

食品微生物危险性评估

赵志晶 刘秀梅¹

(中国疾控中心营养与食品安全所,北京 100050)

摘要:食品中来自微生物性危害的危险性密切关系到人类的健康。国际食品法典委员会确定的微生物危险性评估框架包括四个主要步骤: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。这些步骤构成了评估食用可能污染致病菌或/和微生物毒素的食品而对人产生不良健康后果及其发生概率的系统过程。本文结合这一领域的研究进展,对微生物危害危险性评估框架的各个部分及其相关因素作了综述性介绍。

关键词:危险性评估;食品微生物学;危险因素

Food microbiological risk assessment

Zhao Zhijing, et al.

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

Abstract: The risk caused by microbiological hazards in food is very concerned to human health. Codex Alimentarius Commission (CAC) has constructed a framework on conducting microbial risk assesment, which involves four main steps: Hazard Identification, Hazard Characterization, Exposure Assessment and Risk Characterization. Risk assessment applied to microbial food safety is a scientifically based methodology to estimate the probability and severity of a health disturbance as a consequence of consumption of food contaminated by microorganism or microbial toxins. Each step of the framework and the related influence factors were summarized in the article.

Key Words: Risk Assessment; Food Microbiology; Risk Factors

食源性疾病的危险性是指暴露于食品中病原菌的可能性与由暴露导致感染或中毒,以及患病严重程度的可能性的总和。危险性评估就是估计这一可能性,评估由于可能污染的食品导致不良健康影响的一个系统程序。^[1]

1995年食品法典委员会(CAC)^[2]对危险性评估所下的定义是:对由于人体暴露于食源性危害而产生的危害人体健康的已知或潜在的作用的发生可能性与严重程度所做的科学评估。这一过程包括以下步骤:危害确定(hazard identification)、危害特征的描述(hazard characterization)、暴露评估(exposure assessment)、危险性特征的描述(risk characterixation)。这

一定义包括定量的危险性评估(强调危险性的数字表述的可靠性)、危险性的定性表示,同时还包括指出伴随的不确定性的存在。1998年食品法典委员会(CAC)^[3]拟定的进行微生物性危险性评估的原则和指导方针草案中也对食品中微生物性危害的危险性评估作了定义。微生物性危险性评估在危险性评估中是一个相对新的领域,还没有一个国际上甚至国家水平上的公认标准。^[4]

1 评估框架

微生物性危险性评估分为四个部分: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。

基金项目:科技部国家自然科学基金和社会公益基金项目

作者简介:赵志晶 女 博士

¹ 联系作者:刘秀梅 女 研究员 首席科学家

E-mail: xmliu_@95777.com

This work was supported by the National Funds of Natural Science and the National Funds of Commonweal, Ministry of Science and Technology, China.

1.1 危害的确定 危害的确定是指能对健康产生不良作用并可能存在于某一种或一类食品中的生物、化学与物理因子的识别。对微生物性因子,这一步骤的目的就是确定与食品相关的微生物或微生物毒素。^[3]这一步骤应包括与某种病原菌有关的所有信息的收集、组织和评估,确定所关心的问题和提出危险性评估的重点。

与传统的化学性危险性评估不同,化学性危害确定步骤的重点是确定是否有足够的证据证明一种化学物质可以引起一种负面健康影响(如癌),而微生物危险性评估中的危害通常在进行评估前就已经确定能引起人类疾病。因此,这一步骤主要是做一个定性评估。^[1,3]

1.2 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/或定量评估。该步骤主要就是进行剂量反应关系评估,即确定暴露于化学性、生物性与物理性因子的大小(剂量)和与之相关的不良健康作用(反应)的严重程度和/或频率的关系。^[3]

1.2.1 影响剂量反应关系的因素 一个人群对暴露于一种食源性致病菌的反应是高度变异性的,这表明疾病的发生依赖于许多因素,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、改变微生物或宿主状态的食品的属性。因此,每个人因暴露于食源性致病菌而产生疾病的可能性依赖于宿主、致病菌和食品基质三方面的综合作用,这种相互作用称为感染性疾病三角。^[10,11]

致病菌 不同的食源性致病菌的致病模式不同。根据致病模式的不同,食源性致病菌可分为三大类——感染性的、产毒-感染性的与产毒的。这种致病模式的区别在本质上影响剂量反应关系。即使是同一种菌,由于在不同情况下致病模式不同,也要根据两种疾病症状,做不同的剂量反应关系。^[10]

