

高 玮,金 沁,赵 冉. 贝类产品中副溶血性弧菌的污染状况调查[J]. 江苏农业科学,2014,42(2):258-259.

贝类产品中副溶血性弧菌的污染状况调查

高 玮,金 沁,赵 冉

(上海市水产研究所检验中心,上海 200433)

摘要:了解上海市贝类产品副溶血性弧菌(VP)污染状况,为贝类产品中副溶血性弧菌的中毒防控和预警提供依据。采用 GB/T 4789.7—2008《食品卫生微生物学检验 副溶血性弧菌检验》测定方法,从海瓜子、文蛤、牡蛎、花蛤、竹蛏、扇贝 836 份贝类中分离鉴定得到 224 株副溶血性弧菌,贝类产品平均带菌检出率为 26.8%,其中扇贝和牡蛎的带菌率较高,分别为 33.33% 和 33.13%。结果表明贝类产品副溶血性弧菌污染率较高。

关键词:贝类;副溶血性弧菌;污染

中图分类号: X714;X172 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)02-0258-02

副溶血性弧菌广泛分布于近岸海水、海底沉积物和海产品中,是引起我国细菌性食物中毒危害的首要食源性致病菌,特别是在一些沿海城市由该菌引起的食物中毒占细菌性食物中毒总数的比例高达 60% 以上^[1]。有调查结果证实,从海水和健康的贝类内脏中曾多次分离到副溶血性弧菌^[2-3]。贝类是滤过性摄食,并且多生活在海底泥沙中,使得它们体内得到副溶血性弧菌的“浓缩”而带菌率较高。虽然我国是目前世界上主要的贝类出口国之一,但对贝类产品的卫生管理却落后于发达国家,目前我国贝类产品无法出口欧盟和美国。本研究为了解上海市常见不同种类贝类产品中副溶血性弧菌的污染状况,2011 年 1 月—2012 年 1 月对市场出售的不同类型的海产品共 836 份样品进行副溶血性弧菌的污染调查,为今后贝类产品的副溶血性弧菌风险评估和预警奠定基础。

1 材料与方法

1.1 样品来源

按照《海洋监测规范 第 3 部分》^[4],对上海市各大超市卖场的海瓜子、文蛤、牡蛎、花蛤、竹蛏、扇贝进行随机抽检样品。按照无菌采样原则采集,采样时间为 2011 年 1 月至 2012 年 1 月,每周采样 1 次。采样后置 4℃ 保存,样品种类及采集数量见表 1,3~8 h 内检验。

菌株:副溶血性弧菌标准菌株 ATCC33846、ATCC17802,购自中国科学院微生物研究所。

1.2 培养基及试剂

硫代硫酸盐-柠檬酸盐-胆盐-蔗糖(TCBS)琼脂、胰蛋白胨大豆(TSA)琼脂、营养肉汤及细菌鉴定生化试剂购自上海市疾病预防控制中心,科玛嘉培养基购于上海科玛嘉微生物技术有限公司。

1.3 副溶血性弧菌的分离

收稿日期:2013-06-18

作者简介:高 玮(1984—),女,安徽滁州人,硕士,助理工程师,主要从事微生物检测工作。Tel:(021)65482263;E-mail:wissic520@163.com。

通作作者:金 沁,工程师。Tel:(021)65482263;E-mail:karenucan@163.com。

贝类样品取贝类的全部内容物(贝肉和液体),参照 GB/T 4789.7—2008《食品卫生微生物学检验 副溶血性弧菌检验》的分离方法进行分离,每份样品重复 3 次。无菌操作称取试样 25 g,加入 225 mL 无菌碱性蛋白胨水(APW),均质 1 min 制成均匀稀释液,于 36.5℃ 培养 18 h。增菌液接种于 TCBS 平板 36.5℃ 培养 20 h,每板挑取 2~3 个可疑菌落划线科玛嘉弧菌显色平板,置 36.5℃ 培养 24 h。挑取 5 个可疑菌落划线 3.5% NaCl 胰蛋白胨大豆琼脂平板(TSA),36.5℃ 培养 24 h。

