

改革开放 30 年专栏

我国食品卫生微生物学 30 年来的热点研究及主要进展

刘秀梅

(中国疾病预防控制中心营养与食品安全所)

摘要:回顾了我国改革开放 30 年来在食品卫生微生物学领域开展的主要工作及其进展,包括原因不明食物中毒病因及病原学研究、食源性疾病与食源性致病菌的监测、微生物危险性评估、食品微生物学技术及其标准化等。结合我国新颁布的食品安全法,分析了食品中微生物限量标准设定的趋势和对食品安全控制的作用,以及未来发展的需求等。

关键词:食品微生物学;参考标准;食品污染;微生物学技术;食源性致病菌;食品安全

**Hot-topic Studies and Major Progress in the Field of Food
Microbiology During Past Thirty Years in China**

LIU Xiur-mei

(National Institute for Nutrition and Food Safety, Chinese CDC, Beijing 100021, China)

Abstract: The hot-topic studies and the major progress in the field of food microbiology during past thirty years of reform and opening up in China were reviewed in this paper, including the studies on the unexplained causes and etiology of foodborne diseases, the surveillance of foodborne diseases and foodborne pathogens, microbiological risk assessment, examination and standardization of microbiological technology. Linking with the Food Safety Law issued recently in China, the current trends of setting up limit criteria for food microbial and their role on food safety control were analyzed, to meet the needs of challenges and requirements for future development.

Key words: Food Microbiology, Reference Standards; Food Contamination; Microbiological Techniques; Food-borne Pathogens; Food Safety

食品卫生微生物学是营养与食品卫生学中的一个重要分支学科,主要是研究食品中的微生物(特别是致病性微生物)及其代谢产物对食品质量和人体健康影响的程度,以及如何检验、监测、控制,保证食品安全的一门应用基础性学科。近 30 年来,随着国际食品经济和贸易的发展,全球性食品安全问题越来越受关注,世界卫生组织将控制食品污染和食源性疾病列为优先重点战略工作领域^[1]。而大部分食源性疾病是由微生物引起,如沙门氏菌(*Salmonella*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、肉毒梭菌(*Clostridium botulinum*)、副溶血性弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*)等都是肆虐流行的重要食源性致病菌。FAO/WHO 于 2002 年发布的评估报告中列举了沙门氏菌病在部分国家的年流行情况,数据显示,澳大利亚、德国、日本、荷兰和美国依次为 38/10 万、120/10 万、73/10 万、16/10 万和 14/10 万^[2]。其中,1992 - 1996 年,英国暴发的 46 起沙门氏菌病中,有 78% 为食物(烤牛肉、火腿、香肠、鸡肉、巴氏

消毒奶、生牛奶等)传播,1994 年肠炎沙门氏菌污染巴氏消毒液态冰淇淋导致美国 41 个州的 22 万人中毒。近年来,沙门氏菌多重耐药菌株的出现,空肠弯曲菌(*Campylobacter jejuni*)、大肠杆菌 O157 H7 (*E. coli* O157 H7)、单增李斯特菌(*Listeria monocytogenes*)和阪崎肠杆菌(*Enterobacter sakazakii*)等新的食源性致病菌导致的食品安全事件在全球范围内屡屡暴发,如 20 世纪 90 年代大肠杆菌 O157 掀起的波澜令人至今记忆犹新,1994 年,美国曾发生 1 420 例大肠杆菌 O157 H7 中毒事件,可能污染大肠杆菌 O157 H7 的 5 000 磅牛肉馅全部销毁;1996 年,日本发生 9 450 人中毒,重症住院者 180 人,死亡 12 人。1996 - 2000 年,单增李斯特菌在美国的最高感染率达到 0.6/10 万,而空肠弯曲菌在丹麦、瑞士、芬兰、瑞典等国都有较高流行趋势。

在我国,2000 - 2006 年卫生部发布的食物中毒公告显示,微生物性危害导致的中毒人数占总中毒人数的 51.33%,大约是化学性危害导致中毒人数的 2.2 倍。1992 - 2005 年国家食源性疾病预防网上报的 7 669 起食源性疾病预防事件中,患病人数 20 余

作者简介:刘秀梅 女 研究员

万人。微生物引起的食源性疾病事件和涉及人数最多,分别占总体的 38.5% ~ 47.5% 和 50.9% ~ 71.0%^[3-6]。微生物性危害是我国食源性疾病发生的主要原因。由此可见,无论是发达国家还是发展中国家,微生物性食源性疾病都严重地危及人类的健康,也给经济造成重大影响,成为目前国际上最突出的公共卫生问题之一。

1 微生物性食源性疾病病因的研究

1.1 酵米面及变质银耳中毒的研究与控制^[7]

