

研究报告

菌菇类食品中唐菖蒲伯克霍尔德菌污染调查及病原特征分析

黄伟峰¹, 范道勇², 黄永燕³, 肖桃¹, 吕虹¹, 雷高鹏¹, 梁倩¹, 杨小蓉¹

(1. 四川省疾病预防控制中心, 四川 成都 610041; 2. 泸定县疾病预防控制中心, 四川 泸定 626100; 3. 丹巴县疾病预防控制中心, 四川 丹巴 626300)

摘要:目的 调查成都市售菌菇类食品中唐菖蒲伯克霍尔德菌的污染情况, 分析其病原特征, 为食品安全风险监测提供支持。方法 参照 GB 4789. 29—2020, 增加了可疑菌落微生物质谱鉴定, 对 121 份菌菇类食品进行检测, 并对分离到的菌株进行全基因组测序, 分析其遗传特性及与米酵菌酸生物合成相关 *bon* 基因的携带情况。结果 121 份样品唐菖蒲伯克霍尔德菌的阳性率为 50. 41% (61/121), 其中银耳的阳性率达到 67. 14% (47/70)。4 份样品中分离的 10 株唐菖蒲伯克霍尔德菌携带 *bon* 基因簇; 存在主要污染银耳的优势克隆群, 但未携带 *bon* 基因簇。结论 银耳易被唐菖蒲伯克霍尔德菌污染, 需加强对重点食品中该致病菌的风险监测, 尤其是携带 *bon* 基因簇菌株的检测。

关键词: 食用菌; 唐菖蒲伯克霍尔德菌; 质谱; 米酵菌酸

中图分类号: R155 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2024)05-0517-05

DOI: 10. 13590/j. cjfh. 2024. 05. 001

Contamination investigation and pathogenic characteristics analysis of *Burkholderia gladioli* in mushroom foodsHUANG Weifeng¹, FAN Daoyong², HUANG Yongyan³, XIAO Tao¹, LYU Hong¹, LEI Gaopeng¹, LIANG Qian¹, YANG Xiaorong¹

(1. Center for Disease Control and Prevention of Sichuan Province, Sichuan Chengdu 610041, China; 2. Center for Disease Control and Prevention of Luding County, Sichuan Luding 626100, China; 3. Center for Disease Control and Prevention of Danba County, Sichuan Danba 626300, China)

Abstract: Objective To investigate the contamination status of *Burkholderia gladioli* in commercially available mushroom products in Chengdu, analyze its pathogenic characteristics, and provide support for food safety risk monitoring. **Methods** According to GB 4789. 29—2020, the identification of suspected colony by microbial mass spectrometry was added. One hundred and twenty-one mushroom foods were detected, and the whole genome of the isolated strains was sequenced to analyze their genetic characteristics and the carrying status of *bon* genes related to the biosynthesis of Bongkrekiic acid. **Results** The positive rate of *Burkholderia gladioli* in 121 samples was 50. 41% (61/121), with a positive rate of 67. 14% (47/70) for Tremella; 10 strains of *Burkholderia gladioli* isolated from 4 food samples carried *bon* genes clusters; There was a dominant clone group that could mainly contaminated Tremella, without carrying the *bon* gene clusters. **Conclusion** Tremella could be easily contaminated by *Burkholderia gladioli*, so it is necessary to strengthen the risk monitoring for the detection of this pathogen in key foods, especially for the strains carrying the *bon* gene clusters.

