

论著

生食三文鱼片副溶血性弧菌污染的定量风险评估研究

刘弘, 罗宝章, 秦璐昕, 顾其芳, 吴春峰, 袁微嘉
(上海市疾病预防控制中心, 上海 200336)

摘要:目的 评估上海市生食三文鱼片副溶血性弧菌污染的风险。方法 按 WHO/FAO 危害识别、危害特征描述、暴露评估和风险特征描述 4 个步骤进行了副溶血性弧菌风险评估, 危害识别、危害特征描述资料收集自公开发表的科学文献、报告, 暴露评估、风险特征描述应用了监测、膳食调查、生长模型, 调整因子、Beta-Poisson 剂量反应模型、蒙特卡洛模拟及统计方法。结果 在上海市生食被副溶血性弧菌污染的三文鱼片致病的发病概率 1—2 月、3—5 月、6—8 月、9—11 月分别为 8.00×10^{-7} 、 6.23×10^{-7} 、 4.14×10^{-6} 、 8.71×10^{-6} , 敏感度分析显示 6—11 月生食三文鱼中的副溶血性弧菌的污染量对发病概率影响最大。结论 上海市生食三文鱼片副溶血性弧菌污染存在比较小的健康风险, 夏、秋季控制生食三文鱼片中的副溶血性弧菌的污染量是减少健康风险的关键。

关键词:三文鱼片; 副溶血性弧菌; 定量风险评估; 蒙特卡洛模拟; 食品安全; 食源性致病菌

中图分类号:R155.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-8456(2012)01-0018-05

Quantitative risk assessment of *Vibrio parahaemolyticus* in raw salmon slices

Liu Hong, Luo Baozhang, Qin Luxin, Gu Qifang, Wu Chunfeng, Yuan Weijia

(Shanghai Municipal Center for Disease Control & Prevention, Shanghai 200336, China)

Abstract: Objective To assess the risk of *Vibrio parahaemolyticus* in raw salmon slices in Shanghai, China. **Methods**

The risk assessment of *V. parahaemolyticus* followed the risk assessment structure of WHO/FAO, involving hazard identification, hazard characterization, exposure assessment, and risk characterization. The data for hazard identification and hazard characterization were obtained from published scientific literatures and reports. Monitoring, dietary survey, growth rate model, adjustment factors, Beta-Poisson dose-response model, Monte Carlo simulations and statistical methods were applied. **Results** Predicted probability of incidence associated with the consumption of raw salmon slices contaminated by *V. parahaemolyticus* in Shanghai residents in Jan-Feb, March-May, June-August and Sep-Nov were 8.00×10^{-7} , 6.23×10^{-7} , 4.14×10^{-6} and 8.71×10^{-6} , respectively. Sensitivity analysis showed that the level of *V. parahaemolyticus* in raw salmon slices from June to Nov was the most influential factor to the probability of illness.

Conclusion The health risk of raw salmon slices contaminated by *V. parahaemolyticus* in Shanghai was low. Controlling the level of *V. parahaemolyticus* in raw salmon slices in summer and autumn is the key approach to reduce its health risk.

Key words: Salmon slices; *Vibrio parahaemolyticus*; quantitative risk assessment; Monte Carlo simulations; food safety; foodborne pathogens

副溶血性弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*, VP)自 1950 年日本第一次在食源性疾病暴发事件中分离发现后, 一直是世界范围内一种重要的食源性病原菌^[1], 近年由 VP 引起的食源性疾病暴发事件在全球范围内呈上升趋势^[2-3]。VP 最常出现在温带海域的水产品中, 三文鱼虽然是生长在高纬度地区的冷水鱼类, 其本身带 VP 的情况并不多见, 但由于三文鱼常与其他海水鱼放在一起加工、销售, 污染 VP 的情况也时有发生^[4-6], 由于人们喜欢生食三文鱼片, 这就给发生食物中毒埋下了隐患。

