

## 研究报告

## 宁波市某县两起食源性疾病暴发事件中副溶血性弧菌病原学特征分析

叶硕,蒋丹捷,刘昱慧

(宁波市疾病预防控制中心,浙江宁波 315010)

**摘要:**目的 分析宁波市某县2024年7月发生的两起食源性暴发事件中副溶血性弧菌的病原学特征及同源性。方法 采用华大(MGI)测序平台进行全基因组测序,分析分离株的毒力因子和耐药基因;通过多位点序列分型(MLST)确定序列型别(ST),基于核心基因组MLST(cgMLST)构建系统进化树进行聚类分析。结果 两起事件共分离22株菌株,鉴定出10种ST型,其中ST3为优势型;耐药基因分析发现7类11个耐药基因,所有菌株均携带CRP、tet(35)、rsmA基因及CRAB相关β-内酰胺酶基因;9株携带tlh外毒素基因,16株携带tdh基因,未检出trh基因;cgMLST进化树显示病例株核心等位基因差异≤12,存在显著聚类现象,且跨时间病例株间遗传距离高度接近。结论 两起事件分离的副溶血性弧菌在ST型、血清型等分型特征及毒力/耐药基因谱呈现多样性。cgMLST分析为跨事件同源性判定提供了高分辨率依据,为食源性疾病溯源提供重要线索。

**关键词:**副溶血性弧菌;全基因组测序;cgMLST;分子溯源分析;毒力因子

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2025)09-0797-08

DOI:10.13590/j.cjfh.2025.09.001

**Etiological characteristics of *Vibrio parahaemolyticus* in two foodborne disease outbreaks in a county of Ningbo City: a genomic and phylogenetic analysis**

YE Shuo, JIANG Danjie, LIU Yuhui

(Ningbo Municipal Center for Disease Control and Prevention, Zhejiang Ningbo 315010, China)

**Abstract: Objective** To analyze the etiological characteristics and homology of *Vibrio parahaemolyticus* strains isolated from two foodborne outbreaks in July 2024 in a county of Ningbo City. **Methods** Whole genome sequencing was performed using the MGI sequencing platform to analyze virulence factors and antibiotic resistance genes. Sequence types (STs) were determined by multilocus sequence typing (MLST), and cluster analysis was conducted by constructing phylogenetic trees based on core genome MLST (cgMLST). **Results** Among 22 isolates from two outbreaks, 10 STs were identified with ST3 being predominant. Antibiotic resistance profiling revealed 11 resistance genes from 7 categories, with all strains carrying CRP, tet(35), rsmA and CRAB (Carbapenem-Resistant Acinetobacter baumannii)-associated β-lactamase genes. The tlh gene was detected in 9 strains, tdh in 16 strains, while trh was absent. cgMLST-based phylogenetic analysis showed significant clustering of case strains with ≤12 core allele differences, indicating highly close genetic distance between isolates across the two outbreaks. **Conclusion** The *Vibrio parahaemolyticus* isolates exhibited diversity in STs, serotypes, and virulence/resistance gene profiles of isolates from two cases. cgMLST analysis provided high-resolution evidence for inter-outbreak homology determination, offering critical clues for tracing foodborne disease sources.

**Key words:** *Vibrio parahaemolyticus*; whole genome sequencing; core genome multilocus sequence typing; traceability analysis; virulence factors

2023年,全国共报告食源性疾病暴发事件6960起,发病30237人,死亡90人。2023年中国大陆食源性疾病暴发监测结果分析显示<sup>[1]</sup>,暴发场所中餐饮服务场所的发病人数最多,占65.59%;在

病因明确的食源性疾病暴发事件中,微生物性致病因子引起的发病人数最多,占53.05%,其中副溶血性弧菌排第2位,仅次于沙门菌。副溶血性弧菌感染虽致死率相对较低,但其引发的食源性疾病暴发

收稿日期:2025-02-24

基金项目:浙江省医药卫生科技项目(2025KY280);宁波市公益类科技计划(2023S149)

作者简介:叶硕 男 副主任技师 研究方向为病原检验与分型溯源 E-mail: yeshuo@126.com

通信作者:刘昱慧 男 副主任技师 研究方向为病原检验 E-mail: liuyuhui20220420@outlook.com

频次高、涉及人数广,对公共卫生构成显著负担。引起暴发事件的主要血清型也已由2020年前的O3:K6逐渐向O10:K4血清型转变<sup>[2]</sup>。本研究涉及的O10:K4血清型及ST3型在既往暴发事件中亦被频繁报道<sup>[6]</sup>。

副溶血性弧菌属于弧菌科(*Vibrionaceae*),是一种典型的水生致病菌,广泛分布于海洋和淡水环境中,尤其在温暖季节较为常见。这一物种的寄主范围广泛,包括各种贝类、虾类、蟹类等。宁波市地处东南沿海,海产品作为本市重要的影响民生和经济效益的特产,一直深受副溶血性弧菌污染的影响。该细菌会在食品中生长,产生各种致病因子,包括肠毒素和溶血素<sup>[3]</sup>。一旦摄入这些毒素,可能导致临床上常以急性起病、呕吐、腹痛、腹泻以及水样便为主症状,严重者可引起全身痉挛、脱水、循环系统衰竭、败血症等症状,从而导致死亡<sup>[4]</sup>。2024年7月底,宁波某县1周内连续发生两起由副溶血性弧菌引起的食源性疾病暴发事件。本研究对这两起事件中收集到的菌株进行药敏试验,全基因组测序以及耐药性分析,MLST及cgMLST等分型分析,研究

其病原学特征和同源性,为今后的食源性疾病防控及溯源提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 暴发事件描述

