

食源性疾病

南通市一起副溶血性弧菌所致食源性疾病暴发事件的调查分析与病原学检测

帅小博¹, 卫笑冬², 张卫兵³, 黄爱龙³, 练维³, 谭维维³

(1. 南通市崇川区疾病预防控制中心, 江苏南通 226000; 2. 南通市海门区疾病预防控制中心, 江苏南通 226300; 3. 南通市疾病预防控制中心, 江苏南通 226000)

摘要:目的 通过流行病学调查、实验室检测、全基因组测序和药物敏感性试验, 系统分析一起发生在南通市的副溶血性弧菌引发的食源性疾病暴发事件, 为今后同类事件的溯源调查与防控处置提供科学依据和实践经验。方法 采集可疑食品样品、患者肛拭子、食品操作人员肛拭子、食品加工环境涂抹样本, 采用常规致病菌分离鉴定, 对分离株进行三重 PCR 毒力基因检测、全基因组测序和药敏分析。结果 共检出副溶血性弧菌 9 株, 其中 8 株来自患者肛拭子, 1 株来自操作间水池。8 株临床分离株均携带 *tlh* 和 *tdh* 基因, 环境分离株仅携带 *tlh* 基因, 所有菌株均未检出 *trh* 基因。cgSNP 分析显示其同源性高, 各病例株之间的差异为 2~18 个, MLST 分型均为 ST3 型, 耐药基因注释结果与耐药表型一致性较高。选择 22 种抗生素进行药物敏感实验, 结果显示 8 株病例分离株有 7 株对头孢唑啉耐药, 6 株对氨苄西林、5 株对头孢呋辛中介。结论 本次食物中毒事件由 ST3 型副溶血性弧菌引起, 毒力基因检测和全基因组测序为溯源分析和污染路径判断提供了关键生物信息支持。临床诊疗中应优先选用敏感药物, 避免使用头孢唑啉、氨苄西林和头孢呋辛等药物, 以有效缓解患者症状并防止病情加重。

关键词:副溶血性弧菌; 毒力基因; 全基因组测序; 药敏试验

中图分类号: R155 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2025)09-0856-08

DOI: 10.13590/j.cjfh.2025.09.009

Investigation and etiological detection of a foodborne disease outbreak caused by *Vibrio parahaemolyticus* in Nantong CitySHUAI Xiaobo¹, WEI Xiaodong², ZHANG Weibing³, HUANG Ailong³, LIAN Wei³, TAN Weiwei³

(1. Nantong Chongchuan District Center for Disease Control and Prevention, Jiangsu Nantong 226000, China; 2. Nantong Haimen District Center for Disease Control and Prevention, Jiangsu Nantong 226300, China; 3. Nantong Center for Disease Control and Prevention, Jiangsu Nantong 226000, China)

Abstract: Objective To systematically investigate a foodborne disease outbreak caused by *Vibrio parahaemolyticus* (*V. parahaemolyticus*) in Nantong City through epidemiological investigation, laboratory testing, whole-genome sequencing, and antimicrobial susceptibility testing, with the aim of providing scientific evidence and practical experience for the prevention and control of similar incidents in the future. **Methods** Samples were collected from suspected contaminated food, patient rectal swabs, food handler rectal swabs, and environmental surface swabs from food preparation areas. Conventional pathogen isolation and identification were performed, followed by virulence gene detection, WGS, and antimicrobial susceptibility analysis of the isolates. **Results** A total of 9 *V. parahaemolyticus* strains were isolated, including 8 from patient rectal swabs and 1 from a water sink in the preparation area. All 8 patient isolates carried the *tlh* and *tdh* genes, whereas the environmental isolate carried only *tlh*. None of the isolates harbored the *trh* gene. cgSNP analysis showed high homology, with differences between case isolates ranging from 2 to 18. Multilocus sequence typing (MLST) identified all isolates as sequence type 3 (ST3), and the annotated resistance genes were highly consistent with the drug resistance phenotypes. Drug susceptibility testing was conducted using 22 antibiotics, and the results showed that among the 8 case isolates, 7 were resistant to cefazolin, 6 to ampicillin, and 5 were intermediate to

收稿日期: 2025-03-13

基金项目: 南通市卫生健康委员会科研项目面上课题 (MS2024089)

作者简介: 帅小博 男 微生物检验技术副主任技师 研究方向为微生物检验 E-mail: 358641933@qq.com

通信作者: 谭维维 女 副主任医师 研究方向为食源性疾病预防 E-mail: 15511656@qq.com

cefuroxime. **Conclusion** This outbreak was attributed to the ST3 clone of *V. parahaemolyticus*. Detection of virulence genes and WGS provided critical genomic insights for source tracing and contamination path determination. Clinically, treatment should prioritize drugs with demonstrated efficacy, while cefazolin, ampicillin, and cefuroxime should be avoided to ensure timely symptom relief and prevent disease progression.

Key words: *Vibrio parahaemolyticus*; virulence gene; whole genome sequencing; drug-sensitivity test

食品安全问题涉及千家万户,受到社会的高度关注。细菌性食物中毒是指由于食用被细菌或者其毒素污染的食物而引起的急性中毒性疾病,是最主要且最常见的食源性疾病。细菌毒素作为一种严重的食品安全隐患,其导致的疾病约占欧洲食源性疫情报告的 10%^[1],世界卫生组织(World Health Organization, WHO)统计的数据显示全球每年约 6 亿人罹患食源性疾病,并导致约 42 万病例死亡^[2],这凸显了食源性疾病对全球公共卫生造成的巨大负担。2020 年在我国确诊病因的食源性疾病暴发事件中,微生物病原体占 41.7%^[3]。

