

香港牡蛎及其养殖水体中食源性致病菌的周年变动规律及环境相关性

胡青松, 杨文红, 鲍凌翔, 洪鑫, 孙灏, 周杜源, 刘春胜

(海南大学 海洋生物与水产学院, 海南 海口 570228)

摘要: 为了明确牡蛎养殖过程中食源性致病菌含量的周年变化规律及其影响因素, 本研究采用平板涂布法并结合 PCR 技术, 对海南地区香港牡蛎(*Crassostrea hongkongensis*)养殖水体及其不同组织中的菌落总数和五种食源性细菌含量进行定量检测, 并分析了其与环境相关性。结果表明: (1)大肠杆菌(*Escherichia coli*)、副溶血弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*)、创伤弧菌(*Vibrio vulnificus*)和单增李斯特氏菌(*Listeria monocytogenes*)是香港牡蛎体内的主要食源性菌, 其最高含量分别为 6.3×10^4 、 2.9×10^4 、 6.1×10^4 和 1.4×10^5 CFU/g; 各组织中上述细菌含量均显著高于养殖水体。沙门氏菌(*Salmonella*)仅在个别月份部分组织中被检出(7月份鳃和9月消化腺中含量分别为 2.3×10^3 和 2.1×10^4 CFU/g); (2)菌落总数及4种主要食源性致病菌的含量均呈现明显的季节性波动, 且养殖水体与牡蛎各组织的变动规律较为一致, 均在2~3月和8~10月出现两个含量高峰; (3) 香港牡蛎鳃和外套膜中的食源性致病菌含量最高、其次为消化腺和闭壳肌, 性腺中含量最低; (4)环境因子与食源性致病含量之间存在呈现一定的弱相关性。养殖水体中食源致病含量与盐度、pH 呈正相关, 与温度和叶绿素 a 浓度呈负相关性; 而香港牡蛎鳃和外套膜中大肠杆菌、创伤弧菌和副溶血弧菌含量则与温度和水体叶绿素 a 浓度呈正相关。本研究为揭示牡蛎食源性致病菌的周年动态变化及食品安全风险预警提供了科学依据。

关键词: 香港牡蛎(*Crassostrea hongkongensis*); 食源性致病菌; 环境因子; 相关性; 周年变化

中图分类号: S917.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2025)11-0000-00

DOI: 10.11759/hyxx20250925001

海洋贝类是人类重要的蛋白质和脂肪酸来源, 消费需求持续增长^[1-2]。然而, 牡蛎、贻贝等双壳贝类可富集病毒、细菌及藻类毒素等, 如处理不当极易造成食品安全风险^[3]。据报道, 食源性疾病每年导致约 6 亿病例, 已成为重大公共卫生问题。2018 年欧盟共报告 5 146 起病例, 波及 48 000 人; 中国在 2021 年共报道 5 493 起相关食品安全事件, 导致 32 000 人患病、117 人死亡^[4-5]。双壳贝类中常见食源性致病菌包括弧菌属[创伤弧菌(*Vibrio vulnificus*)、副溶血弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*)、哈维氏弧菌(*Vibrio harveyi*)、霍乱弧菌等(*Vibrio cholerae*)]^[6]、沙门氏菌属(*Salmonella*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)和嗜水气单胞菌属(*Aeromonas hydrophila*)等^[3]。

食源性疾病暴发呈现显著的时空差异, 并与季节和气候因素密切相关^[7]。现有研究表明, 大肠杆菌和沙门氏菌引发的疾病发生率随气温上升而增加^[8]; 创伤弧菌和副溶血弧菌在夏秋季检出率最高, 其丰度与海水温度呈正相关^[9-10]。此外, 食源性疾病存在显著的地域差异, 如美国不同州的贝类食源菌发病率

可相差 4 倍^[11]; LIU 等^[12]对中国香港牡蛎(*Crassostrea hongkongensis*)食源菌检查显示, 其创伤弧菌含量为 $1 \times 10^3 \sim 6 \times 10^3$ CFU/g, 而 FROELICH 等^[13]对北卡罗来纳州美洲牡蛎(*Crassostrea virginica*)周年检测发现, 其创伤弧菌含量为 $30 \sim 1 \times 10^4$ CFU/g。这些差异主要源于环境因子的波动对牡蛎生理状态以及致病菌繁殖与致病性的影响。

牡蛎是中国养殖产量最大的贝类, 年养殖量超过 667 万 t^[14]。香港牡蛎是中国主要的养殖牡蛎品种之一, 养殖地域位于广东、广西和海南地区^[15]。随着

收稿日期: 2025-09-25; 修回日期: 2025-10-27

基金项目: 海南省重点研发计划项目(ZDYF2023XDNY032, ZDYF2024SHFZ139); 三亚科技“繁星”专项项目(2024KJFX019)

[Foundation: Key Research and Development Project of Hainan Province, Nos. ZDYF2023XDNY032, ZDYF2024SHFZ139; Sanya Science and Technology Star Project, No. 2024KJFX019]

作者简介: 胡青松(1998—), 男, 四川绵阳人, 硕士研究生, 主要从事贝类增殖技术研究, E-mail: 17861123963@163.com; 刘春胜(1984—), 男, 通信作者, 山东潍坊人, 教授, 主要从事贝类增殖与生理生态研究, E-mail: lcs5113@163.com

养殖规模扩大和海洋环境变化,香港牡蛎中食源性致病菌污染问题日益突出,严重制约产业可持续发展^[16-17]。本研究以海南地区养殖香港牡蛎为对象,采用平板涂布与 PCR 技术,检测其养殖水环境及不同组织(外套膜、闭壳肌、性腺、鳃、消化腺)中菌落总数及 5 种食源性致病菌(大肠杆菌、副溶血弧菌、创伤弧菌、沙门氏菌和单增李斯特氏菌)的周年含量变化,同时分析各食源菌含量与环境因子的相关性,以期揭示牡蛎食源菌含量变动规律及牡蛎食用安全预警提供支撑。

1 材料与方法

1.1 实验材料

每月 25 日前后,于海南东寨港牡蛎养殖场(110°34'37"E, 19°57'10"N)采集香港牡蛎样本,每次采集 15 只。采集后立即使用海水清洗,并于 1 h 内送至实验室。为降低潮汐波动对牡蛎及其养殖水体的影响,采样时间均选择在平潮期进行。所采集样本的基础数据如下(平均值±标准差):湿质量为 179.4±26.8 g,软体质量为 35.3±7.2 g,壳长为 4.2±1.8 cm,壳高为 9.6±2.4 cm。

