

调查研究

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研究

曹文婷,管红霞,倪程佩,沙丹
(无锡市疾病预防控制中心,江苏无锡 214000)

摘要:目的 分析2016—2021年无锡市不同来源副溶血性弧菌的毒力基因、耐药性和分子分型结果。方法 采用多重荧光PCR、微量肉汤稀释法、脉冲场凝胶电泳(PFGE)分别对204株分离自无锡市各类监测样本中的副溶血性弧菌进行*tlh*/*tdh*/*trh*毒力基因检测、耐药性试验和分子分型。数据比较采用 χ^2 检验。结果 204株菌*tlh*基因携带率为100%(204/204),*tdh*基因携带率为82.35%(168/204),*trh*基因携带率为2.45%(5/204),食品及环境分离株与病患分离株*tdh*基因携带率差异具有统计学意义($P < 0.001$)。菌株对头孢唑啉耐药率最高达96.08%(196/204),对3种及以上抗菌药物的耐药率为2.94%(6/204),食品及环境分离株与病患分离株对氨苄西林、四环素、磺胺甲噁唑/甲氧苄啶、环丙沙星耐药率差异具有统计学意义($P < 0.05$);204株副溶血性弧菌经过聚类分析,分为123个PFGE带型,相似度49.1%~100.0%,按85%的相似度聚类可分为18个带型簇。结论 无锡市副溶血性弧菌病患分离株大部分携带*tdh*基因;菌株对头孢唑啉耐药率最高;PFGE型别呈多态性,优势带型不明显。

关键词:副溶血性弧菌;毒力基因;微生物敏感性试验;分子分型

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2023)10-1482-09

DOI:10.13590/j.cjfh.2023.10.012

Virulence genes, antibiotic resistance, and molecular typing study of *Vibrio parahaemolyticus* in
Wuxi City from 2016 to 2021

CAO Wenting, GUAN Hongxia, NI Chengpei, SHA Dan

(Wuxi Center for Disease Control and Prevention, Jiangsu Wuxi 214000, China)

Abstract: Objective The aim of this study was to analyze the virulence genes, antibiotic resistance, and molecular typing of *Vibrio parahaemolyticus* (*V. parahaemolyticus*) isolates from multiple sources in Wuxi City between 2016 and 2021. **Methods** Multiplex real-time PCR, microbroth dilution, and pulsed field gel electrophoresis (PFGE) were used to detect virulence genes (*tlh*/*tdh*/*trh*), evaluate antibiotic resistance, and perform molecular typing of 204 *V. parahaemolyticus* strains isolated from various surveillance samples in Wuxi City. χ^2 tests were used for statistical analysis. **Results** Among the *V. parahaemolyticus* isolates, the prevalence of *tlh*, *tdh*, and *trh* was 100% (204/204), 82.35% (168/204), and 2.45% (5/204), respectively. A significant difference was found in the prevalence of *tdh* between food/environmental sources and patient-source isolates ($P < 0.001$). Most (96.08%, 196/204) isolates were resistant to cefazolin, and 2.94% (6/204) of the isolates displayed a multidrug resistance pattern (resistant to three or more drugs). Strains from both food/environmental and patient sources were significantly ($P < 0.05$) resistant to ampicillin, tetracycline, methomyl/sulfamethoxazole, and ciprofloxacin. The 204 *V. parahaemolyticus* strains were clustered into 123 PFGE band types with 49.1%-100.0% similarity, which could be differentiated into 18 different genetic clusters with 85% similarity. **Conclusion** Most *V. parahaemolyticus* isolates from patient sources in Wuxi City harbored the *tdh* gene. The isolated *V. parahaemolyticus* strains showed the highest resistance to cefazolin. The PFGE types were polymorphic, and no major bands were found.

Key words: *Vibrio parahaemolyticus*; virulence gene; microbial susceptibility test; molecular typing

收稿日期:2023-04-13

基金项目:无锡市卫健委项目(M202158)

作者简介:曹文婷 女 副主任技师 研究方向为病原微生物 E-mail:caowent1978@126.com

通信作者:沙丹 女 副主任技师 研究方向为病原微生物 E-mail:shadan20051001@163.com

副溶血性弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*, VP)是一种嗜盐性弧菌,广泛存在于海水和各类海产品中,是我国沿海地区食物中毒高发的食源性病原菌,会导致腹痛、呕吐、腹泻。但监测结果表明,淡水产品中副溶血性弧菌污染率也一直维持在较高水平,并呈现上升趋势^[1-2]。无锡北倚长江,南滨太湖,东接沿海城市及东海和黄海,近几年细菌性食源性疾病中主要致病因子为副溶血性弧菌。为研究本地区副溶血性弧菌的型别、毒力基因分布及耐药性,本文选取2016—2021年分离自无锡市病患样本和食物及环境样本的204株副溶血性弧菌,分别采用多重实时荧光PCR技术、微量肉汤稀释法和脉冲场凝胶电泳(Pulsed field gel electrophoresis, PFGE)技术进行其毒力基因检测、药敏试验及分子分型研究,了解其耐药现状和分子分型特征。

1 材料与方法

1.1 菌株来源

选取204株2016—2021年分离自无锡市各类监测样本中的副溶血性弧菌,包括24株食品及环境分离株(食物中毒相关样本9份,食品风险监测样品15份,涵盖鱼、虾、蚌等食品样本和环境或食品加工环节涂抹样)和180份腹泻病人分离菌株(各监测点分离株122株及食物中毒事件分离株58株)[伦审(2021)第11号],见表1。

