

海产品副溶血性弧菌控制研究进展

Research progresses of intervention strategies for reducing

Vibrio parahaemolyticus in seafood

全沁果^{1,2} 莫日坚^{1,2} 谭力^{1,2} 闫协民^{1,2}

QUAN Qin-guo^{1,2} MO Ri-jian^{1,2} TAN Li^{1,2} YAN Xie-min^{1,2}

苏添添^{1,2} 周春霞^{1,2} 洪鹏志^{1,2} 李承勇^{1,2}

SU Tian-tian^{1,2} ZHOU Chun-xia^{1,2} HONG Peng-zhi^{1,2} LI Cheng-yong^{1,2}

(1. 广东海洋大学食品科技学院, 广东 湛江 524088; 2. 广东海洋大学深圳研究院, 广东 深圳 518108)

(1. College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang, Guangdong 524088, China;

2. Shenzhen Research Institute of Guangdong Ocean University, Shenzhen, Guangdong 518108, China)

摘要:副溶血性弧菌是引起海产品食物中毒的主要致病因子。文章拟从物理、化学和生物三个方面对海产品中的副溶血性弧菌现有的控制措施进行概述,并展望未来的发展方向,以期对相关技术的应用和后续研究提供借鉴。

关键词:副溶血性弧菌;海产品;控制措施

Abstract: *Vibrio parahaemolyticus*, a natural inhabitant in estuarine marine water has been frequently isolated from seafood, and causes huge economic losses. It has been recognized as the leading causative agent for seafood borne illness all over the world. Numerous physical, chemical, and biological intervention methods for reducing *V. parahaemolyticus* in seafood products have been investigated and practiced. Each intervention method has distinct advantages and disadvantages depending on the processing needs and consumer preference. This review provides a comprehensive overview of various intervention strategies for reducing *V. parahaemolyticus* in seafood so as to give a reference to the application of related technology and subsequent research.

Keywords: *Vibrio parahaemolyticus*; seafood; intervention strategies

海产品作为一类营养价值较高的食材,是人类日常膳食结构的重要组成部分。根据粮农组织(FAO)调查显示,世界

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863计划)项目(编号:2013AA102201);国家自然科学基金青年基金(编号:21405024);湛江市科技计划项目(编号:2015A03025);湛江市科技计划项目(编号:2016C01002)

作者简介: 全沁果,男,广东海洋大学在读硕士研究生。

通信作者: 李承勇(1985—),男,广东海洋大学副教授,博士。

Email: cyli_ocean@163.com

收稿日期: 2017-05-02

范围内的海产品总供应量在过去的几十年内稳步增长^[1-2]。同时海产品也是致病微生物的重要载体,会对人体健康造成危害^[3]。据调查^[4],海产品引起食物中毒的细菌病原体已超过 10 个种属,包括弧菌属(*Vibrio spp.*)、单核细胞增多性李斯特菌(*Listeria monocytogenes*)、肉毒杆菌(*Clostridium botulinum*)、气单胞菌属(*Aeromonas spp.*)、沙门氏菌(*Salmonella spp.*)和大肠杆菌(*Escherichia coli*)O157:H7 等,其中 *Vibrio spp.* 是当前主要的风险评估指标。弧菌归为弧菌科,目前已鉴定出近 120 个种,其中至少 13 个种对人类具有致病性,而副溶血弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*, *Vp*)在其中最具有代表性^[5-6]。*Vp* 是一种革兰氏阴性菌,具有鞭毛,多呈棒状或弯曲形态,已知最适生长条件为 NaCl 浓度 2.5%~3.0%,温度 30~35 °C, pH 8 左右^[7-8]。该菌广泛分布于海洋环境中,并可从多种海产品中分离得到^[9]。表 1 列举了部分国家食用海产品导致的 *Vp* 中毒的发病率。

近年来,国内外学者对海产品中 *Vp* 的控制措施研究取得了很大进展,本文拟对其进行综述,并对未来的发展方向进行展望,以期科学防控海产品中 *Vp* 所诱发的食源性疾病提供参考。

1 物理控制法

海产品中 *Vp* 的物理控制法主要包括净化、温控、辐射和高压处理等。工业上常借助海产品的自身滤食作用进行暂养和净化,但该方法只能在一定程度上降低病菌的风险。

1.1 净化

海产品收货后选择合适的净化方法可有效减少其病原体的携带量,并延长其货架期。通常将海产品置于再生海水装置中,使其在清洁的海水中净化细菌^[16]。然而,由于细菌

表1 部分国家海产品 *Vp* 发病率举例Table 1 Examples of the incidence of *Vibrio parahaemolyticus* in seafood around the countries

