

## 食物中毒

## 广东省首起米粉米酵菌酸中毒病原菌鉴定研究

王海燕,宋曼丹,王建,赖蔚苓,杨冰,朱海明,陈秋霞

(广东省疾病预防控制中心,广东广州 511430)

**摘要:**目的 对广东省首次因食用河粉引起米酵菌酸中毒的病原菌进行检测、鉴定和分析。方法 病原菌的分离和鉴定参照 GB/T 4789.29—2003《食品卫生微生物学检验 椰毒假单胞菌酵米面亚种检验》,同时采用 16S rDNA 序列测序进行分子鉴定。结果 31 份食物中毒相关食品样品中有 10 份检出伯克霍尔德菌(28 株),包括唐菖蒲伯克霍尔德菌(15 株)、洋葱伯克霍尔德菌(3 株)、越南伯克霍尔德菌(3 株)等,经 16S rDNA 的序列测定、产毒培养、米酵菌酸测定、毒力试验等分析,在 3 份样品中检出 14 株可产生米酵菌酸的唐菖蒲伯克霍尔德菌。结论 采用生化并结合 16S rDNA 序列测定鉴定唐菖蒲伯克霍尔德菌,结合产毒试验可确定为引起米酵菌酸食物中毒的是唐菖蒲伯克霍尔德椰毒致病种。

**关键词:**米酵菌酸;唐菖蒲伯克霍尔德菌;食物中毒

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2019)04-0394-05

DOI:10.13590/j.cjfh.2019.04.019

### Identification of the pathogen in rice noodles in relation to food poisoning caused by bongkreikic acid in Guangdong Province

WANG Haiyan, SONG Mandan, WANG Jian, LAI Weidong, YANG Bing,  
ZHU Haiming, CHEN Qiuxia

(Guangdong Provincial Center for Disease Control and Prevention, Guangdong Guangzhou 511430, China)

**Abstract: Objective** To isolate and identify the pathogenic bacteria in the first food poisoning related to bongkreikic acid in Guangdong Province. **Methods** The pathogenic bacteria was isolated and identified according to GB/T 4789.29-2003 *Microbiological Examination of Food Hygiene, Examination of Pseudomonas cocovenenans* subsp. *farino fermentans*. Meanwhile, 16S rDNA sequence of the isolates were analyzed. **Results** In 31 related food samples, 28 strains of *Burkholderia* spp. were isolated, including *Burkholderia gladioli* (15), *Burkholderia cepacia* (3), *Burkholderia vietnamiensis* (3) etc. By 16S rDNA sequencing, in vitro toxin-producing test and bongkreikic acid measuring, 14 *Burkholderia gladioli* isolates were identified as specific pathovar in 3 food samples. **Conclusion** It suggests that *Burkholderia gladioli* could be identified by biochemical test and 16S rDNA sequence analysis. The *Burkholderia gladioli* pathovar which could produce bongkreikic acid was responsible for food poisoning, combined with toxin production.

**Key words:** Bongkreikic acid; *Burkholderia gladioli*; food poisoning

伯克霍尔德菌属(*Burkholderia*)现报道约有 25 种,对人类致病的有洋葱伯克霍尔德菌(*B.cepacia*)、类鼻疽伯克霍尔德菌(*B.pseudomallei*)和唐菖蒲伯克霍尔德菌(*B.gladioli*)。其中引起人类食物中毒的为唐菖蒲伯克霍尔德菌椰毒致病种(*B.gladioli* pv.*cocovenenans*)<sup>[1]</sup>,在我国也被称为椰毒假单胞菌酵米面亚种,其代谢产物米酵菌酸(bongkreikic acid, BA)是一种具有较强生物活性的毒素,是该菌食物

