

- 391-395.
- [ 4 ] Matsumoto C, Okuda J, Ishibashi M, et al. Pandemic spread of an O3: K6 clone of *Vibrio parahaemolyticus* and emergence of related strains evidenced by arbitrarily primed PCR and *toxRS* sequence analyses [ J ]. *J Clin Microbiol*, 2000, 38 ( 2 ) : 578-585.
- [ 5 ] Okura M, Osawa R, Iguchi A, et al. Genotypic analyses of *Vibrio parahaemolyticus* and development of a pandemic group-specific multiplex PCR assay [ J ]. *J Clin Microbiol*, 2003, 41 ( 10 ) : 4676-4682.
- [ 6 ] Vongxay K, WANG S N, ZHANG X F, et al. Pathogenic characterization of *Vibrio parahaemolyticus* isolates from clinical and seafood sources [ J ]. *Int J Food Microbiol*, 2008, 126 ( 1/2 ) : 71-75.
- [ 7 ] Bhuiyan N A, Ansaruzzaman M, Kamruzzaman M, et al. Prevalence of the pandemic genotype of *Vibrio parahaemolyticus* in Dhaka, Bangladesh, and significance of its distribution across different serotypes [ J ]. *J Clin Microbiol*, 2002, 40 ( 1 ) : 284-286.
- [ 8 ] Jones J L, Ludeke C H, Bowers J C, et al. Biochemical, serological, and virulence characterization of clinical and oyster *Vibrio parahaemolyticus* isolates [ J ]. *J Clin Microbiol*, 2012, 50 ( 7 ) : 2343-2352.
- [ 9 ] Velazquez-Roman J, Leon-Sicairos N, Flores-Villasenor H, et al. Association of pandemic *Vibrio parahaemolyticus* O3: K6 present in the coastal environment of Northwest Mexico with cases of recurrent diarrhea between 2004 and 2010 [ J ]. *Appl Environ Microbiol*, 2012, 78 ( 6 ) : 1794-1803.
- [ 10 ] 陈洪友, 屠丽红, 陈敏, 等. 贝类水产中副溶血性弧菌菌型分布研究 [ J ]. *疾病监测*, 2014, 29 ( 7 ) : 522-527.
- [ 11 ] Broberg C A, Calder T J, Orth K. *Vibrio parahaemolyticus* cell biology and pathogenicity determinants [ J ]. *Microbes Infect*, 2011, 13 ( 12/13 ) : 992-1001.
- [ 12 ] Bej A K, Patterson D P, Brasher C W, et al. Detection of total and hemolysin-producing *Vibrio parahaemolyticus* in shellfish using multiplex PCR amplification of *tl*, *tdh* and *trh* [ J ]. *J Microbiol Methods*, 1999, 36 ( 3 ) : 215-225.
- [ 13 ] LIU J, HUANG S M, SUN M Y, et al. An improved allele-specific PCR primer design method for SNP marker analysis and its application [ J ]. *Plant Methods*, 2012, 8 ( 1 ) : 34.
- [ 14 ] YE J, Coulouris G, Zaretskaya I, et al. Primer-BLAST: a tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction [ J ]. *BMC Bioinformatics*, 2012, 13 : 134.
- [ 15 ] 陈洪友, 盛跃颖, 屠丽红, 等. 2012年上海地区副溶血性弧菌血清分型和毒力基因携带状况研究 [ J ]. *微生物与感染*, 2014, 9 ( 1 ) : 37-42.
- [ 16 ] 翁琴云, 张建梅, 朱滢, 等. 2005—2011年厦门市食物中毒副溶血性弧菌的病原特征分析 [ J ]. *中国当代医药*, 2014, 21 ( 19 ) : 4-8.
- [ 17 ] 李宇聪, 杨丽, 方昌勇, 等. 东莞市不同来源副溶血性弧菌的病原学特征分析 [ J ]. *华南预防医学*, 2014, 40 ( 5 ) : 440-444.
- [ 18 ] Pendru R. Genetic markers of pandemic *Vibrio parahaemolyticus*: are they truly unique? [ J ]. *Foodborne Pathogens and Disease*, 2011, 8 ( 5 ) : 653-654.
- [ 19 ] 陈洪友, 盛跃颖, 宋元君, 等. 上海地区副溶血性弧菌大流行菌株血清型及分子特征研究 [ J ]. *中国食品卫生杂志*, 2014, 26 ( 1 ) : 5-9.

