

·监测·

广东省2009年副溶血弧菌暴发与散发菌株的病原学特征分析

柯碧霞 谭海玲 李柏生 何冬梅 马聪 刘美真 陈经雕 柯昌文

【摘要】 目的 了解2009年广东省副溶血弧菌食物中毒分离株和腹泻患者监测分离株的血清分型、毒力基因携带情况及分子特征。方法 对95株副溶血弧菌食物中毒分离株和15株腹泻患者分离株进行血清分型,耐热直接溶血素相关基因(*trh*)和耐热直接溶血素基因(*tdh*)PCR检测以及选取不同血清型副溶血弧菌81株进行脉冲场凝胶电泳(PFGE)分子分型。结果 从监测腹泻患者分离的15株副溶血弧菌,血清型以O3 : K6(46.67%)和O4 : K8(33.33%)为主;从11起副溶血弧菌食物中毒分离的95株菌,血清型以O3 : K6(44.21%)和O4 : K8(28.42%)居多;7株食品分离株都不是O3 : K6血清型;93株(84.54%)为*tdh⁺**trh⁻*菌株,13株(11.81%)为*tdh⁻**trh⁻*菌株,3株(3.65%)为*tdh⁺**trh⁺*菌株。81株副溶血弧菌的PFGE相似值为57.7%~100.0%,被分为36种不同的PFGE型别,PFGE001型和029型为2009年广东省副溶血弧菌优势PFGE型别。结论 2009年广东省引起感染性腹泻和食物中毒的副溶血弧菌以O3 : K6和O4 : K8型为主要血清型,多数菌株携带*tdh*基因,存在优势PFGE型别菌株不断引起各地区的散发和暴发。

【关键词】 副溶血弧菌;暴发;散发;病原学特征

Etiologic characteristics of *Vibrio parahaemolyticus* strains causing outbreaks and sporadic cases in Guangdong, 2009 KE Bi-xia, TAN Hai-ling, LI Bai-sheng, HE Dong-mei, MA Cong, LIU Mei-zhen, CHEN Jing-diao, KE Chang-wen. Guangdong Provincial Center for Disease Control and Prevention, Guangzhou 510300, China

Corresponding author: KE Bi-xia, Email:kebixia@live.cn

This work was supported by a grant from the Foundation of Medical Science and Technology Research of Guangdong Province (No. A2010061).

【Abstract】 Objective To study the serotypes, virulence features and molecular characteristics of *Vibrio parahaemolyticus* isolated in food poisoning cases and surveillance program on diarrhea patients in Guangdong, 2009. Methods 95 *Vibrio parahaemolyticus* strains from food poisoning cases and 15 strains from surveillance program on diarrhea patients were serotyped and detected for *tdh* (thermostable direct hemolysin, *tdh*) and *trh* (*tdh*-related hemolysin gene, *trh*) by PCR. 81 sero-variant *Vibrio parahaemolyticus* strains were selected through PFGE subtyping. Results There were 15 *Vibrio parahaemolyticus* strains isolated from surveillance program on diarrhea patients and 95 strains were isolated from 11 *Vibrio parahaemolyticus*-caused food poisoning cases in 2009. Among these strains, O3 : K6 (46.67% and 44.21%) and O4 : K8 (33.33% and 28.42%) were the dominant serotypes, but not the 7 food-borne strains. There were 93 (84.54%) *tdh⁺**trh⁻*, 13 (11.81%) *tdh⁻**trh⁻*, and 3 (3.65%) *tdh⁺**trh⁺* strains. The similarity value was between 57.7% to 100.0% of the 81 strains after PFGE sub-typing method and 36 PFGE subtypes were identified. PFGE001 and PFGE029 appeared to be the dominant subtypes. Conclusion O3 : K6 and O4 : K8 were the most dominant serotypes in *Vibrio parahaemolyticus*-caused diarrhea and food poisoning cases in Guangdong and *tdh* were detected in most of the strains. Dominant PFGE subtypes were causing both sporadic and outbreak cases in different areas in Guangdong province.

