DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20251104001
引用格式: 宋韶芳, 曾芳芳, 李燕, 等. 广州市食用菌中唐菖蒲伯克霍尔德氏菌(椰毒假单胞菌酵米面亚种)及米酵菌酸污染调查及影响因素分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(6): 79–86.
SONG SF, ZENG FF, LI Y, *et al*. Investigation and influencing factors analysis of *Burkholderia gladioli* (*Pseudomonas cocovenenans* subsp. *farino fermentans*) and bongkrekic acid in edible fungus of Guangzhou City [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(6): 79–86. (in Chinese with English abstract).

广州市食用菌中唐菖蒲伯克霍尔德氏菌(椰毒假单胞菌酵米面亚种)及米酵菌酸污染调查及影响因素分析

宋韶芳[1,2*], 曾芳芳[3], 李　燕[1], 张维蔚[1], 曾锦衡[1], 袁　俊[1], 钟贤武[1*]

[1. 广州市疾病预防控制中心(广州市卫生监督所), 广州　510440; 2. 南方医科大学公共卫生学院, 广州　510515; 3. 中山大学公共卫生学院, 广州　510080]

摘　要: 目的　分析广州市食用菌唐菖蒲伯克霍尔德氏菌(椰毒假单胞菌酵米面亚种)及米酵菌酸的污染情况及其影响因素。**方法**　以农贸市场、超市、商店、网店及餐饮单位为采样点, 采集 480 份湿木耳、鲜银耳样品, 按照 GB 4789.29—2020《食品安全国家标准 食品微生物学检验 唐菖蒲伯克霍尔德氏菌(椰毒假单胞菌酵米面亚种)检验》进行检验, 并进行菌种鉴定; 同时采用液相色谱-串联质谱法检测样品中的米酵菌酸。**结果**　480 份样品均未检出米酵菌酸, 但唐菖蒲伯克霍尔德菌检出率为 16.88% (81/480)。唐菖蒲伯克霍尔德菌检出率在食品类别、采样地点、包装类型、材质等没有统计学差异(P>0.05); 而在样品产地、采样季度、霉菌等有统计学差异(P<0.05)。多因素 logistic 回归分析发现第一季度的 3 月采集的样品受唐菖蒲伯克霍尔德菌污染的风险高于其他 3 个季度。产毒实验鉴定有 5 株为椰毒假单胞菌酵米面亚种, 其中 1 份鲜银耳, 4 份湿木耳, 均采自第二季度, 唐菖蒲伯克霍尔德菌(椰毒假单胞菌酵米面亚种)在采样季度有统计学差异(P<0.05)。**结论**　唐菖蒲伯克霍尔德氏菌易在湿木耳、鲜银耳中生长, 且有产米酵菌酸的风险, 需加强对重点食品中该致病菌(毒假单胞菌酵米面亚种)的监测(在市售流通环节中尤其关注第二季度)。

关键词: 唐菖蒲伯克霍尔德菌(椰毒假单胞菌酵米面亚种); 米酵菌酸; 影响因素; 风险控制

收稿日期: 2025-11-04
基金项目: 广州市科技计划项目(2023A03J0450); 广州市卫生健康科技项目(20251A011064); 广州市卫生健康科技项目(20251A011059); 广州市医学重点学科建设项目(2025-2027-12)
第一作者/*通信作者: 宋韶芳(1977—), 女, 主任医师, 主要研究方向为食品安全风险评估。E-mail: anchure@163.com
***通信作者:** 钟贤武(1989—), 男, 副主任医师, 主要研究方向为疾病控制。E-mail: zhongxw.gzcdc@foxmail.com

Investigation and influencing factors analysis of *Burkholderia gladioli* (*Pseudomonas cocovenenans* subsp. *farino fermentans*) and bongkrekic acid in edible fungus of Guangzhou City

SONG Shao-Fang[1,2*], ZENG Fang-Fang[3], LI Yan[1], ZHANG Wei-Wei[1], ZENG Jin-Heng[1], YUAN Jun[1], ZHONG Xian-Wu[1*]

[1. *Guangzhou Center for Disease Control and Prevention* (*Guangzhou Health Supervision Institute*), *Guangzhou* 510440, *China*; 2. *School of Public Health*, *Southern Medical University*, *Guangzhou* 510515, *China*; 3. *School of Public Health*, *Sun Yat-sen University*, *Guangzhou* 510080, *China*]

ABSTRACT: Objective To analyze the contamination status and influencing factors of *Burkholderia gladioli* (*Pseudomonas cocovenenans* subsp. *farino fermentans*) and bongkrekic acid in edible fungus in Guangzhou City. **Methods** Samples of 480 pieces of dried black fungus and fresh silver fungus were collected from marketplaces, supermarkets, stores, online stores and catering units. Accordance with GB 4789.29—2020 *National food safety standard-Food microbiology inspection-Inspection of Burkholderia gladioli* (*Pseudomonas cocovenenans* subsp. *farino fermentans*), and the strain identification was carried out. The liquid chromatography-mass spectrometry method was used to detect the bongkrekic acid in samples. **Results** It showed that no bongkrekic acid was detected in 480 samples. The detection rate of *Burkholderia gladioli* was 16.88% (81/480). There was no statistically significant difference in the detection rate of *Burkholderia gladioli* among food categories, sampling sites, packaging types and materials (P>0.05). The detection rates of *Burkholderia gladioli* were different in sample origin, sampling quarter and the detection of mold, which were statistically significant (P<0.05). Multivariate logistic regression found that samples from the first quarter (March) had a higher risk of contamination by *Burkholderia gladioli* than those from the other 3 quarters. The toxicity test identified 5 strains as *Pseudomonas cocovenenans* subsp. *farino fermentans*, from 4 samples of wet black fungus and 1 sample of fresh silver ear, all collected in the second quarter. The difference in the sampling quarters of *Burkholderia gladioli* (*Pseudomonas cocovenenans* subsp. *farino fermentans*) was statistically significant (P<0.05). **Conclusion** In the market circulation process, *Burkholderia gladioli* is prone to grow in foods such as wet black fungus and fresh silver ear fungus, and there is a risk of producing bongkrekic acid. Therefore, it is necessary to strengthen the monitoring of this pathogenic bacterium (*Pseudomonas cocovenenans* subsp. *farino fermentans*) in key foods (with particular attention paid to the second quarter during the market circulation process).