## 论著

# 石家庄市 131 株食源性蜡样芽胞杆菌毒力基因的分布

秦丽云<sup>1</sup>, 吕国平<sup>1</sup>, 蔡箴<sup>1</sup>, 潘琢<sup>1</sup>, 齐丽荣<sup>2</sup>

(1. 石家庄市疾病预防控制中心, 河北 石家庄 050011;

2. 白求恩医务士官学校, 河北 石家庄 050081)

**摘要:**目的 研究石家庄市食源性蜡样芽胞杆菌毒力基因的分布及毒力活性, 了解蜡样芽胞杆菌的潜在威胁。方法 采用 PCR 方法, 对食品风险监测中分离到的 131 株蜡样芽胞杆菌进行肠毒素、呕吐毒素 9 种毒力基因扩增检测, 用血平板检测的方法分析蜡样芽胞杆菌的毒力。结果 毒力基因携带率较高, 至少携带一个毒力基因的菌株达到检出菌总数的 99.2% (130/131), 溶血素 BL 基因 (*hblACD*) 和肠毒素 FM 基因 (*entFM*) 是石家庄市食源性蜡样芽胞杆菌的主要毒力基因; 检出的蜡样芽胞杆菌均产生溶血素 BL, 检出率为 100%。结论 腹泻型肠毒素在食品中的分布比较广泛, 检出的蜡样芽胞杆菌均具有溶血素, 对进食者存在潜在的危险性, 今后应加强监控蜡样芽胞杆菌的污染, 预防和控制蜡样芽胞杆菌食源性疾病的发生。

**关键词:**食源性致病菌; 蜡样芽胞杆菌; 肠毒素; 呕吐毒素; 毒力基因; 溶血素 BL; 风险监测; 石家庄

中图分类号: R155.5; S852.61<sup>+</sup>6 文献标志码: A 文章编号: 1004-8456(2015)04-0358-05

DOI: 10.13590/j.cjfh.2015.04.003

## Distribution of virulence genes and virulence evaluation of food-borne *Bacillus cereus* in Shijiazhuang City

QIN Li-yun, LV Guo-ping, CAI Zhen, PAN Zhuo, QI Li-rong

(Shijiazhuang Center for Disease Control and Prevention, Hebei Shijiazhuang 050011, China)

**Abstract: Objective** To study the distribution of virulence genes, evaluate the virulence of food-borne *Bacillus cereus* in Shijiazhuang City, and to investigate the potential risk. **Methods** 9 virulence genes (such as enterotoxin and vomitoxin) were detected with PCR method in 131 *Bacillus cereus* collected from food risk monitoring program. The virulence of pathogens were also analyzed using blood agar plates. **Results** The carrying rate of virulence genes was high. 99.2% (130/131) of the strains carried at least one virulence gene. *hblACD* and *entFM* were the major virulence genes of *Bacillus cereus* in Shijiazhuang City. All strains produced hemolysin BL. **Conclusion** Diarrhea enterotoxin was widespread in food, and hemolysin was detected in all pathogens, which caused potential public health risk. More effective monitoring strategies should be developed to prevent and control the occurrence of *Bacillus cereus* food-borne diseases.

**Key words:** Food-borne pathogenic bacteria; *Bacillus cereus*; enterotoxin; vomitoxin; virulence gene; hemolysin BL; risk monitoring; Shijiazhuang

蜡样芽胞杆菌是一种常见的食品污染菌和食源性条件致病菌,广泛存在于土壤、空气、水和尘埃中,污染食品的机会很多,几乎所有种类的食品(乳品、淀粉类、肉制品等)都曾报道与蜡样芽胞杆菌引发的食物中毒有关<sup>[1]</sup>。该菌引起的食物中毒包括腹泻型和呕吐型两种<sup>[2-3]</sup>,其中腹泻主要与某些菌株分泌肠毒素相关,而呕吐主要是因某些菌株产生呕吐毒素引起<sup>[4]</sup>。蜡样芽胞杆菌的主要毒力因子包括:与呕吐毒素相关的 *ces* 基因;与腹泻毒素相关的溶血素 *BL* 基因(*hblA*、*hblC* 和 *hblD*)、非溶血性肠毒素 *Nhe* 基因(*nheA*、*nheB* 和 *nheC*)<sup>[5]</sup>、肠毒素 *FM* 基因(*entFM*)等。基于食品安全的考虑,本课题组对食品中蜡样芽胞杆菌相关毒力基因的分布情况进行了研究,同时进行毒力活性检测。本研究对本实验室在石家庄市食源性致病菌监测中,分离到的 131 株蜡样芽胞杆菌中的 *hblA*、*hblC*、*hblD*、*nheA*、*nheB*、*nheC*、*entFM* 7 个肠毒素基因,两个呕吐毒素基因 *cesA*、*cesB*,进行了 PCR 检测以及毒力活性检测。

