

研究报告

2020—2022年泰州市预包装糕点中97株呕吐型蜡样芽胞杆菌的分析

王萍,陈琳,乔勇升,胡慧,董贵军,张占林

(泰州市食品检验院,江苏省市场监管重点实验室-特医食品风险识别及关键分析技术,江苏泰州 225300)

摘要:目的 了解泰州市预包装糕点中呕吐型蜡样芽胞杆菌腹泻型毒力基因、耐药性及分子分型情况。方法 利用聚合酶链反应(PCR)方法对泰州市预包装糕点中97株蜡样芽胞杆菌分离株进行呕吐型菌株的鉴别,并检测呕吐型菌株是否携带致腹泻的毒力基因,用纸片扩散法对呕吐型菌株进行19种抗生素的敏感性测试,用多位点序列分型技术进行分子分型。结果 97株蜡样芽胞杆菌中共检出5株呕吐型蜡样芽胞杆菌,分为ST26和ST1186两个型别;非溶血性肠毒素基因 *nhe*、肠毒素基因 *entFM*、*bceT* 是5株菌株的主要腹泻型毒力基因;5株菌株对青霉素、氨苄西林、头孢噻肟完全耐药,对复方新诺明、利福平、头孢唑啉的耐药率分别为80%(4/5)、40%(2/5)、20%(1/5),对阿莫西林、克林霉素、头孢西丁的敏感率分别为40%(2/5)、80%(4/5)、80%(4/5),对其他抗生素则完全敏感。结论 本研究显示泰州市预包装糕点中呕吐型蜡样芽胞杆菌的检出率为5.2%(5/97),以ST26型为主要型别,携带多种腹泻型毒力基因。

关键词:呕吐型蜡样芽胞杆菌;预包装糕点;毒力基因;耐药性;多位点序列分析

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2024)06-0653-06

DOI:10.13590/j.cjfh.2024.06.003

Analysis of 97 emetic *Bacillus cereus* strains in prepackaged pastries in Taizhou City from 2020 to 2022

WANG Ping, CHEN Lin, QIAO Yongsheng, HU Hui, DONG Guijun, ZHANG Zhanlin

(Taizhou Institute for Food Inspection, Jiangsu Provincial Key Laboratory of Market Supervision-Risk Identification and Key Analysis Technology of Food for Special Medical Purposes, Jiangsu Taizhou 225300, China)

Abstract: Objective To understand the diarrhea-type virulence genes, the antimicrobial resistance and the molecular typing of emetic *Bacillus cereus* from the pre-packaged pastries in Taizhou City. **Methods** The Polymerase Chain Reaction (PCR) method was used to identify the vomiting strains of 97 *Bacillus cereus* strains which were isolated from pre-packaged pastries in Taizhou and detecte whether the vomiting strains carry diarrhea virulence genes. The sensitivity of the vomiting strains to 19 antibiotics was tested by disk diffusion method, and the molecular typing was carried out by multilocus sequence typing technique. **Results** The results showed that five emetic *Bacillus cereus* stains were detected of 97 *Bacillus cereus* strains and divided into ST26 and ST1186 two types. Non-hemolytic enterotoxin gene *nhe*, enterotoxin genes *entFM* and *bceT* were the main diarrhea-type virulence genes of the five strains. The five strains were completely resistant to penicillin, ampicillin and cefotaxime. The resistance rates to cotrimoxazole, rifampicin and cefazolin were 80%(4/5), 40%(2/5) and 20%(1/5), respectively. The sensitivity rates of amoxicillin, clindamycin and cefoxitin were 40%(2/5), 80%(4/5) and 80%(4/5), respectively, and they were completely sensitive to other antibiotics. **Conclusion** This study showed that the detection rate of vomiting *Bacillus cereus* in pre-packaged pastries in Taizhou was 5.2%(5/97), ST26 was the main type, there were a variety of diarrhea-type virulence genes in the five vomiting *Bacillus cereus* strains.

