

研究报告

一起副溶血性弧菌食物中毒事件中菌株全基因组测序与耐药性分析

李兵兵¹,张茹²,刘靓¹,李洁¹,陈大伟¹,李双妹¹,杨鹏飞¹,刘纯成¹,邢亚东¹

(1. 淮安市疾病预防控制中心,江苏淮安 223001;2. 盱眙县疾病预防控制中心,江苏淮安 211700)

摘要:目的 对2023年淮安市一起食物中毒事件分离的副溶血性弧菌进行全基因组测序和耐药性分析,为副溶血性弧菌引起的食源性疾病的防控和临床治疗提供参考。方法 采用Illumina测序平台进行全基因组测序,通过全基因组单核苷酸多态性(wg-SNP)和多位点序列分型(MLST)分析进行溯源,在线数据库鉴定菌株携带的毒力和耐药基因,采用微量肉汤稀释法进行药敏实验。结果 共分离到12株副溶血性弧菌,3株来自病例、9株来自留样食品。其中2株食物分离株与3株病例分离株 wg-SNP 差异数为0~2 bp,都属于ST3型,判断为同一克隆;其余7株食物分离株与病例分离株 wg-SNP 差异数为11 341~37 173 bp,判定为不同克隆。从病例和食品中分离的ST3型副溶血性弧菌都携带外毒素基因 *tdh* 和 *tlh*,其余菌株仅携带 *tlh*。本事件分离的副溶血性弧菌都携带 *blaCARB* 型耐药基因,且对头孢唑啉耐药率较高。结论 通过全基因组测序分析,本起事件由携带 *tdh* 毒力基因的ST3型副溶血性弧菌污染食品引发,显示全基因组测序技术在中毒事件快速溯源中有较好的应用前景。该菌株对头孢唑啉耐药,可为临床治疗抗生素选用提供依据。

关键词:副溶血性弧菌;食物中毒;全基因组测序;耐药性;食源性致病菌;毒力基因

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2024)05-0528-05

DOI:10.13590/j.cjfh.2024.05.003

Whole genome sequencing and antibiotic resistance analysis of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from a food poisoning incidents

LI Bingbing¹, ZHANG Ru², LIU Liang¹, LI Jie¹, CHEN Dawei¹, LI Shuangshu¹, YANG Pengfei¹,
LIU Chuncheng¹, XING Yadong¹

(1. Huai'an Center for Disease Control and Prevention, Jiangsu Huai'an 223001, China;

2. Xuyi Center for Disease Control and Prevention, Jiangsu Huai'an 211700, China)

Abstract: Objective Whole genome sequencing and antibiotic resistance analysis were conducted for *Vibrio parahaemolyticus* strains isolated from a food poisoning incident in Huai'an City in 2023, so as to provide reference for the prevention and clinical treatment of foodborne diseases caused by *Vibrio parahaemolyticus*. **Methods** Whole genome sequencing was performed by Illumina sequencing platform, traceability was carried out by whole genome single nucleotide polymorphism (wg-SNPs) and multi-site sequence typing (MLST) analysis, the virulence and resistance genes carried by the strains were identified in the online database, and the antibiotic resistance was performed by microbroth dilution. **Results** Among the 12 strains of *Vibrio parahaemolyticus*, 3 strains were isolated from patients and 9 strains were isolated from food samples. The difference of wg-SNPs of 3 strains from patients and 2 strains from food samples were 0~2 bp, both of which belonged to ST3 type and were judged to be the same clone. The difference of wg-SNPs between the remaining 7 strains from the food samples and the isolates from patients were 11 341~37 173 bp, which was judged to be different clones. Both the patients and the food-isolated *Vibrio parahaemolyticus* belonged to type ST3 carried the exotoxin genes *tdh* and *tlh*, while the remaining strains carried only *tlh*. All *Vibrio parahaemolyticus* strains isolated in this event carried drug resistance gene *blaCARB* and had a high rate of resistance to cefazoline. **Conclusion** Through whole genome sequencing analysis, the incident was caused by ST3 *Vibrio parahaemolyticus* carrying the *tdh* virulence gene and resistant to cefazoline, which showed promising application prospects of whole genome sequencing technology in rapid source tracing of poisoning events, and provided a basis for the selection of antibiotics in clinical treatment.