事件一:2024年7月21日,接到报告,县红十字台胞医院接诊4例腹痛、腹泻等症状的病例,均为来自杭州市多户家庭组团自驾的15人旅游团成员。20日早餐各自用餐,中餐和晚餐分别在某海鲜餐厅和某酒楼就餐,15人行程、饮食基本一致。共采集样品25份,其中患者肛拭5份,食品用具棉拭涂抹物9份,厨师及服务人员肛拭样品11份。因食品留样缺失,未能采集到食物来源的菌株。检测项目为副溶血性弧菌、沙门菌、金黄色葡萄球菌、霍乱弧菌等。经实验室检测,共发现确诊病例3例,均检出副溶血性弧菌,均为O10:K4型。中餐海鲜餐厅3份食品用具检出副溶血性弧菌。晚餐酒楼4份食品用具检出副溶血性弧菌。菌株情况见表1。

表1 2024年7月宁波市某县两起事件副溶血性弧菌分离菌株来源信息

Table 1 Source information of *Vibrio parahaemolyticus* isolates from 2 Cases in a county of Ningbo City in July, 2024

菌株编号	来源	采样地点	简写	采样日期
ZJ-0574-295-2024-00018	病例肛拭子	医院	BL18	7月21日
ZJ-0574-295-2024-00019	病例肛拭子	医院	BL19	7月21日
ZJ-0574-295-2024-00017	病例肛拭子	医院	BL17	7月21日
330225202407250001-zb	砧板	酒楼	725zb	7月22日
330225202407250001-cd	菜刀	酒楼	725cd	7月22日
330225202407250001-mb	抹布	酒楼	725mb	7月22日
330225202407250001-sel	剩菜篮	酒楼	725sel	7月22日
330225202407250001-hxzb	海鲜砧板	海鲜餐厅	725hxzb	7月22日
330225202407250001-hxcd	海鲜菜刀	海鲜餐厅	725hxcd	7月22日
330225202407250001-hxtp	海鲜托盘	海鲜餐厅	725hxtp	7月22日
ZJ-0574-295-2024-00020	病例肛拭	医院	BL20	7月25日
ZJ-0574-295-2024-00022	病例肛拭	医院	BL22	7月25日
ZJ-0574-295-2024-00024	病例肛拭	医院	BL24	7月25日
ZJ-0574-295-2024-00025	病例肛拭	医院	BL25	7月25日
ZJ-0574-295-2024-00027	病例肛拭	医院	BL27	7月25日
ZJ-0574-295-2024-00023	病例肛拭	医院	BL23	7月25日
ZJ-0574-295-2024-00026	病例肛拭	医院	BL26	7月25日
ZJ-0574-295-2024-00028	病例肛拭	医院	BL28	7月25日
330225202407290001-lcczt	冷菜操作台	24日午餐饭店	729lcczt	7月26日
330225202407290001-mb	抹布	24日午餐饭店	729mb	7月26日
330225202407290001-zb	砧板	24日午餐饭店	729zb	7月26日
330225202407290001-bxbs	冰箱把手	24日午餐饭店	729bxbs	7月26日

事件二:2024年7月24日,接到报告,县红十字台胞医院接诊8例发热、腹痛、腹泻、恶心、呕吐等症状的病例,均为杭州市萧山区中学教师疗休养旅游团成员。该疗休养团成员7月22~24日35人早餐、午餐和晚餐均以团餐为主,发病高峰集中在7月24日17时,根据潜伏期推算,可疑餐次为7月23日晚餐和7月24日午餐。共采集样品24份,其

中患者肛拭10份,食品用具棉拭涂抹物8份,厨师及服务人员肛拭样品6份。因食品留样缺失,未能采集到食物来源的菌株。检测项目为副溶血性弧菌、沙门菌、金黄色葡萄球菌、霍乱弧菌等。其中,8例患者检出副溶血性弧菌,7例均为O10:K4型。24日午餐饭店4份食品用具检出副溶血性弧菌,菌株情况见表1。

按食品安全国家标准 GB 4789.7—2013《食品安全国家标准 食品微生物学检验 副溶血性弧菌检验》进行副溶血性弧菌分离培养,将菌接种在弧菌显色培养基中分离培养。可疑菌落用 VITEK2 及 VITEK-MS 鉴定确认为副溶血性弧菌,并进行其 O 抗原及 K 抗原的诊断血清凝集分型。

### 1.1.2 主要仪器与试剂

全自动微生物生化鉴定仪(法国 Bio Mérieux, VITEK2 Compact)、全自动药物敏感分析仪(美国 Thermo Fisher/AIM, Sensititre Aris HiQ)、全自动微生物质谱检测仪(法国 Bio Mérieux, VITEK-MS)、八通道核酸/蛋白定量荧光计(美国 Invitrogen, Qubit Flex)、全自动核酸纯化仪(美国 Qiagen, EZ2 Connect)、自动化样本制备系统(华大基因 BGI, MGISP-100)、高通量测序仪(中国华大 BGI, MGISEQ-200)。

3% 碱性蛋白胨琼脂(青岛海博)、弧菌显色培养基(法国科马嘉)、副溶血性弧菌诊断血清(日本生研)、革兰氏阴性菌药敏板(美国 Thermo Fisher)、核酸提取试剂盒(美国 Qiagen, EZ1&2 DNA Tissue Kit),建库及测序相关试剂芯片(均购自华大基因 BGI)。所有试剂和培养基均在有效期内使用。

## 1.2 方法

### 1.2.1 药敏试验

副溶血性弧菌药敏试验采用微量肉汤稀释法,试验方案参考国家致病菌识别网技术手册(2022 版)-细菌药物敏感性检测技术规范篇(ChinaPIN-2022-TYJS004)和副溶血性弧菌药敏试剂说明书。药敏结果参照美国临床实验室标准化协会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)2024 年标准进行耐药表型判定,质控菌株选择副溶血性弧菌 ATCC 17802。17 种抗生素包括氯霉素、复方新诺明、多黏菌素 E、厄他培南、美罗培南、头孢噻肟、头孢他啶、头孢他啶/阿维巴坦、四环素、替加环素、环丙沙星、萘啶酸、阿奇霉素、阿米卡星、链霉素、氨苄西林、氨苄西林/舒巴坦。