1.4 分离菌株的鉴定

参照 GB/T 4789.7—2008,刮取 TSA 上的菌苔进行三糖铁试验、氧化酶试验、形态学鉴定、嗜盐性试验和生理生化鉴定。

1.4.1 初步鉴定 挑取纯培养的单个可疑菌落按顺序进行氧化酶、革兰氏染色试验、3% 氯化钠三糖铁试验和嗜盐性试验,于 36.5℃ 培养 24 h 观察结果。

1.4.2 确定试验 挑取 TSA 上的纯培养物接种于 3% 氯化钠的甘露醇-赖氨酸-MR-VP 培养基,36.5℃ 培养 48 h 观察结果,隔夜培养物进行 ONPG 试验;将纯培养物制成悬浊液,用全自动微生物鉴定仪(VITEK-2)鉴定。

副溶血性弧菌标准菌株(ATCC33846、ATCC17802)作为标准菌株进行对照。

1.5 统计方法

数据统计分析采用 SPSS1.5 软件 χ^2 检验,比较样品中阳性率的差异。

2 结果与分析

2.1 分离、鉴定结果

在 TCBS 琼脂上得到 256 株蓝色或蓝绿色菌落,其余为黄色和黑色菌落。转接至科玛嘉显色平板上得到紫红色菌落 224 个。在科玛嘉显色平板分离的 224 株经初筛试验和生化鉴定结果均为副溶血性弧菌(表 2)。最后用全自动微生物鉴定仪(VITEK-2)鉴定,结果于上述一致。

2.2 贝类产品中副溶血性弧菌检出率

6 种贝类产品共 836 份分离得到 224 株副溶血性弧菌,平均检出率为 26.8%。不同种贝类中副溶血性弧菌检出率

表 1 不同贝类产品副溶血性弧菌检出率

贝类产品	样品数	检出数	检出率(%)
海瓜子	180	38	21.11
文蛤	136	30	22.06
牡蛎	160	53	33.13
花蛤	120	26	21.67
竹蛏	120	37	30.83
扇贝	120	40	33.33

表 2 224 株分离菌生化特征

鉴定程序	生化项目	结果
初筛	氧化酶	+
	3% NaCl 三糖铁:斜面	变红
	3% NaCl 三糖铁:底层	变黄、不产气
	3% NaCl 三糖铁:硫化氢	-
	嗜盐性:无盐胰胨水	澄清
	嗜盐性:3% NaCl 胰胨水	浑浊
	嗜盐性:7% NaCl 胰胨水	浑浊
	嗜盐性:10% NaCl 胰胨水	澄清
生化鉴定	靛基质	+
	V-P	-
	动力	+
	赖氨酸脱羧酶	+
	精氨酸双水解酶	-

注: + 表示存在; - 表示不存在。

差异显著($P < 0.05$)。其中扇贝和牡蛎的带菌率较其他种类贝类高,分别为 33.33% 和 33.13%;海瓜子、文蛤、花蛤带菌率低于扇贝和牡蛎近 10 百分点。

3 讨论

本试验采集的样品是海瓜子、文蛤、牡蛎、花蛤、竹蛏和扇贝,均为海水养殖品,是居民餐桌上极为常见的贝类产品。7、8、9 月是上海市副溶血性弧菌致集体性食物中毒的高峰^[5]。因此采样时间选择为 2011 年 1 月到 2012 年的 1 月,调查结果有一定的代表性。结果显示贝类产品中副溶血性弧菌平均检出率为 26.8%,略低于安秀华等的贝类产品副溶血性弧菌检出率检出率(27.2%)^[6],更低于赵虹等的副溶血性弧菌检出率(50.0%)^[7]。原因可能是由于本调查中的样品均采自于超市卖场,不同于安秀华等的农贸市场,超市卖场在物流或者暂养过程中洁净程度略高。