中毒和死亡的主要原因。临床症状表现为恶心、呕吐、腹痛、腹胀等,重症者出现黄疸、腹水、皮下出血、惊厥、抽搐、血尿、血便等肝脑肾实质性器官损害症状<sup>[2-3]</sup>。米酵菌酸食物中毒是一种病死率较高的细菌性食源性疾病,流行于印度尼西亚和我国东北、西南等部分地区<sup>[4-6]</sup>。2018 年 11 月广东省东莞市先后出现 5 例不明原因急性肝衰竭的病例,其中 3 例死亡,患者血液标本中均检出高浓度米酵菌酸。流行病学调查结果提示,5 位患者在不同的 3 个摊档均有进食同一厂家生产、同一销售代理出售的米粉,为明确污染食品及产生米酵菌酸的病原菌,实验室对相关食品开展了病原学检测研究。

收稿日期:2019-07-02

作者简介:王海燕 女 主管技师 研究方向为食源性致病菌

E-mail:1013389311@qq.com

通信作者:陈秋霞 女 主任医师 研究方向为病原微生物

E-mail:74310850@qq.com

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 病例基本情况

现场调查发现,5例病例症状相似,无发热症状,起病急,初期为恶心、呕吐、腹痛、腹泻,并迅速进展为以急性肝功能损害为主要特点,病例发病前24 h均在外食用米粉,且2例死亡病例有同在流动档A的进食史,1例死亡病例在流动档B进食,另2例治愈病例在同一固定档进食,5例病例血液标本中均检出米酵菌酸(浓度范围为70.0~345.2  $\mu\text{g/L}$ ),临床症状和潜伏期均符合米酵菌酸中毒的特点<sup>[7]</sup>,流行病学调查确定米粉为高危暴露食品。

#### 1.1.2 样品来源

采集生产、流通和消费环节的食品样品共31份,其中消费环节样品8份,为3名死亡患者在2个不同食品摊档(流动档A和B)就餐的剩余米粉样品;流通环节样品1份,为同时给流动档A和B供应米粉的销售代理所剩余的米粉;生产环节样品22份,包括米粉生产厂家的生产废物(米浆渣)、生产原料(米浆水)和成品样品。

#### 1.1.3 主要仪器与试剂

VITEK2 COMPACT 微生物生化鉴定仪(法国生物梅里埃)、生化培养箱、AB SCIEX 5500 液相色谱-串联质谱仪(美国 AB)、分析天平(0.01 mg)、台式离心机、ACQUITY UPLC® BEH C<sub>18</sub> 色谱柱(美国 Waters,2.1 mm×150 mm,1.7  $\mu\text{m}$ )。

GN 鉴定卡和 API 20NE 测试条均购自法国生物梅里埃,基因组 DNA 提取试剂盒(德国 Qiagen),米酵菌酸标准品(美国 Sigma, Lot: 06191801, 100  $\mu\text{g/ml}$ ),甲醇、乙酸、乙酸铵均为色谱纯,GVC 增菌液、马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)平板、卵黄平板、mPDA 平板、SS 平板、血平板、PDA 半固体平板(直径 12 cm)、PDA 半固体、蔗糖、纤维二糖等均购自广东环凯微生物科技有限公司,并于有效期内使用。

### 1.2 方法

按照 GB/T 4789.29—2003《食品卫生微生物学检验 椰毒假单胞菌酵米面亚种检验》<sup>[8]</sup> 执行菌株的分离、鉴定、产毒和毒性试验等研究。

#### 1.2.1 菌株分离

采用 GVC 增菌液对食品样品(36±1)°C 增菌 24~48 h 后,分别划线接种于 PDA 平板和 mPDA 平板,(36±1)°C 培养 24 h,同时点种卵黄平板(36±1)°C 培养 48 h、划线 SS 平板(36±1)°C 培养 24 h,观察菌落特征。

#### 1.2.2 菌株鉴定

采用 GN 鉴定卡、API 20NE 测试条分别对目标

菌株进行生化鉴定,并补充蔗糖、纤维二糖试验。采用血平板进行 42 °C 生长试验,穿刺接种 PDA 半固体试管,(36±1)°C 培养 24 h 观察动力,取出后放(26±1)°C 培养 5 d,观察黄绿素产生。

