

广州市售生猪肉中金黄色葡萄球菌检测及其耐药性研究

石磊^{1,2}, 周臣清¹, 闫鹤²

(1. 华南理工大学生物科学与工程学院, 广东广州 510640) (2. 华南理工大学轻工与食品学院, 广东广州 510640)

摘要: 了解广州市某区猪肉中金黄色葡萄球菌的污染情况、分子分型及其耐药性特征。根据 GB 4789.10-2010 对样品进行金黄色葡萄球菌的分离及鉴定, 用多位点序列分型法进行分子分型, 纸片扩散法进行抗生素敏感试验, 采用 PCR 法验证 MRSA 并筛选检测 I 类整合子及相关耐药基因盒。110 份生猪肉样品中有 34 份样品检出金黄色葡萄球菌 (30.9%), 得到 34 株该菌, 所有菌株共可分成 7 种序列分型 (sequence types, STs), 分别为 ST6 (1/34)、ST7 (16/34)、ST9 (9/34)、ST59 (1/34)、ST239 (4/34)、ST2259 (2/34) 及一株等位基因谱为 5-4-1-4-4-6-53 的新型 ST, 34 株金黄色葡萄球菌对 12 种抗生素耐药率分别为对青霉素 100% 耐药, 对四环素、甲氧苄啶嘧啶、红霉素、克林霉素的耐药率分别为 88.2%、76.5%、64.7%、61.8%, MRSA 检出率为 38.3% (13/34), I 类整合子的检测率为 14.7% (5/34), 其中 2 株菌携带相应基因盒。本次实验显示生猪肉中金黄色葡萄球菌污染比较严重且具有严重的抗生素耐药现象, ST7 为主要的序列型号, I 类整合子存在于食源性金黄色葡萄球菌中, 相关基因盒对菌株耐药发挥作用。

关键词: 金黄色葡萄球菌; 抗生素耐药; I 类整合子; MLST 分型

文章编号: 1673-9078(2014)4-255-259

Isolation and Antimicrobial Susceptibilities of *Staphylococcus aureus* in Commercially Available Raw Pork in Guangzhou

SHI Lei^{1,2}, ZHOU Chen-qing¹, YAN He²

(1. School of Bioscience & Bioengineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

(2. College of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: The contamination situation, molecular typing and resistance characteristics of *Staphylococcus aureus* from pork were investigated. *S. aureus* were separated and identified according to GB 4789.10-2010, MLST method was used for molecular classification, drug susceptibility was tested by disc diffusion assay, and the class one integron, integrated gene cassettes and MRSA were examined by PCR. A total of 110 samples were examined and 34 of which (30.9%) were positive for *S. aureus*. All strains were divided into seven kinds of STs type, namely ST6 (1/34), ST7 (16/34), ST9 (9/34), ST59 (1/34), ST239 (4/34), ST2259 (2/34), and one new ST typing. All 34 *S. aureus* isolates were resistant to penicillin, and the drug resistant rate of tetracycline, trimethoprim, erythrocin, clindamycin, were 88.2%, 76.5%, 64.7%, 61.8%, respectively. 38.3% (13/34) of *S. aureus* were MRSA, 5 *S. aureus* isolates were observed as class one integron, and 2 isolates carried integrated gene cassettes. The results showed that raw pork were severely contaminated with *S. aureus*, and the isolates had serious antimicrobial resistance phenomenon, ST7 was the main sequence typing, the class one integron were existed in foodborne *S. aureus*, and the integrated gene cassettes played a role in resistant mechanism of isolates.