副溶血性弧菌是一种嗜盐性革兰阴性杆菌,广泛存在于海水及海产品中,由 FUJINO 在 1950 年日本大阪、岸和田等地食物中毒暴发期间首次描述。人类食用被其污染的且未彻底加热的海产品,可引发食源性疾病^[4]。副溶血性弧菌作为常见的食源性疾病病原菌,在细菌性食源性疾病事件中占有很大比例,目前已超过沙门菌跃居首位^[5]。副溶血性弧菌的毒力机制包括溶血素、蛋白酶、黏附因子等,其中溶血素最为主要^[6],可由 *tlh*、*tdh*、*trh* 3 种基因分别编码不耐热溶血素(Thermolabile hemolysin, TLH)、耐热直接溶血素(Thermostable direct hemolyticus, TDH)、耐热直接相关溶血素(Tdh-related hemolysis, TRH)。该病多发于夏秋两季,具有暴发起病急、潜伏期短、病程短等特点,有资料表明,发病率受环境参数的影响很大^[7],在目前全球温室效应气候变暖的大环境下,气候驱动的致病性副溶血性弧菌发病

率表现出显著升高^[8]。在中国,副溶血性弧菌是微生物性致病因子引起暴发事件的主要病原之一。2010—2020 年的监测数据显示,由副溶血性弧菌引起的暴发事件占细菌性事件的一半以上,达 1 772 起,发病人数 27 212 人,住院 5 944 人,死亡 2 人。在华东地区和华南地区,其发病率达 36.82 例/100 万人和 25.35 例/100 万人^[9]。浙江省 2010—2020 年的监测数据显示,副溶血性弧菌引起的暴发占细菌性食源性疾病暴发总数的 58.41%,位居首位^[10],广东省 2011—2020 年的监测数据也呈现出类似的特征^[11]。

21 世纪以来,随着全球一体化和人口聚集效应,突发公共卫生事件频频发生,给社会、经济及公众生命安全带来了极大的威胁^[12],疾病预防控制中心作为处置突发公共卫生事件的主力军,面临着诸多挑战,尤其是预警监测能力和检验检测能力。本起事件为 2024 年 9 月南通市海鲜酒店发生的一起副溶血性弧菌所致食源性疾病暴发事件,应用多重实时荧光聚合酶链式反应(Polymerase chain reaction, PCR)技术、全基因组测序,开展药敏试验,为类似的事件处置及诊疗提供经验。

1 材料与方法

1.1 事件概况与流行病学调查

涉事酒店自 2024 年 9 月 23—26 日陆续有客人入住,均入住 2 日后离店,所有成员旅行套餐相同,出现腹痛腹泻、恶心呕吐症状共计 28 人。就餐及发病情况见表 1。

表 1 2024 年 9 月南通市海鲜酒店就餐及发病情况统计表

Table 1 Dining and morbidity statistics table Statistics results of dining and morbidity at Seafood Hotel in Nantong City, September 2024

入住时间	入住人数	发病人数	用餐餐次						
			23 日晚	24 日午	24 日晚	25 日午	25 日晚	26 日午	26 日晚
9 月 23 日	180	13	·	·	·	·	—	—	—
9 月 24 日	50	6	—	—	·	·	·	·	—
9 月 25 日	148	7	—	—	—	—	·	·	·
9 月 26 日	37	2	—	—	—	—	—	—	·

注:·表示是,—表示否

首发病例,女,64 岁,9 月 24 日 19:30 发病,主要症状恶心、呕吐(4 次/24 h)、腹痛、腹泻(4 次/24 h)。末例病例,女,71 岁,9 月 27 日 7:00 发病,主要症状为恶心、呕吐(2 次/24 h)、腹痛、腹泻(8 次/24 h)。病例于 25 日 3 时和 27 日 3 时出现 2 个发病高峰,27 日涉事酒店停止供餐后无新病例出现。流行曲线呈明

显的双峰状,两次发病高峰间隔时间为 48 h。另据调查,25 日发病的病例中有 6 人仅有 24 日晚餐 1 个暴露餐次,27 日发病者中有 2 人仅有 26 日晚餐 1 个暴露餐次,根据 WHO 推荐的食源性疾病点源暴发可能暴露时间,推断此次事件的暴露餐次为 24 日晚餐及 26 日晚餐。其中 24 日晚餐可疑食品为红烧鲳鱼、毛