调查中发现不同种贝类中副溶血性弧菌的检出率不同,有显著差异。提示市售贝类产品的质量不仅与品种有关,可能与养殖环境等其他因素有关,Kaspar 等发现,硬壳蛤对微生物的积累量与温度有关,在 11.5 ~ 21.5 ℃ 的春季积累量最大^[8];江海洋等的研究结果表明副溶血性弧菌(VP)污染程度与其生长的水质有一定的相关性^[9];Son 等的研究结果表明生长环境的水质直接影响双壳贝类的安全性^[10]。

美国国家贝类卫生计划(NSSP)表示,对贝类养殖场的监测管理,是贝类及其产品质量安全卫生控制的基础工作。不同的养殖环境,即使是同一贝类产品,体内副溶血性弧菌的带菌率差异很大。我国沿海地区居民常有生食或半生食贝类、甲壳类等海产品的习惯,近年来内地城市也开始流行生吃海产品。贝类产品在生产流通销售各环节中也容易受环境影响被污染或者变质。经调查,大型超市及批发市场的贝类产品都会经过暂养和净化过程后才能上市销售。因此,消费者应在大型超市、批发市场等正规渠道购买贝类产品。邵玉芳等的研究结果说明由于副溶血性弧菌不耐热,56 ℃ 加热 5 min 或 90 ℃ 加热 1 min 即可将其杀灭,或以 1% 食醋处理 5 min,可大大降低风险^[11]。连续的监测数据有助于确定贝类采集区域的细菌水平,促进贝类养殖行业实施污染源头跟踪管理,为市场创造良好的原料供应源。同时,消费者应关注国家有关部门的消费预警公告,勿使用处于预警期有安全隐患的贝类。

参考文献:

[1] Su Y C, Liu C. *Vibrio parahaemolyticus*: a concern of seafood safety [J]. Food Microbiology, 2007, 24(6): 549 - 558.

[2] 沈亚林, 于业绍. 副溶血弧菌对文蛤的致病性及其防治[J]. 水产学报, 1993, 17(3): 249 - 252.

[3] 陈 艳, 刘秀梅, 马群飞, 等. 福建省带壳牡蛎中副溶血性弧菌的市场调查[J]. 中国食品卫生杂志, 2005, 17(2): 115 - 118.

[4] GB 17378.3—1998 海洋监测规范 第 3 部分: 样品采集、贮存与运输[S].

[5] 田明胜, 郑雷军, 彭少杰, 等. 2000—2007 年上海市副溶血性弧菌致集体性食物中毒分析及对策[J]. 中国食品卫生杂志, 2008, 20(6): 514 - 517.

[6] 安秀华, 宁喜斌. 上海市市售水产品中副溶血性弧菌的分离、鉴定及耐药性研究[J]. 中国人兽共患病学报, 2009, 25(7): 657 - 659.

[7] 赵 虹, 顾文珍, 陈 懿. 宁波沿海地区贝类产品副溶血性弧菌污染现状分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2010, 20(2): 395 - 397.

[8] Kaspar C W, Tamplin M L. Effects of temperature and salinity on the survival of *Vibrio vulnificus* in seawater and shellfish[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1993, 59(8): 2425 - 2429.

[9] 江海洋, 李 磊, 莫宝庆, 等. 贝类污染副溶血性弧菌与海水水质相关性研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(12): 2502 - 2504.

[10] Son N T, Fleet G H. Behavior of pathogenic bacteria in the oyster, *Crassostrea commercialis*, during depuration, re-laying, and storage [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1980, 40(6): 994 - 1002.

[11] 邵玉芳, 汪 雯, 章荣华, 等. 浙江省生食牡蛎中副溶血性弧菌的风险评估[J]. 中国食品学报, 2010, 10(3): 193 - 199.