### 1.2.2 基因组 DNA 提取

提取试剂盒使用 Qiagen 的 EZ1&2 DNA Tissue Kit,搭配 Qiagen 的 EZ2 Connect 全自动核酸提取仪按照试剂盒操作说明书使用。提取后采用 Qubit Flex 进行 dsDNA 定量。基因组的浓度为 56~108 ng/ $\mu$ L,最终体积为 50  $\mu$ L。

### 1.2.3 全基因组测序及分析

分离株的 DNA 全基因组核酸在华大 BGI MGISP-100 全自动建库平台上完成文库构建及上机 DNB 制备。并在 BGI MGISEQ-200 测序平台上完成测序,测序芯片采用 FCS 小芯片,测序方法为 paired-

end 2 $\times$ 100 bp,测序深度为 150-200 X。获得的下机数据在华大 PFI 数据分析服务器上用 MGAP 流程采取无参(参考序列)从头拼接方式(de novo)进行拼接和组装。

获得的 fasta 拼接序列进一步通过中微数创的 Microbench 分析平台进行分析,包括 MLST 型别分析;用 CARD 耐药基因库和 ResFinder 耐药库分析菌株的耐药基因,相似度设为 90%,覆盖率设为 90%;用 VFDB 数据库进行毒力基因筛查,相似度设为 90%,覆盖率设为 90%。对比到的关键毒力及耐药基因用 Blastn 进行进一步验证。利用荧光 PCR 方法验证 *tlh*、*tdh*、*trh* 3 种毒素相关毒力基因携带情况。

### 1.2.4 cgMLST 聚类及进化树分析

将测序序列文件,使用数据库 EnteroBase 进行副溶血性弧菌 cgMLST 分析,采用 cgMLST V2 + HierCC V1 方案,构建高分辨率的物种分型结果,并进一步构建分子进化树。

分子进化分析:基于 cgMLST 分析结果,使用 Microbench 分析平台构建副溶血性弧菌分离株与本地保存的副溶血性弧菌参考菌株的系统发育进化树及最小生成树,并进行同源性判定。判定方法为副溶血性弧菌 1 967 个核心基因位点中 $\leq$ 8 个等位基因差异的菌株视为同源,9~29 个等位基因差异的菌株视为可能相关,30 个或更多等位基因差异的菌株视为不相关<sup>[5]</sup>。

## 2 结果

### 2.1 血清凝集情况和 MLST 分型

来自两起事件的 22 株菌株均使用质谱复核为副溶血性弧菌,并预先进行了血清凝集,结果见表 2。22 株副溶血性弧菌基因组序列经过滤组装,基因组平均大小为 4.94 Mb,平均 GC 含量为 44.98%。MLST 型别共有 10 种,其中 ST3 型最多,有 12 株,大多来自患者样本,其他 ST 型较为分散。血清型 O10:K4 为优势血清型,有部分菌株或许由于血清原因未能完全分型,见表 2。

### 2.2 药敏试验和耐药基因分析

药敏实验结果表明,22 株菌对四环素耐药率最高(4/22, 18.18%),其次为氨苄西林和头孢噻肟(3/22, 13.64%),还有两株对阿米卡星耐药(2/22, 9.09%)。对其余抗生素均敏感。其中,双重耐药 4 株(4/22, 18.18%)。来源于患者的菌株除 BL28 外均不耐药。见表 3。

从 CARD 和 ResFinder 数据库共鉴定到 7 类 11 个耐药基因,分别介导对  $\beta$ -内酰胺酶类、磺胺类、氨基糖苷类及四环素类抗生素的耐受。其中,所有

表2 2024年7月宁波市某县两起事件中22株副溶血性弧菌血清凝集及MLST分型

Table 2 Serum agglutination and MLST typing results of 22 *Vibrio parahaemolyticus* isolates from two cases in a county of Ningbo City in July, 2024

菌株编号	血清凝集情况	MLST型
ZJ-0574-295-2024-00018	O10:K4	ST3
ZJ-0574-295-2024-00019	O10:K4	ST3
ZJ-0574-295-2024-00017	O10:K4	ST3
330225202407250001-zb	K6/K8/K4不凝, O10凝集	ST398
330225202407250001-cd	K6/K8/K4不凝, O自凝	ST398
330225202407250001-mb	K6/K8/K4不凝, O10凝集	ST3
330225202407250001-scl	K6/K8/K4不凝, O自凝	ST3
330225202407250001-hxzb	O4:K8	ST345
330225202407250001-hxcd	K6/K8/K4不凝, O自凝	ST2909
330225202407250001-hxtp	K6/K8/K4不凝, O10/O3/O4不凝	ST532
ZJ-0574-295-2024-00020	O10:K4	ST3
ZJ-0574-295-2024-00022	O10:K4	ST3
ZJ-0574-295-2024-00024	O10:K4	ST3
ZJ-0574-295-2024-00025	O10:K4	ST3
ZJ-0574-295-2024-00027	O10:K4	ST3
ZJ-0574-295-2024-00023	O10:K4	ST3
ZJ-0574-295-2024-00026	O10:K4	ST3
ZJ-0574-295-2024-00028	K6/K8/K4不凝, O10/O3/O4不凝	ST212
330225202407290001-lcczt	K6/K8/K4不凝, O4凝集	ST422
330225202407290001-mb	K6/K8/K4不凝, O3凝集	ST376
330225202407290001-zb	K6/K8/K4不凝, O10/O3/O4不凝	ST2951
330225202407290001-bxbs	K6/K8/K4不凝, O10/O3/O4不凝	ST1922