Key words: *Staphylococcus aureus*; antimicrobial resistance; class one integron; multilocus sequence typing

金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 又称“金葡菌”, 是一种重要的食源性病原菌, 隶属于葡萄球菌属 (*Staphylococcus*), 为革兰氏阳性菌。典型的金黄

收稿日期: 2013-11-12

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资金资助项目 (2012ZZ0083); 国家自然科学基金项目 (31201363); 广州市科技计划项目 (11C12080718)

作者简介: 周臣清 (-), 男, 在读研究生, 主要从事细菌耐药机制研究

通讯作者: 石磊 (1961-), 男, 教授, 主要从事食品安全微生物耐药研究

色葡萄球菌为球型, 直径 0.8 μm 左右, 显微镜下排列成葡萄串状。金葡菌广泛存在于自然界中, 空气、水、人畜及其排泄物等均有较高的带菌率, 因而, 食品极易受金葡菌的污染^[1]。金葡菌引起的食物中毒已成为世界性的卫生问题, 据美国 CDC 报告, 33% 的细菌性食物中毒是由金葡菌肠毒素引起的, 仅次于大肠杆菌; 在加拿大则占 45%。在我国, 各地由金葡菌引起的食物中毒也屡有发生, 其中 20~25% 的细菌性食物中毒事件是

由金黄色葡萄球菌引起的,是仅次于沙门氏菌(*Salmonella*)和副溶血弧菌(*Vibrio Parahaemolyticus*)的第三大致病菌^[2-3]。

近年来随着抗生素在畜牧业的滥用,我国已成为抗生素滥用最严重的国家之一,抗生素滥用最严重的后果是耐药细菌的出现并泛滥^[4]。随着耐药性菌株特别是多重耐药菌株的出现,由于耐药基因可以通过质粒、转座子、整合子系统水平转移,微生物耐药性问题已经成为令人关注的公共卫生问题。耐药细菌不仅给临床治疗带来困扰,并且由于细菌的抗生素耐药性还可以通过食物链传播,因此检测食物中食源性病原菌的污染情况及研究食源性病原菌的抗生素耐受性具有重要意义。

金葡菌的多位点序列分型(multilocus sequence typing, MLST)是一种通过对其的7个看家基因(分别为arcC、aroE、glpF、gmk、pta、tpi、yqiL)进行分析,将本地菌株信息与国际数据库(<http://www.mlst.net>)进行比较,获得菌株的等位基因谱,从而分析菌株间遗传差异性。自1998年由Maiden等^[5]建立该技术以来,MLST以其具有高精度度,重复性好,可累积性等特点得以广泛应用。本文对广州市某区三家农贸市场和六家超市中110份猪肉样进行金葡菌的分离检测,对分离得到的金葡菌进行MLST分型及耐药性研究,并对I类整合子及相关耐药基因盒进行筛选和分析,以便进一步研究食源性金葡菌耐药机制。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

药敏纸片,购自杭州微生物试剂有限公司;Taq DNA聚合酶(5 U/ μ L)、琼脂糖,日本TaKaRa公司;引物,由英潍捷基(上海)贸易有限公司合成;7.5%氯化钠肉汤、血琼脂平板、脑心浸出液肉汤、MH肉汤,购自广州环凯微生物科技有限公司;兔血浆,购自广州蕊特生物科技有限公司;无菌生理盐水、Baird-Parker琼脂平板、营养琼脂小斜面为本实验室自己配制。

1.2 仪器与设备

GeneAmp PCR system 2700,美国Applied Biosystems公司;Gel Doc EQ凝胶成像系统,美国BIO-RAD公司;核酸电泳仪,美国BIO-RAD公司;高速离心机,美国Thermo公司。

1.3 方法

1.3.1 采样及细菌分离

2012年8月至2012年10月,按照随机抽样法分别从广州市某区三家农贸市场和六家超市中采集生猪肉样品110份,每份约500 g,分别为生鲜瘦肉类50份,排骨类29份和猪内脏类31份。依据GB 4789.10-2010增菌分离金黄色葡萄球菌,即挑取Baird-Parker平板或血琼脂平板上可疑菌落革兰氏染色镜检及血浆凝固酶试验,阳性即为金黄色葡萄球菌,获得阳性菌株,用80%甘油保存于-80℃冰箱。细菌鉴定质控菌株为ATCC 29213,为本实验室自己保存。

