

# 珠江河口水体 O1 群和 O139 群霍乱弧菌监测

王多春 王晓梅 钟豪杰 张静 谭海玲 陈经雕 李柏生 郑慧贞 崔志刚  
柯昌文 邓小玲 高永军 王子军 阚飙

**【摘要】** 目的 分析珠江河口水体 O1 群和 O139 群霍乱弧菌菌型特征,探讨环境水体监测的方法和疫情监测中的作用。方法 2006 年 3 月至 2007 年 2 月,在珠江河口选择 24 个水样采集点,每月采集一次,进行 O1 群和 O139 群霍乱弧菌的分离培养,并利用实时 PCR 监测样品增菌液中的 O1 群和 O139 群霍乱弧菌。采样同时测定气温、水温等气象资料。用脉冲场凝胶电泳(PFGE)对分离菌株进行分型分析。结果 监测期间共采样 862 份,霍乱弧菌分离阳性率 7.77%,实时 PCR 阳性率为 26.33%。按月的水样检测阳性率与水温变化趋势相似;城区监测点阳性率高于其他区域,在一家海产品批发市场排水口下游检测到产毒 O139 群菌株;菌株的菌型构成中,分离菌株主要为非产毒株;O1 群 El Tor 小川和稻叶型以及 O139 群菌株的分离无季节变化趋势;PFGE 分析 75 株分离株被分为 49 种带型,相似性为 57.4%~100%,表现出明显的多样性。结论 霍乱弧菌在珠江河口水体中广泛存在,并呈现多样性。水体监测提供产毒菌株的指示,可作为环境危险评价的指标,且能在霍乱弧菌的监测和霍乱疫情预警中发挥作用。

**【关键词】** 霍乱弧菌;监测;河口水体;分子生物学特征

**Distribution and molecular characteristics of *Vibrio cholerae* serogroups O1 and O139 isolates in estuary of Pearl River** WANG Duo-chun\*, WANG Xiao-mei, ZHONG Hao-jie, ZHANG Jing, TAN Hai-ling, CHEN Jing-diao, LI Bai-sheng, ZHENG Hui-zhen, CUI Zhi-gang, KE Chang-wen, DENG Xiao-ling, GAO Yong-jun, WANG Zi-jun, KAN Biao. \*State Key Laboratory for Infectious Disease Prevention and Control, National Institute of Communicable Disease Control and Prevention, Chinese Center of Disease Control and Prevention, Beijing 102206, China

Corresponding author: KAN Biao, Email: kanbiao@icdc.cn

**【Abstract】** **Objective** Through systematic monitoring of the number and strain types of O1 and O139 *Vibrio cholerae* in the Pearl River estuary waters to analyze its relevance with the temperature of environment, and the relevance between strains in water and isolates during outbreaks and epidemics as well as to estimate the methods used for environmental water detection and the potential role in cholera surveillance program. **Methods** Twenty-four stations along the Pearl River were selected and the water samples were collected monthly from March 2006 to February 2007. *V. cholerae* O1 and O139 strains were isolated from the samples. Real-time PCR established in our laboratory was used to detect *V. cholerae* O1 and O139. Air temperature and water temperature were collected during sampling. Pulsed field gel electrophoresis (PFGE) was applied in molecular typing of the isolates. **Results** 862 water samples were collected during the study period. A total number of 77 O1 and O139 *V. cholerae* were isolated in 67 water samples and the positive rates were 7.77% for isolation and 26.33% for real-time PCR. Seasonal trend of positive rates by month were approximately coincident with the change of water temperature. The positive rates in the stations in urban area were higher than those in other areas. Toxigenic O139 strains were found in one station located in downstream of a marine market. Most of the O1 and O139 isolates were non-toxigenic. No trend of seasonal variation of the strains was noticed. Within these 75 isolates, 49 PFGE patterns were identified and the patterns differed widely with the similarity of 57.4%-100%. **Conclusion** *V. cholerae* existed as the natural habitant in estuary water of the Pearl River and showed obvious genetic diversity. Data from monitoring waters might show the separation of strains with certain