Key words: Edible mushroom; *Burkholderia gladioli*; mass spectrometry; bongkrekiic acid

唐菖蒲伯克霍尔德菌(*Burkholderia gladioli*)又叫椰毒假单胞菌酵米面亚种(*Pseudomonas cocovenenans* subsp. *Farinofermentans*), 是发酵米面食品^[1]、变质

木耳^[2]、银耳^[3]及薯类制品引起食源性疾病的一种重要病原菌。椰毒假单胞菌酵米面亚种在 1999 年被划为唐菖蒲伯克霍尔德菌的一个病原型^[4]。该菌引起食源性疾病病死率可高达 68%~89%, 在个别中毒事件中死亡率甚至达 100%^[5], 是导致细菌性食源性疾病病死率极高的一种病原菌^[6]。近年来黑龙江^[7]、广东^[8]、浙江^[9]等多地时有其引起食源性疾病的报告。该菌引起食源性疾病和死亡的主要原因是其产生的毒性代谢产物米酵菌酸(Bongkrekiic

收稿日期: 2023-05-12

基金项目: 四川省医学会项目(S20051)

作者简介: 黄伟峰 男 主管技师 研究方向为微生物检测

E-mail: hyc0608@163.com

通信作者: 杨小蓉 女 主任技师 研究方向为微生物检测

E-mail: yangyangxr@163.com

acid, BA)^[10]。BA生物合成基因簇 *bonR1R2 LJKFGABCDEHIM* 位于染色体1上,其编码蛋白是以模块化形式存在的I型聚酮合成酶^[11],在细胞内经过复杂的聚酮组装过程合成BA,其转录表达受调控基因 *bonR1* 和 *bonR2* 的调控^[12]。本研究首次对成都地区的菌菇类食品进行唐菖蒲伯克霍尔德菌污染情况的连续监测,并对分离菌株进行分子特征分析,为食品安全风险监测提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品来源

本研究2020—2021年共采集121份菌菇类食品样品,包括鲜银耳70份、鲜木耳28份和其他菌菇类23份(包括口蘑、茶树菇、姬松茸、金针菇、香菇、牛肝菌等),均来源于市区农贸市场和大型超市。

1.1.2 菌株来源

标准菌株:CICC 10574、CICC 25088、CICC 25089(本实验室保存);参比菌株:2株唐菖蒲伯克霍尔德菌食源性疾病病例分离株(云南省疾控中心惠赠);分离菌株:88株唐菖蒲伯克霍尔德菌,22株伯克霍尔德菌属的非唐菖蒲伯克霍尔德菌,分离自上述部分样品;质控菌株:大肠埃希氏菌 ATCC 25922 为质谱鉴定的质控菌株(本实验室保存)。

1.1.3 主要仪器与试剂

VITEK II Compact全自动微生物生化鉴定仪(法国 Biomerieux);EXS 3000全自动微生物质谱检测系统 MALDI-TOF MS(重庆中元);恒温培养箱(德国 BINDER);生物安全柜(美国 Thermo Fisher)等。

血琼脂平板(郑州安图);VITEK II Compact GN 鉴定卡(法国 Biomerieux);GVC 增菌液、改良马铃薯葡萄糖琼脂(mPDA)(青岛海博)、PCFA 培养基、脑心浸液(BHI)培养基;细菌基因组提取试剂盒(南京诺唯赞)等。

1.2 实验方法

1.2.1 菌株分离鉴定

菌株分离鉴定参照 GB 4789.29—2020《食品安全国家标准 食品微生物学检验 唐菖蒲伯克霍尔德菌(椰毒假单胞菌酵米面亚种)检验》^[13]中规定的方法,增加用微生物质谱初步鉴定选择性平板上的可疑菌落,分离纯化后用全自动微生物生化鉴定仪进行鉴定。

1.2.2 微生物质谱鉴定

挑取选择性平板上的可疑菌落均匀涂抹在样本靶点上;吸取1 μL 甲酸溶液覆盖靶点,干燥后覆盖1 μL 基质溶液,干燥后上机检测。根据质谱仪

操作说明书,以大肠埃希氏菌 ATCC 25922 作为质控菌株对质谱仪进行校准,满足校准结果后进行实验菌株测定。

1.2.3 全基因组测序及生物信息学分析

将菌株纯培养后,取单菌落接种于BHI培养基内,并于37℃培养箱内培养24 h。用DNA提取试剂盒提取基因组,采用华大 MGISEQ-2000 平台的 PE150 策略对细菌基因组进行测序。

