

婴幼儿食品中金黄色葡萄球菌污染情况及其耐药基因和新型肠毒素基因的检测

张阳, 乔明宇, 王新

(西北农林科技大学食品科学与工程学院, 陕西杨凌 712100)

摘要: 本文调查了婴幼儿奶粉和米粉中金黄色葡萄球菌的污染状况, 并且检测其耐药基因和新型肠毒素基因。采集陕西省 2010 年和 2012 年间不同品牌的婴幼儿奶粉和米粉 692 份, 进行金黄色葡萄球菌污染检验, 采用 PCR 对分离菌株进行 31 种耐药基因和 9 种新型肠毒素基因的检测。692 份样品中金黄色葡萄球菌的检出率为 7.80%, 其中 2010 年所采样品的检出率为 8.17%, 2012 年所采样品的检出率为 7.38%。分离的 75 株菌最终检测出 12 种耐药基因和 2 种新型肠毒素基因, 检出率最高的耐药基因是 *tetK* (72.00%), 其次是 *blaZ* (36.00%), *ermC* (29.33%), *tet(K)F* (21.33%), *linA/linA'* (12.00%), *dfiG* (8.00%), *tetL* (6.67%) 和 *acc(6')* (5.33%), 最少的为 *ermB*, *msrA*, *msrB* 和 *drfK* (均为 1.33%)。新型肠毒素基因仅检测出 *sen* (44.00%) 和 *ser* (4.00%)。不同采样年份、生产季节和货架期的样品中金黄色葡萄球菌的污染率不存在显著差异。并且这些菌株主要携带四环素、青霉素和大环内酯类抗生素的耐药基因, 以及新型毒素基因 *sen*。

关键词: 婴幼儿食品; 金黄色葡萄球菌; 污染; 耐药基因; 新型肠毒素基因

文章编号: 1673-9078(2016)11-280-285

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.11.042

Prevalence of *Staphylococcus aureus* Contamination in Infant Foods and the Detection of Antibiotic Resistance Genes and New Enterotoxin Genes

ZHANG Yang, QIAO Ming-yu, WANG Xin

(School of Food Science and Engineering, Northwest A & F University, Yangling 712100, China)

Abstract: The prevalence of *S. aureus* contamination in infant formula milk powder (PIF) and infant rice cereal (IRC) was investigated in this study, and the corresponding antibiotic resistance genes and novel enterotoxin genes were detected. A total of 692 PIF and IRC samples of different brands were collected in the Shaanxi province of China in 2010 and 2012 and screened for *S. aureus*. Polymerase chain reaction (PCR) was employed to detect 31 antibiotic resistance genes and nine novel enterotoxin genes among the isolates. The overall positive rate for *S. aureus* in 692 samples was 7.80%, including 8.17% among the samples collected in 2010 and 7.38% among the samples collected in 2012. Among the 75 isolated strains of *S. aureus*, 12 types of antibiotic resistance genes and two novel enterotoxin gene profiles were detected. The resistance gene with the highest detection rate was *tetK* (72.00%), followed by *blaZ* (36.00%), *ermC* (29.33%), *tet(K)F* (21.33%), *linA/linA'* (12.00%), *dfiG* (8.00%), *tetL* (6.67%), and *acc(6')* (5.33%), and the genes with the lowest detection rate were *ermB*, *msrA*, *msrB*, and *drfK* (all at 1.33%). Among the novel enterotoxin genes, only *sen* (44.00%) and *ser* (4.00%) were detected. No significant difference was found in the contamination rate of *S. aureus* among the samples from different sampling years and production months and with different shelf lives. Additionally, the primary antibiotic resistance genes that these strains carried conferred resistance to penicillin, tetracycline, and macrolide, and the main virulence gene was *sen*.

