

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20250326002

引用格式: 王伟杰, 张铭琰, 冯怡博, 等. 2023年辽宁省大连市食源性疾病中副溶血性弧菌的分子流行病学研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(16): 149–156.

WANG WJ, ZHANG MY, FENG YB, *et al.* Molecular epidemiology study of *Vibrio parahaemolyticus* in foodborne diseases in Dalian City, Liaoning Province in 2023 [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(16): 149–156. (in Chinese with English abstract).

2023年辽宁省大连市食源性疾病中副溶血性弧菌的分子流行病学研究

王伟杰, 张铭琰, 冯怡博, 王艳*

(辽宁省疾病预防控制中心, 沈阳 110172)

摘要: 目的 分析辽宁省大连市食源性疾病患者来源的副溶血性弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*, VP)分子流行特点, 毒力基因及耐药基因的分布特征。**方法** 收集了2023年大连市63株VP临床分离株, 借助全基因组测序, 多位点序列分型、毒力基因以及耐药基因分析, 同时结合临床流行病学数据进化全面分析。**结果** 7—9月为VP的主要流行周期。序列分型(sequence type, ST)结果显示, ST3型为主要流行群。63株菌同时携带 *tlh* 和 *vcrD*, *tdh* 和 *vcrD2* 毒力基因的携带率为95.23%。所有菌株均携带 *blaCARB-47*、*CARB-20*、*tet* (35)、*tet* (34)以及 *CRP* 耐药基因, 其中1株ST3型菌株还携带氨基糖苷类、磺酰胺类等耐药基因。毒力基因携带类型和ST型存在一定关联, 但耐药基因分布没有明显的聚类特征。全身症状患者的分离株均携带 *tdh* 和 *vcrD2*。**结论** ST3型是辽宁省大连市VP的主要流行群, 广泛分布且携带毒力基因比例较高。并密切关注ST3型的耐药性传播风险。本研究为VP的防控提供了分子流行病学依据。

关键词: 副溶血性弧菌; 多位点序列分型; 分子流行病学; 全基因组测序

Molecular epidemiology study of *Vibrio parahaemolyticus* in foodborne diseases in Dalian City, Liaoning Province in 2023

WANG Wei-Jie, ZHANG Ming-Yan, FENG Yi-Bo, WANG Yan*

(Liaoning Provincial Center for Disease Prevention and Control, Shenyang 110172, China)

ABSTRACT: Objective To analyze the molecular epidemiological characteristics, virulence gene profiles, and distribution of antibiotic resistance genes of *Vibrio parahaemolyticus* (VP) isolated from foodborne diseases patients in Dalian City, Liaoning Province. **Methods** A total of 63 VP clinical isolates were collected from Dalian City in 2023. The whole genome sequencing, multilocus sequence typing, virulence genes and drug resistance genes were analyzed, and the clinical epidemiological data were combined for comprehensive analysis. **Results** July-September was the main epidemic period of VP. The results of sequence type (ST) showed that ST3 was the main epidemic

收稿日期: 2025-03-26

第一作者: 王伟杰(1987—), 男, 硕士, 副主任技师, 主要研究方向为食品中致病微生物检测及分析。E-mail: jiejie5001@sina.com

*通信作者: 王艳(1978—), 女, 主任技师, 主要研究方向为疾病防控和微生物检测技术。Email: wy-0124@163.com

group. The 63 strains carried both *tlh* and *vcrD*, and the carrying rate of *tdh* and *vcrD2* virulence genes was 95.24%. All strains carried *bla*_{CARB-47}, *CARB-20*, *tet* (35), *tet* (34) and *CRP* resistance genes, and one ST3 strain also carried aminoglycosides, sulfonamides and other resistance genes. There was a certain correlation between virulence gene carrying type and ST type, but there was no obvious clustering feature in the distribution of drug resistance genes. All isolates from patients with systemic symptoms carried *tdh* and *vcrD2*. **Conclusion** ST3 is the main epidemic group of VP in Dalian, Liaoning Province, which is widely distributed and has a high proportion of virulence genes. Special attention should be paid to the risk of drug resistance transmission of ST3. This study provides a molecular epidemiological basis for the prevention and control of VP.

KEY WORDS: *Vibrio parahaemolyticus*; multilocus sequence typing; molecular epidemiology; whole genome sequencing

0 引言

副溶血性弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*, VP)作为一种广泛存在于河口及海洋生态系统中的革兰氏阴性嗜盐菌,其主要感染途径是通过摄入生食的海产品^[1-2]。当人体免疫力低下时,该病原菌可能引发创伤感染并进一步发展为全身性败血症^[3-5]。随着海产品流通网络的不断扩展,该菌正从沿海地区向内陆扩散,引发的食源性疾病发病率已超越沙门氏菌和志贺氏菌,连续多年成为我国散发性腹泻的首要致病菌^[6-7]。在辽宁省大连市、营口市等沿海区域,副溶血性弧菌已成为危害最严重的食源性病原,中毒事件频发^[8-9]。

全基因组测序(whole genome sequencing, WGS)技术的普及为微生物研究提供了新的技术手段。通过对测序数据的生物信息学分析,能够快速解析细菌群体的基因型特征^[10-12]。本研究基于 WGS 技术获得的副溶血性弧菌全基因组序列,综合运用多位点序列分型(multilocus sequence typing, MLST)、毒力基因检测及耐药基因分析等方法,系统比较不同菌株的遗传特征,并探讨各分析结果之间的内在联系,旨在揭示辽宁地区副溶血性弧菌的流行规律与致病特性。通过系统评估 2023 年辽宁省食源性疾病监测中分离的副溶血性弧菌的流行趋势、传播路径、临床分离株与食品分离株的遗传相似性分布情况,以及菌株的致病性特征和分子流行规律,为制定精准的防控策略提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料、仪器与试剂