Key words: Emetic *Bacillus cereus*; pre-packaged pastry; virulence gene; antimicrobial resistance; multilocus sequence typing

收稿日期:2023-07-24

基金项目:江苏省市场监督管理局科技计划(KJ204140)

作者简介:王萍 女 高级工程师 研究方向为食品微生物检测

E-mail:653539465@qq.com

通信作者:张占林 女 工程师 研究方向为食品微生物检测

E-mail:921138200@qq.com

蜡样芽胞杆菌(*Bacillus cereus*)为革兰氏阳性菌,可产生抗逆性强的芽孢^[1],是一种常见的食源性致病菌,根据其引起的食源性疾病症状可分为腹泻型和呕吐型^[2]。腹泻型蜡样芽胞杆菌会释放腹泻型毒素^[3],如溶血性肠毒素(Hemolysin BL, HBL)、非溶血性肠毒素(Nonhemolytic enterotoxin, NHE)、

肠毒素 T(BceT)、肠毒素 FM(entFM)、细胞毒素 K(CytotoxinK, CytK)^[4]。呕吐型蜡样芽胞杆菌会产生结构性质十分稳定的呕吐毒素(Cereulide),一旦产生就难以被消除,对人体的危害较大,严重情况会致死^[5]。呕吐毒素生物合成表达调控机制较复杂,受 *ces* 基因簇控制, *ces* 基因簇由 *cesH*、*cesP*、*cesT*、*cesA*、*cesB*、*cesC* 和 *cesD* 组成^[6],目前呕吐型蜡样芽胞杆菌检测的目标基因主要有 *ces*、*cer* 和 *EMI*。周帼萍等^[7]分析了 1986—2007 年我国 299 起蜡样芽胞杆菌食物中毒案例,结果显示,我国蜡样芽胞杆菌食物中毒以呕吐型为主(占 75.9%)。

多位点序列分型(Multilocus sequence typing, MLST)技术是将 7~10 个管家基因片段进行扩增并测序,测序结果与数据库中其他实验室的序列进行比较,获得管家基因的等位基因号和 ST 型别,可评估不同来源菌株之间的亲缘关系及毒力关系,从而为阻止致病菌的传播和感染提供科学参考^[8],具有分辨能力高,数据可靠、重现性好等优点^[9]。

本文对 2020—2022 年泰州市售预包装食品中分离的 97 株蜡样芽胞杆菌进行呕吐型毒力基因检测,并对筛选出的呕吐型蜡样芽胞杆菌进行腹泻型毒力基因检测、耐药性检测和 MLST 分型,从而了解泰州市预包装食品中呕吐型蜡样芽胞杆菌的毒性和耐药性,对呕吐型蜡样芽胞杆菌的防控具有指导意义。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

蜡样芽胞杆菌 CICC 10352 购于中国工业微生物菌种保藏管理中心;金黄色葡萄球菌 ATCC 25923 购于美国菌种保藏中心;2020—2022 年泰州市售 500 份预包装食品中分离出 97 株蜡样芽胞杆菌,按照 GB 4789.14—2014 方法进行分离鉴定,并经相关管家基因 PCR 方法验证后保存于本实验室。REGULAR AGAROSE G-10 型琼脂糖购于 BIOWEST 公司;100 bp DNA Ladder 购于北京天根生化科技有限公司;TE 溶液、溶菌酶、PCR 引物、Gelred 核酸染料及 Taq PCR Mix 购于上海生工生物工程有限公司;药敏实验纸片购于杭州微生物试剂有限公司。所有培养基和试剂均通过了质量验收并在有效期内使用。

1.2 主要仪器设备

PCR 仪(Applied Biosystems):美国默飞世尔科技公司;电泳仪及凝胶成像仪(Tanon-1600):上海天能公司;冷冻台式高速离心机(Allegra 64R):美国贝克曼库尔特公司;电热恒温水浴锅(DK-S26):上海

