

· 食品安全与食源性疾病 ·

食源性微生物危险性评估

刘秀梅

早在 20 世纪初,奶源性结核病和沙门菌病的爆发就已经被人类所认识,并运用巴氏消毒法进行了安全性的控制与预防。20 世纪末期,尽管食品科技取得了显著的进展,但世界上却爆发了多起由病原微生物引起的重大食品安全事件。大肠埃希菌 O157:H7 于 1982 年首次报道,但由于缺乏有效、敏感的检测方法,限制了其宿主及污染源的尽早阐明,导致出血性大肠埃希菌 O157:H7 在日本等国家的中毒爆发。沙门菌、李斯特菌、葡萄球菌、空肠弯曲菌、副溶血性弧菌、禽流感病毒、口蹄疫病毒等微生物污染的大流行,使国际组织和各国政府对食品安全给予了高度的重视。2002 年世界卫生组织(WHO)再次公告,食源性疾病和食品污染是一个巨大的、不断扩大的世界性公共卫生问题。每年发生的食源性疾病达到数十亿例,发达的工业化国家每年也至少有三分之一的人群患食源性疾病,其中约有 170 万 15 岁以下儿童因食源性微生物污染引起的腹泻而死亡。

世界贸易组织(WTO)的卫生和植物卫生措施应用协定(Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measures, SPS)中强调:“食品的安全措施应建立在危险性评估的基础上。联合国成员国应确保其卫生和植物卫生措施是采用有关国际组织制定的危险性评估方法,并根据本国的具体条件,对人、动物或植物的生命或健康进行危险性评估^[1]”。联合国及 WHO 多次要求各会员国要在食品安全行动上,重点制订和评估国家的控制战略,支持发展评估与食品相关危险的科学项目,包括分析与食源性疾病相关的高危因素等。

一、食源性微生物危险性分析的概念与应用

1991 年联合国粮农组织(FAO)和 WHO 共同在罗马召开了有关食品标准、食品化学物与食品贸易的联席会议,建议相关国际法典委员会和所属技

术咨询委员会对相应的食品安全问题基于适当的科学原则进行评估。1995 年 3 月 FAO/WHO 在 WHO 总部召开了危险性分析在食品标准中应用的联合专家咨询会议,讨论了在制订食品卫生标准中应用危险性分析技术的切实可行性,并就危险性分析的 3 个组成部分(危险性评估、危险性管理、危险性信息交流)(图 1)及其定义达成一致意见^[2]。国际食品法典委员会(Codex Alimentarius Commission, CAC)在食品法典程序手册中对危险性分析的一系列定义如下^[3]。

危险性分析(risk analysis):是包含危险性评估、危险性管理和危险性信息交流 3 个组成部分的科学框架。

危险性评估(risk assessment):评估食品、饮料、饲料中的添加剂、污染物、毒素或病原菌对人群或动物潜在副作用的科学程序。

危险性管理(risk management):根据危险性评估的结果,选择适宜的控制点,制定政策进行科学管理,为保护消费者健康、促进国际食品贸易而采取的必要的预防和控制措施。