国家	海产品	发病率(阳性样品/样品总数)/%	文献来源
中国	鱼类	32.6(47/144)	[10]
	虾类	52.8(67/127)	
美国	贝类	63.3(13/90)	[11]
	阿拉巴马牡蛎	100.0(16/16)	
葡萄牙	鱼类	35.0(7/20)	[12]
	母鸡蛤	94.7(72/76)	
日本	短颈蛤	100.0(30/30)	[13]
	马鲛鱼	85.8(6/7)	
希腊	鱼类	14.0(14/101)	[12]
新西兰	太平洋牡蛎	94.8(55/58)	[14]
意大利	贝类	32.6(47/144)	[15]

在海产品肠道中的定植作用,使得其在再生水装置中的自然净化作用非常有限^[17]。为获得更好的脱毒效果,有必要与其他处理方式联用,例如制冷、紫外线和消毒剂等^[18]。该法的缺点是占用空间大、净化周期长且脱除 *Vp* 的能力有限,但由于操作简单、成本合理,目前仍然得到了较多的关注。

1.2 温控

温度的变化对 *Vp* 的生长和存活可产生显著影响,其繁殖能力与一定范围水温(4~37 °C)呈正相关效应,主要是调控 *Vp* 生物膜形成的强度来增强 *Vp* 对环境的适应力^[19]。可见适度的热处理或冷藏,可以有效地降低海产品中 *Vp* 的污染水平。而高温处理会对海产品的品质产生极大影响,因此轻度热处理技术的开发受到了更多关注。研究发现,将带壳牡蛎置于 55 °C 水中保持 5 min 后(牡蛎内部温度升高至 48~50 °C),其 *Vp* 菌落总数从 10⁵ CFU/g 下降至不可检出水平(<9 CFU/g)^[20];海产品中 *Vp* 的最低生长温度在 10 °C 左右,低于该值,其数量将呈现负增长^[21]。但也有例外,例如螃蟹在冷藏期间其携带 *Vp* 可能仅受到亚致死损伤而不足以失活,温度升高后会恢复自身活力,因此建议在收货后将海产品快速冷却,并在食用前充分煮透以减少安全隐患^[22]。该方法的缺点是能耗较高,对海产品品质的影响较大。但由于在运输中方便使用,因此也受到了一定的关注。

1.3 辐射

辐照技术被认为是一种非热物理干预技术,最初用于对腐败微生物进行灭活处理来延长食品的贮藏期。伽马射线、电子束和 X 射线等电离辐射技术已发展成为杀灭食物中病原体的有效措施,可有效防止食源性疾病的发生^[23]。已有研究^[24]证实,控制伽马射线辐照剂量为 1.0~1.5 kGy 时,在有效杀灭牡蛎肉中 *Vp* 的同时对其感官影响不显著($P < 0.001$)。伽马射线的杀菌机理是对生物体 DNA 造成直接损伤,使 *Vp* 不能进行生长、繁殖等生命活动,且其易受相对低的辐照剂量(<3 kGy)的影响,在该辐照剂量下,海产品中 *Vp* 的残留量大幅减少^[25]。但目前,辐照技术对食品本身风

味的负面影响仍有待进一步优化。同样,将辐照用于海产品净化的平台要求较高,离产业化利用尚存在一定距离。

1.4 超高压

高压(100~900 MPa)是一种非热杀菌手段,可破坏海产品中的病原菌,延长其保质期。资料^[26]显示,高压处理下病原菌细胞膜被破坏、细胞形态和内部组织发生变化、DNA 降解。此外,由于革兰氏阴性细菌细胞膜的复杂性,更易对高压的胁迫产生响应^[27]。其中 *Vibrio spp.* 可以通过 100~350 MPa 的压力处理而失活,与其他病原体(如李斯特菌属)相比对压力相对敏感^[28]。*Vp* 接种量为 10⁷ CFU/g 的牡蛎肉在 350 MPa 下处理 6 min 后,已检测不到 *Vp* 残留,但牡蛎肉出现褪色、变软等现象^[29];将牡蛎在 1.5 °C 下 250 MPa 的压力场处理 5 min 后,体系的 *Vp* 净化效果与之相似,且处理后牡蛎肉的品质有了一定提升^[30]。为了进一步提升高压处理对海产品中致病微生物的灭活效果,酸性电解水被引入到虾仁压力场净化系统中,相同压力下相对于单纯采用静高压处理人工污染 *Vp* 的虾仁,其杀菌能力可提高约 1.2 个数量级,对李斯特菌的灭活效果亦有一定加强^[31]。总体而言,高压处理在海产品 *Vp* 非热灭活中有着良好的发展前景,且能与其他手段联用而产生协同效应,近年来成为了海产品加工领域课题中的一个热点。

目前,单纯的物理控制法对 *Vp* 的脱除效果有限。而近年来备受关注的辐照技术由于对海产品本身风味会产生不良影响、超高压协同低温处理由于条件要求严格且成本过高的特点,使得这些新技术离实际应用尚存在一定距离,需要进一步探讨其产业化出路。