摄入的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。一般食品中菌量越多,人群中产生疾病的人的比例越大,但通常不是呈线性关系。摄入菌量的增加通常会降低肠道疾病的潜伏期。在进行评估或进行剂量反应研究比较的时候,需明确一个重要问题——是以什么生物学反应衡量的,即:感染、发病率和死亡率。

宿主因素 疾病三角的第二条臂是与宿主有关的影响个体易感性的因素。人群对感染因子的反应有高度差异,反映了人群遗传学背景、一般健康和营养状态、年龄、免疫状态、应激水平和以前对感染因子的暴露等方面的不同。有些人群具有高危险性,他们多伴有免疫力的降低。一般幼儿与老人对食源

性感染因子有高危险性,分别是因为免疫系统未发育成熟和免疫反应降低。同样地,对免疫状态或整体健康状态有负面影响的医疗干预(如免疫抑制药物)或疾病状态(如 HIV)也能影响食源性疾病的发病率和严重程度。^[10,12]

食品基质因素 以前,食品只是看作致病菌的中立载体并且对剂量反应关系影响甚微。最近几年人们越来越意识到食品基质的影响力,如肠道致病菌的酸抗性的影响,诱导的酸抗性增加了致病菌通过胃时存活的可能性。这些适应系统还会影响许多机体的其他防御机制。除了直接影响致病菌外,食品的物理学性质也可以明显影响剂量反应关系。例如,提高胃液 pH 值,减少微生物暴露于胃酸,或者减少通过胃的时间的任一种物质都可以降低机体抵御食源性致病菌的效率。食用高缓冲食品、吃抗酸的或减少胃液产生的药物都可以减少引起感染的剂量。

1.2.2 资料来源^[2,10] 剂量反应资料的主要来源是人体志愿者试食实验。这些试验可以提供最直接的人体对致病菌反应的测量数据。但是,志愿者几乎都是局限于健康成年男子;志愿者实验几乎都只限于对实验对象无生命危险的食源性疾病,不可以做有生命危险的疾病(如 EHEC)或几乎只影响高危人群的疾病(如单增李斯特菌),通常高危人群的资料得不到;志愿者实验通常都与疫苗试验相结合,因此多集中于高剂量水平。通常每个剂量的试验人数相对较少,所用剂量水平会得到较高的感染率或发病率,因此通常也没有可能评估与人暴露直接有关的致病菌水平。大多数剂量反应关系都依赖于高剂量的剂量反应关系的外推,这样导致了低剂量水平的高度不确定性。当将由此剂量反应关系用于估计整个人群的易感性时,需考虑到这些资料的限制性。

除了人体试食实验,最主要的选择是动物模型资料。假设致病菌在人与动物引起疾病的致病机制是相同的;动物的生理学和免疫学反应与人是相似的;两物种感染、发病率与死亡率之间的定量关系是相似的。另外,动物试食实验与人类志愿者试食实验有许多相同的限制性,例如,大多数实验只使用相似年龄和体重的健康动物。实际上,大多数实验室动物是高度同系繁殖的,而动物之间的遗传学差异被忽略了。这样就减少了试验的变异性,也带来将资料应用于一般人群的种群差异和个体差异问题。

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导致的暴发。但是,为了利于进行危险性评估,调查范围应扩大。除了得病的人的详细资料还应收集其他许多因素的资料,如,

消费食品而未得病的人,两种人的食品消费量、频率、污染范围。遗憾的是,很少有流行病学调查可以提供这些信息。

1.2.3 建立数学模型 当某种致病菌的剂量反应资料缺乏时,选择替代资料建立模型有三个主要原则:^[11]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。如 Cassin 等^[9]对大肠杆菌 O157:H7 建立剂量反应模型时是以志贺氏菌的人体试食实验资料为基础的。

运用曲线拟合软件可以比较容易地将实验资料拟合到一个或几个模型中。但是,需指出所有这些模型都是经验性的,并不能用来推断致病性的生理学基础。两个较常用的拟合剂量反应资料的模型是指数模型和 beta-Poisson 模型。指数模型假设一个细胞产生感染的概率不依赖于剂量,而 beta-Poisson 假设感染是依赖剂量的。两等式都是无起始剂量的乙状函数。^[10]