#### 1.2.3 16S rDNA 测定和分析

将菌落制成 0.5 麦氏浊度的菌悬液,取 1.0 ml 菌液至 1.5 ml 离心管中进行 DNA 提取,操作按照基因组 DNA 提取试剂盒的说明书进行,由广州昊天生物科技公司进行测序,将测序结果与 GenBank 中数据库进行 BLAST 比对分析。

#### 1.2.4 产毒试验

将新鲜培养的菌落用生理盐水制成 1.0 麦氏浊度的菌悬液,取 0.5 ml 菌液加至铺有亲水玻璃纸的 PDA 半固体平板上(每皿 100 ml 培养基),用 L 棒涂布均匀,置(26±1)°C 培养 5 d,取出玻璃纸,将平板 100 °C 蒸 30 min,冷冻后置-30 °C 冰箱过夜,第二天取出平板,置室温,待液体析出,收集液体,经 8 000 r/min 离心 10 min(离心半径 10 cm),取上清液用于毒素测定和毒力试验。

#### 1.2.5 米酵菌酸测定

参考文献[9],采用液相色谱-串联质谱法测定米酵菌酸。准确吸取 0.10 ml 米酵菌酸标准溶液(100  $\mu\text{g/ml}$ )用甲醇定容至 100 ml,并逐级稀释,配制成 1、2、5、10、20、50、100 ng/ml 的标准浓度系列,取产毒培养收集的上清液 0.3 ml,加 1 ml 甲醇,涡旋,2 000 r/min 离心 3 min(离心半径 3.6 cm),上机(阳性样品需做 1 000 倍稀释)。以外标法对样品中米酵菌酸进行定量。米酵菌酸化合物的检出限和定量限分别为 2 和 6  $\mu\text{g/L}$ 。

#### 1.2.6 毒性试验

选取无特定病原体动物(SPF 级)昆明种雌性小白鼠(体质量 18~22 g)作为实验动物,根据米酵菌酸测定结果,选取米酵菌酸测定阳性的 14 份培养物、米酵菌酸测定为阴性的 2 份培养物作为对照进行动物试验。每份培养物样品取 0.5 ml 灌胃小白鼠 3 只,观察受试动物反应和死亡情况。

## 2 结果

### 2.1 菌落生长特征

31 份样品中有 10 份样品分离到 28 株可疑菌株,检出率为 32.3%(10/31),见表 1。可疑菌株在 PDA 平板上菌落为直径 1~2 mm、湿润、光滑的凸起;在 mPDA 平板上菌落呈紫色,直径 1~2 mm,其颜色深浅与平板的湿度相关,平板湿则颜色浅;卵黄平板 36 °C 培养 48 h,直径达 1~3 mm,可观察到菌落周围呈虹彩现象,部分菌株在卵黄平板上菌落

周围有沉淀环,沉淀环外有半透明圈;在 SS 平板上 见黄色素扩散。  
均不生长,部分菌株接种至 PDA 半固体培养 5 d 可

表 1 样品信息及菌株分离结果

Table 1 Sample information and isolation results

样品编号	样品类别	来源	分离菌株数	样品编号	样品类别	来源	分离菌株数
1	米粉	流动档 A	8	17	米粉	生产厂家	0
2	米粉	流动档 A	6	18	米粉	生产厂家	0
3	米粉	生产厂家	0	19	米粉	销售代理商	7
4	米粉	生产厂家	0	20	米粉	流动档 B	0
5	米粉	生产厂家	0	21	米粉	流动档 B	0
6	米粉	生产厂家	0	22	米粉	流动档 B	0
7	米粉	生产厂家	0	23	米粉	流动档 B	0
8	米粉	生产厂家	0	24	米粉	流动档 B	0
9	米粉	生产厂家	0	25	米粉	流动档 B	1
10	米粉	生产厂家	0	26	米浆渣	生产厂家	1
11	米粉	生产厂家	0	27	米浆水	生产厂家	1
12	米粉	生产厂家	0	28	米浆水	生产厂家	1
13	米粉	生产厂家	0	29	米浆水	生产厂家	1
14	米粉	生产厂家	0	30	米浆水	生产厂家	1
15	米粉	生产厂家	0	31	米浆水	生产厂家	1
16	米粉	生产厂家	0				