【Key words】 *Vibrio parahaemolyticus*; Outbreak; Sporadic; Etiologic characteristics

副溶血弧菌是夏秋季沿海地区食物中毒和急

性腹泻的主要病原菌。近年,我国副溶血弧菌引起的食物中毒已超过沙门菌,成为首要的食源性致病菌^[1],特别是在一些沿海城市,副溶血弧菌食物中毒占细菌性食物中毒总数的60%以上。2003—2005年广东省水产品中副溶血弧菌的检出率高达

36.19%^[2]。为了解广东省腹泻患者中副溶血弧菌的感染状况,2009年在全省10所医院对腹泻患者进行副溶血弧菌监测,同时收集副溶血弧菌食物中毒的相关菌株,以分析广东省副溶血弧菌暴发菌株和散发菌株的血清型分布、毒力基因携带情况及分子特征。

材料与方法

1. 菌株来源:

(1) 散发菌株:来源于广东省2009年食源性疾病监测。选择广东省东(汕头市和揭阳市)、南(广州市)、西(肇庆市和湛江市)、北(韶关市)、中部(东莞市和惠州市)8个城市的10所医院为哨点医院。采集腹泻患者粪便标本进行副溶血弧菌检测。

(2) 暴发菌株:95株食物中毒副溶血弧菌暴发菌株分别由东莞、湛江、清远、潮州和肇庆市疾病预防控制中心于2009年从各地11起副溶血弧菌食物中毒事件中分离。

2. 仪器:PCR扩增仪为德国Eppendorf公司产品。CHEF MAPPER脉冲场凝胶电泳仪和GEL Doc EQ凝胶成像分析系统为美国Bio-Rad公司产品。比浊仪为美国DADE BEHRING公司产品。

3. 试剂:诊断血清购自日本Denka Seiken公司。API NE手工细菌生化鉴定条和Cary Blair运送培养基为法国生物梅里埃产品,Not I酶购自中国宝生物工程(大连)有限公司,Xba I酶购自美国Promega公司,琼脂糖为美国Cambrex公司生产的SeaKem Gold Agarose,蛋白酶K为MERCK公司产品。基因组DNA小量提取试剂盒购自天根试剂公司。所有试剂均在有效期内使用。

4. 方法:

(1) 血清学试验:用3%NaCl TSA斜面的新鲜培养物做玻片凝集检测K抗原。取新鲜培养物与含3%NaCl的5%甘油溶液混匀制成菌悬液,121℃灭菌1 h,以破坏K抗原,灭菌后4000 r/min离心15 min,弃上清液,用3%NaCl溶液重悬菌体,用于检测O抗原。用3%NaCl做自凝对照。

(2) 细菌DNA提取:过夜培养的纯菌株用细菌基因组DNA小量提取试剂盒(天根试剂公司)提取,按试剂盒操作方法进行^[3]。

(3) *tdh*和基因PCR鉴定:耐热直接溶血素基因(thermostable direct hemolysin,*tdh*)和耐热直接溶血素相关基因(thermostable related hemolysin,*trh*)引物序列参照文献[4]。PCR反应体系为25 μl含Taq Premix (2×) 12.5 μl,每条引物0.4 μmol/L及

1 μl的DNA模板(Taq Premix 购自TaKaRa公司,引物由上海生工生物工程有限公司合成)。扩增条件为94℃预变性3 min,94℃变性40 s,60℃退火40 s,72℃延伸40 s,共30个循环,最后一个循环72℃3 min。反应产物取5 μl与1 μl 6×Loading Buffer混匀后,加入到1%琼脂糖凝胶中,在100 V条件下电泳40 min,电泳后的胶块置于1%的EB染缸中,摇动染色10 min后,在BioRad Gel Doc 2000凝胶成像系统中观察记录结果。