1.3.2 抗生素敏感试验

对所有阳性菌株进行药敏实验,参照CLSI 2012^[6]标准,采用纸片扩散法(Kirby-Bauer, K-B),采用的抗生素分别为:庆大霉素,红霉素,呋喃妥因,克林霉素,利福平,绿霉素,甲氧苄啶嘧啶,头孢西丁,青霉素,四环素,诺氟沙星,美满霉素共12种。根据CLSI标准,K-B实验中,对头孢西丁抑菌圈直径 ≤ 21 mm的金葡菌则认为是MRSA。本实验使用ATCC 25923为质控菌株,购自广州环凯微生物科技有限公司。

1.3.3 模板DNA的制备

采用CTAB/NaCl法,取1.5 mL过夜培养菌液,10000 r/min离心2 min,去上清;加1 mL无菌水清洗菌体,10000 r/min离心2 min,去上清;用500 μ L 1 \times TE (pH 8.0)重悬菌体,加入50 μ L 50 mg/mL溶菌酶,混匀37℃水浴2 h;加入50 μ L 10% SDS,10 μ L蛋白酶K(20 mg/mL),37℃水浴1 h;加入100 μ L 5M NaCl,80 μ L CTAB/NaCl,混匀,于65℃反应10 min;加入750 μ L 氯仿/异戊醇(24:1),充分混匀,12000 r/min室温离心5 min;取上清于新管,再加入等体积酚/氯仿/异戊醇(25:24:1),充分混匀,12000 r/min室温离心5 min;取上清于新管,加入1/10体积的3 M NaOAc (pH 6.0),2倍体积的无水乙醇,混匀后于-20℃放置30 min;于13000 r/min,4℃离心10 min;去上清,加入70%乙醇洗涤沉淀,再于13000 r/min,4℃离心10 min;去上清,室温干燥DNA沉淀;沉淀干燥后加入80 μ L 1 \times TE溶解沉淀。取2 μ L作为PCR模板。

1.3.4 PCR检测mecA基因

利用PCR技术,检测MRSA特异性基因mecA基因,鉴定MRSA。根据文献^[7]合成引物:mecA-F(5'-GTTGTAGTTGTCGGGTTTGG-3')和mecA-R(5'-CTTCCACATACCATCTTCTTTAAC-3')。PCR条件如下:94℃预变性5 min;94℃变性30 s,55℃退火30 s,72℃延伸45 s,30个循环;最后72℃延伸7 min。取PCR产物5 μ L在1.5%琼脂糖凝胶电泳,100 V电压电泳20 min,再经过含0.5 μ g/L的溴乙锭溶液染色15 min,清水漂洗5 min,在凝胶成像系统摄像,保存结果。能

检测到336 bp的目的条带则为MRSA。

1.3.5 MLST 分型与生物信息学分析

以文献^[8]的方法,选择金葡菌的七个看家基因 arcC、aroE、glpF、gmk、pta、tpi、yqiL 为目的基因进行扩增,其产物长度分别为456、456、465、417、474、402、516 bp,测序,与http://www.mlst.net上数据库进行比对,获得每一个看家基因的等位基因,综合所有的等位基因来确定序列分型(sequence types, STs)。

1.3.6 PCR 检测 I 类整合子及 I 类整合子可变区

对34株金葡菌PCR扩增I类整合子整合酶基因,对整合酶阳性的菌株PCR检测整合子可变区基因盒,PCR阳性产物委托上海美吉生物医药科技有限公司测序,通过www.ncbi.nlm.nih.gov网站,在GenBank DNA数据库应用BLAST软件对DNA序列进行同源性检索,确定基因盒上的耐药基因。引物信息及反应条件参考文献^[9]。

1.4 统计学处理

采用SPSS14.0软件进行统计学处理,计数资料用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 金黄色葡萄球菌检出情况

