

研究报告

大连市不同海产品中副溶血性弧菌污染的健康风险分级研究

宋晓昀¹,蔡特²,李瑞¹

(1. 大连市疾病预防控制中心,辽宁 大连 116021;

2. 大连市西岗区疾病预防控制中心,辽宁 大连 116011)

摘要:目的 对大连市不同海产品中副溶血性弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*, VP)污染的健康风险进行分级和评价。方法 2017年1~10月,在大连市10个县市区分层随机采集4类944份常见海产品。依据GB 4789.7—2013《食品安全国家标准 食品微生物学检验 副溶血性弧菌检验》进行海产品中VP定量检测,使用实时荧光定量聚合酶链式反应(PCR)方法进行VP毒力基因检测;采用食物频率法获得各类海产品的消费量数据;利用专家咨询法获得海产品交叉污染和烹调习惯参数;采用快速微生物定量风险评估(sQMRA)方法,对4类海产品中致病性VP的健康风险进行分级。结果 甲壳类导致人体感染致病性VP发病风险和年发病例数最高,分别为 3.5×10^{-6} 和2 799.3例。鱼类导致人体感染致病性VP发病风险和年发病例数居第二位,分别为 1.1×10^{-6} 和1 304.4例。海产品导致人群VP发病的主要途径为交叉污染。结论 应关注大连市甲壳类中VP对人群的致病风险,重点控制海产品在加工处理过程中VP的交叉污染。

关键词:副溶血性弧菌;食源性致病菌;海产品;定量;风险分级;食品安全

中图分类号:R155 文献标志码:A 文章编号:1004-8456(2018)05-0473-05

DOI:10.13590/j.cjfh.2018.05.005

Risk ranking of *Vibrio parahaemolyticus* in different categories of seafood in DalianSONG Xiaoyun¹, CAI Te², LI Rui¹

(1. Dalian Center for Disease Control and Prevention, Liaoning Dalian 116021, China;

2. Dalian Xigang District Center for Disease Control and Prevention, Liaoning Dalian 116011, China)

Abstract: Objective To evaluate the relative risk of *Vibrio parahaemolyticus* (VP) in different categories of seafood for population in Dalian. **Methods** Four categories of 944 seafood samples were randomly collected from 10 districts in Dalian. The quantitative detection of VP in seafood was carried out by national food safety standard (GB 4789.7-2013). The virulence gene of VP was detected by the real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction (PCR). Seafood intake was obtained by food frequency method. Parameters of cross-contamination and cooking habit of seafood were obtained by expert consultation. Risk ranking of VP in 4 kinds of seafood was calculated by swift quantitative microbiological risk assessment (sQMRA). **Results** Crustacean had the highest per serving risk for pathogenic VP and the highest per annum cases among all the seafood categories, which was 3.5×10^{-6} and 2 799.3, respectively. Fish had the second highest per serving risk for pathogenic VP and the second highest per annum cases, which was 1.1×10^{-6} and 1 304.4, respectively. Cross-contamination was the main route that caused the incidence of VP. **Conclusion** Attention should be paid to the risk of VP caused by crustacean in the local area. Avoiding cross contamination was the key to reduce the risk of VP in seafood.

Key words: *Vibrio parahaemolyticus*; foodborne pathogenic bacteria; seafood; quantitative; risk ranking; food safety

副溶血性弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*, VP)是天然存在于近海海产品及海水环境中的致病菌。VP导致的食源性疾病暴发常与进食海产品有关,原因常为生食和交叉污染^[1]。2003—2007年我国食

源性疾病暴发监测资料^[2]分析显示,由VP导致的食源性疾病暴发起数占细菌性食源性疾病暴发总起数的10%~30%。大连市食源性疾病监测数据^[3]显示,VP是导致大连市食源性疾病散发和暴发事件的首要致病菌。大连市海产资源丰富,海产品消费量大,且部分居民有生食和半生食海产品的习惯,但海产品中VP导致的具体健康风险大小仍不清楚。本研究采集了大连市流通和餐饮环节常见的海产品开展总VP和致病性VP的定量检测,并

收稿日期:2018-07-27

基金项目:大连市医学科学研究计划项目(1711089)