注:米浆渣为生产废物;米浆水为生产原料

2.2 菌株生化鉴定

将可疑菌株接种 PDA 斜面,置培养箱 36 ℃ 培养 24 h,挑取少量菌苔,进行生化试验,同时采用 VITEK2 COMPACT 微生物生化鉴定仪和 API 20NE 测试条进行鉴定。可疑菌株的蔗糖、硫化氢、苯丙

氨酸、肌醇、卫茅醇的生化反应均为阴性,西氏柠檬酸盐均为阳性,其他生化结果见表 2。VITEK2 鉴定结果为洋葱伯克霍尔德菌群、唐菖蒲伯克霍尔德菌和少动鞘氨醇单胞菌 (*Sphingomonas paucimobilis*), API 20NE 补充蔗糖、纤维二糖反应后,确认均为阴

表 2 分离菌株的培养特征和生化鉴定结果

Table 2 Culture characteristics and biochemical identification results of the isolates

菌株编号	卵黄平板		42 ℃ 生长	产毒	动力	黄绿素	纤维二糖	葡萄糖	果糖	木糖	半乳糖	阿拉伯糖	甘露醇	侧金盏花醇	明胶 (API)	尿素 (API)	硝酸盐还原 (API)
	沉淀环	半透明圈															
19-1	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+
19-2	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
19-3	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
19-4	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
19-5	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+
19-6	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+
19-7	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
1-1	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+
1-2	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
1-3	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
1-4	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
1-5	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
1-6	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+
1-7	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
1-8	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
2-1	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
2-2	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
2-3	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
2-4	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
2-5	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
2-6	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
25	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
26	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
27	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-
28	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
29	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+
30	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	+	+
31	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+

注: + 表示结果阳性; - 表示结果阴性; 菌株编号为样品编号-菌株序号

性,结果提示可能为唐菖蒲伯克霍尔德菌;16S rDNA 测序分析结果将可疑菌株均鉴定为伯克霍尔

德菌属,但部分菌株不能很好区分到种,结果见表3。

表3 分离菌株的生化鉴定、16S rDNA 测序和毒素试验结果

Table 3 Results of the culture characteristics, 16S rDNA sequencing and toxin test