使用 Trimmomatic v0.39 对下机的原始数据进行测序接头去除及低质量数据过滤;使用 SPAdes v3.15.5 对过滤后的数据进行拼接;以 DSM 11318 菌株为 *bon* 基因簇阳性参考菌株^[14],通过 BLAST 比对,找出分离株中携带的 *bon* 基因簇,并分析基因簇的结构组成。以参考菌株唐菖蒲伯克霍尔德菌 NCTC 12378(ATCC 10248)为标准序列,利用 Snippy v4.4.5 软件获得 SNPs,利用 iq-tree v2.0.6 构建基于 SNPs 系统发育进化树。

2 结果与分析

2.1 不同类型样品中唐菖蒲伯克霍尔德菌检出结果

经鉴定,121份样品中有61份检出唐菖蒲伯克霍尔德菌,检出率为50.41%。其中鲜银耳中有47份检出,检出率为67.14%(47/70);鲜木耳中有8份检出,检出率为28.57%(8/28);其他菌菇中有6份检出,检出率为26.07%(6/23),见表1。鲜银耳中唐菖蒲伯克霍尔德菌检出率显著高于鲜木耳样品($\chi^2=12.083$, $P<0.05$)和其他菌菇样品($\chi^2=11.905$, $P<0.05$)。

表1 不同类型样品中唐菖蒲伯克霍尔德菌检出情况

样品名称	样品数量/份	阳性数量/份	检出率/%
鲜银耳	70	47	67.14
鲜木耳	28	8	28.57
其他菌菇	23	6	26.09
总计	121	61	50.41

2.2 微生物质谱初筛与生化鉴定结果

随机选取上述部分食品样品中分离得到的64株微生物质谱初筛为伯克霍尔德菌属的菌株纯化后进行 VITEK 生化鉴定,与微生物质谱初筛结果对比见表2。微生物质谱初筛的42株唐菖蒲伯克霍尔德菌(均来源于上述88株分离菌株),与 VITEK 生化鉴定结果一致,符合率为100%;微生物质谱初筛的10株新洋葱伯克霍尔德菌、8株洋葱伯克霍尔德菌、4株越南伯克霍尔德菌、2株多噬伯克霍尔德菌, VITEK 生化鉴定结果均为洋葱伯克霍尔德菌群。

表2 微生物质谱初筛与生化鉴定结果比较

Table 2 Comparison of preliminary screening results of microbial mass spectrometry and biochemical identification results

鉴定方法	鉴定结果					
	菌种	唐菖蒲伯克霍尔德菌	新洋葱伯克霍尔德菌	洋葱伯克霍尔德菌	越南伯克霍尔德菌	多噬伯克霍尔德菌
质谱初筛	菌种	唐菖蒲伯克霍尔德菌	新洋葱伯克霍尔德菌	洋葱伯克霍尔德菌	越南伯克霍尔德菌	多噬伯克霍尔德菌
	数量/株	42	10	6	4	2
生化鉴定	菌种	唐菖蒲伯克霍尔德菌	洋葱伯克霍尔德菌群	洋葱伯克霍尔德菌群	洋葱伯克霍尔德菌群	洋葱伯克霍尔德菌群
	数量/株	42	10	6	4	2

2.3 唐菖蒲伯克霍尔德菌产米酵菌酸相关基因携带情况

对所有唐菖蒲伯克霍尔德菌株进行全基因组测序,分析其携带负责合成BA的 *bon* 基因情况,见图1。结果显示,所有94株菌株(包含3株标准菌株、88株食品分离菌株、2株食源性疾病分离菌株及1株参考菌株)均携带 *bonR1* 基因。其中2株食源性疾病分离株携带完整的 *bon* 基因簇;88株食品样品分离株中有5株菌株(分离自3份样品20210820、20210809和20210702)携带完整 *bon* 基因簇,5株菌株(分离自样品2022SCS037)含有除 *bonR2* 基因以外的 *bon* 基因,其余78株食品分离株及3株标准菌株只携带 *bonR1* 基因,不携带其他 *bon* 基因。