基金项目:国家“863”高技术研究发展计划课题资助项目(2006AA02Z425);中国疾病预防控制中心应急预警资助项目

作者单位:102206 北京,中国疾病预防控制中心传染病预防控制所 传染病预防控制国家重点实验室(王多春、王晓梅、崔志刚、阚飙);广东省疾病预防控制中心(钟豪杰、谭海玲、陈经雕、李柏生、郑慧贞、柯昌文、邓小玲);中国疾病预防控制中心(张静、高永军、王子军)

王多春、王晓梅、钟豪杰、张静、谭海玲同为本文第一作者

通讯作者:阚飙, Email: kanbiao@icdc.cn

seasonal association. But the crowd did not show the relationship between the infections. Results from water surveillance program might provide indicators on the appearance of cholera pathogen which might be used in assessing the environmental risk of cholera epidemics as well as the alert of cholera.

**[Key words]** *Vibrio cholerae*; Surveillance; Estuarine water; Molecular characteristics

产毒的 O1 群和 O139 群霍乱弧菌是引起霍乱流行的病原体。有研究显示沿海地区霍乱的流行与河口水环境中霍乱弧菌的增殖有关<sup>[1]</sup>, 另外, 流行期间与人群生活密切的环境水体易受霍乱弧菌污染, 有可能成为持续流行的感染因素, 因此, 对霍乱流行或曾经流行地区的水环境进行监测是霍乱防治工作的重要组成部分, 对其开展监测可提供环境污染危险性的评价及对传播溯源的分析, 为制定霍乱防控对策提供科学依据。通过监测环境水体霍乱弧菌污染状况可以起到早期预警的作用, 另外开展环境水体中非产毒霍乱弧菌的监测, 也可提供水体是否适于霍乱弧菌的增殖以及消长变化的信息。广东省在我国霍乱几次大流行中均首先出现流行, 并且该省位于我国最南端, 气温高, 降雨多, 因此我们在珠江河口区域设立监测点, 通过连续监测水体中霍乱弧菌分布的流行病学特征及菌株分子生物学特征, 建立环境水体霍乱弧菌的检测程序, 分析水体中随季节变化的霍乱弧菌消长情况, 探索开展河口水体霍乱弧菌监测的可行性。

### 材料与方 法

1. 监测区域的选择和采样点设置: 尽可能选择珠江河口霍乱高发区并能代表人群生活与生态环境的水体作为监测区域。本次共设立 4 个不同监测区域, 24 个监测点, 分别为广州市老城区河段 (Z1~Z7、Z12)、城郊新区河段 (Z8~Z11、Z22)、城郊农渔业区域的外河道 (Z13、Z16、Z18~Z24) 和城郊农渔业围垦区域的内河道 (Z14、Z15、Z17)。根据以往监测资料, 霍乱弧菌检出率较高的监测点及上一年疫点、与既往疫情有水道关联的区域、可能与海水产品霍乱弧菌污染有关的码头附近区域。各监测点在确立后使用卫星定位仪 (美国 GARMIN GPS-60 型) 进行定位, 以便在后续的监测中确定采样点。这些采样点分布在东经 113°13.195'~113°32.674', 北纬 23°07.360'~22°42.280' 范围内。

2. 样品采集: 2006 年 3 月至 2007 年 2 月期间, 每月采集全部监测点水体一次。每个监测点上间隔 10~20 m, 分别用灭菌水样瓶采集 3 份 450 ml 表层水 (30 cm 以内), 加盖密封后在常温下当天送抵实验

室做霍乱弧菌分离培养和实时 PCR 检测。每月采样数量为 74 份 (Z3 号采样点位于黄沙水产品交易市场排水口下游, 增加样品至 5 瓶; 3 月份每监测点采集 2 瓶)。采样同时测定环境和水体温度 (便携式温度计, BMH 公司产品)。

3. 培养基和诊断血清: 选择性分离霍乱弧菌的培养基选用庆大霉素培养基和 TCBS (北京陆桥公司产品 and 广东环凯公司产品); O1 群和 O139 群诊断血清使用中国药品生物制品检定所制品。

