

风险评估专栏

sQMRA 在微生物定量风险评估中的应用

朱江辉, 李凤琴

(中国疾病预防控制中心营养与食品安全所, 北京 100050)

摘要:目的 以福建省人群食用牡蛎引起副溶血性弧菌(VP)胃肠炎的风险为例,介绍一种快速的风险评估工具(sQMRA)在微生物定量风险评估中的应用。方法 利用《2002年中国居民营养与健康状况调查》结果、文献报告和推断等方式,对福建省2008年9—11月牡蛎的消费量和零售阶段VP的污染水平、交叉污染和烹制对VP菌落数的影响等共11个参数进行了推算和引用。结果 计算得到福建省2008年9—11月VP的感染人数为10 221人,其中有1 022人罹患VP胃肠炎,推算得到的VP胃肠炎的发病概率为 2.8×10^{-5} ,与人群监测推算的VP胃肠炎发病概率 3.8×10^{-5} 结果较为接近。结论 sQMRA是一种快速简便有效的微生物定量风险评估工具。

关键词:微生物定量风险评估;sQMRA;牡蛎;副溶血性弧菌

中图分类号:R15;X820.4 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2011)01-0046-04

Application of sQMRA in quantitative microbiological risk assessment

Zhu Jianghui, Li Fengqin

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

Abstract: Objective A swift quantitative microbiological risk assessment (sQMRA) tool was introduced as an example in the risk assessment of *Vibrio parahaemolyticus* (VP) gastroenteritis caused by consuming oysters in Fujian province.

Methods The database of *Chinese national nutrition and health survey in 2002*, paper reviewing and empirical inferring, 11 parameters, such as the oyster consumption data and VP contamination level at retail, influence of cross-contamination and preparation on the number of colony forming unit of VP were estimated. **Results** It was calculated that about 10 221 and 1 022 people infected by VP and had gastroenteritis respectively during September to November in 2008. The estimated probability of VP gastroenteritis was 2.8×10^{-5} which was very close to that estimated based on the surveillance study, 3.8×10^{-5} . **Conclusion** The sQMRA is easy and appropriate for quick QMRA estimation.

Key words: Quantitative microbiological risk assessment; sQMRA; oysters; *Vibrio parahaemolyticus*

经典的微生物定量风险评估(quantitative microbiological risk assessment, QMRA)方法是采用数学模型,对某种致病微生物从农场到餐桌整个食物链的繁殖和传播过程进行描述。过去10年,根据对整个食物链或食物链某一阶段研究所获得的剂量-反应关系,以及消费者对致病微生物的估计暴露量,采用QMRA方法可计算获得估计的人群发病例数^[1,2]。更为重要的是,QMRA方法可以评价干预措施在降低人群发病风险中的意义,如果再考虑经济因素,还可以进行成本-效益分析。

但是QMRA方法对模型构建的要求较高,分析过程耗时、费力和费用高,因此促进了一些简单的

风险评估技术的研发。Evers和Chardon^[3]基于微软Excel工作表构建了一个简单的“快速微生物定量风险评估(swift quantitative microbiological risk assessment, sQMRA)工具”。sQMRA是从零售阶段开始,通过分析与病原体繁殖和传播相关的关键因素(交叉污染和烹饪),最终获得该食物-病原体组合导致的感染和发病人数。本文以福建省人群食用牡蛎引起副溶血性弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*, VP)胃肠炎的风险评估为例,介绍sQMRA工具在微生物定量风险评估中的应用。

1 研究方法

sQMRA工具的基础是微软Excel工作表,研究者只需在该表的相应位置输入参数值(如食物份数和每份食物中的菌落数等)即可获得计算结果。利用sQMRA进行微生物定量风险评估时,首先要有明确的定义,即“案例定义”,而本次研究定义的内容包括:①病原微生物种类:VP;②食物类别:牡

收稿日期:2010-08-31

作者简介:朱江辉 男 助理研究员 研究方向为食品卫生

E-mail: zhujianghui@gmail.com

通信作者:李凤琴 女 研究员 研究方向为食品安全

E-mail: lifengqin0224@gmail.com

蛎;③ 人群样本量:3 604万(根据2009年中国统计年鉴^[4]);④ 研究人群界定:福建省普通人群;⑤ 牡蛎消费时间:2008年9—11月。

此外,还要输入 sQMRA 工具分析所需要的 11 个参数,包括:

① 在上述规定的消费时间内,研究对象消耗的食物份数是多少(N)?