Weibull-gamma 模型是由 Farber 等 1996 年提出的,是以 Weibull 模型为基础,假设每一个菌引起感染的概率分布是一个 gamma 函数。这种模型所具有灵活性,在于它可以依赖于所选择的参数值的不同呈不同的形状。几种其他模型,如指数模型和 beta-Poisson 模型可以看作是 Weibull-gamma 模型的特例。^[10] Holcomb 等^[13]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)、泊松(-Poisson)、威布尔-伽玛(Weibull-Gamma)模型。以这几种模型拟合 4 种菌的人体试食实验的 4 组资料,只有威布尔-伽玛模型可以拟合全部 4 组资料,证实了这一模型的灵活性。

以上剂量反应模型发展并应用于描述感染性与产毒-感染性微生物的剂量反应关系。需要有另一些模型来描述产毒菌的剂量反应关系。因为这些菌通过事先形成的毒素影响宿主,疾病程度与消费者摄入毒素水平有关,但菌数也很重要,因为毒素产生是与菌的增殖相关的。这种情况下,暴露评估应同时考虑到菌与毒素。^[10]

1.3 暴露评估

暴露评估是指生物性、化学性与物理性因子通过食品或其它相关来源摄入量的定性和/或定量评估。^[3]进行微生物性危害的暴露评估就是对一个个体或一个群体暴露于微生物危害的可能性的估计和对摄入的菌数的估计。目的主要想得到消费时食品中微生物的流行情况、浓度甚至生理学状态。^[4]

1.3.1 影响暴露的因素与资料来源 对于不能在食品中生长的病毒和寄生虫因子,评估者主要关注

污染频率、浓度和分布、去除污染和/或灭活措施的效率。而对于细菌,还应考虑食品中细菌的生长和/或灭活、每一加工步骤和/或在加工和准备步骤中温度失控对菌数的影响。此外,评估者还应考虑下列影响因素:病原菌生态学特征、食品中微生物生态学、生食的最初污染情况,包括考虑地区和季节差异、卫生和加工控制水平、加工、包装、分配、储存食品的方法、烹调和处理、与其它食品的交叉污染。^[1,3]

食品消费模式是进行暴露评估的一部分。评估需要关于食品消费范围、每周或每年的消费率、食品准备和消费时的环境条件的各种资料。社会经济和文化背景、民族的、季节的、地区的差异、消费者的消费习惯和行为都可能影响消费模式。暴露评估还应该包括关于特殊人群的资料,如婴儿、儿童、孕妇、老人或免疫抑制人群,他们可能会有不同的饮食习惯和暴露水平,并且他们通常比其他人群更易感染或得病。当进行国际贸易的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。^[1,3]

在进行暴露评估时为了减少不确定性,专家的意见是另一重要资料。虽然专家判断的本身不能作为证据,但他们的推论是以可获得的基础。^[1]

1.3.2 建立模型 有许多暴露资料很难得到,因为有些资料保存于工厂或政府机构不会发表。许多与暴露有关的数据资料通常是来自其他目的的研究,并不十分适合直接做暴露评估的材料。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。^[5]因此,想要得到食品消费时所含的菌数几乎是不可能的,需要模型与假设来将可以得到的数据转化为对危险人群中任一个人摄入病原菌数量的定量估计。^[1]

建立模型是进行危险性评估的重要部分。预测微生物模型是大的暴露模型中非常有用的亚模型。这些模型以数学形式来描述细菌数量是怎样随时间变化的和怎样受环境条件影响的,从而精确描述微生物的行为。^[1,3,4]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。^[6]自 20 世纪 80 年代以来,已经建立了许多用于微生物性食品安全的预测数学模型,主要有 4 种类型的模型:平方根模型、Arrhenius 模型、Davey 模型和多项(Polynomial)模型。^[6,7]如 Walls 等^[6]以多项模型中的 Gompertz 函数来模拟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^[8]比较了这几种类型的模型的优缺点,认为进行危险性评估时最好不要只依赖于一种模型的结果,如有可能应多利用几种模型,对其结果对比以做出

一个可靠的危险性结论。进行暴露评估合理的方法是先以简单的生长或灭活模型开始,如果这些属性是影响评估结果的重要因素,就需发展为更复杂的模型。^[1]近年来复杂的模型及其应用得到了长足发展。预测模型可分为初级和次级水平模型,分别代表不同的精度和对环境因素的敏感性。在第三级水平模型中,初级和次级模型都包括在先进的软件包和专家系统中。^[1]

