

包装饮用水中铜绿假单胞菌两种定量 检验方法比较

詹艺舒*

(福建省龙岩市产品质量检验所, 龙岩 364000)

摘要: 目的 结合国家标准中铜绿假单胞菌的检测方法, 探究适合铜绿假单胞菌定量的检测方法。**方法** 设计两种定量检测方法对国家标准方法进行优化: 稀释过滤法, 先将样液进行稀释, 对每个稀释度的样液抽滤 250 mL; 线性过滤法, 分别抽滤 1、5、10、20、30、40、50 mL 样液, 计算抽滤液中的菌数, 建立回归方程, 并由回归方程计算得到每 250 mL 样液中铜绿假单胞菌的数量。采用 3 个浓度梯度的样液: 样液 A 浓度为 22 CFU/100 mL、样液 B 浓度为 120 CFU/100 mL、样液 C 浓度为 213 CFU/100 mL, 分别用两种方法进行检测, 并与样液的真实浓度为对比, 得出较佳的检测方法。**结果** 稀释过滤法对 3 种浓度的样液检测结果都与真实值无显著差异; 线性过滤法在检测样液 A 时结果与真实值有明显差异($P<0.01$), 在检测样液 B、C 时, 结果与真实值无显著差异。**结论** 稀释过滤法和线性过滤都能较好地反映出待测样液中铜绿假单胞菌的浓度。

关键词: 包装饮用水; 铜绿假单胞菌; 定量检测

Comparison of 2 kinds of quantitative detection methods for *Pseudomonas aeruginosa* in packaged drinking water

ZHAN Yi-Shu*

(Fujian Longyan Product Quality Inspection Institute, Longyan 364000, China)

ABSTRACT: Objective To explore the suitable quantitative detection methods of *Pseudomonas aeruginosa*, combined with the detection methods of *Pseudomonas aeruginosa* in national standards. **Methods** Two kinds of quantitative detection methods were designed to optimize the national standard method: Dilution filtration method: First, the sample solution was diluted, and 250 mL of sample solution with each dilution degree was filtered by suction; linear filtration method was used to filter 1, 5, 10, 20, 30, 40 and 50 mL of sample solution, to calculate the number of bacteria in the filtrate and establish a regression equation, and the number of *Pseudomonas aeruginosa* in every 250 mL of sample solution was calculated from the regression equation. The sample solutions with 3 concentration gradients: Sample solution A concentration of 22 CFU/100 mL, sample solution B concentration of 120 CFU/100 mL, and sample solution C concentration of 213 CFU/100 mL were tested by 2 kinds of methods, respectively, and compared with the actual concentration of sample solution, the better test method was obtained. **Results** The results of dilution filtration method for the sample solutions at the 3 kinds of concentrations were not significantly different from the true values, the result of linear filtration method was significantly different from the true value in the detection of sample solution A ($P<0.01$), while the results were not significantly different from the true values in the detection of

*通信作者: 詹艺舒, 硕士, 助理工程师, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: 470641716@qq.com

*Corresponding author: ZHAN Yi-Shu, Master, Assistant Engineer, Technical Center of Shandong Entry-exit Inspection & Quarantine Bureau, No.1, Qingyun West Road, Xinluo, Longyan 364000, China. E-mail: 470641716@qq.com

sample solutions B and C. **Conclusion** The dilution filtration method and linear filtration method can reflect the true concentration of *Pseudomonas aeruginosa* in the sample solution to be tested.

KEY WORDS: packaged drinking water; *Pseudomonas aeruginosa*; quantitative determination