② 每份食品的平均大小(M)?

《2002年中国居民营养与健康状况调查》^[5]中对福建龙岩新罗区、罗源县和德化县的1 445名居民进行的3日膳食回顾调查结果表明,2002年9—11月仅8人报告在过去的3日内消费了牡蛎,总消费量为560.7 g,中位数为80.1 g,以此为基础推算福建省3 604万人在2008年9—11月共消费了 $(3.604 \times 10^7 \times 90 \times 560.7) / (1 445 \times 3) = 419 535 529.41$ g牡蛎;如果以牡蛎消费量中位数(80 g)作为一份牡蛎的重量(M),那么推算在2008年9—11月福建省人群消费的牡蛎份数为 $419 535 529.41 / 80 = 5 237 647$ 份(N)。

③ 零售环节牡蛎中VP的污染率($S_{v/+}$)?

对福州和厦门两地带壳牡蛎中VP污染情况的调查发现,秋季(10—12月)两地零售带壳牡蛎VP的平均阳性率为45.6% ($S_{v/+}$)^[6]。

④ 被污染牡蛎中VP的菌落平均数($C_{v/+}$)?

在VP污染水平表示方法上,国内研究采用的是最可能数(most probable number, MPN)法^[5],而MPN法与sQMRA工具要求的菌落形成单位(colony forming unit, CFU)计数法之间无法换算,而且目前国内水产品中采用VPCFU计数的结果很少,因此只能凭经验推断。一般情况下如果水产品被VP污染,其污染水平依季节不同而异,一般为10 CFU/g左右,夏季则高达 10^3 CFU/g以上^[7]。由于本研究分析的时间段是福建省的9—11月,因此牡蛎中VP的污染水平采用1 000 CFU/g ($C_{v/+}$)。

⑤ 发生交叉污染(如手、厨房用品)的牡蛎百分比($S_{cc/t}$)?

⑥ 交叉污染发生后,从一份被污染牡蛎转移到环境中的菌落数百分比(F_{cc})?

⑦ 交叉污染发生后,进入消化系统的菌落数百分比(F_{ei})?

邹婉虹^[8]的研究表明,牡蛎收获上岸后短时间内,有1%的牡蛎被生吃,99%的牡蛎经过冷冻运输后市场销售,然后在厨房中烹制。Evers和Chardon^[3]认为,对生食食品可不考虑交叉污染问题,因此有99% ($S_{cc/t}$)的市售牡蛎有可能会发生交叉污染。

由于无法确定从食物进入环境、又从环境进入消化系统的病原体的百分比,因此Evers和Chardon^[3]认为 F_{cc} 和 F_{ei} 值等同,并且推测每份食物中的病原菌有1%会污染到手(F_{cc}),手上污染的病原菌中又有1% (F_{ei})会进入消化系统。

⑧ 食品被彻底加热、未彻底加热、未处理份数的构成比($S_{pry/cc}$)?

⑨ 食品烹饪后,一份食品上残存的菌落数百分比(F_{pry})?

根据邹婉虹^[8]的研究,牡蛎捕捞后有1%被生吃,99% ($S_{pry/cc}$)被冷冻后销售,售出的牡蛎被充分加热后食用。假设未经烹饪的牡蛎中VP的数量没有变化,则生吃的1%牡蛎中,VP残存的百分比为100% (F_{pry}),假设彻底加热的牡蛎中,VP全部被杀灭,则残存的百分比为0,未彻底加热牡蛎中,VP残存的百分比为10%。

⑩ 每份食品上的菌落平均数为多少时,暴露人群中有一半被感染(ID_{50})?

卢晓凤^[9]等采用 β -泊松模型,建立了VP与人体感染的剂量-反应关系模型,结果表明,普通人群感染VP的 ID_{50} 为 10^5 CFU。

⑪ 被感染人群中患病的比例($P_{ill/inf}$)?