收稿日期:2023-05-31

基金项目:淮安市创新能力建设计划(HAP201906);江苏省预防医学科研课题(Y2018047)

作者简介:李兵兵 男 副研究员 研究方向为食品微生物学 Email:hacdclbb@163.com

通信作者:邢亚东 男 主任技师 研究方向为卫生检验 E-mail:820042309@qq.com

Key words: *Vibrio parahaemolyticus*; food poisoning; whole genome sequencing; antibiotic resistance; foodborne pathogens; virulence genes

副溶血性弧菌是一种常见的嗜盐性病原菌,广泛存在于河口、海洋等环境以及水产品中^[1-2]。食用被副溶血性弧菌污染的食品会导致食物中毒,主要症状为肠胃炎、腹痛、恶心、腹泻、发热等^[3-5]。据统计,2018—2021年中国大陆由副溶血性弧菌引发的食物中毒事件数在微生物性致病因子引起的食源性疾病暴发事件中居第2位,江苏省2016—2020年发生了267起由副溶血性弧菌引发的食源性疾病事件,该菌成为了需重点关注的食源性致病菌^[6-9]。2023年江苏淮安市发生一起由副溶血性弧菌引起的食物中毒事件,本研究对副溶血性弧菌进行了全基因组测序、耐药性分析,通过对菌株进行溯源和病原学研究,以期为由副溶血性弧菌引起的食源性疾病的防控和临床治疗提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株信息

实验室从此次食物中毒事件采集的食品留样、病例肛拭子、病例呕吐物3类共35份样本中分离到12株副溶血性弧菌,其中9株分离自食品留样样本、3株分离自病例肛拭子样本,菌株具体来源信息见表1。

表1 12株副溶血性弧菌分离株来源信息

菌株编号	菌株类别	来源样本
FR1	副溶血性弧菌	食品(海带干张)
FR2		食品(牛肉)
FR3		食品(红烧鸡)
FR4		食品(猪爪子)
FR5		食品(素鸡)
FR6		食品(猪耳朵)
FR7		食品(猪杂)
FR8		病例1肛拭子
FR9		病例2肛拭子
FR10		病例3肛拭子
FR11		食品(鸭胗)
FR12		食品(猪鼻子)

1.1.2 主要试剂与仪器

3%碱性蛋白胨琼脂(青岛高科技工业园海博生物技术有限公司);革兰氏阴性菌药敏板(美国 Thermo Fisher 公司);细菌基因组 DNA 提取试剂盒(天根生化科技北京有限公司);副溶血性弧菌毒力基因荧光 PCR 检测试剂盒(北京卓诚惠生生物科技股份有限公司);药敏加样与分析系统、荧光定量 PCR 仪(美国 Thermo Fisher 公司);Illumina NovaSeq 测序

平台(美国 Illumina 公司)。

1.2 方法

1.2.1 全基因组测序

使用细菌基因组 DNA 提取试剂盒提取 12 株副溶血性弧菌的全基因组 DNA。核酸经检测质量合格后,委托上海伯杰医疗科技有限公司进行细菌全基因组测序。下机数据经质控过滤后利用 CLC 软件进行组装。

1.2.2 全基因组单核苷酸多态性(wg-SNPs)分析

使用 KSNP 3.01 软件最大似然法(Maximum likelihood)构建进化树,bootstrap=1 000,然后使用在线软件 iTOL^[10]对进化树进行可视化展示。

1.2.3 MLST 分子分型

将菌株基因组序列上传至 MLST 在线数据库(<https://pubmlst.org/organisms/vibrio-parahaemolyticus>)获取菌株的7个管家基因(*dnaE*, *gyrB*, *recA*, *dtdS*, *pntA*, *pyrC*, *tnaA*)的等位基因编号,根据等位基因编号得出菌株 ST 型,最后使用 PHYLOViZ Online(<https://online.phyloviZ.net/index>)绘制最小生成树。

1.2.4 毒力基因注释

将菌株基因组序列与 VFDB(setA 库)数据库中已知毒力基因序列进行 BLASTn 比对,检测本研究中菌株携带的毒力基因,通过 TBtools 软件进行热图分析。利用荧光 PCR 方法验证 *tlh*、*tdh*、*trh* 3 种毒素相关毒力基因携带情况。

