etiology [J]. Journal of Public Health and Preventive Medicine, 2020, 31(2): 113-117.
- [30] 张德福, 付绪磊, 张明, 等. 副溶血弧菌毒力因子及致病机理的研究进展[J]. 食品科学, 2015, 36(7): 216-222.
- ZHANG D F, FU X L, ZHANG M, et al. Recent progress in research on *Vibrio parahaemolyticus* virulence factors and pathogenic mechanism [J]. Food Science, 2015, 36(7): 216-222.
- [31] ELMAHDI S, DASILVA L V, PARVEEN S. Antibiotic resistance of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* in various countries: A review [J]. Food Microbiology, 2016, 57: 128-134.
- [32] TAN C W, RUKAYADI Y, HASAN H N, et al. Prevalence and antibiotic resistance patterns of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from different types of seafood in Selangor, Malaysia [J]. Saudi Journal of Biological Sciences, 2020, 27(6): 1602-1608.
- [33] 白瑶, 赵洋洋, 叶淑瑶, 等. 中国水产品中副溶血性弧菌耐药性及遗传特征分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2018, 30(3): 229-234.
- BAI Y, ZHAO Y Y, YE S Y, et al. Antimicrobial resistance and genetic characteristics of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from aquatic products in China [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2018, 30(3): 229-234.
- [34] 董慧明, 种婷, 刘霓, 等. 辽宁省市售水产品中副溶血性弧菌的污染状况及耐药性分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(12): 5066-5071.
- DONG H M, CHONG T, LIU N, et al. Analysis of contamination and drug resistance of *Vibrio parahaemolyticus* in aquatic products sold in Liaoning province [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(12): 5066-5071.
- [35] 申进玲, 赵丽娜, 韩伟, 等. 上海进口水产品中副溶血性弧菌耐药性、毒力基因和遗传特征[J]. 食品科学, 2021, 42(8): 264-269.
- SHEN J L, ZHAO L N, HAN W, et al. Antimicrobial resistance, virulence gene and genetic characteristics of *Vibrio parahaemolyticus* isolates from aquatic products imported to Shanghai [J]. Food Science, 2021, 42(8): 264-269.
- [36] 江艳华, 初钰博, 王联珠, 等. 黄渤海区鲜活贝类中副溶血性弧菌的毒力基因及耐药性分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2018, 28(7): 769-773.
- JIANG Y H, CHU Y B, WANG L Z, et al. Analysis of virulence gene and antimicrobial resistance of *Vibrio parahaemolyticus* in fresh shellfish from areas of the Bohai Sea and the Yellow Sea [J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2018, 28(7): 769-773.
- [37] 江艳华, 姚琳, 李凤铃, 等. 青岛市售养殖海水虾中副溶血性弧菌的分离及耐药性分析[J]. 中国人兽共患病学报, 2013, 29(5): 516-519.
- JIANG Y H, YAO L, LI F L, et al. Isolation and antimicrobial resistance of *Vibrio parahaemolyticus* in farmed marine shrimps from Qingdao markets [J]. Chinese Journal of Zoonoses, 2013, 29(5): 516-519.