### 4. 实验方法:

(1) 增菌及分离: 增菌培养采用 10 倍浓缩碱胨水增菌培养法 [《霍乱防治手册》(5 版)]。按实际操作有改动: 一次增菌是在 450 ml 水样中加 NaOH 调整 pH 值为 8.4, 加入 10 倍浓缩碱胨水 50 ml, 置 37℃ 培养 12 h。二次增菌时, 取 0.2 ml 一次增菌液转种到 10 ml 碱性蛋白胨水中。两次的增菌液分别划线接种庆大霉素琼脂和 TCBS 琼脂平板各 1 块, 37℃ 8~12 h 培养。

(2) 培养菌落的鉴定: 从 TCBS 琼脂平板上挑取 5 个以上的 (少于 5 个的全部挑取) 疑似菌落接种于营养琼脂置 37℃ 18~24 h 纯培养, 取纯培养物进行 O1 群及 O139 群霍乱诊断血清玻片凝集试验, 庆大霉素琼脂上的疑似菌落直接做凝集试验, 每份样品至少挑取 5 个以上的疑似菌落 (少于 5 个全部挑取)。血清玻片凝集试验阳性的 O1 群菌株进一步做噬菌体-生物分型鉴定 [《霍乱防治手册》(5 版)]。

(3) 毒素基因 *ctxAB* 的常规 PCR 检测: 扩增产物全长 749 bp, 引物序列为 5'-ATT TTG AGG TGT TCC ATG TG-3' 和 5'-ATA AAG CAG TCA GGT GGT CT-3'。扩增参数: 94℃ 预变性 5 min; 94℃ 30 s, 55℃ 40 s, 72℃ 1 min, 30 个循环; 最后 72℃ 延伸 7 min。

(4) 实时 PCR 检测: 水样的一次增菌液提取 DNA, 利用实时 PCR 检测 O1、O139 群霍乱弧菌 *rfb* 基因<sup>[2]</sup>, 以判断水体标本中是否含有霍乱弧菌。

(5) 脉冲场凝胶电泳 (PFGE): 按照 PulseNet 监测网络中霍乱弧菌的 PFGE 标准分型方法进行<sup>[3]</sup>, 胶块内染色体 DNA 的酶切用内切酶 *NotI* 酶切 (标准菌株 H9812 用 *XbaI* 酶切, 内切酶购自 TaKaRa 公司), 在

脉冲场电泳仪 CHEF DRIII(Bio-Rad 公司)上电泳,程序为 6.0 V/cm, 2-10 s, 夹角 120°, 13 h; 然后为 6.0 V/cm, 20-25 s, 夹角 120°, 6 h。凝胶的图像由凝胶成像仪 Gel Doc 2000 (Bio-Rad 公司)读取, 利用 BioNumerics 软件 (Applied Maths BVBA) 分析图谱, 得到菌株带型相似性的聚类分析树图。

结 果

1. 霍乱弧菌的检出情况: 2006 年 3-9 月从 23 份样本中分离到 O1 群菌株和 5 份样本中分离到 O139 群菌株; 而利用实时 PCR 检测, 阳性份数为 76 份 (O1 群) 和 43 份 (O139 群), 其中所有常规分离出菌株的标本, 实时 PCR 检测也均为阳性, 同时血清群检测结果也一致, 因此在 2006 年 10 月至 2007 年 2 月间, 我们先根据采集水样的实时 PCR 的初筛结果, 阳性标本再进行菌株分离。这样, 在 2006 年 3 月至 2007 年 2 月期间的 12 次采集样本共 862 份中, 分离到 O1 群霍乱弧菌 56 株、O139 群 21 株, 总阳性率为 7.77%。实时 PCR 检测 O1 群和 O139 群 *rfb* 基因阳性分别为 144 份和 83 份, 总阳性率为 26.33%。

2. 检出率按月分布: 水样本阳性检出率最高月份为 2006 年 8 月 (12.16%), 最低月份为 2006 年 7 月 (2.74%) (表 1、图 1), 但是因为该月采集标本前一周连续降大雨, 珠江水流量明显增加, 认为因河口地区增加的水量冲刷而致分离率降低。从全部监测时段分析, 能较明显地看出以秋冬季节分离率较低, 而夏秋季分离率相对较高。全年监测时收集的平均气温波动范围为 18.4~33.3℃, 平均水温波动范围为 17.8~30.4℃。月检出率的最高点与平均环境温度和平均水温的最高点一致, 同时水体监测点分离阳性率与实时 PCR 阳性检出率一致 (图 1)。