危险性信息交流(risk communication):危险性评估者、管理者、消费者及某些相关团体之间,就危险性等问题有关信息和观点进行相互交流。

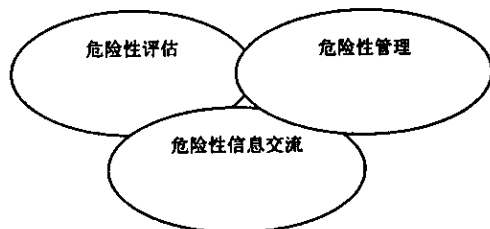


图1 食品危险性分析的 3 个组成部分

危险性评估包含 4 个科学步骤,即危害的确定、危害特征的描述、暴露评估和危险性特征的描述(图 2)。

危害的确定(hazards identification):对食品中可能存在的影影响人体健康的生物、化学、物理因素或状

况等科学资料的确认,如细菌、真菌和真菌毒素、病毒和寄生虫、有毒动植物、潜在的环境有毒污染物等。

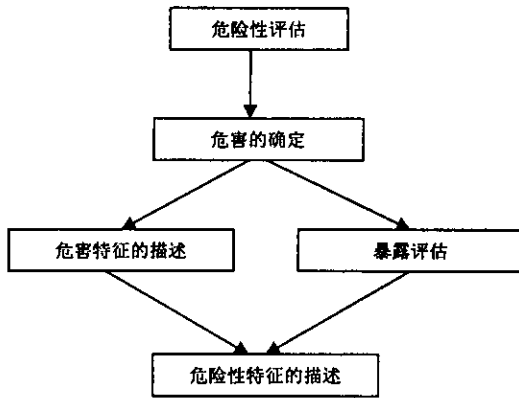


图2 食品危险性评估的框架图

危害特征的描述 (hazard characterization):对可能存在于食品中的生物、化学及物理因素所造成的健康危害进行定性和定量的评估。

暴露评估 (exposure assessment):对从食物或其他相关来源可能摄入的生物、化学和物理因子进行的定性、定量评估。

危险性特征的描述 (risk characterization):在危害的识别、危害的特征描述和暴露评估的基础上确定危害健康事件发生的概率和严重程度,或对健康产生潜在不良影响的定性和/或定量评估的过程。

二、微生物危险性评估

微生物危险性评估是一个科学程序,主要评估食品中的病原菌及其毒素等可能对人群引起的潜在危害。评估程序包括识别食品中病原细菌、真菌和真菌毒素、病毒和寄生虫等生物危害因素,对某种危害因素进行特征性描述;人群对相关危害的暴露水平、暴露概率及其严重程度;可能对健康产生不良影响的定性/定量分析等。

1. 危害的确定:食品中微生物危害的确定是确定与食品相关的微生物或微生物毒素。与传统的化学性危害的确定不同,微生物危险性评估中的危害通常在评估之前是已知的病原,评估的过程是定性评估。评估食品中某种微生物危害的基本资料可以以科学文献、食品行业、政府机构、相关国际组织的数据库及专家意见为依据。

2. 危害特征的描述:危害特征的描述是指由此危害引起的不良健康作用的定性和/或定量评价。人群暴露于某种食源性致病菌反应的高度变异性依赖于许多因素,如致病菌的毒力特征、摄入的菌数、

宿主的一般健康和免疫状态^[4]。

不同的食源性致病菌的致病模式不同,即使是同一种菌,在不同条件下的致病模式不同。病原菌的摄入浓度(菌量)在很大程度上影响着产生负面健康作用的概率和程度。一般情况下,食品中含菌量越多,人群患病的机率越大,发病的潜伏期越短,但通常不是呈线性关系。儿童、老人和机体免疫力低下者对食源性感染因子有高风险性,可能直接影响食源性疾病的发病率和疾病的严重程度^[5,6]。作为食源性致病菌的载体,食品基质的特性也可以明显影响病原菌与机体的剂量反应关系。

流行病学调查是得到人类剂量反应资料的来源,尤其是涉及到即食食品(ready-to-eat foods, RTE)的爆发。除了患者的详细资料,消费相同食品而未发病者的资料,食品消费量、消费频率等信息将有助于进行危险性评估。

当某种致病菌的剂量反应资料缺乏时,可依照以下3个主要原则选择替代资料建立模型,即:该菌与目的菌在分类学上类似;两者引起人类疾病的流行病学相似;两者毒力基因相似^[7]。Cassin等^[8]建立大肠埃希菌O157:H7的剂量反应模型就是以志贺菌人体试食实验资料为基础。

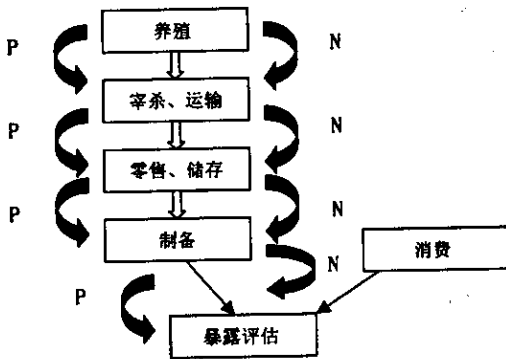
Holcomb等^[9]比较了几种用于食源性致病菌的剂量反应模型:对数正态(log-normal)、对数回归(log-logistic)、指数(exponential)、 β -泊松(β -Poisson)、威布尔-伽玛(Weibull-Gamma)模型,发现威布尔-伽玛模型具有较好的拟合资料的灵活性。

