

风险监测

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

宫春波,王朝霞,董峰光

(烟台市疾病预防控制中心,山东烟台 264003)

摘要:目的 了解烟台濒临的黄海和渤海海域海产品中食源性致病菌污染分布特征,掌握致病菌污染的“基线值”,为市场监管、消费指导和风险预警提供数据支持。方法 按照 GB 4789 规定的方法,进行 6 种食源性致病菌检测。借助快速微生物定量风险评估(sQMRA)方法,评价海产品中副溶血性弧菌的感染风险。结果 6 类 260 种海产品中仅有副溶血性弧菌阳性检出,创伤弧菌、金黄色葡萄球菌、沙门菌、单增李斯特菌和大肠杆菌 O157:H7 均未检出。海产品中副溶血性弧菌总体污染率为 19.62% (51/260),贝类、甲壳类污染水平较高,鱼类、海藻类偏低,污染率分别为 26.42% (28/106)、20.00% (6/30)、10.00% (3/30)、10.00% (3/30);贝类中牡蛎是副溶血性弧菌高污染的海产品,污染率为 31.03% (9/29)。普通人群摄食加热海产品后副溶血性弧菌致病风险概率值为 2.97×10^{-7} ,年均患病率为 6.03×10^{-6} 次/人年,7~9 月份为高发时间。结论 烟台海域鲜活海产品主要存在副溶血性弧菌的污染,摄食人群具有潜在的感染风险,尤其温度较高的第三季度。

关键词:海产品;食源性致病菌;污染;风险;烟台;副溶血性弧菌

中图分类号:R155.5;R378.3 文献标志码:A 文章编号:1004-8456(2016)01-0103-04

DOI:10.13590/j.cjfh.2016.01.023

Research on contamination of foodborne pathogens and risk assessment on sea foods from Yantai sea area

GONG Chun-bo, WANG Zhao-xia, DONG Feng-guang

(Yantai Center for Disease Control and Prevention, Shandong Yantai 264003, China)

Abstract: Objective To understand the contamination characteristics of foodborne pathogens in sea foods from Yellow Sea and Bohai Sea area of Yantai, and also find the background values of foodborne pathogenic bacteria contamination to provide basis for market supervision, consumption guidelines and risk warning. **Methods** The national food safety standard (GB 4789), food microbiological examination, was used to detect the different foodborne pathogens. The risk assessment of *Vibrio parahaemolyticus* from sea food was calculated by a swift quantitative microbiological risk assessment tool (sQMRA). **Results** The total contamination level of *Vibrio parahaemolyticus* from sea food samples was 19.62%. Shellfish and crustaceans had higher contamination level than fish and seaweeds, which were 26.42%, 20.00%, 10.00% and 10.00% respectively. Oyster had the highest contamination level in shellfish which was 31.03%. The risk values of *Vibrio parahaemolyticus* when ingested heated sea food for general population of Yantai was 2.97×10^{-7} , and the prevalence rate of *Vibrio parahaemolyticus* was 6.03×10^{-6} times per person per year. The prevalence rate was the highest during July and September. **Conclusion** The fresh sea food of Yantai sea area from Yellow Sea and Bohai Sea was mainly contaminated by *Vibrio parahaemolyticus*. There was a potential risk of infection for general population when ingested contaminated sea food, particularly during the third quarter.

Key words: Sea food; foodborne pathogens; contamination; risk; Yantai; *Vibrio parahaemolyticus*

中国作为全球最大的海产品生产国,其产量约占全球总产量 35%^[1],海产品的养殖、生产和加工主要以沿海城市为主。烟台市濒临黄海、渤海,海产品主要以活体海鲜和加工干品为主^[1],鱼类、贝

类、甲壳类、头足类等鲜活海产品消费量较大。由于海产品中存在副溶血性弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*, VP)^[2]、创伤弧菌(*Vibrio vulnificus*)^[3]、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)^[4]、单增李斯特菌(*Listeria monocytogenes*)^[5]等病原微生物的污染,是导致我国食源性疾 病暴发的主要因素之一,尤其是副溶血性弧菌感染往往与鱼类、贝类、头足类海产品的生食或加热不彻底相关。本文以烟台海域临海城市为采样点,对鲜活海

收稿日期:2015-10-12

基金项目:2013 年烟台市科学技术发展计划项目(2013WS258)

作者简介:宫春波 男 副主任技师 研究方向为食品安全、食品卫生检验 E-mail:gongchunbo@126.com.