110份生猪肉样品中共有34份样品检出金黄色葡萄球菌,检出率为30.9%,50份生鲜瘦肉中检出16份,检出率为32%,29份排骨样品检出率最高为34.5%,内脏类样品检出率为25.8%,各类样品间检出率没有显著性差异($P > 0.05$)。从这34份样品中得到34株金黄色葡萄球菌,即从每份阳性样品中保存一株菌株。

表1 110份各类生猪肉中金黄色葡萄球菌检出情况

Table 1 Prevalence of *S. aureus* in each type of raw pork from 110 samples

样品	份数	阳性数	检出率/%
猪内脏	31	8	25.8
猪排骨	29	10	34.5
生鲜瘦肉	50	16	32.0
Total	110	34	30.9

本次研究金黄色葡萄球菌的检出率为30.9%,对比国内其他报道,邓泽静等人报道生猪肉检出率为7.69%^[10],巢国祥等报道的10.96%^[11],索玉娟等人报道的21.2%的检出率^[3],本次实验的检出率相对较高,略低于李自然等报道的32.9%^[11]。生肉中金黄色

葡萄球菌来源主要有几个方面:动物本身、加工人员、加工过程以及环境污染。生肉在食物链中对食源性致病菌的传播起重要的作用,因为受污染的生肉往往成为如熟肉制品、凉拌菜等其它产品污染的重要来源^[12]。因此,须做好各种防范措施,规范操作,保持个人及环境卫生以减少人为因素污染。

2.2 不同来源猪肉中金葡菌的检出率

35份采自农贸市场的生猪肉样品检出10株金葡菌,检出率为28.6%,其中9月份的检出率为25%,10月为36.4%;75份采自超市的猪肉样品中金葡菌的检出率为32.0%,其中9月份的检出率为22.2%,10月为35.1%;9月与10月金葡菌检出率没有显著差别($P > 0.05$)。来自农贸市场的样品检出率与来自超市样品检出率没有显著差别($P > 0.05$)。

表2 不同来源猪肉中金葡菌的分离情况

Table 2 The distribution of *S. aureus* in pork

月份	农贸市场			超市			P
	样品数	阳性数	检出率/%	样品数	阳性数	检出率/%	
9月	24	6	25.0	18	4	22.2	>0.05
10月	11	4	36.4	57	20	35.1	>0.05
合计	35	10	28.6	75	24	32.0	>0.05

2.3 金葡菌对12种抗生素的药敏情况及多重耐药分析

33株金葡菌对12种抗生素药敏结果如下,耐药率由高到低依次为:青霉素100%、四环素88.2%、甲氧苄胺嘧啶76.5%、红霉素64.7%、克林霉素61.8%、利福平44.1%、头孢西丁38.3%、米诺环素35.3%、氯霉素17.6%、庆大霉素17.6%、诺氟沙星14.7%、呋喃妥因8.8%。其中对呋喃妥因和氯霉素最敏感为79.4%,具体见表3。根据CLSI标准,K-B实验中,对头孢西丁抑菌圈直径 ≤ 21 mm的金葡菌则认为是MRSA,本实验共检出13株MRSA。

本文以对六种或六种以上抗生素耐药的菌株为多重耐药菌株。34株金葡菌多重耐药分析见表4,其中34株金葡菌对2种或3种抗生素耐药的为5.9%,对4种抗生素耐药的为11.8%,对5种抗生素耐药的为23.5%,多重耐药率达52.9%。本研究显示食源性的金黄色葡萄球菌具有非常严重的耐药性,且34株金葡菌对抗生素的多耐现象也非常严重。中国是世界上抗生素最大的制造者和消费者,并且在中国,畜牧行业在使用抗生素促进动物生长以及治疗动物疾病时存在严

重滥用现象,这种做法可能促进多种耐药抗生素基因的大量出现并释放到环境中^[13]。且据 Durso LM 等^[14]最新研究表明细菌的抗生素耐药性可以通过食物链从动物转移到人类中,且抗生素的使用还会影响人体内正常菌群的生长状况及其生态环境,因此为防止耐药性细菌的引起安全隐患,应严控抗生素的使用,特别是应规范畜牧业抗生素的使用,并应加强对食源性病原菌的检测,为临床合理用药提供参考。