表1 株副溶血性弧菌来源分布

时间/年	病患分离株/株	食品及环境分离株/株	总计/株
2016	36	11	47
2017	37	3	40
2018	34	2	36
2019	32	2	34
2020	7	2	9
2021	34	4	38
合计	180	24	204

1.2 主要仪器与试剂

全自动药敏加样判读系统(美国赛默飞世尔科技公司),*Xba* I、*Not* I内切酶(北京索莱宝科技有限公司),VITEK 2 Compact 细菌鉴定仪、微生物质谱鉴定系统(法国梅里埃公司),AB QuantStudio 7 Pro 荧光定量PCR仪(美国ABI公司),Bio-Rad 脉冲场凝胶电泳仪、Bio-Rad Gel Dox XR 凝胶成像系统(美国Bio-Rad公司)。

3%氯化钠碱性蛋白胨水、弧菌显色培养基平板、TCBS平板(北京陆桥技术股份有限公司),副溶血性弧菌三重核酸检测试剂盒(深圳生科源生物有限公司)。

1.3 病原菌分离鉴定

参照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》和《国家食源性疾病预防工作手册》进行分离鉴定。粪便样本接种于3%氯化钠碱性蛋白胨水,环境水样采用10倍碱性蛋白胨水50 mL+450 mL水样,食品样本取25 g置于225 mL 3%氯化钠碱性蛋白胨水,以上样本经36℃增菌8~18 h。取增菌液分别划线接种于弧菌显色培养基和TCBS平板上,经36℃18~24 h。挑取可疑菌落使用生化鉴定仪或微生物质谱鉴定。

1.4 毒力基因检测

采用煮沸裂解法提取副溶血性弧菌基因组DNA,参照试剂盒说明书,检测菌株的3种毒力基因*tlh*、*tdh*、*trh*。

1.5 药敏试验

采用微量肉汤稀释法,测定副溶血性弧菌对12种抗菌药物的最低抑菌浓度(Minimal inhibitory concentration, MIC)。抗菌药物包括青霉素类:氨苄西林(Ampicillin, AMP)、氨苄西林/舒巴坦(Ampicillin/sulbactam, AMS),头孢类:头孢噻肟(Cefotaxime, CTX)、头孢他啶(Ceftazidime, CAZ)、头孢唑啉(Cefazolin, CFZ),头霉素类:头孢西丁(Cefoxitin, FOX),碳青霉烯类:亚胺培南(Imipenem, IPM),四环素类:四环素(Tetracycline, TET),磺胺类:磺胺甲噁唑/甲氧苄啶(Trimethoprim-sulfamethoxazole, SXT),氨基糖苷类:庆大霉素(Gentamicin, GEN),氯霉素类:氯霉素(Chloramphenicol, CHL),喹诺酮类:环丙沙星(Ciprofloxacin, CIP)。质控菌株为大肠埃希氏菌ATCC 25922。根据美国临床和实验室标准化协会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) 2021 M100^[3]获得相应敏感(S)、中介(I)、耐药(R)。

1.6 脉冲场凝胶电泳分型

参照PulseNet网络实验室副溶血性弧菌脉冲场凝胶电泳标准方法对204株菌进行脉冲场凝胶电泳(Pulsed field gel electrophoresis, PFGE)试验,分子量标记为沙门菌H9812,用限制性内切酶*Xba* I进行酶切,副溶血性弧菌使用*Not* I进行酶切,置于37℃酶切4 h。设置电泳参数(电压:6 V/cm,脉冲时间:10~35.03 s,线性转换,电场角度120°,初始电流:110~140 mA,电泳时间:18.7 h,电泳液温度14℃)。电泳完成后使用GelRed染色,纯水清洗,凝胶成像系统拍照。使用BioNumerics 6.0软件,采用UPGMA法对电泳图谱进行聚类分析,电泳条带位置优化度为1.5%。

1.7 统计学分析

采用EXCEL及SPSS软件分析各项数据, χ^2 检

验比较各组差异,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 毒力基因检测结果

2.1.1 总体毒力基因携带情况

204 株副溶血性弧菌均携带 *tlh* 基因 (204/204), *tdh* 基因携带率为 82.35% (168/204), *trh* 基因携带率为 2.45% (5/204)。

2.1.2 不同来源样本毒力基因携带情况

24 株食品及环境分离株中, *tdh* 基因携带率为 29.17% (7/24), 无携带 *trh* 基因的菌株。180 株病患分离株中, *tdh* 基因携带率为 89.44% (161/180), *trh* 基因携带率为 2.78% (5/180)。经 χ^2 检验, 食物及环境分离株与病患分离株 *tdh* 基因携带率具有统计学意义 ($\chi^2=52.944, P < 0.001$), 结果见表 2。

表 2 食品及环境分离株与病患分离株毒力基因携带率比较

毒力基因	食品及环境 (n=24)		病患 (n=180)		χ^2	P
	菌株数	携带率/%	菌株数	携带率/%		
<i>tlh</i>	24	100.00	180	100.00	0	1
<i>tdh</i>	7	29.17	161	89.44	52.944	<0.001
<i>trh</i>	0	0.00	5	2.78	0.683	0.409

2.2 药敏实验

2.2.1 总体耐药情况

204 株副溶血性弧菌对头孢唑啉的耐药率最高, 达 96.08% (196/204), 其次是氨苄西林, 达 3.43% (7/204), 对氨苄西林/舒巴坦、头孢噻肟、头孢他啶、头孢西丁、亚胺培南、四环素、磺胺甲噁唑/甲氧苄啶、庆大霉素、氯霉素、环丙沙星敏感率均大于 95%; 对氨苄西林中介率最高, 达 32.84% (67/204), 结果见表 3。

