

3 讨论

18~24 岁是生命周期中重要的年龄阶段,他们的膳食结构及营养状况可能会影响到一生的健康。从食物消费情况来看,从本研究人群的蔬菜、水果和大豆类食物消费较低。在低收入的年轻人中,禽畜肉类和奶类食品的消费量也较低,在高收入的年轻人中,禽畜肉类食品的消费却大幅度提高。从能量和营养素的摄入状况看,无论是低收入人群还是高收入人群,都存在某些营养素不同程度的缺乏现象,和其他地区以及全国营养调查结果相一致^[5,6]。

2 组人群膳食中的三大生热营养素生热比基本都在推荐值范围,但值得注意的是,高收入的年轻人膳食中脂肪所产生的热能已经占到总热能的 29.2%,接近推荐值(20%~30%)的上限。18~24 岁的年轻人,是经济刚刚独立的人群,他们的膳食结构已经出现了动物性食物较高,植物性食物不足的趋势,这与其他经济变迁国家的趋势相同^[7],而这种膳食模式势必增加慢性非传染性疾病发病的危险性。

因此,在低收入人群中,应增加动物性食物、水果及奶制

品的摄入量,同时,在高收入的人群中,应有针对性地进行营养教育,采取可行的干预措施,以减少慢性疾病的发病率。

参考文献

- [1] 逢增昌,陈晓荣,汪韶洁,等. 青岛市居民膳食结构和营养状况调查[J]. 中国公共卫生,2006,22(1):91-92.
- [2] 葛可佑. 中国人群膳食结构的变化[J]. 卫生研究,1996,25(增刊):28-32.
- [3] 葛可佑. 中国营养师培训教材[M]. 北京:人民卫生出版社,2005:390-393.
- [4] 中国营养学会. 中国居民膳食营养素参考摄入量[M]. 北京:中国轻工业出版社,2000:56-57.
- [5] 葛可佑,翟凤英,阎怀成,等. 九十年代中国人群的膳食与营养状况[J]. 营养学报,1995,17(2):123-134.
- [6] 于红霞,徐贵发,乔新发. 山东省 8 个大中城市居民食物消费趋势[J]. 中国公共卫生,2002,18(5):604-605.
- [7] Barry M P. The shift in stages of the nutrition transition in the Developing world differs from past experiences[J]. Public Health Nutr,2002,51A:223-229.

收稿日期:2006-12-26

(文涛编辑 郑新校对)

文章编号:1001-0580(2007)09-1135-02

中图分类号:R 155.3

文献标志码:A

【调查研究与分析】

舟山海产品副溶血性弧菌污染及毒力基因分析

石亚素¹,张行钦¹,薛超波²,顾松叶²,龚红霞²,梅玲玲³,程苏云³

舟山渔场是我国最大的经济鱼虾类捕捞渔场,有着广阔的海域和丰富的海产品,新鲜的海产品具有很高的营养价值和独特口味,本地居民喜欢生食或半生食此类海产品,其中副溶血弧菌(VP)污染引起的食源性疾病暴发已成为我市突出的公共卫生问题。本文分析了舟山市定海区农贸市场经济鱼虾类海产品的副溶血弧菌污染的动态分布、血清型别及毒力基因携带状况。结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品采集 根据中国 CDC 营养与食品安全所下发的《国家食源性疾病预防网工作手册》的要求,选择舟山市定海区的 3 个农贸市场,于 2004~2006 年的每年 5、8、10 月,无菌采集舟山渔场捕捞的鱼虾类样品 360 份,其中鱼类 185 份,虾类 175 份。样品采集后 1~2 h 内送达实验室检测。

1.1.2 试剂与仪器 VP 诊断血清(日本生研株式会社);VP 毒力基因 TDH 检测试剂盒(上海宝生科技发展有限公司);PCR 仪(德国 Eppendorf 公司);VITEK-32 和非发酵菌鉴定卡(NFC 卡),氧化酶(Oxydase)试剂(均为法国 bioMerieux 公司)。碱性蛋白胨水(APW)、硫代硫酸柠檬酸盐蔗糖(TCBS)琼脂、科玛嘉弧菌显色培养基等(浙江省疾病预防控制中心)。

