

福建省带壳牡蛎中副溶血性弧菌的市场调查

陈艳¹ 刘秀梅¹ 马群飞² 王明³

(1. 中国疾控中心营养与食品安全所,北京 100050; 2. 福建省疾病预防控制中心,福建 福州 350001;
3. 福建省卫生厅卫生监督所,福建 福州 350001)

摘要:为了解零售带壳牡蛎中副溶血性弧菌(VP)的污染情况,2003年4月~2004年3月每月在福建省福州和厦门两地收集带壳牡蛎,样品共252份,分别来自水产品批发市场(11%)、零售市场(50%)和饭店(39%)。采用Vitek鉴定系统和最可能数(MPN)法进行VP的定性和定量分析。结果显示,带壳牡蛎VP几何平均密度为46 MPN/100 g,46%的试样VP密度低于30 MPN/100 g的最低检出限,仅厦门2个试样菌量超过 10^4 MPN/100 g。两个地区、不同采样点和不同季节之间试样VP平均密度差别均有显著性。厦门试样菌量高于福州;批发市场试样菌量最高;春季试样菌量(93 MPN/100 g)高于其它季节(约为40 MPN/100 g)。研究结果可以用于估计生食牡蛎人群VP的暴露量。

关键词:弧菌,副溶血性;牡蛎;食品污染;定量研究

细胞增生李斯特菌的菌量最高为 1.1×10^4 MPN/100 g^[3],而生鲜鸡肉却没有检出。此次生鲜鸡肉样品均为现场宰杀的全鸡。冻鸡肉样品采自市场的散装冻鸡分割肉(冻鸡翅、腿、爪、胸脯肉),经过宰杀、多次分割、称重、装箱、速冻等生产和市场销售环节,比鲜鸡肉大大增加了李斯特菌污染的可能性。说明我省冻鸡肉(分割肉)的加工和环境的污染较为严重,具体污染的原因还有待进一步调查。

4.3 熟肉制品的阳性率较低,这与熟肉制品均经过热加工和单核细胞增生李斯特菌不耐热有关。唯一一份腊肉中检出单核细胞增生李斯特菌可能与农贸市场销售摊位的腊肉与冻肉一起摆放交叉污染引起有关。

4.4 目前单核细胞增生李斯特菌引起食源性疾病的主要血清型是4b和1/2a^[4],本次分离的30株菌株中1/2a占50%,应引起注意。

4.5 在卫生控制方面,在强调良好的卫生操作规范(GHP)和良好的生产操作规范(GMP)的建立并且较好的应用和执行时,危害分析关键控制点(HACCP)在供应链上能更好地发挥食品安全管理的作用。美国在20世纪80年代末,意识到某些即食肉类产品有利于单增李斯特菌的生长,可导致消费者患李斯特菌病。因此,对生产条件进行了改造,采取的主要

措施是在加工环境(肉类产品可能被污染)中控制李斯特菌的生长。在了解该菌的生态学特征后,确定如何通过厂房布置、设置设计、清洁程序的完善和新的化学消毒剂的使用来控制该菌的生长。同时在销售和储存肉类产品时使用混合抑制剂(如乳酸钠、二乙酸钠)来控制该菌的生长,以达到保护消费者的目的^[5]。

参考文献

- [1] Preliminary food net data on the incidence of infection with pathogens transmitted commonly through food—selected sites, United States, 2003 [DB/OL]. <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5316a2.htm>, 2004 - 06 - 25.
- [2] 张经. 围产期李斯特菌病 - 附八例报告[J]. 中华围产医学杂志, 2000, 3(1): 56-57.
- [3] 陈伟伟, 杨育红, 杨毓环. 泉州市食品中单核细胞增生李斯特菌的定性、定量及耐药性分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2003, 15(1): 43-45.
- [4] James MJay. Foodborne listeriosis[M]. Modern food microbiology. New York: Published by van Nostrand Reinhold, 1991, 553-556.
- [5] Bruce Tompkin. 肉制品的微生物安全问题[A]. 第一届 ICMSF - 中国国际食品安全会议[C]. 北京: 2004. 10. 21-22.