Key words: infant foods; *Staphylococcus aureus*; antibiotic resistance genes; novel enterotoxin genes

金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*, *S.*

收稿日期: 2015-12-10

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31271858); 博士后基金项目 (2015M582711)

作者简介: 张阳 (1992-), 女, 硕士, 研究方向: 食品安全

通讯作者: 王新 (1973-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 食源性病原及分子生物学和食品安全研究

aureus) 是一种重要的食源性致病菌, 它可以引起人呕吐、腹泻、肺炎等食物中毒症状^[1], 在我国也有相关报道^[2]。金黄色葡萄球菌产生多种外毒素, 主要有肠毒素 (*staphylococcal enterotoxins*, SEs), 剥脱毒素 (exfoliative toxins, Ets), 中毒休克毒素-1 (toxic-shock syndrome toxin-1, Tsst-1) 和杀白细胞素 (paton-valentine leukocidin, PVL) 等, 其中 SEs 是引起金黄色葡萄球菌

食物中毒的主要致病因子, SEs 包括经典肠毒素 SEA、SEB、SEC、SED、SEE、SEG 和 SEH, 以及新型肠毒素 SEJ、SEK、SEL、SEM、SEN、SEO、SEP 和 SEQ 等^[3]。

婴幼儿在成长阶段, 婴幼儿配方奶粉和米粉成为其除母乳外的不可或缺的营养来源。然而, 在婴幼儿食品加工过程中很容易受到不同致病菌的污染, 如金黄色葡萄球菌、沙门氏菌等, 这会增加婴幼儿食物中毒或感染的风险^[4,5]。近年来, 随着抗生素的大量使用, *S. aureus* 越来越容易产生耐药性, 甚至出现了多重耐药菌株和超级耐药菌株。其中, 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌已经成为常见的耐药菌株, 它具有多重耐药特征, 致病能力也日趋增强, 给食品安全带来更大的安全隐患^[6]。婴幼儿因自身免疫功能尚未成熟, 皮肤黏膜等非特异性免疫屏障功能较差, 抗感染能力较弱, 所以极易感染 *S. aureus*, 并引起感染性腹泻等不良症状, 治疗不及时或不恰当可导致死亡, 给婴幼儿的生命健康带来了巨大的威胁^[7]。因此, 有必要采取一系列的安全措施, 减少婴幼儿食品中致病菌污染的风险。

本研究采用国标培养法和 PCR 方法进行分离鉴定 *S. aureus*, 探索影响市售婴幼儿食品中 *S. aureus* 污染的主要因素, 并检测耐药基因和新型肠毒素基因, 为婴幼儿食品的生产、销售的安全评估及控制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂及菌株来源

缓冲蛋白胨水 (BPW), 胰蛋白胨大豆肉汤 (TSB), Baird-Parker 培养基 (BP), LB 营养琼脂,

均购自北京陆桥技术有限责任公司; Taq DNA 聚合酶, dNTP, 2000 bp DNA marker, 引物购自大连宝生物公司; 琼脂糖 (Agarose) 购自 Sigma 公司; 甘油, 氯化钠购自西安化学试剂厂。PCR 扩增 *nuc* 基因的质控菌株金黄色葡萄球菌 ATCC29213 由本实验室保存。

1.2 样品采集及 *S. aureus* 分离

2010年7月~9月和2012年3月~12月在陕西省12个地区 (西安、杨凌、咸阳、周至、武功、礼泉、扶风、兴平、乾县、岐山、眉县和宝鸡), 在5类商店 (大型超市、中型超市、购物中心、综合商店、专卖店) 采集样品692份, 包括245份婴幼儿奶粉和447份婴幼儿米粉。按照GB/T 4789.10-2008方法, 取25 g样品至装有225 mL的BPW培养基的三角瓶中, 均质后, 37 °C培养24 h, 取培养液3 mL接种于30 mL、7.5% NaCl的增菌培养基TSB肉汤中, 37 °C培养24 h。在Baird-Parker Agar平板上划线分离后, 37 °C培养24 h, 每个平板挑取1~2个可疑菌落, 进行纯化培养。按照Brakstad等^[8]的报道, 执行*nuc*基因的引物合成和扩增条件, 以鉴定金黄色葡萄球菌, 其上下引物为: *nuc-279F* GCGA TTGATGGTGATACGGTT; *nuc-279R* AGCCAA GCCT TGACGAACTAAAGC。