1.2 水质参数测定

在采集牡蛎同时,用多参数水质仪(AZ86031)同时测定牡蛎养殖周边海水的温度、盐度、pH 和溶解氧。用采水器采集水样,经滤膜过滤(津腾微孔过滤膜)、丙酮萃取后,使用分光光度法测定叶绿素 a。另取 100 μL 水样用于检测养殖水体食源菌检测,每样品 5 个平行。

1.3 牡蛎样品处理

选取健康、外壳完整的 15 只香港牡蛎,随机分为 5 组,每组 3 只。使用灭菌解剖器材对每个个体进行解剖,分别采集外套膜、闭壳肌、消化腺、鳃和性腺组织。各组织经灭菌 PBS 清洗后,暂存于 2 mL 灭菌离心管中。将同组内 3 只个体的同一组织合并于同一离心管中,精确称质量后转入至无菌玻璃匀浆器。按质量体积比 1: 5 加入灭菌 PBS 缓冲液,充分匀浆至组织完全破碎并均匀分散。最后,将组织匀浆液进行 10 倍梯度稀释,分别吸取 100 μL 各梯度稀释液进行细菌涂板培养。

1.4 食源性病原菌含量分析

本实验严格遵循无菌操作规范,采用选择性培

养基对牡蛎及水体样本中菌落总数及 5 种食源性致病菌进行定量检测。对假阳性率较高的创伤弧菌和副溶血弧菌,进一步通过 PCR 方法进行验证。每种浓度菌液设置 5 个平行平板进行涂布,所有操作均在无菌操作台内进行,并以无菌 PBS 涂布平板作为阴性对照,以排除操作污染。

涂布后的平板均置于 36°C 恒温培养箱(上海一恒科学仪器有限公司)中培养 48 h,结束后进行菌落计数。各目标菌种的分离与计数采用如下选择培养基:菌落总数(TBC)使用平板计数琼脂(PCA,广东环凯微生物科技有限公司);大肠杆菌使用结晶紫中性红胆盐琼脂(VRBA);单增李斯特氏菌使用 PALCAM 琼脂(PAL);沙门氏菌采用亚硫酸铋琼脂(BS)。上述培养基特异性强,特征菌落形态典型,可直接依据典型形态进行计数。创伤弧菌与副溶血弧菌检测采用选择性培养基培养与毒力基因 PCR 验证相结合的方法。创伤弧菌选用蛋白胨-氯化钠-纤维二糖-多粘菌素 E 琼脂(PNCC)分离,副溶血弧菌则使用硫代硫酸盐-柠檬酸盐-胆盐-蔗糖琼脂(TCBS)筛选。针对创伤弧菌,以其种特异性溶血素基因 *vvhA* 为靶标,使用引物 Vvh-785F (5'-CCGCGGTACAGGTTG GCGCA-3')与 Vvh-1303R(5'-CGCCACCCATTTTCGG GCC-3')进行扩增,预期产物长度为 519 bp。副溶血弧菌则以其热不稳定溶血素基因 *tlh* 为靶标,使用引物 L-tlh (5'-AAAGCGGATTATGCAGAAGCACTG-3')与 R-tlh(5'-GCTACTTTCTAGCATTTTCTCTGC-3')进行扩增,预期产物长度为 450 bp。

PCR 反应体系为 20 μL,包含 2× Power Tap PCR Master Mix 预混液(TaKaRa)10 μL、待测菌液 1 μL、正反向引物各 0.5 μL,并用 ddH₂O 补足至总体积。创伤弧菌 *vvhA* 基因的扩增程序为:94°C 预变性 5 min;随后进行 30 个循环的扩增(94°C 变性 30 s, 60°C 退火 30 s, 72°C 延伸 1 min);最后 72°C 延伸 5 min。副溶血弧菌 *tlh* 基因的扩增程序为:94°C 预变性 3 min;随后 30 个循环(94°C 变性 60 s, 58°C 退火 60 s, 72°C 延伸 2 min);最后 72°C 延伸 10 min。

每月对选择性培养基上的特征菌落计数后,分别从 PNCC 和 TCBS 平板上随机挑取 40 个典型菌落(不足 40 则全部检测)进行上述 PCR 验证。最终,根据 PCR 阳性菌落数占挑取菌落总数的比例,乘以当月特征菌落计数,作为该样品中相应病原菌的定量结果^[18]。

1.5 数据处理

所有数据均以平均值±标准差表示($n=5$)。采用 Excel 2016 对食源性细菌数据进行处理和图表绘制。统计分析使用 SPSS 27 完成, 组间细菌含量比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA), 若结果显著, 进一步以独立样本 t 检验进行两两比较。养殖水体及牡蛎组织中食源性细菌含量与环境因子之间的相关性采用 Bivariate Correlations (Pearson 检验) 进行分析。Pearson 相关系数 r 用于评估变量间线性关系的强度与方向, 其取值范围为 $-1 \sim 1$; 正值表示正相关, 负值表示负相关, 绝对值越接近 1, 相关性越强。 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

香港牡蛎各组织菌落总数、大肠杆菌、单增李斯特氏菌和沙门氏菌含量计算公式如下:

$$\text{细菌含量(菌落形成单位, CFU/g)} = (\text{平均菌落数} \times$$

稀释倍数 $\times 5$)/0.1。

创伤弧菌和副溶血弧菌含量计算公式如下:

$$\text{细菌含量(CFU/g)} = (\text{平均菌落数} \times \text{PCR 阳性比例} \times \text{稀释倍数} \times 5) / 0.1。$$

2 结果与分析

2.1 环境因子周年变化

对香港牡蛎养殖区水质进行了周年监测(图 1)。结果显示, 海水温度变化范围为 $17.87^{\circ}\text{C} \sim 31.86^{\circ}\text{C}$, 最低值出现于 12 月, 最高值出现于 8 月; 养殖水体 pH 介于 $7.48 \sim 7.89$, 7 月最高, 11 月最低; 盐度变化范围为 $8.41 \sim 32.17$, 12 月最高, 9 月最低; 溶解氧质量浓度为 $3.67 \sim 6.53 \text{ mg/L}$, 6 月最高, 7 月最低; 叶绿素 a 含量为 $1.34 \sim 9.15 \text{ mg/L}$, 9 月最高, 4 月最低。

