

微生物风险评估系列丛书

16

ISSN 1726-5774

海鲜中副溶血性弧菌的 风险评估

解释性总结及技术报告



 中国农业出版社



世界
卫生
组织



联合国
粮食及
农业组织

微生物风险评估系列丛书 16

海鲜中副溶血性弧菌的 风险评估

解释性总结及技术报告

翻译 李秀峰 岳 昊 艾红波 卢文林
刘家益 陈首合 郑 珂 孙志国
郭雷风
审校 岳 昊 李秀峰 艾红波 孙志国

中国农业出版社
世界卫生组织
联合国粮食及农业组织
2014·北京

本出版物原版为英文，即 *Risk assessment of Vibrio parahaemolyticus spp. in seafoods*，由联合国粮食及农业组织（粮农组织）和世界卫生组织（世卫组织）于 2011 年出版。此中文翻译由中国农业科学院农业信息研究所安排并对翻译的准确性及质量负全部责任。如有出入，应以英文原版为准。

本信息产品中使用的名称和介绍的材料，并不意味着粮农组织或世卫组织对任何国家、领地、城市、地区或其当局的法律或发展状态、或对其国界或边界的划分表示任何意见。提及具体的公司或厂商产品，无论是否含有专利，并不意味着这些公司或产品得到粮农组织或世卫组织的认可或推荐，优于未提及的其他类似公司或产品。

本出版物中陈述的观点是作者的观点，不一定反映粮农组织或世卫组织的观点或政策。

ISBN 978-92-5-506874-4

© 粮农组织/世卫组织 2014 年（中文版）

© 粮农组织/世卫组织 2011 年（英文版）

粮农组织鼓励对本信息产品中的材料进行使用、复制和传播。除非另有说明，可拷贝、下载和打印材料，供个人学习、研究和教学所用，或供非商业性产品或服务所用，但必须恰当地说明粮农组织为信息来源及版权所有，且不得以任何方式暗示粮农组织认可用户的观点、产品或服务。

所有关于翻译权、改编权以及转售权和其他商业性使用权的申请，应递交至 www.fao.org/contact-us/licence-request 或 copyright@fao.org。

粮农组织信息产品可在粮农组织网站（www.fao.org/publications）获得并通过 publications-sales@fao.org 购买。

联合国粮食及农业组织 (FAO)
中文出版计划丛书
译 审 委 员 会

主 任 童玉娥

副主任 罗 鸣 蔺惠芳 宋 毅 孟宪学

编 委 赵立军 张蕙杰 刘爱芳 徐 晖

徐 猛 钱 钰 张 巍 田 晓

傅永东 郑 君

【 前 言 】

联合国粮食及农业组织的成员（FAO）和世界卫生组织（WHO）对有关国家和国际层面的食品安全水平表现出高度关注。在过去的几十年里，似乎在许多国家食源性疾病的发病率增加，与此相关食品微生物引起的疾病的增加。这一忧虑已经促成了两个领导机构会议组织以及食品法典委员会。确定致病率的增加是否是真实的还是一个在其他领域假象的变化并不容易，如改善疾病监测或更好的方法检测微生物食品。然而，重要的问题是修订和完善的新工具或行动是否可以促进我们的能力，降低疾病负担，并提供更安全的食物。幸运的是，新的工具，可以更便捷地采取行动，并且正在研发阶段。

在过去的 10 年中，风险分析的过程，包括风险评估、风险管理和风险交流，已经成为一个改善我们的食品控制系统结构化的模型，目标是生产安全食品，减少食源性疾病的数量，并促进国内和国际食品贸易。此外，我们正朝着一个更全面食品安全的方向前进，生产更安全的食物需要考虑整个食物链。与任何模型相似，需要工具实施风险分析范式。

风险评估是基于科学的风险分析组件。当今的科学为我们提供了生活方面的深度信息。它允许我们对微生物，他们的成长，生存和死亡，甚至他们的基因构成积累丰富的知识。它让我们了解了食品生产、加工和保存，以及微观和宏观世界之间的联系，以及如何可以从这些微生物体中受益。风险评估，为我们提供了一个组织所有这些数据和信息，更好地了解微生物，食品和人类疾病之间关系的框架。它让我们具有估计特定食品中的微生物对人类健康的风险的能力并提供工具，使我们可以比较和评估不同的方案，以及识别必要的数据类型以用于估计和优化缓解的干预措施。

微生物风险评估可以被认为是在食源性致病菌方面的工具，及拟订的风险管理在国际贸易中的食品标准。然而，进行微生物风险评估（MRA），特别是定量 MRA，需要多学科的方法。然而，食源性疾病是其中最为普遍的公共

健康问题，引起社会和经济负担以及人类的苦难，使所有国家都需要关注。风险评估也可以用来证明进口食品需要引入更严格的标准，MRA 知识对于贸易也是重要的，有必要向各国提供了解渠道，如果可能的话，实施 MRA。结合国际食品法典委员会的科学咨询意见，这方面的需要促使粮农组织和世卫组织进行在国际层面的 MRA 活动方案。FAO 营养及消费者保护司，和世卫组织的食品安全与人畜共患病部，是对这一倡议的牵头单位。这两个工作组已经开展并合作开发国际层次 MRA 在国家和国际层面的应用。

来自世界各地的不同专业的研究人员，如微生物学、流行病学、数学建模和少量食品技术，已经大大促进了这项工作的开展。这种微生物风险评估系列为需要理解和实施 MRA 的人提供了一系列的数据和信息。它包括风险评估特定病原体商品组合，风险评估的解释，实施和使用风险评估的指导方针和 MRA 方面其他相关报告。

我们希望这一系列将为 MRA 提供一个更广阔的视野，包括其实施模式和使用方法。我们坚信，这是一个应在国际领域开展的工作，从目前的工作迹象明确表明，国际方法和早期协议区将加强在世界各地利用这个工具的未来潜力，以及国际标准制定。我们欢迎大家的意见和这个系列内的任何文件的意见，使我们能够努力提供会员、国际食品法典委员会和其他用户信息，他们在用风险评估工具时需要这些信息，最终目标确保食品对于所有消费者是安全的。

Mr Samuel C. Jutzi

主管

营养及消费者保护司

联合国粮农组织

Dr M. Maged Younes

主任

食品安全与人畜共患病部

世界卫生组织

【 致 谢 】

联合国粮食及农业组织和世界卫生组织向所有那些为编制本报告做出贡献的专家深表感谢。特别感谢副溶血性弧菌风险评估起草小组。我们对第 II 部分——泥蚶的编写人员表达最深的谢意，尤其泰国宋卡王子大学医学院科学系 Varaporn Vuddhakul 博士的团队及医药系 Sineenart Kalnauwakul 博士的团队。另有很多人花费大量时间利用专业知识审查本报告并提出了意见、数据及相关信息。风险评估起草小组和评审人员名单见下页。

同时还要感谢对联合国粮农组织和世界卫生组织索要数据而做出积极回应的人们，并且促使关注数据的角度不局限于主流文献和官方文件。

微生物风险评估专家会议 (JEMRA) 秘书处负责协调风险评估工作。包括联合国粮农组织 Sarah Cahill, Maria de Lourdes Costarrica 和 Jean-Louis Jouve (2001—2004)，以及世界卫生组织的 Peter Karim Ben Embarek, Jocelyne Rocourt (2001—2004)，Hajime Toyofuku (1999—2004)，Jorgen Schlundt (2000—2010) 和 Kazuko Fukushima 等人。在风险评估研究阶段，来自联合国粮农组织渔业发展部的 Lahsen Ababouch, Henri Loreal, Hector Lupin 和 Iddya Karunasagar 及国际食品法典委员会秘书处的 Jeronimas Maskeliunas 提供了更多的支持和反馈。Sarah Cahill 负责协调定稿和出版报告。Thorgeir Lawrence 负责编辑报告语言及印刷。

本报告的筹备工作及出版由联合国粮农组织营养及消费者保护司、联合国粮农组织渔业及水产养殖部及世界卫生组织食品安全与人畜共患病部支持及资助。

【风险评估起草小组】

John BOWERS	美国食品药品监督管理局健康与人类服务部
Anders DALSGAARD	丹麦皇家兽医及农业大学兽医微生物学部
Angelo DEPAOLA	美国食品药品监督管理局海鲜办公室
Indriani KARUNASAGAR	印度农业科技大学渔业微生物学部
Thomas MCMEEKIN	澳大利亚塔萨马尼亚大学食品安全研究中心
Mitsuaki NISHIBUCHI	日本东京大学东南亚研究中心
Ken OSAKA	日本卫生劳工部国际传染病研究所
John SUMNER	澳大利亚 M&S 食品咨询公司
Mark WALDERHAUG	美国食品药品监督管理局生物评估及研究中心

【评审专家(专家评议会的参与人员)】

Awa Kane AIARA	塞内加尔达喀尔巴斯德研究所微生物实验室
Nourredine BOUHRITI	Department d'Hygiène et d'Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale, Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, Morocco
Bjarke Bak CHRISTENSEN	丹麦兽医食品局
John COWDEN	英国传染病及环境健康苏格兰中心
Louis Anthony	美国 COX 合作人
Aamir FAZIL	加拿大人口及环境健康分部
Heriberto FERNÁNDEZ	智利奥斯达拉尔大学微生物学院
Jean-Michel FOURNIER	法国巴斯德研究所霍乱弧菌研究中心
Marja-Liisa HANINEN	芬兰赫尔辛基大学兽医药系食品与环境卫 生部
Emma HARTNETT	英国惠桥风险研究、兽医研究室
Tom HUMPHREY	英国布里斯托尔大学兽医科学部
Susana María DE LOS MILAGROS JIMÉNEZ	阿根廷德尔滨海国立大学微生物部
Anna LAMMERDING	加拿大人口及环境健康分部
Ron LEE	英国环境渔业水产中心实验室, 韦茅斯, 英国
Carlos LIMA DOS SANTOS	巴西私人顾问
Dorothy-Jean MCCOUBREY	新西兰农林部
Geoffrey MEAD	英国私人顾问
Paul MEAD	美国疾病预防控制中心食品源及腹泻疾病 分部
Marianne MILIOTIS	美国食品安全与应用营养中心食品药品局

Noel MURRAY	新西兰农林部生物安全局
George NASINYAMA	乌干达马凯雷雷大学兽医药系流行病与食品安全部
Maarten NAUTA	荷兰国家公共健康与环境研究院 (RIVM)
Diane G. NEWELL	英国兽医实验所 (惠桥)
Mitsuaki NISHIBUCHI	日本东京大学东南亚研究中心
Servé NOTERMANS	荷兰应用科学组织营养与食物研究院
Greg PAOLI	加拿大风险决策咨询有限公司
Pensri RODMA	泰国公众健康部医药科学处
Hanne ROSENQUIST	丹麦兽医食品局
Sasitorn KANARAT	泰国牲畜发展处兽医公众健康实验室
Mark TAMPLIN	澳大利亚塔萨马尼亚大学食品安全研究中心
Paul VANDERLINDE	澳大利亚食品科学中心
Henrik WEGENER	丹麦动物研究中心兽医实验室
Shigeki YAMAMOTO	日本卫生劳工部国际传染病研究所

【同行评议专家】

Swapan K. BANERJEE

Enrico BUENAVENTURA

Phil BUSBY

Ben DAUGHTRY

Dalia dos PRAZERES

RODRIGUES

Romilio T. ESPEJO

William R. JONES

CFSAN/USFDA

Ron LEE

Thomas MADIGAN

Dorothy-Jean MCCOUBREY

Mitsuaki NISHIBUCHI

Andrew POINTON

Marie-Laure QUILICI

T. RAMAMURTHY

Rachel RANGDALE

Alan REILLY

Son RADU

Irma Nelly GUTIERREZ

RIVERA

加拿大渥太华健康加拿大食品董事会

加拿大渥太华食品安全董事会加拿大食品检验机构

新西兰食品安全局，惠灵顿，新西兰

南澳研究发展院，阿德莱德，澳大利亚

巴西奥斯瓦尔多克里斯学院

智利大学营养食品学院

食品安全办公室海洋食品安全处，华盛顿，美国

英国环境渔业水产中心实验室，韦茅斯，英国

南澳研究发展院，阿德莱德，澳大利亚

新西兰食品安全局，奥克兰，新西兰

日本东京大学东南亚研究中心

南澳研究发展院，阿德莱德，澳大利亚

法国巴斯德研究所霍乱弧菌研究中心

国家霍乱腹泻病研究院，加尔各答，印度

英国环境渔业水产中心实验室，韦茅斯，英国

爱尔兰食品安全局，都柏林，爱尔兰

马来西亚波特拉大学食品科学部，西岭，雪兰莪洲，马来西亚

巴西圣保罗大学

Tom ROSS	澳大利亚食品安全中心，霍巴特，塔斯马尼亚，澳大利亚
Md. SIRAJUL ISLAM	国际腹泻病研究中心，孟加拉
Mark TAMPLIN	澳大利亚食品安全中心，霍巴特，塔斯马尼亚，澳大利亚
Donald SCHAFFNER	美国罗格斯大学
Connor THOMAS	澳大利亚阿德莱德大学分子生物与生化科学学院，阿德莱德，南澳，澳大利亚
Kaye WACHSMUTH	国际公众健康顾问，迪兰市，佛罗里达州，美国

【缩略语】

CCFH	食品卫生法规委员会
CDC	疾病控制预防中心 [美国]
Cefas	环境、渔业及水生物研究中心 [英国]
cfu	菌落形成单位
CI	置信区间
FDA	食品药品监督管理局 [美国]
FDA - VPRA	《生食软体贝类副溶血性弧菌公共卫生影响的风险评估草案》 [美国食品药品监督管理局]
g	克
GCSL	美国食品药品监督管理局墨西哥湾海产食品实验室，多芬岛
GS - PCR	类属特异性聚合酶链反应
h	小时
HGMF	疏水网格滤膜法
ISSC	贝类环境卫生州际委员会 [美国]
KP+	神奈川阳性株
min	分钟
mL	毫升
MLE	最大似然估计
MPN	最大可能数
NBDC	国家浮标数据中心 [美国]
NOAA	国家海洋和大气管理局 [美国]
NSSP	国家贝类卫生计划 [美国]
NSW	新南威尔士州 [澳大利亚]
PAC	聚合氯化铝
PCR	聚合酶链式反应

PFGE	脉冲场凝胶电泳
ppt	千分之
TDH	耐热直接溶血素
tdh	耐热直接溶血素基因
TRH	耐热直接溶血素相关溶血素
trh	耐热直接溶血素相关溶血素基因
VBNC	活的非可培养状

【 目 录 】

前言	v
致谢	vii
风险评估起草小组	viii
评审专家（专家评议会的参与人员）	ix
同行评议专家	xi
缩略语	xiii

解 释 性 总 结

引言	3
研究目的	3
研究约束	3
危险识别	4
接触评估	6
对生蚝的接触评估	6
泥蚶的接触评估	7
马鲛鱼的接触评估	7
危害特征	8
风险表征	9
生蚝	9
泥蚶	10
马鲛鱼	11
为牡蛎中副溶血性弧菌数量设定限制	11
用分析评估工具通告企业加工体制	12
风险评估的主要结果	12
生蚝的风险评估	12
泥蚶的风险评估	13

马鲛鱼风险评估	13
缺乏的数据.....	13
影响牡蛎中副溶血性弧菌风险评估和管理的当前及未来问题	14
参考文献	17

技 术 报 告

第一部分 生蚝中副溶血性弧菌的微生物学风险管理

引言和研究范围	25
研究目的.....	25
研究面临的约束	25
I - 1 危险识别	25
I - 1.1 人类发病率	25
I - 1.2 涉及的食物	26
I - 2 接触评估	27
I - 2.1 微生物生态学	27
I - 2.2 副溶血性弧菌生长和存活特征	28
I - 2.3 副溶血性弧菌在水、沉淀物和贝类中的存活情况	31
I - 2.4 食用牡蛎.....	32
I - 2.5 副溶血性弧菌接触评估建模	32
I - 2.6 捕获模块.....	35
I - 2.7 收获之后.....	47
I - 2.8 消费时的情况	53
I - 2.9 缓解策略.....	54
I - 3 危害特征	54
I - 3.1 关于病原体、宿主和食品基质因素的描述，它们如何影响疾病的结果	54
I - 3.2 公共卫生成果	58
I - 3.3 生物学上最后要点建模的理论说明	59
I - 3.4 剂量-反应关系	61

I-4	风险表征描述	63
I-4.1	在所研究的国家中从消费的牡蛎预测疾病	63
I-4.2	预测监测结果和漏报因素	67
I-5	建立牡蛎中副溶血性弧菌限值的影响	68
I-5.1	注意事项	69
I-6	讨论与结论	69
I-6.1	风险评估的主要成果	70
I-6.2	缺失的数据	70
I-7	影响牡蛎中副溶血性弧菌的风险评估和管理的当前和未来之问题	71
I-8	第一部分—牡蛎：参考文献	74
附录 I-1	牡蛎中副溶血性弧菌水平确定限值中存在不符合问题的影响	86

**第二部分 泥蚶中副溶血性弧菌的微生物学风险评估两个模型的对比：
“农场到餐桌”与“部分变化模型”**

II-1	简介	91
II-2	范围	91
II-3	危害鉴定	91
II-4	可用数据	93
II-4.1	相关的食物	93
II-4.2	副溶血性弧菌的患病率	95
II-4.3	在捕获及零售阶段总的副溶血性弧菌和致病性弧菌的浓度	97
II-4.4	在运输过程中从收获到零售、从零售到烹饪过程中的生长	97
II-4.5	食用处理阶段	98
II-4.6	泥蚶的消耗	98
II-4.7	剂量反应数据	99
II-4.8	可用数据的总结	100

II-5	利用现有数据可能建造的模型及可能解决的问题	100
II-5.1	农场-餐桌类型模型	101
II-5.2	由于贝类处理的变化导致人类病例中副溶血性弧菌分数减少的估计	101
II-6	农场-餐桌类型模型	102
II-6.1	泥蚶中有毒性副溶血性弧菌的比例 (tdh+ 或者 trh)	102
II-6.2	零售阶段蛤蜊中的总副溶血性弧菌值	103
II-6.3	与温度相关的副溶血性弧菌的生长率	103
II-6.4	在某一消费点的任一泥蚶病原性菌落的数量	104
II-6.5	非正常烹饪的泥蚶部分	104
II-6.6	随机一餐中致病性副溶血性弧菌的数量	104
II-6.7	个人年消费量	105
II-6.8	从模拟的随机餐饮中致病的可能性	105
II-6.9	一年中一个人从泥蚶中感染副溶血性弧菌而患病的估计数目	106
II-6.10	模拟模型的结果	106
II-7	部分变化模型	107
II-8	“从农场到餐桌”和“分数的变化”模型的比较	108
II-9	结论及缺失的数据	109
II-10	重要发现	110
II-11	建议	110
	参考文献	110
附录 II-1	从临床和海鲜标本进行辨识副溶血性弧菌菌株的分离和鉴定方法	114
附录 II-2	接触评估的方法	116
附录 II-3	β -泊松剂量响应模型及其近似技术解释	118

第三部分 有鳍鱼类副溶血性弧菌的微生物风险评估

III-1	介绍	123
III-2	范围	123
III-3	危害确认	123

III-4 危害描述	126
III-4.1 致病性	126
III-4.2 剂量-反应关系	128
III-5 暴露评估	129
III-5.1 食品中的流行情况	129
III-5.2 在海水、环境和食品中影响副溶血性弧菌浓度的因素	130
III-5.3 竹荚鱼中副溶血性弧菌的浓度	131
III-5.4 产品消费路径	132
III-5.5 捕获前和捕获数据	132
III-5.6 在港口和运输时的处理	133
III-5.7 制备和消费	135
III-5.8 风险评估模型结构	137
III-6 风险描述	143
III-7 讨论和结论	144
III-8 局限性和附加说明	145
参考文献	146
附录 III-1	153

解释性总结

引言^①

风险评估是一种资源密集型、数据驱动型的活动，它能够使风险管理者具备思考一系列旨在改善公共健康降低风险措施的能力。由于获得有用的食物生产系统所需资源的统一性，对于风险管理者是有益的，因为副溶血性弧菌风险评估工作有可能推广到其他微生物、其他商品和其他天然食物系统。目前的研究把在一个国家建立起来的牡蛎捕获对公众健康影响的模型用于评估其捕捞自其他国家的牡蛎对公众健康带来的风险。之后再将这个方法应用于其他产品，如毛蚶和长须鲸，以判断这种风险评估方法在何种程度上是适用的。因此，这个总结主要提及如下三项研究：生蚝中副溶血性弧菌风险评估；泥蚶中副溶血性弧菌风险评估；以及对生食鲭鱼中副溶血性弧菌的风险评估。

研究目的

对生蚝中副溶血性弧菌进行风险评估的目的是使用美国在生蚝中携带的致病性副溶血性弧菌对公共卫生影响的风险定量评估（FDA-VPRA）（FDA，2005）中建立的模型来估算澳大利亚、加拿大、日本和新西兰等国因食用牡蛎导致的副溶血性弧菌致病的风险。本研究的科学基础发表于 FDA（2005），可以通过如下网址获取该文献 <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/ResearchAreas/RiskAssessmentSafetyAssessment/ucm050421.htm>。

对泥蚶中副溶血性弧菌风险评估被当作一个使用发展中国家本地数据的定量风险评估案例研究。该研究在泰国的一个城市开展，在这个城市泥蚶很受欢迎，并且当地民众大都知道泥蚶这种软体动物是造成疟疾的重要原因，其中包括泥蚶中副溶血性弧菌导致的疟疾。

对生食有鳍鱼类中副溶血性弧菌的风险评估的目的是估计日本生食马鲛鱼导致的副溶血性弧菌感染的风险，该评估还估计了在捕获后或准备食用期间，对鲭鱼进行清洗在何种程度上可以减少致病的风险。

研究约束

当对生蚝的研究刚启动时，我们希望许多国家能够提供研究所需的国别数据，然而只有澳大利亚、加拿大、日本和新西兰最终参与到该项研究中来，而且这几个国家也只能提供模型所需的部分数据。我们使用美国的替代数据来补充模型所需数据中不足的部分，这

^① 编者注：为保持解释性总结和三个技术报告主要部分的一致性，本部分使用的图表的编号与其所在各部分文中的编号相同。

是当前研究中一个主要的约束（表 I - 26）。

表 I - 26 副溶血性弧菌（Vp）模型所用数据的来源

	澳大利亚	加拿大	日本	新西兰
水温	本地数据	美国太平洋西北部数据	本地数据	本地数据
水温与 Vp 数量间的关系	美国数据	美国数据	美国数据	美国数据
牡蛎出水后时间	本地捕获数据	本地捕获数据	本地捕获数据	本地捕获数据
空气温度	本地数据	本地数据	本地数据	本地数据
生长率调整因素	美国数据	美国数据	美国数据	美国数据
牡蛎冷冻时间	本地数据	本地数据	本地数据	本地数据
牡蛎重量	美国数据	美国数据	美国数据	美国数据
一次消费牡蛎的数量	美国数据	美国数据	美国数据	美国数据
tdh 阳性或 trh 阳性牡蛎的比例	美国数据	美国数据	美国数据	美国数据
从当地捕获牡蛎的数量	本地数据	本地数据	本地数据	本地数据
漏报系数	美国数据	美国数据	美国数据	美国数据
生食牡蛎所占的比例	美国数据	美国数据	美国数据	美国数据

对泥蚶中副溶血性弧菌的风险评估仅仅基于捕获和零售环节的 32 个样本集中致病副溶血性弧菌（tdh 阳性和/或 trh 阳性）和全部弧菌数量的有限的数据库。由于缺乏数据，无法对季节变化、环境因素对泥蚶自捕获到被食用期间该类弧菌的生存和繁殖的影响进行建模。从尝试应用风险评估的角度看，数据的缺乏是许多国家，尤其是发展中国家面临的一个挑战。研究基于熟泥蚶的食用情况，采用用于 tdh 阳性菌株的 FDA - VPRA 剂量反应模型做出了食用泥蚶风险估计。研究根据一个小规模的调研估算出食用没有完全煮熟泥蚶餐数的比例。人们在食用前采用的其他已知处理方法如烧烤、煎炸，都无法进行建模。

对有鳍鱼类中副溶血性弧菌的风险评估同样基于食物链不同步骤中马鲛鱼体内副溶血性弧菌的生存和集中情况的有限数据。因此，无法考虑鳍鱼不同部位如鳃、肠或体表中弧菌存在情况的差别。不过评估模型考虑了环境因素如温度和盐度对弧菌生存的影响，考虑了捕获、上岸以及运输过程中时间与温度对副溶血性弧菌存在的影响。评估根据已发表的其他海产食品的数据估计了致病菌株（tdh 阳性和/或 trh 阳性）比例，根据 FDA - VPRA 模型中牡蛎中副溶血性弧菌的生长率估计了捕获后鳍鱼中该弧菌的生长率。评估模型没有加入处理过程中的交叉污染情况，评估模型根据 tdh 阳性菌株的 FDA - VPRA 剂量反应模型进行了风险表征。

危险识别

副溶血性弧菌是一种原生于河口水域，遍布全球的海洋微生物。1950 年在日本，副溶血性弧菌第一次被确认为食源性病原体（Fujino 等，1953）。到 19 世纪 60 年代末和 70 年代初，副溶血性弧菌已经在世界范围内被公认为是导致腹泻的一种病菌，当时副溶血性弧

菌导致腹泻的现象在亚洲和美国最为常见。最近一段海产品消费的历史与副溶血性弧菌感染现象存在一致。弧菌通常在蚝、蚌、牡蛎、贻贝等滤食性贝类的内脏聚集，并在这些贝类的内脏中繁殖，然后附着在一起。虽然通过烹饪能够消灭这些弧菌，但是至少在美国，与副溶血性弧菌感染联系最紧密的牡蛎通常是生食的 (Hlady, 1997)。日本的早期研究表明 96% 的临床菌系都能分泌一种耐热直接溶血素 (TDH)，但只有 1% 的野外菌系能产生这种溶血素 (Sakazaki 等, 1968)。因此，科研人员通常采用不能产生耐热直接溶血素的临床菌系来生产一种耐热直接溶血素相关溶血素，TRH (Honda 等, 1988)。目前，人们通常认为同时产生 TDH 和 TRH 的菌落对于人类来说是一种致病菌。虽然许多血清类型都可能与人类患病相关，但是，最近在几个不同的国家，人们发现血清型在 O3: K6 之间的弧菌是几次突发疫病的病原体 (Nair 等, 2007)。

在亚洲，副溶血性弧菌是一种常见的食源性疾病致病菌。这种病菌导致疾病的发病规模通常较小，涉及的病例一般不超过 10 例，但发病概率较高。在 1994 年之前，副溶血性弧菌导致的发病率在日本不断下降，然而据记载，在 1994 年和 1995 年期间，由其导致的发病病例有 1 280 例 (Anon., 1999a)，并且在此期间，副溶血性弧菌导致的食物中毒次数也比由沙门氏菌造成的食物中毒次数多。从 1996 年到 1998 年，据日本卫生、劳工与福利部报告，副溶血性弧菌共导致了 496 次突发疾病，涉及 24 373 个病例 (数据来源：日本卫生、劳工与福利部)。通常，夏天的发病率更高，在 8 月份达到最高。

在 1986—1995 年，中国台湾省有 197 次食源性疾病发病是由副溶血性弧菌引起的 (Pan 等, 1997)，而在 1997 年，该发病情况报道超过 200 次，其中盒饭午餐导致的发病有 146 例 (Anon., 1999b)。

在 1997—1998 年，美国有超过 700 例由副溶血性弧菌致病的病例，其中的大部分都与生食牡蛎有关。1998 年副溶血性弧菌 O3: K6 的一种血清型在两次突发疾病中第一次成为致病的主要因素，这种情况原先只在亚洲有报道过。随后对这些弧菌的研究揭示了它们的广泛传播。研究认为较高的水温是这两次突发疾病的主要原因。

虽然食用泥蚶和副溶血性弧菌致病之间并不存在明显的流行病学关联，但是在对泰国合艾市的 80 位居民的访谈发现其中 38 人曾在食用泥蚶后腹泻。1999 年，研究人员在搜集自合艾市两所医院的 11 474 个腹泻粪便样本中的 319 个分离出副溶血性弧菌，其中夏季分离出副溶血性弧菌的样本最多。

在日本副溶血性弧菌疾病每年爆发 500~800 次，波及约 1 000 人，其中因食用刺身 (生鱼片) 和寿司 (带生鱼片的酸饭团) 导致副溶血性弧菌疾病暴发的次数分别占 26% 和 23%。人们很少去鉴定致病的食物，但是 1999 年中有 3 次致病与马鲛鱼有关。在泰国对 51 次副溶血性弧菌疾病暴发的调研发现，马鲛鱼与其中的 12 次疾病暴发有关。

近年来，南美洲同样有大量的副溶血性弧菌疾病暴发。其中智利尤为严重，在 2004—2005 年，有 10 000 例与食用贻贝有关的副溶血性弧菌病发生。

欧洲几乎没有副溶血性弧菌感染病发病率的数据，其中一个原因是该类感染不需要向当局报告。然而，有关此类致病的信息已经呈现在《科技委员会关于防止生的和未煮熟的海产食品中创伤弧菌和副溶血性弧菌危及公共健康的兽医措施的意见》(欧盟委员会, 2001)。

接触评估

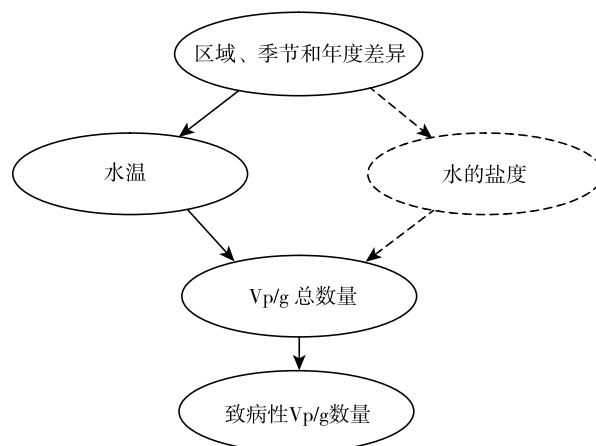
对生蚝的接触评估

此项接触评估采用美国食品药品监督管理局在牡蛎携带的副溶血性弧菌对公共卫生影响的风险量化评估中建立的模型（FDA - VPRA）（FDA，2005），目的是确定美国、加拿大、日本、新西兰和澳大利亚的消费者因为生食牡蛎而接触到致病的副溶血性弧菌的数量。该模型采用了模块方法，包含了捕捞—捕捞以后—食用的连续过程。图 I - 2 和图 I - 6 列示了模型研究路径的示意图。

模型用 4 个因素进行接触评估：

- 捕获时海产食品中携带致病性副溶血性弧菌的数量；
- 捕获之后处理和加工的影响；
- 副溶血性弧菌繁殖到能产生感染性数量的能力；和
- 人们食用海产食品时摄入的致病性副溶血性弧菌的数量。

接触评估模型分为两个单独的模块：捕获模块，包含零售和使用的捕获后模块。图 I - 2 描述了捕获模块的元素。影响捕获时牡蛎中副溶血性弧菌数量的主要潜在因素是水温 and 盐度，虽然，初步建模分析表明盐度的影响没有水温的大，如图 I - 2 所示。



捕获后模块描述了业界典型的做法，包括运输、处理和加工，以及配送、储藏和零售，对捕获于不同区域和季节的牡蛎中副溶血性弧菌数量的影响。该模块中包含的研究人员认为会影响致病性副溶血性弧菌数量的因素包括：

- 捕获时周围的空气温度；
- 从牡蛎捕获时到冷藏之间的时间；
- 冷藏后牡蛎温度降低所需的时间；以及
- 直到食用，牡蛎的冷藏时间。

该模块也可以用于模拟干预措施的效果。该模块的输入包括牡蛎捕获时全部和致病

性副溶血性弧菌的区域和季节分布情况。模块输出牡蛎被食用时全部和致病性副溶血性弧菌的一系列预测分布。接触评估需要解决的最后步骤是产品的存储和零售条件，购买之后的存储，以及最后的烹饪和食用。流程图 I-6 的最后环节包含了这些因素其中的一部分。

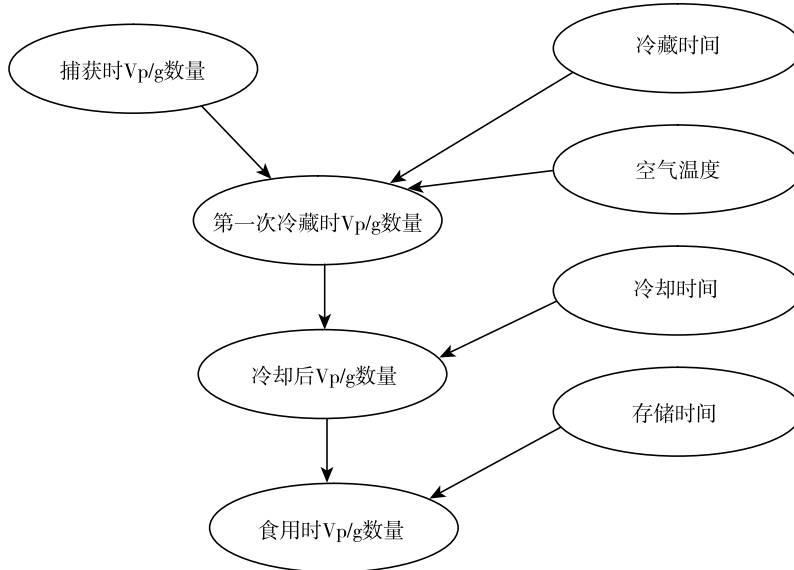


图 I-6 捕获后模块中副溶血性弧菌 (Vp) 风险评估模型示意图

泥蚶的接触评估

研究人员基于研究捕获和零售阶段的 32 个泥蚶样本中全部和致病性副溶血性弧菌的数据，根据泥蚶从生产到消费的整个链条来估算其接触情况 (图 II-6)。并根据所包括因素的差异和从捕获到零售期间时间估算副溶血性弧菌的生长率 k 。在主观估计泥蚶出售后到食用之间的时间时，研究人员使用该估算出的生长率估计副溶血性弧菌的生长情况。假

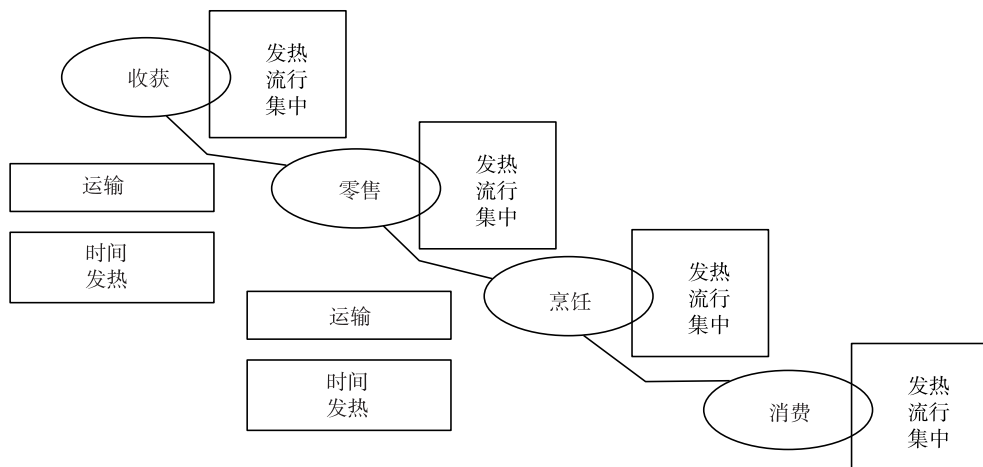


图 II-6 泥蚶中副溶血性弧菌的生产-消费风险评估的模型框架示意图

定所有副溶血性弧菌菌株（致病的，tdh 阳性和 trh 阳性）的生长率相同。一项小规模的投资估算了食用未煮熟的泥蚶餐次的比例。研究假定所有副溶血性弧菌要么存在于未煮熟的泥蚶，或者在煮熟的泥蚶中失活。研究人员还根据调研数据估算了泥蚶的年度消费情况。

马鲛鱼的接触评估

日本马鲛鱼捕获和捕获后的做法构成了建立从生产到消费完整链条模型的基础。评估对 8 种不同情况建立了模型（图 III-10），包括在港口使用净水清洗和不清洗；运输过程中使用净水和受污染的水；烹饪时清洗或不清洗内脏；以及这些情况的不同组合。副溶血性弧菌的存活情况及清洗对它的影响的数据可以从早期的研究中获得，此外，为风险评估还进行了一些研究。评估根据其他海产食品的随机数据估计了致病菌株比例，根据 FDA-VPRA（FDA，2005）模型牡蛎中副溶血性弧菌的生长率估计了马鲛鱼储存和运输过程中该弧菌的生长率。研究使用日本各类全国性调查中的消费数据估算食用规模，生食马鲛鱼的比例，以及食用马鲛鱼的频率。

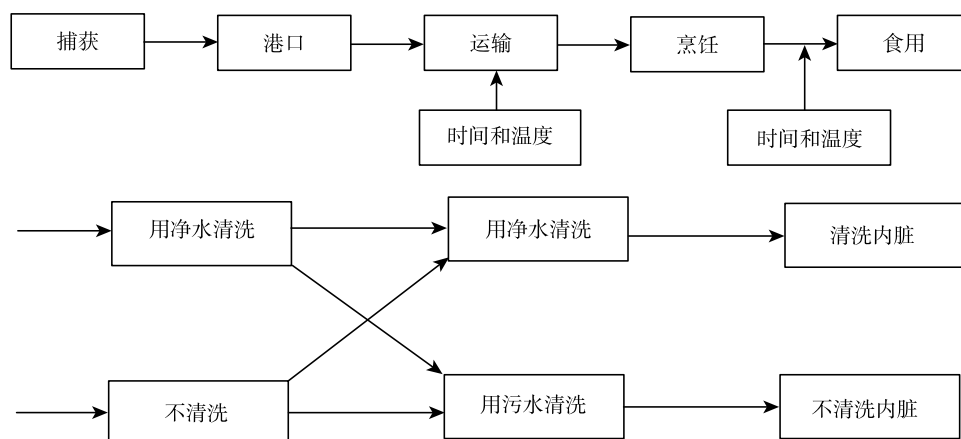


图 III-10 每个阶段建议考虑的情况以及鲭鱼（马鲛鱼）风险评估中对 8 种情形建模

危害特征

FDA-VPRA（FDA，2005）报告对摄入致病性副溶血性弧菌数量和疾病出现的剂量反应关系进行了建模分析。分析结果可归纳为：合计了三位自愿者的喂食研究，通过非参数自举方法获得了一簇 β 泊松曲线的系数（图 I-9）。

模拟中剂量反应的参数都是按概率选择的。每次模拟都记录了致病风险的分布情况，并将平均风险和食用牡蛎餐次的估计值相乘得到致病次数的平均值。图 I-9 显示了一副具有代表性的剂量反应关系图。

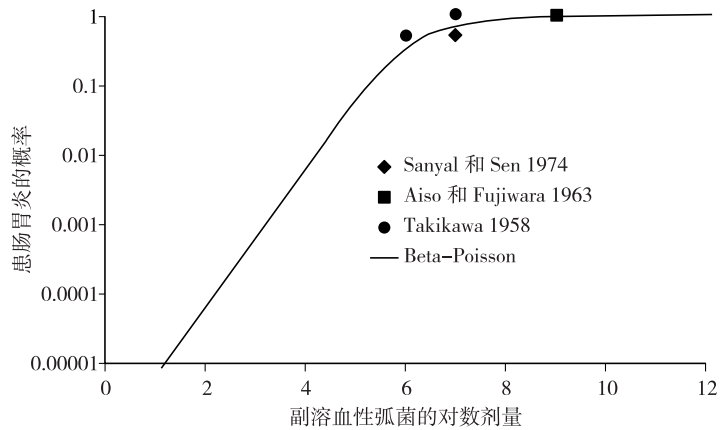


图 I-9 副溶血性弧菌的 β 泊松剂量-反应曲线

注：拟合志愿者进食研究的曲线族图形，该研究用于表现摄入致病性副溶血性弧菌相关的风险。为清晰起见，本图只画了一条剂量反应曲线（最可能的）。

风险表征

生蚝

图 I-27 呈现的是在当前风险评估中 5 个典型的国家副溶血性弧菌病次数的预测值。

在日本，牡蛎生产以广岛湾的产品为代表。由于夏季月不产牡蛎，所以预测该病的范例仅体现于十到十二月之间。

在澳大利亚，沃利斯湖是澳大利亚新南威尔士盛产牡蛎的代表性区域，而奥伦戈湾则是新西兰牡蛎的代表性产地。这两个区域都根据潮带间捕获而建模。

加拿大的生产因美国太平洋西北部的生产在实际收获参数中的改变而被建模。加拿大的生产条件就是当常温小于 15°C 时，让牡蛎在控制的温度里保持四小时内的收获状态。

除新西兰外，模型预测的研究养殖区域的致病水平都高于各国的报告数（表 I-28），表 I-28 列示了当前风险评估所研究的 5 个国家副溶血性弧菌病的发病数的预测值。

表 I-27 在日本、澳大利亚、新西兰、加拿大和美国每年由于食用牡蛎造成副溶血性弧菌致病数量的预测值

	1~3 月	4~6 月	7~9 月	10~12 月
日本广岛湾	0	0	0	38
澳大利亚沃利斯湖	19	1	0	7
新西兰奥伦戈海湾	0	0	0	0
加拿大大不列颠哥伦比亚省	0	18	168	0
美国墨西哥湾	10	698	1 705	183
美国大西洋北部	0	3	14	2
美国大西洋中部	0	4	7	4
美国太平洋西北部	0	18	177	1

注：南半球夏季的月份与北半球的正好相反。

表 I-28 日本、澳大利亚、新西兰和加拿大每年因食用牡蛎后导致副溶血性弧菌致病病例数的预测值和报告数

	模型预测指定养殖区域每年致病病例数	占总产量的比例 (%)	模型预测该国每年致病病例数	食用牡蛎导致副溶血性弧菌致病的流行病学证据
澳大利亚沃利斯湖	27	30	91	18 年发生两例，其他海产食品导致两次疾病大暴发
新西兰奥龙戈海湾	0	15	0	1997—2002 年没有发生，其他海产食品导致了几次疾病暴发
日本广岛湾	38	57.2	66	1998—2004 年共 13 例
加拿大大不列颠哥伦比亚省	186	100	186	1997—2006 年 10 年共 212 例

注：南半球夏季的月份与北半球的正好相反。

报告能预测从轻微到严重的连续症状范围的模型是一个非常大的挑战。在理想的情况下预测的发病总数（有不确定性）会与流行病监测数据可以比较。然而对于那些有不同程度症状的疾病来说，预测值通常都比报告数大。与该疾病相关的漏报率也就尤为重要。

当前的研究采用美国 CDC 的做法，对每次报告的发病调整 20 个漏报的副溶血性弧菌疾病。遗憾的是，澳大利亚、日本和新西兰没有未报告的副溶血性弧菌疾病的规模方面相关的信息。值得一提的是这三个国家都保持有副溶血性弧菌导致的疾病的统计。尤其是日本，虽然可能由于采用了只在水温较低时才捕获只用于生食的牡蛎的做法，在 1999 年之后发病数和病例数都在减少，但这种病原仍是日本食物中毒的主要原因。加拿大大不列颠哥伦比亚省报告的病例主要基于实验室的确认，只有一小部分病例是根据临床症状和进食历史总体情况确定的。澳大利亚的新南威尔士州曾经暴发过大规模的副溶血性弧菌病，发病的原因涉及从印度尼西亚进口的冷冻熟对虾。1990 年，100 人感染并有一人死亡；1992 年，在同一天食用来自同一批发商的熟对虾后，暴发了两场副溶血性弧菌病，涉及人数都超过 50 人 (Kraa, 1995)。由于这几次弧菌病的暴发，新南威尔士州已将副溶血性弧菌纳入疑似食物中毒病例常规实验室筛查的范围。

综上所述可以得出这样的结论：日本、加拿大、新西兰和澳大利亚等国副溶血性弧菌病的漏报率很可能至少与美国同样高。把这个比率应用到日本和加拿大大不列颠哥伦比亚省，得出的预测值和实际报告数处于同一数量级，因此可以将这视为对模型进行是否可接受的测试。相比之下，18 年间，澳大利亚报道过两起发病，而模型对同期的预测值达到约 1 700 个病例。由于 Lewis 等 (2003) 的研究只能提供沃利斯湖牡蛎中致病性副溶血性弧菌存活和密度等初步资料，研究使用了美国太平洋西北部的数据。这些数据连同沃利斯湖的水温说明了 1 700 个预测病例数的原因。然而，Eyles、Davey 和 Arnold (1985) 的研究清楚表明，副溶血性弧菌在存储于 30℃ 的悉尼岩牡蛎中 7 天都没有生长。

在当地数据和漏报程度信息缺乏的限制下，有三个国家当前评估所提供的牡蛎中副溶血性弧菌预测值处于同一数量级，而澳大利亚的预测值和报告数之间存在较大差别，其原因可能是澳大利亚所研究的牡蛎在限制副溶血性弧菌生长方面有特殊的能力。

泥蚶

人因食用泥蚶患副溶血性弧菌病概率的上限估计是 3.56×10^{-3} ，即每年每 1 000 人有 4 人患病的概率。根据流行病数据，1999 年泰国一个人口为 282 000 人的城市的两个医院里在 319 个样本中分离出副溶血性弧菌。虽然这个分离试验包括了副溶血性弧菌的所有来源，无法得知因食用泥蚶患副溶血性弧菌病的病例数，但可以得知患副溶血性弧菌病的概率是 1 : 1 000。与书中其他部分讨论过情形的相同，副溶血性弧菌病存在漏报的情况，病情不严重病例的粪便可能不会被保留。即便是在泰国，采用美国 CDC 认定的漏报和报告的副溶血性弧菌病 20 : 1 的比例，可以估算出每 1 000 人就会产生 20 例副溶血性弧菌病，这其中的 4 例可能是由于食用泥蚶造成的。因此，可以认为模拟模型所提供的估算值与流行病学研究发现非常接近。

马鲛鱼

根据风险评估模型估算，每餐份生马鲛鱼致病的概率在 8.77×10^{-7} （最好的情况下）到 3.75×10^{-5} （最差的情形）之间。将这个概率乘以日本总人口，可估计出日本每年有 70~1 300 例副溶血性弧菌病。根据流行病数据，日本每年有 10 000 例副溶血性弧菌病病例，但通常不能确定是哪一种海产食品导致了副溶血性弧菌病病例。该模型在估算捕获后的做法对致病概率影响方面很有用。在制作食物时，清洗已除去内脏的马鲛鱼的腹腔能显著减少其致病概率，而在港口和运输阶段食用消毒水对减少致病率的作用要小得多（表 III-4）。

表 III-4 所选情形蒙特卡洛模拟分析结果：副溶血性弧菌数量和每餐份生马鲛鱼致病的概率

情形捕获	运输	烹饪	体内 V_p 数量	肉片中 V_p/g	每餐份包含致病 V_p 数量	每餐份致病的概率
未清洗	污水	未清洗	6 841	19.4	27.1	1.61×10^{-5}
		清洗		1.13	1.59	9.32×10^{-7}
	净水	未清洗	6 425	18.2	25.5	1.51×10^{-5}
		清洗		1.06	1.5	8.80×10^{-7}
清洗	污水	未清洗	6 225	17.7	24.7	1.47×10^{-5}
		清洗		1.03	1.45	8.48×10^{-7}
	净水	未清洗	6 134	17.4	24.3	1.44×10^{-5}
		清洗		1.02	1.43	8.40×10^{-7}

为牡蛎中副溶血性弧菌数量设定限制

在第 38 届食品卫生法典委员会（CCFH）会议上，委员会复审了生鲜双壳贝类标准提议草案中的卫生规定，该草案由法典委员会根据鱼和水产品标准发展而来。虽然标准包含双壳贝类动物中不同微生物的限制，但是并没有清晰地提出有关推荐限制量的基础，也没有就这些限制的具体内容达成一致意见。CCFH 在此次会议的报告中指出：

“……要求 FAO 和 WHO 使用它们正在建立的模型对海产食品中的副溶血性弧菌进

行风险评估，为法典委员会在鱼和水产品制定标准提供科学的指导，帮助 CCFH 继续完善生双壳贝类标准提议草案中的卫生规定。”

面临的风险管理问题：

“在副溶血性弧菌总数或致病性副溶血性弧菌数量处于每 25g 中不存在到每克 1 000 cfu（或 MPN）之间时估算副溶血性弧菌致病风险减少的程度。”

估算考虑了 3 个密度限制下副溶血性弧菌的影响：100 cfu/g，1 000 cfu/g 和 10 000 cfu/g。应在捕获的海产品冷却以后使用这三个限制，因为此时副溶血性弧菌的种群数量保持稳定，即温度低到不能使弧菌进一步繁殖，也不会太低使得弧菌坏死。该估算研究了每个国家在副溶血性弧菌密度达到以上三种目标限制的所有（100%）捕捞的牡蛎的影响，并把它们与基准条件下副溶血性弧菌的分布进行了比较，研究估计了在不同限制下副溶血性弧菌致病率的减少，以及如果要求市场上所有产品都符合相应限制时不合格产品的数量。表 I - 32 和表 I - 33 列示了这些估计的结果，在主报告的 I - 5.1 节对这些估计进行了详细的附加说明。

表 I - 32 根据满足相应的副溶血性弧菌数量限制条件下，估算的致病率减少情况，以及生食产品不合格率。

指定的目标	预测致病数减少比例（%）			无法减少致病比例的产品（%）		
	澳大利亚（夏季）	新西兰（夏季）	日本（秋季）	澳大利亚（夏季）	新西兰（夏季）	日本（秋季）
100 cfu/g	99	96	99	67	53	16
1 000 cfu/g	87	66	97	21	10	5
10 000 cfu/g	52	20	90	2	1	1

表 I - 33 根据满足相应的副溶血性弧菌数量限制预测副溶血性弧菌病发病数。

指定的目标	每年致病数预测值澳大利亚（夏季）	新西兰（夏季）	日本（秋季）
100 cfu/g	约 5 年 1 次	约 10 年 1 次	约两年 1 次
1 000 cfu/g	1	1	1
10 000 cfu/g	5	3	4
无限	17	4	38

用分析评估工具通告企业加工体制

这些模型有告知企业不同“如果…就…”情形的结果。这类情形之中的一个例子，美国食品药品监督管理局提出将加强冷冻从不同水温（不同季节的水）中捕获的牡蛎作为副溶血性弧菌控制计划的一个部分，2007 年美国贝类环境卫生州际委员会全体大会采纳了这一做法。这个方案表明在冷冻前减少环境接触，结合快速冷冻，能有效减少食用捕获于不同水温牡蛎致病的概率。对马鲛鱼来说，在制作生鱼片的过程中清洗其除去内脏的腹腔有助于减少其致病概率。

风险评估的主要结果

生蚝的风险评估

正如主报告中表 I - 1 和表 I - 26 总结中提到的，当前的风险评估受制于数据不完整。模型运行需要使用替代数据。某些缺乏的数据恰恰是风险评估核心部分所需的，比如牡蛎中副溶血性弧菌存活情况，以及携带 tdh 阳性基因的副溶血性弧菌的比例。由于这些数据的缺乏，对那四个能够提供一些所需数据的国家估算的致病率与其监测数据互不相符，也就可以理解了。

尽管如此，目前的工作已经产生了积极的成果：

- 这个模型已被用于估算养于不同条件和管理系统下不同种类牡蛎的致病率。其他国家的风险评估者可以修改该报告中的模型框架。
- 风险评估人员将受益于这篇报告所积累的知识。
- 一些国家，如新西兰和澳大利亚，都正在资助牡蛎中副溶血性弧菌的存活情况和致病性副溶血性弧菌比例的重要研究。
- 该模型是评估在捕捞时（比如减少冷却时间）和捕捞后通过加热、冷冻和高压处理等减少副溶血性弧菌措施的合适的工具。
- 美国已经使用 FDA - VPRA 报告来加强工业的实践和管理。

泥蚶的风险评估

泥蚶的风险评估为根据在有限的一段时间内所收集的数据，使用风险评估模型估计食用大众喜欢的海产食品对全国范围的公众健康带来的风险提供了一个很好的例子。虽然公众认为（资料来自消费者调查）泰国的腹泻事件与食用泥蚶有关，但是模型的估算似乎和这个城市中的两家医院的流行病学研究密切相关。

马鲛鱼风险评估

虽然风险评估是在已经指出的约束条件下进行的，但这说明源自生蚝的模型可通过生的有鳍鱼类的消费来用于马鲛鱼的风险评估。这项评估提供了一个好例子，就是用模型来评估风险减少，而风险减少是通过捕捞后的一些做法达到的，如在生鱼片的准备阶段，清洗已去除内脏的马鲛鱼腹腔。

缺乏的数据

下面确定出当前风险评估研究所缺乏的数据，从而向未来的研究提供建议或加强数据收集以减少不确定性。需要进一步研究的领域包括：

- 水体、有鳍鱼类和水生贝壳类动物中致病性副溶血性弧菌致病率和频率。

- 影响环境中致病性副溶血性弧菌致病率的因素。
- 牡蛎体内生理和免疫状态对副溶血性弧菌数量的影响。对被污染牡蛎比例与副溶血性弧菌数量进行相关分析。
- 判断当前只能用于携带 tdh 阳性基因菌株的剂量反应模型是否与流行菌株以及 trh 阳性菌株的剂量反应模型不同。
- 加强对 TDH 之外的致病菌株，如 TRH1 和 TRH2 肠毒素的潜在毒力因素的研究。研究发现不产生 TDH、TRH 或尿素酶的副溶血性弧菌会导致乳鼠体内积液，对雪貂以剂量依赖方式经口接种此类副溶血性弧菌会导致其腹泻（Kothary 等，2000）。目前还没有确定这些菌株的临床和环境患病率的相关关系。
- 在除 26°C 以外其他温度下，不同牡蛎品种中副溶血性弧菌的生长率，包括致病性菌株生长率与副溶血性弧菌种群整体生长率的潜在差异。
- 在不同的捕获后处理做法和存储条件下，副溶血性弧菌在其他水生贝壳类动物和有鳍鱼类中的生长率。
- 根据新鲜水流量获得的水生贝壳类动物捕捞区域的水力冲击速度（水量周转）、潮汐变化、风和捕捞区域的水深，以及这些因素如何影响副溶血性弧菌的数量。
- 消费者对牡蛎的处理。
- 在有鳍鱼类作为生鲜消费处理过程中的交叉感染，如制作寿司和生鱼片。
- 改进全球公共卫生系统对副溶血性弧菌的监控，确保能及时识别出新出现的流行菌株。
- 研究各国疾病报告系统；在比较发病的估算值和报告数进行比较时，当把漏报加入考虑范围时，这个问题就显得尤为重要。

影响牡蛎中副溶血性弧菌风险评估和管理的当前及未来问题

通常风险评估需要进行很长一段时间，对牡蛎的风险评估自然也不例外，这项工作开始于 2001 年。由于科技进步的步伐很快，任何风险评估工作显然都会存在一定程度的滞后。为试着加入副溶血性弧菌的最新进展和相关事件，本节将提供支撑风险评估重要假定的最新科学内涵，并推测在养殖水域温度逐渐变暖的情况下风险管理者如何使用和构建该风险评估模型，推测副溶血性弧菌将向更高纬度的地方扩散。

该风险评估基于原先用于预测美国副溶血性弧菌致病风险的框架（FDA，2005），预测了食用来自选定太平洋沿岸国家生蚝的致病风险。风险评估基于以下四个主要前提：

- 患副溶血性弧菌病的风险与摄入致病菌的数量成正比，致病性副溶血性弧菌是指那些有 tdh 基因的副溶血性弧菌，所有含有 tdh 基因的副溶血性弧菌的致病性都是相同的。
- 可以根据比较容易测量的副溶血性弧菌病的总数可靠地估算出致病性副溶血性弧菌病的数量。
- 可以根据水温预测出捕捞时牡蛎中副溶血性弧菌的数量。
- 在捕捞后的处理和加工过程中，全部和致病性副溶血性弧菌病的增长和存活量相同。

FDA - VPRA (FDA, 2005) 报告用一个未曾用于模型参数估计的生蚝市场研究来验证接触评估模型。VPRA 预测每个季节消费场所或其附近地方副溶血性弧菌总数的能力得到了验证。然而, 每个区域根据风险表征确定发病的原因, 这与估算结果不一致, 因为估算仅仅基于报告的发病情况, 而报告的发病是可以获得追溯信息的。这种不一致可能是由于各区域间疾病报告方面的差异造成的, 它同样表明支撑 VPRA 报告的一些前提和假设是值得质疑的。由于 FDA 和 FAO/WHO 开展了 VPRA 工作, 因此已经可以获得相当多有关这些主要前提的信息。下文讨论了这些新的发现, 新发现可能会为未来改进当前版本的 VPRA 报告和风险管理中运行这些模型的努力提供指南。

流行病数据继续支持副溶血性弧菌致病风险与摄入致病菌的数量成正比的假定, 2001—2004 年, 报告给美国 CDC 临床分离株中大约有 90% 含有 tdh 基因。然而, 越来越多的临床分离株中既没有 tdh 基因也没有 trh 基因, 而且这些分离株往往与需要住院治疗的最严重的病例有关。目前尚无法得知这些临床分离株之间是否存在某种联系, 也不知道它们所具备的毒力属性的类型。这些分离株中的一种已被选为全基因测序研究, 对研究数据的挖掘有可能揭示潜在的毒力基因。所有 tdh 阳性菌株毒力都相同的假设主要是因为缺乏足够的证据, 而不是因为有研究证实过这个假设。对 2004 年阿拉斯加邮轮旅客发病的流行病研究的发现是对该假设最大的挑战。阿拉斯加邮轮旅客发病与血清型为 O6: K18 的菌株有关, 在 2004 年 7 月的两周内, 该菌株导致 3 艘油轮中食用过 1~6 只牡蛎旅客中的 30% 发病 (McLaughlin 等, 2005)。在旅客病发期间, 从与发病相关的农场中搜集的牡蛎基本上每克含有 10MPN 致病菌株, 而 VPRA 剂量反应曲线表明需比这种密度比大约大 10 000 倍以上的致病菌密度才能导致 30% 的致病率。对过去 10 年间太平洋沿岸州散发病例中的分离株进行 PEGE 试验仍无法识别从阿拉斯加邮轮旅客发病中分离出来的含有血清型 O6: K18 的菌株。目前还不清楚该菌株是否能以比此前志愿者研究中更小的剂量使人患病。对于这种情况的另一种解释是, 生食牡蛎会自然累积副溶血性弧菌, 因此, 志愿者研究中所使用的液体剂量可能低估了副溶血性弧菌的致病性。

