

食源性致病菌生长异质性的对风险评估的影响

The influence of foodborne pathogens growth heterogeneity on risk assessment

卢奕¹ 刘海泉^{1,2,3,4} 赵勇^{1,2,3} 谢晶^{1,2,3} 潘迎捷^{1,2,3}

LU Yi¹ LIU Hai-quan^{1,2,3,4} ZHAO Yong^{1,2,3} XIE Jing^{1,2,3} PAN Ying-jie^{1,2,3}

(1. 上海海洋大学食品学院, 上海 201306; 2. 上海水产品加工及贮藏工程技术研究中心, 上海 201306;
3. 农业部水产品贮藏保鲜质量安全风险评估实验室〔上海〕, 上海 201306;
4. 上海海洋大学食品热加工工程技术研究中心, 上海 201306)

(1. College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
2. Shanghai Engineering Research Center of Aquatic Product Processing & Preservation, Shanghai 201306, China;
3. Laboratory of Quality & Safety Risk Assessment for Aquatic Product on Storage and Preservation [Shanghai], Ministry of Agriculture, Shanghai 201306, China; 4. Engineering Research Center of Food Thermal-Processing Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

摘要:文章介绍了食源性致病菌生长异质性的概念,概述了国内外相关领域的研究进展,系统综述了菌株生长异质性的表现形式以及影响因素,总结归纳了降低食源性致病菌生长异质性对微生物风险评估结果准确性的解决方法。

关键词:微生物;生长异质性;风险评估

Abstract: In this review, the concept of growth heterogeneity of foodborne pathogenic bacteria was introduced. Moreover, the domestic and abroad study progress was reviewed, and the expression forms and influencing factors of strain growth heterogeneity were systematically summarized. In addition, the solutions for reducing the accuracy the growth heterogeneity of foodborne pathogenic bacteria to microbial risk assessment were also presented.

Keywords: microbiology; growth heterogeneity; risk assessment

2017 年 10 月世界卫生组织 (World Health Organization, WHO)发布的食品安全风险分析^[1]指出,含有

基金项目:国家自然科学基金面上项目(编号:31571917,31671779);上海市科技兴农项目(编号:沪农科攻字 2015 第 4-8 号,沪农科攻字 2016 第 1-1 号,沪农科推字 2017 第 4-4 号);上海市教育委员会科研创新计划资助(编号:2017-01-07-00-10-E00056);上海市教委曙光计划(编号:15SG48)

作者简介:卢奕,女,上海海洋大学在读硕士研究生。

通信作者:刘海泉(1980—),男,上海海洋大学讲师,博士。

E-mail: hqliu@shou.edu.cn

赵勇(1975—),男,上海海洋大学教授,博士。

E-mail: yzhao@shou.edu.cn

收稿日期:2018-02-15

有害细菌、病毒或化学物质的食品可导致腹泻、急性胃肠炎等 200 多种疾病,据估计每年全世界有 6 亿人因食用受污染的食品而患病,死亡人数达 42 万人;在中国,致病微生物是引起食源性疾病的首要因素,其中又以食源性致病菌最为多见^[2]。为减轻食源性疾病对人类健康和社会的影响,从 2002 年开始,WHO 不定期发布了一系列《世界卫生组织全球食品安全战略》^[3]并在全球积极推行;中国为实施好食品安全战略,加强食品安全治理,国家食品药品监督管理总局发布了“十三五”国家食品安全规划,强调了全面了解各类食品中微生物和致病菌污染状况,确定其分布及来源的重要性。因此,科学、客观、准确地评估食品当中的危害因素对人体造成健康损害的概率,是目前由食源性致病菌导致的食品安全问题有待研究和攻克的重点及难点问题。

科学证明风险分析技术是评价食物链中危害与人体健康风险相关性的首选方法,风险评估则是风险分析框架中的科学核心;而微生物风险评估是食品安全风险评估的主要组成部分,同时也是广泛应用的控制食源性疾病的重要科学手段。但是,由于微生物广泛存在的菌株异质性,即使外界条件相同,同一菌株生长情况也存在差异,因此,当下中国大多以单一典型菌株的生长/失活模型为基础进一步建模的微生物风险评估,往往存在夸大或降低食源性致病菌在食品中的真实风险等问题,最终造成不必要的经济损失,甚至一系列食品安全问题^[4]。本文综述了几种典型食源性致病菌生长异质性对微生物风险评估的影响,以期借此为中国更科学地开展风险评估提供理论依据。