因为食品中致病菌水平是动态变化着的,从食品的生产到消费这一过程中有许许多多的因素影响着菌量的变化,合并了在食品到达消费者手中前的各种影响因素的危险性评估模型可以提供最多关于食品安全危险性管理的信息,帮助评估者找到从生产到消费过程中影响危险性的主要因素和能更有效控制危险性的环节。这种方法还被许多学者称为从农场到餐桌(farm-to-fork)评估、过程(process)危险性模型或生产/病原菌途径分析。进行 farm-to-fork 评估是一项复杂的和资源集中的工作,需要重要资料输入和各方面专家的知识。^[1,3]如 Cassin 等^[9]对牛肉馅汉堡包中大肠杆菌 O157:H7 进行了定量危险性评估,模拟了牛从农场开始到屠宰、绞成牛肉馅、零售、烹调、消费等一系列过程中各种影响该菌数量的因素。

1.4 危险性特征的描述 危险性特征的描述是指依据危害确定、暴露评估和剂量反应评估的结果,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的发生率的定性和/或定量估计。^[3]

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每一个步骤对危险性的影响。危险性最终估计的可信度依赖于前述各步骤的变异性、不确定性和所作的假设。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微生物性食品安全定量危险性评估的精确性。^[3,5,10]

危险性特征描述除了要确定一种危害对人群产生负面健康影响的可能性外,还应评估这一危害的严重程度。一般严重程度评估是定性的,常伴随评估者对疾病结果产生偏见的可能性。另一种方法是应用多种生物学终点进行所有相关生物终点(如,感染率、发病率、死亡率、后遗症)的剂量反应评估,这种方法可能可以更客观地评估致病因素的影响,可以使危险性特征描述更清晰地成为一个系统整体。^[10]

危险性特征描述应该包括用于危险性评估的信息的变异性 and 不确定性。认识、确定和区分变异性 and 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它。^[2,3,5,10]对于数学模型,不确定性是指缺乏关于参数值的完美资料,可以通过进一步计算而降低不确定性。变异性是指源于生理系统的一个群体的多样性,不会通过进一步计算而降低变异性。例如致病菌生长的过程既有变异性(即使是同一菌株,在完全相同的条件下,一个菌群的生长曲线也不会与另一个菌群的完全相同),又有不确定性(人们不会确切地知道细菌的生长是怎样进行的,用来建立生长曲线的生物学方法也并不完美)。^[14]

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。以数学方式的剂量反应关系代表实际生物性过程具有很大的不确定性,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的方法,并且在制定政策中也是行之有效的。^[2]如果一个参数的变异性是导致高危险性估计的主要方面,则须更好地控制这一过程或因素以降低危险性。如果是一个或几个参数的不确定性导致高危险性,则管理决策就可能将更多的精力放在收集更多资料的研究上,以更好地确定这些重要的不确定的参数。^[1]进行危险性评估的主要优点之一是可以很快确定和帮助优先考虑那些需要做的、既可以消除不确定性又可以发展新的控制措施或预防战略的研究工作。^[10]

2 微生物危险性评估的研究现状

关于食品安全的问题可以对社会产生巨大的政治和经济影响,食品丑闻甚至可能极大地影响一个政府的命运。因此,关于食品安全危险性评估问题受到各国的普遍重视。各国都把很大精力放在食源性疾病的调查、监测上,这可以为危险性评估研究提供重要的资料与数据。预测微生物学也得到了相当的重视,而关于人类对致病菌的反应和剂量反应模型的问题则重视不足,同样,数学与已知资料相结合的方法也未完全建立。^[15]

就已发表的危险性评估文献而言,极少有完全的包括所有法典委员会要求的正式的研究。截止到1999年上半年,在已发表的关于微生物性危险性评估的66篇文献中美国占24篇,92%的论文(61篇)发表于1994到1999年。53%的论文是综述性质的,只有7篇是针对一种特定病原菌和食品进行微生物性危险性评估的完全“正式”的论文,这些论文可以看作是这一新兴领域的主要参考文献,^[15,16]如 Cassin 等^[9]对牛肉馅汉堡包中大肠杆菌 O157:H7 进

行了危险性评估,该论文运用场景分析和预测微生物学技术对加工全过程的卫生学特征提供了一个客观的评估,是一篇非常接近法典所定义的微生物危险性评估的“正式”的完整的论文。来自美国的一项关于带壳鸡蛋及蛋制品中肠炎沙门氏菌的研究建立了一个从资料收集、分析到定量危险性模型与危险性控制战略的概念性框架。^[17]荷兰的一项关于巴氏消毒牛奶中蜡样芽胞杆菌对消费者的危险性的研究中包括了对储藏时间与温度的研究。^[18]