食源性疾病病例定义为由食品或怀疑由食品引起的以腹泻症状为主诉的就诊病例,24 h 排便 ≥ 3 次,且粪便性状异常,如稀便、水样便、黏液便或脓血便等;同时排除服用抗生素或不恰当服用化学物质导致腹泻的病例^[13]。收集 2023 年辽宁省大连市各哨点医院肠道门诊食源性疾病病例粪便标本,由医院实验室负责病原检测,最终经辽宁

省疾控中心复核鉴定,共获得 63 株副溶血性弧菌。

SSNP-9600A 全自动核酸提取仪(江苏硕世生物科技有限公司);IMH100-SSS 恒温培养箱(美国赛默飞世尔科技公司);Milli-Q 纯水仪(德国默克密理博公司);VITEK2 全自动微生物生化鉴定系统(法国梅里埃生物公司)。

3%碱性蛋白胨水(alkaline peptone water, APW)、3%胰蛋白胨大豆琼脂(tryptic soy agar, TSA)(北京陆桥技术有限公司);弧菌显色培养基(法国科马嘉公司);细菌 DNA 提取试剂盒(江苏硕世生物科技有限公司)。以上试剂均经过质控并且在有效期内使用。

1.2 菌株鉴定

利用 3% APW 选择性增菌液对副溶血性弧菌磁珠进行增菌,将增菌液划线接种科马嘉显色平板进行筛选,挑取可疑菌落接种于 3% TSA 平板进行纯化培养,将纯培养后的菌落利用全自动微生物生化鉴定系统进行确证实验。

1.3 核酸提取和全基因组测序

通过全自动核酸提取仪提取副溶血性弧菌核酸。利用二代测序平台 Illumina 平台,构建的样品插入片段小于 400 bp,进行 PE150 (双端测序)测序,即双端测序,单端测序读长为 150 bp。使用 SOAP de novo (v2.04)^[14-15]、SPAdes^[16]和 ABySS^[17]组装软件对二代测序后的优化序列进行多个 Kmer 参数的拼接,得到最优的连续克隆系组装结果,然后将测序片段比对到重叠群上。根据测序片段的双端和重叠关系,对组装结果进行部分拼接和优化,形成支架。

1.4 多位点序列分型

将测序结果经拼接组装后,上传至基因组流行病学中心 MLST 分析平台(<https://cge.food.dtu.dk/services/MLST/>),得到菌株的 MLST 型。确定 7 等位基因序号构成的序列型(sequence type, ST)。

1.5 毒力基因的鉴定

将测序所获得的基因组在病原菌毒力因子数据库

(virulence factor data base, VFDB)^[18]中进行毒力基因的比对, 获得毒力因子基因的注释并进行统计分析, 以了解 *tlh*、*tdh*、*vcrD*、*vcrD2* 4 种毒力基因的携带情况。

1.6 耐药基因的鉴定

使用 ABRicate v0.5 (<https://github.com/tseemann/abricate>) 软件, 将基因组序列与 ResFinder v4.0^[19]数据库中的耐药基因进行比对, 查找菌株所携带的耐药基因, 参数设置中基因覆盖度及一致性阈值均为 80%。

1.7 数据处理

利用 BioNumerics 8.0 软件, 将 63 株菌的 7 个等位基因序号构成的 ST 字符型数据, 通过非加权分组平均法 (unweighted pair group method with arithmetic mean, UPGMA), 对 63 株菌的 MLST 型别进行聚类分析, 生成相似度矩阵和最小生成树。

2 结果与分析

2.1 基本情况

2.1.1 时间分布

2023 年大连地区, 因副溶血性弧菌导致的食源性疾病均集中在 7—9 月, 其中 8 月患者数量最多为 38 人, 占比 60.32%, 其次为 7 月份, 共 19 人, 占比 30.16%。见表 1。

表 1 各月患者数量分布
Table 1 Distribution of patients' numbers in each month

月份	患者数量/人	占比/%
7	19	30.16
8	38	60.32
9	6	9.52

2.1.2 食品类别分布

63 名患者食用污染副溶血性弧菌的食品类别, 其中因食用水产动物及其制品(包括熟制和生食等)而致病的患者人数最多(47.62%), 其次是食用肉与肉制品的患者(22.22%)。见表 2。

表 2 食品类别分布
Table 2 Distribution of food category

食品类别	患者数量/人	占比/%
多种食品	10	15.87
粮食类及其制品	1	1.59
肉与肉制品	14	22.22
乳与乳制品	1	1.59
蔬菜类及其制品	2	3.17
水产动物及其制品	30	47.62
水果类及其制品	3	4.76
饮料与冷冻饮品类	2	3.17

2.1.3 进食场所分布

进食场所的患者分布, 其中在酒店进食的人数最多(36.51%), 其次为在家庭进食的人数(34.92%)。见表 3。

表 3 进食场所分布

Table 3 Distribution of eating places

进食场所	患者数量/人	占比/%
餐饮服务业	6	9.52
酒店	23	36.51
家庭	22	34.92
街头食品	8	12.70
其他	3	4.76
食品店	1	1.59

2.1.4 购买场所分布

患者购买受污染食品的场所分布, 其中酒店占比最高(28.57%), 其次为农贸市场(19.05%)。见表 4。

表 4 购买场所分布

Table 4 Distribution of purchase places

购买场所	患者数量/人	占比/%
餐饮服务业	7	11.11
酒店	18	28.57
家庭	6	9.52
街头食品	11	17.46
零食店	2	3.17
食品店	3	4.76
其他	2	3.17
农贸市场	12	19.05