菌株都携带 *CRP*、*tet(35)*、*rsmA* 基因及  $\beta$ -内酰胺酶基因 CRAB 系列。

### 2.3 毒力基因分析

使用 VFDB 数据库分析副溶血性弧菌毒力基因在 22 株菌种的分布情况,结果见图 1。22 株副溶血性弧菌的毒力基因分布。所有分离株均携带 II 型分泌系统(Type II secretion systems, *T2SS*)相关基因(*epsL*、*epsN*、*epsE*、*epsH*、*epsJ* 等),均不携带 *flgF*、*flaA*、*fliS* 等毒力基因,不同的 ST 型携带的毒力基因情况不一样。相同的 ST 型(如 ST3)携带的毒力基因也会略有差别。基因组测序分析和荧光 PCR 检测均证实,9 株菌携 *tlh*(9/22, 40.91%),16 株菌携带 *tdh*(16/22, 72.73%)。

### 2.4 cgMLST 聚类及进化树分析

分离株基因组数据使用数据库 EnteroBase 进行副溶血性弧菌 cgMLST 分析,基于分析后的结果和本地参考株一起构建系统发育进化树。发现 22 株副溶血性弧菌等位基因差异数为 0~1 513。分析结果显示,相较于本地参考株,两事件分离株明显分别聚为一簇。几株 ST3 病例株也聚在相近分支,等位基因差异为 0~12,提示了这些菌株较强的同源性,

表3 2024年7月宁波市某县两起事件中副溶血性弧菌耐药基因及药敏结果一览表

Table 3 Drug sensitivity and resistance gene results of *Vibrio parahaemolyticus* isolates from two cases in a county of Ningbo City in July, 2024

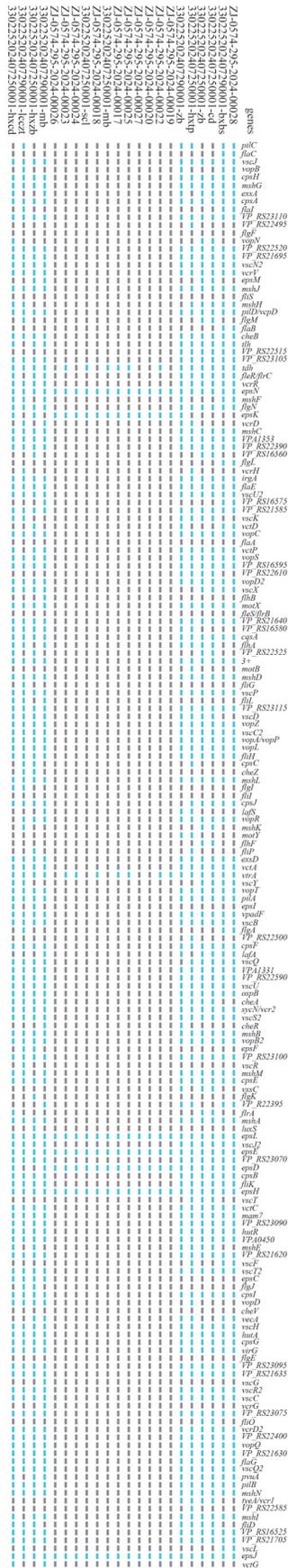
菌株号*	耐药基因	耐药情况
BL18	<i>CARB-22</i> 、 <i>CRP</i> 、 <i>tet(35)</i> 、 <i>rsmA</i>	—
BL19	<i>CARB-22</i> 、 <i>CRP</i> 、 <i>tet(35)</i> 、 <i>rsmA</i>	—
BL17	<i>CARB-22</i> 、 <i>CRP</i> 、 <i>tet(35)</i> 、 <i>rsmA</i>	—
725zb	<i>CARB-18</i> 、 <i>sul2</i> 、 <i>APH(6)-Id</i> 、 <i>floR</i> 、 <i>tet(A)</i> 、 <i>tet(35)</i> 、 <i>CRP</i> 、 <i>rsmA</i>	TET-AMK
725cd	<i>CARB-18</i> 、 <i>sul2</i> 、 <i>APH(6)-Id</i> 、 <i>floR</i> 、 <i>tet(A)</i> 、 <i>tet(35)</i> 、 <i>CRP</i> 、 <i>rsmA</i>	TET-AMK
725mb	<i>CARB-22</i> 、 <i>CRP</i> 、 <i>tet(35)</i> 、 <i>rsmA</i>	—
725scl	<i>CARB-22</i> 、 <i>CRP</i> 、 <i>tet(35)</i> 、 <i>rsmA</i>	—
725hxzb	<i>CARB-20</i> 、 <i>CRP</i> 、 <i>tet(35)</i> 、 <i>rsmA</i>	CTX
725hxcd	<i>CARB-20</i> 、 <i>CRP</i> 、 <i>tet(35)</i> 、 <i>rsmA</i>	—
725hxtp	<i>CARB-18</i> 、 <i>CRP</i> 、 <i>tet(35)</i> 、 <i>rsmA</i>	AMP
BL20	<i>CARB-22</i> 、 <i>CRP</i> 、 <i>tet(35)</i> 、 <i>rsmA</i>	—
BL22	<i>CARB-22</i> 、 <i>CRP</i> 、 <i>tet(35)</i> 、 <i>rsmA</i>	—
BL24	<i>CARB-22</i> 、 <i>CRP</i> 、 <i>tet(35)</i> 、 <i>rsmA</i>	—
BL25	<i>CARB-22</i> 、 <i>CRP</i> 、 <i>tet(35)</i> 、 <i>rsmA</i>	—
BL27	<i>CARB-22</i> 、 <i>CRP</i> 、 <i>tet(35)</i> 、 <i>rsmA</i>	—
BL23	<i>CARB-22</i> 、 <i>CRP</i> 、 <i>tet(35)</i> 、 <i>rsmA</i>	—
BL26	<i>CARB-22</i> 、 <i>CRP</i> 、 <i>tet(35)</i> 、 <i>rsmA</i>	—
BL28	<i>CARB-20</i> 、 <i>CRP</i> 、 <i>tet(35)</i> 、 <i>rsmA</i>	CTX-TET
729lcczt	<i>CARB-18</i> 、 <i>CRP</i> 、 <i>tet(35)</i> 、 <i>rsmA</i>	AMP
729mb	<i>CARB-18</i> 、 <i>CRP</i> 、 <i>tet(35)</i> 、 <i>rsmA</i>	—
729zb	<i>CARB-18</i> 、 <i>CRP</i> 、 <i>tet(35)</i> 、 <i>rsmA</i>	AMP
729bxbs	<i>CARB-20</i> 、 <i>CRP</i> 、 <i>tet(35)</i> 、 <i>rsmA</i>	CTX-TET