菌株编号	VITEK2 结果	API 20NE 生化条码及结果	16S rDNA 测序结果	产毒测定	
				米酵菌酸浓度/(mg/L)	动物试验
19-1	<i>B.cepacia</i> group	1477573,可能为 <i>B.gладиolo</i>	<i>B.gладиolo</i>	266	+
19-2	<i>B.gладиolo</i>	1477573,可能为 <i>B.gладиolo</i>	<i>B.gладиolo</i>	204	+
19-3	<i>B.cepacia</i> group	0477573,可能为 <i>B.gладиolo</i>	<i>B.gладиolo</i>	194	+
19-4	<i>B.gладиolo</i>	1477573,可能为 <i>B.gладиolo</i>	<i>B.gладиolo</i>	39.1	+
19-5	<i>B.gладиolo</i>	1677573,可能为 <i>B.gладиolo</i>	<i>B.gладиolo</i>	250	+
19-6	<i>B.gладиolo</i>	1477573,可能为 <i>B.gладиolo</i>	<i>B.gладиolo</i>	228	+
19-7	<i>B.cepacia</i> group	5067673,可能为 <i>B.gладиolo</i>	<i>B.territorii</i>	—	未检测
1-1	<i>B.cepacia</i> group	1267573,可能为 <i>B.gладиolo</i>	<i>B.vietnamiensis</i>	—	未检测
1-2	<i>B.gладиolo</i>	1477573,可能为 <i>B.gладиolo</i>	<i>B.gладиolo</i>	214	+
1-3	<i>B.gладиolo</i>	1677573,可能为 <i>B.gладиolo</i>	<i>B.gладиolo</i>	259	+
1-4	<i>B.gладиolo</i>	0477573,可能为 <i>B.gладиolo</i>	<i>B.gладиolo</i>	263	+
1-5	<i>B.gладиolo</i>	1477573,可能为 <i>B.gладиolo</i>	<i>B.gладиolo</i>	254	+
1-6	<i>B.gладиolo</i>	1477573,可能为 <i>B.gладиolo</i>	<i>B.gладиolo</i>	295	+
1-7	<i>B.cepacia</i> group	1477573,可能为 <i>B.gладиolo</i>	<i>B.gладиolo</i>	307	+
1-8	<i>B.cepacia</i> group	1477573,可能为 <i>B.gладиolo</i>	<i>B.cepacia</i>	—	未检测
2-1	<i>B.cepacia</i> group	0477573,可能为 <i>B.gладиolo</i>	<i>B.cepacia</i>	—	未检测
2-2	<i>B.cepacia</i> group	0477573,可能为 <i>B.gладиolo</i>	<i>B.cepacia</i>	—	未检测
2-3	<i>B.gладиolo</i>	1677573,可能为 <i>B.gладиolo</i>	<i>B.gладиolo</i>	—	—
2-4	<i>B.cepacia</i> group	1477573,可能为 <i>B.gладиolo</i>	<i>B.gладиolo</i>	193	+
2-5	<i>B.gладиolo</i>	1477573,可能为 <i>B.gладиolo</i>	<i>B.gладиolo</i>	278	+
2-6	<i>B.cepacia</i> group	5477573,可能为 <i>B.gладиolo</i>	<i>B.anthina</i>	—	未检测
25	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	7077573,可能为 <i>B.gладиolo</i>	<i>B.cepacia/B.cenocepacia</i>	—	未检测
26	<i>B.cepacia</i> group	1467773,可能为 <i>B.gладиolo</i>	<i>B.cepacia/B.vietnamiensis</i>	—	未检测
27	<i>B.cepacia</i> group	0267573,可能为 <i>B.gладиolo</i>	<i>B.vietnamiensis</i>	—	未检测
28	<i>B.cepacia</i> group	1267563,可能为 <i>B.gладиolo</i>	<i>B.cepacia/B.vietnamiensis</i>	—	未检测
29	<i>B.cepacia</i> group	1067553,可能为 <i>B.gладиolo</i>	<i>B.cepacia/B.vietnamiensis</i>	—	未检测
30	<i>B.cepacia</i> group	1267573,可能为 <i>B.gладиolo</i>	<i>B.cepacia/B.vietnamiensis</i>	—	未检测
31	<i>B.cepacia</i> group	1067563,可能为 <i>B.gладиolo</i>	<i>B.vietnamiensis</i>	—	—

注: +表示受试动物呈中毒反应并死亡; —表示未检出或受试动物无中毒未死亡; *B.vietnamiensis* 为越南伯克霍尔德菌; *B.anthina* 为淡紫伯克霍尔德菌; *B.territorii* 为地区伯克霍尔德菌; *B.cenocepacia* 为新洋葱伯克霍尔德菌; 菌株编号为样品编号-菌株序号

## 2.3 米酵菌酸测定和动物试验

### 2.3.1 米酵菌酸测定

采用液相色谱-串联质谱仪进行米酵菌酸测定,唐菖蒲伯克霍尔德菌分为产毒和不产毒菌株,产毒菌株米酵菌酸浓度范围为 39.1~307 mg/L,平均值为 229 mg/L,具体结果见表3,鉴定为其他伯克霍尔德菌的菌株均未产生米酵菌酸毒素。

### 2.3.2 动物试验

取从1、2、19号样品中分离培养得到的14份经液相色谱-串联质谱测定米酵菌酸为阳性的培养物,对小白鼠进行灌胃,1 h内小白鼠均相继发病并死亡,主要症状为竖毛、萎靡不振、行步蹒跚、瘫软、抽搐、呈角弓反张、呼吸急促、死亡。2份米酵菌酸阴性的对照试验未观察到小白鼠发病和死亡,动物试验结果与米酵菌酸液相色谱-串联质谱检测结果一致。