表 3 204 株副溶血性弧菌对 12 种抗生素耐药情况

Table 3 Resistance of 204 strains of *Vibrio parahaemolyticus* to 12 antibiotics

抗菌药物名称	耐药率/[%(n)]	中介率/[%(n)]	敏感率/[%(n)]
氨苄西林	3.43(7/204)	32.84(67/204)	63.73(130/204)
氨苄西林/舒巴坦	0.49(1/204)	0.49(1/204)	99.02(202/204)
头孢噻肟	0.98(2/204)	0	99.02(202/204)
头孢他啶	0.49(1/204)	0	99.51(203/204)
头孢唑啉	96.08(196/204)	1.47(3/204)	2.45(5/204)
头孢西丁	0	2.94(6/204)	97.06(198/204)
亚胺培南	0	0	100(204/204)
四环素	1.96(4/204)	0	98.04(200/204)
磺胺甲噁唑/甲氧苄啶	1.96(4/204)	0	98.04(200/204)
庆大霉素	0	0	100(204/204)
氯霉素	0	0.49(1/204)	99.51(203/204)
环丙沙星	1.96(4/204)	0	98.04(200/204)

2.2.2 不同来源样本耐药情况

24 株食物及环境分离株中, 菌株对头孢唑啉耐药率最高, 达 100% (24/24); 其次为氨苄西林, 达 16.67% (4/24)。180 株病患分离株对头孢唑啉耐药率最高, 达 95.56% (172/180); 对氨苄西林耐药率为 1.67% (3/180)。两组来源除对氨苄西林、四环素、磺胺甲噁唑/甲氧苄啶、环丙沙星的耐药率差异有统计学意义 ($\chi^2=14.379, P < 0.001$; $\chi^2=5.746, P=0.017$; $\chi^2=5.746, P=0.017$; $\chi^2=5.746, P=0.017$), 其余抗生素的耐药率差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 结果见表 4。

2.2.3 不同年份样本耐药情况

2016—2021 年头孢唑啉耐药率一直保持较高水平 (>85%), 至 2018 年开始其耐药率逐年下降 [2016 年 100% (47/47)、2017 年 100% (40/40)、2018 年 97.22% (35/36)、2019 年 97.06% (33/34)、2020 年 88.89% (8/9)、2021 年 86.84% (33/38)]; 其他抗生素的耐药主要在 2016、2018 和 2019 年出现, 结果见表 5。

表 4 不同来源菌株耐药率

Table 4 The drug resistance rates of strains from different sources

抗菌药物名称	食品及环境 (n=24)		病患 (n=180)		χ^2	P
	菌株数	耐药率/%	菌株数	耐药率/%		
氨苄西林	4	16.67	3	1.67	14.379	<0.001
氨苄西林/舒巴坦	0	0.00	1	0.56	0.134	0.714
头孢噻肟	0	0.00	2	1.11	0.269	0.604
头孢他啶	0	0.00	1	0.56	0.134	0.714
头孢唑啉	24	100.00	172	95.56	1.110	0.292
头孢西丁	0	0.00	0	0.00	—	—
亚胺培南	0	0.00	0	0.00	—	—
四环素	2	8.33	2	1.11	5.746	0.017
磺胺甲噁唑/甲氧苄啶	2	8.33	2	1.11	5.746	0.017
庆大霉素	0	0.00	0	0.00	—	—
氯霉素	0	0.00	0	0.00	—	—
环丙沙星	2	8.33	2	1.11	5.746	0.017

注:—表示无分类或者无数值

表5 不同年份样本耐药率[(%)n]

Table 5 The drug resistance rates of samples in different years [(%)n]

抗菌药物名称	2016年	2017年	2018年	2019年	2020年	2021年
氨苄西林	8.51(4/47)	0.00	2.78(1/36)	5.88(2/34)	0.00	0.00
氨苄西林/舒巴坦	0.00	0.00	0.00	2.94(1/34)	0.00	0.00
头孢噻污	0.00	0.00	5.56(2/36)	0.00	0.00	0.00
头孢他啶	0.00	0.00	2.78(1/36)	0.00	0.00	0.00
头孢唑啉	100(47/47)	100(40/40)	97.22(35/36)	97.06(33/34)	88.89(8/9)	86.84(33/38)
头孢西丁	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
亚胺培南	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
四环素	6.38(3/47)	0.00	2.78(1/36)	0.00	0.00	0.00
甲氧苄氨嘧啶/磺胺甲噁唑	6.38(3/47)	0.00	2.78(1/36)	0.00	0.00	0.00
庆大霉素	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
氯霉素	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
环丙沙星	6.38(3/47)	0.00	2.78(1/36)	0.00	0.00	0.00

2.2.4 多重耐药情况

204株副溶血性弧菌耐药谱见表6,对3种及以上抗菌药物的耐药率为2.94%(6/204),病患分离株多重耐药率为2.22%(4/180),食品及环境分离株多重耐药率为8.33%(2/24),两组差异无统计学意义($\chi^2=2.770, P=0.096$),结果见表6和表7。