0 引言

铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*), 又称为绿脓杆菌, 是一种专性需氧、无芽孢、具有单生鞭毛的革兰氏阴性菌^[1]。铜绿假单胞菌广泛存在于自然界的空气、土壤和水源中, 在某些人工环境, 如矿泉水桶、建筑物的运输管道中也可以生长繁殖^[2-3]。铜绿假单胞菌能通过群体感应形成生物膜^[4-9], 保护菌体, 提升菌体对不良环境的适应, 使得铜绿假单胞菌在缺乏营养的不良环境中也能很好的生长与繁殖^[10-11], 对多种抗生素也具有耐受性^[12-14]。有研究表明铜绿假单胞菌在 6~48 °C 均可生长, 在 pH 5.0~7.0 范围内生长较好, 其最适产毒温度为 26 °C^[15-16]。铜绿假单胞菌是一种常见的条件致病菌, 可引起皮肤、组织和伤口等的感染, 极易感染免疫功能低下的患者, 能够引起一系列急、慢性感染^[17], 甚至引发细菌血症和败血症^[18-19], 携带的毒力因子主要有外毒素 A (exotoxin A)、弹力蛋白酶 B (elastase B)、绿脓菌素(pyocyanin)、脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)、III型分泌系统(type III secretion system, T3SS)的效应蛋白等^[20-22]。

近年来, 我国对各类食品进行了全面的监督抽检, 其中包装饮用水中的铜绿假单胞菌的超标问题比较严重。广东省产品质量监督检验研究院^[23]对实验室 2018 年抽检的包装饮用水和天然矿泉水进行铜绿假单胞菌检测及分析时发现: 275 份包装饮用水和天然矿泉水样品中 23 份样品检出铜绿假单胞菌, 污染率分别为 9.9%和 1.9%, 包装饮用水中桶装水的污染率最为严重, 检出率为 100%。高晗等^[24]在 2020 年 5 月至 2020 年 6 月对湖南省食品药品检验研究院受检的 100 批次包装饮用水进行铜绿假单胞菌的检测, 检出率为 14%。黄建锋等^[25]在 2018 年对浙江省 11 个地市的 300 家包装饮用水生产厂家的水样进行检测, 发现各地区的水样均有铜绿假单胞菌检出, 总体不合格率为 5.67%。许宇振等^[26]对安徽省包装饮用水和饮用天然矿泉水中铜绿假单胞菌的污染情况进行分析: 241 份包装饮用水中检出铜绿假单胞菌 22 份, 检出率为 9.13%; 125 份饮用天然矿泉水中铜绿假单胞菌检出 5 份, 检出率为 4.00%; 102 份桶装水中检出铜绿假单胞菌 19 份, 检出率为 18.63%。铜绿假单胞菌在包装饮用水中的检出率很高, 这给广大的消费者带来了安全隐患。

我国现行的 GB 19298—2014《食品安全国家标准 包装饮用水》和 GB 8537—2018《食品安全国家标准 饮用天然矿泉水》中都规定铜绿假单胞菌不得检出。相比于 GB 17324—2003《瓶(桶)装饮用纯净水卫生标准》, 新

标准 GB 19298—2014 删除了菌落总数、大肠菌群、霉菌酵母及致病菌, 仅保留了大肠菌群, 并增加了铜绿假单胞菌^[27]。铜绿假单胞菌的检验方法为 GB 8538—2016《食品安全国家标准 饮用天然矿泉水检验方法》, 但该标准中对于铜绿假单胞菌检测的部分操作步骤细节和部分技术参数没有明确规定, 这都会导致检测的不规范以及检测机构之间的检测结果出现差异^[28]。

本研究设计两种铜绿假单胞菌定量检测方法, 分别为稀释过滤法和线性过滤法, 以待测液为参照对两种方法的检测效果进行比较, 探究两种检测方法分别对不同浓度待测液的检测效果, 为完善铜绿假单胞菌定量检测提供理论依据, 为完善包装饮用水中铜绿假单胞菌的检验提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

菌种: 铜绿假单胞菌 ATCC 27853 购自广东环凯微生物科技有限公司。

假单胞菌琼脂基础培养基、CN 琼脂、氧化酶试纸、乙酰胺肉汤、0.45 μm 过滤膜(广东环凯微生物科技有限公司); 产绿脓素培养基、脑心浸液培养基 BHI、金氏 B (北京陆桥技术股份有限公司); 氯化钠(分析纯, 西陇化工股份有限公司)。