新近研究以采用实时 PCR 方法, 计算碱蛋白胨水培养液中牡蛎体内弧菌富集的 MPN 数, 以解决 VPRA 报告中的第二个主要假设存在的问题, 即可以从副溶血性弧菌总数可靠地估计出致病性副溶血性弧菌的数量 (Miwa 等, 2003; Nordstrom 等, 2007)。该 PCR - MPN 方法能同时检查每个 MPN 试管中的数千个副溶血性弧菌细胞中的 tdh 和 trh 基因, 并且该方法比培养液方法更加灵敏, 培养液方法需要进行菌落分离, 并且通常只检测其中一些分离株是否含有致病基因。然而, 最近在如溶藻弧菌、哈氏弧菌等其他弧菌属 (Gonzalez-Escalona 等, 2006; Masini 等, 2007) 中检测出 trh 基因使得对该类论文的理解更加复杂。即使在 tdh 阳性菌株中, 基因的表现型也因等位基因的情况不同而不同。携带 tdh2 基因的菌株表达为 TDH 的概率远高于其他携带 tdh 基因的菌株 (Nishibuchi 和 Kaper, 1995; Nakaguchi 和 Nishibuchi, 2005)。因此, 与携带 tdh2 基因的菌株相比携带其他变异型 tdh 基因的菌株的致病性可能更低。以上的研究表明副溶血性弧菌总数与致病性副溶血性弧菌之间的关系远比 VPRA 报告的假定变化更多。比如, 在阿拉斯加对副溶血性弧菌的生态学研究表明, 2004 年和 2005 年夏季, 牡蛎中致病性副溶血性弧菌分别占副溶血性弧菌总数的 74% 和 30%。2004 年夏季, 阿拉巴马州和密西

西比州使用相同的方法测出致病性副溶血性弧菌分别占副溶血性弧菌总数的 0.001% 和 0.05% (DePaola 等, 2007)。因此, 在假定阿拉斯加州和阿拉巴马州 tdh 阳性菌株毒力相同的条件下, 虽然阿拉斯加州的牡蛎每克只含 10 个副溶血性弧菌, 而阿拉巴马州的牡蛎每克含有超过 10 000 个副溶血性弧菌, 但食用阿拉斯加州牡蛎患病的风险更大。

VPRA 报告的第三个重要假设看上去仍然是估算副溶血性弧菌重要基础: 捕捞时牡蛎中副溶血性弧菌的数量可以根据当时的水温预测。当水温低于 15°C 时, 副溶血性弧菌的数量低于每克一个, 并且没有大规模致病情况出现。然而越来越多的资料表明水温可能会影响致病性副溶血性弧菌的比例, 水温越低致病性副溶血性弧菌的比率越高。从地域上看, 从美国南部的墨西哥湾沿岸到太平洋西北部和阿拉斯加州, 牡蛎中携带 tdh 基因的副溶血性弧菌不断增加, 对于阿拉巴马牡蛎来说, 水温小于 20°C 时致病性副溶血性弧菌数量大约是水温大于 20°C 的 10 倍 (De Paola 等, 2003)。据估计, 仅水温一个因素就可以解释每年牡蛎中副溶血性弧菌总数约 50% 的变化。最近的研究表明, 水的盐度和浑浊度可能也是影响牡蛎中副溶血性弧菌总数的因素, 如果将这些因素也包含在模型内可能会减少模型预测的不确定性。世界范围内所有水域的水温、水的盐度和浑浊度都可以通过卫星影像全天候进行远程测量。最近已发表的一份科学文献已经证实了将遥感数据加入风险评估模型用于实时预测副溶血性弧菌数量的可行性。在 2006 以根据微生物风险定量评估方法构建风险管理实践做法为主要议题的 FAO/WHO 凯尔采会议上, 有人建议将此方法作为管控牡蛎中创伤弧菌的一种工具 (FAO/WHO, 2006)。

目前针对 VPRA 报告第四个, 也是最后一个重要假设的研究还很有限, 该假设为: 在捕捞后处理和加工环节, 副溶血性弧菌总数和致病性副溶血性弧菌的生长率和存活率相同。从控制牡蛎导致的副溶血性弧菌病的角度看, 这可能是最为重要的假设, 因为从捕捞开始人类代替自然开始影响副溶血性弧菌的数量。2007 年, 在美国阿尔伯克基市, FDA 向 ISSC 会议提交了一份提案要求将捕获后牡蛎中的副溶血性弧菌数量限制在自然对数的一半以内。VPRA 报告预测如果达到这一限制, 因食用美国牡蛎所产生的副溶血性弧菌病将减少约 70%。在对阿拉斯加州牡蛎在环境空气温度 (15~20°C) 下 5 天的初步研究结果表明副溶血性弧菌总数与致病性副溶血性弧菌的数量生长率相同, 这也与 VPAR 报告预测此温度下的副溶血性弧菌生长率相同。有资料表明携带 O3: K6 的流行株比其他的副溶血性弧菌菌株更耐高压 (Cook, 2003)。然而, 在美国 FDA/ISSC 对捕捞后经处理 (温和的巴氏杀菌、冷冻或高静水压) 牡蛎的一次调查中, 经过处理的牡蛎中分离出大约 40 个副溶血性弧菌菌株, 主要分离自 25 克富集牡蛎中 (未公开发表的资料), 在这些分离株中有一个携带 tdh 阳性基因的菌株, 表明 tdh 阳性菌株与非致病副溶血性弧菌对捕捞后处理措施的反应相似。

在过去的十年里, 与软体贝类动物有关的副溶血性弧菌病趋势发生了出乎意料和史无前例的转变。目前, 流行性副溶血性弧菌病至少已传至五个大洲, 并且每年在智利都会反复地暴发, 2001 年, 在本风险评估刚刚开始时, 人们并不认为智利境内的副溶血性弧菌是一个需要解决的问题。在智利众多副溶血性弧菌暴发中的一次发病曾达到了流行病的规模, 导致了 10 000 多个病例, 其中大部分的病例与食用软体贝类有关 (Fuenzalida 等, 2006)。越来越多的科学团体趋向于把流行性副溶血性弧菌的全球性传

播的主要途径归结于压载水排放。然而，随着全球贸易不断空前的增加，各国却很少采取保护软体贝类免受污染的控制措施。弧菌好像是微生物世界上最适应因压载水排放而进行的全球传播，并且在没有控制的情况下，很可能会出现新的菌株将并在全球范围内传播。

在过去的十年里，世界上很多软体贝类的主产地出现了历史记录的最高温度，并且有人预测在接下来的几十年里气温会变得更暖。据 CDC 报告，美国的弧菌感染增加了，气候变暖可能是感染增加的一个原因，与此同时，由其他几个主要的食源性病原体造成的疾病正在减少 (CDC, 2007)。在美国，自 2000 年以来，11 月一直是与食用牡蛎相关的创伤弧菌感染最多的月份 (Mark Glatzer, FDA, pers. comm.)。气候变暖也是造成副溶血性弧菌传播至阿里斯加州 (McLaughlin 等, 2005)、欧洲 (Martinez-Urtaza 等, 2005) 和智利 (Gonzales-Escalona 等,) 等其他地域的原因之一。阿里斯州比此前报道过副溶血性弧菌病的最北边的地方还要更往北 1 000 千米。阿拉斯加州牡蛎中副溶血性弧菌弧菌群落中致病菌株前所未有的高，并且这些致病菌株可能比其他致病菌株的毒性更强，这个现象尤其使人惊讶，并且直到现在也没有得到合理的解释。

阿拉斯加州的牡蛎行业等不及威廉王子湾的副溶血性弧菌生态说明，它已经变得非常脆弱，如果副溶血性弧菌病持续暴发，整个阿拉斯加州的牡蛎行业甚至有瓦解的风险。他们紧紧依靠 FDA VPRA 报告，2005 年，他们自发采用了将牡蛎养殖箱置于温度低于 10°C 的温跃层的积极控制措施。2005 年，自从采用了该控制措施 (Manny Soares, 阿拉斯加州环境保护部，私人通信) 后，阿拉斯加州只报告过一例副溶血性弧菌病，而 2004 年在相同的环境条件下，该州报告了 62 例。鉴于美国太平洋西北部沿岸在 1997 年和 1998 年暴发的副溶血性弧菌病，加拿大政府在大不列颠哥伦比亚省对捕捞后的牡蛎实施了严格的时间和温度控制，此后就没有出现过副溶血性弧菌病大暴发的情况。华盛顿州跟加拿大大不列颠哥伦比亚省的环境条件差不多，但是由于缺乏严格的时间与温度的控制，该州在 2006 年暴发了一场大规模的副溶血性弧菌病，涉及 177 例病例，其中大多数病例都与食用生蚝有关 (CDC, 2006)。世界上的大部分地区，倘若要建立一个能可靠预测环境中的病原副溶血性弧菌水平的系统，可能要花上几十年的时间。随着新的更多更有力的测量病原体副溶血性弧菌数量的方法，比如实时 PCR 方法，获得更为广泛的接受和应用，副溶血性弧菌病高发地区和时间就更明显了。同时，实践已经证实了基于现存的 VPRA 报告的积极的捕捞后控制措施的效果，目前这种方法为控制因食用生蚝和其他软体贝类所致的副溶血性弧菌并提供了最好的机会。

参考文献

- Aiso, K. & Fujiwara, K. 1963. Feeding tests of the pathogenic halophilic bacteria. *Annals of the Research Institute for Food Microbiology of Chiba University*, 15: 34 - 38.
- Anon [ymous] .1998a. *Bol. Epidemiol. Semanal*, 6 (31): 306.
- Anon. 1998b. National Nutrition Survey, Japan. Ministry of Health and Welfare, Japan.
- Anon. 1999a. *Vibrio parahaemolyticus*, Japan 1996 - 1998. *Infectious Agents Surveillance Report*, 20

- (7): 1 - 2.
- Anon. 1999b. *Vibrio parahaemolyticus*, Taiwan; Background. *PROMED-digest*, 28 May 1999.
- CDC [Centres for Disease Control] . 2006. *Vibrio parahaemolyticus* infections associated with consumption of raw shellfish-three states, 2006. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 55: 854 - 856.
- CDC. 2007. Preliminary FoodNet data on the incidence of infection with pathogens transmitted commonly through food-ten states, 2006. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 56: 336 - 339.
- Cook, D. W. 2003. Sensitivity of *Vibrio* species in phosphate-buffered saline and in oysters to high pressure processing. *Journal of Food Protection*, 66 (12): 2276 - 2282.
- DePaola, A. , Nordstrom, J. L. , Bowers, J. C. , Wells, J. G. & Cook, D. W. 2003. Seasonal abundance of total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in Alabama oysters. *Applied and Environmental Microbiology*, 69: 1521 - 1526.
- DePaola, A. , Nordstrom, J. L. , Blackstone, G. M. , Bowers, J. C. , Phillips, A. M. B. , Grimes, D. J. , Watt, S. & Parveen, S. 2007. Enumeration of total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* using real-time PCR in a most probable number format. p. 36, in: [Proceedings of the] 6th Annual International Conference on Molluscan Shellfish Safety, Blenheim, New Zealand.
- Eyles, M. , Davey, G. & Arnold, G. 1985. Behaviour and incidence of *Vibrio arahaemolyticus* in Sydney rock oysters (*Crassostrea commercialis*) . *International Journal of Food Microbiology*, 1: 327 - 334.
- European Commission. 2001. Opinion of the Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health on *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus* in raw and undercooked seafood. Available at http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scv/out45_en.pdf.
- FAO. 2005. Causes of detentions and rejections in international trade. Prepared by L. Ababouch, G. Gandini and J. Ryder. *FAO Fisheries Technical Paper* No. T473. 110 p.
- FAO/WHO. 2006. Report of the Joint FAO/WHO Expert Consultation on the use of microbiological risk assessment outputs to develop practical risk management strategies: Metrics to improve food safety. Kiel, Germany, 3 - 7 April 2006. Available at: <ftp://ftp.fao.org/ag/agn/food/kiel.pdf>.
- FDA [US Food and Drug Administration] . 2005. Quantitative Risk Assessment on the Public Health Impact of Pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in Raw Oysters. U. S. Department of Health and Human Services, U. S. Food and Drug Administration. See: <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/ResearchAreas/RiskAssessmentSafetyAssessment/ucm185746.htm>
- Fuenzalida, L. , Hernandez, C. , Toro, J. , Rioseco, M. L. , Romero, J. & Espejo, R. T. 2006. *Vibrio parahaemolyticus* in shellfish and clinical samples during two large epidemics of diarrhoea in southern Chile. *Environmental Microbiology*, 8 (4): 675 - 683.
- Fujino, T. , Okuno, Y. , Nakada, D. , Aoyama, A. , Fukai, K. , Mukai, T. & Ueho, T. 1953. On the bacteriological examination of shirasu food poisoning. *Medical Journal of Osaka University*, 4: 299 - 304.
- Gonzalez-Escalona, N. , Cachicas, V. , Acevedo, C. , Rioseco, M. L. , Vergara, J. A. , Cabello, F. , Romero, J. & Espejo, R. T. 2005. *Vibrio parahaemolyticus* diarrhea, Chile, 1998 and 2004. *Emerging Infectious Diseases*, 11: 129 - 131.
- Hlady, W. G. 1997. *Vibrio* infections associated with raw oyster consumption in Florida, 1981 - 1994. *Journal of Food Protection*, 60: 353 - 357.
- Honda, T. , Ni, Y. X. & Miwatani, T. 1988. Purification and characterization of a hemolysin produced by a clinical isolate of Kanagawa phenomenon-negative *Vibrio parahaemolyticus* and related to the thermo-stable direct hemolysin. *Infection and Immunity*, 56 (4): 961 - 965.

- Kothary, M. H. , Burr, D. H. , Tall, B. D. , Hanes, D. E. & Miliotis, M. D. 2000. Thermostable direct hemolysin, thermostable-related hemolysin, and urease are not required for pathogenicity of *Vibrio parahaemolyticus* in animal models. p. 68, in: Abstracts of the 100th General Meeting of the American Society for Microbiology.
- Kraa, E. 1995. Surveillance and epidemiology of foodborne illness in NSW, Australia. *Food Australia*, 4: 418 - 423.
- Lewis, T. , Brown, M. , Abell, G. et al. , 2003. Pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in Australian oysters. Fisheries Research and Development Corporation, Report 2002/49.
- Madigan, T. , Lee, K. , Pointon, A. & Thomas, C. 2007. A supply chain assessment of marine vibrios in Pacific oysters in South Australia: prevalence, quantification and public health risk. Fisheries Research and Development Corporation, Project SIDF 2005/401.
- Martinez-Urtaza, J. , Simental, L. , Velasco, D. , DePaola, A. , Ishibashi, M. , Nakaguchi, Y. , Nishibuchi, M. , Carrera-Flores, D. , Rey-Alvarez, C. & Pousa, A. 2005. Pandemic *Vibrio parahaemolyticus* O3: K6, Europe. *Emerging Infectious Diseases*, 11: 1319 - 1320.
- Masini, L. , De Grandis, G. , Principi, F. , Mengarelli, C. & Ottaviani, D. 2007. Research and characterisation of pathogenic vibrios from bathing waters along the Conero Riviera (Central Italy) . *Water Research*, 41 (18): 4031 - 4040.
- McLaughlin, J. B. , DePaola, A. , Bopp, C. A. , Martinek, K. A. , Napolilli, N. P. , Allison, C. G. , Murray, S. L. , Thompson, E. C. , Bird, M. M. & Middaugh, J. P. 2005. Outbreak of *Vibrio parahaemolyticus* gastroenteritis associated with Alaskan oysters. *New England Journal of Medicine*, 353: 1463 - 1470.
- Mead, P. S. , Slutsker, L. , Dietz, V. , McCaig, L. F. , Bresee, J. S. , Shapiro, C. , Griffin, P. M. & Tauxe, R. V. 1999. Food-related illness and death in the United States. *Emerging Infectious Diseases*, 5: 607 - 625.
- Miles, D. W. , Ross, T. , Olley, J. & McMeekin, T. A. 1997. Development and evaluation of a predictive model for the effect of temperature and water activity on the growth rate of *Vibrio parahaemolyticus*. *International Journal of Food Microbiology*, 38: 133 - 142.
- Miwa, N. , Nishio, T. , Kawamori, F. , Masuda, T. & Akiyama, M. 2003. Evaluation of MPN method combined with PCR procedure for detection and enumeration of *Vibrio parahaemolyticus* in seafood. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*, 44: 289 - 293.
- Nair, G. B. , Ramamurthy, T. , Bhattacharya, S. K. , Datta, B. , Takeda, Y. & Sack, D. A. 2007. Global dissemination of *Vibrio parahaemolyticus* O3: K6 and its serovariants. *Clinical Microbiological Reviews*, 20: 39 - 48.
- Nakaguchi, Y. & Nishibuchi, M. 2005. The promoter region rather than its downstream inverted repeat sequence is responsible for low-level transcription of the thermostable direct hemolysin-related hemolysin (trh) gene of *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of Bacteriology*, 187: 1849 - 1855.
- Nishibuchi, M. & Kaper, J. B. 1995. Thermostable direct hemolysin gene of *Vibrio parahaemolyticus*: a virulence gene acquired by this bacterium. *Infection and Immunology*, 63: 2093 - 2099.
- Nordstrom, J. L. , Vickery, M. C. L. , Blackstone, G. M. , Murray, S. L. & DePaola, A. 2007. Development of a multiplex real-time PCR assay with an internal amplification control for the detection of total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in oysters. *Applied and Environmental Microbiology*, 73 (18): 5840 - 5847.
- Pan, T. M. , Chai, T. -J. , Lee, C. L. , Chien, S. W. & Horng, C. B. 1997. Foodborne disease outbreaks due

- to bacteria in Taiwan, 1986 to 1995. *Journal of Clinical Microbiology*, 35 (5): 1260 - 1262.
- Parveen, S. , Tamplin, M. L. , da Silva, L. V. A. , White, C. , Bowers, J. C. , Rutto, G. & DePaola, A. 2007. Predictive models for the growth and survival of total *Vibrio parahaemolyticus* in Gulf Coast shellstock oysters. pp. 176 - 177, in: Abstracts of the 94th Annual Meeting of the International Association for Food Protection, Lake Bueno Vista, Florida, United States of America.
- Sakazaki, R. , Iwanami, S. & Tamura, K. 1968. Studies on enteropathogenic facultatively halophilic bacterium, *Vibrio parahaemolyticus*. II Serological characteristics. *Japanese Journal of Medical Science and Biology*, 21: 313 - 324.
- Sanyal, S. C. & Sen, P. C. 1974. Human volunteer study on the pathogenicity of *Vibrio parahaemolyticus*. pp. 227 - 230, in: T. Fujino, G. Sakaguchi, R. Sakazaki and Y. Takeda. (editors) . International Symposium on *Vibrio parahaemolyticus*. Saikon Publishing Company, Tokyo.
- Takikawa, I. 1958. Studies on pathogenic halophilic bacteria. *Yokohama Medical Bulletin*, 9: 313 - 322.

技 术 报 告

第一部分

生蚝中副溶血性弧菌的 微生物学风险管理

引言和研究范围

研究目的

本项评估的目的是使用美国在生食牡蛎携带的副溶血性弧菌对公共卫生影响的风险评估 (FDA - VPRA) (《生食软体贝类副溶血性弧菌公共卫生影响的风险评估草案》) (FDA, 2005) (《生食牡蛎致病性副溶血性弧菌公共卫生影响的定量风险评估》) 中建立的模型来估算食用牡蛎在其他国家的致病风险。

研究面临的约束

本项研究刚启动时, 我们希望许多国家能够提供研究所需的国别数据, 然而只有澳大利亚、加拿大、日本和新西兰最终参与到该项研究中来, 而且这几个国家也只能提供模型所需的部分数据。我们使用美国的替代数据来补充模型所需数据中不足的部分, 这是当前研究中一个主要的约束。本研究项目的主要理论基础是美国食品药品监督管理局发表于 2005 年的《生食牡蛎致病性副溶血性弧菌公共卫生影响的定量风险评估》报告^①。

I - 1 危险识别

副溶血性弧菌是一种原生于河口水域, 遍布全球的海洋微生物。1950 年在日本, 副溶血性弧菌第一次被确认为食源性病原体 (Fujino 等, 1953)。到 19 世纪 60 年代末和 70 年代初, 副溶血性弧菌已经在世界范围内被公认是导致腹泻的一种病菌, 当时副溶血性弧菌导致腹泻病的现象在亚洲和美国最为常见。最近一段海产品消费的历史与副溶血性弧菌感染现象存在一致。弧菌通常在蚝、蚌、牡蛎、贻贝等滤食性贝类的内脏聚集, 并在这些贝类的内脏中繁殖, 然后附着在一起。虽然通过烹饪能够消灭这些弧菌, 但是至少在美国, 与副溶血性弧菌感染联系最紧密的牡蛎通常是生食的 (Hlady, 1997)。日本的早期研究表明 96% 的临床菌系都能分泌一种耐热直接溶血素 (TDH), 但只有 1% 的野外菌系能产生这种溶血素 (Sakazaki 等, 1968)。因此, 科研人员通常采用不能产生耐热直接溶血素的临床菌系来生产一种耐热直接溶血素相关溶血素 (TRH) (Honda 等, 1988)。目前, 人们通常认为同时产生 TDH 和 TRH 的菌落对于人类来说是一种致病菌。虽然许多血清类型都可能与人类患病相关, 但是, 最近在几个不同的国家, 人们发现血清型在 O3 : K6 之间的弧菌是几次突发疫病的病原体 (Nair 等, 2007)。

I - 1.1 人类发病率

在亚洲, 副溶血性弧菌是一种很常见的食源性疾病致病菌。这种病菌导致疾病的发病

① 参见 <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/ResearchAreas/RiskAssessmentSafetyAssessment/ucm050421.htm>.

规模通常较小，涉及的病例一般不超过 10 例，但发病概率较高。在 1994 年之前，副溶血性弧菌导致的发病率在日本不断下降，然而据记载，在 1994 年和 1995 年期间，由其导致的发病病例有 1 280 例 (Anon. , 1999a)，并且在此期间，副溶血性弧菌导致的食物中毒次数也比由沙门氏菌造成的食物中毒次数多。从 1996 年到 1998 年，据日本卫生、劳工与福利部报告，副溶血性弧菌共导致了 496 次突发疾病，涉及 24 373 个病例 (数据来源：日本卫生、劳工与福利部)。通常，夏天的发病率更高，尤其是在 8 月份。煮熟的蟹类曾导致过一次较大规模的发病，涉及 691 个病例。O3: K6 血清变型致病率的增加导致了 1997 到 1998 年间总发病率的增加。

在 1986 到 1995 年间，中国台湾省有 197 次食源性疾病发病是由副溶血性弧菌引起的 (Pan 等, 1997)，而在 1997 年，该发病情况报道超过 200 次，其中盒饭午餐导致的发病有 146 例 (Anon. , 1999b)。

在 1997 到 1998 年期间，美国有超过 700 例由副溶血性弧菌致病的病例，其中的大部分都与生食牡蛎有关。1998 年副溶血性弧菌 O3: K6 的一种血清型在两次突发疾病中第一次成为致病的主要因素，这种情况原先只在亚洲报道过。随后对这些弧菌的研究揭示了它们的广泛传播。研究认为较高的水温是这两次突发疾病的主要原因。

欧洲几乎没有副溶血性弧菌感染病发病率的数据，其中一个原因是该类感染不需要向当局报告。然而，有关此类致病的信息已经呈现在《科技委员会关于防止生的和未煮熟的海产食品中创伤弧菌和副溶血性弧菌危及公共健康的兽医措施的意见》(欧盟委员会, 2001)。文中的数据总结在表 I-1 中。

I-1.2 涉及的食物

副溶血性弧菌出现在多种鱼类和贝类体内，包括蚌、蛤、小虾、龙虾、淡水螯虾、扇贝、螃蟹和牡蛎。虽然在某些国家牡蛎是与弧菌病关联度最高的海产食品 (Hladý, 1997)，但也有与副溶血性弧菌病相关的其他类型的海产食物的报告。其中，1992 年到 1993 年间的报告采用了对照研究的方法，研究人员分组研究了美国路易斯安那州和得克萨斯州海岸地区弧菌病的发病情况，研究表明 50% (5/10) 食用淡水螯虾的人都感染了副溶血性弧菌病 (Bean 等, 1998)。1974 年和 1975 年间，两艘加勒比邮轮报告了其船上副溶血性弧菌胃肠炎的发病情况 (Lawrence 等, 1979)。这两次发病最可能是由船上海水消防系统污染了已煮熟的海产品造成的。

根据估算，1972 年在美国路易斯安那州 1 200 个参加过虾宴的人中约有 50% 患上副溶血性弧菌胃肠炎 (Barker 和 Gangarosa, 1974)，并且生虾的样本检测显示微生物呈阳性。

1971 年，美国的马里兰州发生了三起弧菌病 (Dadisman 等, 1972)。这三起弧菌病中的两起与蒸蟹有关，究其原因是蒸蟹与生蟹的交叉污染。

第三起弧菌病与蟹肉有关，蟹肉在装罐之前和装罐时受到了污染。最近，亚得里亚海的抽样研究证实了溶血性弧菌确实存在于鱼类、蚌类上 (Baffone 等, 2000)。

在最近一项对西班牙西北海岸蚌类的研究中，研究人员从 8% 的蚌类样本中分离出副溶血性弧菌 (欧盟委员会, 2001)。

表 I - 1 欧洲副溶血性弧菌致病感染的现有可获得的数据

国 家	时 间	病例数	症 状	数据来源
丹麦	1987—1992	13	伤口感染	Hornstrup 和 Gahrn-Hansen, 1993
		10	耳朵感染	
丹麦	1980—2000	2		丹麦哥本哈根国家血清研究所
英格兰和威尔士, 英国	1995—1999	115		英国公共卫生科林戴尔实验室
法国	1995—1998	6	肠胃炎	Geneste 等, 2000
		1	败血病	
法国	1997	44	肠胃炎 (1)	Lemoine 等, 1999
北爱尔兰, 英国	1990—1999	0		英国北爱尔兰传染病监督中心
苏格兰, 英国	1994—1999	6		
西班牙	1995—1998	19	肠胃炎	Anon., 1996
				Anon., 1998b
瑞典	1992—1997	350	肠胃炎 (2)	Lindquist 等, 2000
挪威	1999	4		未公布的数据

注: (1) 其中有一次发病与从亚洲进口的海产食品有关。

(2) 其中有一次发病与从中国进口的淡水螯虾有关。

资料来源: 欧盟委员会, 2001。

I - 2 接触评估

此项接触评估采用美国食品药品监督管理局在牡蛎携带的副溶血性弧菌对公共卫生影响的风险量化评估中建立的模型 (FDA - VPRA) (FDA, 2005), 目的是确定美国、加拿大、日本、新西兰和澳大利亚的消费者因为生食牡蛎而接触到致病的副溶血性弧菌的数量。该模型采用了模块方法, 包含了捕捞—捕捞以后—食用的连续过程。图 I - 2 和图 I - 6 列示了模型研究路径的示意图。

I - 2. 1 微生物生态学

从热带到温带的河口和海岸等环境中都能找到副溶血性弧菌。人们认为它是这些环境中土生的微生物, 并认为它与环境中存在的粪便污染没有关联 (Kaneko 和 Colwell, 1977; Joseph 等, 1982)。人们已经从海水、沉淀物、海生动物、浮游生物以及各种鱼类和贝类中分离出了副溶血性弧菌 (Joseph 等, 1982)。人们已经从许多种鱼中分离出了这种微生物, 并且主要存在于鱼类的肠内容物中 (Nair 等, 1980)。

因此, 副溶血性弧菌自然就出现在贝类繁育和捕捞的区域。某些区域有如温度、盐

度、浮游动物、潮水冲洗力（包括低潮时贝类的曝光情况）和溶解氧等方面更适宜的环境条件，有助于副溶血性弧菌的出现、生存和生长（Amako 等，1987；Garay 等，1985；Kaneko 和 Colwell，1977；Venkateswaran 等，1990）。在温带水域，夏天常常能检测到副溶血性弧菌，冬天的时候它则存活于水域的沉积物中（Kaneko 和 Colwell，1977）。然而，在热带水域中，一整年都能检测到副溶血性弧菌的存在（Natarajan 等，1980；Deepanjali 等，2005）。

虽然在温带水域中，盐度和温度都被认为是影响副溶血性弧菌存在和存活数量的重要因素（Kaneko 和 Colwell，1977；De Paola 等，2003），但是在热带水域中盐度则是主要影响因素（Deepanjali 等，2005）。副溶血性弧菌能在氯化钠浓度在 0.5% 到 10% 之间的水域中生长，其中最适于它生长的氯化钠浓度在 1% 到 3% 之间（Colwell 等，1984）。在低盐的河口水域条件下，副溶血性弧菌能高效的吸附在浮游生物或含甲壳素的材料上（Kaneko 和 Colwell，1975）。

已经有数个关于水生贝类动物中养殖区域副溶血性弧菌生长密度的研究公开发表（Davis 和 Sizemore，1982；Deepanjali 等，2005；DePaola 等，1990；Kaneko 和 Colwell，1977；Kaysner 等，1990a, b；Kaysner 和 Weagant，1982；Kelly，1999；Levine 等，1993；Ristori 等，2007）。有研究报告表明牡蛎体内有针对副溶血性弧菌的噬菌体，这些噬菌体可能在宿主大量存在方面起到了一定作用（Comeau 等，2005）。

“新”的副溶血性弧菌菌株有几种可能的途径进入水生贝类动物养殖区：

- 通过陆栖和水生动物传播，这其中有一些动物会藏匿有毒菌株的传播，但他们充当了传播的中介（Sarkar 等，1985）；
- 通过“重新放置”贝类，或者；
- 通过压舱水传播。货船一般会在出发地的水域中装载大量的压舱水（106 升）。虽然随意排放压舱水被认为是不可接受的行为，但是人们还是有可能在装货前或装货时直接排放压舱水，如此副溶血性弧菌也会被释放到装货港水域中。一个研究报告指出在停靠在墨西哥湾的一艘货船的非引用水中发现了霍乱弧菌菌株，这些菌株与拉丁美洲的霍乱疫情菌株没有区别，这意味着霍乱疫情菌株通过压舱水传播到了墨西哥湾（McCarthy 和 Khambaty，1994）。副溶血性弧菌也可以通过类似的机制传播。

I - 2.2 副溶血性弧菌生长和存活特征

副溶血性弧菌是轻度喜盐、嗜常温的微生物，它生长的一般特征如表 I - 2 所示（国际食品微生物标准委员会，1996）。温和的气温和中等盐度有助于副溶血性弧菌的存活和生长（Covert 和 Woodburne，1972；Jackson，1974；Nair 等，1980；Zhu 等，1992），并且由其导致的贝类动物源性疾病也发生在气温较高的月份。这种情况在美国、亚洲和欧洲都有发现（Daniels 等，2000；Geneste 等，2000）。

表 I-2 副溶血性弧菌的生长特征

	最优	范围
温度 (°C)	37	5~43
pH	7.8~8.6	4.8~11
NaCl (%)	1.5~3.0	0.5~10
水活性 (A _w)	0.981	0.940~0.996
大气	好氧	好氧—厌氧

数据来源：国际食品微生物标准委员会，1996。

虽然与副溶血性弧菌相关的食源性疾病的发病在欧洲报道的相对较少，但欧洲有许多研究表明温度对于弧菌的存活和生长至关重要。在意大利，一个有关海水和贝类的研究持续了两年，研究发现弧菌菌株在夏季最为常见（Crocchi 等，2001）。另一项研究在挪威水域中展开，研究发现只有在7月和8月才能检测到副溶血性弧菌（Gjerde 和 Bøe, 1981）。

在法国，在建在海边的核电站附近的开展的水生生物监测表明，最惊人的影响就是弧菌的密度。在建立核电站后，密度增加了100倍，处于每升10⁵的水平。而且弧菌密度在冬季的下降幅度也降低并且在沉积物中“越冬”现象将不再存在（Gregoire 等，1993）

I-2.2.1 生长率

副溶血性弧菌生长迅速，在20°C和30°C间的蟹肉里，它的数量可以在27分钟内翻一番（Liston, 1974）。有研究记录并总结了副溶血性弧菌在一系列海产食品和含盐度（NaCl）为2.5%的胰酶大豆肉汤中的生长速度（国际食品微生物标准委员会，1996）。这些数据表明如果在两到3个小时以内，环境温度保持在20~30°C，海产食品中副溶血性弧菌的数量可以从适度的10²~10³个/克增加到大于10⁵个/克（国际食品微生物标准委员会，1996）。

根据对处于不同温度和水活性环境中的四个菌株的研究，Miles 等（1997）对副溶血性弧菌的生长率进行了建模。他们用 Gompertz 函数对弧菌在每个温度和水活性的组合中的生长率进行建模。Gompertz 函数是一个 S 型生长曲线，在降到 0 之前，Gompertz 曲线的生长率（斜率）单调递增直到最大，之后因为弧菌的种群数量达到稳态生长率降为 0。

研究采用二级平方根模型估计环境参数对最大生长率的影响：

$$\mu_m = \frac{b * (T - T_{min}) * [1 - \exp(c * (T - T_{max}))] * \sqrt{(a_w - a_{w,min}) * [1 - \exp(d * (a_w - a_{w,max}))]}}{\sqrt{\ln(10)}}$$

其中：

μ_m 为生长率最大值 (log₁₀ 每分钟)，

a_w 为水活性，

T 为温度 (绝对温度)，

b 、 c 和 d 都是需要估计的系数，并且

$a_{w,min}$ 和 $a_{w,max}$ 为理论上水活性最低值和最高值。

根据生长最快菌株获得的数据，参数估计的结果是： $b=0.0356$ ； $c=0.34$ ； $T_{min}=278.5$ ；

$T_{\max}=319.6$; $a_{w,\min}=0.921$; $a_{w,\max}=0.998$; $d=263.64$ 。

T_{\min} 、 T_{\max} 、 $a_{w,\min}$ 和 $a_{w,\max}$ 等参数描述了副溶血性弧菌能够生长的温度和水活性的区间。Miles 等 (1997) 通过将模型预测的副溶血性弧菌生长速度与其他 8 个研究肉汤培养液文献中观察的副溶血性弧菌生长速度比较,证实了该模型的有效性。

文中一图示了模型 μ_m 的预测结果, μ_m 或者是温度的或者是水活性的单峰函数, 这个单峰函数的最大值和 0 生长率处于适于副溶血性弧菌生长的温度和水活性的范围之外。为使用该等式预测牡蛎中副溶血性弧菌的生长率, 假定牡蛎的水活性不会发生较大变化。因此, 把水活性值设定在能最优预测肉汤模型的 0.985, 在该 26°C 的水活性值下副溶血性弧菌生长率预测值为每小时 0.84log10 个。这个速度是 26°C 时所观测到的牡蛎中副溶血性弧菌生长率的 4 倍 (Gooch 等, 2002)。根据这个观测, 将除 26°C 以外其他温度下肉汤模型中副溶血性弧菌生长率除以 4 就可以得出牡蛎中副溶血性弧菌生长率的预测值。

据假定, 副溶血性弧菌在牡蛎中的生长速度是与其所处环境温度成恒比。在风险评估中, 这个比例变为一个服从三角形分布的不确定的参数, 这个参数在 3~5 的区间内, 均值为 4。该参数能够评估副溶血性弧菌在牡蛎和在培养基模型中相对生长率大小的敏感程度方面的结论, 但并不能完全解决不确定性, 因为迄今为止, 可以想到这个相对生长率可能和温度相关。

在捕捞以后, 牡蛎逐渐发生变化, 所以在模型中引入副溶血性弧菌生长率的停滞期不大可能。因此, 对于牡蛎, 假定副溶血性弧菌的生长率从平均温度预测出的某个最大值开始, 随时间变化, 直到达到一个稳定状态。这可以采用如下公式建模:

$$\log_{10} (N(t)) = \min \{ \log_{10} (N(0)) + \mu_m * t, A \}$$

该模型类似于 Einarsson (1994) 的模型, 也类似于三阶段对数线性模型 (Buchanan 等, 1997), 但是该模型没有包括停滞期, 模型中的 $N(t)$ 表示在给定的捕获后 (t) 时刻副溶血性弧菌的密度, A 是副溶血性弧菌在牡蛎中所能达到的最大密度的自然对数, 与前文一样参数 μ_m 是环境温度和活性的函数。

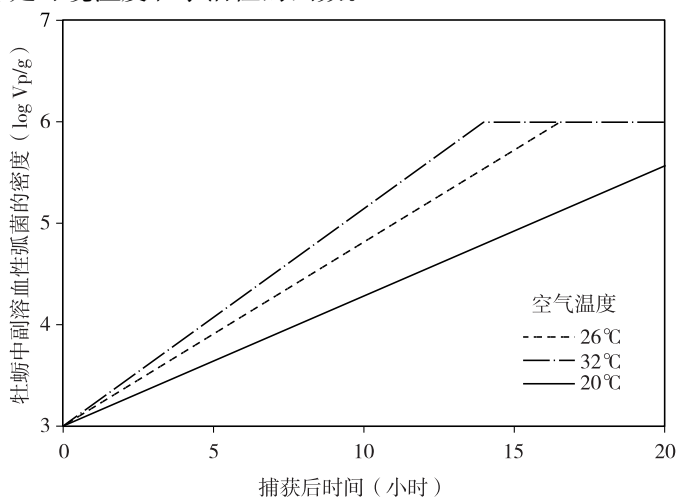


图 I-1 模型预测的副溶血性弧菌密度从最初的 1 000 个每克 (3log10) 开始随环境中空气温度变化的对数线性增长情况

据观测,在 26℃ 的牡蛎中经过 24 小时,副溶血性弧菌的密度达到最大值,约为每克 $6.0 \log_{10}$ 。我们把这个值设定为上述模型中所有温度下的最大密度 (A)。图 I-1 显示了副溶血性弧菌密度从最初的 1 000 个每克开始三个不同温度 (20℃、26℃ 和 32℃) 的环境中每增加 \log_{10} 后密度随时间的变化情况。

在上面的等式中,用带壳牡蛎肉的温度来确定参数 μ_m 的平均温度最为理想。很明显牡蛎肉的温度取决于捕捞时空气和水的温度。捕捞之后的牡蛎肉温度将逐渐和空气的温度持平,因此使用空气温度代替牡蛎肉的温度。

I-2.2.2 死亡与灭活

虽然已经有副溶血性弧菌生态学方面的研究 (Joseph 等, 1982; Kaneko 和 Colwell, 1977), 但是人们对于它在带壳牡蛎中的存活和生长情况依然知之甚少 (Cook 和 Ruple, 1989)。相比之下, 研究人员对于捕捞后带壳牡蛎中的创伤弧菌的生长情况 (Cook, 1994, 1997a) 和减少创伤弧菌各种策略的有效性研究的更多 (Cook 和 Ruple, 1992; Eyles 和 Davey, 1984; Motes 和 DePaola, 1996; Richards, 1988; Son 和 Fleet, 1980)。其中减少创伤弧菌的策略包括包括净化、重新放置、冷藏、高压和轻微热处理。有一些关于不同贝类净化的研究表明, 净化并不能有效地减少副溶血性弧菌, 并且在某些贝类中, 净化甚至有可能使它的数量增加。

I-2.3 副溶血性弧菌在水、沉淀物和贝类中的存活情况

副溶血性弧菌的存活与一些微粒、浮游生物和其他甲壳素来源有关 (Kaneko 和 Colwell, 1977; NACMCF, 1992; Venkateswaran 等, 1990)。已经有多个研究表明弧菌属能在某些原生动物中存活并繁殖, 如在变形虫中 (Abd 等, 2005; Barker 和 Brown, 1994)。还有研究报告表明, 在冬季副溶血性弧菌会从水柱和牡蛎中出来, 躲在在沉积物中“过冬” (Joseph 等, 1982; Kaysner 等, 1989; HHS, 1995)。在夏季, 平均而言贝类动物中的副溶血性弧菌数量比水中的多 200 倍 (DePaola 等, 1990; Kaysner 等, 1990a), 因此, 冬季应该监测沉积物而夏季则监测贝类动物肉。在极端的环境条件下, 包括副溶血性弧菌在内的弧菌属都可能在海水中进入一种“活的非可培养状” (VBNC) 的阶段, 这种阶段可能会被传统的培养方法漏掉 (Bates 等, 2000; Colwell 等, 1985; Oliver, 1995; Xu 等, 1982)。这个问题目前仍然存在争议。采用基因探针的方法能够检测出大部分的病毒菌株, 因此在监测项目中很有用 (Gooch 等, 2002)。然而, 有一些病毒基因, 如 trh 基因, 也可能出现在其他弧菌中, 如溶藻弧菌和哈维氏弧菌 (Gonzalez-Escalona 等, 2006; Masini 等, 2007)。

微生物通过贝类的滤食进入到贝类动物的体内, 因此有助于滤食行为增加的因素会提高病原体的吸收 (Murphree 和 Tamplin, 1991)。贝类动物的种类及其生理机能 (例如, 性成熟程度、免疫功能、代谢状态) 都会影响致病性弧菌在贝类动物体内的存活和生长 (Fisher 和 Di Nuzzo, 1991; Kothary 等, 1997; La Peyre 和 Volety, 1999; Ordas 等, 1998; Volety 等, 1999)。

牡蛎体内的寄生虫—帕金虫同样会影响细菌在牡蛎的组织上的吸附状况, 也会影响牡蛎的血细胞杀死体内的微生物 (Kothary 等, 1997; La Peyre 和 Volety, 1999; Tall 等,

1999)。如产卵和恶劣的环境条件（包括三丁基氧化锡、多环芳香烃和木材防腐液）等因素会减少甚至停止贝类动物的滤食。选择性摄食（例如新的营养源）通过影响牡蛎的生理功能以及牡蛎和细菌之间的相互作用，从而可能会阻碍或减缓贝类动物吸收副溶血性弧菌（Sujatha 等，1996；Weinstein，1995；Wendt 等，1996）。

病毒或非病毒菌株是否也类似受环境和其他因素影响尚不清楚。相对于其他菌株，尿素酶基因的存在使得弧菌能够吸收范围更广的营养成分，从而可能会为其提供更有竞争力的环境优势（Abbott 等，1989）。研究人员已经确认脲酶阳性株是导致美国西海岸和墨西哥弧菌胃肠炎发病的主要原因（Abbott 等，1989）。副溶血性弧菌的菌毒力岛（毒力相关基因的物理群组）可能会促进它的微进化，提高它存活和生长的能力，并且通过基因水平转移将一些因素（包括毒性）传递给其他菌株（Frischer 等，1990；Ichige 等，1989；Iida 等，1998）。噬菌体也有可能改变弧菌的基因（Baross 等，1978；Hurley 等，2006；Ichige 等，1989；Wang 等，2006）。

由于上述多种因素都有可能导致某个区域内病毒菌株的聚集，因此在捕捞牡蛎前，有必明确牡蛎体内以及养殖牡蛎区域内副溶血性弧菌的分布和数量变化情况。在 1998 年美国的发病情况中，在太平洋西北部华盛顿州胡德运河中捕获的贝类携带的创伤弧菌所导致的发病占总数的 67%（Thieren，1999）。在美国的墨西哥湾海岸地区，2/3（20/30）的捕捞地都有发病情况，二在大西洋东北部地区，只有牡蛎湾港口一个捕捞区出现发病情况（CDC，1999）。

在对包括牡蛎（太平洋牡蛎）、蚌类（紫贻贝）和蛤蜊（蛤仔）在内的 141 个贝类样品的分析结果显示副溶血性弧菌出现的概率为 11.3%，创伤弧菌出现的概率为 1.4%。在对样本进行副溶血性弧菌分离后，15 个牡蛎和 1 个蛤蜊中再次出现副溶血性弧菌（Bouchriti 等，1995）。

I-2.4 食用牡蛎

任何生食牡蛎的人都有感染副溶血性弧菌的“风险”，在本书的 I-3.1 部分将详细描述副溶血性弧菌宿主的特征。贝类的摄入数据能够从很多的政府和非政府数据来源获得，但是尽管这种消费数据很稀少，最近已经引起欧洲相关方面的关注（欧盟委员会，2001）。因为在许多国家贝类并不是一种常见的食品，比如在美国，大约只有 10%~20% 的人一年会至少会生食贝类一次，因此一些消费数据通常是基于很少的部分报告消费的食用过的人。美国农业部（USDA）开展的个人食物摄入量的持续调查（CFS II）和美国市场研究公司开展的食物摄取频率调查（Degner，1998）表明美国人平均每隔 6 周食用一次生蚝，其中，平均每次食用生蚝 196 克，或者大约 6 个生蚝（TAS，1995）。贝类食物的摄入分布情况可以从食物摄入量调查、食物摄取频率调查、贝类卸货报告以及生食占有食用贝类比例的行业估计等资料中获取。

I-2.5 副溶血性弧菌接触评估建模

I-2.5.1 建模方法

模型用 4 个因素进行接触评估：

- 捕获时海产食品中携带致病性溶血性弧菌的数量；
- 捕获之后处理和加工的影响；
- 溶血性弧菌繁殖到能产生感染性数量的能力；和
- 人们食用海产食品时摄入的致病性溶血性弧菌的数量。

在亚洲，溶血性弧菌是导致食源性疾病发生一个常见原因。这种疾病的发病规模小，通常涉及的病例都少于 10 例，但发病频率较高。在 1994 年之前，溶血性弧菌感染致病的数量在日本逐渐减少，然而在 1994 年到 1995 年期间，溶血性弧菌导致了 1 280 起发病情况 (Anon., 1999a)，并且在此期间，溶血性弧菌引起的食物中毒次数超过了沙门氏菌食物中毒。从 1996 年到 1998 年，溶血性弧菌引起的发病 496 次，共涉及病例 24 373 例，而从 1999 年到 2005 年，病例增加到 25 211 例 (数据来自日本卫生、劳工与福利部)。通常，夏季更容易出现溶血性弧菌引起的发病，尤其是在 8 月份。煮蟹曾导致了一次大规模的发病，涉及 691 个病例。研究人员认为血清型 O3: K6 致病率的增加导致了 1997 年至 1998 年期间发病率的增加。

在 1986 至 1995 年期间，中国台湾省共发生 197 起由溶血性弧菌引起的食源性疾病 (Pan 等, 1997)，1997 年发病次数超过 200 起，其中包括一次由盒饭午餐引起的发病，涉及 146 病例 (Anon., 1999b)。

在 1997 年至 1998 年期间，美国由溶血性弧菌引起疾病的病例超过 700 多例，其中的大部分都与生食牡蛎有关。在 1998 年的两次发病中，一种先前只在亚洲报道过的，血清型为 O3: K6 的溶血性弧菌第一次成为致病的主要原因。随后对该菌株的研究揭示了该菌株会造成流行病的传播。研究表明高于通常情况下的水温是导致这两次发病的主要原因。

欧洲几乎没有溶血性弧菌病发病率的数据，其中一个原因是该类疾病不需要向当局报告。然而，有关此类疾病发病的信息已经呈现在《科技委员会关于防止生的和未煮熟的海产食品中创伤弧菌和溶血性弧菌危及公共健康的兽医措施的意见》(欧盟委员会, 2001)。

由于数据类型的原因，接触评估模型分为两个单独的模块：捕获模块；和包含零售和使用的捕获后模块。

模型识别出影响溶血性弧菌致病风险的因素，并分别适当地将它们融合到两个模块中。

日本、澳大利亚和新西兰牡蛎捕捞区域的水温较低。根据可获取的数据，可以得出每月的平均水温和标准偏差。从这些汇总数据，研究从每 3 个月的平均温度中随机选出 30 个，即共 90 个可能的温度值，对每个季节都做了模拟分析。我们计算并保存了模拟数据的均值和标准差。我们不断重复这个过程，直到 1 000 个“季节”的均值和标准差可用于对选定的繁殖区做变异性和不确性的模拟：日本的广岛湾、澳大利亚的沃利斯湖和新西兰的奥龙戈湾。

I - 2.5.2 模型假设

在 FAO 和 WHO 当前的风险评估中，迄今为止开展的工作，包括研究做出的假定，都由 2001 年 7 月召开的 FAO 和 WHO 食物中微生物风险评估联合专家咨询会的专家审阅过 (FAO/WHO, 2001)。

捕获模块假设

根据当前可获得的信息，耐热直接溶血毒素基因（tdh）被用作病原。目前还不清楚各国和地区贝类中含有 tdh 阳性菌株的平均数量。在副溶血性弧菌风险评估中，根据已经观测的 tdh+菌株分离的频率估算的平均数量，可能是从现有数据能得出的最好的估计。然而，由于目前还不清楚在不同的年份里这个频率会发生怎样的变化，因此，模型假设其服从一个双重向上或向下的三角形分布。

在一个给定的年份里，不同组合的牡蛎之间的致病性副溶血性弧菌的比例也存在不确定性。例如，在一个给定的年份中，如果将太平洋沿岸除去（此处的百分比为 2%到 4%），美国致病性副溶血性弧菌的比例在 0.1%到 0.3%之间。然而，由于致病性副溶血性弧菌的百分比频数可能随着新致病菌株的出现和再出现二发生变化，比如血清型为 O3: K6 的副溶血性弧菌的出现以及如血清型为 O4: K12 的已知致病弧菌的再次出现，因此基于历史数据做出的这些估算可能无法预测未来年份的比例。人们还注意到，致病菌株的出现可能随着区域的变化而变化。例如上文提到的菌株在亚洲出现的频率高于美国（FAO/WHO, 2001）。

捕获后模块的假设

根据当前捕获后的实践和各国可获得的信息，我们对该模块做出了几个假设。首先，我们根据 1997 年开始实施的美国国家贝类卫生计划（NSSP）的要求（贝类环境卫生州际委员会和美国食品药品监督管理局，1997）确定牡蛎捕获后到冷藏的时间间隔。在牡蛎捕获后直到冷藏期间副溶血性弧菌的生长率取决于如下三个因素：

- 副溶血性弧菌生长率是温度的函数；
- 捕获后牡蛎肉的温度；和
- 捕获后牡蛎处于非冷藏状态的时间。

假设在两种培养液中所有温度下，牡蛎中致病性副溶血性弧菌的生长率都是 25%。同时，由于在捕捞以后（在牡蛎肉中）副溶血性弧菌不会改变它们的生长环境，我们假定滞后时间可以忽略，因此增长模型中省略了滞后时间。美国墨西哥湾海岸水产食品实验室（GCSL）的初步研究表明致病和非致病性副溶血性弧菌菌株的生长率没有显著的差异。

由于至今没有找到供市场出售的带壳牡蛎冷却速率方面的数据，因此假定将牡蛎冷藏后的冷却时间各不相同。冷却速率取决于冷藏箱的性能、牡蛎的数量和冷藏箱的设置。模型假定牡蛎冷却时间服从区间为 [1, 10]（小时）的均匀分布。这个假定是根据美国墨西哥湾海岸水产食品实验室（GCSL）所做的初步实验做出的，实验测算了一只温度为 30℃ 的带壳牡蛎置于 3℃ 的冷藏箱中牡蛎温度降低到 3℃ 所需的时间，实验还将 24 只 26℃ 的牡蛎盛放于不保温的塑料容器中，测算了牡蛎从 26℃ 降到 3℃ 所需的时间。其他国家的冷却时间主要根据业界的民间信息中获得，而且必须注意，在一些国家牡蛎捕获后的并没有进行真正意义上的冷藏。例如，在澳大利亚使用该评估的地方，捕获以后，牡蛎被存放在一个有空调的建筑中，而不是冷藏室。

为了使模型保持简洁，假定各国所有区域中敏感人群和健康人群的消费模式相同。与早期研究中志愿者进食结果相同，模型假定在相同剂量下所有副溶血性弧菌的病毒性或致病性菌株的毒性相当。这个假定是基于与日本东京大学的西泷光昭沟通的结果，他指出，由于缺乏足够的信息，因此无法判断不同菌株的毒性是否相同。

I-2.6 捕获模块

虽然目前已经识别出在捕获时影响牡蛎中致病性副溶血性弧菌潜在数量的许多因素，但是仍然不能获得足够的资料将所有这些因素融合成一个预测模型。在捕获模型模拟实验中加入一个环境因素作为副溶血性弧菌数量的一个预测指标，需要明确副溶血性弧菌数量与该指标的关系及其在环境中随区域和时间变化而产生的差异。此外，由于致病性副溶血性弧菌出现的相对较少以及检测方法的局限，目前对于致病性副溶血性弧菌的分布情况还知之甚少。因此，在构建捕获模块模拟试验中存在的一个关键问题是采用根据所有副溶血性弧菌预测分布来弥补数据的缺失，并导出捕获时牡蛎中致病性副溶血性弧菌的预测分布。图 I-2 描述了捕获模块建模是所考虑的所有参数。

捕获时影响牡蛎中致病性副溶血性弧菌数量的主要潜在因素是水温和盐度，下文将对这两个因素进行更详细的阐述。初步的分析表明，相对而言水温起着更为决定性的作用，因此在图 I-2 中用散点圈表示。

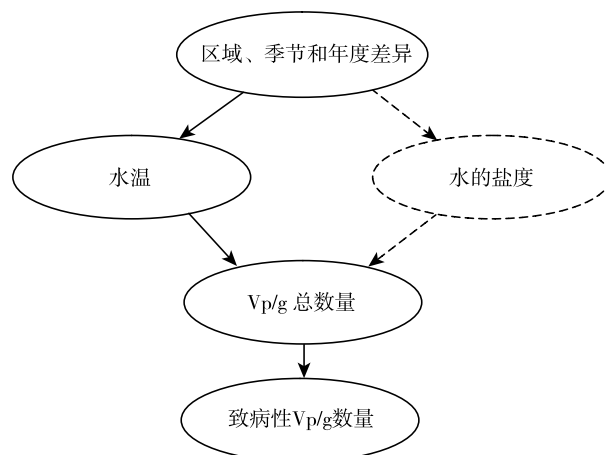


图 I-2 捕获模块中副溶血性弧菌 (Vp) 风险评估模型示意图

I-2.6.1 水温和盐度对牡蛎中是否存在副溶血性弧菌的影响

已经有许多人开展过关于牡蛎中是否存在副溶血性弧菌的研究，但是其中许多研究只报告了是否存在副溶血性弧菌，因此这些研究对于定量风险评估作用有限 (Hariharan 等, 1995; Kelly 和 Stroh, 1988a; Kiiyukia 等, 1989)。在美国，虽然有些研究测量了牡蛎中副溶血性弧菌的数量，但是这些研究的样本要么仅仅来自于一个河口或港湾 (Chan 等, 1989; Hariharan 等, 1995; Kaysner 等, 1990b; Kelly 和 Stroh, 1988a, b; Kiiyukia 等, 1989; Tepedino, 1982)，要么就是样本没有季节性 (Chan 等, 1989; Kaysner 等, 1990b; Tepedino, 1982)，要么就是研究没有报告盐度和温度 (Chan 等, 1989; Tepedino, 1982)，因此这些研究对定量风险评估作用同样有限。表 I-3 列出了总结了这类研究。

目前用于测算副溶血性弧菌数量的方法还存在一些局限。有一个研究评估了 4 种测算自然海水和牡蛎中副溶血性弧菌数量的方法，发现采用不同测算方法测出的副溶血性弧菌恢复数量有相当大的差异，其中用一个疏水网格膜过滤方法测算出的恢复数量最多

(DePaola 等, 1988)。在随后的一个研究中, DePaola 等人 (1990) 采用了疏水网格滤膜法 (HGMF), 该方法由 Watkins 等 (1976) 建立, 随后 Entis 和 Boleszczuk (1983) 对其进行了改进。

表 I-3 牡蛎、沉积物和水中的副溶血性弧菌 (Vp) 存活和数量调查

地点	时间	样本来源	Vp 数量	检测到 Vp 牡蛎的比率	样本存活环境	参考文献
加拿大大不列颠哥伦比亚省	7~8 月	人工饲养的牡蛎		21		Kelly 和 Stroh, 1988a
		野生牡蛎		44%	河口水域	
	3~4 月	人工饲养的牡蛎		nd		
		野生牡蛎		nd		
加拿大大不列颠哥伦比亚省	夏季	河口水域	70 cfu/mL	水样本中 11%~33%	河口水域—温暖	Kelly 和 Stroh, 1988b ⁽¹⁾
美国华盛顿州威拉帕湾	8 月	水	0.5~3.0 MPN/g	—	盐度 23.6~30.5 ppt 温度 15.5~22.6°C	Kaysner 等, 1990b
		沉积物	1.6~5.4 MPN/g			
		牡蛎	1.5~4.0 MPN/g			
美国长岛	10 月到翌年 6 月	牡蛎	3.6~23 MPN/g	33%	—	Tepedino, 1982
加拿大爱德华王子岛省	全年	牡蛎	—	6.70%	—	Hariharan 等, 1995
		蚌类		4.70%		
中国香港	6~10 月	牡蛎 (捕捞)	3.4×10 ⁴			Chan 等, 1989
		蚌类 (市场)	4.6×10 ⁴	—	—	
		蛤蜊 (市场)	6.5×10 ³ /g			
日本	春季	水	0.66~4.93 MPN/mL	2/8	温度 9.9~29.5°C, 盐度 24% (4 个样本区) 1 个河口区 域温度小于 16°C, 盐度 24%	Kiiyukia 等, 1989
	夏季和秋季	沉积物	0.2~2.4 MPN/100 g			
		市场上的牡蛎				
日本		蛤蜊	<3 至>10 ⁵ MPN/100 g			Hara-Kudo 等, 2003
日本广岛湾	1987 年 7 月到 1988 年 6 月	牡蛎	10 ³ ~10 ¹ /100 g	69% (5~10 月)	温度在 19.3~22.0°C	Ogawa 等, 1989
印度马尔基河口	全年	牡蛎 (<i>Crassostrea madrasensis</i>)	Vp 总数: 10 ² ~10 ⁴ /g 致病 Vp 数: 10 ¹ ~10 ² /g	93.80% 10.20%	温度在 25~32°C 盐度在 8.3~30.5 ppt	Deepanjali 等, 2005