注:\*菌株号为菌株编号简写,详细信息见表1;—表示未检出;TET:四环素耐药;AMK:阿米卡星耐药;AMP:氨苄西林耐药;CTX:头孢噻肟耐药

见图 2a、2b。将两起事件的菌株同本地参考株一起共同构建进化树进行溯源分析,发现两起不同事件的病例株在构建的进化树上的遗传距离也非常相近,提示引起两起事件的两组副溶血性弧菌具有很高的同源性(图 2c)。进一步构建最小生成树(图 3),可以更直观地看出(BL20, BL22, BL24, BL25, BL27, BL23, BL26)同(725scl, 725mb)距离接近。

### 3 讨论

夏秋季节,以副溶血性弧菌为代表的致病性弧菌是引起各种食物中毒突发公共卫生事件的主因。本研究中两起事件均发生在 7 月底,事件间隔相差不到 1 周,且都发生在同一靠海区县,均为旅行团餐中毒。鉴于两起事件有诸多共同点,进行并行分析具有重要的流行病学价值。从血清学和 MLST 的结果来看,K4:O10 和 ST3 型分别占据优势,且优势株大都来源于病例,与李兵兵等<sup>[6]</sup>的研究中引起事件的 ST 型别相一致。本研究中有 7 株菌未能通过血清凝集获得完全分型(表 2),原因可能是由于菌株的 O 或 K 抗原表达不典型、发生变异、存在自凝现象,或属于目前诊断血清未覆盖的罕见血清型。尽管



注:蓝色表示携带,灰色表示未检出

图1 2024年7月宁波市某县两起事件中22株副溶血性弧菌的毒力基因分布

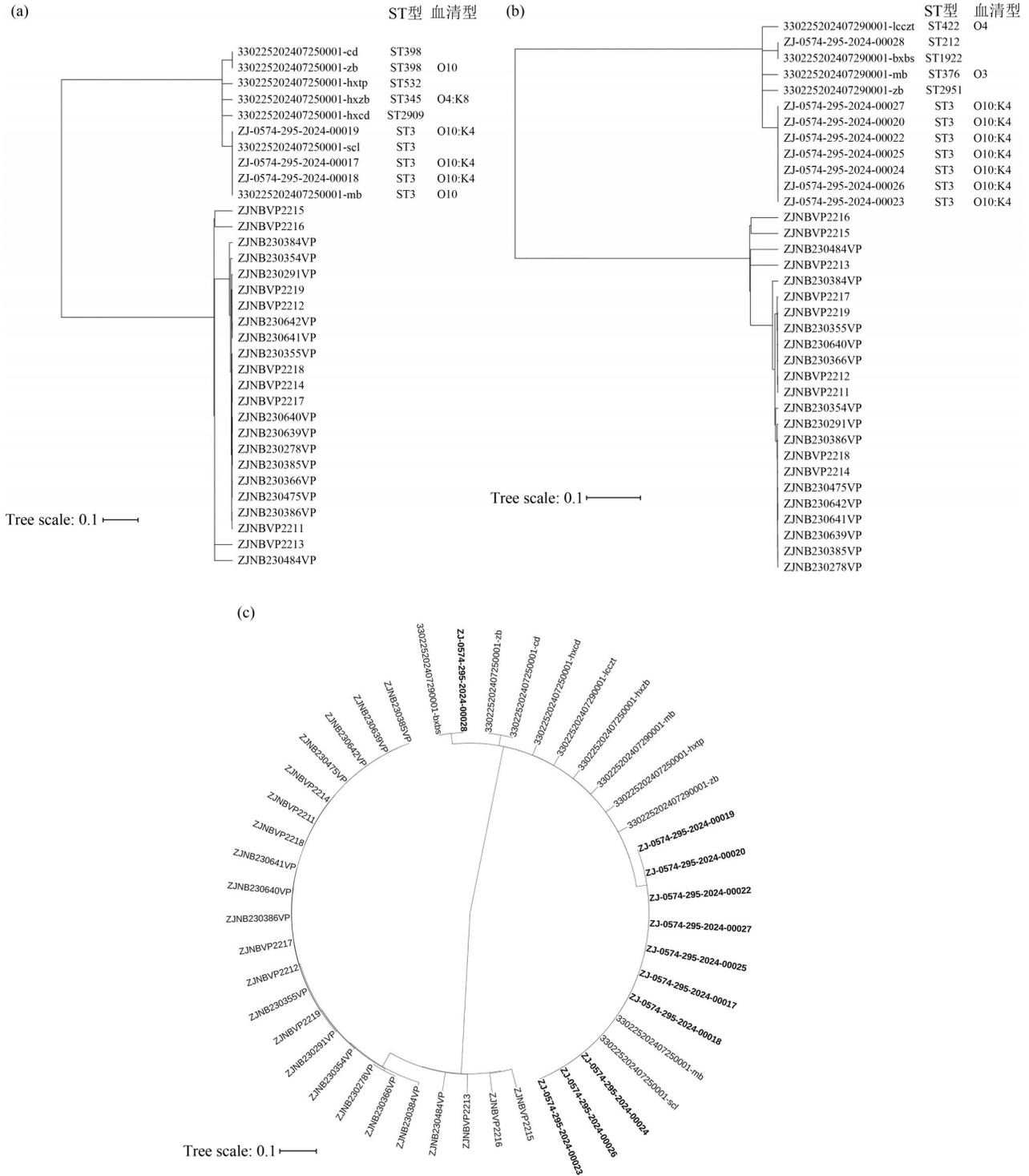
Figure 1 Distribution of virulence genes of 22 *Vibrio parahaemolyticus* isolates from two cases in a county of Ningbo City in July, 2024