作者简介:宋晓昀 女 主管医师 研究方向为营养与食品卫生

E-mail:sxydljk@126.com

对居民各类海产品的消费量开展了专项调查,同时采用专家咨询法收集大连市各类海产品厨房内发生交叉污染的比例和烹调加工习惯等参数,最后利用快速微生物定量风险评估(swift quantitative microbiological risk assessment, sQMRA)方法,对不同海产品中VP污染对人群的健康风险进行风险分级,为开展进一步的定量风险评估以及对重点食品和环节进行风险控制提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 数据来源

1.1.1 海产品中VP污染数据

海产品中总VP和致病性VP污染数据来自2017年大连市海产品专项监测数据。2017年1~10月,在大连市10个县市区(包括4个市内中心区和6个涉农县市区)设立采样点,采样点类型包括农贸市场、超市、餐饮饭店。每月采集当地实际消费量大的海产品,共计4类944份样品。

1.1.2 海产品消费量数据

各类海产品消费量数据来自2017年大连市海产品消费量调查。2017年在全市范围内采用多阶段分层随机整群抽样方法,共抽取880户家庭。对其中3岁及以上居民共2667人开展过去1年内各类海产品消费量和消费频率的问卷调查。调查的海产品共4类40种,包括鱼类18种、甲壳类(虾类、蟹类)10种、贝类(牡蛎、扇贝、蚬子等)8种、头足类(鱿鱼、章鱼等)4种。

1.1.3 厨房内交叉污染和烹调系数

采用专家咨询法^[4],从大连市疾病预防控制中心和大专院校召集了9名从事食品微生物或食品安全的专家,均具有中级以上职称和/或博士学位。专家对大连市常见海产品发生厨房内交叉污染的比例和各类海产品的烹调习惯等有关参数进行了主观评价。专家的参与度为100%,权威系数为0.74。

1.2 方法

1.2.1 样品采集

大连市10个县市区疾病预防控制中心参与样品的采集。根据海产品的水分含量和可食部比例,每份样品采集800~1000g,装入无菌袋中密封,低温条件下24h内送往各县区疾病预防控制中心实验室进行VP定量检测。

1.2.2 样品检测

按照GB 4789.7—2013《食品安全国家标准 食品微生物学检验 副溶血性弧菌检验》^[5]中最可能数(most probable number, MPN)检测方法进行VP定

量检测,检出限为3MPN/g。采用实时荧光定量聚合酶链式反应(PCR)法^[6]进行VP毒力基因检测。参照文献[7],本研究认为在耐热直接溶血素(TDH)、耐热相关溶血素(TRH)、开放阅读框8(ORF8)三种毒力基因中检出至少一种,则为检出致病性VP。

1.2.3 质量控制

参与样品采集和VP定量检测的县市区疾病预防控制中心均具备食品中致病微生物项目检测资质,且经过市疾病预防控制中心组织的统一培训和考核。市疾病预防控制中心对全市检出的VP阳性菌株进行复核。

1.2.4 食品污染数据处理和计算

本研究描述性统计分析中,VP定量检测结果低于检出限值(3MPN/g)的按0MPN/g处理。

1.2.5 食品消费量数据处理和计算

在回收的2667份问卷中,有效问卷2154份,问卷有效率为80.8%。使用2154份有效问卷进行各类海产品年消费次数和人均每次消费量的计算。其中,每类海产品年消费次数,为消费该类海产品的人群一年进食该类中各种具体海产品的次数之和,如:甲壳类年消费次数等于消费甲壳类的人群一年进食虾类的次数与一年进食蟹类的次数之和。每类海产品的人均每次消费量,为消费该类海产品的人群人均每次进食该类中各种具体海产品的克数之和,如:甲壳类人均每次消费克数等于消费甲壳类的人群人均每次进食虾类的克数与人均每次进食蟹类的克数之和。

1.2.6 风险分级

采用sQMRA方法进行风险分级。分级具体方法和使用的公式参见文献[8-9]。

本次风险分级定义的目标人群为大连市全部人群,人群样本量为595.6万(2017年大连市统计年鉴^[10])。本研究用于推算目标人群每年VP导致的发病例数的公式为 $N=595.6 \times 10^4 \times p$,其中N为全市人群一年进食某类海产品导致的VP发病例数,p为由被调查人群(2154人)计算得到的进食该类海产品导致的VP发病概率。