豆炒蟹、姜葱炒梭子蟹、清蒸带鱼,26日晚餐可疑食品为红烧鳊鱼、毛豆炒蟹、梭子蟹炒年糕、清蒸小黄鱼,

两餐均提供鳊鱼和梭子蟹,推测可能的原因食品为其中1个或2个。病例流行曲线见图1。

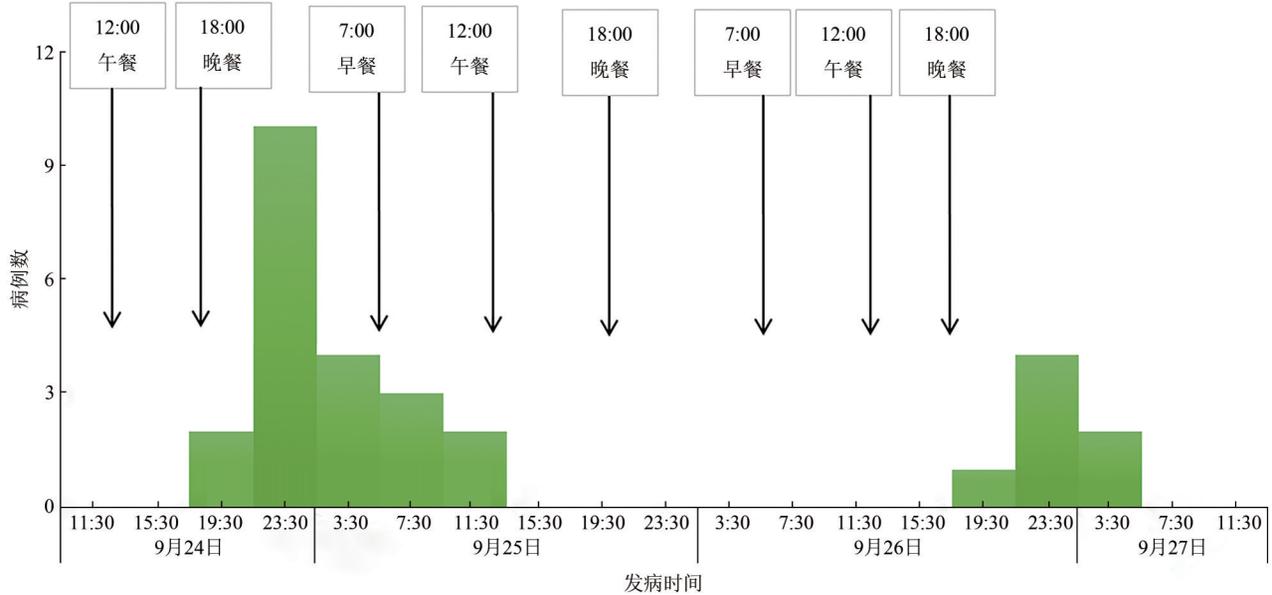


图1 2024年9月南通市28例病例的发病流行曲线

Figure 1 Epidemic curve of 28 cases in Nantong City, September 2024

病例临床症状主要为腹泻(黄水样便)、腹痛(脐周或下腹部阵发性绞痛)、恶心、呕吐等症状,少数伴有发热,详见表2。

表2 2024年9月南通市28例病例临床特征统计表
Table 2 Statistical table of clinical characteristics of 28 cases in Nantong City, September 2024

症状/体征	发病数(n=28)	百分比/%
腹泻	28	100
腹痛	27	96.43
恶心	14	50
呕吐	12	42.86
发热	3	10.71
中性粒细胞升高	11(n=12)	91.67
白细胞计数升高	9(n=12)	75

1.2 材料

1.2.1 样本采集

共采集食品加工人员肛拭子14份,剩余食品26份,病例肛拭子12份,食物加工环境、用品用具涂抹样5份。

1.2.2 主要仪器

CFX96 荧光 PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司);VITEK2 Compact 全自动细菌鉴定系统(法国梅里埃公司);全自动药敏分析仪(美国赛默飞世尔科技公司, Sensititre Aris 2X);基因测序平台 MiniSeq System(美国 Illumina 公司)。

1.2.3 主要试剂

SS 培养基、碱性胨水(广东环凯生物科技有限公司);弧菌显色培养基(科玛嘉公司);磁珠法核酸提取试剂盒(西安天隆科技有限公司);14种食源性

致病菌核酸检测试剂盒(PCR-探针法)(包括金黄色葡萄球菌、沙门菌、副溶血性弧菌、阪崎肠杆菌、蜡样芽胞杆菌、大肠埃希菌、霍乱弧菌、空肠弯曲菌、志贺菌、嗜水气单胞菌、大肠埃希菌 O157、单核细胞增生李斯特菌、结肠弯曲菌、小肠结肠炎耶尔森氏菌)、副溶血性弧菌毒力基因多重 PCR 检测试剂盒(北京卓诚惠生生物科技有限公司);革兰氏阴性菌鉴定卡 GN(法国梅里埃公司)。所有培养基和试剂均在有效期内使用。

1.3 方法

1.3.1 PCR 筛查、样本增菌、分离培养、生化鉴定

使用天隆细菌 DNA 提取试剂盒提取样本核酸,使用 14 种食源性致病菌核酸检测试剂盒在 CFX96 荧光 PCR 仪进行扩增,扩增条件按照检测试剂说明书设置。同时依据国家标准选择相应培养基进行致病菌培养,对可疑菌落进行分离,纯培养后使用 VITEK2 Compact 全自动细菌鉴定系统鉴定。

1.3.2 毒力基因检测

根据致病菌分离鉴定结果,对分离到的副溶血性弧菌菌株使用天隆细菌 DNA 提取试剂盒提取核酸,后使用毒力基因三重 PCR 检测试剂盒进行荧光定量 PCR 检测。

1.3.3 药敏试验

采用微量肉汤稀释法,使用国家致病菌识别网订制药敏板,在全自动药敏分析仪检测最低抑菌浓度(Minimum inhibitory concentration, MIC),抗菌药物包括 10 类 22 种,分别为喹诺酮类:环丙沙星(Ciprofloxacin,

CIP);青霉素类:阿莫西林/克拉维酸(Amoxicillin/clavulanate, AMC)、氨苄西林(Ampicillin, AMP);青霉素合成类:氨苄西林/舒巴坦(Ampicillin/sulbactam, AMS);头孢类:头孢他啶(Ceftazidime, CAZ)、头孢他啶/克拉维酸(Ceftazidime/clavulanate, CAC)、头孢噻肟(Cefotaxime, CTX)、头孢噻肟/克拉维酸(Cefotaxime/clavulanate, CTC)、头孢西丁(Cefoxitin, FOX)、头孢吡肟(Cefepime, CPM)、头孢呋辛(Cefuroxime, CXM)、头孢唑啉(Cefazolin, CFZ)、头孢噻吩(Ceftiofur, TIO)、头孢他啶/阿维巴坦(Ceftazidime/avibactam, CZA);氯霉素类:氯霉素(Chloramphenicol, CHL);大环内酯类:阿奇霉素(Azithromycin, AZM);碳青霉烯类:美罗培南(Meropenem, MEM)、亚胺培南(Imipenem, IPM);磺胺类:甲氧苄啶/磺胺甲噁唑(Trimethoprim/sulfamethoxazole, SXT);四环素类:四环素(Tetracycline, TET);氨基糖苷类:庆大霉素(Gentamicin, GEN)、阿米卡星(Amikacin, AMK),质控菌株为大肠埃希菌 ATCC25922。依据 CLSI M100-S23 指南中抗菌药物折点获得相应敏感(S)、中介(I)和耐药(R)3种结果。