本研究根据微生物定量风险评估的基本程序, 对生食三文鱼片 VP 污染进行定量的风险评估, 旨在为生食三文鱼片风险管理提供依据。

1 材料与方法

根据世界卫生组织/联合国粮农组织(WHO/FAO)规定的 4 个步骤进行风险评估^[7], 见图 1。

1.1 危害识别、危害特征描述

检索 Pubmed、Medline、CNKI、维普等常用的核心数据库、相关的国际组织、美国、我国及上海市有关 VP 的相关文献及资料, 进行整理、分析及描述。

1.2 暴露评估

1.2.1 上海市生食三文鱼片 VP 污染状况监测

收稿日期: 2011-07-12

作者简介: 刘弘 男 硕士 主任医师 研究方向为营养与食品卫生 E-mail: hliu@scdc.sh.cn

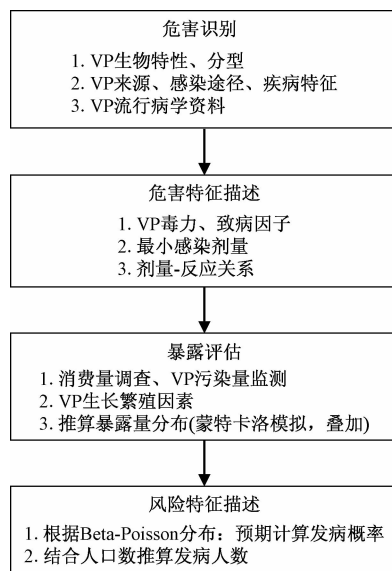


图1 副溶血性弧菌污染的定量风险评估程序
Figure 1 The procedure of quantitative risk assessment
for *Vibrio parahaemolyticus*

自2005年至2009年,参照WHO/FAO、GEMS/

$$\sqrt{\mu_m} = \frac{b \times (T - T_{\min}) \times \{1 - \exp[c \times (T - T_{\max})]\}}{\sqrt{\ln(10)}} \times \sqrt{\frac{(a_w - a_{w,\min}) \times \{1 - \exp[d \times (a_w - a_{w,\max})]\}}{\ln(10)}}$$

其中参数 μ_m 为最大生长率, a_w 为水分活度, T 为气温、单位为K^[10]。根据公式中固定参数设置 b 、 c 、 T_{\min} 、 T_{\max} 、 a_w 、 $a_{w,\min}$ 、 $a_{w,\max}$ 和 d 的估计值分别为0.035 6、0.34、278.5、319.6、0.985、0.921、0.998和263.64, a_w 取值为0.985^[10];将2009年上海市气象局公布的平均气温作为参数 T ,代入二级模型,计算 μ_m 。

平均每次食用致病VP暴露量 = [污染量 + (污染量 × 估计生长率 × 食用前贮存时间)] × 致病细菌率 × 消费量

模型中的参数分布均以@Risk软件的语法表达,使用拉丁超立方抽样方法,进行蒙特卡洛50 000次迭代模拟,拟合结果的波动范围取±2.5%,致病细菌率取5%。

1.3 风险特征描述

参考了国内外已有报道^[10-11],采用Beta-Poisson分布模型 $\Pr(\text{ill}/d) = 1 - (1 + d/\beta)^{-\alpha}$,计算预测每次生食三文鱼片发病概率,结合消费频次及上海市人口数,计算预测发病人数; α 取值0.6, β 取值 1.3×10^6 ;敏感性分析采用发病概率与模型变量之间的Spearman等级相关分析^[10-11]。

1.4 分析、模拟

采用EXCEL、SAS软件包进行数据汇总和描述性统计分析,用@Risk 4.5软件进行蒙特卡洛模拟。

FOOD方法^[8],采用分层随机抽样的方法,采集上海市超市、餐饮店销售的生食三文鱼片155件,采用Vitek鉴定系统和最可能数(MPN)法进行VP定性及MPN法定量检测^[9],按1 MPN/g = 1 CFU/g折算。

1.2.2 上海市居民生食三文鱼片消费量调查

2009年,采用多阶段随机抽样方法抽取1 926名上海市居民,采用食物频率法进行生食三文鱼片消费量调查。

1.2.3 上海市居民生食三文鱼片VP暴露评估

结合生食三文鱼片VP污染量、居民生食三文鱼片消费量概率分布及VP生长繁殖因素调整,推算居民生食三文鱼片VP暴露量。

参考国内已有报道^[10],采用冈泊茨函数模拟各种温度和水分活度组合观察到的细菌生长。采用二级模型估计环境参数对细菌最大生长率的作用,假设模型为平方根类型:

2 结果

2.1 危害识别

VP广泛存在于近海岸的海水、海底沉积物和海产品中,可引起急性胃肠炎症状的食物中毒^[12]。VP为革兰阴性杆菌,呈弧状、杆状、丝状等多种形态,无芽胞,一端有单鞭毛,运动活泼,需氧或兼性厌氧;VP最适生长的pH值为7.4~8.2,温度30~37℃;在含盐3%~4%的培养基中生长良好,无盐时不生长,故又称嗜盐菌,当NaCl浓度高于8%时也不能生长。该菌不耐高温,90℃加热1 min或56℃加热5 min即可杀灭;对酸敏感,在2%醋酸或50%的食醋中1 min即可死亡^[13]。

VP有845个血清型,主要包括13种耐热的菌体抗原(即O抗原),71种不耐热的包膜抗原(即K抗原),1996年以前日本、中国台湾等地以O4:K8型为主,1996年以后,首先是印度加尔各答,后续是日本、台湾、东南亚、北美等地,目前O3:K6型是VP引起食物中毒的主要血清型,并呈增多的趋势^[4]。

VP引起的食物中毒有明显的季节性,多在6—11月,以8—9月为高峰期;全人群普遍易感,儿童与老年人的发病率明显高于其他年龄组,抵抗力弱的人群的感染剂量较健康人群低;患者感染致病VP后,潜伏期平均12 h,一般为8~20 h;发病初期主要为腹部不适,尤其是上腹部阵发性绞痛,继之恶心、呕吐、腹泻,腹泻先水样便,有时脓血便,重症者脱

水,少数病人可再现意识障碍、血压下降等,病程为2~3 d,恢复期较短,一般愈后良好。极少数严重患者可因抢救不及时而死亡^[14]。

海水鱼、甲壳类海产品是 VP 感染的重要食物污染源,生食或食入未煮熟的受到污染的海产品或交叉污染是其主要感染途径^[15]。

目前我国由 VP 引起的食物中毒暴发也已居微生物性食物中毒暴发的首位^[2];作为沿海城市的上海,由 VP 引起的食物中毒暴发已占细菌性食物中毒暴发的 60% 左右,高居首位^[3]。日本由 VP 引起的食物中毒占细菌性食物中毒的 40%~60%,也居首位^[4]。在美国 VP 是临床标本中最常分离到的致病性弧菌种^[16]。

2.2 危害特征描述

能使人或家兔的红细胞发生溶血,在血琼脂培养基上出现 β 溶血带的“神奈川现象”阳性(KP+)的 VP 菌株感染能力强,多数毒性菌株为神奈川试验阳性(KP+)。食物中毒来源的菌株,95%是“神奈川现象”阳性的菌株,从海水和鱼、贝类分离出的菌 95%为阴性株^[13]。

VP 的致病因子有溶血毒素、尿素酶、黏附因子和侵袭力,一般认为 VP 的主要致病作用是其可产生溶血毒素,主要的溶血毒素有耐热直接溶血素(TDH)、TDH 相关溶血素(TRH)及不耐热溶血素(TLH)^[17]。

人对 VP 的最低感染剂量为 10^3 CFU,一般感染剂量 $ID_{50} = 10^5$ CFU^[18]。国外基于人体试食研究数据拟合结合实际监测结果验证已建立了一些 VP 的剂量-反应模型,最常用的有 Beta-Poisson、Probit、Gompertz 等模型;假定 VP 不存在感染阈值,且个体暴露于单个致病菌后可能发生疾病,Beta-Poisson 分布模型, $Pr(\text{ill}/d) = 1 - (1 + d/\beta)^{-\alpha}$,其中 $Pr(\text{ill}/d)$ 为每次生食三文鱼片发病概率,d 为平均每次致病性 VP 的摄入量(CFU/g), α 、 β 为位置参数^[10-11]。

2.3 暴露评估

2.3.1 上海市售生食三文鱼片 VP 污染状况监测

2005—2009 年,上海市售生食三文鱼片 VP 污染状况监测结果显示,全年生食三文鱼片 VP 阳性率 17.42%,VP 污染量为 (0.50 ± 4.92) CFU/g,以 9—11 月污染量最高,为 (0.65 ± 6.89) CFU/g,6—8 月污染量其次,为 (0.48 ± 5.05) CFU/g,见表 1。