## 3 讨论

米酵菌酸食物中毒在我国是一种病死率高且严重威胁消费者健康和食品安全的食源性疾病,据文献查询本次米酵菌酸引起的食物中毒在广东省尚属首次。20世纪70年代我国科学家经研究确定米酵菌酸为椰毒假单胞菌酵米面亚种产生的毒性代谢产物,但近二十年随着技术的发展和研究的深入,经16S rDNA测定、DNA-DNA杂交、DNA-rRNA同源性分析、表型特征分析等,已将椰毒假单胞菌酵米面亚种归为伯克霍尔德菌属,因与唐菖蒲伯克霍尔德菌亲缘关系最近,因此将其归入唐菖蒲伯克霍尔德菌,称之为唐菖蒲伯克霍尔德菌椰毒致病变种<sup>[10-13]</sup>。

样品分离结果显示,伯克霍尔德菌在中毒相关食品中检出率较高(32.3%),包括唐菖蒲伯克霍尔德菌、洋葱伯克霍尔德菌、越南伯克霍尔德菌等不

同种,其中唐菖蒲伯克霍尔德菌产毒与不产毒株、伯克霍尔德菌属的不同种在 PDA 和 mPDA 平板上的菌落形态没有特征性差别。在血平板上培养 24 h,唐菖蒲伯克霍尔德菌产毒菌株可见不溶血的灰白色菌落,菌苔发红,随培养时间延长,红色消失,但不产毒菌株未观察到该特征,是否为产毒菌株的特异性变化有待进一步证实。

对分离菌株进行生化鉴定,唐菖蒲伯克霍尔德菌产毒菌株在卵黄平板上均产生沉淀环、42℃血平板不生长、产黄绿色素,而不产毒菌株除无明显沉淀环外,其他生化反应无明显差别,因此通过生化反应难以鉴别唐菖蒲伯克霍尔德菌是否产毒;但本次检测结果提示,在卵黄平板上产生沉淀环、42℃血平板不生长、产黄绿色素可作为鉴别唐菖蒲伯克霍尔德菌与伯克霍尔德菌属其他种的关键生化特征;而蔗糖、纤维二糖、葡萄糖、果糖、木糖、半乳糖、阿拉伯糖、甘露醇、肌醇、卫茅醇和侧金盏花醇等生化反应多为伯克霍尔德菌属的特征,不能用于鉴别唐菖蒲伯克霍尔德菌与伯克霍尔德菌属其他种。采用 VITEK2 鉴定分离菌株,结果为洋葱伯克霍尔德菌群和唐菖蒲伯克霍尔德菌,而 API 20NE 检测经补充蔗糖、纤维二糖反应后鉴定结果均可能为唐菖蒲伯克霍尔德菌;采用 16S rDNA 测序和比对分析发现,分离菌株均为伯克霍尔德菌,但部分菌株不能准确鉴定到种,但总的来说 16S rDNA 测序结果更为可靠。这一结果在其他文献<sup>[14-18]</sup>中也见报道,但由于分离菌株数量有限,尚需对唐菖蒲伯克霍尔德菌开展更多的分析和研究。

在检测中发现即使生化反应、16S rDNA 测序鉴定为唐菖蒲伯克霍尔德菌的菌株,也分为产毒和不产毒菌株,因此产毒培养、米酵菌酸测定或毒力试验是明确唐菖蒲伯克霍尔德菌产毒菌株必不可少的关键步骤。在实际工作中,为缩短检测时间,提高检测效率,建议经生化鉴定后直接进行产毒培养和毒素测定,可尽快明确病原体,为该菌引发的食源性疾病预防提供技术支撑。

