

DOI:10.13652/j.spjx.1003.5788.2025.80136

水产品中常见致病菌检测技术研究进展

许美津¹ 林海生^{1,2,3,4,5} 黄 和^{1,2,3,4,5}

(1. 广东海洋大学食品科技学院, 广东 湛江 524088; 2. 广东省水产品加工与安全重点实验室, 广东 湛江 524088; 3. 广东普通高等学校水产品深加工重点实验室, 广东 湛江 524088; 4. 国家贝类加工技术研发分中心(湛江), 广东 湛江 524088; 5. 南海生物资源开发与利用协同创新中心, 广东 湛江 524088)

摘要:水产品作为人体重要的营养来源,其安全性因致病菌污染问题备受关注。副溶血性弧菌、沙门氏菌、单增李斯特菌、大肠埃希氏菌、金黄色葡萄球菌及志贺氏菌等致病菌易通过水体或加工环节交叉感染侵入水产品,引发食源性疾病并造成经济损失。文章综述了水产品中主要致病菌的污染途径及其危害,并总结了传统检测技术(包括选择性培养基和平板计数)与新兴检测技术(如环介导等温扩增、重组酶聚合酶扩增等)的特点及其应用情况。

关键词:水产品;致病菌;检测技术;快速诊断

Research progress in detection techniques of common pathogenic bacteria in aquatic products

XU Meijin¹ LIN Haisheng^{1,2,3,4,5} HUANG He^{1,2,3,4,5}

(1. College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang, Guangdong 524088, China; 2. Guangdong Key Laboratory of Aquatic Products Processing and Safety, Zhanjiang, Guangdong 524088, China; 3. Key Laboratory of Aquatic Products Deep Processing of Guangdong Universities, Zhanjiang, Guangdong 524088, China; 4. National Research and Development Center for Shellfish Processing Technology (Zhanjiang), Zhanjiang, Guangdong 524088, China; 5. South China Sea Biological Resources Development and Utilization Collaborative Innovation Center, Zhanjiang, Guangdong 524088, China)

Abstract: Aquatic products are an essential source of nutrition for humans, and their safety has attracted much attention due to the contaminations with pathogenic bacteria. Pathogenic bacteria such as *Vibrio parahaemolyticus*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Shigella* spp. could easily invade aquatic products through water contamination or cross-contamination during processing, causing foodborne diseases and economic losses. This article reviews the contamination routes and hazards of the major pathogenic bacteria in aquatic products, systematically summarizes the properties and application status of both conventional detection techniques (including selective medium method and plate counting method) and novel detection techniques, such as loop-mediated isothermal amplification and recombinase polymerase amplification.

Keywords: aquatic products; pathogenic bacteria; detection technology; rapid diagnosis

在全球食品供应链体系不断深化的背景下,水产品 人类膳食结构的重要组成部分。世界卫生组织(WHO)报
因其富含优质蛋白、必需氨基酸及独特风味特征,已成为 告指出,全球每年因食源性疾病导致的病例超过 6 亿

基金项目:国家科技部国家重点研发计划子课题(编号:2024YFD2401903);海南省重点研发计划项目子课题(编号:ZDYF2024GXJS316);广东省科技支撑“百千万工程”专项资金成果转化项目(编号:2024A0402002);“十三五”国家重点研发计划重点专项(编号:2019YFD0901605)

通信作者:林海生(1985—),男,广东海洋大学副教授,博士。E-mail:haishenglin@163.com

收稿日期:2025-01-23 **改回日期:**2025-06-13

引用格式:许美津,林海生,黄和. 水产品中常见致病菌检测技术研究进展[J]. 食品与机械,2025,41(8):197-205.

Citation: XU Meijin, LIN Haisheng, HUANG He. Research progress in detection techniques of common pathogenic bacteria in aquatic products[J]. Food & Machinery, 2025, 41(8): 197-205.

例^[1]。据报道,截至 2023 年,中国大陆食源性疾病中 27.90% 的病例与水产品污染相关,而食源性致病菌是主要的致病因素之一^[2]。与重金属蓄积、农药残留等化学性风险相比,致病微生物污染具有突发性强、危害直接且经济损失显著等特点,已成为制约水产品产业发展的首要生物性危害因素。

副溶血性弧菌、沙门氏菌、单增李斯特菌、大肠埃希氏菌、金黄色葡萄球菌及志贺氏菌等食源性致病菌进入水产品的途径主要包括养殖水体富营养化、加工过程交叉污染、包装贮藏不当以及人员操作不规范等,这些因素增加了水产品中致病菌的污染风险^[3]。此类污染能引发急性胃肠炎、败血症等临床症状,甚至会危害生命。传统检测技术具有简便、高效、经济的特点,而新兴检测技术能够快速筛查水产品中的有害物质和病原体,满足现场检测需求,有效降低污染风险,保障水产品质量安全。文章拟系统阐述水产品中主要致病微生物的污染特征与致病机制,概述当前水产品中常见致病菌检测技术,并综合分析其灵敏度与适用性,旨在为完善水产品安全控制体系、降低食源性疾病发生率以及提升供应链信任机制提供理论支持。

1 水产品中主要致病菌

水产品中常见致病菌主要包括副溶血性弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*)、沙门氏菌(*Salmonella* spp.)、单增李斯特菌(*Listeria monocytogenes*)、大肠埃希氏菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)及志贺氏菌(*Shigella* spp.)等。

1.1 副溶血性弧菌

副溶血性弧菌是引起食源性疾病的主要致病菌之一,也是中国沿海食物中毒和夏季腹泻的重要致病菌。该菌广泛存在于近海海水及海底沉积物中,不仅会增加海产食品的带菌率,还会污染附近池塘、河流中养殖的淡水鱼、虾、贝类等^[4]。此外,沿海地区携带该菌的食品从业人员、生熟食品工具的交叉使用以及食用未经充分加工的受污染海产品等,均可能引发食物中毒^[5]。副溶血性弧菌引起的食物中毒在细菌性食物中毒中占比较高,其发病机理主要包括:群体感应系统的控制(即通过信号分子调控毒力因子的分泌)、毒力因子(耐热直接溶血素及其相关溶血素)以及倡导感染和炎症反应等,其引起的食物中毒通常是由多方面共同作用的结果^[6]。

