

牡蛎养殖过程中副溶血弧菌与水质因子间的关系

林强, 李宁求, 付小哲, 刘礼辉, 石存斌, 吴淑勤*

(中国水产科学研究院珠江水产研究所, 广东 广州 510380)

摘要: 为了研究牡蛎养殖过程中副溶血弧菌与水质因子之间的关系, 2009年3月到11月从广东阳西某牡蛎养殖场采集牡蛎样品检测其副溶血弧菌的感染情况, 并检测水体温度、盐度、pH和溶解氧。实验结果表明: 副溶血弧菌总量的检出率为94.38%。水温和副溶血弧菌总量呈正相关, 盐度和副溶血弧菌总量呈负相关, pH和溶解氧与副溶血弧菌总量的相关性不明显。对水温和盐度与副溶血弧菌总量的对数进行回归分析, 水温和副溶血弧菌浓度的拟合回归方程为 $LgVP = 0.093T - 0.685 (R^2 = 0.336)$; 盐度和副溶血弧菌浓度的拟合回归方程为 $LgVP = 1.199 + 0.116S - 0.004S^2 (R^2 = 0.217)$; 水温和盐度对副溶血弧菌浓度的拟合回归方程为 $LgVP = -1.941 + 0.116T + 0.058S - 0.001S^2 (R^2 = 0.414)$ 。研究结果可为牡蛎养殖过程中副溶血弧菌的风险分析提供参考依据。

关键词: 牡蛎; 副溶血弧菌; 水质因子

中图分类号: S 917.1; Q 938.1⁺1

文献标志码: A

副溶血弧菌 (*Vibrio parahaemolyticus*, VP) 是一种可通过水生动物的滤食活动富集在生物体内的革兰氏阴性嗜盐菌^[1-2]。人食用感染有该菌的海产品可引起急性胃肠炎, 严重时还可引起败血症^[3-4]。近年来, 由副溶血弧菌引起的食物中毒在全球范围内暴发^[5], 其引发的食源性疾病已成为当前全球面临的公共卫生问题之一, 学者对副溶血弧菌风险评估的研究越来越多^[6-11]。

风险评估是系统地采用一切科学技术及信息, 在特定条件下, 对动植物和人类或环境暴露于某危害因素产生或将产生不良效应的可能性和严重性的科学评价, 包括危害识别、危害描述、暴露评估和风险描述^[12]。现在的文献报道主要是对水产品流通过程中的副溶血弧菌进行风险评估^[6-11], 鲜见对养殖阶段的副溶血弧菌进行风险评估。有研究表明牡蛎养殖过程中水环境中的温度、盐度、pH和溶解氧等和副溶血弧菌的感染呈相关性^[10, 13-16]。本研究对牡蛎养殖过程中副溶血弧菌与水质因子之间的关系进行研究, 为牡蛎养殖过程中副溶血弧菌的风险分析提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验样品的采集

2009年3月到2009年11月期间, 每两周从广东阳西某牡蛎养殖场采集牡蛎活体样品, 每次采集6~8个。按照无菌采样原则, 将采集到的活牡蛎样品, 置于4℃冰盒中, 3~4h内处理、检测样品。

现场用简易采水器采集养殖场内1m水深处的水样, 用手持式盐度折光仪(WZ-21, 北京友仪四方科技发展有限公司)测量水样的盐度, 用笔式酸度计(HI98017, 上海精密仪器仪表公司)测量水样的pH, 用溶解氧仪(EcoSenseDO200, 上海博师通电器有限公司)金属探头置于水面以下1m水深处, 测量养殖场水温和溶解氧。

1.2 实验样品的前处理

参照行业标准SN 0173-92^[17], 在符合饮用水标准的流水中洗刷净牡蛎外壳后, 以无菌操作打开贝壳, 取出全部组织。称取25g样品(取内脏或含内脏的全部贝肉), 用灭菌剪刀充分剪碎,

收稿日期: 2011-08-01 修回日期: 2011-11-01

资助项目: 农业公益性行业科研专项(200903055)

