

珠江河口水体霍乱弧菌监测及菌株毒力基因分布特征

李柏生 王多春 谭海玲 柯碧霞 陈经雕 何冬梅 刘美真
邓小玲 柯昌文 阙颀

【摘要】 目的 了解珠江河口水体中 O1 群和 O139 群霍乱弧菌的分布状况,分析菌株的分子特征和毒力基因特征。方法 对 2009 年 1 月至 2010 年 12 月从珠江河口水体中分离的 59 株 O1 群和 10 株 O139 群霍乱弧菌,采用聚合酶链反应(PCR)方法体外检测 *ctxA*、*tcpA*、*ace*、*zot*、*tcpI*、*hlyA*、*toxR* 和 *ompU* 等毒力相关基因,并进行毒力相关基因分型分析,对限制性内切酶 *Not I* 消化后的基因组 DNA 进行脉冲场凝胶电泳(PFGE)分析,采用 BioNumerics 软件分析图谱,得到菌株带型相似性的聚类分析树状图。结果 2009—2010 年共采集 1152 份水体标本,分离得到 O1/O139 群霍乱弧菌 69 株,其中 O1 群埃尔托霍乱弧菌 59 株(小川型 18 株,稻叶型 41 株),O139 群霍乱弧菌 10 株。PCR 检测 69 株菌 *ctxA* 全部阴性,*hlyA* 和 *toxR* 全部阳性,基因分型可分成 9 个型。稻叶型菌株中,34.15%(14/41)为 *hlyA*⁺ *toxR*⁺ *ompU*⁺ *ace*⁺ *zot*⁺ *tcpI*⁺ 型;小川型菌株中,66.67%(12/18)为 *hlyA*⁺ *toxR*⁺ 型;O139 群菌株中,70%(7/10)为 *hlyA*⁺ *toxR*⁺ 型。PFGE 分型发现,O139 群菌株 PFGE 相似度为 69.9%~95.5%;O1 群菌株相似度为 72.8%~100.0%,可分成 3 个聚类。结论 在霍乱流行间歇期,该地区外环境水体中 O1 群和 O139 群霍乱弧菌非产毒株广泛存在,基因型别多样。

【关键词】 霍乱弧菌;毒力基因;脉冲场凝胶电泳

Surveillance program on and the distribution related to the virulence-associated genes of *Vibrio cholerae* in estuary of Pearl River Li Bai-sheng¹, WANG Duo-chun², TAN Hai-ling¹, KE Bi-xia¹, CHEN Jing-diao¹, HE Dong-mei¹, LIU Mei-zhen¹, DENG Xiao-ling¹, KE Chang-wen¹, KAN Biao². 1 Institute of Pathogenic Microorganisms, Guangdong Provincial Center for Diseases Control and Prevention, Guangzhou 510300, China; 2 National Institute for Communicable Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention

Corresponding author: KE Chang-wen, Email: kecw1965@yahoo.com.cn

This work was supported by grants from the National High Technology Research and Development Program of China (863 Program) (No. 2006AA02Z425), the National Natural Science Foundation of China (No. 30872260); the National Science and Technology Mega-projects of China (No. 2008ZX10004-012) and the Guangzhou Medical and Health Science and Technology Projects (No. 2008-Zda-06).

【Abstract】 Objective To understand the distribution, molecular characteristics and virulence genes of the O1 and O139 *Vibrio cholerae* isolates from the Pearl River Estuary water. **Methods** *Vibrio cholerae* isolates collected from the Pearl River estuary waters from January 2009 to December 2010, were tested by PCR for eight virulence-related genes, including cholera toxin (*ctxA*), zonula occludens toxin (*zot*), accessory cholera enterotoxin (*ace*), hemolysin (*hlyA*), toxin-coregulated pilus (*tcpA*), outer membrane protein (*ompU*), and the regulatory protein genes (*tcpI*, *toxR*). Genetic relation was assessed by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) and the patterns were clustered by BioNumerics. **Results** From 1152 aquatic samples, 69 isolates were identified, including 41 Inaba, 18 Ogawa and 10 O139. All the isolates showed *ctxA* negative, while the *hlyA* and *toxR* genes were positive in all the isolates. 34.15% (14/41) of the Inaba strains were *hlyA*⁺ *toxR*⁺ *ompU*⁺ *ace*⁺ *zot*⁺

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2011.12.014

基金项目:国家高技术研究发展计划(863计划)(2006AA02Z425);国家自然科学基金(30872260);国家科技重大专项(2008ZX10004-012);广州市医药卫生科技重大项目(2008-Zda-06)