1.2 沙门氏菌

沙门氏菌是广泛存在于自然界中的主要食源性致病微生物之一,通过其表面的侵袭因子进入宿主细胞,释放内毒素,引发强烈的炎症反应,导致肠道黏膜损伤和腹泻^[7]。在中国,沙门氏菌引起的食物中毒在细菌性食物中毒中居首位,其感染的症状从轻微的无症状到严重的腹

泻,甚至全身感染,严重者可能导致死亡^[8]。动物性食品是引起沙门氏菌食物中毒的主要食品,其中鱼、虾、贝类等水产品尤为常见。水产品带菌的主要原因是其生长的水环境受到沙门氏菌污染,其次是在加工过程中,可能通过人、苍蝇、鼠类等传播而被污染。沙门氏菌引起的食物中毒是通过其在肠道内的侵袭、繁殖、内毒素和肠毒素的作用,以及宿主的免疫反应共同作用的结果。

1.3 单增李斯特菌

单增李斯特菌是一种广泛存在于土壤、粪便、水及食品加工环境中的食源性致病菌,能够污染包括水产品在内的多种食品^[9]。该致病菌可穿透肠道屏障、胎盘屏障和血脑屏障,引起动物的流产、败血症、脑膜炎等疾病,死亡率高达 20%~30%^[10]。水产品在养殖、加工、运输及销售过程中均存在被单增李斯特菌污染的风险。其污染途径主要包括原料携带(如受污染的养殖水体)、加工环境卫生条件不达标(如设备或人员交叉污染)、包装材料灭菌不彻底等。研究^[11]表明,即食类(如生鱼片、腌制贝类)、冷冻品、生鲜及烟熏水产品因其加工特性易成为单增李斯特菌污染的载体。值得注意的是,进口水产品中单增李斯特菌的污染率显著较高,尤其是源自南美洲部分国家(如巴西、阿根廷)的水产品,这可能与当地卫生监管体系或加工工艺缺陷有关。

1.4 大肠埃希氏菌

大肠埃希氏菌是一种广泛存在于人和动物肠道中的细菌,主要通过粪口途径传播。在水产养殖中,大肠埃希氏菌的污染主要来源于受污染的水源、养殖环境中的粪便以及加工过程中的交叉污染。致病性大肠埃希氏菌,如 O157:H7,可产生强效毒素,损伤肠道内膜,引发严重腹泻、呕吐和血便等症状^[12]。在水产品中,大肠埃希氏菌的污染风险主要集中在生食或未充分加工的水产品上,如贝类(生蚝、蛤蜊、贻贝)、甲壳类(虾、蟹)等。此外,加工过程中的卫生条件不佳,如设备清洁不彻底、人员操作不规范等,也可能导致大肠埃希氏菌污染。

1.5 金黄色葡萄球菌

金黄色葡萄球菌是一种常见的革兰氏阳性球菌,是引起细菌性食源性疾病的重要致病菌之一。该菌的污染风险尤以生食或未经充分加工的水产品(甲壳类、贝类等)为甚。此外,加工过程中的卫生条件不达标亦可导致其传播。金黄色葡萄球菌可产生耐热性肠毒素(staphylococcal enterotoxins, SEs),常规加热难以将其灭活,食用受污染的水产品可能引发食物中毒。临床表现主要包括腹痛、剧烈呕吐、腹泻及脱水,严重者可能出现肌肉痉挛甚至休克,并具有暴发性流行的特点。鉴于其较高的食品安全风险,需采用酶联免疫吸附试验(ELISA)等高灵敏度检测技术进行特异性毒素筛查^[13]。

1.6 志贺氏菌

志贺氏菌是引发细菌性痢疾的主要致病体之一,主要通过受污染的水源、加工环节的交叉感染或从业人员的卫生管理不当进入水产品。该菌能够产生志贺毒素(shiga toxin, Stx),破坏宿主肠道上皮细胞,引发严重腹泻、血便及全身炎症反应,重症病例可能进一步发展为溶血性尿毒综合征(hemolytic uremic syndrome, HUS)^[14]。张欣悦等^[15]研究表明,滤食性水产品(如牡蛎、蛤蜊等)因其摄食水体中的有机颗粒,易富集环境中的志贺氏菌,尤其在污水排放区域或养殖环境受粪便污染的情况下,其污染风险显著增加。此外,即食类水产品(如生鱼片、腌制贝类)若在加工或贮藏过程中卫生条件不达标,亦可能成为志贺氏菌的传播媒介,从而增加食源性疾病的发生风险。

综上,水产品中致病菌的存在会带来严重的食品安全风险。因此,准确检测和识别致病菌的存在对于保障水产品质量和消费者健康至关重要。传统检测技术虽然在一定程度上能够满足需求,但在检测速度、灵敏度和特异性方面存在诸多不足。随着科技的不断进步,新的检测技术不断涌现,为水产品致病菌的快速检测提供了更高效、更精准的手段。

2 传统检测技术

传统的水产品致病菌检测技术主要包括平板计数法和选择性培养基法。平板计数法(GB 4789.2—2016)是通过在适当的培养基上培养样品中的细菌,观察菌落生长情况来定量致病菌的数量。作为微生物检测的“金标准”,许志瑛等^[16]采用平板计数法检测冻鱿鱼中的金黄色葡萄球菌,该方法适用于水产品的日常抽检,能够在常规检测中提供快速而准确的致病菌定量分析。李辉^[17]利用该方法检测贝类(蛤肉)和头足类(冰鲜八爪鱼)样品中的副溶血性弧菌,以评估水产品的总体卫生质量与腐败程度。选择性培养基法是通过在培养基中添加特定抗生素或化学物质,抑制非目标细菌的生长,从而富集目标致病菌^[18]。魏琼等^[19]研制了针对沙门氏菌、志贺氏菌和金黄色葡萄球菌的复合增菌培养基,被广泛应用于鱼、虾类中特定致病菌的检测。该方法侧重于水产品生产和加工环