### 1 材料与方 法

#### 1.1 材 料

##### 1.1.1 菌株来源

2012—2013 年来自食源性致病菌监测中分离的 131 株蜡样芽胞杆菌,菌株分离自婴幼儿谷基辅助食品、婴幼儿配方粉、凉皮、米饭等食品,各类食品中试验菌株的数量见表 1。所有菌株均于本实验室保存,由菌株保存液保藏于 -20 °C 冰箱备用。

##### 1.1.2 主要仪器与试剂

Chemi Genius2 型凝胶成像系统(美国 SYNGENE), PTC200 PCR 扩增仪(美国 MJ. Research), 恒温培养箱, EC105 型电泳仪。血平板、甘露醇卵黄多粘菌素

表 1 131 株蜡样芽胞杆菌的来源

Table 1 Distribution of *Bacillus cereus* strains in foods

食品种类	蜡样芽胞杆菌菌株数/株
婴幼儿谷基辅助食品	64
婴幼儿配方粉	39
凉皮	12
米饭	16
合计	131

培养基(MYP)等蜡样芽胞杆菌生化试剂均购自北京陆桥技术有限责任公司, *rTaq* 聚合酶(大连宝生物公司), PCR 引物由宝生物工程(大连)有限公司合成。

#### 1.2 方 法

##### 1.2.1 DNA 模板的制备

从菌株保存液中取一接种环菌液划线接种于营养琼脂平板, 30 °C 培养 24 h 后获得纯培养物。刮取适量的纯培养菌落于 500 μl 双蒸水中制成菌悬液, 100 °C 水浴 10 min, 取出后立即冰浴 20 min, 12 000 r/min 离心 10 min, 取上清液作为 PCR 反应的模板, -20 °C 冻存备用。

##### 1.2.2 PCR 引物

蜡样芽胞杆菌 9 个毒力基因的特异引物序列及扩增片段大小见表 2。所有文献中的参考引物均用 DNASTAR Lasergene 软件进行验证。

##### 1.2.3 毒力基因的检测

以检测菌株的基因组 DNA 为模板, 利用合成好的溶血素 *BL* 基因(*hblA*、*hblC* 和 *hblD*)、非溶血性肠毒素 *Nhe* 基因(*nheA*、*nheB* 和 *nheC*)、肠毒素 *FM* 基因(*entFM*)、呕吐毒素基因(*cesA*、*cesB*)的特异引物进行 PCR 扩增, 检测石家庄市分离的 131 株蜡样芽胞杆菌的毒力基因的分布。PCR 反应体系(50 μl): *rTaq* PCR 反应试剂(其中含预混合的 PCR

表2 9个毒力基因的特异引物序列及扩增片段大小

Table 2 PCR primers and amplification product lengths of 9 virulence genes

基因	引物名称	序列(5'-3')	片段大小/bp
<i>hblA</i> <sup>[6]</sup>	<i>hblA</i> -F	ATTAATACAGGGGATGGAGAACTT	237
	<i>hblA</i> -R	TGATCCTAATACTTCTCTAGACGCTT	
<i>hblC</i> <sup>[7]</sup>	<i>hblC</i> -F	CCTATCAATACTCTCGCAA	695
	<i>hblC</i> -R	TTTCCTTTGTATACGCTGC	
<i>hblD</i> <sup>[8]</sup>	<i>hblD</i> -F	GAAACAGGGCTTCATATTCT	997
	<i>hblD</i> -R	CTGCATCTTTATGAATATCA	
<i>nheA</i> <sup>[8]</sup>	<i>nheA</i> -F	ATTACAGGGTTATTGGTTACAGCAGT	475
	<i>nheA</i> -R	AATCTTGTCTCCATACTCTCTGGATGCT	
<i>nheB</i> <sup>[9]</sup>	<i>nheB</i> -F	CAAGCTCCAGTTCATGCGG	1 010
	<i>nheB</i> -R	GATCCCATTGTGTACCATTG	
<i>nheC</i> <sup>[8]</sup>	<i>nheC</i> -F	GCGGATATTGTAAAGAATCAAATGAGGT	557
	<i>nheC</i> -R	TTTCCAGCTATCTTTTCGCTGTATGTAAT	
<i>entFM</i> <sup>[6]</sup>	<i>entFM</i> -F	CAAAGACTTCGTAACAAAAGGTGGT	290
	<i>entFM</i> -R	TGTTTACTCCGCTTTTACAAACTT	
<i>cesA</i> <sup>[10]</sup>	<i>cesA</i> -F	CACGCCGAAAAGTGATTATACCAA	176
	<i>cesA</i> -R	CACGATAAAACCACTGAGATAGTG	
<i>cesB</i> <sup>[8]</sup>	<i>cesB</i> -F	TTGTTGGAATTGTCGCAGAG	405
	<i>cesB</i> -R	GTAAGCGAACCTGTCTGTAACAACA	