注: nd=未检测到, (1) 该研究表明加拿大大不列颠哥伦比亚省河口水域中副溶血性弧菌的密度与副溶血性弧菌病存在关联。

在对所有有疑问的细菌群落进行确认测算后，研究发现疏水网格滤膜法（HGMP）测算的精度高于三管最可能数法（MPN）（Entis and Boleszczuk, 1983; Watkins 等, 1976）。

模型采用 DePaola 等（1990）、美国食品药品监督管理局/贝类环境卫生州际委员会（2001）和华盛顿州卫生署（2000, 2001）等三个综合调查数据集来量化牡蛎中副溶血性弧菌总体密度和水温之间的关系，作为当前研究的基础。量化建模之所以采用这三个数据集，是因为它们测量了所有季节牡蛎肉中副溶血性弧菌的数量和水温。

由于采用的测量方法不同，所以没有把三个调查数据集混合在一起，而是分别对每个数据集拟合回归模型。数据集中的样本有较大比例的样本中副溶血性弧菌的数量低于可测水平。在 DePaola（1990）数据集中 61 个样本牡蛎中的 26 个（43%）的副溶血性弧菌数量低于可测水平（最小的可检测数量是 10 cfu/g）。在美国食品药品监督管理局/贝类环境卫生州际委员会（2001）研究中（研究成果后来由 Cook, Bowers 和 DePaola 于 2002 年发表）624 个样本牡蛎中的 232 个（37%）的副溶血性弧菌数量低于可测水平（10 cfu/g），华盛顿州监测数据 [华盛顿州卫生署（2000, 2001）] 中，262 个样本牡蛎中的 93 个（36%）的副溶血性弧菌数量低于可测水平（0.3 cfu/g）。回归分析中假设这些不可测样本中存在副溶血性弧菌，只是弧菌数量低于可测的最低值（例如实际密度低于可测的最低值）而不是 0。

对三个研究的牡蛎中副溶血性弧菌密度分别进行了回归分析。Tobit 模型是一种最大似然回归，其中似然值同时反映了在一个给定温度下得出不可测结果的概率和在样本中检测到副溶血性弧菌时观测数据服从的概率分布。这种似然结构的作用是根据不同样本估算的趋势数据对不能检测样本进行加权。不可检测结果的影响是基于副溶血性弧菌数量低于检测限度样本中细胞数量的概率起作用的，而不是和通常的假定那样根据检测限度相关的观测和可计算值，或者可测限度的一般来假设不可测水平。

图 I-3 到图 I-5 分别显示了三个数据集中最优回归拟合值和温度的散点图，图中还标出了 5% 和 95% 的置信区间。根据最大似然回归估计（MLE）在这些图中使用随机的输入值（空心圆）替代不可测副溶血性弧菌数量。对这个三个数据集的回归分析表明在抽样的水温范围内，副溶血性弧菌总密度的 \log_{10} 的均值与温度大致呈线性关系。

我们利用三个数据集的 Tobit 回归分析的结果生成了 1 000 组水温与牡蛎中副溶血性弧菌密度关系的参数。这些数据用于代表水温与牡蛎中副溶血性弧菌密度关系的不确定性和蒙特卡洛模拟中副溶血性弧菌密度的方差。美国墨西哥湾海岸、大西洋中部和东北部区域所用的模拟数据来自图 I-3 到图 I-4 显示回归分析表示的不确定性。

我们各从这两个模型分布中分布获得适用于这些数据的大约 500 参数，并将这些数据整合在一起。由此生成的 1 000 组参数被用于对三个区域的模型模拟，每次一组。太平洋西北区域模拟所用数据从图 I-5 所示的分布中获得。

在风险评估中，对这三个数据集进行回归时，分别进行多元正态逼近以解决参数不确定性的影响。评估通过蒙特卡洛模拟产生了 1 000 组源自不确定性分布的参数以解释数据集的不确定性影响，然后将三个数据集独立估计的方法误差用于纠正观测数据中额外的方差。

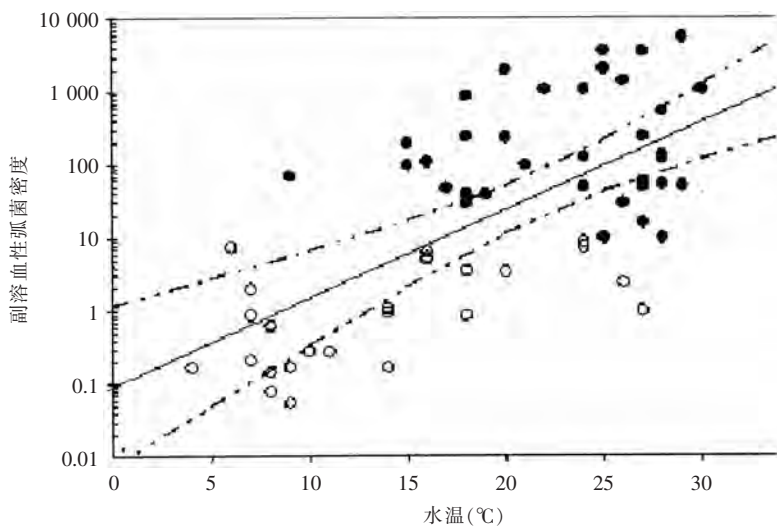


图 I-3 用 DePaola 等 (1990) 数据集进行 Tobit 回归拟合的牡蛎中的副溶血性弧菌密度与水温的散点图

[图中实线是对每克副溶血性弧菌数量中位值的最优估计，图中虚线分别表示 5% 和 95% 的置信区间。实心圆表示的是 DePaola 等 (1990) 数据中的可检测副溶血性弧菌值。空心圆则是对低于可测限度 (10 cfu/g) 样本中副溶血性弧菌的数量的随机推测值。]

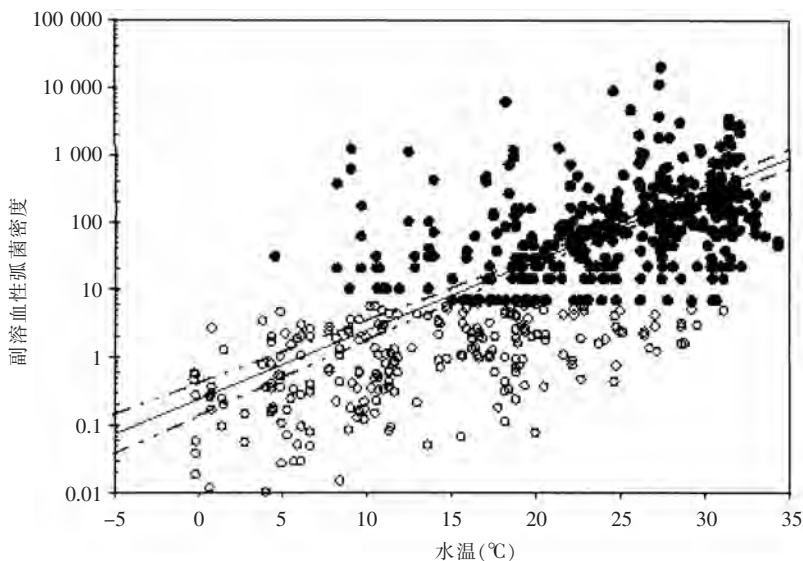


图 I-4 用 FDA/ISSC (2001) 数据集进行 Tobit 回归拟合的牡蛎中的副溶血性弧菌密度与水温的散点图

[图中实线是对每克副溶血性弧菌数量中位值的最优估计，图中虚线分别表示 5% 和 95% 的置信区间。实心圆表示的是 FDA/ISSC (2001) 数据中的可检测副溶血性弧菌值。空心圆则是对低于可测限度 (10 cfu/g) 样本中副溶血性弧菌的数量的随机推测值。]

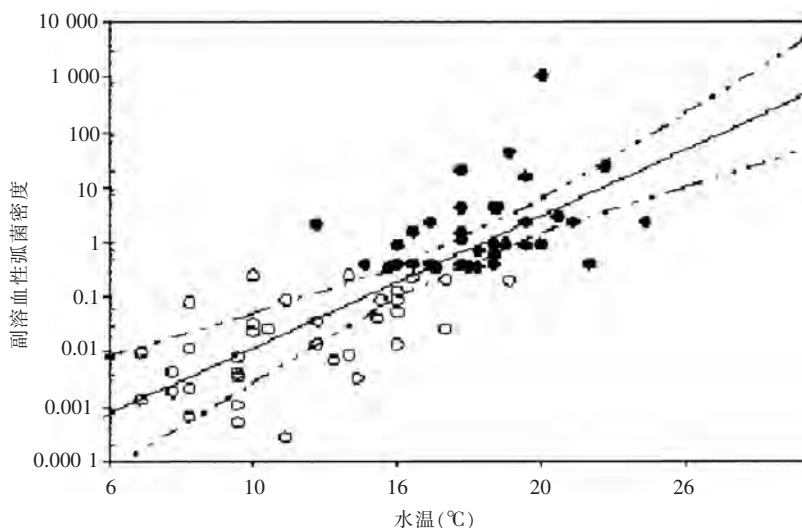


图 I-5 用华盛顿州卫生署 (2000, 2001) 数据集进行 Tobit 回归拟合的牡蛎中的副溶血性弧菌密度与水温和副溶血性弧菌密度的散点图

[图中实线是对每克副溶血性弧菌数量中位值的最优估计，图中虚线分别表示 5% 和 95% 的置信区间。实心圆表示的是华盛顿州卫生署 (2000, 2001) 数据中的可检测副溶血性弧菌值。空心圆则是对低于可测限度 (0.3 cfu/g) 样本中副溶血性弧菌的数量的随机推测值。]

潮间带副溶血性弧菌的生长率

在当前的研究中，澳大利亚、新西兰和加拿大的牡蛎养殖区的牡蛎是在涨潮期间捕获的。为将涨潮间捕捞对副溶血性弧菌密度的影响加入模型中，牡蛎温度的升高和捕捞时间的延长的影响被当成副溶血性弧菌生长前的独立生长环节，这个生长环节与运输和加工设备周围的空气温度相关。研究采用了捕获后模块曾描述过的对数线性生长模型。研究运用了两次生长率模型以预测涨潮间捕捞的牡蛎在进行冷藏之前其体内副溶血性弧菌的生长率。第一次用于确定经历过 4 到 8 小时涨潮的牡蛎中副溶血性弧菌的生长情况，第二次用于确定随后的运输图中副溶血性弧菌的生长情况 (1 小时)。

在 FDA (2005) 报告中也建模估算了美国太平洋西北沿岸潮间带牡蛎中副溶血性弧菌的数量，图 I-5 描述了澳大利亚、新西兰和加拿大在涨潮间捕捞的牡蛎中水温和副溶血性弧菌数量的关系。

Hara-Kudo 等 (2003) 确定了日本蚌中副溶血性弧菌总数和 tdh 阳性副溶血性弧菌的比例 (表 I-3)。

表 I-4 和表 I-6 列示产自了新西兰北部岛屿的三个地方的一些牡蛎中副溶血性弧菌的存活情况和数量；总体而言牡蛎肉中的副溶血性弧菌数量很少超过 10 个每克 (Fletcher, 1985)。在此之前，有记录表明产自这些岛屿一个海湾中的水生贝壳类动物中分离出副溶血性弧菌；一共分离出 12 个菌株，血清型分别是 O3: K7 (4 株)，O4: K8, O4: K12 (3 株)，O4: K34, O7: K19, O8: K39 和 O9: K44 (Cawley 和 Norris, 1973)。新西兰卫生部国内食物监测项目调研报告表明 8 个产自怀卡托地区牡蛎样本中有 2 个分离出了副溶血性弧菌 (25%) (Lake 等, 2003)。

海鲜中副溶血性弧菌的风险评估

表 I-4 对新西兰牡蛎中副溶血性弧菌 (Vp) (肉片中 MPN/g 均值) 数量和存活情况的调查

	1981—1982		1982—1983		1983—1984	
	Vp	水温 (°C)	Vp	水温 (°C)	Vp	水温 (°C)
11 月	<1	19	1	18	<1	14
12 月	<1	19	<1	21	2	21
1 月	<1	23	<1	23	30	21
1 月	1	—	—	19	<1	22
1 月	10 000	—	—	—	40	22
2 月	5	—	<1	22	4	23
3 月	4	19	2	23	<1	21
3 月	2	—	4	20	<1	21
3 月	3	—	1	—	<1	—
4 月	2	17	<1	17	<1	18
5 月	<1	15	<1	15	<1	16
5 月	<1	—	<1	15	<1	15

表 I-5 旺阿罗阿和科罗曼德尔 (新西兰) 牡蛎中副溶血性弧菌 (Vp) (肉片中 MPN/g 均值) 数量 (1982—1983)

	旺阿罗阿		科罗曼德尔	
	Vp	水温 (°C)	Vp	水温 (°C)
11 月	<1	18	3	18
12 月	3	20	1	18
1 月	1	—	<1	18
1 月	3	—	3	—
1 月	—	—	—	—
2 月	2	20	3	15
3 月	<1	21	3	21
3 月	<1	21	4	20
3 月	3	21	3	23
4 月	8	19	<1	14
5 月	8	15	3	15

表 I-6 旺阿罗阿 (新西兰) 牡蛎中副溶血性弧菌 (Vp) (肉片中 MPN/g 均值) 数量 (1982—1984)

	1982—1983		1983—1984	
	Vp	水温 (°C)	Vp	水温 (°C)
11 月	1	17	<1	15
12 月	1	17	<1	19
1 月	1	17	<1	22
1 月	<1	17	7 000	—
1 月	2	—	<1	—
2 月	3	21	3	17
3 月	11	20	10	19
3 月	<1	18	2	19
3 月	3	15	—	—
4 月	8	18	—	—
5 月	8 000	14	<1	14

在澳大利亚的两次调查中, Desmarchelier (1978) 调查了 8 个地点的悉尼岩牡蛎 (*Crassostrea glomerata* syn. *commercialis*) 中副溶血性弧菌存在情况, 结果表明 60 个样本中的 41 个携带了副溶血性弧菌。在第二个调查中, 633 个样本中的 128 个携带了副溶血性弧菌。Desmarchelier 注意到副溶血性弧菌数量与温度存在直接的关系 (表 I-7)。

Davey 等 (1982) 在 4~6 克的未经纯化牡蛎的 3 个次级样本中和 0.8 克纯化牡蛎的一个次级样本中检测到副溶血性弧菌, Eyles 等 (1985b) 发现 19/21 个牡蛎肉样本中携带副溶血性弧菌, 携带副溶血性弧菌的几何平均数是 7.3 克, 数量范围为 0.3~50 个每克。澳大利亚新南威尔士州 (NSW) 卫生部门在 1989 年 4 月和 1990 年 4 月期间都检测了悉尼岩牡蛎携带副溶血性弧菌的情况 (表 I-8)。

表 I-7 澳大利亚悉尼岩牡蛎 (*Crassostrea glomerata* syn. *commercialis*) 中副溶血性弧菌 (Vp) 数量

水温度 (°C)	log Vp/100 g
<16	未检测到
16~20	<1
21~24	1~2
25	3

数据来源: Desmarchelier, 1978。

表 I - 8 澳大利亚新南威尔士州悉尼岩牡蛎中弧菌的存活情况
(*Saccostrea glomerata* syn. *commercialis*)

1989		1990	
1 月	—	1 月	10/11
2 月	—	2 月	42/62
3 月	—	3 月	12/19
4 月	8/13	4 月	31/44
5 月	1/2	5 月	12/19
6 月	34		
7 月	0/1		
8 月	4/5		
9 月	—		
10 月	3/3		
11 月	5/9		
12 月	11/12		

数据来源：John Sumner，私人通信。

盐度的影响

盐度会影响牡蛎中副溶血性弧菌的存活和生长，初步的建模分析将盐分作为一个参数加以考虑（参见 FDA，2005）。对模型的进一步思考发现，相对于水温而言，水的盐度对所有商业化捕捞最重要区域的牡蛎中副溶血性弧菌数量来说并非是最重要的决定因素（参见 FDA - VPRA，附录 5，FDA，2005）。由于这些缘故，盐度本身并不是回归分析中“模型考虑的效应”。然而，由于澳大利亚、新西兰和加拿大都根据太平洋西北部数据对潮间带捕捞牡蛎中副溶血性弧菌数量进行了建模，这些区域盐度相对较高，因此盐度对潮间带牡蛎中副溶血性弧菌数量的影响实际上也包含在模型之中了。

表 I - 9 呈现了加拿大 6 个养殖区域副溶血性弧菌的数量水平，表明夏季的月份里副溶血性弧菌数量较高（大于 10^3 /g）（Klaus Schalle，加拿大食品检察署，私人通信）。

表 I - 9 加拿大牡蛎中副溶血性弧菌数量（平均 MPN/g）

捕获地点	统计区域	捕获日期	捕捞时间	产品种类/类别	MPN/g 均值
Gorge 海港	13 - 15	2002/05/14	9: 30	牡蛎—延绳钓	3
	13 - 15	2002/06/3	8: 45	牡蛎—托盘	3
	13 - 15	2002/06/16	9: 30	牡蛎—托盘	3
	13 - 15	2002/07/02	9: 15	牡蛎—托盘	3
Ship's Point	14 - 8	2002/05/21	8: 10	牡蛎—海滩	3
	14 - 8	2002/06/03	7: 45	牡蛎—海滩	3.6
	14 - 8	2002/06/17	6: 25	牡蛎—海滩	110

技术报告

(续)

捕获地点	统计区域	捕获日期	捕捞时间	产品种类/类别	MPN/g 均值
Ship's Point	14-8	2002/06/25	11: 25	牡蛎—海滩	9.2
	14-8	2002/07/02	12: 10	牡蛎—海滩	
双岛群岛 (Twin Island)	15-3	2002/05/21	7: 00	牡蛎—海滩	3
	15-3	2002/06/04	7: 00	牡蛎—海滩	3
	15-3	2002/06/18	7: 00	牡蛎—海滩	430
	15-3	2002/07/02	7: 00	牡蛎—海滩	
Sykes 岛	16-12	2002/05/13	11: 20	牡蛎—托盘	3
	16-12	2002/05/27	9: 45	牡蛎—托盘	3
	16-12	2002/06/10	9: 00	牡蛎—托盘	3
	16-12	2002/06/24	10: 15	牡蛎—托盘	430
Ladysmith 海港	17-7	2002/05/13	10: 50	牡蛎—海滩	3
	17-7	2002/05/27	9: 20	牡蛎—海滩	3
	17-7	2002/06/10	9: 45	牡蛎—海滩	15
	17-7	2002/06/24	9: 00	牡蛎—海滩	4 600
	17-7	2002/07/02	15: 40	牡蛎—海滩	2 400
Ritherdon 海湾	23-3	2002/05/13	11: 37	牡蛎—海滩	3
	23-3	2002/05/28	16: 00	牡蛎—海滩	3
	23-3	2002/06/10	12: 10	牡蛎—延绳钓	3
	23-3	2002/06/25	18: 00	牡蛎—海滩	3.6

在新西兰和澳大利亚的养殖区域，降水量数据或盐度数据被当做捕捞时的一种管制机制用于管控排污点的细菌和病毒水平。大部分养殖区域都被归为“有条件的批准”，意味着一旦它们会对所在区域造成污染时它们就会被关停。最常见的管理系统就是降水量：在某一测定区域的降水量达到一定值后就会被关闭一段时间。在盐度与降水量存在相关关系的其他一些地方，通过读取盐度数据来管理捕捞环节。比如，新西兰奥龙戈海湾就是通过盐度标准管理的两个养殖区之一（D. J. McCoubrey, 私人通信）当盐度达到一个认定水平时（小于 17 ppt）捕捞作业就停止了。潮汐周期中盐度的变动也可能被用于确定捕捞区域的开张和关闭。一个区域 24 小时盐度均值必须超过 23ppt 才能被考虑是否重新开放捕捞，但是盐度达到这个水平所用时间和被允许重新开放之间的时间差会根据出现的最低盐度不同而变化。

在澳大利亚，如果盐度低于 17ppt 捕捞作业就会停止。实际上，由于建议养殖者污染事件已经结束会占用一部分时间，因此一般捕捞作业重新开始时盐度已经达到了 22~23ppt。

I - 2.6.2 水温分布状况

在美国食品药品监督管理局发布副溶血弧菌的风险评估报告（FDA - VPRA）（FDA, 2005）中，基于从沿海水浮标积累的记录，人们了解到了水的温度的季节和地区分布（国

家浮标数据中心数据, NBDC)。季节是按日历月定义的: 冬季 (1~3 月)、春季 (4~6 月)、夏季 (7~9 月) 和秋季 (10~12 月)。每个地区和季节的浅水浮标被选为代表的水的温度分布的牡蛎收获面积在该“区域+季节”组合。

因为在美国太平洋沿岸地区的海域, 牡蛎收获从早上很早就开始, 于中午或下午晚些时候结束, 每日在中午记录的水温度被认为代表日平均温度。这些“平均”温度在一个特定的地区和季节内的分布各年都不同, 在春季和秋季的过渡季节会发生更大的变化。

在为这次评估而选择的澳大利亚和新西兰的地方, 牡蛎生长在潮间地带。牡蛎卵是从海洋里植物枝条上自然地收集的, 也有从放置在养殖牡蛎的支架上的木棒上收集, 这些木棒相互间隔约 250 毫米。有时, 牡蛎从木棒上取走放进塑料网袋或塑料箱里, 以便长成更大的尺寸。将牡蛎放在袋子里也可以更好地控制壳的形状。无论是在木棒上还是在袋子里生长, 牡蛎长到成熟收获的尺寸需 12~18 个月。

牡蛎的主要收获季节是 5~10 月, 因为在相对较冷的月份牡蛎的生长处于高峰期。牡蛎在十二月下旬到一月产卵, 这取决于水的温度。然而, 牡蛎的收获在全年中许多地方都一直进行着, 因为无论在新西兰还是海外都存在能接受不是很丰满的、产卵之后的牡蛎的市场。表 1 - 10 显示了在新西兰北部牡蛎典型生长区域的平均盐度, 水温和气温 (D. J. McCoubrey, 麦库布里, 新西兰食品安全局, 私人通信)。

表 I - 10 新西兰奥龙戈湾 2001 年各月盐度、水温、气温平均值

	水温 (°C)	气温 (°C)	盐度 (ppt)
1 月	21	29	35
2 月	21	28	35
3 月	21	26	35
4 月	20	24	35
5 月	17	21	35
6 月	14.5	20	34
7 月	14.5	19	34
8 月	14.5	18	34
9 月	15	20	34
10 月	17.5	23	33
11 月	18	23	34
12 月	21	27	35

在澳大利亚, 悉尼岩牡蛎生长在潮间带。牡蛎卵是被放在支架上生长成为牡蛎。牡蛎收获的主要季节正值圣诞节和复活节。根据澳大利亚新南威尔士州政府的数据, 沃利斯湖种植区域的盐度和水温列于表 I - 11。

在美国, 对于给定的一年, 人们发现中午的水温分布在一个给定的范围内是单峰。假如不考虑令人难以置信的可预期的历史范围以外的值, 此经验分布充分近似服从正态分布。从一年到下一个年的浮标数据存在这些分布差异是显而易见的。通过计算这些分布平

均值和标准偏差的集中趋势和变化，可以发现年与年之间水温变化的特征（表 I-12）。

表 I-11 澳大利亚新南威尔士州沃利斯湖的盐度和水温分布

年份	月份	气温 (°C)			盐度 (ppt)			样本量 (个)	
		平均	最大值	最小值	平均	最大值	最小值		
2001	4月	23.6	26.5	22.1	32.4	34.2	27.8	20	
	5月	19.6	20.7	18.6	21.8	31.7	9.3	8	
	6月	19.1	20.8	16.8	31.3	34.8	26	16	
	7月	17.7	19.2	15.1	32.8	35.1	30.2	24	
	8月	17.3	19.8	15.7	34.1	35.2	32	20	
	9月	19.4	21.9	17.5	33.8	35	32.2	18	
	10月	20.1	21.6	17.4	33.4	35.5	32.3	35	
	11月	22.5	25.8	20.3	33.8	36	18.4	56	
	12月	24.6	28.9	22.1	34.5	36.7	31.8	35	
	2002	1月	24.8	26.9	23.3	34.5	36.5	32.8	35
		2月	23.9	25.1	20.9	28.7	34.6	9.9	49
		3月	25.2	26.7	24.2	33.5	34.7	30.9	28
4月		21.3	23.9	18.3	18.3	29.3	29.3	35	

表 I-12 美国不同区域和季节中午水温分布的平均值和标准偏差年变化的统计概要

地区	平均 (标准差) 水温 (°C)			
	冬季 (1~3月)	春季 (4~6月)	夏季 (7~9月)	秋季 (10~12月)
大西洋东北部	4.51 (1.23)	12.0 (4.2)	20.7 (1.34)	12.0 (3.37)
大西洋中部	3.92 (1.92)	16.8 (5.1)	25.0 (1.8)	11.6 (5.1)
墨西哥湾沿岸	14.2 (2.7)	24.5 (3.5)	28.9 (1.5)	17.9 (4.5)
太平洋西北部	8.1 (1.62)	13.7 (2.4)	17.4 (2.4)	10.7 (2.8)

数据来源：美国国家浮标数据中心 (NBDC) (<http://www.ndbc.noaa.gov/>)，华盛顿州贝类专家 N. Therien, 1999 年。

美国国家浮标数据中心 (NBDC) 测量了海表面的水温 (传感器一般都是在 1~1.5 米深)。没有近岸的记录牡蛎产区水温的 NBDC 浮标，因此，对这一地区，水温分布的季节和年际变化是基于华盛顿州贝类专家用华盛顿州卫生署 1988 年至 1999 年信息的汇编数据发展而来。

I-2.6.3 致病副溶血弧菌数量分布的预测

在美国的几个研究中已发现的总副溶血弧菌隔离菌株致病性百分比估计值数字列于表 I-13，从中可以看出在美国各地观测到的差异，与在墨西哥湾和大西洋区域相比，在太平洋西北部观察到的致病性值具有较高百分比。对于在牡蛎中总副溶血弧菌致病性比率的估计，人们认为 DePaola 等人 (2002) 和 Kaufman 等人 (2003) 的研究是最恰当的。这

两项研究的数据表明，致病性副溶血弧菌的数量在部分样品中经常不能被检测。此外，在含有低数量总副溶血弧菌的复制样本中，有时可观察到大量的致病性微生物。专家预计某种变异度是由于在牡蛎中存在其他微生物的情况下，不同副溶血弧菌菌株之间生长和竞争的自然过程造成的。

表 I - 13 美国致病性及总副溶血弧菌的估计

牡蛎样本 测试量	致病菌数 量 ⁽¹⁾	副溶血弧菌隔离菌株			
		测试量 ⁽²⁾	致病菌数量 ⁽¹⁾	致病率 (%)	地区 (数据来源地)
153 ⁽³⁾	ND ⁽⁴⁾	2 218 (MPN)	4 KP+	0.18	墨西哥湾沿岸 (Thompson 和 Vanderzant, 1976)
60	13	5 159 (DP)	44 TDH+	0.18 ⁽⁷⁾	墨西哥湾沿岸 (Kaufman 等, 2003)
198	8	3 429 (DP)	9 TDH+	0.3	墨西哥湾沿岸、大西洋中部、东北部地区 (FDA/ISSC, 2000; Cook 等, 2002) ^(*)
106	3	5 600 (MPN+DP)	16 TDH+	0.3	得克萨斯州 (DePaola 等, 2000)
156	34	6 018 (EB)	46	0.76	墨西哥湾沿岸 (狄波拉等人) (DePaola 等, 2003) ⁽⁷⁾
		6 992 (DP)	31	0.44	
65	13	1 103 ⁽⁵⁾ (DP)	27 ⁽⁵⁾	2.3 ⁽⁶⁾	太平洋西北部 (DePaola 等, 2002)
23	1	308 (MPN)	10 TDH+	3.2	太平洋西北部 (Kaysner 等, 1990b)

说明：(1) 致病菌被定义为神奈川阳性 (Kanagawa-positive, KP+) 或耐高温直接溶血素抗体阳性 (thermostable direct haemolysin-positive, TDH+)。TDH 是副溶血性溶解弧菌在我妻氏琼脂 (Wagatsuma agar) 琼脂中溶解血红细胞时产生的毒素。(2) 隔离菌测试量。测试方法：EB = 浓缩培养基并接着在琼脂上快速移动；DP = 直接接种；MPN = 最近似值。(3) 样本包括牡蛎、水和沉积物样本。(4) ND = 不能确定 (not determined)。(5) 隔离菌来自于从最大潮间暴露带或“附近”收集的 36 个牡蛎样本。(6) 从拟合的贝塔 (Beta) 分布估计的平均致病百分比。(7) 这是 Cook 等人 (2002) 研究成果的一部分。分别分析了这些代表美国不同地区的研究成果。由 DePaola 等人 (2002) 在胡德运河 (Hood Canal) 地区进行的研究代表了太平洋西北部。Kaufman 等人 (2003) 的研究在墨西哥湾海岸进行。假定从墨西哥湾沿岸地区的致病率百分比数据也可以被用来表示大西洋中部和东北部地区。这个假设基于 Cook、Bowers 和 DePaola (2002) 的数据，他们指出墨西哥湾沿岸、大西洋中部与东北部地区牡蛎样本中的耐高温直接溶血素抗体阳性 (TDH+) 副溶血弧菌的比例没有明显的差异。

(*) FDA: 美国食品和药品管理局, ISSC: 贝壳类环境卫生州际会议 (interstate Shellfish Sanitation Conference)。

虽然由 DePaola 等人 (2003) 和 Deepanjali 等人 (2005) 的研究表明，致病性的副溶血弧菌的比例有可能存在一些季节性的变化，但是这些发现还没有在其他研究中重现。因此，为这次风险评估起见，假定致病性和总副溶血弧菌浓度之间的比率与温度之间是独立关系。

由于牡蛎的致病性副溶血弧菌浓度低、导致样本中不能检出量的频率高，估计致病性百分比比例的分布基于这样的假设：样本部分的致病性计数服从一个 β -二项分布。 β -二项分布是一个灵活的、两个参数的分布，通常用于比例的模型变异性，这在美国食品与药品管理局的《副溶血弧菌风险评估》(FDA-VPRA) (FDA, 2005) 的附录 5 中有详细的介绍。

参与这个风险评估的其他国家，很少或没有关于副溶血弧菌致病性菌株流行情况的

信息。

在澳大利亚，Lewis 等人（2002）进行了澳大利亚南部新南威尔士州和塔斯马尼亚的岛牡蛎携带副溶血弧菌引起的患病率的初步试验研究。从新南威尔士州沃利斯湖悉尼岩牡蛎（巨牡属血管球，*Crassostrea glomerata* syn. *commecialis*）中分离出相关微生物的比例为 16/20（80%）；塔斯马尼亚岛太平洋牡蛎（*Crassostrea gigas*）的比例为 6/10（60%）；澳大利亚南部的比例为 2/10（20%）。以前的报告中没有提到在澳大利亚水域或海产品中副溶血弧菌的致病性菌株的存在（见 2003 Desmarchelier 的评论）。在刘易斯等人的试验研究（2002）中，从三个州的牡蛎中均分离出致病性副溶血弧菌，其中，10%到 20%之间的分离株致病菌（耐热直接溶血素基因阳性，即 tdh+）的浓度在 50/g（检测下限）和 350g 之间。

刘易斯等人的研究（2002）基于来自三个州的 40 份牡蛎样本，人们认为其不具有在数量上和超过一个年度纵向研究周期上的决定性意义。Madigan 等人（2007）研究了澳大利亚南部太平洋牡蛎致病性弧菌的存在。在每个样本包含十二个牡蛎的 25 个样本中，从四个牡蛎中分离出来的副溶血弧菌，其中三例是 trh +，没有一个是 tdh+（耐热直接溶血素相关溶血素基因阳性）。有趣的是，尽管蔗糖阴性弧菌（一类含有致病株的弧菌）的浓度在温暖的月份相对较高（ $10^3 \sim 10^4$ /g），但副溶血弧菌只有在牡蛎样本中接近饱和后并使用分子生物技术才能被分离出来；当研究人员一一清点样本时发现，致病性副溶血弧菌在浓度低于检测限（ <10 /g）的情况下出现在牡蛎肉里。如果能得到更全面的澳大利亚的数据，这些数据在模型中可以取代美国的替代数据。

类似于 tdh + 副溶血弧菌的发病率，基于美国太平洋西北部的数据得出的副溶血弧菌浓度和水温的关系也曾被用于加拿大、新西兰和日本的模拟。

I - 2.7 收获之后

收获后的模块描述了典型的行业做法——包括运输、处理、加工、分配、储存和零售——对在各个地点和不同季节收获的牡蛎所含副溶血弧菌数的影响。在消费过程中对致病性副溶血弧菌的数量产生可能影响的因素包括：

- 在收获季节周边环境的空气温度；
- 牡蛎从收获到放在冷藏条件下的时间；
- 牡蛎从开始被冷藏直至冷却所用的时间；
- 从制冷到消费的持续时间。

在收获后的模块建模的目的是模拟典型的行业做法从收割到消费的不同地方和季节对牡蛎中副溶血弧菌数量的影响。该模块还可以用来模拟干预策略的影响。该模块的输入是在收获时总的和致病性副溶血弧菌的区域和季节分布。该模块的输出是预测在消费时总的和致病性副溶血弧菌的数量分布。

在接触评估中要输入的最后步骤是产品的贮存和零售条件，零售后的保存，最后制备和食用消费。消费之前，保存温度大概是要考虑的最关键因素。图 I - 6 是这个模块参数建模的图形表示。

用于开发在收获和消费之间数字关系的主要假设是，致病性副溶血弧菌的增长与生存

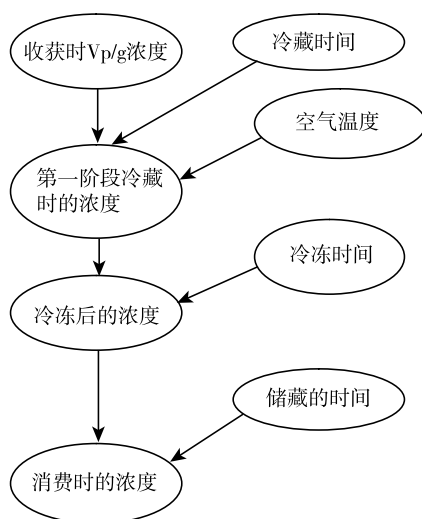


图 I-6 副溶血弧菌 (Vp) 的风险评估模型收获后模块示意图

同总的副溶血弧菌相同。虽然没有明确的关于致病性副溶血弧菌增长特性的研究，初步的数据表明，致病性和非致病性菌株的增长特性之间的很少有差异 (DePaola, 1999)。此外，观察牡蛎中总体副溶血性弧菌的增长仅限于一个温度 (26°C)。为了弥补这一数据缺失，由 Miles 等人 (1997) 在培养基里开发的副溶血弧菌增长模型得以应用。这个模型被调整为预测在牡蛎里的增长率，其小于在培养基模型系统的增长率，可能是由于竞争菌群的影响。

I-2.7.1 从收获到第一次制冷期间副溶血弧菌的增长

牡蛎从收获到第一次被放置在冷藏条件下的增长程度由三个因素构建模型：

- 副溶血弧菌增长率作为温度的函数；
- 收获后的牡蛎肉的温度；
- 产品未冷藏的时间长度。

I-2.7.2 周围空气温度的分布

对从美国国家海洋和大气管理局国家浮标数据中心 (NOAA/NBDC) 数据库中获得的水和空气温度的检验显示，水和空气的温度有很强的相关性。基于在任何给定的区域和季节内的正态分布，通过对水和空气温度间区别的分布进行模型化，这种关联性已被纳入风险模拟。根据在收获时的水温，这些分布用于预测牡蛎将会面临的空气温度。

在通过蒙特卡罗 (Monte Carlo) 方法模拟收获时总体的和致病性副溶血弧菌分布的过程中，保留与任何给定的结果相关的水温。相应的气温是从根据空气与水的温度差异，通过适当的抽样分布预测。然后，将这种差异加到水的温度上获得相应的空气温度。通过汇集所有年每个近海浮标的的数据，获得了空气与水的温差分布。这些分布的均值和方差显示在表 1-14。

新西兰奥龙戈湾空气和水的温度列于表 1-10，这些数据基于新西兰食品安全局的信息而来 (D. J. 麦库布里，私人通信)。

I-2.7.3 未冷藏牡蛎的时间分布

通过用工作日持续时间的分布情况来推测牡蛎未冷藏时间长度的分布，假设牡蛎都是在收获的开始时就被收获，直到收获结束前的一小时把它们捞上岸并放在冷库里。表 I-15 显示我们已预测的美国不同地区和季节牡蛎收获的最低、最高和平均持续的时间。在风险模拟中，基于这些参数使用 BetaPERT 分布来模拟收获持续时间的变化。BetaPERT 分布是带有特定时刻的转化和缩放的 Beta 分布。它通常用于蒙特卡罗模拟中在规定的范围内模拟参数变化。

表 I-14 在美国记录的中午气温和水温 (°C) 间差别的均值和标准差

地 区	气温和水温间差别的均值 (标准差)			
	冬季 (1~3月)	春季 (4~6月)	夏季 (7~9月)	秋季 (10~12月)
大西洋东北部	-2.6 (5.0)	2.2 (3.2)	0.52 (2.7)	-3.2 (4.2)
大西洋中部	-0.25 (4.0)	0.54 (2.9)	-1.4 (2.1)	-2.1 (3.1)
墨西哥湾沿岸	-1.07 (3.3)	-1.24 (1.63)	-1.66 (1.33)	-1.62 (3.3)
太平洋西北部	-1.6 (1.8)	1.3 (1.3)	1.3 (1.5)	-0.8 (2.0)

数据来源: <http://www.seaboard.nbdc.noaa.gov/Maps/Wrldmap.shtml>。

表 I-15 美国不同的地区和季节牡蛎收获作业持续时间 (最大, 最小, 最有可能的)

地 区	收获持续的时间 (小时)			
	冬季 (1~3月)	春季 (4~6月)	夏季 (7~9月)	秋季 (10~12月)
大西洋东北部	11, 2, 8	11, 2, 8	11, 2, 8	11, 2, 8
大西洋中部	11, 2, 8	11, 2, 8	11, 2, 8	11, 2, 8
墨西哥湾沿岸-LA	13, 7, 12	11, 5, 9	11, 5, 9	13, 7, 12
墨西哥湾沿岸-FL, AL, TX	11, 2, 8	10, 3, 7	10, 3, 7	10, 3, 7
太平洋西北部	4, 1, 3	4, 1, 3	4, 1, 3	4, 1, 3

州名: AL=亚拉巴马; FL=佛罗里达; LA=路易斯安那; TX=得克萨斯。

数据来源: 贝壳类环境卫生州际会议, 美国食品和药品管理局, 1997年; 华盛顿贝类专家 (私人通信); 华盛顿州卫生署 (Watkins, 2000)。

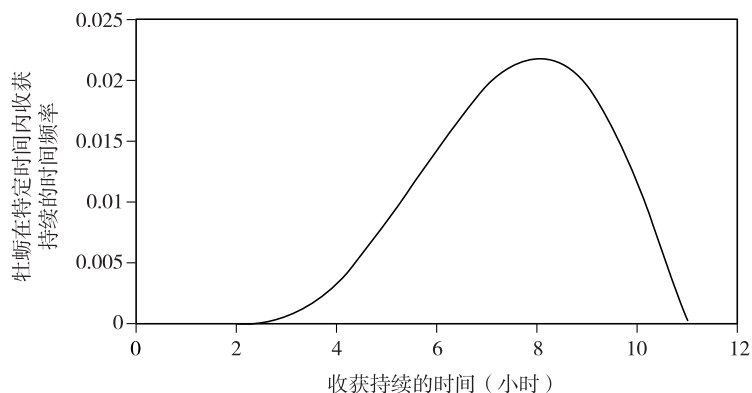


图 I-7 冬季整个收获作业持续时间的 BetaPERT 概率密度分布 (大西洋中部, 大西洋东北部, 墨西哥湾沿岸, 路易斯安那州除外)

图 I-7 显示了最小值为 2、最大值为 11 和平均值为 8 小时的 betaPERT 分布的概率密度。

对于墨西哥湾沿岸美国各州，由于美国国家贝类卫生计划（NSSP, National Shellfish Sanitation Program）对冷冻时间的要求，假设在春季、夏季和秋季收获能更快地完成，而在冬季一般较长。如，假定牡蛎的收获从开始收获到收获作业结束前一小时内均匀地发生。牡蛎未冷藏的持续时间的分布是这样模拟的：首先从收获作业持续时间的分布中取样，然后从一个均匀分布中取样，这个均匀分布具有最小值为一小时和同随机选择收获持续时间相应的最大值。因为牡蛎的收获在收获作业的时间内结束，所以牡蛎保持未冷藏的平均时间几乎总是小于收获的最大持续时间。

总的来说，发生在第一次冷藏时间（即牡蛎第一次被放进冷藏库的时间）之前的增长程度通过以下方式进行模拟：

- 在收获时与水温对应的空气温度采样；
- 收获持续时间采样；
- 考虑一个特定的收获持续时间，未冷藏的时间长度采样；
- 对给定的未冷藏的时间，计算预期增长程度。

基于从 Toyofuku（日本）、Damian Ogburn（澳大利亚）、D. J. Mccoubrey（新西兰）和 Klaus Schalle（加拿大）的个人通信得到的数据，在其他国家目前研究的模型中，同美国的收获情况有很大的不同（表 I-16）。

表 I-16 不同国家牡蛎收获（收获作业时长）最小值、最大值和最可能持续时间

国 别	最小值 (小时)	最可能的时间 (小时)	最大值 (小时)
日本	0.5	1.5	6
澳大利亚	2	4	6
新西兰	1	3	5
加拿大	0.1	0.75	1

加拿大的情况反映了收获后不超过一个小时开始冷冻贝类动物的法律要求。在澳大利亚，收获时间反映了该行业潮间带的性质，而在日本最可能的持续时间（1.5 小时）反映了从收获到冷冻的时间。

I-2.7.4 副溶血弧菌在冷藏期间的增长情况

牡蛎被置于冷藏条件后，副溶血弧菌在牡蛎组织的温度低于某一阈值后不再增长（例如 10°C）。假定牡蛎从开始被置于冷藏直到其冷却所用的时间根据冷却方法的效率、需要冷藏的牡蛎数量、牡蛎在冷库中的放置情况不同而有所不同。没有发现经济型牡蛎的贮藏冷却速率的数据。过去并没有建立商业化牡蛎储存的冷却率数据。在美国，FDA 海湾海鲜实验室（GCSL, FDA Gulf Coast Seafood Laboratory, Dauphin Island）的初步实验是，在 30°C 时用一个温度探测器插入一只带壳牡蛎的组织，当把其放置在一个 3°C 的冷却箱内，表明冷却速率约 0.5°C/分钟，(DePaola, 1999)。然而，在一个未绝缘的塑料容器内 24 个牡蛎从 26°C 冷却到 3°C 需要约 7 小时。这些数据表明，牡蛎冷藏后的冷却时间存

在相当大的不确定性，当时得出的结论是，当前了解到的情况符合于 1 到 10 小时之间的均匀分布。

正如牡蛎会冷却到存储的温度，预期副溶血弧菌的增长速度随着温度的下降而下降就是合理的。在冷却期开始，当牡蛎初次被放在冷藏中时，弧菌的增长速度仍等于由周围空气温度所决定的初始速度。在冷却期结束时，牡蛎已经达到存储的温度时，专家曾假定弧菌不再进一步增长并且其数量将开始缓慢下降（Gooch 等，2002）。这个假定意味着在牡蛎被放置在冷藏中温度没有明显的损失。由于牡蛎冷冻期间的冷却速度未知，专家曾假定在冷却期间，副溶血弧菌的增长率均下降为零。

通过从 1 小时和 10 小时（冷却时间）之间的离散随机均匀分布初步采样，曾模拟过冷却过程中可能发生的增长程度的离散近似。在冷却期间每小时的生长程度从这一小时的平均增长速度估计。平均增长率取决于未冷藏牡蛎中的副溶血弧菌的增长速度（即对于一个给定的牡蛎，如同周边环境空气温度决定增长速度一样）和冷却的持续时间。

总的过量增长是冷冻期间这些值的总和，受到密度最大不能超过每克 $6\log_{10}$ 的限制。这些计算是在表 I-17，其中，例如，它以小时对于一个特定的牡蛎要用 k 小时达到冷箱的温度。

表 I-17 在 k 小时的冷却时间内副溶血弧菌的增长率变化的离散近似结果

冷却时长 (小时)	冷却期间平均增长率 (\log_{10} /小时)
1	$\frac{(k+1) - 1}{k} \mu_m$
2	$\frac{(k+1) - 2}{k} \mu_m$
3	$\frac{(k+1) - 3}{k} \mu_m$
...	...
k	$\frac{(k+1) - k}{k} \mu_m$
$k+1$	0

由于冷却时间 k 是一个随机变量，其平均值为 5.5 小时，平均增长幅度为 $3.25\mu_m$ ，其中 μ_m 是在收获时由周围空气温度决定的最大增长率。因此，对于每小时 $0.19\log_{10}$ 的初始增长率（即在 26°C ），在冷却期间的平均增长约 $0.6\log_{10}$ ，或几乎增长两代。

人们普遍认为悉尼岩牡蛎（巨牡属悉尼岩牡蛎，*Crassostrea glomerata* syn. *commecialis*）是非常抗逆的，在投入市场前的几天可于常温中不放置在水里；这可能反映了其潮间带的生长习性和因此得到强化的内收肌。例如，这个物种在 20°C 以下将保持数周不用张口而且其器官质量也保持良好。在温暖的月份（11 月至翌年 4 月），正常的操作是尽快把该物种放在低于 20°C 的温度下存储。Eyles 等人（1985a）也发现，在所有未开启的悉尼岩牡蛎在 15 和 30°C 间存储 2 到 7 天，其体内的副溶血弧菌生长不佳或根本没有生长。虽然副溶血弧菌数往往在 30°C 时增加，但并没有观察到高于 10^4 /克浓度的数量。

总的过量增长是 k 小时增长的总和：

$$\sum_{i=1}^k \mu_m \times \frac{(k+1)-i}{k} = \mu_m \times \left[(k+1) - \frac{1}{k} \sum_{i=1}^k i \right]$$

$$\mu_m \times \left[(k+1) - \frac{k+1}{2} \right]$$

$$\mu_m \times \frac{k+1}{2}$$

根据澳大利亚法规，牡蛎在不高于 10℃ 的环境下放置应不超过 24 小时，尽管通过特许，悉尼岩牡蛎在 25℃ 可以保持最多 72 小时，之后需放入不高于 15℃。在实践中，存储在如此高的温度下的情况几乎不会发生。如果天气预报有降雨，可能会导致停业，行业惯例是将收获的牡蛎保存在 15~20℃，以便在接下来的一周左右把它们投放到市场。

一旦进入市场，牡蛎就被冷藏和冷冻保存。表 I-18 总结了日本，新西兰和澳大利亚收获后温度数据。这些数据来自于 Toyofuku（日本）、Damian Ogburn（澳大利亚）、D. J. McCoubrey（新西兰）和 Klaus Schalle（加拿大）的个人通信中。

表 I-18 不同国家牡蛎的冷却时间最小值、最有可能值和最大值（小时）

国 别	最小值	最有可能值	最大值
日本	0.5	2	5
澳大利亚	3	5	10
新西兰	3	5	10

I-2.7.5 冷藏期间副溶血弧菌数量的变化

Gooch 等人（2002）指出，在 3℃ 存储 14~17 天，牡蛎中副溶血弧菌的浓度每小时下降 0.003 log₁₀。这个消亡率被认为是所有冷藏牡蛎的代表性数据。由于商业牡蛎通常存储在较高的温度下（5~10℃），可能导致错误。死亡情况可能被高估了，因为在所使用的方法中，冷应激下的副溶血弧菌可能不会复苏。一个列举法是在含镁的介质里用恢复手段，它已被证明能增加冷冻压力下的细胞复苏。与其它用来计算死亡数目的方法相比，在冷冻后，该方法不产生更高的副溶血弧菌数目。因此，可以忽略冷应激对死亡率的影响。

FDA/ISSC 零售研究的数据（Cook 等，2002）关于在收获和样本收集间的时间，被认为是冷藏时间到消费的一个可靠估计（Cook，1997a）。表 I-19 显示了在研究过程中获得的样本的存储时间的统计汇总。假设这些数据代表着样本的存储时间，这些样本一般是在星期一或星期二收集，大多是周末在餐馆被消费掉了，这可能带来一个小程度的误差。

由于这是一个为期一年的全国性调查，7.7 天的平均值和 1 天到 21 天的范围均被认为是代表了所有的季节和地区。在模拟中，我们使用了一个基于总体均值、最小值、最大值和模式的 BetaPERT 分布，以获得一个存储持续时间变化的平滑代表数据。

表 I - 19 美国 ISSC/FDA 零售研究期间取得的牡蛎样本存储时间
(冷藏日条件下的时间) 分布统计摘要

存储时间	当地消费的 (与收获在同一地区)	非当地的 (运输到收获地之外)	全部
最小值	1	2	1
最大值	20	21	21
均值	6.3	9.9	7.7
最可能值	6	5	6

数据来源: FDA, 2005。

通过从存储时间分布中随机抽样并乘以一个每小时 $0.003\log_{10}$ 的死亡率, 由此模拟在消费时的副溶血弧菌预测数目。然后从预测的最初到达冷却箱 (没有增长) 温度的牡蛎中副溶血弧菌数减去由模拟产生的分布数。

日本、澳大利亚和新西兰系统的牡蛎存储时间见表 I - 20, 基于从 Toyofuku (日本)、Damian Ogburn (澳大利亚)、D. J. Mccoubrey (新西兰) 和 Klaus Schalle (加拿大) 的个人通信中得到的数据; 请注意加拿大牡蛎的存储时间被假定为与美国相同。

表 I - 20 不同国家牡蛎冷藏储存的最小、最大和最有可能值时间 (天)

国别	最小存储时间	最有可能值	最大存储时间
日本	0.5	6	12
澳大利亚	1	6	10
新西兰	1	2	5

I - 2.8 消费时的情况

食品的调查和牡蛎收获统计数据为估计其在全体居民中的接触程度提供了依据。除了在收获和收获后的模块确定的致病性副溶血弧菌数量的预期变化外, 通过考虑牡蛎在餐桌上的消费数量和净肉重的可能变化, 以确定摄入的剂量分布。

用于估计牡蛎消费数量的原始数据来自于 Degner 和 Petrone 进行的消费者调查 (1994)。数据是一个自我报告的每次用餐服务时牡蛎消费数量的分布。由于牡蛎经常以“打” (一打为十二个) 为单位来销售, 牡蛎消费数量的频率分布固定在半打, 一打, 两打, 三打和四打的数字。然而, 牡蛎消费的中间数字也有报告。在模拟中, 牡蛎消费数量通过从所报告的消费数量分布中随机选择构造模型。

牡蛎净肉重是采用 ISSC / FDA 零售数据 (FDA / ISSC, 2000; DePaola, 2002) 来估计。在这项研究中, 牡蛎重量来自于从批发和零售点采集的 339 份牡蛎样品记录。每个样本由 4~16 只 (通常为 12) 牡蛎组成, 通常认为重量为牡蛎肉和壁炉架流体的重量, 因为这两者都可能在食用牡蛎时消费掉。每个样品内每只牡蛎平均重量是由样品的重量除以该样品中牡蛎的个数得到。收集到数据能得到一个重量的分布。观测到的平均牡蛎体重

数据拟合为一个对数正态分布。牡蛎体重的几何平均为 15.2 克，几何标准偏差为 1.4 克。

I - 2.9 缓解策略

该模型可以用来显示缓解策略的效果。例如，三个可能的收获后的缓解办法的效果可以在 Monte Carlo 模型中评价：

- 减少制冷时间（即快速冷却）；
- 热处理；或
- 冷冻/冷藏

通过快速冷却的缓解可以模型化，假如牡蛎收获后立即被冷却到弧菌无生长的温度，在船上用冰冻或冷却牡蛎贝壳。在这个模拟中，假设未冷藏时间为零（即一个退化分布或常数）。然而，如前所述，预计一些增长仍将发生在冷却过程中。

热处理和冷冻/冷藏的效果可以通过调整基准仿真的模拟输出进行评估（没有缓解），分别向下调整 $4.5\log_{10}$ 因子（温和的热处理后引起疾病大幅减少的最低水平）和 $2\log_{10}$ 因子。因此，对于在 Monte Carlo 模型的过程中产生的全部和致病性弧菌数字值的随机序列，可以分别被 1 623 和 100 相除。隐含的假设是， \log_{10} 的副溶血弧菌数处理效果一致，没有引起对数数字的方差变化。

I - 3 危害特征

剂量反应关系可以从以下方面中产生：突然大爆发的和零星病例系列的流行病学调查，人类喂养试验或副溶血弧菌动物和相关的（替代的）病原体。例如在日本，人体试验表明带有越来越多的致病性副溶血弧菌的疾病的数量在增加。已经对不同剂量反应模式进行了比较，基于在高接触水平下人类喂养试验的基础上估计的疾病的风险，来推算与生牡蛎消费相关的较低级别接触的风险（FDA，2005）。

然而，美国疾病控制和预防中心估计每年的疾病的考虑表明，在人接触条件下的剂量反应是不同于对人志愿者研究中观察到的剂量反应。换句话说，在饲养试验的接触条件下的剂量反应直接外推得不到流行病学数据的支持。人类饲养试验在并发抗酸管理的条件下进行。由于牡蛎食品可能的基质效应，与根据从发表的临床试验估计的剂量反应相比，剂量反应被改变了 $1\log_{10}$ 。这种改变来自于疾病预防控制中心人员对副溶血弧菌传染的考虑。

I - 3.1 关于病原体、宿主和食品基质因素的描述，它们如何影响疾病的结果

I - 3.1.1 病原体的特性

感染性，毒性/致病性

感染副溶血弧菌的特点是急性胃肠炎，通常在 4 至 30 小时内病发。虽然大多数情况下的副溶血弧菌感染不需要医疗干预就能处理，但在极少数的情况下，感染可导致败血症和死亡。不是所有的副溶血弧菌菌株都引起疾病，但如果有毒性因子 TDH（耐热直接溶血素）出现，和另一个可能与 TDH 相关的毒性因子溶血素 TRH（耐热直接溶

血素相关溶血素)，大多数菌株都能引起疾病。随着新菌株的出现，临床感染发生率每年都会有所不同。

遗传因素，包括抗生素耐药性和毒性因子

关于弧菌属细菌毒性因子完整的数量和作用是未知的，是要继续研究的课题。虽然每个致病性弧菌属细菌菌株及其相关的毒性因子的完整毒性特征没有明白，已描述了几个主要毒性因子的特性。

副溶血弧菌毒性似乎主要归因于 TDH（宫本等，1969）。表达这种毒素的副溶血弧菌菌株在我妻氏琼脂（Wagatsuma Agar）溶解红细胞，也被称为神奈川现象阳性（KP+）；TDH+和 KP+表示存在着用 *tdh*+ 基因编码的毒素。典型的 KP 阳性菌株携带两个 *tdh* 基因：*tdh1* 和 *tdh2*（Nishibuchi 和 Kaper，1995）。其他 *tdh* 基因，即 *tdh3*，*tdh4* 和 *tdh5*，在弱 KP 阳性菌株中被发现。*Tdh*+ 等位基因在副溶血弧菌的环境分离菌株中很少被发现，但经常在临床分离菌株中被发现。KP 阴性的临床分离菌株产生一种 TDH 相关的溶血素 TRH，由基因 *trh1* 或 *trh2* 编码（Honda 等，1988；Kinushita 等，1992；Shirai 等，1990）。一些菌株都携带 *tdh* 和 *trh* 基因，由仅携带 *trh* 基因的菌株产生的临床病例频率比由于携带 *tdh* 基因的菌株产生的病例频率小得多（Okuda 等，1997）。

I - 3.1.2 宿主的特征

免疫状况

宿主的免疫系统对弧菌属细菌的感染发挥作用以保持健康。免疫功能低下对这两种感染都有特殊的风险和更严重的后遗症。在日本，对副溶血弧菌血症病例的报道都是免疫抑制的患者，尤其是白血病、肝硬化（Ng 等，1999）。

年龄，性别和种族

在这个对副溶血弧菌的风险评估中纳入考虑的传染途径为生牡蛎。美国曾经对生牡蛎消费模式的年龄，性别和种族作过估计（Desenclos 等，1991；Timbo 等，1995）。

消费生贝类动物的任何人都有“危险”感染副溶血弧菌。美国 FDA 在美国 1993 年和 1998 年电话调查表明生贝类的消费不是均匀分布（Levy 和 Fein，1999）。男性吃生牡蛎的比例高于女性（16%比 7%），居住在美国沿海地区的居民比生活在内陆的居民消费更多的生贝类（22%比 13%）。从 1998 年 FDA 的调查可以明显地看出生贝类消费降低的趋势。这可能是 FDA 对生的或未煮熟的蛋白质食物（如牛肉，鸡肉，鸡蛋，贝类）消费相关的风险教育努力的结果。生贝类的消费在那些具有最高教育水平人群中最高，过去 5 年减少生贝类消费的趋势在这组中最小。