2.2 耐药基因携带情况

63 株副溶血性弧菌分离株均携带 5 种相同的耐药基因, 分别是 β 内酰胺酶类耐药基因 *blaCARB-47*、*CARB-20*, 四环素耐药基因 *tet (35)*和 *tet (34)*, 多重耐药外排泵基因 *CRP*。而编号为 ln041116-2023-00071 的分离株, 除携带以上 5 种耐药基因以外, 还携带氨基糖苷类耐药基因 *aadA1* 和 *AAC(6')-Ib7*, 苯酚类耐药基因 *catB8* 和 *catA3*, 磺酰胺类耐药基因 *sul2* 和 *sul1* 以及 β 内酰胺酶类耐药基因 *blaPER-1*, 该分离株的 ST 型为 ST3 型, 携带 *tlh*、*tdh*、*vcrD*、*vcrD2* 4 种毒力基因。

2.3 毒力基因携带情况

经 VFDB 数据库比对, 63 株副溶血性弧菌均携带 *tlh* 和 *vcrD* 毒力基因, 不携带 *trh*、*toxR*、*man7* 和 *vcrD1* 毒力基因, *tdh* 和 *vcrD2* 基因的携带率均为 95.23%。见表 5。

如表 6 所示, 63 株副溶血性弧菌分离株的毒力基因携带类型, 共存在 2 种形式, 一种是 *tlh+*、*trh-*、*tdh+*、*vcrD+*、*vcrD2+*, 共 60 株, 占比 95.23%, 另一种毒力基因携带类型为 *tlh+*、*trh-*、*tdh-*、*vcrD+*、*vcrD2-*, 有 3 株。

表 5 毒力基因携带情况

Table 5 Carrying status of virulence gene

毒力基因	菌株数	携带该基因的菌株数	携带率/%
<i>tlh</i>	63	63	100.00
<i>trh</i>	63	0	0
<i>tdh</i>	63	60	95.24
<i>vcrD</i>	63	63	100.00
<i>vcrD2</i>	63	60	95.24

表 6 不同毒力基因携带情况

Table 6 Carrying status of different virulence genes

毒力基因类型	患者数量/人	ST 型
<i>tlh+</i> , <i>trh-</i> , <i>tdh+</i> , <i>vcrD+</i> , <i>vcrD2+</i>	60	ST3 (57), ST332 (1), ST527 (2)
<i>tlh+</i> , <i>trh-</i> , <i>tdh-</i> , <i>vcrD+</i> , <i>vcrD2-</i>	3	ST121 (2), 未分型(1)

2.4 63 株副溶血性弧菌中的 MLST 型别、毒力基因和流行特征

2.4.1 63 株副溶血性弧菌的不同 MLST 型别和毒力基因分布

63 株菌被分为 5 个 ST 型, 最多的 ST 型为 ST3, 有 57 株, 占比 90.48%, ST121 和 ST527 型均为 2 株, 占比均为 3.17%, ST332 和未分型 ST 型均有 1 株, 占比均为 1.59%。经过本次结果比对, ST3、ST332 和 ST527 型的分离株均携带 *tlh*、*tdh*、*vcrD*、*vcrD2* 毒力基因, 而 ST121 和未分型 ST 型的分离株携带 *tlh* 和 *vcrD* 毒力基因, 而不携带 *tdh* 和 *vcrD2* 毒力基因(见表 7)。

2.4.2 各 MLST 型的聚类特征

通过 ST 型聚类图显示, 共聚类成 4 簇, 第一簇中有 ST3 和 ST121 型, 但两者距离较远, 相似性较小, ST332、

ST527 和未分型 ST 型各成一簇, 相互之间关联较小。从最小生成树图可以看出, 5 种 ST 型分布较分散, 相互间的距离较远, 差异较大。见图 1、2。

2.4.3 进食不同食品类别患者分离株的 MLST 型别和毒力基因情况

进食不同食品类别患者的分离株中, 进食多种食品、粮食类及其制品、乳与乳制品、蔬菜及其制品、水果类及其制品和饮料与冷冻饮品患者的分离株中, 均 100% 携带 *tlh*、*tdh*、*vcrD*、*vcrD2* 毒力基因, 而进食肉与肉制品患者的分离株中, *tdh* 和 *vcrD2* 基因的携带率均为 92.86%, 进食水产动物及其制品患者的分离株 *tdh* 和 *vcrD2* 基因的携带率均为 93.33%, ST332 型单独存在于进食多种食品的患者分离株中, 未分型 ST 型单独存在于进食肉与肉制品的患者分离株中, ST527 型同时存在于进食水产动物及其制品和饮料与冷冻饮品的患者分离株中, ST121 型只存在于进食水产动物及其制品的患者分离株中, 而 ST3 型广泛存在于进食各类食品的患者分离株中。见表 8。

2.4.4 不同地区县进食的患者分离株 MLST 型别和毒力基因情况

在不同地区县进食的患者分离株中, 在金州区、沙河口区、瓦房店市、西岗区和长海县进食的患者分离株, 均 100% 携带 *tlh*、*tdh*、*vcrD*、*vcrD2* 毒力基因, 而甘井子区患者的分离株, *tdh* 和 *vcrD2* 基因的携带率均为 92.31%, 中山区患者的分离株, *tdh* 和 *vcrD2* 基因的携带率均为 93.33%, 高新园区患者的分离株不携带 *tdh*、*vcrD2* 基因, 高新园区分离株的 ST 为未分型 ST 型。