Buffer, *Taq* 酶, dNTP,  $Mg^{2+}$  等) 14.3  $\mu$ l, 上、下游引物各 1  $\mu$ l, DNA 模板 5  $\mu$ l, 用双蒸水调整终体积至 50  $\mu$ l。扩增参数: 94  $^{\circ}$ C 预变性 4 min; 94  $^{\circ}$ C 变性 30 s, 56  $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72  $^{\circ}$ C 延伸 1 min, 30 个循环; 最后 72  $^{\circ}$ C 8 min。同时以蜡样芽胞杆菌作为阳性对照, 以灭菌水作为阴性对照。PCR 反应后立即取 10  $\mu$ l 产物上样至 1.8% 的琼脂糖凝胶于 80 V 电压下电泳 20 min, 凝胶成像系统观察、拍照记录结果。

#### 1.2.4 溶血活性的检测

将活化的待测菌株接种于胰酪胨大豆羊血琼脂 (TSSB) 平板, 30  $^{\circ}$ C 培养 24 h, 观察溶血现象并记录结果。

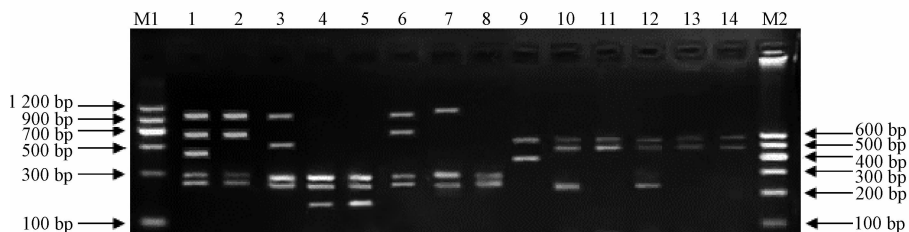
#### 1.3 统计学分析

采用 B  $\times$  C 列联表卡方  $\chi^2$  检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义,  $P > 0.05$  为差异无统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 毒力基因的检出情况

采用 3 个溶血素 *BL* 基因、3 个非溶血性肠毒素 *Nhe* 基因、1 个肠毒素 *FM* 基因和 2 个呕吐毒素基因共 9 个基因的特异性引物, 进行 PCR 扩增, 可分别扩增出 237、695、997、475、1 010、557、290、176 和 405 bp 大小的扩增片段, PCR 产物电泳图如图 1 所示。因菌株太多, 图中仅列了一部分菌株的电泳图。



注: M1、M2 为 DNA maker; 从上到下依次为 1: *hblA*、*entFM*、*nheA*、*hblC*、*hblD*; 2: *hblA*、*entFM*、*hblC*、*hblD*; 3: *hblA*、*entFM*、*nheC*、*hblD*; 4、5: *cesA*、*hblA*、*entFM*; 6: *hblA*、*entFM*、*hblC*、*hblD*; 7: *hblA*、*entFM*、*nheB*; 8: *hblA*、*entFM*; 9: *cesB*、*hblC*; 10、12: *entFM*、*nheA*、*hblC*; 11、13、14: *nheA*、*hblC* 的扩增产物