1.3 耐药基因和新型肠毒素基因的检测

1.3.1 DNA 模板提取

将菌株以划线法接种到 TSA 琼脂平板培养基中, 37 °C培养过夜。在灭菌的 1.5 mL 离心管中加入 500 μL ddH₂O, 并用已灭菌的棉签蘸取适量菌体于离心管内, 制成菌悬液, 并将其煮沸 15 min、120000 r/min, 离心 10 min。取上清做模板, 于-40 °C保存备用。

表 1 耐药基因的引物序列

Table 1 Sequences of the primer sets used for the detection of antibiotic resistance genes

基因	引物序列(5'-3')	扩增产物大小/bp	退火温度/°C
<i>mecA</i>	GTAGAAATGACTGAACGTCCGATAA	310	55
<i>bla_Z</i>	ACTTCAACACCTGCTGCTTTC	173	54
<i>tet(K)</i>	GTAGCGACAATAGGTAATAGT	360	54
<i>tet(M)</i>	AGTGGAGCGATTACAGAA	158	54
<i>tet(K)</i>	TTAGGTGAAGGGTTAGGTCC	718	54
<i>tet(O)</i>	AACTTAGGCATTCTGGCTCAC	515	55
<i>tet(L)</i>	GTTGCGCGCTATATTCCAAA	788	54
<i>tet(L)</i>	TCGTTAGCGTGCTGTCATTC	267	55
<i>ermA</i>	AAGCGGTAAACCCCTCTGA	190	54
<i>ermB</i>	CTATCTGATTGTTGAAGAAGGATT	142	54
<i>ermC</i>	AATCGTCAATTCTCGCATGT	299	54

转下页

接上页

<i>ermT</i>	ATTGGTTCAGGGAAAGGTCA	536	45
<i>vanA</i>	GCTATTCAGCTGTACTC	783	54
<i>vanB</i>	CATCGCCGTCCCCGAATTTCAAA	667	55
<i>vanC1</i>	GGTATCAAGGAAACCTC	822	54
<i>vanC2/3</i>	CTCCTACGATTCTCTTG	439	54
<i>aph(3')-IIIa</i>	CTTTAAAAAATCATAAGCTCGCG	523	55
<i>aac(6')/aph(2'')</i>	ACATGGCAAGCTCTAGGA	491	54
<i>ant(4')-Ia</i>	GGAAAGTTGACCAGACATTACGAACT	294	55
<i>dfrD</i>	CCCTGCTATTAAGCACC	606	55
<i>dfrG</i>	TGCTGCGATGGATAAGAA	405	55
<i>dfrS1(dfrA)</i>	CACTTGTAATGGCACGGAAA	270	55
<i>dfrK</i>	GCTGCGATGGATAATGAACAG	214	50
<i>cat::pC223</i>	AGGATATGAACTGTATCCTGCTTTG	464	54
<i>cat::pC194</i>	CAATCCAAGGAATCATTGAAATCGG	472	54
<i>cat::pC221</i>	TGGAAGTTGTAAATAAAAAATAAAGTG	269	54
<i>CatIp-501</i>	GGATATGAAATTTATCCCTC	486	55
<i>fexA</i>	GTACTTGTAGGTGCAATTACGGCTGA	1272	57
<i>msrA</i>	TCCAATCATTGCACAAAATC	163	55
<i>msrB</i>	TATGATATCCATAATAATTATCCAATC	595	50
<i>linA/linA'</i>	GGTGGCTGGGGGTAGATGTATTAAGTGG	323	57

表 2 新型肠毒素基因的引物序列

Table 2 Sequences of the primer sets used for the detection of novel enterotoxin genes