表 3 34 株金黄色葡萄球菌药敏实验结果 (n=34, %)

Table 3 Drug susceptibility testing for 34 *S. aureus* isolates

(n=34, %)

抗生素	判定标准			敏感率	中敏率	耐药率
	(抑菌圈直径/mm)					
	敏感	中间	耐药			
米诺环素	≥19	15~18	≤14	50.0	14.7	35.3
利福平	≥20	17~19	≤16	52.9	2.9	44.1
克林霉素	≥21	15~20	≤14	23.5	14.7	61.8
青霉素	≥29	-	≤28	0	0	100
呋喃妥因	≥17	15~16	≤14	79.4	11.8	8.8
氯霉素	≥18	13~17	≤12	79.4	2.9	17.6
甲氧苄胺嘧啶	≥16	11~15	≤10	17.6	5.9	76.5
头孢西丁	≥22	-	≤21	61.7	-	38.3
庆大霉素	≥15	13~14	≤12	64.7	17.6	17.6
红霉素	≥23	14~22	≤13	17.6	17.6	64.7
四环素	≥19	15~18	≤14	8.8	2.9	88.2
诺氟沙星	≥17	13~16	≤12	58.8	26.5	14.7

表 4 34 株金黄色葡萄球菌多重耐药分析

Table 4 Multiple drug resistance analysis for 34 *S. aureus*

isolates

耐药模式	菌株数	百分率/%
完全敏感	0	0
对 1 种抗生素耐药	0	0
对 2 种抗生素耐药	2	5.9
对 3 种抗生素耐药	2	5.9
对 4 种抗生素耐药	4	11.8
对 5 中抗生素耐药	8	23.5
对 6 种及以上抗生素耐药	18	52.9

2.4 PCR 检测 mecA 基因

对 13 株用 K-B 法鉴定为 MRSA 用 PCR 法检测 mecA 基因。结果显示 13 株菌共有 10 株检测出 mecA 基因,符合率为 10/13 (76.9%)。MRSA 是通过其含有的 mecA 基因编码青霉素结合蛋白 2a (PBP2a),该蛋白对 β-内酰胺类抗生素的亲合力低,因此抗生素无法结合,在 PBP2a 的作用下细胞壁能够持续合成,

使 MRSA 对 β-内酰胺类抗生素耐药。而少数临界 MRSA 表现为与 PBP2a 结合力下降,不表达 PBP2a,从而表现为甲氧西林表型耐药(不含 mecA 基因)^[15]。

2.5 MLST 结果

所有 34 株菌共可分成 7 个序列分型,分别为 ST6 (1/34)、ST7 (16/34)、ST9 (9/34)、ST59 (1/34)、ST239 (4/34)、ST2259 (2/34),并获得一株等位基因谱为 5-4-1-4-4-6-53 的新型 ST,具体情况如表 5。本实验发现广州市售猪肉序列型以 ST7 为主,占 47.1%,ST9 次之,占 26.5%,MRSA 序列型发现有两种分别为 ST9 (6/10) 和 ST239 (4/10)。对比国内外其它报道,Jaap 等^[16]报道的四川省猪源性金黄色葡萄球菌主要以 ST9 为主,而欧洲、美国等检测到的畜源 MRSA 以 ST398 为主,且有报道指出 ST239 是目前中国大陆最流行、最常见的医源性序列型^[17],因而这一发现具有一定的指导意义。

表 5 34 株金黄色葡萄球菌的序列型

Table 5 The sequence types of 34 *S. aureus*

ST	菌株数 (MRSA 数)	等位基因						
		arcC	aroE	glpF	gmk	pta	tpi	yqiL
6	1	12	4	1	4	12	1	3
7	16	5	4	1	4	4	6	3
9	9 (6)	3	3	1	1	1	1	10
59	1	19	23	15	2	19	20	15
239	4 (4)	2	3	1	1	4	4	3
2259	2	151	1	1	34	175	180	169
New ST	1	5	4	1	4	4	6	53