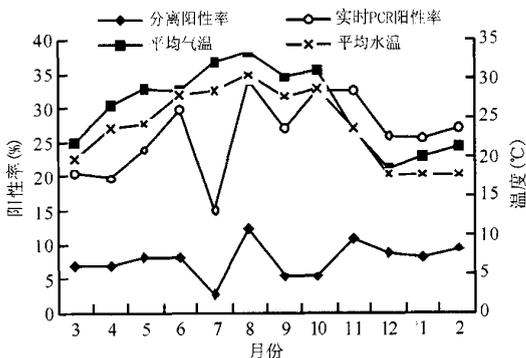


图1 珠江河口监测点不同月份霍乱弧菌检测阳性率与温度变化的关系

表1 珠江河口监测点按月检出霍乱弧菌阳性率

年-月	采样份数	分离阳性		RT-PCR 阳性		月平均温度(°C)		
		份数	率 (%)	菌株数 <sup>a</sup>	株数	率 (%)	环境	水体
2006-03	44	3	6.82	3	9	20.45	21.8	19.6
2006-04	71	5	7.04	5	14	19.72	26.5	23.5
2006-05	75	6	8.00	11	18	24.00	28.6	24.2
2006-06	74	6	8.11	7	22	29.73	28.5	28.0
2006-07	73	2	2.74	3	11	15.07	32.0	28.4
2006-08	74	9	12.16	9	25	33.78	33.3	30.4
2006-09	74	4	5.41	4	20	27.03	30.2	27.6
2006-10	74	4	5.41	4	24	32.43	31.0	28.8
2006-11	74	8	10.81	9	24	32.43	23.4	23.6
2006-12	81	7	8.64	7	21	25.93	18.4	17.8
2007-01	74	6	8.11	7	19	25.68	20.0	17.8
2007-02	74	7	9.46	8	20	27.03	21.5	17.8
合计	862	67	7.77	77	227	26.33	26.27	23.96

注: <sup>a</sup> 一份水体样本中可同时分离到 O1 群和 O139 群菌株

3. 各监测点的分离阳性率: 在 24 个监测点的 12 个月检测中, 霍乱弧菌阳性率最高的点为 Z3 (黄沙水产品交易市场排水口下游, 113°14.062' 和 23°06.566', 阳性率 43.10%), 有 8 个点未检出霍乱弧菌, 这些点主要位于广州城郊新区和广州城郊农、渔业区域, 该两个区域距老城区较远, 人群密度相对低。所有监测点检出 O1 群和 O139 群霍乱弧菌菌株总阳性率为 8.93% (77/862) (表 2)。

表2 监测各月份霍乱弧菌菌型分布

年-月	O1 群小川型	O1 群稻叶型	O139 群	合计
2006-03	0(0.0)	1(2.3)	2(4.6)	3
2006-04	0(0.0)	5(7.0)	0(0.0)	5
2006-05	0(0.0)	10(13.3)	1(1.3)	11
2006-06	3(4.1)	1(1.4)	3(4.1)	7
2006-07	1(1.4)	1(1.4)	1(1.4)	3
2006-08	2(2.7)	3(4.1)	4(5.4)	9
2006-09	1(1.4)	1(1.4)	2(2.7)	4
2006-10	1(1.4)	3(4.1)	0(0.0)	4
2006-11	3(4.1)	5(6.8)	1(1.4)	9
2006-12	3(3.7)	4(5.0)	0(0.0)	7
2007-01	1(1.4)	3(4.1)	3(4.1)	7
2007-02	0(0.0)	4(5.4)	4(5.4)	8
合计	15(1.8)	41(4.8)	21(2.4)	77

注: 括号外数据为菌株数, 括号内数据为阳性率 (%)