基因	引物序列(5'-3')	扩增产物大小/bp	退火温度/°C
<i>sek</i>	ACCGCTCAAGAGATTGAT	278	54
<i>sel</i>	AATATATAACTAGTGATCTAAAGGG	359	54
<i>sem</i>	ATGCTGTAGATGTATATGGTCTAAG	473	54
<i>sen</i>	ATGAGATTGTTCTACATAGCTGCAAT	680	54
<i>seo</i>	TGTAGTGTAACAATGCATATGCAAATG	722	54
<i>sep</i>	TTAGACAAACCTATTATCATAATGG	272	54
<i>seq</i>	AAGAGGTAAGTCTCAAG	285	54
<i>ser</i>	AAACCAGATCCAAGGCCTGGAG	700	54
<i>seu</i>	TAAAATAAATGGCTCTAAAATTGATGG	141	54

1.3.2 PCR 扩增

用 PCR 扩增分别检测 31 种耐药基因及 9 种毒素基因。反应体系总体积 25 μL，其中 10×Buffer (Mg-) 2.5 μL，dNTP 2.0 μL，上下游引物各 0.3 μL，无菌水 15.775 μL，MgCl₂ 1.5 μL，Tap 酶 0.125 μL，模板 2.5 μL。表 1 和表 2 分别给出了所测基因的引物序列和退火温度。PCR 产物可用琼脂糖凝胶 (1.5%) 电泳来分析，并用溴化乙锭对凝胶染色，在紫外灯下观察结果。

1.4 数据分析方法

使用 SPSS 20 软件进行数据统计分析，采用 χ^2 检验， $p < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 婴幼儿奶粉中金黄色葡萄球菌检出情况

7.80% (54/692) 样品检测出 *S. aureus*，其中婴幼儿奶粉中的检出率为 10.61% (26/245)，婴幼儿米粉中的检出率为 6.26% (28/447) (表 3)。对 2010 年和 2012 年的婴幼儿奶粉和米粉分别做统计分析，均显示没有显著性差异 ($p > 0.05$)。但上述结果也说明市售婴幼儿奶粉金黄色葡萄球菌的污染率较米粉高，造成奶粉污染率高的原因可能是 *S. aureus* 易于在蛋白质丰富，同时含有一定量淀粉的食品中生长，而奶粉符合

上述条件;同时生产奶粉所用的生鲜牛奶易污染大量 *S. aureus*^[9,10],由于在配方奶粉生产过程中,脱水时的温度为 130~160 °C,但是乳直接受热温度只有 40~45 °C,没有超过 60 °C,导致微生物在配方奶粉

生产过程中能够存活下来。国外也有报道食用 *S. aureus* 污染的乳制品而引发的一些重大公共卫生中毒事件^[11],所以应加强原料乳病原菌的检测力度。

表 3 2010 年和 2012 年婴幼儿奶粉和米粉中金黄色葡萄球菌的检出情况

Table 3 Prevalence of *S. aureus* contamination in powdered infant formula milk and infant rice cereal samples collected in 2010 and 2012

类别	2010			2012		
	样本数	阳性数	阳性率/%	样本数	阳性数	阳性率/%
婴幼儿奶粉	141	17	12.06	104	9	8.65
婴幼儿米粉	226	13	5.75	221	15	6.79
总计	367	30	8.17	325	24	7.38

2.2 不同生产季节与金黄色葡萄球菌污染相关性分析

婴幼儿食品按照不同生产季节分类,金黄色葡萄球菌污染率统计结果如表 4 所示。结果显示,生产日期在秋季的样品污染率最高(8.93%),其次是春季(8.11%),夏季(7.52%),最后是冬季(5.48%)。对其进行统计分析,季节之间没有显著性差异($p>0.05$),并且 2010 年和 2012 年的每个生产季节之间也没有显