三发科学仪器有限公司;菌落计数仪(Scan 1200):法国 interscience 公司。

1.3 方法

1.3.1 呕吐型及腹泻型毒力基因的检测

PCR 扩增 97 株蜡样芽胞杆菌分离株的呕吐型基因 *ces*、*cer* 和 *EMI*,呕吐型基因扩增为阳性的菌株再进行腹泻型毒力基因的检测:溶血性肠毒素基因 *hblA*、*hblB*、*hblC*、*hblD*,非溶血性肠毒素基因 *nheA*、*nheB*、*nheC*,肠毒素基因 *bceT*、*entFM*,细胞毒素基因 *cytK*。各毒力基因的特异性引物见表 1。扩增体系(25 μ L)如下:Taq PCR Mix 12.5 μ L,上下游引物各 1 μ L, DNA 模板 1.5 μ L,(空白对照组不加模板 DNA),无菌超纯水补足 25 μ L。DNA 模板的制备方法参照 SN/T 3932—2014^[10]。PCR 反应扩增条件:95 $^{\circ}$ C 5 min,95 $^{\circ}$ C 30 s,55 $^{\circ}$ C 30 s,72 $^{\circ}$ C 60 s,30 个循环,72 $^{\circ}$ C 10 min。CICC 10352 标准菌株作为对照菌株,无菌超纯水代替模板作为阴性对照,所得 PCR 产物通过 2% 的琼脂糖凝胶电泳,Gelred 染色后凝胶成像仪检测。

1.3.2 呕吐型蜡样芽胞杆菌药敏实验

选择 ATCC 25923 金黄色葡萄球菌为质控菌株,参照美国临床和实验室标准化研究所(Clinical laboratory standard institute, CLSI)标准,采用纸片扩散法测定呕吐型蜡样芽胞杆菌对 19 种抗生素的敏感性,菌落计数仪读取抑菌圈直径。

1.3.3 呕吐型蜡样芽胞杆菌 MLST 分型

PubMLST 网站 <https://pubmlst.org/organisms/bacillus-cereus/primers> 下载 *Bacillus cereus* 七对管家基因引物序列(表 2),对分离鉴定的呕吐型蜡样芽胞杆菌进行 PCR 扩增。PCR 反应扩增条件:95 $^{\circ}$ C 5 min,95 $^{\circ}$ C 30 s,56~59 $^{\circ}$ C 30 s,72 $^{\circ}$ C 60 s,30 个循环,72 $^{\circ}$ C 10 min。根据每对引物设置不同的退火温度(表 2)。PCR 产物经电泳检测后送上海生工测序。登录 PubMLST 数据库网站,按照要求将 7 个管家基因序列上传、比对,从而得到每株呕吐型蜡样芽胞杆菌的等位基因号和 ST 型别。

2 结果

2.1 呕吐型及腹泻型毒力基因的检测结果

97 株蜡样芽胞杆菌分离株中共检出 5 株含有呕吐型毒力基因,分别命名为 S1-S5,检出率为 5.2%,扩增电泳图谱见图 1。S1、S2、S4、S5 检出 *ces*、*cer* 和 *EMI* 3 种呕吐型毒力基因,而 S3 只检出 *cer* 基因。由表 3 可知,5 株呕吐型蜡样芽胞杆菌腹泻型毒力基因 *entFM*、*nheA*、*nheB* 的检出率最高,为 100%(5/5);其次,*nheC* 为 80%(4/5),除 S3 之外的 4 株菌株