2.4 唐菖蒲伯克霍尔德菌聚类分析

对全基因组测序数据进行进化树分析,94株唐菖蒲伯克霍尔德菌可分为多个分支,见图1。最大一个分支由亲缘关系非常近的55个菌株组成,主要来源于鲜银耳,少量来源于鲜木耳、鲜香菇和口蘑,且采样于不同时间、不同地点,但未携带 *bon* 基因簇。其他分支中,也有部分不同样品的分离株,可能来源于同一克隆株,主要分离自银耳样品,如:TCP20210824-1和TCP20210805-1、TCP2022SCS008-3和TCP2022SCS014-3。来源于同一份样品的不同分离株间的同源性非常近,如样品TCP20210820两个分离株、TCP2022SCS010两个分离株、TCP2022SCS010两个分离株等,都达到了100%。携带完整的 *bon* 基因簇的食品分离株TCP20210820-1、TCP20210820-2、TCP20210809-1、TCP20210809-2与2株食源性疾病分离株TCP201201、TCP201402处于同一分支上,亲缘关系均较近,与菌株TCP20210702-3的亲缘关系较远。来源于同一份样品2022SCS037的5株不同分离株亲缘关系与上述携带完整的 *bon* 基因簇的7个菌株稍远,与TCP20210616、TCP20210719-3不携带 *bon* 基因的2个菌株稍近。

3 讨论

我国东北地区、云贵地区发生唐菖蒲伯克霍尔德菌引起的食源性疾病,多因食用发酵玉米面制品而引发的,山东、河南发生过因食用变质鲜银耳、木耳导致中毒。有文献报道,我国食品中唐菖蒲伯克