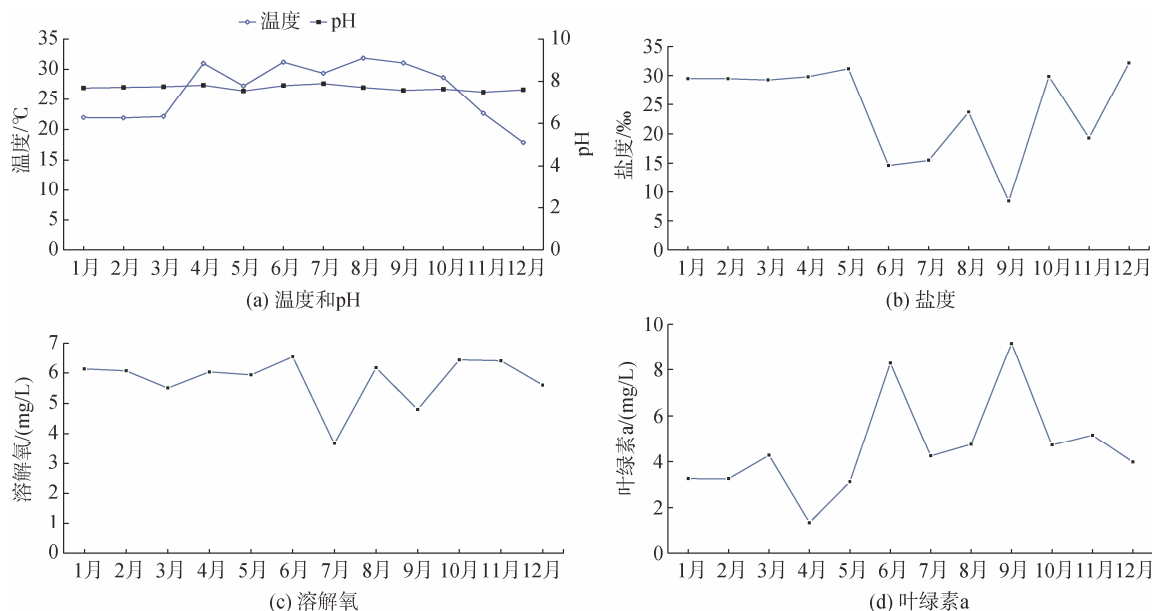


图 1 水环境因子周年变化

Fig 1 Annual variations in water environmental factors

2.2 菌落总数和大肠杆菌含量周年变化

香港牡蛎各组织菌落总数与大肠杆菌的计数结果见图 2。养殖水体与香港牡蛎中各组织菌落总数呈现一致的周年动态变化, 均在 2 月、8 月及 10 月出现峰值。水环境中菌落总数于 2 月达到最高($3.9 \times 10^3 \text{ CFU/mL}$), 同期香港牡蛎各组织中菌落总数也处于较高水平, 最高达 $2.4 \times 10^6 \text{ CFU/g}$ 。大肠杆菌数量在 2 月与 9 月均出现同步高峰, 其中水环境中大肠杆菌数在 4 月最高, 为 $2.8 \times 10^2 \text{ CFU/mL}$, 而香港牡蛎中则在 9 月达到最大值, 为 $6.3 \times 10^4 \text{ CFU/g}$ 。

在不同组织中, 外套膜和鳃中的菌落总数显著高于其他组织。在大肠杆菌污染较为严重的 1 月、2 月和 9 月, 消化腺与外套膜中大肠杆菌富集尤为明显, 其含量分别达 $3.3 \times 10^4 \text{ CFU/g}$ 与 $3.9 \times 10^4 \text{ CFU/g}$; 至 9 月, 外套膜中大肠杆菌含量进一步升高至 $6.3 \times 10^4 \text{ CFU/g}$ 。

2.3 副溶血弧菌和创伤弧菌含量周年变化

根据图 3 所示, 水环境及香港牡蛎中的副溶血弧菌和创伤弧菌均呈现一致的周年变化规律。副溶血弧菌在两者中均于 2 月、3 月和 8 月出现较高菌数, 水环境中分别为 2.6×10^2 、 3.8×10^2 和 $3.4 \times 10^2 \text{ CFU/mL}$, 香港

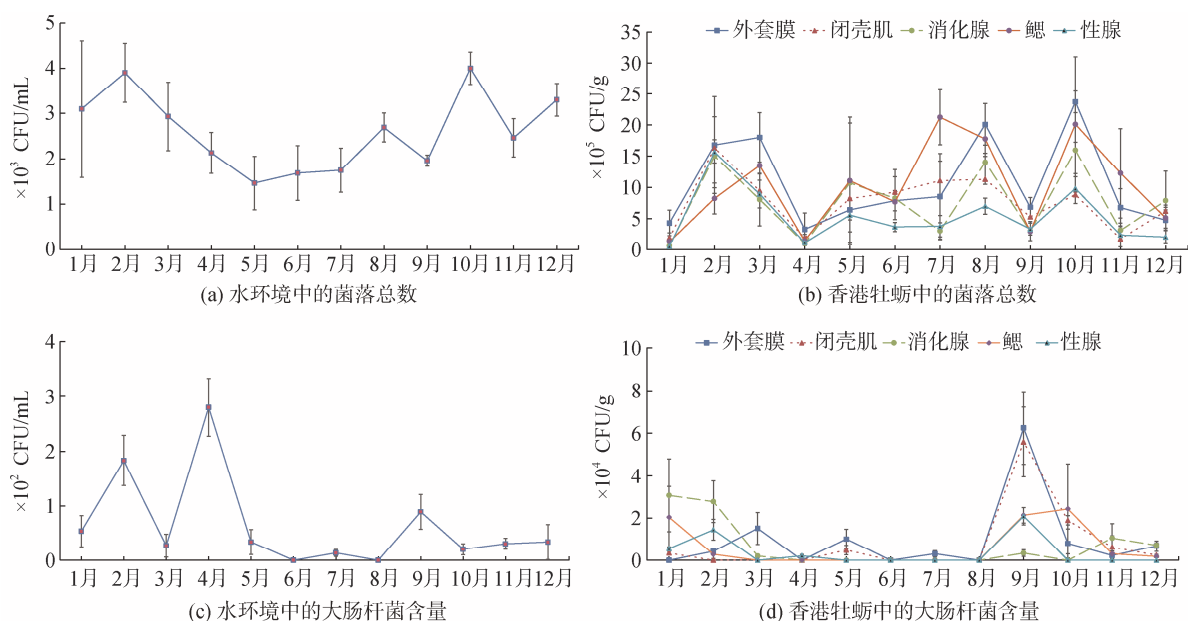


图2 水环境和香港牡蛎各组织菌落总数和大肠杆菌含量周年变化

Fig. 2 Annual changes in total viable count and *Escherichia coli* in water and *Crassostrea hongkongensis*