作者单位:510300 广州,广东省疾病预防控制中心病原微生物检验所(李柏生、谭海玲、柯碧霞、陈经雕、何冬梅、刘美真、邓小玲、柯昌文);中国疾病预防控制中心传染病预防控制所(王多春、阙颀)

李柏生、王多春同为第一作者

通信作者:柯昌文, Email: kecw1965@yahoo.com.cn

tcpI⁺, while 66.67% (12/18) belonged to Ogawa strains and 70% (7/10) of the O139 strains were *hlyA*⁺ *toxR*⁺. Through PFGE analysis, the O1 isolates formed three clusters in this study. The patterns of O1 isolates differed widely, with the similarity as 72.8%–100.0%, while the patterns of O139 isolates having the similarity of 69.9%–95.5%. **Conclusion** The non-toxigenic O1 and O139 *V. cholerae* had a wide distribution in the environment of Pearl River estuary water during the non-epidemic period of cholera. All the aquatic isolates presented diversities on the related virulent genes.

【Key words】 *Vibrio cholerae*; Virulence gene; Pulsed field gel electrophoresis

霍乱弧菌血清群中只有 O1 群和 O139 群可引起霍乱的流行^[1]。历史上,霍乱的流行大多起源于沿海地区,海水生境是霍乱弧菌的重要储存库,霍乱的发生与河口水环境中霍乱弧菌的增殖以及霍乱弧菌在环境水体表面的存在数量紧密相关^[2,3]。因此,在非流行期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。

O1 群和 O139 群霍乱弧菌主要有两类毒力因子与致病有关:编码霍乱肠毒素(CT)的基因 *ctxAB* 和编码毒素协同菌毛(TCP)的 *tcpA* 基因^[4,5]。其他毒力相关基因如 *ace*、*zot*、*tcpI*、*hlyA*、*toxR* 和 *ompU* 等也与霍乱弧菌的生长繁殖或致病性密切相关。这些基因大多通过质粒或转座子等可以移动的基因载体进行水平转移,使受体菌获得相关的毒力^[4,5]。脉冲场凝胶电泳(PFGE)技术可有效地分析 O1 群和 O139 群霍乱弧菌在基因水平的分子特征。因此,对外环境水体中 O1 群和 O139 群霍乱弧菌进行监测,了解其在水体中的生存状况,进而分析水体分离菌株的分子特征和毒力基因特征,能够为霍乱流行的预防控制提供依据。

材料与方法

1. 监测区域和采样点设置:根据当地霍乱历史疫情和监测资料,选择珠江河口地区霍乱高发区域的水体环境,且以能代表人群生活与生态环境为原则。选择霍乱监测中检出率较高的监测点及历年霍乱疫点、与既往疫情有水道关联的区域、可能与霍乱弧菌污染有关的海产品交易码头附近区域,在上述监测区域内共设置 24 个监测点(Z1 ~ Z24)。

2. 样品采集:2009 年 1 月至 2010 年 12 月每月采集全部监测点水体一次。每个监测点间隔 10 ~ 20 m,分别用灭菌水样瓶采集 2 份 450 ml 表层水(< 30 cm)样品,每个月共采集 48 份水样品,加盖密封后在常温下当天送抵实验室。

3. 菌株、培养基和诊断血清:标准参照菌株选择 N16961(O1 群)和 MO45(O139 群),选择性分离霍乱弧菌培养基采用碱性蛋白胨水和庆大霉素培养基

(广东环凯公司),TCBS 琼脂(北京陆桥公司),O1 群和 O139 群诊断血清使用中国药品生物制品检定所产品。

4. 菌株分离、鉴定:增菌培养采用 10 倍浓缩碱胨水增菌培养法。即一次增菌在 450 ml 水样中加 NaOH 调整 pH 为 8.4,加入 10 倍浓缩碱胨水 50 ml,置 37 °C 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;将两次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 °C 8 ~ 12 h 培养。从 TCBS 琼脂平板上挑取疑似菌落接种于营养琼脂置 37 °C 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)。

5. PFGE:按照 PulseNet 监测网络中霍乱弧菌的 PFGE 标准分型方法^[6],胶块内染色体 DNA 的酶切用内切酶 *Not I* 酶切(标准菌株 H9812 用 *Xba I* 酶切,内切酶购自 Promega 公司),在脉冲场电泳仪 CHEF Mapper (Bio-Rad 公司)上电泳,程序为 6.0 V/cm, 2 ~ 10 s, 120°, 13 h; 然后为 6.0 V/cm, 20 ~ 25 s, 120°, 6 h。凝胶的图像由凝胶成像仪 Gel Doc EQ (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。