酵米面是我国自 50 年代起东北地区民间流传的一种粗粮细作加工方法,因家庭制作、保存不当而发生原因不明的中毒和死亡。主要表现为肝、脑、肾等实质性器官的损伤,病死率高达 50% 以上。随后在 16 个省(自治区)发现引起类似临床表现的三大类中毒食品(谷类发酵制品、变质银耳及发酵薯类制品)。据不完全统计,截至 1994 年底我国 16 个省共发生该类食物中毒 545 起,中毒人数 3 352 人,死亡 1 401 人,平均病死率高达 41.80%,是迄今我国病死率最高的微生物性食物中毒。

中国预防医学科学院卫生研究所与相关省级卫生防疫人员进行了十几年的合作研究,于 1977 年分离到中毒病原菌,1979 年曾暂命名“虹彩黄杆菌”、“酵米面黄杆菌”,1997 年更名为椰毒假单胞菌酵米面亚种 (*Pseudomonas cocovenenans* subsp. *farinifermentans*)。确证了椰毒假单胞菌酵米面亚种及其产生的米酵菌酸毒素是引起食物中毒和死亡的主要病因。运用血清学技术先后发现了六种不同的型特异性因子,依次命名为 O-₁、O-₂、O-₃、O-₄、O-₅、O-₆,并运用免疫杂交瘤技术对 54 株椰毒假单胞菌及 ATCC33664 株进行了菌体抗原成分的分析,筛选出与迄今获得的所有典型椰毒假单胞菌的菌体抗原发生特异性反应的单克隆抗体细胞株,发现了用血清吸收法永远不可能获得的种特异性菌体抗原及新的型特异性因子,分别命名为 O-₁ 和 O-₂ 抗原。

运用气相色谱技术对椰毒假单胞菌及其酵米面亚种进行了菌体脂肪酸成分的分析及其与产毒机制关系的研究,发现菌株产毒能力与菌体脂肪酸 C16:0 密切相关;实验室的产毒条件和影响因素依次为:菌株、培养基、温度、PH 值和时间。研究发现日晒法可使鲜银耳中的米酵菌酸 (Bangkrekic acid, BA) 转为无毒的异米酵菌酸,去毒达 94% ~ 97%,从理论和实验中解释了变质鲜银耳引起中毒的原因。

1.2 变质甘蔗中毒的研究与控制^[8]

变质甘蔗中毒是一种原因不明的急性食物中

毒,是由进食南产北运、储存过冬而发霉变质的甘蔗而引起。主要流行于我国北方的 13 个省市。截止 1989 年共发生中毒 217 起,病例 884 人,死亡 88 人。中毒症状为中枢神经系统受损。患者多为儿童,幸存者常留有终身残疾的后遗症。

中国预防医学科学院卫生研究所与有关省、市、自治区的卫生防疫人员合作从可疑中毒甘蔗样品中分离出节菱孢霉菌 (*Arthrinium spp*),并分离鉴定出节菱孢霉菌的毒性代谢产物 3-硝基丙酸 (3-nitropropionic acid, 3-NPA),从而明确了变质甘蔗的中毒原因,并在国际上首次阐明 3-硝基丙酸可以引起人的食物中毒。为有效预防和控制变质甘蔗中毒提供了科学依据。

1.3 肉毒毒素中毒的研究与控制

肉毒毒素中毒多发生于我国的新疆等地区,死亡率较高,严重威胁群众的生命安全。该病在我国发生中毒的食品、潜伏期等与国外报道有很大不同。从 1970 - 1986 年,中国预防医学科学院卫生研究所与有关省、市、自治区的卫生防疫人员合作对我国肉毒中毒的流行病学、诊断与治疗、不同地区产毒肉毒梭菌的分布等进行了深入的研究。尤其是通过对肉毒中毒患者临床症状的规律性研究,将中毒分为轻度、中度、重度和极重度四个等级,为有效地抢救中毒患者、降低死亡率提供了重要的依据。

2 食源性疾病监测及致病菌相关技术研究

2.1 食源性疾病的监测体系

世界卫生组织 (WHO) 对食源性疾病的定义为:凡是通过摄食而进入人体的病原体,使人体患感染性或中毒性疾病,统称为“食源性疾病”(Food-borne Disease)。全球每年发生 40 ~ 60 亿例由微生物危害引起的感染性食源性腹泻,其中发展中国家约有 1 800 万人因患病而死亡。同样,在发达的工业化国家,亦有 30% 以上的人群患食源性疾病。据 WHO 估计,发达国家食源性疾病的漏报率在 90% 以上,而发展中国家则为 95% 以上。如此高的漏报率,与各国食源性疾病的监测与报告体系不够完善直接相关。

我国自 20 世纪 80 年代建立了全国食物中毒报告制度,1997 年以后由于体制的改革和部门职能的转变,以及卫生管理方面的缺陷,这项工作疏于加强。针对全国食源性疾病的报告与监测系统的健全,微生物病原引起的食源性疾病的快速诊断及溯源技术等情况,国家科技部在“十五”期间对食源性疾病的监控技术、食品安全监测与预警系统等项目给予了强力支持。自 2001 年起,在 13 个省逐渐建