节中特定致病菌的快速检测,属于传统检测技术。

总体而言,传统的平板计数法和选择性培养基法在水产品致病菌检测中具有直观、准确、操作简便等优点,但也存在检测周期较长(通常24~48 h)、灵敏度较低和易受干扰等局限性(表1)。未来,应开发更快速、灵敏、特异且操作便捷的检测技术,如结合传统培养技术与分子生物学技术,采用生物传感器和便携式检测设备等。此外,应开发集成检测平台以满足水产品领域在食品安全保障、质量控制和风险管理方面的多样化需求。

3 新兴检测技术

3.1 核酸检测技术

核酸检测技术主要包括基因探针技术(gene probe)、16S rRNA(rDNA)技术和基因芯片技术(gene chip)。基因探针技术基于核酸杂交原理,通过标记特异性DNA片段制成探针,能够快速检测水产品中的目标致病菌及其毒素基因^[21]。在毒素基因检测领域,张欣悦等^[15]构建了一种特异性探针杂交体系,成功实现了水产品中志贺氏菌毒素基因的精准定位(灵敏度达10 CFU/mL),为毒素溯源提供了生物学依据;Wang等^[22]针对虾类产品中的沙门氏菌污染问题,开发了一种基于基因探针技术的快速筛查方案,其检测周期较传统平板计数法缩短了75%,显著提升了原料验收环节的质控效率。16S rRNA基因技术是通过利用16S rRNA基因的保守区和可变区设计引物,借助聚合酶链反应(PCR)扩增和测序分析,能够快速鉴定水产致病微生物^[23]。黎炯等^[24]采用16S rRNA技术对鱼类产品中的无乳链球菌进行了检测,该技术具有高选择性和特异性,能够在原料验收环节快速鉴定致病菌,为水产病害的早期诊断和防控提供了重要支持。基因芯片技术是通过将微生物样品DNA扩增后制备荧光标记探针,并与芯片上的寡核苷酸杂交,实现对特定微生物的检测^[25]。Volokhov等^[26]利用该技术成功检测并鉴别了6种李斯特菌,该技术具有高通量、高效性和自动化特性,尤其适用于水产品抽检环节的快速检测。以上3种核酸检测方法具有检测快速、技术要求较高、成本较高等特点(见表2),在水产品致病菌检测中被广泛应用。

表1 传统检测技术

Table 1 Conventional detection techniques

技术	检测致病菌	水产品	加工环节	特点	参考文献
平板计数法	金黄色葡萄球菌、副溶血性弧菌	贝类(蛤肉)、头足类(八爪鱼)	原料验收环节	微生物检测的“金标准”;操作简便;检测周期长(通常24~48 h),定量结果可靠但定性需结合生化鉴定	[16—17]
选择性培养基法	大肠埃希氏菌、沙门氏菌、志贺氏菌、金黄色葡萄球菌、副溶血性弧菌	鱼、虾类	产品生产、加工环节	高效分离,适用范围广;操作复杂(需预增菌和选择性培养),周期长(24~72 h),对营养要求苛刻的致病分离效果有限	[19—20]

表 2 核酸检测技术

Table 2 Nucleic acid testing techniques

技术	检测致病菌	水产品	加工环节	特点	参考文献
基因探针技术	志贺氏菌、沙门氏菌、大肠埃希氏菌、金黄色葡萄球菌	虾、贝类	贮藏与加工环节	高特异性、高通量、快速检测、平行化;对未知病原体检测能力有限、技术要求高、成本较高	[15,21—22]
16S rRNA (rDNA)	鱼类致病菌(无乳链球菌、海豚链球菌等)、沙门氏菌、大肠埃希氏菌	鱼、虾类	原料验收环节	高选择性和特异性;测序成本高,无法区分活菌与死菌(依赖 DNA 提取,无法反映微生物活性状态)	[24,27—28]
基因芯片技术	沙门氏菌、副溶血弧菌、霍乱弧菌、单增李斯特氏菌、金黄色葡萄球菌	鱼、虾、贝类	产品抽检环节	高通量、高效、自动化;对技术误差较敏感、需要提高灵敏度和特异性	[26,29]

总体而言,基因探针技术、16S rRNA(rDNA)技术和基因芯片技术在水产品致病菌检测中均展现出显著的潜力。然而,这些技术也存在各自的局限性,如基因探针技术对未知病原体的检测能力有限;16S rRNA 技术存在难以区分活菌与死菌(依赖 DNA 提取,无法反映微生物活性状态)的缺陷^[27];基因芯片技术对技术误差敏感,需要进一步提高灵敏度和特异性。为了满足水产品致病菌检测的高通量、快速和现场检测需求,未来研究应致力于提高检测技术的灵敏性、特异性和操作的便捷性。

3.2 分子生物学检测技术

分子生物学检测技术主要包括聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)技术和实时荧光定量 PCR(quantitative polymerase chain reaction, qPCR)技术。PCR 技术通过设计特异性引物,扩增目标致病菌的特定基因片段,并利用凝胶电泳等技术检测产物。针对志贺氏菌的分子检测需求,刘淑文等^[30]通过优化 PCR 引物设计,建立了一种覆盖毒素基因的靶向扩增体系(检出限低至 15 CFU/g),为复杂水产品样本的病原鉴定提供了高特异性解决方案;Neogi 等^[31]聚焦副溶血性弧菌的快速筛查难题,构建了多重 PCR 检测平台,该平台可在 4 h 内同步识别菌体及其耐热毒素基因(tdh/trh),检测效率较传统方法提升了 3 倍,该技术适用于水产品原料验收环节中的快速检测。qPCR 技术是在 PCR 技术的基础上发展而来,通过加入荧光标记物实时监测荧光信号,能够检测低丰度致病菌及相关的毒力基因,并提供定量结果。为突破单靶

