

2013–2015 年湖州市副溶血性弧菌血清分型及耐药性研究

朱晓娟, 吴晓芳, 徐德顺, 陈莉萍, 纪蕾, 沈月华, 查贇峰

湖州市疾病预防控制中心, 浙江 湖州 313000

摘要: **目的** 通过对副溶血性弧菌的血清分群和耐药性检测, 了解湖州市副溶血性弧菌血清分型及耐药状况, 预防副溶血性弧菌食源性疾病发生, 为指导临床合理用药提供依据。 **方法** 对 2013–2015 年湖州市食物中毒及监测水产品中分离的副溶血弧菌用 VITEK2 全自动微生物分析系统进行耐药性鉴定, 血清学检测采用玻片凝集法。 **结果** 206 株副溶血弧菌中共检出 7 个血清群, 25 个血清型, 其中食物中毒分离株以 O3:K6 为主, 占 64.3%, 水产品分离株血清型分布范围散在。对氨苄西林和阿莫西林的耐药率极高, 均达 95% 以上, 头孢唑啉的耐药率分别达 66.7% 和 55.5%, 对亚胺培南、氨曲南、左氧氟沙星、萘啶酸、呋喃妥因、环丙沙星、妥布霉素、复方新诺明、氯霉素完全敏感。 **结论** 湖州市水产品分离的副溶血性弧菌血清分群多样化, 存在一定程度的耐药情况。

关键词: 水产品; 副溶血性弧菌; 血清分型; 耐药性

中图分类号: R378.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006–3110(2017)09–1058–03 **DOI:** 10.3969/j.issn.1006–3110.2017.09.009

Serotyping and drug resistance of *Vibrio parahaemolyticus* in Huzhou City, 2013–2015

ZHU Xiao-juan, WU Xiao-fang, XU De-shun, CHEN Li-ping, JI Lei, SHEN Yue-hua, ZHA Yun-feng

Huzhou Municipal Center for Disease Control and Prevention, Huzhou, Zhejiang 313000, China

Abstract: **Objective** To investigate the serotyping and drug resistance of *Vibrio parahaemolyticus* in Huzhou City during 2013–2015 so as to prevent foodborne diseases caused by *Vibrio parahaemolyticus* and provide a basis for guiding rational clinical therapy. **Methods** We collected *Vibrio parahaemolyticus* isolates from the food poisoning cases and the monitored aquatic products in Huzhou City from 2013 to 2015. VITEK2 automated microbial analysis system was used for drug resistance testing, and slide agglutination test for serological testing. **Results** Among 206 strains of *Vibrio parahaemolyticus*, 7 serogroups and 25 serotypes were detected. O3: K6 was the dominant strain isolated from the food poisoning cases, accounting for 64.3%. The serotypes of the isolates from the aquatic products showed a scattered distribution. The drug resistance to ampicillin and amoxicillin was both higher than 95%, and to cefazolin was 66.7% and 55.5% respectively. All the 206 strains of *Vibrio parahaemolyticus* were sensitive to imipenem, aztreonam, levofloxacin, nalidixic acid, macrodantin, ciprofloxacin, tobramycin, sulfamethoxazole and chloramphenicol.

Conclusions The serogroups of *Vibrio parahaemolyticus* strains isolated from the aquatic products in Huzhou City present diversification; moreover, there exists a certain degree of drug resistance.

Key words: aquatic product; *Vibrio parahaemolyticus*; serogroup; drug resistance

基金项目: 湖州市科技计划项目 (2015GZ18)

作者简介: 朱晓娟 (1976–), 女, 本科学历, 副主任技师, 主要从事微生物检验工作。

例。尤其是丙肝, 随着深圳市福田区 HIV/AIDS 病例的增加, 呈现快速增长趋势, 需要积极主动开展相关危险因素研究, 探讨积极有效的防控策略和措施, 有效阻断其传播。

参考文献

- [1] Lawrence R, Berge DM. Injury control: a global view [M]. Oxford University Press, 1996: 114.
- [2] 连志浩. 流行病学 [M]. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 1992: 225.
- [3] 樊景凤, 宋立超, 张喜昌, 等. 辽东湾沿海水及贝类中甲肝病毒分布的研究 [J]. 海洋科学, 2007, 31(1): 52–54.
- [4] 全国乙肝疫苗免疫接种实施方案 [J]. 疾病监测, 1992, 4(1): 93–94.
- [5] 王青, 梁晓峰, 陈园生. 丙型肝炎病毒的研究近况 [J]. 国际检

验医学杂志, 2006, 27(4): 349–351.