表 7 不同 ST 型别的毒力基因分布

Table 7 Distribution of virulence genes of different ST types

ST 型	管家基因							患者数量/人	占比/%	毒力基因	
	<i>dnaE</i>	<i>gyrB</i>	<i>recA</i>	<i>dtbS</i>	<i>pntA</i>	<i>pyrC</i>	<i>tnaA</i>			<i>tdh</i>	<i>vcrD2</i>
ST3	3	4	19	4	29	4	22	57	90.48	+	+
ST121	3	2	82	50	4	78	66	2	3.17	-	-
ST332	14	30	141	78	4	37	13	1	1.59	+	+
ST527	43	41	107	42	37	40	33	2	3.17	+	+
未分型	71	414	220	19	50	11	94	1	1.59	-	-

注: +, 阳性; -, 阴性。

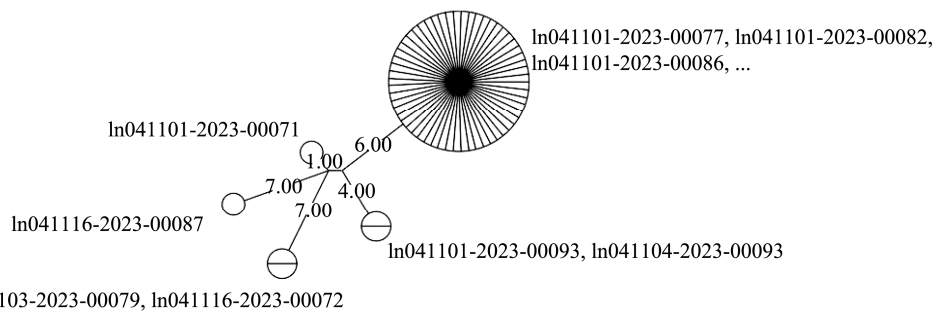


图 1 63 株副溶血性弧菌的最小生成树图

Fig.1 Minimum spanning tree of 63 strains of *Vibrio parahaemolyticus*

ST121 型在甘井子区和中山区进食的患者中均有分离, 未分型 ST 型的菌株分离于在高新园区进食的患者, ST527 型菌株分离于在沙河口区进食的患者, ST332 型菌株分离于中山区进食的患者, 而 ST3 型的菌株除在高新园区未分离出, 在其他各区县均有分离。见表 9。

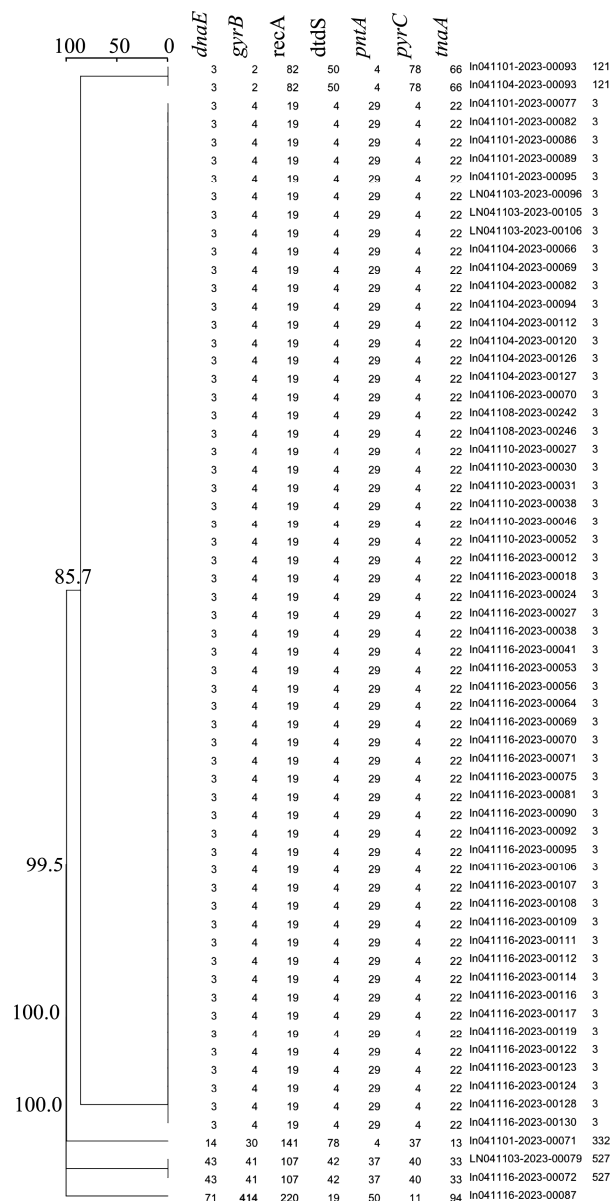


图 2 63 株副溶血性弧菌的 ST 型聚类图
Fig.2 ST-type cluster diagram of 63 strains of *Vibrio parahaemolyticus*

2.5 不同症状的患者分离株 MLST 型别、毒力基因和流行特征

2.5.1 消化系统症状

患者的消化系统症状以水样便和稀便为主, 其中以水样便症状的占比较多, 稀便症状的患者较少, 水样便中

表 8 进食不同食品类别患者分离株的 MLST 型别和毒力基因

Table 8 MLST types and virulence genes of isolates from patients eating different food categories

食品类别	毒力基因携带率/%				ST 型
	<i>tlh</i>	<i>tdh</i>	<i>vcrD</i>	<i>vcrD2</i>	
多种食品	100.00	100.00	100.00	100.00	ST3 (9), ST332 (1)
粮食类及其制品(含淀粉糖类、焙烤类及各类主食)	100.00	100.00	100.00	100.00	ST3 (1)
肉与肉制品	100.00	92.86 (13/14)	100.00	92.86 (13/14)	ST3 (13), 未分型(1)
乳与乳制品	100.00	100.00	100.00	100.00	ST3 (1)
蔬菜类及其制品	100.00	100.00	100.00	100.00	ST3 (2)
水产动物及其制品	100.00	93.33 (28/30)	100.00	93.33 (28/30)	ST3 (27), ST527 (1), ST121 (2)
水果类及其制品(包括果脯和蜜饯)	100.00	100.00	100.00	100.00	ST3 (3)
饮料与冷冻饮品	100.00	100.00	100.00	100.00	ST3 (1), ST527 (1)