图1 部分检测菌株各毒力基因 PCR 扩增电泳图

Figure 1 Detection of virulence genes using PCR method

131 株蜡样芽胞杆菌中有 130 株携带至少 1 个毒力基因, 毒力基因携带率为 99.2%, 在各类样品中分布广泛, 分布差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 其中有 55.7% 的菌株携带复合型溶血性肠毒素基因 (*hblACD*); 84.0% 的菌株携带肠毒素 *FM* 基因 (*entFM*); 29.0% 的菌株携带复合型非溶血性肠毒素 *Nhe* 基因 (*nheABC*); 6.9% 和 4.6% 的菌株分别携带呕吐毒素基因 *cesA* 和 *cesB*, 0.8% 的菌株同时 *cesA*

和 *cesB*。溶血性肠毒素基因 (*hblACD*) 在各类样品中的分布差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 而非溶血性肠毒素 (*nheABC*) 在各类样品中分布差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 肠毒素 *FM* 基因在各类样品中分布差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 呕吐毒素基因 *cesA* 和 *cesB* 的样品分布差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。相关毒力基因在 131 株食源性蜡样芽胞杆菌中的分布情况见表 3。

表3 相关毒力基因在食源性蜡样芽胞杆菌中的分布(%)  
Table 3 Distribution of virulence genes in food-borne *Bacillus cereus*

毒力基因	总检出菌株携带率	各类样品中检出菌株的携带率			
		婴幼儿谷基辅助食品	婴幼儿配方食品	凉皮	米饭
<i>hblA</i>	82.4(108/131)	87.5(56/64)	79.5(31/39)	75.0(9/12)	75.0(12/16)
<i>hblC</i>	64.9(85/131)	50.0(32/64)	64.1(25/39)	100.0(12/12)	100.0(16/16)
<i>hblD</i>	66.4(87/131)	75.0(48/64)	82.1(32/39)	25.0(3/12)	25.0(4/16)
同时携带 <i>hblA</i> 、 <i>hblC</i> 、 <i>hblD</i>	55.7(73/131)	51.6(33/64)	69.2(27/39)	41.7(5/12)	50.0(8/16)
至少携带 <i>hblA</i> 、 <i>hblC</i> 、 <i>hblD</i> 中的一个	97.7(128/131)	100.0(64/64)	92.3(36/39)	100.0(12/12)	100.0(16/16)
<i>nheA</i>	67.9(89/131)	79.7(51/64)	76.9(30/39)	16.7(2/12)	37.5(6/16)
<i>nheB</i>	38.2(50/131)	42.2(27/64)	59.0(23/39)	0.0(0/12)	0.0(0/16)
<i>nheC</i>	52.7(69/131)	65.6(42/64)	51.3(20/39)	16.7(2/12)	31.3(5/16)
同时携带 <i>nheA</i> 、 <i>nheB</i> 、 <i>nheC</i>	29.0(38/131)	34.4(22/64)	41.0(16/39)	0.0(0/12)	0.0(0/16)
至少携带 <i>nheA</i> 、 <i>nheB</i> 、 <i>nheC</i> 中的一个	80.9(106/131)	90.6(58/64)	97.4(38/39)	16.7(2/12)	50.0(8/16)
<i>entFM</i>	84.0(110/131)	93.8(60/64)	100.0(39/39)	50.0(6/12)	31.3(5/16)
<i>cesA</i>	6.9(9/131)	6.3(4/64)	12.8(5/39)	0.0(0/12)	0.0(0/16)
<i>cesB</i>	4.6(6/131)	4.7(3/64)	2.6(1/39)	0.0(0/12)	12.5(2/16)
同时携带 <i>cesA</i> 、 <i>cesB</i>	0.8(1/131)	0.0(0/64)	2.6(1/39)	0.0(0/12)	0.0(0/16)
至少携带 <i>cesA</i> 、 <i>cesB</i> 中的一个	10.7(14/131)	12.5(8/64)	10.3(4/39)	0.0(0/12)	12.5(2/16)
至少携带以上 9 个基因中的一个	99.2(130/131)	98.4(63/64)	100.0(39/39)	100.0(12/12)	100.0(16/16)

## 2.2 血平板溶血结果

在所检测的 131 株蜡样芽胞杆菌中,菌株均呈现较强的完全透明溶血环。可见蜡样芽胞杆菌都具有溶血特性,由于溶血性与许多毒素因子或其他病原性有一定的关联,这些蜡样芽胞杆菌中肯定有一些潜在的与病原性相关的因子存在。蜡样芽胞杆菌的溶血现象见图 2。