6. 细菌 DNA 提取和毒力基因检测:染色体 DNA 的制备使用细菌基因组提取试剂盒 (Tiangen 公司,按说明书操作)提取。所有 PCR 检测用菌株在 5 ml LB 中培养至 A600 值为 0.8。PCR 毒力基因检测在温度梯度 PCR 仪 (Biometra, Inc, Biometra TGradient) 上进行,以 N16961 和 MO45 为阳性对照,用于扩增霍乱弧菌毒力基因的引物见表 1。毒力基因的 PCR 扩增条件:94 °C 预变性 2 min;变性,94 °C 1 min,退火,56 °C 1 min,延伸 72 °C 1 min,共循环 30 次;最后 72 °C 延伸 4 min。PCR 产物于 1% 琼脂糖凝胶电泳后(100 V, 40 min),在 1% 溴化乙锭溶液中染色 5 min 后,置于凝胶成像仪 Gel Doc EQ (Bio-Rad 公司)观察记录结果。

表 1 O1 群和 O139 群霍乱弧菌毒力基因引物序列

基因	引物序列(5' ~ 3')	产物长度 (bp)	参考文献
<i>ctxA</i> -F	CGGGCAGATTCTAGACCTCCTG	564	[7]
<i>ctxA</i> -R	CGATGATCTTGGAGCATTCCCAC		
<i>ace</i> -F	TAAGGATGTGCTTATGATGGACACCC	316	[8]
<i>ace</i> -R	CGTGATGAATAAAGATACTCATAGG		
<i>zot</i> -F	TCGCTTAACGATGGCGCGTTTT	947	[9]
<i>zot</i> -R	AACCCCGTTTCACTTCTACCCA		
<i>toxR</i> -F	CCTTCGATCCCCTAAGCAATAC	779	[9]
<i>toxR</i> -R	AGGGTTAGCAACGATGCGTAAG		
<i>tcpA</i> -F	CACGATAAGAAAACCGGTCAAGAG	453	[9]
<i>tcpA</i> -R	CGAAAGCACCTTCTTTCACACGTTG		
<i>tcpI</i> -F	TAGCCTTAGTTCTCAGCAGGCA	862	[10]
<i>tcpI</i> -R	GGCAATAGTGTGCGAGCTCGTTA		
<i>ompU</i> -F	ACGCTGACGGAATCAACCAAAAG	869	[9]
<i>ompU</i> -R	GCGGAAGTTTGGCTTGAAGTAG		
<i>hlyA</i> -F	GAGCCGGCATTCATCTGAAT	481	[9]
<i>hlyA</i> -R	CTCAGCGGGCTAATACGGTTTA		

结 果

1. O1 群和 O139 群霍乱弧菌检测: 2009—2010 年共采集 1152 份水体样品, 分离得到 O1 群和 O139 群霍乱弧菌 69 株, 其中 O1 群埃尔托霍乱弧菌 59 株 (小川型 18 株, 稻叶型 41 株), O139 群霍乱弧菌 10 株。菌株检出时间分布见图 1。

2. 毒力基因检测: PCR 检测 69 株菌 *ctxA* 全部为阴性, *hlyA* 和 *toxR* 基因全部阳性。18 株小川型菌株有 2 株分别检出 *ace*、*zot* 和 *tcpA* 阳性, 5 株 (27.78%) 检出 *tcpI* 阳性, 6 株 (33.33%) 检出 *ompU* 阳性。41 株稻叶型菌株均未检出 *tcpA*, 22 株 (53.66%) 检出 *ace* 阳性, 23 株 (56.10%) 分别检出 *zot* 和 *tcpI* 阳性, 39 株 (95.12%) 检出 *ompU* 阳性。10 株 O139 群菌株均未检出 *ace* 和 *tcpA*, 2 株检出 *zot* 阳性, 1 株分别检出 *tcpI* 和 *ompU* 阳性 (表 2)。