1.2 仪器与设备

SM530 自动高压蒸汽灭菌器(重庆雅马拓科技有限公司); TGL-20M 离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司); AC2-6S1 生物安全柜(新加坡 ESCO 科技有限公司); milliflexPlus 全自动过滤系统(德国默克密理博公司); SPX-250-II 生化培养箱(上海跃进医疗器械有限公司); BD-A 紫外检测仪(北京启航博达科技有限公司); MS3 漩涡振荡器(德国 IKA 公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 菌种活化

将铜绿假单胞菌(*P. Aeruginosa*)标准菌株 ATCC 27853 从 -80 °C 冰箱中取出, 划线接种至营养琼脂斜面活化, 于 36 °C 培养 18~24 h。连续转接 2 代, 保证菌种活性。

1.3.2 种子液的制备

将 1.3.1 活化好的菌株划线分离, 挑取单菌落接种于 BHI 液体培养基, 36 °C 培养 18 h。

1.3.3 菌悬液的制备及计数

将种子液取出后于 4000 r/min 离心 5 min, 弃去上清

液,加入等量的无菌生理盐水,振荡器混匀,重复离心 2 次后,加入生理盐水,振荡器混匀即菌悬液。对菌悬液进行 10 倍梯度稀释,取合适稀释梯度的菌悬液 100 mL 涂布于 CN 琼脂平板,每个浓度梯度涂 2 个平板,待平板干燥后于 36 °C 培养 18~24 h。选取菌落数在 30~300 范围内的平板进行计数,试验重复 3 次。

1.3.4 待测液的制备

将菌悬液进行 10 倍浓度梯度的稀释,选取适宜的 3 个浓度,分别吸取 0.5 mL 于 500 mL 无菌生理盐水中,制成高、中、低不同浓度的待测液。将高、中、低浓度分别标记为 A、B、C。

1.3.5 稀释滤膜法的建立

用无菌移液管分别取 30 mL 1.3.4 中的 A、B、C 待测液加入 270 mL 无菌生理盐水,混匀制成 10 倍稀释待测液,分别记为 A1、B1、C1,再从 A1、B1、C1 稀释液中吸取 30 mL 加入 270 mL 无菌生理盐水,混匀制成 100 倍稀释液,记 A2、B2、C2。

参考 GB 8538—2016 测定桶装水中铜绿假单胞菌滤膜法,在 100 级的洁净工作台下进行操作。用无菌镊子夹取灭菌的孔径为 0.45 μm 的滤膜边缘部分,将网格面朝上,贴放在已灭菌的过滤床上,固定好无菌滤杯,抽滤上述待测液和稀释后的待测液各 250 mL,将滤膜转移到 CN 琼脂培养基,注意滤膜与培养基之间不能有气泡。置于 36 °C 培养箱,培养 24~48 h,观察 CN 琼脂平板上的菌落形态,用紫外检测仪进行荧光检测统计产荧光的菌落个数,按照 GB 8538—2016 对可疑菌落进行氧化酶、乙酰胺、金氏 B 以及绿脓素验证试验。每个浓度重复 2 个平板,试验重复 3 次,每次试验取 2 个平板的平均值进行计算。

1.3.6 线性滤膜法的建立

过滤步骤参考 GB 8538—2016,将滤膜贴放在已灭菌的过滤床上,固定好无菌过滤杯,用无菌移液管分别吸取 1、5、10、20、30、40、50 mL 1.3.4 中 3 种浓度的待测液 A、B、C 于滤杯中,过滤,将滤膜移至 CN 培养基,贴紧培养基防止产生气泡,于 36 °C 培养箱,培养 24~48 h,观察 CN 琼脂平板上的菌落形态,用紫外检测仪检测并计数。每个过滤量重复 2 个平板,试验重复 3 次,每次试验取 2 个平板的平均值进行计算,并建立回归方程。

1.4 数据处理与分析

数据的分析处理采用 Excel 和 SPSS Statistics 16,其中,回归方程的建立与偏差值的计算采用 Excel,数据的显著性分析采用 SPSS Statistics 16。