通讯作者: 吴淑勤, E-mail: wushuqin001@21cn.com

放于均质袋中,加入灭菌的3%氯化钠稀释水225 mL,以每秒6次,均质90 s,制备成1:10稀释液。

1.3 副溶血弧菌的定量检测

用1 mL灭菌吸管吸取1:10稀释液1 mL,提取细菌的DNA。取2 μ L DNA做模板,以*toxR*基因为靶基因,用荧光定量PCR方法检测牡蛎样品中含有副溶血弧菌的量^[18]。

1.4 数据统计分析

牡蛎样品中副溶血弧菌量的均值用每个月采样数据的几何平均数表示。对副溶血弧菌检出量进行对数转换后,采用单因素方差分析(One-Way ANOVA)比较不同月份的牡蛎中副溶血弧菌量;对温度、盐度、pH、溶解氧值进行分析比较,并与牡蛎中副溶血弧菌感染水平进行相关性分析。以上数据采用SPSS 16.0和Microsoft Excel 2010进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 不同月份牡蛎样品中副溶血弧菌的分布情况

用荧光定量PCR方法检测采集到的牡蛎样品,共计178份,其中168份样品检出了副溶血弧菌,阳性检出率为94.38%(表1)。各月份之间牡蛎样品中副溶血弧菌阳性检出率差异不显著($P>0.05$)。2009年4月到9月的牡蛎样品中副溶血弧菌平均检出量超过了100 CFU/g,3月、10月和11月份的平均检出量都低于100 CFU/g。8月份牡蛎中副溶血弧菌的量显著高于其他月份($P<0.05$);5月、6月和7月检测的牡蛎中副溶血弧菌的量差异不显著($P>0.05$),但显著高于3月、4月、10月和11月检测的牡蛎中副溶血弧菌的量($P<0.05$);3月、4月、10月和11月4各月间检测的牡蛎中副溶血弧菌的量差异不显著($P>0.05$)。副溶血弧菌的检出量呈季节性变化,从3月开始检出量逐渐增加,8月份达到最大检出量,然后检出量又逐渐减少。

2.2 水温与牡蛎中副溶血弧菌总量的关系

采样期间的最低水温为21 $^{\circ}$ C,最高水温为31.8 $^{\circ}$ C,平均水温为27.4 $^{\circ}$ C。水温从3月份开始逐渐升高,到8月份达到最高。牡蛎样品中副溶血弧菌的总量变化趋势和水温变化趋势大致相同(图1)。用SPSS软件对水温和牡蛎样品中副溶血弧菌的总量对数值进行相关性分析,分析结果表明,水温和副溶血弧菌量的对数值相关性极显著($P<0.01$)。

表1 牡蛎中副溶血弧菌的检测情况

Tab.1 The results of detected *V. parahaemolyticus* in oysters

月份 month	样本数/份 number of samples	阳性率/% positive	平均检出量/ (CFU/g) mean
3月 Mar.	7	100.00	71.58 ^a
4月 Apr.	27	96.29	213.14 ^a
5月 May	24	91.67	696.58 ^b
6月 June	24	91.67	3 762.41 ^b
7月 July	24	95.83	893.52 ^b
8月 Aug.	24	91.67	35 275.70 ^c
9月 Sept.	16	87.50	407.62 ^a
10月 Oct.	17	100.00	70.84 ^a
11月 Nov.	15	100.00	53.98 ^a
合计 total	178	94.38	5 531.42

注:同一列数值肩标字母不同表示差异显著($P<0.05$)。

Notes: Values in the same column sharing different superscript letters are significantly different($P<0.05$).

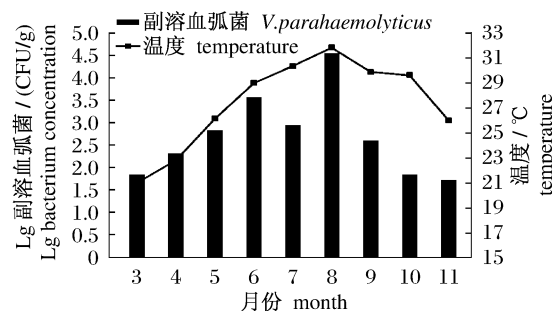


图1 牡蛎样品中副溶血弧菌和水温检测结果

Fig.1 The results of detected *V. parahaemolyticus* in oysters and water temperature