- [6] Burlone ME, Budkowska A. Hepatitis C virus cell entry: role of lipoproteins and cellular receptors [J]. J Gen Virol, 2009, 90(Pt 5): 1055–1070.
- [7] 陈水连, 陈田木, 李亚曼, 等. 长沙市 2005–2014 年丙型肝炎病毒流行状况分析 [J]. 中国热带医学, 2015, 15(10): 1204–1206.
- [8] 陈攸涛, 江家骥. 丙型肝炎病毒流行现状 [J]. 海峡预防医学杂志, 2009, 15(1): 19–21.
- [9] 李澄, 武贵森, 徐冬冬, 等. 1997–2010 年内蒙古丙型肝炎病毒流行病学特征分析 [J]. 中华预防医学杂志, 2012, 46(2): 184–185.
- [10] 赵桂让, 刘卫光, 齐亚辉, 等. 漯河市 2004–2013 年丙型肝炎病毒流行特征分析 [J]. 实用预防医学, 2014, 21(12): 1462–1464.
- [11] 谷金莲, 祁自柏, 孙德贵, 等. 输血后丙型肝炎病人 10 年前瞻性研究 [J]. 中国预防医学杂志, 2004, 5(2): 104–106.

收稿日期: 2017–04–11

副溶血性弧菌常存在于近海岸的海水、海底沉积物、鱼虾贝壳类海产品中,人们误食了被副溶血性弧菌污染的食物后易引起以腹痛、腹泻、恶心、呕吐、发热等为主要症状的急性胃肠炎。在中国沿海地区,副溶血性弧菌是居民夏、秋季食物中毒和急性腹泻的主要致病菌^[1]。为了解本地区市场上水产品副溶血性弧菌污染状况,本研究对 2013–2015 年湖州市食物中毒病例及主动监测水产品中副溶血性弧菌进行血清学分型和耐药性研究,为副溶血性弧菌感染预防和流行病学调查提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株来源 206 株副溶血性弧菌于 2013–2015 年从湖州市食物中毒病例肛拭子及监测水产品分离获得。其中食物中毒患者分离 42 株,监测水产品分离 164 株。

1.1.2 培养基和试剂 增菌液和血平板杭州天和微生物试剂有限公司提供,弧菌显色培养基购自法国柯玛嘉公司,副溶血性弧菌分型诊断血清购自日本生研力生研株式会社,均在有效期内使用。标准质控菌株大肠埃希菌 ATCC 25922、铜绿假单胞菌 ATCC 27853、金黄色葡萄球菌 ATCC 25923 均购自中国药品生物制品检定所。

1.2 方法

1.2.1 副溶血性弧菌的分离鉴定 分离参照 GB 4789.7–2013 进行,采用 VITEK2 全自动微生物分析系统进行鉴定。

1.2.2 O 抗原检测 将 3%氯化钠营养琼脂上的纯培养物,用 1 ml 3%氯化钠溶液冲洗,121 ℃ 2 h。4 000 r/min 离心 15 min,弃去上清液,再用 3%氯化钠溶液洗菌 2 次,制成浓厚的菌悬液,进行 O 抗原血清玻片凝集试验。同时应用 3%氯化钠溶液做对照试验。

1.2.3 K 抗原检测 将 3%氯化钠营养琼脂上的纯培养物,用 1 ml 3%氯化钠溶液冲洗,制成浓厚的菌悬液,用 K 多价和单因子血清做血清玻片凝集试验。同时应用 3%氯化钠溶液做对照试验。

1.2.4 药敏试验 挑取血琼脂上培养 18 h 的纯培养物制成菌悬液,用 VITEK2 全自动微生物分析系统进行测试。选用的 16 种药敏试剂为:哌拉西林/他唑巴坦、氨苄西林、头孢吡肟、头孢他啶、头孢唑啉、阿莫西林、亚胺培南、氨基糖苷、庆大霉素(GEN)、左氧氟沙星、萘啶酸、呋喃妥因、环丙沙星、妥布霉素、复方新诺明、氯霉素。药敏结果依据美国临床实验室标准化委员会

(NCCLS)方法手册判定。

2 结果

2.1 副溶血性弧菌血清群结果 对 206 株副溶血性弧菌进行血清学检测,食物中毒株主要血清群为 O3 群,占 71.4%,其次为 O4 群和 O1 群,分别占 19.1%和 7.1%;而监测水产品株共检出 7 个血清群,分别为 O1 群、O10 群、O2 群、O3 群、O5 群、O4 群和 O11 群,分别占 29.3%、19.5%、14.6%、12.2%、9.8%、7.9% 和 6.7%,见表 1。

