

研究报告

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

姚慧靖¹,车志教¹,温微微¹,沈杰¹,毛选教²

(1. 平阳县疾病预防控制中心,浙江温州 325401; 2. 平阳县第一人民医院,浙江温州 325400)

摘要:目的 了解温州市平阳县食物来源和食源性疾病来源的副溶血性弧菌的血清群分布特点以及耐热直接溶血素(TDH)和TDH相关溶血素(TRH)检出情况。方法 以59株副溶血性弧菌食品风险监测分离株和39株副溶血性弧菌食源性疾病监测分离株为研究对象,用标准血清进行血清学分群,应用实时荧光定量聚合酶链式反应(PCR)法检测 *tdh* 基因和 *trh* 基因。结果 食品风险监测分离株检出9个血清群,无优势菌群;食源性疾病监测分离株检出O1、O3和O4;以O3和O4为主,分别占48.7% (19/39)和46.2% (18/39)。食源性疾病监测分离株的毒力基因检测结果为38株仅含有 *tdh* 基因,1株仅含有 *trh* 基因,而食品风险监测分离株仅检出1株只含有 *tdh* 基因的菌株。结论 平阳县食品风险监测中分离的副溶血性弧菌菌株与分离自食源性疾病监测的副溶血性弧菌菌株的主要血清型、毒力基因都存在差别。本研究为预防和快速检验副溶血性弧菌引起的食源性疾病提供了科学依据。

关键词:食品风险监测;食源性疾病;副溶血性弧菌;食源性致病菌;血清型;基因;生物学特性;比较

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2018)02-0143-03

DOI:10.13590/j.cjfh.2018.02.004

Biologic characteristics of *Vibrio parahaemolyticus* from food and foodborne diseasesYAO Hui-jing¹, CHE Zhi-jiao¹, WEN Wei-wei¹, SHEN Jie¹, MAO Xuan-jiao²

(1. Pingyang County Center for Disease Control and Prevention, Zhejiang Wenzhou

325401, China; 2. Pingyang County First People's Hospital, Zhejiang Wenzhou 325400, China)

Abstract: Objective To understand the distribution characteristics of serogroups and the heat resistant direct hemolysin (TDH) and TDH related hemolysin (TRH) of *Vibrio parahaemolyticus* strains from different sources in Pingyang County, Wenzhou City. **Methods** Fifty-nine food isolates and 39 clinical isolates of *Vibrio parahaemolyticus* were selected as the research objects. Serological grouping was performed with standard serum. Real-time polymerase chain reaction (PCR) was used to detect *tdh* gene and *trh* gene. **Results** There were 9 serogroups in the food isolates with no dominant serogroup. O1, O3 and O4 were detected in the clinical isolates, with O3 and O4 accounting for 48.7% (19/39) and 46.2% (18/39) respectively. The detection of virulence genes of isolates from foodborne diseases showed that 38 strains contained only *tdh* gene and 1 strain contained only *trh* gene. There was only one strain contained *tdh* gene detected from the food isolates. **Conclusion** There were differences of the major serotypes and the virulence genes between *Vibrio parahaemolyticus* strains isolated from the food and hospital in Pingyang County. This work provided a scientific basis for the prevention and rapid test of foodborne diseases caused by *Vibrio parahaemolyticus*.

Key words: Food risk monitoring; foodborne diseases; *Vibrio parahaemolyticus*; foodborne pathogenic bacteria; serotypes; genes; biological characteristics; comparison

副溶血性弧菌是夏秋季沿海地区食源性疾病的主要病原菌。我国副溶血性弧菌引起的食源性疾病已超过沙门菌,成为首要的食源性致病菌^[1]。2016—2017年温州市平阳县食源性疾病致病菌的检验中副溶血性弧菌的比例也超过沙门菌,尤其是5~10月。副溶血性弧菌致病性源于侵袭性、溶血素和脲酶。溶血素是副溶血性弧菌的主要致病因

素,目前研究较多的有耐热直接溶血素(TDH)和TDH相关溶血素(TRH),这两种溶血素分别由 *tdh* 和 *trh* 基因编码,是副溶血性弧菌的主要毒力基因^[2]。为了解平阳县环境中中和临床中副溶血性弧菌的分子生物学特性及相关性,本研究对2016—2017年平阳县食品风险监测和同期食源性疾病监测中分离的副溶血性弧菌运用实时荧光定量聚合酶链式反应(PCR)法检验 *tdh* 和 *trh* 基因,用诊断血清进行O血清分群,并对检验结果进行分析,便于以后为由副溶血性弧菌引起的食源性疾病等进行