产品中食源性致病菌进行调查。以期了解烟台海域海产品的病原微生物的污染特征和分布情况,评价分析海产品的膳食暴露风险,为预防和干预措施的制定以及风险预警和风险交流提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品来源

样品来源:分渤海、黄海海域,设置临海城市为调查点。莱州市、招远市、龙口市和蓬莱市为渤海海域调查点;开发区、芝罘区、莱山区、牟平区、海阳市和莱阳市为黄海海域调查点,采集点为各海域不同码头的近海捕捞船的销售点。

样品种类:参照2013年烟台市统计年鉴,结合当地实际消费海产品情况,主要调查消费量大的鲜(活)海产品,共6类260份样品,见表1。样品采集时间为2014年4~11月,采样频率为1次/月。

表1 样品种类和数量

Table 1 Different kinds of samples for two sea area

样品种类	样品数	
	黄海海域	渤海海域
贝类	70	36
甲壳类	19	11
鱼类	19	11
海藻类	17	13
头足类	19	11
其他(纹织螺、鲍鱼、海参、海星、海葵等)	21	13
合计	165	95

1.1.2 主要仪器与试剂

VITEK COMPACT2 全自动微生物鉴定与药敏分析系统(法国梅里埃)、DRP-9002 电热恒温培养箱、GUIGO-09 灭菌消毒型无菌均质器、LS-B50L 立式压力蒸汽灭菌器、SW-CJ-2 洁净工作台。

Baird-Parker 琼脂平板、硫代硫酸盐-柠檬酸盐-胆盐-蔗糖(TCBS)琼脂、改良纤维二糖-多粘菌素 B-多粘菌素 E(mCPC)琼脂、木糖赖氨酸脱氧胆盐(XLD)琼脂、0.6% 酵母浸膏的胰酪胨大豆琼脂(TSA-YE)等检测用培养基均购自北京陆桥技术有限公司,API 生化鉴定试剂盒(法国梅里埃);氧化酶试剂、革兰氏染色液等生化鉴定用试剂,由实验室购买或配制。

1.2 方法

1.2.1 采样方法

按照无菌采样和送检的要求^[6],每份样品1 000 g左右,无菌袋封装,2~8℃贮运,当天检测。

1.2.2 前处理方法^[7]

无菌称取待测样品500 g(贝类、海螺、鲍鱼等带壳的海产品取可食部,鱼类、甲壳类、头足类取整

条或整只总体质量不低于500 g,海藻类则直接称取500 g),置于无菌均质杯内,9 000 r/min均质2 min。随后无菌称取25 g样品放入盛有225 ml稀释液(或增菌液)的无菌均质袋中,用拍击式均质器拍打2 min,制成1:10的样品匀液,备用。

1.2.3 检测方法

副溶血性弧菌、创伤弧菌、金黄色葡萄球菌、单增李斯特菌、沙门菌(*Salmonella* spp.)和大肠杆菌O157:H7(*Escherichia coli* O157:H7)的检测,按照GB 4789规定的最可能数检测方法(most probable number,MPN)进行检测^[7],阳性菌株由山东省疾病预防控制中心复核。

1.2.4 风险评价方法

按照快速微生物定量风险评估(sQMRA)方法及步骤进行风险评价^[8-9]。

1.3 统计学分析

采用SPSS 18.0软件进行相关数据处理,Crystal ball 11.1.1进行数据拟合。低于检出限值(3 MPN/g)的数值,按0 MPN/g统计。

2 结果

2.1 海产品中食源性致病菌的污染情况

调查的6类260份海产品样品中,51份样品检出副溶血弧菌阳性,总体检出率为19.62%。检出数值范围<3 MPN/g~240 MPN/g,均值为(7.95±31.50) MPN/g,P75、P90、P95数值分别为0、23和43 MPN/g。但是,创伤弧菌、金黄色葡萄球菌、单增李斯特菌、沙门菌和大肠杆菌O157:H7等5种食源性致病菌均低于检出限值。