[收稿日期: 2004 - 12 - 26]

中图分类号: R15; Q933. 122; TS201. 3

文献标识码: A

文章编号: 1004 - 8456(2005)02 - 0112 - 04

基金项目: 国家科技部“十五”攻关项目(2001BA804A03, 2001BA804A34); 社会公益项目(2001DIB00148, 2002DIA300167)

作者简介: 陈艳 女 博士

通讯作者: 刘秀梅 女 研究员 首席科学家

This work was supported by the Grant from National Science and Technology Program Funds (2001BA804A03, 2001BA804A34) and the Special Funds (2001DIB00148, 2002DIA300167) of Ministry of Science and Technology.

Market survey of *Vibrio parahaemolyticus* in shell oysters of Fujian, China

CHEN Yan, LIU Xiur-mei, MA Qun-fei, WANG Ming

(National Institute for Nutrition and Food Safety, Chinese CDC, Beijing 100050, China)

Abstract: *Vibrio parahaemolyticus* in retail shell oysters were investigated. From April 2003 to March 2004, 252 oysters in shell were collected monthly in Fuzhou and Xiamen of Fujian Province, (39% from restaurants; 50% from retail markets and 11% from wholesale seafood markets). The *V. parahaemolyticus* in oyster samples was determined qualitatively and quantitatively by the Vitek identification system and the most probable number (MPN) technique. The geometric mean *V. parahaemolyticus* density in retail shell oysters was 46 MPN/100 g, with 46% had *V. parahaemolyticus* densities below the detectable level of 30 MPN/100 g; only two samples from Xiamen were found to harbor *V. parahaemolyticus* densities exceeding 10^4 MPN/100 g. There was significant difference in the *V. parahaemolyticus* densities between the two regions, and the differences were also found among different sampling sites and seasons. Oysters from Xiamen had higher densities of *V. parahaemolyticus* than did oysters collected from Fuzhou. The highest mean *V. parahaemolyticus* density was observed in samples from wholesale seafood markets. The highest mean *V. parahaemolyticus* density was observed in samples collected in spring (93 MPN/100 g) while approximately 40 MPN/100 g was observed in samples collected in other seasons. These data can be used to estimate the exposure of raw oyster consumer to *V. Parahaemolyticus*.

Key Words: *Vibrio parahaemolyticus*; Oysters; Food Contamination; Quantitative Analysis

副溶血性弧菌 (*Vibrio parahaemolyticus*, VP) 广泛存在于近海岸的海水、海底沉积物和海产品中, 急性胃肠炎是食源性 VP 感染的最常见临床症状。1997 年~1998 年美国发生 4 起与生的或未煮熟牡蛎相关的 VP 暴发, 涉及病例 700 余人, 随后美国食品药品监督管理局开展了生食牡蛎中 VP 危险性评估^[1]。福建是我国最重要的牡蛎养殖省份, VP 食物中毒也是该地区重要的公共卫生问题。国家食源性疾病监测网收集的数据显示, 1992 年~2001 年福建省共报告 VP 食源性疾病暴发 54 起, 涉及病例 1 867 人, 分别占上报微生物性暴发事件总数和病例总数的 47% 和 51%。为此, 我们以福建省作为研究现场, 于 2003 年 4 月~2004 年 3 月对福州和厦门的水产品批发市场、零售市场和酒店采集的牡蛎进行了 VP 的定量研究, 目的是确认福建省零售牡蛎中 VP 的分布情况。

1 材料与方法

1.1 试样 于 2003 年 4 月~2004 年 3 月每月在福建省福州、厦门两地的水产品批发市场、零售市场和饭店, 按照无菌采样原则采集带壳牡蛎试样, 共采集了 252 份。牡蛎品种主要为太平洋牡蛎 (*Ostrea gigas*) 和褶牡蛎 (*Ostrea plicatula*)。现场测定牡蛎贮存环境温度。将试样置 4℃ 保存, 采样后 3~8 h 内进行检验。