3. 暴露评估:暴露评估是通过食品或其他相关来源摄入病原菌或微生物毒素的定性和/或定量评估。病原菌生态学特征、食品中微生物生态分布、生食食品的最初污染情况、食品的加工、流通、储存方法、交叉污染途径等是暴露评估的重要影响因素。社会经济和文化背景、民族习俗、季节和地区的差异、消费者的膳食习惯和行为都可能影响消费模式。因此,在进行暴露评估时应考虑到不同国家、地区和不同人群的暴露资料。

进行暴露评估的主要问题往往是缺乏足够的、相关的、精确的资料,要得到食品消费时食品中含有的病原菌菌数几乎是不可能的,因此需要用模型与假设将得到的数据转化为对危险人群中个体摄入病原菌数量的定量估计^[7]。预测微生物模型是暴露评估中非常有用的模型。这些模型以数学形式来描述细菌数量是怎样随时间变化和怎样受环境条件影响

的,从而精确描述微生物的行为。预测微生物模型用来预测在不同环境条件下微生物的生长、存活及灭活等反应^[10]。20 世纪 80 年代以来,用于微生物性食品安全的预测数学模型主要有 4 种:平方根型、Arrhenius 型、Davey 模型和多项 (Polynomial) 模型^[10,11]。Walls, Scott^[10]以多项模型中的 Gompertz 函数模拟了肉制品中金黄色葡萄球菌在不同温度、pH 值及盐浓度下的生长及产毒。Gerwen 等^[12]认为进行危险性评估时应尽可能同时运用几种模型,以确保得到比较可靠的结论。

FAO/WHO 对禽肉中沙门菌进行了定量危险性评估,模拟了肉鸡从农场饲养到宰杀、运输、零售、储存、烹调、消费等一系列过程中各种影响菌量的因素^[13],食品中致病菌的流行率与浓度(图 3)。



P:流行率;N:致病菌数量/浓度

图3 食品暴露评估的模拟途径

4. 危险性特征的描述:危险性特征的描述是指依据危害确定、危害特征描述和暴露评估的结果,考虑到不确定性,确定特定人群发生已知或潜在不良健康作用发生率的概率的定性和/或定量估计。

定量危险性特征描述的重要部分是确定与危险性评估相关的可信度范围和对危险性的影响。应用模拟模型技术如 Monte Carlo 分析,通过诸如敏感性分析等技术来提高食品微生物定量危险性评估的精确性^[5,14,15]。

危险性特征描述应该包括用于危险性评估信息的变异性和不确定性。认识、确定和区分变异性和不确定性是非常重要的。每种食品的生产、加工、销售过程中的每一步都有变异性;致病菌和人类宿主反应也有高度变异性,而不确定性来源于对一种现象或参数的未知和无法鉴定。模型的不确定性在暴露评估和危害特征的描述步骤中有重要意义。对于数学模型,不确定性是指缺乏关于参数值的完美资

料。尽管如此,数学模型仍是当今预测对人体健康产生不良作用的最常用方法,并且在制订政策中也是行之有效的。

三、微生物危险性评估的进展

1. 国际食品卫生法典委员会对微生物危险性评估的要求:1996 年第 29 届国际食品卫生法典委员会(Codex Committee on Food Hygiene, CCFH),明确了关于食品中微生物的安全控制不应停留在终产品的检测上,应该控制食品的生产、加工、贮存、制备、销售等全过程,强调运用危害分析关键控制点(GMP)和良好生产规范(HACCP)等科学管理体系,以保证出厂产品的安全性。1999 年起将食品中病原菌的危险性评估列为 CCFH 讨论的重要议程。各国政府根据食品安全和食品贸易中存在的问题,提出“食品-病原微生物”的特定评估组合,如鸡蛋中的肠炎沙门菌,禽肉、生牛羊肉、鱼中的沙门菌,禽肉中的空肠弯曲杆菌,牛肉、菠菜中的大肠埃希菌,软奶酪、即食食品、熏鱼及细加工蔬菜(如沙拉和烹调前用的冷冻蔬菜)中的李斯特菌,贝类中的副溶血弧菌,蔬菜中的志贺菌,新鲜食品中的隐孢子菌,以及金黄色葡萄球菌,蜡样芽胞杆菌,产气荚膜梭菌和病毒等。