2005年7月,美国采用 β -泊松模型、Gompertz模型和概率剂量-反应模型对生牡蛎中致病性VP对公众健康的影响进行了定量风险评估^[10],结果当每餐摄入VP的量分别是 2.8×10^6 、 4.0×10^6 和 3.2×10^6 CFU时,研究对象患VP胃肠炎的机会为50%。当普通人群感染 10^5 CFU的VP时,按照以上所述的3种剂量-反应关系模型计算的被感染人群患病的概率约为10% ($P_{ill/inf}$)。

2 结果

2.1 2008年9—11月福建省人群牡蛎的消费量及零售阶段VP的污染情况

9—11月福建省人群共消费了5 237 647份牡蛎,假设每份牡蛎的重量是80 g,福建部分地区牡蛎中VP的污染率是45.6%,则人群消费的牡蛎中,被污染的牡蛎份数为 $= 5 237 647 \times 45.6\% = 2 388 367$ 份,未被污染的牡蛎份数为 $5 237 647 \times (1 - 45.6\%) = 2 849 280$ 份。若牡蛎中VP的污染水平为1 000 CFU/g,则每份被污染的牡蛎中的VP菌落数 $= 1 000 \times 80 = 80 000$ CFU。

2.2 厨房中VP交叉污染情况

被污染的牡蛎中,发生交叉污染的牡蛎比例为 $45.6\% \times 99\% = 45.1\%$,这部分牡蛎共有 $5 237 647 \times 45.1\% = 2 364 483.4$ 份。发生交叉污染

后,若一份被污染的牡蛎中有 1% 的菌落进入到环境中,则一份被污染的牡蛎中有 $80\,000 \times 1\% = 800$ CFU 的 VP 进入环境,未进入环境的菌落数为 $80\,000 - 800 = 79\,200$ CFU。进入环境中的 VP 中,又有 1% 的菌落会被再次摄入,因此每份牡蛎在发生交叉污染损失了 800 CFU 后,其中又有 $800 \times 1\% = 8$ CFU 再次被机体摄入,那么每份发生交叉污染的牡蛎损失的菌落数为 $800 \times (1 - 1\%) = 792$ CFU。

2.3 烹饪对牡蛎中 VP 菌落数的影响

根据邹婉虹^[8]的研究,有 99% 的牡蛎经过充分加热后食用,那么上述发生交叉污染的牡蛎中,被充分加热烹制的牡蛎占总消费份数的百分比为 $45.1\% \times 99\% = 44.7\%$,包含的食物份数为 $5\,237\,647 \times 44.7\% = 2\,340\,838.5$ 份;假设彻底加热的牡蛎中 VP 残存百分比为 0,那么这部分牡蛎在进入消化系统之前,所残存的 VP 只是通过交叉污染进入环境、又在加热后从环境中二次摄入的 VP 数,所以发生交叉污染而且被充分加热的每份牡蛎中,被机体摄入的菌落数为 8 CFU,被人群摄入的总 VP 菌落数为 $2\,340\,838.5 \times 8 = 18\,726\,708.2$ CFU。采用同样的方法可以计算发生交叉污染而未加热的牡蛎份数和人体摄入的 VP 菌落数等。

2.4 人群 VP 感染和胃肠炎发病情况估算

Evers 和 Chardon^[3]采用指数剂量-反应关系模型估计致病菌摄入量与个体感染概率之间的关系,感染概率的计算公式为:

$$P_{\text{inf}} = 1 - e^{-rc} \quad (1)$$

其中 c 表示在不同的情况(是否发生交叉污染和不同烹饪方式)下牡蛎中残存的 VP 菌落数,而 r 表示一个 CFU 的 VP 可以导致个体被感染的几率,其公式为:

$$r = \frac{\ln 2}{ID_{50}} \quad (2)$$

$$\text{或者 } r = \frac{0.693}{ID_{50}} \quad (3)$$

例如在发生了交叉污染后被充分加热的牡蛎中,每份牡蛎中的残存菌落数为 8 CFU,那么食用了一份这样的牡蛎的个体被感染的概率为:

$$1 - e^{-\frac{0.693}{100\,000} \times 8} = 5.5 \times 10^{-5} \quad (4)$$

那么食用了这样的牡蛎被 VP 感染的例数为 $2\,340\,838.5 \times 5.5 \times 10^{-5} = 129.8$ 人,而罹患 VP 胃肠炎的例数为 $129.8 \times 10\% = 13$ 人。采用同样的方法,分别计算得到食用发生交叉污染后未加热烹制的牡蛎、食用没有发生交叉污染同时经过彻底加热烹制的牡蛎,和食用没有发生交叉污染也没有加工烹制的牡蛎的人群中,发生 VP 胃肠炎的例数分别为 999、0 和 10.2 人,合计为 1 022 人,发生概率为