立起全国食源性疾病监测网络^[9],2008 年扩大到 21 个省、自治区、直辖市,覆盖人口超 10.5 亿,约占全国总人口的 80.8%。监测网建立并启用国家食品安全监测信息系统,实现食源性疾病暴发个案数据的网络报告,并通过连续、动态的食源性致病菌主动监测,进一步完善食源性疾病监测网络系统。食源性疾病监测网监测 3 大类 19 种不同病原引起的食物中毒,包括微生物性食物中毒、化学性食物中毒和有毒动植物中毒。

监测结果表明:(1)微生物性食源性疾病的暴发规模最大,累及人群的数量最多(自 1998 年以来,副溶血性弧菌中毒显著上升,已跃居我国微生物性食源性疾病之首);化学性食物中毒导致的死亡率最高。(2)公共餐饮单位是食源性疾病暴发的主要场所,以集体食堂、宾馆、饭店、快餐、街头摊点为主,其次为家庭。(3)食源性疾病暴发的主要原因是由食品的加工不当、原料变质、误食误用或多种混合因素引起。(4)动物性食品是引发食源性疾病的高危食品(其中肉及肉制品约占 20%,水产品约为 10%),其次为蔬菜、谷类、食用菌和水产品;乳与乳制品、蛋与蛋制品引起的食物中毒比例较小。

2.2 食源性致病菌监测

1999 年在美国召开的第 32 届食品卫生法典委员会(Codex Committee on Food Hygiene, CCFH)会议提出了“致病菌-食品”组合的控制模式,即:根据不同食品中存在不同致病菌污染而可能引起人群危险性的不同程度,分别进行有针对性的管理措施,而重点是控制某些高危食品中的重要致病菌,反映了国际社会的新的管理理念和科学对策^[10]。

为适应国际食品安全管理的新形式,全面掌握我国各类食品中存在的重要微生物性问题,我国食源性疾病监测网的重要任务之一,循序渐进地开展了 9 大类食品(对生畜禽肉、熟肉制品、水产品、奶制品、蔬菜、婴儿配方食品、发酵豆制品和速冻面米制品等)中 3~7 种重要食源性致病菌的监测,包括沙门氏菌、副溶血性弧菌、单核细胞增生性李斯特菌、出血性大肠杆菌 O157、空肠弯曲菌、阪崎肠杆菌和金黄色葡萄球菌等。监测结果显示,我国食品中重要致病菌的污染状况严重,其中以生肉类致病菌检出率最高,其次为水产品,熟肉类,蔬菜等,奶类制品的致病菌污染相对较好。提示我国应该重点控制的微生物性危害是:1、生食水产品中的副溶血性弧菌;2、熟肉制品中的单增李斯特菌和沙门氏菌;3、生食蔬菜中的肠出血性大肠杆菌;4、婴幼儿食品中的阪崎肠杆菌和沙门氏菌。

这些资料为进一步开展微生物危险性评估,制

修订相关食品的安全标准,提供了宝贵的科学数据。同时,也为相关政府部门制定食品安全监管政策和策略提供了技术支持。

2.3 食源性致病菌耐药性分析

20 世纪末期,欧洲、美国曾流行鼠伤寒沙门氏菌确定型 104 (Definitive Type 104, DT 104) 时,由于其多重耐药特性,使致病菌的耐药性机制和耐药谱的分析在国际食品微生物领域受到了广泛的关注,也引起了中国学者的重视,对此开展了一系列研究。

在开展食源性致病菌监测的工作中,为了解我国食品中致病菌的耐药性,按照 NCCLS (National Committee of Clinical Laboratory Standard) 推荐的方法,先后对从国家食源性疾病监测网地区分离的沙门氏菌、单增李斯特菌、金黄色葡萄球菌、阪崎肠杆菌等菌株进行了耐药性分析。结果发现,沙门氏菌的多重耐药状况及耐药程度极为严重,市售鸡肉中分离的 51 株沙门氏菌均对万古霉素、红霉素和苯唑西林等 3 种抗生素均具有耐药性。同时发现 1 株对 8 类 15 种抗生素耐药的多重耐药鼠伤寒沙门氏菌,其耐药谱与国际暴发流行的超耐药鼠伤寒沙门氏菌 DT104 非常相似^[11]。鼠伤寒沙门氏菌中的多重耐药株为 65.22% (15/23)^[12]。467 株食源性单核细胞增生李斯特菌对庆大霉素、氨苄西林、青霉素、四环素等 15 种抗生素的耐药率为 4.5%,其中四环素耐药率最高,分离自蔬菜的单核细胞增生李斯特菌的耐药率最高(10%)。提示分离自不同来源的单核细胞增生李斯特菌的耐药性存在差异^[13]。