(4) 脉冲场凝胶电泳(PFGE)分型:参照美国PulseNet的副溶血弧菌PFGE的标准操作方法。

结 果

1. 血清学分型:2009年广东省食源性疾病监测网的10所哨点医院共检测腹泻患者粪便标本1599份,分离到副溶血弧菌15株(散发株),血清学分型为O3:K6(7株,46.67%),O4:K8(5株,33.33%),O1:K1,O1:K36和O1:KUT各1株。同年共收到11起副溶血弧菌食物中毒的暴发菌株95株,其中患者分离株88株,食品分离株7株。除1株未能分型外,其余94株菌共分得15种血清型,主要集中在O1、O2、O3、O4、O8共5个血清群;血清学分型以O3:K6和O4:K8血清型为主,其中O3:K6血清型42株(44.21%),O4:K8血清型27株(28.42%),主要分离自湛江、潮州、东莞、清远和肇庆地区;食品分离株均非O3:K6血清型。11起食物中毒中只有2起能同时从患者和可疑食品中分离到相同血清型别的副溶血弧菌,或食物分离株与患者分离株的血清型不一致,或同一起食物中毒分离株存在多种血清型(表1)。

2. 毒力基因:对110株副溶血弧菌(15株散发菌株和95株暴发菌株)用PCR检测*tdh*和基因。结果93株(84.54%)为*tdh*⁺*trh*⁻菌株,13株(11.81%)为*tdh*⁻*trh*⁻菌株,3株(3.65%)为*tdh*⁺*trh*⁺菌株。110株中有7株为食物中毒的可疑食物分离株,其余103株均为患者分离株。食物分离株中有4株为*tdh*⁻*trh*⁻菌株,3株为*tdh*⁺*trh*⁻菌株。患者分离株以*tdh*⁺*trh*⁻为主(94.17%),携带*tdh*及基因的菌株分别为87.27%和2.70%。同一食物中毒分离株的*tdh*和基因携带情况多数一致,但也有例外,如表1中第9起食物中毒的13株副溶血弧菌中,有7株为*tdh*⁻*trh*⁻菌株,2株为*tdh*⁺*trh*⁺菌株,其余为*tdh*⁺*trh*⁻菌株。

3. PFGE分型:对2009年分离的暴发与散发副溶血弧菌共81株用Not I限制性内切酶酶切进行

表1 2009年广东省监测地区副溶血弧菌食物中毒菌株血清学分型

食物中毒序号	地区	菌株数	血清学分型	血清型株数	患者分离株数	食品分离株数
1	湛江	2	O4 : K8	2	1	1
2	东莞	15	O3 : K6 O4 : K8	13 2	13 2	0 0
3	潮州	49	O3 : K6 O3 : K29 O4 : K8 O4 : K68 O1 : KUT	15 2 19 2 1	15 2 19 2 1	0 0 0 0 0
4	东莞	3	O3 : K6 O1 : KUT	2 1	2 1	0 0
5	清远	2	O4 : K34	2	2	0
6	东莞	7	O3 : K6 O4 : K34 O4 : KUT O1 : K32	3 1 2 1	3 0 2 0	0 1 2 1
7	湛江	3	O3 : K6	3	3	0
8	潮州	2	O3 : K6	2	2	0
9	肇庆	13	OUT : KUT O2 : KUT O4 : K4 O4 : K8 O4 : KUT O8 : K21 O3 : K6 未分型	1 4 1 3 1 1 1 1	2 2 1 3 1 1 1 1	0 2 0 0 0 0 0 0
10	清远	3	O3 : K6 O1 : K38 O4 : K55	1 1 1	1 1 1	0 0 0
11	东莞	6	O1 : KUT O2 : K3 O3 : K6 O4 : K8 O4 : K9	1 1 2 1 1	1 1 2 1 1	0 0 0 0 0
合计		95		95	88	7