1 微生物异质性

同一微生物即使在实验室中通过单克隆培养后,最终群体中的每个细胞间都可能在遗传、生理和生长行为等方面表现出广泛的差异性,这种现象被称为微生物异质性(Microbial Heterogeneity)^[5-7]。异质性是微生物在复杂多变的环境中生存的一种策略,在表型和遗传等方面表现差异,使微生物在一定的生存环境中选择特定的生存方式(与生存环境的变化协调一致),从而表现出该微生物的多样性;而生长行为表现出的差异,称之为生长异质性^[8-9]。

从不同环境和食品中分离到的微生物其耐药性、菌株生长特性等具有显著的差异,属于典型的菌株表型异质性^[10-12];即使同一菌株,其毒力和致病性也是存在差异的,且具有多样性,同时其在不同环境条件下表现出不同的生长速率、生物被膜生长能力以及不同的耐药性等,表现出菌株具有很大的异质性,从而对环境产生不同的适应和抗性^[13-15]。

2 食品微生物风险评估

2.1 风险评估概况

国外较早开展了食品中致病微生物风险评估工作,且评估方式、内容、领域等较全面;总体来说,目前国外食源性致病菌风险评估的研究主要集中在如何准确地进行定量评估,对于暴露评估完整过程及相应模型的建立等方面的研究较为深入^[16-17],但菌株生长模型是用以前根据单一菌株构建的简单模型,近年才开始关注菌株异质性对风险评估的影响^[10,15]。在中国,由于各种条件的限制,使得评估内容及应用价值存在一定的局限性:首先中国一些定量风险评估文章依然停留在简单的点估计、区间估计评估阶段,这种方法常常产生“敏感反应却不能够被排除”的结论,给风险决策带来很大障碍,同时参数的变异性及不确定性也暂时尚未纳入考虑范畴^[18-19];其次,风险评估内容采用的菌体生长模型参数大多为国外权威机构(如FDA、WHO、FAO)、研究所等研究获得的数据,大多数数据未经验证直接使用^[20],但是由于国内外地理位置、气候条件、饮食及风俗习惯等差异,国外各参数值未必能很好地描述国内环境对微生物生长的影响状况。

2.2 菌株生长异质性对风险评估的影响

2.2.1 李斯特菌生长异质性 20世纪80年代,Rosenow等^[21]研究发现不同介质(脱脂奶、全脂奶、巧克力奶和奶油)、不同温度(4, 8, 13, 21, 35℃)条件下,单增李斯特菌(*Listeria monocytogenes*)代时及最大菌落数存在差异,至此食源性致病菌生长异质性问题引起部分学者的关注^[22-23]。Begot等^[24]选取了64株不同分离来源及不同血清型的李斯特菌,在不同的温度(10~37℃),水分活度(0.96~1.00)及pH值(5.6~7.0)条件下进行培养试验,利用Gompert函数拟合,结果表明分离来自工业用地的菌株生长速率更快且菌落形态更聚集,提出了菌株生长异质性对定量风险评估结果准确性存在影响这一问题。

通过二次建模、引入相关变异系数,在一定程度上能降低食源性致病菌生长异质性对微生物风险评估的影响。Pouillot等^[25]对牛奶中李斯特菌进行了相关研究,通过贝斯方法进行二次建模,首先建立logistic方程作为初始增长模型,然后建立基数温度方程作为二次增长模型,以此减弱菌株的生长异质性对微生物风险评估中变异性 and 不确定性的影响。Aryani等^[26]选取了20株单增李斯特菌定量分析了菌株异质性对最大比生长速率的影响,结果表明,当4个主要生长参数pH(min)为4.5(4.4~4.7),NaCl浓度为2.0 mmol/L(1.8~2.1),乳酸浓度为5.1 mmol/L(4.2~5.9),温度为-2.2℃(-3.3~-1.1),符合现有文献中的平均生长速率,而在该研究选取的参数区间下,得到菌株间生长速率差异为2~4 lg(CFU/mL),强调了获取特定条件下的变异系数对实际预测微生物生长动力学的重要性。

