

文章编号:1000-0615(2009)05-0823-09

广东省罗非鱼及其养殖环境中食源性致病菌菌相分析

李来好¹, 吴燕燕¹, 李凤霞^{1,2}, 杨贤庆¹, 刁石强¹, 周婉君¹

(1. 中国水产科学研究院南海水产研究所, 广东 广州 510300;

2. 广东海洋大学食品科技学院, 广东 湛江 524088)

摘要:对广东省3个不同产区罗非鱼及其养殖环境中食源性致病微生物的构成进行了分析。采用选择性培养基、生物梅里埃微生物鉴定系统与Biolog微生物自动化鉴定系统相结合的方法对罗非鱼和养殖环境中的主要食源性致病菌种类进行分离鉴定。结果表明:罗非鱼鱼体及其养殖环境中存在的主要食源性致病菌种类,随季节的不同而有变化,其中以夏季致病菌种类最多,鱼体及其养殖环境分别为11和12种致病菌;而春季鱼体中致病菌较少,为6种。罗非鱼鱼体及其养殖环境中以致病性嗜水气单胞菌、致泻大肠埃希氏菌、沙门氏菌最为常见,四季均有,其中致病性嗜水气单胞菌以春夏季节检出率较高,环境中检出率达83%~89%,鱼体中达44%~67%;致泻大肠埃希氏菌环境中春夏秋冬四季检出率达83%~100%,鱼体夏秋季中达48%~67%;沙门氏菌环境中春秋两季检出率达33%~39%,鱼体中达44%~52%。其次在罗非鱼鱼体还分离到霍乱弧菌、副溶血性弧菌、创伤弧菌、阴沟肠杆菌、阪崎肠杆菌、铜绿假单胞菌和恶臭假单胞菌等致病菌。

关键词:罗非鱼;养殖环境;食源性致病菌;菌相

中图分类号:Q 93-331; S 917.1; S 965.125

文献标识码:A

罗非鱼(*Tilapia mossambica* Peters)是国际上养殖最广泛的鱼种,据FAO统计,目前世界上有85个国家和地区养殖罗非鱼,养殖产量达 1.27×10^6 t。我国罗非鱼养殖业发展迅速,产量以平均每年8%左右的速度递增,稳居世界首位,2008年我国罗非鱼产量达 9.8×10^5 t,占世界总量的一半以上。广东省是我国养殖罗非鱼最早、养殖面积最多和产量最高的地区,2008年产量达到 4.7×10^5 t,约占全国总产量的48%。

近年来,企业为追求一时之利,增大罗非鱼养殖密度,投喂过多的鱼饲料及肥料,使池底淤泥堆积,水中有机质含量高和溶解氧低,罗非鱼养殖环境恶化,加上广东的气温偏高,微生物很容易在水体、池底淤泥和鱼体中滋生,感染罗非鱼。当生态环境变化(如水温升高、有机质浓度剧增等)或受到污染时,这些条件致病菌会迅速繁殖并产生毒

素等致病因子,导致疫病发生或爆发流行。2001年首次于香港分离得到一种新型致病菌——海鸥型菌,香港生态流行病学调查研究发现淡水鱼被检出香港海鸥型菌^[1],该菌可引起腹泻性胃肠炎^[2]。本文旨在调查分析广东省罗非鱼及其养殖环境中的主要条件致病微生物的种类,为下一步罗非鱼食源致病微生物的预警和防治提供理论基础,以确保罗非鱼的食用安全性。

1 材料与方法

1.1 样品来源

以2007年8月-2008年7月广东省3个地区(茂名市、汕尾市、南海市)的3个规模化罗非鱼养殖场的无病养殖鱼池为调查分析对象,每月中旬至下旬进行采样,从每个养殖点分散的5个鱼塘中分别采集鲜活罗非鱼(每塘10尾,共50

收稿日期:2009-03-20 修回日期:2009-05-04

资助项目:中央级公益性专项资金项目(2007ZD05);农业部“九四八”项目(2006-G40);农业部公益性行业专项(nyhyzx07-044-05)

通讯作者:李来好, E-mail: laihao@163.com

尾)、水样(每塘 500 mL, 包含表层水体和底层水体, 共 2 500 mL) 和池塘底泥(每塘约 500 g, 共 2 500 ~ 3 000 g) 进行分离鉴定。样品采集按照四点一中心原则进行, 同时记录采样点的水温、溶氧量及气候情况。