KEY WORDS: *Burkholderia gladioli* (*Pseudomonas cocovenenans* subsp. *farino fermentans*); bongkrekic acid; influencing factor; risk control

0 引 言

唐菖蒲伯克霍尔德菌(椰毒假单胞菌酵米面亚种(*Pseudomonas cocovenenans* subsp. *farino fermentans*)是唐菖蒲伯克霍尔德菌(*Burkholderia gladioli*)中能引起严重食物中毒的致病型菌, 也是迄今我国发现的发病率和死亡率最高的食源性致病菌[1–2], 主要存在于变质银耳、变质木耳、米面发酵品等食品中[3–5]。其引起食物中毒和死亡的主要毒性代谢产物—米酵菌酸(bongkrekic acid, BA)[6–7]是一种耐高温的具有较强生物活性的剧毒毒素, 中毒机制是米酵菌酸对线粒体有独特的毒害作用, 它能抑制线粒体腺嘌呤核苷酸转位酶而产生毒性作用[8–9]。由于米酵菌酸是一种无臭、无味、热稳定的物质[10], 受其污染的食物具有正常的外观、气味和风味, 因此, 米酵菌酸在食品制备和消费过程中很难被察觉到。米酵菌酸食物中毒在我国时有发生, 中毒潜伏期 30 min 至 48 h, 临床表现为恶心、呕吐, 严重时可因多器官衰竭死亡[9,11]。人群中毒事件研究结果显示[12], 经口摄入含 16 mg 米酵菌酸的食物临床症状表现较轻, 经口摄入含 31 mg 米酵菌酸的食物可致死亡, 无特效救治药物, 致死率达 40%~100%。

木耳是我国栽培产量第二大的食用菌品种[13], 也是本地居民日常喜爱的食物之一。广东广州地处亚热带, 气候高温高潮, 该类食品易受到唐菖蒲伯克霍尔德菌(椰毒假单胞菌酵米面亚种)污染, 若保存不当超期食用, 可能会引起米酵菌酸食物中毒[14]。由于该类致病菌易引起食物中毒且无特效药, 导致病死率较高, 因此唐菖蒲伯克霍尔德菌(椰毒假单胞菌酵米面亚种)食物中毒引起人们的重点关注。

唐菖蒲伯克霍尔德菌(椰毒假单胞菌酵米面亚种)及其产生的米酵菌酸引起的食物中毒事件严重威胁居民健康, 而目前对于该菌的研究多限于疾病暴发流行病学调查与米酵菌酸的生物合成[15−16]及其毒理机制[17−18]、实验室检测[19], 但对其在食品市售流通中的污染状况及影响因素鲜有报道。因此, 有必要开展专项调查探究其在食品市售流通环节中的污染状况及影响因素, 降低该类食物中毒的发生风险。

鉴于此, 本研究从市场流通环节采集了湿木耳、鲜银耳样品 480 份, 开展唐菖蒲伯克霍尔德菌(椰毒假单胞菌酵米面亚种)及其毒素米酵菌酸的污染调查和影响因素风险分析研究。寻找这类食品在流通环节的关键风险点, 进而预防该菌及其毒素的污染, 为做好食品安全及临床诊治方面提供技术支持和数据参考。

1　材料与方法

1.1　原　料

样品分 4 个季度采集, 主要在 2022—2024 年的 3、4、6、8、9、10 和 11 月进行。为确保样品的代表性, 本研究结合人口地域分布和食品消费情况, 在广州市越秀区、荔湾区、黄埔区、番禺区、增城区的农贸市场、超市、商店、网店以及中小餐馆中开展采样工作。采样人员以消费者的身份购买商品, 以保证样品的实际状况, 共采集新鲜和泡发的湿木耳、鲜银耳样品 480 份。采样时, 为了避免二次污染, 对于小包装规格的产品整包购买, 对于大包装规格的产品从新开封的产品中取出适量样品装入无菌取样袋并密闭包装, 散装产品采用无菌镊子将样品装入无菌取样袋并密封保存, 采样量不少于 500 g。样品在运输中均放置在冷藏保温柜, 并于 12 h 内进行实验。

1.2　仪器和试剂

VITEK®MS 全自动微生物生化鉴定仪(法国 Biomerieux 公司); AB SCIEX QTrap 6500+液相色谱-串联质谱仪(美国 SCIEX 公司); Sartorius BSA224S 电子分析天平(精度 0.1 mg, 德国 Sartorius 集团); Esco Airstream®AC2-4S1 生物安全柜(新加坡 Esco 公司); Panasonic MIR-54-PC 生化培养箱(日本 Panasonic 公司)。

