

论著

生乳中金黄色葡萄球菌污染半定量风险评估研究

刘弘,顾其芳,吴春峰,袁微嘉,秦璐昕,邢之慧

(上海市疾病预防控制中心,上海 200336)

摘要:目的 探索上海市生乳中金黄色葡萄球菌污染的风险。方法 按微生物风险评估的程序,应用半定量风险评估软件(risk ranger)结合流行病学调查和微生物检测等。结果 上海市金黄色葡萄球菌肠毒素性食物中毒列报告的细菌性食物中毒暴发事件第3位;金黄色葡萄球菌肠毒素性食物中毒的严重性中等、全人群易感;4—6月上海市生乳中金黄色葡萄球菌污染率为72.0%,乳及乳制品日均消费量达86.60 g/人;假设生乳在加工前金黄色葡萄球菌超过 10^5 CFU/g的概率为1/1 000,则每人每天因食用污染金黄色葡萄球菌污染乳及乳制品引起食物中毒的概率为 2.5×10^{-7} ,每年因金黄色葡萄球菌污染乳及乳制品食物中毒病例数862人,风险等级49。结论 上海市生乳中金黄色葡萄球菌污染的风险程度属于中等,需加强监管。

关键词:生乳;金黄色葡萄球菌;肠毒素;半定量风险评估;食品安全

中图分类号:R155.31; R155.55 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2011)04-0293-04

Semi-quantitative risk assessment for *Staphylococcus aureus* in raw milk

Liu Hong, Gu Qifang, Wu Chunfeng, Yuan Weijia, Qin Luxin, Xing Zhihui

(Shanghai Municipal Center for Disease Control & Prevention, Shanghai 200336, China)

Abstract: Objective To evaluate the risk of *Staphylococcus aureus* in raw milk in Shanghai by semi-quantitative risk assessment. **Methods** Based on the basic procedure of microbial risk assessment, a semi-quantitative risk assessment software (risk ranger) combining with epidemiological survey and microbial tests was applied. **Results** The reported outbreaks of foodborne poisoning caused by staphylococcal intoxication were the third of important bacterial food poisoning accidents in Shanghai. Staphylococcal intoxication is moderate hazard and susceptible for all populations. The contamination rate of *Staphylococcus aureus* in raw milk was 72.0% in Shanghai. The average consumption of milk and milk products was 86.60 grams per person per day. If the probability of contamination was one thousandth, the CFU of *Staphylococcus aureus* in raw milk would be more than 10^5 per gram of raw milk before processing, the probability of food poisoning per day per consumer of interest would be 2.5×10^{-7} , the total predicted food poisoning per annum in population of interest would be 862 and the risk ranking was 49. **Conclusion** Because the risk of *Staphylococcus aureus* contaminated in raw milk in Shanghai was in moderate hazard, the supervision and management of raw milk and milk products should be improved.

Key words: Raw milk; *Staphylococcus aureus*; enterotoxin; semi-quantitative risk assessment; food safety

生乳的微生物污染一直是人们关注的食品安全问题,在所有的微生物污染中又以金黄色葡萄球菌污染最为突出,因为生乳极易受乳牛乳腺炎、环境、器具、操作人员所带的金黄色葡萄球菌污染,且生乳中金黄色葡萄球菌污染、繁殖达到一定量就会产生肠毒素,而肠毒素不能被一般的乳制品巴氏杀菌温度所破坏,人一旦食用后很容易造成食物中毒^[1-4]。2000年,日本最大的乳品企业“雪印乳品厂”就因为牛乳金黄色葡萄球菌污染导致食物中毒暴发而倒闭^[5]。国内外金黄色葡萄球菌肠毒素引

起的食物中毒暴发每年都有发生^[6,7]。因此有必要对容易受金黄色葡萄球菌污染的生乳进行风险评估。

早期的微生物风险评估受到信息和技术的限制,只能停留在定性阶段。近年来,预测微生物学及其数学模型研究的进步为微生物定量风险评估提供了途径和手段,但由于资料、研究的缺乏,目前只能做半定量的微生物风险评估^[8,9]。国内外已有一些生乳金黄色葡萄球菌定性定量风险评估的探索性研究^[10-14],但生乳金黄色葡萄球菌半定量风险评估研究还较少。本研究按微生物风险评估的基本程序,应用半定量风险评估软件(risk ranger),对上海市生乳污染金黄色葡萄球菌情况进行半定量