1.3 统计学分析

用Microsoft Excel 2003进行sQMRA风险分级计算。

2 结果

2.1 海产品中VP的污染情况

944份海产品中,91份样品检出总VP,总VP检出率为9.64%,4类海产品中总VP的检出率范

围为 6.73% ~ 11.48%。5 份样品检出携带 *tdh*、*trh*、*orf8* 三种毒力基因中至少一种,致病性 VP 检出率为 0.53% (5/944),4 类海产品中致病性 VP 的检出率

范围为 0.41% ~ 0.82%。4 类海产品检出的总 VP 污染密度和致病性 VP 污染密度的中位数均为 23.0 MPN/g,见表 1。

表 1 不同海产品中 VP 的检出率和污染密度

Table 1 Detection rate and pollution density of VP in different categories of seafood

海产品种类	样品份数	检出份数(检出率/%)		阳性样品污染密度 中位数/(MPN/g)		阳性样品污染密度 四分位间距/(MPN/g)	
		总 VP	致病性 VP	总 VP	致病性 VP	总 VP	致病性 VP
鱼类	241	27(11.20)	1(0.41)	23.0	23.0	73.9	—
贝类	223	15(6.73)	1(0.45)	23.0	23.0	56.7	—
甲壳类	244	28(11.48)	2(0.82)	23.0	23.0	127.0	—
头足类	236	21(8.90)	1(0.42)	23.0	23.0	127.0	—
合计	944	91(9.64)	5(0.53)	23.0	23.0	84.5	—

注:—为致病性 VP 检出数较少,不计算四分位间距

2.2 海产品消费量水平

被调查者各类海产品年消费次数分别为:鱼类 444 493.4 次、甲壳类 287 331.7 次、贝类 187 237.7 次、头足类 70 072.7 次。各类海产品人均每次消费量分别为:鱼类 59.43 g、甲壳类 94.61 g、贝类 21.97 g、头足类 12.96 g。

2.3 交叉污染和烹调系数

使用专家咨询法得到各种海产品厨房内交叉污染和烹调习惯参数的结果,见表 2。本研究假设:(1)每份被污染的食品发生交叉污染时,其传出率等于传回率,均为 50.00%;(2)普通人群感染 VP 的半数感染剂量(ID_{50})为 10^5 CFU^[11];(3)普通人群感染 VP 后的发病率为 10.00%^[12]。

表 2 不同海产品的厨房内交叉污染和烹调习惯参数调查结果(%)

Table 2 Parameters of cross-contamination and cooking habit of different categories of seafood

海产品种类	厨房内交叉污染			目标食品烹调习惯			目标食品中 VP 的存活率		
	发生率	每份传出率	每份传回率	完全烹调	不完全烹调	生食	完全烹调	不完全烹调	生食
鱼类	82.06	50.00	50.00	87.93	1.24	10.83	0.00	50.69	100.00
贝类	94.49	50.00	50.00	80.51	3.79	15.70	0.00	50.69	100.00
甲壳类	86.05	50.00	50.00	85.69	4.24	10.07	0.00	50.69	100.00
头足类	84.84	50.00	50.00	90.64	3.45	5.91	0.00	50.69	100.00

注:表中各参数的数值均为 9 名专家打分的均值

2.4 各类海产品致病性 VP 定量风险分级结果

进食每份海产品感染致病性 VP 导致发病的风险从高到低依次为:甲壳类 3.5×10^{-6} 、鱼类 1.1×10^{-6} 、贝类 5.2×10^{-7} 、头足类 2.2×10^{-7} 。进食各类海产品导致目标人群(595.6 万人)感染致病性 VP 的年发病例数从高到低依次为:甲壳类 2 799.3 例、鱼类 1 304.4 例、贝类 274.0 例、头足类 55.4 例,见表 3。

表 3 各类海产品致病性 VP 风险分级结果

Table 3 Risk ranking of pathogenic VP in different categories of seafood

海产品种类	估计发病风险	疾病发生概率	估计年发病例数
鱼类	1.1×10^{-6}	2.2×10^{-4}	1 304.4
贝类	5.2×10^{-7}	4.6×10^{-5}	274.0
甲壳类	3.5×10^{-6}	4.7×10^{-4}	2 799.3
头足类	2.2×10^{-7}	9.3×10^{-6}	55.4