3. 毒力相关基因分型: 根据不同来源菌株携带毒力相关基因不同, 可分成 9 个基因型 (表 3)。稻叶型菌株毒力相关基因型主要有 4 种型别, 其中 34.15% (14/41) 为 *hlyA*⁺ *toxR*⁺ *ompU*⁺ *ace*⁺ *zot*⁺ *tcpI*⁺ 型, 19.51% (8/41) 为 *hlyA*⁺ *toxR*⁺ *ompU*⁺ *ace*⁺ *zot*⁺ 型, 21.95% (9/41) 为 *hlyA*⁺ *toxR*⁺ *ompU*⁺ *tcpI*⁺ 型以及 17.07% (7/41) 为 *hlyA*⁺ *toxR*⁺ *ompU*⁺ 型。小川型菌株毒力相关基因型别以 *hlyA*⁺ *toxR*⁺ *ompU*⁺ *tcpI*⁺ 型 (16.67%, 3/18) 和 *hlyA*⁺ *toxR*⁺ 型 (66.67%, 12/18) 为主。O139 群菌株的毒力

相关基因则以 *hlyA*⁺ *toxR*⁺ *zot*⁺ 型 (20%, 2/10) 和 *hlyA*⁺ *toxR*⁺ 型 (70%, 7/10) 为主。

4. PFGE 分型分析: O139 群菌株 PFGE 分型相似度范围在 69.9% ~ 95.5% (图 2)。这些非产毒株的带型表现明显的多样性, 同一监测点在相同时间分离的菌株, 其 PFGE 带型有很大差异 (Z4 相似性差异最大为 83.4%); 同一采集时间、不同监测点的菌株, 甚至不同月份、不同监测点的菌株, 其相似性呈多样性, 提示珠江河口水体的 O139 群非产毒株存在克隆多样性。而 O1 群菌株, 其 PFGE 分型相似度范围在 72.8% ~ 100.0%, 大致可分成 3 个聚类 (I ~ III) (图 3)。一个监测点在相同时间分离的菌株, PFGE 指纹图谱存在一定差异, 如 2010 年 7 月 Z4 采样点分离的 O139 群霍乱弧菌 V10-49 和 V10-50, 其 PFGE 指纹图谱分属 2 个分支; 2010 年 3 月 Z3 采样点分离的 O1 群稻叶型菌株 V10-14 和 V10-15, 其 PFGE 指纹图谱也有 1 条带的差异, 相似度为 97.7%; 而同一时间、不同监测点采集的菌株, 如 2010 年 1 月分别在 Z2 和 Z4 采样点分离到的 O1 群稻叶型菌株 V10-1 和 V10-4, 2010 年 5 月在 Z6 和 Z7 采样点分离到的 O1 群稻叶型菌株 V10-28 和 V10-29, 其 PFGE 指纹图谱完全一致。此外, 来自不同时间、不同监测点的菌株, 如 2009 年 6 月 Z24, 7 月和 8 月 Z15 采样点分离到的 O1 群小川型菌株 V09-20、V09-23 和 V09-30, 其 PFGE 指纹图谱 100% 相似。

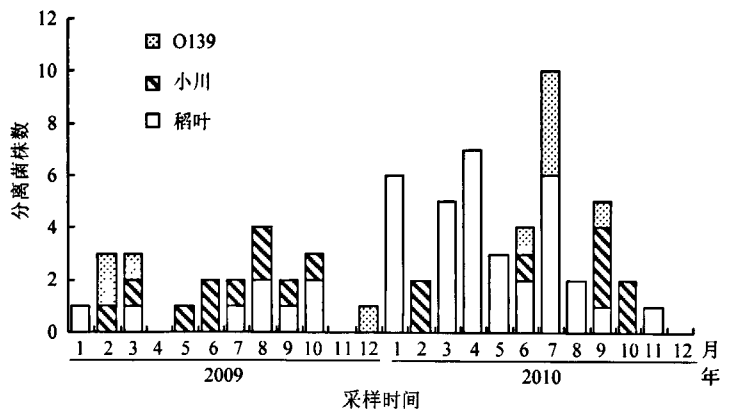


图 1 2009—2010 年珠江河口地区 O1 群和 O139 群霍乱弧菌检出时间分布

表 2 毒力相关基因阳性菌株数

血清型	菌株数	CT			TCP		<i>hlyA</i> ⁺	<i>ompU</i> ⁺	<i>toxR</i> ⁺
		<i>ctxA</i> ⁺	<i>ace</i> ⁺	<i>zot</i> ⁺	<i>tcpA</i> ⁺	<i>tcpI</i> ⁺			
小川	18	0	2(11.11)	2(11.11)	2(11.11)	5(27.78)	18(100)	6(33.33)	18(100)
稻叶	41	0	22(53.66)	23(56.10)	0	23(56.10)	41(100)	39(95.12)	41(100)
O139	10	0	0	2(20.00)	0	1(10.00)	10(100)	1(10.00)	10(100)
合计	69	0	24	27	2	29	69	46	69

注: 括号外数据为菌株数, 括号内数据为阳性率 (%)