1.2.5 药敏试验及耐药基因

采用微量肉汤稀释法检测 12 株副溶血性弧菌对 20 种抗生素药物的敏感性,大肠埃希氏菌 ATCC 25922 作为质控菌株,药敏结果的判断参照《2023 年国家食源性疾病监测工作手册》。

分别将菌株基因组序列与 CARD(<https://card.mcmaster.ca/>)耐药基因库和 ResFinder(<https://cge.food.dtu.dk/services/resfinder/>)耐药库中的耐药基因进行比对(仅将 coverage 和 identity 值均大于 90% 的耐药基因进行展示),预测菌株耐药基因携带情况。

2 结果

2.1 全基因组测序与 wg-SNPs 分析

12 株副溶血性弧菌基因组序列经过滤组装,基因组平均大小为 4.90 Mb,平均 GC 含量为 45.38%。根据 wg-SNPs 构建的系统发育树见图 1,12 株副溶血性弧菌分布于 7 个分支上,其中病例分离菌株

FR8、FR9、FR10 和食品留样分离株 FR11、FR12 聚为一支,这 5 株菌基因组间 SNPs 相差 0~2 bp,以 SNPs≤6 bp 作为判断副溶血性弧菌食源性疾病暴发的依据^[11],这些菌株属于同一克隆;其余 7 株副溶血性弧菌与病例分离株 wg-SNPs 差异数为 11 341~37 173 bp,判定为不同克隆;食品留样分离株 FR1 和 FR7 聚为一支,这 2 株菌基因组间 SNPs 相差 56 bp,判断属于不同克隆。

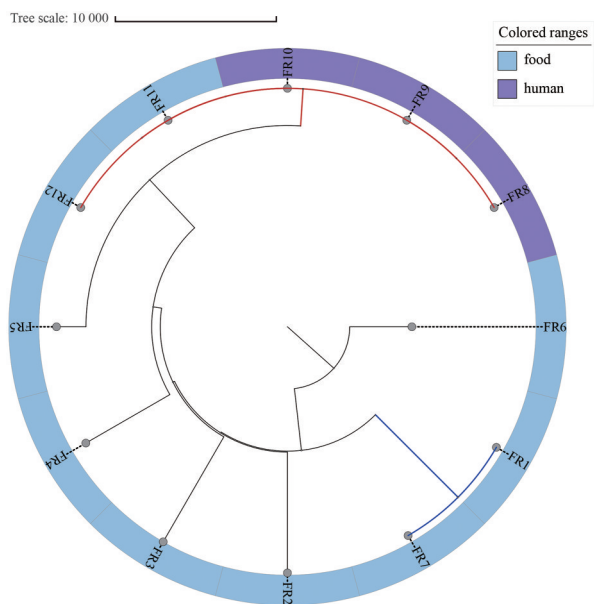


图1 基于基因组 SNPs 构建的系统发育树
Figure 1 Phylogenetic tree based on genomic SNPs

2.2 MLST 分子分型

如图 2 所示,12 株副溶血性弧菌有 7 种 ST 型,其中 STn1 和 STn2 为新的 ST 型。病例分离株 FR8、FR9、FR10 和食品留样分离株 FR11、FR12 均属 ST3; FR1 和 FR7 均为 ST1678。其余 5 株菌分属不同的 ST 型。

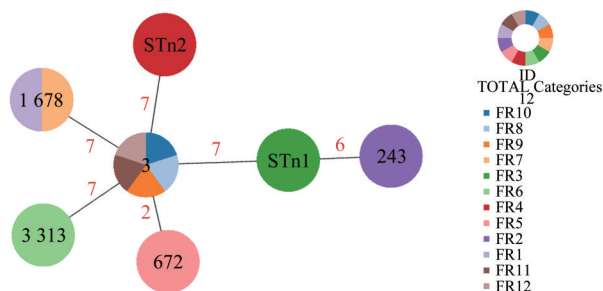


图2 副溶血性弧菌 MLST 分型最小生成树
Figure 2 Minimum spanning tree for MLST typing of *Vibrio parahaemolyticus* strains

2.3 毒力基因携带情况

12 株副溶血性弧菌共携带 16 类 163 种毒力基因,其中鞭毛(flagella)与三型分泌系统(T3SS1)相关基因最多。在热图中(图 3),12 株菌被分为 2 大分支,其中 FR8、FR9、FR10、FR11、FR12 聚为一支,携带的毒力基因完全相同。与以上 5 株菌相比较,其余 7 株菌均不携带三型分泌系统(T3SS2)及相关基因(T3SS2 secreted effectors)。