表6 204株副溶血性弧菌耐药谱

Table 6 Resistance profile of 204 strains of *Vibrio*

parahaemolyticus

耐药谱	耐药菌株数	占比/[(%)n]
—	8	3.92(8/204)
CFZ	184	90.20(184/204)
CFZ-AMP	6	2.94(6/204)
CFZ-AMS-AMP	1	0.49(1/204)
CFZ-CTX-CAZ	1	0.49(1/204)
CFZ-TET-SXT-CIP	2	0.98(2/204)
CFZ-TET-SXT-CIP	1	0.49(1/204)
CFZ-TET-CIP-SXT-CTX	1	0.49(1/204)
合计	204	100(204/204)

注:—表示无分类或者无数值

2.3 PFGE分型结果

204株副溶血性弧菌经聚类分析可分为123个PFGE带型,命名为N1~N123,各带型包含的菌株数

表7 6株副溶血性弧菌多重耐药谱

Table 7 Multi-drug resistance profile of 6 strains of *Vibrio*

parahaemolyticus

抗菌药物种类	菌株数	年份	分类	耐药谱	构成比
3	1	2019	病人	CFZ-AMS-AMP	1/6
3	1	2018	病人	CFZ-CTX-CAZ	1/6
4	2	2016	食品	CFZ-TET-SXT-CIP	2/6
4	1	2016	病人	CFZ-TET-SXT-CIP	1/6
5	1	2018	病人	CFZ-TET-CIP-SXT-CTX	1/6

在1~17株不等,相似度在49.1%~100.0%之间。其中N37包含17株菌;N70包含11株菌;N72包含10株菌;N46包含8株菌;N41和N51各包含7株菌;N65和N66各包含5株菌;N89和N110各包含4株菌;N19包含3株菌;N28、N33、N36、N38、N43、N44、N48、N53、N63、N73、N76各包含2株菌;其余101种带型仅包含1株菌,整体优势不明显。主要带型的菌株信息、耐药谱及毒力携带情况见表8。

按85%的相似度将123个PFGE带型可分为18个带型簇,分别命名为clusterA~clusterR,其中clusterD中包含的菌株最多,有69株,涵盖带型N33~N57,见图1。

表8 204株副溶血性弧菌主要带型、菌株信息、耐药谱及毒力携带情况

Table 8 Main band types, strain information, resistance profile and virulence carriage of 204 strains of