表3 外环境水体霍乱弧菌毒力相关基因分型

基因型	小川型	稻叶型	O139群
<i>hlyA</i> ⁺ <i>toxR</i> ⁺ <i>ompU</i> ⁺ <i>ace</i> ⁺ <i>zot</i> ⁺ <i>tcpI</i> ⁺ <i>tcpA</i> ⁺	1(5.56)	0	0
<i>hlyA</i> ⁺ <i>toxR</i> ⁺ <i>ompU</i> ⁺ <i>ace</i> ⁺ <i>zot</i> ⁺ <i>tcpI</i> ⁺	0	14(34.15)	0
<i>hlyA</i> ⁺ <i>toxR</i> ⁺ <i>ompU</i> ⁺ <i>ace</i> ⁺ <i>zot</i> ⁺	1(5.56)	8(19.51)	0
<i>hlyA</i> ⁺ <i>toxR</i> ⁺ <i>ompU</i> ⁺ <i>zot</i> ⁺	0	1(2.44)	0
<i>hlyA</i> ⁺ <i>toxR</i> ⁺ <i>ompU</i> ⁺ <i>tcpI</i> ⁺ <i>tcpA</i> ⁺	1(5.56)	0	0
<i>hlyA</i> ⁺ <i>toxR</i> ⁺ <i>ompU</i> ⁺ <i>tcpI</i> ⁺	3(16.67)	9(21.95)	1(10.00)
<i>hlyA</i> ⁺ <i>toxR</i> ⁺ <i>ompU</i> ⁺	0	7(17.07)	0
<i>hlyA</i> ⁺ <i>toxR</i> ⁺ <i>zot</i> ⁺	0	0	2(20.00)
<i>hlyA</i> ⁺ <i>toxR</i> ⁺	12(66.67)	2(4.88)	7(70.00)
合计	18	41	10

注:括号外数据为菌株数,括号内数据为构成比(%)

讨论

本研究在霍乱非流行期,对我国霍乱重点疫区——珠江三角洲河口水体中O1群和O139群霍乱弧菌进行连续性监测并进行菌株的分子特征分析。

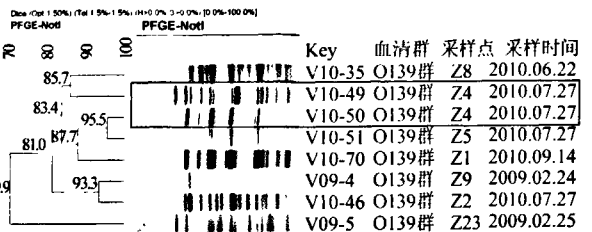


图2 2009—2010年珠江河口地区O139群霍乱弧菌PFGE分型

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比例,与近几年该地区O1群霍乱弧菌流行情况相一致。

本研究毒力基因检测结果显示,所有河口水体分离的O1群和O139群霍乱弧菌均为非产毒株,*ctxA*基因PCR检测阴性。霍乱弧菌的致病性涉及多种因素,其中CT是最主要的致病因子,编码A亚单位的*ctxA*位于丝状噬菌体CTXΦ的主要元件CTX