食源性致病菌生长异质性主要表现为延滞期、指数生长期、生长速率、传代时间及生长极限等生长特性的异质性。Barbosa等^[27]通过分光光度计测定菌悬液在600 nm处的吸光值,研究不同温度(4, 10, 37℃)下,单增李斯特菌在延滞期、指数生长率和传代时间等方面表现出的差异,结果表明,39株单增李斯特菌的生长行为表现出不同程度的菌株异质性。Koutsoumanis等^[28]比较研究6株的李斯特肠炎病原菌,在不同的盐浓度(0.5%~8%)和pH值(5.0, 5.5, 7.3)的生长极限的差异。结果表明,随着NaCl浓度的增加和pH的降低,能够生长和形成菌落的细胞数量逐渐减少,证实了单个细胞生长极限存在变异性。同时,还提出了“伪滞后”的概念,指在接近生长极限时,种群中非增长部分的存在导致了细菌总量增长延迟,“伪滞后”的程度取决于外界环境,而单个李斯特菌变异性则受接种量和生长条件的共同影响。

外界环境对食源性致病菌异质性存在影响。Augustin等^[29]选取了不同生产厂商、同一生产厂商不同生产批次5种食品:真空包装的猪肉馅饼、真空包装的烟熏鲑鱼、常压气调包装的切片火腿、煮熟的鸡肉以及鱼糜沙拉,在同一培养条件下,对其中的单核细胞增生李斯特菌生长异质性变异系数(CV)进行了量化,结果显示,5种食品中单核细胞增生李斯特菌的CV差异很小,但同一生产厂商不同生产批次的食品中单核细胞增生李斯特菌CV约为20%,而不同生产商生产的同一种食品中单核细胞增生李斯特菌CV约为35%,因此,认为食品的自身质构状态对单核细胞增生李斯特菌生长异质性的影响很小;但同一生产商不同批次或不同生产厂商等均对李斯特菌的生长异质性影响较大。Avery等^[30]发现临床分离的单增李斯特菌,比猪肉中的分离株具有更短的延滞期;此外,在4℃饥饿条件下进行处理后,临床分离株与猪肉分离株的延滞期异质性更为明显。

2.2.2 副溶血性弧菌生长异质性 生长环境(温度、是否纯培养)对食源性致病菌的生长异质性存在影响。唐晓阳等^[31]研究了不同温度下9株致病性与非致病性副溶血性弧菌最大比生长速率之间的差异,结果显示15, 20, 25℃下,其

变异系数分别为 20.72%, 17.5%, 15.98%, 不同副溶血性弧菌的最大比生长速率之间的差异随着温度的降低而增加。Ma 等^[32]选取了 4 株致病性副溶血性弧菌, 在 15~30 °C 条件下, 利用 Gompertz、Baranyi 和 Logistic 模型研究单一菌株和混合菌株的生长状态, 结果显示, 混合菌株的生长速率比单一菌株的大, 延滞期比单一菌株的短。

外部因素(温度、盐度)及内在因素(毒力基因型)对食源性致病菌的生长异质性存在影响。郭丹凤等^[12]研究表明不同耐药性致病性副溶血性弧菌菌株在 20, 25, 37 °C 下其最大比生长速率(μ_{max})、延滞期(λ)及最大生长量(N_{max})存在一定的差异性, 12 °C 下不同的致病性副溶血性弧菌菌株在不同生长基质中的生长动力学参数存在较大差异。而在 12, 35 °C 下, 血清型为 O3:K6 的致病性副溶血性弧菌在南美白对虾中的最大比生长速率均大于同类研究中的致病副溶血性弧菌在培养基和三文鱼中的。Liu 等^[33]选取了 50 株不同分离来源(海水来源, 淡水来源)及不同基因型($tlh^+/tdh^+/trh^-$ 、 $tlh^+/tdh^-/trh^+$ 和 $tlh^+/tdh^-/trh^-$)的副溶血性弧菌, 测定菌株的最大比生长速率, 结果表明, 当温度和盐度越不适宜时, 菌株生长异质性越明显, 且温度对菌株异质性的影响更大; 此外, 淡水水产品中分离得到的菌株比海水中分离得到的菌株生长情况差异更明显, 带有致病基因 *tdh* 的菌株比不带有该致病基因菌株的生长异质性更大。