在日本，牡蛎生吃的比例大约是 55%（广岛县政府^①），在澳大利亚和新西兰的比例会高得多，有人认为大于 90%的牡蛎是生吃或最轻微烹饪（Nick Ruello，个人通信）。

日本在年龄和性别分布的数据（参见图 1 - 8）也表明，各年龄组都容易感染副溶血弧菌（Anon.，1998b）。

^① 数据来源：www.pref.hiroshima.lg.jp/www/contents/1170319316468/files/toukei.pdf（日语）。包括 2002—2009 年数据。

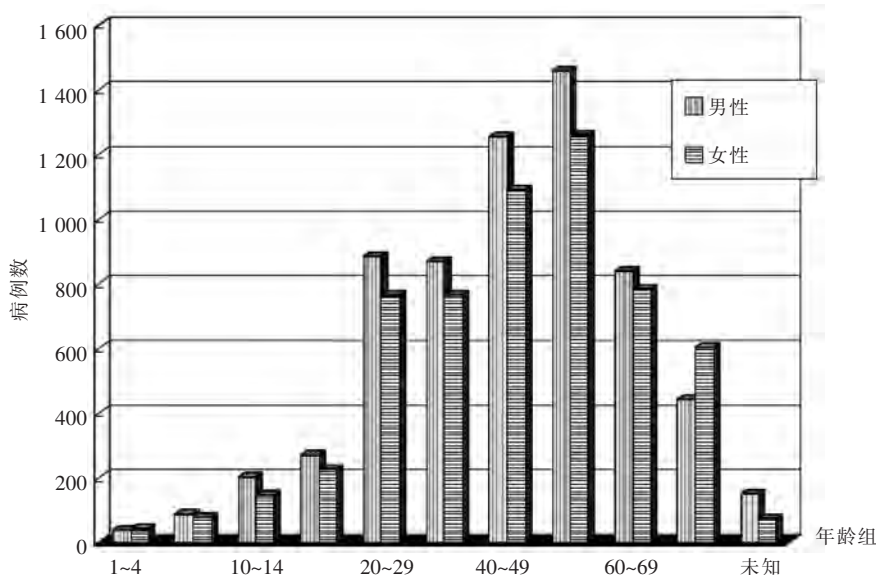


图 I-8 感染副溶血病菌病人的年龄分布 (日本, 1998 年数据)

健康行为

所有的弧菌属细菌通过烹饪比较容易被灭活。食物中大多数与致病性弧菌菌株相关联的风险来自于生海鲜消费或者生海鲜或受污染的水导致对其他食物的交叉污染。

一年中消费的时间段需要在这个风险评估中考虑进来, 因为大多数感染发生在温暖的月份。也就是, 一个人食用同样数量的生牡蛎在夏天比在冬季具有更高的感染风险。收获的位置也很重要。例如在美国, 多数牡蛎是在墨西哥湾被捕获上岸, 尤其是路易斯安那的海岸, 那里的水温在夏天可以高达 20 (°C), 随同盐度的增加, 这导致环境条件有利于副溶血弧菌生存和生长。

生理状态

虽然没有与易感染副溶血弧菌疾病有关的生理状态的测度, 流行病学数据分析表明, 先前存在的疾病可能会使个体的胃肠道疾病恶化成败血症 (FDA, 2005)。

在美国, 食用生牡蛎的成人 (>17 岁) 中, 与生牡蛎相关的由任何弧菌种类引起的疾病年均发病率估计约为 10.1/1 000 000 [95%可信区间 (CI): 8.3~11.9]。食用牡蛎的成人中, 任何一种弧菌的致命感染的年发病率估计约为 1.6/1 000 000 (95%可信区间: 1.3~1.9)。在两个流行病学研究中 (Hlady, 1997; Klontz, 1990), 副溶血弧菌占弧菌感染总报告的比例为 77 / 339 (表 1-21)。在这 77 人当中, 68 人患有肠胃炎, 9 人患有败血症; 29 人住院治疗肠胃炎, 没有死亡报告, 而 8 人住院治疗败血症, 其中 4 人死亡。败血症患者有潜在的其它疾病, 包括但不限于癌症、肝病、酒精中毒和糖尿病 (Hlady, 1997; Klontz, 克朗茨, 1990)。

Hlady 和 Klontz (1996) 报告称, 感染的患者当中, 25%有先前存在的肝脏疾病或酒精中毒, 包括 75%败血症患者和 4%的肠胃炎患者。剩余的败血症患者中, 9 人报告至少有以下一种病史: 恶性肿瘤、肾功能疾病、胃溃疡疾病、胃肠外科手术、糖尿病、抗酸药

物治疗或恶性贫血。肠胃炎患者当中，74%没有上述事先存在的医疗状况或没有足够的信息来进行分类。因此，尽管败血病患者有普遍的先前疾病，大多数与生牡蛎有关联的弧菌肠胃炎患者没有先前的医疗情况。

表 I - 21 佛罗里达州与生牡蛎相关的弧菌感染的临床综合征 (1981—1994)

弧菌种类	总病例数	肠胃炎	败血病
创伤弧菌	95	13	82
副溶血弧菌	77	68	9
非 O1 群霍乱弧菌	74	8	66
霍氏弧菌	38	35	3
拟态弧菌	29	29	0
河流弧菌	19	19	0

数据来源: Hlady, 1997; Klontz, 1990。

在美国监测弧菌的第一年 (1989), 副溶血弧菌占了以肠胃炎或败血病为特征的病例报告的 27/85 (Levine 等, 1993), 副溶血弧菌是报告中最常见的弧菌。感染副溶血弧菌的 27 人中的 12 人已知曾生吃牡蛎; 一个人有败血症, 而其余 26 人有肠胃炎。与牡蛎相关的感染在全年都有发生, 在十月达到高峰。

根据美国疾病预防控制中心 CDC 从 1988—1997 年在阿拉巴马州、佛罗里达州、路易斯安那州和得克萨斯州 (即美国墨西哥湾沿岸州) 对副溶血弧菌的监测数据, 最常见的六种基本的与感染有关的医疗病症是糖尿病、消化性溃疡、心脏病、胃手术、肝脏疾病和免疫缺陷 (Angulo 和 Evans, 1999)。对于肠胃炎, 同 71% 的受访者有脓毒症相比, 24% 的受访者报告这六个中的一个或一个以上疾病 (表 I - 22)。

表 I - 22 对感染副溶血弧菌作过处理的患者的基础疾病 (美国墨西哥湾沿岸州, 1988—1997)

基础疾病	感染类型	
	肠胃炎 (263 例)	败血病 (20 例)
糖尿病	7%	17%
胃溃疡	6%	18%
心脏病	6%	12%
胃手术	4%	12%
肝病	—	63%
酒精中毒	3%	14%
免疫缺陷	3%	18%
血液病	2%	13%
恶性肿瘤	2%	11%
肾病	1%	12%

遗传因素

没有发现与个体易感性的副溶血弧菌疾病相关的人类遗传因素。

I-3.1.3 食物基质的特性

脂肪和盐含量

脂肪和盐含量可能与涉及弧菌属细菌的风险确定不相关。而一个食物基质的脂肪含量可能同由弧菌保护的病原体有效剂量的增加有关。在胃道的胶团里，没有足够的证据将弧菌生存率提高的程度做成模型。

pH 和水分活性

弧菌似乎对低 pH 和脱水比较敏感。因为大多数食物与弧菌属的意外消费相关的性质，pH 和水分活性在生海鲜弧菌属的生存模型化过程中可能是不相关的。然而，由于交叉污染的结果，这些参数可能同在其他食物中弧菌的生长建模相关。

I-3.2 公共卫生成果

I-3.2.1 疾病的表现

由副溶血弧菌感染的胃肠炎通常是中等严重程度和短持续时间的自限性疾病 (Barker, 1974; Barker 和 Gangarosa, 1974; Levine 等, 1993)。然而，已有报告需要住院的重症病例。与副溶血弧菌胃肠炎感染相关的临床表现概要见表 I-23。症状包括爆炸水样腹泻、恶心、呕吐、腹部绞痛，和较少次数的头痛，发烧和发冷。在罕见的情况下，会发生败血症，其特点是发热、低血压和从血液中分离的微生物。在这些病例中，随后的症状包括四肢肿胀、附带出血性大疱的手足疼痛 (Hlady, 1997; Klontz, 1990)。疾病的持续时间从 2 小时到 10 天不等 (Barker 和 Gangarosa, 1974)。

表 I-23 副溶血弧菌引起胃肠炎的临床症状

症状	症状发生率 (%)	
	中值	范围
腹泻	98	80~100
腹部绞痛	82	68~100
恶心	71	40~100
呕吐	52	17~79
头痛	42	13~56
发烧	27	21~33
发冷	24	4~56

数据来源: Barker 和 Gangarosa, 1974; Levine 等人, 1993。

疾病暴发被定义为从一个共同食物的摄入导致类似疾病的两个或更多的病例的发生。潜伏期的范围从 12 到 96 小时，其中值大约为 15 至 24 小时。消费的生牡蛎数量范围是从 1 到 109 (中值为 12)。然而，消费的持续时间还不清楚。

肠胃炎病例流行的典型症状类似于 1997 年那些在美国太平洋西北部疾病暴发时被确诊的病例。这些症状包括腹泻 (99%)、腹痛 (88%)、恶心 (52%)、呕吐 (39%)、发热 (33%) 和带血腹泻 (12%)。美国曾发生的一些与副溶血弧菌相关的暴发疾病列在表 I-24。

表 I-24 美国北部曾发生的与副溶血弧菌相关的暴发疾病

患病人数	地点	年份	涉及的食物	参考说明
未知	美国马里兰	1971	被污染的蒸蟹	Dadisman 等, 1972
40 次暴发	美国 15 个州和关岛的管理范围	1973—1998	海鲜, 或者生的或未煮熟引起交叉污染的海鲜	Daniels 等, 2000
209 人	美国	1997	来自美国 (加利福尼亚, 俄勒冈, 华盛顿) 和加拿大 (不列颠哥伦比亚省) 的牡蛎	CDC, 1998
6 “病原学” 诊断	美国北部	1981	未知	Nolan 等, 1984
416	美国得克萨斯州	1998	收获于美国加尔维斯顿湾的生牡蛎	Daniels 等, 2000
23 “病原学” 诊断	美国	1998 (5~12 月, 7~8 月为高峰)	生贝类	CDC, 1999

虽然副溶血弧菌疫情不是比较频繁地发生, 但零星的病例并不少见, 进一步描述如下。一些病例报告已公布了临床诊断情况概要和感染副溶血弧菌患者的结果。其中之一描述了一个 35 岁的女士吃生鱼后腹痛到医院就医 (Tamura 等, 1993)。她出现胃肠道症状, 足部发红, 发热, 多发性关节炎和虚弱; 在其粪便中分离出副溶血弧菌, 她被诊断为副溶血弧菌感染引起的反应性关节炎。

另一个临床病例报告描述了一个 31 岁的女士, 她有酒精滥用史, 丙型肝炎病毒感染和肝硬化 (Hally 等, 1995)。她出现腹泻, 乏力, 腿部疼痛和尿潴留。这个患者入院前 72 小时摄入了生牡蛎和蒸虾。从血液样本中分离出副溶血弧菌。该病人在报告 6 天后心搏骤停并死亡。

1972 年报告了一例与实验室相关感染的疑似病例 (Sanyal 等, 1973)。在腹泻发生的前一天, 该实验室工作人员第一次处理副溶血弧菌菌株。病情是严重的上腹部疼痛, 血便, 恶心和发烧; 在发病后两天继续虚弱和腹部不适。没有其他来源的副溶血弧菌, 人们认为感染是由一个相对小的接种体引起的 (Sanyal 等, 1973)。

一系列病例研究是针对在一段时间内的散发病例。副溶血弧菌感染的散发病例, 尽管在美国许多州常有报告, 主要是在墨西哥湾沿岸各州报告。大多数副溶血弧菌感染临床上出现胃肠炎, 具有低的病死率。危及生命的败血症也会发生, 特别是有潜在医疗病症的病人。该一系列病例在全年中有一个感染范围, 高峰在 9~10 月。从 1981—1994 年, 在佛罗里达州报告了与生牡蛎消费相关的感染一系列病例 (Hlady, 1997)。

I-3.3 生物学上最后要点建模的理论说明

胃肠道疾病建模作为终结点, 与对人类志愿者的研究测定模型相符。因为大多数胃肠道疾病没有报告, 用于验证模型的流行病学数据通常被扩展到说明低估的情况。

剂量-反应关系可从以下几个方面得出: 爆发的和散发性系列病例的流行病学调查, 人类饲养试验或副溶血弧菌和相关 (代理) 的病原体动物模型。例如在日本, 人体试验表明, 随着致病性副溶血弧菌数量越来越多, 疾病数量在增加。人类志愿者的研究可用于估

计疾病的概率，考虑到基于剂量-反应调查的信息，这些调查来自于 Sanyal 和 Sen (1974)、Takikawa, 1958 以及 Aiso (1963, 被 Aiso 和藤原引用, 1996)。

基于初步的模拟，估计的疾病数目高于对美国的预测数，一个差异被认为是由于“总用药量”和“有效剂量”之间的区别。总用药量是提供给志愿者的副溶血弧菌细胞的可行数量。有效剂量是指通过胃并能开启感染过程的存活细胞的数量。人类志愿者的研究在攻击剂量给药之前用酸中和的解决办法，以限制由于攻击剂量因胃酸而减少的变化造成的人体反应的变化。该科学实验计划经常被用来使总用药量和有效剂量之间的任何差异最小化。虽然该计划有助于使有效剂量的变化最小，但它使食品中病原体的有效剂量的演绎复杂化。该模型的公开部分给消费者预测一个总用药量。该模型必须确定食物中副溶血弧菌的总用药量同在胃里存活的副溶血弧菌有效剂量的关系。不同的食物可能会增强或减弱有效剂量。从霍乱弧菌危险特性提出的数据表明的剂量反应向右移，和在攻击剂量之前提供肉汤的研究相比，在霍乱弧菌的人类志愿者的研究中，在攻击剂量之前提供一个酸中和溶液。与酸中和溶液提供的副溶血弧菌相比，对于由牡蛎给予的副溶血弧菌，预期相似的剂量反应向右移是合理的。对于目前的风险评估，这个剂量移动估计为 27.1，适用于贝塔-泊松 (Beta-Poisson) 剂量功能的 β 系数 (参见图 I-9)。

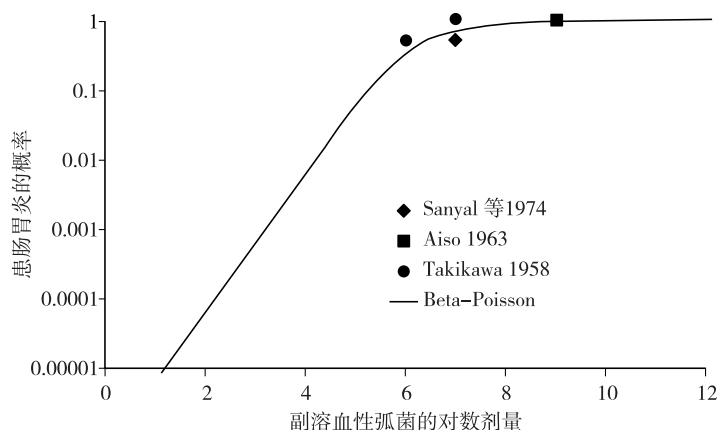


图 I-9 副溶血性弧菌的 β 泊松 (Beta-Poisson) 剂量-反应曲线
来源：美国食品与药品管理局的《副溶血弧菌风险评估》(FDA, 2005)。

用于估计的剂量-反应转变的流行病学数据是根据疾病总数的估计，而不是根据只报告给公共卫生部门的疾病数据。通过由美国公共卫生部门记录的病原学副溶血弧菌病例数乘以 20 这个因子，用以校正估算美国大量的未报告疾病数，得到这个估计。这是说，在美国，每报告一例副溶血弧菌病例，估计就发生 20 例。

在所有主要依靠疾病被动报告的公共卫生系统里，疾病的统计漏报是实际情况。疾病漏报的原因是多方面的。在某些情况下病情温和，个人不去咨询医生。在其他情况下，医疗服务的提供者可能不觉得病情严重到使用实验室测试找出致病的有机体。在另一些情况下，可能对样本进行了错误的测试。在考虑疾病严重性的流行病学分析和疾病可以正确识别的可能性的基础上，CDC 估计了在美国副溶血弧菌感染的病原学病例的实际因素 (Mead 等, 1999)。

在美国以外的收获区域，正确应用该模型需要那个地区公共卫生系统类似地估计副溶血弧菌疾病的统计漏报情况。在测试该模型的国家里，副溶血弧菌疾病漏报的因子应适用于预测疾病，通过模型与监测数据的相关性，以便比较模型在预测疾病方面的性能。在目前的研究中，由于特定国家没有统计漏报因子，美国的因子 20 被用来作预测疾病模型的性能评估。

I-3.4 剂量-反应关系

I-3.4.1 现有数据的总结

设定的接触条件下的患病概率

人类志愿者的研究可用于估计给定的接触条件下的患病概率。桑亚尔和森（1974）、泷川（1958）、Aiso（1963，Aiso 和藤原引用，1996）进行了剂量-反应研究。

设定疾病的后遗症概率

在美国，约 5% 的副溶血弧菌病理学病例成为败血症（Angulo 和 Evans，1999）。

二级和三级传染的概率

没有报告描述由副溶血弧菌引起的疾病发生二级和三级传染。

设定疾病的死亡概率

在此基础上美国的统计，大约 20% 感染副溶血弧菌败血症的患者死亡（安吉洛和伊万斯，1999）。

I-3.4.2 剂量-反应模型

所用数据的来源

图 I-9，来自 FDA-VPRA (FDA, 2005)，显示已有的喂养试验数据最大似然适合 β -泊松 (Beta-Poisson)。由于在这些研究中主体数量少，对剂量反应的最佳估计存在相当大的不确定性。可以用表征剂量-反应参数不确定性的几种统计方法，包括基于似然比置信区间和抽样技术（参数和非参数）。

一个副溶血弧菌的数据非参数自展分析结果显示在表 I-25。在表中为每个可能（已实现或未实现）的研究的结果有一个条目。对于每一个可能的结果，用最大似然法得到的是一个适合 β -泊松剂量反应函数和产生的 α 和 β 的估计显示（以及获得的拟合的 ID50 记录）。与每一个可能的结果和概括的拟合相关的非参数自展估计的概率权重用“再采样品的可能性”表示。一个异常分析表明，对大多数结果获得了一个 β -泊松模型好的拟合，不能足够适合 β -泊松模型 ($P < 0.05$) 的结果相对不太可能。

对于当前评价的目的，剂量-反应的不确定性曾是使用非参数的自举程序的特点。如果疾病真的概率（风险）在每个研究的剂量水平是已知的，那么所观察到的可能性和替代（可能的但未实现）的结果也会是已知的。替代结果的可能性（即如果研究被复制）可以被用来表征用于估计（即内插或外推）总剂量反应的任何剂量-反应函数的参数值的不确定性。由于在每个研究的剂量水平的疾病真实概率是未知的，自举程序代替这些概率的一个估计和对非参数 bootstrap 估计，估计是病症的被观察的频率。

表 I-25 介绍的关于 Monte Carlo 模拟运行的剂量-反应部分数据的分析，通过 α 和 β 参数的概率加权选择，可用于表征参数不确定性对基于模拟的风险预测的影响。为清楚

起见，这些替代的剂量-反应曲线不显示在图 I-9。

表 I-25 副溶血弧菌 β -泊松分布剂量-反应的不确定性：与再取样相关的最大似然估计（MLEs）的参数和非参数概率（基于观测数据）

ID	可能的再取样					最大似然估计参数		再采样的可能性	Log ID50 极大似然估计	适合再采样的偏差	适合再采样的 p 值
	x1	x2	x3	x4	x5	α	β				
1*	0	0	0	0	4	1.47×10^6	3.53×10^{14}	0.000 34	8.22	0.645 0	0.886 1
2*	0	0	0	1	4	1.26×10^7	7.20×10^{14}	0.004 12	7.60	0.085 7	0.993 5
3*	0	0	0	2	4	636.53	1.65×10^{10}	0.020 58	7.26	0.190 1	0.979 2
4*	0	0	0	3	4	35.81	5.42×10^8	0.054 87	7.03	0.326 2	0.955 0
5*	0	0	0	4	4	20.84	1.99×10^8	0.082 30	6.83	0.520 4	0.914 4
6*	0	0	0	5	4	14.87	$8.78E \times 10^7$	0.065 84	6.62	0.855 7	0.836 1
7*	0	0	0	6	4	10.58	$2.99E \times 10^7$	0.021 95	6.31	2.256 2	0.521 0
8	0	0	1	0	4	3.89	$2.28E \times 10^8$	0.000 69	7.65	7.453 6	0.058 8
9	0	0	1	0	4	1.31	2.93×10^7	0.008 23	7.31	4.442 6	0.217 5
10	0	0	1	0	4	0.52	3.61×10^6	0.041 15	7.00	2.953 8	0.398 8
11	0	0	1	0	4	0.47	1.50×10^6	0.109 74	6.70	1.757 1	0.624 3
12	0	0	1	0	4	0.60	1.31×10^6	0.164 61	6.46	0.999 4	0.801 4
13	0	0	1	0	4	1.00	1.80×10^6	0.131 69	6.26	0.627 2	0.890 2
14*	0	0	1	0	4	8.59	1.30×10^7	0.043 90	6.04	0.624 2	0.890 9
15	0	0	2	0	4	0.15	2.33×10^5	0.000 34	7.32	15.955 3	0.001 2
16	0	0	2	1	4	0.19	2.29×10^5	0.004 12	6.90	10.699 9	0.013 5
17	0	0	2	2	4	0.25	2.36×10^5	0.020 58	6.57	7.968 4	0.046 7
18	0	0	2	3	4	0.32	2.57×10^5	0.054 87	6.30	6.078 5	0.107 9
19	0	0	2	4	4	0.43	3.04×10^5	0.082 30	6.08	4.697 0	0.195 4
20	0	0	2	5	4	0.69	4.34×10^5	0.065 84	5.88	3.656 4	0.301 0
21*	0	0	2	6	4	6.92	4.49×10^6	0.021 95	5.68	2.369 7	0.499 3

注：* 非收敛估计。

假设

主要假设是：

- 健康志愿者对口头挑战的反应代表了总体的人口。
- 病原体的毒性或宿主的易感性不会发生变化。
- 进食弧菌时， β -泊松剂量-反应模型用于表征疾病的风险是合理的。

虽然这些假设并不代表我们所认为的人类的剂量-反应关系的性质，但它们形成了危险特性的第一次迭代的基础。随着可用的信息越来越多，可以修订这些假设以更好地反映我们对剂量-反应关系的理解。

分布的拟合优度

对于副溶血弧菌的分布的拟合优度没有表明其特点，作为一个家庭的剂量-反应参数被用来表示参数的不确定性。

在估计中的不确定性和可变性

在这些估计中，本分析包含了不确定性和可变性。由于剂量-反应估计是基于拟合人类志愿者数据的曲线，至于产生最适合的参数是否是“真正”的剂量-反应曲线参数存在不确定性。为了解释这种不确定性，可以设置 Monte Carlo 模拟模型，以从一组可能的剂量-反应参数（通过剂量-反应数据的统计分析得出）按概率选择。虽然它不纳入目前的评估，假设病原体毒性和宿主的易感性有变化是合理的。需要进一步研究，以提供数据对病原体毒性和宿主易感性的变异性作评估和建模。在这危险特性的一个关键的不确定性是食品基质对剂量-效应关系的影响。FDA - VPRA (FDA, 2005) 和来自 Cash 等人研究的证据 (1974) 都表明一些食品基质会使剂量反应曲线右移，表明需要高剂量的病原体来引起疾病。未来的人类志愿者的研究可能有助于解决这一问题，并提供数据，这些数据将允许缩放因子被用于预测关于特定病原体与特定的食物基质的风险。

I - 4 风险表征描述

正如在引言中所强调的，一个重要的制约因素是可用的数据只有 4 个国家的，并且数据范围很有限。在没有具体国家的数据时，用美国的数据来使模型运行。在何种程度上使用了替代数据如表 I - 26 所示。

表 I - 26 用于副溶血弧菌模型的数据来源

	澳大利亚	加拿大	日本	新西兰
水温	当地数据	美国太平洋西北部数据	当地数据	当地数据
水温与副溶血弧菌水平的关系	美国数据	美国数据	美国数据	美国数据
牡蛎被捞出水的时间	当地收获数据	当地收获数据	当地收获数据	当地收获数据
气温	当地数据	当地数据	当地数据	当地数据
生长速度调整因子	美国数据	美国数据	美国数据	美国数据
牡蛎冷藏时间	当地数据	当地数据	当地数据	当地数据
牡蛎重量	美国数据	美国数据	美国数据	美国数据
在一顿饭中食用牡蛎的数量	美国数据	美国数据	美国数据	美国数据
tdh+ or trh+ 牡蛎的比例	美国数据	美国数据	美国数据	美国数据
当地收获牡蛎的总量	当地数据	当地数据	当地数据	当地数据
统计漏报的乘数	美国数据	美国数据	美国数据	美国数据
生吃牡蛎的比例	美国数据	美国数据	美国数据	美国数据

注：tdh+ = 耐热直接溶血素基因阳性；trh+ = 耐热相关溶血素阳性

I - 4.1 在所研究的国家中从消费的牡蛎预测疾病

在日本，广岛湾的牡蛎生产被作为该国牡蛎生产的代表。牡蛎的生产按月度估计，年

消费量在一百万个。该模型仅在 10~12 月预测疾病。请注意，牡蛎在夏季的几个月没有收获^①。例如，在广岛湾牡蛎收获从 2005 年 10 月 29 日延长至 2006 年 3 月 31 日，当时两米深的水温介于 21℃ 和 11℃ 之间。

在澳大利亚，新南威尔士州的沃利斯湖被作为典型的牡蛎收获地区，澳大利亚。对该模型进行了调整，与模型 0.985 低水活性值相比，使用了 0.98 的低水活性值，以反映沃利斯湖较高的盐度值。

至于新西兰，奥龙戈湾的温度数据作为新西兰牡蛎生产的代表。一个月牡蛎供应的产量估计为 600 000 份。对该模型进行了调整，与模型 0.985 低水活性值相比，使用了 0.98 的低水活性值，以反映奥龙戈湾较高的盐度值。

加拿大的生产参照美国太平洋西北部的生产来建模，收获作业的参数随之变化。当空气温度小于 15℃ 时，在收获四小时内，加拿大要求把牡蛎放置在温度控制下；在更高温度时牡蛎需在收获的一小时内开始冷却。

表 I-27 显示了，在目前的风险评估中五个国家建模对副溶血弧菌疾病的预测；注意，在南半球温暖的月份与北半球的月份相反。除了新西兰，在所研究的生长区域，该模型预测的疾病水平比在每个国家公布的高（表 I-28）。

在日本，广岛湾的产量约占全国产量的 57%，相当于每年预测的大约 66 例疾病。这可能对应着在 7 年期间（1998—2004）公布的 13 例副溶血弧菌病。

在澳大利亚，该模型预测这一生长地区（沃利斯湖）比整个国家报告的（国家肠道病原菌监测系统，NEPSS）更多的副溶血弧菌病。沃利斯湖占新南威尔士州产量的 30%，预测每年 27 例疾病，转化为每年总共大约 90 例疾病。然而，在新南威尔士州过去的 18 年里只有两例记录的副溶血弧菌疾病涉及牡蛎的消费，在其他州和地区并没有记录。1992 年，悉尼岩牡蛎被怀疑是两例疾病的食品传染媒介，其中一人死亡（Kraa, 1995）。

在新西兰的奥隆戈湾地区有 22 个租赁的海洋养殖场，约占新西兰牡蛎养殖总产量的 15%。在新西兰海产品副溶血弧菌的风险预测是由 Lake 等人进行（2003），包括对所有报告的副溶血弧菌疾病的描述。虽然在新西兰微生物不是法定申报的，在 1998—2002 年之间仍有共 32 例散发病例报告到国家鉴定数据库。许多疾病与私人从太平洋群岛进口的海鲜相关；没有病例涉及牡蛎。

表 I-27 在日本、澳大利亚、新西兰、加拿大和美国预计每年由于消费牡蛎引起的副溶血弧菌疾病

	1~3 月	4~6 月	7~9 月	10~12 月
日本大阪湾	0	0	0	38
澳大利亚沃利斯湖	19	1	0	7
新西兰奥隆戈湾	0	0	0	0
加拿大不列颠哥伦比亚省	0	18	168	0

^① 在日本夏季的几个月内，在所收集资料的地区因为微生物数据（捕鱼海水中大肠菌最可能数，大肠菌总板计数，牡蛎中大肠菌群和总副溶血弧菌最可能数）超过了厚生劳动省设定的标准（Ken Osaka, 个人通信），为生食的牡蛎没有收获。

技术报告

(续)

	1~3月	4~6月	7~9月	10~12月
美国墨西哥湾	10	698	1 705	183
美国大西洋北部	0	3	14	2
美国大西洋中部	0	4	7	4
美国太平洋西北部	0	18	177	1

说明：在南半球温暖的月份与北半球的月份相反。

表 I - 28 在日本、澳大利亚、新西兰、加拿大预计和报告的每年由于消费牡蛎引起的副溶血弧菌疾病

	模型预测特定生长地区每年的病例数	产量占比 (%)	模型预测该国每年的病例数	来源于牡蛎消费的副溶血疾病的流行病学证据
澳大利亚沃利斯湖	27	30	91	18 年有 2 例；其他来源海产品导致了 2 起大规模暴发
新西兰奥隆戈湾	0	15	0	1997—2002 年没有来自牡蛎的病例；其他来源海产品导致了几起大规模暴发
日本大阪湾	38	57.2	66	1998—2004 年有 13 例
加拿大不列颠哥伦比亚省	186	100	186	不列颠哥伦比亚省 1997—2006 年十年间有 212 例

表 I - 29 在加拿大不列颠哥伦比亚省报告的余副溶血弧菌有关的疾病

年份	总数	零售/饭馆	自主收获
1997	111	88	23
1998	15	9	6
1999	27	23	4
2000	8	2	6
2001	4	3	1
2002	17	12	5
2003	7	7	0
2004	6	6	0
2005	7	3	4
2006	19	8	11
总计	221	161	60

资料来源：莉莉安娜·罗德里格斯-Maynez 个人通信，加拿大食品检验局。

在 1997—2006 年预测的加拿大不列颠哥伦比亚省的病例（表 I - 28），均高于该省健

康统计的报告（表 I - 29），该省的病例是必须申报的；值得注意的是，60/221（27%）的病例来自于不可控的“非商业化”收获的牡蛎。因为与美国太平洋西北部的收割条件类似，加拿大和美国的模型是相似的。加拿大的收获作业包括收获后牡蛎保持未冷藏的时间限制，这纳入到加拿大的模型。

列示美国的预测结果便于与其他收获地区和作业相比较。这个预测在 FDA（2005）的报告中有充分的展开和解释。表 I - 30 的估计比较了各个收获地区每餐牡蛎副溶血弧菌疾病的平均风险。然而，必须强调的是，美国的替代数据构成了非美国收获区域的风险估计的基础，应避免这种国家间的风险比较。

表 I - 30 各牡蛎收获区域副溶血弧菌疾病的风险估计

		副溶血弧菌疾病的风险（每餐消费的患病率）			
		1~3月	4~6月	7~9月	10~12月
美国墨西哥湾	均值	1.60×10^{-6}	1.45×10^{-4}	3.75×10^{-4}	3.08×10^{-5}
	5%ile	4.13×10^{-8}	1.02×10^{-5}	2.86×10^{-5}	1.41×10^{-6}
	95%ile	6.22×10^{-6}	4.68×10^{-4}	1.21×10^{-3}	1.09×10^{-4}
美国大西洋北部	均值	1.11×10^{-8}	3.64×10^{-6}	1.78×10^{-5}	3.98×10^{-7}
	5%ile	4.92×10^{-10}	8.35×10^{-8}	8.37×10^{-7}	1.25×10^{-8}
	95%ile	3.47×10^{-8}	1.49×10^{-5}	6.86×10^{-5}	1.62×10^{-6}
美国大西洋中部	均值	1.05×10^{-8}	3.11×10^{-5}	9.24×10^{-5}	2.21×10^{-6}
	5%ile	4.93×10^{-8}	1.81×10^{-6}	4.86×10^{-6}	4.94×10^{-8}
	95%ile	3.75×10^{-8}	0.000 105	0.000 331	1.02×10^{-5}
美国太平洋西北部	均值	1.24×10^{-9}	6.93×10^{-6}	7.71×10^{-5}	2.07×10^{-7}
	5%ile	4.35×10^{-11}	1.33×10^{-8}	1.66×10^{-6}	1.87×10^{-9}
	95%ile	4.85×10^{-9}	3.07×10^{-5}	0.000 332	8.42×10^{-7}
加拿大	均值	7.46×10^{-10}	1.19×10^{-7}	1.08×10^{-6}	1.1×10^{-8}
	5%ile	2.87×10^{-11}	2.01×10^{-9}	3.04×10^{-8}	4.81×10^{-10}
	95%ile	2.75×10^{-9}	4.22×10^{-7}	4×10^{-6}	3.76×10^{-8}
澳大利亚	均值	6.1×10^{-6}	3.47×10^{-7}	5.97×10^{-8}	2.29×10^{-6}
	5%ile	1.72×10^{-7}	1.9×10^{-8}	4.09×10^{-9}	7.59×10^{-8}
	95%ile	2.29×10^{-5}	1.12×10^{-6}	2.04×10^{-7}	9.57×10^{-8}
新西兰	均值	3.25×10^{-7}	8.56×10^{-8}	1.4×10^{-8}	2.37×10^{-7}
	5%ile	1.78×10^{-8}	5.24×10^{-9}	1.1×10^{-9}	1.34×10^{-8}
	95%ile	1.12×10^{-6}	3.05×10^{-7}	4.57×10^{-8}	7.75×10^{-7}
日本	均值	3.65×10^{-9}	1.02×10^{-7}	1.00×10^{-10}	1.25×10^{-4}
	5%ile	2.16×10^{-10}	4.96×10^{-9}	1.00×10^{-10}	5.02×10^{-6}
	95%ile	1.3×10^{-8}	3.12×10^{-7}	1.00×10^{-10}	4.27×10^{-4}

I-4.2 预测监测结果和漏报因素

模型能根据具有从轻微到严重各种症状的病症来预测疾病，这样的模型在疾病报告上提出了特殊的挑战。严重的病例和疾病的爆发一般能引起公共卫生机构的关注，由于各种原因，较轻微的病例不会这样，就有疾病漏报。当为不同的国家作风险评估分析时——就像在目前的工作中，这带来了挑战。理想的情况下，估计的总患病人数（不确定性）将与流行病学监测数据相当。实际上，对于表现出一系列症状的疾病，估计经常会高于报告数。与疾病相关的漏报率则变得至关重要。

在目前的工作中，对于每报告一个疾病，我们使用疾病预防控制中心（CDC）相应的20个未报告的副溶血弧菌疾病调整数。不幸的是，我们不知道在日本、澳大利亚和新西兰的副溶血弧菌疾病未报告的规模。所能说的就是，每个国家都保持由副溶血弧菌引起的疾病统计。特别是日本，该病菌是食物中毒的主要原因（表 I-31），尽管1999年后的暴发和病例似乎已经减少，可能是由于为生食的牡蛎只在当水温低时才进行收获。

表 I-31 日本报告的副溶血弧菌疾病暴发和病例情况

年份	疾病暴发	病例
1999	667	9 396
2000	422	3 620
2001	307	3 065
2002	229	2 714
2003	108	1 342
2004	205	2 773
2005	113	2 301

数据来源：日本厚生劳动省。

在不列颠哥伦比亚省，病例（表 I-29）主要是基于实验室确认，在少数情况下是基于同临床症状和饮食历史的关联。

在澳大利亚，新南威尔士州曾有副溶血弧菌疾病大暴发，涉及从印度尼西亚进口的冷冻和熟虾。1990年，超过100人受到感染，1人死亡；1992年，在消费熟对虾后，两个独立的疾病爆发，涉及50人以上（Kraa, 1995）。由于这些疾病的暴发，在新南威尔士州，副溶血弧菌已被列入可疑的食物中毒常规的实验室病例筛查。牡蛎的一个重要的具体案例是在1997年，沃利斯湖的悉尼岩牡蛎导致的一场病毒型甲型肝炎大暴发之后（Conaty, 科纳蒂等, 2000），在悉尼奥运会的准备阶段，管理当局（NSW 食品管理局）的监督和管理部门得到加强。

上述情况使我们得出结论，在日本、加拿大、新西兰和澳大利亚，副溶血弧菌病的漏报很可能不大于美国。将这一比例应用到日本和不列颠哥伦比亚省使预测和报告的病例在

相同的数量级，这可能被视为是一个可以接受的模型试验。相比之下，在澳大利亚，18年内有2例报告的疾病，而同期模型的预测在1700例。由于刘易斯等人的研究（Lewis，2002）仅提供了沃利斯湖牡蛎的致病性副溶血弧菌流行和富集的初步信息，因而使用了美国太平洋西北部的数据。这些数据，连同从沃利斯湖获得的水温数据，解释了预测的疾病。然而，艾尔斯等人的研究（Isles，1985a）清楚地表明，当在30℃时储藏7天，悉尼岩牡蛎体内的副溶血弧菌不会生长。

在由漏报的本地数据和信息缺乏造成的限制下，目前的评估提供了三个国家同一数量级的牡蛎副溶血弧菌疾病的估计，而对于澳大利亚的预测为：报告的病例比例更大，这可能是所研究的牡蛎品种在其预防副溶血弧菌的生长方面具有独特的能力。

I-5 建立牡蛎中副溶血性弧菌限值的影响

食品卫生法典委员会（CCFH）第三十八届会议上审议了活的和生的双壳类软体动物卫生标准草案，该草案由水产及水产加工品专业委员会制定的。得出的结论是，虽然标准包括针对双壳类动物的微生物各种限值，对所推荐的限值还没清晰地确定基本原则，至于这些限值应该是什么还没有达成一致意见。本届会议的报告指出。

“……请求粮农组织和世卫组织使用关于海鲜副溶血性弧菌的风险评估，他们正在为鱼类和渔业产品法典委员会开发科学的指南，跟进CCFH关于活的和生的双壳类软体动物卫生标准草案的建议。”

提出的风险管理问题为：

“在25克样品中，当副溶血性弧菌总数或致病性副溶血弧菌的数量范围从0到1000 cfu或每克MPN，估计副溶血弧菌风险的下降。”

该估计考虑了关于副溶血弧菌三个不同限量的影响：100 cfu/克、1000 cfu/克和10000 cfu/克。当产品收获后冷却，当副溶血弧菌的种群已经稳定时，即：当对于进一步的生长温度太低、但不是低到死亡发生时，可以认为能应用这些限量。

这一估计基于三个国家的信息：澳大利亚，新西兰和日本。然而，在没有适当的数据可用的地方，就用来自美国的替代数据。

与每个这些国家副溶血弧菌的基线分布相比，该估计注重所有（100%）收获的符合一个指定目标限量的牡蛎的影响，它估计了人类疾病的减少数量，及可能发生的被抛弃的产品数量——如果市场上所有的产品都要符合指定的目标限量。该估计列在表I-32和I-33。

表 I-32 减少的疾病，居于副溶血弧菌符合指定目标数，附带生食产品相称的排斥反应

指定目标	所预测疾病数目的减少比例（%）			为实现这些疾病减少数需抛弃的产品（%）		
	澳大利亚（夏季）	新西兰（夏季）	日本（秋季）	澳大利亚（夏季）	新西兰（夏季）	日本（秋季）
100 cfu/g	99	96	99	67	53	16
1 000 cfu/g	87	66	97	21	10	5
10 000 cfu/g	52	20	90	2	1	1

表 I - 33 符合指定目标限量预测的副溶血弧菌疾病

指定目标	每年预测的疾病数量		
	澳大利亚 (夏季)	新西兰 (夏季)	日本 (秋季)
100 cfu/g	每 5 年大约 1	每 10 年大约 1	每 2 年大约 1
1 000cfu/g	1	1	1
10 000cfu/g	5	3	4
无限量	17	4	38

I - 5.1 注意事项

考虑这些结果时，以下一些问题需要纳入考虑范围：

- 每个国家的基线数据（即牡蛎中的副溶血弧菌的水平）各不相同，因此每个国家的结果必须单独考虑，因为减少量只与其本国的基准数据相关。
- 在开发风险评估模型过程中，使用了一些替代数据，因为每一个国家所有必要参数的数据不一定都能得到。
- 这些结果与应用这些限量有关，收获上岸后，在冷却阶段，假定为测试使用一个恰当的抽样检验方法是可能的。也有可能将这些准则应用在收获消费链的另一阶段，但需作进一步的分析以确定其影响。
- 这里考虑的目标限值是针对副溶血弧菌总数（即致病性和非致病性菌株）。
- 这些结果（表 I - 32 和 I - 33）假定 100%符合已确定的限值。请注意，风险评估的其他病原体：商品组合表明，就限值的有效性而言，作为一种降低风险的策略，符合已确定的限值的水平是一个重要的考虑因素。

I - 6 讨论与结论

建立限制的影响能通过使用风险评估来评价，但是需要实现这些限值的措施不用考虑。

当副溶血弧菌数趋于最高，也是患病的风险达到最高时，在一年的这些时候进行评估。例如，对日本的评价主要集中在秋季，因为在夏天水温上升，日本的收获场所都被关闭了（关于其他病原菌的控制的规定）。

风险的减少和每个国家的产品扔弃的变化，突出了指定的目标与一个特定国家的牡蛎中副溶血弧菌的基准水平之间的关系，并强调了一个事实：在一些国家，对副溶血弧菌国际限值的确定可能会对产品扔弃产生更大的影响。例如，基于该评价模型，100 cfu/g 限值的确定意味着作为原料产品而消费的澳大利亚牡蛎 67%被扔弃，但其对日本牡蛎的影响就会小得多。

表 I - 32 表明，限值的建立可成为减少对人健康风险的一种有效手段，如果存在符合这个限值的条件。然而，减少对健康的风险是以可能被扔弃的产品数量为代价。要建立这样的限值，需要实现这两个因素之间的平衡。

尽管在风险管理中限值的建立具有优点，也必须考虑疾病的实际减少情况。表 I - 33 显示了与牡蛎中副溶血弧菌当前水平有关的疾病的预测数字，以及每个应该执行的指定目标的预测数字。如本报告前面所述，基于风险评估的年度患病预测水平与实际报告的病例数可能会有所不同，部分原因是由于食源性疾病的漏报。

附录 1 - 1 介绍了预测可能的不符合的计算方法，而不需要进一步的模拟。

I - 6.1 风险评估的主要成果

目前的风险评估曾在引言和表 I - 26 所描述的约束下运行，通过所需的替代数据使模型得以运行。一些数据缺失使风险评估受到很大影响，比如，牡蛎中副溶血弧菌的患病率，还有 tdh+ 的比例。也许这并不奇怪，鉴于上述情况，对于能够提供一些所需数据的这四个国家，疾病的估计并不总是符合每个国家的疾病监测数据。

然而，目前的工作已产生一些积极的成果：

- 该模型已被用来估计来自于生长在各种制度和监管体系下的牡蛎品种的疾病。
- 该报告中的这个模型框架可以提供给其他国家的风险评估人员进行修改。
- 风险评估人员将会从本报告介绍的积累的知识中获益。
- 一些国家，如新西兰和澳大利亚，正在对关于牡蛎中副溶血弧菌患病率和治病性菌株比例的重大研究进行投资。这将使得这些国家根据他们自己的数据改进对疾病的预测。
- 关于测试缓解策略，在收获（如减少冷却时间）和收获后通过加热、冷冻或高压处理两个方面，该模型是一个合适的工具。

I - 6.2 缺失的数据

对进行目前风险评估缺乏可用的数据予以明确，建议今后再作研究或进一步的数据收集，以减少不确定性。这些领域包括：

- 水体和贝类中的致病性副溶血弧菌的发病率或频率。
- 影响环境中致病性副溶血弧菌发病率的因素。
- 牡蛎影响副溶血弧菌水平的生理和免疫状况的作用。有必要将副溶血弧菌的数量与受污染牡蛎的比例联系起来。
- 对致病性菌株潜在的毒性因子的研究较多，除了 tdh，如 trh1 和 trh2 的肠毒素。最近发现了不产生 TDH、TRH 或脲酶的副溶血弧菌菌株，在以剂量依赖的方式口服接种后，诱使乳鼠积液和雪貂模型腹泻（Kothary 等，2000）。这些菌株临床和环境的发病率之间的关系尚未确定。
- 不同牡蛎物种内副溶血弧菌在除了 26°C 温度下的增长率，包括致病菌株同总的副溶血弧菌种群增长率的潜在差异问题。
- 基于收获区域淡水流量、潮汐变化、风况和水深，在贝类收获区水沙冲填速率（水的翻滚情况），以及这些因素如何影响致病性副溶血弧菌数。
- 操作牡蛎的消费者。
- 改善全球对副溶血弧菌的公共卫生监测，当新的流行株出现时，以便识别它们。

- 对每个所研究国家报告系统的了解；当漏报纳入到比较估计和报告的病例数时，这特别重要。

I - 7 影响牡蛎中副溶血性弧菌的风险评估和管理的当前和未来之问题

风险评估通常是在一段重要的时期内进行，在 2001 年建立的现行的评估也不例外。这是不言自明的，考虑到科学进步的速度，任何风险评估程序往往会在某种程度上存在滞后。为了适应近年来与副溶血性弧菌紧密相关的研究进展和事件，特写出本章内容。为此，在为该评估打好基础的几个关键前提方面，本章提供了一个最新的科学背景，随着越来越多的水域逐步变暖、副溶血性弧菌延伸其纬度范围，来推测风险管理者如何开发使用这种风险评估模型。

基于先前用来预测美国疾病风险而开发的框架（FDA，2005），该风险评估预测来自消费生牡蛎副溶血性弧菌疾病的风险，这些生牡蛎从选定的环太平洋国家收获。它是建立在以下四个关键前提之上：

- 感染的风险同接触的致病菌株成比例，致病性菌株明确为那些拥有 *tdh* 基因的菌株，所有拥有 *tdh* 的菌株具有同样的致病性；
- 致病性副溶血弧菌的水平可以从总副溶血性弧菌水平可靠地得到估计，总副溶血性弧菌水平更容易测量；
- 收获时牡蛎的副溶血性弧菌水平可以根据水温预测；
- 在收获后的处理和加工过程中，总的和致病性副溶血性弧菌具有同样的生长和存活状况。

在 FDA - VPRA 中（FDA，2005），关于生牡蛎的一个市场研究没有用于估计模型的参数，却被用来验证接触评价。阐明了对于每个季节，FDA - VPRA 在达到或接近消费点时预测接触总副溶血性弧菌水平的能力的可靠性。然而，由风险表征属性所确定的疾病区域因素，并不符合仅基于有追溯信息的报告的疾病做出的估计。尽管这些差异可能是由于在疾病报告或追溯过程中的区域偏差，也表明 FDA VPRA 所依据的前提或者假设，可能值得怀疑。自从 FDA 和 FAO/WHO VPRA 启动以来，已经能够获得关于这些关键前提的相当多的新信息。这些新的研究结果将在下面进行讨论，并可能为今后的工作提供指导，完善 FDA - VPRA 当前的版本，实施这些风险管理的模型。

“副溶血性弧菌的风险同接触致病性副溶血性弧菌的水平成正比”的前提继续得到流行病学数据的支持，因为从 2001—2004 年向疾病预防控制中心报告的大约 90% 的临床分离株拥有 *tdh* 基因。然而，越来越多的临床分离株既没有 *tdh* 也没有 *trh* 基因，并且这些都与需要住院治疗的最严重的病例相关。这些分离的菌株是否是彼此相关，或它们拥有的毒力特性的类型相关，仍是未知的。其中一株已被选定为全基因组测序；挖掘这些数据可能会揭示潜在的毒力决定因子。“所有的 *tdh*+ 菌株都有同样毒性”的假设更多的是基于缺乏相反的数据，而非针对性的研究支持了这一假说。关于 2004 年阿拉斯加邮轮疾病暴发的流行病学研究或许对这个假设已经产生了最有力的挑战。这次疾病暴发与血清型 O6：

K18 相关, 在 2004 年 7 月为期两周的三个航次期间, 在消费一至六个牡蛎的旅客当中, 造成 30% 的疾病感染率 (McLaughlin 等人, 2005)。从这段期间牵涉的养殖场收集的牡蛎中通常含有少于 10 MPN/g 的暴发菌株。FDA - VPRA 剂量—反应曲线表明需要大约 10 000 倍的剂量才能造成 30% 的疾病感染率。来自阿拉斯加暴发的 O6: K18 分离菌株, 同那些来自过去十年间太平洋沿岸各州孤立的散发病例菌株, 通过脉冲场凝胶电泳 (PFGE) 难以分辨区别。目前尚不清楚: 该毒株比以前用在人类志愿者研究的菌株更低的剂量是否能引起感染。另一个可能的解释是, 和食用自然积累副溶血性弧菌的生牡蛎相比, 在人类志愿者研究中使用的液体剂量可能低估了生牡蛎副溶血性弧菌的感染性。

新的研究采用实时聚合酶链反应 (PCR) 分析牡蛎: 碱性蛋白胨液富集在 MPN 形式下是处理 FDA - VPRA 第二个重要的前提, 即致病性副溶血性弧菌水平可以从总副溶血弧菌水平进行可靠的估计 (Miwa 等, 2003; Nordstrom 等, 2007)。该 PCR - MPN 方法允许对每个 MPN 试管的成千上万的副溶血性弧菌细胞 *tdh* 和 *trh* 基因进行同时检查, 比需要菌落分离的培养方法更灵敏, 培养方法通常只能检查少数菌株的这些基因。然而, 对其他弧菌种类 *trh* 基因的最近检测——如溶藻弧菌、哈维氏弧菌 (Gonzalez-Escalona 等人, 2006; Masini 等人, 2007), 使得对这类试验方法的解释复杂化。即使在 *tdh*+ 菌株, 该基因表达的变化取决于等位基因存在的类型。在具有 *tdh2* 基因的菌株里, 与其他 *tdh* 变异株相比, *TDH* 表达高得多 (Nishibuchi 和 Kaper, 1995; Nakaguchi 和 Nishibuchi, 2005)。因此, 带有 *tdh* 基因其他变体的菌株, 与具有 *tdh2* 基因的菌株相比, 可能是致病性更小的菌株。这些研究开始显示, 总的和致病性副溶血性弧菌的关系远比 FDA - VPRA 假设的更具有变化性。例如, 在 2004 年和 2005 年的夏天, 在阿拉斯加的副溶血性弧菌生态学的研究表明, 致病性副溶血性弧菌分别占牡蛎总的副溶血性弧菌种群的 74% 和 30%。2004 夏天, 在阿拉巴马州和密西西比州用同样的方法, 致病性副溶血性弧菌分别占总的副溶血性弧菌种群的 0.001% 和 0.05% (DePaola 等, 2007)。因此, 食用每克含有 10 总副溶血性弧菌的阿拉斯加牡蛎, 可能比食用每克总副溶血性弧菌水平大于 100 000 的阿拉巴马州牡蛎风险更大, 假定阿拉斯加州和阿拉巴马州的 *tdh* + 菌株具有同样的毒性。

FDA - VPRA 第三个关键的前提, 即在收获的牡蛎中副溶血性弧菌水平可以通过水温预测, 总副溶血性弧菌仍然具有相当坚实的基础。当水温低于 15°C 时, 副溶血性弧菌水平普遍低于 1 每克, 而且疾病暴发不会发生。然而, 开始积累的数据表明, 致病性占总的副溶血性弧菌的比例可能会受水温的影响, 致病性副溶血性弧菌较高的患病率发生在较低的水温条件下。从地域上看, 美国牡蛎中拥有 *tdh* 基因的副溶血性弧菌的种群比例似乎越来越往北移, 从墨西哥湾沿岸转到太平洋西北部和阿拉斯加。在一个对阿拉巴马州牡蛎的研究中, 发现当水温小于 20°C 时, 致病性副溶血性弧菌的比例是水温大于 20°C 时的大约 10 倍, (DePaola 等, 2003)。仅仅水的温度就解释了牡蛎总副溶血性弧菌水平大约 50% 的年际变化。最近的研究表明, 盐度和浊度也可能会影响牡蛎中副溶血性弧菌的水平, 将这些参数纳入副溶血性弧菌的模型可以进一步降低模型预测的不确定性。通过卫星图像, 每天都可以测量全球的水温、盐度和浊度。将遥感数据整合进风险评估模型的可能性, 用来实时预测副溶血性弧菌水平, 在最近的科学出版物中给予了说明。为从定量的微生物风险评估中开发切实可行的风险管理应用系统, 2006 年 FAO/WHO 基尔会议建议将这种方法作为牡

蛎中创伤弧菌的一种管理工具 (FAO/WHO, 粮农组织/世界卫生组织, 2006)。

已经有有限的研究来解决第四个也是最后的关键前提, 即: 在收获后的处理和加工过程中, 总的与致病性副溶血性弧菌有同样的生长和存活状况。从控制牡蛎携带的副溶血性弧菌疾病的角度看, 这可能是最重要的前提, 因为收获是人类控制来自于自然的副溶血性弧菌水平的关键点。在 2007 年美国阿尔布开克贝壳类环境卫生州际会议 (ISSC) 上, FDA 提出一项提案, 限制收获后牡蛎中副溶血性弧菌生长至记录的一半。FDA - VPRA 预测指出, 实现牡蛎中副溶血性弧菌水平平均减少记录的一半, 将会导致与美国牡蛎消费相关的副溶血性弧菌疾病减少约 70%。在马里兰东海岸大学有一个正在进行的、为解决这个假设的主要研究, 但这项研究预计在 2008 年才能完成 (Parveen 等, 2007)。阿拉斯加牡蛎在周围空气温度 (15~20℃) 长达 5 天贮藏的初步结果表明, 总的和致病性副溶血性弧菌的生长率几乎是一样的, 也符合 FDA - VPRA 在这些温度下预测的增长速度。有一些信息, O3: K6 大流行菌株比其他副溶血性弧菌菌株更耐高压 (Cook, 2003)。然而, 在 FDA/ISSC 关于美国收获后处理的牡蛎的调查中 (温和的巴氏杀菌, 冷冻和高静水压力), 在这些处理方法下存活下来的大约 40 副溶血性弧菌菌株被分离出, 主要来自 25-克富集 (未发表的数据)。在这些菌株中观察到一个单个的 tdh+ 菌株, 这表明 tdh+ 副溶血性弧菌以类似于非致病性副溶血性弧菌的方式对这些收获后处理做出反应。

在过去的十年中, 与软体贝类动物相关的副溶血性弧菌疾病的趋势已经发生了意想不到的和前所未有的转变。广泛传染的副溶血性弧菌现在已经蔓延到至少 5 个大洲, 并已在智利造成多年重复性暴发, 在 2001 年这个风险评估开始的时候, 副溶血性弧菌在智利甚至不被认为是一个问题。在智利大暴发之一是流行病的比例, 造成超过 10 000 个病例, 其中大部分是与消费软体贝类动物相关 (Fuenzalida 等, 2006)。

科学界越来越多地得出的结论是, 压载水排放是全球副溶血性弧菌传播大流行的一个主要机制。而全球贸易持续增长, 如果有可实施的控制措施来保护贝类不受污染, 那也是很少的。通过压载水排放, 弧菌似乎是独特地适合传播, 很可能出现新的菌株, 如果缺乏控制, 可以在全球蔓延。

在过去的十年, 有记录以来最热的温度发生在世界许多地方, 这些地方是贝类的主要产地。温度升高可能部分地造成 CDC 所报道的在美国弧菌感染的增加, 而其他主要的食源性致病菌的疾病正在下降 (CDC, 2007)。自 2000 年以来, 11 月已成为与美国牡蛎消费相关的创伤弧菌感染首要的月份 (Mark Glatzer, FDA, 私人通信)。升高的温度似乎也是副溶血弧菌将其地理范围扩大到阿拉斯加 (McLaughlin 等, 2005)、欧洲 (Martinez-Urtaza 等, 2005) 和智利 (Gonzales-Escalona 等, 2005) 等地区的原因。阿拉斯加是比以往任何报告的副溶血性弧菌疾病更靠北部 1 000 千米的地区。阿拉斯加牡蛎副溶血性弧菌种群中致病性菌株具有前所未有的高流行程度, 并且可能比其他致病菌株有更高的毒性, 这既令人惊讶, 又是目前无法解释的。

阿拉斯加牡蛎产业不能坐等副溶血性弧菌生态在威廉王子湾产生危害, 因为他们的产业是脆弱的, 面临崩溃的危险, 如果疾病继续暴发流行。相反, 他们高度依赖 FDA - VPRA, 在 2005 年, 自愿采用下沉牡蛎养殖箱到水温低于 10℃ 的温跃层以下的控制措施。在类似于 2004 年的环境条件下, 当时报告了 62 个副溶血性弧菌病例, 在 2005 年实施控

制后, 只有一个单一的病例报告 (Manny Soares, 阿拉斯加环保署, 私人通信)。为应对 1997 年和 1998 年副溶血性弧菌在太平洋西北地区的暴发, 加拿大政府对不列颠哥伦比亚省收获的牡蛎实施了严格的时间×温度控制, 此后不再有大的暴发发生。美国华盛顿州, 与不列颠哥伦比亚省具有相似的环境条件, 但较少地进行严格的时间和温度控制, 在 2006 年经历了 177 个病例的大暴发, 其中大部分是与食用生牡蛎相关 (CDC, 2006)。在世界的大部分地区, 可能需要几十年, 才能使一个系统可以可靠地预测环境中致病性副溶血性弧菌的水平。作为新的和更强大的检测致病性副溶血性弧菌的方法, 如实时 PCR, 受到了更广泛的接受和应用, 高风险的地域和时间应该变得更加明显可见。同时, 基于现有的 FDA-VPRA, 收获后积极主动的控制措施的有效性已经在现实中得到了演示, 目前这种方法提供了控制与生牡蛎和其他生贝类消费相关的副溶血性弧菌疾病的最好可用的机会。

参考文献

- Abbott, S., Powers, C., Kaysner, C. A., Takeda, Y., Ishibashi, M., Joseph, S. W. & Janda, J. M. 1989. Emergence of a restricted bioserovar of *Vibrio parahaemolyticus* as the predominant cause of Vibrio-associated gastroenteritis on the West Coast of the United States and Mexico. *Journal of Clinical Microbiology*, 27: 2891 - 2893.
- Abd, H., Weintraub, A. & Sandstrom, G. 2005. Intracellular survival and replication of *Vibrio cholerae* O139 in aquatic free-living amoebae. *Environmental Microbiology*, 7 (7): 1003 - 1008.
- Aiso, K. & Fujiwara, K. 1996. Feeding tests of the pathogenic halophilic bacteria. *Annual Research Report, Institute of Food Microbiology, Chiba University*, 15: 34 - 38.
- Amako, K., Shimodori, S., Imoto, S., Miake, T. S. & Umeda, A. 1987. Effects of chitin and its soluble derivatives on survival of *Vibrio cholerae* O1 at low temperature. *Applied and Environmental Microbiology*, 53: 603 - 605.
- Angulo F. & Evans M. 1999. *Vibrio parahaemolyticus* epidemiological data. Personal communication. United States Centers for Disease Control and Prevention.
- Anon [ymous]. 1996. *Boletin Epidemiologico Semanal*, 4 (46): 401.
- Anon. 1998a. *Boletin Epidemiologico Semanal*, 6 (31): 306.
- Anon. 1998b. National Nutrition Survey, Japan. Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan.
- Anon. 1999a. *Vibrio parahaemolyticus*, Japan 1996—1998. *Infectious Agents Surveillance Report*, 20 (7): 1 - 2.
- Anon. 1999b. *Vibrio parahaemolyticus*, Taiwan: Background. PROMED-digest, 28 May 1999.
- Baffone, W., Pianetti, A., Bruscolini, F., Barbieri, E. & Citterio, B. 2000. Occurrence and expression of virulence-related properties of *Vibrio* species isolated from widely consumed seafood products. *International Journal of Food Microbiology*, 54: 9 - 18.
- Barker, J. & Brown, M. R. W. 1994. Trojan horses of the microbial world; protozoa and the survival of the bacterial pathogens in the environment. *Microbiology*, 140: 1253 - 1259.
- Barker, W. H. 1974. *Vibrio parahaemolyticus* outbreaks in the United States. pp. 47 - 52, In: T. Fujino, G. Sakaguchi, R. Sakazaki and Y. Takeda (editors). International Symposium on *Vibrio parahaemolyticus*.