革兰氏阴性细菌鉴定卡(VITEK 2 gram-negative identification card, GN 卡)(法国 Biomerieux 公司); 米酵菌酸标准品(质量浓度 0.98 mg/mL, 青岛普瑞邦生物工程有限公司); 甲醇、乙酸、乙酸铵(色谱纯, 美国 Sigma 公司); 实验用水为超纯水(杭州娃哈哈公司); 椰毒假单胞菌增菌液(GVC 增菌液)、马铃薯葡萄糖琼脂(potato dextrose agar, PDA)、马铃薯葡萄糖半固体琼脂、改良马铃薯葡萄糖琼脂(modified potato dextrose agar, mPDA)、卵黄琼脂(广东环凯微生物科技有限公司)。

1.3　方　法

按照 GB 4789.29—2020《食品安全国家标准 食品微生物学检验 唐菖蒲伯克霍尔德氏菌(椰毒假单胞菌酵米面亚种)检验》, 进行菌株的分离、鉴定、产毒实验等研究。参照《2024 年国家食品污染物和有害因素风险监测工作手册》第九章第三节“食品中米酵菌酸测定标准操作程序高效液相色谱-质谱法”规定进行米酵菌酸检测[20]并评估其污染程度[21−22]。按照 GB 4789.15—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 霉菌和酵母计数》平板计数法检测霉菌。

1.3.1　样品处理和增菌

无菌操作称取湿木耳或鲜银耳样品 25 g, 置入盛有 225 mL GVC 增菌液中, 用拍击式均质器拍打 2 min 后 36 ℃培养 24 h。

1.3.2　分离培养

用无菌接种环取增菌液一环, 分别划线接种于 mPDA 平板和 PDA 平板, 36 ℃培养 24 h。从琼脂平板上分别挑取 10 个以上典型或可疑菌落, 分区划线接种于卵黄琼脂平板, 36 ℃培养 48 h 后进行革兰氏染色及氧化酶实验。对于卵磷脂酶阳性, 带有虹彩环的单个菌落, 接种 PDA 平板, 36 ℃培养 24 h。

1.3.3　生化实验

从培养板上挑取菌苔用全自动微生物生化鉴定仪进行生化鉴定。

1.3.4　产毒实验

将初步鉴定为唐菖蒲伯克霍尔德氏菌的菌株接种 PDA 平板, 26 ℃, 培养 24 h, 用灭菌接种环刮取适量菌苔, 加到 3 mL 无菌生理盐水的试管中, 配成 1 麦氏浓度(McFarland, MCF)的菌悬液, 用无菌吸管吸取 0.5 mL, 滴在铺好无菌玻璃纸的直径 150 mm 马铃薯葡萄糖半固体琼脂平板上, 用无菌 L 棒涂布均匀, 26 ℃培养 5 d。取下带菌的玻璃纸, 将半固体平板置于 100 ℃流动蒸汽灭菌 30 min 或置于高压灭菌锅 121 ℃灭菌 15 min。室温冷却后, 置 −18 ℃冰箱冷冻过夜。将冰冻好的半固体平板置室温融化, 用无菌吸管吸出冻融液, 经滤纸过滤至无菌试管或锥形瓶中(此为毒素粗提液), 于 4 ℃避光保存。同时, 将未接种菌苔、铺好无菌玻璃纸的直径 150 mm 的马铃薯葡萄糖半固体琼脂平板作为阴性对照, 按照同样的实验方法制备阴性对照粗提液, 4 ℃避光保存。

1.3.5　米酵菌酸测定

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 μg/mL)用甲醇定容至 100 mL, 并逐级稀释, 配制成 1、2、5、10、20、50、100 μg/L 的标准质量浓度系列溶液。

鲜银耳、湿木耳样品准确称取 2 g 混匀样(精确至 0.01 g)于 50 mL 离心管中, 加入 20 mL 1%氨水-80%甲醇水溶液, 充分混匀, 室温下置于暗处浸泡 1 h 后加入 3 g 硫酸铵, 超声提取 30 min 于 10000 r/min 离心 5 min, 准确移取 5.00 mL 上清液, 待净化。

取产毒培养收集的上清液 1 mL, 待净化。将待净化液转移到经活化平衡的固相萃取柱中, 依次用 3 mL 水和 3 mL

甲醇淋洗, 弃去流出液, 再用 5 mL 1%甲酸-甲醇溶液洗脱, 收集洗脱液, 于 40 ℃水浴中氮吹至干, 准确加入 1.00 mL 乙腈-水溶液(1:1, *V*:*V*), 涡旋溶解残渣, 经 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 供液相色谱-串联质谱仪分析。

经测定, 该方法基质效应较弱, 因此以外标法对样品中米酵菌酸进行定量。每 10 个样品做 1 个程序空白样和 1 个加标回收样来评估实验的准确性。曲线浓度范围 0.3~5.0 μg/mL (6 点)、相关系数: 0.99964, 加标回收率: 80.7%~101.4%。米酵菌酸化合物的检出限和定量限分别为 1 μg/kg 和 3 μg/kg (菌株培养液为 10 ng/mL)。

样品中米酵菌酸含量按公式(1)计算:

$$X=\frac{\rho\times V_1\times V_3\times 1000}{m\times V_2\times 1000} \quad (1)$$