收稿日期:2010-07-21

作者简介:刘弘 男 主任医师 研究方向为营养与食品卫生

E-mail: hliu@sedc.sh.cn

风险评估,为生乳金黄色葡萄球菌污染的风险管理提供依据,为今后这方面研究提供适合的模式。

1 材料与方法

1.1 材料

国内外相关文献[10-21],1998—2002 年美国食源性疾病暴发监测[22]、1992—2001 年中国食源性疾病监测网食源性疾病发生情况分析[23]、1990—2000 年上海市食物中毒暴发事件被动报告[24]、《2009 年上海市统计年鉴》,上海市疾病预防控制中心 2008—2009 年食源性致病菌监测资料及 2002 年全国居民营养与健康状况上海地区调查资料。

1.2 评估步骤

结合生乳中金黄色葡萄球菌污染半定量风险评估的特点,根据 WHO/FAO 所属国际食品法典委员会(CAC)建议的 4 个步骤[25]进行,见图 1。

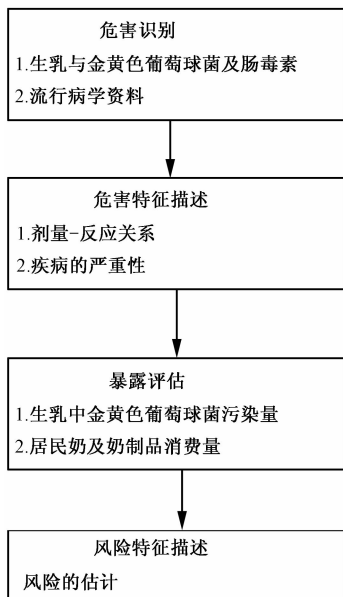


图 1 微生物食品安全风险评估的流程

Figure 1 The process of microbial food safety assessment

1.3 评估软件

澳大利亚“risk ranger”半定量风险评估软件,按风险评估流程,采用 Excel 电子表编制。电子表中有 11 个有关食品污染风险评估的等级问题,用 1~100 表示食品污染风险等级大小,应用时需根据文献、有关调查研究,回答这 11 个问题,从而得到食品污染风险的等级及特征[26]。

1.4 评估方法

危害识别:采用文献查询、食物中毒暴发事件资料收集、分析;危害特征描述、暴露评估、风险特征描述:以国际上普遍认同的金黄色葡萄球菌 $\geq 10^5$ CFU/g 即产生肠毒素作为发生食物中毒的阈值标

准[27,28],按 Sumner 和 Ross[26]介绍的方法,根据文献、资料结合采样检测、流行病学调查结果,设定微生物半定量风险评估软件 risk ranger 的 11 个项目的参数等级,进行风险评估。

2 结果

2.1 危害识别

金黄色葡萄球菌为革兰氏阳性菌,需氧或兼性厌氧,最佳生长温度为 35~40℃,产肠毒素温度为 10~48℃,生长所需 pH 值为 4.0~10.0,产肠毒素 pH 值为 4.5~9.6,肠毒素可以在缺氧及有氧条件下产生,有氧条件下产生量最多。由于金黄色葡萄球菌广泛存在于自然界中,是引起乳牛乳房炎的主要细菌,因此其是生乳中常见的致病菌[10-14]。

1998—2002 年美国食源性疾病暴发监测、1992—2001 年中国食源性疾病监测、1990—2000 年上海市食物中毒暴发事件被动报告结果显示,金黄色葡萄球菌肠毒素性食物中毒在美国、中国均位列报告的细菌性食物中毒暴发事件第 4 位,上海市则位居第 3 位[20-24]。

2.2 危害特征描述

肠毒素耐热性强,100℃ 30 min 仍可保持部分活性,100℃ 2 h 才能被破坏。国际上一般认为金黄色葡萄球菌 $\geq 10^5$ CFU/g 就会产生肠毒素,产毒浓度 0.1~1.0 μg/kg 为中毒阈值[10],但仍缺乏金黄色葡萄球菌及其肠毒素的剂量-反应关系[11]。金黄色葡萄球菌可引起化脓性病灶和败血症,摄入含有葡萄球菌肠毒素的食物可以引起食物中毒,潜伏期 0.5~6 h、一般约 2~3 h,发病症状以恶心、剧烈反复呕吐为主,可伴有上腹痛及腹泻,体温一般不高,病程短,1~2 d 即可恢复。