1.2 仪器设备

LDZX-40CI 型高压灭菌锅、SPX 智能型生化培养箱、DK-S24 电热恒温水浴锅、ULTRA-TURRAX® T25 匀浆机、OLYMPUS CX41 型显微镜、TECAN 酶标仪、生物梅里埃微生物鉴定系统、Biolog 微生物自动鉴定系统等。

1.3 试剂

麦康凯琼脂、伊红美蓝琼脂、三糖铁琼脂、克氏双糖铁琼脂、糖发酵培养基、尿素琼脂、氯化镁孔雀绿增菌液、四硫酸钠煌绿增菌液、肠道增菌液、亚硒酸盐胱氨酸增菌液、亚硫酸铋琼脂、蛋白胨、氰化钾培养基、马铃薯葡萄糖琼脂、脑心浸液琼脂、乳糖胆盐发酵培养基、血琼脂平板、精氨酸葡萄糖琼脂、卵黄琼脂、西蒙氏柠檬酸盐培养基、苯丙氨酸琼脂、SS 琼脂、DHL 琼脂、WS 琼脂、HE 琼脂、赖氨酸脱羧酶培养基、酵母浸膏、杆菌肽药

敏纸片、革兰氏染色液、靛基质试剂、氧化酶试剂、多粘菌素 B 纸片等均购于广东省环凯微生物科技有限公司; O1 群、O139 霍乱弧菌多价诊断血清、致病性大肠埃希氏菌诊断血清、侵袭性大肠埃希氏菌诊断血清、产肠毒素大肠埃希氏菌诊断血清、出血性大肠埃希氏菌诊断血清购自广州市新源生化科技有限公司。

单核细胞增生李斯特氏菌标准菌株购自广东省微生物研究所微生物菌种保藏中心。实验用小白鼠购自中山医科大学实验动物中心。API® 手工试条购于上海生物梅里埃有限公司。

1.4 检测方法

样品处理 鱼体经灭菌生理盐水清洗干净后, 无菌条件下分别取其表皮粘液、鳃、内脏(除胆外)和肌肉, 各 10 g, 绞碎后加入 10 倍无菌生理盐水均质后进行病原微生物检验; 养殖水样和底泥直接取样检测。

采用常规微生物检测方法、生物梅里埃微生物鉴定系统与 Biolog 微生物自动鉴定系统相结合的方法分离鉴定罗非鱼体与环境中的致病菌。常规微生物检验项目及检测依据见表 1。

表 1 食源性致病菌检测及依据^[3]

Tab.1 The type of food-borne pathogenic microorganism and their method reference

检测项目 examination item	检测依据 examination reference
沙门氏菌 <i>Salmonella</i>	GB/T 4789.4-2003
致泻性大肠埃希氏菌 diarrheogenic <i>Escherichia coli</i>	GB/T 4789.6-2003
假单胞菌 <i>Pseudomonas</i>	GB/T 4789.29-2003/ISO13720-95
副溶血性弧菌 <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	GB/T 4789.7-2003
致病性嗜水气单胞菌 pathogenic <i>Aeromonas hydrophila</i>	GB/T 18652-2002(受控)
溶血性链球菌 <i>Streptococcus hemolyticus</i>	GB/T 4789.11-2003
香港海鸥型菌 <i>Laribacter hongkongensis</i>	DB44/T 372-2006
志贺氏菌 <i>Shigella</i>	GB/T 4789.5-2003
霍乱弧菌 <i>Vibrio cholerae</i>	SN/T 1022-2001
单核细胞增生李斯特氏菌 <i>Listeria monocytogenes</i>	GB/T 4789.30-2003
创伤弧菌 <i>Vibrio vulnificus</i>	GB/T 4789.7-2003

生物梅里埃微生物鉴定系统 参考文献 [4] 的方法, 将疑似菌分离纯化→革兰氏染色判定细菌阴阳性→氧化酶和三糖铁琼脂实验判断细菌是否产氧或硫化氢和对糖的利用情况→根据结果选择相应的检测卡→将待测菌的菌悬液注入试卡内→封口→在指定温度的恒温箱内培养→读数器定时扫描读取生长变化值→将数据输入电脑分析比较→鉴定报告。

Biolog 微生物自动鉴定系统 参考文献

[5] 的方法, 将疑似菌按照常规微生物方法分离纯化→用 Biolog 专用培养基 Biolog universal growth ager 将纯种扩大培养→用接种棒仅挑取平板每条边外半部分的菌落→插入规格 20 mm × 150 mm 已灭菌的干管内使菌落均匀分散于管内壁→加入灭菌的革兰氏阴性/阳性接种液 (GN/GP-IF) →调配浊度为 (28% T ± 3%) →将菌悬液接种到微孔鉴定板 (GP2) →在 30 °C 培养箱中培养 16 ~ 24 h →读数仪读数→输入数据软件自动给