式中: X 为试样中米酵菌酸的含量, μg/kg; ρ 为从工作曲线得到的试样溶液中米酵菌酸的质量浓度, μg/L; V_1 为试样溶液提取液体积, mL; V_2 为用于净化移取的试样溶液体积, mL; V_3 为样品经净化洗脱后的最终定容体积, mL; m 为试样的称样量, g; 1000 为单位换算系数。

1.4 数据处理

统计采用 IBM SPSS 25.0 软件进行数据分析, 如检测结果低于检出限时, 则采用检出限的 1/2 值代替未检出值进行统计学分析。计数资料以百分数(%)表示, 计量资料以均数±标准偏差表示。单因素分析采用 t 检验、卡方检验; 多因素分析采用 logistic 回归, 检验水准为 α=0.05, P<0.05 表示差异有统计学意义。每个实验进行了 3 次测试以确保结果可靠性。

2 结果与分析

市售流通环节采集的 480 份湿木耳、鲜银耳样品未检出米酵菌酸, 说明正确泡发湿木耳、鲜银耳, 在保质期内食用是安全的。

2.1 唐菖蒲伯克霍尔德菌检出情况

480 份样品中, 湿木耳 364 份, 鲜银耳 116 份, 一共检出唐菖蒲伯克霍尔德菌 81 株, 检出率为 16.88%。从食品类别看, 湿木耳样品的唐菖蒲伯克霍尔德菌检出率 17.31%, 鲜银耳样品的为 15.52%; 从采样场所看, 唐菖蒲伯克霍尔德菌检出率从高到低分别是网店(18.88%), 超市(17.51%), 农贸市场(15.50%), 餐饮店(9.68%); 从包装类型看, 预包装样品的唐菖蒲伯克霍尔德菌检出率 26.09%, 散装样品的为 16.41%; 从食品材质看, 新鲜样品的唐菖蒲伯克霍尔德菌检出率 17.10%, 泡发样品的为 15.25%。

从样品产地看, 除产地不详的样品 156 份, 唐菖蒲伯克霍尔德菌检出率 3.85%外, 其余样品大部分产地为广东 150 份(检出率 23.33%), 福建 65 份(检出率 26.15%), 云南 45 份(检出率 20.00%), 采自其他 5 个产地的样品份数较少, 检出率仅供参考。

从采样季度看, 第一季度样品的唐菖蒲伯克霍尔德菌检出率为 34.00%, 第二季度样品的为 15.79%, 第三季度样品的为 15.00%, 第四季度样品的为 13.33%; 霉菌在唐菖蒲伯克霍尔德菌检出样品中的检出值为$(6.78\pm51.10)\times10^5$, 在唐菖蒲伯克霍尔德菌未检出样品的检出值为$(4.35\pm21.46)\times10^5$, 详见表 1。

2.2 影响唐菖蒲伯克霍尔德菌检出率的单因素分析

唐菖蒲伯克霍尔德菌的检出率在食品类别、采样地点、包装类型、食品材质等方面的差异比较没有统计学意义(P>0.05); 而唐菖蒲伯克霍尔德菌的检出率在样品产地、采样季度、霉菌方面的差异比较有统计学意义(P<0.05), 详见表 1。

2.3 影响唐菖蒲伯克霍尔德菌检出率的多因素分析

以唐菖蒲伯克霍尔德菌检出情况(阴性=1, 阳性=2)为因变量, 以样品产地、采样季度、霉菌检出值等单因素分析有统计学意义的影响因素作为自变量纳入 logistic 回归模型。分析结果显示: 对唐菖蒲伯克霍尔德菌检出有影响的因素是采样季度, 虽然每个季度的样品均有唐菖蒲伯克霍尔德菌的检出, 但是第一季度的 3 月的样品唐菖蒲伯克霍尔德菌的检出风险比其他 3 个季度的要高, 详见表 2。

表 1 广州市食用菌唐菖蒲伯克霍尔德菌调查的单因素分析(%)

Table 1 Univariate analysis of the investigation of *Burkholderia gladioli* in edible fungus in Guangzhou City (%)

变量		样品数量	唐菖蒲伯克霍尔德菌(+)	唐菖蒲伯克霍尔德菌(-)	χ^2/T	P
食品类别	湿木耳	364 (75.83)	63 (17.31)	301 (82.69)	0.201	0.6540
	鲜银耳	116 (24.17)	18 (15.52)	98 (84.48)		
采样地点	农贸市场	129 (26.88)	20 (15.50)	109 (84.50)	1.780	0.6190
	超市	177 (36.88)	31 (17.51)	146 (82.49)		
	餐饮店	31 (6.46)	3 (9.68)	28 (90.32)		
	网店	143 (29.79)	27 (18.88)	116 (81.12)		
包装类型	散装	457 (95.21)	75 (16.41)	382 (83.59)	1.461	0.2270
	预包装	23 (4.79)	6 (26.09)	17 (73.91)		

表 1(续)