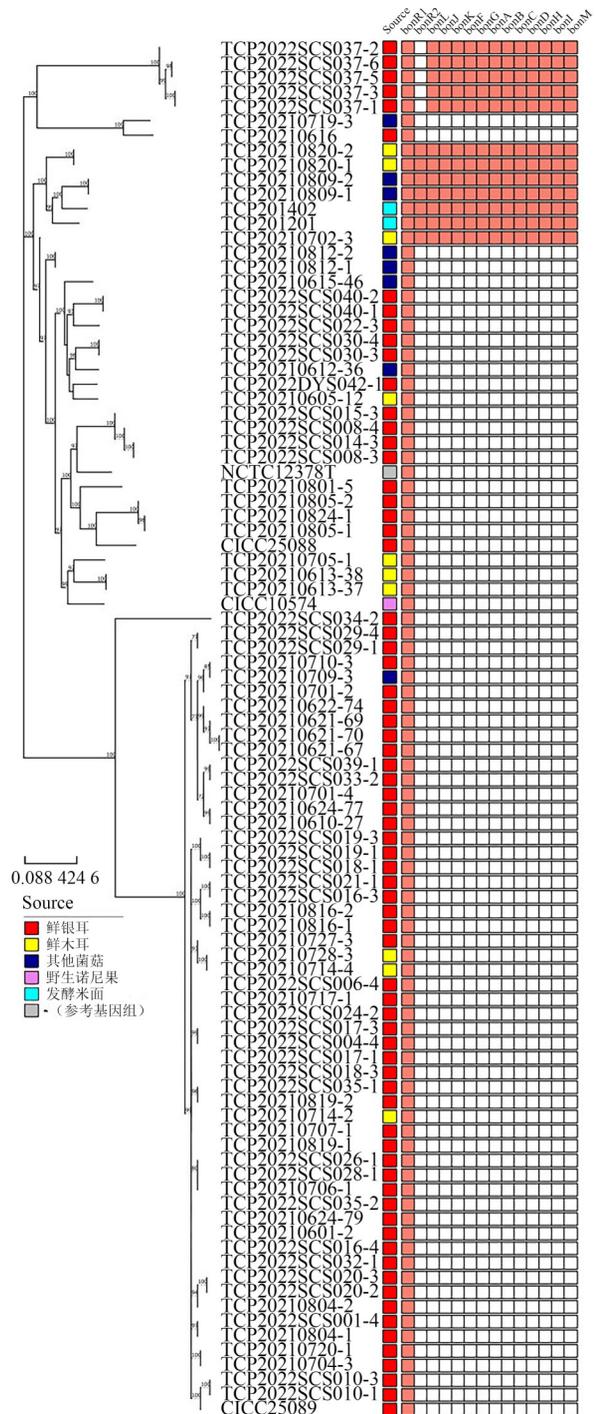


图1 唐菖蒲伯克霍尔德菌聚类分析情况

Figure 1 Cluster analysis of *Burkholderia gladioli*

霍尔德菌污染程度依次为鲜银耳、其他谷类、酵米面、干银耳,鲜银耳中的检出率为4.04%~8.41%^[15]。本研究结果显示成都地区121份样品中唐菖蒲伯克霍尔德菌的检出率为50.41%,其中鲜银耳的检

出率达到 67.14%，显著高于鲜木耳和其他菌菇类样品，也明显高于文献报道鲜银耳中的检出率^[15]，可能由两个原因导致：一是样品来源不同，不同地方鲜银耳生产和运输的环境不同，污染情况也不同；二是检验方法不同，之前的检验方法选用 PDA 作为分离培养基，培养基选择性较差，菌落形态不易与干扰菌区分；本研究采用 GB 4789.29—2020 检验方法，选取 mPDA 和 PCFA 作为选择性培养基，能抑制大多数干扰菌生长，容易挑取目的菌落，并且增加了直接从选择性培养基上挑取可疑菌落进行微生物质谱初筛方法，能尽可能多地挑取可疑菌落，提高鉴定效率，很大程度上提高了唐菖蒲伯克霍尔德菌的检出率。本研究中，微生物质谱对唐菖蒲伯克霍尔德菌鉴定结果与 VITEK 生化鉴定结果一致，因此在唐菖蒲伯克霍尔德菌的检验中，可推荐使用微生物质谱方法初筛选择性培养基上可疑菌落，初筛阳性菌落再分离纯化进行下一步实验，这样可以缩短检测时间，提高检测效率。

目前 BA 的检测主要参照 GB 4789.29—2020 和 GB 5009.189—2016^[16]用动物实验和高效液相色谱法^[17]，其产毒培养操作比较烦琐，且耗时长，至少需要 6 天时间，导致检测结果的报告时限较长。张小波等^[18]开发了一种包被 BA 单克隆抗体的检测卡，基于荧光层析技术，通过比较荧光显色强弱实现对 BA 的快速定量检测，该方法适用于相应的现场调查检测，并可以辅助 BA 相关食源性疾病的诊断，但目前还未上市。此外，王晓雯等^[19]根据唐菖蒲伯克霍尔德菌椰毒致病型菌株 Co14 的 BA 生物合成基因 *bonM* 序列，设计一对特异性引物和一个 TaqMan 探针，通过实时荧光 PCR，能更快速检测分离菌株产 BA 的能力，可应用于产毒菌株的快速检测中。BA 生物合成是多个相关基因簇共同作用的，容易存在突变及缺失导致某些菌株可能只携带部分产毒基因，单独检测某一个产毒基因不能准确预测其产毒能力。如本研究中样品 2022SCS037 的 5 株食品样品分离株缺失 *bonR2* 基因，是参与合成 *bon* 的相关调控基因，可能影响 BA 的合成，缺失 *bon* 相关基因菌株的产毒能力还需要产毒实验验证。本研究通过全基因组测序，分析其携带整个 BA 的 *bon* 基因簇的情况，相比 PCR 检测，本方法能更准确判定其是否具备合成 BA 的能力。

本研究在不同月份、不同地点采购的银耳、木耳等菌菇类食品中均有检出唐菖蒲伯克霍尔德菌，对其进行全基因组测序发现这些菌株有多个进化分支，说明污染途径和污染菌株也是多样的，存在优势克隆群菌株污染不同种类菌菇食品，未发现同