- molyticus*. Saikon Publishing Company, Tokyo, Japan.
- Barker, W. H. & Gangarosa, E. J. 1974. Food poisoning due to *Vibrio parahaemolyticus*. *Annual Review of Medicine*, 25: 75 - 81.
- Baross, J. A., Liston, J. & Morita, R. Y. 1978. Incidence of *Vibrio parahaemolyticus* bacteriophages and other *Vibrio* bacteriophages in marine samples. *Applied and Environmental Microbiology*, 36: 492 - 499.
- Bates, T. C., Tolker-Nielsen, T., Molin, S. & Oliver, J. D. 2000. The viable but nonculturable state in *Vibrio parahaemolyticus*. Abstracts of the 100th General Meeting of the American Society for Microbiology. Abstract No. 1 - 87: 400.
- Bean, N. H., Maloney, E. K., Potter, M. E., Korazemo, P., Ray, B., Taylor, J. P., Seigler, S. & Snowden, J. 1998. Crayfish; a newly recognized vehicle for *Vibrio* infections. *Epidemiology and Infection*, 121: 269 - 273.
- Bouchriti, N., El Marrakchi, A. & Goyal, S. 1995. Occurrence of marine vibrios in Moroccan coastal waters and shellfish. *Microbiologie Aliments Nutrit.* 13: 381 - 387.
- Buchanan, R. L., Whiting, R. C. & Damert W. C. 1997. When is simple good enough; A comparison of the Gompertz, Baranyi, and three phase linear models for fitting bacterial growth curves. *Food Microbiology*, 14: 313 - 326.
- Cash, R. A., Music, S. I., Libonati, J. P., Snyder, M. J., Wenzel, R. P. & Hornick, R. B. 1974. Response of man to infection with *Vibrio cholerae*. I. Clinical, serologic, and bacteriologic responses to a known inoculum. *Journal of Infectious Diseases*, 129: 45 - 52.
- Cawley, P. & Norris, D. 1973. Isolation of *Vibrio parahaemolyticus* in New Zealand. *New Zealand Medical Journal*, 78: 107.
- CDC [Centres for Disease Control and Prevention]. 1998. Outbreak of *Vibrio parahaemolyticus* infections associated with eating raw oysters-Pacific Northwest, 1997. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 47: 457 - 462.
- CDC. 1999. Outbreak of *Vibrio parahaemolyticus* infection associated with eating raw oysters and clams harvested from Long Island Sound-Connecticut, New Jersey and New York, 1998. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 48: 48 - 51.
- CDC. 2006. *Vibrio parahaemolyticus* infections associated with consumption of raw shellfish-three states, 2006. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 55: 854 - 856.
- CDC. 2007. Preliminary FoodNet data on the incidence of infection with pathogens transmitted commonly through food-ten states, 2006. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 56: 336 - 339.
- Chan, K. Y., Woo, M. L., Lam, L. Y. & French, G. L. 1989. *Vibrio parahaemolyticus* and other halophilic vibrios associated with seafood in Hong Kong. *Journal of Applied Bacteriology*, 66: 57 - 64.
- Colwell, R. R., West, P. A., Maneval, D., Remmers, E. F., Elliot, E. L. & Carlson, N. E. 1984. Ecology of pathogenic vibrios in Chesapeake Bay. pp. 367 - 387, In: R. R. Colwell (editor). *Vibrios in the Environment*. A Wiley-Interscience publication, John Wiley and Sons, New York, USA.
- Colwell, R. R., Brayton, P. R., Grimes, D. S., Roszak, D. B., Huq, S. A. & Palmer, L. M. 1985. Viable but non-culturable *Vibrio cholerae* and related pathogens in the environment; implications for release of genetically engineered micro-organisms. *Bio/Tech.* 3: 817 - 820.
- Comeau, A. M., Buenaventura, W. & Suttle, C. A. 2005. A persistent, productive, and seasonally dynamic Vibriophage population within Pacific oysters (*Crassostrea gigas*). *Applied and Environmental Microbiology*, 71: 5324 - 5331.

- Conaty, S. , Bird, P. , Bell G. , Kraa, E. , Grohmann, G. & McAnulty, J. 2000. Hepatitis A in New South Wales, Australia, from consumption of oysters; the first reported outbreak. *Epidemiology and Infection*, 124: 121 - 130.
- Cook, D. W. 1994. Effect of time and temperature on multiplication of *Vibrio vulnificus* in postharvest Gulf coast shellstock oysters. *Applied and Environmental Microbiology*, 60: 3483 - 3484.
- Cook, D. W. 1997a. Refrigeration of oyster shellstock: conditions which minimize the outgrowth of *Vibrio vulnificus*. *Journal of Food Protection*, 60: 349 - 352.
- Cook, D. W. 2002. Comparison of growth rate of pathogenic and non-pathogenic strains of *Vibrio parahaemolyticus*. Personal communication (unpublished data).
- Cook, D. W. 2003. Sensitivity of *Vibrio* species in phosphate-buffered saline and in oysters to high pressure processing. *Journal of Food Protection*, 66: 2276 - 2282.
- Cook, D. W. & Ruple, A. D. 1989. Indicator bacteria and *Vibrionaceae* multiplication in post-harvest shellstock oysters. *Journal of Food Protection*, 52: 343 - 349.
- Cook, D. W. & Ruple, A. D. 1992. Cold storage and mild heat treatment as processing aids to reduce the numbers of *Vibrio vulnificus* in raw oysters. *Journal of Food Protection*, 55: 985 - 989.
- Cook, D. W. , O'Leary, P. , Hunsucker, J. C. , Sloan, E. M. , Bowers, J. C. , Blodgett, R. J. & DePaola, A. 2002. *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus* in US retail shell oysters; A national survey from June 1998 to July 1999. *Journal of Food Protection*, 65 (1): 79 - 87. See also correction, same authors, same journal, 65 (3): 445.
- Cook, D. W. , Bowers, J. C. & DePaola, A. 2002. Density of total and pathogenic (*tdh*+) *Vibrio parahaemolyticus* in Atlantic and Gulf Coast molluscan shellfish at harvest. *Journal of Food Protection*, 65: 1873 - 1880.
- Covert, D. & Woodburne, M. 1972. Relationships of temperature and sodium chloride concentration to the survival of *Vibrio parahaemolyticus* in broth and fish homogenate. *Applied Microbiology*, 23: 321 - 325.
- Croci, L. , Serratore, P. , Cozzi, L. , Stacchini, A. , Milandri, S. , Suffredine, E. & Toti, L. 2001. Detection of *Vibrionaceae* in mussels and in their seawater growing area. *Letters in Applied Microbiology*, 32: 57 - 61.
- Croci, L. , Suffredin, E. , Cozzi, L. & Toti, L. 2002. Effects of depuration of molluscs experimentally contaminated with *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae* O1 and *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of Applied Microbiology*, 92: 460 - 465.
- Dadisman, T. A. Jr. , Nelson, R. , Molenda, J. R. & Garber, H. J. 1972. *Vibrio parahaemolyticus* gastroenteritis in Maryland. I. Clinical and epidemiologic aspects. *American Journal of Epidemiology*, 96: 414 - 418.
- Daniels, N. A. , MacKinnon, L. , Bishop, R. , Altekruise, S. , Ray, B. , Hammond, R. M. , Thompson, S. , Wilson, S. , Bean, N. H. , Griffin, P. M. & Slutsker, L. 2000. *Vibrio parahaemolyticus* infections in the United States, 1973—1998. *Journal of Infectious Diseases*, 181: 1661 - 1666.
- Davey, G. , Prendergast, J. & M. Eyles. 1982. Detection of *Vibrio cholerae* in oysters, water and sediment from the Georges River. *Food Technology in Australia*, 34: 334 - 336.
- Davis, J. W. & Sizemore, R. K. 1982. Incidence of *Vibrio* species associated with blue crabs (*Callinectes sapidus*) collected from Galveston Bay, Texas. *Applied and Environmental Microbiology*, 43: 1092 - 1097.
- Deepanjali A. , Sanath Kumar, H. , Karunasagar, I. & Karunasagar, I. 2005. Seasonal variation in abundance of total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* bacteria in oysters along the Southwest coast of

- India. *Applied and Environmental Microbiology*, 71: 3575 - 3580.
- Degner, R. L. & C. Petrone. 1994. Consumer and restaurant manager reaction to depurated oysters and clams. Report to the Levy County Board of County Commissioners by the Florida Agricultural Market Research Center, University of Florida, USA.
- Degner, R. L. 1998. Letter to S. Chirtel FDA/CFSAN on 5 - Year Menu Census 1982 - 1987.
- DePaola, A. 1999. Oyster cooling rates. Unpublished data.
- DePaola, A. 2002. Oyster weights. Personal communication.
- DePaola, A., Hopkins, L. H. & McPhearson, R. M. 1988. Evaluation of four methods for enumeration of *Vibrio parahaemolyticus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 54: 617 - 618.
- DePaola, A., Hopkins, L. H., Peeler, J. T., Wentz, B. & McPhearson, R. M. 1990. Incidence of *Vibrio parahaemolyticus* in U. S. coastal waters and oysters. *Applied and Environmental Microbiology*, 56: 2299 - 2302.
- DePaola, A., Kaysner, C. A., Bowers, J. & Cook, D. W. 2000. Environmental investigation of *Vibrio parahaemolyticus* in oysters following outbreaks in Washington, Texas and New York (1997—1998). *Applied and Environmental Microbiology*, 66: 4649 - 4654.
- DePaola, A., Kaysner, C. A., Nordstrom, J. L., Blackstone, G. M., Vickery, M. & Bowers, J. C. 2002.
- Harvest practices and ecological factors affecting the risk of *Vibrio parahaemolyticus* in Pacific Northwest oysters. Draft report.
- DePaola, A., Nordstrom, J. L., Bowers, J. C., Wells, J. G. & Cook, D. W. 2003. Seasonal abundance of total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in Alabama oysters. *Applied and Environmental Microbiology*, 69: 1521 - 1526.
- DePaola, A., Nordstrom, J. L., Blackstone, G. M., Bowers, J. C., Phillips, A. M. B., Grimes, D. J., Watt, S. & Parveen, S. 2007. Enumeration of total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* using real-time PCR in a most probable number format. 6th International Conference on Molluscan Shellfish Safety. Blenheim, New Zealand, 18 - 23 March 2007.
- Desenclos, J. A., Klontz, K. C., Wolfe, L. E. & Hoehen, S. 1991. The risk of *Vibrio* illness in the Florida raw oyster eating population, 1981—1988. *American Journal of Epidemiology*, 134: 290 - 297.
- Desmarchelier, P. 1978. *Vibrio parahaemolyticus* and other vibrios. *Food Technology in Australia*, 30: 339 - 345.
- Desmarchelier, P. 2003. Pathogenic Vibrios. In: A. D. Hocking (editor). *Foodborne Micro-organisms of Public Health Significance*. Australian Institute of Food Science and Technology Inc., North Sydney, Australia.
- Einarsson, H. 1994. Evaluation of a predictive model for the shelf-life of cod (*Gadus morhua*) fillets stored in two different atmospheres at varying temperatures. *International Journal of Food Microbiology*, 24: 93 - 102.
- Entis, P. & Boleszczuk, P. 1983. Overnight enumeration of *Vibrio parahaemolyticus* in seafood by hydrophobic grid membrane filtration. *Journal of Food Protection*, 46: 783 - 786.
- European Commission. 2001. Opinion of the Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health on *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus* in raw and undercooked seafood. Available at http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scv/out45_en.pdf
- Eyles, M. J. & Davey, G. R. 1984. Microbiology of commercial depuration of the Sydney rock oyster, *Crassostrea commercialis*. *Journal of Food*

- Protection*, 47: 703 – 706.
- Eyles, M. , Davey, G. & Arnold, G. 1985a. Behaviour and incidence of *Vibrio parahaemolyticus* in Sydney rock oysters (*Crassostrea commercialis*). *International Journal of Food Microbiology*, 1: 327 – 334.
- Eyles, M. , Davey, G. , Arnold, G. & Wane, H. 1985b. Evaluation of methods for enumeration and identification of *V. parahaemolyticus* in oysters. *Food Technology in Australia*, 37 (7): 302 – 304.
- FAO/WHO. 2001. Report of the Joint FAO/WHO Expert Consultation on Risk Assessment of Microbiological Hazards in Foods: Hazard identification, exposure assessment and hazard characterization of *Campylobacter* spp. in broiler chickens and *Vibrio* spp. in seafoods. WHO Headquarters, Geneva, Switzerland, 23 – 27 July 2001. Available at: http://www.who.int/foodsafety/publications/micro/en/july2001_en.pdf
- FAO/WHO. 2006. Report of the Joint FAO/WHO Expert Consultation on the use of microbiological risk assessment outputs to develop practical risk management strategies: Metrics to improve food safety. Kiel, Germany, 3-7 April 2006. Available at: <ftp://ftp.fao.org/ag/agn/food/kiel.pdf>
- FDA [US Food and Drug Administration]. 2005. Quantitative Risk Assessment on the Public Health Impact of Pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in Raw Oysters. U. S. Department of Health and Human Services, U. S. Food and Drug Administration. See: <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/ResearchAreas/RiskAssessmentSafetyAssessment/ucml85746.htm>
- FDA/ISSC. 2000. *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus* in retail shell oysters—a national survey, June 1998–July 1999. Published as Cook et al. , 2002, *q. v.*
- FDA/ISSC. 2001. Density of *Vibrio parahaemolyticus* in shellfish at harvest, March 1999–September 2000.
- Finkel, A. 1990. A simple formula for calculating the “Mass Density” of a lognormally distributed characteristic: applications to risk analysis. *Risk Analysis* 10 (2): 291 – 301.
- Fisher, W. S. & DiNuzzo, A. R. 1991. Agglutination of bacteria and erythrocytes by serum from six species of marine molluscs. *Journal of Invertebrate Pathology*, 57: 380 – 394.
- Fletcher, G. 1985. The potential food poisoning hazard of *Vibrio parahaemolyticus* in New Zealand oysters. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 19: 495 – 505.
- Frischer, M. E. , Thummond, J. M. & Paul, J. H. 1990. Natural plasmid transformation in a high-frequency-of-transformation marine *Vibrio* strain. *Applied and Environmental Microbiology*, 56: 3439 – 3444.
- Fuenzalida, L. , Hernandez, C. , Toro, J. , Rioseco, M. L. , Romero, J. & Espejo, R. T. 2006. *Vibrio parahaemolyticus* in shellfish and clinical samples during two large epidemics of diarrhoea in southern Chile. *Environmental Microbiology*, 8: 675 – 683.
- Fujino, T. , Okuno, Y. , Nakada, D. , Aoyama, A. , Fukai, K. , Mukai, T. & Ueho, T. 1953. On the bacteriological examination of shirasu food poisoning. *Medical Journal of Osaka University*, 4: 299 – 304.
- Garay, E. , Arnau, A. & Amaro, C. 1985. Incidence of *Vibrio cholerae* and related vibrios in a coastal lagoon and seawater influenced by lake discharges along an annual cycle. *Applied and Environmental Microbiology*, 50: 426 – 430.
- Geneste, C. , Dab, W. , Cabanes, P. A. , Vaillant, V. , Quilici, M. L. & Fournier, J. M. 2000. Les vibrioses non-cholériques en France : cas identifiés de 1995 à 1998 par le Centre National de Référence. *BEH [Bulletin Épidémiologique Hebdomadaire]*, 9: 38 – 40.
- Genthner, F. J. , Volety, A. K. , Oliver, L. M. & Fisher, W. S. 1999. Factors influencing in vitro killing of bacteria by haemocytes of the Eastern oyster (*Crassostrea virginica*). *Applied and Environ-*

- mental Microbiology*, 65: 3015 – 3020.
- Gjerde, E. P. & Øde, B. 1981. Isolation and characterisation of *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio parahaemolyticus* from the Norwegian coastal environment. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 22: 331 – 343.
- Gonzalez-Escalona, N., Cachicas, V., Acevedo, C., Rioseco, M. L., Vergara, J. A., Cabello, F., Romero, J. and Espejo, R. T. 2005. *Vibrio parahaemolyticus* diarrhea, Chile, 1998 and 2004. *Emerging Infectious Diseases*, 11: 129 – 131.
- Gonzalez-Escalona, N., Blackstone, G. M. & DePaola, A. 2006. Characterisation of a *Vibrio alginolyticus* strain isolated from Alaskan oysters carrying a gene similar to the thermostable direct hemolysin-related hemolysin gene (trh) of *Vibrio parahaemolyticus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 72: 7925 – 7929.
- Gooch, J., DePaola, A., Bowers, J. & Marshall, D. 2002. Growth and survival of *Vibrio parahaemolyticus* in postharvest American oysters. *Journal of Food Protection*, 65: 970 – 974.
- Gregoire, A., Gras, R. & Khalanski, M. 1993. Surveillance hydrologique des centrals nucleaires implantees sur le littoral francais. *Hydroecologie Appliquee*, 5: 29 – 43.
- Hally, R. J., Rubin, R. A., Fraimow, H. S. & Hoffman-Terry, M. L. 1995. Fatal *Vibrio parahaemolyticus* septicaemia in a patient with cirrhosis: a case report and review of the literature. *Digestive Diseases and Sciences*, 40: 1257 – 1260.
- Hara-Kudo, Y., Sugiyama, K., Nishibuchi, M., Chowdhury, A., Yatsuyanagi, J., Ohtomo, Y., Saito, A., Nagano, H., Nishina, T., Nakagawa, H., Konuma, H., Miyahara, M. & Kumagai, S. 2003.
- Prevalence of pandemic thermostable direct haemolysin-producing *Vibrio parahaemolyticus* O3 : K6 in seafood and the coastal environment in Japan. *Applied and Environmental Microbiology*, 69: 3883 – 3891.
- Hariharan, H., Giles, J. S., Heaney, S. B., Arsenault, G., McNair, N. & Rainnie, J. 1995. Bacteriological studies on mussels and oysters from six river systems in Prince Edward Island. *Canadian Journal of Shellfish Research*, 14: 527 – 532.
- HHS [US Department of Health and Human Services]. 1995. National Shellfish Sanitation Program Manual of Operations: Part 1. U. S. Department of Health and Human Services, Washington DC, USA.
- Hlady, W. G. 1997. *Vibrio* infections associated with raw oyster consumption in Florida, 1981—1994. *Journal of Food Protection*, 60: 353 – 357.
- Hlady, W. G. & Klontz, K. C. 1996. The epidemiology of *Vibrio infections* in Florida, 1981—1993. *Journal of Infectious Diseases*, 173: 1176 – 1183.
- Honda, T., Ni, Y. X. & Miwatani, T. 1988. Purification and characterization of a haemolysin produced by a clinical isolate of Kanagawa phenomenon-negative *Vibrio parahaemolyticus* and related to the thermostable direct haemolysin. *Infection and Immunity*, 56 (4): 961 – 965.
- Hornstrup, M. K. & Gahrn-Hansen, B. 1993. Extraintestinal infections caused by *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio alginolyticus* in a Danish county, 1987—1992. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 25 (6): 735 – 740.
- Hurley, C., Quirke, A., Reen, F. & Boyd E. 2006. Four genomic islands that mark post-1995 pandemic *Vibrio parahaemolyticus* isolates. *BMC Genomics*, 7: Article No. 104.
- Ichige, A., Matsutani, S., Oishi, K. & Mizushima, S. 1989. Establishment of gene transfer systems for and construction of the genetic map of a marine *Vibrio* strain. *Journal of Bacteriology*, 171: 1825 – 1834.
- Iida, T., Park, K. -S., Suthienkul, O., Kozawa, J., Yamaichi, Y., Yamamoto, K. & Honda,

- T. 1998.
- Close proximity of the *tdh*, *trh* and *ure* genes on the chromosome of *Vibrio parahaemolyticus*. *Microbiology*, 144: 2517 - 2523.
- ICMSF [International Commission on Microbiological Specifications for Foods]. 1996. *Micro-organisms in Foods 5. Characteristics of Microbial Pathogens*. Blackie Academic & Professional, London, UK.
- ISSC & FDA (editors). 1997. National Shellfish Sanitation Program Guide for the Control of Molluscan Shellfish, Washington, D. C. , USA.
- Jackson, H. 1974. Temperature relationships of *Vibrio parahaemolyticus*. pp. 139 - 145, In: T. Fujino, G. Sakaguchi, R. Sakazaki and Y. Takeda (editors). International Symposium on *Vibrio para-haemolyticus*. Saikon Publishing Company, Tokyo, Japan.
- Joseph, S. W. , Colwell, R. R. & Kaper, J. B. 1982. *Vibrio parahaemolyticus* and related halophilic vibrios. *CRC Critical Reviews in Microbiology*, 10: 77 - 124.
- Kaneko, T. & Colwell, R. R. 1975. Absorption of *Vibrio parahaemolyticus* onto chitin and copepods. *Applied and Environmental Microbiology*, 29: 269 - 274.
- Kaneko, T. & Colwell, R. R. 1977. The annual cycle of *Vibrio parahaemolyticus* in Chesapeake Bay. *Microbial Ecology*, 4: 135 - 155.
- Kaufman, G. E. , Bej, A. K. , Bowers, J. & DePaola, A. 2003. Oyster-to-oyster variability in the levels of *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of Food Protection* , 66: 125 - 129.
- Kaysner, C. A. & Weagant, S. D. 1982. The incidence and seasonal distribution of *Yersinia enterocolitica* and *Vibrio parahaemolyticus* in a Puget Sound commercial oyster bed. *FDA-SARAP Report*, No. 104 - 79: 171 - 220.
- Kaysner, C. A. , Tamplin, M. L. , Wekell, M. M. , Stott, R. F. & Colburn, K. G. 1989. Survival of *Vibrio vulnificus* in shellstock and shucked oysters (*Crassostrea gigas* and *Crassostrea virginica*) and effects of isolation medium on recovery. *Applied and Environmental Microbiology*, 55: 3072 - 3079.
- Kaysner, C. A. , Abeyta, C. , Stott, R. F. , Krane, M. H. & Wekell, M. M. 1990a. Enumeration of *Vibrio* species including *V. cholerae* from samples of an oyster growing area, Grays Harbor, Washington. *Journal of Food Protection* , 53: 300 - 302.
- Kaysner, C. A. , Abeyta, C. , Stott, R. F. , Lilja, J. L. & Wekell, M. M. 1990b. Incidence of urea-hydrolyzing *Vibrio parahaemolyticus* in Willapa Bay, Washington. *Applied and Environmental Microbiology*, 56: 904 - 907.
- Kelly, M. T. 1999. Personal communication regarding pathogenic *Vibrio parahaemolyticus*.
- Kelly, M. T. & Stroh, E. M. D. 1988a. Occurrence of *Vibrionaceae* in natural and cultivated oyster populations in the Pacific Northwest. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* , 9 (1): 1 - 5
- Kelly, M. T. & Stroh, E. M. D. 1988b. Temporal relationship of *Vibrio parahaemolyticus* in patients and the environment. *Journal of Clinical Microbiology*, 26: 1754 - 1756.
- Kiiyukia, C. , Venkateswaran, K. , Navarro, I. M. , Nakano, H. , Kawakami, H. & Hashimoto, H. 1989. Seasonal distribution of *Vibrio parahaemolyticus* serotypes along the oyster beds in Hiroshima coast. *Journal of the Faculty of Applied Biological Sciences, Hiroshima University*, 28: 49 - 61.
- Kishishita, M. , Matsuoka, N. , Kumagai, K. , Yamasaki, S. , Takeda, Y. & Nishibuchi, M. 1992. Sequence variation in the thermostable direct haemolysin-related haemolysin (*trh*) gene of *Vibrio parahaemolyticus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 58: 2449 - 2457.
- Klontz, K. C. 1990. Fatalities associated with *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio cholerae* non-O1 infec-

- tions in Florida (1981—1988). *Southern Medical Journal*, 83: 500 - 502.
- Kothary, M. H. , Tall, B. D. , La Peyre, J. F. , Shinaishin, S. J. , Shah, D. B. & Faisal, M. 1997. *Perkinsus marinus* serine protease prolongs survival of *Vibrio vulnificus* in Eastern oyster haemocytes *in vitro*. Abstracts of the 97th General Meeting of the American Society for Microbiology. Abstract No. B-135: 51.
- Kothary, M. H. , Burr, D. H. , Tall, B. D. , Hanes, D. E. & Miliotis, M. D. 2000. Thermostable direct haemolysin, thermostable-related haemolysin, and urease are not required for pathogenicity of *Vibrio parahaemolyticus* in animal models. Abstracts of the 100th General Meeting of the American Society for Microbiology. p. 68.
- Kraa, E. 1995. Surveillance and epidemiology of foodborne illness in NSW, Australia. *Food Australia*, 47 (9): 418 - 423.
- La Peyre, J. F. & Volety, A. K. 1999. Modulation of Eastern oyster haemocyte activities by *Perkinsus marinus* extracellular proteins. Abstracts of the National Shellfisheries Association Annual Meeting. *Journal of Shellfish Research*, 18: 322.
- Lawrence, D. N. , Blake, P. A. , Yashuk, J. C. , Wells, J. G. , Creech, W. B. & Hughes, J. H. 1979. *Vibrio parahaemolyticus* gastroenteritis outbreaks aboard two cruise ships. *American Journal of Epidemiology*, 109: 71 - 80.
- Lake, R. , Hudson, A. & Cressey, P. 2003. Risk profile: *Vibrio parahaemolyticus* in seafood. Institute of Environmental Science and Research Ltd, Christchurch, New Zealand.
- Lemoine, T. , Germanetto, P. & Giraud, P. 1999. Toxi-infection alimentaire collective à *Vibrio parahaemolyticus*. *BEH [Bulletin Épidémiologique Hebdomadaire]*, 10: 37 - 38.
- Levine, W. C. , Griffin, P. M. & Group, G. C. V. W. 1993. *Vibrio* infections on the Gulf Coast: results of first year of regional surveillance. *Journal of Infectious Diseases*, 167: 479 - 483.
- Levy, A. S. & Fein, S. B. 1999. Trends in food safety cognitions and practices, 1993—1998. American Dietetic Association Annual Meeting, Atlanta, Georgia, USA.
- Lewis, T. , Brown, M. , Abell, G. , McMeekin, T. & Sumner, J. 2002. Pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in Australian oysters. Fisheries Research and Development Corporation Report, No. 2002/49.
- Lindqvist, R. , Andersson, Y. , de Jong, B. & Norberg, P. 2000. A summary of foodborne disease incidents in Sweden, 1992 to 1997. *Journal of Food Protection*, 63: 1315 - 1320.
- Liston, J. 1974. Influence of U. S. seafood handling procedures on *Vibrio parahaemolyticus*. pp. 123 - 128, *in*: T. Fujino, G. Sakaguchi, R. Sakazaki and Y. Takeda (editors). International Symposium on *Vibrio parahaemolyticus*. Saikon Publishing Company, Tokyo, Japan.
- Long, J. S. & Freese, J. 2000. Scalar Measures of Fit for Regression Models. See: <http://fmwww.bc.edu/repec/bocode/f/fitstat.pdf>
- McCarthy, S. A. & Khambaty, F. M. 1994. International dissemination of epidemic *Vibrio cholerae* by cargo ship ballast and other nonpotable waters. *Applied and Environmental Microbiology*, 60: 2597 - 2601.
- McLaughlin, J. B. , DePaola, A. , Bopp, C. A. , Martinek, K. A. , Napolilli, N. P. , Allison, C. G. , Murray, S. L. , Thompson, E. C. , Bird, M. M. & Middaugh, J. P. 2005. Outbreak of *Vibrio parahaemolyticus* gastroenteritis associated with Alaskan oysters. *New England Journal of Medicine*, 353: 1463 - 1470.
- Madigan, T. , Lee, K. , Pointon, A. & Thomas, C. 2007. A supply chain assessment of marine vibrios in Pacific oysters in South Australia: prevalence, quantification and public health risk. FRDC [Fisheries Research and Development Corporation] Project SIDF 2005/401.

- Martinez-Urtaza, J. , Simental, L. , Velasco, D. , DePaola, A. , Ishibashi, M. , Nakaguchi, Y. , Nishibuchi, M. , Carrera-Flores, D. , Rey-Alvarez, C. & Pousa, A. 2005. Pandemic *Vibrio parahaemolyticus* O3 : K6, Europe. *Emerging Infectious Diseases* , 11: 1319 - 1320.
- Masini, L. , De Grandis, G. , Principi, F. , Mengarelli, C. & Ottaviani, D. 2007. Research and characterisation of pathogenic vibrios from bathing waters along the Conero Riviera (Central Italy). *Water Research* , 41 (18): 4031 - 4040.
- Mead, P. S. , Slutsker, L. , Dietz, V. , McCaig, L. F. , Bresee, J. S. , Shapiro, C. , Griffin, P. M. & Tauxe, R. V. 1999. Food-related illness and death in the United States. *Emerging Infectious Diseases* , 5: 607 - 625.
- Miles, D. W. , Ross, T. , Olley, J. & McMeekin, T. A. 1997. Development and evaluation of a predictive model for the effect of temperature and water activity on the growth rate of *Vibrio parahaemolyticus*. *International Journal of Food Microbiology* , 38: 133 - 142.
- Miwa, N. , Nishio, T. , Kawamori, F. , Masuda, T. & Akiyama, M. 2003. Evaluation of MPN method combined with PCR procedure for detection and enumeration of *Vibrio parahaemolyticus* in seafood. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi* , 44: 289 - 293.
- Miyamoto, Y. , Kato, T. , Obara, Y. , Akiyama, S. , Takizawa, K. & Yamai, S. 1969. *In vitro* haemolytic characteristic of *Vibrio parahaemolyticus* ; its close correlation to human pathogenicity. *Journal of Bacteriology* , 100: 1147 - 1149.
- Motes, M. L. & DePaola, A. 1996. Offshore suspension relaying to reduce levels of *Vibrio vulnificus* in oysters (*Crassostrea virginica*). *Applied and Environmental Microbiology* , 62: 3875 - 3877.
- Murphree, R. L. & Tamplin, M. L. 1991. Uptake and retention of *Vibrio cholerae* O1 in the Eastern oyster, *Crassostrea virginica*. *Applied and Environmental Microbiology* , 61: 3656 - 3660.
- NACMCF [National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods]. 1992. Microbiological criteria for raw molluscan shellfish. *Journal of Food Protection* , 55: 463 - 480.
- Nair, G. B. , Abraham, M. & Natarajan, R. 1980. Distribution of *Vibrio parahaemolyticus* in finfish harvested from Porto Novo (S. India) environs: a seasonal study. *Canadian Journal of Microbiology* , 26: 1264 - 1269.
- Nair, G. B. , Ramamurthy, T. , Bhattacharya, S. K. , Datta, B. , Takeda, Y. & Sack, D. A. 2007. Global dissemination of *Vibrio parahaemolyticus* O3 : K6 and its serovariants. *Clinical Microbiological Reviews* , 20: 39 - 48.
- Nakaguchi, Y. & Nishibuchi, M. 2005. The promoter region rather than its downstream inverted repeat sequence is responsible for low level transcription of the thermostable direct haemolysin-related haemolysin (trh) gene of *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of Bacteriology* , 187: 1849 - 1855.
- Natarajan, R. , Abraham, M. & Nair, G. B. 1980. Distribution of *Vibrio parahaemolyticus* in Porto Novo environment. *Indian Journal of Medical Research* , 71: 679 - 687.
- Ng, T. C. , Chiang, P. C. , Wu, T. L. & Leu, H. S. 1999. *Vibrio parahaemolyticus* bacteremia: case report. *Changeng Yi Xue Za Zhi* , 22: 508 - 514.
- Nishibuchi, M. 1999. *Vibrio parahaemolyticus* virulence. Personal communication.
- Nishibuchi, M. & Kaper, J. B. 1995. Thermostable direct haemolysin gene of *Vibrio parahaemolyticus* ; a virulence gene acquired by this bacterium. *Infection and Immunology* , 63: 2093 - 2099.
- NMFS [National Marine Fisheries Service]. Various dates 1990 to 1998. Fisheries of the United States- (1998) from: www. nmfs. noaa. gov. NOT CITED Nolan, C. M. , Ballard, J. , Kaysner, C. A. ,

- Lilja, J. L. , Williams, L. P. & Tenover, F. C. 1984. *Vibrio para-haemolyticus* gastroenteritis. An outbreak associated with raw oysters in the Pacific Northwest. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* , 2: 119 - 128.
- Nordstrom, J. L. , Vickery, M. C. L. , Blackstone, G. M. , Murray, S. L. & DePaola, A. 2007. Development of a multiplex real-time PCR assay with an internal amplification control for the detection of total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in oysters. *Applied and Environmental Microbiology* , 73 (18): 5840 - 5847.
- Ogawa, H. , Tokunou, H. , Kishimoto, T. , Fukuda, S. , Umemura, K. & Takata, M. 1989. Ecology of *V. parahaemolyticus* in Hiroshima Bay. *Journal of the Veterinary Association of Hiroshima Prefecture* , 4: 47 - 57.
- Okuda, J. , Ishibashi, M. , Abbot, S. L. , Janda, J. M. & Nishibuchi, M. 1997. Analysis of the thermostable direct haemolysin (*tdh*) gene and the *tdh*-related haemolysin (*trh*) genes in urease-positive strains of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from West Coast of United States. *Journal of Clinical Microbiology* , 35: 1965 - 1971.
- Oliver, J. D. 1995. The viable but non-culturable state in the human pathogen *Vibrio vulnificus*. *FEMS Microbiology Letters* , 133: 203 - 208.
- Ordás, M. C. , Novoa, B. & Figueras, A. 1998. Effect of cultured *Perkinsus atlanticus* supernatants on the mussel (*Mytilus galloprovincialis*) and carpet-shell clam (*Ruditapes decussatus*) defense mechanisms, p. 244, in: Proceedings of the Third International Symposium on Aquatic Animal Health.
- Pan, T. M. , Chai, T. -J. , Lee, C. L. , Chien, S. W. & Horng, C. B. 1997. Foodborne disease outbreaks due to bacteria in Taiwan, 1986 to 1995. *Journal of Clinical Microbiology* , 35: 1260 - 1262.
- Parveen, S. , Tamplin, M. L. , da Silva, L. V. A. , White, C. , Bowers, J. C. , Rutto, G. & DePaola, A. 2007. Predictive models for the growth and survival of total *Vibrio parahaemolyticus* in Gulf Coast shellstock oysters. Poster presentation at 94th Annual Meeting of the International Association for Food Protection (IAFP). Lake Buena Vista, Florida, USA, 8 - 11 July 2007. pp. 176 - 177 in Abstracts.
- Richards, G. P. 1988. Microbial purification of shellfish: A review of depuration and relaying. *Journal of Food Protection* , 51: 218 - 251.
- Ristori, C. A. , Iaria, S. T. , Gelli, D. & Rivera, I. N. G. 2007. Pathogenic bacteria associated with oysters (*Crassostrea brasiliana*) and estuarine water along South Coast of Brazil. *International Journal of Environmental Health Research* , 17: 259 - 269.
- Sakazaki, R. , Iwanami, S. & Tamura, K. 1968. Studies on enteropathogenic facultatively halophilic bacterium, *Vibrio parahaemolyticus*. II. Serological characteristics. *Japanese Journal of Medical Science and Biology* , 21: 313 - 324.
- Sanyal, S. C. , Sil, J. & Sakazaki, R. 1973. Laboratory infection by *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of Medical Microbiology* , 6: 121 - 122.
- Sanyal, S. C. & Sen, P. C. 1974. Human volunteer study on the pathogenicity of *Vibrio parahaemolyticus*, pp. 227 - 230, in: T. Fujino, G. Sakaguchi, R. Sakazaki and Y. Takeda. (editors). International Symposium on *Vibrio parahaemolyticus*. Saikon Publishing Company, Tokyo, Japan.
- Sarkar, B. L. , Nair, G. B. , Banerjee, A. K. & Pal, S. C. 1985. Seasonal distribution of *Vibrio parahaemolyticus* in freshwater environs and in association with freshwater fishes in Calcutta. *Applied and Environmental Microbiology* , 49: 132 - 136.

- Shirai, H. , Ito, H. , Hirayama, T. , Nakamoto, Y. , Nakabayashi, N. , Kumagai, K. , Takeda, Y. & Nishibuchi, M. 1990. Molecular epidemiologic evidence for association of thermostable direct haemolysin (TDH) and TDH-related haemolysin of *Vibrio parahaemolyticus* with gastroenteritis. *Infection and Immunity*, 58 (11): 3568 - 3573
- Son, N. T. & Fleet, G. H. 1980. Behavior of pathogenic bacteria in the oyster, *Crassostrea commercialis*, during depuration, re-laying, and storage. *Applied and Environmental Microbiology*, 40: 994 - 1002.
- Sujatha, C. H. , Nair, S. M. & Chacko, J. 1996. Tributyltin oxide induced physiological and biochemical changes in a tropical estuarine clam. *Bull. Environ. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 56: 303 - 310.
- Takikawa, I. 1958. Studies on pathogenic halophilic bacteria. *Yokohama Medical Bulletin*, 9: 313 - 322.
- Tall, B. D. , La Peyre, J. F. , Bier, J. W. , Miliotis, M. D. , Hanes, D. E. , Kothary, M. H. , Shah, D. B. & Faisal, M. 1999. Perkinsus marinus extracellular protease modulates survival of *Vibrio vulnificus* in Eastern oyster (*Crassostrea virginica*) haemocytes. *Applied and Environmental Microbiology*, 65: 4261 - 4263.
- Tamura, N. , Kobayashi, S. , Hashimoto, H. & Hirose, S-I. 1993. Reactive arthritis induced by *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of Rheumatology*, 20: 1062 - 1063.
- TAS [TAS International Diet Research System]. 1995. USDA Nutrient Database. Data from 1989/90; 1990/91; 1991/92.
- Tepedino, A. A. 1982. *Vibrio parahaemolyticus* in Long Island oysters. *Journal of Food Protection*, 45: 150 - 151.
- Thieren, N. 1999. Washington State vibriosis cases. Symposium on Molluscan Shellfish Sanitation, Tacoma, USA.
- Thompson, C. A. , Vanderzant, C. & Ray, S. M. 1976. Serological and hemolytic characteristics of *Vibrio parahaemolyticus* from marine sources. *Journal of Food Science*, 41: 204 - 205.
- Timbo, B. B. , Altekruze, S. F. , Headrick, M. & Klontz, K. C. 1995. Raw shellfish consumption in California: the 1992 California Behavioral Risk Factor Survey. *American Journal of Preventive Medicine*, 11 (4): 214 - 217.
- USDA [United States Department of Agriculture]. 1989—1992. Continuing Survey of Food Intake by Individuals. See: <http://www.ars.usda.gov/Services/docs.htm?docid=7797#reports>
- Venkateswaran, K. , Kiiyukia, C. , Nakanishi, K. , Nakano, H. , Matsuda, O. & Hashimoto, H. 1990. The role of sinking particles in the overwintering process of *Vibrio parahaemolyticus* in a marine environment. *FEMS Microbiology Ecology*, 73: 159 - 166.
- Volety, A. K. , Genthner, F. J. , Fisher, W. S. , McCarthy, S. A. & Wiles, K. 1999. Differential effects of oyster (*Crassostrea virginica*) defences on clinical and environmental isolates of *Vibrio parahaemolyticus*. Abstract of the National Shellfisheries Association Annual Meeting *Journal of Shellfish Research*, 18: 326.
- Wang, H. , Wong, M. , O'Toole, D. , Mak, M. , Wu, R. & Kong, R. 2006. Identification of a DNA methyltransferase gene carried on a pathogenicity island-like element (VPAD) in *Vibrio para-haemolyticus* and its prevalence among clinical and environmental isolates. *Applied and Environmental Microbiology*, 72: 4455 - 4460.
- Washington State Department of Health. 2000. *Vibrio* monitoring data. Pers comm. from Ned Therien via FDA.

- Washington State Department of Health. 2001. *Vibrio* monitoring data. Pers comm. from Charles Kaysner via FDA.
- Watkins, W. D. 2000. Pacific Northwest oyster harvest times. Personal communication.
- Watkins, W. D. , Thomas, C. D. & Cabelli, V. J. 1976. Membrane filter procedure for enumeration of *Vibrio parahaemolyticus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 32: 679 - 684.
- Weinstein, J. E. 1995. Seasonal responses of the mixed-function oxygenase system in the American oyster, *Crassostrea virginica* (Gmelin 1791), to urban-derived polycyclic aromatic hydrocarbons. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, 112: 299 - 307.
- Wendt, P. H. , Van Dolah, R. F. , Bobo, M. Y. , Mathews, T. D. & Levisen, M. V. 1996. Wood preservative leachates from docks in an estuarine environment. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 31: 24 - 37.
- Xu, H-S. , Roberts, N. , Singleton, F. L. , Attwell, R. W. , Grimes, D. J. & Colwell, R. R. 1982. Survival and viability of nonculturable *Escherichia coli* and *Vibrio cholerae* in the estuarine and marine environment. *Microbial Ecology*, 8: 313 - 323.
- Zhu, B. C. R. , Lo, J. -Y. , Li, Y. -T. , Li, S. -C. , Jaynes, J. M. , Gildemeister, O. S. , Laine, R. A. & Ou, C. -Y. 1992. Thermostable, salt tolerant, wide pH range novel chitobiase from *Vibrio parahaemolyticus*: isolation, characterization, molecular cloning, and expression. *Journal of Biochemistry*, 112: 163 - 167.

附录 I - 1 牡蛎中副溶血性弧菌水平确定 限值中存在不符合问题的影响

符合比率效果的计算

基于 100% 符合的限值效果的蒙特卡罗模拟结果，对于任何给定的限值，小于 100% 符合的可以使用以下方程估计其效果：

$$HL(\alpha) = \alpha \times HL(1)$$

$$RR(\alpha) = \alpha \times RR(1)$$

其中， $HL(\alpha)$ = 预计收获时扔弃量%， $RR(\alpha)$ = 在达标率 α ($0 < \alpha < 1$) 下预计减少的风险%。 $HL(1)$ ， $RR(1)$ 对应 $\alpha=1$ 的情况（即 100% 的符合）。考虑到这些公式及 $HL(1)$ 和 $RR(1)$ 给定值（即在 100% 符合的情况下预测），在小于 100% 符合的情况下，用额外的模拟来获得预测值是不必要的。

使用上面的公式，对于三个行动限值的每一个，在小于 100% 的符合水平下，对生食消费的风险降低和收获扔弃的预测列在表 I - A1.1。

在小于 100% 的符合水平下，用这些公式来决定预测的理由如下所示：

假设 R ，是在 $\alpha\%$ 符合的一个行动方案下风险（每份）的一个随机变量，用 P 表示一个随机变量，不论每份的生产者是否符合给定的标准。然后（利用全概率公式）可以写出 R 的概率分布，在 $\alpha\%$ 符合的方案下，符合给定的标准与不符合的两种情况下 R 条件分布的加权组合：

$$\Pr(R=r) = \Pr(R=r | P=1) * \Pr(P=1) + \Pr(R=r | P=0) * \Pr(P=0)$$

我们知道 $\Pr(P=1)$ 和 $\Pr(P=0)$ 分别被定义为等于 α 和 $1-\alpha$ 。 $\Pr(R=r | P=0)$ 基准风险的分布（即，在没有标准的影响，或有一个标准，但没有一个符合）。 $\Pr(R=r | P=1)$ 是在所有生产者完全符合标准的假设条件下的风险分布。

所以，用 $E(\cdot)$ 表示一个随机变量的期望（平均值），我们有：

$$\begin{aligned} RR(\alpha) &= \frac{E[R | P=0] - E[R]}{E[R | P=0]} = \frac{E[R | P=0] - (\alpha \times [E[R | P=1]] + (1-\alpha) \times E[R | P=0])}{E[R | P=0]} \\ &= \frac{\alpha \times E[R | P=0] - \alpha \times E[R | P=1]}{E[R | P=0]} = \alpha \times RR(0) \end{aligned}$$

对于收获损失 (HL)% 的逻辑是一样的。风险的分布（和其他变量）在符合的情况下是一个混合分布。在这里，是 2 个分布的一个混合（100% 符合和 $C\%$ 符合或基线）。混合比是%的符合达标。

当然，需要注意的，这里所考虑的这个方案（即，假设的设定）及导出的这些简单公式都在某种程度上有所简化。隐含的假设是，符合比率是独立于产品的风险程度的。同时，不存在假定扔弃好产品的风险。

在 2、3 和 4 logs 的行动限值下，在“冷却”中控制每克 V_p 各符合比率的效果列在

表 I - A1.1。

表 I - A.1.1 在 2、3 和 4log₁₀ 的行动限值下，在“冷却”中控制每克 V_p 各符合比率的效果

国家	行动水平 (log ₁₀)	符合比率 (%)	产品拒绝率 (%)	风险降低 (%)
澳大利亚	2	100	67.7	99.1
	3	100	21.1	87.3
	4	100	2.4	52.0
新西兰	2	100	52.6	96.0
	3	100	9.5	66.3
	4	100	0.5	19.8
日本	2	100	16.0	99.2
	3	100	4.7	96.8
	4	100	1.2	89.5
澳大利亚	2	90	60.9	89.2
	3	90	19.0	78.5
	4	90	2.2	46.8
新西兰	2	90	4.3	86.4
	3	90	8.5	59.7
	4	90	0.4	17.8
日本	2	90	14.4	89.3
	3	90	4.2	87.1
	4	90	1.1	80.5
澳大利亚	2	50	33.9	49.5
	3	50	10.6	43.6
	4	50	0.2	26.0
新西兰	2	50	26.3	48.0
	3	50	4.7	33.2
	4	50	0.2	9.9
日本	2	50	8.0	49.6
	3	50	2.3	48.4
	4	50	0.6	44.7

第二部分

泥蚶中副溶血性弧菌的
微生物学风险评估两个
模型的对比：“农场到餐
桌”与“部分变化模型”

II-1 简介

副溶血性弧菌广泛分布于温带、亚热带、热带的海洋环境中，其中有毒菌株可以通过海鲜食物进行感染传播。在东亚、南亚的国家中，副溶血性弧菌常被认为是引起食源性肠胃炎的主要原因，并且可能会反映出在这些国家中的饮食文化中海鲜的消耗（Fujino 等，1974）。在热带和亚热带区域，如在泰国的部分地区，副溶血性弧菌可以常年从海鲜及海水中分离出来（Fujino 等，1974）。除了美国的一些生牡蛎外，和有毒菌株一样，分布上的数量数据通常不能够获得 Cook, Bowers 和 DePaola, 2002。

世界上拥有健全的食物性疾病检测系统的国家并不多，绝大多数国家没有关于弧菌类疾病的监测及申报系统，除了霍乱。然而，卫生部门通过零星发病的案例或多或少掌握了一些腹泻类疾病的发病信息。泰国缺少正规的关于副溶血性弧菌发病情况的申报体系；但是却有很多关于此类疾病暴发及高比例的不定期病例的技术报告发表出来（Anon., 2001c; Khuharat, 1998; Suthienkul, 2000; Tangkranakul 等, 2000）。基于此类信息，副溶血性弧菌感染似乎已经引起泰国各界的关注。

来自泰国和日本的学者开发了两个模型来进行风险评估（农场—餐桌模型及局部变化模型），模型的构建基于泰国南部 Hat Yai 市采集的数据，该市的海鲜食物非常流行。

II-2 范围

此项评估的目的是在设定条件、设定的时期的状况下对海鲜中的副溶血性弧菌感染风险的评估。这可以作为发展中国家案例研究的代表，科学家可以进行临床试验及微生物学实验获取相关数据并建立除牡蛎外的贝类种类的风险评估模型。

II-3 危害鉴定

在日本等东亚国家，副溶血性弧菌是食源性疾病的主要诱因（卫生劳动福利部，1999—2001）。由此引发的疾病暴发十分频繁，但通常范围不大，小于 10 例的暴发很普遍。

在 Hat Yai 市，一个人口为 282 000 的、位于宋卡河（连接到泰国湾的咸水湖）与安达曼海之间的热带城市，通过在两所医院的对于排泄物及直肠检查记录获得了由于副溶血性弧菌引起的腹泻型疾病的记录。1999—2001 年，研究人员能够从 504 个样本中分离出副溶血性弧菌。

在 1999 年，在这两家医院进行了为期一年的调查。调查中所采取的微生物学手段在附录 II-1 中有描述。从两家医院中的 319 个腹泻样本中分离出了副溶血性弧菌，其中 Hat Yai 医院中 8 281 个样本中的 276 例（3.33%）、大学医院中 3 193 个样本中的 43 例

(1.35%)。从两个样本中分离出的两个菌株在贮存阶段无法存活，导致与其他 317 个样本进行隔离。虽然在这些样本中的志贺氏菌的出现频次高于副溶血性弧菌，但是在两个医院中一年得到 319 个腹泻型样本的病例对于副溶血性弧菌的传播仍然是很高的。分离结果发现的高峰月份是在夏季，从 6 月到 9 月。基于美国的数据，大约 1.2% 的副溶血性弧菌的患者会就医 (Mead 等, 1999)，因此推断副溶血性弧菌的患者数量会非常高。本调查并没有考虑发病后的时间因素，也没有考虑个人或者医院采用的抗生素进行治疗。这些因素都会导致副溶血性弧菌感染的漏报。

对调查中存活的 317 个菌株进行有毒基因的检查 (tdh 或者 trh 基因)，其基因调查结果见表 II-1。在分离个体中，发现 tdh 基因的比例为 91.5%，而发现 trh 基因的比例为 4.4%。13 个分离物对 trh、tdh 均呈阳性。在一个医院，在 2000 年分离出 64 个临床菌株、2001 年分离出 123 个。流行病菌株 (GS-PCR, tdh+, trh-) 在 2000 年 (64 中 41 个, 64%)、2001 年 (123 中 83 个, 68%) 均呈流行趋势。流行菌株的血清型中，在这两年中的血清型均在 4 种以内，主要是 O3: K6 (2000 年 73%，2001 年为 76%)，其次是 O1: K25 (2000 年 20%，2001 年 13%) (Vuddhakul 等, 2006)。

为了从 1999—2001 年分离出的 504 个副溶血性弧菌的临床菌株中识别出流行性菌株，通常是以 O3: K6 血清变型来识别拥有 tdh 基因而非 trh 基因 (Okuda 等, 1997)，由 Matsumoto 等 (2000) 等开发的类属特异性 PCR 分析方法则被运用到所有的 tdh+ 菌株中。总体来说，504 个菌株中的 367 个菌株 (72.8%) 呈 GS-PCR 阳性。在这其中，367 个菌株拥有流行病菌株的特征 (GS-PCR+, tdh+)，285 个菌株为 O3: K6 的变型，41 个菌株属于 O1: K25。因此，O3: K6 型临床菌株在分离案例中为主导菌株，其次为 O1: K25 型。在 1999 年对 317 个临床菌株的见表 II-1。再一次强调的是，分离出的主导型血清类型为 O3: K6 型。

表 II-1 基于泰国 Hat Yai 医院 (1999) 腹泻型病例的数据分析得到的副溶血性弧菌的特征

菌株数量	GS-PCR 结果	O: K 血清 变型	基因		菌株数量	GS-PCR 结果	O: K 血清型	基因	
			tdh	trh				tdh	trh
192	+	3: 6	+	-	1	-	4: 55	+	-
22	+	1: 25	+	-	1	-	4: 63	+	-
21	+	4: 68	+	-	1	-	6: 18	+	-
4	+	1: UT	+	-	1	-	8: 22	+	-
1	+	1: 41	+	-	1	-	12: UT	+	-
1	+	4: 12	+	-	1	-	1: UT	-	+
1	+	3: (6)**	+	-	1	-	1: UT	-	+
2	-	1: 9	+	+	1	-	8: UT	-	+
2	-	1: UT	+	+	1	-	12: UT	-	+
1	-	1: 41	+	+	1	-	13: UT	-	+
1	-	5: 15	+	+	4	-	12: UT	-	-
1	-	5: UT	+	+	5	-	5: UT	-	-

(续)

菌株数量	GS-PCR 结果	O: K 血清 变型	基因		菌株数量	GS-PCR 结果	O: K 血清型	基因	
			tdh	trh				tdh	trh
1	-	12: UT	+	+	2	-	3: UT	-	-
6	-	4: 8	+	-	1	-	1: UT	-	-
5	-	4: 9	+	-	1	-	4: 4	-	-
3	-	2: 3	+	-	1	-	4: 34	-	-
6	-	4: 68	+	-	1	-	8: UT	-	-
2	-	1: 56	+	-	1	-	10: 24	-	-
2	-	4: UT	+	-	1	-	10: UT	-	-
2	-	8: 22	+	-	2	-	11: 19	-	-
2	-	8: 41	+	-	1	-	11: UT	-	-
2	-	10: UT	+	-	1	-	12: 53	-	-
1	-	3: 7	+	-	1	-	UT: UT	-	-
1	-	4: 4	+	-	1	-	R: UT	-	-

注: * UT=未变型; R=未变型; ** 抗 K6 血清弱凝集反应。

II-4 可用数据

II-4.1 相关的食物

在医院中,对于副溶血性弧菌病人来说只要能被确认,就不会有对可疑的食物进行流行病学或者微生物学的检查,并且也没有案例对比研究。因此在 Hat Yai 市,不能讲副溶血性弧菌归结于某一类特定的海产品。已经知道的是海鲜中的传染性菌株的流行程度与周边环境的相关性较低(Wagatsuma, 1974; Matte 等, 1994; Wong, Ting 和 Shieh, 1992; Wong 等, 1999; Fang 等, 1987; Chowdhury 等, 2001)。正如 Kanagawa 现象描述的一样,从海鲜及周边样品中分离出的致病性副溶血弧菌的比例少于 2% (Sakazaki 等, 1968; Miyamoto 等, 1969),这就使得在接触实验中获取重要信息的难度加大。

为了增加分离过程中的敏感度以获得接触数据,研究人员采取了一种新式的免疫磁珠分离操作方法,该方法对 O3: K6、O1: K25、O4: K68、O1: KUT (未划型)、O1: K41、O4: K12 等株型特异性,对从病人中分离的副溶血性弧菌非特异性。附录 II-1 描述了使用的微生物检验方法。简单地说,该方法包括富集培养,然后利用上述 K 抗原与抗血清的特异性分离使用免疫磁珠方法。从 1998—2000 年,对 295 个海产样本进行了分析: 虾,蟹 (9), (50) 鱼 (100) 和贝类 (136 双壳类)。只有双壳类呈现阳性: 一次是 1998 年,一个在 1999 年和 2000 年的两个 (2.9%)。因此 2001 年的只专注于双壳类,9 毒株分离自 132 个样本 (6.8%)。其中占主导地位的血清型是 O3: K6,然后是 O1: K25 13 个毒力菌株 (表 II-2)。O3: K6 和 O1: K25 型为 GS-PCR+, tdh+ 和 trh-。这可