变量		样品数量	唐菖蒲伯克霍尔德菌(+)	唐菖蒲伯克霍尔德菌(-)	χ^2/T	P
食品材质	新鲜	421 (87.71)	72 (17.10)	349 (82.90)	0.126	0.7230
	泡发	59 (12.29)	9 (15.25)	50 (84.75)		
样品产地	广东	150 (31.25)	35 (23.33)	115 (76.67)	43.409	0.0010
	福建	65 (13.54)	17 (26.15)	48 (73.85)		
	云南	45 (9.38)	9 (20.00)	36 (80.00)		
	黑龙江	15 (3.13)	3 (20.00)	12 (80.00)		
	辽宁	15 (3.13)	0 (0.00)	15 (100.00)		
	吉林	13 (2.71)	5 (38.46)	8 (61.54)		
	山东	12 (2.50)	4 (33.33)	8 (66.67)		
	广西	4# (0.83)	2 (50.00)	2 (50.00)		
	安徽	2# (0.42)	0 (0.00)	2 (100.00)		
	四川	1# (0.21)	0 (0.00)	1 (100.00)		
	浙江	1# (0.21)	0 (0.00)	1 (100.00)		
	河南	1# (0.21)	0 (0.00)	1 (100.00)		
	不详	156 (32.50)	6 (3.85)	150 (96.15)		
采样季度	第一季度	50 (10.42)	17 (34.00)	33 (66.00)	11.987	0.0070
	第二季度	190 (39.58)	30 (15.79)	160 (84.21)		
	第三季度	120 (25.00)	18 (15.00)	102 (85.00)		
	第四季度	120 (25.00)	16 (13.33)	104 (86.67)		
霉菌		480	$(6.78\pm51.10)\times10^5$	$(4.35\pm21.46)\times10^5$	4.930	0.0483
合计		480 (100.00)	399 (83.12)	81 (16.88)		

注: #表示样品数较少, 检出率仅供参考; (+)表示该样品检出唐菖蒲伯克霍尔德菌; (-)表示该样品未检出唐菖蒲伯克霍尔德菌。表 3 同。

表 2　广州市食用菌唐菖蒲伯克霍尔德菌调查的多因素分析

Table 2　Multivariate analysis of the investigation of *Burkholderia gladioli* in edible fungus in Guangzhou City

自变量	估计值	标准误	*Wald* 检验值	P	OR 值	OR 值的 95%可信区间	
						下限	上限
季度			11.164	0.011			
第一季度					1.000		
第二季度	–1.011	0.359	7.936	0.005	0.364	0.180	0.735
第三季度	–1.071	0.393	7.429	0.006	0.343	0.159	0.740
第四季度	–1.209	0.402	9.058	0.003	0.299	0.136	0.656
常数	–0.663	0.299	4.936	0.026	0.515		

注: 比值比(odds ratio, OR)。

2.4　唐菖蒲伯克霍尔德菌产毒情况

本次研究共分离出 81 株唐菖蒲伯克霍尔德菌, 经过产毒实验收集得到毒素粗提液, 采用液相色谱-串联质谱法进行米酵菌酸测定, 有 5 株能产生米酵菌酸, 是唐菖蒲伯克霍尔德氏菌(椰毒假单胞菌酵米面亚种), 其中 1 株来自鲜银耳样品, 采自某一农贸市场的散装样品; 4 株来自湿木耳样品, 其中 3 份采自不同网店(2 份散装样品, 1 份预包装样品), 另外 1 份采自某一超市的散装样品。经统计学分析, 唐菖蒲伯克霍尔德氏菌(椰毒假单胞菌酵米面亚种)在食品类别、采样地点、包装类型、食品材质、样品产地、霉菌等方面的差异比较没有统计学意义(P>0.05); 但在采样季节的差异比较有统计学意义(P<0.05), 这 5 株唐菖蒲伯克霍尔德氏菌(椰毒假单胞菌酵米面亚种)均来自第二季度的样品, 其中 4 月 2 份, 6 月 3 份, 详见表 3。

表 3 广州市食用菌唐菖蒲伯克霍尔德菌产毒情况分析(%)

Table 3 Analysis of toxicity production of *Burkholderia gladioli* in edible fungus in Guangzhou City (%)

变量		唐菖蒲伯克霍尔德菌	米酵菌酸(+)	米酵菌酸(-)	χ^2/T	P
食品类别	湿木耳	63 (77.8)	4 (6.35)	59 (93.65)	0.015	0.902
	鲜银耳	18 (22.2)	1 (5.56)	17 (94.44)		
采样地点	农贸市场	20 (24.7)	1 (5.00)	19 (95.00)	1.899	0.604
	超市	31 (38.3)	1 (3.23)	30 (96.77)		
	餐饮店	3 (3.7)	0 (0.00)	3 (100.00)		
	网店	27 (33.3)	3 (11.11)	24 (88.89)		
包装类型	散装	75 (92.6)	4 (5.33)	71 (94.67)	1.232	0.267
	预包装	6 (7.4)	1 (16.67)	5 (83.33)		
食品材质	新鲜	72 (88.9)	4 (5.56)	68 (94.44)	0.426	0.514
	泡发	9 (11.1)	1 (11.11)	8 (88.89)		
样品产地	广东	35 (43.2)	0 (0.00)	35 (100.00)	9.401	0.132
	福建	17 (21)	2 (11.76)	15 (88.24)		
	云南	9 (11.1)	1 (11.11)	8 (88.89)		
	山东	4 (4.9)	0 (0.00)	4 (100.00)		
	吉林	5 (6.2)	1 (20.00)	4 (80.00)		
	黑龙江	3 (3.7)	0 (0.00)	3 (100.00)		
	广西	2 (2.5)	0 (0.00)	2 (100.00)		
	不详	6 (7.4)	1 (16.67)	5 (83.33)		
采样季度	第一季度	17 (21.0)	0 (0.00)	17 (100.00)	5.913	0.046
	第二季度	30 (37.0)	5 (16.67)	25 (83.33)		
	第三季度	18 (22.2)	0 (0.00)	18 (100.00)		
	第四季度	16 (19.8)	0 (0.00)	16 (100.00)		
霉菌		81 (100.0)	$(1.73\pm1.23)\times10^3$	$(7.23\pm52.75)\times10^5$	0.304	0.765
合计		81 (100.0)	5 (6.17)	76 (93.83)		