各监测区域中以老城区检出数最高, 除 Z1 监测点无检出外, 其余各点均有检出, 并以 Z3、Z6 (113°15.043' 和 23°06.695')、Z7 (113°16.994' 和 23°06.895') 为检出率高峰。城郊新区的 5 个监测点中, 除 Z8 (113°18.086' 和 23°03.05') 在 2007 年 2 月有菌株 (O139 群) 检出外, 其余各点全年均无检出。城郊农渔业区域的外河道、城郊农渔业围垦区域的内河道 3 个监测点均有霍乱弧菌检出。

4. 霍乱弧菌菌型分布: 从按月分布看, 在检出的

77 株霍乱弧菌中, O1 群稻叶型 41 株(阳性率 4.8%), O139 群 21 株(阳性率 2.4%)、O1 群小川型 15 株(1.8%), 见表 2。稻叶型每月均可分离到, 以 4、5、11 月较多, 小川型从 6 月开始出现, O139 群除 4、10 和 12 月外每月均分离到, 各菌型在每月均无季节变化趋势。

采样区的菌型分布, 广州城郊新区的 5 个监测区中只有 Z8 检出 O139 群, 其余各点全年均无检出。老城区、城郊农渔业区和南沙围垦区中, O1 群的两类型别均有, 但老城区以稻叶型为主, 城郊农渔业区和南沙围垦区以小川型为主(图 2)。

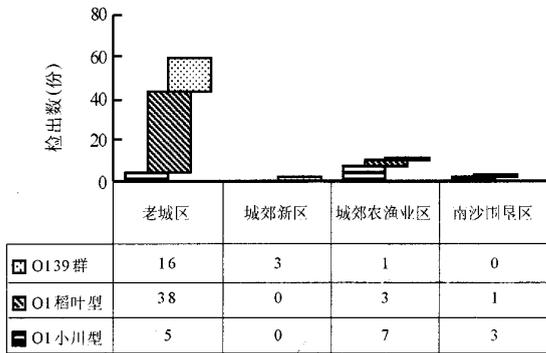


图 2 广州市不同采样区段检出霍乱弧菌菌型构成分布

5. 分离株的毒素基因检测: 本次检测于 2006 年 3 月及 2007 年 2 月, 在位于洲头嘴(Z2)和黄沙水产品批发市场排水口下游的 Z3 和 Z5(113°13.195', 23°07.360') 监测点分离到 3 株含有毒素基因 *ctxAB* 的 O139 群菌株, 该市场涉及大量海产品的批发销售, 该点监测期间的分离率也最高, 因此这些产毒的菌株也可能与海水产品带菌有关系。其余菌株包括 O1 群和 O139 群的毒素基因均为阴性, 提示环境中分离株主要为非产毒株。

6. 分离株的 PFGE 分析: 分离菌株的 PFGE 分型相似度范围在 57.4% ~ 100% (图 3)。这些非产毒株的带型表现了明显的多样性, 来自于一个监测点上不同月份的菌株, PFGE 带型有很大的差异(Z3, 相似性差异最大为 74%), 但也可分离到带型一致的菌株(如在 Z7 点, 分别在 2006 年 6、7、8 月检测到 3、1、3 株带型一致的 O139 群菌株), 另外来自同一采集时间、不同监测点的菌株, 甚至来自不同月份、不同监测点的菌株, 其相似性也可达 100%, 且噬菌体-生物分型也一致(例如 Z3 和 Z7 点中 6 月和 11 月的一些分离株), 提示在特定时间内存在较多的某一克隆群的非产毒株。

在黄沙水产品批发市场排水口下游分离到的 2 株产毒 O139 群霍乱弧菌, 其 PFGE 带型一致, 推测与海产品污染可能有关联。广东茂名市 2006 年 5 月份出现 2 例产毒 O139 群菌株引起的散发病例, 我们比较了这些菌株的 PFGE 带型, 但并不一致(图 3, 病例分离株菌株号为 V06-13、V06-15)。

### 讨 论

本次监测结果显示, 霍乱弧菌在温度适宜的河流入海口水体中广泛存在, 并以非产毒的菌株为主。霍乱弧菌的生态学研究显示, 在霍乱呈地方性流行的区域, 其流行具有的明显季节倾向, 与一些环境生态因素有关。环境中霍乱弧菌数量的增多与水温的升高、浮游动植物的增加、盐度变化等有关联<sup>[4-6]</sup>。本次一年周期的珠江入海口监测平均水温范围在 17.8~30.4℃, 全年均能检测到霍乱弧菌, 因此珠江口是适宜霍乱弧菌生长的水体。