标检测的技术瓶颈,白瑶等^[32]研发了一种双重荧光 PCR 检测方案,通过 tdh 与 trh 毒力基因的协同扩增,实现了副溶血性弧菌的高通量筛查(灵敏度达 1.5×10^{-4} mg/ μ L),且交叉反应率 $<0.1\%$,为水产加工链的毒素风险分级管控提供了可靠工具。与 PCR 技术相比,qPCR 技术具有更高的灵敏度和准确性^[33]。以上两种分子生物学检测技术具有高灵敏度和快速性等共同点(表 3),可广泛应用于检测水产加工环节中的不同种类致病微生物,在复杂环境中的检测能力优于核酸检测技术。

这些技术的主要优势在于其高灵敏度和特异性,能够快速且有效地识别水产中的多种致病微生物,特别适合于复杂环境中的病原体筛查和多重检测。此外,PCR 和 qPCR 技术在 DNA 污染风险的检测方面也表现出色。然而,这些技术也存在显著局限性,PCR 技术存在 DNA 污染风险,且对温度变化敏感,缺乏质控标准^[34];qPCR 技术容易因引物二聚体或非特异性扩增导致假阳性^[36],从而混淆试验结果。未来的发展将着重提高这些技术的灵敏度和准确性,同时降低对设备和人员的依赖,朝着便捷和现场检测方向发展。

3.3 免疫学检测技术

3.3.1 酶联免疫吸附试验(ELISA) ELISA 以免疫学反应为基础,将抗原和抗体的特异性反应与酶对底物的高效催化作用相结合。ELISA 方法在细胞培养检测中特异性良好,被广泛应用于其他水产品的快速检测^[38]。李国等^[39]采用 ELISA 技术从贝类(文蛤)中分离出致病副溶血

表 3 分子生物学检测技术

Table 3 Molecular biology detection techniques

技术	检测致病菌	水产品	加工环节	特点	参考文献
PCR	沙门氏菌、副溶血性弧菌、单增李斯特菌	鱼、贝类	原料验收与产品抽检环节	高灵敏度、特异性强、速度快、可检测多种病原;存在 DNA 污染风险,且对温度变化敏感,缺乏质控标准	[31,34—35]
qPCR	沙门氏菌、志贺氏菌、副溶血性弧菌、金黄色葡萄球菌	鱼、虾、贝类(牡蛎)	原料验收环节	高灵敏度与定量能力;技术上有多重检测能力的限制,可能因引物二聚体或非特异性扩增导致假阳性	[32,36—37]

性弧菌。该技术具有高敏感性、高通量和简便操作等优点。

3.3.2 免疫荧光技术(IFA) IFA是通过荧光素或荧光蛋白标记抗原或抗体,在短时间内通过荧光显微镜或流式细胞仪检测水产品中的致病微生物^[40],从而有效提高水产品的安全性检测效率。Prossner等^[41]通过构建牡蛎代谢产物中有机污染物的定量检测模型,实现了对痕量污染物的精准识别(检测限低至0.02 mg/kg),显著优化了加工链污染风险预警机制;姚斐等^[42]聚焦水产品致病菌防控需求,开发了一种副溶血弧菌的高通量检测方案,其检测时效较传统方法缩短了60%,特异性达98%。

3.3.3 免疫磁珠分选技术(IMS) IMS是利用磁性颗粒表面的抗体与样品中的致病菌特异性结合,可有效减少非目标菌的干扰,具有高特异性和高效性,常用于检测水产品各个环节的食源性中毒风险^[43]。张凡非等^[44]优化了IMS的抗体修饰工艺(磁性颗粒直径50 nm,抗体包被密度达80%),成功从复杂基质中捕获副溶血性弧菌产毒株,分离效率较传统离心法提升了65%,为毒素溯源研究提供了高纯度样本;朱芳茜等^[45]聚焦肠毒素(SEA、SEB)的快速检测需求,构建了IMS驱动的双信号放大体系,通过抗原—抗体复合物的磁分离与荧光标记联用,将检测灵敏度提升至0.1 ng/mL,实现了水产品加工环节中痕量毒素的精准定量。

3.3.4 免疫胶体金技术(GIA) GIA借助滤膜的毛细管或渗滤作用,使抗原或抗体与膜上包被物结合,再用胶体金标记完成检测,该方法操作简便且迅速。Wang等^[46]针对金黄色葡萄球菌肠毒素的快速筛查需求,开发了一种多价抗体标记的横向流动试纸条,通过胶体金信号强度与毒素浓度的线性关联($R^2=0.99$),可在10 min内完成定性检测(检出限低至5 ng/g),误报率 $<1\%$;Chen等^[47]进一步拓展了GIA的应用范围,设计了副溶血性弧菌特异性探针的双通道检测卡,通过颜色信号区分菌体与毒素污染(特异性 $>98\%$),在虾类养殖场的现场抽检中实现

30 min内同步完成病原鉴定与风险评估,较实验室检测周期缩短了90%,被广泛应用于水产品抽检环节。

以上4种免疫学检测方法均聚焦于检测水产品(如鱼类、贝类)中的病原体或污染物,利用抗体或抗原进行高度特异性的病原体检测,从而确保非目标微生物的干扰最小化(见表4)。然而,这些方法也存在局限性,ELISA技术操作复杂,对于一些难以获得特异性抗体的致病菌,容易出现交叉反应,从而降低特异性和灵敏度^[50];IFA技术对设备要求较高,设备费用较贵;IMS技术需要特定的磁性颗粒,且可能受到样品预处理的限制;GIA技术灵敏度较低,且不适用于所有类型的病原体检测^[51]。未来应逐步完善检测技术,助力水产加工过程中的质量控制与安全管理,提升水产品行业的食品安全标准。

3.4 等温扩增技术

等温扩增技术主要包括环介导等温扩增技术(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)和重组酶聚合酶扩增技术(recombinase polymerase amplification, RPA)。

LAMP为Notomi等^[52]开发的一种在60~65℃等温条件下进行核酸扩增的技术,能够在短时间内高效检测水产品中的致病菌及其携带致病基因。作为一种创新的检测方法,因其操作简单、成本低廉、检测速度快^[53]而备受关注。Poon等^[54]成功运用了LAMP检测系统对SARS冠状病毒进行现场快速诊断,展示了该技术在病毒检测领域的高效应用。高玮^[55]聚焦于食品安全领域,实现了LAMP技术对食品样本中副溶血性弧菌致病性基因的快速检测,为水产品抽检环节提供了便捷、快速的现场检测方案。