1.2 试剂和仪器 碱性蛋白胨水 (APW)、TCBS 琼

脂、科玛嘉弧菌显色培养基、3.5% NaCl 三糖铁琼脂 (TSI)、3.5% NaCl 胰酪胨大豆琼脂 (TSA) 均为北京陆桥技术有限责任公司产品。VITEK-32 全自动细菌生化鉴定仪、VITEK-NFC 生化卡均为法国生物梅里埃公司产品。

1.3 细菌检测 在流水下刷洗牡蛎外壳, 无菌操作打开贝壳, 称取蛎肉 25 g, 加入 225 ml 无菌 APW 均质 1 min 制成悬液。取装有 9 ml APW 的试管, 接种量分别为 1, 0.1 和 0.01 g, 每个稀释度 3 管, 37℃ 培养 18 h 或过夜。增菌液接种 TCBS 平板 37℃ 培养 (24 ± 2) h, 每板挑取 2~3 个可疑菌落 (蓝绿色) 划线科玛嘉琼脂平板, 置 37℃ 培养 (24 ± 2) h。再挑取可疑菌落 (紫色) 穿刺接种 TSI 并划线 TSA, 42℃ 培养 (24 ± 2) h。刮取 TSA 上的菌苔进行氧化酶试验, 阳性菌株用 NFC 卡上 VITEK-32 进行鉴定。查 MPN 表计算 VP 浓度, 最低检出量为 30 MPN/100 g。

1.4 统计方法 由于未转换计数呈偏态分布, 因此不适合采用正态理论方法, 为便于计算, 当试样 VP 密度低于 30 MPN/100 g 时, 假定菌量为 15 MPN/100 g (最低检测限的 1/2)。试样 VP 密度的均值用几何均数表示。对 VP 密度的估计值进行对数转换后, *t* 检验比较两个地区试样 VP 密度。采用单因素方差分析 (ANOVA) 比较不同采样点和不同季节试样 VP 密度。以上数据统计分析采用 SPSS 10.0 软件。² 检验比较试样 VP 阳性率的差异, 数据分析采用 Epi Info 2002 软件。

2 结果

2.1 试样的基本情况 在福建省福州和厦门共收集带壳牡蛎试样 252 份,其中福州 123 份、厦门 129 份。采样点分为 3 类:(1)水产品批发市场,在此批发商将牡蛎批发给各类零售点;(2)零售市场,提供用于带壳牡蛎零售集贸市场和超市;(3)饭店,包括饭店和街边个体摊贩。福州 1 份试样的采样点信息丢失,在分析时将其排除。全部试样中,水产品批发市场 29 份(11%)、零售市场 125 份(50%)、饭店 97 份(39%)。各季节样本量如下:春季(4~6 月)60 份、夏季(7~9 月)73 份、秋季(10~12 月)57 份、冬季(1~3 月)62 份。

以牡蛎贮存环境的温度代表牡蛎贮存温度。基本室温贮存试样,只有不到 1%的试样贮存温度低

于 8℃。试样平均贮存温度 19.4℃,最低 -20℃,最高 30℃。通过询问销售人员获得牡蛎试样在该环节的贮存时间,即从牡蛎进货到销售之间持续的时间。试样平均贮存时间为 12.8h,最短 0h,最长 7d。

2.2 两个地区牡蛎中 VP 的污染情况 牡蛎试样的 VP 密度 46 MPN/100 g 的最低检出限,平均密度为 46 MPN/100 g。福州试样 VP 密度均 < 1 000 MPN/100 g;136 份阳性试样中有 134 份 VP 密度低于 1 000 MPN/100 g,仅厦门有 2 份试样菌量超过 10⁴ MPN/100 g。厦门试样 VP 密度较高,地区间试样 VP 密度差别有显著性($P < 0.01$);两地试样阳性率均高于 50%,地区间试样阳性率差别无显著性($P > 0.05$)。详见表 1。