牡蛎中同期分别为 2.4×10^4 、 1.5×10^4 和 2.9×10^4 CFU/g。创伤弧菌则在2月和8月均出现峰值，水环境中分别为

1.0×10^2 和 79 CFU/mL，香港牡蛎中分别为 5.1×10^4 CFU/g 和 6.1×10^4 CFU/g。

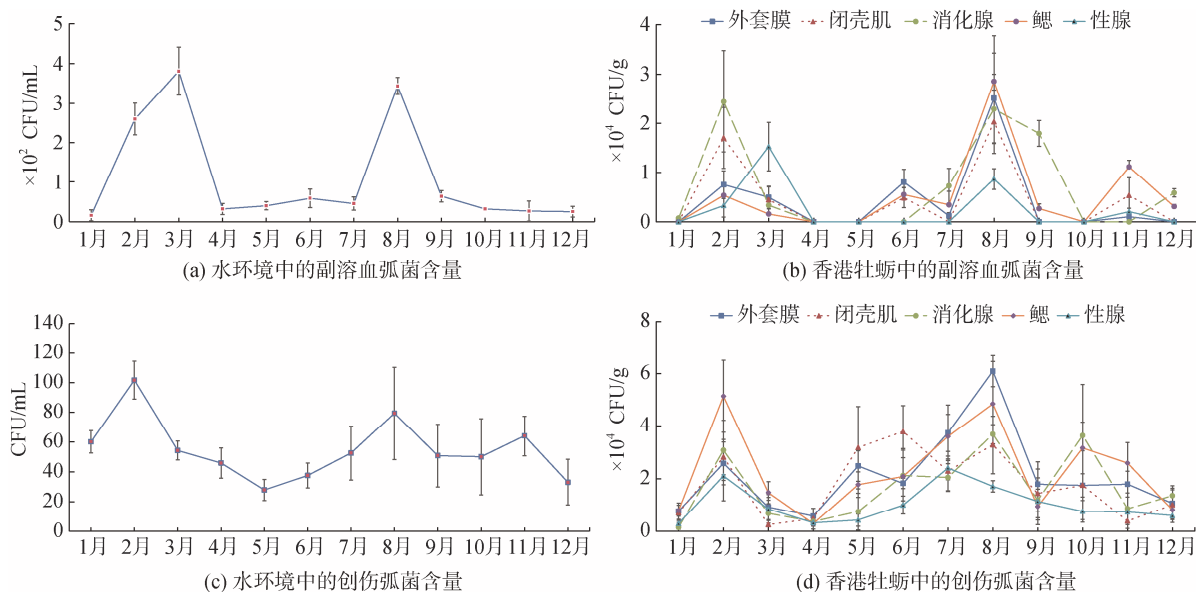


图3 水环境和香港牡蛎各组织副溶血弧菌和创伤弧菌含量周年变化

Fig. 3 Annual changes in *Vibrio parahaemolyticus* and *V. vulnificus* in water and *Crassostrea hongkongensis*

对不同组织分析发现，香港牡蛎中副溶血弧菌含量于2月、8月和11月出现3个峰值，其中鳃和消化腺含量较高，最高浓度分别为 2.4×10^4 、 2.9×10^4 和 1.1×10^4 CFU/g。创伤弧菌在5种组织中呈无规则波动，其鳃组织中浓度普遍高于其他组织。

2.4 沙门氏菌和单增李斯特氏菌含量周年变化

如图4所示，水环境中沙门氏菌在7月和10月出现两个明显峰值，数量分别为33和23 CFU/mL；香港牡蛎中该菌仅在7月和10月被检出，含量分别

为 2.3×10^3 和 2.1×10^4 CFU/g。水环境中单增李斯特氏菌于 2 月和 10 月出现峰值, 浓度分别为 5.7×10^2

和 5.2×10^2 CFU/mL; 在香港牡蛎中, 其峰值出现在 2 月和 8 月, 浓度分别为 1.4×10^5 和 1.3×10^5 CFU/g。

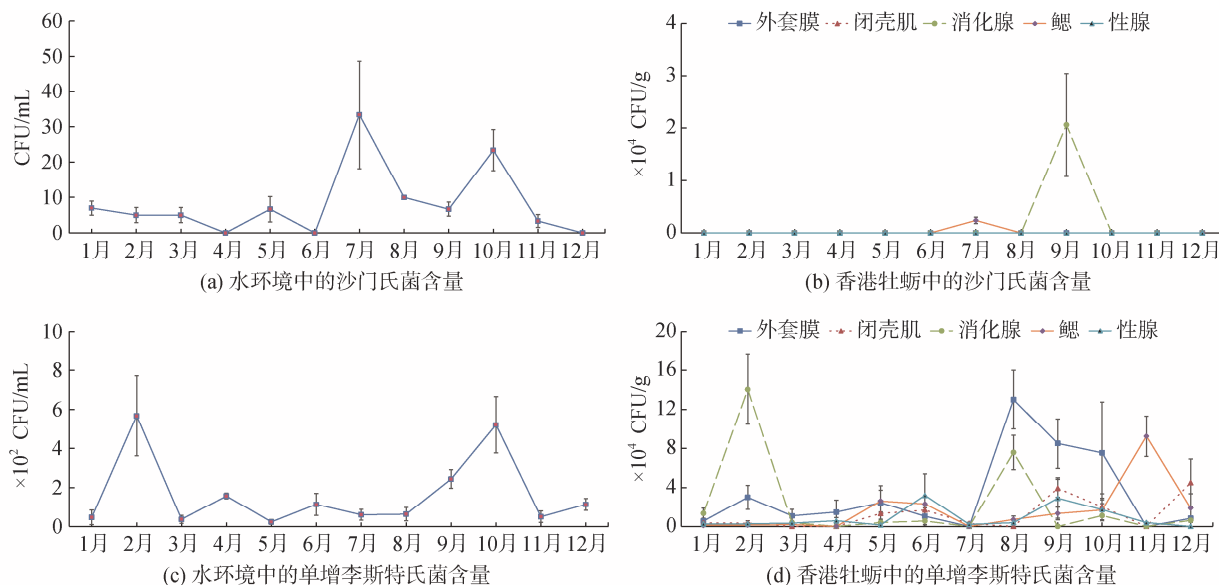


图 4 水环境和香港牡蛎各组织沙门氏菌和单增李斯特氏菌含量周年变化

Fig. 4 Annual changes in *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* in water and *Crassostrea hongkongensis*

组织分布分析表明, 沙门氏菌仅见于鳃和消化腺中, 且仅在 7 月和 9 月中被检测出; 单增李斯特氏菌则在消化腺、外套膜和鳃中均有较高富集, 其中 2 月消化腺中浓度达 1.4×10^5 CFU/g, 8 月外套膜中为 1.3×10^5 CFU/g, 11 月鳃中为 9.0×10^4 CFU/g。