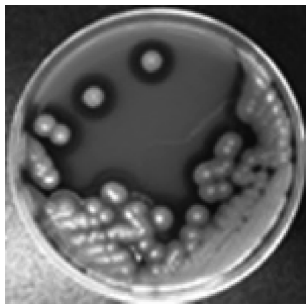


图2 蜡样芽胞杆菌的溶血特征

Figure 2 Hemolytic characteristics of *Bacillus cereus*

## 3 讨论

蜡样芽胞杆菌的致病性强弱取决于其毒力因子,复合型毒素全部组分的共同参与能使其毒力达到最大<sup>[11]</sup>,目前国内外对蜡样芽胞杆菌的研究,不仅仅止步该菌在食品中的污染情况上,同时也关注着蜡样芽胞杆菌的毒力对人类的危害。本研究报告了石家庄市食源性蜡样芽胞杆菌潜在的毒性威胁,结果显示蜡样芽胞杆菌分离株中广泛存在着毒力基因,有 99.2% 的菌株携带至少 1 个毒力基因,55.7% 的菌株携带复合型溶血素 *BL* 基因,84.0% 的菌株携带肠毒素 *FM* 基因,高于庄子慧等<sup>[12]</sup> 报道的我国食源性蜡样芽胞杆菌 87.4% 的菌株携带至少

1 个毒力基因,40.3% 的菌株携带复合型溶血素 *BL* 基因,23.1% 的菌株携带肠毒素 *FM* 基因;接近于 Ankolekar 等<sup>[13]</sup> 报道的 178 份大米中 56.6% 的分离株携带复合型溶血素 *BL* 基因;原因可能是菌株的基因型别、食品种类和地理位置差异性,造成的蜡样芽胞杆菌毒力基因多样性分布。

本次研究的菌株中有 10.7% 携带呕吐毒素基因,接近于文献报道<sup>[14-16]</sup>,只有 1 菌株同时携带呕吐毒素基因 *cesA* 和 *cesB*,该毒素比较危险且非常稳定<sup>[17]</sup>,食用前的重新加热、胃酸和肠道中的蛋白酶都不能破坏该毒素,一旦摄入被呕吐毒素污染的食物,则毒素可以保持完整并可能变成活性毒素的形式吸附于内脏,进食 0.5 ~ 5 h 后,食品中的毒素就会引起恶心并呕吐的症状<sup>[18]</sup>。

本研究还显示,本次 131 株蜡样芽胞杆菌分离株全部产生溶血素,在血平板上形成透明溶血环,而基因检测发现,只有 55.7% 的菌株含有溶血素 *BL* 的全部基因,而同时含有 *hblA* 与 *hblD* 两个基因和同时含有 *hblC* 与 *hblD* 两个基因的菌株也都产生了溶血素现象,建议分离纯化各型别的溶血素蛋白,研究其溶血作用。

蜡样芽胞杆菌作为一种常见的条件致病菌,一旦食品被含有毒素的菌株污染,可通过食物链传播并引起人类疾病,因此很有必要对食源性蜡样芽胞杆菌的毒力基因以及毒力进行监测,以了解毒力基因在分离株中的分布情况,对预防和控制蜡样芽胞杆菌食源性疾病的发生有重要的意义。此次监测结果反映出目前石家庄市食源性蜡样芽胞杆菌存在的潜在威胁是不容忽视的,腹泻型肠毒素在食品中分布比较广泛,这意味着食物中的蜡样芽胞杆菌