表 9 不同地区县进食的患者分离株 MLST 型别和毒力基因情况

Table 9 MLST types and virulence genes of isolates from patients eating in different regions and counties

进食地区县	毒力基因携带率/%				ST 型
	<i>tlh</i>	<i>tdh</i>	<i>vcrD</i>	<i>vcrD2</i>	
甘井子区	100.00	92.31 (12/13)	100.00	92.31 (12/13)	ST3 (12), ST121 (1)
高新园区	100.00	0	100.00	0	未分型(1)
金州区	100.00	100.00	100.00	100.00	ST3 (1)
沙河口区	100.00	100.00	100.00	100.00	ST3 (10), ST527 (2)
瓦房店市	100.00	100.00	100.00	100.00	ST3 (2)
西岗区	100.00	100.00	100.00	100.00	ST3 (13)
长海县	100.00	100.00	100.00	100.00	ST3 (6)
中山区	100.00	93.33 (14/15)	100.00	93.33 (14/15)	ST3 (13), ST332 (1), ST121 (1)

每天排便 5 次的患者最多, 占比 19.05%, 其次为排便 10 次的患者, 为 15.87%。结果显示, 每天排 8 次水样便的患者, 有既往病史的比例较高, 为 40%, 其次为每天排 5 次和 7 次水样便的患者, 分别为 16.67%。不同消化系统症状的 ST 型, 均以 ST3 型为主。各消化系统症状的患者分离株, 均携带 *tlh*、*vcrD* 毒力基因, 而 *tdh* 和 *vcrD2* 的携带情况, 每天排便 5 次水样便的患者分离株携带率分别为 91.67%, 每天排便 4 次水样便的患者分离株携带率分别为 77.78%, 其他菌株均携带 *tdh* 和 *vcrD2* 毒力基因。见表 10。

表 10 不同消化系统症状的分子特征
Table 10 Molecular characteristics of different digestive system symptoms

消化系统症状	患者数量(占比/%)	有既往病史率/%	ST 型	<i>tdh</i> 携带率/%	<i>vcrD2</i> 携带率/%
水样便 20 次/d	1 (1.59)	0	ST3 (1)	100.00	100.00
水样便 12 次/d	1 (1.59)	0	ST3 (1)	100.00	100.00
水样便 10 次/d	10 (15.87)	0	ST3 (10)	100.00	100.00
水样便 9 次/d	1 (1.59)	0	ST3 (1)	100.00	100.00
水样便 8 次/d	5 (7.94)	40.00	ST3 (5)	100.00	100.00
水样便 7 次/d	6 (9.52)	16.67	ST3 (6)	100.00	100.00
水样便 6 次/d	7 (11.11)	0	ST3 (6) ST527 (1)	100.00	100.00
水样便 5 次/d	12 (19.05)	16.67	ST3 (1) 未分型(1)	91.67	91.67
水样便 4 次/d	9 (14.29)	11.11	ST3 (5) ST121 (2) ST332 (1) ST527 (1)	77.78	77.78
水样便 3 次/d	5 (7.94)	0	ST3 (5)	100.00	100.00
水样便 2 次/d	4 (6.35)	0	ST3 (5)	100.00	100.00
稀便 5 次/d	1 (1.59)	0	ST3 (5)	100.00	100.00
稀便 3 次/d	1 (1.59)	0	ST3 (5)	100.00	100.00

2.5.2 全身症状

患者绝大多数无明显全身症状, 占比为 80.95%, 部分患者存在全身症状, 以发热、乏力和脱水为主, 其中以乏力症状的患者最多, 占比 7.94%, 结果显示, 有全身症状的患者均无既往病史。发热症状患者分离株的 ST 型, 包括 ST3 和 ST332 型, 乏力症状患者分离株的 ST 型包括 ST3 和 ST527 型, 脱水症状患者分离株的 ST 型均为 ST3 型, 而无全身症状患者的分离株包括 4 种 ST 型。存在全身症状患者的分离株均携带 *tdh* 和 *vcrD2* 毒力基因, 而无全身症状患者的分离株, *tdh* 和 *vcrD2* 的携带率均为 94.12%。见表 11。

表 11 不同全身症状的分子特征
Table 11 Molecular characteristics of different systemic symptoms

全身症状	患者数量(占比/%)	有既往病史率/%	ST 型	<i>tdh</i> 携带率/%	<i>vcrD2</i> 携带率/%
发热	4 (6.35)	0	ST3 (3) ST332 (1)	100	100
乏力	5 (7.94)	0	ST3 (4) ST527 (1)	100	100
脱水	3 (4.76)	0	ST3 (3)	100	100
无	51 (80.95)	11.76	ST3 (47) ST121 (2) ST527 (1) 未分型(1)	94.12	94.12

3 讨论

本研究通过对 2023 年大连市 63 例副溶血性弧菌感染病例的流行病学特征进行系统性分析表明, 所有感染事件均集中在 7—9 月, 这一现象与既往文献报道的夏季高温环境下海产品冷链运输保障不足导致致病菌污染风险升高的结论高度契合^[20-23]。该季节性分布规律与我国其他区域的监测结果具有一致性, 可能与高温高湿环境更利于微生物增殖的特性密切相关。监测数据同时显示, 受污染食品主要集中在水产及其制品、肉与肉制品等高蛋白易腐品类, 这与辽宁省历史监测数据呈现的污染规律保持一致^[24]。为有效防控食源性风险, 需持续强化食品生产加工环节的卫生监管, 严格执行体系要求, 确保相关产品符合食品安全国家标准。从暴露场所分析来看, 酒店餐饮场所作为重要的感染传播媒介, 应被列为重点监管对象。建议建立食材溯源管理制度、从业人员健康档案和操作规范培训机制, 通过全流程质量控制预防群体性食源性疾病发生。在供应链源头管控方面, 应着重加强农贸市场等初级农产品交易场所的卫生管理, 建立致病菌污染预警机制, 切断污染食品进入流通环节的潜在路径。