1.3.4 全基因组测序以及系统进化树构建

使用试剂盒提取基因组DNA,构建长度为150 bp的测序文库,采用Illumina公司MiniSeq测定序列。参考菌株GCF_000196095.1(从GenBank数据库下载)作为进化树的外源,并将本市次月崇川区另一起副溶血性弧菌所致食源性疾病事件分离到的13株菌株序列纳入分析。所得数据使用CLC Genomics Work-bench分析平台进行数据拼接组装;使用kSNP4软件比对序列并获取核心基因组核苷酸多态性(Core gene Single nucleotide polymorphism, cg SNP)

并构建进化树,Bootstrap设置为1000。生成的进化树使用ChiPlot在线工具进行美化处理,依据不同菌株的遗传距离,不同的分支被分别着色。

将组装好的菌株基因组数据上传至综合抗生素耐药性数据库(The Comprehensive Antibiotic Resistance Database, CARD)及基因组流行病学中心(Center for Genomic Epidemiology, CGE, <http://www.genomicepidemiology.org/>)的ResFinder4.7.2工具进行耐药基因预测与注释,过滤标准:准确性>95%,覆盖度>60%。利用毒力因子数据库(Virulence Factors Database, VFDB)在线分析平台(<https://www.mgc.ac.cn/cgi-bin/VFs/v5/main.cgi?func=VFAnalyzer>)识别基因组毒力因子;利用CGE的MGFinder1.0.3工具分析基因组可移动元件。

1.3.5 多位点序列分型

将组装后的基因组序列上传至pubMLST在线数据库(<http://pubmlst.org/>)进行多位点序列分型分析(Multi-locus sequence typing, MLST),获得最新的ST分型(2025年3月9日访问)。

2 结果

2.1 致病菌分离培养、鉴定结果

14份食品加工人员肛拭子和26份剩余食品,均未检出可疑食源性致病微生物;12份病患肛拭子中,8份检出副溶血性弧菌;5份加工环境涂抹液中,1份操作间水池涂抹液检出副溶血性弧菌。

2.2 毒力基因检测结果

经检测,8个病例菌株均携带*tlh*基因、*tdh*基因,操作间水池菌株携带*tlh*基因,所有菌株均未检出*trh*基因。PCR扩增图见图2。

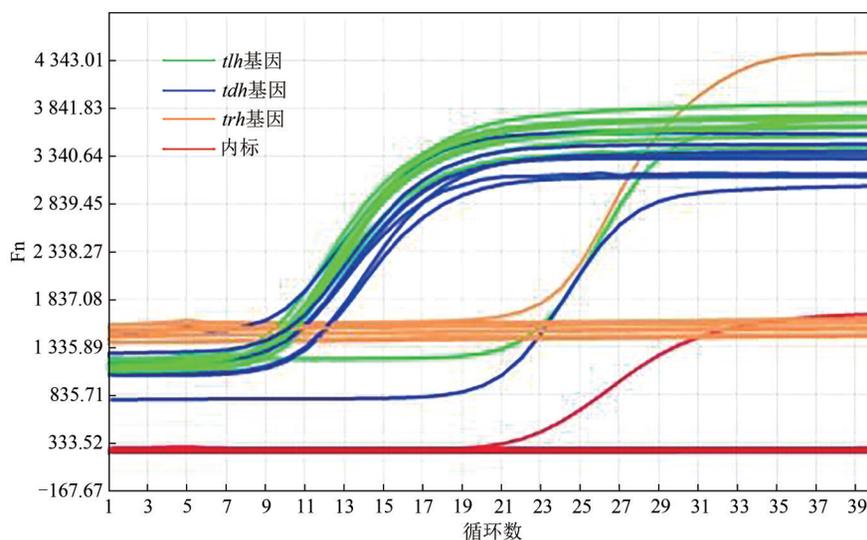


图2 2024年9月南通市食源性疾病暴发事件患者和加工环境中9株分离株PCR扩增曲线图

Figure 2 PCR amplification curves of 9 isolates from foodborne disease outbreak patients and environmental surface in Nantong City, September 2024

2.3 药敏试验结果

8株病例分离株部分菌株对氨苄西林和头孢呋辛中介,对头孢唑啉耐药,对其他抗生素均敏感,见表3。

表3 2024年9月南通市食源性疾病暴发事件中8株病例分离株对22种抗生素的药敏试验结果

抗生素类别	相应敏感(S)	中介(I)	耐药(R)
AMP	2	6	0
CXM	3	5	0
CFZ	0	1	7

2.4 全基因组测序结果分析、耐药基因注释及毒力基因

本研究中8株副溶血性弧菌下机数据量均>1 Gb,通过 Denovo 组装拼接后的序列大小为 4.5~4.9 Mb,测序深度为 100×。经 CARD 和 CGE ResFinder4.7.2 比对,发现本次事件8株分离株均携带β-内酰胺类

耐药基因 *bla*_{CARB-22},其余多为 *CRP*、*TxR* 等外排泵基因,耐药基因预测结果与耐药表型一致性较高。经 MGEFinder1.0.3 比对分析,识别到 IS3、IS5、IS30、IS110 四个插入序列,未发现其他可移动元件。经与 VFDB 数据库比对,识别到包括黏附、免疫逃逸、外毒素等9类20种156个已知的毒力基因,详见表4。

2.5 cgSNP系统发育树构建和MLST分型

将海门区8株副溶血性弧菌分离株与崇川区13株副溶血性弧菌共同构建 cgSNP 系统发育树,发现海门分离株和崇川分离株各自成簇(图3),同一基因簇内的分离株同源性高,基本可以排除相近时间段内多点暴发的可能性。对本次事件的8株菌单独作 cgSNP 分析,显示各病例株之间的差异为 2~18 个,病例株与 GCF_000196095.1 之间的差异为 1470~1656 个。此外,利用 pubMLST 在线数据库对所有分离株进行 MLST 分型,海门分离株 MLST 分型均为 ST3 型,崇川区分离株为 ST2516 型。