注: (+)表示唐菖蒲伯克霍尔德菌能产生米酵菌酸; (-)表示唐菖蒲伯克霍尔德菌不能产生米酵菌酸。

3 结论与讨论

本研究主要针对市售流通环节中湿木耳、鲜银耳这类食用菌的唐菖蒲伯克霍尔德氏菌(椰毒假单胞菌酵米面亚种)及其毒素(米酵菌酸)污染及其影响因素进行调查。结果发现, 采集的 480 份样品均未检出米酵菌酸, 说明正确泡发木耳、银耳, 在保质期内食用是安全的。

检出唐菖蒲伯克霍尔德菌 81 株, 检出率是 16.88% (81/480), 单因素分析发现该菌检出率在样品产地、采样季度、霉菌等方面存在统计学差异。该菌检出率在样品产地存在差异可能是各地这类食用菌种植过程中采用的培养基和菌包的原料有所不同, 有研究表明不同培养基对该菌生长和产毒有一定影响[23]。霉菌的检测值高说明该样品霉变污染较严重, 唐菖蒲伯克霍尔德菌的检出率也较高, 这和 YAO 等[24]的研究结果是一致的。尽管唐菖蒲伯克霍尔德菌在每个季度的样品中均有检出, 但第一季度的 3 月的检出率比其他 3 个季度高出 2 倍多, 经单因素分析、多因素 logistic 回归分析发现: 对唐菖蒲伯克霍尔德菌检出有影响的因素是采样季度, 第一季度 3 月的样品该菌检出风险比其他 3 个季度的要高。本次研究中样品的采集时间是根据木耳、银耳培育上市时间和居民的消费习惯决定的, 第一季度的样品集中在 3 月采集, 广州 3 月温暖湿润, 平均气温在 23 ℃左右, 相对湿度大约保持在 60%~80%。唐菖蒲伯克霍尔德菌适宜生长温度范围为 20~37 ℃[25–26], 故在这适宜的温度和湿度下, 该菌可大量生长繁殖, 市售湿木耳、鲜银耳较易受到该菌的污染。

81 株唐菖蒲伯克霍尔德菌经过产毒实验, 证实 5 株能产生米酵菌酸, 是唐菖蒲伯克霍尔德菌(椰毒假单胞菌属酵米面亚种), 均是第二季度(4 月 2 份, 6 月 3 份)采集的样品。单因素分析发现唐菖蒲伯克霍尔德菌(椰毒假单胞菌属酵米面亚种)在季节上有统计学差异。唐菖蒲伯克霍尔德菌(椰毒假单胞菌属酵米面亚种)适宜产毒的温度为 20~37 ℃, 最适产毒温度为 26 ℃, 在马铃薯葡萄糖半固体琼脂平板 26 ℃培养 5 d, 米酵菌酸产量最高[26]。广州第二季度的平均

气温在 26~29 ℃, 属于该菌的最佳产毒温度, 湿木耳和鲜银耳因其水分含量高易受到该菌的污染而产生大量米酵菌酸。

由于广州炎热潮湿的气候特点, 湿木耳、鲜银耳食品在市售流通环节中, 易受唐菖蒲伯克霍尔德氏菌污染, 且有产米酵菌酸风险, 因此需加强对这类食品中该致病菌的风险监测。尤其在第二季度要注意防止这类食品受唐菖蒲伯克霍尔德菌(椰毒假单胞菌属酵米面亚种)的污染。较高的储存温度会促进唐菖蒲伯克霍尔德菌的增殖和米酵菌酸的产生[24], 应控制样品的储藏温度(10 ℃贮存条件可有效降低米酵菌酸中毒的风险)和泡发时间(不超过 2 h, 最大限度的减少米酵菌酸的产生)。

为降低湿木耳、鲜银耳这类食用菌的唐菖蒲伯克霍尔德氏菌(椰毒假单胞菌酵米面亚种)及其毒素(米酵菌酸)污染而引起食物中毒的风险, 目前还常常采取日晒法、短波紫外、保鲜剂、防腐剂等方法去毒杀菌保鲜。日晒法[27]能有效去除鲜银耳中米酵菌酸, 日晒 2 d 可去毒 95%~97%; 干银耳日晒 2 d 去毒 57%~62%, 日晒 8 d 后, 去毒可达 94%, 推测由于日晒的作用, 毒素分子结构被破坏, 米酵菌酸转化成对线粒体亲和力仅为 1/2~1/4 的异米酵菌酸, 以致毒性不同程度地降低。短波紫外和薰香灵[28]也有明显的去除米酵菌酸的效果: 将采摘的银耳放置于紫外灯下照射 30 min 并及时烘干, 基本上可去毒。1%薰香灵可在一定程度上降低该菌的产毒能力。天然保鲜剂乳清发酵粉[29]对唐菖蒲伯克霍尔德氏菌有显著的抑菌效果: 3.2 mg/mL 乳清发酵粉作用时间 12 h 时杀菌率达到 97.88%; 作用时间 18 h, 可完全杀灭活菌; 6.4 mg/mL 乳清发酵粉作用时间为 18 h 时杀菌率已达到 99.63%; 作用 24 h 时, 可达到 99.99%。防腐剂双乙酸钠[30]能有效抑制唐菖蒲伯克霍尔德氏菌的生长和降低米酵菌酸的产生: 在不同培养基中双乙酸钠添加量>0.1%时, 该菌的生长明显减弱甚至被完全抑制, 米酵菌酸的产量也大大减少, 当添加量达到 0.2%时, 没有菌生长。上述方法可降低唐菖蒲伯克霍尔德氏菌对重点食品的污染风险, 消除食物中毒的风险隐患。