能因为存在额外的毒性血清型，但没有选择性免疫测定法的灵敏度，轻松地将其分离出来并不容易。

Hat Yai 市的人们普遍的看法是泥蚶的大量消费是导致腹泻型病例的主要原因，包括副溶血性弧菌疾病。

在 Hat Yai 市 1998—2001 年（表 II-2）的数据表明，在危害鉴定部分，从临床和海产品样本的分离菌株的比较显示，双壳类，即从中分离出毒性菌株的血蛤（粗饰蚶）、绿贻贝（翡翠贻贝）和文蛤（文蛤），是副溶血性弧菌感染的一个潜在来源。正如泥螺，当地人称为泥蚶，被认为是泰国南部最流行的双壳类，它被选定为第一个作为副溶血性弧菌风险评估的物种。

表 II-2 从泰国 Hat Yai 市的贝类中分离出的副溶血性弧菌的有毒菌株。数据从目前的报告中获得

血清号	隔离的月/年	来源	基因类别		血清类结果**	流行病菌株
			tdh	trh		
PSU46	12/98	A	+	-	O3: K6	+
PSU47	1/99	A	-	+	O11: K3	-
PSU166	8/00	C	+	-	O3: K6	+
PSU228	10/00	B	+	-	O3: K6	+
PSU358	4/01	C	+	-	O3: K6	+
PSU359	4/01	B	+	-	O3: K6	+
PSU360	4/01	B	+	-	O3: K6	+
PSU434	5/01	B	+	-	O3: KUT	+
PSU437	5/01	B	+	-	O3: KUT	+
PSU435	5/01	B	+	-	O3: K6	+
PSU474	8/01	B	+	-	O3: K6	+
PSU476	8/01	C	+	-	O3: K25	+
PSU478	12/01	C	+	-	O1: K25	+
PSU513	12/01	A	-	+	O1: KUT	-

注：* A=血蛤 (*Anadara granosa*)；B=文蛤 (*Meretrix iusoria*)；C=绿贻贝 (*Perna viridis*)；

** UT=未变型。

从双壳类分离出的流行性血清型菌株的特点等同于那些从临床标本得到的流行血清型菌株（表 II-1）。此外，从环境和临床分离的 O3 : K6 和 O1 : K25 菌株的脉冲场的凝胶电泳 DNA 指纹图谱显示没有什么区别（Vuddhakul 等，2006），这显示出软体动物贝类（包括泥蚶）消费和副溶血性弧菌感染人类的联系。由于缺乏风险评估患者的有关食品归属的行为流行病学调查，因此不能确定泥蚶对副溶血性弧菌疾病的作用。因此，在本研究

中，泥蚶对副溶血性弧菌疾病的贡献是一个假设。然而，有一些生物学的基本原理，假设双壳类在这方面与副溶血性弧菌感染相关，即：

- 如上所述，在临床标本和病原体中发现的致病菌具有相关性；
- 双壳贝类是滤食性种类和被认为能够从海水和河口环境中积累高浓度的细菌和病毒；
- 有报道称双壳贝类是副溶血性弧菌感染的传播媒介（Daniels 等，2000a, b）；
- 海鲜在泰国极度盛行并且人们只是轻微地煎炸一下以保持新鲜；
- 关于双壳类与腹泻病例的关系，人们有一个普遍的看法。当对食用泥蚶的 80 人进行采访时（见下文第 4.6 节：泥蚶的消耗），38 人回答说，他们有丰富的经验处理食用过泥蚶的腹泻（Yamamoto 等，2008）。

II - 4.2 副溶血性弧菌的患病率

在泥蚶收获、零售和后处理（蒸煮）阶段（表 II - 3）对总副溶血性弧菌的患病率和 tdh+ 和 trh+ 副溶血性弧菌的感染率进行了检查。检查了 32 个样本集。在捕获、零售、处理阶段所检查的泥蚶的数量是一致的。在每个试管中的最后富集培养阶段（6 个小时的盐多黏菌素肉汤培养物）对副溶血性弧菌的存在或不存在（以下称为总副溶血性弧菌），副溶血性弧菌 tdh 阳性（以下称为 tdh+ 弧菌），副溶血性弧菌 trh 阳性（以下称为 trh+ 副溶血性弧菌），使用两种方法进行了检查：直接 PCR 和菌落隔离 PCR。用这两种方法对总副溶血性弧菌、tdh+ 副溶血性弧菌，trh+ 副溶血性弧菌进行确认。在所有测试样本中，总的和致病副溶血性弧菌的患病率显示为阳性样品的简单的速率。接触评估模型主要基于表 II - 3 的 PCR 数据。

由两种方法所获得的结果部分与副溶血性弧菌一致，但不适用于 tdh+ 副溶血性弧菌和 trh+ 副溶血性弧菌。在收获阶段该 tdh+ 副溶血性弧菌在直接 PCR 检测样品四套样品和两套菌落隔离 PCR 样品中检测得到，只对一组所获得的结果一致。两种方法之间的分歧，可能是由于部分 tdh+ 副溶血性弧菌、trh+ 副溶血性弧菌较低的发病率。总体而言，两种方法得到的 tdh+ 副溶血性弧菌或者 trh+ 副溶血性弧菌呈阳性的数量相等的，从而表明了两种方法的灵敏度差别并不大。当靶生物在一个较低的水平存在时，直接 PCR 法预计比菌落隔离的方法更敏感（Dileep 等，2003）。因此，减少了大量劳动的直接 PCR 方法适用于其余部分的研究。

表 II - 3 在泰国南部的 Pattani 省的某一收货点，泥蚶的捕获、零售及后期加工过程中的 32 个泥蚶的总副溶血性弧菌及致病副溶血性弧菌的患病率

	直接 PCR			菌落隔离-PCR		
	总 VP	tdh+VP	trh+VP	总 VP	tdh+VP	trh+VP
捕获	32 (100%)	4 (13%)	2 (6%)	32 (100%)	2 (6%)	3 (9%)
零售	32 (100%)	0 (0%)	1 (3%)	32 (100%)	0 (0%)	2 (6%)
后期加工	1 (3%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (6%)	0 (0%)	0 (0%)

海鲜中副溶血性弧菌的风险评估

表 II-4 通过直接 PCR 手段在收获及零售阶段的每个泥蚶中总副溶血性弧菌和致病副溶血性弧菌的最大可能数 (MPN)。捕获和零售阶段为同一批次

批量样本号	收获阶段			零售阶段		
	总 VP	tdh+	trh+	总 VP	tdh+	trh+
1	8	0	0	15	0	0
2	26	0	0	263	0	0
3-1	84	0	0	161	0	0
3-2	385	0	0	33	0	0
3-3	161	0	0	161	0	0
4-1	161	0	0	1 610	0	0
4-2	161	0	0	735	0	0
4-3	5	0	0	840	0	0
5-1	53	0	0	8 400	0	0
5-2	326	1	0	5 250	0	0
5-3	385	0	0	38 500	0	0
6-1	3 255	0	0	38 500	0	0
6-2	16 100	0	0	5 250	0	0
6-3	8 400	0	0	38 500	0	0
7-1	81	0	0	2 625	0	0
7-2	53	0	0	525	0	0
7-3	33	0	0	161	0	0
8-1	5 250	0	0	15 050	0	0
8-2	8 400	0	0	8 400	0	0
8-3	735	0	0	5 250	0	0
9-1	5 250	0	1	5 250	0	0
9-2	2 625	0	0	8 400	0	0
9-3	1 505	0	0	16 100	0	0
10-1	5 255	0	0	16 100	0	0
10-2	16 100	0	1	1 505	0	0
10-3	8 400	0	0	3 255	0	0
11-1	4 200	0	0	2 625	0	0
11-2	1 505	1	0	5 250	0	1
11-3	805	1	0	2 625	0	0
12-1	2 625	0	0	16 100	0	0
12-2	1 365	1	0	735	0	0
12-3	8 400	0	0	735	0	0
总计	102 090	4	2	248 908	0	1

II-4.3 在捕获及零售阶段总的副溶血性弧菌和致病性弧菌的浓度

在数据收集过程中，捕获后不久就会获得很多贝类。经过初步抽样（“收获”阶段），其余蛤运到本地开放的市场，实验室也设在那里。然后检查这些蛤蜊（“零售”阶段）。此后，将蛤蜊放置在室外以模拟实际的运输条件，然后再次采样进行分析。典型的在家里烹饪蛤蜊是短时间煮沸（在某些情况下不足以加热）。

利用直接 PCR 法在收获和零售阶段确定的每个贝类的总副溶血性弧菌和毒株最大可能数（MPN）见表 II-4。tdh+副溶血性弧菌和 trh+副溶血性弧菌的最大可能数是所有样品中每个贝类含一个，其中 tdh+副溶血性弧菌或 trh+副溶血性弧菌呈阳性。

II-4.4 在运输过程中从收获到零售、从零售到烹饪过程中的生长

从收获到零售的时间约 5 小时，这就造成了在收获和零售之间阶段细菌数量的变化。在收获和零售阶段副溶血性弧菌的数量对比结果见图 II-1，它提供了强有力的证据表明出现增长。

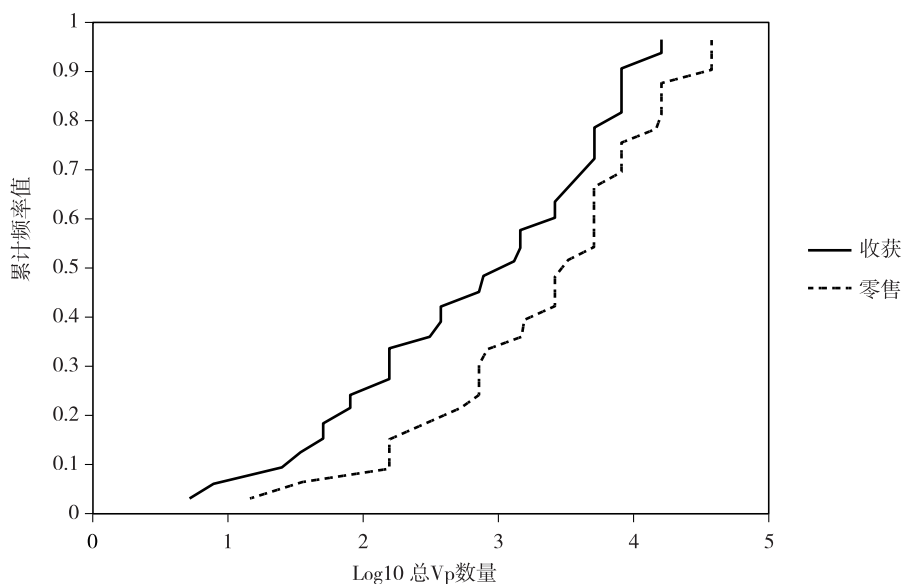


图 II-1 在收获和零售阶段每个贝类中总副溶血性弧菌的累计频率值，表明其增长

零售及食用处理期间假设遵循 PERT 分布 (Vose, 2000) 根据本地个人实践的观察和专家的意见，分布在 0~25 小时的范围内，最有可能的值为 1 的分布值。该 PERT 分布专门用于建模专家估计，其中一个给出专家的最小和最大，最有可能的猜测。它是一种直接替代三角形分布。PERT 的分布为平滑曲线而不太重视极值，而是逐步更加重视最可能的值。它经常被用来在蒙特卡洛模拟上。

II-4.5 食用处理阶段

生活在研究区域的人们被招募来实际的烹饪程序进行研究。一共 20 人按照他们通常在家里做的方法煮泥蚶，使用线探头连接到自动记录仪来检测泥蚶内部的温度（AP-810 热电偶，安立，东京）。测试结果表明，20 人中的 19 个的处理过程足以杀死所有的细菌，而另外一个人烹饪泥蚶的内部温度只在几秒钟内达到最高的 50.5℃。假设为彻底煮熟泥蚶需要内部温度保持在至少 64℃ 超过 90 秒，这个假设的标准是基于综合性工具书（IC-MSF, 1996）。

II-4.6 泥蚶的消耗

基于受访者的调查显示泥蚶的消费次数从每年 2~20 次不等（图 II-2）。

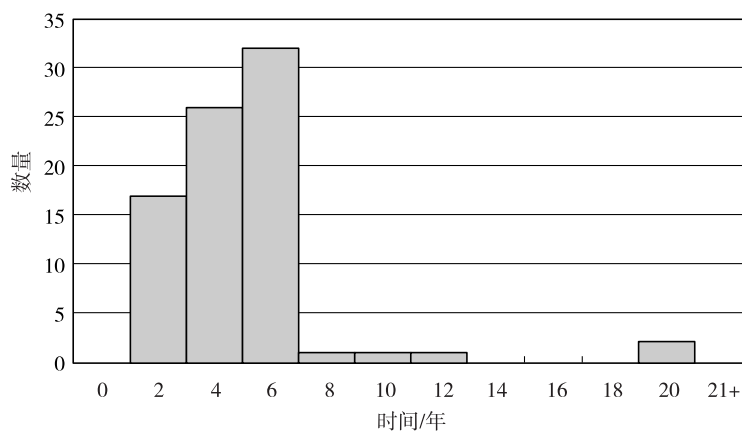


图 II-2 每年泥蚶的消费频率的分布

每一次消费的泥蚶的数量从 3 到 50 不等（图 II-3）。从调查中得出每餐消费的泥蚶数量与年消费数量呈负相关（图 II-4）。

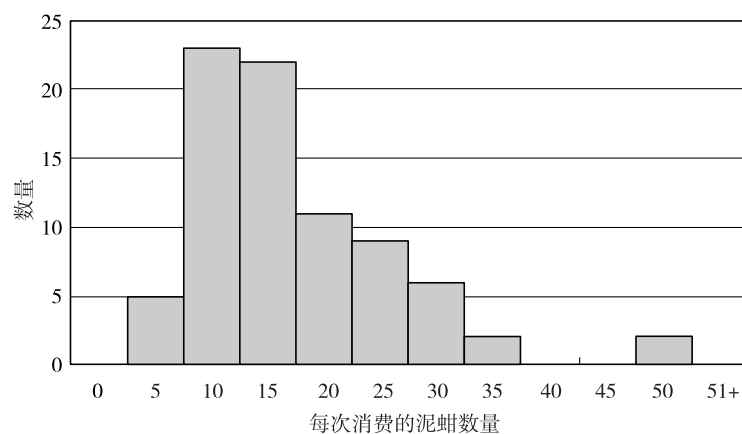


图 II-3 每次食用消费的泥蚶数量的分布

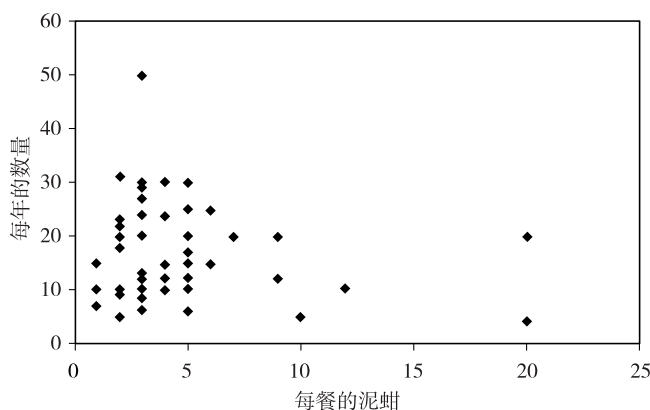


图 II-4 根据调查获得的每餐的泥蚶消费数量与每年的泥蚶消费次数的散点图。虽然不确定，但是似乎呈负相关。

II-4.7 剂量反应数据

美国食品和药物管理局 (Anon., 2001 年) 为了得到副溶血性弧菌引起疾病的概率的数据而试验了几个剂量反应模型，发现 β -泊松模型是最合适的。 β -泊松模型是唯一一个由 FAO/WHO (2003 年) 确定的符合机制标准 (没有阈值水平，即单个细胞可引起疾病)。他们采取自举方法来估计附录 II-3 公式 4 的参数 α 和 β 的不确定性 (Haas, 1999)。它们的剂量-反应曲线拟合的结果显示在图 II-5。对于 β -泊松分布， α 和 β 分别是 (陡度) 的形状和位置的参数。

为了包括相关参数的不确定性和最大似然参数估计及副溶血性弧菌自举方法结果的可能性，因此采取了美国食品和药物管理局的风险评估方法 (2005)。

模型中单个菌落的副溶血性弧菌引起的疾病的平均概率 (肠胃肠炎或败血症)，由下式给出：

$$\bar{p} = \frac{\alpha}{\alpha + \beta}$$

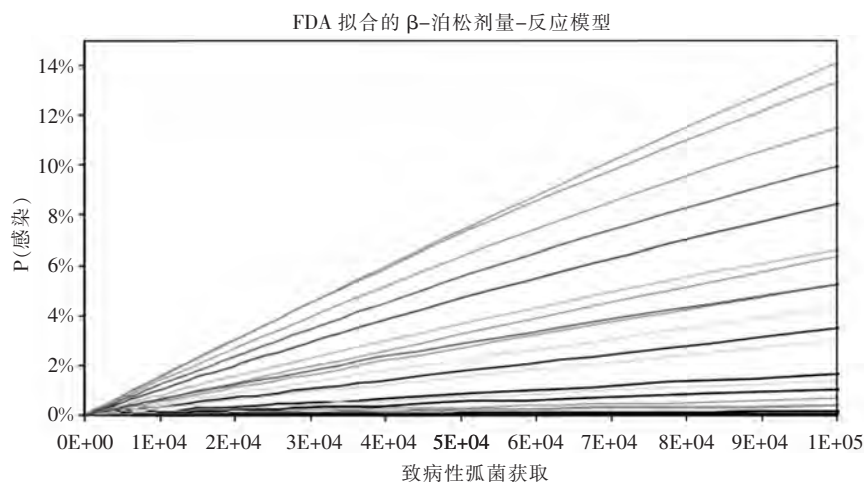
图 II-5 显示 β -泊松模型具有相当的不确定性。然而，显而易见的是，产品 P (感染 | 剂量) * P (感染 | 疾病) 低剂量低于 10^5 菌落并与摄入剂量有一个近似直线的线性关系。此外，FDA 的报告指出：

“考虑致病性弧菌所预测的密度，墨西哥湾沿岸夏季收获的生牡蛎的数量和可能的疾病发生数量 [肯尼迪引述匿名, 2001]，有力地表明了剂量-反应曲线的基础上每份的预测风险……是不合理的。因此，直接暴露的条件下，在饲养试验的剂量-反应的推断并不被流行病学数据支持。”

随后，该报告还指出：

“基于这些年患病率估计，在进食实验中至少有 10 倍增加的 ID_{50} 才足以推断符合流行病学的剂量-反应情况。可能真正的普通人群的 ID_{50} 这种调整值还要大，但目前的风险评估没有评估这种不确定性。”

FDA 的风险评估表明，一些饲养试验数据因为某些原因与美国经验数据不一致，感染的概率应该是小于拟合模型的约 10 倍，或甚至更少。



II-5 FDA 拟合的 β -泊松剂量-反应模型。图中的线条表示拟合的自举重取样，这在拟合模型中给出了合适的不确定性。

II-4.8 可用数据的总结

1. 虽然副溶血性弧菌引起的疾病发病率很高，但是在泰国还没有数据来确定每年的发病率。
2. 只有一个并不有力的数据来说明泰国人群中副溶血性弧菌疾病与泥蚶的关系。
3. 并没有病例对照研究或其他流行病学证据来确定在泰国副溶血性弧菌疾病可能归因于泥蚶消费。
4. 泥蚶中副溶血性弧菌的发病率是可以估计的，但是对于其他可能的暴露途径并不适用。
5. 泥蚶中副溶血性弧菌的数量已经在收获和零售阶段获得，通过在两个阶段间的测量估计了增长率。
6. 个人烹饪习惯的数据及泥蚶消费模式的数据已经收集到，但是并没有其他事务类型的数据。
7. 关于泥蚶在消费前的烹饪方面的时间长度的数据有一些并不很有力的数据。
8. 副溶血性弧菌饲养试验的剂量-反应数据并没有与人类健康的有着明显的关联，但我们知道，剂量和疾病的概率之间的线性关系，或预期疾病的数量，相当稳定。

II-5 利用现有数据可能建造的模型及可能解决的问题

在执行一个对决策者有用的风险评估，需要确保任何模型遵循以下准则：

- 它解决了决策者提出的许多可能的问题，并且及时；

- 由最可能利用的数据获得；
- 创造了最小可能及最大可能的假设；
- 尽可能有效率。

一种确保不执行生产风险评估模型方式、最终对决策者没有价值的方法是要考虑什么样的数据是可用的，或在合理时间内使其可用（如“合理”是由决策者决定的）。这里已经介绍了如何利用可用的数据开发本节的讨论的两种模型，以及这些模型如何可能协助决策者。虽然有相当多的争论其中包括食品安全社区什么构成风险的领域评估者和风险管理者，这显然是颇有微词，风险评估能够帮助风险经理说明什么事情可做。

II-5.1 农场-餐桌类型模型

图 II-6 中基于参数的模型从可用的数据构建。其不足之处很可能是在模型中的剂量-反应的关系。这可能为决策者提供一些证据是有用的，在泰国泥蚶是否是造成副溶血性弧菌疾病的一个重要原因，这个概念探讨如下。

假设所有的由泥蚶引起的副溶血性弧菌疾病，假设所有的案例都是零星的，没有暴发性的。构建风险评估模型，得到一个由于泥蚶引起的人感染弧菌的近似的预测数量，同时考虑到烹饪和消费模式。如果这个估计的发病率与当局希望的相类似，风险评估提供了一些支持的论点，即泥蚶是导致副溶血性弧菌感染的重要原因。如果计算出的发生率明显高于预期，该模型可能是错误的。最后，如果计算的发生率显著低于当局相信发生的概率，这表明泥蚶不是副溶血性弧菌感染的主要来源（如果模型是合理正确的），或者这种模型并不是代表性的主要感染源。例如，交叉污染可能是一个泥蚶感染的重要途径。

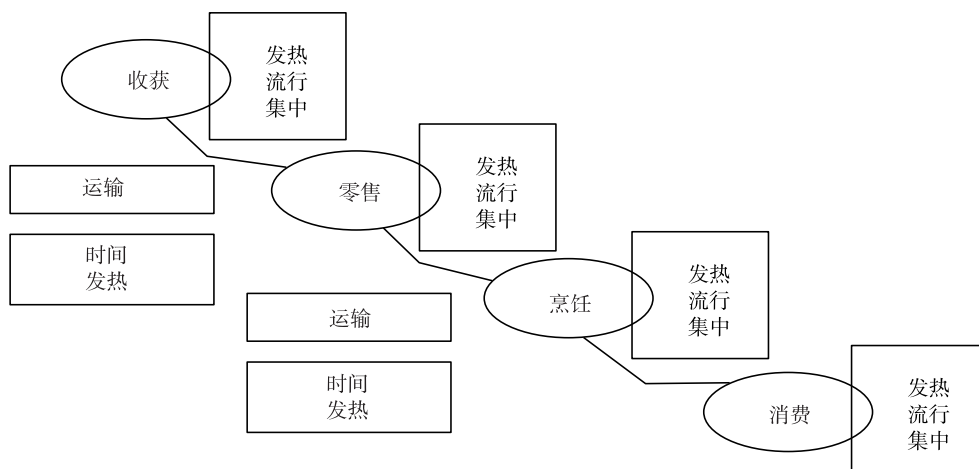


图 II-6 泥蚶中副溶血性弧菌的生产—消费风险评估的模型框架示意图

II-5.2 由于贝类处理的变化导致人类病例中副溶血性弧菌分数减少的估计

细菌接种量和患病概率之间的近似线性关系意味着微生物负荷或者副溶血弧菌的发病率的微小变化，或两者兼而有之，这将发生在血腥蛤变化处理导致在人类疾病相同的分数

变化，但前提是细菌加载在几乎所有的泥蚶仍低于 10^6 个。因此，考虑分数减少的疾病，处理或贮存泥蚶时会出现与病原体的还原性的变化是可能的，前提条件是这些数据提供可估计负荷减少，并且，该计算可以而不需要使用的剂量反应曲线，也超越已经讨论过的线性假设。对于泥蚶副溶血性弧菌的风险管理来说，这样的分析是相当有限的值，但如果对泥蚶引起的副溶血性弧菌进行的流行病学研究，这种风险评估可提供有关对健康影响的专注于减少副溶血弧菌暴露量的各种风险缓解策略的信息。

II-6 农场-餐桌类型模型

在图 II-6 中的模型由采用蒙特卡罗仿真在 @ RISK/ Excel 建模环境中利用数据进行构建的形式。模型逻辑进行考虑。

1. 对泥蚶中所有的副溶血性弧菌有毒菌落的比例，无论是 tdh+ 或 trh+ 的菌株 (p_{tdh+} , p_{trh+}) 进行估计。这是假设这些比例在收获、消费过程中保持基本不变，这实际上意味着假设有毒和无毒菌株之间的生存能力没有区别。同时也假设所有的泥蚶包含一些非零水平的副溶血性弧菌。

2. 从样本数据估计零售的贝类总弧菌菌落数的分布。

3. 利用副溶血性弧菌的总浓度在零售、收获的比例，及收获和零售之间的时间信息，得出模型弧菌生长率 k 和在零售阶段副溶血性弧菌细菌总数。

4. 零售阶段总副溶血性弧菌的浓度在被消费前的主观估计时间生长因素的基础上升高，以及在一个随机的蛤消费点利用 k , p_{tdh+} 和 p_{trh+} 的数量估算致病性菌落数量。

5. 从一个小调查估算泥蚶不当烹饪的分数。所有的副溶血性弧菌菌落被假定为在不正当的烹调过程中可以生存，并假设在正确的烹调中失活。

6. 在一餐中消费的泥蚶数量的调查数据在上述步骤 4 和 5 一起使用来建立随机餐食中致病性弧菌的数量模型。

7. 从调查数据估计个人年度消费量。一餐中消费的蛤蜊数量和每年中的食用蛤蜊的餐饮数量被保存在模拟情景。

8. 随机模拟餐饮患病的概率利用 β -泊松剂量反应模型计算。总的致病剂量通过在餐饮中增加 tdh+ 和 trh+ 菌落数模拟进行估计。这使得假设，在没有矛盾的信息的情况下，该菌株是同样致命的。

9. 随机餐饮中患病的概率大小（消耗蛤）通过在类似规模的餐饮中确定。整合在所有模拟餐的概率给出了从一年中食用泥蚶感染副溶血性弧菌预期的次数。

这些步骤和假设的更多的技术细节中将在以下各节描述。

II-6.1 泥蚶中有毒性副溶血性弧菌的比例 (tdh+ 或者 trh)

在泥蚶中为 tdh+ 或 trh+ 菌株所有的副溶血性弧菌，使用贝叶斯推理估计统一 (0, 1) 估计获得，在此基础上的可能性二项式函数：

- 对于任一副溶血性弧菌，拥有 tdh+ 或 trh+ 的概率相同；

- 表 II-4 的直接 PCR 数据显示 tdh+ 或 trh+ 的出现与否拥有 100% 的敏感性和特

异性；

- tdh+或 trh+的概率相互独立。

估算结果见图 II-7。

假设

如果两部分比较小的话， p_{tdh+} 、 p_{trh+} 的二项式估计及分别估计的分数是稳健的。

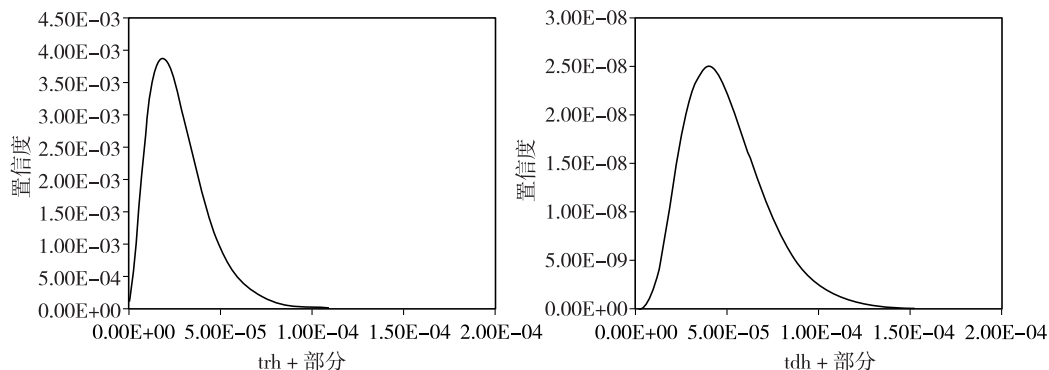


图 II-7 泥蚶中副溶血性弧菌为 trh+、tdh+ 的部分的估计

II-6.2 零售阶段蛤蜊中的总副溶血性弧菌值

表 II-4 显示的收获时的副溶血性弧菌菌落值的对数符合正态分布，均值为 3.345、标准差为 0.869，相当于一个对数正态分布的菌落数：

$$N_r = 10^{\hat{N}} \text{Normal}(3.345, 0.869)$$

视正态分布的假设 (Vose, 2000)，利用学生-t 和卡方分布对模拟的平均值和标准偏差的不确定性建模。

II-6.3 与温度相关的副溶血性弧菌的生长率

在副溶血性弧菌生长模型缺少更好数据的前提下，使用简单的环境独立指数增长模型。

$$N_r = N_h e^{kt}$$

其中， N_h 是副溶血性弧菌菌落收获阶段的初始数目， N_r 是零售阶段的菌落数值，数字 t 是收获和零售之间所花费的时间， k 是一个给定的温度的增长速度。在 Log_{10} 单位中给出：

$$k = (\text{Log}_{10}(N_r) - \text{Log}_{10}(N_h)) * \text{Log}_e(10) / t$$

从表 II-4 的数据使用这个公式，认识到从收获到零售的时间大致 $t = 5$ 小时，增速 k 的假设为正态分布，其中平均值为 0.236、标准差为 0.390：

$$k = \text{Normal}(0.236, 0.390) \text{ hours}^{-1}$$

使用符合正态分布假设的学生-t 和卡方分布模拟的平均值和标准偏差的不确定性。一个更技术性的分析会考虑批量性质样品，但似乎与同一批蛤蜊的增长率之间无相关性。

假设

- 简单的独立与环境的生长模式假定，同样的生长行为发生在零售后即从收获到零售。如果蛤从收获到消费被保持在相同的温度，pH 等或者如果生长速率是不敏感

的环境条件下超出了蛤蜊肠道的条件的变化范围。

- 由于营养耗竭，细菌的竞争，指数增长模型不允许降低生长。由于此模型中的生长范围生长在这样的范围内模型是小于一个数量级，这不太可能是一个问题。
- 所有蛤批次从收获到零售需要同样的时间和运输方法等，这是作为一个整体来代表生产。

II-6.4 在某一消费点的任一泥蚶病原性菌落的数量

在对个体行为观测的基础上，对零售和消费之间的时间（TRC）进行了：

$$t_{rc} = \text{PERT} (0, 1, 25) \text{ hours}$$

PERT 分布 {PERT (一, 二, 三)} 需要三个参数，即最小值 (a)，最近似值 (b) 和最大值 (c)。基于在收货点的观测，使用了 $a = 0$ ， $b = 1$ 和 $c = 25$ 小时，以描述不确定性 (Vose, 2000: 71)。

在一个贝类 N_c 中的副溶血性弧菌的数量被限制为最大不超过 109，因此估算如下：

$$N_c = \text{MIN} (N_r * \text{Exp} (k * t_{rc}), 1E9)$$

对每个蛤蜊限制最大 cfu 对于模拟 cfu 分布效果不大。贝类 N_{cp} 致病菌落数估算为：

$$N_{cp} = N_c * (p_{idh} + p_{trh} +)$$

假设

- 致病性菌株与非致病性菌株以同样速率生长。
- 从零售到消费的时间是纯粹的主观估计。风险估计对这个估计是敏感的，所以若有更多的变量数据则它是有用的。

II-6.5 非正常烹饪的泥蚶部分

在收调查的二十人中有一人采取非正确手段煮熟蛤蜊。不正确烹饪泥蚶的人数的不确定性可表示为：

$$p_u = \text{Beta} (1+1, 20-1+1)$$

用二项式概率标准贝叶斯估计 [$\beta (S + 1, N - S + 1)$, $S = 1$, $N = 20$ 基于调查数据]，事先未知 (Vose, 2000)。

假设

- 调查的 20 人，是泰式烹饪的做法的有代表性的随机样本。
- 所有泥蚶煮熟煮沸。
- 曝光路径是通过直接食用非正确方法烹饪的贝类，而非交叉污染。
- 蛤要么为烹制不当（所有的病原体生存）或正确烹煮（所有的病原体进行灭活）。没有可能只有一小部分的病原体失活。

II-6.6 随机一餐中致病性副溶血性弧菌的数量

在随机餐中泥蚶的数量是从每餐中报告的消耗量中重新取样进行模拟。为了更好地模拟一餐中的泥蚶，一个样本的增长率 k 和从零售到消费的时间将可能有相同的存储过程。在 D 餐中，致病性副溶血性弧菌的数量被模拟及叠加且总剂量可以下面公式获得：

$$D = \sum_{i=1}^n N_{CP}(i)$$

其中 N_i 为每餐消耗泥蚶的数量，这是由采访人员确定。这样做的效果对随即一餐中弧菌的分布的影响远大于如果我们假设所有泥蚶的储存时间是各自独立的。

对于每一餐中的泥蚶，致病性弧菌模拟加在一起，这导致了在非正常烹饪的餐饮中的致病性副溶血性弧菌总量的分布，见图 II-8。

假设

- 接受泥蚶消费模式调查的人泰国人口的随机抽样。不同专业水平的人在消费模式上无明显差异，但也有消耗相当多的人，例如，这里没有可以代表亚群体的变化。
- 一餐中所有的贝类来自同一批次，并且具有相同的存储记录。

Log10 每餐消费的致病性副溶血性弧菌的菌落数

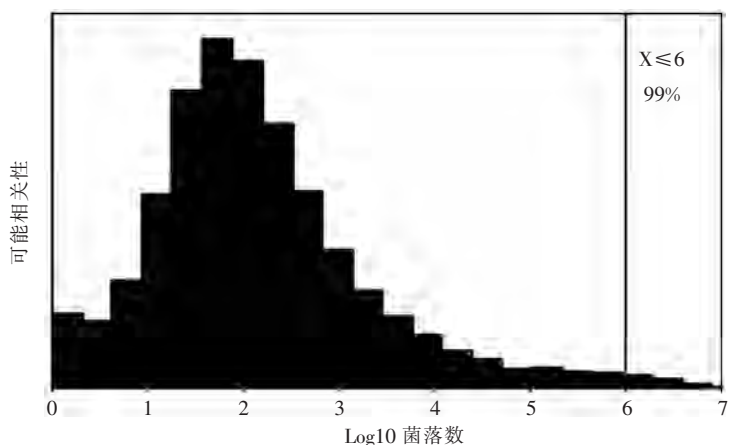


图 II-8 在模拟的非正常烹饪的泥蚶内致病性副溶血弧菌的分布 (Log10 cfu)

II-6.7 个人年消费量

通过访问调查估算泥蚶每年消费的频率及每餐中消耗的泥蚶数量，并且从模拟餐饮中的数据中采取自举重取样的方法进行模拟。

假设

- 接受泥蚶消费模式调查的人泰国人口的随机抽样。不同专业水平的人在消费模式上无明显差异，但也有消耗相当多的人，例如，这里没有可以代表亚群体的变化。

II-6.8 从模拟的随机餐饮中致病的可能性

在此风险评估中，泰国泥蚶的致病负荷建模低于 10^6 个 cfu 时仍然具有非常高的概率，如图 II-8。对于 FDA 的模型，使得剂量的拟合曲线，像已经完成的，将多达十倍的线性范围达到 10^6 cfu，所以附录 II-3 的低剂量近似公式 7 是适当的。另外，如果 P（疾病感染）与食用剂量无关的话，则持有相同的线性关系，即

$$P(\text{疾病} | D) \approx D p \theta \propto D$$

其中 P 是由一个单一菌落感染的概率， θ 为 $P(| \text{感染的疾病})$ 。在换句话说，我们使用任何剂量-反应模型，带有通过在泰国餐饮中估计的泥蚶接触情况，患病的概率被认为是与消耗的 cfu 的数量成比例。再扩延一点，一年中预期泰国与泥蚶相关的副溶血性弧菌的数量，与总的副溶血性弧菌的数量会有相同的比例常数。因为个人患病的概率是非常小后者是成立的，所以有任何重叠接触疾病事件的可能性不大。在所有这种说法中比较日本、美国和泰国的消费者对于泥蚶的易感性仍有难度。

FDA 的自举法估计 α 和 β 在高剂量的泊松剂量-反应模型低可能性估算，见附录 II-3。如果 P 是小的， $P(\text{疾病}) = 1 - (1 + \lambda/\beta)^{-\alpha}$ ，如果剂量大， $d = \lambda$ ：

$$P(\text{疾病}) = 1 - (1 + \frac{D}{\beta})^{-\alpha}$$

FDA 的报告中指出，这很可能是一个显著的与被污染的餐饮相关联（十个或更多因素）高估风险。然而它并没有提供一个副溶血性弧菌在泥蚶中的的风险估计，只给出了风险的上限。

假设

- 线性剂量-反应近似成立。
- 所有副溶血性弧菌的疾病案件是零星的。
- 所有病例都是独立的，所以从接触到致病性弧菌并没有接受免疫。
- 大概虚高的 $P(\text{疾病})$ 是在上限区域内建模获得。

II-6.9 一年中一个人从泥蚶中感染副溶血性弧菌而患病的估计数目

$P(\text{疾病})$ 进行了计算模拟餐的数量乘以餐点， N_M 即一个人食用这种规模的（贝类数）， p_U 即在一年中贝类没有被正常烹煮的概率。这种用以替代模型的迭代次数的计算的平均值与消耗泥蚶而感染的次数的上限值是等量的。

假设

- 所有的副溶血性弧菌的病例均来源于泥蚶。

II-6.10 模拟模型的结果

仿真模型估计的上近似的预期副溶血性弧菌耗时次一个人的数目会得病血淋淋的蛤蜊为 3.56×10^{-3} ，或大约在每人每年 1 000 的概率为 4。

与疾病的认知率比较估计比较小，尤其是考虑到可能的十倍，估计患病的概率给定的剂量。这表明，泥蚶或者至少是直接食用泥蚶，而不是其他未煮过的食物的交叉污染，可能不是泰国副溶血性弧菌感染的最重要危险因素。

在解释这些结果的时候，因为它们依赖于大量假设和很少的数据所以需要格外注意。敏感性分析可以用来确定驱动的风险估计模型中的关键的随机变量。

敏感性分析可以按照以下步骤开始：

- 选择一个输入分布，此分布被认为是重要的影响的风险估计（快速的 Tornado 的图表往往会有助于确定这些变量）。

- 选择一个数字的累积百分测试：这里使用的是 1%，5%，25%，50%，75%，95%和 99%。
- 选择一个输入分布，取而代之的是 1 个百分位值（一个实际最小），再运行仿真的输出（在这里记录我们已经使用了输出平均值是）。
- 重复，输入的所有其他百分值。
- 然后设置该输入分布，并重复练习所有其他显著输入分布。

其结果是图 II-9 蛛形图。它显示，例如，如果消耗蛤的数量是非常低的（boring 百分之一的人被调查）的风险约是 3×10^{-4} 。输入参数创建的更大的垂直变化，更多的风险估计对该参数的不确定性和变异性敏感。

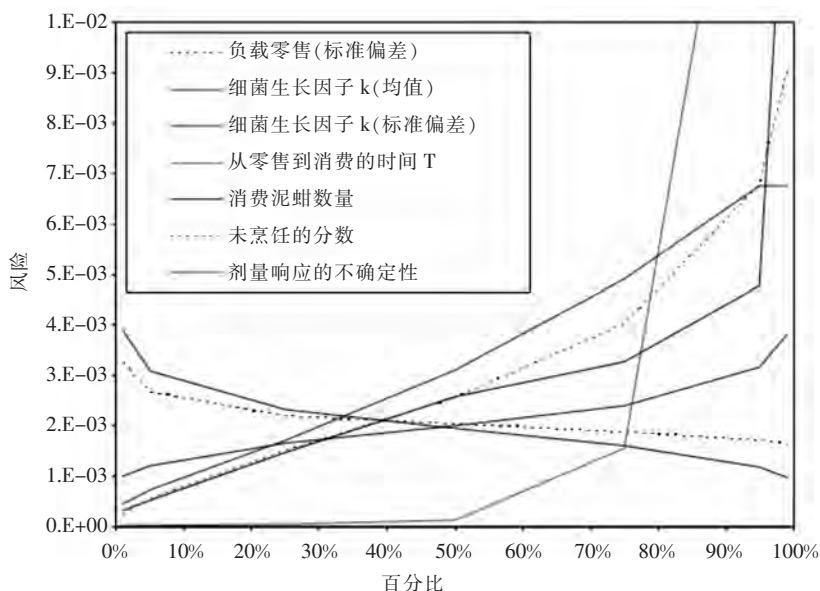


图 II-9 敏感度分析蛛形图，其中 x 轴是百分不确定参数，y 轴是指风险估计（每人每年患病）。

注：负载零售（标准偏差）=零售阶段总弧菌浓度标准偏差；细菌生长因子 k（均值）=副溶血性弧菌的增长速度的平均值；细菌生长因子 k（标准偏差）=标准偏差副溶血性弧菌的增长率；从零售到消费的时间 T =零售和烹饪之间的时间的最大值；消费泥蚶数量=收到面试的调查者的每餐的消费量；FracNotCooked=未正常烹饪泥蚶的个人的分数；剂量响应的不确定性=根据美国食品和药物管理局引导的结果的可能性的 β -泊松剂量反应模型的参数估计值的选择。

蛛形图显示，风险估计的平均值是受参数 t（从零售到消费的时间）和一年内消耗的泥蚶数量影响最严重的。这两个参数是人类行为的变量，这表明我们最大的能力来控制弧菌疾病可能是在教育人们更好地处理泥蚶。下一个最有影响的参数是非正常烹饪泥蚶的小部分人（从研究 20 人估计）和剂量反应模型中的不确定性。这两个参数的不确定性，可以通过进一步的研究降低。

总之，模型参数的不确定性统计意味着从这个模型中的估计改变可能高达每人每年 0.01，如果这些不确定参数到达极值的话，但是不会超过这个数目。

II-7 部分变化模型

从收获到零售的副溶血性弧菌细菌的增长数据在第4节中提供并进行分析。这改变了细菌负载的因素：

$$\frac{N_r}{N_h} = \exp(kt)$$

其中 N_r = 在零售阶段的副溶血性弧菌数量和 N_h = 在收获阶段的副溶血性弧菌数量， $k = \text{Normal}(0.236, 0.390)$ /小时和 t = 之前5小时，这里的正态分布描述 k 产生收获零售样品之间的增长率的变化。从线性的近似剂量-反应，我们可以得出结论，如果泥蚶保持足够的冷藏收获和零售，以防止任何细菌生长，人类从泥蚶副溶血性弧菌的导致疾病将受到因素 $\exp(kt)$ 而减少。事实上，我们希望只是平均减少细菌，而不是从一个泥蚶变化到另一个，所以因素是：

$$\text{Reduction (降低)} = \exp(\bar{k}t)$$

其中 \bar{k} 为 k 的平均值符合学生-t 分布。

图 I-10 显示模拟此项公式的结果，平均降低值为 3.5。

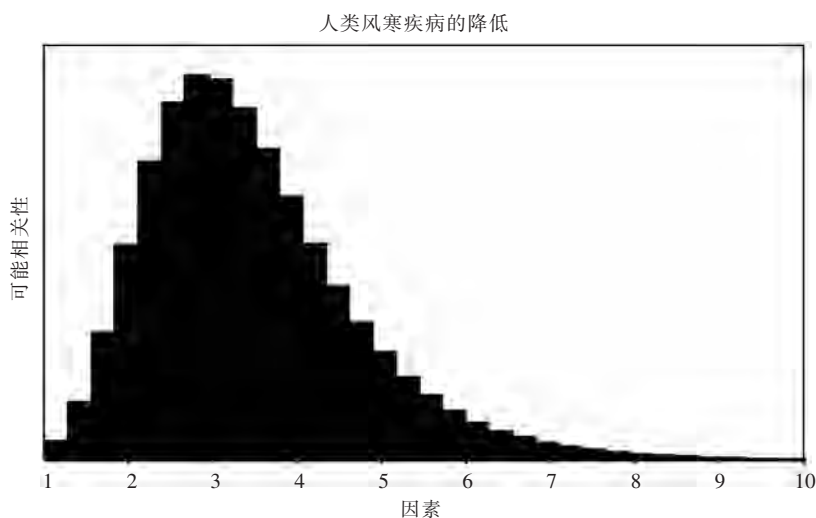


图 II-10 在由于收获到零售阶段引起的人类风寒疾病的降低因素的可能分布。

II-8 “从农场到餐桌”和“分数的变化”模型的比较

表面上看上去比较简单的分数变化模型是有吸引力的，特别是与更为复杂的农场到餐桌的模型相比较。在这些模型类型之间选择时需要彻底评估。

部分变化模型一般假定接触单位与人类健康风险的合成物之间的比例关系。当这个假设是真实的，例如，我们可以说明，减半曝光（曝光单元，在一个曝光事件或平均的量的数随机曝光的事件，或两者的某种组合）将减少一半对健康的影响。部分变化模型的好的

方面（危险）是一个绕过模拟所有的中间步骤，我们可能没有足够的数据库。

曝光的单位，可能是部分受污染的食物（假设食物暴露是唯一的途径），如在 FDA - CVM 风险评估氟喹诺酮耐药空肠弯曲菌（FDA - CVM, 2001），在这种情况下，模型将只能调查影响受污染的食物消耗的部分数目的风险管理行动。这样的模型所隐含的假设是细菌污染的部分的可能分布及风险管理行动中系统其他不会刻意改变的元素实质上仍维持不变。

曝光的单位也可以是病毒或细菌的单元，如本例所示。在这种情况下，我们假设在接触事件中细菌或病毒颗粒的数目仍然在剂量-反应方程的线性范围内，无论在风险管理行动前后，即患病的概率是与随机接触的人的病原体数目成比例的。

从农场到餐桌的模型并没有这些限制，但面临着另一个，通常更深远的问题，即数据不足。农场到餐桌的方法试图通过许多接触方法建模实现病原体的出现，再分布，经济增长和衰减许多暴露途径，最终实现通过剂量反应模型预测对健康不利事件的模拟。这些数据需要可能是巨大的，都几乎无一例外地从来没有完全达到，即使在最富裕的国家。模型通常是巨大的，增加出错的风险使其难以更新。同时需要更多的假设，这将会引入模型的不确定性。例如，在对生产农场到餐桌的模型建模时，必须相信所有的重要接触路径已经确定，但仍有很大的流行病学可以辩论，即使是最常见的食物病原体，这关系着有多大的风险归因于导致暴露于该病原体的各种活动。

与此同时，从农场到餐桌的模型试图指定尽可能多的过程尽可能更好地了解系统的观点。如果这是可以实现的，该模型可以潜在风险管理者提供更深入的了解。

一个部分变化模型需要一个可以单独估计接触病原体对人类健康影响的风险。一个可能可以声明，对人体健康的影响可以减半，但不知道确切是什么数目减半，这些信息的价值是非常有限的。相反，从农场到餐桌模型，可能能够预测人类健康的风险的量，从负载，患病率和剂量-反应数据，并可能可以从不同的途径用来比较的风险。风险评估有时尝试‘校正’农场到餐桌模型，使之产生一定程度的风险与已被观察到的相匹配。可以通过允许一个或多个未知的模型参数被改变，使得最终模型符合现实。虽然在某些特殊情况下，这在数学上是有效的，在一般情况这样的做法充满了危险：例如，这可以加强一个先入为主的概念，即一个特定的接触途径会造成所有观察疾病。在收获到消费模型中的剂量-反应方程的参数 p 是极其不确定的，可能已设置为产生了大量的疾病，这将阻止我们的结论，即泥蚶不是一个主要的健康问题。最终，模型结构的选择应反映现有的数据和响应决定的问题。

II - 9 结论及缺失的数据

本报告试图证明通过概括问题建立风险评估模型的过程；哪些数据是可用的评估模型，包括我们如何知道食品病原体的类型组合之间的联系及由此产生的对人体健康影响；然后模型可以利用可用的数据给决策者带来具体的补救行动的收益和成本（如有）的定量信息。

一个收获的消费风险评估使用一个在世界热带地区最流行的海鲜品种。在本研究中，

对环境运输时间及温度分布，其中泥蚶被保持，患病率和病原体的浓度，在各阶段的生产链和消费模式进行建模。此评估在一段有限期间内进行，并只限于一个单一的食品项目，该模型也考虑到样本大小和采样时间可能不够大。然而，该项目作为一个发展中国家初始数据的产生和风险的案例研究评估模型是，其中包括有限的时间，资源和定量数据。

II - 10 重要发现

1. 这项研究估计，每 10 万人口，每年只有少数人会由于食用烹饪过的泥蚶而副溶血性弧菌感染。因此，目前的风险估计并不能证明泥蚶是 Hat Yai 市的人口腹泻疾病的一个重要原因，包括副溶血性弧菌的疾病。这些结果是兼容以下意见：

- 在 2000 年和 2001 年实验室检测毒株双壳类采样研究结果显示，血腥蛤可能不是最常见的副溶血性弧菌源毒株贝类，这与是从病人身上分离的那些类似的，虽然仍然有贝类采样偏差 (V. Vuddhakul, 私人通信)。这可能表明未来需要对其他两个贝类副溶血弧菌进行风险评估在。
- 似乎大多数人 (19/20) 的在处理泥蚶时的烹饪温度足以破坏副溶血性弧菌的有机体。

2. 与此同时，这项研究可能低估与泥蚶相关的风险副溶血性弧菌病的许多其他原因，不能在这个处理数据生成的初始阶段获得，并可能有针对性的数据缺失，这将在未来的予以完善，即：

- 除了煮沸以外的烹调方法并没有建模。如在 Hat Yai 市的烧烤和油炸方法，相比于煮沸方法，这两种不太可能更有效地消除病原体。此外，有些人可能会购买含有 (不当) 熟的泥蚶的当地沙拉 (称作 pla 和 yam)，并让他们在环境温度中放置一段时间再回到家食用。这些准备和消费的替代方法也可能是在泰国的副溶血性弧菌感染的来源。
- 其他因素，可能会影响感染的频率收获消耗也需要考虑并进行模拟，如毒株非毒株相比，更加耐热。

II - 11 建议

建议对 Hat Yai 市确认感染副溶血性弧菌的患者进行一项病例对照研究。这将极大地有助于了解该病的发病率的信息，并提供副溶血性弧菌感染的因果证据，并归因于风险各种接触路径，包括食品和环境有关。它也可能提供更现实的行为的证据，减少或增加副溶血性弧菌疾病的风险。

整个食品链中的泥蚶细菌数据应该被收集，使用国家最先进的技术用于检测毒株。对在收获，储存，烹饪和消费行为模式上的人类行为的更详细数据需要被收集。

总之，这些信息将能够更好地实施讨论的管理操作评估。

参考文献

- Anon [ymous] . 2001a. Hazard identification, exposure assessment and hazard characterization of *Campylobacter* spp. in broiler chickens and *Vibrio* spp. in seafood. Ad hoc expert consultations on risk assessment of microbiological hazards in foods. Joint FAO/WHO Expert Consultation on Risk Assessment of Microbiological Hazards in Foods. WHO Headquarters, Geneva, Switzerland, 23 - 27 July 2001. FAO, Rome/WHO, Geneva. See ftp: //ftp. fao. org/es/esn/jemra/CV01 _ en. pdf
- Anon. 2001b. Draft Risk Assessment on the Public Health Impact of *Vibrio parahaemolyticus* in raw molluscan shellfish. Center for Food Safety and Applied Nutrition, U. S. FDA, Washington, DC. See http: //www. cfsan. fda. gov/~dms/vprisk. html
- Anon. 2001c. Annual epidemiological surveillance report. Division of Epidemiology, Office of Permanent Secretary for Public Health, Ministry of Public Health, Nonthaburi, Thailand.
- Center for Food Safety and Applied Nutrition, Food and Drug Administration, U. S. Department of Health and Human Services. 2000 Draft Risk Assessment on the Public Health Impact of *Vibrio parahaemolyticus* in Raw Molluscan Shellfish. December, 2000.
- Chowdhury, A. , Ishibashi, M. , Nakano, Y. & Nishibuchi, M. 2001. Prevalence of *Vibrio parahaemolyticus* in imported fish and shellfish. *Jpn. J. Soc. Bacteriol.* , 56 (1): 323; 56 (1): 215. Published in Japanese.
- Cook, D. W. , Bowers, J. C. & DePaola, A. 2002. Density of total and pathogenic (*tdh+*) *Vibrio parahaemolyticus* in Atlantic and Gulf Coast molluscan shellfish at harvest. *Journal of Food Protection* , 65: 1873 - 1880.
- Daniels, N. , MacKinnon, L. , Bishop, R. , Altekruze, S. , Ray, B. , Hammond, R. , Thompson, S. ,
- Wilson, S. , Bean, N. , Griffin, P. & Slutsker, L. 2000a. *Vibrio parahaemolyticus* infections in the United States, 1973 - 1998. *Journal of Infectious Disease* , 181: 1661 - 1666.
- Daniels, N. A. , Ray, B. , Easton, A. , Marano, N. , Kahn, E. , McShan, A. L. , Del Rosario, L. , Baldwin, T. , Kingsley, M. A. , Puhr, N. D. , Wells, J. G. & Angulo, F. J. 2000b. Emergence of a new *Vibrio parahaemolyticus* serotype in raw oysters. *Journal of the American Medical Association* , 284: 1541 - 1545.
- Dileep, V. , Kumar, H. S. , Kumar, Y. , Nishibuchi, M. , Karunasagar, Indrani & Karunasagar, Iddya. 2003. Application of polymerase chain reaction for detection of *Vibrio parahaemolyticus* associated with tropical seafoods and coastal environment. *Letters in Applied Microbiology* , 36: 423 - 427.
- Echeverria, P. , Pitarangsi, C. , Eampokalap, B. , Vibulbandhitkit, S. , Boonthai, P. , and Rowe, B. 1983. A longitudinal study of the prevalence of bacterial enteric pathogens among adults with diarrhea in Bangkok, Thailand. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* , 1 (3): 193 - 204.
- Fang, S. W. , Huang, W. W. & Chen, L. H. 1987. Contamination of seafood by *Vibrio parahaemolyticus* in Taiwan. *Zhonghua Min Guo Wei Sheng Wu Ji Mian Yi Xue Za Zhi* , 20 (2): 140 - 147.
- FAO/WHO. 2003. Hazard Characterization for Pathogens in Food and Water-Guidelines. *Microbiological Risk Assessments Series* , No. 3. Available at: http: //www. who. int/foodsafety/publications/micro/pathogen/en/

- FDA [US Food and Drug Administration] . 2005. Quantitative Risk Assessment on the Public Health Impact of Pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in Raw Oysters. U. S. Department of Health and Human Services, U. S. Food and Drug Administration. See: <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/ResearchAreas/RiskAssessmentSafetyAssessment/ucm185746.htm>
- FDA-CVM [Center for Veterinary Medicine] . 2001. Risk Assessment on the Human Health Impact of Fluoroquinolone Resistant *Campylobacter* Associated with the Consumption of Chicken. See: <http://www.fda.gov/cvm/antimicrobial/antimicrobial.html>
- Fujino, T. , Sakaguchi, G. , Sakazaki, R. & Takeda, Y. (editors) . 1974. International Symposium on *Vibrio parahaemolyticus* . Tokyo: Saikon Publishing Co.
- Haas, C. N. , Rose, J. B. & Gerba, C. P. 1999, *Quantitative Microbial Risk Assessment*. John Wiley & Sons, New York, USA. See pp. 266 - 268.
- ICMSF [International Commission on Microbiological Specifications for Foods] . 1996. *Vibrio parahaemolyticus*. Micro-organisms in Foods 5 - Characteristics of Microbial Pathogens. Blackie Academic & Professional, London. pp. 426 - 435.
- Khuharat, S. 1998. Food poisoning among participants attending intensive course, University A, Nonthaburi, Thailand, September 1996. *Weekly Epidemiology Surveillance Report* , 29: 477 - 493.
- Laohaprertthisan, V. , Chowdhury, A. , Kongmuang, U. , Kalnauwakul, S. , Ishibashi, M. , Matsumoto, C. & Nishibuchi, M. 2003. Prevalence and serodiversity of the pandemic clone among the clinical strains of *Vibrio parahaemolyticus* isolated in southern Thailand. *Epidemiology and Infection* , 130 (3): 395 - 406.
- Matsumoto, C. , Okuda, J. , Ishibashi, M. , Iwanaga, M. , Garg, P. , Rammamurthy, T. , Wong, H. C. , DePaola, A. , Kim, Y. B. , Albert, M. J. & Nishibuchi, M. 2000. Pandemic spread of an O3: K6 clone of *Vibrio parahaemolyticus* and emergence of related strains evidenced by arbitrarily primed PCR and toxRS sequence analysis. *Journal of Clinical Microbiology* , 38: 578 - 585.
- Matte, G. R. , Matte, M. H. , Sato, M. I. , Sanchez, P. S. , Rivera, I. G. & Martins, M. T. 1994. Potentially pathogenic vibrios associated with mussels from a tropical region on the Atlantic coast of Brazil. *Journal of Applied Bacteriology* , 77 (3): 281 - 287.
- Mead, P. S. , Slutsker, L. , Dietz, V. , McCaig, L. F. , Bresee, J. S. , Shapiro, C. , Griffin, P. M. & Tauxe, R. V. 1999. Food-related illness and death in the United States. *Emerging Infectious Disease* , 5 (5): 607 - 625.
- Ministry of Health, Labour and Welfare. 1999—2001. National statistics of foodborne illness in Japan. Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan.
- Miyamoto, Y. , Kato, T. , Obara, Y. , Akiyama, S. , Takizawa, K. & Yamai, S. 1969. *In vitro* hemolytic characteristic of *Vibrio parahaemolyticus* ; its close correlation with human pathogenicity. *Journal of Bacteriology* , 100: 1147 - 1149.
- Nishibuchi, M. 2002. Report on the WHO project regarding “ *Vibrio* Risk Assessment” . Project: Food Safety, Obligation no. HQ/02/419664
- Okuda, J. , Ishibashi, M. , Hayakawa, E. , Nishino, T. , Takeda, Y. , Mukhopadhyay, A. , Garg, S. , Bhattacharya, S. K. , Nair, G. B. & Nishibuchi, M. 1997. Emergence of a unique O3: K6 clone of *Vibrio parahaemolyticus* in Calcutta, India, and isolation of strains from the same clonal group from Southeast Asian travelers arriving in Japan. *Journal of Clinical Microbiology* , 35: 3150 - 3155.
- Sakazaki, R. , Tamura, K. , Kato, T. , Obara, Y. , Yamai, S. & Hobo, K. 1968. Studies of the entero-

- pathogenic, facultatively halophilic bacteria, *Vibrio parahaemolyticus*. III. Enteropathogenicity. Japanese Journal of Medical Science Biology, 21: 325 - 331.
- Sumner, J. , DePaola, A. , Osaka, K. , Karunasager, I. , Walderhaug, M. , Bowers, J. 2001. Hazard identification, exposure assessment and hazard characterization of *Vibrio* spp. in seafood. FAO/WHO MRA 01/03/04.
- Suthienkul, O. 2000. Situation of food microbial and public health. *Thai Journal of Epidemiology*, 8: 134 - 151.
- Tangkranakul, W. , Tharmaphornpilas, P. , Datapon, D. & Sutantayawalee, S. 2000. Food poisoning outbreak from contaminated fish-balls. *Journal of the Medical Association of Thailand*, 83: 1289 - 1295.
- USFDA. 2005. Quantitative Risk Assessment on the Public Health Impact of Pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in Raw Oysters. Center for Food Safety and Applied Nutrition, U. S. FDA, Washington, DC. <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/vpra-toc.html>
- Vose, D. 2000. *Risk Analysis: a quantitative guide*. Wiley, Chichester, UK.
- Vuddhakul, V. , Chowdhury, A. , Laohaprerthisan, V. , Pungrasamee, P. , Patararungrong, N. , Thianmontri, P. , Ishibashi, M. , Matsumoto, C. & Nishibuchi, M. 2000. Isolation of a pandemic O3: K6 clone of a *Vibrio parahaemolyticus* strain from environmental and clinical sources in Thailand. *Applied and Environmental Microbiology*, 66 (6): 2685 - 2689.
- Vuddhakul, V. , Soboon, S. , Sunghiran, W. , Kaewpiboon, S. , Chowdhury, A. , Ishibashi, M. , Nakaguchi, Y. & Nishibuchi, M. 2006. Distribution of virulent and pandemic strains of *Vibrio parahaemolyticus* in three molluscan shellfish species (*Meretrix meretrix*, *Perna viridis*, and *Anadara granosa*) and their association with foodborne disease in southern Thailand. *Journal of Food Protection*, 69 (11): 2615 - 2620.
- Wagatsuma, S. 1974. Ecological studies on Kanagawa phenomenon positive strains of *Vibrio parahaemolyticus*. International symposium on *Vibrio parahaemolyticus*. Saikon Publishing Co. , Tokyo. pp. 91 - 96.
- Wong, H. C. , Ting, S. H. & Shieh, W. R. 1992. Incidence of toxigenic vibrios in foods available in Taiwan. *Journal of Applied Bacteriology*, 73 (3): 197 - 202.
- Wong, H. C. , Chen, M. C. , Liu, S. H. & Liu, D. P. 1999. Incidence of highly genetically diversified *Vibrio parahaemolyticus* in seafood imported from Asian countries. *International Journal of Food Microbiology*, 52 (3): 181 - 188.
- Yamamoto, A. , Iwahori, J. , Vuddhakul, V. , Jaroenjiratrakul, W. , Vose, D. , Osaka, K. , Shigematsu, M. , Toyofuku, H. , Yamamoto, Y. , Nishibuchi, M. & Kasuga, F. 2008. Quantitative modeling for risk assessment of *Vibrio parahaemolyticus* in bloody clams in southern Thailand. *International Journal of Food Microbiology*, 124: 70 - 78.

