

温暖月份零售带壳牡蛎中副溶血性弧菌的定量研究

陈 艳¹ 刘秀梅¹ 王 明² 马群飞³

(1. 中国疾病预防控制中心营养与食品安全所, 北京 100050; 2. 福建省卫生厅卫生监督所, 福建 福州 350001; 3. 福建省疾病预防控制中心, 福建 福州 350001)

摘 要: 为了解温暖月份零售带壳牡蛎中副溶血性弧菌(VP)的污染情况, 2003 年 4~8 月在福建省福州和厦门两地共收集带壳牡蛎 113 份, 样品分别来自水产品批发市场(18%), 零售市场(46%)和饭店(36%)。采用 Vitek 鉴定系统和最可能数法进行 VP 的定量分析。结果显示, 带壳牡蛎中 VP 密度的几何均数为 60 MPN/100 g, 41.6% 的样品 VP 密度低于 30 MPN/100 g 的最低检出限, 仅厦门 2 个样品菌量超过 24 000 MPN/100 g。两个地区、不同采样点和不同月份之间样品 VP 密度的几何均数差别均有统计学意义($P < 0.01$)。厦门样品污染菌量高于福州; 批发市场样品菌量最高; 5 月份样品菌量最高, 为 149 MPN/100 g, 而 6~8 月样品菌量约为 40 MPN/100 g。零售环节带壳牡蛎 VP 的检出率较高。未来应加强对生食海产品中 VP 污染状况的监测。

关键词: 弧菌; 副溶血性; 牡蛎; 定量研究

Quantitative analysis of *Vibrio parahaemolyticus* in retail shell oysters in the warmer months

Chen Yan, et al.

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

Abstract: *Vibrio parahaemolyticus* in retail shell oysters were investigated in the warmer months. From April to August 2003, 113 oysters in shell were sampled monthly in Fuzhou and Xiamen of Fujian province, China (36% from restaurants; 46% from retail markets and 18% from wholesale seafood markets). The *V. parahaemolyticus* in oyster samples was determined qualitatively and quantitatively by the Vitek identification system and the most probable number technique. The geometric mean *V. parahaemolyticus* density in retail shell oysters was 60 MPN/100 g, with 41.6% had *V. parahaemolyticus* densities below the detectable level of 30 MPN/100 g; only two samples from Xiamen were found to harbor *V. parahaemolyticus* densities exceeding 24 000 MPN/100 g. There were significant differences in the *V. parahaemolyticus* densities among different regions, sampling sites and months ($P < 0.01$). Oysters from Xiamen had higher densities of *V. parahaemolyticus* than did oysters collected from Fuzhou. The highest mean *V. parahaemolyticus* density was observed in samples from wholesale seafood market. The highest mean *V. parahaemolyticus* density was observed in samples collected in May (149 MPN/100 g) while approximately 40 MPN/100 g was observed in samples collected in June and August. High frequency of *V. parahaemolyticus* was detected in retail shell oysters. It is concluded that this organism needs to be intensively monitored and controlled in raw seafoods.

Key Words: *Vibrio parahaemolyticus*; Oysters; Quantitative Analysis

副溶血性弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*, VP)是一种重要的食源性致病菌, 广泛存在于近海岸的海水、海底沉积物和海产品中, 主要引起急性胃肠炎甚至

败血症。国家食源性疾病预防网沿海 5 个省份 1992 年~2001 年的数据显示, VP 食物中毒居细菌性食源性疾病之首, 中毒食品主要为海产品。目前国内关

基金项目: 国家科技部“十五”攻关项目(2001BA804A03), 社会公益基金项目(2001DIB00148), 国家自然科学基金资助项目(30070660)

作者简介: 陈艳 女 博士后

通讯作者: 刘秀梅 女 研究员 课题负责人

This work was supported by the Grant from National Science and Technology Program Funds (2001BA804A03) and the Special Funds (2001DIB00148) of Ministry of Science and Technology and the Funds of National Natural Science Foundation of China. (30070660)

于食品中 VP 的定量资料极为匮乏,现有的报道主要集中在定性研究方面。福建是我国最重要的牡蛎养殖省份,并且 VP 食物中毒也是该地区重要的公共卫生问题,为此我们以福建省作为研究现场,于 2003 年 4~8 月对福州和厦门 2 个地区的水产品批发市场、零售市场和酒店采集的牡蛎进行了 VP 的定量研究,以期深入了解 VP 在零售牡蛎中的分布情况。

1 材料与方法

1.1 样品 于 2003 年 4~8 月每间隔 1 个月在福建省福州、厦门两地的水产品批发市场、零售市场和饭店,按照无菌采样原则采集带壳牡蛎样品,共采集了 113 份,其中福州 57 份,厦门 56 份。牡蛎品种主要为太平洋牡蛎 (*Ostrea gigas*) 和褶牡蛎 (*Ostrea plicatula*)。将样品置 4℃ 保存,采样后 3~8 h 内进行检验。