2.3 不同采样点牡蛎中 VP 的污染情况 福州批

表 1 福州和厦门零售带壳牡蛎中 VP 的分布

| 地区 | 样本数 | 试样菌量的百分比 | | | | 平均菌量 (MPN/100 g) | |
|----|-----|----------|-------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|---------------------|-------------------------------------|
| | | 未检出 | < 10 ² | > 10 ² ~ 10 ³ | > 10 ³ ~ 10 ⁴ | | > 10 ⁴ ~ 10 ⁵ |
| 福州 | 123 | 48.0 | 34.1 | 17.9 | 0.0 | 0.0 | 37 |
| 厦门 | 129 | 44.2 | 27.1 | 23.3 | 3.9 | 1.6 | 57 |
| 合计 | 252 | 46.0 | 30.6 | 20.6 | 2.0 | 0.8 | 46 |

发市场试样 VP 阳性率(100%)显著高于零售市场(46.4%)和饭店试样(50.8%)($P < 0.05$),后二者阳性率差别无统计学意义($P > 0.05$);厦门各采样点牡蛎 VP 阳性率均在 50%左右,差别无统计学意义($P > 0.05$)。综合两地数据,未见不同采样点试样 VP 阳性率存在差别($P > 0.05$)。福州批发市场试样 VP 密度显著高于零售市场试样($P < 0.05$),饭店试样 VP 密度与批发市场和零售市场试样无统计学差异($P > 0.05$);厦门批发市场试样 VP 密度显著高于零售市场和饭店($P < 0.05$),后二者差异无统计学意义($P > 0.05$);综合两地数据,不同采样点牡蛎 VP 密度的趋势同厦门试样,详见表 2。

表 2 福州和厦门不同采样点零售带壳牡蛎 VP 密度的比较

| 采样点 | 福州 | | 厦门 | | 合计 | |
|------|----------|------|---------|-------|---------|------|
| | 均数 | 标准差 | 均数 | 标准差 | 均数 | 标准差 |
| 批发市场 | 87.12a | 1.96 | 114.84a | 10.33 | 107.44a | 7.77 |
| 零售市场 | 29.90b | 2.39 | 50.48b | 3.71 | 39.92b | 3.19 |
| 饭店 | 40.44a,b | 3.04 | 45.99b | 4.42 | 42.53b | 3.55 |

注:同一列数值后跟随着不同的字母表示二者在 $\alpha = 0.05$ 的水平上具有差异统计学意义。

2.4 不同季节牡蛎中 VP 的检出情况 福州不同季节 VP 阳性率差异无显著性($P > 0.05$);厦门不同季节牡蛎 VP 阳性率差异有显著性,冬春季试样显著高于夏秋季试样($P < 0.05$),详见表 3。福州 4 季试样 VP 平均密度的差异无统计学意义($P > 0.05$);厦门春季试样 VP 平均密度显著高于其它季节($P < 0.05$),冬季试样又高于夏秋季试样($P < 0.05$),而夏

秋季试样差异无显著性($P > 0.05$);两地总体上春季试样高于其它季节($P < 0.05$),而其它季节之间的差别无统计学意义($P > 0.05$),详见表 4。

表 3 福州和厦门不同季节零售带壳牡蛎 VP 阳性率的比较

| 季节 | 福州 | | | 厦门 | | |
|----|-----|-----|--------|-----|-----|--------|
| | 样本量 | 阳性数 | 阳性率(%) | 样本量 | 阳性数 | 阳性率(%) |
| 春 | 36 | 20 | 55.6 | 24 | 22 | 91.7 |
| 夏 | 30 | 15 | 50.0 | 43 | 15 | 34.9 |
| 秋 | 28 | 15 | 53.6 | 29 | 11 | 37.9 |
| 冬 | 29 | 14 | 48.3 | 33 | 24 | 72.7 |