表 1 206 株副溶血性弧菌血清群分布

血清群	食物中毒株		监测水产品株		合计	
	株数	构成比(%)	株数	构成比(%)	株数	构成比(%)
O1	3	7.1	48	29.3	51	24.8
O2	0	0.0	24	14.6	24	11.7
O3	30	71.4	20	12.2	50	24.3
O4	8	19.1	13	7.9	21	10.2
O5	0	0.0	16	9.8	16	7.8
O10	1	2.4	32	19.5	33	16.0
O11	0	0.0	11	6.7	11	5.3
合计	42	100.0	164	100.0	206	100.0

2.2 副溶血性弧菌血清型结果 对 206 株副溶血性弧菌进行血清学 K 抗原检测,42 株食物中毒分离菌株中,共分出 10 个血清型,以 O3:K6 为主,占 64.3%,其次是 O4:K8,占 14.3%。164 株监测食品分离菌株中,共分出 19 个血清型,无优势血清型,分布范围广,见表 2。

表 2 206 株副溶血性弧菌血清型分布

血清型	食物中毒株		监测水产品株		合计	
	株数	构成比(%)	株数	构成比(%)	株数	构成比(%)
O1	K56	1 2.4	0 0.0	1 0.5		
	K36	1 2.4	0 0.0	1 0.5		
	K37	0 0.0	5 3.0	5 2.4		
	K32	0 0.0	5 3.0	5 2.4		
	KUT	1 2.4	38 23.2	39 18.9		
O2	K3	0 0.0	9 5.5	9 4.4		
	K28	0 0.0	3 1.8	3 1.5		
	KUT	0 0.0	12 7.3	12 5.8		
O3	K6	27 64.3	3 1.8	30 14.6		
	K29	1 2.4	0 0.0	1 0.5		
	K7	0 0.0	3 1.8	3 1.4		
	K5	0 0.0	1 0.6	1 0.5		
	KUT	2 4.8	13 7.9	15 7.3		
O4	K8	6 14.3	0 0.0	6 2.9		
	K9	1 2.4	0 0.0	1 0.5		
	K34	0 0.0	1 0.6	1 0.5		
	K68	1 2.4	0 0.0	1 0.5		
	KUT	0 0.0	12 7.3	12 5.8		
O5	K17	0 0.0	2 1.2	2 0.9		
	KUT	0 0.0	14 8.5	14 6.8		
O10	K1	0 0.0	4 2.4	4 1.9		
	K9	0 0.0	2 1.2	2 0.9		
	KUT	1 2.4	26 15.9	27 13.1		
O11	K5	0 0.0	3 1.8	3 1.5		
	K11	0 0.0	8 4.9	8 3.9		
合计		42 100.0	164 100.0		206 100.0	

2.3 副溶血性弧菌耐药检测结果 对 206 株副溶血性弧菌进行药敏试验,对氨苄西林和阿莫西林的耐药率极高,均达 95% 以上,对头孢唑啉的耐药率分别达 66.7% 和 55.5%,亚胺培南、氨曲南、左氧氟沙星、萘啶酸、呋喃妥因、环丙沙星、妥布霉素、复方新诺明、氯霉素 9 种抗生素完全敏感。结果见表 3。

表 3 206 株副溶血性弧菌的药敏试验结果

抗生素	食物中毒株				监测水产品株			
	敏感	中敏	耐药	耐药率(%)	敏感	中敏	耐药	耐药率(%)
哌拉西林/他唑巴坦	40	1	2	2.4	158	5	3	1.8
氨苄西林	0	1	4	97.6	0	4	160	97.5
头孢吡肟	39	1	2	4.8	148	6	1	6.1
头孢他啶	39	3	0	0.0	160	3	1	0.6
头孢唑啉	9	5	28	66.7	65	8	91	55.5
阿莫西林	0	2	40	95.2	1	5	158	96.3
亚胺培南	42	0	0	0.0	164	0	0	0.0
氨曲南	42	0	0	0.0	164	0	0	0.0
庆大霉素	40	2	0	0.0	156	8	0	0.0
左氧氟沙星	42	0	0	0.0	164	0	0	0.0
萘啶酸	42	0	0	0.0	164	0	0	0.0
呋喃妥因	42	0	0	0.0	164	0	0	0.0
环丙沙星	42	0	0	0.0	164	0	0	0.0
妥布霉素	42	0	0	0.0	164	0	0	0.0
复方新诺明	42	0	0	0.0	164	0	0	0.0
氯霉素	42	0	0	0.0	164	0	0	0.0