PFGE分型。分析显示,菌株间的相似值为57.7%~100.0%,可分为36种不同PFGE型别(PFGE相似值为100%即同一型别)。从图1可见,优势血清型O3:K6和O4:K8分别位于聚类分析的上、下部,中部主要为非O3:K6、非O4:K8血清型。PFGE型别一致的菌株血清型基本相同,除PFGE003型(1株O4:K8型和3株O3:K6型)、PFGE004型(1株O4:K8型和12株O3:K6型)、PFGE029型(1株O3:K6型和15株O4:K8型)。14株散发株中有7株与某些暴发菌株的PFGE型别一致,如VP09-011与暴发菌株F09-002的PFGE相似值为100%。同一起食物中毒分离的O3:K6或O4:K8血清型副溶血弧菌有多种不同的PFGE型别。如食物中毒序号3中18株O4:K8血清型可分为8种PFGE型别,14株O3:K6血清型可分为7种PFGE型别。不同地区、不同暴发的O3:K6型或O4:K8型暴发菌株PFGE具有相同的

型别,如PFGE001型包括来自食物中毒序号3、4、9、10的O3:K6型菌株和1例散发病例O3:K6型菌株;PFGE029型包括来自食物中毒序号3、6、9的O3:K6型菌株和1例散发病例O4:K8型菌株;PFGE001型和PFGE029型为2009年广东省副溶血弧菌优势PFGE型别。

肇庆市发生的食物中毒(序号9)同时从患者和食品中分离到4株相同血清型O2:KUT菌,且PFGE图谱100%相似,同为 tdh^-trh^- 菌株(图2),可推断该2名病例是食入被O2:KUT血清型副溶血弧菌污染的食物而致病。食物中毒序号9的10株患者分离株,分为7种不同的血清型,除2株O2:KUT外,有2株O4:K8的PFGE图谱100%相似,其余8株菌的PFGE图谱均不一致。

图3是发生在东莞市食物中毒序号6中检出7株菌的PFGE图谱聚类分析结果。可见4株食品分离株中有2株同为O4:KUT血清型,且该2株菌能产生耐热直接溶血素,且为同一PFGE型别;另2株食品分离株的血清型分别为O4:K34和O1:K32,均为 tdh^-trh^- 菌株,PFGE型别也不一致;3株患者分离株虽同为血清型O3:K6,均是 tdh^+trh^- 菌株,但PFGE型别各异。说明食物中毒序号6中从食物中检出的4株副溶血弧菌均不是引起该3名病例(分离到副溶血弧菌)致病的血清型;3名病例感染副溶血弧菌的起源也不一致。

讨 论

自1995年从一名旅游者中首次分离到O3:K6型副溶血弧菌后^[4],至今该型菌已在亚洲、美洲、非洲和欧洲引起流行,成为副溶血弧菌在全球流行的主要血清型^[5]。近年来,在我国腹泻患者中分离的副溶血弧菌也以O3:K6型为主^[6-8]。从2009年广东省监测结果来看,无论是散发还是暴发的副溶血弧菌均以O3:K6和O4:K8两种血清型为主。尽管O4:K8型在我国其他地区和国外有报道,但并不是首要的血清型^[5,6]。从2006年起,O4:K8型在广东省副溶血弧菌食物中毒分离株中仅次于O3:K6型^[9],2009年O4:K8型所占比例上升到约30%,提示O4:K8型在广东省已成为稳定的优势血清型之一。

和其他的食源性致病菌(如沙门菌、志贺菌等)不同,在同一起副溶血弧菌食物中毒中往往可以同时分离到多种不同血清型的菌株,提示可疑食品可能受到多种不同血清型副溶血弧菌的污染。此外,副溶血弧菌食物中毒的患者分离株以O3:K6型占绝