表 4 福州和厦门不同季节零售带壳牡蛎 VP 密度的比较 MPN/100 g

| 季节 | 福州 | | 厦门 | | 合计 | |
|----|--------|------|---------|------|--------|------|
| | 均数 | 标准差 | 均数 | 标准差 | 均数 | 标准差 |
| 春 | 38.64a | 2.73 | 357.34a | 6.50 | 92.66a | 6.00 |
| 夏 | 43.51a | 3.28 | 27.89b | 3.10 | 33.48b | 3.21 |
| 秋 | 37.89a | 2.65 | 28.74b | 2.56 | 32.92b | 2.60 |
| 冬 | 30.14a | 2.51 | 67.16c | 3.51 | 46.17b | 3.23 |

注:同一列数值后跟随着不同的字母表示在 $\alpha = 0.05$ 的水平上差异具有统计学意义。

3 讨论

美国海湾城市弧菌感染监测显示,生食牡蛎引起的弧菌食源性疾病暴发贯穿全年,接受调查问卷的病人中 73%在疾病前一周内曾生食牡蛎,提示确保生食牡蛎的微生物安全对于预防胃肠炎极为重要^[2]。高亚色等^[3]发现 VP 是厦门市售牡蛎的主要检出菌种,在分别送检的急性腹泻病人标本中也能同时检出,提示食用牡蛎与致病性弧菌腹泻存在密切关系。包头市发生一起食物中毒,病例超过 60 人,在生牡蛎及混合食物中检出 VP,可能是一次由

牡蛎引起的 VP 暴发事件^[4]。

本研究发现福州和厦门牡蛎 VP 的污染较为普遍,零售牡蛎阳性率超过 54%。地区间试样 VP 密度差别有显著性,厦门试样 VP 污染程度较高。推测除了与厦门平均气温及海区水温较高等因素有关外,估计当地居住人口密度大,牡蛎主要为近海滩涂养殖也是主要的原因。Ellison 等^[5]发现饭店试样 VP 的平均对数计数比批发市场试样高 0.33,但差异无显著性。福州批发市场试样 VP 菌量与饭店试样的差异无显著性,与 Ellison 等的研究一致,但是批发市场试样比饭店试样的平均对数计数高 0.33,与 Ellison 等的结果恰好相反。美国各海岸的零售牡蛎 VP 密度均呈现季节性,以夏季最高,12%的试样密度超过 10^4 MPN/g^[6]。本研究显示,福州试样中 VP 密度差异无季节性,明显低于国外文献的报道,其中厦门的春季试样 VP 密度最高,冬天试样 VP 密度又高于夏秋二季。

Johnson 等^[7]发现 4 贮存的带壳牡蛎,体内 VP 至少存活 3 周,数量几乎不减少;带壳牡蛎贮存于 35 ℃,2~3d 后可观察到 VP 的繁殖。Goch 等^[8]发现收获后 26 贮存的生牡蛎,体内 VP 迅速繁殖,10 h 增加 50 倍,24 h 增加 790 倍。大约冷藏 14 d 后,平均 VP 数量降至 1/6。提示 VP 会在未冷藏牡蛎体内迅速繁殖,而低温贮存可能使牡蛎体 VP 水平下降。Ellison 等发现饭店牡蛎 VP 水平高于批发市场,推测在零售阶段存在贮存温度不当^[5]。按照美国贝类收获和加工指南,纵使环境温度超过 27 ℃,贝类仍然可以在收获后 10 h 尚未冷藏^[9]。Cook 等^[6]发现尽管 25%的冷库温度记录超过 5 ℃,所调查冷库平均温度均达到美国食品药品监督管理局食品编码的要求(<5 ℃),0.5%批次牡蛎贮存温度超过 13 ℃,21%超过 7.2 ℃。美国零售牡蛎平均贮存时间(牡蛎收获至试样采集)为 7.7 d,约 7%的试样超过 14 d^[6]。本研究发现福建省牡蛎基本室温贮存,各流通环节的平均贮存时间为 12.8 h,最长贮存时间为 7 d。GB/T 19220—2003(农副产品绿色批发市场)中规定水产品储藏应配备低温冷库或冷藏设施,GB/T 19221—2003(农副产品绿色零售市场)中未对鲜活水产品提出冷藏要求。两个标准均未要求供货商提供产品的生产日期,而欧共体对我国出口水产品要求标明具体生产日期。本研究中牡蛎贮存时间明显低于国外的研究,主要是由于在牡蛎产地采集试样并就地检测。