1.2 方法

1.2.1 副溶血弧菌定性定量分析 参照文献[1]方法进行。

分离菌株经 VITEK-32 鉴定为 VP 时,查 MPN 表计算 VP 的浓度,最低检出限为 30 MPN/100 g。

1.1.2 副溶血弧菌血清分型 按文献[2,3]方法进行。用 3% 盐水洗下分纯菌落,经 121 高压灭菌 1~2 h,离心后取沉淀物作玻片凝集试验。

1.2.3 副溶血弧菌毒力基因分析 (1)模板制备:取增菌液 100 μ l,12 000 r/min 离心 5 min,弃上清液,加入 100 μ l DNA 提取液于沉淀中,振荡混匀。置 100 水浴加热 10~15 min。10 000 r/min 离心 1 min,保留上清待用。(2)PCR 反应体系:21 μ l,其中含 Tris-HCl、Tag 酶、引物、dNTP 及模板 DNA,反应程序为预变性 94 5 min,然后按 94 30 s,56 40 s,72 90 s 循环 35 次,最后 72 延长 3 min。(3)PCR 引物:耐热直接溶血素(TDH)的上游引物为 TDH-L 5-AGCTTC-CATCTGTCCTTTT3,下游引物为 TDH-R 5-ATTAC-CACTACCCTCTCATA-3。(4)PCR 产物检测:用含 0.5 μ g/ml 溴化乙锭的 2% 琼脂糖凝胶电泳,PCR 扩增产物为 382bp,以 67~501bp 的 Marker 作对照,紫外灯下观察实验结果是否有毒力基因热稳定性溶血毒素的扩增片段。TDH 阳性、阴性参考菌株均为浙江省 CDC 收集的临床菌株。

1.3 统计分析 采用 Excel 2003 进行整理,采用 SPSS 11.5 软件进行统计分析。

2 结果

2.1 不同采样点鱼虾类样品中副溶血弧菌污染状况比较 3 个农贸市场的样品中,副溶血弧菌阳性分离率为 41.94%(151/360),阳性样品平均密度为 2 381.15 MPN/100 g。不同农贸市场的阳性率差异以及阳性密度均值差异均无统计学意义(分

作者单位:1. 浙江省舟山市定海区疾病预防控制中心,316000;2. 浙江省舟山市疾病预防控制中心;3. 浙江省疾病预防控制中心

作者简介:石亚素(1957-),女,浙江舟山人,副主任技师,中专,主要从事微生物学检验及科研工作。

别 $^2 = 0.49, P = 0.78 > 0.05; F = 1.83, P = 0.17 > 0.05$ 。

2.2 不同年份鱼虾类样品中副溶血弧菌污染状况比较
2004 年阳性分离率 36.67%、阳性样品平均密度 1403.91 MPN/100 g, 2005 年为 48.33% 和 2928.33 MPN/100 g, 2006 年为 40.83% 和 2995.64 MPN/100 g。不同年份阳性分离率差异以及阳性样品平均密度差异均无统计学意义(分别 $^2 = 3.45, P = 0.18 > 0.05; F = 1.60, P = 0.21 > 0.05$)。

2.3 不同月份鱼虾类样品中副溶血弧菌污染状况比较(表 1) 不同月份阳性分离率以及阳性样品平均密度两两之间比较, 差异均有统计学意义(分别 $^2 = 219.04, P < 0.05; F = 26.07, P < 0.05$)。

表 1 不同月份副溶血性弧菌阳性分离率及密度(%, MPN/100g) 比较

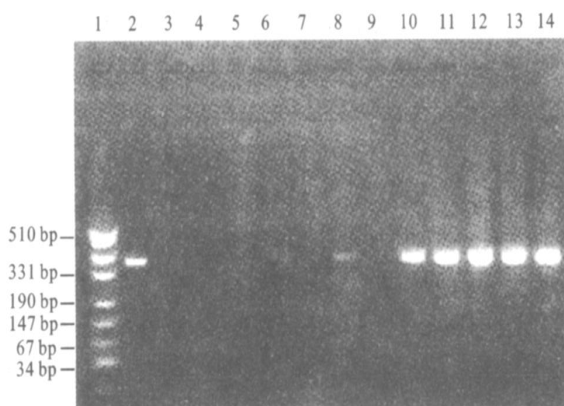
月份	样品数(份)	检出数(份)	阳性分离率	密度范围	密度均值
5	120	10	8.33	30~270	78.73
8	120	115	95.83	30~24000	4431.10
10	120	26	21.67	30~24000	566.58
合计	360	151	41.94	30~24000	2381.15

2.4 不同种类海产品中副溶血弧菌污染状况比较(表 2) 不同种类海产品的阳性分离率差异有统计学意义($^2 = 8.44, P < 0.05$), 但阳性样品平均密度差异无统计学意义($t = 1.77, P > 0.05$)。

表 2 鱼类、虾类副溶血性弧菌阳性分离率及密度(%, MPN/100g) 比较

月份	样品数(份)	检出数(份)	阳性分离率	密度范围	密度均值
虾	175	87	49.71	30~24000	3174.56
鱼类	185	64	34.59	30~24000	1610.66
合计	360	151	41.94	30~24000	2381.15