2.2 各类海产品中副溶血性弧菌的污染情况

副溶血性弧菌在调查的6类海产品中均阳性检出,见表2。贝类、甲壳类的污染水平偏高,检出率分别为26.42%、20.00%;鱼类、海藻类中的VP污染处在较低的水平,检出率各为10.00%。贝类中VP的高检出率,与其滤食性摄食方式相关,其中牡蛎、花蛤的检出率较高,分别为31.03%(9/29)和30.77%(4/13),其次是鸟贝、紫石房蛤、毛蚶和扇贝,分别为28.57%(6/21)、28.57%(2/7)、25.00%(2/8)和23.81%(5/21)。

2.3 不同季节海产品中副溶血性弧菌污染情况

烟台海域鲜(活)海产品中VP污染水平较高的季节为7~9月,调查样品中VP检出率为23.16%(22/95),高于4~6月和10~11月,见表3。7~9月是鲜(活)海产品中高VP污染的时间节点,主要原因在于该月份黄海、渤海海域海水表面温度较高,分别为24.5~27.7℃、23~26℃^[10],加之7~

表2 各类海产品中 VP 的污染率

Table 2 Contamination rate of VP for different kinds of samples

海产品	样品数/份	检出数/份	检出率/%
贝类	106	28	26.42
甲壳类	30	6	20.00
鱼类	30	3	10.00
海藻类	30	3	10.00
头足类	30	5	16.67
其他类	34	6	17.65
合计	260	51	19.62

表3 不同月份海产品中 VP 的污染率

Table 3 Contamination rate of VP for different months

月份	样品数/份	检出数/份	检出率/%
4~6	30	4	13.33
7~9	95	22	23.16
10~11	135	25	18.52
合计	260	51	19.62

9月是高温季节,为VP生长繁殖提供了有利条件,导致了海产品中VP的污染水平偏高。

2.4 不同海域海产品中副溶血性弧菌污染情况

调查的黄海和渤海海域的海产品中,VP的总体污染率持平,分别为20.00%和18.95%,黄海海域略高于渤海海域,见表4。其中,渤海海域的贝类、海藻类的VP污染率高于黄海海域,而黄海海域的头足类、甲壳类、鱼类和其他类的VP污染率高于渤海海域。说明黄渤海海域各类鲜(活)海产品中的

VP污染趋势与海域的不同没有相关性,也表明黄海和渤海近海海域海水微生物生态状况相近,不同种类海产品VP的污染与其自身生物学特性和贮运条件相关联。

表4 各类海产品在不同海域的VP污染率(%)

Table 4 Contamination rate of VP for different sea area of samples

海产品	黄海	渤海
贝类	24.29(17/70)	30.56(11/36)
甲壳类	21.05(4/19)	18.18(2/11)
鱼类	15.79(3/19)	0.00(0/11)
海藻类	5.88(1/17)	15.38(2/13)
头足类	21.05(4/19)	9.09(1/11)
其他类	19.05(4/21)	15.38(2/13)
合计	20.00(33/165)	18.95(18/95)

2.5 海产品加热后食用感染副溶血性弧菌的风险评价

依据sQMRA风险评估规定的方法与步骤^[8-9],主要参数见表5,进行海产品加热后食用的VP感染风险评价。sQMRA计算结果表明,烟台市普通人群摄食海产品后,人群感染VP的风险值为 2.97×10^{-6} ,按照10%感染人群患病推算,则VP致病风险概率值为 2.97×10^{-7} ,VP病例数为42人,即烟台普通人群食用加热海产品的VP患病率为 6.03×10^{-6} 次/人年(每年100万人中约0.06人发病)。