2 结果与分析

2.1 菌悬液浓度与待测液的制备

经过计数,种子液浓度为 $(8.3\pm 0.5)\times 10^9$ CFU/mL。对于直径为 47~50 mm 滤膜,ISO 8199:2018 规定的适宜的菌落计数范围为 10~80 CFU,按照表 1 中的方法,制备了 3 种浓度的待测液:低浓度(A)为 22 CFU/100 mL;中浓度(B)为 120 CFU/100 mL;高浓度(C)为 213 CFU/100 mL。

2.2 3 种浓度水样的稀释过滤结果

将待测液进行一定梯度的稀释后,按照 GB 8538—2016 中的方法进行过滤、验证和计数,结果如表 2 所示。由表 2 可知,待测液 A 3 次重复的菌数分别为 52、54、55 CFU/250 mL;待测液 B 3 次重复的菌数分别为 300、310、280 CFU/250 mL;待测液 C 3 次重复的菌数分别为 510、540、530 CFU/250 mL。

2.3 3 种浓度水样的线性过滤结果

A、B、C 3 种浓度的待测液分别吸取 1、5、10、20、30、40、50 mL 进行过滤。经过培养,将滤膜上有疑似铜绿假单胞菌的平板用紫外检测仪照射,对所有产荧光的细菌进行验证和计数,试验结果如表 3。

将待测液 A、B、C 试验结果用 Excel 进行线性拟合,其中待测液 C 的线性过滤结果显示,由于过滤量为 50 mL 时,滤膜上的菌落数>80 CFU,此时可能出现菌落重合的情况,在拟合的时候应予以排除。拟合的方程见表 3,3 种浓度的 r^2 均达到 0.97 以上,具有较好的线性关系,可以进行下一步的计算。将 $X=250$ mL 带入回归方程,得到每 250 mL 待测水样中铜绿假单胞菌数,计算结果见表 3。

2.4 比较两种方法不同待测液的检验结果

2.4.1 两种方法对待测液 A 检验结果

将两种过滤方法得到的结果与待测液 A 进行比较,并对三者进行方差分析,结果见表 4、5。

表 1 3 种浓度范围的待测液

Table 1 Liquid to be tested in 3 kinds of concentration ranges

	计算过程	浓度范围
低浓度	假设待测样液采用直接过滤 250 mL 的方法,且滤膜上均匀长满 80 CFU 的菌落,此时样液的浓度为: $80 \text{ CFU}/250 \text{ mL}=0.32 \text{ CFU}/\text{mL}$	<32 CFU/100 mL
中浓度	低浓度与高浓度之间	32~160 CFU/100 mL
高浓度	假设采用线性过滤法,且最后一个滤膜上(即过滤 50 mL)均匀长满 80 CFU 的菌落,此时样液的浓度为: $80 \text{ CFU}/50 \text{ mL}=1.6 \text{ CFU}/\text{mL}$	>160 CFU/100 mL

表 2 待测液稀释过滤法测定结果

Table 2 Detection results of dilution filtration method of the liquid to be tested

	铜绿假单胞菌数/(CFU/250 mL)		
	重复 1	重复 2	重复 3
A 原液	52	54	55
A1 (10^{-1})	5	5	5
A2 (10^{-2})	0	0	0
待测液 A	52	54	55
B 原液	多不可计	多不可计	多不可计
B1 (10^{-1})	30	31	28
B2 (10^{-2})	3	3	3
待测液 B	330	310	280
C 原液	多不可计	多不可计	多不可计
C1 (10^{-1})	51	54	53
C2 (10^{-2})	5	5	5
待测液 C	510	540	530