3 讨 论

副溶血性弧菌是沿海地区的重要食源性病原菌,据我国食源性疾病监测网致病因素分析,由副溶血性弧菌引起的食源性疾病居微生物致病因素的首位。近年来,由于食品生产及流通的全球化、新的食品加工技术的应用、人们饮食方式的改变、食用新鲜海产品的人群越来越多,因此副溶血性弧菌引发的食品安全问题也越来越多。湖州近几年来由副溶血性弧菌引起食物中毒的比率最高,占 75.7%^[2]。副溶血性弧菌包括“O”、“K”、“H”3 种抗原,至今已发现 13 个 O 群和 65 个 K 抗原,可分为 845 个血清型。本次研究显示湖州市副溶血性弧菌血清群主要为 O1、O3 和 O10 群,其中食物中毒分离株以 O3 群为主,监测水产品分离株以 O1 和 O10 为主,两者的血清分群并不一致,这和谭海芳等^[3]的研究结果相同。食物中毒分离株血清分型以 O3:K6 为优势菌,占 64.3%,和我国某些地区副溶血性弧菌感染的优势株相一致^[4],可能和 O3:K6 血清型的副溶血性弧菌比其他血清型更容易导致腹泻和感

染有关^[5],而监测水产品分离株的血清型分布范围较广,共检测到 7 个血清群和 19 个血清型,无优势血清型,说明水产品分离株比食物中毒分离株的血清型别繁杂多变,和国内其他地区黎薇等^[6]和张红芝等^[7]报道一致。其中监测水产品中检测到 3 株 O3:K6,说明水产品中可能存在食物中毒感染的流行株,具有一定的潜在危险,虽未造成食源性疾病的暴发,但也需进一步关注和警惕。副溶血性弧菌不同的血清型别,其毒力强度是否不同^[8],有待进一步探讨。

本次研究中副溶血性弧菌对氨苄西林和阿莫西林的耐药率均达到 95% 以上,食物中毒分离株和监测水产品分离株对头孢唑啉的耐药率分别达 66.7% 和 55.5%,这与程苏云等^[9]的报道基本一致,但安秀华等^[10]分离的上海市售水产品中副溶血性弧菌对氨苄西林耐药率为 69.5%,阿莫西林则为 12.38%,和本研究不同,这可能与不同地区以及不同水产品饲料的抗生素添加剂有关。由于抗生素缺乏合理的应用和规范的管理,使耐药菌株日益增多,其耐药质粒会以结合方式在菌株间相互传递,因此副溶血性弧菌的耐药谱将会有一定的区域性,因此建议养殖饲料要按标准合理规范添加抗生素,减少耐药株的产生。

参考文献

[1] 茅倩英,向伦辉,沈隽卿,等. 2014 年上海市宝山区腹泻病监测结果分析[J]. 实用预防医学,2016,23(2):215-218.

[2] 吴晓芳. 细菌性食物中毒病原学检测分析[J]. 浙江预防医学,2006,16(1):37.

[3] 谭海芳,丁丽娜,林凤,等. 肇庆市副溶血性弧菌血清分型和耐药性研究[J]. 实用预防医学,2010,17(2):349-352.

[4] 周丽萍,王艳,徐岚,等. 江苏地区致病性副溶血性弧菌及大 流行克隆的研究[J]. 中国卫生检验杂志,2010,20(11):2719-2721,2916.

[5] Yeung PS, Hayes MC, DePaola A, et al. Comparative phenotypic, molecular, and virulence characterization of *Vibrio parahaemolyticus* O3:K6 isolates[J]. Appl Environ Microbiol,2002,68(6):2901-2909.

[6] 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.

[7] 张红芝,顾其芳,刘诚,等. 2009-2012 年上海市副溶血性弧菌血清分型研究[J]. 中国食品卫生杂志,2013,25(4):363-366.

[8] 谢利军. 副溶血性弧菌和奇异变形杆菌引起的食物中毒分析[J]. 中国卫生检验杂志,2007,17(1):156-157.

[9] 程苏云,翁景清,林香娟,等. 副溶血性弧菌食物中毒菌株的血清型、耐药性及基因检测[J]. 中国卫生检验杂志,2002,12(2):141-142.

[10] 安秀华,宁喜斌. 上海市市售水产品中副溶血性弧菌的分离、鉴定及耐药性研究[J]. 中国人兽共患病学报,2009,25(7):657-659.