假设其他因素作用不会对只建立在水温上的模型预测值产生影响。利用SPSS软件,对水温和副溶血弧菌量的对数进行回归分析。在10种模型中,二次方模型(Quadratic)和三次方模型(Cubic)的相关性最好, R^2 分别为0.387和0.388,其次是线性模型(Linear), R^2 为0.336,与二次模型和立方模型的 R^2 差异不大(表2)。通过综合分析比较,选用线性模型为水温和副溶血弧菌量对数的相关性模型(图2)。最适合的模型可用(式1)表示:

$$\text{LgVP} = \alpha + \beta \times T + \varepsilon \quad (1)$$

式中, T 为温, $^{\circ}$ C; α 、 β 为温度对LgVP量平均值的回归参数; ε 为随机正常偏差,平均值为0。

参数估计如下:

$$\alpha = -0.685, \beta = 0.093。$$

表 2 水温和副溶血弧菌量对数值的模型概述和参数估计值

Tab. 2 Model summary and parameter estimates of water temperature and logarithm *V. parahaemolyticus*

方程 equation	模型概述 model summary					参数估计值 parameter estimates			
	R^2	F	df1	df2	Sig.	C	b1	b2	b3
线性方程 linear	0.336	12.135	1	24	0.002	-0.685	0.093		
对数方程 logarithmic	0.323	11.456	1	24	0.002	-6.445	2.516		
倒数方程 inverse	0.309	10.757	1	24	0.003	4.353	-67.168		
二次方程 quadratic	0.387	7.275	2	23	0.004	10.078	-0.692	0.014	
三次方程 cubic	0.388	7.302	2	23	0.004	3.777	0.000	-0.011	0.000
复合方程 compound	0.325	11.557	1	24	0.002	0.525	1.046		
幂方程 power	0.314	10.968	1	24	0.003	0.032	1.224		
增长方程 growth	0.325	11.557	1	24	0.002	-0.644	0.045		
指数方程 exponential	0.325	11.557	1	24	0.002	0.525	0.045		
逻辑方程 logistic	0.325	11.557	1	24	0.002	1.903	0.956		

注: R^2 表示决定系数; F 表示方差齐性检验;df1 为 F 统计量分子的自由度,df2 为 F 统计量分母的自由度;Sig. 表示统计学意义;C 表示方程常数;b1、b2、b3 表示方程系数。

Notes: R^2 is coefficient of determination; F is homogeneity of variance; df1 is freedom of F statistics molecules; df2 is freedom of F statistics denominator; Sig. is statistical significance; C is equation constant; b1, b2, b3 is equation coefficient.

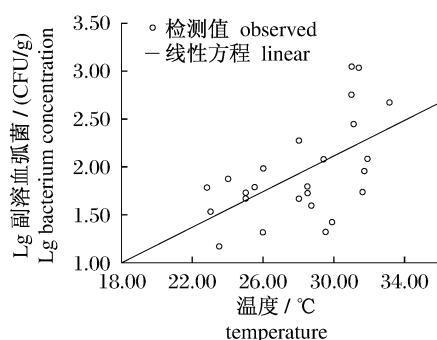


图 2 水温与牡蛎中副溶血弧菌量对数值之间的关系

Fig. 2 The correlation of water temperature and logarithm *V. parahaemolyticus*

2.3 盐度与副溶血弧菌感染水平的关系

采样期间最低盐度为 8,最高盐度为 18,平均盐度为 12.2。盐度从 4 月到 8 月逐渐上升,但是幅度不如副溶血弧菌总量增长明显,3 月到 6 月盐度比较低。随着降雨量的减少和温度的升高,盐度逐渐增加(图 3)。用 SPSS 软件对盐度和牡蛎样品中副溶血弧菌的量进行相关性分析,结果表明,盐度和副溶血弧菌量的对数值呈负相关性。

假设其他因素作用不会对只建立在海水盐度上的模型预测值产生影响。利用 SPSS 软件,对盐度和副溶血弧菌量的对数进行回归分析。在 10 种模型中,三次方模型(cubic)的相关系数 $R^2 = 0.275$ 最高,说明其相关性最好;其次是二次