表1 蜡样芽胞杆菌毒力基因引物
Table 1 Primers of virulence genes in *Bacillus cereus*

基因	引物序列(5'→3')	产物长度/bp	参考文献
<i>ces</i>	F:GCATTTCTGTAAGCAGAGGT R:CCCTTTATCCCCTTCGATGT	699	[11]
<i>cer</i>	F:CAAGTCAAGATAAGAGGCTTC R:AAAGCTCTTGCCAAATAACC	370	[12]
<i>EML</i>	F:GACAAGAGAAATTTCTACGAGCAAGTACAAT R:GCAGCCTTCCAATTACTCCTTCTGCCACAGT	635	[12]
<i>hblA</i>	F:ATTAATACAGGGGATGGAGAAACTT R:TGATCCTAATACTTCTTAGACGCTT	237	[13]
<i>hblB</i>	F:AAGCAATGGAATACAATGGG R:AATATGTCCCAGTACACCCG	2 685	[11]
<i>hblC</i>	F:CCTATCAATACTCTCGCAA R:TTTCCTTTGTTATACGCTGC	695	[13]
<i>hblD</i>	F:ACCGTAACACTATTCATGC R:GAGTCCATATGCTTAGATGC	830	[14]
<i>nheA</i>	F:ATTACAGGGTTATTGGTTAGAGCAGT R:AATCTTGCTCCATACTCTTTGGATGCT	475	[11]
<i>nheB</i>	F:CTGCAGCAGCTGTAGGCGGT R:ATGTTTTCCAGCTATCTTTCCGAAT	328	[11]
<i>nheC</i>	F:GCGGATATTGTAAAGAATCAAAATGAGGT R:TTTCAGCTATCTTTCCGCTGTATGTAAT	557	[13]
<i>bceT</i>	F:GACTACATTACGATTACGCAGAA R:CTATGCTGACGAGCTACATCCATA	303	[14]
<i>entFM</i>	F:CAAAGACTTCGTAACAAAAGGTGGT R:TGTTACTCCGCCTTTTACAAACTT	290	[11]
<i>cytK</i>	F:CGACGTCACAAAGTTGTAACA R:CGTGTGTAATACCCAGTT	565	[15]

表2 蜡样芽胞杆菌7个管家基因引物序列

Table 2 Primers of seven housekeeping genes in *Bacillus cereus*

基因	引物序列(5'→3')	退火温度/℃
<i>glpF</i>	F:GCGTTTGTGCTGGTGAAGT R:CTGCAATCGGAAGGAAGAAG	59
<i>gmk</i>	F:ATTTAAGTGAGGAAGGGTAGG R:GCAATGTTCACCAACCACAA	56
<i>ilvD</i>	F:CGGGGCAAAACATTAAGAGAA R:GGTCTGCTGTTCCATTC	58
<i>pta</i>	F:GCAGAGCGTTTAGCAAAAAGAA R:TGCAATGCGAGTTGCTTCTA	56
<i>pur</i>	F:CTGCTCGCAAAAATCACAAA R:CTCACGATTCGCTGCAATAA	56
<i>pycA</i>	F:GCGTTAGTGGAAACGAAAG R:CGCCTCAAGTTTATGGAAT	57
<i>tpi</i>	F:GCCCAGTAGCACTTAGCGAC R:CCGAAACCGTCAAGAATGAT	58

均检出;肠毒素基因 *bceT* 为 40%(2/5);溶血性基因中 *hblA*、*hblC* 及 *hblD* 的检出率均为 20%(1/5),而 *hblB* 在 S1-S5 中均未检出;细胞毒素基因 *cytK* 也均未检出。S1-S5 每株菌株都携带 3 个以上腹泻型毒

力基因,S1 携带 4 个、S2 携带 8 个、S3 携带 3 个、S4 携带 5 个、S5 携带 4 个。蜡样芽胞杆菌 CICC 10 352 对照株未检出呕吐型毒力基因,检出 *nheA*、*nheB*、*nheC*、*bceT*、*entFM*、*cytK* 6 个腹泻型毒力基因。

2.2 呕吐型蜡样芽胞杆菌药敏试验结果

5 株呕吐型蜡样芽胞杆菌对青霉素、氨苄西林、头孢噻肟的耐药率为 100%(5/5),复方新诺明为 80%(4/5),利福平为 40%(2/5),头孢唑啉为 20%(1/5)。对阿莫西林、克林霉素、头孢西丁的敏感率分别为 40%(2/5)、80%(4/5)、80%(4/5),对诺氟沙星、环丙沙星、庆大霉素、阿米卡星、链霉素、四环素、红霉素、万古霉素、氯霉素、美罗培南 100%(5/5)敏感。具体敏感性和耐药性见表 4。