2 化学控制法

化学控制法主要包括电解氧化水、氯合物、有机酸、壳聚糖和植物精油等。工业上常用臭氧发生器产生臭氧和海产品吐砂净化过程中添加柠檬酸来减少海产品中 *Vp* 的污染水平,但在杀菌效果和作用时效性方面有一定的局限性,需要对化学控制手段进一步优化。

2.1 电解氧化水

电解氧化水首先被日本开发并用于医疗用途,后逐渐作为新型抗菌剂加入到食品中。其抑菌的机理与功效和体系 pH、氧化还原电位及氯含量有关。高氧化还原电位可通过损害细胞的外膜和内膜来诱导大肠杆菌坏死,而体系中加入的 HOCl 被认为是影响杀菌能力的主要因素^[32-33]。与其他化学消毒剂相比,电解氧化水的主要优点是环境友好、经济成本低,且对人体健康无不利影响^[34]。配合高压场后,其能对虾仁中 *Vp* 的灭活产生协同效应^[31]。而在活蛤和贻贝的 *Vp* 净化中则要求 HOCl 的有效浓度范围为 10~20 mg/L,对应 pH 为 3.10~3.55、氧化还原电位为 950~1 150 mV^[35]。而如果不连续供应 H⁺、HOCl 和 Cl₂,则该溶液将迅速丧失其抗微生物活性,因此制约了其在食品工业中的应用。但为短期内的海产品保存,尤其是为运输过程中 *Vp* 的控制提供了途径。

2.2 二氧化氯

氯在 1897 年首次被作为消毒剂用于污水处理,1935 年

开始尝试用于海产品的去污净化^[36]。研究^[37]表明,当用 0.05%浓度的 ClO₂处理人工污染虾(用 10⁸ CFU/mL 的 *Vp* 悬浮液接种)30 min 后,超过 90%的 *Vp* 可以被杀死。但氯对健康的潜在风险被研究者逐渐发现:①长时间的接触会对相关行业工作者的呼吸系统造成严重危害^[38];②氯与食品中的有机成分反应时产生的副产物三氯甲烷(THM)具有致突变的潜在风险^[39]。ClO₂对食源性病原体具有很强的杀菌能力,并且已广泛用作氯的替代消毒剂^[40]。美国环境保护署(EPA)对 ClO₂的安全性进行了两代繁育研究,发现人体可接受的 ClO₂摄入量为 0.03 mg/(kg·d)^[41]。ClO₂已被欧盟和美国批准用于饮用水和生鲜产品加工^[42]。目前中国现行国标允许 ClO₂在食品中使用,但近年来发现的潜在风险使其使用性存在一定争议。

2.3 有机酸

乳酸、苯甲酸和乙酸等已被作为防腐剂用于延长易腐食品的保质期^[43]。但由于病原菌代谢工程的复杂性,其抑制机制尚有待研究。较多的观点认为有机酸能够穿透脂质膜并在细胞中解离成阴离子和质子,打破了病原菌内环境的酸碱平衡而使得其代谢失调,待内化进入病原菌后,有机酸可以增加细胞的渗透压,抑制宿主的生物大分子合成并诱导产生抗微生物肽^[44-45]。其中乳酸是被报道的常见海产品中 *Vp* 消毒剂成分,将鲜虾置于含 3%乳酸体系中即可使 *Vp* 菌落总数下降约 2 个数量级^[46];而将人工污染的贻贝在 1%乳酸中处理 15 min, *Vp* 可减少约 3.4 个数量级^[47]。此外,苯甲酸-柠檬酸混合体系对腌制虾中的 *Vp* 亦具有一定的净化作用^[48]。但有机酸抑制 *Vp* 的能力有限,需要与其他方法联合来提高净化效果,优化成本。

2.4 壳聚糖

壳聚糖主要由 2-氨基-2-脱氧-D-葡萄糖组成,是含有甲壳素的生物壳脱乙酰化衍生的生物聚合物,起初被认为涂膜至食品表面后能产生较强的抑菌作用,通过几十年的发展,已开发成为对细菌、真菌和酵母菌广泛有效的天然食品防腐剂^[49]。目前已有 2 种假说解释壳聚糖的抑菌机理:①被多数认可的是带正电荷的壳聚糖分子可与带负电荷的细胞膜反应使其胞内功能组件外流,从而导致细胞失活;②壳聚糖可与病原体中 DNA 结合,引起 mRNA 和蛋白质合成^[50-51]。壳聚糖的抗 *Vp* 作用取决于其分子量、脱乙酰度、细菌菌株和食物基质^[52]。随着纳米技术的发展,壳聚糖纳米颗粒已被成功开发成鱼类 *Vp* 疾病的基因疫苗载体^[53],是未来继续深入研究的切入点。

2.5 植物精油

精油是从植物蒸馏获得的天然提取物,常见的植物来源有香料、香草、大蒜等。与人工化学品或合成添加剂相比,精油已被公认为是对各种病原体有效的去污剂,而对人体健康没有不利影响^[54]。精油中的酚类物质主要发挥抗微生物活性的作用,至今鉴定的单体结构已超过 60 种^[55]。但由于精油成分的复杂性,作用机制至今尚未完全明确。生姜和芥末精油在 5℃下对比目鱼生鱼片中 *Vp* 有抑制作用,在 20℃下则效果不显著,难以在海产品加工链中推广^[56]。相对而言,