表 3 待测液 A、B、C 线性过滤菌数测定结果

Table 3 Detection results of sample A, B and C by linear filtration method

	不同移液量(mL)的菌数/CFU								回归方程及(r^2)	铜绿假单胞菌数/(CFU/250 mL)
	1	5	10	20	30	40	50			
重复 1	0	0	2	4	7	9	12	$Y=0.25X-0.713$ $r^2=0.993$	62	
A 重复 2	0	0	3	4	6	9	12	$Y=0.240X-0.496$ $r^2=0.978$	60	
重复 3	0	0	1	3	7	8	11	$Y=0.234X-0.949$ $r^2=0.979$	58	
重复 1	2	7	13	25	36	47	60	$Y=1.167X+1.124$ $r^2=0.999$	292	
B 重复 2	1	6	13	27	35	49	62	$Y=1.224X+0.279$ $r^2=0.996$	306	
重复 3	1	6	14	25	36	47	62	$Y=1.207X+0.378$ $r^2=0.997$	302	
重复 1	8	15	30	52	68	89	109	$Y=2.076X+6.990$ $r^2=0.994$	526	
C 重复 2	9	16	31	51	70	88	110	$Y=2.043X+8.057$ $r^2=0.995$	519	
重复 3	8	16	30	44	70	86	111	$Y=2.012X+6.785$ $r^2=0.993$	512	

表 4 待测液 A 检测结果的比较

Table 4 Comparison of test results of liquid A to be tested

	铜绿假单胞菌数/(CFU/250 mL)			
	重复 1	重复 2	重复 3	平均值
稀释过滤法	52	54	55	54 ± 2^a
线性过滤法	62	60	58	60 ± 2^b
待测液 A	55	55	55	55^a

注: 不同小写字母代表有显著性差异, $P < 0.01$ 。

2.4.2 两种方法对待测液 B 的检验结果

将两种过滤方法得到的结果与待测液 B 进行比较, 并对三者进行方差分析, 结果见表 6、7。

两种方法的试验结果与待测液 B 的菌数接近。其中

在浓度比较低的情况下, 线性过滤法比待测液 A 的浓度高出将近 20%, 而稀释过滤法能比较准确地检测出待测液 A 中的铜绿假单胞菌数, 与待测液 A 之间的差值较小。利用 SPSS 进行进一步分析, 在浓度比较低的情况下, 线性过滤法与待测液 A 之间存在极显著差异($P < 0.01$), 而稀释过滤法与待测液 A 中的菌数之间没有显著差异。因此, 当待测液浓度较低时, 稀释过滤法比线性过滤法更能真实地反映待测液中铜绿假单胞菌的数量。

低浓度待测液中铜绿假单胞菌较少, 吸取 1、5 mL 甚至是 10 mL 的样液过滤, 培养后, 滤膜上没有铜绿假单胞菌生长, 导致可以用来绘制生长曲线的点数较少, 标准曲线的误差较大, 通过回归方程计算得到的数值与真实值出现明显差异。可以考虑增加过滤量, 继续过滤 60、70、80 mL 样液, 增加标准曲线绘制的点, 提高标准曲线的精确度。

线性过滤法与待测液 B 菌数的差值比稀释过滤法的小。线性过滤法的平均值与待测液 B 的菌数更为接近, 稀释过滤法与待测液 B 的菌数之间存在较大的差距, 平均值相差 3 CFU/250 mL。

表 5 待测液 A 实验结果方差分析

Table 5 Analysis of variance of experimental results of liquid A to be tested

变异来源	SS	df	MS	F	$F_{0.01}$
类型间	12.6667	6	33.4444	15.8421**	10.92
类型内	66.8889	2	2.1111		
总变异	79.5556	8			

注: SS 为平方和; df 为自由度; MS 为均方; F 为两个均方的比值, **代表有显著性差异, 下同。

表6 待测液B检测结果的比较

Table 6 Comparison of test results of liquid B to be tested

	铜绿假单胞菌数/(CFU/250 mL)			
	重复1	重复2	重复3	平均值
稀释过滤法	300	310	280	297±15
线性过滤法	292	302	306	300±7
待测液B	300	300	300	300

表7 待测液B实验结果方差分析

Table 7 Analysis of variance of experimental results of liquid B to be tested

变异来源	SS	df	MS	F	F _{0.01}
类型间	570.6667	6	11.1111	0.1168	10.92
类型内	22.2222	2	95.1111		
总变异	592.8889	8			

方差分析的结果显示,在待测液浓度为120 CFU/100 mL的时候,线性过滤法和稀释过滤法与待测液B中的菌数之间没有显著性差异,两种方法都能很好地反映待测液B中的菌数。