1.2 试剂和仪器 碱性蛋白胨水 (APW)、TCBS 琼脂、科玛嘉弧菌显色培养基、3.5 % NaCl 三糖铁琼脂 (TSI)、3.5 % NaCl 胰酪胨大豆琼脂 (TSA),均为北京陆桥技术有限责任公司产品。VITEK-32 全自动细菌生化鉴定仪,VITEK-NFC 生化卡,均为法国生物梅里埃公司产品。

1.3 细菌检测 在流水下刷洗牡蛎外壳,无菌操作打开贝壳,称取蛎肉 25 g,加入 225 mL 无菌 APW 均质 1 min 制成悬液。取装有 9 mL APW 的试管,接种量分别为 1、0.1 和 0.01 g,每个稀释度 3 管,37℃ 培养 18 h 或过夜。增菌液接种 TCBS 平板 37℃ 培养 (24±2) h,每板挑取 2~3 个可疑菌落 (蓝绿色) 划线科玛嘉琼脂平板,置 37℃ 培养 (24±2) h。再挑取

可疑菌落 (紫色) 穿刺接种 TSI 并划线 TSA,42℃ 培养 (24±2) h。刮取 TSA 上的菌苔进行氧化酶试验,阳性菌株用 NFC 卡上 VITAK-32 进行鉴定。查 MPN 表计算 VP 浓度,最低检出量为 MPN/100 g<30。

1.4 统计方法 采用 SPSS 软件进行数据统计分析。为便于计算,当样品 VP 密度低于 30 MPN/100 g 时,假定菌量为 15 MPN/100 g (最低检测限的 1/2)。样品 VP 密度的均值用几何均数表示;对 VP 密度的估计值进行对数转换后,t 检验比较不同地区样品 VP 密度;采用单因素方差分析比较不同环节和不同月份样品 VP 密度。

2 结果

2.1 2 个地区牡蛎中 VP 的污染情况 58.4 % 的牡蛎 VP 密度高于 30 MPN/100 g,平均密度为 60 MPN/100 g。福州样品 VP 密度均小于 1 000 MPN/100 g;66 份阳性样品中有 64 份 VP 密度低于 1 000 MPN/100 g,仅 2 份厦门样品菌量超过 24 000 MPN/100 g。厦门样品中 VP 密度较高,地区间样品 VP 密度差别有显著性 ($P<0.01$),详见表 1。

2.2 不同采样点牡蛎中 VP 的污染情况 本研究中 18 % 的样品来自水产品批发市场,46 % 来自农贸市场,36 % 来自饭店。批发市场样品平均菌量最高,为 204 MPN/100 g,而零售市场和饭店样品平均菌量约在 50 MPN/100 g 左右,不同采样点样品菌量的差别有统计学意义 ($P<0.01$)。详见表 2。

2.3 不同月份牡蛎中 VP 的检出情况 5 月份样品 VP 密度最高,为 149 MPN/100 g,而 6~8 月样品 VP 密度约在 40 MPN/100 g 左右,不同月份样品菌量的差别有统计学意义 ($P<0.01$),详见表 3。

表 1 不同地区带壳牡蛎中副溶血性弧菌的分布 MPN/100 g

地区	样本数	样品菌量的百分比					平均菌量
		未检出	$<10^2$	$>10^2 \sim 10^3$	$>10^3 \sim 10^4$	$>10^4 \sim 10^5$	
福州	57	48.2	30.4	21.4	-	-	40
厦门	56	35.1	24.6	29.8	7.0	3.5	91
总计	113	41.6	27.4	25.7	3.5	1.8	60

表 2 不同采样点带壳牡蛎中副溶血性弧菌的分布 MPN/100 g

采样点	样本数	样品菌量的百分比				平均菌量
		未检出	$<10^2$	$>10^2 \sim 10^3$	$>10^3 \sim 10^4$	
批发市场	20	10.0	40.0	35.0	5.0	204
零售市场	52	38.5	32.7	25.0	3.8	56
酒店	41	61.0	14.6	22.0	2.4	36

表 3 不同月份带壳牡蛎中副溶血性弧菌的分布 MPN/100 g

月份	样本数	样品菌量的百分比					平均菌量
		未检出	$<10^2$	$>10^2 \sim 10^3$	$>10^3 \sim 10^4$	$>10^4 \sim 10^5$	
4	25	28.0	28.0	36.0	8.0	-	99
5	21	23.8	28.6	33.3	4.8	9.5	149
6	14	42.9	28.6	28.6	-	-	43
7	31	61.3	25.8	12.9	-	-	30
8	22	45.5	27.3	22.7	4.5	-	49