2.4 食源性致病菌溯源技术研究与应用

近年来,在国家科技部“十一五”科技支撑计划相关项目的研究中,对食源性致病菌溯源技术予以高度重视,取得了重要进展,特别是脉冲场凝胶电泳(Pulse Field Gel Electrophoresis, PFGE)技术和自动化核糖体分型(Automatic Ribotyping)技术,在食品微生物实验室得到良好的技术推广和应用,并分别在对不同地区、不同食物来源分离的沙门氏菌、单增李斯特菌、阪崎肠杆菌等进行了分型研究。

2.4.1 脉冲场凝胶电泳(PFGE)技术 该方法是在琼脂糖凝胶电泳的基础上,外加正交的变脉冲电场,使超过 50kb,甚至是几千 kb 以上的 DNA 分子得到有效分离的一种技术。近年来被广泛用于分子流行病学中和食源性疾病溯源方面。由于 PFGE 可以揭示从可疑原因食品、病人排泄物等不同来源分离的菌株之间的亲缘关系,如美国建立了基于 PFGE 技术的细菌分子分型国家电子网络实验室(PulseNet),可在 48h 之内完成食源性疾病原因食品的确证。

中国开展食品中 PFGE 分型的例证:肠炎沙门

菌分离株的分子谱型研究:用 PFGE 方法对从中国 11 个省市食品中分离的 51 株肠炎沙门菌进行分子分型^[14]。经 2 种内切酶 *Xba*、*Spe* 处理后,分为 11 个不同的带型。其中 2 个主要带型分别涵盖了分离株的 70%,并在两型之间有部分兼容性。通过双酶系统的双重分型,还可以将其中的型别进一步区分为亚型。分型结果未显示不同地区分离菌株的明显规律,但发现分离自羊肉中的 4 株肠炎沙门菌经 *Xba*、*Spe* 酶切后表现为同一 PFGE 型(*Xba* 酶切后均为 XF 型,*Spe* 酶切后均为 SE 型),揭示了一定的亲缘关系。

阪崎肠杆菌菌株的分子谱型研究:对 29 株阪崎肠杆菌分离株和 2 株阪崎肠杆菌模式株进行脉冲场凝胶电泳(PFGE)分型研究^[15]。分别利用限制性内切酶 *Xba* 和 *Spe* 酶切阪崎肠杆菌染色体 DNA 进行 PFGE 分析。结果显示,31 株阪崎肠杆菌使用 *Xba* 和 *Spe* 酶切分别有 30 种 PFGE 带型。来源于同品牌同批次中不同包装的产品中的 ES 004 和 ES 005 分离株 *Xba* 和 *Spe* 酶切图谱完全一致(相似度为 100%)。根据 BioNumerics 软件分析结果,证明了 ES 004 和 ES 005 菌株的高度同源性。

2.4.2 Riboprinter 全自动微生物鉴定系统 运用 Riboprinter 全自动微生物鉴定系统(RP-411),对我国不同地区鸡肉样品中分离的 134 株沙门氏菌进行了自动化核糖体分型^[16],运用 BioNumeric 软件对分型结果进行聚类分析,建立了我国食源性沙门氏菌分子分型数据库。分型结果显示,134 株沙门氏菌被分为 34 种核糖体型;不同地区沙门氏菌分离株间的核糖体型既有一定的联系又呈现出一定的差异,但同一地区 2003 年与 2004 年分离株的核糖体型呈现出一定的延续性。

3 食品卫生微生物学标准进展

3.1 微生物学方法的研究与标准化

在我国食品微生物学老前辈的研究和组织下,卫生部于 1976 年颁布了《食品卫生检验方法(微生物学部分)》;1977 年举办了全国食品卫生微生物学检验技术学习班,统一食品卫生微生物学检验方法,培训了一大批食品卫生微生物检验的技术骨干。为配合《中华人民共和国食品卫生法(试行)》的贯彻落实,1984 年颁布了我国第一版中华人民共和国国家标准《食品卫生微生物学检验》GB 4789—84^[17]。1990 年由人民卫生出版社出版发行了《食品卫生检验方法注解(微生物学部分)》^[18]。

2004—2008 年由中国疾病预防控制中心营养与食品安全所主持“微生物标准制修订协作组”对 GB

4789 进行了全面的回顾和研讨,确定了制修订标准方法和微生物限量的基本原则:为适应全球化食品贸易的需求,采用或参考先进的国际标准化微生物方法,包括传统检验方法和快速、定量检验方法;采纳国际食品微生物标准委员会(International Commission for Microbiological Specialization in Food, ICMSF)提出并在全球得到普遍应用的采样方案;跟踪国际食品卫生法典委员会进行危险性管理的新导则、新标准,及时制定、修订我国的新方法和新标准。截至 2008 年年底,已经完成了 GB4789—1984 中 12 个标准的修订,补充制定了 3 个定量检验方法(金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和粪大肠菌群),新制定两个致病菌检验方法(大肠杆菌 O157 H7 和阪崎肠杆菌),总计 17 个方法。这是自 1984 年首次发布食品卫生微生物检验方法标准以来,最全面、系统的修订,在标准的科学性、先进性和实用性等重要方面实现了跨越性的发展。