著性差异($p>0.05$)。但婴幼儿食品秋季生产的污染率较其他季节高,造成上述差异的原因可能是在该季节(7~9 月份)气温高,湿度大。温度高,湿度大可能会对操作人员以及生产过程产生影响,从而加剧了成品的污染风险。该季节(7~9 月份)气温高,湿度大也是金黄色葡萄球菌引起奶牛乳房炎的高发时间段^[12],从而增加了生产奶粉所用的生鲜牛奶污染风险。因此,该季节(7~9 月份)可能是金黄色葡萄球菌进入到婴幼儿食品中的一个重要时间段,应加强该时间段婴幼儿食品原料病原菌的检测力度。

表 4 不同生产季节与金黄色葡萄球菌污染率的关系

Table 4 Relationship between *S. aureus* contamination and production month

季节	2010			2012			合计		
	样本数	阳性数	阳性率/%	样本数	阳性数	阳性率/%	样本数	阳性数	阳性率/%
春季	100	8	8.00	85	7	8.24	185	15	8.11
夏季	162	12	7.41	104	8	7.69	266	20	7.52
秋季	72	8	11.11	96	7	7.29	168	15	8.93
冬季	33	2	6.06	40	2	5.00	73	4	5.48

2.3 货架期与金黄色葡萄球菌污染相关性分析

表 5 不同货架期婴幼儿食品中金黄色葡萄球菌的分布

Table 5 Relationship between *S. aureus* contamination and shelf-life

货架期	2010		2012		合计	
	样本数	检出率/%	样本数	检出率/%	样本数	检出率/%
1	27	1 (3.70)	28	3 (10.71)	55	4 (7.27)
2	50	4 (8.00)	52	4 (7.69)	102	8 (7.84)
3	68	6 (8.82)	44	1 (2.27)	112	7 (6.25)
4	49	5 (10.20)	55	3 (5.45)	104	8 (7.69)
5	40	3 (7.50)	30	2 (6.67)	70	5 (7.14)
6	24	1 (4.17)	30	3 (10.00)	54	4 (7.41)
7	29	2 (6.90)	21	0	50	2 (4.00)
8	17	3 (17.65)	15	2 (13.33)	32	5 (15.63)

转下页

接上页

9	15	1 (6.67)	9	1 (11.11)	24	2 (8.33)
10	13	1 (7.69)	7	0	20	1 (5.00)
11	10	1 (10.00)	9	0	19	1 (5.26)
12	12	2 (16.67)	3	0	15	2 (13.33)
13	2	0	5	1 (20.00)	7	1 (14.29)
14	5	0	7	0	12	0
15	2	0	7	3 (42.86)	9	3 (33.33)
16	1	0	1	1 (100)	2	1 (50.00)
17	1	0	1	0	2	0
20	1	0	1	0	2	0
21	1	0	0	0	1	0

按照货架期, 婴幼儿食品中金黄色葡萄球菌污染率最高为 16 个月(50.00%), 其次是 15 个月(33.33%), 0 个月(25.00%), 8 个月(15.63%), 13 个月(14.29%), 12 个月(13.33%), 9 个月(8.33%), 2 个月(7.84%), 4 个月(7.69%), 6 个月(7.41%), 1 个月(7.27%), 5 个月(7.14%), 3 个月(6.25%), 11 个月(5.26%), 10 个月(5.00%) 和 7 个月(4.00%), 其他货架期没有分离到金黄色葡萄球菌, 结果如表 5 所示。对其进行统计分析, 2010 年和 2012 年的每个货架期之间没有显著性差异 ($p>0.05$)。从以上结果可知, 婴幼儿食品中金黄色葡萄球菌能在 16 个月的货架期中存活, 说明金黄色葡萄球菌能够在婴幼儿食品存活较长时间, 有待进一步研究其在婴幼儿食品中较长存活的机制。但有人报道^[13]配方奶粉中阪崎肠杆菌能在长达 24 个月的货架期中存活下来, 说明不同的病原菌在婴幼儿奶粉中的存活时间可能不一样。