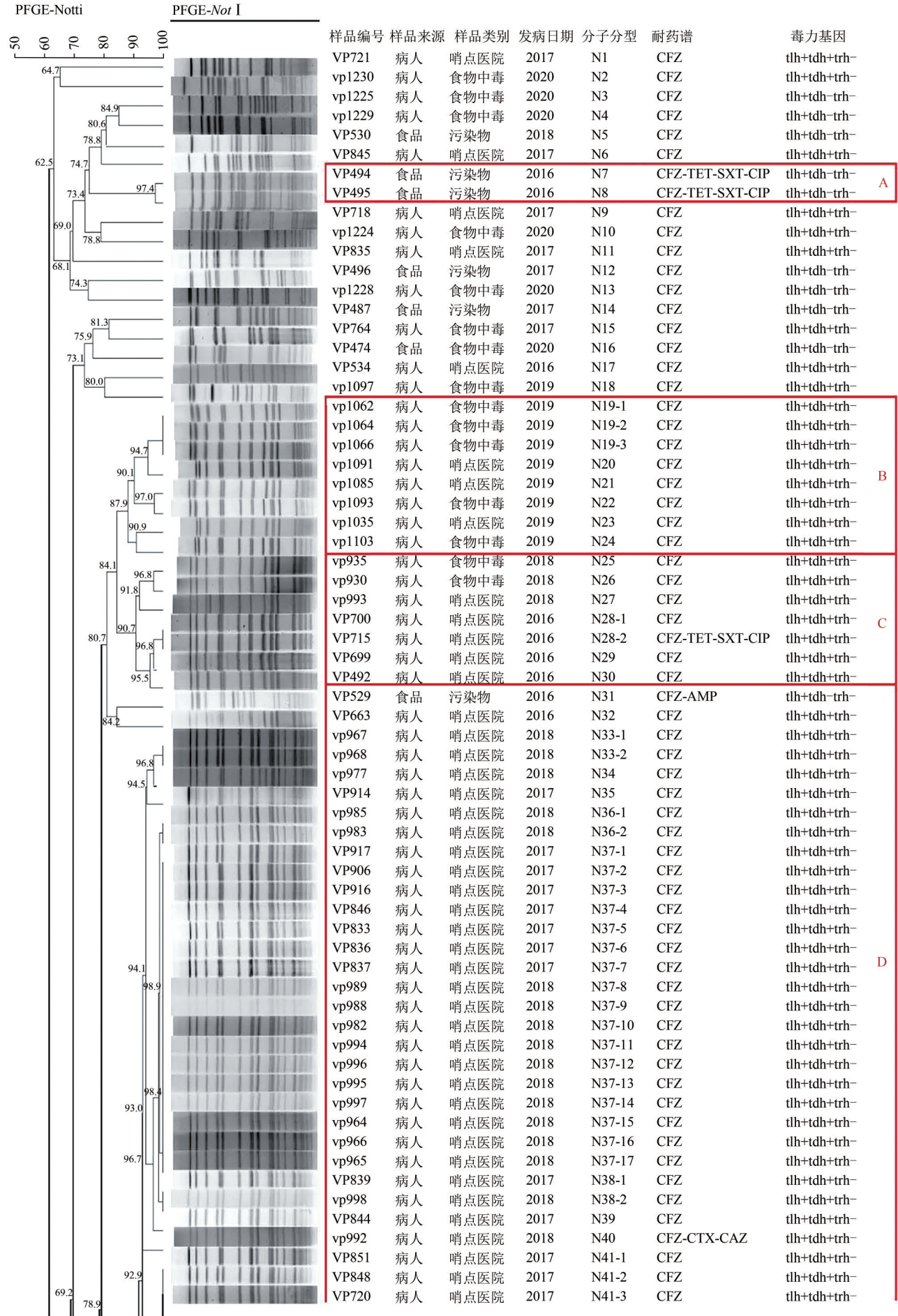
Vibrio parahaemolyticus

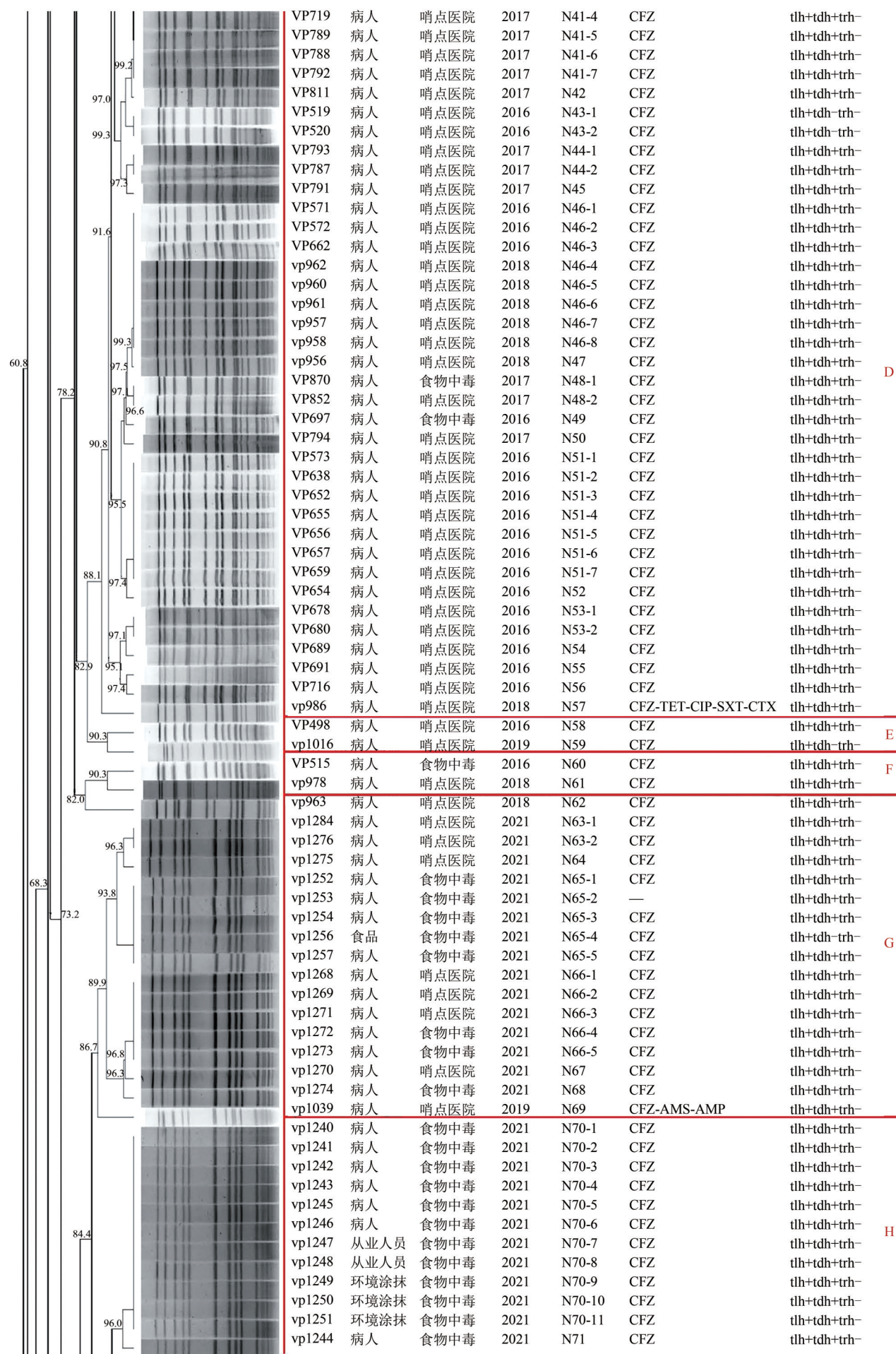
带型	菌株数	年份	来源	耐药谱	毒力基因
N37	17	2017、2018	哨点医院腹泻病人	CFZ	<i>tlh+</i> , <i>tdh+</i> , <i>trh-</i>
N70	11	2021	食物中毒(病人、环境涂抹样、从业人员)	CFZ	<i>tlh+</i> , <i>tdh+</i> , <i>trh-</i>
N72	10	2021	食物中毒(病人)	—;CFZ	<i>tlh+</i> , <i>tdh+</i> , <i>trh-</i>
N46	8	2016、2018	哨点医院腹泻病人	CFZ	<i>tlh+</i> , <i>tdh+</i> , <i>trh-</i>
N41	7	2017	腹泻病人	CFZ	<i>tlh+</i> , <i>tdh+</i> , <i>trh-</i>
N51	7	2016	腹泻病人	CFZ	<i>tlh+</i> , <i>tdh+</i> , <i>trh-</i>
N65	5	2021	食物中毒[病人、食品(盐水毛豆)]	CFZ	<i>tlh+</i> , <i>tdh+</i> , <i>trh-</i> ; <i>tlh+</i> , <i>tdh-</i> , <i>trh-</i>
N66	5	2021	食物中毒(病人)、哨点医院腹泻病人	CFZ	<i>tlh+</i> , <i>tdh+</i> , <i>trh-</i>
N89	4	2017、2018	哨点医院腹泻病人	CFZ	<i>tlh+</i> , <i>tdh+</i> , <i>trh-</i>
N110	4	2017	哨点医院腹泻病人	—;CFZ;CFZ-AMP	<i>tlh+</i> , <i>tdh+</i> , <i>trh+</i>