2.5 食源性致病菌含量与环境因素相关性

养殖水体中 5 种食源性细菌的含量与盐度、pH 呈正相关, 而与温度、叶绿素 a 浓度呈负相关性(图 5a)。香港牡蛎各组织中食源性细菌含量与环境因子的相关性见图 5 b~5f。结果显示, 除生殖腺外, 副溶。

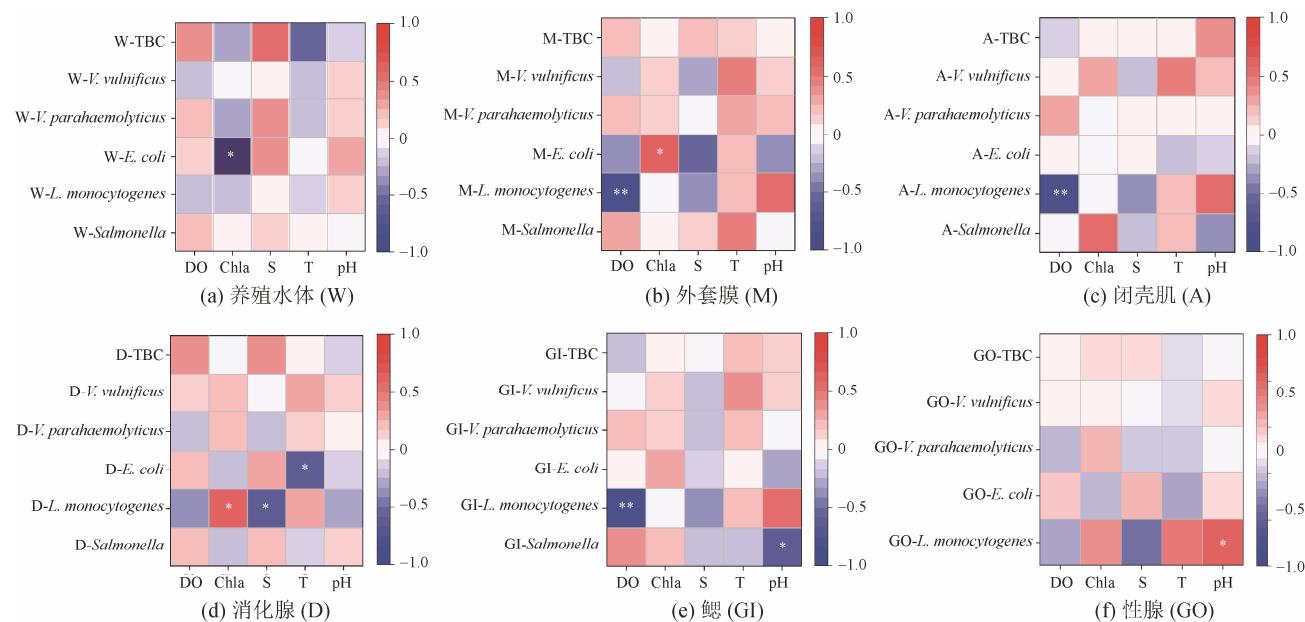


图 5 食源性致病菌含量与环境因子相关性热图

Fig. 5 Heat map of the correlation between foodborne pathogens and environmental factors

*. 0.05 水平差异显著; **. 0.01 水平差异显著; TBC. 菌落总数; DO. 溶解氧; Chl a. 叶绿素 a; S. 盐度; T. 温度; pH. 盐

血弧菌和创伤弧菌在其他各组织中均与温度呈正相关,而与盐度在所有组织中均呈负相关,与叶绿素 a 浓度则呈正相关。大肠杆菌含量在外套膜、鳃和生殖腺中与叶绿素 a 呈正相关,在闭壳肌、消化腺和生殖腺中与温度呈负相关。各组织中的沙门氏菌含量与溶解氧呈负相关,其中在鳃、闭壳肌和外套膜中的相关性显著($P<0.05$)。单增李斯特氏菌含量在鳃组织中与 pH 呈显著负相关($P<0.05$),在性腺中则与 pH 呈显著正相关($P<0.05$)

3 讨论

3.1 贝类食源性致病菌存在季节性变动

本研究对海南养殖区香港牡蛎不同组织及养殖水体中细菌总数与常见食源性致病菌进行了周年监测。结果表明,该区域香港牡蛎组织中菌落总数周年平均值为 1.1×10^6 CFU/g, 高于大长山岛虾夷扇贝 (*Mizuhopecten yessoensis*) 组织最高值 (1.2×10^5 CFU/g) 及菲律宾蛤仔 (*Ruditapes philippinarum*) 的相应数值 (3.5×10^5 CFU/g)^[19-20]。牡蛎体内致病菌丰度与水体菌群均呈现显著季节性波动,二者在 2—4 月(春季)和 8—10 月(秋季)出现峰值。春季水温稳定处于 $20^\circ\text{C} \sim 25^\circ\text{C}$ (为细菌最适生长温度范围),盐度波动小,温盐协同效应促进了病原菌的富集,与“水温超过 20°C 时弧菌属食源性疾病发病率显著上升”的已有结论一致^[21]。秋季水温达全年最高 ($28^\circ\text{C} \sim 32^\circ\text{C}$),与牡蛎中创伤弧菌和副溶血弧菌密度呈显著正相关,符合美洲牡蛎中弧菌密度与水温关系的报道^[22]。此外,印度在 6 月份或季风初期由牡蛎中副溶血弧菌引发的感染率较高^[23],中国上海牡蛎样本中细菌多样性在秋季达到最高^[24],均与本研究致病菌的季节性变化趋势高度吻合。上述结果提示,不同地理区域食源性致病菌的流行可能受相似的共性驱动机制影响。

单增李斯特氏菌的周年变化呈现显著的温度依赖性,在秋、冬及初春等低温季节具有较高的检出率和生物载量。这一分布规律与其嗜冷特性一致。有关研究表明该菌在低温条件下能够维持代谢活性并缓慢增殖,从而在冷水期的海区及牡蛎组织中持续存在^[25]。陆源输入(如农业与城市径流)可能是该菌传入近岸牡蛎养殖区的重要途径,而其在低温海水中的较强存活能力进一步促进了在牡蛎体内的季节性积累^[26]。相比之下,沙门氏菌在全年监测中均未稳定检出,表明其在该环境中难以持续定殖。作为温血动

物肠道特异性寄生菌,沙门氏菌对高盐、营养有限且微生物竞争激烈的海洋环境中适应能力较差,存活周期较短^[27]。尽管降雨径流或污水排放可能将其偶然引入养殖水体,但其在牡蛎体内或水体中难以形成稳定群落,因此在周年尺度上表现为“未检出”或极低污染水平。