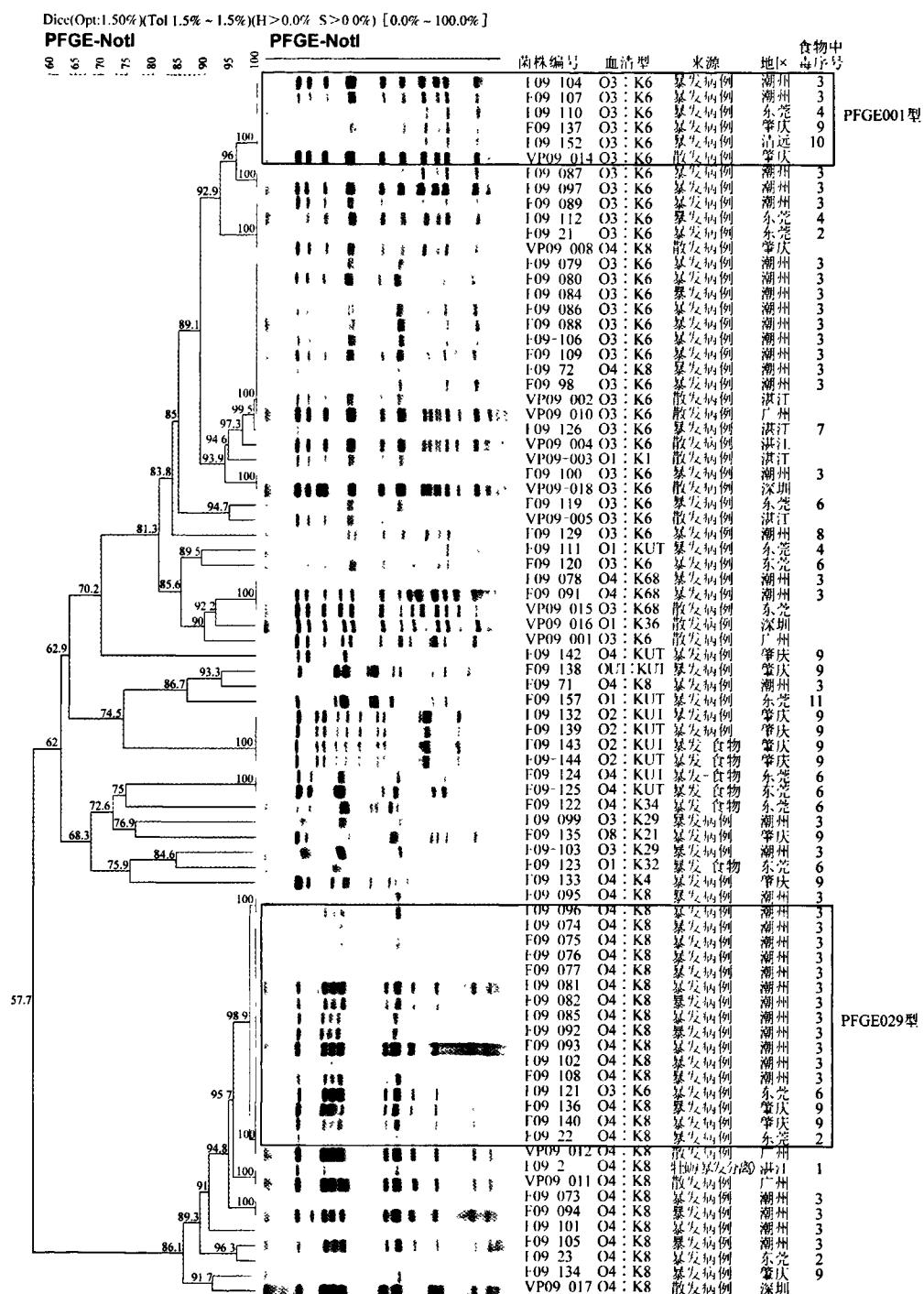


图1 81株副溶血弧菌的PFGE聚类分析

大多数,但可疑食品中未能分离到该血清型。广东省水产品中未分离到O3:K6血清型副溶血弧菌^[9],这与国外的情况一致^[5]。提示在食品中O3:K6型可能不是优势菌,非O3:K6型更易检出。有研究推测O3:K6型菌株可能由那些无致病性的副溶血弧菌在获得 tdh 基因后变异而来^[10],但其确切来源仍有待进一步研究。