这在一定程度上影响了 O10:K4 作为绝对优势血清型的精确统计,但后续可以基于核心基因组的 MLST 和 cgMLST 分型进行弥补,确保了分型和溯源分析的准确性。并且,大部分未完全分型的菌株(如部分环境株)其 ST 型不同于优势型 ST3,提示环境中的副溶血性弧菌种群具有更高的型别多样性。

毒力因子是决定副溶血性弧菌致病力的关键因素。本研究的毒力因子分析发现,所有的分离株均携带了 Type II secretion system (T2SS) 相关基因。还有部分携带了其他与黏附、铁吸收、荚膜生长、群体感应(QS)、Type III secretion systems (T3SS)分泌系统及外毒素等相关的毒力基因(*epsL*、*epsN*、*epsE*、*epsH*、*epsJ*等)。大半菌株都携带副溶血性弧菌中需特别关注的 *tdh*(耐热溶血素)和 *tlh*(不耐热溶血素)基因,且均没有携带 *trh*(相关溶血素)基因。猜测 *trh* 基因或许并非临床菌株致病的必要原因<sup>[7]</sup>。本研究还观察到一个值得注意的现象,患者来源的菌株携带的毒力基因在种类上要远小于环境来源的菌株。

从“One Health”(人-动物-环境共享健康)视角分析,这可能反映了环境菌群在复杂生态位(如海水、沉积物、海鲜体表/肠道、厨房设施表面)中面临的持续选择压力。为应对压力,环境菌株倾向于维持或获得更广泛的毒力基因库。这些基因不仅参与直接的致病机制(如黏附、侵袭、毒素),也可能参与生物膜形成、营养获取(如铁吸收)和群体感应等适应性功能,增强其在环境中的持久力和定植能力<sup>[8]</sup>。相比之下,成功感染人类的病例株可能经历了宿主内选择压力,导致某些在人体肠道定植和致病过程中非必需或甚至不利的基因丢失或表达沉默。这种现象对食源性疾病预防具有双重意义:一方面,环境作为庞大的“毒力基因库”,是潜在致病株的持续来源,增加了通过污染食品感染人类的危险;另一方面,携带丰富毒力基因的环境株一旦进入人体或食品加工链,存在通过基因水平转移(如质粒、转座子)将毒力或耐药基因传递给其他细菌(包括致病株)的潜在风险,可能催生新的高致病性或耐药性克隆。因此,加强海产品从捕捞、养殖到加工、储存、烹饪全链条的卫生管控,减少环境菌株对食品的污染,是践行“One Health”理念、阻断食源性疾病传播的关键环节。

另外, *epsK* 基因(编码膜转运蛋白)在病例株中特异性检出而环境株中缺失。该基因在细菌胞外聚合物(Extracellular polymeric substances, EPS)合成通路中发挥关键调控作用。 *epsK* 参与 EPS 合成所需的胞外多糖转运,直接调控生物膜基质构建<sup>[9]</sup>。



注:(a)为事件1菌株系统发育进化树;(b)为事件2菌株系统发育进化树;(c)为事件1和2菌株系统发育进化树;粗体为本事件菌株

图2 2024年7月宁波市某县两起副溶血性弧菌系统发育进化树分析

Figure 2 Phylogenetic tree of *Vibrio parahaemolyticus* isolates from two cases in a county of Ningbo City in July, 2024

病例株通过该基因增强生物膜形成能力,不仅提高宿主肠道定植效率<sup>[10]</sup>,其三维生物膜结构更为毒素(如TDH)提供保护性微环境,延缓降解并促进持续释放<sup>[11]</sup>。环境株缺失 *epsK* 可能反映生态位适应性策略:开放水域中浮游状态比生物膜更利于营养获取。而病例株在宿主肠道内面临激烈竞争,需依赖生物膜维持生存优势。这一发现再次为前段“宿主适应性进化”的理论提供了分子证据:病例株通过

保留 *epsK* 获得生物膜介导的定植优势,而环境株因无需应对宿主压力,倾向于丢失该基因因此保留其他环境适应基因(如营养获取相关基因)。

本研究中的分离株存在多种耐药基因(7类11种耐药基因),这些基因与药敏试验的结果存在一定的相关性,但仍有部分携带相同的耐药基因的菌株呈现出不同的耐药表型,猜测或许和某些耐药基因表达调控有关。这些耐药基因存在的主要耐药机