收稿日期:2018-02-02

作者简介:姚慧靖 女 副主任技师 研究方向为食品风险监测和食源性疾病监测 E-mail:yhj63880678@126.com

快速诊断和有效控制提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株来源

2016—2017年平阳县食品风险监测中分离的59株副溶血性弧菌和同期食源性疾病监测中分离自患者的39株副溶血性弧菌。

1.1.2 主要仪器与试剂

7500 Real Time PCR System(美国ABI)。副溶血性弧菌分型免疫血清(O群别,日本生研),TDH毒素基因测定试剂盒、TRH毒素基因测定试剂盒均购自上海之江生物科技股份有限公司,上述所有试剂均在有效期内使用。

1.2 方法

副溶血性弧菌O血清分群按照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》^[3],溶血素毒力基因检测方法按照试剂盒说明书操作。

2 结果

2.1 副溶血性弧菌血清群分布

59株食品风险监测分离株经11种副溶血性弧菌O血清分群,分为O1、O2、O3、O4、O5、O6、O8、O10和O11共9个血清群,结果见表1。39株食源性疾病监测分离株血清分群为O1、O3和O4共3个血清群,以O3、O4为主,结果见表2。

表1 副溶血性弧菌食品风险监测分离株O血清群分布

Table 1 Serotypes of the *Vibrio parahaemolyticus* isolated from food risk monitoring

血清群	菌株数	占比/%
O1	9	15.2
O2	11	18.6
O3	12	20.3
O4	7	11.9
O5	8	13.6
O6	2	3.4
O8	3	5.1
O10	1	1.7
O11	6	10.2
合计	59	100.0

表2 副溶血性弧菌食源性疾病监测分离株O血清群分布

Table 2 Serotypes of the *Vibrio parahaemolyticus* isolated from foodborne diseases

血清群	菌株数	占比/%
O1	2	5.1
O3	19	48.7
O4	18	46.2
合计	39	100.0

2.2 副溶血性弧菌毒力基因 *tdh* 和 *trh* 的检出情况

59株食品风险监测分离株中仅有1株检出 *tdh* 基因,未检出 *trh* 基因,其余菌株均未检出 *tdh* 和 *trh* 基因。39株食源性疾病监测分离株中仅有1株检出 *trh* 基因,未检出 *tdh* 基因,其他38株均只检出 *tdh* 基因,未检出 *trh* 基因。

3 讨论

此次59株食品风险监测分离株的血清群呈多样性分布,共有9个血清群,无优势血清群。而同期的39株食源性疾病监测分离株血清群以O3(48.7%)和O4(46.2%)血清群为主,与多地检测结果一致^[4-5]。这表明O3和O4群副溶血性弧菌的致病性明显强于其他血清群。

本研究采用实时荧光定量PCR方法检测副溶血性弧菌的 *tdh* 和 *trh* 基因,食源性疾病监测分离株全部检出溶血素,结果表明TDH和TRH与副溶血性弧菌致病性有高度的关联性。其中 *tdh* 基因携带率为97.4%(38/39), *trh* 基因携带率为2.6%(1/39),与北京市腹泻患者中检出副溶血性弧菌的溶血素携带率相近^[6]。其中, *tdh* 编码的TDH是与致病力最为密切的相关致病因子,它是一种具有溶血活性、致死作用和细胞毒性等多种生物学活性的蛋白质^[7],浙江省曾报道一起由O5:K6血清型、*tdh* 基因阳性的副溶血性弧菌引起的食源性疾病患者死亡的事件^[8]。在这次调查中大部分食源性疾病监测分离株检出 *tdh* 基因,也恰好印证了这一观点。食品风险监测分离株中有1株血清群为O5的菌株检出 *tdh* 基因,其余58株均未检出 *tdh* 和 *trh* 基因。*tdh* 基因阳性的副溶血性弧菌在海水产品中的检出,提示此类菌株是平阳县食源性疾病发生的一个潜在的致病菌。本研究中大部分食品风险监测分离株虽不携带 *tdh* 和 *trh* 基因,但并不代表其无致病性。副溶血性弧菌的致病性是多种毒力因子共同作用的结果,除溶血素外,还有脲酶、黏附因子、脂多糖等,因此提示研究外环境中强致病性的副溶血性菌还需要更为敏感的检测手段。