2.4.3 两种方法对待测液C的检验结果

将两种过滤方法得到的结果与待测液C进行比较,并对三者进行方差分析,结果见表8、9。

表8 待测液C检测结果的比较

Table 8 Comparison of test results of liquid C to be tested

	铜绿假单胞菌数/(CFU/250 mL)			
	重复1	重复2	重复3	平均值
稀释过滤法	510	540	530	527±15
线性过滤法	526	519	512	520±7
待测液C	533	533	533	533

将稀释过滤法和线性过滤法得到的数据与待测液C进行比较,两种方法与待测液C中的铜绿假单胞菌数的结果较为接近。从每次的重复试验看,稀释过滤法比线性过滤法更接近待测液C,稀释过滤法与待测液C的平均差值为7 CFU/250 mL;线性过滤法与待测液C的平均差值为13 CFU/250 mL。

对表8中的数据进行分析,结果显示稀释过滤法、线性过滤法都与待测液C浓度没有显著性差异。两种方法都可以用来检测待测液C的浓度,结果与真实值没有显著性差异。

3 结论与讨论

近些年来,国内外包装饮用水中的铜绿假单胞菌的检出率较高^[29-31],有些桶装饮用水中铜绿假单胞菌污染程度较高,在检验过程中对水样的稀释显得尤为重要。

表9 待测液C实验结果方差分析

Table 9 Analysis of variance of experimental results of liquid C to be tested

变异来源	SS	df	MS	F	F _{0.01}
类型间	564.6667	6	147.4444	1.5667	10.92
类型内	294.8889	2	94.1111		
总变异	859.5556	8			

本研究对铜绿假单胞菌的定量方法进行探究,并在多次重复试验下对两种方法与实际菌数进行对比,结果表明:线性过滤法与稀释过滤法可以很好地反映待测液的浓度。

稀释过滤法的应用范围比较广,在较大的浓度范围内都能很好地检测出待测液中铜绿假单胞菌的数量。但是稀释过滤法的操作比较复杂,在实际检测过程中,如果待测液的浓度较高,检测过程中需要准备多个稀释浓度梯度,过程较烦琐。本研究将稀释过滤法的检测结果与待测液的真实浓度进行比较,结果显示两者并没有显著性差异,认为GB 4789.2—2016中的10倍稀释方法可以应用于铜绿假单胞菌的检测。同时本研究认为在铜绿假单胞菌定量检测过程中,由于滤膜法需要过滤250 mL,所以稀释液至少要准备300 mL,故建议将GB 4789.2—2016中的1 mL至9 mL改为30 mL待测液至270 mL磷酸缓冲溶液中。

随着待测液浓度升高,线性过滤法与稀释过滤法的结果没有显著性差异,且线性稀释法的操作比较简单,能较快地完成试验,节省试验的时间和成本。目前,线性稀释法可参考的文献较少,潘波等^[32]在检测不同类型瓶装水中铜绿假单胞菌的数量变化的研究过程中,当待测液浓度逐渐下降时,依次取50、100、250 mL水样抽滤检测,最终结果都以250 mL计算。本研究对线性过滤设计了7个点,有利于标准曲线的绘制,提高曲线的准确性。

综上所述,对于浓度较低的待测液,采用稀释过滤法,准确性较高;对于浓度较高的待测液,则可以采用线性过滤的方式,提高检测的效率。但是本试验的研究对象为纯菌种,没有对可能存在的干扰菌进行探究,因此线性过滤法或是稀释过滤法能否真正应用于国家标准的检测方法并推广,还需要进一步试验验证。

参考文献

- [1] 张明月, 胡福泉, 黄广涛. 铜绿假单胞菌必需基因的研究进展[J]. 微生物学通报, 2021, 48(6): 2143-2154.
ZHANG MY, HU FQ, HUANG GT. Advances in essential genes of *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Microbiol China, 2021, 48(6): 2143-2154.
- [2] BÉDARD E, PRÉVOST M, DÉZIEL E. *Pseudomonas aeruginosa* in premise plumbing of large buildings [J]. Microbiol Open, 2016, 5(6): 937-956.
- [3] SILBY MW, WINSTANLEY C, GODFREY SAC, et al. *Pseudomonas* genomes: Diverse and adaptable [J]. FEMS Microbiol Rev, 2011, 35(4): 652-680.
- [4] 孙锋. 铜绿假单胞菌群体感应监管作用规律及自我保护机理初探[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2020.