在本次食物中毒中,生产环节的废渣、原料及成品未检出唐菖蒲伯克霍尔德菌产毒菌株,流通及消费环节的样品检出了产毒病原菌。此类成品多为散装,在流通环节容易被污染,若周转时间长,贮藏温度不当,在高温高湿的条件下会增加产毒的风险,而米酵菌酸耐热性强,通常的烹调加热不能将其破坏,因此需注意严格控制食品尤其是水分含量高的食品的贮藏时间和温度,尽量冷藏,尽早食用,以避免此类中毒的发生。

(志谢 广东省疾病预防控制中心理化与毒理的同事

们的大力支持与帮助)

## 参考文献

- [1] ZHAO N X, QU C F, WANG E T, et al. Phylogenetic evidence for the transfer of *Pseudomonas cocovenenans* to the genus *Burkholderia* as *Burkholderia cocovenenans* [J]. *Int J Syst Bacteriol*, 1995, 45(3): 600-603.
- [2] MEHRUBA A, AMELIA K, ALAINA R S, et al. Bongkreki acid-a review of a lesser-known mitochondrial toxin [J]. *J Med Toxicol*, 2017, 13(2): 173-179.
- [3] 王静,刘秀梅.椰毒假单胞菌酵米面亚种及米酵菌酸的研究进展[J].中国食品卫生杂志,1996,8(2):42-48.
- [4] 刘秀梅.我国椰毒假单胞菌酵米面亚种食物中毒流行趋势浅析[J].中华预防医学杂志,1996,30(6):372-374.
- [5] 刘秀梅,杜春明,王玉华,等.椰毒假单胞菌酵米面亚种在自然环境中的污染调查[J].中国公共卫生,1991,7(4):155-157.
- [6] 孟昭赫,刘秀梅,陈晓明,等.酵米面、银耳等食品中椰毒假单胞菌及其毒素的污染调查[J].卫生研究,1993,22(2):99-101.
- [7] 陈炳卿,刘志诚,王茂起,等.现代食品卫生学[M].北京:人民卫生出版社,2001:787-792.
- [8] 中华人民共和国卫生部,中国国家标准化管理委员会.食品卫生微生物学检验 椰毒假单胞菌酵米面亚种检验:GB/T 4789.29—2003[S].北京:中国标准出版社,2003.
- [9] 苏肯明,梁达清.液相色谱-串联质谱法测定银耳中的米酵菌酸[J].广东化工,2014,41(16):168-169.
- [10] 焦振泉,刘秀梅.椰毒假单胞菌酵米面亚种的 16S rDNA 序列的测定和分析[J].卫生研究,1999,28(4):232-235.
- [11] 焦振泉,曹玮,余东敏,等.椰毒假单胞菌与唐菖蒲伯克霍尔德菌 16S-23S rRNA 基因间区序列的比较研究[J].中国食品卫生杂志,2008,20(3):197-203.
- [12] SAWANA A, ADEOLU M, GUPTA R S. Molecular signatures and phylogenomic analysis of the genus *Burkholderia*: proposal for division of this genus into the emended genus *Burkholderia* containing pathogenic organisms and a new genus *Paraburkholderia* gen. nov. harboring environmental species [J]. *Front Genet*, 2014, 5:429.
- [13] JIAO Z Q, YOSHIKI K, NORIKO M, et al. Need to differentiate lethal toxin-producing strains of *Burkholderia gladioli*, which cause severe food poisoning: description of *B. gladioli* pathovar *cocovenenans* and an emended description of *B. gladioli* [J]. *Microbiol Immunol*, 2003, 47(12):915-925.
- [14] 默里 P R,巴伦 E J,法勒 M A,等.临床微生物学手册[M].徐建国,梁国栋,邢来君,等,译.北京:科学出版社,2005:749-761.
- [15] 孟昭赫,苏翠华,李兆普,等.酵米面黄杆菌与椰毒假单胞菌的对比研究[J].卫生研究,1987,16(6):17-22.
- [16] 李晓娟,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.
- [17] 孟昭赫,刘秀梅,王淑珍,等.椰毒假单胞菌酵米面亚种食物中毒病原及预防的研究[J].医学研究通讯,1997,26(12):10-11.
- [18] 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):3363-3364,3367.