表4 2024年9月南通市食源性疾病暴发事件中8株病例分离株独立基因携带情况

类别	毒力因子	相关基因
黏附	甘露糖敏感血凝素 IV型菌毛	<i>mshA, mshB, mshC, mshD, mshE, mshF, mshG, mshH, mshI, mshJ, mshK, mshL, mshM, mshN</i> <i>PilA, pilB, pilC, pilD</i>
抗吞噬作用	荚膜多糖 克雷伯菌生物被膜	<i>cpsA, cpsB, cpsC, cpsD, cpsE, cpsF, cpsG, cpsH, cpsI, cpsJ, wbfV/wcbB, wbfY, wza, wzc</i> —
趋化性和运动性	鞭毛蛋白	<i>cheA, cheB, cheR, cheV, cheW, cheY, cheZ, flhM, flaA, flaA, flaB, flaC, flaD, flaE, flaG, flaI, flgA, flgB, flgC, flgD, flgE, flgF, flgG, flgH, flgI, flgJ, flgK, flgL, flgM, flgN, flhA, flhB, flhF, flhG, flhI, flhD, flhE, flhF, flhI, flhJ, flhK, flhL, flhN, flhO, flhP, flhQ, flhR, flhS, flhA, flhB, flrC, motA, motB, motX, motY</i>
铁吸收	肠菌素受体 血红素受体	<i>IrgA, vctA</i> <i>hutA, hutR</i>
群体感性效应	周质结合蛋白依赖ABC转运系统 2型自诱导物 1型霍乱自动诱导剂 EPS II分泌系统 T3SS1分泌效应因子	<i>vctC, vctD, vctG, vctP,</i> <i>luxS</i> <i>cqsA</i> <i>epsC, epsE, epsF, epsG, epsH, epsI, epsJ, epsK, epsL, epsM, epsN, gspD</i> <i>vopQ, vopR, vopS</i>
分泌系统	T3SS1 T3SS2分泌效应因子 T3SS2	<i>syncN, tyeA, vcrD, vcrG, vcrH, vcrR, vcrV, virF, virG, vopB, vopD, vopN, vscA, vscB, vscC, vscD, vscF, vscG, vscH, vscI, vscJ, vscK, vscL, vscN, vscO, vscP, vscQ, vscR, vscS, vscT, vscU, vscX, vscY, vscZ</i> <i>VopA, VopC, VopL, VopT</i> <i>vcrD2, vscC2, vscN2</i>
毒素	TLH TDH	<i>tlh</i> <i>tdh</i>
免疫逃逸	不动杆菌生物被膜 弯曲菌脂寡糖	— —
其他	耶尔森氏菌O抗原	<i>wcaG</i>
合计	20	156

3 讨论

南通地处华东地区、江苏东南部长江入海口,为首批14个沿海开放城市之一,拥有海岸线284千米,海洋资源丰富,海鲜种类繁多。国内外专业文献显示,每年的7~9月是我国控制副溶血性弧菌引发食源性疾病的关键时期^[9,13],且越靠近海岸线的地区

海鲜消费量越高,副溶血性弧菌感染的风险也相应增加^[9]。同时,副溶血性弧菌作为一类具有高度遗传多样性的微生物,本次纳入分析的菌株来源均为南通地区,在 MLST 分型和 cgSNP 上呈现出不同的分支。在我国东南沿海地区,抗菌敏感性随年份波动,且5年内未发现对碳青霉烯类耐药的菌株^[14],

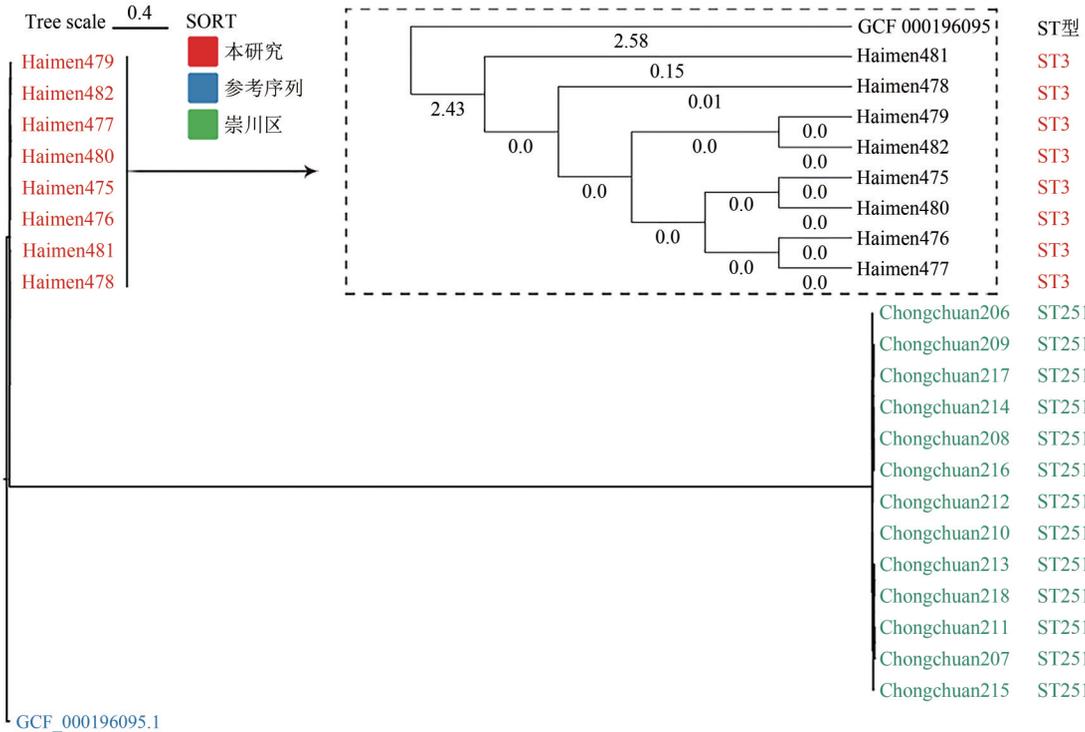


图3 南通市海门区与崇川区2起事件副溶血性弧菌与GenBank参考序列GCF_000196095.1的系统进化树比较

Figure 3 Phylogenetic tree comparison of *Vibrio parahaemolyticus* and GenBank reference sequences GCF_000196095.1 in two events from Haimen District and Chongchuan District in Nantong City