方模型(quadratic),其相关系数 $R^2 = 0.217$;其他模型的相关系数都小于 0.1,不予考虑(表 3)。三次方模型和二次方的相关性差异不明显,比较这两个模型的估计参数值,我们发现相关性系数最好的三次方模型的 $b_3 = 0.00035$,参数值都偏小,不利于后面的统计分析和模拟计算。所以,本研究选择二次方模型作为盐度和副溶血弧菌量对数的预测模型。可以看出副溶血弧菌随着盐度的增加而增加,之后会随着盐度的增加而减少(图 4)。因此,最适合的模型可用式 2 表示:

$$\text{LgVP} = \alpha + \beta \times S + \gamma \times S^2 + \varepsilon \quad (2)$$

式中, S 为盐度; α 、 β 、 γ 为盐度对 LgVP 量平均值的回归参数; ε 为随机正常偏差,平均值为 0。

参数估计如下:

$$\alpha = 1.199, \beta = 0.116, \gamma = -0.004。$$

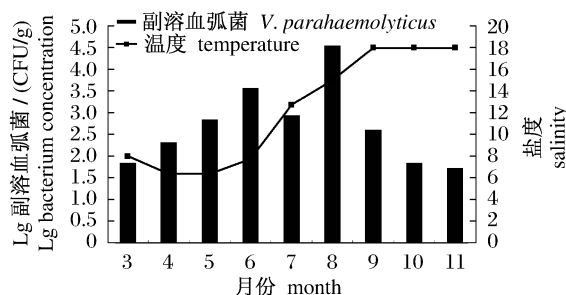


图 3 牡蛎样品中副溶血弧菌和盐度检测结果

Fig. 3 The results of detected *V. parahaemolyticus* in oysters and salinity

表3 盐度和副溶血弧菌量对数的模型概述和参数估计值

Tab.3 Model summary and parameter estimates of salinity and logarithm *V. parahaemolyticus*

方程 equation	模型概述 model summary					参数估计值 parameter estimates			
	R^2	F	df1	df2	Sig.	C	b1	b2	b3
线性方程 linear	0.039	0.982	1	24	0.332	2.161	-0.013		
对数方程 logarithmic	0.004	0.101	1	24	0.754	2.102	-0.063		
倒数方程 inverse	0.006	0.141	1	24	0.711	1.986	-0.806		
二次方程 quadratic	0.217	3.179	2	23	0.050	1.199	0.116	-0.004	
三次方程 cubic	0.275	2.785	3	22	0.065	0.023	0.399	-0.022	0.000
复合方程 compound	0.043	1.073	1	24	0.311	2.108	0.993		
幂方程 power	0.005	0.121	1	24	0.731	2.054	-0.034		
增长方程 growth	0.043	1.073	1	24	0.311	0.746	-0.007		
指数方程 exponential	0.043	1.073	1	24	0.311	2.108	-0.007		
逻辑方程 logistic	0.043	1.073	1	24	0.311	0.474	1.007		

注: R^2 表示决定系数; F 表示方差齐性检验;df1为 F 统计量分子的自由度,df2为 F 统计量分母的自由度;Sig.表示统计学意义;C表示方程常数;b1、b2、b3表示方程系数。

Notes: R^2 is coefficient of determination; F is homogeneity of variance; df1 is freedom of F statistics numerator; df2 is freedom of F statistics denominator; Sig. is statistical significance; C is equation constant; b1, b2, b3 is equation coefficient.

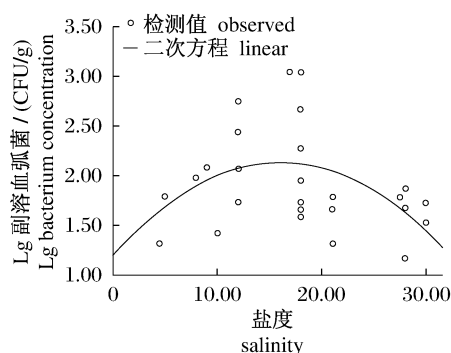


图4 盐度与牡蛎中副溶血弧菌量对数值之间的关系

Fig. 4 The correlation of salinity and LgVP

2.4 pH与副溶血弧菌感染水平的关系

采样期间最小pH为8.14,最大pH为8.75, pH平均值为8.44, pH变化趋势不明显(图5)。用SPSS软件对溶解氧和牡蛎样品中副溶血弧菌的量进行相关性分析,分析结果表明,pH和副溶血弧菌量的对数值相关性不显著($P > 0.05$)。