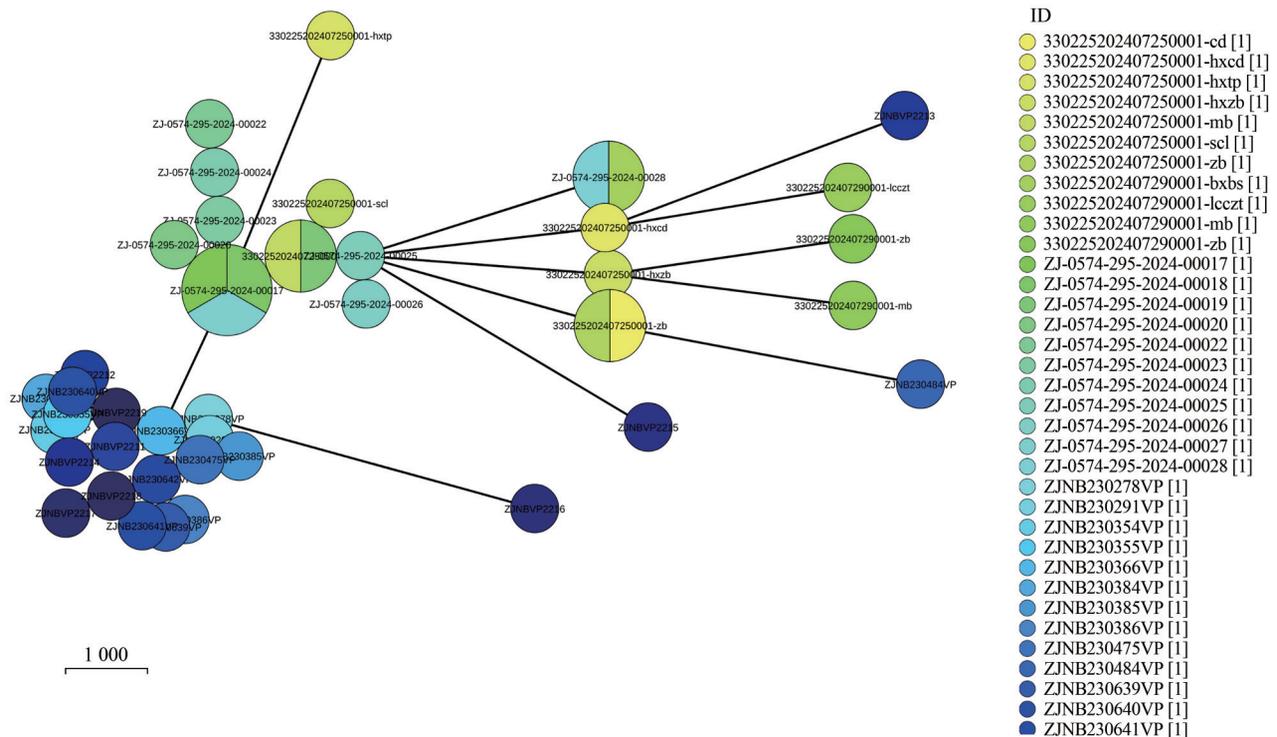


图3 2024年7月宁波市某县两起事件中副溶血性弧菌最小生成树

Figure 3 Minimum spanning tree of *Vibrio parahaemolyticus* isolates in two cases in a county of Ningbo City in July, 2024

制包括编码 $\beta$ -内酰胺酶水解 $\beta$ -内酰胺类抗生素(*CARB-18*、*CARB-20*、*CARB-22*);编码氨基糖苷类抗生素修饰酶,磷酸化修饰并失活抗生素(*APH(6)-Id*);编码一种四环素外排泵,将四环素排出细菌细胞外(*tet*)等几类<sup>[12]</sup>。值得注意的是,同毒力因子相类似,环境分离株的耐药率高于临床分离株,携带耐药基因的多样性也高于临床株,与WANG等<sup>[13]</sup>的研究相一致。

细菌的分型及溯源中曾广泛使用MLST、PFGE等传统方法<sup>[14]</sup>。而随着全基因组测序技术的出现及普及,凭借其高通量和高分辨率,逐渐成为如今细菌溯源的主流方法,其分辨率与重复性显著优于传统PFGE<sup>[15]</sup>。本研究采取了基于cgMLST分析的结果构建两起事件分离菌株的分子进化树的方法,发现临床株在进化树上呈现明显的聚集性。尽管两起事件在时间地点人员上存在差异,然而两起时间间隔不足1周、发生在同一沿海区县,均涉及旅行团的事件,其病例分离株(主要是ST3/O10:K4型)在系统进化树上呈现高度接近的遗传距离(核心等位基因差异 $\leq 12$ )。这一结果强烈提示两起事件致病株源于一个共同且持续活跃的本地污染源(如特定受污染海域或供应链环节)。菌株在短时间内的微小遗传差异( $\leq 12$ 个等位基因)符合近期共同来源传播的特征<sup>[4]</sup>,表明该优势克隆(ST3/O10:K4)可能是该区域当前流行株。这一发现凸显了时空邻近性在溯源中的重要性,指向供应链上游的共同环节。因此,亟须加强该县区海产品供应链(尤其是

供应旅行团餐饮的环节)的系统性监测和监管,以切断这一潜在共同污染源的传播链。

总的来说,引起食源性暴发事件的副溶血性弧菌无论在ST型、血清型等各种分型上,还是在携带的毒力基因和耐药基因的种类上,均呈现多样性的趋势<sup>[16]</sup>。传统的分型及溯源技术在分辨率及准确度上均难以满足现阶段的要求。全基因组测序和cgMLST技术,已逐步取代传统的PFGE、常规MLST等方法,成为细菌性食源性疾病溯源与流行病学分析的核心手段。全基因组测序技术可一次性获取全面的遗传信息,为快速识别高风险克隆提供数据支撑,为风险评估提供了分子标记。而cgMLST具备良好的标准化能力与高溯源分辨率,尤其适用于多事件联合分析。在本研究中,两项技术的协同应用不仅揭示了两起看似独立事件间的同源性,也为追踪潜在污染源提供了关键遗传证据,体现了其在公共卫生事件应急响应中的巨大应用价值。未来可进一步整合WGS与流行病学数据(如供应链追踪),构建“基因型-暴露源-临床结局”的三维溯源模型,实现从被动应对到主动预警的防控模式转变。

## 参考文献

- 范鹏辉,李红秋,褚遵华,等. 2023年中国大陆食源性疾病暴发监测结果分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2024, 36(10): 1199-1208.  
FAN P H, LI H Q, CHU Z H, et al. Analysis of foodborne diseases outbreak surveillance in China's Mainland, 2023[J].