- SUN F. Quorum sensing regulation and self-protection mechanism of *Pseudomonas aeruginosa* [D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2020.
- [5] ABISADO RG, BENOMAR S, KLAUS JR, *et al.* Bacterial quorum sensing and microbial community interactions [J]. *Mbio*, 2018. DOI: 10.1128/mBio.02331-17
- [6] CIOFU O, TOLKER-NIELSEN T. Tolerance and resistance of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms to antimicrobial agents-How *P. aeruginosa* can escape antibiotics [J]. *Front Microbiol*, 2019. DOI: 10.3389/fmicb.2019.00913
- [7] KUMAR A, ALAM A, RANI M, *et al.* Biofilms: Survival and defense strategy for pathogens [J]. *Int J Med Microbiol*, 2017, 307(8): 481-489.
- [8] PASSMORE IJ, NISHIKAWA K, LILLEY KS, *et al.* Mep72, a metzincin protease that is preferentially secreted by biofilms of *Pseudomonas aeruginosa* [J]. *J Bacteriol*, 2015, 197(4): 762-773.
- [9] KEELARA S, THAKUR S, PATEL J. Biofilm formation by environmental isolates of *Salmonella* and their sensitivity to natural antimicrobials [J]. *Foodborne Pathog Dis*, 2016, 13(9): 509-516.
- [10] PAPENFORT K, BASSLER BL. Quorum sensing signal-response systems in gram-negative bacteria [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2016, 14(9): 576-588.
- [11] MUKHERJEE S, MOUSTAFA D, SMITH CD, *et al.* The RhlR quorum-sensing receptor controls *Pseudomonas aeruginosa* pathogenesis and biofilm development independently of its canonical homoserine lactone autoinducer [J]. *PLoS Pathog*, 2017, 13(7): 1006504.
- [12] 胡付品. 2018 年 CHINET 中国细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2020, 20(1): 1-10.
HU FP. Surveillance of bacterial drug resistance in China by CHINET in 2018 [J]. *Chin J Infect Chemother*, 2020, 20(1): 1-10.
- [13] POOLE K. *Pseudomonas aeruginosa*: Resistance to the max [J]. *Front Microbiol*, 2011. DOI: 10.3389/fmicb.2011.00065
- [14] AXENA P. Biofilms: Architecture, resistance, quorum sensing and control mechanisms [J]. *Indian J Microbiol*, 2019, 59(1): 3-12.
- [15] 朱蕾, 张爱静, 王鹏杰, 等. 温度对铜绿假单胞菌生长的影响及其预测研究[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(11): 1-10.
ZHU L, ZHANG AIJ, WANG PJ, *et al.* The effects of temperature on the growth *Pseudomonas aeruginosa* and its prediction [J]. *Food Res Dev*, 2019, 40(11): 1-10.
- [16] STOVER CK, PHAM XQ, ERWIN AL, *et al.* Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, an opportunistic pathogen [J]. *Nature*, 2000, 406(6799): 959-964.
- [17] FATA MM, SHIRIN G, REHM B. *Pseudomonas aeruginosa* lifestyle: A paradigm for adaptation, survival, and persistence [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2017. DOI: 10.3389/fcimb.2017.00039
- [18] KAINUMA A, MOMIYAMA K, KIMURA T, *et al.* An outbreak of fluoroquinolone-resistant *Pseudomonas aeruginosa* ST357 harboring the *exoU* gene [J]. *J Infect Chemother*, 2018, 24(8): 615-622.
- [19] MAVRODI D, BONSALE R, DELANEY S, *et al.* Functional analysis of genes for biosynthesis of pyocyanin and phenazine-1 carboxamide from *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 [J]. *J Bacteriol*, 2001, 183: 6454-6465.
- [20] KHALIFA ABH, MOISSENET D, THIEN HV, *et al.* Virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa*: Mechanisms and modes of regulation [J]. *Ann Biol Clin-Paris*, 2011, 69(4): 393-403.