在既往耐药基因研究中^[25], 辽宁省水产养殖环境分离的副溶血性弧菌已被证实广泛携带 *blaCARB* 基因。本研究进一步发现, 临床患者来源的所有 VP 分离株均携带该耐药基因, 这一现象表明该基因在辽宁省 VP 分离株群体中呈现高度流行态势。值得关注的是, 现代水产养殖业中抗生素的长期大量使用可能构成重要的选择压力, 尤其是亚抑菌浓度抗生素的持续暴露, 极有可能通过诱导基因突变或促进耐药基因横向转移等机制, 推动该耐药基因在 VP 种群中的快速传播与稳定遗传^[26-28]。

本研究主要检测副溶血性弧菌中 *tlh*、*tdh*、*vcrD*、*vcrD2* 4 种毒力基因的携带情况, 其中 *vcrD* 基因作为三型分泌系统(T3SS)的重要组成部分, 其主要功能包括诱导宿主细胞自噬、形态学改变及细胞膜完整性破坏^[29-32]。*tdh* 编码的耐热直接溶血素蛋白通过形成极性四聚体结构, 与真核细胞膜结合后引发跨膜离子失衡, 被认为是导致腹泻症状的关键毒力因子。而 *tlh* 基因产物则通过调控细胞凋亡、膜溶解及坏死等多种病理过程参与感染进程^[33], 被认为是副溶血弧菌的特异性基因, 所有的副溶血弧菌都会产生 *tlh* 基因。本研究中, 63 株副溶血性弧菌均 100.00% 携带 *tlh* 和 *vcrD* 毒力基因, *tdh* 和 *vcrD2* 基因的携带率均为 95.23%。这与临床来源的副溶血性弧菌分离株中 90% 为 *tdh* 一致^[34]。在毒力基因与消化系统症状的关联性上, 无法推断本研究中的毒力基因和消化系统症状之间的具体关系, 应加大样本量, 扩大监测地区, 增加监测年限, 以探究毒力基因对消化系统症状的影响情况。而在全身症状方面, 由于存在全身症状患者的分离株均完全携带 *tdh* 和 *vcrD2* 毒力基因, 而无

全身症状患者的分离株不完全携带 *tdh* 和 *vcrD2* 毒力基因, 推断不携带 *tdh* 和 *vcrD2* 毒力基因的菌株与较轻的全身症状有一定关联性, 但需小鼠毒力实验进一步证明。

通过对 63 株副溶血性弧菌进行多位点序列分型, 结果显示共分为 5 个 ST 型, 最多的 ST 型为 ST3, 占比 90.48%, ST121 和 ST527 型占比均为 3.17%, ST332 和未分型 ST 型占比均为 1.59%, 由此推断 2023 年大连市流行的副溶血性弧菌主要为 ST3 型。通过 ST 型聚类图和最小生成树图可以看出, 各 ST 型相似性较低, 差异较大, 但多种 ST 型可以存在于同一类食品类别中, 也可在同一区县内流行, 部分 ST 型可能与特定食品类别、地区相关。结合毒力基因结果, ST3、ST332 和 ST527 型的分离株均携带 *tlh*、*tdh*、*vcrD*、*vcrD2* 毒力基因, 而 ST121 和未分型 ST 型的分离株携带 *tlh* 和 *vcrD* 毒力基因, 而不携带 *tdh* 和 *vcrD2* 毒力基因, 这一现象暗示毒力基因组合与序列型别之间可能存在潜在关联性, 但该结论仍需扩大样本量进行验证, 以明确两者间的统计学相关性。再结合耐药基因结果, 各 ST 型的分离株携带耐药基因的情况基本一致, 虽各 ST 型亲缘关系较远, 但其携带的耐药基因没有明显的聚类和独立的特征。将 ST 型与临床症状相结合, 各 ST 型引起的消化系统症状和全身症状无明显的特点, 需增加样本量进一步探究各 ST 型引起的临床症状是否存在一定的趋势和聚类特点。

4 结 论

本研究对 2023 年大连食源性疾病中的副溶血性弧菌展开分析。结果显示, 7—9 月是流行高峰期, ST3 型为主要流行株, 且广泛分布, 毒力基因携带率较高。不同食品类别、地区县的患者分离株 ST 型存在差异, 部分 ST 型与特定食品类别、地区相关。消化系统症状以水样便居多, 各症状 ST 型以 ST3 为主, 毒力基因与消化系统症状关系待明确。全身症状中多数患者无明显症状, 有症状者以乏力为主。因此, 应加强夏季监管, 关注 ST3 型菌株的耐药风险, 为防控提供依据。