一样品中污染不同类型的唐菖蒲伯克霍尔德菌。唐菖蒲伯克霍尔德菌株耐药性很强^[20]，又极易在定殖基质的表面形成难以清除的生物膜，导致对其进行有效防控面临很大困难。本研究 121 份样品中的 4 份有携带完整的 *bon* 基因的唐菖蒲伯克霍尔德菌，在合适的环境条件下可能会产生 BA，说明食用此类食品有一定的风险会引起食源性疾病。因此，需要加强携带 *bon* 基因簇唐菖蒲伯克霍尔德菌的监测，以及相关食源性疾病预防知识的宣传，从食物源头进行预防，减少食源性疾病事件的发生。

参考文献

- [1] 杨庆文, 国译丹, 周惠新, 等. 云南省首起唐菖蒲伯克霍尔德菌食物中毒的鉴定与分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2013, 23(17): 3363-3364.
YANG Q W, GUO Y D, ZHOU H X, et al. Identification and analysis of the first *Burkholderia gladioli* strain from food poisoning in Yunnan [J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2013, 23(17): 3363-3364.
- [2] 赵凌国, 雷蕾, 孙健, 等. 一起米酵菌酸中毒事件的病因学诊断[J]. 中国食品卫生杂志, 2022, 34(3): 606-610.
ZHAO L G, LEI L, SUN J, et al. Etiology diagnosis of a food poisoning incident caused by bongkrekic acid [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2022, 34(3): 606-610.
- [3] 张俊梅. 一起因食用变质银耳引起的椰毒假单胞菌酵米面亚种食物中毒调查报告[J]. 中国医药指南, 2015, 13(3): 286-286.
ZHANG J M. Investigation report on a food poisoning caused by *Pseudomonas cocovenans* subsp. Fermented rice flour caused by eating deteriorated tremella fuciformis [J]. Guide of China Medicine, 2015, 13(3): 286-287
- [4] COENYE T, HOLMES B, KERSTERS K, et al. *Burkholderia cocovenans* (van Damme et al. 1960) Gillis et al. 1995 and *Burkholderia vandii* Urakamiet al. 1994 are junior synonyms of *Burkholderia gladioli* (Severini 1913) Yabuuchi et al. 1993 and *Burkholderia plantarii* (Azegamiet al. 1987) Urakamiet al. 1994, respectively [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 1999, 49(1): 37-42.
- [5] 李晓琰, 杨祖顺, 国译丹, 等. 椰毒假单胞菌酵米面亚种食物中毒的病原分离鉴定[J]. 中国食品卫生杂志, 2016, 28(1): 36-39.
LI X L, YANG Z S, GUO Y D, et al. Isolation and identification of *Pseudomonas cocovenans* subsp. Farino fermentans from food poisoning accident [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2016, 28(1): 36-39.
- [6] FALCONER T M, KERN S E, BRZEZINSKI J L, et al. Identification of the potent toxin bongkrekic acid in a traditional African beverage linked to a fatal outbreak [J]. Forensic Science International, 2017, 270: e5-e11.
- [7] 杨桦. 试论椰毒假单胞菌引发食物中毒的成因及防治措施——以黑龙江省鸡西市“酸汤子”食物中毒事件为例[J]. 现代食品, 2021, 16: 168-170.
YANG H. Discussion on the causes and prevention measures of