RPA技术是在多种酶协同作用下,通过重组酶—引物复合物识别并结合双链DNA上的同源序列,触发链置换反应,在25~42℃的温度区间内可实现靶核酸的扩增^[56]。李达容^[57]针对虾类产品的致病菌污染防控,开发了一种由RPA技术驱动的双靶标检测系统,可在42℃下于30 min内完成副溶血性弧菌与霍乱弧菌的同步识别

表4 免疫学检测技术
Table 4 Immunological detection techniques

技术	检测致病菌	水产品	加工环节	特点	参考文献
ELISA	沙门氏菌、志贺氏菌、病毒	鱼、虾、贝类(文蛤)	原料验收环节	操作简便、灵敏度高、特异性强,适用于大规模样品筛查;易受样品基质干扰(如脂类或色素影响吸光度),且部分致病菌(如单增李斯特菌)抗体特异性不足	[38,45]
IFA	大肠埃希氏菌、副溶血性弧菌	鱼、虾、贝类(牡蛎)	产品加工环节	灵敏、快速、特异性强,能在活细胞中检测;成本高、荧光信号不稳定、定量困难	[41—42]
IMS	沙门氏菌、副溶血性弧菌	鱼、虾、贝类(蛤肉)	原料验收环节	高效、高特异性,减少非目标菌干扰,适用于食源性中毒相关检测;抗体种类不完善	[43—44]
GIA	副溶血性弧菌、沙门氏菌、单增李斯特菌	鱼、虾、贝类	产品抽检环节	简单快速、无需设备,灵敏度高;定量能力差,适合定性或半定量检测,灵敏度较低,适用于高污染样本筛查	[47—49]

(特异性>98%),显著降低了现场检测设备的依赖性;Geng等^[58]通过溶血性基因的引物探针优化,构建了高灵敏度RPA检测体系(检测限低至 1.5×10^3 CFU/g),解决了贝类样本中副溶血性弧菌痕量污染的快速筛查难题。

LAMP技术和RPA技术比传统的PCR技术更简便快

捷,在水产品病原检测中具有显著优势(表5)。这些技术在确保水产品安全 and 质量方面具有重要意义,能够提供快速且准确的病原体检测。未来,这些技术可以显著提高食品安全管理,通过快速响应水产品中可能的污染,如蛤蜊、牡蛎等贝类,降低食源性疾病的风险。

表 5 等温扩增技术

Table 5 Isothermal amplification techniques

技术	检测致病菌	水产品	加工环节	特点	参考文献
LAMP	副溶血性弧菌、志贺氏菌、沙门氏菌、大肠埃希氏菌、病毒	鱼、虾、蟹、贝类(蛤蜊、牡蛎)	水产抽检环节	操作简单,可实现快速高效检验;多重检测能力、标准化流程和检测设备依赖存在局限性	[54-55,59]
RPA	副溶血性弧菌、霍乱弧菌	鱼、虾类	水产加工环节	快速、灵敏和特异性高,无需热循环设备;对引物设计有严格要求且易受杂质的影响	[57-58,60]

4 总结与展望

水产品中常见致病菌的检测技术在保障食品安全方面起着至关重要的作用。传统检测技术(平板计数法和选择性培养基法)尽管准确性较高,但在灵敏度、速度和操作复杂性方面存在局限。随着核酸检测技术、分子生物学检测技术、免疫学检测技术以及等温扩增技术的发展,新兴技术为水产品的快速、灵敏检测提供了更高效的手段。尽管这些新技术具有显著优势,但仍面临设备要求高、操作复杂、成本较高等挑战。未来的研究方向应集中于提高这些技术的灵敏度、特异性、适应性以及实现更广泛的现场检测应用。

未来,水产品致病菌的检测技术将朝着更高灵敏度、更强特异性和更便捷的方向发展。等温扩增技术(如LAMP、RPA)结合CRISPR-Cas系统(如Cas12a/13a),实现致病菌及其毒力基因的同步检测。基因芯片和高通量测序技术的引入,进一步拓展了检测维度,可同步识别水产品中的多种致病菌及其耐药基因。PCR技术由于能够检测极低数量的致病菌,在食品安全领域具有很大潜力,与微流控技术的结合,有望实现小型化、便携式检测设备,使操作更简单、成本更低。总体来看,未来水产品致病菌检测技术的发展将更加高效、低成本,并逐步向多靶标联检、自动化和智能化方向迈进,以满足复杂场景下的食品安全监测需求。

参考文献

[1] WHO. Media centre 2017: foodsafety[EB/OL]. (2017-10-26) [2024-12-25]. <http://who.int/mediacentre/factsheets/fs399/en/>.
[2] 范鹏辉,李红秋,褚遵华,等. 2023 年中国大陆食源性疾病暴发监测结果分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2024, 36(10): 1 199-1 208.
FAN P H, LI H Q, ZHU Z H, et al. Analysis of foodborne diseases outbreak surveillance in China's Mainland, 2023[J].