例证:在 GB4789.1—2008^[19] 的文本中,增加了对微生物实验室的基本要求(包括环境、人员、设备);增加了 ICMSF 采样方案;增加了样品检验的质量控制和检验后样品的处理等。

对采样方案的重要修订和释疑如下:

采样分为二级和三级采样方案。二级采样方案设有 n 、 c 和 m 值,三级采样方案设有 n 、 c 、 m 和 M 值。 n :同一批次产品应采集的样品件数; c :最大可允许等于或超出 m 值的样品数; m :微生物指标可接受水平的限量值; M :微生物指标的最高安全限量值。

注 1:按照二级采样方案设定的指标,在 n 个样品中,不允许有 $>c$ 个样品其相应微生物指标检验值大于 m 值。注 2:按照三级采样方案设定的指标,在 n 个样品中,允许全部样品中相应微生物指标检验值小于或等于 m 值;允许有 c 个样品其相应微生物指标检验值在 m 值和 M 值之间;不允许有样品的相应微生物指标检验值大于 M 值。

即,当食品中的微生物限量规定为: $n=5$, $c=2$, $m=100$ cfu/g, $M=1000$ cfu/g 时,其含义为“从一批产品中采集 5 个样品,若 5 个样品的检验结果均小于或等于 m 值(<100 cfu/g),则这种情况是允许的;若 2 个样品的结果位于 m 值和 M 值之间(100 cfu/g $< X < 1000$ cfu/g),则这种情况也是允许的;若有 3 个及以上样品的检验结果位于 m 值和 M 值之间,则这种情况是不允许的;若有任一样品的检验结果大于 M 值(>1000 cfu/g),则这种情况也是不允许的。”

3.2 微生物危险性评估及其应用

依据国际食品法典委员会 (Codex Alimentarius Commission, CAC) 程序手册的定义^[20], 危险性评估 (Risk Assessment, RA) 是由危害识别、危害特征描述、暴露评估和危险性特征描述四个步骤组成的科学评估过程, 是对食品生产、加工、保藏、运输和销售过程中所涉及的各种食源性危害可能对人体健康产生不良影响的科学评估。危险性评估与危险性管理 (Risk Management, RM)、危险性信息交流 (Risk Communication, RC) 共同构成了危险性分析 (Risk Analysis) 框架。微生物危险性评估 (Microbiological Risk Assessment) 的重点是识别食品中的微生物危害 (确定食品中的病原细菌、真菌与真菌毒素、病毒和寄生虫等生物危害因素), 危害特征的描述 (对某种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的反应与相关因素); 暴露评估 (人群对相关危害的暴露概率、暴露水平及严重程度) 和危险性特征的描述 (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, 确定人群发生已知或潜在健康副作用的发生概率的定性和/或定量分析等)。截至 2008 年, 世界卫生组织 (WHO) 和联合国粮农组织 (FAO) 已连续发表了 14 部微生物危险性评估的系列报告, 内容涉及到禽肉、即食食品、水、婴儿配方粉、水产品、蔬菜等不同食品基质中的沙门氏菌、单增李斯特菌、阪崎肠杆菌、弧菌、病毒等, 成为指导全球开展相关评估和制定相关标准的权威性技术文件。

与发达国家相比, 我国在此领域起步较晚, 但自 2000 年以来, 先后开展了带壳鸡蛋中沙门氏菌、生食牡蛎中副溶血性弧菌、即食肉制品中单核细胞增生性李斯特菌及婴儿配方粉中阪崎肠杆菌的危险性评估。

3.2.1 带壳鸡蛋中沙门氏菌定量危险性评估 利用中国的资料与信息建立了带壳鲜鸡蛋沙门氏菌定量危险性评估模型, 对中国带壳鲜鸡蛋的沙门氏菌污染情况进行定量评估。模型计算每年以带壳鲜蛋形式被消费的带染鸡蛋数量平均为 2.5×10^8 ($5^{\text{th}} \sim 95^{\text{th}}$ 百分位点值: $1.9 \times 10^6 \sim 1.1 \times 10^9$) 个, 消费前每个污染鸡蛋中的沙门氏菌菌量平均 70 CFU ($5^{\text{th}} \sim 95^{\text{th}}$ 百分位点值: 14 CFU 与 172 CFU)。对我国带壳鲜鸡蛋的沙门氏菌污染引起人群感染的危险性进行定量评估。带壳鲜鸡蛋沙门氏菌定量危险性评估模型模拟了从农场到餐桌由于消费带壳鲜鸡蛋引起沙门氏菌病的危险性。模型计算每年因食用被沙门氏菌污染的带壳鲜鸡蛋而引起沙门氏菌病的人数平均为 5.3×10^7 人 ($5^{\text{th}} \sim 95^{\text{th}}$ 百分位点值: $4.0 \times 10^5 \sim 2.2 \times 10^8$)。通过模型重要参数的改变, 评估了几种降