对进食者产生很严重的危险,今后应加强监控蜡样芽胞杆菌的污染,保障食品安全。

## 参考文献

- [1] 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.
- [2] Schoeni J L, Wong A C. *Bacillus cereus* food poisoning and its toxins[J]. J Food Prot, 2005, 68(3):636-648.
- [3] Stenfors Arnesen L P, Fagerlund A, Granum P E. From soil to gut: *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins [J]. FEMS Microbiol Rev, 2008, 32(4):579-606.
- [4] Ehling-Schulz M, Fricker M, Grallert H, et al. Cereulide synthetase gene cluster from emetic *Bacillus cereus*; structure and location on a mega virulence plasmid related to *Bacillus anthracis* toxin plasmid pXO1 [J]. BMC Microbiology, 2006, 6(1):1-11.
- [5] Heilkenbrinker U, Dietrich R, Didier A, et al. Complex formation between NheB and NheC is necessary to induce cytotoxic activity by the three-component *Bacillus cereus* Nhe terotoxin [J]. PloS One, 2013, 8(4):e63104.
- [6] YANG I C, Shih D Y C, Tsui-Ping H, et al. Establishment of a novel multiplex PCR assay and detection of toxigenic strains of the species in the *Bacillus cereus* group [J]. Journal of Food Protection, 2005, 68(10):2123-2130.
- [7] Seong S J, Lim J S, Lee K G, et al. Toxin gene profiling of *Bacillus cereus* food isolates by PCR [J]. J Korean Soc Appl Biol Chem, 2008, 51(4):263-268.
- [8] 张志鸿,许恒毅,魏华. 基于PCR方法检测蜡样芽胞杆菌的研究进展[J]. 食品工业科技, 2013, 34(22):335-338.
- [9] Ngamwongsatit P, Buasri W, Pianariyanon P, et al. Broad distribution of enterotoxin genes (*hblCDA*, *nheABC*, *cytK*, and *entFM*) among *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus cereus* as shown by novel primers [J]. International Journal of Food Microbiology, 2008, 121(3):352-356.
- [10] Wehrle E, Didier A, Moravek M, et al. Detection of *Bacillus cereus* with enteropathogenic potential by multiplex real-time PCR based on SYBR green I [J]. Molecular and Cellular Probes, 2010, 24(3):124-130.
- [11] 王洋,周帼萍. 蜡样芽胞杆菌食物中毒死亡案例分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2011, 23(2):191-194.
- [12] 庄子慧,何丽,郭云昌. 我国食源性蜡样芽胞杆菌毒力基因和药物敏感性研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2013, 25(3):198-201.
- [13] Ankolekar C, Rahmati T, Labbe R G. Detection of toxigenic *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* spores in U. S. rice [J]. International Journal of Food Microbiology, 2009, 128(3):460-466.
- [14] 章乐怡,张秀尧,李毅,等. 婴幼儿奶粉和米粉中蜡样芽胞杆菌及其毒素、毒力基因的调查研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2014, 26(6):600-604.
- [15] Chon J W, Kim J H, Lee S J, et al. Toxin profile, antibiotic resistance, and phenotypic and molecular characterization of *Bacillus cereus* in Sunsik [J]. Food Microbiol, 2012, 32(1):217-222.
- [16] Kim J B, Kim J M, Cho S H, et al. Toxin genes profiles and toxin production ability of *Bacillus cereus* isolated from clinical and food samples [J]. J Food Sci, 2011, 76(1):25-29.
- [17] Taylor J M, Sutherland A D, Aidoo K E, et al. Heat-stable toxin production by strains of *Bacillus cereus*, *Bacillus firmus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus simplex* and *Bacillus licheniformis* [J]. FEMS Microbiol Lett, 2005, 242(2):313-317.
- [18] 何文艳,裘娟萍,赵春田. 蜡状芽胞杆菌毒株的致病机理及检测方法[J]. 科技通报, 2012, 28(1):86-90.

## · 请示批复 ·

# 食品药品监管总局办公厅关于对成份有川贝等中药材的“川贝枇杷汤”定性有关问题的复函

食药监办法函〔2015〕287号

江苏省食品药品监督管理局:

你局《关于对成份有川贝等中药材的“川贝枇杷汤”如何定性的请示》(苏食药监法科〔2015〕15号)收悉。经研究,现函复如下:

根据原卫生部《关于“黄芪”等物品不得作为普通食品原料使用的批复》(卫监督函〔2007〕274号),参照2014年国家卫生计生委政务公开办《关于新食品原料、普通食品和保健食品有关问题的说明》,可用于保健食品的物品名单中所列物品仅限用于保健食品。除已公布可用于普通食品的物品外,可用于保健食品的物品名单中的物品不得作为普通食品原料生产经营。如需将可用于保健食品的物品名单中的物品用于普通食品生产,应当按照《新食品原料安全性审查管理办法》(国家卫生和计划生育委员会令第1号)规定的程序申报批准。对不按上述规定使用可用于保健食品的物品名单中所列物品的,应当按照《中华人民共和国食品安全法》有关利用新的食品原料从事食品生产未经过安全性评估的规定进行处理。

(相关链接:<http://www.cfd.gov.cn/WS01/CL0852/120689.html>)

食品药品监管总局办公厅

二〇一五年六月一日