2.5 不同环节发病贡献比例

各类海产品导致人群感染致病性 VP 的主要途径为交叉污染,所占比例介于 46.52% ~ 70.12%,不完全烹调造成发病的比例介于 1.36% ~ 4.29%,

生食造成发病的比例介于 13.27% ~ 25.14%,见图 1。

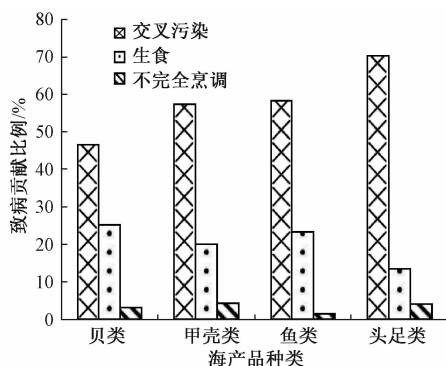


图 1 不同环节对各类海产品中致病性 VP 导致发病的贡献比例

Figure 1 Contribution of transmission routes of different categories of seafood

3 讨论

近年来国内外已对生牡蛎^[13]、血蚶^[14]、贝类^[15]、三疣梭子蟹^[16]、生食三文鱼^[17]中的 VP 开展

了经典的 QMRA 研究。各研究分别对评估食品中的 VP 从养殖到餐桌的部分或全部环节的风险进行了模型假设,评估了食品-VP 组合导致的疾病负担,并对潜在的干预措施进行了评价。然而,经典的 QMRA 法往往一次只针对一个食品-致病菌组合,且评估过程比较耗时。本研究所用 sQMRA 法是对 QMRA 法的简化,在综合致病菌污染水平和消费量水平的基础上,考虑交叉污染和烹调方式的影响,同时结合剂量-反应关系,可对多种食品-致病菌组合的风险开展快速的估计和分级,筛选出高风险的食品-致病菌组合,该方法已被证实具有较好的应用价值^[12]。

已有研究^[12,18]利用 sQMRA 法对海产品中 VP 开展风险分级,但污染物数据和消费量数据常来自不同时期的监测结果,且交叉污染和烹调方式的参数往往来自文献数据,不能很好反映当地情况,而且 VP 污染浓度使用总 VP 浓度,不能反映 VP 的真实致病浓度,因此本研究通过开展大连市各类海产品中致病性 VP 的污染监测、大连市居民海产品消费量调查,以及大连市各类海产品烹调习惯和交叉污染专家咨询,利用 sQMRA 风险分级模型获得具有地区代表性的风险分级结果。

结果发现,甲壳类是造成大连市 VP 致病风险最高的海产品品种,这与大连市甲壳类中 VP 检出率高,以及居民对甲壳类海产品消费量大有关。此外,大连市居民常有在夏秋季节生食或半生食醉虾、醉蟹的习惯,该类海产品生食比例较高,这也导致大连市甲壳类中 VP 致病风险高于其他海产类别。本次监测发现甲壳类中总 VP(11.48%)和致病性 VP(0.82%)的检出率均高于其他品种。刘秀梅等^[19]2003 年对中国部分沿海地区零售海产品中 VP 污染状况的监测发现,甲壳类中总 VP 阳性率(49.3%)高于贝类(37.9%)和鱼类(25.5%)。彭少杰等^[20]研究发现,2008—2010 年夏秋季节上海市市售海产虾类总 VP 检出率(25.0%)明显高于海鱼(12.7%)、海产贝类(14.9%)以及海产头足类(9.1%)。此外,田明胜等^[21]对 2008—2013 年上海市市售海产品中 VP 污染水平的分析结果发现,海产鱼类总 VP 检出率(8.4%)高于虾类(6.6%)、蟹类(5.7%)、贝类(6.1%)和头足类(4.6%),而致病性 VP 仅在虾蟹类和鱼类中检出,检出率分别为 0.83% 和 0.13%。本研究各类海产品中总 VP 的检出率均低于刘秀梅等^[19]和彭少杰等^[20]研究的相应结果,但均高于田明胜等^[21]研究的结果;本研究中鱼类和甲壳类中致病性 VP 的检出率则分别高于和略低于田明胜等^[21]研究中相应的结果。结果的差异与样品监测季节以及监测海域有关,但不同海产