出鉴定结果。

1.5 数据统计

每个季节从 3 个不同地区共采样 9 批,养殖水样品 9 份、鱼塘底泥样品 9 份共计养殖环境样品 18 份,罗非鱼样品 9 份,对其中罗非鱼鱼体的体表及鳃、肠道、鱼肉 3 部分进行分开检测,共计罗非鱼鱼体样品 27 份。每种致病菌以样品中该菌的检出率进行统计。

2 结果与分析

2.1 春季罗非鱼鱼体及养殖环境中食源性致病菌菌相分析

调查显示(表 2):广东省春季罗非鱼养殖水体的平均水温为 25.5 ℃,平均溶氧量为 5.5 mg/L,春季罗非鱼养殖环境中主要存在的致病菌有致病性嗜水气单胞菌(83%)、致泻大肠埃希氏菌(83%)、浅黄色单胞菌(*Chyseomonas luteola*)(50%),其他如霍乱弧菌、副溶血性弧菌、沙门氏菌、侵肺巴斯德菌、施氏假单胞菌(*Pseudomonas stutzeri*)在环境中也不同程度地被检出。罗非鱼养殖水体中检出的致病菌种类比底泥中的多。

罗非鱼体内检出的的致病菌有 6 种,主要有

致病性嗜水气单胞菌(67%)、沙门氏菌(44%)、浅黄色单胞菌(44%)。检出率较少的致病菌有致泻大肠埃希氏菌(22%)和霍乱弧菌(22%)和侵肺巴斯德菌(11%),主要存在于罗非鱼体表及鳃和肠道中。鱼肉中无致病菌检出。

2.2 夏季罗非鱼鱼体及养殖环境中食源性致病菌菌相分析

广东省夏季罗非鱼养殖水体的平均水温 30.0 ℃,平均溶氧量为 6.0 mg/L,最高水温可达 34 ℃,水中最大溶氧量可达 7.5 mg/L。通过分离理化鉴定,从罗非鱼的养殖环境中共鉴定出 12 种致病菌,分别为致泻大肠埃希氏菌、致病性嗜水气单胞菌、霍乱弧菌、副溶血性弧菌、铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)、阪崎肠杆菌(*Enterobacter sakazakii*)、类志贺邻单胞菌、浅黄色单胞菌、洋葱伯克霍尔德菌属(*Burkholderia*)、沙门氏菌、深红沙雷菌、侵肺巴斯德菌、鲍氏不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*),其中致泻大肠埃希氏菌(89%)、致病性嗜水气单胞菌(89%)、铜绿假单胞菌(33%)检出最多。底泥中检出的致病菌种类较水体中的多。

表 2 春季罗非鱼鱼体及养殖环境中食源性致病菌的分布

Tab.2 Food-borne pathogenic microorganism in tilapia and their cultivation environment in spring

	养殖环境 cultivation environment				罗非鱼鱼体 tilapia				
	水体 water	底泥 pool earth	合计 total	检出率 detection rate	体表 surface	肠道 intestines	鱼肉 meat	合计 total	检出率 detection rate
沙门氏菌 <i>Salmonella</i>	3	3	6	33%	6	6	0	12	44%
致泻大肠埃希氏菌 <i>diarrheogenic Escherichia coli</i>	9	6	15	83%	3	3	0	6	22%
致病性嗜水气单胞菌 <i>pathogenic Aeromonas hydrophila</i>	9	6	15	83%	9	9	0	18	67%
霍乱弧菌 <i>Vibrio comma</i>	3	3	6	33%	3	3	0	6	22%
铜绿假单胞菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6	0	6	33%	0	0	0	0	0%
浅黄色单胞菌 <i>Chyseomonas luteola</i>	3	6	9	50%	6	6	0	12	44%
侵肺巴斯德菌 <i>Pasteurella pueumotroica</i>	3	3	6	33%	3	0	0	3	11%
副溶血性弧菌 <i>Vibro parahaemolyticus</i>	6	0	6	33%	0	0	0	0	0%
单核细胞增生李斯特氏菌 <i>Listeria monocytogenes</i>	0	0	0	0%	0	0	0	0	0%
香港海鸥型菌 <i>Laribacter hongkongensis</i>	0	0	0	0%	0	0	0	0	0%
检出致病菌属合计 total of pathogenic bacteria generic	8	9			6	5	0		