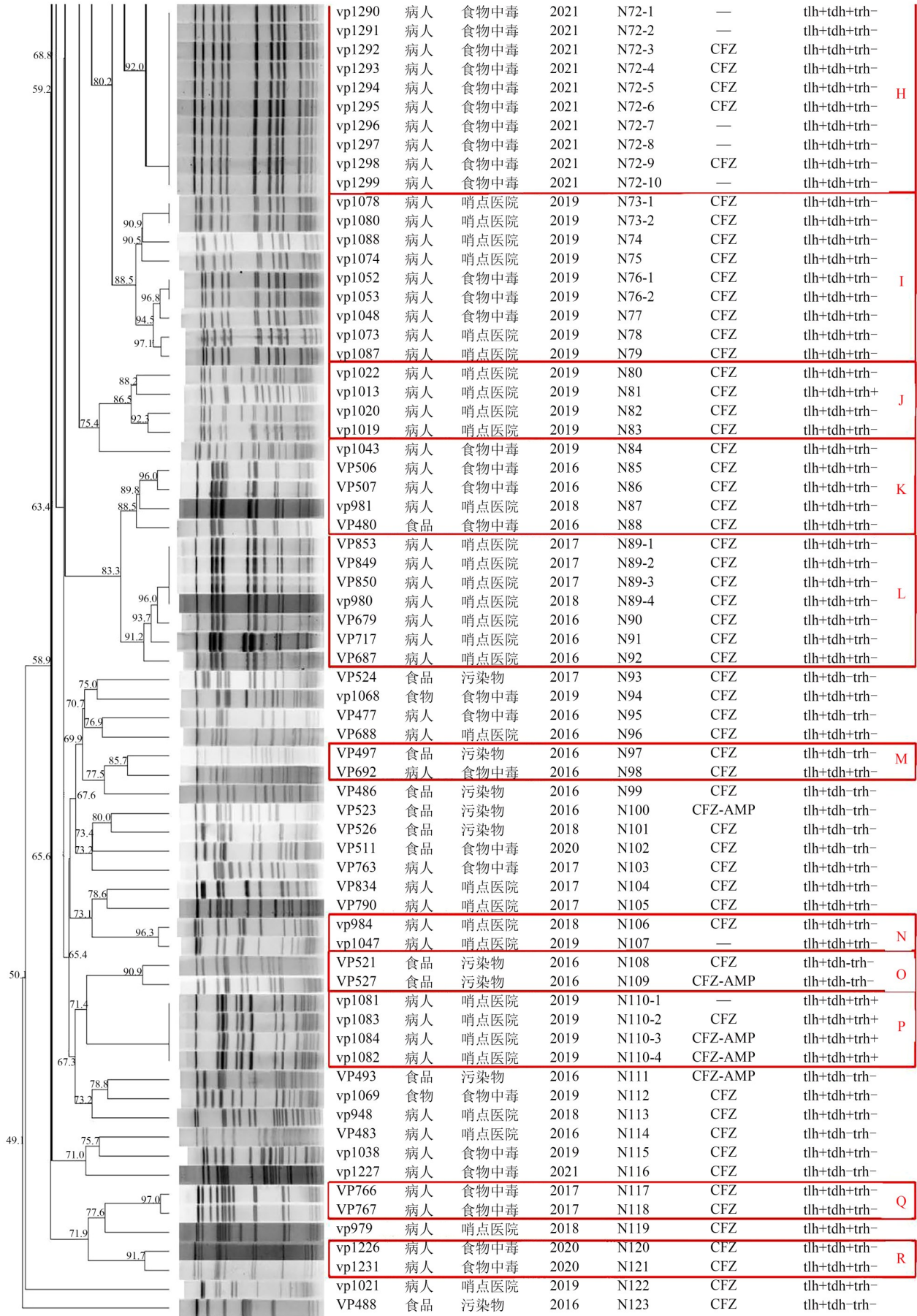
3 讨论

副溶血性弧菌分泌的溶血素为其主要致病因

子,分不耐热溶血毒素(Thermolabile hemolysin, TLH)和耐热性直接溶血素(Thermostable direct







注:A-R:按85%的相似度将123个PFGE带型可分为18个带型簇,分别命名为clusterA~clusterR

图1 204株副溶血性弧菌聚类分析图

Figure 1 Cluster analysis of 204 strains of *Vibrio parahaemolyticus*

hemolysin, TDH)或耐热性直接溶血素相关溶血素(Thermostable direct hemolysin-related hemolysin, TRH),由 *tlh*、*tdh*、*trh* 基因编码^[4],*tdh*、*trh* 为毒力基因,具溶血毒性、心脏毒性和肠毒性,是引起该菌食物中毒的主要致病因素^[5]。本研究发现无锡市副溶血性弧菌 *tdh* 基因携带率在病患分离株中远大于食品及环境分离株,该差异具有统计学意义($\chi^2=52.944, P<0.001$),说明携带 *tdh* 基因的副溶血性弧菌比不携带 *tdh* 基因的副溶血性弧菌具有更强的致病力;*trh* 基因均来自病患分离株,综合国内各地研究^[6-9]和国外一些针对水体外环境和其中生物携带菌株情况的研究^[10-11],一般认为食品及环境分离株极少携带 *tdh* 和 *trh* 基因,病患分离株通常携带 *tdh* 基因或两者皆携带^[12]。尽管食品及环境分离株大多不携带 *tdh* 和 *trh* 基因,但有研究表明没有携带 *tdh* 和 *trh* 基因的菌株仍然具有一定的潜在毒力^[13],对该类样本的监测也不能忽视。