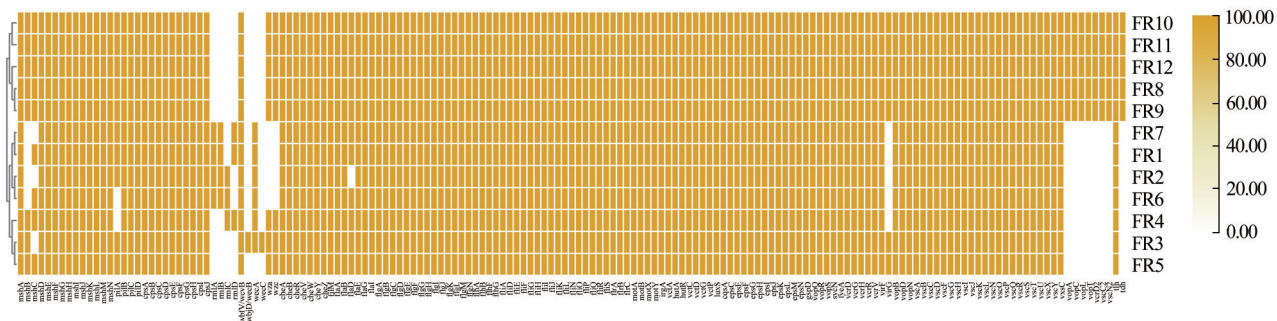


图3 副溶血性弧菌携带毒力基因热图
Figure 3 Heat map of virulence genes carried by *Vibrio parahaemolyticus*

基因组测序分析和荧光 PCR 检测均证实病例分离菌株 FR8、FR9、FR10 和食品留样分离株 FR11、FR12 携带耐热溶血素蛋白编码基因 *tdh* 和编码非耐热溶血素蛋白基因 *tlh*,其余菌株仅携带 *tlh*。

2.4 药敏试验及耐药基因

药敏实验结果表明,12 株菌对头孢唑啉耐药率最高(91.67%, 11/12),其次为氨苄西林和多黏菌素 E (均为 16.67%, 2/12),对其余抗生素均敏感。对 3 类抗生素耐药的 多重耐药菌株有 1 株。FR8、FR9、FR10、FR11、FR12 耐药表型相同,仅对头孢唑啉耐

药,对其余抗生素均敏感。

从 CARD 和 ResFinder 数据库共鉴定到 3 类 6 个耐药基因,分别介导对 β-内酰胺酶类、喹诺酮类、叶酸途径抑制剂类抗生素的耐受,见表 2。其中,所有菌株都携带 β-内酰胺酶类耐药基因。FR8、FR9、FR10、FR11、FR12 均携带 *blaCARB-22* 基因。

3 讨论

本次事件分离到的 12 株副溶血性弧菌中 9 株源自留样食品,3 株分离自病例, wg-SNPs 分析发现

表2 副溶血性弧菌药敏试验结果及耐药基因携带情况

Table 2 Drug sensitivity and resistance gene results of *Vibrio parahaemolyticus*