由于珠江流域属湿热多雨的热带、亚热带气候, 气温和水温在一年内的变化不明显, 监测的 12 个月中霍乱弧菌检出率也无明显波动, 但仍能显示夏秋季节检出率高和冬春季检出率低的趋势, 整体上与气温和水温的波动相关联。监测中也发现 7、9 和 10 月的检出率偏低。7 月份时计划的采样日期恰在连降暴雨之后, 广东省水文所提供该月采样时的珠江水流量资料, 表明监测点水位升高, 珠江水流量增加, 推测雨水的稀释造成霍乱弧菌在珠江水体的数量减少。实时 PCR 是初筛水体增菌样本中 O1 群和 O139 群菌株的敏感方法, 能排除分离的操作误差<sup>[2]</sup>, 该月份实时 PCR 阳性检出率也最低。10 月份水体样本菌株分离率低但实时 PCR 阳性率仍较高, 可能是因为分离培养工作质量偏低; 9 月份的分离培养和实时 PCR 检测阳性率均偏低, 其原因尚不清楚。本次水体监测中实时 PCR 阳性率的按月变化曲线与水温变化曲线更相似, 显示了实时 PCR 更敏感的检测能力。

本监测项目中, 我们沿城区和郊区入海口设立 24 个监测点, 其中以老城区各点检出率最高。老城区人口密集, 排污、市场等因素可能是与之相关的因素。黄沙水产品批发市场排水口下游的 Z3 检出率为各点中最高, 且检出过产毒的 O139 群菌株。该市场是华东地区最大的水产品交易批发市场, 每天进行大量的海水产品的批发交易, 冲刷贝壳类的水以及鱼类养殖水被排放入珠江, 因此推测该点的高