2.4 耐药基因结果

本实验对 75 株金黄色葡萄球菌进行了 31 种耐药基因的检测, 共检测出 13 种耐药基因, 检出率是 40.6%。其中, 检出率最高的耐药基因是 *tet(K)*-360 (72.00%, 54 株), 其次是 *blaZ* (36.00%, 27 株)、*ermC* (29.33%, 22 株)、*tetK-718* (21.33%, 16 株) 和 *linA/linA'* (12.00%, 9 株)。其余 8 种耐药基因的检出率均低于 10% (详见表 6)。

表6 75株金黄色葡萄球菌耐药基因检出率

Table 6 Detection rates of antibiotic resistance genes in 75 *S. aureus* isolates from infant food samples

耐药种类	基因	检出数	检出率/%
青霉素类	<i>blaZ</i>	27	36.00
	<i>tet(K)</i> -360	54	72.00
四环素类	<i>tetL</i> -269	5	6.67
	<i>tet(K)</i> F-718	16	21.33

大环内酯类	<i>ermB</i> -142	1	1.33
	<i>ermC</i> -299	22	29.33
	<i>msrA</i> -163	1	1.33
甲氧苄啶类	<i>msrB</i> -595	1	1.33
	<i>dfpK</i> -214	1	1.33
林可酰胺类	<i>dfpG</i> -405	6	8.00
	<i>linA/linA</i> -323	9	12.00
氨基糖苷类	<i>acc(6')</i> -491	4	5.33

75株金黄色葡萄球菌中, 有1株(1.33%)携带6种耐药基因, 5株(6.67%)携带5种耐药基因, 6株(8.00%)携带4种耐药基因, 11株(14.67%)携带3种耐药基因, 13株(17.33%)携带2种耐药基因, 33株(44.00%)携带1种耐药基因, 6株(8.00%)不携带任何耐药基因(表7)。

表7 75株金黄色葡萄球菌携带耐药基因的数量分析

Table 7 Resistance gene types in 75 *S. aureus* isolates from infant food samples

携带的耐药基因种类	菌株数量	百分比/%
6	1	1.33
5	5	6.67
4	6	8.00
3	11	14.67
2	13	17.33
1	33	44.00
0	6	8.00

由上述结果可以看出, *S. aureus*携带四环素、青霉素和大环内酯类抗生素的耐药基因比例较高, 这可能是由于在我国人和食源性动物预防和治疗疾病过程中, 常使用四环素、青霉素和林可酰胺类抗生素^[14], 故而使得金葡菌对这几类抗生素的耐药性增强。此外, 携带多个耐药基因的菌株多于携带单一耐药基因的菌株(36>33), 仅有6株(8%)不携带任何耐药基因, 可以推测大多数 *S. aureus* 对多种抗生素不敏感。

2.5 新型肠毒素基因结果

本试验对金葡菌的9种新型肠毒素基因进行检测,共检测出2种新型肠毒素基因,分别是 sen (44.00%, 33株), ser (4.00%, 3株)。其他7种新型肠毒素基因的检出率均为0。此外,在检出含有肠毒素基因的菌株中,有1株菌携带2种新型肠毒素基因,34株菌携带1种新型肠毒素基因。由此可以看出,该批奶粉中 $S.aureus$ 所携带的新型肠毒素基因的种类较少,但大多数都携带一种新型肠毒素基因,对婴幼儿食品的安全性仍构成一定的威胁,需引起足够的重视。

3 结论

研究表明,市售婴幼儿食品容易被 $S.aureus$ 污染,并且检出的大多数 $S.aureus$ 都携带有四环素、青霉素和大环内酯类抗生素的耐药基因,以及主要携带新型毒素基因 sen ,故该类食品存在一定的安全隐患,对婴幼儿的身体健康具有一定的潜在威胁。由于致病菌的生长繁殖需要适宜的环境条件,因此建议相关企业严格把控从婴幼儿食品原料到成品的各个环节,并且安排专门的化验员对成品进行检验,以此来保证产品的质量,将可能对婴幼儿引起食物中毒的风险降到最低。