品之间检出率的比较结果提示,甲壳类可能因生活或养殖在近海环境,容易受到致病微生物的污染,并在体内富集致病菌。综上所述,大连市应当优先对甲壳类-VP 组合开展定量风险评估,以发现污染来源和评价控制效果。

其次,本次风险分级结果估算了目标人群通过进食各类海产品导致 VP 感染的年发病例数。结果显示,甲壳类导致的 VP 年发病例数(2 799.3 例)最多,其次为鱼类(1 304.4 例)。甲壳类和鱼类不但每餐发病风险高,而且年消费频次也高,因此导致的年发病人数相比其他海产品种多,提示甲壳类和鱼类是应当重点监管的海产类别。

此外,本研究还探讨了不同环节对各类海产品中 VP 致病的贡献比例。结果显示,大多数 VP 感染致病的主要途径为鲜活海产品的交叉污染,这提示减少各类鲜活海产品加工过程的交叉污染是控制 VP 发病的重点环节。

本次结果存在一些不确定性。第一,本研究使用市售环节海产品中 VP 的污染水平代入模型,未引入生长和失活模型考虑海产品从销售到餐桌过程中 VP 的生长和灭活情况。第二,污染物定量检测使用的计数单位为 MPN/g,而不是 sQMRA 模型要求的 CFU/g,且两者尚无换算关系。第三,使用食物频率法可能会高估食物消费份数和消费量^[22]。第四,使用专家咨询法获得参数会使结果带有一定的主观性。

尽管如此,本研究利用 sQMRA 风险分级方法,比较了大连市不同海产品中致病性 VP 的健康风险,初步实现了筛选“食品-微生物组合”、发现大连市需要重点监管的海产品品种和致病环节的目的,为下一步优化模型参数,开展定量微生物风险评估,以及控制大连市食源性疾病的发生提供了理论依据。

参考文献

- [1] YEUNG P S, BOOR K J. Epidemiology, pathogenesis, and prevention of foodborne *Vibrio parahaemolyticus* infections [J]. Foodborne Pathog Dis, 2004, 1(2): 74-88.
- [2] 毛雪丹, 胡俊峰, 刘秀梅. 2003—2007 年中国 1 060 起细菌性食源性疾病流行病学特征分析 [J]. 中国食品卫生杂志, 2010, 22(3): 224-228.
- [3] 宋晓响, 安玉, 蒋希宏, 等. 2012—2013 年大连市食源性疾病监测分析 [J]. 预防医学论坛, 2015, 21(10): 731-734.
- [4] 向泽林, 何奔, 陈中文, 等. 综合应用德尔菲法和风险矩阵法与 Borda 序值法评估接种门诊预防接种风险 [J]. 中国预防医学杂志, 2017, 18(9): 655-660.
- [5] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 副溶血性弧菌: GB 4789.7—2013