2.3.2 上海市居民生食三文鱼片消费量调查

2009 年上海市居民生食三文鱼片消费量调查显示,上海市居民每次消费生食三文鱼量为 (66.94 ± 54.98) g, P90 = 150 g, P95 = 200 g;不同性别居民消费量经统计学检验无差异;不同年龄组居

民消费量经统计学检验有差异。见表 2,表 3。

表 1 上海市售生食三文鱼片 VP 污染状况

Table 1 The contamination of *Vibrio parahaemolyticus* in raw salmon slices in Shanghai

月份	样品数	阳性数	阳性率(%)	\bar{x} (CFU/g)	s (CFU/g)
1—2	11	1	9.09	0.36	1.83
3—5	26	1	3.85	0.31	1.18
6—8	53	11	20.75	0.48	5.05
9—11	65	14	21.05	0.65	6.89
合计	155	27	17.42	0.50	4.92

表 2 上海市不同性别居民生食三文鱼片平均每次消费量

Table 2 The average consumption of raw salmon slices each time in Shanghai residents, by gender

性别	样本数	\bar{x} (g)	s (g)	P50(g)	P90(g)	P95(g)	P99(g)
男	146	64.54	50.37	50	150	150	250
女	135	69.53	59.64	50	150	200	250
合计	281	66.94	54.98	50	150	200	250

注: $\chi^2 = 0.0535$, $P = 0.8171$,差异无统计学意义。

表 3 上海市不同年龄组居民生食三文鱼片平均每次消费量

Table 3 The average consumption of raw salmon slices each time in Shanghai residents, by age

年龄(岁)	样本数	\bar{x} (g)	s (g)	P50(g)	P90(g)	P95(g)	P99(g)
4~17	103	55.67	52.89	50	100	200	250
18~34	81	77.10	60.12	50	150	200	300
35~59	65	66.77	48.74	50	125	150	250
60~	32	77.81	55.27	50	150	150	250
合计	281	66.94	54.98	50	150	200	250

注: $\chi^2 = 13.7844$, $P = 0.0032$,差异有统计学意义。

2.3.3 上海市居民生食三文鱼片 VP 暴露评估

根据文献,生食三文鱼片 VP 暴露评估模型中变量设置、参数分布均以 @Risk 软件的语法设立,见表 4。

通过生食三文鱼片 VP 污染量与生食三文鱼片消费量模拟分布叠加,食用前常温保存,暴露量经过气温、食用前贮存时间的校正,居民生食污染 VP 的三文鱼片平均每次 VP 暴露量模拟结果显示:9—11 月暴露量最大,见表 5。

2.4 风险特征描述

2.4.1 风险大小

模型预测生食三文鱼片在食用前在常温下存放 1 h,则 9—11 月预期月平均发病概率为最高,为 8.71×10^{-6} ,不考虑食用率,预期发病人数 22;6—8 月预期月平均发病概率其次,为 4.15×10^{-6} ,预期发病人数 10;1—5 月预期月平均发病概率 $6.23 \times 10^{-7} \sim 8.00 \times 10^{-7}$,预期发病人数 4 人。每年消费污染了 VP 的生食三文鱼片病例数约为 108 人,甚至更多。模型预测生食三文鱼片在食用前冷藏存放,预期月平均发病概率要低一些。见表 6。

表4 生食三文鱼片 VP 暴露评估模型变量设置

Table 4 The variable settings for the model of VP exposure assessment associated with the consumption of raw salmon slices

变量代码	变量说明	单位	变量描述
C	VP 污染量分布	log CFU/g	1-2月 Normal (-0.44, 0.27)
			3-5月 Normal (-0.51, 0.07)
			6-8月 Normal (-0.32, 0.70)
			9-11月 Normal (-0.19, 0.84)
T _m	气温	℃	1-2月 Normal (6.83, 4.20)
			3-5月 Normal (16.67, 5.67)
			6-8月 Normal (27.80, 2.63)
			9-11月 Normal (19.73, 6.58)
T _s	食用前贮存时间	h	Pert (0, 1, 4)
G	生食三文鱼的消费量	g/次	Normal (66.94, 54.98)