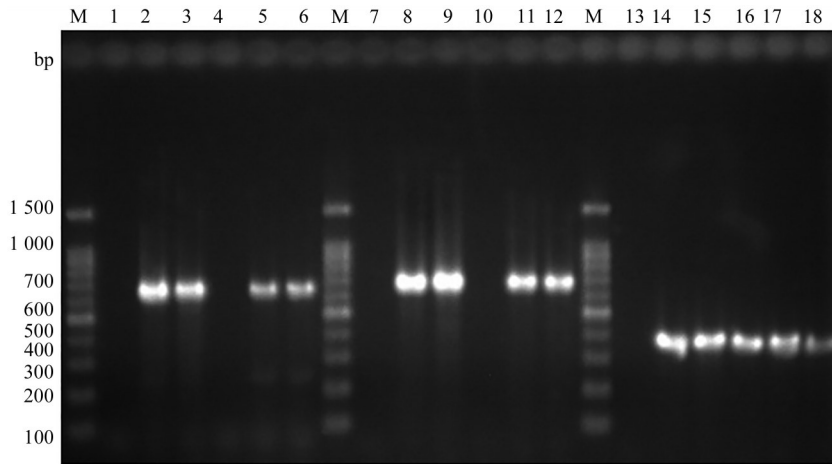
2.3 呕吐型蜡样芽胞杆菌 MLST 分型结果

5 株呕吐型蜡样芽胞杆菌,分为 ST 26 和 ST 1186 两个型别,两个型别的 7 个等位基因号都不相

表3 5株呕吐型蜡样芽胞杆菌的毒力基因检出情况

Table 3 Detection results of virulence genes of 5 emetic *Bacillus cereus* strains

样品名称	菌株	呕吐型毒力基因			腹泻型毒力基因									
		<i>ces</i>	<i>cer</i>	<i>EML</i>	<i>nhe</i>			<i>hbl</i>				<i>bceT</i>	<i>entFM</i>	<i>cytK</i>
					<i>nheA</i>	<i>nheB</i>	<i>nheC</i>	<i>hblA</i>	<i>hblB</i>	<i>hblC</i>	<i>hblD</i>			
椒盐月宫饼	S1	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-
广式豆沙月饼	S2	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-
肉松饼	S3	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-
蟹黄锅巴	S4	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-
奶酪包	S5	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-
标准菌株	CICC10352	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+



注:M:Marker 100 bp DNA Ladder;1~6为 EMI 基因:CICC 10 352、S5、S4、S3、S2、S1;7~12为 ces 基因:CICC 10 352、S5、S4、S3、S2、S1;13~18为 cer 基因:CICC 10 352、S5、S4、S3、S2、S1

图1 5株呕吐型蜡样芽胞杆菌呕吐型毒力基因的琼脂糖电泳图

Figure 1 Argarose gel electrophoresis of the vomiting virulence genes of 5 emetic *Bacillus cereus* strains

表4 呕吐型蜡样芽胞杆菌对19种抗生素的敏感及耐药情况

Table 4 Drug sensitivity and resistance of the emetic *Bacillus cereus* about 19 kinds of antibiotics

抗生素名称	含量/片	菌株耐药情况				
		S1	S2	S3	S4	S5
青霉素	10 U	R	R	R	R	R
阿莫西林	25 μg	I	I	S	I	S
氨苄西林	10 μg	R	R	R	R	R
头孢噻肟	30 μg	R	R	R	R	R
头孢唑啉	30 μg	S	R	S	I	I
诺氟沙星	10 μg	S	S	S	S	S
环丙沙星	5 μg	S	S	S	S	S
庆大霉素	10 μg	S	S	S	S	S
阿米卡星	30 μg	S	S	S	S	S
链霉素	10 μg	S	S	S	S	S
四环素	30 μg	S	S	S	S	S
红霉素	15 μg	S	S	S	S	S
克林霉素	2 μg	I	S	S	S	S
万古霉素	30 μg	S	S	S	S	S
复方新诺明	1.25 μg	R	R	R	R	S
氯霉素	10 μg	S	S	S	S	S
利福平	5 μg	I	R	I	I	R
美罗培南	10 μg	S	S	S	S	S
头孢西丁	30 μg	S	I	S	S	S

注:S:敏感(Sensitive);I:中介(Intermediary);R:耐药(Resistant)

同,具体差异见表5。ST 26型的菌株有4株,占总数的80%(4/5),ST 1186型的菌株只有1株,占总数的20%(1/5)。

3 讨论

预包装糕点中分离的97株蜡样芽胞杆菌中,共

表5 5株呕吐型蜡样芽胞杆菌MLST数据分析结果

菌株编号	glp F	gmK	pta	ilv D	pur	pyc A	tpi	ST
S1	3	2	5	31	16	3	4	26
S2	234	8	30	8	41	17	17	1186
S3	3	2	5	31	16	3	4	26
S4	3	2	5	31	16	3	4	26
S5	3	2	5	31	16	3	4	26