生乳中金黄色葡萄球菌超过 10^5 CFU/g 会产生肠毒素,发生金黄色葡萄球菌肠毒素食物中毒,严重性中等、全人群普遍易感,见表 1。

表 1 Risk ranger-生乳中金黄色葡萄球菌肠毒素污染的易感性、严重性

项目	参数等级	依据
1. 危害严重性	中等危害:多数人需要治疗	FSANZ ^[12]
2. 易感人群	全部:全人群每位消费成员	FSANZ ^[12]

2.3 暴露评估

2.3.1 生乳中金黄色葡萄球菌污染量

生乳中金黄色葡萄球菌的污染情况可根据生产环境条件、季节温度等不同而不同。据 2008 年全国食源性疾病监测网中 21 个省/直辖市致病菌监测结果显示,556 份生乳样品中金黄色葡萄球菌阳性样品为 122 份,污染率为 21.9%;另根据文献[14-

19]计算出平均污染率为 22.3%。

2008—2009 年上海市食源性致病菌监测,在 4—6 月对收购阶段的生乳按国家标准进行金黄色葡萄球菌采样检测,总体污染率较高,但金黄色葡萄球菌量均未超过 10^5 CFU/g,见表 2。

表 2 2008—2009 年上海市生乳金黄色葡萄球菌污染情况
Table 2 Proportion of *Staphylococcus aureus* contaminated in raw milk in Shanghai in 2008 — 2009

样品数	定性		定量[菌落对数 log CFU/g(ml)]		
	阳性数	污染率(%)	\bar{x}	s	P90
50	36	72.0	1.88	0.84	2.85

2.3.2 居民乳及乳制品消费量

根据 2002 年全国居民营养与健康状况上海地区调查,50% 的人食用乳及乳制品,每周食用频次 3~4 次(见表 3),人均乳及乳制品日消费量达 86.60 g,但标准差非常大,达 121.74 g,P90 为 258.0 g。

表 4 Risk ranger-乳及乳制品污染金黄色葡萄球菌肠毒素的可能性
Table 4 Probability of staphylococcal intoxication contaminated in milk and milk products

项目	参数等级	依据
6. 每份生乳中污染的可能性	其他:1/1000	国外评估报告 ^[11]
7. 加工的作用	对危害无效	危害特征
8. 加工后再污染	不:没有可能	乳制品一般为包装产品
9. 加工后的控制系统有效性	不相关:对危害无影响	危害特征
10. 生乳中污染增加多少可造成中毒	其他:1000 倍	监测结合危害特征分析
11. 食用前烹调处理的有效性	烹调处理对危害无效	危害特征

2.4 风险特征描述

如果生乳在加工前金黄色葡萄球菌超过 10^5 CFU/g 的概率为 1/1 000,采用 risk ranger 对上海市生乳金黄色葡萄球菌污染风险进行评估,每人每天因食用污染金黄色葡萄球菌污染乳及乳制品引起食物中毒的概率为 2.5×10^{-7} ,每年因金黄色葡萄球菌污染乳及乳制品食物中毒病例数 862 人,风险等级 49。调整 risk ranger 各参数等级,并分析可能调整的参数等级,以“每份生乳中污染的可能性”、“生乳中污染增加多少可造成中毒”2 项指标比较敏感。

3 讨论

3.1 研究的技术路线

本研究的危害识别引用了权威的文献及报告;危害特征描述仍然缺乏剂量-反应关系;暴露评估部分采用了生乳金黄色葡萄球菌污染量,一方面由于乳及乳制品中很少能检测出金黄色葡萄球菌,直接检测肠毒素更是不易,另一方面是由于虽然生乳一般不直接食用,且生乳金黄色葡萄球菌污染量不代