附录 II - 1 从临床和海鲜标本进行辨识副溶血性弧菌菌株的分离和鉴定方法

临床菌株

收集腹泻患者的粪便或肛拭样品。大便标本和斯图尔特的传输介质和直肠拭子接种到保持保存到细菌学检查。对样品进行直接电镀到硫代硫酸钠柠檬酸盐-胆盐-蔗糖琼脂 (TCBS 琼脂) 培养基。通过标准生化试验鉴定检测副溶血性弧菌绿色菌落。生化检查所筛选的菌株都经 PCR 方法检测副溶血性弧菌 *toxR* 基因序列 (Kim 等人, 1999)。在此 PCR 试验产生阳性结果的被认定副溶血性弧菌。

海鲜株

在一个新的市场购买新鲜的海鲜样品。样品采集后 2 小时内, 海产样本在室温下转移到实验室检查。贝类去壳无菌进行检查。10~30 克各海鲜样品接种到 100 毫升 pH 为 9.2 的碱性蛋白胨水, 混合使用胸衣, 持续 30 秒, 静置几分钟。只有上清液转移到一个无菌的烧瓶中, 并在 37°C 放置 7 小时。在碱性蛋白胨水中的潜伏后, 与 2 毫升液体培养基混合, 用 20 毫升的抗 K 抗血清或抗血清 (在下面详细解释), 并在室温温育 20 分钟温度。通过离心收集细菌细胞, 用 2 毫升的 PBS 清洗并将细胞悬浮于 1 毫升的 PBS。将 10 毫升的 Dynabead 抗兔 IgG 包被在细胞悬浮液悬浮液中加入并保温 20 分钟, 间歇性混合。免疫磁珠收集, 用 2 毫升等份的 PBS 洗涤两次, 悬浮在 10 毫升的 PBS 中, 然后将整个珠悬挂一个 TCBS 琼脂平板上画线。在 37°C 经过 18 至 24 小时孵育, 选择 5 个绿色菌落检查副溶血性弧菌的生化特性。本品系显示蠕动在基于营养琼脂的半固体培养基和氧化酶阳性结果, 选择了赖氨酸脱羧酶和吲哚试验。用 PCR 法检测副溶血性弧菌 *toxR* 基因序列来如此筛选菌株。呈阳性结果的菌株被确定为副溶血性弧菌。

O: K 血清型

测试菌株生长和如前面由 Suthienkul 等所述的特异性抗血清进行凝集试验的 O: K 表血清型 (1995)。

PCR 技术

如前面所述, 由多田等人所述, TDH 和 TRH 试验菌株的基因的存在或不存在由 PCR 方法, 使用引物 D3 和 D5 的 TDH 基因和引物 R2 和 R6 *trh* 的基因确定 (1992)。如前面所述由 Matsumoto 等人所述, GS-PCR 方法可以来识别属于大流行的克隆菌株进行 (2000), 仅稍做修改。修改准备 PCR 模板的方法修改, 以取代与生理盐水前的沸点的步骤悬浮的细菌细胞的液体培养基, 如下所示。在含有 1% NaCl 溶液的 LB 液体培养基中

37℃振荡培养（160 转/分钟）。在桌式离心机、室温下将 1 毫升培养物离心（14 000 转/分钟）（离心机 5415C；Eppendorf 公司，汉堡，德国）。弃去上清液，沉淀的细菌细胞悬浮于 1 毫升生理盐水（0.85%NaCl）中，然后煮沸 10 分钟，并马上转移到冰上。然后在室温的温度通过离心分离得到上清液。将上清液用蒸馏水稀释 10 倍，并作为 PCR 的模板。

参考文献

- Kim, Y. B. , Matsumoto, C. , Takahashi, N. , Hashimoto, S. & Nishibuchi, M. 1999. Identification of *Vibrio parahaemolyticus* at the species level by PCR targeted to the *toxR* gene. *Journal of Clinical Microbiology*, 37: 1173 - 1177.
- Matsumoto, C. , Okuda, J. , Ishibashi, M. , Iwanaga, M. , Garg, P. , Rammamurthy, T. , Wong, H. -C. , Depaola, A. , Kim, Y. B. , Albert, M. J. & Nishibuchi, M. 2000. Pandemic spread of an O3: K6 clone of *Vibrio parahaemolyticus* and emergence of related strains evidenced by arbitrarily primed PCR and *toxRS* sequence analyses. *Journal of Clinical Microbiology*, 38: 578 - 585.
- Suthienkul, O. , Ishibashi, M. , Iida, T. , Nettip, N. , Supavej, S. , Eampokalap, B. , Makino, M. & Honda, T. 1995. Urease production correlates with possession of the *trh* gene in *Vibrio parahaemolyticus* strains isolated in Thailand. *Journal of Infectious Disease*, 172: 1405 - 1408.
- Tada, J. , Ohashi, T. , Nishimura, N. , Shirasaki, Y. , Ozaki, H. , Fukushima, S. , Takano, J. , Nishibuchi, M. & Takeda, Y. 1992. Detection of the thermostable direct hemolysin gene (*tdh*) and the thermostable direct hemolysin-related hemolysin gene (*trh*) of *Vibrio para-haemolyticus* by polymerase chain reaction. *Molecular and Cellular Probes*, 6: 477 - 487.

附录 II - 2 接触评估的方法

双壳类样品的检查

在时间测量及海鲜温度章节上描述的获得的双壳类样品通过以下步骤检测：

1. 双壳样品（一个或更多的动物），接种到 9 倍体积的碱性蛋白胨水（APW），匀浆，并允许样品静置在 APW（以下简称 APW 浓缩液）。

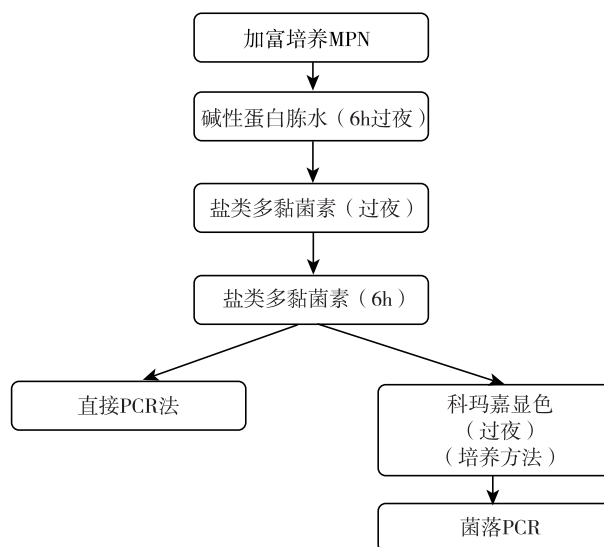
2. 将 10 毫升，1 毫升，0.1 毫升，0.01 毫升，0.001 毫升相当于 APW 浓缩液接种到含有 10 毫升，一式三份（3 管 MPN 5 个稀释液）无菌试管中，含有 0.1 毫升 APW 液体培养基的最后两个稀释液稀释。温育接种管在 35~37℃ 过夜。

3. 将 1 毫升液体培养基各部分转移到含有 10ml 盐类多黏菌素（SPB）的无菌管中并在 35~37℃ 培养过夜。

4. 将 1 毫升液体培养基各部分转移到含有 10ml 盐类多黏菌素（SPB）的无菌管中并在 35~37℃ 培养 6 小时。

5. (a) 直接 PCR 法：取 1 毫升的每个 SPB 培养的部分，并准备煮沸 PCR 检测上清液，进用 PCR 检测副溶血性弧菌 *toxR* 基因，*tdh* 基因和 *trh* 的基因，如上面所述。

(b) 培养方法：从每个液体培养基中接种 SPB 菌环到科玛嘉弧菌（Hara-Kudo 等，2001）和并在 35~37℃ 培养过夜。从科玛嘉菌落中选取两个典型的紫罗兰的菌落利用 PCR 测试的副溶血性弧菌 *toxR* 基因以确认选取的菌落是副溶血性弧菌，并用 PCR 方法检测 TDH 和 TRH 基因。从中至少一个菌落中判断副溶血性弧菌是否阳性。



时间测量及海鲜温度

从船上登陆后不久获得大量新鲜的双壳类。在对适当数目的双壳类最初的检查（接种到 APW）后，运输其他双壳类兵选取双壳类样品以便模拟实际零售和消费状况。零售意味着新鲜的市场销售双壳类，消费方式意味着回到家后立即烹饪。选取的样品在上述的双壳贝类样品检查中进行了描述。在采样过程中对以下参数进行监测：

- 在每个采样点里面的双壳类的温度（收获，零售和消耗）；
- 每个采样点之间的运输时间和空气温度。

参考文献

Hara-Kudo, Y. , Nishina, T. , Nakagawa, H. , Konuma, H. , Hasagawa, J. & Kumagai, S. 2001. Improved method for detection of *Vibrio parahaemolyticus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 67 (12): 5819 - 5823.

附录 II - 3 β -泊松剂量响应模型及其近似技术解释

基本概率模型

β -泊松模型可能非常适合饲养试验数据，因为它是来自以下原则：

如果一个人（“宿主”）收到一个剂量 D 的有活力的病原微生物，如果每个生物体具有相同的，独立的机会感染的主机 p ，那么感染的概率由下式给出：

$$P(\text{感染}) = 1 - (1 - P)^D \quad (1)$$

即，1 减去没有病菌感染的概率。

在饲养试验中，一个人的实际剂量 d 计数而不影响病原体基本是不可能的。然而，通过连续稀释方法，可以控制在一个充分混合的病原液体的浓度，该液体的样品作为剂量。在这种情况下，浓度为 λ ，即预期数量的病原体，在该体积的液体已知，实际的剂量泊松分布由下式给出：

$$D = \text{Poisson}(\lambda) \quad (2)$$

我们也认识到，不同批次之间病原体，或宿主之间会影响的概率 p 。一个简单的，一种简单化，简易化的代表这个个体间的相互作用的变化的方法是作为建立 β 分布变量 P ：

$$p = \text{Beta}(\alpha, \beta) \quad (3)$$

Beta 分布可以采取许多形状。在估计的代价方面只是一个额外的参数，从数据（我们已经进行过必要估计有效权率 p 如果认为这是固定的），它是一个来代表个体间差异 p 的方便的工具 [应牢记饲养试验实验通常会使用一个菌落，其中的病原体的毒力可能是固定的，所以任何只用一个原始菌株的进食试验将不会显示病原体的 p 分量的个体间变异。同样的，一些数据饲养试验只会显示从一个到另一个实验的变化，而非从一个给药剂量到另一个。]

将方程 (1)，(2) 和 (3) 放在一起，我们得到：

$$P(\text{感染}) = 1 - {}_1F_1(\alpha, \alpha + \beta, -\lambda)$$

其中 ${}_1F_1$ 为库默尔合流超几何函数——见 Abramovitz M, Stegun IA (1984) 的数学函数手册。这个函数是非常复杂，难以评估，因此，我们看作为近似。

当 p 比较小的时候的近似

当 p 比较小的时候近似为：

$$P(\text{感染}) = 1 - \left(1 + \frac{\lambda}{\beta}\right)^{-\alpha} \quad (4)$$

这是最常用的公式，也是美国食品和药品管理局的拟合副溶血性弧菌饲养试验数据的方法。简化 p 是小的的假设对弧菌是有效的，但 Teunis 和 Havelaar (2000) 也表明，这个近似模型计算的置信区间可以产生不合理的答案。

当剂量比较大的时候的近似

泊松分布的平均值 λ 和标准偏差 $\sqrt{\lambda}$ 。一个 λ 比较大 (>100 或左右) 的泊松分布也非

常接近正态分布。因此，对于大的 λ 值的泊松 (λ) 的变量有一个变异系数 (标准差/均值), $1/\sqrt{\lambda}$ 。例如，对于平均 10^6 的剂量，变异系数为 10^{-3} ，这也意味着变量变化在其平均值附近。在这样高的值，假设剂量固定是有效的，即：

$$D=\lambda \quad \text{当 } \lambda \text{ 比较大时} \quad (5)$$

结合方程 (1)，(3) 和 (5) 给出了 β -二项式剂量-反应模型，这既是一种 β -泊松剂量反应模型也是模拟模型中产生真实的摄食的病原体的适当的模型 (即不表示)：

$$P(\text{感染}) = 1 - \frac{\Gamma(\alpha+\beta) \Gamma(\beta+\lambda)}{\Gamma(\beta) \Gamma(\alpha+\beta+\lambda)} \quad (6)$$

其中 $\Gamma(\cdot)$ 为伽马函数。

固定的概率 p 近似

在不同宿主之间或病原体其中 P 被认为并没有大的不同，感染的平均数量为 λp ，则没有感染的概率为 $e^{-\lambda p}$ ，则至少一种宿主感染的概率是：

$$P(\text{感染}) = 1 - e^{-\lambda p}$$

当 p 比较小时的低剂量近似

当概率 p 与剂量 d 足够小 ($pD < 0.1$) 尽可能简单的近似是合理准确的：

$$P(\text{感染}) \approx pD \quad (7)$$

弧菌病毒感染疾病的概率

β -泊松模型常用于模拟感染的概率，特别是给药剂量已知情况的进食试验。其中一个问题在于感染的定义，并匹配到物理观察。为确定感染，通常的方法是观察的执着病原体在宿主粪便中的表达。

疾病是一种临床症状，取决于病原体，但通常作为腹泻类疾病而带有人为设定的最小阈值而检测。

更大的争论来源于从感染到疾病风险建模的概率，即 $P(\text{疾病} | \text{感染})$ 。有相当大的辩论，这是否是一个剂量函数。许多科学家认为，一旦感染确立，则病变的进展多少个独立细菌摄入就是独立的。在这种情况下，对于个体而言传递的概率为：

$$P(\text{疾病} | \text{感染}) = q$$

如果个体之间、或者病原菌株概率相差很多，那么我们可能会考虑使用另一个 Beta 分布建模 p ：

$$q = \text{Beta}(\phi, \theta) \quad \text{其中平均值为 } \phi / (\phi + \theta)$$

在这两种情况下，从流行病学的角度来看，我们希望看到一个开始感染的种群 q 的稳定比例，然后展现疾病的迹象。

参考文献

Teunis, P. F. & Havelaar, A. H. 2000. The Beta Poisson dose-response model is not a single-hit model. *Risk Analysis*, 20 (4): 513 - 520.

第三部分

有鳍鱼类副溶血性弧菌 的微生物风险评估

III-1 介绍

与生的和未煮熟的除牡蛎外的海产品有关的副溶血弧菌感染在一些亚洲国家有相当大的影响 (FAO/WHO, 2002)。然而, 一个有鳍鱼类中的副溶血弧菌在初步审查缺乏相应的定量数据来追踪这种病原体-商品组合的定量风险评估。不过, 在随后的专家评审中, 一致同意继续进行生的和未煮熟的有鳍鱼类风险评估, 因为在 2002 年曼谷 FAO/WHO 专家联合咨询 (FAO/WHO, 2002) 中提出的一些相关信息被认为对这些国家实施有鳍鱼类的风险评估是有用的。为了进行模型的开发而对单一适当的有鳍鱼类种类进行风险评估。如果这个需求和适当的资源被确定, 这个模型的扩充包括其他种类和未煮熟的海产品另外的复杂因素, 随后可以进行。竹荚鱼 (*Trachurus japonicus*) 被选择作为这个风险评估的目标有鳍鱼类, 因为它是在许多国家被捕获和消费的最常见的有鳍鱼类之一。在选择目标有鳍鱼类之后, 通过广泛的文献综述和在这个领域工作的专家来产生新的几个有关方案的数据集, 例如由浸入清洁海水的实验用被污染的鱼来模拟洗涤效果。

III-2 范围

目前风险评估的目的是评估日本生竹荚鱼消费相关的副溶血弧菌感染风险, 在那里大量的生竹荚鱼被消费并且相关数据比其他地区更容易获取, 以及评估在收获或制备后用消毒海水或饮用水清洗竹荚鱼的感染风险减少程度。

III-3 危害确认

食用生鱼和贝类机会的增多也增加了副溶血弧菌感染的可能性。当生牡蛎消费已是几个国家副溶血弧菌感染的主要原因的时候, 例如美国 (Anon., 1998b, 1999), 除牡蛎外的海产品已经被认为是一些国家重要的感染媒介物。在日本与牡蛎消费相关的副溶血弧菌感染计有少于全部 [已报告的] 由于副溶血弧菌爆发事例的 5% (Anon., 2000a)。在日本导致与牡蛎相关的副溶血弧菌疾病低发率的因素包括: (1) 除牡蛎外的生海产品大量消费; (2) 针对生牡蛎消费的微生物标准的执行; (3) 在夏季不为生食消费目的收获牡蛎, 因为牡蛎的副溶血弧菌浓度在夏季超过了微生物标准; (4) 从 10 月到来年 4 月对牡蛎从收获到零售严格控制。

除牡蛎外的鱼类和贝类相关的副溶血性弧菌的暴发事例在好几个国家已有报道。在美国已报告了与蛤、软体贝类、小龙虾、龙虾和小虾相关的副溶血弧菌的零星感染和暴发事例 (Daniels 等, 2000; Bean 等, 1998)。在关岛也有流行病学案例控制研究, 在那里海产品消费被认为是副溶血弧菌感染的重要因素 (Haddock 和 Cabanero, 1994)。在泰国由于副溶血弧菌食物中毒的一个暴发事例与鱼丸相关 (Tangkanakul 等, 2000)。在西班牙一个副溶血弧菌暴发事例归咎于鱼、贝类和生牡蛎 (Molero 等, 1989)。在 2003 年和

2004年9月下旬,超过1 230个发生在墨西哥西北部肠胃炎案例归结于生的或未煮熟的小虾的消费(Cabanillas-Beltran等,2006)。1997年在法国发生了一个严重的影响44个病人的与从亚洲进口的小虾消费相关的暴发事例(Robert-Pillot等,2004)。2004年7月西班牙报告了一个更新的包括80个病例的与熟蟹消费相关的副溶血弧菌感染暴发事例(Martinez-Urtaza等,2005)。

日本的年度报告报告了典型的500~800个影响约10 000人的副溶血弧菌暴发事例。这些来自地方公共健康机构和当地健康中心的年度报告在从人源分离出副溶血弧菌个案方面给出了从1996年到2007年的数值,为922、1 516、2 507、1 904、721、651、428、304、582、310、209和199例,这些数值展示了一个趋势,从1996年增加到1998年的峰值然后减少(Otomo和Yatsuyanagi,2003;IASR,无日期)。上述副溶血弧菌暴发事例牵连的食品包括生鱼片(生鱼肉片切成片;确定占总暴发事例的26%),随后是寿司(酸味带生鱼肉片切成片的糯米球;占23%)、贝类(16%)和煮熟的海产品(12%)(Anon.,2000a)。绝大多数暴发事例被认为与食用海产品相关,但是致病食品原料种类很少被鉴别。涉及致病食品原料种类的暴发事例能够被追踪在1999年,至少3个暴发事例与竹荚鱼有关(表III-1)。

表 III-1 日本 1999 年副溶血弧菌食源性暴发事例,在暴发事例调查期间牵连的食品被确定

海产品来源地点	海产品类型	血清型
日本北海道	熟蟹	O3: K6
日本鸟取县	鲜鱼	O3: K6
日本和歌山市	竹荚鱼	各种类型
地点 A, 日本长崎市	竹荚鱼	ND
地点 C, 日本长崎市	竹荚鱼	O4: K55
地点 A, 日本长崎市	长竹蛭	O4: K8
日本熊本县	糠虾	O3: K6, O11K
地点 B, 日本长崎市	榧螺	O3: K6
韩国	江珧	O3: K6, O4: K13
朝鲜	江珧	O3: K6 和其他类型
智利	腌海螺	O3: K6, OUT: KUT
日本石川县	岩牡蛎	ND
地点 D, 日本长崎市	沙丁鱼	O3: K6
日本新潟县	生鱼片	O3: K6
韩国	生鱼片	O3: K6 和其他类型
城市 A, 日本北海道	扇贝	O3: K6 和其他类型

(续)

海产品来源地点	海产品类型	血清型
城市 B, 日本北海道	扇贝	O3: K6
日本岩手县	海鞘	O3: K6
日本岩手县	海鞘	O3: K6
城市 B, 日本北海道	海胆	ND
日本青森县	海胆	O3: K6
日本岩手县	海胆	O3: K6
B, 日本岩手县	海胆	O3: K6
日本岩手县	海胆	O3: K6
中国	海胆	O3: K6 和其他类型
中国	海胆	O3: K6
城市 B 或 C, 日本北海道	制寿司海产品	O3: K6
A, 日本岩手县	鱿鱼	O3: K6
韩国济州岛周边	鱿鱼	O3: K6
日本福岛县	蛤蜊	O3: K6
日本宫城县太平洋近海	金枪鱼	O3: K6
日本鸟取县	海螺	O3: K6

来源: Anon., 2001c.

表 III-2 显示在泰国马鲛鱼 (mackerel) 是副溶血弧菌暴发事例最主要的原因之一 (Atthasampunna, 1974)。在许多国家马鲛鱼被捕获和消费。1995 年世界竹荚鱼的捕获量是 650 万吨, 欧盟以荷兰和爱尔兰为首是最大的出口国家。非洲国家, 特别是埃及、尼日利亚和科特迪瓦, 是目前为止最大的欧洲原产竹荚鱼市场。日本, 有着悠久的捕捞竹荚鱼传统, 是另一个依赖于国内捕获和进口来满足国内需求的最大市场。同样, 在加勒比海地区以古巴为首, 进口欧洲原产竹荚鱼。在国际贸易和国内消费方面竹荚鱼是一种重要的鱼类 (FAO, 2000)。

副溶血弧菌是海水和沉积物这个海洋环境中的天然存在者, 并且由于其污染生或未煮熟海产品消费的结果传播给人类 (Matte 等, 1994)。竹荚鱼能在港口码头由于被污染的海水冲洗而被污染。此外, 被污染的生海产品能够将副溶血弧菌带入厨房环境, 副溶血弧菌通过厨具例如砧板和刀以及人手被散布。一旦即食食物在厨房通过器具被污染和在温暖条件 (例如 $>30^{\circ}\text{C}$) 下保存两小时以上, 副溶血弧菌的浓度急剧增加, 以及由此引发的食源性感染风险也增加。

海水温度是控制环境中副溶血弧菌水平的最主要因素, 当温度从 10°C 上升到 30°C 副

溶血弧菌密度随之增长 (Anon., 2001a)。因此最多的人类副溶血弧菌感染事件多发生在夏季 (Anon., 2001c)。

表 III-2 泰国与 51 个副溶血弧菌案例有关的海产品

海产品	案例号
贝类	13
鲭鱼	12
螃蟹	10
腌锯缘青蟹	6
鱿鱼	3
其他海鱼	3
鱼产品	4

来源: Atthasampunna, 1974。



寿司



生鱼片

图 III-1 寿司和生鱼片

III-4 危害描述

III-4.1 致病性

当生长在专门的血琼脂里, 副溶血弧菌菌株引起 β 型红细胞溶解, 这就是所谓的神奈川现象 (KP), 这种方法数十年来被用作致病弧菌指示剂。KP 被证明由副溶血弧菌产于细胞外的耐热直接溶血素 (TDH) 引起 (Nishibuchi, Kumagai 和 Kaper, 1991)。然而, 一些从临床来源分离的 KP 阴性菌株被证明产生 TDH 相关溶血素 (TRH) 而不是 TDH (Honda, Ni 和 Miwatani, 1988)。最近, 有能力产生 TDH、TRH 或两者的菌株已被认为是致病性菌株 (Nishibuchi 和 Kaper, 1990)。已发现虽然在海产品或环境样品中致病性菌株的流行情况是相对低的, 这些菌株的临床样品的流行情况则比较高 (Wagatsuma, 1974; Matte 等, 1994; Wong, Ting 和 Shien, 1992; Wong 等, 1999; Fang, Huang 和 Chen, 1987; Chowdhury 等, 2001)。表 III-3 总结了从环境和食品样品分离出的致病性副溶血弧菌的比例的可利用数据。DNA 菌落杂交和聚合酶链式反应 (PCR) (McCarthy 等, 2000; Blackstone 等, 2003) 的新进展有利于致病性副溶血弧菌的检测。虽然耐

热直接溶血素基因 (tdh) 阳性的分离在总的副溶血弧菌分离中的情况与早期的研究报道是相似的 (<1%), 由 PCR 或 DNA 菌落杂交任一方法处理的大约 50% 的牡蛎样品 (10~12个牡蛎汇集) 或个别的牡蛎的表现为 tdh 阳性 (Kaufman 等, 2003; Nordstrom 等, 2003; Blackstone 等, 2003)。Hara-Kudo 等人 (2001) 指出从环境样品例如海产品和沿海水域分离致命性副溶血弧菌菌株困难的因素包括: (1) 各种分布在沿海环境中的非副溶血弧菌细菌能在富集媒体以及在选择的一般被用于副溶血弧菌分离的琼脂培养基上生长; (2) 致命性和无致病性副溶血弧菌菌株都生存在沿海环境; (3) 在沿海环境中致命性副溶血弧菌菌株的比例是很低的。Hara-Kudo 等人 (2001) 也展示了在被污染总的副溶血弧菌相对高水平的样品中, tdh 阳性的副溶血弧菌发生率往往是高的。Hara-Kudo 等人 (2004) 报告鱼类中致病性菌株流行程度在夏季 (8月下旬) 是较高的 (40%), 但在日本富山县的秋季 (9月下旬) 是较低的 (0%)。

除了 TDH 或 TRH 以外有关副溶血弧菌毒力因子的个别报告已被发表。例如, 一种新型的铁载体 (Yamamoto 等, 1994, 1995) 和侧鞭毛 (McCarter 和 Wright, 1993) 被报告与毒力因子相关。这些因子已被描述清楚。在副溶血弧菌的致病方面它们可能起到辅助作用, 虽然在它们有关致病方面直接的证据还没有被获取。

表 III-3 在捕获、零售和烹饪后的副溶血弧菌 tdh 阳性和 TDH 相关溶血素基因 (trh) 阳性的流行情况

样 品	致病性副溶血弧菌的%	致病性指示剂	来 源
海水/泥/牡蛎	0.35% (47/13345)	KP	Wagatsuma, 1974
海水/泥/牡蛎	0% (0/317)	KP	Kiiyukia 等, 1989
海水/牡蛎	4% (2/50)	TDH	DePaola 等, 1990
贝类	3.2%	TDH	Anon., 2001c
牡蛎	0.26% (9/3429)	TDH	Cook 等, 2002
贻贝 (<i>Perna perna</i>)	0.51%	KP	Matte 等, 1994
海产品	1.65% (2/121)	TDH	Wong, Ting 和 Shien, 1992
海产品	0% (0/182)	KP	Fang, Huang 和 Chen, 1987
进口海产品	0%	TDH/TRH	Wong 等, 1999
进口海产品 (生)	1.99% (14/705)	TDH/TRH	Chowdhury 等, 2001
进口海产品 (冷冻)	0.84% (5/598)	TDH/TRH	Chowdhury 等, 2001
海产品, 2000	0.68% (2/296)	TDH/TRH	Vuddhakul 等
水生环境	0.33% (5/1500)	TDH	Islam 等, 2004

一种新的副溶血弧菌克隆, 血清型 O3: K6, 已出现在南亚和已在亚洲国家的几个暴发事例并成为致病原因 (Okuda 等, 1997)。这些 O3: K6 型菌株携带 tdh 基因, 而非 trh 基因, 并且在应用随机引物 PCR (APPCR) 方法检查时显示相同的 DNA 指纹 (Matsumoto 等, 2000)。

这个血清型和其他的之间在毒力方面的差异尚不清楚。一些报告已发表了这个普遍性

克隆的特征，指出这个克隆有某些独特特征使它成为一个普遍性克隆，例如粘附和细胞毒性（Yeung 等，2002）、低的迁徙能力、生存于低温（5℃，-20℃）和在热休克之后生存于高温下同时增加 17 千道尔顿（kDa）外膜蛋白的生产（Kamruzzaman 等，2006）。

一个神奈川阳性血清型 O3 : K6 菌株全基因组序列新近的研究表明，这个菌株的基因组有些基因具有三型分泌系统（TTSS）。这个 TTSS 是一个引起腹泻细菌的中央毒力因子例如志贺氏菌属、沙门氏菌属和致肠病的大肠杆菌，并且这个 TTSS 被考虑作为副溶血弧菌的致病机制之一（Makino 等人，2003）。

III-4.2 剂量-反应关系

在副溶血弧菌感染剂量方面有部分的数据资源。一个人体志愿者进食研究表明即使高浓度达 KP 阴性菌株 1 010 个在 4 个健康志愿者中也没有引起症状。当在 2×10^2 、 2×10^5 和 3×10^7 三个剂量水平的 KP 阳性菌株被摄入时，出现症状的案例结果分别是 0、1 和 2 个志愿者（来自 4 个健康志愿者）（Sanyal 和 Sen，1974）。美国食品药品监督管理局（USFDA）（Anon.，2001a）利用人类志愿者研究数据集开发了一个剂量-反应模型。这个剂量-反应模型也应用在目前的这个风险评估的危害描述中。这个贝塔-泊松（Beta-Poisson）剂量反应关系描述如下：

$$P_r (ill | d) = 1 - \left(1 + \frac{d}{\beta}\right)^{-\alpha}$$

在这里 d = 致命性副溶血弧菌剂量， α 和 β 是由数据来决定的参数。引入到 USFDA 的生牡蛎风险评估（FDA，2005）的特定食品调节因子并不被包括在内，在此应用了由人体进食试验来决定的关系。

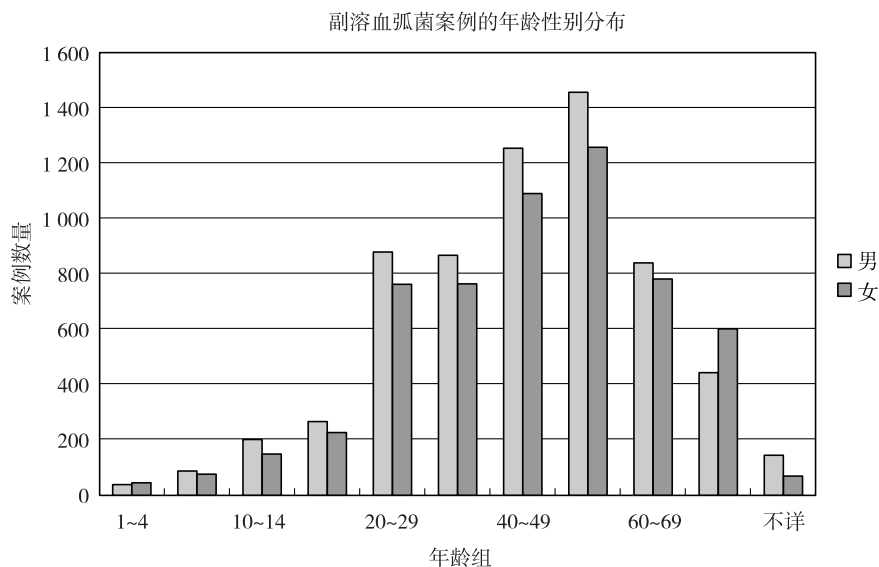


图 III-2 被副溶血弧菌感染病人的年龄分布（Anon.，1998b）

日本报告的副溶血弧菌感染案例的性别和年龄分布流行病学数据显示这些案例分布于从幼儿到老人，并且峰值在中年组（50~59岁），在男性和女性之间没有明显的差异（图

III-2) (Anon., 1998b)。受影响的年龄组是与人们消费生竹荚鱼的年龄组的分布几乎一致。这个感染通常被考虑引起轻度肠胃炎 4~30 小时。副溶血弧菌血症的案例报告见于免疫被抑制患者尤其是白血病和肝硬化者 (Ng 等, 1999)。

III-5 暴露评估

III-5.1 食品中的流行情况

虽然除日本外的一些国家在与副溶血弧菌爆发事例有关的食物方面有限的信息是可用的, 但仍有许多报告报道了关于各种海产品中此类生物体的高度流行情况。

Wong, Chen 和 Yu (1995) 报告了来自 34 个冻虾饺中的一个检测样品 (2.9%), 来自 40 个冻鱼饺中的 7 个样品 (17.5%) 以及来自 40 个冻虾仁中的 10 个样品 (25.0%) 检测出副溶血弧菌。Wong 等人 (1999) 也报告了副溶血弧菌见于 315 个 (45.9%) 生鲜进口海产品样品。来自中国香港和泰国的产品中副溶血弧菌的影响范围显著高于来自印度尼西亚和越南的产品中的这个影响范围。在虾、蟹、蜗牛、龙虾、沙蟹、鱼和小龙虾中的副溶血弧菌检出率分别是 75.8、73.3、44.3、44.1、32.5、29.3 和 21.1% (Wong 等, 1999)。

Matte 等 (1994) 为检测弧菌属细菌用超过一年期时间调查了收获于巴西圣保罗州乌巴图巴 (Ubatuba) 海岸三个不同地点的贻贝 (*Perna perna*)。这个检出率是 66.7 到 92.0%。这个最大可能数 (MPN) 的范围 (MPN/100 克) 在这个一年期中是: 溶藻弧菌 (*Vibrio alginolyticus*) (<3~24 000), 副溶血弧菌 (*V. parahaemolyticus*) (<3~24 000), 弗氏弧菌 (*V. fluvialis*) (<3~1 100), 非 O1 群霍乱弧菌 (*V. cholerae non-O1*) (<3~23), 弗尼斯弧菌 (*V. furnissii*) (<3~30), 拟态弧菌 (*V. mimicus*) (<3~9) 和创伤弧菌 (*V. vulnificus*) (<3~3)。溶藻弧菌和副溶血弧菌是最普遍的种类。其他种类例如弗氏弧菌和创伤弧菌, 也呈现出一个显著的样品数量; 虽然是低水平, 但也同样观测到非 O1 群霍乱弧菌、弗尼斯弧菌和拟态弧菌。

Jaksic 等人 (2002) 报告了来自 10 个采样自克罗地亚海岸饭店的海鱼肠样品中的一个样品 (10%) 是副溶血弧菌阳性, 来自 50 个采样自当地鱼市场的海鱼肠样品中的 3 个样品 (6.0%) 是副溶血弧菌阳性。

Baffone 等人 (2000) 报告了来自亚得里亚海 [凤尾鱼 (*Engraulis* spp.)、鲮鱼 (*Mugil cephalus*)、沙丁鱼 (*Sardina* spp.)、大西洋鲭鱼 (*Scomber scombrus*)、红鲹 (*Mullus surmuletus*) 和其他种类] 114 个生鱼样品中的 3 个样品 (2.6%) 是副溶血弧菌阳性。

Chan 等人 (1989) 报告了在香港市场海产品副溶血弧菌和其他嗜盐弧菌的夏季流行情况。从全部 7 种被检查海产品类型中分离出嗜盐弧菌, 从贻贝、蛤和牡蛎中好氧异养细菌的污染分别为 9.1%、8% 和 6.1%。

El-Sahn、El-Banna 和 El-Tabey Shehata (1982) 调查了埃及亚历山大港周边海水和无脊椎动物沉积物的样品。副溶血弧菌的平均数 (每 100 毫升或 100 克) 如下: 海水, 36; 海胆, 349; 沉积物, 436; 楔形贝, 534; 蛤, 1872。夏季收集的样品比冬季样品含

有更高水平的副溶血弧菌。

Chowdhury 等人 (2001) 报告了 1998—2000 年采样于大阪港进口冷冻海产品和关西国际机场进口新鲜鱼类海产品的副溶血弧菌的流行情况。检查 335 个冷冻样品, 从 65 个样品 (19.4%) 分离出 593 个副溶血弧菌菌株 (平均一个样品分离出 8.9 个副溶血弧菌菌株), 以及来自 949 个新鲜样品, 从 234 个样品 (25%) 分离出 705 个副溶血弧菌菌株 (平均一个样品分离出 3.0 个副溶血弧菌菌株)。

III-5.2 在海水、环境和食品中影响副溶血性弧菌浓度的因素

在海水中影响副溶血弧菌密度的最重要因素是温度, 以 14~20°C 考虑作为弧菌可生存非可培养状态 (VBNC) 的一个开始范围以及开始增殖 (Kaneko 和 Colwell, 1975)。另外, Ogawa 等人 (1989) 也报告了在广岛海湾副溶血弧菌的生态学和创建逻辑回归模型在海水温度和海水盐度状况下预测生牡蛎中副溶血弧菌数量 (附录 III-1 包含 Ogawa 报告的摘要, 是用日文写作的)。

Kumazawa 等人 (1999) 报告了在河床泥泞沉积物的厚的堆积和在低潮时咸水的存积似乎是副溶血弧菌生存于蛭螺腹足动物包括石蟹螺中的要素。Ogasawara (2000) 观测到水流动很慢和浑浊的地方表现出一个较高的副溶血弧菌密度和较长的污染周期。

Sarkar 等人 (1985) 报告了副溶血弧菌的影响范围和数量在与浮游生物关联时相对于水和沉积物样品的关联始终是较高的。在新捕获淡水鱼外表面、鳃和排泄物中副溶血弧菌检出率的检查中, 阳性样品最高的是在排泄物样品 (82.1%) 中, 从淡水鱼外表面检出频率是最低的 (25%)。

Watkins 和 Cabelli (1985) 报告了副溶血弧菌密度在污染区域的近水表面地方是最大的, 并且急剧下降的趋势是与排泄物污染来源的距离和水体垂直深度两者相关。同时报道的还有弧菌与水中颗粒物数量呈正相关, 而且特定的与它的浮游生物内容相关。

商业捕获的各种鱼类品种有几种捕鱼方法。沿海的鱼是由拖网和定置网捕获。金枪鱼和大型深海鱼是由延绳钓捕获。一些种类 [大琥珀鱼 (Greater amberjack)、真鲷 (Red seabream)] 是在沿海水域养殖。延绳钓捕鱼的船是比较大且通常有制冷系统。同时, 由延绳钓捕获的金枪鱼和其他种类鱼通常是远离海岸被捕获, 减少了副溶血弧菌污染的机会。

沿海捕鱼的船比较小。捕鱼旅程通常短 (几小时) 和一些船没有冷藏。在沿海捕鱼比在深海捕鱼副溶血弧菌污染和生长的可能性较高。水产养殖的鱼也是更可能被副溶血弧菌污染。有少量数据是关于在捕鱼船上鱼类被副溶血弧菌污染的风险。在国际食品微生物标准委员会 (ICMSF) 一个报告 (Anon., 1988) 中描述, 在捕捉后立即去鳃和取出内脏。实施过程是手持锋利的刀剔除肠子, 包括潜在腐败菌积聚地的消化道。然而, 鱼类处理不是普遍地在捕鱼船上进行。与这个步骤相关联的污染的风险没有被充分理解。

Sakazaki 和 Nakanishi (1975) 报告了几种鱼和贝类的副溶血弧菌的流行情况, 得出结论: 贝类的污染频率是更高于鱼类, 而且在鱼种类中, 那些有鳞的比那些无鳞的是更频繁地被污染。

Yamazaki 等人 (1996) 报告了不同种类鱼的副溶血弧菌的流行情况和得出结论是沿海鱼类比捕捉于较深水里的鱼类更可能被副溶血弧菌污染, 养殖鱼类, 例如大琥珀鱼和真鲷, 也是被副溶血弧菌污染。Shiozawa 等人 (1998) 承担了一项有关被污染竹荚鱼、蛤和圆蛤的副溶血弧菌密度的按月的调查。蛤和圆蛤是高度被污染 (大约 $2 \log_{10}$ 高于竹荚鱼和海水)。同样的作者研究了在海水里和在鱼 (竹荚鱼) 中副溶血弧菌水平两者的关系。竹荚鱼比生牡蛎有较低的副溶血弧菌水平。

III-5.3 竹荚鱼中副溶血性弧菌的浓度

有关鱼类副溶血弧菌定量数据的英文文献很有限。Chan 等人 (1989) 报告了在银鲛鳃、内脏、皮肤和肌肉一部分中的副溶血弧菌的浓度为 82 cfu/克 (cfu, 菌落形成单位), 石斑鱼的同一部分为 88 cfu/克。



鱼被从捕鱼船上岸



上岸后运送至海岸市场



海岸市场



市场挨近大城市



零售商

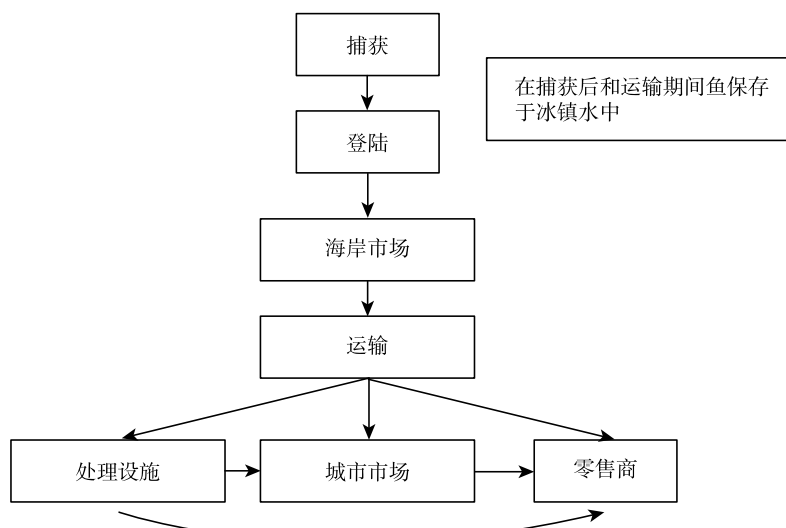
图 III-3 从捕获到零售

为了定量风险评估模型的开发，日本通常将出版和未出版的数据用于竹荚鱼食品链的不同步骤的副溶血弧菌的浓度和流行情况的研究。

III-5.4 产品消费路径

日本竹荚鱼被捕捉于日本周边水域、中国东海和非洲周边不同地区。在日本，30%的竹荚鱼是以寿司或生鱼片这样的形式进行消费。在2000年，282 000吨竹荚鱼从日本周边海域运上岸（Anon.，2001b）。一个捕获旅程通常花费一到两天。刚捕获后，鱼被转送至一艘有冰镇海水容器的运输船上。运输船往返于捕获区域和登陆地点之间，并且鱼是整条立刻被转送。在抵达登陆地点，在登陆操作期间鱼是经常被用海水清洗并且按品种和大小分类。为了在海岸市场里拍卖，这些鱼然后被保存于填满冰的盒子（5~7千克）里。

在抵达登陆地点，从运输船送到一个大容器（200千克）或卡车上一些鱼被直接运输然后被拍卖。在这些案例中，鱼是被运输至接近港口的处理基地。批发商购买的鱼被运输给大城市附近的市場或直接给零售商。在登陆运输期间，鱼被保存在冰盒里并且在有冷冻设施的卡车上运输。这个运输最多需要两天。接近大城市的拍卖开始在清晨（例如在04:00和06:00之间），然后10点以前买鱼的中间商把鱼运送给零售商。这些步骤请见图III-3和III-4。



图III-4 从捕获到零售商的流程图

III-5.5 捕获前和捕获数据

在竹荚鱼鳃里副溶血弧菌浓度方面有数据可以利用，这些数据获取于2001—2002年所选择的日本宫城、东京、神奈川、静冈、岛根和熊本辖区的公共健康研究所（Ken Osaka, 个人通信）。这些数据与捕获时海水表面温度的估值一起显示在图III-5中。这个由Ohno等人（1993）制作的数据集虽然报道的是平均数据，但却是唯一可用的报告，它记录了竹荚鱼每一部分亦即表面、鳃和肠的副溶血弧菌浓度的数据。此外，这个数据集产生

于夏季和秋季期间，当海水温度是高的时候并且因此在海水和鱼中副溶血弧菌浓度也是高的。因此，我们可以认为这个数据集产生于由副溶血弧菌引起的食源性疾病频繁发生的月份期间，并且因此它能被考虑作为设想的最坏情况的代表。

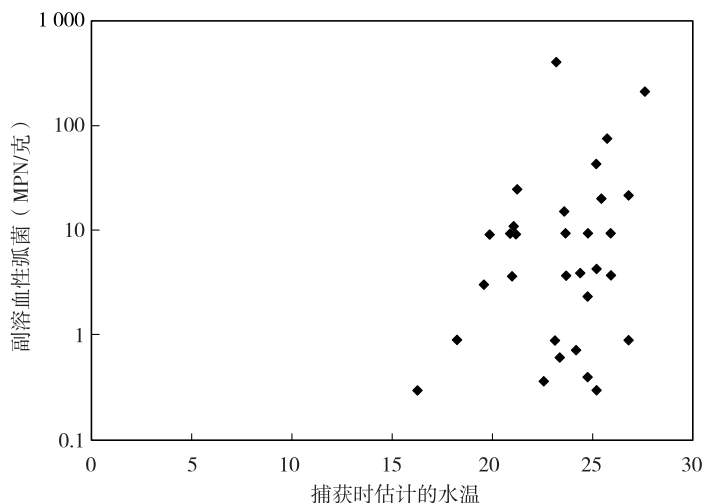


图 III-5 估计水温 (°C) 和竹荚鱼鳃中副溶血弧菌浓度 (MPN/克) 之间关系

III-5.6 在港口和运输时的处理

III-5.6.1 在港口市场登陆和出售期间由所使用的水引起的污染

在港口登陆期间，有几个潜在的机会导致鱼被所使用的水污染。在登陆和出售期间所用的水：

- 在市场卖鱼期间；
- 活鱼的贮藏；以及
- 鱼的运输。

Yamai (2001) 检查在出售（洗鱼）、运输和保存活鱼期间所使用的水的样品。该研究显示在捕获、出售和运输期间所使用的水是高度被污染。通过粉末活性炭 (PAC) 凝结和过滤、氯化法和紫外线照射一些水进行消毒。研究发现 73% 所用的没有任何净化或处理的水的样品是被副溶血弧菌污染，38% 的样品被污染程度在 $10^3 \sim 10^5$ MPN/100 毫升水平，经 PAC 凝结和过滤处理的水的 71% 被污染是在一个相对较低水平，以及发现消毒过的水的 92% 未被污染。

对于捕获后的港口和市场阶段有两个数据集可以利用。一个数据集是在当地捕获地点和港口市场实际采用的海水的调查。这个数据包括所使用的水中副溶血弧菌浓度的信息。这些所用的水或是从附近海岸水泵上来的天然海水，被消毒的海水（使用例如 PAC 凝结这样的处理），或是被紫外线照射的海水。另一个数据集由 Kumagai 等人 (2003) 与 WHO 合作为这个风险评估制作。为了模拟在捕获地点和市场的实际洗鱼程序他们进行一些实验室的实验测试：这包括把鱼浸入天然或人造海水并且没有特定的副溶血弧菌水平。该数据显示为了减少在鳃和肠中污染细菌的数量用清洁水洗的效力是最小的，虽然在有鳍

鱼类的表面细菌水平是相当地被减少（表Ⅲ-4）。

表Ⅲ-4 为了减少在皮肤表面、鳃和肠中副溶血弧菌浓度把竹荚鱼浸入清洁水中的效力

	平均值	标准差
皮肤表面 (cfu/厘米²)		
A: 把鱼浸入 40 000 cfu/毫升海水 1 分钟后即刻的在皮肤表面的副溶血弧菌浓度	78.42	23.56
B: 把鱼浸入清洁水 3 小时后即刻的在皮肤表面的副溶血弧菌浓度	12.36	9.20
B/A 减少比率	0.158	0.126
鳃 (cfu/克)		
A: 把鱼浸入 40 000 cfu/毫升海水 1 分钟后即刻的鳃中的副溶血弧菌浓度	4.09	1.27
B: 把鱼浸入清洁水 3 小时后即刻的鳃中的副溶血弧菌浓度	5.52	4.26
B/A 减少比率	1.350	1.122
肠 (cfu/克)		
A: 把鱼浸入 40 000 cfu/毫升海水 1 分钟后即刻的肠中的副溶血弧菌浓度	2.70	3.09
B: 把鱼浸入清洁水 3 小时后即刻的肠中的副溶血弧菌浓度	2.36	5.11
B/A 减少比率	0.873	2.140

Ⅲ-5.6.2 贮藏和减轻污染处理

温度

有几个在副溶血弧菌温度和生长方面的报告。在牡蛎肉匀浆中副溶血弧菌的生存取决于在不同的温度中。(4℃、0℃、-18℃和-24℃)和细菌水平(10²、10⁴、10⁵和10⁷/毫升)。在全部案例中,副溶血弧菌的数量是一个对数时间的对数函数。这个研究表明在低温条件下副溶血弧菌能被灭活。总的灭活花费的时间取决于微生物的最初数量和繁殖温度(Muntada-Garriga等,1995)。

Oliver(1981)比较了保持在4℃时在牡蛎匀浆中创伤弧菌(*Vibrio vulnificus*)和副溶血弧菌的生存。他们的结果表明生存能力迅速减小,而不是单独的归于或冷休克或是牡蛎匀浆而是对于创伤弧菌是两者的结合,但对于副溶血弧菌并没有观察到下降。

Miles等人(1997)报告了在模液体培养基系统里测量和比较副溶血弧菌4个菌株的生长速度。对于快速生长菌株的结果,是基于利用氯化钠作为保湿剂的77种温度和水分活度(a_w)的结合,总结成一个预测数学模型形式。对于生长所观察到的最小温度是8.3℃,对于生长所观察到的最大温度是45.3℃,最适宜的温度在37和39℃之间。

Hiro等人(1996)测量了在10℃和25℃时在圆蛤和蝶螺贝类中副溶血弧菌的生长。在未去壳贝类中副溶血弧菌略微不生长,25℃时在圆蛤肉上的副溶血弧菌增长为6小时一个对数级别。

Watanabe(1994)报告了竹荚鱼副溶血弧菌的类似数据,在25℃时在8小时里有一个从10到10³倍的增长,但是在4小时里没有大量的生长。

Iawashita(1991)已调查了1988—1990年日本山梨县在运输和处理期间每一步骤的副溶血弧菌污染的情况。在这项研究中,许多批发商在采购鱼和贝类后为了生鲜消费在3

天里售卖它们。对设备的冷藏温度作了调查并且发现除了一个大零售商外全部都在 5℃ 以下。他们也持续测量了每一步骤从运输、从当地水产市场到零售商的副溶血弧菌在鱼体中的水平。他们分析了在分发期间在每一阶段同一地点圆蛤的副溶血弧菌的水平，并且得出结论即如果运输的每一步骤都保持在 10℃ 以下，副溶血弧菌的增加可以忽略不计。

pH 和其他因素

副溶血弧菌已被证明可以生长在 pH 5~11 和 1%~7% 浓度的氯化钠溶液中 (Twedt, Spaulding 和 Hall, 1969)。Beuchat (1973) 报告了一些副溶血弧菌菌株能够在 pH 4.8。

其他可能的抑制副溶血弧菌生长的因素已被报告，例如甘油 (Chun 等, 1972)、高压 (Baross、Hanus 和 Morita, 1975)、紫外线照射 (Hackney、Ray 和 Speck, 1988)、罗勒属植物和鼠尾草精油 (Koga、Hirota 和 Takumi, 1999) 以及适度加热 (Beuchat 和 Worthington, 1976)。

III-5.7 制备和消费

III-5.7.1 暴发事例的类别组成

图 III-6 展示了日本副溶血弧菌暴发事例的十年摘要 (Anon., 2000a)，并且展示副溶血弧菌暴发事例的出现比例，饭馆 (48%)、日本传统饭店 (18%)、餐饮和盒饭 (12%)、家庭 (12%) 和其他 (10%)。竹荚鱼是一年四季最流行的有鳍鱼类，经常在零售商店整条鱼被购买，然后在家庭和饭馆被加工和消费。

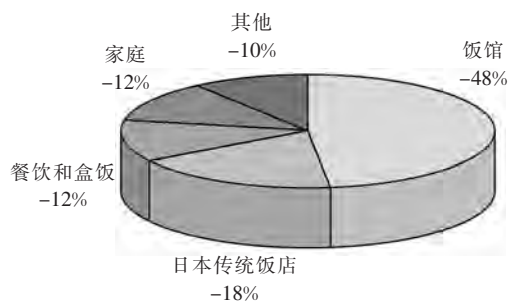


图 III-6 副溶血弧菌暴发事例的类别组成

III-5.7.2 制备程序——用自来水清洗鱼和生鱼片的制备方法

Watanabe (1994) 研究了竹荚鱼制备的不同程序以及测试了用自来水清洗鱼作为一项减轻细菌量方法的效果。一项实验研究的结果表明在制备前用自来水清洗鱼能够减少鱼表面副溶血弧菌的水平，但是它不能减少在鳃和肠中的水平 (图 III-7)。

这项研究也表明在制作生鱼片处理期间用自来水清洗是重要的。两个制备程序的比较：第一个包括清洗内脏腔和第二个设定不清洗内脏腔。在比较时，发现没有清洗内脏腔制备的生鱼片被副溶血弧菌高度污染 (图 III-8)。在竹荚鱼生鱼片的这个案例中，通常只有没有骨头和肠子的鱼柳片被食用。鱼肉片 (肌肉) 在制备开始前被污染了的情况不被考虑，但是在制备处理期间从被污染的鳃和肠通过砧板和刀被污染。

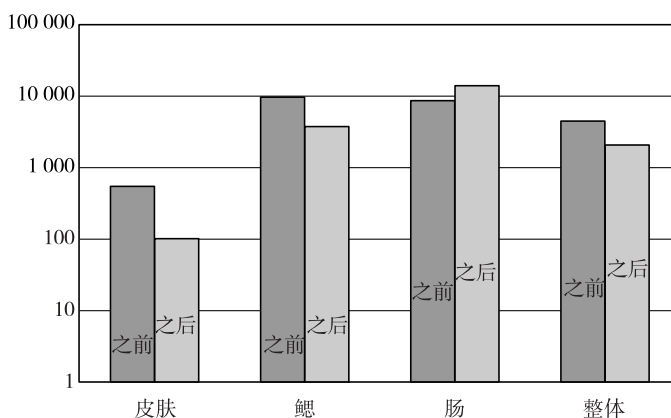


图 III-7 为减少在皮肤表面、鳃、肠和整体的副溶血性弧菌浓度用自来水清洗有鳍鱼类鱼体的效力。对于鳃和肠的单位是 MPN/克；对于皮肤表面和整体是 MPN/厘米²。

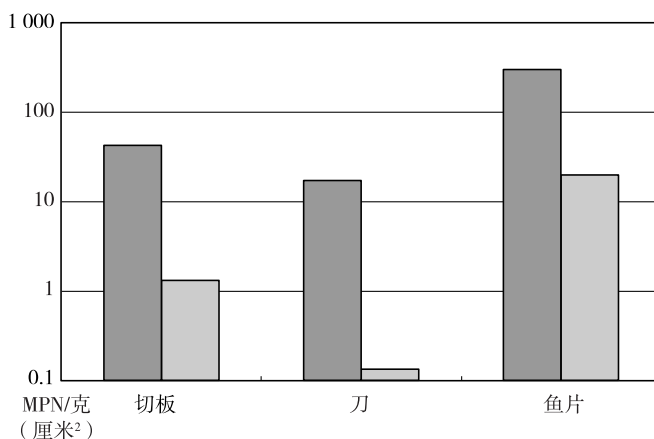


图 III-8 对于不同制备程序副溶血性弧菌的浓度

关键点: A (暗灰): 没有用自来水清洗内脏腔的制备; B (浅灰): 用自来水清洗内脏腔的制备。

来源: Watanaba, 1994.