罗非鱼体内共分离出 11 种致病菌,分别为致泻大肠埃希氏菌、致病性嗜水气单胞菌、霍乱弧菌、副溶血性弧菌、铜绿假单胞菌、阪崎肠杆菌、类志贺邻单胞菌、浅金黄色单胞菌、洋葱伯克霍尔德菌属、深红沙雷菌、溶血巴斯德菌、鲍氏不动杆菌。

主要致病菌有致泻大肠埃希氏菌(48%)、致病性嗜水气单胞菌(44%)和阪崎杆菌(22%),存在于罗非鱼体表及鳃和肠道内。鱼肉中无致病菌检出(表 3)。

表 3 夏季罗非鱼鱼体及养殖环境中食源性致病菌的分布

Tab. 3 Food-borne pathogenic microorganism in tilapia and their cultivation environment in summer

	养殖环境 cultivation environment				罗非鱼鱼体 tilapia				
	水体 water	底泥 pool earth	合计 total	检出率 detection rate	体表 surface	肠道 intestines	鱼肉 meat	合计 total	检出率 detection rate
沙门氏菌 <i>Salmonella</i>	2	0	2	11%	0	0	0	0	0%
致泻大肠埃希氏菌 <i>diarrheogenic Escherichiacoli</i>	9	7	16	89%	7	6	0	13	48%
致病性嗜水气单胞菌 <i>pathogenic Aeromonas hydrophila</i>	7	9	16	89%	5	7	0	12	44%
霍乱弧菌 <i>Vibrio comma</i>	2	2	4	22%	2	2	0	4	15%
铜绿假单胞菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	3	6	33%	3	2	0	5	19%
浅金黄色单胞菌 <i>Chyseaomonas luteola</i>	3	1	4	22%	1	3	0	4	15%
侵肺巴斯德菌 <i>Pasteurella pueumotroica</i>	0	2	2	11%	0	0	0	0	0%
副溶血性弧菌 <i>Vibro parahaemolyticus</i>	2	2	4	22%	0	2	0	2	7%
阪崎肠杆菌 <i>Enterobacter sakazakii</i>	3	2	5	28%	3	3	0	6	22%
类志贺邻单胞菌 <i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	2	2	4	22%	3	2	0	5	19%
深红沙雷菌 <i>Shewanella putrefaciens</i>	1	1	2	11%	1	1	0	2	7%
侵肺巴斯德菌 <i>Pasteurella pueumotroica</i>	0	2	2	11%	0	0	0	0	0%
洋葱伯克霍尔德菌 <i>Burkholderia cepacia</i>	1	1	2	11%	1	1	0	2	7%
鲍氏不动杆菌 <i>Acinetobacter baumannii</i>	0	2	2	11%	2	2	0	4	15%
单核细胞增生李斯特氏菌 <i>Listeria monocytogenes</i>	0	0	0	0%	0	0	0	0	0%
香港海鸥型菌 <i>Laribacter hongkongensis</i>	0	0	0	0%	0	0	0	0	0%
检出致病菌属合计 total of pathogenic bacteria generic	11	12			10	11	0		

2.3 秋季罗非鱼鱼体及养殖环境中食源性致病菌菌相分析

秋季罗非鱼养殖水体的平均水温 27.0 °C, 平均溶氧量 5.4 mg/L。罗非鱼养殖环境中检出的致病菌以致泻大肠埃希菌为主, 检出率为 100%, 其次为沙门氏菌、恶臭假单胞菌、肺炎克雷伯氏

菌、溶血性链球菌、浅金黄色单胞菌、阴沟肠杆菌、致病性嗜水气单胞菌、洋葱伯克霍尔德氏菌。

从罗非鱼鱼体中鉴定到 8 种致病菌, 其中致泻大肠埃希菌(67%)、沙门氏菌(52%)是秋季正常罗非鱼鱼体的主要检出菌, 其他有肺炎克雷伯氏菌、致病性嗜水气单胞菌、恶臭假单胞菌、浅黄

金色单胞菌、洋葱伯克霍尔德氏菌、阴沟肠杆菌被检出。从致病菌的检出部位来看,体表及鳃为致泻大肠埃希氏菌、沙门氏菌、肺炎克雷伯氏菌、恶臭假单胞菌存在的优势部位,罗非鱼肠道中以分离出致泻大肠埃希氏菌、沙门氏菌、致病性嗜水气

单胞菌为主,致泻大肠埃希菌、沙门氏菌、致病性嗜水气单胞菌、肺炎克雷伯氏菌、洋葱伯克霍尔德氏菌、浅金黄色单胞菌在鱼肉中被少量检出(表4)。

表4 秋季罗非鱼鱼体及养殖环境中食源性致病菌的分布

Tab.4 Food-borne pathogenic microorganism in tilapia and their cultivation environment in autumn