2.5 副溶血弧菌血清分型 从分离的 151 株 VP 中选取有代表性的 74 株 VP 进行血清分型, 分布于 7 个 O 抗原群(O₁~O₅, O₈, O₁₀), 主要血清群集中在 O₅, O₄, O₂ 和 O₁ 中, 占 87.84% (65/74), 其中 O₅ 为主要血清群, 占 47.3% (35/74); O₃ 血清群占 4% (3/74)。



注: 1: DNA Marker; 2: TDH 阳性对照; 3: 阴性对照(去离子水); 4, 5: 血清型 O₃; 6: 血清型 O₅; 7, 8: 血清型 O₄; 9, 10: 暴发分离株(血清型 O₃); 11: 暴发分离株(血清型 O₄); 12: 散发分离株(血清型 O₃); 13: 散发分离株(血清型 O₄); 14: 散发分离株(血清型 O₅)。

图 1 海产品中副溶血性弧菌代表株及阳性、阴性参考菌株的 TDH 基因扩增电泳图谱

2.6 副溶血弧菌毒力基因 TDH 从分离的 151 株 VP 中选取有代表性的 33 株试验菌进行 TDH 检测, 检出 2 株 TDH 阳性, 检出率为 6.06% (2/33); 其中 31 株 TDH 阴性血清型为: O₃ 3 株, O₄ 5 株, O₅ 23 株; 2 株 TDH 阳性血清型为: O₄、O₅ 各 1 株, 绝大多数海产品中的 VP 不携带 TDH 基因。图 1 显示海产品中 VP 代表株及阳性、阴性参考菌株的 TDH 基因扩增电泳图谱, 4 道和 5 道为海产品菌株 O₃ 血清型(TDH -); 6 道为 O₅ 血清型(TDH -); 7 道为 O₄ 血清型(TDH -); 8 道为 O₄ 血清型(TDH +), 与 11 道和 13 道的暴发分离株和散发分离株的 O₄ 血清型相比, 阳性条带亮度较低。

3 讨论

本文结果显示, 舟山渔场捕捞的经济鱼虾类海产品中, VP 分离阳性率为 41.94%, VP 密度(MPN)为 2381.15 MPN/100 g, 有 16.11% 样品超过 24000 MPN/100 g, 表明 VP 污染严重, 对公众健康构成一定威胁; 虾类的 VP 分离阳性率明显高于鱼类, 但两者阳性平均密度差异无统计学意义; 不同月份之间分离阳性率和阳性样品平均密度有很大的季节性差异, 此结果与文献[4]报道相符。8 月份明显高于其他月份, 与 VP 食源性疾病多发季节时间一致。

8 月份海产品中 VP 的高密度和高携带率, 提示特定季节里对海产品中的 VP 进行危险性评估刻不容缓, 而详实的海产品中 VP 的定量资料则是开展评估工作不可或缺的数据。舟山作为浙江省首个海产品中 VP 定量分析监测点, 通过连续 3 年分季节、定点、定类、定量所获得的经济鱼虾类中 VP 的污染状况, 为危险性评估提供人群 VP 暴露量信息, 为政府部门制定海产品卫生安全的 VP 限量标准提供技术支撑。

TDH、耐热相关溶血素(TRH)是和 VP 致病性密切相关的基因。本文结果表明, 舟山地区绝大多数海产品中的 VP 不携带 TDH 基因。有研究表明, 从外环境中分离的 VP 菌株, 其 TDH 和 TRH 的检出率极低^[5,6], 但并不意味着不是食源性疾病发生的重要流行病学因素, 而是外环境中存在的 VP 菌株复杂性的一个反映。提示检测海产品等外环境中强致病性 VP 还需更为敏感的检测技术, 如免疫磁珠富集法、RT-PCR 法等。

参考文献

- [1] 食品卫生微生物学检验[S]. 国标 GB/T 4789.7-2003. 北京: 中国标准出版社, 2004.
- [2] 何晓青. 卫生防疫细菌检验[M]. 北京: 新华出版社, 1989: 481-485.
- [3] 甄太宏. 细菌学检验手册[M]. 北京: 轻工业出版社, 1986: 327-332.
- [4] 李海群. 中国的对虾育苗场弧菌病的诊断与防治[J]. 动物医学进展, 2001, 22(1): 88-89.
- [5] Shirai H, Ito H, Hirayama T, et al. Molecular epidemiologic evidence from association of thermostable direct hemolysin (TDH) and TDH-related hemolysin of *Vibrio parahaemolyticus* with gastroenteritis[J]. Infect Immun, 1990, 58: 3568-3573.
- [6] Vuddhakul V, Chowdhury A, Laohaprerthithan V, et al. Isolation of a pandemic O3:k6 clone of a *Vibrio parahaemolyticus* strain from environmental and clinical sources in Thailand[J]. Appl Environ Microbiol, 2000, 66: 2685-2689.

收稿日期: 2006-12-13

(孔繁学编辑 郑新校对)