参考文献

[1] 彭沛穰, 景雪梅, 冶晓燕, 等. 唐菖蒲伯克霍尔德氏菌致病变种的危害及预防[J]. 生物学通报, 2021, 56(6):1–3.
PENG PR, JING XM, YE XY, *et al*. The harm and prevention of pathogenic variants of *Burkholderia gladioli* [J]. Bulletin of Biology, 2021, 56(6): 1–3.

[2] 耿雪峰, 张晶, 庄众, 等. 2002—2016 年中国椰毒假单胞菌食物中毒报告事件的流行病学分析[J]. 卫生研究, 2020, 49(4): 648–650.
GENG XF, ZHANG J, ZHUANG Z, *et al*. Epidemiological analysis of reported *Pseudomonas cocovenenans* food poisoning events in China, 2002—2016 [J]. Journal of Hygiene Research, 2020, 49(4): 648–650.

[3] 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 PP, ZHU JH, XU XM, *et al*. A food poisoning incident caused by *Pseudomonas cocovenenans* subsp *farino fermentans* [J]. Shanghai Journal of Preventive Medicine, 2019, 31(6): 466–468.

[4] 张俊梅. 一起因食用变质银耳引起的椰毒假单孢菌酵米面亚种食物中毒调查报告[J]. 中国医药指南, 2015(3): 286–287.
ZHANG JM. An investigation report on food poisoning caused by eating white fungus which contaminate with *Pseudomonas cocovenenans* subsp *farino fermentans* [J]. Guide of China Medicine, 2015(3): 286–287.

[5] 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 HY, SONG MD, WANG J, *et al*. Identification of the pathogen in rice noodles in relation to food poisoning caused by bongkrekic acid in Guangdong Province [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2019, 31(4): 394–398.

[6] HUANG Q, WU Z. Safe eating of fermented corn and coconut food: Mechanism, clinical manifestations and inhibition of food poisoning involved in bongkrekic acid [J]. E3S Web of Conferences, 2021, 26702075. DOI: 10.1051/E3SCONF/202126702075

[7] KANO A, IWASAKI T, SHINDO M. Bongkrekic acid facilitates glycolysis in cultured cells and induces cell death under low glucose conditions [J]. Biochemistry and Biophysics Reports, 2019, 20(C): 100683.

[8] LI JH, ZHOU L, LONG CY, *et al*. An investigation of bongkrekic acid poisoning caused by consumption of a non fermented rice noodle product without noticeable signs of spoilage [J]. Journal of Food Protection, 2019, 82(10): 1650–1654.

[9] ANWAR M, KASPER A, STECK AR, *et al*. Bongkrekic acid-a review of a lesser-known mitochondrial toxin [J]. Journal of Medical Toxicology, 2017, 13(2): 173–179.

[10] ZHOU E, SUN Y, FU Y, *et al*. Bongkrekic acid induced neutrophil extracellular traps via p38, ERK, PAD4, and P2X1-mediated signaling [J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2021, 423: 115580.

[11] 郭学荣, 李振营, 程海鹰, 等. 椰毒假单胞菌食物中毒尸检 3 例[J]. 法医学杂志, 2011, 27(1): 75–76.
GUO XR, LI ZY, CHENG HY, *et al*. Autopsy of 3 cases of *Pseudomonas cocovenenans* food poisoning [J]. Journal of Forensic Medicine, 2011, 27(1): 75–76.

[12] 陈荣桥, 陈汉金, 胡均鹏, 等. 米和食用淀粉中椰毒假单胞菌酵米面亚种污染调查与风险分析[J]. 现代食品科技, 2021, 37 (1): 260–267.
CHEN RQ, CHEN HJ, HU JP, *et al*. Contamination investigation and risk analysis of *Pseudomonas cocovenenans* subsp. *farinofermentans* in rice and edible starch [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(1): 260–267.

[13] 孟煦东, 郭城宇, 马吉瑶, 等. 我国黑木耳制品研究现状[J]. 食品工业, 2021, 42(10): 257–259.
MENG XD, GUO CY, MA JY, *et al*. Research status of auricularia heimuer products in China [J]. Food Industry, 2021, 42(10): 257–259.

[14] 陈子慧, 黄芮, 梁骏华, 等. 2018—2020 年广东省河粉类食品米酵菌酸中毒事件流行病学分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2022, 34(1): 158–162.
CHEN ZH, HUANG R, LIANG JH, *et al*. Epidemiological analysis of bongkrekic acid poisoning incidents in rice noodle products in Guangdong province, 2018—2020 [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2022, 34(1): 158–162.

[15] 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 ZX. Biosynthesis mechanism of bongkrekic acid in *Burkholderia gladioli* [J]. Journal of Hygiene Research, 2020, 49(2): 336–338.