国外报道从腹泻患者分离的副溶血弧菌能产生耐热直接溶血素(TDH)或耐热直接溶血素相关溶血

		PFGE029型
04 : K8	暴发病例	3
04 : K8	暴发病例	3
04 : K8	暴发病例	3
04 : K8	暴发病例	3
04 : K8	暴发病例	3
04 : K8	暴发病例	3
04 : K6	暴发病例	6
04 : K8	暴发病例	9
04 : K8	暴发病例	9
04 : K8	暴发病例	2
04 : K8	散发病例	1
04 : K8	暴发病例	3
04 : K8	暴发病例	3
04 : K8	暴发病例	3
04 : K8	暴发病例	3
04 : K8	暴发病例	3
04 : K8	暴发病例	9
04 : K8	散发病例	深圳

或同一食品中存在不同基因型别的副溶血弧菌污染。另外,不同地区、不同食物中毒分离的O3:K6或O4:K8暴发菌株其PFGE型别可相同,且散发菌株与暴发菌株的PFGE型别也可一致。提示在广东省可能存在某些优势PFGE型别的副溶血弧菌持续流行,不断引起散发和暴发。

参 考 文 献

- [1] Liu XM, Chen Y, Wang XY, et al. Foodborne disease outbreaks in China from 1992 to 2001: National Foodborne Disease