- Chinese Journal of Food Hygiene, 2024, 36(10): 1199-1208.
- [ 2 ] CHEN L, WANG J, CHEN J, et al. Epidemiological characteristics of *Vibrio parahaemolyticus* outbreaks, Zhejiang, China, 2010—2022[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 14: 1171350.
- [ 3 ] LEE J H, OH M J, KIM B. Full-length research paper phage biocontrol of zoonotic food-borne pathogen *Vibrio parahaemolyticus* for seafood safety[J]. *Food Control*, 2022, 144: 109334.
- [ 4 ] ZHU W, ZOU Y, LIU L, et al. Antibacterial and antibiofilm efficacies of perillaldehyde against *Vibrio parahaemolyticus* and its application in seafood[J]. *Food Control*, 2024: 166: 110730.
- [ 5 ] ROSSEN J W A, FRIEDRICH A W, MORAN-GILAD J. Practical issues in implementing whole-genome-sequencing in routine diagnostic microbiology[J]. *Clinical Microbiology and Infection*, 2018, 24(4): 355-360.
- [ 6 ] 李兵兵, 张茹, 刘靓, 等. 一起副溶血性弧菌食物中毒事件中菌株全基因组测序与耐药性分析[J]. *中国食品卫生杂志*, 2024, 36(5): 528-532.
- LI B B, ZHANG R, LIU L, et al. Whole genome sequencing and antibiotic resistance analysis of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from a food poisoning incidents[J]. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 2024, 36(5): 528-532.
- [ 7 ] THAOTUMPITAK V, ODOI J O, ANUNTAWIRUN S, et al. Meta-analysis and systematic review of phenotypic and genotypic antimicrobial resistance and virulence factors in *Vibrio parahaemolyticus* isolated from shrimp[J]. *Antibiotics (Basel)*, 2024, 13(4): 370.
- [ 8 ] ZHUHUANG C, WANG C X, SUN Y, et al. A DHH/DHHA1 family 3'-phosphoadenosine 5'-monophosphate (pAp) phosphoesterase Vp2835 is essential for regulating motility, biofilm formation and type III secretion system 1 in *Vibrio parahaemolyticus*[J]. *Food Bioscience*, 2025, 69: 106836.
- [ 9 ] XU Y Y, YANG L J, WANG H Y, et al. Putative functions of EpsK in teichuronic acid synthesis and phosphate starvation in *Bacillus licheniformis*[J]. *Synthetic and Systems Biotechnology*, 2022, 7(2): 815-823.
- [ 10 ] LIU Z, LI L, WANG Q, et al. Transcriptome analysis reveals the genes involved in *Bifidobacterium longum* biofilm formation[J]. *Microorganisms*, 2021, 9(2): 385.
- [ 11 ] ROUX D, CYWES-BENTLEY C, ZHANG Y F, et al. Identification of Poly-N-acetylglucosamine as a major polysaccharide component of the *Bacillus subtilis* biofilm matrix[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2015, 290(31): 19261-19272.
- [ 12 ] LI Y P, LIN G S, PENGSAKUL T, et al. Antibiotic resistance in *Vibrio parahaemolyticus*: mechanisms, dissemination, and global public health challenges—a comprehensive review[J]. *Reviews in Aquaculture*, 2025, 17(1): e13010.
- [ 13 ] WANG Q, LI Q, OUYANG F, et al. Molecular epidemiology and antimicrobial resistance of *Vibrio parahaemolyticus* isolates from the Pearl River Delta region, China[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2025, 429: 111025.
- [ 14 ] YAN X, WANG B, TAO X, et al. Characterization of *Staphylococcus aureus* strains associated with food poisoning in Shenzhen, China[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(18): 6637-6642.
- [ 15 ] JOSEPH L, GRISWOLD T, VIDYAPRAKASH E, et al. Evaluation of core genome and whole genome multilocus sequence typing schemes for *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* outbreak detection in the USA [J]. *Microbial Genomics*, 2023, 9: 001012.
- [ 16 ] ZHANG P, WU X, JI L, et al. Prevalence and virulence of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from clinical and environmental samples in Huzhou, China[J]. *BMC Genomics*, 2024, 25(1): 1-15.

## 《中国食品卫生杂志》顾问及第五届编委会名单

顾 问: 陈君石、黄璐琦、江桂斌、李林、沈建忠、吴清平、Jianghong Meng(美国)、Patrick Wall(爱尔兰)、Samuel Godefroy(加拿大)、Gerald Moy(美国)、Paul Brent(澳大利亚)、Marta Hugas(比利时)、Yukikko Yamada(日本)、Tom Heilandt(德国)、Andreas Hensel(德国)、Christopher Elliott(英国)、Christine Nelleman(丹麦)

主任委员: 李宁

副主任委员: 王竹天、孙长颢、王涛、谢剑炜、应浩、丁钢强、张峰、张永慧

主 编: 吴永宁

编 委(按姓氏笔画排序)

丁钢强(中国疾病预防控制中心营养与健康所)

于 洲(国家食品安全风险评估中心)

于维森(青岛市疾病预防控制中心)

马 宁(国家食品安全风险评估中心)

马会来(中国疾病预防控制中心)

马群飞(福建省疾病预防控制中心)

王 君(国家食品安全风险评估中心)

应 浩(中国科学院上海营养与健康所)

张 丁(河南省疾病预防控制中心)

张 峰(中国检验检疫科学研究院)

张卫兵(南通市疾病预防控制中心)

张立实(四川大学华西公共卫生学院)

张永慧(广东省疾病预防控制中心)

张旭东(国家卫生健康委员会医院管理研究所)

(下转第835页)