表5 sQMRA评价方法的主要参数

Table 5 Main parameters of sQMRA for risk assessment

参数名称	参数	备注
人群样本量	696.82万人	第六次全国人口普查数据
人群界定	烟台市普通人群	—
海产品食用消费时间	1~12月份	—
人群年食用海产品的份数	705 181 840份	参照国家统计局烟台调查队公布的2012统计数据,水产品年消费18.72kg;考虑可食部,实际消费量确定为10.12kg
每份平均大小	100g	可食部,随机问卷调查结果
VP的污染率	19.62%	调查结果
被污染海产品中的菌落平均数	43 cfu/g	取P95值折算,参考文献[11]
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})	1.0×10^5 cfu/g	参考文献[12]
被感染人群中患病的比例:	10%	参考文献[12]

注:—表示无内容

3 讨论

鲜(活)海产品由于高水分、高盐度以及体内酶活力旺盛,可导致微生物污染,是引起海产品腐败的主要原因,存在副溶血性弧菌、沙门菌、单增李斯特菌、金黄色葡萄球菌^[13]以及创伤弧菌^[3,14]的污染。就烟台海域而言,6类鲜(活)海产品中仅检出副溶血性弧菌阳性,检出率为19.62%,与李自然等^[4]对虾、带鱼、鲫鱼和扇贝中金黄色葡萄球菌的检出率(16%)以及麻丽丹等^[5]的冷冻水产品中单

增李斯特菌阳性检出(1.36%)的结果有所不同,也与贾爱荣等^[13]的威海、烟台市售海产品中沙门菌、金黄色葡萄球菌和单增李斯特菌的高污染情况相悖,可能原因在于海产品的生长水域、采集环节、销售环节、贮运条件以及贮运时间的差异,而导致了其食源性致病菌种类污染的差异,也说明鲜(活)海产品自身高盐分和高水分特点,适宜副溶血性弧菌的侵染和增殖,而对沙门菌、大肠杆菌O157:H7和单增李斯特菌有抑制作用。

烟台市黄海、渤海海域近海海产品中食源性致

病菌污染情况基本相似,均存在 VP 的污染,污染率为 20% 左右,远低于舟山市海产品 35% 的阳性检出率;创伤弧菌未检出,与舟山市海产品 25.8% 高检出率相差甚远^[14]。说明海域环境状况,尤其海水质量的差异是影响近海海产品中食源性致病菌污染种类和水平因素之一。因此,开展海产品生产养殖海域的微生物生态检测,摸清海产品生产养殖海域的食源性致病菌污染种类和水平,对于开展膳食风险分析,探索海产品中食源性致病菌的防控措施,切断其污染源具有重要的意义。

副溶血性弧菌作为海产品污染的首要致病菌,不同种类、不同海域海产品中致病菌的污染水平差别较大,阳性检出率范围为 19.62%~54.2%^[9,13-14]。烟台海域水产品中,贝类、甲壳类中的副溶血性弧菌的污染水平较高,尤其贝类污染率居首,检测样品中 VP 检出率(26.42%)高于赵越等^[15]的报道(18.33%),低于樊晓琳等^[16]的报道(41.82%)。贝类水产品中 VP 污染率存在差异,说明不同海域、不同季节以及样品采集点的不同,导致了 VP 污染程度不同。贝类中 VP 的高污染水平,与其滤过式摄食方式有关,其中牡蛎、花蛤污染水平高于其他贝类,加之其生食或半生食为主,是人群 VP 感染的主要海产品。建议贝类食品应该加热熟透后食用,杜绝生食贝类海产品,以期降低 VP 致病的风险。海产品中创伤弧菌、沙门菌、金黄色葡萄球菌以及单增李斯特菌的污染,因海域、种类以及贮运和销售条件不同而污染水平各异,存在交叉污染的可能。建议各海域应该开展地域性海产品中食源性致病菌调查,获得地域性致病菌污染“基线值”,探索风险预警和控制措施。