以上研究对我们南通地区控制副溶血性弧菌引发食源性疾病、致病因子溯源及临床用药有一定的借鉴参考意义。

此次事件未能在留样食品中检出目标菌,但流行病学分析推测可能涉及的原因食品为梭子蟹、带鱼、小黄鱼、鳊鱼等多种海水、淡水产品。食品加工场所卫生状况差,消毒不规范,操作区布局交叉,且未严格执行生熟分开,均是造成食源性疾病发生的高危因素,操作间水池涂抹液中检出副溶血性弧菌也证实了这一情况。

实验室分离出来的菌株基因型均为 $tlh^+tdh^+trh^-$, 与北京^[15]、福建龙岩^[16]等地区报道的相一致。一般认为,后两种溶血素是主要致病因子^[17],由此对应携带 tdh 基因和(或) trh 基因的为致病毒株,在临床株中检出率较高,食品及环境中检出率较低^[18]。 tlh 为非毒素基因,在临床、食品及环境均可检出。有资料表明,不携带 tdh 和 trh 基因的菌株仍具备一定的潜在毒力,可导致腹泻^[19],提示仍需关注对此类样品的监测。本研究基于 WGS 结果预测到 9 类 20 种 156 个已知的毒力基因,预测结果与 PCR 毒力基因检测结果一致,提示在不具备 WGS 检测能力的实验室,PCR 毒力基因检测仍是一种高效且可靠的检测手段。

细菌耐药已成为一个全球性关注的问题,抗菌药物的不合理使用以及细菌自然变异与传播导致的多重耐药菌的增加,严重影响了患者的生命和健

康^[20]。药敏结果显示,22 种抗生素中头孢唑啉耐药率很高,8 株菌中有 7 株耐药,与国内秦皇岛^[17]、无锡^[19]、镇江^[21]、绍兴^[22]等地情况类似。头孢唑啉作为半合成的第一代头孢类抗生素,目前在临床上仍广泛使用,结合本地先前研究资料^[23],建议南通地区治疗副溶血性弧菌引起的感染性疾病时避免使用头孢唑啉。此外,氨苄西林、头孢呋辛出现 6 株和 5 株的中度敏感,与之前的报道一致^[24],尤其是前者,近年来国内外报道耐药率有逐年增多趋势^[25],提示治疗时需谨慎使用该药物。多项研究调查了全球不同地区、不同来源的副溶血性弧菌的耐药状况。例如,一项对 2002—2016 年间从中国东南沿海地区(上海、深圳、浙江、江苏)收集的 O3:K6 血清型副溶血性弧菌的研究发现,菌株对氨苄西林的耐药率高达 84.42%,对链霉素、卡那霉素和环丙沙星的敏感率较低,但也存在 14.29% 的多重耐药菌株^[26]。另一项对 2018—2021 年中国南通地区临床样本中副溶血性弧菌的研究显示,对头孢唑啉的耐药率最高(99.1%),其次是氨苄西林(64.2%)和四环素(29.2%),多重耐药指数范围为 0.07~0.36^[24]。然而本研究中所有分离株对其他 19 种抗生素均敏感,未出现多重耐药菌株。赵宏伟等^[18]对食源分离株和病例分离株副溶血性弧菌对氨苄西林的耐药率作了对比,结果表明食源分离株和病例分离株的耐药率分别为 10.48%、1.90%,差异有统计学意义。

随着检测技术的发展,更多的变异菌株被发现,传统的生化鉴定、血清分型技术已经难以满足细菌分型、变异株鉴定、追踪溯源和菌株之间的相关性分析,而全基因组测序技术可以从分子水平对微生物进行分型、鉴定并作出相关性分析^[27],并且具有更好的可重复性和准确性。近年来基于 WGS 的 MLST、cgMLST、wgMLST、SNP、cgSNP 等分析技术快速迭代,推动检测成本持续降低,对操作人员的技术要求也越来越低,推动全基因组测序技术加速普及。本研究中,测序工作采用 Illumina MiniSeq 测序平台完成,但国产替代平台已被纳入后续的采购评估范围。cgSNP 分析是通过比对菌株间的核心基因组序列,鉴定并分析单核苷酸多态性位点。由于 SNP 是基因组中最常见的变异类型,cgSNP 分析能够提供比 MLST 和脉冲场凝胶电泳(Pulsed field gel electrophoresis, PFGE)更高的分辨率,从而实现对暴发事件中菌株传播途径和进化关系的精细刻画^[28-29]。本次事件中 8 株病例株 MLST 分型均为 ST3 型,cgSNP 分析显示各株之间的差异小,具有较高的同源性,基于 WGS 的分析较血清分型具有更好的溯源性,也在一定程度上弥补了此次事件未能在食品中检出致病因子的缺陷,对事件的责任归属具有更好的指向性。

以现有的食品安全风险监测手段及能力,尚不能对副溶血性弧菌引起的暴发/散发性食源性疾病进行有效准确的预警。有资料表明,当食品中的副溶血性弧菌数量 $\geq 10^6$ CFU/mL,便能引起食源性疾病^[30]。因此,建立快速、精准的副溶血性弧菌定量检测方法对早期识别、预警食源性疾病,构建食品安全防火墙均有着重大的现实意义。现代微生物检验技术在细菌性食源性疾病事件快速诊断、溯源中发挥了至关重要的作用。尽管目前市、区(县)级疾控中心受到实验经费及仪器设备等客观因素的影响,但随着将来实验技术的日趋成熟和实验成本的不断降低,全基因组测序技术有望逐步在基层疾控中心开展,我国致病菌的溯源及监测能力亦能实现量和质的提升。建议相关部门在修订食源性疾病的诊断标准时,酌情考虑全基因组测序及 MLST、cgSNP 分析技术对该类事件溯源及责任归属的指向性作用,为更高效地处理食源性疾病事件提供政策依据。

参考文献

- [1] RAJKOVIC A, JOVANOVIĆ J, MONTEIRO S, et al. Detection of toxins involved in foodborne diseases caused by Gram-positive bacteria[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food

Safety, 2020, 19(4): 1605-1657.