2.6 I 类整合子分布及 I 类整合子基因盒耐药

基因分析

对 I 类整合子整合酶基因 PCR 结果显示,34 株菌中有 5 株菌 PCR 阳性,即 I 类整合子阳性率为 14.7%。对整合酶阳性的菌株进行 I 类整合子可变区扩增,结果显示有 2 株菌含携带大小不一的可变区序列,测序结果显示编号为 SA106 菌株(序列型为 ST9, mecA 阴性)携带含耐药基因的基因盒,所携带的耐药基因盒为: dfrA17-aadA5,为耐氨基糖苷类基因盒及耐甲氧苄胺嘧啶基因盒,对比药敏实验,表现为对庆大霉素及甲氧苄胺嘧啶耐药,此外该菌还对米诺环素、青霉素、氯霉素、红霉素、四环素及诺氟沙星耐药表明还有其它耐药机制共同起作用;编号为 SA63 菌株(序列型为 ST7, mecA 阴性)携带基因盒为 EstX,为链丝霉素耐药基因 (sat) 的一部分,该基因盒功能尚未明确^[18],张辉建^[19]曾在猪源大肠杆菌中检出,而

在金葡菌中检出尚是首次。报道表明细菌耐药性可以通过水平转移的方式在同种及种间传播^[4], 在外界抗生素压力下, 整合子系统整合子具有强大的基因捕获和转移功能, 其整合子可以通过整合酶捕获外源耐药基因盒形成多基因盒使菌体获得多重耐药。

3 结论

试验采集110份广州市售生鲜猪肉样本, 检测并鉴定金黄色葡萄球菌, 研究其分子分型及其耐药性特征。采用CTAB/NaCl法提取核酸DNA, 用MLST法进行分子分型, K-B法进行抗生素敏感试验, 采用PCR法验证MRSA并筛选检测I类整合子及相关耐药基因盒。结果表明, 110份生猪肉样本的金黄色葡萄球菌检出率为30.9%, 金葡菌具有严重的抗生素耐药及多重耐药现象, ST7为主要的多位点序列型号, 并发现一株等位基因谱为5-4-1-4-4-6-53的新型序列型号, I类整合子存在于食源性金黄色葡萄球菌中, 编号为SA106及SA63的菌株分别携带基因dfrA17-aadA5、EstX, 基因盒对菌株耐药发挥了一定作用。