参考文献

- [1] Argudin M A, Mendoza M C, Rodicio M R. Food poisoning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins [J]. *Toxins*, 2010, 2(7): 1751-1773
- [2] Yan X M, Wang B, Tao X X, et al. Characterization of *Staphylococcus aureus* strains associated with food poisoning in Shenzhen, China [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(18), 6637-6642
- [3] 吕素玲,唐振柱,李秀桂,等.南宁市生牛奶金黄色葡萄球菌污染状况及其耐药性和肠毒素基因检测[J].应用预防医学,2010,16(5):271-274
LV Su-ling, TANG Zhen-zhu, LI Xiu-gui, et al. Prevalence of *Staphylococcus aureus* and detection of resistance genes and virulence genes in raw milk from Nanning city [J]. *Journal of Applied Preventive Medicine*, 2010, 16(5): 271-274
- [4] Orvay J A C, Hervas A, Hurtado A, et al. Meningitis due to *Salmonella* after food poisoning in an infant fed with formula milk [J]. *Anales De Pediatría*, 2013, 79(4), 270-271
- [5] Wang X, Meng J, Zhang J, et al. Characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from powdered infant formula milk and infant rice cereal in China [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2012, 153(1), 142-147
- [6] Verheghe M, Pletinckx L J, Crombe F, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ST398 in pig farms and multispecies farms [J]. *Zoonoses Public Health*, 2013, 60(5): 366-374
- [7] 王群,高燕,欧维琳,等.儿童感染金黄色葡萄球菌的临床特点与耐药状况[J].华夏医学,2010,23(2):123-126
WANG Qun, GAO Yan, OU Wei-lin, et al. Clinical characteristics and antibiotic resistance of infections of *staphylococcus aureus* in children [J]. *Acta Medicinæ Sinica*, 2010, 23(2): 123-126
- [8] Brakstad O G, Aasbakk K, Macland J A. Detection of *Staphylococcus aureus* by polymerase chain reaction amplification of the *nuc* gene [J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 1992, 30(7): 1654-1660
- [9] 巢国祥,徐勤,钱晓勤,等.生牛乳中致病菌污染状况及金黄色葡萄球菌耐药性研究[J].江苏预防医学,2005,3:7-9
CHAO Guo-xiang, XU Qin, QIAN Xiao-qin, et al. Study on epidemic status of four kinds of pathogens and drug resistance of *Staphylococcus aureus* in fresh milks [J]. *Jiangsu Journal of Preventive Medicine*, 2005, 3: 7-9
- [10] 刘钰,刘军,赵英杰,等.牛乳中金黄色葡萄球菌等四种致病菌的监测分析[J].中国卫生检验杂志,2003(1):88
LIU Yu, LIU Jun, ZHAO Ying-jie, et al. Study on four kinds of pathogens including *Staphylococcus aureus* in fresh milks [J]. *Chinese Journal of Health Laboratory Technology*, 2003, 1: 88
- [11] Yamashita K, Kanazawa Y, Ueno M, et al. Significance of the detection of *staphylococcal* enterotoxin A gene in low fat milk which caused a serious outbreak of food poisoning [J]. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*, 2003, 44(4): 186-190
- [12] 苑方重,张继东,钟秀会,等.奶牛乳房炎研究现状[J].动物医学进展,2003,4:44-45
FAN Fang-zhong, ZHANG Ji-dong, ZHONG Xiu-hui, et al. The current research of dairy cow mastitis [J]. *Progress in Veterinary Medicine*, 2003, 4: 44-45
- [13] Lehner A, Stephan R. Microbiological, epidemiological, and food safety aspects of *Enterobacter sakazakii* [J]. *Journal of Food Protection*, 2004, 67(12): 2850-2857
- [14] 周庆民,薄俊平,冯万宇,等.抗生素在奶牛临床上的使用现状[J].中国乳业,2009,6: 56-59
ZHOU Qing-min, BO Jun-ping, FENG Wan-yu, et al. Situation on the use of antibiotics in clinical cows [J]. *China Dairy*, 2009, 6: 56-59