根据危险性管理的需求,CCFH 具有提出优先评估组合的权威性,分别成立了由瑞典、荷兰、德国和美国负责起草控制禽肉中的沙门菌、空肠弯曲杆菌,即食食品中的李斯特菌,海产品中的副溶血弧菌和肉中出血性大肠埃希菌规范的起草工作组。因此,自 2000 年起食品中微生物危险性评估专家特别咨询会报告已成为 CCFH 会议的首要议程,基于微生物危险性评估的结果起草的科学管理文件构成了大会的主体,如微生物危险性管理的原则和指导原则、控制食品中单核细胞增生李斯特菌污染的准则、控制蛋中沙门菌污染的准则等。

2. WHO/FAO 微生物危险性评估的专家咨询:2000 年 7 月 WHO 和 FAO 在罗马召开了食品中微生物危险性评估专家咨询会议(Joint FAO/WHO Expert Consultation on Risk Assessment of Microbiological Hazards in Food, JEMRA),对 RTE 中的单核细胞增生李斯特菌,禽、蛋中的沙门菌的危害确定、危害特征的描述及暴露评估等提出咨询意见。对禽、蛋中沙门菌及即食食品中单核细胞增生李斯特菌的危害确定与危害特征达成共识。但同时发现目前所进行的微生物危险性评估仍缺乏足够的代表性,如引起疾病的食品种类、人群消费量、地域的局限等,评估的

科学性,如模型的设计、从动物实验资料推算到人的难度、人群暴露量计算的难度等,FAO 和 WHO 建议各成员国,特别是发展中国家搜集更多相关的资料和信息。

2000~2003 年,WHO/FAO 先后召开了食品微生物危害的危险性评估、食品中微生物危害的暴露评估、运用定量微生物危险性评估制订食品卫生标准(RA & RM)等多次联合专家咨询会。2002 年 WHO/FAO 联合评估专家组完成了蛋和肉鸡中沙门菌的危险性评估^[16]。评估结果显示,由于沙门菌的繁殖迅速,人群每餐感染沙门菌并患病的危险性与摄入鸡蛋中污染菌的数量多少没有显著性影响,而控制鸡群中沙门菌的感染率是降低人群患病率的有效措施。同样,如果将鸡肉中沙门菌的污染率由 20% 大幅度降低到 0.05% 的话,将使人群的感染发病率减少 99.75% 以上,从而达到有效的安全控制目的。

3. 各国的微生物危险性评估与管理:截止到 1999 年中旬,66 篇公开发表的微生物性危险性评估文献中美国占 24 篇,其中 53% 为文献综述,只有 7 篇是针对某种特定病原菌和食品进行微生物危险性评估的原始论文,是这一新兴领域的主要参考文献^[6,17]。Cassin 等对牛肉馅汉堡包中大肠埃希菌 O157:H7 进行了危险性评估,运用场景分析和预测微生物学对加工全过程的卫生学特征提供了一个客观的评价。美国关于带壳鸡蛋及蛋制品中肠炎沙门菌的研究,建立了一个从资料收集、分析到定量危险性评估模型和危险性控制战略的概念性框架^[18]。荷兰关于巴氏消毒牛奶中蜡样芽胞杆菌的危险性评估中包括了对储藏时间与温度的研究^[14]。

美国、加拿大、澳大利亚、荷兰、法国、丹麦、新西兰和日本等都在依据定量危险性评估的资料制订蛋中肠炎沙门菌、即食食品(硬奶酪等)中李斯特菌、禽肉中空肠弯曲菌以及贝类和长须鲸中的弧菌等卫生标准。

4. 我国的微生物危险性评估与展望:微生物危险性评估在国际上是一个较新的领域,我国自 1999 和 2000 年起分别参与微生物危险性管理(CCFH)和 JEMRA。2002 年 FAO 和 WHO 邀请国际知名专家来华讲学,举办了微生物危险性评估国际研讨会和定量微生物危险性评估分析技术培训班。