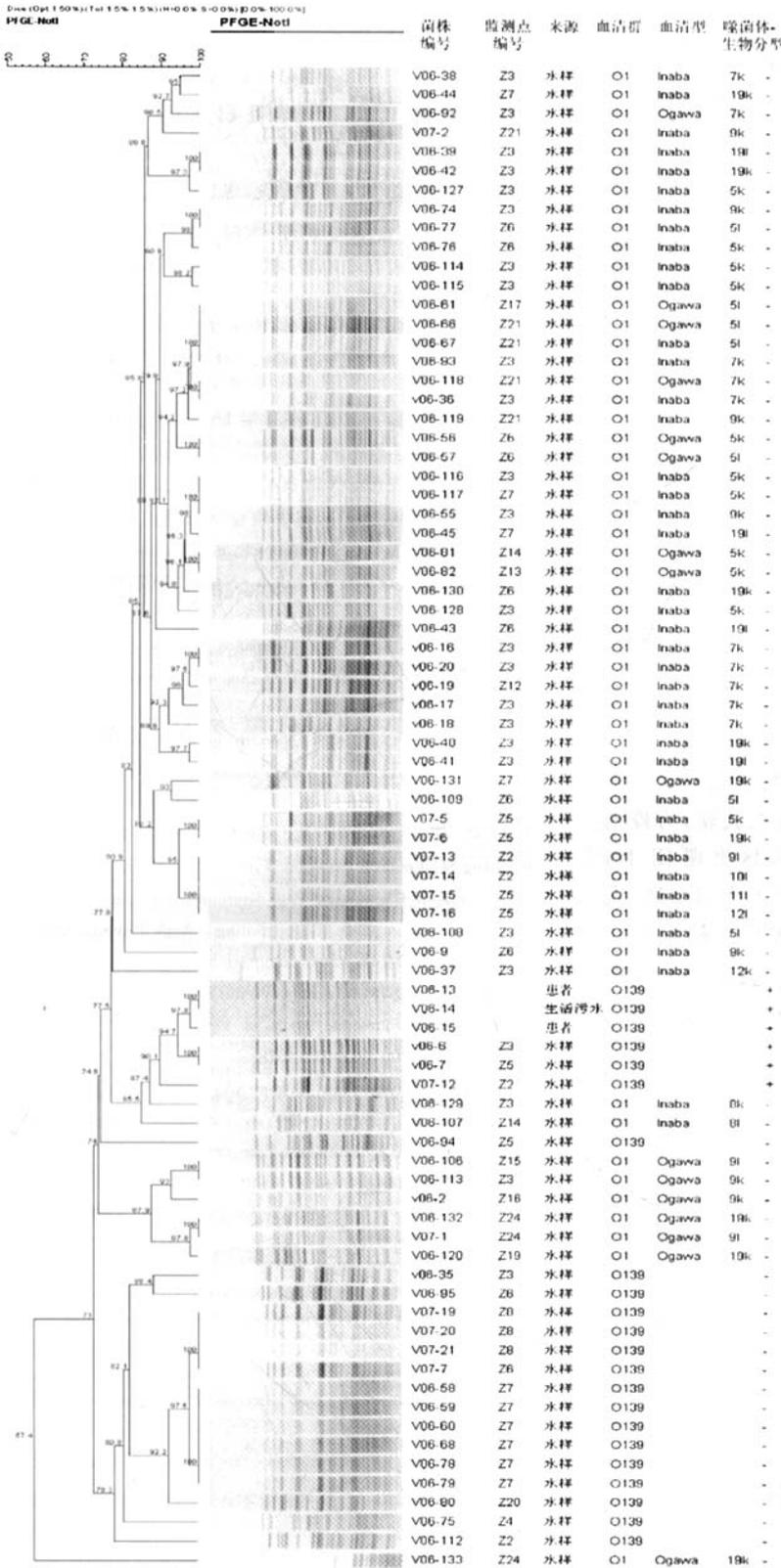


图3 分离菌株的 PFGE 分型

检出率可能和海水产品的带菌有关。城郊新区的 5 个采样点,除一个点在 2007 年 2 月检出 O139 菌株外,其余各点全年均未检出。此区为广州市新开发的区域,人口密度较老城区稀疏,受人群活动干扰相对较少。

本次分离菌株的菌型构成以 O1 群稻叶型为主,O139 群和 O1 群小川型也各占一定的比例。监测表明,春季以 O1 群稻叶型霍乱弧菌为主,O139 群有一定的比例,未分离到 O1 群小川型菌株;夏、秋、冬季三种菌型混合存在,但不能确定不同时间或不同地区是否固定分布有不同的菌型。霍乱弧菌在江河和港湾地区是正常细菌菌群的组成部分,环境中分离的霍乱弧菌多为非 O1/非 O139 群或 O1 群和 O139 群非产毒株,在非流行区和非流行期,环境中分离的 O1 群霍乱弧菌大多为无毒株<sup>[6]</sup>。霍乱样腹泻主要由霍乱弧菌分泌的霍乱肠毒素引起,主要致病基因簇聚集在染色体的几个区域,这些基因簇可以水平转移,提示环境中不产毒的霍乱弧菌获得毒力基因簇,能更好的适应人肠道环境和获得更多的增殖机会<sup>[7]</sup>。在霍乱监测中也提出了新的问题,即必须密切关注可能的新病原菌的出现<sup>[8]</sup>。本次监测显示,在非流行期自然水体中也容易分离到 O1 群和 O139 群的非产毒株,这些菌株是否容易经带霍乱毒素基因的噬菌体 CTXΦ 的溶原性转换而成为致病株,或是否这类细菌存在这种转移的屏障,这些问题既需要基础研究中的关注,也需要霍乱监测中细致的工作,包括对产毒株及其同时或早期的环境非产毒株的检测与比较,因此,对于环境