参考文献:

- [1] Lammerding A M. hazard identification and exposure assessment for microbial food safety risk assessment[J]. Int J food Microbiol ,2000 ,58 :147 —157.
- [2] FAO/WHO. Application of risk analysis to food standards issues[A]. In :report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation[C]. Geneva Switzerland WHO Geneva ,1995.
- [3] Codex Alimentarius Commission. Draft principles and guidelines for the conduct of microbiological risk assessment[Z]. ALINOR 99/13A. (<http://www.who.int>) 1998.
- [4] FAO/WHO. Report of a joint FAO/WHO expert consultation on risk assessment of microbiological hazards in foods[R]. FAO Rome Exposure assessment of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods,2000.
- [5] Zwietering M H ,van Gerwen S J C. Sensitivity analysis in quantitative microbial risk assessment[J]. Int J Food Microbiol ,2000 ,58 :213 —221.
- [6] Walls I ,Scott V N. Use of predictive microbiology in microbial food safety risk assessment [J]. Int J Food Microbiol , 1997 ,36 :97 —102.
- [7] Ross T ,McMeekin T A. Predictive microbiology [J]. Int J Food Microbiol ,1994 ,23 :241 —264.
- [8] Suzanne J C ,van Gerwen ,Zwietering M H. Growth and inactivation models to be used in quantitative risk assessments [J]. J Food Prot ,1998 ,61 (11) :1541 —1549.
- [9] Michael H ,Cassin ,Anna M. Lammerding quantitative risk assessment for *E. coli* O157:H7 in ground beef hamburgers [J]. Int J Food Microbiol ,1998 ,41 :21 —44.
- [10] Robert L ,Buchanan ,James L ,et al. Microbial risk assessment :dose-response relations and risk characterization [J]. Int J Food Microbiol ,2000 ,58 :159 —172.
- [11] Coleman M ,Marks H. Topics in dose-response modeling [J]. J Food Prot ,1998 ,61 (11) :1550 —1559.
- [12] Gerba C P. Sensitive population :who is at the greatest risk ? [J]. Int J Food Microbiol ,1996 ,30 :113 —123.
- [13] Holcomb D L ,Smith M A ,Ware G O. Comparison of six dose-response models for use with food-borne pathogens [J]. Risk Analysis ,1999 ,19 (6) :1091 —1100.
- [14] Nauta M J. Separation of uncertainty and variability in quantitative microbial risk assessment models [J]. Int J Food Microbiol ,2000 ,57 :9 —18.
- [15] Klapwijk P M ,Jouve J L ,Stringer M F. Microbiological risk assessment in Europe :the next decade [J]. Int J Food Microbiol ,2000 ,58 :223 —230.
- [16] Schlundt J. Comparison of microbiological risk assessment studies published [J]. Int J Food Microbiol ,2000 ,58 :197 —202.
- [17] US Department of Agriculture Food Safety and Inspection Service. *Salmonella enteritidis* risk assessment : shell eggs and egg products [R]. report 268 (<http://www.fsis.usda.gov>).
- [18] Notermans S ,Dufrenne J ,Teunis P ,et al. A risk assessment study of *Bacillus cereus* present in pasteurised milk [J]. Food Microbiol ,1997 ,14 :143 —151.

[收稿日期:2003-05-08]

中图分类号:R15;TS201.3 文献标识码:E 文章编号:1004-8456(2003)04-0341-05

泰安市检出部分啤酒添加色素

王玉莲 刘冰 许光
(泰安市卫生防疫站,山东泰安 271000)

泰安市卫生防疫站在2002年7月对泰安市的啤酒卫生质量进行了调查。共检查啤酒81份,其中51份为瓶装啤酒。在51份瓶装啤酒中发现21份含有人工合成色素柠檬黄、亮兰。柠檬黄的检出量为11.2~20.8 mg/kg,亮兰的检出量为10.7~

14.5 mg/kg。根据食品添加剂使用卫生标准,柠檬黄和亮蓝不得添加在啤酒中,应引起食品卫生监督机构的注意。

[收稿日期:2003-05-14]

中图分类号:R15 文献标识码:C 文章编号:1004-8456(2003)04-0345-01