$$1\,022/36\,040\,000 = 2.8 \times 10^{-5}。$$

3 讨论

目前有一些用于微生物定量风险评估的简单方法,如 Ross 和 Summer^[11]等基于 Excel 表格提出了一个加权评分法,通过采用权重系数对风险进行主观的分级。McNab^[12]利用微软 Access 软件设计了病原体暴露水平对人群健康影响的简化模型,这两个模型的缺点是没有考虑计算剂量-反应关系所必须的致病菌污染水平,而致病菌污染水平对人群健康评估的影响要比致病菌污染率更重要。本研究以福建省人群食用牡蛎引起 VP 胃肠炎的定量风险评估案例为例,介绍了 Evers 和 Chardon^[3]设计的 sQMRA 工具的应用,结果提示 sQMRA 可以应用到中国人群微生物的快速定量风险评估中。

但是,本研究结果与陈艳等^[13]对福建省零售生食牡蛎中 VP 的 QMRA 结果(4.6×10^{-6})存在一定差距,其原因可能为:①本研究对被污染的牡蛎中 VP 的污染密度采用的是经验推断结果,1 000 CFU/g,而按陈艳等推算的发病概率数,在不考虑其他影响因素的情况下,福建省被污染的每份牡蛎中 VP 的污染水平应为 150 ~ 160 CFU/g,约是本研究估计值的 1/6。虽然我国目前对 VP 定量极少采用 CFU 计数法,但是根据国际食品微生物规格委员会关于甲壳类-冷冻,预烹煮中 VP 残留量的规定,冷冻甲壳类的 VP 残留限量值为 100 CFU/g,而预烹煮的甲壳类的 VP 残留限量值为 1 000 CFU/g^[14];虽然加拿大对收获时生牡蛎中 VP 的残留限量规定为 100 CFU/g^[15],但是考虑到这是收获时的 VP 密度,在从收获到零售的过程中,被污染的牡蛎中 VP 的数量还会有所增加;不仅如此,美国对生牡蛎 VP 污染的评估^[9]中,发现在路易斯安那州的海岸、亚特兰大中部和北部等地区的夏秋季,牡蛎被捕获后短时间内,VP 的密度最高可以达到 6.0×10^6 CFU/g;在 6 个研究地区中,有 5 个地区的 VP 污染水平都是在 1 000 CFU/g 以上。因此本研究对福建省零售阶段被污染牡蛎中 VP 的水平估计与发达国家相比并不高;②陈艳的研究中考虑了 VP 在零售和消费环节间的繁殖情况,对暴露评估模型进行了校正,而 sQMRA 工具中不涉及该部分内容,考虑到 VP 从零售到消费环节还会有菌群数量的增长,因此推断,sQMRA 有可能会低估人群的发病例数;③本研究对人群暴露评估采用《2002 年中国居民营养与健康状况调查》数据,而陈艳等则采用 1992 年全国营养调查的结果,此外,2002 年营养调查在福建省进行的时间是 9—11 月,考虑到不同季

节对人群 VP 暴露水平的影响,因此本研究只对 9—11 月福建人群食用牡蛎引起 VP 胃肠炎的风险进行了评估。④福建省疾病预防控制中心在福安市开展了弧菌腹泻的监测^[16],3 年共监测人群 300 076 人,其中秋季发病人数为 114 人,发病概率为 3.8×10^{-4} ,推算由于 VP 感染而发生胃肠炎概率为 3.8×10^{-5} 。本研究推算的 VP 胃肠炎发病概率为 2.8×10^{-5} ,与人群监测的推算结果比较接近,提示 sQMRA 工具可以用于微生物的定量风险评估。

此外,sQMRA 与 QMRA 在方法本身及应用方面有一定差别,sQMRA 不引入变异性和不确定性;QMRA 的主要目标是评价在食物链的不同阶段所采用干预措施的效果,sQMRA 可以对有害因素的相对风险做快速估计,但是其绝对危险值被认为要显著低于 QMRA 的结果。此外,本研究采用指数剂量-反应关系模型而非 Beta-泊松模型。指数剂量-反应模型考虑到了单个病原体与宿主之间、宿主与宿主之间感染的变异性,是一个非线性关系的最简单的模型。由于 sQMRA 的重点是相对风险而不是绝对风险,因此剂量-反应关系模型的选择就不那么重要,而且选择简单的指数模型也符合 sQMRA 最大程度简化暴露评估研究的初衷。总之,sQMRA 和 QMRA 各有优缺点。