多年来,沙门菌居我国食物中毒致病菌的首位。Lit^[19]利用我国的食物消费和食物中毒报告数据,

建立了沙门菌定量危险性评估的模型,模型模拟了从农场到餐桌(即从生产到消费)消费鲜鸡蛋引起沙门菌感染的危险性。1991~1996 年全国食物中毒数据显示,每年由蛋类引起的食物中毒人数占沙门菌引起中毒人数的 8.4%~12.9%^[20]。假设由蛋类引起中毒的人数占沙门菌感染人数的比例与此相同,为 Per(5%,10%,20%)。由此根据监测数据估计全国每年由蛋类引起沙门菌感染疾病的人数,并将模型数据分布与监测数据进行对比(图 4)。图 4 中显示,每年由全国疾病监测点预测的患病总人数平均为 9.8×10^6 例,5% 与 95% 位点值分别为 2.6×10^6 与 2.2×10^7 。危险性评估模型的分布右侧拖尾长,呈右偏态分布,预测的患病数均值(5.3×10^7)比实际监测数据偏高,主要来源于模型参数的不确定性。但两个分布的重叠提示了模型设计和应用的合理性。

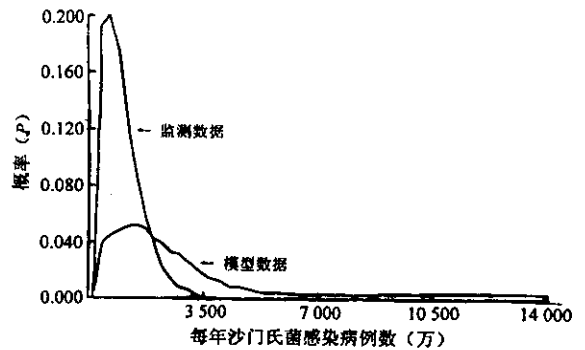


图4 因感染沙门菌年发病人数监测与模型预测的对比

进行敏感性分析发现鸡蛋贮存的温度与时间对危险性的影响都比较大。模型通过改变重要的参数,评估了几种危险性降低措施的效果,发现控制鲜蛋贮存的温度与时间是降低危险性的最重要措施。

四、结论

微生物危险性评估工作的开展和深入,将对我国食品安全领域制订危险性管理决策和行动提供充分的科学依据,而食品中食物病原菌的定量检验技术,则是我国微生物性食源性疾病主动监测、预测预报的关键技术之一。

重视和发展危险性评估的工作,首先必须是国家对食品安全控制政策的需求。与发达国家相比,我国的食品安全管理人员、专家及技术人员对微生物危险性评估理论的理解和应用、跨行业的精诚合作,以及资料的科学性和共享程度等都存在较大的差距。因此,促进农业、临床医学、流行病学与食品微生物领域的密切协作,系统地监测并收集食品加

工、销售、消费全过程,包括食源性疾病的各类信息(流行病学、临床医学、预防与控制),将有利于对我国人群健康与疾病的现况和趋势进行科学的评估和预警,有助于评估现行食品安全管理措施的有效性,为规范国家卫生政策提供可靠的科学信息和预防性策略。

参 考 文 献

- 1 WHO. Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measures, 1994.
- 2 FAO/WHO. Application of risk analysis to food standards issues. In: Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation. Geneva, Switzerland, WHO, 1995.
- 3 Codex Alimentarius Commission, Joint FAO/WHO Food Standards Programme, Procedural Manual, 12th edition, FAO Rome 2001. 43-44.
- 4 Buchanan Robert, James L, Smith L. Wesley Long Microbial risk assessment: dose-response relations and risk characterization. Int J Food Microbiol 2000, 58:159-172.
- 5 Fazil AMA. Hazard identification and exposure assessment for microbial food safety risk assessment. Int J food Microbiol, 2000, 58:147-157.
- 6 Schlundt J. Comparison of microbiological risk assessment studies published. Int J Food Microbiol 2000, 58:197-202.
- 7 Codex Alimentarius Commission 1998, Draft principles and guidelines for the conduct of microbiological risk assessment. ALINOR 99/13A.
- 8 Cassin Michael H, Anna M, Lammerding. Quantitative risk assessment for *E. coli* O157:H7 in ground beef hamburgers. Int J Food Microbiol, 1998 41:21-44.
- 9 Holcomb DL, Smith MA, Ware GO, et al. Comparison of six dose-