抗生素菌株	FR1	FR2	FR3	FR4	FR5	FR6	FR7	FR11	FR12	FR8	FR9	FR10
AMP	16(I)	8(S)	8(S)	32(R)	32(R)	8(S)	16(I)	16(I)	16(I)	8(S)	16(I)	16(I)
CFX	8(S)	≤1(S)	8(S)	8(S)	8(S)	4(S)	4(S)	8(S)	4(S)	8(S)	8(S)	8(S)
CFZ	8(R)	2(I)	16(R)	16(R)	16(R)	8(R)	8(R)	8(R)	8(R)	8(R)	16(R)	8(R)
CXM	16(I)	≤0.5(S)	8(S)	16(I)	16(I)	8(S)	16(I)	16(I)	16(I)	16(I)	16(I)	16(I)
CTX	≤0.25(S)	≤0.25(S)	≤0.25(S)	≤0.25(S)	≤0.25(S)	≤0.25(S)	≤0.25(S)	≤0.25(S)	≤0.25(S)	≤0.25(S)	≤0.25(S)	≤0.25(S)
CAZ	≤0.5(S)	≤0.5(S)	≤0.5(S)	≤0.5(S)	1(S)	≤0.5(S)	≤0.5(S)	≤0.5(S)	≤0.5(S)	≤0.5(S)	≤0.5(S)	≤0.5(S)
CPM	2(S)	≤1(S)	≤1(S)	≤1(S)	≤1(S)	≤1(S)	≤1(S)	≤1(S)	≤1(S)	≤1(S)	≤1(S)	≤1(S)
IPM	≤0.25(S)	≤0.25(S)	≤0.25(S)	≤0.25(S)	≤0.25(S)	≤0.25(S)	≤0.25(S)	≤0.25(S)	≤0.25(S)	≤0.25(S)	≤0.25(S)	≤0.25(S)
MEM	≤0.12(S)	≤0.12(S)	≤0.12(S)	≤0.12(S)	≤0.12(S)	≤0.12(S)	≤0.12(S)	≤0.12(S)	≤0.12(S)	≤0.12(S)	≤0.12(S)	≤0.12(S)
GEN	≤1(S)	≤1(S)	≤1(S)	≤1(S)	≤1(S)	≤1(S)	≤1(S)	≤1(S)	≤1(S)	≤1(S)	≤1(S)	≤1(S)
STR	8(S)	8(S)	16(S)	16(S)	16(S)	8(S)	16(S)	16(S)	16(S)	16(S)	16(S)	16(S)
AMK	≤4(S)	≤4(S)	≤4(S)	≤4(S)	≤4(S)	≤4(S)	≤4(S)	≤4(S)	≤4(S)	≤4(S)	≤4(S)	≤4(S)
CT	0.25(S)	0.25(S)	1(S)	>8(R)	0.25(S)	4(R)	0.5(S)	1(S)	0.25(S)	0.25(S)	2(S)	0.5(S)
PB	≤0.12(S)	≤0.12(S)	0.5(S)	2(S)	0.5(S)	1(S)	≤0.12(S)	≤0.12(S)	0.5(S)	≤0.12(S)	0.5(S)	1(S)
AZM	≤2(S)	≤2(S)	≤2(S)	≤2(S)	≤2(S)	≤2(S)	≤2(S)	≤2(S)	≤2(S)	≤2(S)	≤2(S)	≤2(S)
TET	≤1(S)	≤1(S)	≤1(S)	≤1(S)	≤1(S)	≤1(S)	≤1(S)	≤1(S)	≤1(S)	≤1(S)	≤1(S)	≤1(S)
NAL	≤2(S)	≤2(S)	≤2(S)	≤2(S)	≤2(S)	≤2(S)	≤2(S)	≤2(S)	≤2(S)	≤2(S)	≤2(S)	≤2(S)
CIP	0.12(S)	≤0.015(S)	0.06(S)	0.12(S)	0.12(S)	0.06(S)	0.12(S)	0.12(S)	0.12(S)	0.06(S)	0.12(S)	0.12(S)
CHL	≤2(S)	≤2(S)	≤2(S)	≤2(S)	≤2(S)	≤2(S)	≤2(S)	≤2(S)	≤2(S)	≤2(S)	≤2(S)	≤2(S)
SXT	≤0.25(S)	≤0.25(S)	≤0.25(S)	≤0.25(S)	≤0.25(S)	≤0.25(S)	≤0.25(S)	≤0.25(S)	≤0.25(S)	≤0.25(S)	≤0.25(S)	≤0.25(S)
耐药基因	CARD数 数据库对 比结果 Res- Finder数 数据库对 比结果	<i>blaC- ARB-18; CRP</i>	<i>blaCARB- 18;CRP</i>	<i>blaCARB- 18;dfra6; CRP</i>	<i>blaC- ARB-18; CRP</i>	<i>blaCARB- 22;CRP</i>	<i>blaCARB- 18;CRP</i>	<i>blaC- ARB-18; CRP</i>	<i>blaCARB- 22;CRP</i>	<i>blaCARB- 22;CRP</i>	<i>blaCARB- 22;CRP</i>	<i>blaC- ARB-22; CRP</i>
		<i>blaC- ARB-22</i>	33	33;dfra6	<i>blaC- ARB-33</i>	22	46	<i>blaC- ARB-22</i>	22	22	22	22