2.5 溶解氧与副溶血弧菌感染水平的关系

在采样期间养殖场溶解氧在4.0~5.5 mg/L范围内浮动,3月到6月的平均溶解氧逐渐增加,到8月份开始降低(图6)。用SPSS软件对溶解氧和牡蛎样品中副溶血弧菌的量进行相关性分析,结果表明,溶解氧和副溶血弧菌量的对数值相关性不显著($P > 0.05$)。

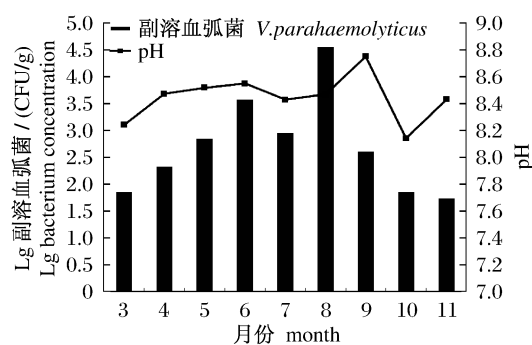


图5 牡蛎样品中副溶血弧菌和pH检测结果

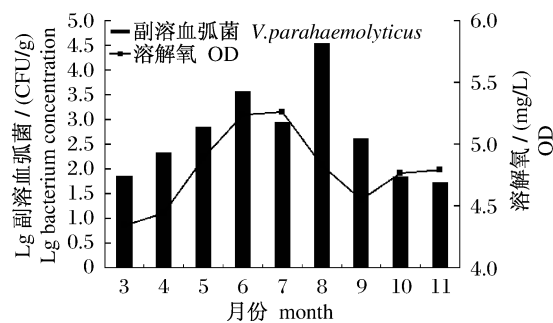
Fig. 5 The results of detected *V. parahaemolyticus* in oysters and pH

图6 牡蛎样品中副溶血弧菌和溶解氧检测结果

Fig. 6 The results of detected *V. parahaemolyticus* in oysters and the dissolved oxygen

2.6 水温和盐度对副溶血弧菌感染水平的综合影响

对水温和盐度与副溶血弧菌总量值进行综合分析,水温对 LgVP 浓度的影响近似成线性关系;盐度对 LgVP 浓度的影响成二次方效应。用 SPSS 软件进行回归分析可知,最适合的模型可以式 3 表示:

$$\text{LgVP} = \alpha + \beta \times T + \gamma_1 \times S + \gamma_2 \times S^2 \quad (3)$$

式中: T 为温度,℃; S 为盐度; α 、 β 、 γ_1 、 γ_2 为温度和盐度对 LgVP 的影响的回归参数;用 SPSS 软件对模型进行回归分析,参数估计如下:

$$\alpha = -1.941, \beta = 0.116, \gamma_1 = 0.058,$$

$$\gamma_2 = -0.001, R^2 = 0.414。$$

3 讨论

副溶血弧菌是一种全世界范围内暴发的食源性致病菌,在多种水产品种均能检测到^[3-5]。近年来对副溶血弧菌风险分析的研究越来越多,美国^[10]、新西兰^[11]等国家副溶血弧菌进行了的风险评估,国内邹婉虹^[6]、俞莺等^[7]、孟娣^[21]针对福建、青岛等部分地区的部分水产品种中副溶血弧菌进行了风险分析。这些研究主要从食品安全的角度进行研究,而本研究对副溶血弧菌在牡蛎养殖过程中暴露感染情况进行了初步研究。