参考文献

- [1] TENOVER FC, ARBEIT RD, GOERING RV, *et al.* Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis criteria for bacterial strain typing [J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 1995, 33(9): 2233–2239.
- [2] LETCHUMANAN V, YIN WF, LEE LH, *et al.* Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from retail shrimps in Malaysia [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 33.
- [3] 姚慧靖, 车志教, 温微微, 等. 食物来源和食源性疾病来源的副溶血性弧菌的生物学特性比较研究[J]. *中国食品卫生杂志*, 2018, 30(2): 143–145.
- YAO HJ, CHE ZJ, WEN WW, *et al.* Comparative study on the biological characteristics of *Vibrio parahaemolyticus* from food sources and food-borne diseases [J]. *Chinese Journal Food Hygiene*, 2018, 30(2): 143–145.
- [4] 宋晓昀, 蔡特, 李瑞. 大连市不同海产品中副溶血性弧菌污染的健康风险分级研究[J]. *中国食品卫生杂志*, 2018, 30(5): 473–477.
- SONG XY, CAI T, LI R. Study on health risk classification of *Vibrio parahaemolyticus* contamination in different seafood in Dalian City [J]. *Chinese Journal Food Hygiene*, 2018, 30(5): 473–477.
- [5] 高敏国, 朱迅, 诸芸, 等. 2015—2017 年无锡市副溶血性弧菌引起的食源性疾病流行病学特征分析[J]. *现代预防医学*, 2019, 46(9): 1555–1558, 1575.
- GAO MG, ZHU X, ZHU Y, *et al.* Epidemiological characteristics of foodborne diseases caused by *Vibrio parahaemolyticus* in Wuxi from 2015 to 2017 [J]. *Modern Preventive Medicine*, 2019, 46(9): 1555–1558, 1575.
- [6] 李雪, 张眉眉, 马景宏, 等. 辽宁省食源性副溶血性弧菌 PFGE 分子分型及血清型、耐药谱[J]. *中国微生态学杂志*, 2017, 29(11): 1269–1271, 1304.
- LI X, ZHANG MM, MA JH, *et al.* PFGE molecular typing, serotype and drug resistance spectrum of food-borne *Vibrio parahaemolyticus* in Liaoning Province [J]. *Chinese Journal of Microecology*, 2017, 29(11): 1269–1271, 1304.
- [7] 李雪, 张眉眉, 张铭琰, 等. 辽宁省溶藻弧菌 REP-PCR 和 PFGE 分子分型、耐药谱的研究[J]. *中国微生态学杂志*, 2018, 30(5): 535–540.
- LI X, ZHANG MM, ZHANG MY, *et al.* Study on REP-PCR, PFGE molecular typing and drug resistance spectrum of *Vibrio alginolyticus* in Liaoning Province [J]. *Chinese Journal of Microecology*, 2018, 30(5): 535–540.
- [8] 李雪, 张眉眉, 马景宏, 等. 辽宁省 2014—2016 年副溶血性弧菌毒力基因及血清型、耐药性[J]. *中国微生态学杂志*, 2018, 30(2): 161–163, 184.
- LI X, ZHANG MM, MA JH, *et al.* The virulence genes, serotypes and drug resistance of *Vibrio parahaemolyticus* in Liaoning Province from 2014 to 2016 were analyzed [J]. *Chinese Journal of Microecology*, 2018, 30(2): 161–163, 184.
- [9] 宋蕴奇, 李绥晶, 孙静. 辽宁省 2011—2016 年食源性疾病暴发事件流行病学特征分析[J]. *中国公共卫生*, 2018, 34(6): 874–876.
- SONG YQ, LI SJ, SUN J. Analysis on epidemiological characteristics of foodborne disease outbreaks in Liaoning Province from 2011 to 2016 [J]. *Chinese Journal of Public Health*, 2018, 34(6): 874–876.
- [10] CHEWAPREECHA C, HOLDEN MTG, VEKALA M, *et al.* Global and regional dissemination and evolution of *Burkholderia pseudomallei* [J]. *Nature Microbiology*, 2017, 2: 16263.
- [11] YANG C, PEI XY, WU YR, *et al.* Recent mixing of *Vibrio parahaemolyticus* populations [J]. *Isme Journal*, 2019, 13(10): 2578–2588.
- [12] YANG C, ZHANG XL, FAN H, *et al.* Genetic diversity, virulence factors and farm-to-table spread pattern of *Vibrio parahaemolyticus* food-associated isolates [J]. *Food Microbiology*, 2019, 84: 103270.
- [13] 张志敏, 余红, 封会茹, 等. 2016—2023 年北京市丰台区食源性疾病中沙门氏菌流行特征及耐药分析[J]. *食品安全质量检测学报*, 2025, 16(7): 315–322.
- ZHANG ZM, YU H, FENG HR, *et al.* Epidemiological characteristics and drug resistance of *Salmonella* isolated from foodborne diseases in Fengtai District, Beijing from 2016 to 2023 [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2025, 16(7): 315–322.