注:AMP:氨苄西林;CFX:头孢西丁;CFZ:头孢唑啉;CXM:头孢呋辛;CTX:头孢噻肟;CAZ:头孢他啶;CPM:头孢吡肟;IPM:亚胺培南;MEM:美罗培南;GEN:庆大霉素;STR:链霉素;AMK:阿米卡星;CT:多黏菌素E;PB:多黏菌素B;AZM:阿奇霉素;TET:四环素;NAL:萘啶酸;CIP:环丙沙星;CHL:氯霉素;SXT:甲氧苄啶/磺胺甲噁唑;R:耐药;I:中介;S:敏感

3株病例分离株和2株食品分离株同属一个克隆,其余食品分离株分属于6个不同克隆,MLST分型结果与wg-SNPs结果相符。测序结果证实此次事件是由ST3型副溶血性弧菌引起的,同时留样食品被多种ST型别副溶血性弧菌污染,表明该食品加工场所卫生条件较差。2份被ST3型副溶血性弧菌污染的食品均为非水产品且所属食品类别不同,因此判断这2份食品为被交叉污染的中间食品。由于未采集到加工环境、食品原材料等样品,证据链不够充足,未能找到最终归因食品,但本研究显示了基因组二代测序技术在食物中毒事件致病菌污染溯源中有较好的应用前景,目前一些学者已经将基因组二代测序技术应用到了食物中毒事件的溯源工作中^[12]。

副溶血性弧菌的致病力与其毒力因子密切相关,经预测本研究中的菌株携带有与黏附、荚膜、铁摄取、群体感应、T3SS分泌系统以及外毒素等相关的毒力基因,尤以鞭毛(flagella)与三型分泌系统(T3SS)毒力基因居多。鞭毛可介导在宿主表面的黏附;T3SS则主要是诱导细胞自噬、细胞圆化和细胞裂解^[13-14]。此外,我们还发现所有的菌株都携带

不耐热溶血素基因*tlh*,但只有病例分离菌株及与病例分离菌株高度同源的2株食品分离株携带编码耐热溶血素的*tdh*基因,相关研究表明非流行菌株在获取*tdh*和T3SS2后可成为致病的流行株,应引起重视^[15]。

药敏结果显示,12株菌除对第一代头孢菌素头孢唑啉耐药率较高外,对其他抗生素的整体耐药率不高,与其他地区报道的从食物中毒事件分离的副溶血性弧菌的耐药情况不同^[5,12],但与宁波市食源性主动监测腹泻样本中分离的副溶血性弧菌的耐药表型很相似^[16]。基于二代测序预测所有菌株都携带β-内酰胺类抗生素耐药基因*blaCARB*与耐药表型基本一致,但是二代测序预测部分菌株携带的喹诺酮类和叶酸途径抑制剂类抗生素基因在表型上未表现出来。

副溶血性弧菌引发的食物中毒大多数由食物交叉污染造成,本起事件由携带*tdh*毒力基因ST3型副溶血性弧菌污染食品引发,建议加强食源性疾病预防的宣传教育 and 食品安全宣传工作,防范此类食物中毒事件再次发生。同时,建议积极推广全基因组测序技术在食源性快速溯源的应用,为食源