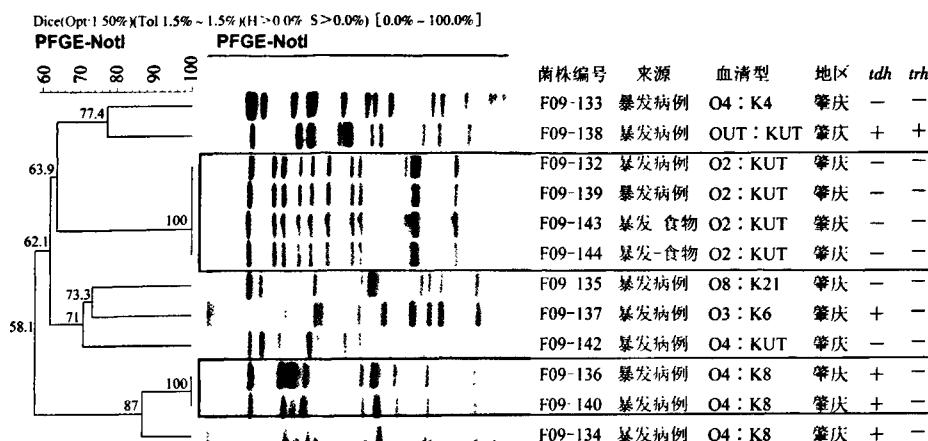


图2 食物中毒序号9中副溶血弧菌的PFGE聚类分析

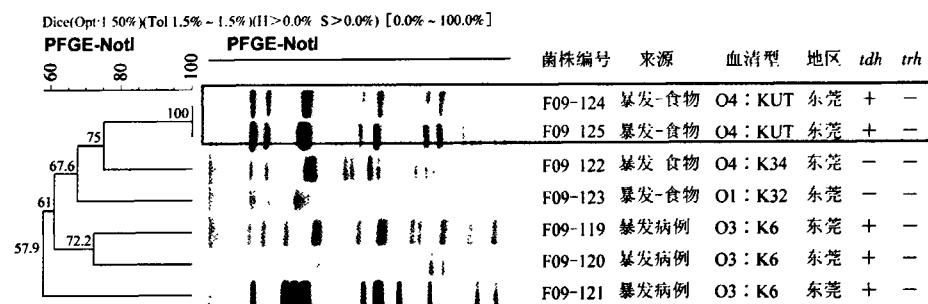


图3 食物中毒序号6中副溶血弧菌的PFGE聚类分析

- Surveillance System. J Hyg Res, 2004, 33 (6) : 725-727. (in Chinese)
- 刘秀梅,陈艳,王晓英,等. 1992—2001年食源性疾病暴发资料分析——国家食源性疾病监测网. 卫生研究, 2004, 33(6) : 725-727.
- [2] Yan JW, Ma C, Zhu HM, et al. Establishment of fingerprinting database and surveillance on marine products for *Vibrio parahaemolyticus* in Guangdong from 2003 to 2005. Chin J Health Lab Technol, 2006, 16(4):387-391. (in Chinese)
- 严纪文,马聪,朱海明,等. 2003—2005年广东省水产品中副溶血弧菌的主动监测及其基因指纹图谱库的建立. 中国卫生检验杂志, 2006, 16(4):387-391.
- [3] Bej AK, Patterson DP, Brasher CW, et al. Detection of total and hemolysin-producing *Vibrio parahaemolyticus* in shellfish using multiplex PCR amplification of *tdh*, *tdh* and *trh*. J Microbiol Meth, 1999, 36:215-225.
- [4] 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 Clin Microbiol, 1997, 35: 3150-3155.
- [5] Nair GB, Ramamurthy T, Bhattacharya SK, et al. Global dissemination of *Vibrio parahaemolyticus* serotype O3 : K6 and its serovariants. Clin Microbiol Rev, 2007, 20(1):39-48.
- [6] Yang LH, Chen M, Chen HY, et al. Molecular typing on *Vibrio parahaemolyticus* strains by PFGE. Chin J Dis Control Prev, 2010, 14(6):528-531. (in Chinese)
- 杨丽华,陈敏,陈洪友,等. 副溶血弧菌脉冲场凝胶电泳分子分型研究. 中华疾病控制杂志, 2010, 14(6):528-531.

- [7] Zhang JQ, Luo XH, He SY, et al. Monitoring and research of infectious diarrhea in *Vibrio parahaemolyticus*. Chin J Health Lab Technol, 2010, 20(2):376-378. (in Chinese)
- 张建群,罗学辉,何水渊,等. 感染性腹泻中副溶血弧菌的监测与研究. 中国卫生检验杂志, 2010, 20(2):376-378.
- [8] Wang Y, Hu QH, Mou J, et al. Etiologic and molecular characteristics of *Vibrio parahaemolyticus* strains isolated from diarrheal patients in Shenzhen in 2007-2008. Chin J Epidemiol, 2010, 31(1):51-55. (in Chinese)
- 王艺,扈庆华,牟瑾,等. 深圳市2007—2008年腹泻病副溶血弧菌监测及分子特性分析. 中华流行病学杂志, 2010, 31(1):51-55.
- [9] Fang W, Li W, Ke CW, et al. Serotype of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from food 2 poisoning patients aquatic products in Guangdong province in 2006-2008. Chin J Food Hyg, 2009, 21(4):352-357. (in Chinese)
- 方伟,黎微,柯昌文,等. 2006—2008年广东省水产品和食物中毒患者副溶血弧菌分离株血清分型研究. 中国食品卫生杂志, 2009, 21(4):352-357.
- [10] Okura M, Osawa R, Iguchi A. Genotypic analyses of *Vibrio parahaemolyticus* and development of a pandemic group-specific multiplex PCR assay. J Clin Microbiol, 2003, 41:4676-4682.
- [11] Honda T, Iida T. The pathogenicity of *Vibrio parahaemolyticus* and the role of the thermostable direct haemolysin and related haemolysins. Rev Med Microbiol, 1993, 4:106-113.
- [12] Shirai H, Ito H, Hirayama TY, et al. Molecular epidemiologic evidence for association of thermostable direct hemolysin (TDH) and TDH-related hemolysin of *Vibrio parahaemolyticus* with gastroenteritis. Infect Immun, 1990, 58:3568-3573.
- [13] Stinson MW, McLaughlin R, Choi SH, et al. Streptococcal histone-like protein: primary structure of *hlpA* and protein binding to lipoteichoic acid and epithelial cells. Infect Immun, 1998, 66:259-265.
- [14] Yang F, Li XJ, Xu BH, et al. Advances of study on molecule pathogenic mechanism of *Vibrio parahaemolyticus*. Chin J Dis Control Prev, 2010, 14(6):562-566. (in Chinese)
- 杨芳,李秀娟,徐保红,等. 副溶血弧菌分子致病机制研究进展. 中华疾病控制杂志, 2010, 14(6):562-566.