葡萄籽提取物的效果较好,向太平洋牡蛎生活环境中加入 1.5%总酚含量为 3.1 mg/mL 的葡萄籽提取物,并将温度控制在 12.5℃净化 2 d 后,其 *Vp* 的菌落总数下降幅度可超过 3.52 个数量级^[57]。精油抗菌作用模式可能归因于精油的疏水性,破坏了 *Vp* 细胞膜和线粒体的脂质,干扰正常结构的同时使得其抗菌成分渗透病原体^[58]。由于精油的过量使用会对海产品本身的风味产生影响,且其难以在海产品中的分子、离子通道中实现传输,故可利用纳米微乳技术来减少精油的用量,提高其在海产品肉体中的传输效率。

化学控制法由于具有操作简单、成本低、受限条件相对较少等优点,逐步受到了研究人员和相关企业的重视。相对于传统的化学合成消毒剂,一些对 *Vp* 具有抑制活性的天然产物受到了业内人士的关注,因其具有安全性高并能对人体健康产生增益的特点,使得近年来的开发力度迅速提高。除了本文所述对海产品 *Vp* 控制发挥作用的天然成分,一些常见的香辛料如生姜、肉桂、甘草和豆蔻等最近也被证实对 *Vp* 具有一定的抑制作用^[59-60],若能应用至海产品 *Vp* 控制中可进一步提高相关产品与消费者感官的相容性。此外,将化学消毒剂与物理控制法、生物控制法联用亦有望在提升减菌效果的同时优化控制成本。这些都是未来发展的方向。

3 生物控制法

生物控制法一般是指将一些能对 *Vp* 产生拮抗作用的益生菌和噬菌体加入到海产品净化体系中,具有专一性强、见效迅速的特点。但微生物的生长条件较为苛刻,目前该领域的成果在实际应用上尚处于起步阶段,距大规模应用还有一定距离。

3.1 益生菌

益生菌是当以足够的量作为膳食的一部分摄入时能对宿主产生健康益处的一类微生物,作为饲料添加剂使用时还可促进水生动物的健康^[61]。益生菌可破坏病原菌的毒力基因表达、附着和细胞间传递,其机理可能归因于所产生的抑制性化合物,包括溶解性化合物、酶、铁螯合化合物、抗生素、过氧化氢、有机酸和细菌素等^[62]。其中产生细菌素的乳酸菌被认为是海产品养殖中主要的益生菌,对 *Vp* 存在良好的抑制效果^[63]。近年来发现,对受人工污染 *Vp* 的螃蟹投喂芽孢杆菌也能促进其免疫基因的表达,减少患病率^[64],但其用量和最适条件,以及适用的对象仍需要进一步优化。

3.2 噬菌体

噬菌体作为一类病毒入侵细菌细胞后,其核酸通过自我复制引起细菌的裂解^[65]。基于噬菌体的添加剂在 2006 年被美国 FDA 批准用于控制食品中的单核细胞增生李斯特菌后,噬菌体作为生物防治剂的应用呈上升趋势^[66]。近年来,噬菌体被证实可有效地控制大肠杆菌 O157:H7、沙门氏菌、弯曲杆菌、单核细胞增生李斯特菌和金黄色葡萄球菌等^[67]。研究发现,在海水温度为 16℃、噬菌体用量为 0.1 个感染复数(MOI)下处理 36 h 后,人工污染的牡蛎中 *Vp* 指标可降低 2.5 个数量级左右^[68];凡纳滨对虾在感染 *Vp* 6 h 内提供 0.1 MOI 的噬菌体即可逆转 *Vp* 感染进程,在感染 6 h 以后使用也能延迟感染进程,降低对虾死亡率^[69]。但也有研

究^[70]指出,将噬菌体应用到虾池中对有益微生物菌群存在负面影响,因此还需要大量的后续工作进一步筛选出对 *Vp* 专一性强且负面作用小的噬菌体。最近有研究人员^[71]筛选得到了一株 *Vpp2* 噬菌体,分别以 10 MOI 的用量在 30, 37 °C 的蛤蜊生长环境中处理 6 h, *Vp* 的指标分别下降了 4.2, 6.0 个对数指标,体现了很强的净化效率。噬菌体一般具有显著的宿主特异性,而具有 *Vp* 特异性的噬菌体在海洋环境中分布广泛^[72]。虽然目前将噬菌体作为抗微生物剂尚处于研究阶段,但基于近几年的研究热度,其有望成为海产品中 *Vp* 控制的替代干预技术。