检出5株含有呕吐型毒力基因,检出率为5.2%。通过MLST分型,5株菌株分为ST 26型和ST 1186型。ST 26型是最早发现具有呕吐毒素基因的序列,是典型的产呕吐毒素的基因型^[3,16],也是最常见的ST型^[17],目前在PubMLST数据库中数量占比较多,有112株。ST 26型也是本实验中的优势型别,占比80%(4/5),这与陕西省市售婴幼儿食品和米面食品中的结果是一致的^[18-19]。ST 1186型在本实验中占比20%(1/5),在目前的PubMLST数据库中只有1株,是2008年张慧娟从土壤中分离到的。由此可见,本实验中分离的两种型别的概率与PubMLST数据库中各个型别的数量占比是一致的。

通过腹泻型毒力基因的检测,发现5株呕吐型蜡样芽胞杆菌还携带丰富的腹泻型毒力基因,每株菌株携带的毒力基因都可表达两种以上腹泻型毒素,其中S1、S3、S5可表达2种、S2可表达4种、S4可表达3种。非溶血性肠毒素基因 *nheAB* 和肠毒素基因 *entFM* 的携带率为100%(5/5),肠毒素基因 *bceT* 的携带率为40%(2/5),溶血性肠毒素基因 *hblACD* 的携带率为20%(1/5),细胞毒素基因 *cytK* 未检出。*nhe*、*entFM*、*bceT* 是5株呕吐型蜡样芽胞杆菌的主要腹泻型毒力基因,这与97株蜡样芽胞杆菌腹泻型毒力基因携带的情况是一致的。目前报道溶血性肠毒素 *hbl* 基因较少存在于呕吐型蜡样芽胞杆菌中^[20],本实验S2中检出了 *hblACD* 基因,这可能与ST 1186型别数量少,被研究较少有关。腹泻型毒力基因的调查提示,若消费者不小心食用了这些被呕吐型蜡样芽胞杆菌污染的食物,不但会产生呕吐症状,还可能会产生腹泻症状,对消费者的危害风险较大。

19种抗生素的药敏实验显示,每株呕吐型蜡样芽胞杆菌均对4种以上抗生素耐药,建议青霉素、氨苄西林、头孢噻肟、复方新诺明不作为呕吐型蜡样芽胞杆菌引起的食源性疾病的临床治疗用药;但5株菌株均对诺氟沙星、环丙沙星、庆大霉素、阿米卡星、链霉素、四环素、红霉素、万古霉素、氯霉素、美罗培南敏感,可考虑作为呕吐型蜡样芽胞杆菌引起的食源性疾病的临床治疗用药;对其他抗生素都有不同程度的耐药,可以根据具体的病因进行药物的选择。

本次研究了解了泰州市预包装糕点中呕吐型蜡样芽胞杆菌的检出情况、毒力基因携带率、耐药性及MLST分型情况,获得的数据有助于人们提高对呕吐型蜡样芽胞杆菌的认识,对泰州市蜡样芽胞杆菌的防控具有指导意义。但呕吐毒素基因的表达调控机制较复杂,这些呕吐型菌株是否产呕吐毒素,还需要借助基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱^[21-23]、液相色谱-质谱联用仪^[24]等仪器进行检测,这也是下一步需要分析研究的内容,从而为泰州市蜡样芽胞杆菌食物中毒的防治提供技术支持,也为蜡样芽胞杆菌食源性疾病的风险评估奠定基础。