本研究药敏结果提示无锡市副溶血性弧菌对头孢唑啉耐药率最高,达 96.08%,与国内其他地区^[8,13-16]研究结果相近,建议临床上应避免该类药物的使用;对氨苄西林的耐药率为 3.43%,中介率高达 32.84%,有数据表明在浙江^[17]、苏州^[18]、广州^[19]等地区副溶血性弧菌对氨苄西林的耐药率最高,可能与各地所使用抗生素种类不同有关,如长期使用会引起耐药,建议对该药物的使用也要慎重考虑。食品及环境分离株与病患分离株对氨苄西林、四环素、磺胺甲噁唑/甲氧苄啶、环丙沙星耐药率差异具有统计学意义($\chi^2=14.379, P<0.001$; $\chi^2=5.746, P=0.017$; $\chi^2=5.746, P=0.017$; $\chi^2=5.746, P=0.017$),一方面可能是食品及环境样本量较少;另一方面有可能与近几年养殖水体中抗生素的大量使用有关^[20],应加强对该类样本的监测。按时间分析,头孢唑啉作为一代头孢菌素,其耐药率一直维持较高水平,2018年开始逐渐下降,可能与临床上其他类抗生素的使用逐渐增加有关。

PFGE 被公认为细菌分型及追踪传染源最有效的方法之一,本研究对无锡市不同来源的 204 株副溶血性弧菌进行 PFGE 分型,可分为 123 个带型,具较大的遗传多样性。其中 2021 年某起食物中毒事件的 11 株菌均属于同一带型 N70,包括 6 株病患分离株、2 株从业人员分离株和 3 株厨房环境涂抹样(冷菜间菜盘和刀具)分离株,其耐药谱和毒力基因携带情况均一致,结合流行病学调查可推断该起食物中毒是由从业人员携带的副溶血性弧菌污染厨房环境引起。123 个带型按 85% 相似度可分为 18 个带型簇,分别命名为 clusterA~clusterR。其中

clusterD 包括的菌株数最多,有 69 株,涵盖带型 N33~N57,其耐药谱和毒力基因携带情况完全一致,且均来源于 2016 年(19 株)、2017 年(24 株)、2018 年(24 株)的病患分离株,因此可认为,clusterD 带型簇是 2016—2018 年无锡地区副溶血性弧菌在腹泻病人体内流行的优势克隆群。2019 年的副溶血性弧菌带型簇较分散(clusterB、clusterI、clusterJ、clusterP),2020 年受新冠疫情影响菌株收集太少,均无法判断流行的优势菌株。2021 年副溶血性弧菌的流行菌株主要集中在 clusterG(16 株)和 clusterH(21 株),两者同源性 84.4%,说明副溶血性弧菌在流行过程中一直伴随着变异发生;clusterH 中的菌株均分离自食物中毒的病人、环境、从业人员等,具有可溯源性,可为食物中毒的传染源判定提供依据,也显示了 clusterH 带型簇克隆是 2021 年引起副溶血性弧菌性食物中毒事件的主要流行株。

本研究所涉食品及环境样本相对较少,具有局限性,特别是在食物中毒事件调查溯源中,对于剩余食品的采集不可忽视;对不同来源的菌株今后可联合基因测序技术,进一步了解其进化特征,为协助流行病学调查确定传染源,及时采取干预措施提供依据。

参考文献

- [1] 李欣,吴健灏,乔雪飞,等.水产品养殖销售环节致病性弧菌污染状况和病原特征分析[J].中国卫生检验杂志,2020,30(17):2069-2073.
LI X, WU J H, QIAO X F, et al. Analysis of pathogenic *Vibrio* contamination and pathogen characteristics in aquaculture and marketing of aquatic products[J]. China Industrial Economics, 2020, 30(17): 2069-2073.
- [2] 阙凤霞,叶玉龙,杨博雯,等.上海市金山区 2017 年—2018 年水产品中副溶血性弧菌病原学特征分析[J].中国卫生检验杂志,2020,30(16):1964-1966.
QUE F X, YE Y L, YANG B W, et al. Analysis of pathogenic characteristics of *Vibrio parahaemolyticus* colonized in aquatic products from Jinshan District, Shanghai during 2017-2018[J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2020, 30(16): 1964-1966.
- [3] CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 28th ed. CLSI supplement M100[S]. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2021.
- [4] PARK K, MOK J S, KWON J Y, et al. Food-borne outbreaks, distributions, virulence, and antibiotic resistance profiles of *Vibrio parahaemolyticus* in Korea from 2003 to 2016: A review[J]. Fisheries and Aquatic Sciences, 2018, 21: 3.
- [5] CAI Q, ZHANG Y. Structure, function and regulation of the thermostable direct hemolysin (TDH) in pandemic *Vibrio parahaemolyticus* [J]. Microbial Pathogenesis, 2018, 123: 242-245.