- [14] LI RQ, ZHU HM, RUAN J, *et al.* De novo assembly of human genomes with massively parallel short read sequencing [J]. *Genome Research*, 2010, 20(2): 265–272.
- [15] LI RQ, LI YR, KRISTIANSEN K, *et al.* SOAP: Short oligonucleotide alignment program [J]. *Bioinformatics*, 2008, 24(5): 713–714.
- [16] BANKEVICH A, NURK S, ANTIPOV D, *et al.* SPAdes: A new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing [J]. *Journal of Computational Biology: A Journal of Computational Molecular Cell Biology*, 2012, 19(5): 455–477.
- [17] SIMPSON JT, WONG K, JACKMAN SD, *et al.* ABySS: A parallel assembler for short read sequence data [J]. *Genome Research*, 2009, 19(6): 1117–1123.
- [18] CHEN LH, YANG J, YU J, *et al.* VFDB: A reference database for bacterial virulence factors [J]. *Nucleic Acids Research*, 2005, 33: D325–D328.
- [19] ZANKARI E, HASMAN H, COSENTINO S, *et al.* Identification of acquired antimicrobial resistance genes [J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2012, 67(11): 2640–2644.
- [20] 王鸽, 申屠平平, 朱珈慧. 2014年金海市食源性疾病监测结果分析[J]. *中国食品卫生杂志*, 2017, 29(1): 97–100.
- WANG G, SHENTU PP, ZHU JH. Analysis of monitoring results of foodborne diseases in Jinhua City in 2014 [J]. *Chinese Journal Food Hygiene*, 2017, 29(1): 97–100.
- [21] 翟前前, 赵勇, 尹菲, 等. 2013—2015年吉林省食源性疾病流行病学特征分析[J]. *中国食品卫生杂志*, 2016, 28(5): 589–593.
- ZHAI QQ, ZHAO Y, YIN F, *et al.* Epidemiological characteristics of foodborne diseases in Jilin Province from 2013 to 2015 [J]. *Chinese Journal Food Hygiene*, 2016, 28(5): 589–593.
- [22] 傅雅丽, 陆敏, 徐东宁, 等. 2013—2014年南京城北哨点医院食源性疾病监测情况分析[J]. *中国食品卫生杂志*, 2017, 29(1): 93–96.
- FU YL, LU M, XU DN, *et al.* Analysis of foodborne disease surveillance in Nanjing Chengbei sentinel hospital from 2013 to 2014 [J]. *Chinese Journal Food Hygiene*, 2017, 29(1): 93–96.
- [23] 梅玲玲, 潘雪霞, 朱敏, 等. 浙江省副溶血性弧菌污染水平及贝类海产品风险评估[J]. *中国人兽共患病学报*, 2012, 28(7): 700–704, 717.
- MEI LL, PAN XX, ZHU M, *et al.* Pollution level of *Vibrio parahaemolyticus* and risk assessment of shellfish and seafood in Zhejiang Province [J]. *Chinese Journal of Zoonoses*, 2012, 28(7): 700–704, 717.
- [24] 刁文丽, 王凯琳, 宋蕴奇, 等. 辽宁省2014—2019年副溶血性弧菌感染状况及其流行病学特征分析[J]. *中国食品卫生杂志*, 2021, 33(3): 308–312.
- DIAO WL, WANG KL, SONG YQ, *et al.* The infection status and epidemiological characteristics of *Vibrio parahaemolyticus* in Liaoning Province from 2014 to 2019 were analyzed [J]. *Chinese Journal Food Hygiene*, 2021, 33(3): 308–312.
- [25] 李雪, 王伟杰, 孙婷婷, 等. 水产动物源副溶血性弧菌耐药性研究[J]. *职业与健康*, 2024, 40(4): 461–465.
- LI X, WANG WJ, SUN TT, *et al.* Study on drug resistance of *Vibrio parahaemolyticus* from aquatic animals [J]. *Occupation and Health*, 2024, 40(4): 461–465.
- [26] 黄伟德, 肖双燕, 黎姗梅, 等. 广西凡纳滨对虾源副溶血弧菌耐药性和耐药基因的检测[J]. *西南农业学报*, 2018, 31(9): 1979–1988.
- HUANG WD, XIAO SY, LI SM, *et al.* Detection of drug resistance and drug resistance genes of *Vibrio parahaemolyticus* from *Litopenaeus vannamei* in Guangxi [J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2018, 31(9): 1979–1988.
- [27] 李诗怡, 杨靖亚, 马燕, 等. 副溶血弧菌耐热直接溶血毒素的急性毒性研究[J]. *安徽农业大学学报*, 2020, 47(3): 386–390.
- LI SY, YANG JY, MA Y, *et al.* Study on acute toxicity of thermostable direct hemolysin of *Vibrio parahaemolyticus* [J]. *Journal of Anhui Agricultural University*, 2020, 47(3): 386–390.
- [28] 陈秀英, 梅建华, 陈沙彬, 等. 2014—2018年浙江省丽水市副溶血弧菌流行情况及菌株特征分析[J]. *疾病监测*, 2019, 34(9): 822–826.
- CHEN XY, MEI JH, CHEN SB, *et al.* Epidemiological characteristics and strain characteristics of *Vibrio parahaemolyticus* in Lishui, Zhejiang, 2014—2018 [J]. *Disease Surveill*, 2019, 34(9): 822–826.
- [29] ZHAO Z, LIU JX, DENG YQ, *et al.* The *Vibrio alginolyticus* T3SS effectors, Val1686 and Val1680, induce cell rounding, apoptosis and lysis of fish epithelial cells [J]. *Virulence*, 2018, 9(1): 318–330.
- [30] MAKINO K, OSHIMA K, KUROKAWA K, *et al.* Genome sequence of *Vibrio parahaemolyticus*: A pathogenic mechanism distinct from that of *V. cholerae* [J]. *Lancet*, 2003, 361(9359): 743–749.
- [31] ZHOU XH, KONKEL ME, CALL DR. Type III secretion system 1 of *Vibrio parahaemolyticus* induces oncosis in both epithelial and monocytic cell lines [J]. *Microbiology (Reading)*, 2009, 155(Pt 3): 837–851.
- [32] BURDETTE DL, SEEMANN J, ORTH K. *Vibrio* VopQ induces PI3-kinase-independent autophagy and antagonizes phagocytosis [J]. *Molecular Microbiology*, 2009, 73(4): 639–649.
- [33] FLORES-PRIMO A, PARDÍO-SEDAS V, LIZÁRRAGA-PARTIDA L, *et al.* Seasonal abundance of total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* isolated from American oysters harvested in the Mandinga Lagoon System, Veracruz, Mexico: Implications for food safety [J]. *Journal of Food Protection*, 2014, 77(7): 1069–1077.
- [34] SONG XY, MA YJ, FU JJ, *et al.* Effect of temperature on pathogenic and non-pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* biofilm formation [J]. *Food Control*, 2017, 73: 485–491.

(责任编辑: 韩晓红 蔡世佳)