(收稿日期:2011-06-03)

(本文编辑:张林东)

广东省2009年副溶血弧菌暴发与散发菌株的病原学特征分析

作者: 柯碧霞, 谭海玲, 李柏生, 何冬梅, 马聪, 刘美真, 陈经雕, 柯昌文, KE Bi-xia, TAN Hai-ling, LI Bai-sheng, HE Dong-mei, MA Cong, LIU Mei-zhen, CHEN Jing-diao, KE Chang-wen
作者单位: 广东省疾病预防控制中心,广州,510300
刊名: 中华流行病学杂志 [ISTIC PKU]
英文刊名: Chinese Journal of Epidemiology
年,卷(期): 2011, 32(12)

参考文献(14条)

1. 刘秀梅;陈艳;王晓英 1992-2001年食源性疾病暴发资料分析—国家食源性疾病监测网[期刊论文]-卫生研究 2004(06)
2. 严纪文;马聪;朱海明 2003-2005年广东省水产品中副溶血弧菌的主动监测及其基因指纹图谱库的建立[期刊论文]-中国卫生检验杂志 2006(04)
3. Bej AK;Patterson DP;Brasher CW Detection of total and hemolysin-producing *Vibrio parahaemolyticus* in shellfish using multiplex PCR amplification of tlh, tdh and trh[外文期刊] 1999(3)
4. Okuda J;Ishibashi M;Hayakawa E 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 1997
5. Nair GB;Ramamurthy T;Bhattacharya SK Global dissemination of *Vibrio parahaemolyticus* serotype O3:K6 and its serovariants[外文期刊] 2007(01)
6. 杨丽华;陈敏;陈洪友 副溶血弧菌脉冲场凝胶电泳分子分型研究[期刊论文]-中华疾病控制杂志 2010(06)
7. 张建群;罗学辉;何水渊 感染性腹泻中副溶血弧菌的监测与研究[期刊论文]-中国卫生检验杂志 2010(02)
8. 王艺;扈庆华;牟瑾 深圳市2007-2008年腹泻病副溶血弧菌监测及分子特性分析[期刊论文]-中华流行病学杂志 2010(01)
9. 方伟;黎微;柯吕文 2006-2008年广东省水产品和食物中毒患者副溶血弧菌分离株血清分型研究[期刊论文]-中国食品卫生杂志 2009(04)
10. Okura M;Osawa R;Iguchi A Genotypic analyses of *Vibrio parahaemolyticus* and development of a pandemic group-specific multiplex PCR assay[外文期刊] 2003(10)
11. Honda T;Iida T The pathogenicity of *Vibrio parahaemolyticus* and the role of the thermostable direct haemolysin and related haemolysins[外文期刊] 1993
12. Shirai H;Ito H;Hirayama TY Molecular epidemiologic evidence for association of thermostable direct hemolysin (TDH) and TDH-related hemolysin of *Vibrio parahaemolyticus* with gastroenteritis 1990
13. Stinson MW;McLaughlin R;Choi SH Streptococcal histone-like protein:primary structure of hlpA and protein binding to lipoteichoic acid and epithelial cells 1998
14. 杨芳;李秀娟;徐保红 副溶血弧菌分子致病机制研究进展[期刊论文]-中华疾病控制杂志 2010(06)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zhlxbx201112013.aspx