表5 上海市居民生食污染 VP 三文鱼片平均每次 VP 暴露量模拟结果

Table 5 Simulated results of average VP exposure each time associated with the consumption of VP contaminated raw salmon slices in Shanghai residents

月份	食用前常温, 暴露量(CFU)			食用前冷藏, 暴露量(CFU)		
	5%	95%	均值	5%	95%	均值
1-2	0.16	4.88	1.73	0.16	4.79	1.71
3-5	0.19	2.90	1.35	0.17	2.63	1.24
6-8	0.08	35.90	8.99	0.07	27.58	7.02
9-11	0.07	68.78	18.87	0.06	58.75	16.16

表6 上海市居民生食污染 VP 的三文鱼片预期发病情况
Table 6 Predicted probability of incidence associated with the consumption of VP contaminated raw salmon slices in Shanghai residents

食用前保存条件	月份	摄入量 (CFU)	预期月平均发病概率 (10 ⁻⁷)	月消费频次	预期发病人数
常温	1-2	1.73	8.00	0.13	2
	3-5	1.35	6.23	0.13	2
	6-8	8.99	41.47	0.13	10
	9-11	18.87	87.07	0.13	22
冷藏	1-2	1.71	7.90	0.13	2
	3-5	1.24	5.72	0.13	1
	6-8	7.02	32.41	0.13	8
	9-11	16.16	74.53	0.13	19

注:上海市统计年鉴显示 2009 年常住人口 1921.32 万人。

2.4.2 敏感度分析

人群中生食三文鱼片预期 VP 引起的发病概率与模型变量之间的 Spearman 等级相关分析,按照相关性排序生成的相关龙卷风图形,可表示哪个风险因素对输出结果变量的影响最大。相关系数定量估计两个变量之间的关联程度,其值在 -1 ~ 1 之间,0 表示两个变量之间不相关;1 表示两个变量完全正相关, -1 表示两个变量完全负相关。经过模型模拟后,按 1—2 月、3—5 月、6—8 月、9—11 月分层后,对生食三文鱼片的最终人群预期发病概率进行敏感度分析,结果显示,1—5 月生食三文鱼片平均每次食用量是相关系数最大的影响因素,6—

11 月,生食三文鱼片中 VP 的污染量是相关系数最大的影响因素。

3 讨论

3.1 评估结果

上海市生食三文鱼片副溶血性弧菌污染的定量风险评估结果显示,上海市居民因生食三文鱼片引起的 VP 中毒预计发病概率比较低,如果采取冷藏措施还能更低,很大原因是目前上海市居民生三文鱼片的消费量还比较低,随着消费量的增加,发生率会呈上升趋势。本次评估虽然应用了定量风险的方法,但由于没有实际的因生食三文鱼片引起的 VP 中毒发病率的监测数据,其结果的可信度还有待验证。

3.2 评估的局限性

本次风险评估中生食三文鱼片 VP 污染定性、定量检测数据比较有限,定量 VP 检测的误差、生食三文鱼片的消费量调查与污染量的不匹配,都存在一定的不确定性;生长预测数学模型及剂量-反应关系函数的形式、表达的真实性、参数的确定也还存在一定的不确定性。模型应用研究侧重于食用前污染水平、消费量、食用前贮存时间、气温这 4 个参数,故这些因素的变异性对于模型的影响很大。评估中采集的生食三文鱼片来自于超市、餐饮店,缺少捕捞至零售期间的加工情况及交叉污染数据,不能进行全程各环节因素的敏感性分析,这方面有待进一步改进。采用模拟的方法有助于对各因素相关的不确定性、变异性的量化描述,也有助于开展对预测的风险水平相关的不确定性、变异性的评估。

3.3 评估的建议

评估中发现对生食污染 VP 的三文鱼片预期发病概率有影响的因素有:生食三文鱼片冷藏与否、食用前存放时间、交叉污染等因素,这些因素可能是控制生食三文鱼片 VP 污染引起的食物中毒发生的关键。对生食三文鱼片中 VP 污染的定量风险评估的进一步研究,可侧重于生食三文鱼片加工全程 VP 消