低危险性措施的效果, 发现控制鲜鸡蛋贮存的温度与时间是影响危险性结果的最重要因素^[21]。

3.2.2 生食牡蛎中副溶血性弧菌定量危险性评估 为模拟生牡蛎消费引起副溶血性弧菌 (*Vibrio parahaemolyticus*, VP) 病的危险性, 在福建省开展了定量微生物危险性评估。评估遵循广泛认可的危险性评估程序。结合暴露评估模块的结果与贝塔-泊松剂量反应模型, 模拟由消费 VP 污染的生牡蛎导致疾病发生的危险性分别是 6.9×10^{-7} (冬)、 1.7×10^{-5} (春)、 5.9×10^{-5} (夏)、 4.6×10^{-6} (秋)。敏感性分析结果表明, 零售期间牡蛎的未冷藏时间、零售带壳牡蛎体 VP 密度的对数值、冷却持续时间和气温等因素, 与疾病发生的危险性显著相关。采取缩短零售期间牡蛎的未冷藏时间、快速冷却、微热处理和冷冻贮存等控制措施, 能够明显降低疾病发生的人数。提出副溶血性弧菌的预防控制策略: 加强对养殖牡蛎中 VP 和致病性 VP 的定量监测, 尤其在气温较高的季节; 养殖牡蛎在收获后应当尽快置于冷藏状态; 消费者在购买牡蛎后, 应当放入冰箱冷藏贮存; 不要生食牡蛎。同时为我国制定相应的危险性管理措施提供了理论依据^[22]。

3.3 食品中微生物指标的设定

二十世纪八十年代, 为配合《中华人民共和国食品卫生法 (试行)》的贯彻落实, 卫生部成立了全国卫生标准技术委员会, 包括食品卫生标准技术分委员会, 至 1998 年底已研制并颁布食品卫生国家标准 236 项, 标准检验方法 227 项, 包括食品中有毒、有害物质及化学污染物的限量标准、食品添加剂使用卫生标准及营养强化剂使用卫生标准、食品容器及包装材料卫生标准、辐照食品卫生标准、食物中毒诊断标准及理化微生物标准检验方法等。2001 年, 卫生部组织对 464 项国家食品卫生标准及其检验方法进行清理审查, 对其中的 1 034 个问题进行了修改和调整, 删除了无卫生学意义的某些指标和规定。然而, 由于微生物检验方法的长期滞后和修订食品中微生物指标的复杂性, 二十多年来, 一直未能启动对食品微生物指标进行系统修订的巨大工程。

随着我国 GB/T4789 的全面修订和食品卫生微生物学检验总则的修订, 近年来对现行食品卫生标准中的微生物指标及限量标准的设定已全面展开。修订的原则分别考虑如下因素: 现行国际标准的规定; 国际微生物危险性评估报告; 国家食源性疾病预防资料; 食品贸易, 以及政府和食品企业的需求。新的食品微生物限量标准统一按国家标准 GB/T4789.1 的规定, 采用 ICMSF 的二级和三级采样方案。

举例:婴儿配方食品标准中微生物指标的设定。

2004年至2007年,CCFH启动加速程序,完成了婴幼儿配方粉卫生操作规范的拟议草案,并于2008年在食品法典大会上以步骤5/8获得通过。其中包括对0-6个月婴儿食用的配方粉规定了阪崎肠杆菌的限量为“ $n\ 30, c\ 0, m\ 0\text{cfu}/10\text{g}$ ”。中国政府代表团积极参加该草案的起草工作组,并支持大会的决定。随后修订我国婴儿配方食品标准时,起草组结合我国市场上同样存在阪崎肠杆菌的危害和造成危险的可能性^[23,24],参考CAC标准增加了控制阪崎肠杆菌的指标和限量规定。

截至2009年5月,先后在我国速冻面、米制品、方便面、矿泉水,以及婴幼儿食品、乳和乳制品的卫生标准修订过程中,采纳了国际通用的ICMSF原则,在保障消费者食品安全和健康的重要原则下,考虑政府监管力度和企业发展的需求,修订、制定和取消了某些微生物指标(如:生制速冻面、米制品中的菌落总数指标)。微生物指标的全面改版修订,是顺应国际潮流,实施食品安全法,助推食品行业发展的重要手段,是我国食品卫生标准发展历史上值得关注的重要改革。