参考文献

- [1] 崔一芳,郑敏,丁双阳,等.蜡样芽胞杆菌致吐毒素的毒性作用与生物合成研究进展[J].中国农业科学,2021,54(12):2666-2674.
CUI Y F, ZHENG M, DING S Y, et al. Advances of biosynthesis and toxicity of cereulide produced by emetic *Bacillus cereus* [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2021, 54(12): 2666-2674.
- [2] 王琼,马红梅,曾瑾,等.食源性蜡样芽胞杆菌的危害及其检测方法研究进展[J].中国食品卫生杂志,2021,33(5):633-637.
WANG Q, MA HM, ZENG J, et al. Research progress on the hazards of foodborne *Bacillus cereus* and its detection method [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2021, 33(5): 633-637.
- [3] 张翼.婴幼儿食品中呕吐型蜡样芽胞杆菌的鉴别与多位点序列分析[D].武汉:武汉轻工大学,2015.
ZHANG Y. Identification and multioocus sequence typing of the emetic *Bacillus cereus* in infant food [D]. Wuhan: Wuhan Polytechnic University, 2015.
- [4] 白凤岚,陈松,罗梦幽,等.食品中蜡样芽胞杆菌的分离及携带毒力基因的检测[J].现代食品科技,2018,34(10):247-252,204.
BAI F L, CHEN S, LUO M Y, et al. Identification and virulence genes detection of *Bacillus cereus* food isolates [J]. Modern Food Science and Technology, 2018, 34(10): 247-252, 204.
- [5] 刘勇.对大米中呕吐型蜡样芽胞杆菌的多位点序列分型和毒力评价研究[D].武汉:武汉轻工大学,2014.
LIU Y. Multioocus sequence typing and virulence evaluation of the emetic *Bacillus cereus* in rice [D]. Wuhan: Wuhan Polytechnic University, 2014.
- [6] 林岚,徐旭东.蜡样芽胞杆菌毒素Cereulide的研究进展[J].微生物前沿,2018,7(4):141-148.
LIN L, XU X D. The Research Advances in the Toxin Cereulide Produced by *Bacillus cereus* [J]. Advances in Microbiology, 2018, 7(4): 141-148.
- [7] 周帼萍,梁天光,丁淑娟.1986—2007年中国299起蜡样芽胞杆菌食物中毒案例分析[J].中国食品卫生杂志,2009,21(5):450-454.
ZHOU G P, LIANG T G, DING S J. Analysis on 299 *Bacillus cereus* food poisoning cases in 1986—2007 [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2009, 21(5): 450-454.
- [8] 易华山,马鲜平,赵瑶,等.1株乳源蜡样芽胞杆菌的分离鉴定及致病性分析[J].中国兽医学报,2020,40(8):1491-1500.
YI H S, MA X P, ZHAO Y, et al. Identification and pathogenicity analysis of a strain *Bacillus cereus* isolated from milk-derived [J]. Chinese Journal of Veterinary Science, 2020, 40(8): 1491-1500.
- [9] 吕国平,卫沛楠,徐保红,等.多位点序列分型在食源性金黄色葡萄球菌分型中的应用研究[J].微生物学杂志,2013,33(3):30-34.
LYU G P, WEI P N, XU B H, et al. Application of multilocus sequence typing in foodborne *Staphylococcus aureus* typing [J]. Journal of Microbiology, 2013, 33(3): 30-34.
- [10] 国家质量监督检验检疫总局.出口食品中蜡样芽胞杆菌快速检测方法 实时荧光定量PCR法:SN/T 3932—2014 [S].北京:中国标准出版社,2014:2.
General Administration for Quality Supervision Inspection and Quarantine. Rapid detection method of *Bacillus cereus* in export food Real-time fluorescence quantitative PCR method: SN/T 3932—2014 [S]. Beijing: China Standard Press, 2014: 2.
- [11] 闫韶飞,闫旭,甘辛,等.我国市售婴儿配方乳粉中蜡样芽胞杆菌污染及其毒力基因调查[J].中国食品卫生杂志,2015,27(3):286-291.
YAN S F, YAN X, GAN X, et al. Survey on contamination of *Bacillus cereus* and its virulence gene profiles isolated from retail infant formula in China [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2015, 27(3): 286-291.
- [12] 张明明,梁美丹,肖剑,等.即食米面制品中蜡样芽胞杆菌分离鉴定及毒力基因研究[J].食品工业科技,2019,40(22):144-150.
ZHANG M M, LIANG M D, XIAO J, et al. Isolation, identification and virulence genes investigation of *Bacillus cereus* from ready-to-eat products of rice and wheat [J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(22): 144-150.
- [13] 王艳燕,张慧娟,冯桃,等.海口市5类食品中蜡样芽胞杆菌药敏和毒力基因检测及分子分型研究[J].中国食品卫生杂志,2020,32(2):170-174.
WANG Y Y, ZHANG H J, FENG T, et al. Study of the drug sensitivity, virulence genes and molecular typing of *Bacillus cereus* in five foods in Haikou [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2020, 32(2): 170-174.
- [14] GUINEBRETIERE M H, BROUSSOLLE V, NGUYEN-THE C.