长、生长预测数学模型、剂量-反应模型、参数及验证研究。

参考文献

- [1] FUJINO T, OKUNO D, NAKADA S A, et al. On the bacteriological examination of 'shirasu' food poisoning [J]. Med J, 1953, (4):299-304.
- [2] 毛雪丹, 胡俊峰, 刘秀梅. 2003—2007年中国1060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] 田明胜, 郑雷军, 彭少杰, 等. 2000—2007年上海市副溶血性弧菌致集体性食物中毒资料分析及对策[J]. 中国食品卫生杂志, 2008, 20(6):514-517.
- [4] 张淑红, 申志新, 王英豪, 等. 副溶血性弧菌污染现状及其研究进展[J]. 中华医学研究杂志, 2006, 6(4):408-409.
- [5] 马聪, 严纪文, 朱海明, 等. 2005年珠江三角洲地区生吃水产品中副溶血性弧菌污染调查[J]. 中国卫生检验杂志, 2006, 16(3):341-343.
- [6] 吴平芳, 贺连华, 洗慧霞, 等. 生食冰鲜三文鱼卫生质量调查[J]. 现代预防医学, 2009, 36(8):1564-1565.
- [7] WHO/FAO. 食品安全风险分析[M]. 樊永祥, 译. 北京: 人民卫生出版社, 2008:31.
- [8] WHO. Global environment monitoring system-food contamination monitoring and assessment programme (GEMS/Food) [R]. Geneva: WHO, 2010.
- [9] 陈艳, 刘秀梅, 王明, 等. 温暖月份零售带壳牡蛎中副溶血性弧菌的定量研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2004, 16(3):207-209.
- [10] 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):103-107.
- [11] FDA. Quantitative risk assessment on the public health impact of pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in raw oysters [R]. Washington: Center for Food Safety and Applied Nutrition, Food and Drug Administration, U. S. Department of Health and Human Services, 2005:25.
- [12] 吴振龙, 白杨. 副溶血性弧菌的研究进展[J]. 国外医学流行病学传染病学分册, 1999, 26(1):26-28.
- [13] 王秀茹. 预防医学微生物学及检验技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002:749-750.
- [14] 李庆山. 副溶血性弧菌所致食物中毒的研究进展[J]. 中国卫生检验杂志, 2009, 19(2):461-463.
- [15] 张凡非. 副溶血性弧菌及其引起的食物中毒检验研究进展[J]. 中国卫生监督杂志, 2003, 10(1):8-10.
- [16] LYNCH M, PAINTER J, WOODRUFF R, et al. Surveillance for food-borne disease outbreaks United States, 1998-2002 [J]. MMWR, 2006, 55(S10):1-34.
- [17] 卢晓凤, 张培正, 李远钊, 等. 2% NaCl_TSB及单冻煮蛤肉中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.
- [18] 李毅, 朱心强. 副溶血性弧菌及其溶血毒素研究进展[J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(12):2835-2839.

[上接第IV页]

举例 [10] 肖钰. 出版业信息化迈入快车道[EB/OL]. (2001-12-19) [2002-04-15]. <http://www.creader.com/news/20011219/200112190019.html>.

专利文献:[序号]专利申请者. 题名:专利国别, 专利号[P]. 公告或公开日期.

3 声明

本刊已进入中国所有主要期刊数据库, 本刊所付稿酬包括这些数据库的稿酬。编辑部对来稿将作文字性修改, 若涉及内容修改会与作者商榷。本刊概不退稿, 编辑部收到稿件后, 于3个月内通知处理意见。投稿6个月后如未收到修稿或录用通知, 作者可自行处理稿件。来稿一经刊登, 即按规定支付稿酬, 并赠送杂志。

4 投稿

投稿请登录《中国食品卫生杂志》网站 <http://www.zgspws.com>, 并同时邮寄稿件纸版1份和单位介绍信。

来稿中应有清楚完整的作者通信地址、联系电话和E-mail地址。

编辑部地址: 北京市宣武区南纬路29号462室 营养与食品安全所《中国食品卫生杂志》编辑部

邮政编码: 100050 电话和传真: 010-83132658 E-mail: spws462@163.com