III-5.7.3 制备和消费之间的时间

在制备和消费之间的时间方面没有可利用的数据。大多数人喜欢食用新鲜食物，特别是新鲜生鱼，因此鱼是通常在家制备后在一小时内被消费。在大饭馆、饭店和餐饮服务业生鱼片预先几小时被制作供消费的情况可能有时发生，但在大多数这样的案例中生鱼片 (sashimi) 是通常保持冷藏直到消费时点。因而，在这种条件下，即生鱼片贮藏在冰箱中，在细菌生长方面制备和消费之间的时间长度似乎不是决定性的。日本许多人在超市购买现成的生鱼片，超市生鱼和生鱼片是需要贮藏在 10°C 以下 (强力推荐在 4°C 以下)。

III-5.7.4 消费频率和消费生鱼的数量

在生鱼肉方面如寿司和生鱼片，有一些数据。一个关于家庭预算方面的官方报告指出日本一个家庭每年购买 45 和 50 千克之间的鲜鱼和贝类以及 2.2~3 千克的生鱼片不同种类的组合 (很薄的鲜生鱼的一口大小的切片) (Anon., 2000b)。

另一个营养方面的报告显示家庭每一顿饭食用寿司的频率是 5.9%，以及在外就餐的这项频率是 16.8%（早餐，2.7%；中餐，40.5%；晚餐 7.3%）（Anon.，1998a）。一个大规模的 15 000 人的营养调查示范了在十一月的一天中生竹荚鱼的消费（Anon.，1995）。结果显示 14 240 人中的 59 人吃生竹荚鱼（每 100 000 人为 414 人），份量范围从 2.5 到 250 克并且平均份量为 73 克，如图 III-9。

通过利用上面 III-5.4 节所给的值，即（1）从日本周边水域竹荚鱼的年捕获重量：282 000 吨；（2）竹荚鱼的 30% 是生的消费，并且从上一段文字所给的值指示（3）每一份量的平均消费重量是 73 克；并且考虑日本总人口是 1.2×10^8 ，每 100 000 人生竹荚鱼消费者的数量计算为 $(2.82 \times 10^{11} \text{ 克} \times 0.30) / (73 \text{ 克} \times 365 \text{ 天} \times 1.2 \times 10^8) = 2.65 \times 10^{-2} = 2.650$ 每 100 000 人，这是比基于一个营养调查（Anon.，1995）的上一段文中的估值（每 100 000 人为 414 人）大 6.4 倍。

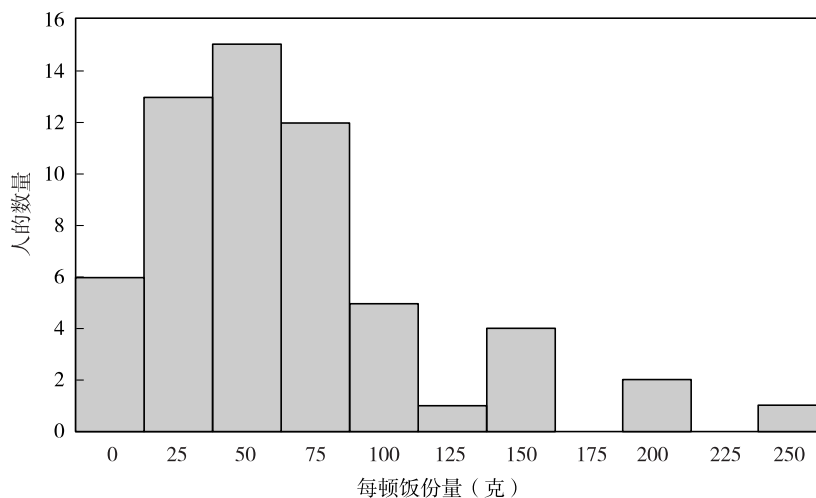


图 III-9 生竹荚鱼每一天的消费规模。基于数据 Anon.，1995。

III-5.8 风险评估模型结构

III-5.8.1 方案

在这个风险评估中，在不同阶段均考虑采用两个方案，在每个登陆地点（用清洁水洗或不用）、运输阶段（用清洁水或污染水）以及制备阶段（清洗内脏腔或不清洗）（图 III-10）。总体上，考虑 8 个不同的方案以及每一个方案由蒙特卡罗方法利用 @RISK[®]™ 软件来模拟。

III-5.8.2 捕获阶段

捕获阶段鳃中副溶血弧菌浓度由 Nakajima（个人通信，2004）和辖区公共健康研究所的取样数据来模拟，见表 III-5。唯一从 6 月份到 10 月份获得的数据—在日本当由副溶血弧菌引起的食源性疾病发生最多的时候—取样自海岸鱼类市场的鱼适合被用作为捕获时的数据。

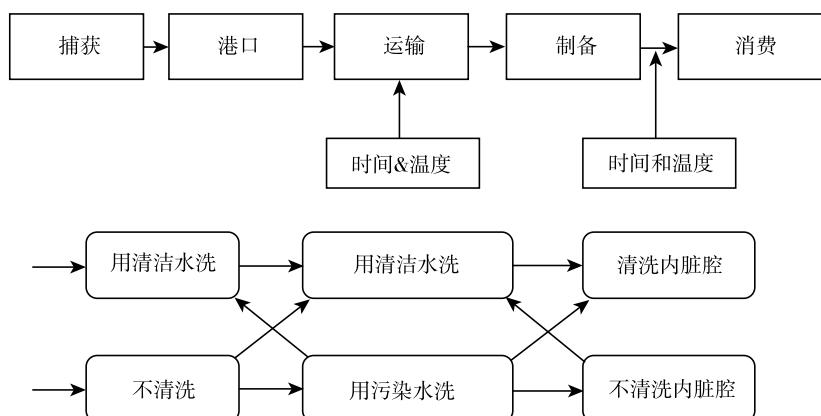


图 III-10 在每一阶段提议的方案以及在有鳍鱼类（竹荚鱼）风险评估中 8 个模拟的方案

表 III-5 竹荚鱼各部位的副溶血弧菌浓度 (N=25)

部位	平均值*	log10 (平均值)	log10 (标准差)
表面	5.1 MPN/厘米 ²	0.708	
鳃	660 MPN/克	2.820	0.767**
肠	1 300 MPN/克	3.114	

注释：* 仅平均数由 Ohno 等人（1993）报告

** 由 Nakajima（2004）和辖区公共健康研究所的数据计算

因为鱼样本数量在辖区中每个月并不相同，在模拟中取样频率定义在这样一个方式即每个地点和月份给数据相等权重。如果对于一个特定月份有若干数据，那么每克副溶血弧菌数量是乘以 1/可利用的特定月份数据的数量，例如 3 个数据 = 1/3=0.33；4 个数据=1/4=0.25。

例如，在 6 月神奈川县，有 3 个数据值（29、9 和 0 个副溶血弧菌数/克），因此在 6 月神奈川县典型的副溶血弧菌浓度是 $29 \times (1/3) + 9 \times (1/3) + 0 \times (1/3) = 12.67$ 。

然后假定在收获时鱼表面和肠中的副溶血弧菌水平是与来自鳃中的成比例的，该比率由来自 Ohno 等人（1993）报告的数据计算（表 III-6）。这个报告是唯一可利用的涉及鱼各部位：鳃、肠和皮肤表面的数据集，并且数据收集于全部季节包括夏季。

表 III-6 鳃中副溶血弧菌浓度

捕获地点	月份	副溶血弧菌数/克	为模拟的数据加权
神奈川县	6 月	29	0.333
		9	0.333
		0	0.333
	7 月	1.1	0.25
		0	0.25
		0	0.25

技术报告

(续)

捕获地点	月份	副溶血弧菌数/克	为模拟的数据加权	
神奈川县	8月	7	0.25	
		0.4	0.25	
		0.3	0.25	
		0.3	0.25	
	9月	0.4	0.333	
		0	0.333	
		0	0.333	
	10月	0	1	
	静冈县（养殖）	6月	0	1
		7月	3 000	1
8月		5 500	1	
9月		940	1	
10月		16	1	
静冈县（野生）		6月	0.36	1
	7月	0.23	1	
	8月	0	1	
	9月	20	1	
	10月	0	1	
熊本县	7月	390	1	
	8月	0	1	
	9月	210	1	
岛根县	8月	0.9	1	
	9月	4.3	1	

注释：由辖区公共健康实验室报告的数据，除了神奈川县的之外（副溶血弧菌数量和来自捕获于神奈川县的竹荚鱼的 TDH 和 TRH 基因的流行情况，T. Nakajima, 个人通信，2004）

III-5.8.3 捕获后阶段

捕获后上岸

对于这个阶段模拟了两个方案：用不含弧菌的水清洗（方案 1）或者不清洗（方案 2）。基于 Ohno 等人（1993）报告的在捕获上岸阶段之前和之后副溶血弧菌浓度数据模拟了用饮用水清洗的效果。这个比值得自清洗后浓度除以清洗前浓度，并且对于肠和鳃分开计算（表 III-7）。这个比值的平均值和标准差是由这些数据计算，并且对于该比值假定了一个正态分布。假定清洗是无效的相反副溶血弧菌出现在肠中。

表 III-7 用饮用水清洗鱼的效果：用饮用水清洗之后之前的副溶血弧菌浓度比值

鱼的部位	平均值	标准差
表面	0.038	0.024
鳃	0.401	0.252

注释：比例是清洗后平均浓度除以清洗前平均浓度。

从港口市场到批发商和零售商的贮藏和运输

对于这个阶段也有两个方案被模拟：在污染水中（方案 1）或者在清洁、不含弧菌的水中（方案 2）鱼的运输。

对于方案 1，实验数据（表 III-4）用于评估竹荚鱼每一部分的副溶血弧菌水平。在清洗期间由污染的水所致交叉污染率是基于 Kumagai 等人（2003）数据来模拟（表 III-8），并且假定了一个正态分布。假定鱼中副溶血弧菌数量应该是与水中副溶血弧菌浓度成比例的，当转换基于表 III-5 中数据的每 100 毫升为对数正态时，则反过来，假定遵循风险计划评审技术（PERT, Program evaluation and review technique）分布（最小值 1，最大值 6，最合适值 4）。

表 III-8 从海水到竹荚鱼的转移率

	平均值	标准差
表面转移率	0.001 960	0.000 295
鳃转移率	0.000 102	0.000 016

注释：表面转移率 = 表面副溶血弧菌（数量：每厘米²）/海水中副溶血弧菌（数量：每毫升）。在表 III-4 中描述的皮肤表面的平均浓度（78.42 cfu/厘米²）除以海水中接种浓度（40 000 cfu/毫升） 鳃转移率 = 鳃中副溶血弧菌（数量：每克）/海水中副溶血弧菌（数量：每毫升）。在表 III-4 中描述的鳃中平均浓度（4.09 cfu/克）除以海水中接种浓度（40 000 cfu/毫升）。

在贮藏和运输阶段，可利用的数据显示在运输的每一阶段期间的空气温度是 <10℃。在一个所应用的方案里，其中平均温度是 6℃（范围 3~9℃）以及平均经过时间是 36 小时范围在 6~60 小时。FDA - VPRA (FDA, 2005) 生长模型被应用。计算的在捕获后阶段期间副溶血弧菌的生长是少的（约 10% 的增长）。

III-5.8.4 制备

为了计算在制备后一个鱼片中的副溶血弧菌的总数量，使用了 Ohno 等人（1993）报告的数据，它描述了从整个鱼体到鱼片的副溶血弧菌转移率。

假定副溶血弧菌主要位于表面、在鳃和肠中，以及在每一部分副溶血弧菌总数量用平均浓度乘以面积（表面；厘米²）或者平均浓度乘以鳃或肠的重量（克），那么它们的和再除以体重来获取在整个鱼体中的浓度。在这一步，由于体重、鳃重、肠重和皮肤表面积分布是未知的，采用表 III-9 中由 Ohno 等人（1993）报告的确定的值。因此在制备前整个鱼中副溶血弧菌浓度计算如下：

$$\left[(\text{表面平均数 } (5.1 \text{ MPN/厘米}^2) \times \text{皮肤表面积 } (96 \text{ 厘米}^2) + (\text{鳃中平均数 } (660 \text{ MPN/克}) \times \text{鳃重 } (0.7 \text{ 克}) + (\text{肠中平均数 } (1300 \text{ MPN/克}) \times \text{肠重 } (5.6 \text{ 克})) \right] / \text{总体重 } (80 \text{ 克})$$

表 III-9 用于模型的竹荚鱼体重和表面积

体重	鳃重	肠重	皮肤表面积
80 克	0.7 克	5.6 克	96 厘米 ²

来源：基于 Ohno 等人（1993）数据。

在制备期间清洗内脏腔的效果是基于实验数据（表 III-8）来模拟；在制备后在鱼片上的副溶血弧菌浓度由表 III-10 的转移率的平均值和标准差为依据的整个鱼体浓度来计算。

表 III-10 在制备期间从整个鱼体到鱼片的副溶血弧菌转移率（浓度比率）

处理	平均值	标准差
没有清洗	0.226 8	0.093 0
清洗	0.013 2	0.004 6

来源：基于 Ohno 等人（1993）数据。

III-5.8.5 消费模块

在大部分生竹荚鱼消费案例中，在制备后制作的生鱼片立刻被消费，但在少有的案例中在消费前它们被运离工作台在室温下数小时。在开发这个模块中因此假定在消费前生鱼保存于 15~32℃（最大概率 22℃）0.25~4 小时（最大概率 1 小时），以及对于两者的输入值（见表 III-11）应用 PERT 分布。

表 III-11 应用在竹荚鱼副溶血弧菌模型模块中的分布

输入	分布
捕获	
Log (Vp) 表面密度 (/厘米 ²)	= Log (Vp 鳃) - (2.820-0.708), 最大 3.477
Log (Vp) 鳃表面密度 (/厘米)	= 风险离散 (表 III-5 数据)
Log (Vp) 肠表面密度 (/厘米 ³)	= Log (Vp 鳃) - (2.820-3.114), 最大 8
捕获后 (在港口和港口市场登陆和清洗)	
清洗减少率 (表面)	= 风险正态 (0.038, 0.024)
清洗减少率 (鳃)	= 风险正态 (0.401, 0.252)
Log (Vp) 在污染水中	= 风险 PERT (1, 4, 6)
从水到鱼的副溶血弧菌转移	
表面	= 风险正态 (0.001 96, 0.000 295)
鳃	= 风险正态 (0.000 102, 0.000 016)
致命性副溶血弧菌百分比	= 风险离散均匀 (表 III-3 数据)

海鲜中副溶血性弧菌的风险评估

(续)

输 入	分 布
运输和贮藏	
总经过时间 (小时)	= 风险 PERT (6, 36, 60)
贮藏温度 (°C)	= 风险 PERT (3, 6, 9)
在清洁水中贮藏减少率 (表面)	= 风险正态 (0.158, 0.063)
制备—从整个鱼体到鱼片的污染	
没有清洗	= 风险正态 (0.226 8, 0.093 0)
用清洁水清洗	= 风险正态 (0.013 2, 0.004 6)
消费	
经过时间 (小时)	= 风险 PERT (0.25, 1, 4)
贮藏温度 (°C)	= 风险 PERT (15, 22, 32)
生鱼片重量/份 (克)	= 风险离散均匀 (图 III-9 数据)

注: V_p 即副溶血性弧菌。

1995 年日本国家调查的消费数据应用于评估消费频率和份量。假定消费频率和消费的生竹菜鱼的数量 (图 III-9) 全年始终是稳定的。在一天里食用的生竹菜鱼数量由取样调查数据来模拟, 并且食用生竹菜鱼的平均频率应用在转换至年度风险中。

III-5.8.6 未包括在模型中的因素

在一个暴露评估模型开发期间应该考虑表 III-12 所列因素; 然而, 由于可利用的数据的缺乏以及在模型中在解决风险管理问题中避免不必要的复杂性, 它们没有包含在这个模型中。

表 III-12 未包括 (模拟) 在当前模型中的因素

阶 段	因 素
捕 获	水温和盐度
	潮流
	浮游生物
	鱼的种类
	渔业方法
	鱼捕获的地方
	沿海的, 水产养殖的
	在捕鱼船上从捕获鱼到港口时间和温度的结合情况

(续)

阶 段	因 素
捕获后（登陆地点、港口市场、从港口到批发商的运输、每一个不同步骤的时间和温度的结合情况 批发商贮藏、从批发商到零售商的运输、零售商贮藏）	从零售商到家庭的时间和温度的结合情况（通常环境温度）
制备	在去头和取内脏期间交叉污染，从鱼到手，手到其他食品，鱼到砧板，然后砧板到其他鱼。 在零售商、饭店和饭馆、家庭贮藏中从零售购买到消费的家庭制备与商业制备之间比例
消费	在生竹荚鱼消费中季节和区域差异。 两种以上鱼的消费。 鱼体大小的分布。 在制备处理中的差异（生烤和生鱼片）。 用醋的生鱼消费

III-6 风险描述

风险描述是暴露评估和危害描述或者剂量-反应评估的综合。总体来说，每份的副溶血弧菌的总数量和每份的致病性副溶血弧菌的数量被模拟，并且然后成果被输入到剂量-反应模型中。这一部分描述被致病性副溶血弧菌污染的生竹荚鱼的消费引起的疾病的概率。下列表格（表III-13和III-14）呈现了预测的基于先前章节描述的模型假定的疾病的数量。

表 III-13 在选择方案的每一步骤的蒙特卡罗模拟结果：副溶血弧菌密度和浓度

	方 案		副溶血弧菌水平		
	运输	捕获	表面 Vp/厘米 ²	鳃 Vp/克	肠 Vp/克
捕获			3.90	505	995
捕获后	未清洗		3.90	505	
	清洗		0.15	204	
在运输后	清洁水	未清洗	0.69	540	1 064
		清洗	0.03	219	1 064
	污染水	未清洗	5.01	540	1 064
		清洗	1.00	219	1 064

注：Vp 即副溶血性弧菌。

表 III-14 在选择方案的每一步骤的蒙特卡罗模拟结果：副溶血性弧菌数量和每份生竹荚鱼导致疾病的概率

方案			整个鱼体中 副溶血性弧菌	鱼片 Vp/克	致命的 Vp/份	每份致病的概率
捕获	运输	制备				
未清洗	污染水	未清洗	6 841	19.4	27.1	1.61×10^{-5}
		清洗		1.13	1.59	9.32×10^{-7}
	清洁水	未清洗	6 425	18.2	25.5	1.51×10^{-5}
		清洗		1.06	1.50	8.80×10^{-7}
清洗	污染水	未清洗	6 225	17.7	24.7	1.47×10^{-5}
		清洗		1.03	1.45	8.48×10^{-7}
	清洁水	未清洗	6 134	17.4	24.3	1.44×10^{-5}
		清洗		1.02	1.43	8.40×10^{-7}

注：Vp 即副溶血性弧菌。

敏感度分析（图 III-11）显示鱼中的副溶血弧菌的初始浓度的不确定，在最后结果中在总副溶血弧菌中致命性菌株的比例和剂量-反应关系是这个不确定的主要来源。

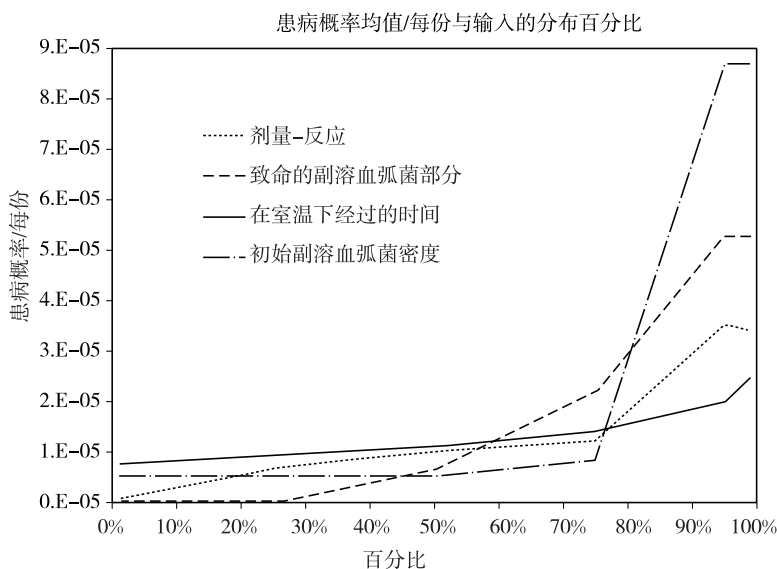


图 III-11 敏感度分析蜘蛛图：x 轴是不确定参数的百分比；y 轴是风险评估的平均值

III-7 讨论和结论

利用从出版和未出版文献中以及收集的数据以及在准备这个风险评估处理期间产生的数据，开发出了一个竹荚鱼副溶血弧菌风险评估模型。每份生竹荚鱼致病的概率估计是从 8.77×10^{-7} （最好方案）到 3.75×10^{-5} （最坏方案）。最坏案例方案致病的概率比最好案例方案大约 40 倍。在患病风险方面在生鱼片制备期间清洗竹荚鱼内脏腔比在登陆地

点使用消毒水更有效。在这个风险评估中，在港口和运输期间使用消毒水的效果不是特别明显。然而，由实验模型获得的数据可能不能反映为清洗和运输使用清洁水的实际效果。在这个实验模型中沉浸在水里对鳃和肠中副溶血弧菌可能有很小的影响，因为鱼被浸在清洁水里时间可能太短而没有效果。在登陆地点和运输期间确定使用清洁水的真实效果，需要更进一步的实验研究和更相关的数据。

如果表Ⅲ-14的结果假定从6月份到10月份是正确的，在日本由副溶血弧菌引起的食源性疾病发生最多案例期间的这个时期，与生竹荚鱼消费相关的患病风险每年对于一个人的范围从 5.3×10^{-7} （最好方案）到 1.0×10^{-5} （最坏方案）。此外，如果我们应用这些数值在日本人口，与生竹荚鱼相关的副溶血弧菌患病的数量是每年从70人到1300人。

这个风险评估突出了致病性副溶血弧菌（tdh和/或trh阳性）占总副溶血弧菌的百分比的信息对于风险管理者来说是更需要提供更有用和精确科学信息的重要输入之一，并且这个值得更进一步的实验研究。此外，在贮藏和运输温度方面的更多数据将降低关于副溶血弧菌生长的不确定。还有，呈现在鱼鳃和肠中不能被清洗消除的副溶血弧菌浓度，被考虑是潜在的重要风险因素。

Ⅲ-8 局限性和附加说明

这个风险评估是一个基于有代表性的有鳍鱼类种类——竹荚鱼的实例模型。

用于贝类中副溶血弧菌的FDA-VPRA草案风险评估（Anon., 2001a）的剂量-反应模型和生长率模型也用于这个风险评估。对于其他海产品这些参数可以不同。这个生长率甚至能够在单一食品种类的一部分不同，例如在有鳍鱼类的表面或者鳃、肠中。需要更多的实验室和流行病学研究去创建剂量-反应关系和竹荚鱼中副溶血弧菌生长的更可靠的模型。

假定对于从捕获到消费的大多数阶段贮藏温度较低并且对于正常分布的竹荚鱼是可以适用的。然而，在传统的日本饭店或者饭馆里一小部分竹荚鱼直到制备前一直保持活的状态。Sugiyama等人（2002）证明了当水温超过 19°C 时活鱼容器水中的副溶血弧菌MPN数量增长，并且当温度超过 22°C 时明显较高（超过2400MPN/100毫升水）。Yamazaki、Yamaguchi和Noguchi（2001）指出副溶血弧菌从50%的活鱼容器水中被分离出来（18个样品中为9个），在 22°C 水温时最高的MPN是430/100毫升。在这个案例中，在活鱼水容器中的水是被副溶血弧菌污染，在运输和贮藏期间副溶血弧菌的增长可以变得显著。此外，食品在制备后在室温下短时保存。在当前模型中这个状态的影响是基于粗略假定的评估。

另外一个重点是在制备期间从一条竹荚鱼到另一条的交叉污染。在当前模型中没有选择这个因素。应该指出，当剂量-反应关系是线性的和仅在人口中消耗的副溶血弧菌的总数量是显著时，这个因素不需要被明确考虑。在这样的案例中，竹荚鱼之间的交叉污染不改变对于人口的总的风险。在当前的模型中，每份摄取的副溶血弧菌的数量是足够小（少于10000）允许在剂量-反应关系中线性近似。

在制备处理期间交叉污染的影响，例如从竹荚鱼到食品处理者的手，然后从这只手到

其他食品，或者从竹荚鱼到砧板，然后从砧板到其他食品，这些没有被计算在这个模型中。这个交叉污染路径可能是重要的，因为在其他的通过烹饪器具被副溶血弧菌污染的准备食用的食品中副溶血弧菌可以显著生长并且然后保持在室温下 (Maki, 2005)，尽管制作的生鱼片通常保持冷状。然而在这个风险评估模型中没有可利用的数据来包括这个要素。

这个模型能够被应用到其他有鳍鱼类，但是需要考虑是否需要提供这些其它的有鳍鱼类捕捉于不同海域、由不同的捕鱼方法、或者用不同方法处理和制备等。在这个风险评估中，基于出版报告（展示在表Ⅲ-3中）的致病性副溶血弧菌占总副溶血弧菌的百分比是随机选取。然而，这个百分比在世界其他部分可以是不同的，并且在不同的海产品中。

在进行一个有鳍鱼类风险评估中的难点之一是有鳍鱼类污染的部分的复杂性。例如，副溶血弧菌污染肠、鳃和皮肤表面。在各种血清型、副溶血弧菌致病性和它的生态学中这些也存在复杂性。副溶血弧菌附着在皮肤表面的效果是不同的，取决于有鳍鱼类的粘液和鳞片的存在。而且，制备方法也很多。在这个风险评估中，仅仅考虑了生有鳍鱼类的消费。然而，从泰国提出的未煮熟的鲭鱼的数据也很可能归咎于食源性疾病。如果从捕获到消费的每一步的数据是为了本地环境而获取，那么这个风险评估能够被修改去覆盖未煮熟有鳍鱼类。

参考文献

- Anon [ymous] .1988. Micro-organisms in Foods. ICMSE.
- Anon. 1995. National Nutrition Survey, Japan. Ministry of Health and Welfare, Japan.
- Anon. 1998a. National Nutrition Survey, Japan. Ministry of Health and Welfare, Japan.
- Anon. 1998b. Outbreak of *Vibrio parahaemolyticus* infections associated with eating raw oysters-Pacific Northwest, 1997. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 47 (22): 457 - 462.
- Anon. 1999. Outbreak of *Vibrio parahaemolyticus* infection associated with eating raw oysters and clams harvested from Long Island Sound-Connecticut, New Jersey, and New York, 1998. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 48 (3): 48 - 51.
- Anon. 2000a. Ten-year summary of outbreaks due to *V. parahaemolyticus* in Japan (1989—1999). Ministry of Health and Welfare, Japan.
- Anon. 2000b. Household income and expenditure survey, Japan. Ministry of Health and Welfare, Japan.
- Anon. 2001a. Draft risk assessment on the public health impacts of *Vibrio parahaemolyticus* in raw molluscan shellfish. Prepared by the *Vibrio parahaemolyticus* Risk Assessment Task Force. Center for Food Safety and Applied Nutrition, U. S. Food and Drug Administration, Washington, DC, USA. Available at: <http://vm.cfsan.fda.gov/~dms/vprisk.html> (Accessed 23 July 2009) .
- Anon. 2001b. Fishery and aquaculture production statistics annual report [in Japanese] . Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Japan.
- Anon. 2001c. Foodborne outbreak investigation report in 1999 [in Japanese] . Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan.
- Atthasampunna, P. 1974. *Vibrio parahaemolyticus* food poisoning in Thailand. pp. 21 - 26, in: T. Fujino, G. Sakaguchi, R. Sakazaki and Y. Takeda, (editors) . International Symposium on *Vibrio parahaemo-*

- lyticus. Saikon Publishing Co. , Tokyo, Japan.
- Baffone, W. , Pianetti, A. , Bruscolini, F. , Barbieri, E. & Citterio, B. 2000. Occurrence and expression of virulence-related properties of *Vibrio* species isolated from widely consumed seafood products. *International Journal of Food Microbiology*, 54: 9 - 18.
- Baross, J. A. , Hanus, F. J. & Morita, R. Y. 1975. Survival of human enteric and other sewage microorganisms under simulated deep-sea conditions. *Applied Microbiology*, 30 (2): 309 - 318.
- Bean, N. H. , Maloney, E. K. , Potter, M. E. , Korazemo, P. , Ray, B. , Taylor, J. P. , Seigler, S. & Snowden, J. 1998. Crayfish: a newly recognized vehicle for vibrio infections. *Epidemiology and Infection*, 121 (2): 269 - 273.
- Beuchat, L. R. 1973. Interacting effects of pH, temperature, and salt concentration on growth and survival of *Vibrio parahaemolyticus*. *Applied Microbiology*, 25 (5): 844 - 846.
- Beuchat, L. R. & Worthington, R. E. 1976. Relationships between heat resistance and phospholipid fatty acid composition of *Vibrio parahaemolyticus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 31 (3): 389 - 394.
- Blackstone, G. M. , Nordstrom, J. L. , Vickery, M. C. L. , Bowen, M. C. , Meyer, R. F. & DePaola, A. 2003. Detection of pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in oyster enrichments by real time PCR. *Journal of Microbiological Methods*, 53 (2): 149 - 155.
- Cabanillas-Beltrán, H. , Llausás-Magañ, E. , Romero, R. , Espinoza, A. , García-Gasca, A. , Nishibuchi, M. , Ishibashi, M. & Gomez-Gil, B. 2006. Outbreak of gastroenteritis caused by the pandemic *Vibrio parahaemolyticus* O3: K6 in Mexico. *FEMS Microbiol Letters*, 265 (1): 76 - 80.
- Chan, K. Y. , Woo, M. L. , Lam, L. Y. & French, G. L. 1989. *Vibrio parahaemolyticus* and other halophilic vibrios associated with seafood in Hong Kong. *Journal of Applied Bacteriology*, 66 (1): 57 - 64.
- Chowdhury, A. , Mori, K. , Nakano, Y. , Ishibashi, M. & Nishibuchi, M. 2001. Study on the contamination of the imported seafood by *Vibrio parahaemolyticus* using genetic methods [in Japanese]. *Journal of the Japanese Society for Bacteriology*, 56 (1): 323.
- Chun, D. , Yong Seol, S. , Tak, R. & Kyu Park, C. 1972. Inhibitory effect of glycerin on *Vibrio parahaemolyticus* and *Salmonella*. *Applied Microbiology*, 24 (5): 675 - 678.
- Cook, D. W. , O'Leary, P. , Hunsucker, J. C. , Sloan, E. M. , Bowers, J. C. , Blodgett, R. J. & DePaola, A. 2002. *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus* in U. S. retail shell oysters: A national survey June 1998 to July 1999. *Journal of Food Protection*, 65: 79 - 87.
- Daniels, N. A. , MacKinnon, L. , Bishop, R. , Altekruise, S. , Ray, B. , Hammond, R. M. , Thompson, S. , Wilson, S. , Bean, N. H. , Griffin, P. M. & Slutsker, L. 2000. *Vibrio parahaemolyticus* infections in the United States, 1973 - 1998. *Journal of Infectious Diseases*, 181 (5): 1661 - 1666.
- DePaola, A. , Hopkins, L. H. , Peeler, J. T. , Wentz, B. & McPhearson, R. M. 1990. Incidence of *Vibrio parahaemolyticus* in U. S. coastal waters and oysters. *Applied and Environmental Microbiology*, 56: 2299 - 2302.
- El-Sahn, M. A. , El-Banna, A. A. & El-Tabey Shehata, A. M. 1982. Occurrence of *Vibrio parahaemolyticus* in selected marine invertebrates, sediment, and seawater around Alexandria, Egypt. *Canadian Journal of Microbiology*, 28 (11): 1261 - 1264.
- Fang, S. W. , Huang, W. W. & Chen, L. H. 1987. Contamination of seafood by *Vibrio parahaemolyticus* in Taiwan. *Zhonghua Min Guo Wei Sheng Wu Ji Mian Yi Xue Za Zhi*, 20 (2): 140 - 147.
- FAO. 2000. World trade in mackerel and horse mackerel. *Globefish Market Research Programme*, Vol. 64. 98 p.

- FAO/WHO. 2002. Risk assessment of *Campylobacter* spp. in broiler chickens and *Vibrio* spp. in seafood. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation, Bangkok, Thailand, 5 - 9 August 2002. *FAO Food and Nutrition Paper*, No. 75. Available at: <http://www.fao.org/docrep/008/y8145e/y8145e00.htm>
- FDA [US Food and Drug Administration] . 2005. Quantitative Risk Assessment on the Public Health Impact of Pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in Raw Oysters. U. S. Department of Health and Human Services, U. S. Food and Drug Administration. See: <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/ResearchAreas/RiskAssessmentSafetyAssessment/ucm185746.htm>
- Gyobu, Y. , Shima, T. , Tanaka, D. , Kimata, K. , Isobe, J. , Katori, K. , Watahiki, M. & Nagai, Y. 2004. Detection of *tdh* gene of *Vibrio parahaemolyticus* from sea fish [in Japanese] . *Annual Report of Toyama Institute of Health* , 27: 121 - 123.
- Hackney, C. R. & Dicharry, A. 1988. Seafood-borne bacterial pathogens of marine origin. Source: *Food Technology* , 42 (3): 104 - 109.
- Haddock, R. L. & Cabanero, A. F. 1994. The origin of non-outbreak *Vibrio parahaemolyticus* infections on Guam. *Tropical and Geographical Medicine* , 46 (1): 42 - 43.
- Hara-Kudo, Y. , Nishina, T. , Sugiyama, K. , Saitoh, A. , Nakagawa, H. , Ichihara, T. , Konuma, H. , Hasegawa, J. & Kumagai, S. 2001. Detection of TDH producing *Vibrio parahaemolyticus* O3: K6 from naturally contaminated shellfish with an immunomagnetic separation method and a chromogenic agar medium [In Japanese] . *Kansenshogaku Zasshi* , 75: 955 - 960.
- Hara-Kudo, Y. , Sugiyama, K. , Nishibuchi, M. , Chowdhury, A. , Yatsuyanagi, J. , Ohtomo, Y. , Saito, A. , Nagano, H. , Nishina, T. , Nakagawa, H. , Konuma, H. , Miyahara, M. & Kumagai, S. 2003. Prevalence of pandemic thermostable direct hemolysin-producing *Vibrio parahaemolyticus* O3: K6 in seafood and the coastal environment in Japan. *Applied Environmental Microbiology* , 69 (7): 3883 - 3891.
- Hiro, Y. , Yamamoto, T. , Nishiki, K. , Shoji, T. , Takamura, Y. , Takeuchi, M. , Nakai, Y. & Asai, R. 1996. Experimental test of *Vibrio parahaemolyticus* contamination in shellfish [in Japanese]. Proceedings of the National Conference of Food Safety Inspection. pp. 22 - 29.
- Honda, T. , Ni, Y. X. & Miwatani, T. 1988. Purification and characterization of a hemolysin produced by a clinical isolate of Kanagawa phenomenon-negative *Vibrio parahaemolyticus* and related to the thermostable direct hemolysin. *Infection and Immunity* , 56: 961 - 965.
- IASR [Infectious Agents Surveillance Report] . No date. Recent report on isolations of bacteria from prefecture public health institutes and local health canters. Data available from the IASR Web site: <http://id-sc.nih.gov/jp/iasr/index.html> (Accessed 23 July 2009) .
- Iawashita, M. 1991. Situation of fish transportation and contamination of *Vibrio parahaemolyticus*. Proceedings of the National Conference of Food Safety Inspection, Japan.
- Islam, M. S. , Tasmin, R. , Khan, S. I. , Bakht, H. B. M. , Mahmood, Z. H. , Rahman, M. Z. , Bhuiyan, N. A. , Nishibuchi, M. , Nair, G. B. , Sack, R. B. , Huq, A. , Colwell, R. R. & Sack, D. A. 2004. Pandemic strains of O3: K6 *Vibrio parahaemolyticus* in the aquatic environment of Bangladesh. *Canadian Journal of Microbiology* , 50 (10): 827 - 834.
- Jaksic, S. , Uhtil, S. , Petrak, T. , Bazulic, D. & Karolyi, L. G. 2002. Occurrence of *Vibrio* spp. In sea fish, shrimps and bivalve molluscs from the Adriatic Sea. *Food Control* , 13: 491 - 493.
- Kamruzzaman, M. , Mashita (Matsumoto) C. , Nishibuchi, M. , 2006. Analysis of specific characteristics of pandemic clones of *Vibrio parahaemolyticus* [in Japanese] . *Journal of Japanese Society for Bacteriology* , 61 (1): 122.

- Kaneko, T. & Colwell, R. R. 1975. Incidence of *Vibrio parahaemolyticus* in Chesapeake Bay. *Applied Microbiology*, 30 (2): 251 - 257.
- Kaufman, G. E. , Bej, A. K. , Bowers, J. & DePaola, A. 2003. Oyster-to-oyster variability in levels of *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of Food Protection*, 66: 125 - 129.
- Kiiyukia, C. , Venkateswaran, K. , Navarro, I. M. , Nakano, H. , Kawakami, H. & Hashimoto, H. 1989. Seasonal distribution of *Vibrio parahaemolyticus* serotypes along the oyster beds in Hiroshima coast. *Journal of the Faculty of Applied Biological Science*, 28: 49 - 61.
- Koga, T. , Hirota, N. & Takumi, K. 1999. Bactericidal activities of essential oils of basil and sage against a range of bacteria and the effect of these essential oils on *Vibrio parahaemolyticus*. *Microbiological Research*, 154 (3): 267 - 273.
- Kumagai, S. , Hara-Kudo, Y. , Miwa, N. , Masuda, T. , Konuma, H. , Hasegawa, J. & Nishina, T. 2003. Effect of washing of finfish on *Vibrio parahaemolyticus* contamination, Report for the WHO Agreement of Performance of Work.
- Kumazawa, N. H. , Hori, K. , Fujimori, K. , Iwade, Y. & Sugiyama, A. 1999. Geographical features of estuaries for neritid gastropods including *Clithon retropictus* to preserve thermostable direct hemolysin-producing *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of Veterinary Medical Science*, 61 (6): 721 - 724.
- McCarter, L. L. & Wright, M. E. 1993. Identification of genes encoding components of the swarmer cell flagellar motor and propeller and a sigma factor controlling differentiation of *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of Bacteriology*, 175: 3361 - 3371.
- McCarthy, S. A. , DePaola, A. , Kaysner, C. A. , Hill, W. E. & Cook, D. W. 2000. Evaluation of non-isotopic DNA hybridization methods for detection of the tdh gene of *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of Food Protection*, 63: 1660 - 1664.
- Maki, Y. 2005. *Vibrio parahaemolyticus* food poisoning affected by flood [in Japanese] . *Journal of the Food Hygienics Society of Japan*, 46 (5): 299 - 300.
- Makino, K. , Oshima, K. , Kurokawa, K. , Yokoyama, K. , Uda, T. , Tagamori, K. , Iijima, Y. , Najima, M. , Nakano, M. , Yamashita, A. , Kubota, Y. , Kimura, S. , Yasunaga, T. , Honda, T. , Shinagawa, H. , Hattori, M. & Iida, T. 2003. Genome sequence of *Vibrio parahaemolyticus*: a pathogenic mechanism distinct from that of *V. cholera*. *Lancet*, 361: 743 - 749.
- Martinez-Urtaza, J. , Simental, L. , Velasco, D. , DePaola, A. , Ishibashi, M. , Nakaguchi, Y. , Nishibuchi, M. , Carrera-Flores, D. , Rey-Alvarez, C. & Pousa, A. 2005. Pandemic *Vibrio parahaemolyticus* O3: K6, Europe. *Emerging Infectious Diseases*, 11 (8): 1319 - 1320.
- Matsumoto, C. , Okuda, J. , Ishibashi, M. , Iwanaga, M. , Garg, P. , Rammamurthy, T. , Wong, H. C. , Depaola, A. , Kim, Y. B. , Albert, M. J. & Nishibuchi, M. 2000. Pandemic spread of an O3: K6 clone of *Vibrio parahaemolyticus* and emergence of related strains evidenced by arbitrarily primed PCR and toxRS sequence analyses. *Journal of Clinical Microbiology*, 38 (2): 578 - 585.
- Matte, G. R. , Matte, M. H. , Sato, M. I. , Sanchez, P. S. , Rivera, I. G. & Martins, M. T. 1994. Potentially pathogenic vibrios associated with mussels from a tropical region on the Atlantic coast of Brazil. *Journal of Applied Bacteriology*, 77 (3): 281 - 287.
- Miles, D. W. , Ross, T. , Olley, J. & McMeekin, T A, 1997. Development and evaluation of a predictive model for the effect of temperature and water activity on the growth rate of *Vibrio parahaemolyticus*. *International Journal of Food Microbiology*, 38 (2 - 3): 133 - 142.
- Molero, X. , Bartolome, R. M. , Vinuesa, T. , Guarner, L. , Accarino, A. , Casellas, F. & Garcia,

- R. 1989. Acute *Vibrio parahaemolyticus* gastroenteritis in Spain-report of 8 cases. *Medicina Clinica (Barcelona)*, 92 (1): 1 - 4.
- Muntada-Garriga, J. M. , Rodriguez-Jerez, J. J. , Lopez-Sabater, E. I. & Mora-Ventura, M. T. 1995. Effect of chill and freezing temperatures on survival of *Vibrio parahaemolyticus* inoculated in homogenates of oyster meat. *Letters in Applied Microbiology*, 20 (4): 225 - 227.
- Nishibuchi, M. , Kumagai, K. & Kaper, J. B. 1991. Contribution of the tdh1 gene of Kanagawa phenomenon-positive *Vibrio parahaemolyticus* to production of extracellular thermostable direct hemolysin. *Microbial Pathogenesis*, 11 (6): 453 - 460.
- Nishibuchi, M. & Kaper, J. B. 1995. Thermostable direct hemolysin gene of *Vibrio parahaemolyticus*: a virulence gene acquired by a marine bacterium. *Infection and Immunity*, 63: 2093 - 2099.
- Ng, T. C. , Chiang, P. C. , Wu, T. L. & Leu, H. S. 1999. *Vibrio parahaemolyticus* bacteremia: case report. *Changeng Yi Xue Za Zhi*, 22: 508 - 514.
- Nordstrom, J. L. , DePaola, A. , Bowers, J. C. , Wells, J. G. & Cook, D. W. 2003. Seasonal abundance of total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in Alabama oysters. *Applied and Environmental Microbiology*, 69: 1521 - 1526.
- Ogasawara, H. 2000. Study on the future prediction and prevention of *Vibrio parahaemolyticus* outbreaks. Study report on environmental health. Ministry of Health and Welfare, Japan. pp. 43 - 51.
- Ogawa, H. , Tokunou, H. , Kishimoto, T. , Fukuda, S. , Umemura, K. & Takata, M. 1989. Ecology of *Vibrio parahaemolyticus* in Hiroshima Bay. *The Hiroshima Journal of Veterinary Medicine*, 4: 47 - 57.
- Ohno, S. , Tazawa, T. , Kon, M. , Uno, Y. , Terao, M. & Goto, K. 1993. Contamination by *Vibrio parahaemolyticus* of fish landed at fishery markets in Niigata Prefecture [in Japanese. *Niigataken Eisei Kogai Kenkyusyo Nenpo [Annual Report of Niigata Prefectural Research Laboratory for Health and Environment]*, 9: 77 - 82.
- Okuda, J. , Ishibashi, M. , Hayashi, E. , Nishino, T. , Takeda, Y. , Mukhopadhyary, A. K. , Garg, S. , Bhattacharya, S. K. , Nair, B. G. & Nishibuchi, M. 1997. Emergence of a unique O3: K6 clone of *Vibrio parahaemolyticus* in Calcutta, India, and isolation of strains from the same clonal group from southeast Asian travellers arriving in Japan. *Journal of Clinical Microbiology*, 35: 3150 - 3155.
- Otomo, Y. & Yatsuyanagi, J. 2003. The latest trend and characteristic of *Vibrio parahaemolyticus* in Japan-Focusing on the research in Tohoku district. *Japanese Journal of Food Microbiology*, 20 (4), 161 - 164
- Oliver, J. D. 1981. Lethal cold stress of *Vibrio vulnificus* in oysters. *Applied and Environmental Microbiology*, 41 (3): 710 - 717.
- Robert-Pillot, A. , Guenole, A. , Lesne, J. , Delesmont, R. , Fournier, J. M. & Quilici, M. L. 2004. Occurrence of the tdh and trh genes in *Vibrio parahaemolyticus* isolates from waters and raw shellfish collected in two French coastal areas and from seafood imported into France. *International Journal of Food Microbiology*, 91 (3): 319 - 325.
- Sakazaki, R. & Nakanishi, H. 1975. Control of food poisoning with *Vibrio parahaemolyticus*-fundamental consideration and its practice. *Shokuhin Eisei Kenkyu*, 27 (6): 527 - 532.
- Sanyal, S. C. & Sen, P. C. 1974. Human volunteer study on the pathogenicity of *Vibrio parahaemolyticus*, pp. 227 - 230, in: T. Fujino, G. Sakaguchi, R. Sakazaki and Y. Takeda (editors) . International Symposium on *Vibrio parahaemolyticus*. Saikon Publishing Co. Ltd. , Tokyo, Japan.
- Sarkar, B. L. , Nair, G. B. Banerjee, A. K. & Pal, S. C. 1985. Seasonal distribution of *Vibrio parahaemo-*

- lyticus in freshwater environs and in association with freshwater fishes in Calcutta. *Applied and Environmental Microbiology*, 49 (1): 132 - 136.
- Shiozawa, K., Kubota, T., Furuya, Y., Akahane, S., Aoki, K., Moriyama, C., Watanabe, S., Yamaguchi, H., Yamaguchi, H., Yamauchi, K., Ohmura, Y., Satake, Y., Tada, T., Niimi, H., Ishii, H., Ike, N., Atsumi, M., Matsubayashi, S., Uekuzu, S., Matsushita, N., Kanda, M., Ikehata, A., Iida, T. & Murasawa, K. 1998. Study on the prediction of food poisoning due to *Vibrio parahaemolyticus*. II. Relationship between the viable cell number of *V. parahaemolyticus* in the sea water used to maintain short-necked clam and the number of food poisoning cases [in Japanese]. In: Abstract Book of the 28th Meeting of Shizuoka Prefecture Public Health Study Group. pp. 2 - 51 - 2 - 53.
- Sugiyama, A., Nakano, Y., Iwade, Y., Yano, T., Fukuda, M., Yamauchi, A., Kawade, K., Sakurai, Y., Matsumoto, T. & Yamanaka, O. 2002. *Vibrio parahaemolyticus* food poisonings and their control measures based on HACCP principles. Report on food safety assurance project for agriculture and fishery products [in Japanese]. Mie Prefectural Science and Technology Promotion Center, 37 - 47.
- Twedt, R., Spaulding, P. & Hall, H. 1969. Morphological, cultural, biochemical, and serological comparison of Japanese strains of *Vibrio parahaemolyticus* with related cultures isolated in the United States. *Journal of Bacteriology*, 98 (2): 511 - 518.
- Tangkanakul, W., Tharmaphornpilas, P., Datapon, D. & Sutantayawalee, S. 2000. Food poisoning outbreak from contaminated fish-balls. *Journal of the Medical Association of Thailand*, 83 (11): 1289 - 1295.
- Vuddhakul, V., Chowdhury, A., Laohaprerththisan, V., Pungrasamee, P., Patararungrong, N., Thianmontri, P., Ishibashi, M., Matsumoto, C. & Nishibuchi, M. 2000. Isolation of a pandemic clone of a *Vibrio parahaemolyticus* strain from environmental and clinical sources in Thailand. *Applied and Environmental Microbiology*, 66: 2685 - 2689.
- Wagatsuma, S. 1974. Ecological studies on Kanagawa phenomenon positive strains of *Vibrio parahaemolyticus*. pp. 91 - 96, in: T. Fujino, G. Sakaguchi, R. Sakazaki and Y. Takeda, (editors). International symposium on *Vibrio parahaemolyticus*. Saikon Publishing Co., Tokyo, Japan.
- Watanabe, T. 1994. Growth of *Vibrio parahaemolyticus* in different methods of cooking fish. Proceedings of National Conference of Food Safety Inspection, Japan.
- Watkins, W. D. & Cabelli, V. J. 1985. Effect of fecal pollution on *Vibrio parahaemolyticus* densities in an estuarine environment. *Applied and Environmental Microbiology*, 49 (5): 1307 - 1313.
- Wong, H. C., Ting, S. H. & Shien, W. R. 1992. Incidence of toxigenic vibrios in foods available in Taiwan. *Journal of Applied Bacteriology*, 73: 197 - 202.
- Wong H. C., Chen L. L. & Yu, C. M. 1995. Occurrence of vibrios in frozen seafoods and survival of *Vibrio cholerae* in broth and shrimp homogenate at low temperatures. *Journal of Food Protection*, 58: 263 - 267.
- Wong, H. C., Chen, M. C., Liu, S. H. & Liu, D. P. 1999. Incidence of highly genetically diversified *Vibrio parahaemolyticus* in seafood imported from Asian countries. *International Journal of Food Microbiology*, 52 (3): 181 - 188.
- Yamai, S. 2001. A study of the contamination of *Vibrio parahaemolyticus*. Report of the research on environmental health, 2000. Ministry of Health and Welfare, Japan.
- Yamamoto, S., Okujo, N., Yoshida, T., Matsuura, S. & Shinoda, S. 1994. Structure and iron transport activity of vibrioferrin, a new siderophore of *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of Biochemistry (Tokyo)*, 115: 868 - 874.
- Yamamoto, S., Akiyama, T., Okujo, N., Matsu-ura, S. & Shinoda, S. 1995. Demonstration of a fer-

- ric vibrioferrin-binding protein in the outer membrane of *Vibrio parahaemolyticus*. *Microbiology and Immunology*, 39 (10): 759 - 766.
- Yamazaki, T. , Masuno, H. , Shimada, K. , Ueno, E. , Nakano, T. , Kondo, Y. , Hanji, T. , Kojima, H. , Okazaki, K. , Nakajima, H. & Takakura, K. 1996. Detection of *Vibrio parahaemolyticus* from marine fish during a five-year study and detection of thermostable direct hemolysin (TDH) from the isolates [in Japanese] . Abstracts of the 1996 Meeting of National Workshop for Food Hygiene Inspectors, pp. 193 - 196.
- Yamazaki, S. , Yamaguchi, Y. & Noguchi, H. 2001. Investigation of *Vibrio parahaemolyticus* and the relation gene from marine products. *Bulletin of the Nagasaki Prefectural Institute for Environmental Research and Public Health* , 47: 112 - 114.
- Yeung, P. S. M. , Hayes, M. C. , DePaola, A. , Kaysner, C. A. , Kornstein, L. & Boor, K. J. 2002. Comparative phenotypic, molecular, and virulence characterization of *Vibrio parahaemolyticus* O3: K6 isolates. *Applied and Environmental Microbiology* , 68 (6): 2901 - 2909.

附录 III-1

Ogawa 等人 (1989) 报告了海水中副溶血弧菌浓度 n (100 毫升海水中副溶血弧菌的数量)、海水温度 t ($^{\circ}\text{C}$) 和海水盐度 s ($\%$) 之间的关系。

依赖于海水温度的式子如下:

$$\log_{10} n = 0.103t - 0.934$$

依赖于盐度的式子如下:

$$\log_{10} n = -0.674s + 3.448$$

依赖于海水温度和盐度的式子如下:

$$\log_{10} n = 2.00 + 0.05t - 0.584s \quad (P < 0.001)$$

在生牡蛎和在海水中副溶血弧菌浓度之间的关系:

$$\log_{10} n_{oy} = 0.900 \log_{10} n_{sw} + 1.232 \quad (r = 0.663, P < 0.05)$$

在这里:

n_{oy} = 100 克生牡蛎中副溶血弧菌的数量, 以及

n_{sw} = 100 毫升海水中副溶血弧菌的数量。

参考文献

Ogawa, H., Tokunou, H., Kishimoto, T., Fukuda, S., Umemura, K. & Takata, M. 1989. Ecology of *Vibrio parahaemolyticus* in Hiroshima Bay. *The Hiroshima Journal of Veterinary Medicine*, 4: 47-57.

【FAO/WHO 微生物风险评估系列】

- 1 Risk assessments of *Salmonella* in eggs and broiler chickens; Interpretative Summary, 2002.
- 2 Risk assessments of *Salmonella* in eggs and broiler chickens, 2002.
- 3 Hazard characterization for pathogens in food and water; Guidelines, 2004.
- 4 Risk assessment of *Listeria monocytogenes* in ready to eat foods; Interpretative Summary, 2004.
- 5 Risk assessment of *Listeria monocytogenes* in ready to eat foods; Technical Report, 2004.
- 6 *Enterobacter sakazakii* and other micro-organisms in powdered infant formula; Meeting Report, 2004.
- 7 Exposure assessment of microbiological hazards in food; Guidelines, 2008.
- 8 Risk assessment of *Vibrio vulnificus* in raw oysters; Interpretative Summary and Technical Report, 2005.
- 9 Risk assessment of choleraenic *Vibrio cholerae* O1 and O139 in warm-water shrimp in international trade; Interpretative Summary and Technical Report, 2005.
- 10 *Enterobacter sakazakii* and *Salmonella* in powdered infant formula; Meeting Report, 2006.
- 11 Risk assessment of *Campylobacter* spp. in broiler chickens; Interpretative Summary, 2009.
- 12 Risk assessment of *Campylobacter* spp. in broiler chickens; Technical Report, 2009.
- 13 Viruses in food; scientific advice to support risk management activities; Meeting Report, 2008.
- 14 Microbiological hazards in fresh leafy vegetables and herbs; Meeting Report, 2008.
- 15 *Enterobacter sakazakii* (*Cronobacter* spp.) in powdered follow-up formula; Meeting Report, 2008.
- 16 Risk assessment of *Vibrio parahaemolyticus* in seafood; Interpretative summary and Technical Report, 2011.
- 17 Risk characterization of microbiological hazards in food; Guidelines, 2009.
- 18 Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* in raw beef and beef products; approaches for the provision of scientific advice; Meeting report, 2011.
- 19 *Salmonella* and *Campylobacter* in chicken meat; Meeting Report, 2009.

可以从以下部门获取世界卫生组织出版物：

WHO Press

World Health Organization, 20 Avenue Appia,

1211 Geneva 27, Switzerland

电话：+41 22 791 3264

传真：+41 22 791 4857

电子邮箱：bookorders@who.int

或者

从以下网站获取：<http://www.who.int/bookorders>

可以从以下部门获取联合国粮农组织出版物：

Sales and Marketing Group, Communication Division,

Food and Agriculture Organization of the United Nations,

Viale delle Terme di Caracalla, 00153 Rome, Italy

传真：+39 06 5705 3360

电子邮箱：publications-sales@fao.org

或者

从以下网站获取：<http://www.fao.org/icatalog/inter-e.htm>

副溶血性弧菌是世界范围腹泻疾病的常见原因。这些海洋微生物，原生在全球河口水域，集中在滤食性软体动物的内脏中，例如牡蛎、蛤和贻贝。生或未煮熟的海产品，包括有鳍鱼类，代表传播给人类的主要媒介物。

本书考虑生牡蛎消费的公共健康影响的评估适用性，开发于一个国家，来评估与生牡蛎消费相关的公共健康风险，这些生牡蛎捕获于其他国家，这些国家中生牡蛎的生长和捕获环节不同。如果这样一个风险评估也能够适用于其他贝类类型和有鳍鱼类，那么这个方法也适用于血蛤和有鳍鱼类的评估的建立。因此这项工作分为三个部分：（1）生牡蛎中副溶血性弧菌的风险评估；（2）血蛤中副溶血性弧菌的风险评估；（3）有鳍鱼类中副溶血性弧菌的风险评估。同时提供与这些商品消费相关的风险方面的见解，这项工作也解决怎样使现有和/或者有限资源最大化的利用。

本书和这套微生物风险评估系列中其他书包含对风险评估人员和风险管理人員有用的信息，包括国际科学委员会、食品法典委员会、政府和食品监管机构、科学家、食品生产者及行业以及其他对食物微生物危害领域、该危害对人类健康和食品贸易的影响和危害的控制有兴趣的人和机构。

ISBN 978-92-5-506874-4



9 789255 068744

I2225Ch/1/12.14