2.2.3 沙门氏菌生长异质性 血清型是影响食源性致病菌生长异质性的另一内在因素。Diez-García 等^[34]通过构建生长曲线, 对比研究 69 株沙门氏菌共 10 个血清型的生长动力行为(延滞期和生长率)差异, 结果表明不同血清型沙门氏菌之间存在生长异质性。

生长条件(温度、pH 及盐度)越不适应于菌株生存, 菌株之间的生长异质性越大。Fehlhaber 等^[35]通过肉汤培养的方法, 在 7~42 °C 下评估从食品中分离的沙门氏菌的生长异质性, 研究表明, 当环境温度逐渐偏离最适生长温度时, 45 株沙门氏菌生长异质性明显增大。Lianou 等^[36]选取了 60 株沙门氏菌, 在不同的 pH 值、盐度条件培养下, 通过构建一级模型分析了菌株生长异质性, 其变异系数分别为: 6.1% (0.5% NaCl, pH 7.0), 11.8% (0.5% NaCl, pH 4.3) 和 23.5% (6.0% NaCl, pH 7.0), 说明菌株之间存在显著的生长异质性, 且环境条件越恶劣, 菌株生长变异性越强; 盐度的生长异质性大于 pH 值的。

在之前的基础上, Lianou^[37]将种内生长变异纳入考虑的范畴, 检测 60 株沙门氏菌在 pH(4.0~7.0) 及 A_w (0.964~0.992) 的最大比生长速率, 其中 pH 采用基样条插值公式法, A_w 则采用 γ 概念模型, 统计 pH(min)、pH(opt) 及 A_w (min) 的累计概率, 并通过 Monte Carlo 拟合, 最后确定取 pH 5.0、 A_w 0.977 对原始的生长模型进行了改进, 一定程度上提高了沙门氏菌生长异质性导致随机建模方法在描述和定量微生物学及微生物风险评估的准确性。

2.2.4 其他食源性致病菌生长异质性 pH、水分活度(A_w)

及菌株分离来源对食源性致病菌生长异质性也存在一定影响。Haberbeck 等^[38]选取了 188 株大肠杆菌菌株, 研究在不同温度(20, 25, 30 °C)、不同 pH 及是否有其他菌株存在的情况下(pH 3.8, 3.9, 4.0, 4.1, 4.2, 4.3 无乳酸菌; pH 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8 含 25 mmol/L 乳酸菌)大肠杆菌的生长异质性, 结果表明, pH 对大肠杆菌生长异质性的影响显著高于其他两个因素, 140 个菌株(约 75%)在低 pH 条件下表现出明显的生长异质性, 而 20 个菌株(约 11%)在高 pH 条件出现明显的生长异质性。García 等^[39]关于曲霉菌生长异质性研究中, 发现菌株在相同温度(25 °C)不同水分活度(0.90, 0.98)条件下, 菌株生长异质性变异系数 CV 明显不同; 而在相同水分活度(0.98)不同温度(25, 37 °C)条件下, 最大菌株生长速率差异高达 4 倍。Topp 等^[40]对农业土壤中的大肠杆菌菌株间的生长异质性进行研究, 结果表明土壤环境等对其生长异质性也存在影响。

除了以上列出的食源性生长异质性的研究实例之外, 产气荚膜梭菌、蜡状芽孢杆菌和葡萄球菌^[41-42]的生长异质性也有一定的研究, 研究结果一致指出, 传统建模时常用单一菌株的生长数据构建模型, 进行微生物食品安全风险评估, 往往与实际情况存在较大的误差。因此, 建立预测微生物动力学模型和微生物风险评估中, 在充分考虑菌株异质性的基础上, 进一步将菌株生长环境、菌株来源和基因型纳入考虑的范畴^[27-28]。

3 展望

为有效预防和控制食品中致病菌引起的食品中毒, 国内外开展了相关致病菌的风险评估研究^[43-44]。食源性致病菌生长异质性主要表现为延滞期、指数生长期、生长速率、代时间和生长极限等菌株生长特性的差异^[45-48]。通过总结以上一系列研究发现, 食源性致病菌生长异质性对微生物的风险评估有显著的影响: ① 从不同环境中分离到的致病菌普遍存在典型的菌株表型异质性, 即菌株间的耐药性、生长特性等具有显著差异^[10-12, 49-50]; ② 温度、盐度、pH 值及是否为纯培养等外界因素, 血清型、毒力基因型等内在因素, 均会对所选取的典型菌株生长情况产生不同程度的影响; ③ 同一生产厂商仅仅生产批次不同的食品中, 微生物的分布及生长情况也存在差异。这就意味着, 即使外界条件基本一致甚至完全相同时, 典型菌株生长情况的差异性仍然存在, 仅通过单一典型菌株来构建的生长模型, 仍不能做到客观准确地反映食品中微生物的真实存在情况。但目前, 国内外就菌株生长异质性对风险评估的影响这一问题关注不多。