- food poisoning caused by *Pseudomonas cocovenenans*—taking the “Suan-Tang-zi” food poisoning in Jixi city, Heilongjiang Province as an example[J]. *Modern Food*, 2021, 16: 168-170.
- [8] 王海燕, 宋曼丹, 王建, 等. 广东省首起米粉米酵菌酸中毒病原菌鉴定研究[J]. *中国食品卫生杂志*, 2019, 31(4): 394-398.
- WANG H Y, SONG M D, WANG J, et al. Identification of the pathogen in rice noodles in relation to food poisoning caused by bongkreki acid in Guangdong Province[J]. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 2019, 31(4): 394-398.
- [9] 申屠平平, 朱珈慧, 徐小民, 等. 一起椰毒假单胞菌酵米面亚种引起的食物中毒调查[J]. *上海预防医学*, 2019, 31(6): 466-468.
- SHENTU P P, ZHU J H, XU X M, et al. A food poisoning incident caused by pseudomonas cocovenenans subsp. farinofermentans [J]. *Shanghai Journal of Preventive Medicine*, 2019, 31(6): 466-468.
- [10] 彭子欣. 唐菖蒲伯克霍尔德菌米酵菌酸生物合成机制[J]. *卫生研究*, 2020, 49(2): 336-338.
- PENG Z X. Biosynthesis mechanism of acids from *Rhizoctonia Gladioli* and *Burkholderia oryzae* [J]. *Journal of Hygiene Research*, 2020, 49(2): 336-338.
- [11] 彭子欣, 陈雪, 李孟寒, 等. 唐菖蒲伯克霍尔德菌椰毒致病型菌株 Co14 毒力相关基因解析[J]. *中国食品卫生杂志*, 2018, 30(6): 558-562.
- PENG Z X, CHEN X, LI M H, et al. Analyzing the virulence factor biosynthesis genes of a foodborne pathogen *Burkholderia gladioli* pv. cocovenenans strain Co14 [J]. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 2018, 30(6): 558-562.
- [12] ROHM B, SCHERLACH K, HERTWECK C. Biosynthesis of the mitochondrial adenine nucleotide translocase (ATPase) inhibitor bongkreki acid in *Burkholderia gladioli* [J]. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 2010, 8(7): 1520-1522.
- [13] 国家卫生健康委员会, 国家市场监督管理总局. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 唐菖蒲伯克霍尔德氏菌(椰毒假单胞菌酵米面亚种)检验: GB 4789.29—2020[S]. 北京: 中国标准出版社, 2020.
- National Health Commission, State Administration for Market Regulation. GB 4789.29—2020 National Standard for Food Safety: food microbiology test of *Burkholderia gladioli* (*Pseudomonas cocovenenans* subsp. farinofermentans) [S]. Beijing: Standards Press of China, 2020.
- [14] MOEBIUS N, ROSS C, SCHERLACH K, et al. Biosynthesis of the respiratory toxin bongkreki acid in the pathogenic bacterium *Burkholderia gladioli* [J]. *Chemistry & Biology*, 2012, 19(9): 1164-1174.
- [15] 陈炳卿. 营养与食品卫生学(第四版)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 320-323.
- CHEN B Q. *Nutrition and Food Hygiene (Fourth Edition)* [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2002: 320-323
- [16] 国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准 食品中米酵菌酸的测定: GB 5009.189—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- National Health and Family Planning Commission, State Food and Drug Administration. GB 5009.189—2016 National Standard for Food Safety: determination of Bongkreki acid in food [S]. Beijing: Standards Press of China, 2017.
- [17] 卢宇剑, 刘华良. 米酵菌酸的相关检测方法研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(8): 3273-3280.
- LU Y J, LIU H L. Research progress on related detection methods of bongkreki acid [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2021, 12(8): 3273-3280.
- [18] 张小波, 温国原, 辛苗苗, 等. 米酵菌酸荧光定量检测卡的开发和应用[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(11): 3584-3589.
- ZHANG X B, WEN G Y, XIN M M, et al. Development and application of fluorescence quantitative detection card for bongkreki acid [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2019, 10(11): 3584-3589.
- [19] 王晓雯, 陈晶, 陈国培, 等. 唐菖蒲伯克霍尔德氏菌椰毒致病型实时荧光PCR方法的建立[J]. *食品科技*, 2022, 47(1): 330-335.
- WANG X W, CHEN J, CHEN G P, et al. Developing a novel method detecting *Burkholderia gladioli* Pv. Cocovenenans by real-time fluorescent PCR [J]. *Food Science and Technology*, 2022, 47(1): 330-335.
- [20] IMATAKI O, KITA N, NAKAYAMA-IMAOHJI H, et al. Bronchiolitis and bacteraemia caused by *Burkholderia gladioli* in a non-lung transplantation patient [J]. *New Microbes and New Infections*, 2014, 2(6): 175-176.