Chinese Journal of Food Hygiene, 2024, 36(10): 1 199-1 208.
[3] ZHOU Q J, LU J F, SU X R, et al. Simultaneous detection of multiple bacterial and viral aquatic pathogens using a fluorogenic loop-mediated isothermal amplification-based dual-sample microfluidic chip[J]. Journal of Fish Diseases, 2021, 44 (4): 401-413.
[4] 李红秋,郭云昌,刘志涛,等. 2022 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, 2024, 36(8): 962-967.
LI H Q, GUO Y C, LIU Z T, et al. Analysis of foodborne disease outbreaks in China's mainland in 2022[J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2024, 36(8): 962-967.
[5] 孙健,张强,陈凤萍,等. 一起副溶血性弧菌食物中毒事件溯源调查[J]. 中国预防医学杂志, 2021, 22(3): 238-240.
SUN J, ZHANG Q, CHEN F P, et al. Traceability investigation of a *Vibrio parahaemolyticus* food poisoning incident[J]. Chinese Preventive Medicine, 2021, 22(3): 238-240.
[6] 赵燕妮,武若冰,余瑞,等. 代谢组学在食源性致病菌研究中的应用进展[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(22): 311-317.
ZHAO Y N, WU R B, YU R, et al. Application of metabolomics in the study of foodborne pathogenic *Vibrio* spp. [J]. Food and Fermentation Industries, 2023, 49(22): 311-317.
[7] IBRAHIM M M, JUSOH M B, FARID Z C R, et al. Salmonella serovars trend in poultry Malaysia from 2011 to 2020[J]. Veterinary Research Communications, 2024, 48(3): 791-802.
[8] 卢奕,刘海泉,赵勇,等. 食源性致病菌生长异质性对风险评估的影响[J]. 食品与机械, 2018, 34(5): 164-168.
LU Y, LIU H Q, ZHAO Y, et al. The influence of foodborne pathogens growth heterogeneity on risk assessment[J]. Food & Machinery, 2018, 34(5): 164-168.
[9] LANGMEAD B, SALZBERG S L. Fast gapped-read alignment with bowtie 2[J]. Nature Methods, 2012, 9(4): 357-359.
[10] 陈平亚,何翠华,张亮亮,等. 单核细胞增生李斯特菌 LAMP 检测方法的建立及应用[J]. 安徽农业科学, 2023, 51(10): 74-78.
CHEN P Y, HE C H, ZHANG L L, et al. Development of a

- loop-mediated isothermal amplification method for rapid detection of *Listeria monocytogenes*[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2023, 51(10): 74-78.
- [11] 陈健舜, 江玲丽, 吕永辉, 等. 水产品中单增李斯特菌的分子流行病学特征与致病力研究[J]. *中国食品学报*, 2013, 13(9): 182-189.
- CHEN J S, JIANG L L, LV Y H, et al. Molecular epidemiology and pathogenic potential of *Listeria monocytogenes* in aquatic products[J]. *Chinese Journal of Food Science*, 2013, 13(9): 182-189.
- [12] RAJAPAKSHA P, ELBOURNE A, GANGADOO S, et al. A review of methods for the detection of pathogenic microorganisms[J]. *The Analyst*, 2019, 144(2): 396-411.
- [13] 黄欣悦, 陈娟, 马欣玥. 食品中金黄色葡萄球菌定量风险评估的研究进展[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(22): 390-397.
- HUANG X Y, CHEN J, MA X Y. Research progress of quantitative risk assessment of *Staphylococcus aureus* in food [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2021, 42(22): 390-397.
- [14] ALPHONSE N, ODENDALL C. Animal models of shigellosis: a historical overview[J]. *Current Opinion in Immunology*, 2023, 85: 102399.
- [15] 张欣悦, 杨钰娟, 孔祥翔, 等. 重组酶介导的等温扩增结合 CRISPR/Cas12a 检测志贺氏菌和克罗诺杆菌[J]. *食品安全质量检测学报*, 2024, 15(11): 35-44.
- ZHANG X Y, YANG Y J, KONG X X, et al. Detection of shigella and cronobacter using recombinase-aided amplification combined with CRISPR/Cas12a[J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2024, 15(11): 35-44.
- [16] 许志瑛, 厉君悄, 夏苗苗, 等. 水产品金黄色葡萄球菌平板计数法结果影响因素分析[J]. *乡村科技*, 2024, 15(9): 155-157.
- XU Z Y, LI J Q, XIA M M, et al. Analysis of factors affecting the results of *Staphylococcus aureus* plate counting method in aquatic products[J]. *Rural Science and Technology*, 2024, 15(9): 155-157.
- [17] 李辉. 进出口水产品中副溶血性弧菌平板计数定量检测方法研究[Z]. 辽宁省, 东港海关综合技术服务中心, 2023-12-14.
- LI H. Research on the quantitative detection method of *Vibrio parahaemolyticus* plate counting in import and export aquatic products[Z]. Liaoning Province, Donggang Customs Comprehensive Technical Service Center, 2023-12-14.
- [18] NORDMANN P, SADEK M, DE LA ROSA J M D, et al. Selective culture medium for screening of fosfomycin resistance in *Enterobacteriales*[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2022, 60(1): e02063-21.
- [19] 魏琼, 陈萍, 刘道文, 等. 沙门菌、志贺菌和金葡萄复合增菌培养基研制[J]. *中国公共卫生*, 2011, 27(6): 807-809.
- WEI Q, CHEN P, LIU D W, et al. Enrichment broth for simultaneous culture of *Salmonella*, *Shigellae*, and *Staphylococcus aureus*[J]. *Chinese Journal of Public Health*, 2011, 27(6): 807-809.
- [20] 易青, 宁喜斌. 沙门菌、金黄色葡萄球菌、副溶血性弧菌的选择性共增菌培养基的研制[J]. *中国食品卫生杂志*, 2023, 35(4): 510-516.
- YI Q, NING X B. Development of selective co-enrichment medium for *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* and *Vibrio parahaemolyticus*[J]. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 2023, 35(4): 510-516.
- [21] OSLAN S N H, YUSOF N Y, LIM S J, et al. Rapid and sensitive detection of *Salmonella* in agro-food and environmental samples: a review of advances in rapid tests and biosensors[J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2024, 219: 106897.
- [22] WANG S, HOU R, BAO Z M, et al. Transcriptome sequencing of Zhikong scallop (*Chlamys farreri*) and comparative transcriptomic analysis with Yesso scallop (*Patinopecten yessoensis*)[J]. *PLoS One*, 2013, 8(5): e63927.
- [23] JIN J S, LIU X D, SHIROGUCHI K. Long journey of 16S rRNA-amplicon sequencing toward cell-based functional bacterial microbiota characterization[J]. *iMetaOmics*, 2024, 1(1): e9.
- [24] 黎炯, 叶星, 卢迈新, 等. 双重PCR快速鉴别无乳链球菌和海豚链球菌[J]. *湖南农业大学学报(自然科学版)*, 2010, 36(4): 449-452.
- LI J, YE X, LU M X, et al. Rapid identification of *Streptococcus agalactiae* and *Streptococcus iniae* with duplex PCR assay[J]. *Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences)*, 2010, 36(4): 449-452.
- [25] 杨文鸽, 孙翠玲, 潘云娣, 等. 水产品中致病微生物的快速检测方法[J]. *中国食品学报*, 2006, 6(1): 402-406.
- YANG W G, SUN C L, PAN Y D, et al. Rapid detection methods of pathogenic microorganism from aquatic foods[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2006, 6(1): 402-406.
- [26] VOLOKHOV D, RASOOLY A, CHUMAKOV K, et al. Identification of *Listeria* species by microarray-based assay[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2002, 40(12): 4 720-4 728.
- [27] 张国林, 苏远科, 沈海英, 等. 16S rRNA/ITS 基因序列分析与微生物分类鉴定及其在药品微生物质量控制中的应用[J]. *中国现代应用药学*, 2017, 34(10): 1 489-1 495.
- ZHANG G L, SU Y K, SHEN H Y, et al. Application of 16S rRNA/ITS sequencing and analysis in the identification, classification of microbial and drug quality control[J]. *Chinese Modern Applied Pharmacy*, 2017, 34(10): 1 489-1 495.
- [28] 叶乃芳, 王中新. 16S rRNA 及相关技术用于临床细菌鉴定的研究进展[J]. *国际检验医学杂志*, 2015, 36(4): 520-522.
- YE N F, WANG Z X. Research progress of 16S rRNA and related technologies in initial bacterial identification[J]. *International Journal of Laboratory Medicine*, 2015, 36(4): 520-522.