本研究采用荧光定量 PCR 方法对广东阳西某牡蛎养殖场的样品进行检测,总的副溶血弧菌阳性检出率为 94.38%。马聪等^[19]2005 年对珠江三角洲地区的生食水产品中的副溶血弧菌感染情况进行调查,检出率为 49.5%。严纪文等^[20]人对广东省零售阶段的水产品进行检测,结果副溶血弧菌的检出率为 36.19%。孟娣^[21]2006 年对青岛的水产品进行副溶血弧菌监测,阳性检出率达 66.6%。刘秀梅等^[22]2003 年对中国沿海四省(浙江、广东、江苏、福建)的水产品进行检测,结果表明 38.6% 的样品检测到副溶血弧菌,四省的检出率分别为 61.0%、38.2%、10.0%、41.6%。本研究的检测率高于文献报道的检测率,这种差异可能与地区差异有关,也可能有和检测方法的灵敏度不同有关。

本研究表明从 3 月开始副溶血弧菌的总量逐渐增加,8 月份达到最大检出量,然后检出量又逐渐减少,6 月、7 月和 8 月的牡蛎中副溶血弧菌总含量明显高于其他月份。7 月的检出量低于 6 月

和 8 月的检出量,这可能与 7 月的台风天气有关。孟娣^[21]2006 年的研究表明青岛地区 4 月、5 月、8 月和 10 月牡蛎中副溶血弧菌的含量较高。陈艳等^[23]的研究表明,厦门地区春季牡蛎中副溶血弧菌含量明显高于其他季节($P > 0.05$),福州地区牡蛎中副溶血弧菌含量无季节性差异($P > 0.05$)。Kelly 等^[24]对英国哥伦比亚水体中牡蛎的副溶血弧菌含量进行调查,结果在 7 月和 8 月天然牡蛎和养殖牡蛎中副溶血弧菌的检出率分别为 44% 和 21%,但在 3 月和 4 月未检测到副溶血弧菌。Ogawa 等^[25]从 1987 年 7 月到 1988 年 6 月对 Hiroshima 海湾的副溶血弧菌进行了调查,发现水温 19.3~22.0℃ 的 5 月到 10 月副溶血弧菌的检出率最高达 68.8%。各个地区副溶血弧菌的总检出率规律并不完全一样,这可能和各个地区的气候和养殖环境有关。本研究 Kelly 等^[24]、Ogawa 等^[25]的研究结果相近,与孟娣^[21]的研究结果差异较大,可能与选择的样品有关,前者是从养殖海湾直接采集样品进行检测,后者是从水产品市场采集样品进行检测,副溶血弧菌在水产品的流通过程可能会增殖或休眠^[26]。

研究发现,在一定的水温范围副溶血弧菌的总量和水温呈正相关性。DePaola 等^[27]的研究结果发现,在一定的水温范围内,温度对副溶血弧菌的对数总量的影响近似成线性关系。DePaola 等^[28]对副溶血弧菌季节性变化研究发现,水温对 Lg 副溶血弧菌的含量的相关性显著($P < 0.05$),副溶血弧菌与水温呈季节性变化,相关性极显著($P < 0.01, R^2 = 0.51$)。DePaola 等^[27]对 1984 年 5 月—1985 年 4 月在太平洋、北墨西哥湾和大西洋沿岸的贝类生长水域按季节采集的海水和牡蛎样品中的副溶血弧菌进行检测,水温与副溶血弧菌的相关性显著。研究结果表明副溶血弧菌的流行与温度有关。

本研究对不同季节采集到的牡蛎中的副溶血弧菌含量与盐度进行回归分析,发现,盐度对牡蛎中副溶血弧菌含量的对数值影响呈负相关。DePaola 等^[28]对副溶血弧菌季节性变化研究表明,盐度和牡蛎中副溶血弧菌含量的对数值回归方程是二次方模型,预测的副溶血弧菌含量最高的盐度值是 17,本研究的结果盐度在 14.5 时副溶血弧菌含量最高,两者结果相似。研究结果表明副溶血弧菌的流行与盐度有关。

pH和溶解氧对副溶血弧菌含量的影响不大。一方面由于海水中pH和溶解氧比较稳定,在本次监测过程中,没有监测到pH和溶解氧大幅度变化情况;另一方面在一定范围内pH和溶解氧对副溶血弧菌的生长影响可能不大。但是pH和溶解氧主要是对牡蛎本身的生长产生影响,影响牡蛎的免疫状态,有证据表明贝类的免疫状态对微生物的存在和流行发挥重要的作用^[29-30]。