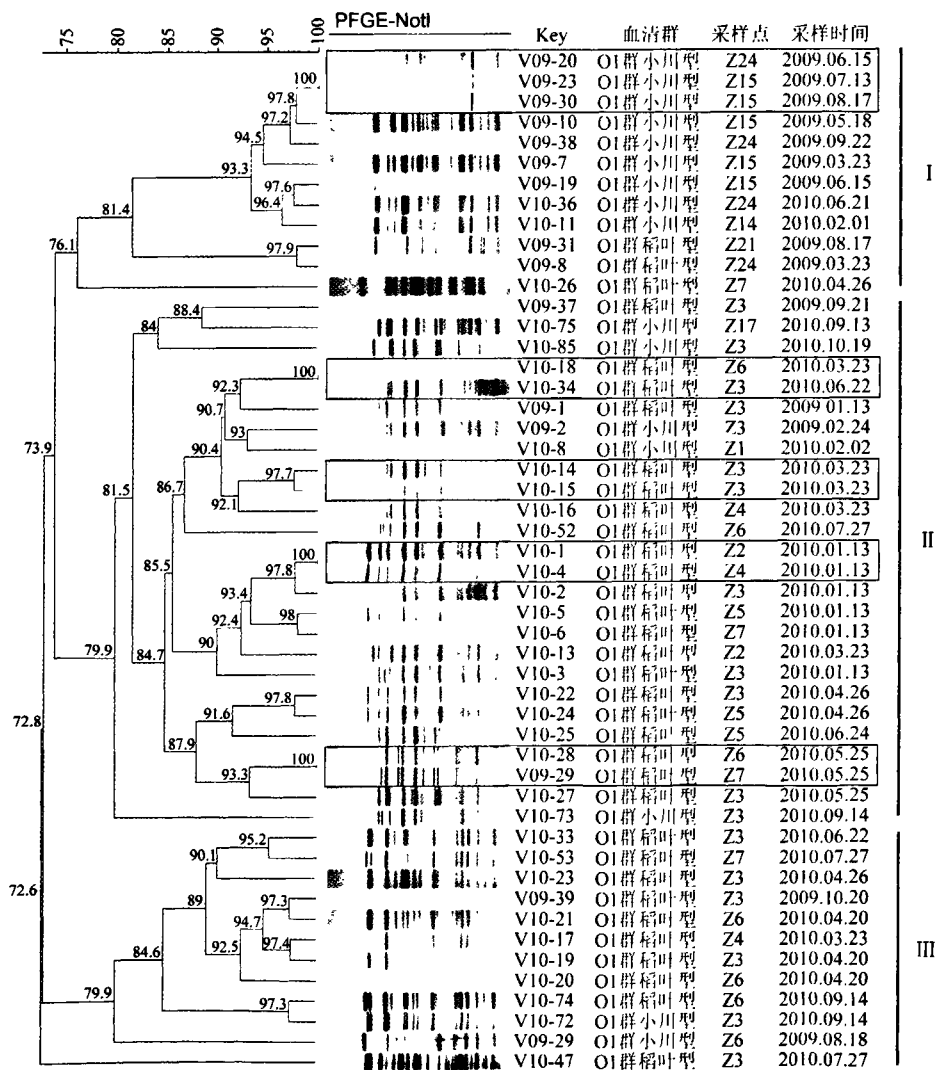


图3 2009—2010年珠江河口地区O1群霍乱弧菌PFGE分子分型

上,该CTX还包含编码辅助霍乱肠毒素ACE(*ace*)和小带联结毒素ZOT(*zot*)等基因^[11,12]。Singh等^[10]以及Karaolis和Kaper^[11]认为*ctxA*、*ace*和*zot*等基因连锁共存,但近年的研究发现,*ctxA*、*ace*和*zot*等基因并非连锁共存^[13,14]。本研究也发现有24株(40.58%, 24/69)O1群霍乱弧菌为*ctxA*⁻、*ace*⁺、*zot*⁺,有3株(7.25%, 5/69)为*ctxA*⁻、*ace*⁻、*zot*⁺。可见,外环境霍乱弧菌菌株的CTX元件上存在着至少一种基因的缺失。CTXΦ以TCP作为受体感染霍乱菌株^[4],因此获得TCP岛是流行株获得毒力的开始^[15],含TCP的菌株容易被CTXΦ感染而成为流行株。有研究认为^[5,16],编码TcpA的VPI毒力岛在不产毒的环境菌株中并不多见,而本次从珠江河口水体中获得的O1群霍乱弧菌中有2株*tcpA*基因阳性,28株趋化调控基因*tcpI*阳性。本研究菌株是在霍乱非流行间歇期获得,霍乱弧菌为接受CTXΦ的感染需要先获得TCP。分子生物学监测显示外环境水体中的O1群霍乱弧菌更有可能具有TCP病原岛而被CTXΦ感染,从而产生新的具有流行潜力的克隆系,与先前报道相一致^[17]。

本研究中69株O1群和O139群珠江河口水体霍乱弧菌分离株,其染色体DNA的PFGE分析表现出明显的遗传多样性,在同一个采样点相同采样时间分离得到的同一血清型菌株,其PFGE指纹图谱不同,提示在当地外环境水体中存在多个霍乱弧菌克隆。同样也发现在不同采样点的相同时间内得到的同一血清型菌株,或者在不同采样时间、不同采样点分离的同一血清型菌株,其PFGE指纹图谱100%相似,表明在某一段时间外环境水体中可能存在某一优势克隆群。但这并不具有普遍性,如果在环境水体监测中发现某一类非产毒优势菌克隆群出现并不断增加,提示这种菌株可能具有更强的适应能力和更多的增殖机会,获得CTXΦ而演变为产毒株的可能性也会增加^[18]。