通过添加生物制剂控制海产品中 *Vp* 是一类新兴手段,目前存在一些应用层面的技术瓶颈。例如:海洋动物实际生活环境与人为试验的条件出入甚大,需要探讨如何设计在技术放大的过程中对生物制剂功效的保护措施;不同方法之间的联用往往可以获得协同减菌效果,但一些物理和化学处理对生物制剂的活性也存在负面影响,这也是实际中技术应用与优化过程中需要考虑的问题,需要科研工作者与企业管理人员密切对接。

4 展望

Vp 广泛分布在海洋环境中,经常与食用海产品的疾病爆发有关,对公众健康构成严重危险。传统的物理干预方法,例如热处理和高压处理,对海产品中的 *Vp* 实现有效灭活处理的同时,可能会诱导产生不良风味和气味,无法达到消费者能接受的感官需求。通过化学提取与生物方法制备的天然抗菌剂在控制海产品 *Vp* 中的应用势必增加,因为消费者对海产品的生鲜度要求较高,且合成抗微生物剂的使用越来越受限。为了最大限度地减少 *Vp* 对人类健康的危害,同时保持海产品的风味和营养,未来有关其控制措施的研究需从以下领域努力。

(1) 基于非热物理防控措施低成本、易于使用并且几乎不干扰感官性质的特点,应将现代新技术用于海产品洗涤过程期间灭活 *Vp*,如脉冲电场、振荡磁场以及光动力灭活等。与化学、生物等手段联合亦有望进一步提升海产品中 *Vp* 的净化效果,在减少对海产品本身品质影响的同时还能优化成本。

(2) 许多化学手段抑制 *Vp* 的机制尚未完全了解,继续深入研究抑菌机理将有助于开发更为经济、有效的控制手段。同时要考虑到不同成分潜在的协同杀菌效应,需要进一步研究以化学脱毒剂为基础的新组合或辅以物理干预方法以实现海产品中 *Vp* 更为有效的防控。此外,天然产物的安全性得到了广泛推崇,一些植物来源的水溶性成分也存在着良好的开发前景,但由于其活性稳定性较差使得有效时间较短。因此可通过纳米包埋的方式进一步提高其稳定性及扩散能力。

(3) 由于 *Vp* 在水环境中广泛存在,因此采取有效措施防止其在海产品生产和加工链中潜在增殖是非常重要的,对海产品接触的水环境需进行严格管控并进行实时监测,努力排除 *Vp* 生长和繁殖所需的各因素。

(4) 由于在灭活处理过程中存在受损的 *Vp* 可能具有自

我恢复功能的潜在风险,因此研究抑制 *Vp* 复苏的手段可提高其脱毒方法的有效性,并降低在流通过程中的二次污染率。

(5) 将定量微生物预测模型和风险评估用于评价对应的干预措施在海产品中减少或消除 *Vp* 的有效性,则可进一步筛选出高效的 *Vp* 抑制方法,增加海产品的食用安全性,减少 *Vp* 污染造成的经济损失。

参考文献

- [1] LEE Ching-chang, JIANG Ling-ying, KUO Yi-ling, et al. Characteristics of nonylphenol and bisphenol A accumulation by fish and implications for ecological and human health[J]. *Science of The Total Environment*, 2015, 502: 417-425.
- [2] 戴宏杰, 孙玉林, 冯梓欣, 等. 雌性虎斑乌贼卵巢营养成分分析与评价[J]. *食品科学*, 2016, 37(14): 97-103.
- [3] 卫昱君, 王紫婷, 徐聪颖, 等. 致病性大肠杆菌菌株分析及检测技术研究进展[J]. *生物技术通报*, 2016, 32(11): 80-92.
- [4] FELDHUSEN F. The role of seafood in bacterial foodborne diseases[J]. *Microbes and Infection*, 2000, 2(13): 1 651-1 660.
- [5] DRAKE S L, DEPAOLA A, JAYKUS L A. An overview of *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus* [J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2007, 6(4): 120-144.
- [6] ZAREI M, BORUJENI M P, JAMNEJAD A, et al. Seasonal prevalence of *Vibrio* species in retail shrimps with an emphasis on *Vibrio parahaemolyticus* [J]. *Food Control*, 2012, 25(1): 107-109.
- [7] 刘代新, 宁喜斌, 张继伦. 响应面分析法优化副溶血性弧菌生长条件[J]. *微生物学通报*, 2008, 35(2): 306-310.
- [8] ESTEVE C. Numerical taxonomy of Aeromonadaceae and Vibrionaceae associated with reared fish and surrounding fresh and brackish water[J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 1995, 18(3): 391-402.
- [9] 菲丹, 陈万义, 周秀娟, 等. 不同来源副溶血弧菌分离株的遗传相关性分析[J]. *中国食品学报*, 2015(8): 203-210.
- [10] ZHANG Jun-yuan, MEI Lei-lei, ZHU Ming, et al. Quantitative inspection and analysis of *Vibrio parahaemolyticus* contamination in 301 seafoods[J]. *Chin. J. Health Lab. Technol*, 2007, 17(3): 509-510.
- [11] ZIMMERMAN A M, DEPAOLA A, BOWERS J C, et al. Variability of total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* densities in northern Gulf of Mexico water and oysters[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(23): 7 589-7 596.
- [12] DAVIES A R, CAPELL C, JEHANNO D, et al. Incidence of foodborne pathogens on European fish[J]. *Food Control*, 2001, 12(2): 67-71.
- [13] HARA-KUDO Y, SUGIYAMA K, NISHIBUCHI M, et al. Prevalence of pandemic thermostable direct hemolysin-producing *Vibrio parahaemolyticus* O3: K6 in seafood and the coastal environment in Japan[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69(7): 3 883-3 891.
- [14] KIRS M, DEPAOLA A, FYFE R, et al. A survey of oysters