3 讨论

3.1 本研究是国内首次对生食海产品中 VP 污染状况进行的定量研究报道。微生物危险性评估是目前国际通行的用于制定食品中微生物限量标准的研究方法,而详实的食品中致病菌的定量资料是开展评估所不可或缺的,本研究结果可以为危险性评估提供人群暴露量的信息。

3.2 由于滤食性的生理特点,贝类容易在体内大量富集致病菌。美国海湾城市 1989 年的弧菌感染监测结果显示,生食牡蛎引起的弧菌食物中毒贯穿全年,而接受海产品消费调查问卷的病人中 73 %在疾病前一周内曾经生食过牡蛎,提示确保生食牡蛎的微生物安全性对于预防胃肠炎极为重要。^[1]高亚色等对厦门市市售牡蛎致病性弧菌携带状况的研究结果发现,VP 是主要的检出菌种,而且能在分别送检的急性腹泻病人检样中同期检出,为食用牡蛎与致病性弧菌腹泻存在密切关系提供了可靠依据。^[3]1997 年~1998 年美国发生 4 起与生食牡蛎相关的中毒事件,涉及病例 700 余人,随后美国食品药品监督管理局(FDA)于 1999 年开始进行生食软体甲壳类动物中副溶血弧菌公共卫生影响的危险性评估,该研究对美国 FDA 现行指南中甲壳类动物体内 VP < 10 000 个/g 等标准的有效性提出疑问。^[2]

3.3 本研究结果表明,58.4 %的牡蛎 VP 密度高于 30 MPN/100 g,平均菌量为 60 MPN/100 g。厦门样品 VP 污染程度较高,推测除了与厦门平均气温及海区水温较高等因素有关外,当地居住人口密度大,牡蛎主要为近海滩涂养殖估计也是主要的原因。本研究中 5 月份样品 VP 密度最高,为 149 MPN/100 g,而 6~8 月 VP 密度约在 40 MPN/100 g 左右,不同月份样品菌量差别有显著性。Ellison 等对美国佛罗里达州水产品批发市场和饭店采集的牡蛎中 VP 污染状况的研究结果显示,4、5 月份样品 VP 平均密度 < 10 个/g,结果与本研究较为一致。^[4]Cook 等对美国零售带壳牡蛎中的 VP 进行了全国调查,结果显示零售牡蛎中 VP 密度呈季节分布,以夏季最高。海湾沿岸收获的牡蛎菌量最高,通常 > 10 000 MPN/g。某些大西洋中部地区样品批次 VP 密度 > 10 000

MPN/g,该研究中牡蛎体 VP 密度远高于本次研究。^[5]

3.4 目前尚不清楚引起 VP 感染的最低菌量,一般来说菌量要 ≥100 000 MPN/g,美国和加拿大允许牡蛎含 VP 菌量 < 10 000 MPN/g,日本规定用于生食的海产贝类与鱼片 VP 密度 < 200 MPN/g,而我国食品卫生标准中没有明确规定生食海产品中 VP 的限量标准。

3.5 近年来西风日渐,生食海产品日趋成为时尚消费行为,加之国内旧有的生食海产品的传统习惯,由此引发的与 VP 相关的食物中毒发生率上升的危险性不容忽视。近年来全球 VP 感染急剧上升,已经归因于近期出现的具有大流行危险性的 3 种血清型,O3 K6, O4 K68 和 O1 K (无法分类型)。尤其是 O3 K6,由于其极高的感染频率以及具有全球蔓延的能力,需要在国际范围密切监测该菌。我国未来需要更深入地开展生食海产品中 VP 分布情况的研究,同时加强对我国人群 VP 感染状况的主动监测。

参考文献:

- [1] Levine W C, P M Giffin, G C V W Group. *Vibrio* infections on the Gulf Coast: results of first year of regional surveillance [J]. *J Infect Dis*, 1993, 167:479—483.
- [2] FDA. Draft risk assessment on the public health impact of *Vibrio Parahaemolyticus* in raw molluscan shellfish. See Internet site [DB/OL]. <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/vprisk.html>, 2000.
- [3] 高亚色, 林国华. 牡蛎携带致病性弧菌状况调查[J]. 陕西医学检验, 2000, 15(1):44.
- [4] Ellison R K, Malnati E, Depaola A, et al. Populations of *Vibrio parahaemolyticus* in retail oysters from Florida using two methods[J]. *J Food Prot*, 2001, 64(5):682—686.
- [5] Cook D W, Olearly P, Hunsucker J C, et al. *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus* in U. S. retail shell oysters: a national survey from June 1998 to July 1999[J]. *J Food Prot*, 2002, 65(1):79—87.

[收稿日期:2003-12-10]

中图分类号:R15;R378.3 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2004)03-0207-03