[16] NADINE M, CLAUDIA R, KIRSTIN S, *et al*. Biosynthesis of the respiratory toxin bongkrekic acid in the pathogenic bacterium *Burkholderia gladioli* [J]. Chemistry & Biology, 2012, 19(9): 1164–1174.

[17] SATOSHI F, MASKI S, KENJI M, *et al*. Synthesis and evaluation of simplified functionalized bongkrekic acid analogs [J]. Tetrahedron, 2017, 74(9): 962–969.

[18] SHI RJ, LONG CY, DAI YD, *et al*. Bongkrekic acid poisoning: Severe liver function damage combined with multiple organ failure caused by eating spoiled food [J]. Legal Medicine, 2019, 41: 101622.

[19] 王敏, 高琼. 食用菌中唐菖蒲伯克霍尔德氏菌的分离鉴定、产毒基因和米酵菌酸检测结果分析[J]. 实用预防医学, 2025, 32(8): 1004–1007.
WANG M, GAO Q. Isolation, identification, toxigenic genes and detection of bongkrekic acid of *Burkholderia gladioli* in edible fungi [J]. Practical Preventive Medicine, 2025, 32(8), 1004–1007.

[20] 国家卫生健康委员会, 国家市场监督管理总局. 2024 年国家食品污染和有害因素风险监测工作手册[M]. 北京: 国家卫生健康委员会, 2024.
National Health Commission, State Administration for Market Regulation. National food contamination and harmful factor risk monitoring work manual for 2024 [M]. Beijing: National Health Commission, 2024.

[21] 陈嘉聪, 王晓琴, 张丰芸, 等. 食品中毒黄素和米酵菌酸含量同时检测方法的研究[J]. 食品科技, 2021, 46(5): 301–306.
CHEN JC, WANG XQ, ZHANG FY, *et al*. Simultaneous determination of toxoflavin and bongkrekic acid in foods [J]. Food Science and Technology, 2021, 46(5): 301–306.

[22] 赵智锋, 王晓琴, 叶文芳, 等. 三重四级杆液质法检测食品中毒黄素和米酵菌酸含量[J]. 中国农学通报, 2024, 40(3): 128–134.
ZHAO ZF, WANG XQ, YE WF, *et al*. Determination of toxoflavin and bongkrekic acid in foods by triple quadrupole liquid chromatography-mass spectrometry [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2024, 40(3): 128–134.

[23] 李兵, 叶青华, 赵美平, 等. 唐菖蒲伯克霍尔德菌椰毒致病变种污染调查及其生长与产毒特性分析[J]. 现代食品科技, 2022, 38(10): 283–289.
LI B, YE QH, ZHAO MP, *et al*. Contamination of *Burkholderia gladioli pathovar cocovenenans* in retail foods and its growth and toxicity characteristics [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(10): 283–289.

[24] YAO YT, ZHONG XW, ZHOU Y, *et al*. Exploring the characteristics of *Burkholderia gladioli pathovar cocovenenans*: Growth, bongkrekic acid production, and potential risks of food contamination in wet rice noodles and vermicelli [J]. Food Microbiology, 2024, 120: 104449.

[25] 陈荣桥, 陈汉金, 胡均鹏, 等. 椰毒假单胞菌酵米面亚种在湿米粉及其原料中的生长产毒规律及风险分析[J]. 现代食品科技, 2022, 38(5): 320–327.
CHEN RQ, CHEN HJ, HU JP, *et al*. Growth and virulence of *pseudomonas cocovenenans* leaven rice subspecies in wet rice flour and its raw materials and risk analysis [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(5): 320–327.

[26] 陈子慧, 王海燕, 陈少威, 等. 1 株唐菖蒲伯克霍尔德氏菌在湿米粉中的产毒规律分析[J], 中国食品学报, 2023, 12(23): 70–77.
CHEN ZH, WANG HY, CHEN SW, *et al*. Analysis of toxigenic of a *Burkholderia gladioli strain* in wet rice flour [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2023, 23(12): 70–77.

[27] 陈晓明, 刘秀梅, 王玉华, 等. 用日晒法去除银耳中黄杆菌毒素 A 的试验报告[J]. 卫生研究, 1986(2): 34–36.
CHEN XM, LIU XM, WANG YH, *et al*. Experimental report on removing Flavobacterium toxin A from tremella by sun-drying method [J]. Journal of Hygiene Research, 1986(2): 34–36.

[28] 俞世荣, 刘秀梅, 杜春明, 等. “安全银耳”生产的研究[J]. 卫生研究, 1993(2): 101–104.
YU SR, LIU XM, DU CM, *et al*. Study on the production of “safe tremella” [J]. Journal of Hygiene Research, 1993(2): 101–104.

[29] 段龙辉. 乳清发酵粉对唐菖蒲伯克霍尔德氏菌的抑制作用及其在河粉、木耳保鲜中的应用研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2024.
DUAN LH. Study on the inhibition of *Burkholderia gladioli* by whey baking powder and its application in the preservation of wet rice noodles and wood ear [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2024.

[30] 黄静敏, 陈晶, 吴燕蕙, 等. 双乙酸钠在湿米粉中对唐菖蒲伯克霍尔德氏菌生长及产毒的影响[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(8): 115–121.
HUANG JM, CHEN J, WU YH, *et al*. Effects of sodium diacetate on the growth and bongkrekic acid production of *Burkholderia gladioli* in wet rice noodles [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(8): 115–121.

(责任编辑: 韩晓红 冯东慧)