- response models for use with food-borne pathogens. Risk Analysis, 1999, 19:1091-1100.
- 10 Walls I, Scott VN. Use of predictive microbiology in microbial food safety risk assessment. Int J Food Microbiol, 1997, 36:97-102.
- 11 Ross T, McMeekin TA. Predictive microbiology. Int J Food Microbiol, 1994, 23:241-264.
- 12 Gerwen, Suzanne JC van, Zwietering MH. Growth and inactivation models to be used in quantitative risk assessments. J Food Prot, 1998, 61:1541-1549.
- 13 FAO/WHO. Report of a Joint FAO/WHO expert consultation on risk assessment of microbiological hazards in foods. FAO, Rome. Exposure assessment of *Salmonella* in Broiler Chickens, 2000.
- 14 Notermans S, Dufrenne J, Teunis P, et al. A risk assessment study of bacillus cereus present in pasteurised milk. Food Microbiol, 1997, 14:143-151.
- 15 Zwietering MH, van Gerwen SJC. Sensitivity analysis in quantitative microbial risk assessment. Int J Food Microbiol, 2000, 58:213-221.
- 16 World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Risk assessments of *Salmonella* in eggs and broiler chickens, Microbiological risk assessment series 1, 2002.
- 17 Klapwijk PM, Jouve JL, Stringer MF. Microbiological risk assessment in Europe the next decade. Int J Food Microbiol, 2000, 58:223-230.
- 18 US Department of Agriculture Food Safety and Inspection Service. *Salmonella enteritidis* risk assessment: shell eggs and egg products, report 268 <http://www.fsis.usda.gov/Oph5/ri5k/index.htm>
- 19 Liu XM. Microbiological risk assessment in China: Current situation and challenges, 1st International Conference on Microbiological Risk Assessment: Foodborne Hazards. MD, USA 2002.
- 20 Department of Health Inspection, Ministry of Health, P. R. China, Annual Bulletin of Health Inspection, 1991-1996.

(收稿日期 2003-04-20)

(本文编辑:尹廉)

· 疾病控制 ·

兰州医学院 2002 级大学生乙型肝炎病毒携带情况调查

何玉林 郭晓青 王竟秋 雒艳萍

现将兰州医学院 2002 年 9 月新入学 1 886 位大学新生乙型肝炎病毒(HBV)检测情况分析如下。

1. 资料与方法:本次调查 1 886 名均为新入校的新生, 85%来自甘肃省, 15%来自陕西、黑龙江、贵州等 10 个省市;年龄最小 17 岁,最大 23 岁,平均 19.5 岁。HBV 三系统检测结果,空腹静脉采血 2 ml,提取血清,用酶免疫测定(EIA)检测 HBV 的 HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb。试剂盒由上海实业科华生物技术有限公司提供。操作均按说明要求进行。

2. 结果:1 886 名学生先全部进行 HBsAg 检测,后对 HBsAg 阳性者进行 HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb 检测。HBsAg 阳性者 37 例,携带率 1.9%,与 1980 年全国调查

HBsAg 携带者(南方 13%~15%,北方 4%~5%)比较,低于北方地区。

HBV 感染中以 HBsAg 检出率最高,其次为 HBcAb、HBeAg、HBeAb,而 HBsAb 则未检出。37 例 HBsAg 阳性中 HBsAg、HBeAg、HBcAb 均为阳性者(大三阳)16 例,占受检人数的 0.85%;HBsAg、HBeAb、HBcAb 均为阳性者(小三阳)21 例,占受检人数的 1.11%。

3. 结论:HBsAg 阳性是感染 HBV 的标志。HBeAg 阳性提示 HBV 在血液中大量复制,是强传染性的标志。全世界人口中 HBsAg 携带者达 3 亿,我国高达 1.2 亿。HBV 可通过垂直传播感染胎儿,大三阳患者的传染性更强,如不引起高度重视,可造成更大传播。本次检测 1 886 名学生中 37 例 HBsAg 阳性者均无明显临床症状,HBsAb 均阴性。

作者单位:730000 兰州医学院微生物学免疫学教研室(何玉林、王竟秋、雒艳萍);兰州市妇幼保健院(郭晓青)

(收稿日期 2002-12-24)

(本文编辑:尹廉)