- [21] CATTOIR V, GILIBERT A, GLAUNEC J, *et al.* Rapid detection of *Pseudomonas aeruginosa* from positive blood cultures by quantitative PCR [J]. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 2010, 9(1): 1-5.
- [22] BERRE RL, NGUYEN S, NOWAK E, *et al.* Relative contribution of three main virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia [J]. *Crit Care Med*, 2011, 39(9): 2113-2120.
- [23] 杨俊业, 黄玲玲. 2018 年广东省市售 275 份包装饮用水及天然矿泉水铜绿假单胞菌污染情况分析 & 检测[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(7): 1853-1856.
YANG JY, HUANG LL. Analysis and detection of *Pseudomonas aeruginosa* contamination in 275 samples of packaged drinking water and natural mineral water sold in Guangdong Province in 2018 [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(7): 1853-1856.
- [24] 高晗, 刘赛. 包装饮用水中铜绿假单胞菌污染情况分析[J]. 食品安全导刊, 2020, (20): 78.
GAO H, LIU S. Analysis of *Pseudomonas aeruginosa* contamination in packaged drinking water [J]. *Chin Food Saf Magaz*, 2020, (20): 78.
- [25] 黄建锋, 汪新, 刘鹏, 等. 包装饮用水铜绿假单胞菌污染情况调查分析[J]. 食品工业, 2018, 39(1): 78.
HUANG JF, WANG X, LIU P, *et al.* Investigation and analysis of *Pseudomonas aeruginosa* contamination in packaged drinking water [J]. *Food Ind*, 2018, 39(1): 78.
- [26] 许宇振, 赵成仕. 安徽省包装饮用水和饮用天然矿泉水中铜绿假单胞菌的污染情况分析[J]. 食品安全导刊, 2020, (27): 124-126.
XU YZ, ZHAO CS. Contamination of *Pseudomonas aeruginosa* in packaged drinking water and natural mineral water in Anhui Province [J]. *Chin Food Saf Magaz*, 2020, (27): 124-126.
- [27] 朱文斌, 周浩, 李俊霞, 等. 国内外包装饮用水标准中微生物指标比较和铜绿假单胞菌指标建议[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(19): 5034-5039.
ZHU WB, ZHOU H, LI JX, *et al.* Comparison of microbial index and suggestion of *Pseudomonas aeruginosa* index in domestic and foreign packaging drinking water standard [J]. *J Food Saf Qual*, 2018, 9(19): 5034-5039.
- [28] 章志超, 吴鑫, 于帆, 等. 我国包装饮用水中铜绿假单胞菌检验方法标准问题及其质量控制探讨[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(10): 4257-4262.
ZHANG ZC, WU X, YU F, *et al.* Analysis and quality control of *Pseudomonas aeruginosa* in packaged drinking water in China [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(10): 4257-4262.
- [29] 魏磊. 矿泉水水处理系统微生物安全和危害形成机制研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2020.
WEI L. Study on microbial safety and hazard formation mechanism of mineral water treatment system [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2020.
- [30] WEI L, WU Q, ZHANG J, *et al.* Prevalence and genetic diversity of *Enterococcus faecalis* isolates from mineral water and spring water in China [J]. *Front Microbiol*, 2017, 8: 1109.
- [31] VENIERI D, VANTARAKIS A, KOMNINOOU G, *et al.* Microbiological evaluation of bottled non-carbonated ("still") water from domestic brands in Greece [J]. *Int J Food Microbiol*, 2006, 107(1): 68-72.
- [32] 潘波, 曾志明, 沈中锋, 等. 不同类型瓶装水中铜绿假单胞菌的数量变化研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(5): 1356-1360.
PAN B, ZENG ZM, SHEN ZF, *et al.* Study on the quantity variation of *Pseudomonas aeruginosa* in different types of bottled water [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(5): 1356-1360.

(责任编辑: 张晓寒 郑 丽)

作者简介



詹艺舒, 硕士, 助理工程师, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: 470641716@qq.com