表 3 Risk ranger-上海市居民乳及乳制品消费量

Table 3 Consumption of milk and milk products of Shanghai residents

项目	参数等级	依据
3. 消费频次	其他:每周 4 天	2002 年全国居民营养与健康状况上海地区调查
4. 消费人群比例	多数:50%	2002 年全国居民营养与健康状况上海地区调查
5. 总人群大小	其他:1888.46 万	2009 年上海市统计年鉴

2.3.3 乳及乳制品污染金黄色葡萄球菌肠毒素的可能性评估

根据国外有关文献模拟产乳、收购、储存、运输的条件,预测生乳在加工前金黄色葡萄球菌超过 10^5 CFU/g 的概率为 1/10 000 ~ 1/1 000^[11]。假设生乳在加工前金黄色葡萄球菌超过 10^5 CFU/g 的概率为 1/1 000,对乳及乳制品污染金黄色葡萄球菌肠毒素的可能性进行评估,结果见表 4。

表消费者直接食用的乳及乳制品金黄色葡萄球菌污染量,但如果在加工之前生乳中金黄色葡萄球菌量超过 10^5 CFU/g 就会产生肠毒素,而肠毒素不能被普通的巴氏杀菌所破坏,还是会造成食物中毒;风险特征描述在国外生乳金黄色葡萄球菌预测的基础上,计算了发生食物中毒的概率和等级,并摸索了控制措施的敏感性。

3.2 存在问题

生乳中金黄色葡萄球菌污染风险评估关键在于产乳、收购、储存、运输到加工这段时间生乳中金黄色葡萄球菌的量是否会超过 10^5 CFU/g 这一阈值。上海市对生乳的监测基本是在 4—6 月的收购阶段,金黄色葡萄球菌污染率 72.0%,比较严重,如果采用国内外生乳金黄色葡萄球菌生长预测模型预测^[11,29],若在夏季储存不当,金黄色葡萄球菌的量很可能超过 10^5 CFU/g,这方面有待进一步研究。

3.3 局限性

微生物半定量风险评估主要有定性、定量的方法。定性的方法比较简单,有时不能较好地说明问题;定量的方法比较复杂,需要花费较大人力、物力及

时间,广泛地应用数学模型,但由于科学发展的局限性,仍有相当大的不确定性,与实际情况相差很大^[30];半定量的方法介于两者之间,近年随着一些评估应用软件,如:美国的 risk ranking tool (RRT)、澳大利亚的 risk ranger、荷兰的 swift quantitative microbiological risk assessment (sQMRA) 等的开发^[28,31-32],半定量的方法被广泛应用于食品安全风险评估领域,主要作用是比较不同微生物、不同产品甚至是不同控制措施的相对风险,但在其评估某一种微生物的绝对风险时,存在很大的不确定性。

3.4 建议

应进一步加强生乳从产乳、收购、储存、运输到加工各环节的管理,重点改善环境、控制温度,以减少金黄色葡萄球菌的污染、延缓繁殖;同时监管部门在开展生乳中金黄色葡萄球菌风险监测时,也适当进行生乳中金黄色葡萄球菌肠毒素的检测。开发国内的微生物半定量风险评估软件,提供食品安全风险评估工具。