3.2 牡蛎食源性致病菌组织差异性分析

对香港牡蛎不同组织中食源性致病菌的分布特征进行分析,结果显示鳃和外套膜中的致病菌含量显著高于其他组织,而性腺中含量最低。该分布特征可从摄食行为与组织结构两方面解释:作为滤食性贝类,香港牡蛎每小时可过滤约 10 L 海水,导致水体中致病菌(大肠杆菌、弧菌属)在其体内富集^[28],其中鳃和外套膜直接暴露于水体,更易成为微生物定殖的高风险区域。鳃丝的分支结构和外套膜的褶皱形态显著增大了表面积,有利于微生物吸附^[29]。相比之下,性腺组织可分泌抗菌肽,其抗菌活性显著高于其他组织,这可能是该部位致病菌含量较低的主要原因^[30]。此外,本研究还发现大肠杆菌和沙门氏菌在消化腺中积累量最高,与美国食源性疾病报告中“沙门氏菌易通过肠道黏膜黏附增殖”的结论一致^[31]。上述结果说明,牡蛎的组织结构与免疫功能共同调控了食源性致病菌的分布,为靶向净化技术的开发提供了理论依据。

3.3 养殖水体及牡蛎食源性致病菌含量环境相关性分析

本研究观察到,养殖水体中食源致病菌的丰度与水温呈弱负相关性,这与前人报道的贝类养殖水体中弧菌等含量变化规律不一致^[6, 10, 19]。一方面现有报道多聚焦于温带海域,其水温季节性变动较为明显;而本研究海区属热带,其最低水温依然保持 20°C 左右,依然为弧菌等食源性病原菌的适宜生长温度范围。另一方面采样水域的盐度、叶绿素 a 浓度等关键环境因子易受极端天气事件(台风及暴雨导致的陆源水源输入等)驱动而呈现短期剧烈波动,这些环境变化可能掩盖了水温对食源致病菌的正向促进作用。

双壳贝类体内食源性细菌的丰度受水温、盐度等环境因子的调控^[32-34]。本研究结果显示,环境因子与香港牡蛎组织中食源性细菌含量之间存在一定弱相关性。香港牡蛎鳃和外套膜中的大肠杆菌、创伤弧菌和副溶血弧菌含量与水温及叶绿素 a 浓度呈正相关。温度对细菌增殖具有显著促进作用,在一定范

围内,较高温度可提高菌落总数,并增强双壳贝类的滤食速率,从而更易富集食源性细菌^[32-35]。本研究亦发现,除性腺组织外,创伤弧菌和副溶血弧菌在其他组织中均与水温呈正相关。然而,消化腺中大肠杆菌与水温呈显著负相关,这可能与肠道菌群的缓冲作用有关。作为宿主微生物的主要定殖部位,消化腺内菌群结构复杂(包括细菌、真菌和噬菌体),其代谢活动及生态位竞争可能削弱温度对大肠杆菌种群动态的直接影响^[36]。

外套膜中大肠杆菌及弧菌浓度均与叶绿素 a 呈正相关,这可能与陆源营养输入有关。海南雨季频繁,陆地径流携带大量营养物质刺激水体中微藻生长的同时,也携带有大量病原菌,从而间接导致细菌与叶绿素 a 水平呈正相关^[37]。在本实验中,未发现创伤弧菌和副溶血弧菌与 pH、盐度存在显著相关性,这可能与弧菌的生长特性及多因子互作有关。弧菌的最适生长往往依赖于温度、pH、盐度等环境因子的协同调控,单一因子的影响可能不足以引起显著响应^[38]。其最适生长条件取决于温度、pH、盐度等环境刺激因协同作用,因此单一因子难以引起显著响应。尽管沙门氏菌仅在个别月份被检出,但其含量与溶解氧呈显著负相关,符合兼性厌氧的特性^[39],这也解释了其在消化腺中检出率较高,而在其他组织中未检出的现象。

3.4 牡蛎食源性致病菌含量与致病剂量的综合评估

本研究系统分析了香港牡蛎不同组织(外套膜、闭壳肌、鳃、消化腺、性腺)中 5 种常见食源性致病菌的污染水平。创伤弧菌与大肠杆菌在闭壳肌等可食部位中含量虽低,但由于其感染剂量极低(可低至数十至数百个菌体),在生食条件下仍对易感人群构成较高的侵袭性感染风险^[40-41]。因此,对此类高毒力病原体需采取接近“零容忍”的严格管控策略。副溶血弧菌在整体样本中浓度较高,且牡蛎中的总菌量常超过其致病阈值(本研究香港牡蛎最高浓度为 2.9×10^4 CFU/g)^[42],在生食或加热不充分时具有明确的急性肠胃炎风险。单增生李斯特氏菌对高危人群的感染剂量较低($10^2 \sim 10^3$ CFU)^[43],且该菌可在冷藏条件下持续存活并缓慢增殖^[25],因此在储藏与流通过程中风险可能进一步累积,提示必须加强食用前的热处理。沙门氏菌的感染剂量范围较宽($10^4 \sim 10^8$ CFU)^[45],本研究中其平均浓度虽未达高风险水平,但其在牡

蛎组织中的持续存活仍提示存在潜在的交叉污染与季节性暴发风险。

4 结论

综上所述,海南养殖海区香港牡蛎及其养殖水体中菌落总数、大肠杆菌、创伤弧菌、副溶血弧菌和单增生李斯特氏菌含量均表现出明显的季节性波动。养殖水体与牡蛎各组织的菌群变动规律较为一致,分别在 2—3 月(春季)和 8—10 月(秋季)出现两个含量高峰。水体环境因子,如溶解氧、水温、盐度、叶绿素 a 等,与多种食源性致病菌之间存在相关性。由于 2—3 月食源性细菌含量高峰期与海南香港牡蛎上市期(每年 10 月至次年 4 月)重叠,且所测组织中食源性细菌含量均超过其感染剂量。因此,建议在食用时避免生食或未彻底煮熟,并高度重视该时期的病原菌感染风险。

参考文献:

- [1] LATTOS A, CHALIGIANNIS I, PAPADOPOULOS D, et al. How safe to eat are raw bivalves? Host pathogenic and public health concern microbes within mussels, oysters, and clams in Greek markets[J]. *Foods*, 2021, 10(11): 2793.
- [2] FAO. The state of world fisheries and aquaculture 2018: Meeting the sustainable development goals[M]. Rome: United Nations, 2018: 225.
- [3] CASTELLO A, ALIO V, CAMMILLERI G, et al. Microbiological and toxicological investigations on bivalve molluscs farmed in Sicily[J]. *Foods*, 2024, 13(4): 552.
- [4] 李红秋, 贾华云, 赵帅, 等. 2021 年中国大陆食源性疾病暴发监测资料分析[J]. *中国食品卫生杂志*, 2022, 34(4): 816-821.
LI Hongqiu, JIA Huayun, ZHAO Shuai, et al. Analysis of foodborne disease outbreak surveillance data in mainland China, 2021[J]. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 2022, 34(4): 816-821.
- [5] 张智芳, 廖冬冬, 吴生根. 中外食源性疾病研究热点和发展趋势差异性分析[J]. *中国预防医学杂志*, 2024, 25(12): 1513-1519.
ZHANG Zhifang, LIAO Dongdong, WU Shenggen. A comparative analysis of research hotspots and development trends in foodborne diseases in China and abroad[J]. *Chinese Preventive Medicine*, 2024, 25(12): 1513-1519.
- [6] RAMOS J R, MIOTTO A L, MIOTTO M, et al. Occurrence of potentially pathogenic *Vibrio* in oysters (*Crassostrea gigas*) and waters from bivalve mollusk cultivations in the south bay of Santa Catarina[J].

- Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2014, 47 (3): 327-333.
- [7] FENG S, KARANTH S, ALMUHAIDEB E, et al. Machine learning to predict the relationship between *Vibrio* spp. concentrations in seawater and oysters and prevalent environmental conditions[J]. Food Research International, 2024, 188: 114464.
- [8] SMITH A B, MEADOWS S, MEYERS R, et al. Seasonality and zoonotic foodborne pathogens in Canada: relationships between climate and *Campylobacter*, *E. coli* and *Salmonella* in meat products[J]. Epidemiology and Infection, 2019, 147: e190.
- [9] MAHMUD Z H, NEOGI S B, KASSU A, et al. Occurrence, seasonality and genetic diversity of *Vibrio vulnificus* in coastal seaweeds and water along the Kii Channel, Japan[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2008, 64(2): 209-218.
- [10] NDRAHA N, HSIAO H I. Influence of climatic factors on the temporal occurrence and distribution of total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in oyster culture environments in Taiwan[J]. Food Microbiology, 2021, 98: 103765.
- [11] WHITE A E, TILLMAN A R, HEDBERG C, et al. Foodborne illness outbreaks reported to national surveillance, United States, 2009–2018[J]. Emerging Infectious Diseases, 2022, 28(6): 1117.
- [12] LIU C, HU Q, BAO L, et al. Effects of anhydrous low-temperature storage on the post-capture survival, bacterial counts and meat quality of Hong Kong oyster *Crassostrea hongkongensis*[J]. Food Chemistry: X, 2025, 27: 102398.
- [13] FROELICH B A, PHIPPEN B, FOWLER P, et al. Differences in abundances of total *Vibrio* spp., *V. Vulnificus*, and *V. Parahaemolyticus* in clams and oysters in North Carolina[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2017, 83: e02265.
- [14] 农业农村部渔业渔政管理局, 全国水产技术推广总站, 中国水产学会. 中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2024.
- Bureau of Fisheries, Ministry of Agriculture and Rural Affairs; National Fisheries Technology Extension Center; China Society of Fisheries. China Fishery Statistical Yearbook[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2024.
- [15] LU J, YAO T, SHI S, et al. Effects of acute ammonia nitrogen exposure on metabolic and immunological responses in the *Crassostrea hongkongensis*[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2022, 237: 113518.
- [16] COLE D W, COLE R, GAYDOS S J, et al. Aquaculture: Environmental, toxicological, and health issues[J]. International Journal of Hygiene and Environmental Health, 2009, 212(4): 369-377.
- [17] ROY P K, ROY A, JEON E B, et al. Comprehensive analysis of predominant pathogenic bacteria and viruses in seafood products [J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2024, 23(4): e13410.
- [18] 胡元庆, 钟颖, 李凤霞. 水产品中创伤弧菌和副溶血弧菌双重 PCR 检测方法的建立[J]. 中国微生态学杂志, 2019, 31(7): 831-835+849.
- HU Yuanqing, ZHONG Ying, LI Fengxia. Establishment of a duplex PCR method for detection of *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus* in aquatic products[J]. Chinese Journal of Microecology, 2019, 31(7): 831-835+849.
- [19] 赵晓美, 桑雪, 张光亮, 等. 大长山岛虾夷扇贝养殖海区及其体内细菌数量周年变化[J]. 大连工业大学学报, 2015, 34(2): 84-87.
- ZHAO Xiaomei, SANG Xue, ZHANG Gongliang, et al. Annual variation of bacterial quantity in seawater and in *Mizuhopecten yessoensis* from the aquaculture area of Dachangshan Island[J]. Journal of Dalian Polytechnic University, 2015, 34(2): 84-87.
- [20] 兰睿曦, 叶淑红, 卢兴旺, 等. 海产贝类食用安全微生物快速检测方法的建立及应用[J]. 海洋环境科学, 2010, 29(4): 582-585.
- LAN Ruize, YE Shuhong, LU Xingwang, et al. Establishment and application of a rapid microbial detection method for the food safety of marine bivalves[J]. Marine Environmental Science, 2010, 29(4): 582-585.
- [21] MARTINEZ-URTAZA J, BOWERS J C, TRINANES J, et al. Climate anomalies and the increasing risk of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* illnesses[J]. Food Research International, 2010, 43(7): 1780-1790.
- [22] CHAE M J, CHENEY D, SU Y C. Temperature effects on the depuration of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* from the American oyster (*Crassostrea virginica*) [J]. Journal of Food Science, 2009, 74(2): M62-M66.
- [23] DEEPANJALI A, KUMAR H S, KARUNASAGAR I, et al. Seasonal variation in abundance of total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* bacteria in oysters along the southwest coast of India[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(7): 3575-3580.
- [24] WANG D, ZHANG Q, CUI Y, et al. Seasonal dynamics and diversity of bacteria in retail oyster tissues[J]. International Journal of Food Microbiology, 2014, 173: 14-20.
- [25] GANDHI M, CHIKINDAS M L. *Listeria*: a foodborne pathogen that knows how to survive[J]. International Journal of Food Microbiology, 2007, 113(1): 1-15.
- [26] COLBURN K G, KAYSNER C A, ABEYTA J R C, et al. *Listeria* species in a California coast estuarine environment[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1990, 56(7): 2007-2011.
- [27] POLO F, FIGUERAS M J, INZA I, et al. Prevalence of