本次研究结果表明,牡蛎养殖过程中副溶血弧菌的感染与水温 and 盐度关系密切,与pH和溶解氧等其他因子的相关性不明显。牡蛎中副溶血弧菌的感染量与水温呈正相关;适合的盐度下,牡蛎中副溶血弧菌的感染量能达到最大值,盐度太大会降低牡蛎中副溶血弧菌的感染量。因此在牡蛎的病害防治过程中要考虑水温和盐度等环境因子。

参考文献:

- [1] Venkateswaran K, Kiiyukia C, Nakanishi K, *et al.* The role of sinking particles in the overwintering process of *Vibrio parahaemolyticus* in a marine environment [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 1990, 73:159-166.
- [2] Akio Y, Junichiro I, Varaporn V, *et al.* Quantitative modeling for risk assessment of *Vibrio parahaemolyticus* in bloody clams in southern Thailand [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2008, 124:70-78
- [3] Joseph S W, Colwell R R, Kaper J B. *Vibrio parahaemolyticus* and related halophilic *Vibrios*. [J]. *Critical Reviews in Microbiology*, 1982, 10(1): 77-124.
- [4] Altekruse S F, Bishop R D, Baldy L M, *et al.* *Vibrio gastroenteritis* in the US Gulf of Mexico region; the role of raw *Ostrea* [J]. *Epidemiology and Infection*, 2000, 124:489-495.
- [5] Liu X, Chen Y, Wang X, *et al.* Foodborne disease outbreaks in China from 1992 to 2001 national foodborne disease surveillance system [J]. *Journal of Hygiene Research*, 2004, 33:725-727.
- [6] 邹婉虹. 福建省牡蛎食用中感染副溶血弧菌的风险评估 [J]. *水产品安全管理*, 2003, 1:70-71.
- [7] 俞莺, 宁喜斌. 对虾副溶血弧菌的风险评估 [J]. *现代食品科技*, 2006, 22(3):184-187.
- [8] 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.
- [9] 高围激, 刘弘, 刘诚, 等. 上海市零售梭子蟹中副溶血性弧菌的污染状况及风险评估 [J]. *中国食品卫生杂志*, 2010, 22(4):371-374.
- [10] US Food and Drug Administration (FDA), Center for Food Safety and Applied Nutrition. Draft risk assessment on the public health impact of *Vibrio parahaemolyticus* in raw molluscan shellfish [M]. FAD, 2000.
- [11] Risk assessment on nitrofuransin prawns [M]. Wellington: Food Standards Australia New Zealand, 2004.
- [12] 李寿崧, 宁芊. 食品微生物定量风险评估研究现状、基本框架及其发展趋势 [J]. *中国食品学报*, 2007, 7(3):1-7.
- [13] Nair G B, Abraham M, Natarajan R. Distribution of *Vibrio parahaemolyticus* in finfish harvested from Porto Novo (S. India) environs; a seasonal study [J]. *Microbiology*, 1980, 26:1264-1269.
- [14] Zhu B C R, Lo J Y, Li Y T, *et al.* Thermostable, salt tolerant, wide pH range novel chitinase from *Vibrio parahaemolyticus*: isolation, characterization, molecular cloning, and expression [J]. *Biochemical Journal*, 1992, 112:163-167.
- [15] 成广兴. 酸雨对水生生物的影响 [J]. *安庆师范学院学报*, 1999, 5(3):108-110.
- [16] 樊甄姣, 杨爱国, 刘志鸿, 等. pH对栉孔扇贝体内几种免疫因子的影响 [J]. *中国水产科学*, 2006, 13(4):650-654.
- [17] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. SN 0173-2010 出口食品副溶血弧菌检验方法 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [18] 林强, 李宁求, 付小哲, 等. 牡蛎中副溶血弧菌荧光定量PCR检测方法的建立及其初步应用 [J]. *中国水产科学*, 2011, 18(1):96-102.
- [19] 马聪, 严纪文, 朱海明, 等. 2005年珠江三角洲地区生吃水产品中副溶血性弧菌污染调查 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2006, 16(3):19-24.
- [20] 严纪文, 马聪, 朱海明. 2003-2005年广东省水产品中副溶血性弧菌的主动监测及其基因指纹图谱库的建立 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2006, 16(4):387-391.
- [21] 孟娣. 水产品中副溶血弧菌的快速检测技术及风险评估研究 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2007.
- [22] 刘秀梅, 程苏云, 陈艳, 等. 2003年中国部分沿海地区零售海产品中副溶血性弧菌污染状况的主动监测 [J]. *中国食品卫生杂志*, 2005, 17(2):97-99.
- [23] 陈艳, 刘秀梅, 王明, 等. 温暖月份零售带壳牡蛎中