- 520-522.
- [29] 李荣荣. 水产品中常见重要致病菌基因芯片技术的研究[D]. 天津: 南开大学, 2011: 20-22.
- LI R R. Research on Genomic chip technology for common important pathogenic bacteria in aquatic products[D]. Tianjin: Nankai University, 2011: 20-22.
- [30] 刘淑文, 丁家旺, 秦伟. 海水中致病菌检测研究进展[J]. 海洋科学, 2017, 41(2): 145-156.
- LIU S, DING J W, QIN W. Research progress in detecting pathogenic bacteria in seawater[J]. Marine Sciences, 2017, 41(2): 145-156.
- [31] NEOGI S B, CHOWDHURY N, ASAKURA M, et al. A highly sensitive and specific multiplex PCR assay for simultaneous detection of *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus*[J]. Letters in Applied Microbiology, 2010, 51(3): 293-300.
- [32] 白瑶, 李斌, 李凤琴, 等. 双重实时荧光PCR检测副溶血性弧菌毒力基因方法的建立和应用[J]. 中国食品卫生杂志, 2022, 34(1): 54-59.
- BAI Y, LI B, LI F Q, et al. Establishment and application of dual real-time PCR for detection of virulence genes of *Vibrio parahaemolyticus*[J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2022, 34(1): 54-59.
- [33] 柳嘉欣. 基于杂交链式反应的病原菌检测技术研究与应用[D]. 海口: 海南大学, 2023: 43-46.
- LIU J X. Research and application of pathogen detection technology based on hybrid chain reaction[D]. Haikou: Hainan University, 2023: 43-46.
- [34] 白亚龙, 索玉娟, 周昌艳. 食源性致病菌PCR检测前处理方法研究进展[J]. 食品与机械, 2017, 33(12): 191-196.
- BAI Y L, SUO Y J, ZHOU Y C. A review of the development in pretreatment methods for PCR detection of food-borne pathogens[J]. Food & Machinery, 2017, 33(12): 191-196.
- [35] 叶云, 容元平. PCR技术检测食品有害微生物的应用[J]. 食品与机械, 2007, 23(2): 98-101, 117.
- YE Y, RONG Y P. Applications of PCR in the field of foodborne pathogens[J]. Food & Machinery, 2007, 23(2): 98-101, 117.
- [36] 彭琳媛, 林洪, 王静雪. PMA-qPCR定量检测VBNC副溶血弧菌方法的建立与优化[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(1): 247-252.
- PENG L Y, LIN H, WANG J X. Development and optimization of PMA-qPCR for the quantitative detection of viable but non-culturable *Vibrio parahaemolyticus*[J]. Food and Fermentation Industries, 2022, 48(1): 247-252.
- [37] 高林晨萌, 叶华, 黄圣博, 等. 核酸适配体在食品危害物多靶标检测中的应用进展[J]. 食品与机械, 2021, 37(4): 217-225.
- GAO L M C, YE H, HUANG S B, et al. Recent advances in simultaneous detection of food hazards based on aptasensor[J]. Food & Machinery, 2021, 37(4): 217-225.
- [38] 廖小艳, 陈丽丽, 白亚龙. 食品中诺如病毒检测技术研究进展[J]. 食品与机械, 2021, 37(4): 200-206.
- LIAO X Y, CHEN L L, BAI Y L. The progress of detection methods for norovirus in foods[J]. Food & Machinery, 2021, 37(4): 200-206.
- [39] 李国, 闫茂仓, 常维山, 等. 文蛤副溶血弧菌间接ELISA检测技术的研究[J]. 海洋通报, 2008, 27(5): 85-90.
- LI G, YAN M C, CHANG W S, et al. Study on indirect ELISA method for detecting *Vibrio parahaemolyticus* in hard clam meretrix meretrix linnaeus[J]. Marine Science Bulletin, 2008, 27(5): 85-90.
- [40] DU Z H, LIN S H, LI J L, et al. Nano-gold-enhanced LAMP method for qualitative visual detection of *Salmonella* in milk[J]. Mikrochimica Acta, 2022, 189(9): 365.
- [41] PROSSNER K M, SMALL H J, CARNEGIE R B, et al. Immunofluorescence visualization of polycyclic aromatic hydrocarbon mixtures in the eastern oyster crassostrea virginica[J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2023, 42(2): 475-480.
- [42] 姚斐, 寇运同, 陈刚, 等. 间接免疫荧光抗体技术检测活的非可培养状态的副溶血弧菌[J]. 海洋科学, 2000, 24(9): 10-12.
- YAO F, KOU Y T, CHEN G, et al. Detection of viable but non-culturable *Vibrio parahaemolyticus* by indirect immunofluorescent antibody technique[J]. Marine Sciences, 2000, 24(9): 10-12.
- [43] CHANG C R, VYKUNTA V S, LEE J H J, et al. SEED-Selection enables high-efficiency enrichment of primary T cells edited at multiple loci[J]. Nature Biotechnology, 2025, 43(2): 212-222.
- [44] 张凡非, 杉山宽治, 西尾智裕, 等. 利用免疫磁珠法分离环境及食品中产生TDH副溶血性弧菌的研究[J]. 中国卫生监督杂志, 2004, 11(1): 7-9.
- ZHANG F F, SHAN S K Z, XI W Z Y, et al. Study of isolating WTBX *Vibrio parahaemolyticus* WT BZ producing TDH from environmental materials and food using immunomagnetic separation method[J]. Chinese Journal of Health Inspection, 2004, 11(1): 7-9.
- [45] 朱芳茜, 何扩, 张秀媛, 等. 水产品中志贺氏菌双抗夹心ELISA检测方法建立与应用[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(4): 156-160.
- ZHU F Q, HE K, ZHANG X Y, et al. Establishment and application of double antibody sandwich ELISA to detect shigella in aquatic[J]. Food Research and Development, 2021, 42(4): 156-160.
- [46] WANG Z H, BU T, SHAO B, et al. Integration of a new generation of immunochromatographic assays with nanomaterials for point-of-care testing[J]. Trends in Analytical Chemistry, 2024, 174: 107220.
- [47] CHEN Y K, YU G X, KANG H T, et al. Duplex in-one-tube detection of two important shrimp farming pathogens with