参考文献

- [1] 巢国祥, 焦新安, 周丽萍, 等. 食源性金黄色葡萄球菌流行特征、产肠毒素特性及耐药性研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2006, 16(8): 904-907
CHAO G X, JIAO X A, ZHOU L P. Enterotoxin in production and resistance to anti-microbial drugs of *Staphylococcus aureus* in selected retail food products [J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2006, 16(8): 904-907
- [2] 张健, 邓志爱, 李钊华, 等. 广州市市售食品食源性致病菌污染状况调查[J]. 热带医学杂志, 2007, 7(8): 804-806
ZHANG J, DENG Z A, LI C H, et al. Investigation on the Foodborne Pathogen Contamination in Commercial Food Products in Guangzhou City [J]. Journal of Tropical Medicine, 2007, 7(8): 804-806
- [3] 索玉娟, 于宏伟, 凌巍, 等. 食品中金黄色葡萄球菌污染状况研究[J]. 中国食品学报, 2008, 8(3): 88-93
SUO Y J, YU H W, LING W, et al. Analysis on the Contamination of *Staphylococcus aureus* in Food [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2008, 8(3): 88-93
- [4] ZHU Yongguan, JOHNSON TA, SU Jianqiang, et al. Diverse and abundant antibiotic resistance genes in Chinese swine farms [J]. PNAS, 2013, 110(9): 3435-3440
- [5] Maiden MC, Bygraves A, Feil E, et al. Multilocus sequence typing: a portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms [J]. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1998, 95: 3140-3145
- [6] Clinical and Laboratory Standards. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing Approved Standard; Twenty-Second Informational Supplement, M100-S22 [S]. CLSI, 2012, 32(3): 72-88
- [7] Fluit AC, Wielders CL, Verhoef J, Schmitz FJ. Epidemiology and susceptibility of 3,051 *Staphylococcus aureus* isolates from 25 university hospitals participating in the European SENTRY study [J]. J. Clin. Microbiol., 2001, 39: 3727-3732
- [8] Enright MC, Day NP, Davies CE, et al. Multilocus sequence typing for characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus* [J]. J Clin Microbiol, 2000, 38(3): 1008-1015
- [9] Zhang H, Shi L, Li L, et al. Identification and characterization of class 1 integron resistance gene cassettes among *Salmonella* strains isolated from healthy humans in China [J]. Microbiol. Immunol., 2004, 48(9): 639-645
- [10] 邓泽静, 李毅, 洪程基, 等. 食品中金黄色葡萄球菌污染状况及其毒素检测[J]. 浙江预防医学, 2011, 23(2): 92-94
DENG Z J, LI Y, HONG C J, et al. Analysis on the Contamination of *Staphylococcus aureus* and its enterotoxin detection methods in Food [J]. Zhe jiang Preventive Medicine, 2011, 23(2): 92-94
- [11] 李自然, 施春雷, 宋明辉, 等. 上海市食源性金黄色葡萄球菌分布状况[J]. 食品科学, 2013, 34: 268-271
LI Z R, SHI C L, SONG M H, et al. Distribution Status of Food-borne *Staphylococcus aureus* in Shanghai [J]. Food Science, 2013, 34: 268-271
- [12] 巢国祥, 焦新安, 钱晓勤, 等. 扬州市食品中7种食源性致病菌污染状况及耐药性[J]. 中国食品卫生杂志, 2006, 18(1): 23-25
CHAO G X, JIAO X A, QIAN X Q, et al. Contamination Status and Drug Resistance of Foodborne Pathogens in Yangzhou [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2006, 18(1): 23-25
- [13] Hviistendahl M Public health. China takes aim at rampant antibiotic resistance [J]. Science, 2012, 336(6083): 795
- [14] Durso LM, Miller DN, Wienhold BJ. Distribution and Quantification of Antibiotic Resistant Genes and Bacteria across Agricultural and Non-Agricultural Metagenomes [J]. PLoS One: 2012, 7(11): e48325
- [15] 欧阳范献, 鲍时翔. MRSA全基因结构及SCC mec分型的意义[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2006, 26: 1118-1121
OUYANG Fan-xian, BAO Shi-xiang. The genetic structure of MRSA and the significance of the SCC mec typing [J].

- Chin. J. Microbiol. Immunol., 2006, 26: 1118-1121
- [16] Jaap A, Hua Yue, Jane Pritchard, et al. Unexpected sequence types in livestock associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): MRSA ST9 and a single locus variant of ST9 in pig farming in China [J]. *Veterinary Microbiology*, 2009, 139: 405-409
- [17] Piriyaorn C, Ito T, Xiaoxue M, et al. Staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec) typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated in 11 Asian countries: a proposal for a new nomenclature for SCCmec elements [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2006, 50(3): 1001-1012
- [18] Ahmed AM, Shimamoto T. A Plasmid-encoded class1 integron carrying *sat*, a Putative phosphoserine phosphatase gene and *aadA2* from enterotoxigenic *Escherichia coli* 0159 isolated in Japan [J]. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2004, 23(24): 3-8
- [19] 张辉建. 畜禽肠道大肠杆菌耐药性及整合子-基因盒检测 [D]. 成都: 四川农业大学, 2011
- ZHANG H J. Surveillance of antimicrobial resistance and detection of integron gene cassettes among *Escherichia coli* isolates from the intestinal of animals [D]. Cheng DU: SiChuan Agriculture University, 2011