微生物危险性评估是国际食品法典委员会推荐

的用于制定食品中微生物限量标准的研究方法,而详实的食品中致病菌的定量资料则是开展评估工作不可或缺的数据。本研究是我国对零售环节牡蛎 VP 污染状况进行的首次定量研究,研究结果可以为危险性评估提供有价值的人群 VP 暴露量的信息。零售环节牡蛎 VP 密度的资料可以用来估计相对于其它决定因素(如收获时的密度、温度)对消费者暴露危险性的影响,建立人群 VP 暴露的剂量反应关系模型^[10]。本研究选择在我国重要的牡蛎产区,两个研究地区分别处于温带和亚热带气候,能够基本代表我国 VP 高发的南部地区的气候条件。不同季节、不同采样环节的贮存温度和时间的资料将为危险性评估提供有价值的科学资料,为进一步研究控制措施的有效性提供原始的基线资料。

参考文献

- [1] FDA. Draft risk assessment on the public health impact of *Vibrio parahaemolyticus* in raw molluscan shellfish. See Internet site [DB/OL]. <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/vprisk.html>, 2000.
- [2] Levine W C, P M Griffin, G C V W Group. *Vibrio* infections on the Gulf Coast: results of first year of regional surveillance [J]. *J Infect Dis*, 1993, 167:479-483.
- [3] 高亚色, 林国华. 牡蛎携带致病性弧菌状况调查[J]. *陕西医学检验*, 2000, 15(1):44.
- [4] 赵瑛, 郝红霞, 关艳红, 等. 一起由副溶血性弧菌引起的食物中毒. *中国卫生检验杂志*, 2000, 10(6):746.
- [5] Ellison R K, Malnati E, Depaola A, et al. Populations of *Vibrio parahaemolyticus* in retail oysters from Florida using two methods[J]. *J Food Prot*, 2001, 64(5):682-686.
- [6] Cook D W, O'leary P, Hunsucker J C, et al. *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus* in U. S. retail shell oysters: a national survey from June 1998 to July 1999 [J]. *J Food Prot*, 2002, 65(1):79-87.
- [7] Johnson W G Jr, Salinger A C, King W C. Survival of *Vibrio parahaemolyticus* in oyster shellstock at two different storage temperatures[J]. *Appl Microbiol*, 1973, 26:122-123.
- [8] Goch J A, DePaola A, Bowers J, et al. Growth and survival of *Vibrio parahaemolyticus* in postharvest American oysters [J]. *J Food Prot*, 2002, 65(6):970-974.
- [9] United States Department of Health and Human Services, Public Health Services, Food and Drug Administration. National shellfish sanitation program guide for the control of molluscan shellfish [Z]. U S Department of Health and Human Services, Washington, DC. 1999.
- [10] Buchanan R L, Damert W C, Whiting R C, et al. The use of epidemiological and food survey to estimate a purposefully conservative dose-response relationship for *Listeria monocytogenes* levels and incidence of listeriosis [J]. *J Food Prot*, 1997, 60:918-922.

[收稿日期:2004-12-26]

中图分类号:R15;R378.3;Q959.215.3 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2005)02-0115-04