- [2] 刘伟,尹可欣,施丽飞,等.北京市海淀区2010—2019年食源性疾病暴发检测结果分析[J].海峡预防医学杂志,2022,28(1): 91-93.
LIU W, YIN K X, SHI L F, et al. Analysis on detection results of foodborne disease outbreaks in Haidian District of Beijing City, 2010—2019 [J]. Strait Journal of Preventive Medicine, 2022, 28(1): 91-93.
- [3] LI H, LI W, DAI Y, et al. Characteristics of setting and etiologic agents of foodborne disease outbreaks-China, 2020 [J]. China CDC Weekly, 2021, 3(42): 889.
- [4] 李雪,孙婷婷,魏彤竹,等.2018—2019年辽宁省副溶血性弧菌临床和食品分离株分子流行病学分析[J].中国人兽共患病学报,2024,40(3): 283-288.
LI X, SUN T T, WEI T Z, et al. Molecular epidemiological analysis of food and clinical isolates of *Vibrio parahaemolyticus* in Liaoning Province in 2018—2019 [J]. Chinese Journal of Zoonoses, 2024, 40(3): 283-288.
- [5] 杨庆,谭壮生,敬海明,等.基于系统文献检索的副溶血性弧菌危害评估[J].毒理学杂志,2021,35(6): 451-454.
YANG Q, TAN Z S, JING H M, et al. Hazard assessment of *Vibrio parahaemolyticus* based on systematic literature searches [J]. Journal of Toxicology, 2021, 35(6): 451-454.
- [6] 张德福,于振兴,张明,等.副溶血性弧菌不耐热溶血素的生物信息学分析与分子动力学模拟[J].食品与发酵工业,2024,50(12): 251-261.
ZHANG D F, YU Z X, ZHANG M, et al. Bioinformatics analysis and molecular dynamics simulation of thermolabile hemolysin in *Vibrio parahaemolyticus* [J]. Food and Fermentation Industries, 2024, 50(12): 251-261.
- [7] BRUMFIELD KD, CHEN A J, GANGWAR M, et al. Environmental Factors Influencing Occurrence of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2023, 89(6): e0030723.
- [8] ARCHER EJ, BAKER-AUSTIN C, OSBORN TJ, et al. Climate warming and increasing *Vibrio Vulnificus* infection in North America [J]. Scientific Reports, 2023, 13: 3893.
- [9] 吴鹏,刘继开,戴月,等.2010—2020年中国大陆副溶血性弧菌引发食源性疾病暴发调查[J].中国食品卫生杂志,2024,36(1): 73-78.
WU P, LIU J K, DAI Y, et al. Investigation of foodborne disease outbreaks caused by *Vibrio parahaemolyticus* in China's Mainland from 2010 to 2020 [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2024, 36(1): 73-78.
- [10] CHEN L, WANG J, ZHANG R, et al. An 11-year analysis of bacterial foodborne disease outbreaks in Zhejiang Province, China [J]. Foods, 2022, 11(16): 2382.
- [11] 李世聪,严维娜,梁骏华,等.2011—2020年广东省微生物性食源性疾病暴发流行病学特征分析[J].中国食品卫生杂志,2024,36(9): 1076-1082.
LI S C, YAN W N, LIANG J H, et al. Analysis of epidemiological characteristics of outbreaks of microbial foodborne diseases in Guangdong Province from 2011 to 2020 [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2024, 36(9): 1076-1082.