由于微生物生长繁殖易受环境影响, 因此, 菌株生长异质性无疑给实际生产生活中微生物风险评估增加了难度^[51]; 此外, 由于试验环境和实际生产环境的差异, 实验室测得的菌株生长异质性变异系数 CV 与实际生产中该菌株 CV 之间的差异, 及如何准确测定 CV 值得进一步探究。微生物风险评估食品安全应充分考虑菌株异质性, 来构建更科

学的菌株生长/失活模型;同时在暴露评估中,充分考虑菌株异质性,通过完善检测手段来更正确描述食品中致病菌的存在情况(致病能力、数量和检测概率)准确分析食品中致病菌的存在情况,构建纯培养和食品中致病菌生长异质性大数据库,获得菌株生长异质性变异系数 CV,构建基于 CV 参数的微生物定量风险评估宏模型(Metamodel),进一步建立基于中国国情的微生物风险评估修正模型;因此充分考虑菌株异质性对微生物风险评估的影响,以期以更科学的预报预防食品中致病菌的风险,降低对消费者的威胁和经济损失,将为提升风险评估理论、科学开展风险评估提供支撑。

参考文献

- [1] WHO. Media Centre 2017: Foodsafety [EB/OL]. (2017-10-26) [2018-05-25]. <http://who.int/mediacentre/factsheets/fs399/en/>.
- [2] WU Yong-ning, CHEN Yan. Food safety in China[J]. Journal of Epidemiology & Community Health, 2013, 67(6): 478-479.
- [3] WHO. Publications2016: Foodsafety [EB/OL]. (2016-10-20) [2018-05-25]. <http://www.who.int/foodsafety/publications/in-fosan/en/>.
- [4] 国家食品药品监督总局. “十三五”国家食品安全规[EB/OL]. (2017-2-14) [2018-05-25]. <http://www.sda.gov.cn/WS01/CL0852/169745.html>.
- [5] 赵勇,王敬敬,唐晓阳,等.水产品中食源性致病微生物风险评估研究现状[J].上海海洋大学学报,2012(5):899-905.
- [6] HALLET B. Playing Dr Jekyll and Mr Hyde: combined mechanisms of phase variation in bacteria[J]. Current Opinion in Microbiology, 2001, 4(5): 570-581.
- [7] 刘春春,赵云,杭海英.流式细胞术揭示出枯草芽孢杆菌多态异质性[J].生物化学与生物物理进展,2014(4):393-402.
- [8] 张怀强,卢丽丽,阎雪岚,等.细菌群体异质性对生长动态过程的影响及其表征[J].中国科学: C 辑: 生命科学, 2007(2): 246-256.
- [9] ZHANG Ling-ling, ORTH K. Virulence determinants for *Vibrio parahaemolyticus* infection[J]. Current Opinion in Microbiology, 2013, 16(1): 70-77.
- [10] HASEGAWA A, HARA-KUDO Y, OGATA K, et al. Differences in the stress tolerances of *Vibrio parahaemolyticus* strains due to their source and harboring of virulence genes[J]. Journal of Food Protection, 2013, 76(8): 1 456-1 462.
- [11] 唐晓阳,韩婷,谢晶,等.不同致病性副溶血性弧菌在南美白对虾中的生长动力学参数比较研究[J].食品工业科技,2013(2):78-82.
- [12] 郭丹凤,张昭寰,肖莉莉,等.不同耐药性致病性副溶血性弧菌的生长特性比较研究[J].食品工业科技,2014(19):137-141.
- [13] BREHM-STECHER B F, JOHNSON E A. Single-cell microbiology: tools, technologies, and applications[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2004, 68(3): 538-559.
- [14] NAIR G B, RAMAMURTHY T, BHATTACHARYA S K, et al. Global dissemination of *Vibrio parahaemolyticus* serotype O3; K6 and its serovariants[J]. Clinical Microbiology Reviews, 2007, 20(1): 39-48.
- [15] LIANOU A, KOUTSOUMANIS K P. Effect of the growth environment on the strain variability of *Salmonella enterica* kinetic behavior[J]. Food Microbiology, 2011, 28(4): 828-837.