	养殖环境 cultivation environment				罗非鱼鱼体 tilapia				
	水体 water	底泥 pool earth	合计 total	检出率 detection rate	体表 surface	肠道 intestines	鱼肉 meat	合计 total	检出率 detection rate
沙门氏菌 <i>Salmonella</i>	4	3	7	39%	6	6	2	14	52%
致泻大肠埃希氏菌 diarrheogenic <i>Escherichia coli</i>	9	9	18	100%	9	8	1	18	67%
致病性嗜水气单胞菌 pathogenic <i>Aeromonas hydrophila</i>	1	0	1	6%	0	3	1	4	15%
霍乱弧菌 <i>Vibrio comma</i>	0	0	0	0%	0	0	0	0	0%
溶血性链球菌 Haemolytic <i>streptococcus</i>	3	2	5	28%	0	0	0	0	0%
浅金黄色单胞菌 <i>Chyseeomonas luteola</i>	2	1	3	17%	1	1	1	3	11%
肺炎克雷伯氏菌 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	4	2	6	33%	4	2	1	7	26%
副溶血性弧菌 <i>Vibro parahaemolyticus</i>	0	0	0	0%	0	0	0	0	0%
阴沟肠杆菌 <i>Enterobacter cloacae</i>	2	1	3	17%	1	1	0	2	7%
恶臭假单胞菌 <i>Pseudomonas putida</i>	6	1	7	39%	3	0	0	3	11%
洋葱伯克霍尔德菌 <i>Burkholderia cepacia</i>	0	1	1	6%	1	1	1	3	11%
单核细胞增生李斯特氏菌 <i>Listeria monocytogenes</i>	0	0	0	0%	0	0	0	0	0%
香港海鸥型菌 <i>Laribacter hongkongensis</i>	0	0	0	0%	0	0	0	0	0%
检出致病菌属合计 total of pathogenic bacteria generic	8	8			7	7	6		

2.4 冬季罗非鱼鱼体及养殖环境中食源性致病菌菌相分析

冬季广东省罗非鱼养殖水体的平均水温 19.0 ℃,平均溶氧量 4.0 mg/L,最低水体温度达 17 ℃。罗非鱼养殖环境中检出 8 种致病菌,主要是致泻大肠埃希氏菌(56%)、阴沟肠杆菌(56%)、肺炎克雷伯氏菌(50%),副溶血性弧菌、沙门氏菌、浅金黄色单胞菌、副溶血链球菌、致病性嗜水气单胞菌 5 种致病菌检出率较少。

罗非鱼鱼体中检出 9 种致病菌,以阴沟肠杆菌(52%)、致泻大肠埃希氏菌(26%)和深红沙雷

菌(22%)为主;其他致病菌如沙门氏菌、肺炎克雷伯氏菌、创伤弧菌、霍乱弧菌、浅金黄色单胞菌和副溶血链球菌的检出率只有 4%~7%。另外发现,罗非鱼肠道中的致病菌种类比较繁多,鱼肉中无致病菌检出(表5)。

2.5 罗非鱼鱼体及养殖环境中食源性致病菌菌相随季节变化的规律

通过调查发现,致病性嗜水气单胞菌、致泻大肠埃希氏菌、沙门氏菌是广东省罗非鱼鱼体及其养殖环境中的常见致病菌,但致病菌检出种类及数量随季节的变化有所不同。春季罗非鱼养殖环

境中鉴定出8种致病菌,主要致病菌是致病性嗜水气单胞菌、致泻大肠埃希菌和浅金黄色单胞菌;鱼体内鉴定出6种致病菌,以致病性嗜水气单胞菌、沙门氏菌、浅金黄色单胞菌检出较多。夏季罗非鱼养殖环境中检出的致病菌繁多且复杂,共12种致病菌,以致泻大肠埃希氏菌、致病性嗜水气单胞菌、铜绿假单胞菌为主;鱼体内共分离出11种致病菌,检出率较高的致病菌有致泻大肠埃希氏菌、致病性嗜水气单胞菌和阪崎杆菌。秋季罗非鱼养殖环境中鉴定出9种致病菌,检出的致病菌以致泻大肠埃希氏菌、沙门氏菌、恶臭假单胞菌为常见菌;从鱼体中鉴定出8种致病菌,其中致泻大