参 考 文 献

- [1] Sack DA, Sack RB, Nair GB, et al. Cholera. Lancet, 2004, 363: 223-233.
- [2] Huq A, Sack RB, Nizam A, et al. Critical factors influencing the occurrence of *Vibrio cholerae* in the environment of Bangladesh. Appl Environ Microbiol, 2005, 71(8): 4645-4654.
- [3] 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.
- [4] Waldor MK, Mekalanos JJ. Lysogenic conversion by a filamentous phage encoding cholera toxin. Science, 1996, 272: 1910-1914.
- [5] Karaolis DKR, Johnson JA, Bailey CC, et al. A *Vibrio cholerae* pathogenicity island associated with epidemic and pandemic strains. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95: 3134-3139.
- [6] Centers for Disease Control and Prevention. Rapid Standardized Laboratory Protocol for Molecular Subtyping of *Vibrio cholerae* by Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE). Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Ga. Fields, 2006.
- [7] Fields PI, Popovic T, Wachsmuth K, et al. Use of polymerase chain reaction for detection of toxigenic *Vibrio cholerae* O1 strains from the Latin American cholera epidemic. J Clin Microbiol, 1992, 30: 2118-2121.
- [8] Shi L, Miyoshi S, Hiura M, et al. Detection of genes encoding cholera toxin (cholera toxin), zonula occludens toxin (ZOT), accessory cholera enterotoxin (ACE) and heat stable enterotoxin (ST) in *Vibrio mimicus* clinical strains. Microbiol Immunol, 1998, 42: 823-828.
- [9] Rivera IN, Chun J, Huq A, et al. Genotype associated with virulence in environmental isolates of *Vibrio cholerae*. Appl Environ Microbiol, 2001, 67: 2421-2429.
- [10] Singh DV, Matte MH, Matte GR, et al. Molecular analysis of *Vibrio cholerae* O1, O139, non-O1, and non-O139 strains: clonal relationships between clinical and environmental isolates. Appl Environ Microbiol, 2001, 67: 910-921.
- [11] Karaolis DKR, Kaper JB. Pathogenicity islands and other mobile virulence elements of *Vibrio cholerae*/Kaper JB, Hacker J. Pathogenicity islands and other mobile virulence elements. ASM Press, Washington, DC, 1999: 167-187.
- [12] Wang YF, Duan GC, Xie J, et al. Molecular characters of *Vibrio cholerae* pathogenicity island of *Vibrio cholerae* O139. Chin J Public Health, 2009, 25(1): 58-60. (in Chinese)
王颖芳,段广才,谢婧,等. O139群霍乱弧菌毒力岛区域分子特征分析. 中国公共卫生, 2009, 25(1): 58-60.
- [13] Wang M, Li XQ, Mo ZY, et al. Analysis of characteristics of major pathogenicity-related genes of *Vibrio cholerae* isolated in Guangzhou area from 2001 to 2005. Chin J Prev Med, 2006, 40(4): 257-261. (in Chinese)
王鸣,李孝权,莫自耀,等. 2001年至2005年广州地区霍乱弧菌主要致病相关基因特征分析. 中华预防医学杂志, 2006, 40(4): 257-261.
- [14] Kan B, Qi GM, Liu YQ, et al. Genome of bacteriophage CTXΦ without the presence of *ctxAB* exists in *ctxAB*- strains of *Vibrio cholerae*. Chin J Microbiol Immunol, 1999, 19(3): 175-179. (in Chinese)
阙颀,祁国明,刘延清,等. 霍乱弧菌中存在不含霍乱毒素基因的噬菌体CTXΦ基因组. 中华微生物学和免疫学杂志, 1999, 19(3): 175-179.
- [15] Faruque SM, Zhu J, Asadulghani, et al. Examination of diverse toxin-coregulated pilus-positive *Vibrio cholerae* strains fails to demonstrate evidence for *Vibrio* pathogenicity island phage. Infect Immun, 2003, 71(6): 2993-2999.
- [16] Mukhopadhyay AK, Chakraborty S, Takeda Y, et al. Characterization of VPI pathogenicity island and CTX prophage in environmental strains of *Vibrio cholerae*. J Bacteriol, 2001, 183: 4737-4746.
- [17] Faruque SM, Asadulghani, Saha MN, et al. Analysis of clinical and environmental strains of nontoxigenic *Vibrio cholerae* for susceptibility to CTXΦ: molecular basis for origination of new strains with epidemic potential. Infect Immun, 1998, 66: 5819-5825.
- [18] Pang B, Yan M, Cui Z, 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:2011-06-02)

(本文编辑:张林东)