- [6] 岳雪瑶, 陈玉凤, 于鹏, 等. 大连市两种来源副溶血性弧菌毒力基因的分析[J]. 职业与健康, 2022, 38(2): 162-166.
YUE X Y, CHEN Y F, YU P, et al. Research on virulence genes of *Vibrio parahaemolyticus* from two sources in Dalian city [J]. Occupation and Health, 2022, 38(2): 162-166.
- [7] 陈佳璇, 陈惠玲, 刘巧谊, 等. 2018年广州地区水产品中致病性弧菌的污染调查及其毒力基因检测[J]. 医学动物防制, 2022, 38(2): 201-204.
CHEN J X, CHEN H L, LIU Q Y, et al. Contamination investigation and characterization of virulence genes of pathogenic vibrio in aquatic products in Guangzhou in 2018 [J]. Journal of Medical Pest Control, 2022, 38(2): 201-204.
- [8] 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 & Quality, 2021, 12(16): 6680-6684.
- [9] 赵颖, 马琳. 2018—2021年北京市大兴区由副溶血性弧菌引起的食源性疾病病原学特征及其耐药性[J]. 卫生研究, 2022, 51(4): 667-671.
ZHAO Y, MA L. Pathogenic characteristics and drug resistance of foodborne diseases caused by *Vibrio parahaemolyticus* in Daxing District of Beijing from 2018 to 2021 [J]. Journal of Hygiene Research, 2022, 51(4): 667-671.
- [10] KOHLI V, VAIDHYANATHAN R, BALANGE A K, et al. Distribution of *Vibrio parahaemolyticus* in farmed shrimp *Penaeus vannamei*, farm water and sediment [J]. Journal of Pure and Applied Microbiology, 2021, 15(3): 1608-1616.
- [11] ASHRAFUDOUILLA M, NA K W, HOSSAIN M I, et al. Molecular and pathogenic characterization of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from seafood [J]. Marine Pollution Bulletin, 2021, 172: 112927.
- [12] 李宏杰, 陈志杭, 叶斌, 等. 食源性相关腹泻患者粪副溶血性弧菌检测结果分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2020, 30(2): 154-157.
LI H J, CHEN Z H, YE B, et al. Detection and results analysis of fecal *Vibrio parahaemolyticus* in patients with foodborne diarrhea [J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2020, 30(2): 154-157.
- [13] 刘海霞, 李雪, 张铭琰, 等. 辽宁省食源性副溶血性弧菌毒力基因、血清分型及耐药性分析[J]. 中国微生态学杂志, 2022, 34(3): 284-288.
LIU H X, LI X, ZHANG M Y, et al. Analysis of virulence genes, serotypes and drug resistance of foodborne *Vibrio parahaemolyticus* in Liaoning province [J]. Chinese Journal of Microecology, 2022, 34(3): 284-288.
- [14] 王高, 王淼, 柴云美, 等. 云南淡水鱼中副溶血性弧菌的污染情况及耐药性分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(9): 2779-2784.
WANG G, WANG M, CHAI Y M, et al. Pollution and drug resistance analysis of *Vibrio parahaemolyticus* in freshwater fish in Yunnan [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2020, 11(9): 2779-2784.
- [15] 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. Analysis of virulence genes and drug resistance of *Vibrio parahaemolyticus* from different sources in Zhenjiang in 2018 [J]. Chinese Journal of Clinical Laboratory Science, 2020, 38(1): 70-72.
- [16] 钟凌, 蔡茂荣, 张丽蓉, 等. 漳州市食源性副溶血性弧菌生物学和分子流行病学特征分析[J]. 预防医学情报杂志, 2020, 36(12): 1616-1620.
ZHONG L, CAI M R, ZHANG L R, et al. Biological and molecular epidemiological characteristics of foodborne *Vibrio parahaemolyticus* in Zhangzhou [J]. Journal of Preventive Medicine Information, 2020, 36(12): 1616-1620.
- [17] 毛争争, 陈欢, 郑琼, 等. 浙江省某地海产品中副溶血性弧菌污染及耐药性分析[J]. 上海预防医学, 2021, 33(6): 500-502.
MAO Z Z, CHEN H, ZHENG Q, et al. Contamination and antimicrobial resistance of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from seafood in a place of Zhejiang Province [J]. Shanghai Journal of Preventive Medicine, 2021, 33(6): 500-502.
- [18] 王小龙, 张梦寒, 朱莉勤, 等. 2016—2019苏州市副溶血性弧菌的毒力基因和耐药性及分子分型研究[J]. 现代预防医学, 2020, 47(21): 3975-3980.
WANG X L, ZHANG M H, ZHU L Q, et al. Virulence gene, drug resistance, molecular typing of *Vibrio parahaemolyticus* in Suzhou, 2016-2019 [J]. Modern Preventive Medicine, 2020, 47(21): 3975-3980.
- [19] 黄志深, 许喜林, 张明明, 等. 市售水产品中副溶血性弧菌的毒力及药敏性分析[J]. 现代食品科技, 2021, 37(8): 308-316.
HUANG Z S, XU X L, ZHANG M M, et al. Analysis of virulence and drug sensitivity of *Vibrio parahaemolyticus* in aquatic products [J]. Modern Food Science & Technology, 2021, 37(8): 308-316.
- [20] 林靖钧, 李瑞雪, 林华, 等. 我国水产养殖水体中抗生素的污染特征[J]. 净水技术, 2022, 41(3): 12-19.
LIN J J, LI R X, LIN H, et al. Pollution characteristics of antibiotics in aquaculture water at home [J]. Water Purification Technology, 2022, 41(3): 12-19.