肠埃希氏菌和沙门氏菌是主要检出菌,且鱼肉中也有少量致病菌检出。从冬季罗非鱼养殖环境中分离鉴定出8种致病菌,主要是致泻大肠埃希氏菌、阴沟肠杆菌和肺炎克雷伯氏菌;鱼体中鉴定出9种致病菌,以阴沟肠杆菌、致泻大肠埃希氏菌和深红沙雷菌为主,且罗非鱼肠道中的致病菌种类比较繁多。这说明高温高湿的夏季,无论是养殖环境中还是罗非鱼鱼体中食源性致病菌的种类都是最多最复杂的,其次为秋季、冬季、春季。通常情况下,养殖环境中致病菌的种类比鱼体中的多且复杂,而冬季恰恰相反,罗非鱼中肠道的致病菌检出率高。

表5 冬季罗非鱼鱼体及养殖环境中食源性致病菌的分布

Tab.5 Food-borne pathogenic microorganism in tilapia and their cultivation environment in winter

	养殖环境 cultivation environment				罗非鱼鱼体 tilapia				
	水体 water	底泥 pool earth	合计 total	检出率 detection rate	体表 surface	肠道 intestines	鱼肉 meat	合计 total	检出率 detection rate
沙门氏菌 <i>Salmonella</i>	2	1	3	17%	0	1	0	1	4%
致泻大肠埃希氏菌 diarrheogenic <i>Escherichia coli</i>	5	5	10	56%	3	4	0	7	26%
致病性嗜水气单胞菌 pathogenic <i>Aeromonas hydrophila</i>	2	0	2	11%	0	0	0	0	0%
霍乱弧菌 <i>Vibrio comma</i>	0	0	0	0%	0	2	0	2	7%
溶血性链球菌 Haemolytic <i>streptococcus</i>	1	1	2	11%	1	1	0	2	7%
浅金黄色单胞菌 <i>Citrobacter amalonaticua</i>	0	0	0	0%	0	2	0	2	7%
肺炎克雷伯氏菌 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	5	4	9	50%	0	2	0	2	7%
副溶血性弧菌 <i>Vibro parahaemolyticus</i>	2	2	4	22%	0	0	0	0	0%
阴沟肠杆菌 <i>Enterobacter cloacae</i>	6	4	10	56%	1	1	0	2	7%
深红沙雷菌 <i>Shewanella putrefaciens</i>	0	2	2	11%	4	2	0	6	22%
创伤弧菌 <i>Vibrio vulnificus</i>	0	0	0	0%	2	0	0	2	7%
单核细胞增生李斯特氏菌 <i>Listeria monocytogenes</i>	0	0	0	0%	0	0	0	0	0%
香港海鸥型菌 <i>Laribacter hongkongensis</i>	0	0	0	0%	0	0	0	0	0%
检出致病菌属合计 total of pathogenic bacteria generic	7	7	5	8	0				

3 讨论

3.1 致病菌分布规律与分析

调查表明,罗非鱼养殖环境中的致病菌种类

均比鱼体中的多且复杂,但也有些致病菌只在鱼体中有检出,说明罗非鱼鱼体有其自身原有细菌,正常情况只潜伏在鱼体内,不会使鱼体患病,一旦外界环境变化,便大量繁殖致使鱼体患病或死亡。

鱼类的体表、鳃和肠道中检出致病菌属最多,且与环境中检出致病菌属种类相近,而鱼肉中极少有致病菌属检出。主要是因为鱼类的皮肤粘液和胃肠消化道含有许多抗菌物质,如抗菌肽、溶菌酶、酸、胆盐等,构成鱼类的一道天然的物理和化学屏障。多数情况下,致病菌难以进入肌肉组织,而当皮肤受到机械损伤时,这些致病菌方能侵入到鱼肉组织内^[5-9]。

夏季是很多淡水鱼类细菌性疾病的多发季节,亦是水产品质量安全事件的多发期。在本次调查中,夏季是致病菌检出最多的季节,主要是因为夏季是水产养殖业的黄金季节,光照强、气温和水温高、水中溶氧量也较高、鱼类新陈代谢旺盛、加之投饵密集,水体富营养化严重,导致水质中病原微生物的数量大肆泛滥,其次为春季和秋季。罗非鱼属热带鱼类,最大缺点是耐低温能力差,冬季水温变化较大,罗非鱼生长缓慢,且投饵量下降,水中的有机质含量也随之下降,溶氧也相对较低,低温也不利于微生物生长,而鱼体能够提供给微生物生长繁殖的温床,故此季节致病菌检出主要集中在罗非鱼肠道内^[10]。