- [16] MOKHTARI A, JAYKUS L-A. Quantitative exposure model for the transmission of norovirus in retail food preparation[J]. International Journal of Food Microbiology, 2009, 133(1): 38-47.
- [17] YAMAMOTO A, IWAHORI J I, VUDDHAKUL V, et al. Quantitative modeling for risk assessment of *Vibrio parahaemolyticus* in bloody clams in southern Thailand[J]. International Journal of Food Microbiology, 2008, 124(1): 70-78.
- [18] ELEXSON N, YAYA R, NOR A, et al. Biofilm assessment of *Vibrio parahaemolyticus* from seafood using random amplified polymorphism DNA-PCR [J]. International Food Research Journal, 2014, 21(1): 59-65.
- [19] KRUIZINGA A G, BRIGGS D, CREVEL R W R, et al. Probabilistic risk assessment model for allergens in food: sensitivity analysis of the minimum eliciting dose and food consumption[J]. Food and Chemical Toxicology, 2008, 46(5): 1 437-1 443.
- [20] 邵玉芳,汪雯,章荣华,等.浙江省生食牡蛎中副溶血性弧菌的风险评估[J].中国食品学报,2010(3):193-199.
- [21] ROSENOW E M, MARTH E H. Growth of *Listeria monocytogenes* in skim, whole and chocolate milk, and in whipping cream during incubation at 4, 8, 13, 21 and 35 degrees C[J]. Journal of Food Protection, 1987, 50(6): 452-459.
- [22] ARYANI D C, DEN BESTEN H M, HAZELEGER W C, et al. Quantifying strain variability in modeling growth of *Listeria monocytogenes*[J]. International Journal of Food Microbiology, 2015, 208: 19-29.
- [23] MUNOZ-CUEVAS M, GUEVARA L, AZNAR A, et al. Characterisation of the resistance and the growth variability of *Listeria monocytogenes* after high hydrostatic pressure treatments[J]. Food Control, 2013, 29(2): 409-415.
- [24] BEGOT C, LEBERT I, LEBERT A. Variability of the response of 66 *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* strains to different growth conditions[J]. Food Microbiology, 1997, 14(5): 403-412.
- [25] POUILLOT R, ALBERT I, CORNU M, et al. Estimation of uncertainty and variability in bacterial growth using Bayesian inference: Application to *Listeria monocytogenes*[J]. International Journal of Food Microbiology, 2003, 81(2): 87-104.
- [26] ARYANI D C, DEN BESTEN H M, HAZELEGER W C, et al. Quantifying strain variability in modeling growth of *Listeria monocytogenes*[J]. International Journal of Food Microbiology, 2015, 208: 19.
- [27] BARBOSA W B, CABEDO L, WEDERQUIST H J, et al. Growth variation among species and strains of *Listeria* in culture broth[J]. Journal of Food Protection, 1994, 57(9):