通过本次研究可以了解到从食品风险监测和食源性疾病监测中检出副溶血性弧菌的溶血素结果有明显的不同。目前实时荧光定量PCR法可以快速地 从肛拭、食物、各种涂抹物中检测 *tdh* 和 *trh* 基因。基于以上两点,可以在食源性疾病发生时用实时荧光PCR法对肛拭、食物、各种涂抹物等进行 *tdh* 和 *trh* 基因检验,如样品或标本中检出 *tdh* 和/或 *trh* 基因,那么可以认为食源性疾病是由副溶血性弧菌引起的,加快了对食源性疾病原因的初步判断;

如为阴性,仍不能放弃副溶血性弧菌传统培养方法的检验,因为副溶血性弧菌即使没有 *tdh* 和 *trh* 基因,也会引起食源性疾病^[9]。

参考文献

- [1] 柯碧霞,谭海玲,李柏生,等. 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[J]. 中华流行病学杂志, 2011, 32(12):1237-1241.
- [2] 朱雪兰,陈艳,刘秀梅,等. 副溶血性弧菌溶血素基因及其检测的研究进展[J]. 国外医学卫生学分册,2007,34(4): 233-236.
- [3] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 副溶血性弧菌检验:GB 4789.7—2013[S]. 北京:中国标准出版社,2013.
- [4] 程苏云,李恩民,张俊彦,等. 不同来源的副溶血性弧菌生物

- 学特性研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2006,18(2):112-114.
- [5] 林朝,宋晓荷,巢国祥. 不同来源副溶血性弧菌的血清分群和毒力基因检测[J]. 现代实用医学,2013,25(5):580-581.
- [6] 范艳艳,朱敏,尚欣荣,等. 副溶血弧菌临床分离株毒力特征与多位点序列分型研究[J]. 中华检验医学杂志,2013,36(6):548-552.
- [7] 吴振龙,裴军,鲍慧宁. 副溶血性弧菌直接溶血毒素基因的原核表达及产物的性质[J]. 细胞与分子免疫学杂志,2001,17(5):426-427.
- [8] 程苏云,翁景清,林香娟,等. 副溶血性弧菌食物中毒菌株的血清型、耐药性及基因检测[J]. 中国卫生检验杂志,2002,12(2):141-142.
- [9] 黄彦,唐振柱,王红,等. 一起不同血清型食物中毒副溶血性弧菌毒力基因检测[J]. 应用预防医学,2012,18(4): 197-199.

· 公告 ·

关于食品工业用酶制剂新品种果糖基转移酶(又名 β -果糖基转移酶)和食品添加剂单,双甘油脂肪酸酯等7种扩大使用范围的公告

2018年第2号

根据《食品安全法》规定,审评机构组织专家对食品工业用酶制剂新品种果糖基转移酶(又名 β -果糖基转移酶)和食品添加剂单,双甘油脂肪酸酯等7种扩大使用范围的品种安全性评估材料审查并通过。特此公告。

附件1

食品工业用酶制剂新品种果糖基转移酶(又名 β -果糖基转移酶)

Fructosyl transferase 酶	来源	供体
果糖基转移酶(又名 β -果糖基转移酶)Fructosyl transferase	米曲霉 <i>Aspergillus oryzae</i>	—

注:果糖基转移酶(又名 β -果糖基转移酶)的质量规格要求应符合《食品安全国家标准食品添加剂 食品工业用酶制剂》(GB 1886.174—2016)的规定

附件2

食品添加剂单,双甘油脂肪酸酯等7种扩大使用范围的品种

序号	名称	功能	食品分类号	食品名称	最大使用量/(g/kg)	备注
1	单,双甘油脂肪酸酯	被膜剂	04.01.01.02	经表面处理的鲜水果	按生产需要	—
			04.02.01.02	经表面处理的新鲜蔬菜	适量使用	
2	<i>dl</i> -酒石酸	酸度调节剂	05.02	糖果	18.0	以酒石酸计
3	可溶性大豆多糖	增稠剂	15.02	配制酒	5.0	—
4	亮蓝	着色剂	04.03.02.03	腌渍的食用菌和藻类	0.025	以亮蓝计
5	磷酸	酸度调节剂	13.01.03	特殊医学用途婴儿配方食品	1.0	即食状态,最大使用量以磷酸根(PO_4^{3-})计
6	柠檬黄	着色剂	04.03.02.03	腌渍的食用菌和藻类	0.1	以柠檬黄计
			04.02.02.03	腌渍的蔬菜	0.5	
7	乳酸链球菌素	防腐剂	04.03.02	加工食用菌和藻类	0.3	—
			07.01	面包		
			07.02	糕点		

国家卫生计生委
二〇一八年二月十三日