相关研究表明新型致病菌——香港海鸥型菌,只存在于淡水鱼中,约 25% 的淡水鱼中存在香港海鸥型菌,其中含该菌最多的是草鱼和鳊^[1-2]。目前,广东省罗非鱼淡水养殖占很大比例,而在此次调查并未有香港海鸥型菌检出,表明在所调查的地区罗非鱼养殖行业未受此致病菌污染。

3.2 罗非鱼中潜在的食源性致病菌分析

调查结果表明,致泻大肠埃希氏菌环境中春夏秋季检出率达 83% ~ 100%,鱼体夏秋季中达 48% ~ 67%。由于致泻大肠埃希氏菌是人和动物粪便及生产生活垃圾中的常见菌,表明广东省罗非鱼养殖环境周围可能存在此污染源^[11],应及时排查并予以清除,以保障罗非鱼产品的原材料安全。

致病性嗜水气单胞菌在罗非鱼养殖及鱼体中四季均不同程度的检出,以春夏季节检出率较高,环境中检出率达 83% ~ 89%,鱼体中达 44% ~ 67%。致病性嗜水气单胞菌污染鱼类,可导致鱼体患腹水病、败血病、类结节病、烂体病及肠炎病等,梅雨季节和夏季高温季节是其爆发流行高峰

期,其次是秋季,冬季该菌几乎不使水产动物发病。人类感染该菌后,轻度可致腹泻、腹痛、恶心、呕吐等,严重者可引发败血症、胆囊炎、腹膜炎等,病情发展快,死亡率高^[12]。故应加强对春夏季节养殖环境及鱼体中的致病性嗜水气单胞菌进行实时监控,防止其爆发流行。

世界各国在对食品微生物的检验中,均将沙门氏菌列为重要的检测对象^[13]。本次调查显示:沙门氏菌环境中春秋季节检出率达 33% ~ 39%,鱼体中达 44% ~ 52%。沙门氏菌是春秋季节罗非鱼养殖环境及鱼体中的常见致病菌,应采取措施控制污染,以免影响罗非鱼产品的出口创汇。霍乱弧菌、副溶血性弧菌和创伤弧菌在罗非鱼体中被不同程度的检出,检出率分别为 7% ~ 22%、7%、7%。它们是弧菌属中致病性最强的 3 种菌种,在很多国家均有其引起的食物中毒事件^[14],临床症状为霍乱、腹泻、腹部痉挛、恶心、呕吐和伤口感染、胃肠炎、原发性败血病等,主要通过污染的水源传播感染,严重时可能形成流行病暴发。这给本地区的罗非鱼养殖业敲响了警钟。

铜绿假单胞菌和恶臭假单胞菌是本次调查中夏秋季罗非鱼养殖环境中的常见致病菌,在鱼体表和肠道中检出率较低。正常情况下,这两种致病菌不会造成鱼体患病,但在捕捞、放养过程中或鱼体表被寄生虫寄生而受损伤时,才会感染鱼并引发鱼体发生赤皮病和烂鳃病。阴沟肠杆菌和阪崎肠杆菌是肠杆菌属中常见的致病菌,在夏、冬季罗非鱼养殖环境及鱼体中的均检出,在其他水产品中未有检出先例,故应引起高度重视,着手研究水产动物中该菌的流行病学及相应的预防措施。深红沙雷菌和肺炎克雷伯氏菌首次在罗非鱼中被检出,其中肺炎克雷伯氏菌在其他水产品中有检出实例见诸报端^[15-16],深红沙雷菌未见其污染水产品的报道^[17-18]。这两种致病菌均能导致人和动物发生肺炎、肠炎、子宫炎、腹膜炎,甚至败血症,应引起重视,排查污染源所在。

浅金黄色单胞菌是水产品中极少检出的食源性致病菌,本次浅金黄色单胞菌在罗非鱼体及其养殖环境中被检出的报道,在国内尚属首次。由浅金黄色单胞菌感染而发病的病例未曾见报道,其对人和动物造成的危害尚不明确,有待进一步研究探明。

参考文献:

- [1] Woo P C Y, Lau S K P, Teng J L L, *et al.* Association of *Laribacter hongkongensis* in community acquired gastroenteritis with travel and eating fish: a multicentre case-control study [J]. *The Lancet*, 2004, 363: 1941-1947.
- [2] Ni X P, Ren S H, Sun J R, *et al.* *Laribacter hongkongensis* isolated from a patient with community-acquired gastroenteritis in Hangzhou City [J]. *J Clin Microbiol*, 2007, 45(1): 255-256.
- [3] 中华人民共和国卫生部. 食品卫生检验方法——微生物学部分[M]. 北京: 中国标准出版社出版, 2003.
- [4] 赵杰文, 孙永海. 现代食品检测技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2008.
- [5] 王小玲, 尹建文. 鱼类的先天性抗菌和抗病毒机制[J]. 现代渔业信息, 2006, 21(7): 27-31.
- [6] Takemura A, Takano K. Lysozyme in the ovary of tilapia (*Oreochromis mossambicus*): its purification and some biological properties [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 1995, 14(5): 415-421.
- [7] Alexander J B, Ingram G A. Noncellular nonspecific defense mechanisms of fish [J]. *Annu Rev Fish Dis*, 1992, 2: 249-279.
- [8] Watts M, Munday B L, Burke C M. Immune responses of teleost fish [J]. *Australian Veterinary Journal*, 2001, 79(8): 570-574.
- [9] Montenegro-Ortega R E, Viana M T. Biochemical and bacteriological properties of the lysozyme of the clam *7-vela stultorum* [J]. *Ciencias Marinas*, 2000, 26(2): 225-251.
- [10] Molinari L M, Scoaris D O, Pedrosa R B, *et al.* Bacterial microflora in the gastrointestinal tract of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, cultured in a semi-intensive system [J]. *Acta Scientiarum Biological Sciences*, 2003, 25(2): 267-271.
- [11] 林洪. 水产品安全性[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2005.
- [12] 杨守明, 王民生. 嗜水气单胞菌及其对人的致病性[J]. 疾病控制杂志, 2006, 10(5): 511-514.
- [13] Nesse L L, Lovold T, Bergsjø B, *et al.* Persistence of orally administered *Salmonella enterica* serovars Agona and Montevideo in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) [J]. *J Food Prot*, 2005, 68: 1336-1339.
- [14] McLoughlin M F, Graham D A, Norris A, *et al.* Virological, serological and histopathological evaluation of fish strain susceptibility to experimental infection with salmonid alphavirus [J]. *Diseases of Aquatic Organisms*, 2006, 72(2): 125-133.
- [15] 徐海圣, 舒妙安. 中华鳖肺炎克雷伯氏菌病的病原研究[J]. 浙江大学学报(理学版), 2002, 29(6): 702-706.
- [16] 唐毅, 张芬, 孙翰昌, 等. 白鲢肺炎克雷伯氏菌的分离鉴定[J]. 西南大学学报, 2007, 29(6): 73-76.
- [17] 杜强, 钱红. 从导致腹泻的茶叶蛋中检出粘质沙雷菌的报告[J]. 职业与健康, 2006, 11, 22(21): 1828-1829.
- [18] Singh B R, Kulshreshtha S B. Preliminary examinations on the enterotoxigenicity of isolates of *Klebsiella pneumoniae* from sea food [J]. *Food Microbiology*, 1992, 16(4): 349-352.

Analysis on food-borne pathogenic microorganism of tilapia and cultivation environment in Guangdong Province

LI Lai-hao¹, WU Yan-yan¹, LI Feng-xia^{1,2}, YANG Xian-qing¹, DIAO Shi-qiang¹, ZHOU Wan-jun¹

(1. South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510300, China;

2. College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China)

Abstract: Food-borne pathogenic microorganism compositions of tilapia and their cultivation environment which were from different areas of Guangdong Province were analyzed. Methods: Using different selective media, the Merieux Microbiological system and microorganism automation appraisal system to separate and identify food-borne pathogenic microorganism. The results showed: The species of food-borne pathogens varies with the season change, most the types of pathogens in the summer and less in the spring. The numbers of pathogenic species of fish body and its culture environment are 11 and 12 in the summer, respectively. And in the spring, the number of pathogenic species of fish body is only six. Pathogenic *Aeromonas hydrophila*, diarrheogenic *Escherichia coli*, *Salmonella* are mostly common in tilapia and their cultivation environment each season. Detection rate of pathogenic *Aeromonas hydrophila* was higher in spring and summer, of which 83% – 89% in cultivation environment and 44% – 67% in fish. The detection rate of diarrheogenic *Escherichia coli* was 83% – 100% in spring, summer and autumn from cultivation environment and was 48% – 67% in summer and autumn from fish. The detection rate of *Salmonella* was 33% – 39% from cultivation environment and was 44% – 52% from fish in spring and autumn. The other food-borne pathogenic microorganisms have been identified from fish such as *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter sakazakii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida* and so on. The aim of the survey is to provide theoretical basis for predictive food-borne pathogenic microorganism in tilapia.

Key words: tilapia; cultivation environment; food-borne pathogenic microorganism; microflora