作者: [李柏生](#), [王多春](#), [谭海玲](#), [柯碧霞](#), [陈经雕](#), [何冬梅](#), [刘美真](#), [邓小玲](#), [柯昌文](#), [阚飙](#),
[LI Bai-sheng](#), [WANG Duo-chun](#), [TAN Hai-ling](#), [KE Bi-xia](#), [CHEN Jing-diao](#), [HE Dong-mei](#),
[LIU Mei-zhen](#), [DENG Xiao-ling](#), [KE Chang-wen](#), [KAN Biao](#)

作者单位: [李柏生, 谭海玲, 柯碧霞, 陈经雕, 何冬梅, 刘美真, 邓小玲, 柯昌文, LI Bai-sheng, TAN Hai-ling, KE Bi-xia, CHEN Jing-diao, HE Dong-mei, LIU Mei-zhen, DENG Xiao-ling, KE Chang-wen \(广东省疾病预防控制中心病原微生物检验所, 广州, 510300\)](#), [王多春, 阚飙, WANG Duo-chun, KAN Biao \(中国疾病预防控制中心传染病预防控制所\)](#)

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(18条)

1. Sack DA;Sack RB;Nair GB [Cholera](#)[外文期刊] 2004
2. Huq A;Sack RB;Nizam A [Critical factors influencing the occurrence of Vibrio cholerae in the environment of Bangladesh](#)[外文期刊] 2005(08)
3. Faruque SM;Islam MJ;Ahmad QS [Self-limiting nature of seasonal cholerae epidemics:role of host-mediated amplification of phage](#)[外文期刊] 2005(17)
4. Waldor MK;Mekalanos JJ [Lysogenic conversion by a filamentous phage encoding cholera toxin](#)[外文期刊] 1996
5. Karaolis DKR;Johnson JA;Bailey CC [A Vibrio cholerae pathogenicity island associated with epidemic and pandemic strains](#)[外文期刊] 1998
6. Centers for Disease Control and Prevention [Rapid Standardized Laboratory Protocol for Molecular Subtyping of Vibrio cholerae by Pulsed Field Gel Electrophoresis\(PFGE\)](#) 2006
7. Fields PI;Popovic T;Wachsmuth K [Use of polymerase chain reaction for detection of toxigenic Vibrio cholerae O1 strains from the Latin American cholera epidemic](#) 1992
8. Shi L;Miyoshi S;Hiura M [Detection of genes encoding cholera toxin\(cholera toxin\), zonula occludens toxin\(ZOT\), accessory cholera enterotoxin\(ACE\)and heat stable enterotoxin \(ST\)in Vibrio mimicus clinical strains](#) 1998
9. Rivera IN;Chun J;Huq A [Genotype associated with virulence in environmental isolates of Vibrio cholerae](#)[外文期刊] 2001(6)
10. Singh DV;Matte MH;Matte GR [Molecular analysis of Vibrio cholerae O1, O139, non-O1, and non-O139 strains:clonal relationships between clinical and environmental isolates](#) 2001
11. Karaolis DKR;Kaper JB [Pathogenicity islands and other mobile virulence elements of Vibrio cholerae](#) 1999
12. [王颖芳;段广才;谢婧](#) [O139群霍乱弧菌毒力岛区域分子特征分析](#)[期刊论文]-[中国公共卫生](#) 2009(01)
13. [王鸣;李孝权;莫自耀](#) [2001年至2005年广州地区霍乱弧菌主要致病相关基因特征分析](#) 2006(04)
14. [阚飙;祁国明;刘延清](#) [霍乱弧菌中存在不含霍乱毒素基因的噬菌体CTX \$\phi\$ 基因组](#)[期刊论文]-[中华微生物学和免疫学杂志](#) 1999(03)
15. Faruque SM;Zhu J;Asadulghani [Examination of diverse toxin-coregulated pilus-positive Vibrio cholerae strains fails to demonstrate evidence for Vibrio pathogenicity island phage](#) 2003(06)
16. Mukhopadhyay AK;Chakraborty S;Takeda Y [Characterization of VPI pathogenicity island and CTX prophage in environmental strains of Vibrio cholerae](#) 2001
17. Faruque SM;Asadulghani;Saha MN [Analysis of clinical and environmental strains of nontoxigenic Vibrio cholerae for susceptibility to CTXF:molecular basis for origination of new strains with epidemic potential](#) 1998
18. Pang B;Yan M;Cui Z [Genetic diversity of toxigenic and nontoxigenic Vibrio cholerae serogroups O1 and O139 revealed by array-based comparative genomic hybridization](#)[外文期刊] 2007(13)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zhlyxb201112014.aspx