- Salmonella* serotypes in environmental waters and their relationships with indicator organisms[J]. Antonie van Leeuwenhoek, 1999, 75(4): 285-292.
- [28] DE B C, MEENA D K, BEHERA B K, et al. Probiotics in fish and shellfish culture: immunomodulatory and ecophysiological responses[J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2014, 40(3): 921-971.
- [29] DİLER Ö, DİLER A. Quantitative and qualitative changes of the gastrointestinal microflora of pike-perch (*Stizostedion Lucioperca* L. 1758) in Egirdir Lake[J]. Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences, 1998, 22(4): 325-328.
- [30] WILLIAMS H R, MACEY B M, BURNETT L E, et al. Differential localization and bacteriostasis of *Vibrio campbellii* among tissues of the Eastern oyster, *Crassostrea virginica*[J]. Developmental & Comparative Immunology, 2009, 33(4): 592-600.
- [31] LIPP E K, ROSE J B. The role of seafood in foodborne diseases in the United States of America[J]. Revue Scientifique et Technique-Office International des Epizooties, 1997, 16(2): 620-640.
- [32] 胡青松, 鲍凌翔, 杨文红, 等. 海口市售香港牡蛎和翡翠贻贝食源性细菌含量的周年变化[J]. 海南大学学报(自然科学版), 2025, 43(5): 483-490.
- HU Qingsong, BAO Lingxiang, YANG Wenhong, et al. Annual variation of foodborne bacterial content in *Crassostrea hongkongensis* and *Perna viridis* sold in Haikou city[J]. Natural Science of Hainan University, 2025, 43(5): 483-490.
- [33] SOBRINHO P S C, DESTRO M T, FRANCO B D G M, et al. Correlation between environmental factors and prevalence of *Vibrio parahaemolyticus* in oysters harvested in the southern coastal area of Sao Paulo State, Brazil[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2010, 76(4): 1290-1293.
- [34] LITTMAN R A, FIORENZA E A, WENGER A S, et al. Coastal urbanization influences human pathogens and microdebris contamination in seafood[J]. Science of the Total Environment, 2020, 736: 139081.
- [35] RANDA M A, POLZ M F, LIM E. Effects of temperature and salinity on *Vibrio vulnificus* population dynamics as assessed by quantitative PCR[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2004, 70(9): 5469-5476.
- [36] 刘敏, 吴金驾, 陈从英. 不同粪菌悬液处理方式对猪粪菌移植过程中细菌活性及活菌组成的影响[J]. 畜牧兽医学报, 2020, 51(5): 1040-1048.
- LIU Min, WU Jinyuan, CHEN Congying. Effects of different fecal microbiota suspension processing methods on bacterial activity and live bacterial composition during fecal microbiota transplantation in pigs[J]. Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica, 2020, 51(5): 1040-1048.
- [37] PARANJPYE R N, NILSSON W B, LIERMANN M, et al. Environmental influences on the seasonal distribution of *Vibrio parahaemolyticus* in the Pacific Northwest of the USA[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2015, 91(12): 121.
- [38] VELEZ K E C, LEIGHTON R E, DECHO A W, et al. Modeling pH and temperature effects as climatic hazards in *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus* planktonic growth and biofilm formation[J]. GeoHealth, 2023, 7(4): e2022GH000769.
- [39] 戴婷婷, 雷天宇, 庄丽云, 等. 沙门氏菌耐药机制研究进展[J]. 福建畜牧兽医, 2023, 45(3): 30-33+37.
- DAI Tingting, LEI Tianyu, ZHUANG Liyun, et al. Research progress on drug resistance mechanisms of *Salmonella*[J]. Fujian Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2023, 45(3): 30-33+37.
- [40] JONES M K, OLIVER J D. *Vibrio vulnificus*: disease and pathogenesis[J]. Infection Immunology, 2009, 77: 1723-1733.
- [41] TUTTLE J, GOMEZ T, DOYLE M P, et al. Lessons from a large outbreak of *Escherichia coli* O157: H7 infections: insights into the infectious dose and method of widespread contamination of hamburger patties[J]. Epidemiology & Infection, 1999, 122(2): 185-192.
- [42] SU Y C, LIU C. *Vibrio parahaemolyticus*: a concern of seafood safety[J]. Food Microbiology, 2007, 24(6): 549-558.
- [43] POUILLOT R, HOELZER K, CHEN Y, et al. *Listeria monocytogenes* dose response revisited—Incorporating adjustments for variability in strain virulence and host susceptibility[J]. Risk Analysis, 2015, 35(1): 90-108.
- [44] BLASER M J, NEWMAN L S. A review of human salmonellosis: I. Infective dose[J]. Reviews of Infectious Diseases, 1982, 4(6): 1096-1106.

Annual variations and environmental correlations of foodborne bacterial load in Hong Kong oysters (*Crassostrea hongkongensis*) and their aquaculture waters

HU Qingsong, YANG Wenhong, BAO Lingxiang, HONG Xin, SUN Hao, ZHOU Duyuan, LIU Chunsheng

(School of Marine Biology and Fisheries, Hainan University, Haikou 570228, China)

Received: Sep. 25, 2025

Key words: *Crassostrea hongkongensis*; foodborne bacteria; environmental factors; correlation; annual variation

Abstract: To clarify annual variations in the loads of foodborne bacteria and their influence on oyster (*Crassostrea hongkongensis*) cultivation in the Hainan province, this study quantified the total bacterial counts and abundances in various tissue types of five oyster species and aquaculture water using plate counting combined with polymerase chain reaction (PCR). The plausible correlations between bacterial infection levels and environmental factors were also analyzed. The results showed that: (1) the species *Escherichia coli*, *Vibrio parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, and *Listeria monocytogenes* dominated, with maximum concentrations of 6.3×10^4 , 2.9×10^4 , 6.1×10^4 , and 1.4×10^5 CFU/g, respectively. The levels were significantly higher in all oyster tissues than in aquaculture water. *Salmonella* was detected only in specific tissues during certain months: 2.3×10^3 CFU/g in the gills and 2.1×10^4 CFU/g in the digestive glands in July and September; (2) tissue and aquaculture water levels of each bacterium and the total bacterial count exhibited clear and consistent seasonal fluctuations, with abundance peaks detected in February–March and August–October; (3) maximal bacterial loads were found in the gills and mantle, followed by the digestive gland, adductor muscle, and gonads; (4) environmental factors and bacterial concentrations were weakly correlated. Bacterial levels in aquaculture water were positively correlated with salinity and pH, but negatively correlated with temperature and chlorophyll-a concentrations. In contrast, *E. coli*, *V. vulnificus*, and *V. parahaemolyticus* contents in the gills and mantle were directly proportional to temperature and chlorophyll-a concentrations. This study provides a scientific basis for understanding the annual dynamics of foodborne bacterial infections in oysters and serves as an early warning system for related food safety risks.

(本文编辑: 谭雪静)