- (*Crassostrea gigas*) in New Zealand for *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2011, 147(2): 149-153.
- [15] DI PINTO A, CICCARESE G, DE CORATO R, et al. Detection of pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in southern Italian shellfish[J]. *Food Control*, 2008, 19(11): 1 037-1 041.
- [16] SU Yi-cheng, LIU Cheng-chu. *Vibrio parahaemolyticus*: a concern of seafood safety[J]. *Food Microbiology*, 2007, 24(6): 549-558.
- [17] JÖBORN A, OLSSON J C, WESTERDAHL A, et al. Colonization in the fish intestinal tract and production of inhibitory substances in intestinal mucus and faecal extracts by *Carnobacterium* sp. strain K1[J]. *Journal of Fish Diseases*, 1997, 20(5): 383-392.
- [18] LOPEZ-JOVEN C, RUIZ-ZARZUELA I, DE BLAS I, et al. Persistence of sucrose fermenting and nonfermenting vibrios in tissues of Manila clam species, *Ruditapes philippinarum*, depurated in seawater at two different temperatures[J]. *Food Microbiology*, 2011, 28(5): 951-956.
- [19] HAN N, MIZAN M F R, JAHID I K, et al. Biofilm formation by *Vibrio parahaemolyticus* on food and food contact surfaces increases with rise in temperature[J]. *Food Control*, 2016, 70: 161-166.
- [20] ANDREWS L S, PARK D L, CHEN Y P. Low temperature pasteurization to reduce the risk of vibrio infections from raw shell-stock oysters[J]. *Food Additives & Contaminants*, 2000, 17(9): 787-791.
- [21] 孙文烁, 靳梦瞳, 王敬敬, 等. 运用 Real-time PCR 建立即食虾中副溶血性弧菌分子预测模型[J]. *现代食品科技*, 2014, 30(7): 142-148.
- [22] CHO T J, KIM N H, KIM S A, et al. Survival of foodborne pathogens (*Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, and *Vibrio parahaemolyticus*) in raw ready-to-eat crab marinated in soy sauce[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2016, 238: 50-55.
- [23] DICAPRIO E, PHANTKANKUM N, CULBERTON D, et al. Inactivation of human norovirus and Tulane virus in simple media and fresh whole strawberries by ionizing radiation[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2016, 232: 43-51.
- [24] ANDREWS L, JAHNCKE M, MALLIKARJUNAN K. Low dose gamma irradiation to reduce pathogenic vibrios in live oysters (*Crassostrea virginica*) [J]. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 2003, 12(3): 71-82.
- [25] LAI Wen-bin, WONG Hin-chung. Influence of combinations of sublethal stresses on the control of *Vibrio parahaemolyticus* and its cellular oxidative response[J]. *Food Control*, 2013, 33(1): 186-192.
- [26] 王瑞, 傅玲琳, 叶立斌, 等. 超高压对副溶血弧菌细胞壁膜损伤的研究[J]. *中国食品学报*, 2012, 12(9): 50-56.
- [27] DONSI F, ANNUNZIATA M, FERRARI G. Microbial inactivation by high pressure homogenization: Effect of the disruption valve geometry [J]. *Journal of Food Engineering*, 2013, 115(3): 362-370.
- [28] YE Mu, HUANG Yao-xin, CHEN Hai-qiang. Inactivation of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* in oysters by high-hydrostatic pressure and mild heat [J]. *Food Microbiology*, 2012, 32(1): 179-184.
- [29] MOOTIAN G K, FLIMLIN G E, KARWE M V, et al. Inactivation of *Vibrio parahaemolyticus* in hard clams (*Mercaenaria mercenaria*) by high hydrostatic pressure (HHP) and the effect of HHP on the physical characteristics of hard clam meat[J]. *Journal of Food Science*, 2013, 78(2): E251-E257.
- [30] PHUVASATE S, SU Yi-cheng. Efficacy of low-temperature high hydrostatic pressure processing in inactivating *Vibrio parahaemolyticus* in culture suspension and oyster homogenate [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2015, 196: 11-15.
- [31] DU Su-ping, ZHANG Zhao-huan, XIAO Li-li, et al. Acidic electrolyzed water as a novel transmitting medium for high hydrostatic pressure reduction of bacterial loads on shelled fresh shrimp[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 305.
- [32] 张后成, 朱玉婵, 任占冬, 等. 中性氧化电解水对卷心菜的杀菌作用与机理[J]. *农业工程学报*, 2013, 29(22): 277-283.
- [33] LI Ji-bing, LIN Ting, LU Qin, et al. Changes in physicochemical properties and bactericidal efficiency of acidic electrolyzed water ice and available chlorine decay kinetics during storage [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2014, 59(1): 43-48.
- [34] HAO Jian-xiong, QIU Shuang, LI Hui-ying, et al. Roles of hydroxyl radicals in electrolyzed oxidizing water (EOW) for the inactivation of *Escherichia coli* [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2012, 155(3): 99-104.
- [35] AL-QADIRI H M, AL-HOLY M A, SHIROODI S G, et al. Effect of acidic electrolyzed water-induced bacterial inhibition and injury in live clam (*Venerupis philippinarum*) and mussel (*Mytilus edulis*) [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2016, 231: 48-53.
- [36] FITZGERALD G A, CONWAY JR W S. Sanitation and Quality Control in the Fishery Industries[J]. *American Journal of Public Health and the Nations Health*, 1937, 27(11): 1 094-1 101.
- [37] CHAIYAKOSA S, CHARERNJIRATRAGUL W, UMSAKUL K, et al. Comparing the efficiency of chitosan with chlorine for reducing *Vibrio parahaemolyticus* in shrimp[J]. *Food Control*, 2007, 18(9): 1 031-1 035.
- [38] 江俊康, 覃江纯, 许培培, 等. 大鼠吸入氯气肺组织基质金属蛋白酶-9 表达变化[J]. *工业卫生与职业病*, 2014, 40(6): 440-442.
- [39] MELO A, MANSILHA C, TEIXEIRA M, et al. Occurrence of Trihalomethanes in Chlorinated Waters from Different Sources Used for Urban Supply[J]. *Food Science and Technology*, 2016, 4(4): 57-63.
- [40] 王江勇, 王瑞旋, 苏友禄, 等. 方斑东风螺“急性死亡症”的病原病理研究[J]. *南方水产科学*, 2013, 9(5): 93-99.
- [41] KAUR S, SMITH D J, MORGAN M T. Chloroxyanion residue quantification in cantaloupes treated with chlorine dioxide gas[J]. *Journal of Food Protection*, 2015, 78(9): 1 708-1 718.
- [42] 马玉琳, 谷娜, 池惠荣, 等. 复方二氧化氯对平菇褐斑病原菌