烟台海域海产品中 VP 的污染高峰期 of 7~9 月份,夏秋季为主,与文献报道^[2,13-16]一致,与吴光健等^[17]的山东省食源性疾病暴发事件的高发季节是第三季度一致,且 VP 是主要的病因微生物之一。烟台市全年 VP 致病风险概率值为 2.97×10^{-6} ,推算年均患病率为 6.03×10^{-6} 次/人年(每年 100 万人中 0.06 人发病),远低于毛雪丹等^[18]用文献综述估计推算的 0.003 8 次/人年的发病率,主要在于推算方法的不同,并且 sQMRA 推算过程中,人群膳食摄入量以及 VP 实际污染程度和增值规律存在不确定性,导致推算值与实际发生值存在偏差。故全面开展食源性致病菌调查,有序开展地域性食物消费量调查,获得风险评估的必要的数据尤为重要。

温度是 VP 感染流行病学的的一个重要因素之一,加之夏秋季为海产品 VP 感染的高发时间段。

因此,建议消费者夏秋季季节摄食海产品,应该加热蒸透,杜绝生食海产品,减少 VP 感染致病的发生。监管部门应该加强海产品“过程管理”,规范生产养殖海域水体的生态环境,强化鲜活海产品贮运环节、销售环节的卫生管理措施,制定鲜活海产品销售货架期,减少食源性病原菌的侵袭。

参考文献

- [1] 李爱. 把握临海优势——烟台海产品加工企业如何破茧成长[J]. 山东省农业管理干部学院学报, 2013, 30(4): 41-44.
- [2] WU Y N, WEN J, MA Y, et al. Epidemiology of foodborne disease outbreaks caused by *Vibrio parahaemolyticus*, China, 2003-2008 [J]. Food Control, 2014, 46: 197-202.
- [3] FAO/WHO. Risk assessment of *Vibrio vulnificus* in raw oysters: interpretative summary and technical report [R]. Geneva: FAO/WHO, 2005.
- [4] 李自然, 施春雷, 宋明辉, 等. 上海市食源性金黄色葡萄球菌分布状况[J]. 食品科学, 2013, 34(1): 268-271
- [5] 麻丽丹, 金东权, 王殿夫, 等. 丹东口岸进口冷冻水产品中携带单核细胞增生性李斯特菌定量危险性评估的初步研究[J]. 中国国境卫生检疫杂志, 2007, 30(4): 236-240.
- [6] 刘斌. 食品微生物检验[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2013.
- [7] 杨大进, 李宁. 2014 年国家食品污染及有害因素风险监测工作手册[M]. 北京: 中国标准出版社, 2014.
- [8] Evers E G, Chardon J E. A swift quantitative microbiological risk assessment (sQMRA) tool [J]. Food Control, 2010, 21(3): 319-330.
- [9] 孔媚兰, 袁宝君, 朱谦让, 等. 生食海产品中副溶血性弧菌半定量风险评估[J]. 南京医科大学学报: 自然科学版, 2014, 34(7): 959-961.
- [10] 国家海洋局. 2013 年中国海洋环境状况公报 [EB/OL]. (2014-03-25) [2015-10-12]. http://www.coi.gov.cn/gongbao/huanjing/201403/t20140325_30717.html.
- [11] 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.
- [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] 贾爱荣, 张永刚, 张绵松, 等. 山东海域生鲜海产品致病性微生物检测研究[J]. 科技创新导报, 2013, (26): 15, 17.
- [14] 周继琴, 虞艳, 石亚素, 等. 舟山市七种市售海产品中创伤弧菌、副溶血性弧菌等检测分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2013, 23(17): 3432-3435.
- [15] 赵越, 费飞. 葫芦岛市海产品副溶血性弧菌感染率的调查[J]. 中国城乡企业卫生, 2014, 162(4): 69-70.
- [16] 樊晓琳, 张德福, 付绪磊, 等. 锦州笔架山海域海产品中副溶血弧菌的分子流行病学调查[J]. 食品工业科技, 2014, 35(16): 49-51, 56.
- [17] 吴光健, 褚遵华, 王连森, 等. 2013 年山东省食源性疾病暴发事件流行病学特征分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 5(9): 2919-2924.
- [18] 毛雪丹, 胡俊峰, 刘秀梅. 用文献综述法估计我国食源性副溶血性弧菌病发病率[J]. 中华疾病控制杂志, 2013, 17(3): 265-267.