3.4 食源性疾病诊断标准的修订与完善

众所周知,食源性疾病是食品安全保障的重要控制目标,而微生物性病原又是全球公认的主要食源性疾病危害因素。因此,完善我国食源性疾病的病种报告,特别是有针对性地控制微生物性食源性疾病,必须依据科学的食源性疾病诊断标准和处理原则。1994年我国颁布的“食物中毒诊断标准及技术处理总则”仅是原则性指导,缺乏完善、系统的指导功能。特别是缺乏对国际流行的多种微生物性食源性疾病的理论和实践性指导,如我国食源性致病菌的监测结果显示,单增李斯特菌在食品中的污染率很高,但有关单增李斯特菌引起的食源性疾病的报道却很少。这种现象的原因之一是我国目前尚未制订单增李斯特菌病的相关诊断标准,缺乏统一科学尺度。既使临床发现疑似病例,也难以正确诊断和及时报告。其他国际普遍关注的食源性致病菌,如大肠杆菌O157 H7、空肠弯曲菌和阪崎肠杆菌等存在同样的疾病诊断和处理问题。

“十一五”国家科技支撑计划的“重大活动食品安全保障技术研究”的主要研究内容之一是修订国家标准“食物中毒诊断标准及技术处理总则”(GB14938)。借鉴世界卫生组织于2007年颁布的食源性疾病的诊断与调查处理的原则^[25],将修订后的标准名称改为“食源性疾病的判定和处理原则”,在总则中规定了食源性疾病的判定、食源性感染、食物中毒、食源

性疾病的暴发、散发等与国际接轨的科学定义。同时,补充制订了27项各类微生物性食源性疾病、化学性和有毒动植物食物中毒的单项判定标准及处理原则,使该标准扩展为一个食源性疾病的判定与处理的技术性文件,更大程度上满足当前公共卫生事业的需求,为标准的科学性、完整性、实用性和规范性跨上了新的台阶。

4 结语

回顾我国食品卫生微生物的30年历程,基本可归纳为三个“十年”的特色发展阶段,即:第一阶段(1978-1988年):食源性疾病的病因研究及国家标准化方法体系的建立;第二阶段(1988-1998年):分子生物学技术在食品微生物领域的研究应用阶段;第三阶段(1998-2008年):微生物危险性评估、国际标准化与溯源技术的应用。

30年来,伴随着国际食品安全领域和生物学技术领域的发展,我国食品卫生微生物学科也体现了与时俱进的发展,病原菌的检验、鉴定技术由传统的微生物生化鉴定发展到生化、免疫、分子生物学与仪器自动化的多元技术;由单纯的食品卫生学检验和病原菌鉴定,发展到全国范围内食品中食源性致病菌的主动监测;由血清型分型,发展到致病菌的耐药谱分析、分子分型研究;并开展了高危食品中重要微生物危害的危险性评估等。

然而,也必须看到,在食品卫生学科发展中长期存在的科技“瓶颈”问题同样反映在食品卫生微生物学领域。近年来,科技部在“十五”、“十一五”、“973”和“863”等重大科技项目中加大了对食品安全研究的投入,取得了显著的成果。但在食品微生物学科研究的系统规划、研究队伍培养和技术储备方面仍显严重不足。主要表现为:

(1) 食源性微生物危害的某些关键检测、溯源技术尚属空白或不够完善,不能满足食品安全控制的需要,特别是缺乏适用于政府监管、企业自检的灵敏、快速的标准化检测技术,以及非常规检验,应对微生物性突发公共卫生事件而必须储备的技术研究。

(2) 危险性评估技术的应用:危险性评估是国际食品法典委员会强调的用于制定食品安全技术措施的必要科学技术,也是评估食品安全技术措施有效性的重要手段。我国目前所开展的工作仅仅是建立模型的初级阶段,缺乏系统开展微生物危险性评估,特别是技术实力、经费投入和足够开展定量评估的科学数据来源。

(3) 食品安全标准:我国食品安全法颁布后,对

食品安全的法制化管理跃上了新的高度,食品中微生物危害的安全控制也将面临严峻的考验。微生物指标覆盖食品的范围、实施新的采样方案和指标面临的挑战是显而易见的。如何在保障消费者安全和促进企业发展方面做到更恰当的结合,弱化由此可能带来的“矛盾”或不协调,将是标准制订者需要不断研究的课题。

在国家“十一五”科技支撑项目中,正在进一步深入开展重要食源性致病菌的基因组与蛋白质组在微生物标识基因中的应用研究。展望未来的 30 年,中国的食品卫生微生物学研究必将伴随国家公共卫生事业的快速发展,为全球做出更大的贡献。