中非产毒霍乱弧菌的研究和监测是必要的。

本次珠江水体监测获得的 O1 群和 O139 群分离株,其染色体 DNA 的 PFGE 分析表现了明显的多样性,显示出霍乱环境非产毒株分子型别的多态性。以前我们对非产毒株的 PFGE 分析以及其他文献的研究中<sup>[9,10]</sup>,环境非产毒株也表现明显的遗传多样性。这个结果也提示环境中存在多种多样的 O1 群和 O139 群霍乱弧菌非产毒株,没有优势的克隆群,是河口水体霍乱弧菌的一种自然生态特征,似乎可显示这些非产毒株并不是适应环境的优势菌群,其演变为产毒株并成为优势菌群的能力也有限。如果在环境水体监测中出现了非产毒的优势菌型,这种菌株似乎代表了更强的适应能力和更多的增殖机会,获得 CTX $\Phi$  而演变为产毒株的可能性也会增加<sup>[11]</sup>。

本次监测是在霍乱的非流行期开展的,珠江水体监测未检测到 O1 群产毒株,2006 年广东省也未出现 O1 群产毒株引起的霍乱流行。在水产品批发市场排水口下游分离到 O139 群产毒株,应可作为水产品监测和环境中霍乱弧菌污染的指示。

开展河口水体的霍乱弧菌监测,也希望能发现产毒菌株以及分析与人群流行菌株的关联,为疫情预警服务。2005 年我国东南沿海地区出现 El Tor 稻叶型菌株的流行,在一些水体包括入海口水体、人群生活区的水体中分离到与流行菌型一致的产毒株,显示了开展水体监测的重要性。同时既要监测和分析环境中产毒株的特征,还应该关注环境非产毒株的特征,这类菌株的检出能显示是否具有适宜致病菌株生存的环境条件。非流行期的环境水体监测可能会作为疫情预测指标,在流行期开展的监测分析可作为环境中霍乱弧菌感染危险的评价。因此,连续地对外环境进行监测,掌握霍乱流行间歇期和流行期环境霍乱弧菌的生存状况以及生态特征规律,才能为进一步探索和阐明霍乱流行发生的规律

及产毒霍乱弧菌菌株的进化提供依据。

#### 参 考 文 献

- [1] Faruque SM, Islam MJ, Ahmad QS, et al. Self-limiting nature of seasonal cholerae epidemics: role of host-mediated amplification of phage. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(17): 6119-6124.
- [2] 王晓梅,王多春,谭海玲,等. 实时 PCR 检测 O1 群和 O139 群霍乱弧菌方法的建立及应用. *中华流行病学杂志*, 2007, 28(8):768-771.
- [3] 刘红露,张京云,冯泽惠,等. 脉冲场凝胶电泳分型技术在追溯 O139 霍乱传染来源中的应用. *中华流行病学杂志*, 2006, 27(2):102-106.
- [4] Brad L, Louisa B, Anwar H, et al. Climate and infectious disease: use of remote sensing for detection of *Vibrio cholerae* by indirect measurement. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(4): 1438-1443.
- [5] Merrell DS, Bulter SM, Qadri F, et al. Host-induced epidemic spread of the cholera bacterium. *Nature*, 2002, 417(6889): 642-645.
- [6] Faruque SM, Albert MJ, Mekalanos JJ. Epidemiology, genetics, and ecology of toxigenic *Vibrio cholerae*. *Microbiol Mol Biol Rev*, 1998, 62(4):1301-1314.
- [7] Beltran PG, Delgado A, Navarro, et al. Genetic diversity and population structure of *Vibrio cholerae*. *J Clin Microbiol*, 1999, 37:581-590.
- [8] 阙颀. 霍乱监测的新问题. *疾病监测*, 2006, 19(1):16-17.
- [9] Jiang SC, Louis V, Choopun N, et al. Genetic diversity of *Vibrio cholerae* in Chesapeake Bay determined by amplified fragment length polymorphism fingerprinting. *Appl Environ Microbiol*, 2000, 66:140-147.
- [10] Chakraborty S, Mukhopadhyay AK, Bhadra RK, et al. Virulence genes in environmental strains of *Vibrio cholerae*. *Appl Environ Microbiol*, 2000, 66:4022-4028.
- [11] Bo Pang, Meiyang Yan, Zhigang Cui, et al. Genetic diversity of toxigenic and nontoxigenic *Vibrio cholerae* serogroups O1 and O139 revealed by array-based comparative genomic hybridization. *J Bacteriol*, 2007, 189:4837-4849.

(收稿日期:2007-09-29)

(本文编辑:张林东)