- [12] SARAH O, ANNELIES WS. Public health emergencies of international concern: a historic overview[J]. *Journal of Travel Medicine*, 2020, 27(8): 227.
- [13] 李荣, 陈家良, 王洋, 等. 副溶血性弧菌引起食源性疾病暴发事件调查与病原特征分析[J]. *山西医科大学学报*, 2024, 55(1): 99-103.
- LI R, CHEN J L, WANG Y, et al. Investigation and pathogenic characteristics of food-borne disease outbreak caused by *Vibrio parahaemolyticus* [J]. *Journal of Shanxi Medical University*, 2024, 55(1): 99-103.
- [14] CHEN X, ZHU Q, LIU Y, WANG R, et al. Pathogenic characteristics of and Variation in *Vibrio parahaemolyticus* isolated from acute diarrhoeal patients in Southeastern China from 2013 to 2017[J]. *Infection and Drug Resistance*, 2020, 5(13): 1307-1318.
- [15] 黄瑛, 吕冰, 张新, 等. 2017—2019年北京市人源性副溶血性弧菌病原学特征分析[J]. *首都公共卫生*, 2021, 15(5): 261-265.
- HUANG Y, LYU B, ZHANG X, et al. Pathogenic characteristics of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from diarrhea patients in Beijing, 2017—2019[J]. *Capital Journal of Public Health*, 2021, 15(5): 261-265.
- [16] 袁丹茅, 金建潮. 龙岩市不同来源副溶血性弧菌耐药性分析[J]. *疾病预防控制中心通报*, 2024, 39(1): 82-84.
- YUAN D M, JIN J C. Analysis of drug resistance of *Vibrio parahaemolyticus* from different sources in Longyan city [J]. *Bulletin of Disease Control & Prevention (China)*, 2024, 39(1): 82-84.
- [17] 时晨, 于良, 王悦, 等. 秦皇岛市2017—2021年副溶血性弧菌毒力基因和耐药性分析[J]. *医学动物防制*, 2023, 39(12): 1160-1163.
- SHI C, YU L, WANG Y, et al. Analysis of virulence genes and drug resistance of *Vibrio parahaemolyticus* in Qinhuangdao City from 2017 to 2021 [J]. *Journal of Medical Pest Control*, 2023, 39(12): 1160-1163.
- [18] 赵宏伟, 谢晓红, 陶力新, 等. 上海市奉贤区210株副溶血性弧菌毒力基因、分子分型及耐药性分析[J]. *上海预防医学*, 2022, 34(9): 901-905.
- ZHAO H W, XIE X H, TAO L X, et al. Virulence gene, molecular typing and drug resistance of 210 *Vibrio Parahaemolyticus* strains in Fengxian District, Shanghai [J]. *Shanghai Journal of Preventive Medicine*, 2022, 34(9): 901-905.
- [19] 曹文婷, 管红霞, 倪程佩, 等. 2016—2021年无锡市副溶血性弧菌毒力基因和耐药性分析及分子分型[J]. *中国食品卫生杂志*, 2023, 35(10): 1482-1490.
- CAO W T, GUAN H X, NI C P, et al. Virulence genes, antibiotic resistance, and molecular typing study of *Vibrio parahaemolyticus* in Wuxi City from 2016 to 2021 [J]. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 2023, 35(10): 1482-1490.
- [20] 何凤媛, 谭博, 黎明, 等. 沙门菌药敏结果与质谱离子峰的关系分析[J]. *国际检验医学杂志*, 2023, 44(24): 3027-3031.
- HE F Y, TAN B, LI M, et al. Analysis of the relationship between *Salmonella* drug sensitivity and ion peak by mass spectrometry [J]. *International Journal of Laboratory Medicine*, 2023, 44(24): 3027-3031.
- [21] 许金凤, 曹文婷, 张潇丹, 等. 镇江地区2018年不同来源副溶血性弧菌毒力基因及耐药性分析[J]. *临床检验杂志*, 2020, 38(1): 70-72.
- XU J F, CAO W T, ZHANG X D, et al. Studies on pathogens, virulence genes and drug Resistance of *Vibrio Parahaemolyticus* from different sources in Southern Jiangsu [J]. *Chinese Journal of Clinical Laboratory Science*, 2020, 38(1): 70-72.
- [22] 陈吉铭, 何琴芬, 张琴超, 等. 绍兴市生食鱼中副溶血性弧菌毒力基因及耐药性与分子分型研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(16): 6680-6684.
- CHEN J M, HE Q F, ZHANG Q C, et al. Study on virulence gene, drug resistance, molecular typing of *Vibrio parahaemolyticus* in raw fish in Shaoxing [J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 2021, 12(16): 6680-6684.
- [23] 季霄雷, 许海燕, 苏婧, 等. 82株副溶血性弧菌毒力基因及耐药性分析[J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2018, 38(1): 37-40.
- JI X L, XU H Y, SU J, et al. Analysis of virulence genes and drug resistance in 82 *Vibrio parahaemolyticus* strains [J]. *Chinese Journal of Microbiology and Immunology*, 2018, 38(1): 37-40.
- [24] HUANG A, WANG Y, XU H, et al. Antibiotic Resistance and Epidemiology of *Vibrio parahaemolyticus* from Clinical Samples in Nantong, China, 2018—2021 [J]. *Infection and Drug Resistance*, 2023, 16: 7413-7425.
- [25] 孔令汉, 甘雨露, 罗杰, 等. 基于全基因组测序对一起食物中毒事件中的副溶血性弧菌溯源分析[J]. *实用预防医学*, 2023, 30(1): 101-104.
- KONG L H, GAN Y L, LUO J, et al. Traceability analysis of *Vibrio parahaemolyticus* from a food poisoning incident based on whole-genome sequencing [J]. *Practical Preventive Medicine*, 2023, 30(1): 101-104.
- [26] 陈美玲, 卢昕, 赵林, 等. 我国东南沿海地区副溶血弧菌O3:K6血清型耐药分析[J]. *疾病监测*, 2018, 33(5): 365-369.
- CHEN M L, LU X, ZHAO L, et al. Antibiotic resistance of *Vibrio parahaemolyticus* serotype O3:K6 in southeastern coastal area of China [J]. *Disease Surveillance*, 2018, 33(5): 365-369.
- [27] 刘翔, 张燕飞, 魏琼, 等. 宁夏鼠伤寒沙门菌及其单相变种基因组特征分析[J]. *中国人兽共患病学报*, 2024, 40(11): 1018-1023, 1035.
- LIU X, ZHANG Y F, WEI Q, et al. Genomic characterization of *Salmonella typhimurium* and its monophasic variants in Ningxia [J]. *Chinese Journal of Zoonoses*, 2024, 40(11): 1018-1023, 1035.
- [28] ZHU L, ZHANG C, LIANG C, et al. Molecular epidemiological characteristics of osteoarthritis-associated *Brucella melitensis* in China: evidence from whole-genome sequencing-based analysis [J]. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobial*, 2024, 23(1): 18.
- [29] XIA X, LYU T, ZHENG L, et al. Genomic Epidemiology of *Clostridioides difficile* ST81 in Multiple Hospitals in China [J]. *Infection and Drug Resistance*, 2024, 17: 5535-5544.
- [30] 王殿夫, 齐欣, 徐娜, 等. 副溶血性弧菌快速定量检测方法研究进展[J]. *中国食品卫生杂志*, 2024, 36(3): 360-368.
- WANG D F, QI X, XU N, et al. Research progress in the rapid quantitative determination of *Vibrio parahaemolyticus* [J]. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 2024, 36(3): 360-368.