- 765-769.
- [28] KOUTSOUMANIS K. A study on the variability in the growth limits of individual cells and its effect on the behavior of microbial populations [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2008, 128(1): 116-121.
- [29] AUGUSTIN J C, BERGIS H, MIDELETBOURDIN G, et al. Design of challenge testing experiments to assess the variability of *Listeria monocytogenes* growth in foods[J]. *Food Microbiology*, 2011, 28(4): 746-754.
- [30] AVERY S M, BUNCIC S. Differences in pathogenicity for chick embryos and growth kinetics at 37 degrees C between clinical and meat isolates of *Listeria monocytogenes* previously stored at 4 degrees C[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 1997, 34(3): 319.
- [31] 唐晓阳, 郭晓滨, 郭丹凤, 等. 高通量快速测定致病性及非致病性副溶血性弧菌最大比生长速率[J]. *微生物学通报*, 2013, 40(11): 2 138-2 144.
- [32] MA Feng-li, LIU Hai-quan, WANG Jing-jing, et al. Behavior of *Vibrio parahemolyticus*, cocktail including pathogenic and nonpathogenic strains on cooked shrimp [J]. *Food Control*, 2016, 68: 124-132.
- [33] LIU Bing-xuan, LIU Hai-quan, PAN Ying-jie, et al. Comparison of the Effects of Environmental Parameters on the Growth Variability of *Vibrio parahemolyticus* Coupled with Strain Sources and Genotypes Analyses[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, DOI: 10.3389/fmicb.2016.00994.
- [34] DíEZ-GARCÍA M, CAPITA R, ALONSO-CALLEJAC. Influence of serotype on the growth kinetics and the ability to form biofilms of *Salmonella* isolates from poultry[J]. *Food Microbiology*, 2012, 31(2): 173-180.
- [35] FEHLHABER K, KRÜGER G. The study of *Salmonella* enteritidis growth kinetics using Rapid Automated Bacterial Impedance Technique[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 1998, 84(6): 945-949.
- [36] LIANOU A, KOUTSOUMANIS K P. Effect of the growth environment on the strain variability of *Salmonella enterica* kinetic behavior[J]. *Food Microbiology*, 2011, 28(4): 828.
- [37] LIANOU A, KOUTSOUMANIS K P. A stochastic approach for integrating strain variability in modeling *Salmonella enterica* growth as a function of pH and water activity[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2011, 149(3): 254-261.
- [38] HABERBECK L U, OLIVEIRA R C, VIVIJS B, et al. Variability in growth/no growth boundaries of 188 different *Escherichia coli* strains reveals that approximately 75% have a higher growth probability under low pH conditions than *E.coli* O157: H7 strain ATCC 43888.[J]. *Food Microbiology*, 2015, 45(Pt B): 222-230.
- [39] GARCIA D, RAMOS A J, SANCHIS V, et al. Is intraspecific variability of growth and mycotoxin production dependent on environmental conditions: A study with *Aspergillus carbonarius*, isolates[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2011, 144(3): 432-439.
- [40] TOPP E, WELSH M, TIEN Y C, et al. Strain-dependent variability in growth and survival of *Escherichia coli* in agricultural soil[J]. *Fems Microbiology Ecology*, 2003, 44(3): 303.
- [41] MEMBRÉ J M, LEPORQ B, VIALETTE M, et al. Temperature effect on bacterial growth rate: quantitative microbiology approach including cardinal values and variability estimates to perform growth simulations on/in food [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2005, 100(1/2/3): 179.
- [42] VALIK L, MEDVEDOVA A, BAJUSOVA B, et al. Variability of growth parameters of *Staphylococcus aureus* in milk[J]. *Journal of Food & Nutrition Research*, 2008, 47(47): 18-22.
- [43] WHO. Risk assessment of *Vibrio parahemolyticus* in seafood: interpretative summary and technical report [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2012, 154(3): 215-216.
- [44] SOBRINHO P D, DESTRO M T, FRANCO B D, et al. A quantitative risk assessment model for *Vibrio parahemolyticus*, in raw oysters in Sao Paulo State, Brazil[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2014, 180: 69-77.
- [45] VOSE D J. The application of quantitative risk assessment to microbial food safety[J]. *J Food Prot*, 1998, 61(5): 640-648.
- [46] 陈艳, 刘秀梅. 福建省零售生食牡蛎中副溶血性弧菌的定量危险性评估[J]. *中国食品卫生杂志*, 2006(2): 103-108.
- [47] 刘弘, 罗宝章, 秦璐昕, 等. 生食三文鱼片副溶血性弧菌污染的定量风险评估研究[J]. *中国食品卫生杂志*, 2012(1): 18-22.
- [48] 邹婉虹. 福建省牡蛎食用中感染副溶血性弧菌的风险评估[J]. *中国水产*, 2003(1): 70-71.
- [49] LEI Li, WONG Hin-chung, NONG Wen-yan, et al. Comparative genomic analysis of clinical and environmental strains provides insight into the pathogenicity and evolution of *Vibrio parahemolyticus*[J]. *BMC Genomics*, 2014, 15(1): 1 135.
- [50] 丁文艳, 宁喜斌, 李玉婷, 等. 不同副溶血性弧菌菌株成膜能力及成膜影响因子的研究 [J]. *食品工业科技*, 2014(23): 163-167.
- [51] RUSSELL A B, PETERSON S B, MOUGOUS J D. Type VI secretion system effectors: poisons with a purpose[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2014, 12(2): 137-148.