- color indication using a method combining RPA and PfAgo[J]. Aquaculture, 2025, 597: 741949.
- [48] 夏诗琪, 徐超莲, 刘道峰, 等. 胶体金免疫层析法联检食品中 5 种典型沙门氏菌模型的建立和优化[J]. 食品科学, 2014, 35 (22): 154-158.
- XIA S Q, XU C L, LIU D F, et al. Preparation and optimization of colloidal gold strip for simultaneously detecting five typical salmonella in foods[J]. Food Science, 2014, 35(22): 154-158.
- [49] 谢士嘉, 王静, 王振国. 利用胶体金免疫层析技术快速定量检测单增李斯特菌方法的建立[J]. 中国国境卫生检疫杂志, 2010, 33(2): 126-129.
- XIE S J, WANG J, WANG Z G. Rapid and quantitative detection of listeria monocytogenes using colloid gold immunochromatographic method[J]. Chinese Journal of Frontier Health and Quarantine, 2010, 33(2): 126-129.
- [50] ZHU N F, LI X S, LIU Y, et al. Dual amplified ratiometric fluorescence ELISA based on G-quadruplex/hemin DNAzyme using tetrahedral DNA nanostructure as scaffold for ultrasensitive detection of dibutyl phthalate in aquatic system [J]. Science of the Total Environment, 2021, 784: 147212.
- [51] 李宏, 付冠艳, 付淑君, 等. 胶体金免疫层析技术在食源性致病菌快速检测中的应用[J]. 食品与机械, 2013, 29(3): 261-264.
- LI H, FU G Y, FU S J, et al. Application of colloidal gold immunochromatography technique for rapid detection of food-borne pathogens[J]. Food & Machinery, 2013, 29(3): 261-264.
- [52] NOTOMI T, OKAYAMA H, MASUBUCHI H, et al. Loop-mediated isothermal amplification of DNA[J]. Nucleic Acids Research, 2000, 28(12): E63.
- [53] 徐芊, 孙晓红, 赵勇, 等. 利用环介导等温扩增技术快速检测水产品中的副溶血弧菌[J]. 农业生物技术学报, 2008, 16(5): 780-786.
- XU Q, SUN X H, ZHAO Y, et al. Rapid detection of vibrio parahaemolyticus in seafood using loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method[J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2008, 16(5): 780-786.
- [54] POON L L M, LEUNG C S W, TASHIRO M, et al. Rapid detection of the severe acute respiratory syndrome (SARS) coronavirus by a loop-mediated isothermal amplification assay [J]. Clinical Chemistry, 2004, 50(6): 1 050-1 052.
- [55] 高玮. 副溶血弧菌常规调查及其 3 种基因 (tlh, tdh 及 trh) LAMP 检测方法的研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2011: 3-6.
- GAO W. Routine investigation of *Vibrio parahaemolyticus* and detection of 3 kinds of gene in *Vibrio parahaemolyticus* by Loop mediated isothermal amplification (LAMP) [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2011: 3-6.
- [56] TAN M Y, LIAO C, LIANG L N, et al. Recent advances in recombinase polymerase amplification: principle, advantages, disadvantages and applications[J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2022, 12: 1019071.
- [57] 李达容. 水产品中副溶血性弧菌和霍乱弧菌 RAA-LFD 快速检测方法的建立与应用研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2022: 33-34.
- LI D. R. Establishment and application of rapid detection methods for *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio cholerae* using RAA-LFD in aquatic products[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2022: 33-34.
- [58] GENG Y Y, TAN K, LIU L B, et al. Development and evaluation of a rapid and sensitive RPA assay for specific detection of *Vibrio parahaemolyticus* in seafood[J]. BMC Microbiology, 2019, 19(1): 186.
- [59] 姜侃, 张慧, 汪新, 等. 多重 LAMP-熔解曲线法检测食品中两种食源性致病菌[J]. 食品与机械, 2015, 31(2): 87-92.
- JIANG K, ZHANG H, WANG X, et al. Development of multiplex LAMP combined with melting curves analysis for detection of two kinds of food borne pathogens[J]. Food & Machinery, 2015, 31(2): 87-92.
- [60] 唐毓祎. 水产品弧菌的等温核酸扩增可视化检测方法的建立与应用[D]. 上海: 上海海洋大学, 2017: 27-28.
- TANG Y Y. Development and application of colorimetric detection of *Vibrio* in seafood based on isothermal amplification techniques[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2017: 27-28.