参考文献

- [1] Food Safety [R/OL]. the 53rd world Health Assembly, 2000. http://www.who.int/entity/food_safety/publications/biotech/WHA53.15.pdf.
- [2] FAO & WHO. Risk assessment of *Salmonella* in eggs and broiler chickens, Technique Report, (Microbiological risk assessment series 2) [R]. Dennis Kunkel Microscopy, Inc, 2002.
- [3] 刘秀梅,陈艳,王晓英,等.我国 1992 - 2001 年食源性疾病发生情况分析[J]. 卫生研究, 2004, 33(6): 725-727.
- [4] 刘秀梅,陈艳,樊永祥,等. 2003 年中国食源性疾病的监测资料分析[J]. 卫生研究, 2006, 35(2): 201-204.
- [5] 陈艳,刘秀梅,樊永祥,等. 2004 年中国食源性疾病的暴发事件监测资料分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2008, 20(06): 503-506.
- [6] 刘秀梅,陈艳,郭云昌,等. 2005 年中国食源性疾病的暴发事件监测资料分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2008, 20(06): 506-509.
- [7] 刘秀梅. 椰毒假单胞菌酵米面亚种食物中毒病原及预防的研究[J]. 医学研究通讯, 1997, 26(12): 10-11.
- [8] LIU Xingjie. Studies on the Epidemiology and Etiology of Moldy Sugarcane Poisoning in China [J]. Biomedical and Environmental Sciences. 1992, 5: 161 - 177.
- [9] 王茂起,刘秀梅,王竹天. 食品污染监测体系的研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2006, 18(6): 491-497.
- [10] Report of the thirty-second session of the Codex Committee on Food Hygiene [R/OL]. Washington DC, USA, 1999. <http://www.codexalimentarius.net>.
- [11] 郭云昌,刘秀梅. 市售鸡肉中沙门菌分离株多重耐药谱测定[J]. 中国食品卫生杂志, 2005, 17(2): 100-103.
- [12] 周正,刘秀梅. 中国食源性鼠伤寒沙门氏菌株耐药谱及 PFGE 分型的研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2007, 19(3): 221-224.
- [13] 杨洋,付萍,郭云昌,等. 2005 年中国食源性单核细胞增生李斯特菌耐药性趋势分析[J]. 卫生研究, 2008, 37(2): 183-186.
- [14] 李燕俊,计融,王玉平,等. 肠炎沙门菌多位点序列分型技术的研究[J]. 卫生研究, 2008, 38(01): 46-49.
- [15] 裴晓燕,郭云昌,刘秀梅. 阪崎肠杆菌脉冲场凝胶电泳分型的研究[J]. 卫生研究, 2008, 37(2): 179-182.
- [16] 刘秀梅,周正,郭云昌. 食源性沙门氏菌分离株自动化核糖体分型的研究[J]. 中国食品学报, 2006, 6(2): 1-5.
- [17] GB4789—84 食品卫生微生物学检验[S]. 北京:中国标准出版社, 1984.
- [18] 孟昭赫. 食品卫生检验方法注解(微生物学部分)[M]. 北京:人民卫生出版社, 1990.
- [19] 中华人民共和国卫生部,中国国家标准化管理委员会. 食品卫生微生物学检验总则[S] GB4789. 1—2008. 北京:中国标准出版社, 2008.
- [20] The Procedural Manual [C/OL]. Codex Alimentarius Commission, 2009. <http://www.codexalimentarius.net>
- [21] 赵志晶,刘秀梅. 中国带壳鸡蛋中沙门氏菌定量危险性评估的初步研究——危害特征的描述与危险性特征的描述[J]. 中国食品卫生杂志, 2004, 16(4): 295-300.
- [22] 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.
- [23] 刘秀梅. 婴儿配方粉中的阪崎肠杆菌——食品安全控制的新目标[J]. 中国食品卫生杂志, 2004, 16(5): 385-388.
- [24] 裴晓燕,刘秀梅. 中国市售配方粉中阪崎肠杆菌和其他肠杆菌的污染状况[J]. 中国食品学报, 2006, 6(5): 6-10.
- [25] World Health Organization. Food-borne disease outbreaks: Guidelines for investigation and control[M]. Geneva: WHO, 2007.

[收稿日期:2009-06-08]

中图分类号:R15;R155.3;R117;TS201.3;TS201.6;Q93

文献标识码:A

文章编号:1004-8456(2009)04-0289-07

广告

书 讯

欢迎购买人民卫生出版社出版的《现代食品卫生学》,由陈炳卿、刘志斌、王茂起 主编,1209 页(174.7 万字),定价 1260.00 元。联系单位:中国疾病预防控制中心营养与食品安全所科技信息室,电话 83132658。

欢迎邮购由中国法制出版社近期出版的《食品安全涉嫌犯罪案件移送指南》,定价 28.00 元。联系方式:河北省邯郸市卫生监督所 张永伟,电话 13313302852。