- 副溶血性弧菌的定量研究[J]. 中国食品卫生杂志,2004,16(3):207-209.
- [24] Kelly M T, Stroh E M D. Occurrence of *Vibrionaceae* in natural and cultivated oyster populations in the Pacific Northwest [J]. Diagnostic microbiology and Infectious Disease, 1988, 9: 1-5.
- [25] Ogawa H, Tokunou H, Kishimoto T, et al. Ecology of *Vibrio parahaemolyticus* in Hiroshima Bay [J]. Veterinary Association of Hiroshima Prefecture, 1989: 47-57.
- [26] 杜萌,陈吉祥,孙丰蓉,等. 低温寡营养条件下副溶血弧菌形成活的非可培养状态及其复苏研究[J]. 水生生物学报,2008,32(2):178-183.
- [27] DePaola A, Hopkins L H, Peeler J T, et al. Incidence of *Vibrio parahaemolyticus* in U. S. coastal waters and *Ostrea* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1990, 56: 2299-2302.
- [28] DePaola A, Nordstrom J L, Bowers J C, et al. Seasonal abundance of total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in Alabama oysters [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69 (3): 1521-1526.
- [29] Ordás M C, Novoa B, Figueras A. Effect of cultured *Perkinsus atlanticus* supernatants on the mussel (*Mytilus galloprovincialis*) and carpet-shell clam (*Ruditapes decussatus*) defense mechanisms [J]. Aquatic Animal Health, 1998, 244.
- [30] Voley A K, Genthner F J, Fisher W S, et al. Differential effects of oyster (*Crassostrea virginica*) defenses on clinical and environmental isolates of *Vibrio parahaemolyticus* [R] // Abstract of the national shellfisheries association annual meeting. Journal of Shellfish Research, 1999, 18: 326.

The relationship of *Vibrio parahaemolyticus* densities and water quality factor during oyster culture

LIN Qiang, LI Ning-qiu, FU Xiao-zhe, LIU Li-hui, SHI Cun-bin, WU Shu-qin*
(Pearl River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510380, China)

Abstract: *Vibrio parahaemolyticus* (VP) is a pathogen of bacterial food poisoning associated with shellfish. VP, which is detected both in human and fish, has even higher concentrations in oysters and other filter-feeding shellfish. In order to study the relationship of VP densities versus water quality factor including water salinity, temperature, pH and dissolved oxygen in the course of oyster culture, we detected total VP densities in the oyster and water quality factor at the oyster farm in Yangxi, Guangdong from March to November in 2009. The results showed that the detection ratio of total VP in oysters was 94.38%. The water temperature was correlated positively with total VP in oysters, but the salinity was correlated negatively with total VP in oysters. The dissolved oxygen and pH didn't show correlation with total VP in oysters. Based on the regression analysis, a quadratic relationship for VP densities versus water temperature and salinity was found. The regression equation of VP densities versus water temperature was: $LgVP = 0.093T - 0.685$ ($R^2 = 0.336$); The regression equation of VP densities versus salinity was: $LgVP = 1.199 + 0.116S - 0.004S^2$ ($R^2 = 0.217$); The best fit regression equation of VP densities versus water temperature and salinity was $LgVP = -1.941 + 0.116T + 0.058S - 0.001S^2$ ($R^2 = 0.414$). The results of this paper may provide some reference data for the risk analysis of VP during oyster culture.

Key words: oyster; *Vibrio parahaemolyticus*; water quality factor

Corresponding author: WU Shu-qin. E-mail: wushuqin001@21cn.com