- [S]. 北京:中国标准出版社,2013.
- [6] 蔡特,王立志,张开翼. 大连沿海贝类产品副溶血性弧菌基因检测[J]. 中国公共卫生,2015,31(12):1674-1676.
- [7] 韩海红. 生食贝类中副溶血性弧菌污染水平调查、定量风险评估和分离菌株特征分析[D]. 北京:中国疾病预防控制中心,2015.
- [8] 朱江辉,宋筱瑜,王晔茹,等. 我国食品微生物定量风险分级模型初探与应用[J]. 中国食品卫生杂志,2016,28(4):516-522.
- [9] EVERS E G, CHARDON J E. A swift quantitative microbiological risk assessment (sQMRA) tool [J]. Food Control, 2010, 21(3):319-330.
- [10] 大连市统计局. 大连统计年鉴 2017 [M]. 北京:中国统计出版社,2018.
- [11] 卢晓凤,张培正,李远钊,等. 2% NaCl TSB 及单冻煮蛤肉副溶血性弧菌生长模型的建立及应用[J]. 中国食物与营养, 2006(9):24-27.
- [12] 朱江辉,李凤琴. sQMRA 在微生物定量风险评估中的应用[J]. 中国食品卫生杂志,2011,23(1):46-49.
- [13] World Health Organization. Risk assessment of *Vibrio vulnificus* in raw oysters, MRA series 8 [EB/OL]. (2010-08-28) [2018-06-26]. <http://www.who.int/foodsafety/publications/micro/mra8.pdf>.
- [14] YAMAMOTO A, IWAHORI J, VUDDHAKUL 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(1):70-77.
- [15] 曹慧慧. 国内主要沿海城市零售贝类中副溶血性弧菌的定量风险评估[D]. 青岛:中国海洋大学,2010.
- [16] 高围激,刘弘,刘诚,等. 三疣梭子蟹中副溶血性弧菌定量风险评估探索[J]. 环境与职业医学,2011,28(7):414-418.
- [17] 刘弘,罗宝章,秦璐昕,等. 生食三文鱼片副溶血性弧菌污染的定量风险评估研究[J]. 中国食品卫生杂志,2012,24(1):18-22.
- [18] 宫春波,王朝霞,董峰光. 烟台海域海产品中食源性致病菌污染状况调查及膳食风险分析[J]. 中国食品卫生杂志,2016,28(1):103-106.
- [19] 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.
- [20] 彭少杰,田明胜,王颖,等. 2008—2010年上海市夏秋季市售海产品中副溶血性弧菌污染监测结果分析[J]. 中国食品卫生杂志,2011,23(5):469-471.
- [21] 田明胜,彭少杰,陈波,等. 2008—2013年上海市售海产品中副溶血性弧菌污染的监测和毒力基因分析[J]. 上海预防医学,2017,29(6):435-439.
- [22] 李艳平,何宇纳,翟凤英,等. 称重法、回顾法和食物频率法评估人群食物摄入量的比较[J]. 中华预防医学杂志,2006,40(4):273-280.

研究报告

2012—2017年云南省有毒动植物中毒事件分析

刘志涛,赵江,张强,李娟娟,余思洋,万蓉,万青青,彭敏,阮元,王晓雯,闵向东

(云南省疾病预防控制中心营养与食品卫生所,云南昆明 650022)

摘要:目的 探讨2012—2017年云南省有毒动植物中毒事件的发生规律和特点,为制定预防和控制措施提供依据。方法 对2012—2017年云南省报告的有毒动植物中毒事件资料建立数据库,并按时间、地区、场所、中毒因素等进行统计分析。结果 共报告有毒动植物中毒事件530起,发病4 147人,死亡64人。第四季度为发病高峰,报告起数、发病人数和死亡人数分别占全年总数的30.8%(163/530)、37.4%(1 553/4 147)和50.0%(32/64);有毒植物中毒事件报告起数较多的州(市)为楚雄州、大理州、玉溪市,占总数的44.2%(212/480);有毒动物中毒事件报告起数较多的州(市)为迪庆州、怒江州、保山市,占总数的80.0%(40/50)。家庭中中毒报告起数、发病人数和死亡人数最多,分别占总数的63.6%(337/530)、40.3%(1 672/4 147)和89.1%(57/64)。引起有毒动物中毒事件的食物主要是蜂蛹(7.9%,42/530),引起有毒植物中毒事件的食物前5位依次为乌头(30.2%,160/530)、四季豆(29.2%,155/530)、蓖麻子(5.3%,28/530)、蜂蜜(3.8%,20/530)和油桐(3.6%,19/530)。结论 云南省有毒动植物中毒问题突出,应完善食物中毒的应急处理体系,广泛宣传有毒动植物中毒的预防知识,以有效地减少云南省中毒事件的发生。

关键词:有毒动植物;监测;流行病学;预防;食物中毒事件;云南

中图分类号:R155 文献标志码:A 文章编号:1004-8456(2018)05-0477-04

DOI:10.13590/j.cjfh.2018.05.006

收稿日期:2018-06-07

作者简介:刘志涛 男 副主任医师 研究方向为营养与食品安全 E-mail:zhitaoliu1977@163.com

通信作者:闵向东 男 主任医师 研究方向为营养与食品安全 E-mail:156423746@qq.com