参考文献

- [1] 侯永新. 乳及乳制品中食源性致病菌危害及对策[J]. 食品研究与开发, 2006, 27(2): 194-196.
- [2] 闫军, 许晓曦, 张海瑞. 原料乳中特征病原菌风险评估基础研究[J]. 食品工业科技, 2008, 29(4): 299-310.
- [3] 范江平, 毛华明. 原料奶生产微生物污染途径分析[J]. 中国乳业, 2006(8): 34.
- [4] 李毅. 金黄色葡萄球菌及其肠毒素研究进展[J]. 中国卫生检验杂志, 2004, 14(4): 392-395.
- [5] 王大军. 日本食品安全神话的破灭: 雪印牛奶骚动始末[J]. 中国经贸导刊, 2000, 14: 41.
- [6] LOIR Y L, BARON F, GAUTIER M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning [J]. Genetics and Molecular Research, 2003, 2(1): 63-76.
- [7] MEAD P S, SLUTSKER L, DIETZ V, et al. Food-related illness and death in the United States [J]. Emerg Infect Dis, 1999, 5(5): 611.
- [8] 刘弘. 食品安全危险性分析的原理及应用[J]. 上海预防医学, 2002, 14(3): 147-148.
- [9] 李寿崧, 宁芊. 食品微生物定量风险评估研究现状、基本框架及其发展趋势[J]. 中国食品学报, 2007, 7(3): 86-89.
- [10] ICMSF. Microorganisms in food 5: microbiological specifications of food pathogens [R]. London: Blackie Academic and Professional, 1996: 426-435.
- [11] HEIDINGER J C, WINTECK, CULLOR J S. Quantitative microbial risk assessment for *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus enterotoxin A* in raw milk [J]. J Food Protect, 2009, 72(8): 1641-1653.
- [12] Food Standards Australia New Zealand. Microbiological risk assessment of raw cow milk [R]. FSANZ: Risk Assessment Microbiology Section, 2009, 12: 5-42.
- [13] MIN-JEONG R, SCHAFFNER D W. Microbial risk assessment of staphylococcal food poisoning in Korean kimbab [J]. Int J Food Microbiol, 2007, 116: 332-338.
- [14] 闫军, 遇晓杰, 苏华, 等. 原料乳中金黄色葡萄球菌风险评估基础研究[J]. 中国公共卫生, 2010, 26(1): 39-40.
- [15] 刘钰. 牛乳中金黄色葡萄球菌等四种致病菌的监测分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2003, 13(1): 88.
- [16] 徐勤, 巢国祥. 生牛奶中金黄色葡萄球菌污染状况及耐药性研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2005, 15(8): 972-973.
- [17] 林柏玲, 庞广昌, 范莹. 津沪地区原料奶中金黄色葡萄球菌的污染情况研究[J]. 食品科学, 2006, 27(11): 462-465.
- [18] 杨红, 刘桂华, 龚云伟, 等. 食品中金黄色葡萄球菌的污染状况及检测方法[J]. 中国卫生工程学, 2006, 5(2): 107-108.
- [19] 赵越, 庞广昌. 中南和东北地区原料奶中金黄色葡萄球菌的调查[J]. 食品科学, 2009, 30(18): 285-287.
- [20] 柳旭伟, 葛文霞. 金黄色葡萄球菌肠毒素[J]. 微生物学杂志, 2008, 28(5): 86-89.
- [21] 张严峻, 张俊彦, 梅玲玲. 金黄色葡萄球菌肠毒素基因的分型和分布[J]. 中国卫生检验杂志, 2005, 15(6): 682-684.
- [22] LYNCH M, PAINTER J, WOODRUFF R, et al. Surveillance for food-borne disease outbreaks United States, 1998 - 2002 [J]. MMWR, 2006, 55(S10): 1-34.
- [23] 刘秀梅, 陈艳, 王晓英, 等. 我国 1992 年 - 2001 年食源性疾病发生情况分析—国家食源性疾病预防网[J]. 卫生研究, 2004, 33(6): 725-726.
- [24] 刘弘. 上海市 1990-2000 年集体性食物中毒分析[J]. 中国自然医学杂志, 2003, 5(1): 17-20.
- [25] WHO/FAO. 食品安全风险分析 [M]. 樊永祥, 译. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 31.
- [26] SUMNER J, ROSS T. A semi-quantitative seafood safety risk assessment [J]. Int J Food Microbiol, 2002, 77: 55-59.
- [27] TODD E. International association for food protection. Procedure to investigate food-borne disease [M]. 5th ed. IAFP, 2007: 13.
- [28] STEWART C M, COLE M B, LEGAN J D, et al. Modeling the growth boundary of *Staphylococcus aureus* for risk assessment Purposes [J]. J Food Protect, 2001, 64(1): 51-57.
- [29] 闫军, 许晓曦, 汤岩. 原料乳中金黄色葡萄球菌生长预测模型的研究[J]. 中国乳品工业, 2008, 36(11): 11-13.
- [30] 陈艳, 刘秀梅. 食源性致病菌定量风险评估的实例[J]. 中国食品卫生杂志, 2008, 20(4): 336-340.
- [31] EVERS E G, CHARDON J E. A swift quantitative microbiological risk assessment (sQMRA) tool [J]. Food Control, 21(3): 319-330.
- [32] U. S. Food and Drug Administration. Risk ranking tool user's guide [R]. Maryland: USFDA, 2009: 1-18.