- Enterotoxigenic profiles of food-poisoning and food-borne *Bacillus cereus* strains[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2002, 40(8): 3053-3056.
- [15] EHLING-SCHULZ M, FRICKER M, SCHERER S. Identification of emetic toxin producing *Bacillus cereus* strains by a novel molecular assay[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2004, 232(2): 189-195.
- [16] VASSILEVA M, TORII K, OSHIMOTO M, et al. Phylogenetic analysis of *Bacillus cereus* isolates from severe systemic infections using multilocus sequence typing scheme[J]. *Microbiology and Immunology*, 2006, 50(9): 743-749.
- [17] HOFFMASTER A R, NOVAK R T, MARSTON C K, et al. Genetic diversity of clinical isolates of *Bacillus cereus* using multilocus sequence typing [J]. *BMC Microbiology*, 2008, 8: 191.
- [18] 李文涓, 刘东立. 陕西省婴幼儿食品中分离的132株蜡样芽胞杆菌呕吐型基因的检测[J]. *现代预防医学*, 2018, 45(17): 3168-3172.
- LI W J, LIU D L. Detection of emetic genes in 132 strains of *Bacillus cereus* isolated from infant food, Shaanxi [J]. *Modern Preventive Medicine*, 2018, 45(17): 3168-3172.
- [19] 李文涓, 石一, 张铮, 等. 米面食品中呕吐型蜡样芽胞杆菌的分子分型及耐药性分析[J]. *实用预防医学*, 2019, 26(5): 518-520.
- LI W J, SHI Y, ZHANG Z, et al. Molecular typing and antimicrobial resistance of emetic toxin producing *Bacillus cereus* in rice and wheaten food [J]. *Practical Preventive Medicine*, 2019, 26(5): 518-520.
- [20] 龙冬玲, 张慧娟, 萧松建, 等. 一起由蜡样芽胞杆菌引起的食物中毒实验室检测及分子溯源[J]. *河南预防医学杂志*, 2021, 32(12): 901-905, 935.
- LONG D L, ZHANG H J, XIAO S J, et al. Virulent gene profiles and molecular source research of *Bacillus cereus* in a food poisoning case [J]. *Henan Journal of Preventive Medicine*, 2021, 32(12): 901-905, 935.
- [21] ULRICH S, GOTTSCHALK C, DIETRICH R, et al. Identification of cereulide producing *Bacillus cereus* by MALDI-TOF MS [J]. *Food Microbiology*, 2019, 82: 75-81.
- [22] DOELLINGER J, SCHNEIDER A, STARK T D, et al. Evaluation of MALDI-ToF mass spectrometry for rapid detection of cereulide from *Bacillus cereus* cultures [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 511674.
- [23] 陈楷, 黄志深, 曾羲, 等. 基于MALDI-TOF MS技术快速检测产呕吐毒素蜡样芽胞杆菌[J]. *现代食品科技*, 2022, 38(11): 351-357.
- CHEN K, HUANG Z S, ZENG X, et al. Rapid detection of cereulide-producing *Bacillus cereus* based on MALDI-TOF MS [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2022, 38(11): 351-357.
- [24] 崔霞, 王莉莉, 刘平, 等. 蜡样芽胞杆菌呕吐毒素引发的米面制品食物中毒快速确证方法研究[J]. *卫生研究*, 2023, 52(4): 573-578.
- CUI X, WANG L L, LIU P, et al. Rapid confirmation method of food poisoning caused by *Bacillus cereus* cereulide in rice and flour products [J]. *Journal of Hygiene Research*, 2023, 52(4): 573-578.