- 的杀菌效果及机理[J]. 北方园艺, 2015(3): 130-134.
- [43] 彭珊珊, 钟瑞敏, 李琳. 食品添加剂[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2009: 42-45.
- [44] STEATFORD M, NEBE-VON-CARON G, STEELS H, et al. Weak-acid preservatives; pH and proton movements in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* [J]. International Journal of Food Microbiology, 2013, 161(3): 164-171.
- [45] KAMADA N, CHEN G Y, INOHARA N, et al. Control of pathogens and pathobionts by the gut microbiota [J]. Nature Immunology, 2013, 14(7): 685-690.
- [46] SHIRAZINEJAD A, ISMAIL N, BHAT R. Lactic acid as a potential decontaminant of selected foodborne pathogenic bacteria in shrimp (*Penaeus merguensis* de Man) [J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2010, 7(12): 1 531-1 536.
- [47] TERZI G, GUCUKOGLU A. Effects of lactic acid and chitosan on the survival of *V. parahaemolyticus* in mussel samples [J]. Journal of Animal & Veterinary Advances, 2012, 9(6): 990-994.
- [48] MEJLHOLM O, DEVITT T D, DALGAARD P. Effect of brine marination on survival and growth of spoilage and pathogenic bacteria during processing and subsequent storage of ready-to-eat shrimp (*Pandalus borealis*) [J]. International Journal of Food Microbiology, 2012, 157(1): 16-27.
- [49] 姚亚明, 彭菁, 刘檀, 等. 壳聚糖处理结合纳米包装对黄花菜贮藏品质及生理的影响[J]. 食品科学, 2016, 37(20): 282-286.
- [50] GEISBERGER G, GYENGE E B, HINGER D, et al. Chitosan-thioglycolic acid as a versatile antimicrobial agent [J]. Biomacromolecules, 2013, 14(4): 1 010-1 017.
- [51] ABDELGAWAD A M, HUDSON S M, ROJAS O J. Antimicrobial wound dressing nanofiber mats from multicomponent (chitosan/silver-NPs/polyvinyl alcohol) systems [J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 100: 166-178.
- [52] WANG Wen, LI Min, FANG Wei-huan, et al. A predictive model for assessment of decontamination effects of lactic acid and chitosan used in combination on *Vibrio parahaemolyticus* in shrimps [J]. International Journal of Food Microbiology, 2013, 167(2): 124-130.
- [53] LI L, LIN S L, DENG L, et al. Potential use of chitosan nanoparticles for oral delivery of DNA vaccine in black seabream *Acanthopagrus schlegelii* Bleeker to protect from *Vibrio parahaemolyticus* [J]. Journal of Fish Diseases, 2013, 36(12): 987-995.
- [54] 高慧, 蒋晶, 孙亚芳, 等. 姜黄素副产品在果脯蜜饯生产中的防腐抑菌效果[J]. 食品与发酵工业, 2016(6): 112-116.
- [55] BAKKALI F, AVERBECK S, AVERBECK D, et al. Biological effects of essential oils—a review [J]. Food and Chemical Toxicology, 2008, 46(2): 446-475.
- [56] YOO M J, KIM Y S, SHIN D H. Antibacterial effects of natural essential oils from ginger and mustard against *Vibrio* species inoculated on sliced raw flatfish [J]. Food Science and Biotechnology, 2006, 15(3): 462-465.
- [57] SHEN Xiao-ye, SU Yi-cheng. Application of grape seed extract in depuration for decontaminating *Vibrio parahaemolyticus* in Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) [J]. Food Control, 2017, 73: 601-605.