虽然 Evers 和 Chardon^[3]认为,sQMRA 工具由于没有考虑整个食物链 QMRA 模型的各个环节,简化的模型得到的绝对值往往不太可靠。但由于 sQMRA 对数据资料的需求量极少、模型简单、容易掌握、计算迅捷,因此在应急的微生物定量风险评估中具有很好的应用价值,可以帮助风险管理者尽快掌握致病微生物的风险,及时做出判断。此外,sQMRA 作为一种简化的模型,对于降低发病例数的公共卫生风险的结果的解释是相对的,必须与 QMRA 或其他简化的病原体-食物产品组合评估的结果进行比较。而且在 sQMRA 运算中使用了许多假设,这意味着还需要进一步研究以获得更多必要的、科学的信息。进一步的研究需要对 sQMRA 模型进行一些调整,例如增加病原体的繁殖模型和简化交叉污染的计算过程等,还要在今后的专项研究中,争取采用菌落形成单位作为致病菌污染水平的指标,使得 sQMRA 工具能更准确地估计人群发病

的风险。

参考文献

- [1] SCHLUNDT J. Comparison of microbiological risk assessment studies published [J]. *Int J Food Microbiol*,2000,58: 197-202.
- [2] ROSENQUIST H, NIELSEN N L, SOMMER H M, et al. Quantitative risk assessment of human campylobacteriosis associated with thermophilic *Campylobacter* species in chickens [J]. *Int J Food Microbiol*,2003,83: 87-103.
- [3] EVERS E G, CHARDON J E. A swift Quantitative Microbiological Risk Assessment (sQMRA) tool [J]. *Food Control*, 2010, 21: 319-330.
- [4] 中华人民共和国国家统计局. 2009 中国统计年鉴 [M]. 北京: 中国统计出版社, 2009.
- [5] 李立明,饶克勤,孔灵芝,等. 中国居民 2002 年营养与健康状况调查 [J]. *中华流行病学杂志*,2005,26(7):478-484.
- [6] 陈艳,刘秀梅,马群飞,等. 福建省带壳牡蛎中副溶血性弧菌的市场调查 [J]. *中国食品卫生杂志*,2005,17(2):115-118.
- [7] CURTIS L. *Vibrio parahaemolyticus* [EB/OL]. [2010-08-28]. <http://www.foodsafetywatch.com/public/984.cfm>.
- [8] 邹婉虹. 福建省牡蛎食用中感染副溶血性弧菌的风险评估 [J]. *中国水产*,2003 (1):70-71.
- [9] 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.
- [10] US Food and Drug Administration's Center for Food Safety and Applied Nutrition. Quantitative risk assessment of the public health impact of pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in raw oysters [EB/OL]. (2010-02-04) [2010-08-28]. <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/ResearchAreas/RiskAssessmentSafetyAssessment/ucm050421.htm>.
- [11] ROSS T, SUMMER J. A simple spreadsheet-based food safety risk assessment tool [J]. *Int J Food Microbiol*,2002,77:39-53.
- [12] McNAB B. Food Safety Universe Database, a semi-quantitative risk assessment tool [R]. Ontario: Ministry of Agriculture and Food, 2003.
- [13] 陈艳,刘秀梅. 福建省零售生食牡蛎中副溶血性弧菌的定量危险性评估 [J]. *中国食品卫生杂志*,2006,18(2):103-108.
- [14] International Commission on Microbiological Specifications for Foods. *Microorganisms in Foods. 2. Sampling for Microbiological Analysis: Principles and Specific Applications* [M]. 2nd ed. Buffalo, NY: University of Toronto Press, 1986.
- [15] World Health Organization. Risk assessment of *Vibrio vulnificus* in raw oysters, MRA Series 8 [EB/OL]. [2010-08-28]. <http://www.who.int/foodsafety/publications/micro/mra8.pdf>.
- [16] 郭令星,王锦钦,郭秀珠. 福安市弧菌性腹泻病原学调查 [J]. *海峡预防医学杂志*,2000,6(3):30.