性疾病防控提供遗传学和分子流行病学依据。

参考文献

- [1] 张健, 朱秋华, 张明, 等. 副溶血性弧菌毒力因子及耐药机制研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(1): 301-307.
ZHANG J, ZHU Q H, ZHANG M, et al. Research progress of *Vibrio parahaemolyticus* virulence factors and drug resistance mechanism[J]. Food And Fermentation Industries, 2022, 48(1): 301-307.
- [2] 杨舒然, 裴晓燕, 李莹, 等. 生食动物性水产品中副溶血性弧菌和创伤弧菌污染状况分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2019, 31(6): 574-576.
YANG S R, PEI X Y, LI Y, et al. Survey on *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* contamination in raw ready-to-eat aquatic products[J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2019, 31(6): 574-576.
- [3] 姚利利, 何平, 张蓉, 等. 一起由副溶血性弧菌引起的食物中毒调查分析[J]. 上海预防医学, 2023, 35(10): 982-986.
YAO L L, HE P, ZHANG R, et al. Investigation and analysis of a food poisoning case caused by *Vibrio parahaemolyticus* [J]. Shanghai Journal of Preventive Medicine, 2023, 35(10): 982-986.
- [4] 孙健, 张强, 陈凤萍, 等. 一起副溶血性弧菌食物中毒事件溯源调查[J]. 中国预防医学杂志, 2021, 22(3): 238-240.
SUN J, ZHANG Q, CHEN F P, et al. Investigation on the source of a *Vibrio parahaemolyticus* food poisoning incident[J]. Chinese Journal of Preventive Medicine, 2021, 22(3): 238-240.
- [5] 张晶, 王安娜, 陶霞, 等. 一起副溶血性弧菌食物中毒分离株的特征分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2021, 33(3): 256-259.
ZHANG J, WANG A N, TAO X, et al. Etiological analysis of a small outbreak of gastroenteritis with *Vibrio parahaemolyticus* infection[J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2021, 33(3): 256-259.
- [6] 韩海红, 寇柏洋, 马洁, 等. 2018年中国大陆食源性疾病暴发监测资料分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2022, 34(4): 822-829.
HAN H H, KOU B Y, MA J, et al. Analysis of foodborne disease outbreaks in Chinese Mainland in 2018 [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2022, 34(4): 822-829.
- [7] 李红秋, 郭云昌, 宋壮志, 等. 2019年中国大陆食源性疾病暴发监测资料分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2021, 33(6): 650-656.
LI H Q, GUO Y C, SONG Z Z, et al. Analysis of foodborne disease outbreaks in China in 2019[J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2021, 33(6): 650-656.
- [8] 李红秋, 贾华云, 赵帅, 等. 2021年中国大陆食源性疾病暴发监测资料分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2022, 34(4): 816-821.
LI H Q, JIA H Y, ZHAO S, et al. Analysis of foodborne disease outbreaks in Chinese Mainland in 2021 [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2022, 34(4): 816-821.
- [9] 蒋凯, 宗雯琦, 戴月, 等. 2016—2020年江苏省副溶血性弧菌食源性疾病事件流行病学分析[J]. 现代预防医学, 2022, 49(19): 3615-3620.
JIANG K, ZONG W Q, DAI Y, et al. *Vibrio parahemolyticus* foodborne disease events in Jiangsu, 2016—2020 [J]. Modern Preventive Medicine, 2022, 49(19): 3615-3620.
- [10] LETUNIC I, BORK P. Interactive Tree Of Life (iTOL) v5: an online tool for phylogenetic tree display and annotation [J]. Nucleic Acids Research, 2021, 49(W1): W293-W296.
- [11] YANG C, LI Y, JIANG M, et al. Outbreak dynamics of foodborne pathogen *Vibrio parahaemolyticus* over a seventeen year period implies hidden reservoirs[J]. Nature Microbiology, 2022, 7(8): 1221-1229.
- [12] 孔令汉, 贺良, 唐敏, 等. 2021年重庆市万州区两起食物中毒事件副溶血性弧菌溯源和耐药性分析[J]. 中国预防医学杂志, 2023, 24(7): 643-647.
KONG L H, HE L, TANG M, et al. The origins and antibiotic resistance of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from two food poisoning incidents in Wanzhou District of Chongqing [J]. Chinese Preventive Medicine, 2023, 24(7): 643-647.
- [13] 丁淑妍, 侯丽艳, 于成勇, 等. 海洋性弧菌致病机制研究进展[J]. 职业与健康, 2019, 35(7): 984-989.
DING S Y, HOU L Y, YU C Y, et al. Research progress on pathogenic mechanism of marine Vibrios [J]. Occupation and Health, 2019, 35(7): 984-989.
- [14] 郑宏源, 闫琳, 杨超, 等. 溶藻弧菌群体基因组学研究[J]. 遗传, 2021, 43(4): 350-361.
ZHENG H Y, YAN L, YANG C, et al. Population genomics study of *Vibrio alginolyticus* [J]. Hereditas (Beijing), 2021, 43(4): 350-361.
- [15] OKADA N, MATSUDA S, MATSUYAMA J, et al. Presence of genes for type III secretion system 2 in *Vibrio mimicus* strains [J]. BMC Microbiology, 2010, 10: 302.
- [16] 高红, 张琰, 章丹阳, 等. 2017年宁波市食源性疾病主动监测特定病原学和耐药特征分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2019, 29(24): 3049-3052, 3055.
GAO H, ZHANG Y, ZHANG D Y, et al. Analysis of specific bacterial etiology and drug resistance for active monitoring of foodborne diseases in Ningbo in 2017 [J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2019, 29(24): 3049-3052, 3055.