- [58] KHABJARI A, MISAGHI A, BASTI A A, et al. Effects of *Zataria multiflora* Boiss. Essential Oil, Nisin, pH and Temperature on *Vibrio parahaemolyticus* ATCC 43996 and Its Thermostable Direct Hemolysin Production [J]. Journal of Food Safety, 2013, 33(3): 340-347.
- [59] 崔海英, 周慧, 张雪婧, 等. 天然植物型抑菌剂的配制及抗菌性能评价[J]. 食品与机械, 2015, 31(2): 196-198.
- [60] 李钟美, 黄和. 高良姜提取物抑菌活性及稳定性研究[J]. 食品与机械, 2016, 32(2): 55-59.
- [61] 张盛静, 赵小金, 宋晓玲, 等. 饲料添加益生菌对凡纳滨对虾肠道菌群, Toll受体及溶菌酶基因表达及抗感染的影响[J]. 中国水产科学, 2016, 23(4): 846-854.
- [62] WU Hui-juan, SUN Ling-bin, LI Chuan-biao, et al. Enhancement of the immune response and protection against *Vibrio parahaemolyticus* by indigenous probiotic *Bacillus* strains in mud crab (*Scylla paramamosain*) [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2014, 41(2): 156-162.
- [63] MAHMOUD B S M. The efficacy of grape seed extract, citric acid and lactic acid on the inactivation of *Vibrio parahaemolyticus* in shucked oysters [J]. Food Control, 2014, 41: 13-16.
- [64] WU Hui-juan, SUN Ling-bin, LI Chuan-biao, et al. Enhancement of the immune response and protection against *Vibrio parahaemolyticus* by indigenous probiotic *Bacillus* strains in mud crab (*Scylla paramamosain*) [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2014, 41(2): 156-162.
- [65] 陈冬平, 张亚, 刘双清, 等. 裂解性噬菌体控制细菌和真菌的应用进展[J]. 菌物研究, 2016, 14(3): 180-186.
- [66] MAHONY J, MCAULIFFE O, ROSS R P, et al. Bacteriophages as biocontrol agents of food pathogens [J]. Current Opinion in Biotechnology, 2011, 22(2): 157-163.
- [67] GARCIA P, MARTINEZ B, OBESO J M, et al. Bacteriophages and their application in food safety [J]. Letters in Applied Microbiology, 2008, 47(6): 479-485.
- [68] RONG Rong, LIN Hong, WANG Jing-xue, et al. Reductions of *Vibrio parahaemolyticus* in oysters after bacteriophage application during depuration [J]. Aquaculture, 2014, 418: 171-176.
- [69] LOMELÍ-ORTEGA C O, MARTÍNEZ-DÍAZ S F. Phage therapy against *Vibrio parahaemolyticus* infection in the whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) larvae [J]. Aquaculture, 2014, 434: 208-211.
- [70] ALAGAPPAN K, KARUPPIAH V, DEIVASIGAMANI B. Protective effect of phages on experimental *V. parahaemolyticus* infection and immune response in shrimp (*Fabricius*, 1798) [J]. Aquaculture, 2016, 453: 86-92.
- [71] CHANG H J, HONG J, LEE N, et al. Growth inhibitory effect of bacteriophages isolated from western and southern coastal areas of Korea against *Vibrio parahaemolyticus* in Manila clams [J]. Applied Biological Chemistry, 2016, 59(3): 359-365.
- [72] JUN J W, KIM H J, YUN S K, et al. Eating oysters without risk of vibriosis; application of a bacteriophage against *Vibrio parahaemolyticus* in oysters [J]. International Journal of Food Microbiology, 2014, 188: 31-35.