

校园周边熟食中金黄色葡萄球的分离及肠毒素基因检测

曾宝锋, 蒋敏, 王洪志, 陈娟, 赵燕英, 唐俊妮

(西南民族大学生命科学与技术学院, 四川成都 610041)

摘要: 了解校园周边熟食中金黄色葡萄球菌的污染及其肠毒素基因的分布情况。采集校园周边农贸市场及其路边小摊的熟食样品 89 份, 采用国家标准 GB4789.10-2016 和 PCR 方法进行金黄色葡萄球菌分离鉴定; 采用 PCR 方法对分离菌株进行 21 种肠毒素基因检测。结果表明共分离出 71 株金黄色葡萄球菌, 样品中金黄色葡萄球菌的污染率为 79.78%, 其中, 农贸市场和路边小摊的熟食污染率分别为 80.70% (46/57) 和 78.12% (25/32); 检测的 21 种肠毒素基因中, *sec*、*see*、*seh*、*sel*、*sep* 和 *ses* 未检出, 其他 15 种基因型被检出, 包括 3 种传统肠毒素基因和 12 种新型肠毒素基因。71 株金黄色葡萄球菌中, 46 株菌株检出携带肠毒素基因, 检出率为 64.78% (46/71)。46 株携带肠毒素菌株中, *sex* 检出率最高为 86.96% (40/46), *sei* 和 *sem* 为 32.61% (15/46), *sen* 和 *seo* 为 30.43% (14/46), *set* 为 21.74%, *seg* 为 13.04%, *sea*、*seb* 和 *ser* 为 10.87%, *sej* 和 *seu* 为 6.52%, *sek* 和 *seq* 为 4.34%, *sed* 为 2.17%。通过本研究发现校园周边农贸市场及路边小摊的熟食中金黄色葡萄球菌污染率和肠毒素基因携带率均较高, 新型肠毒素基因检测率高于传统肠毒素基因型, 研究结果为金黄色葡萄球菌食品安全提供参考依据。

关键词: 校园周边; 金黄色葡萄球菌; 熟食; 分离鉴定; 肠毒素基因; 聚合酶链式反应

文章编号: 1673-9078(2018)11-227-234

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.11.034

Isolation of *Staphylococcus aureus* from Cooked Food Samples around Campus and the Detection of Staphylococcal Enterotoxin Genes

ZENG Bao-feng, JIANG Min, WANG Hong-zhi, CHEN Juan, ZHAO Yan-ying, TANG Jun-ni

(College of Life Sciences and Technology, Southwest Minzu University, Chengdu 610041, China)

Abstract: The contamination of *Staphylococcus aureus* and the distribution of staphylococcal enterotoxin genes in cooked food around campus were investigated in this study. A total of 89 food samples were collected from food markets and roadside stalls around campus. The distribution of 21 staphylococcal enterotoxin genes was detected by polymerase chain reaction (PCR) for all *S. aureus* food isolates. The results showed that seventy-one *S. aureus* strains were isolated and identified, with the total isolation rate of 79.78%. For market samples, the isolation rate was 80.70%; for roadside food stall samples, the isolation rate was 78.12%. Among 21 staphylococcal enterotoxin genes, *sec*, *see*, *seh*, *sel*, *sep* and *ses* genes were not detected. Other 15 types of genes, including 3 classical enterotoxin genes and 12 new enterotoxin genes, were detected. Forty-six (64.78%) *S. aureus* isolates carried one or more enterotoxin genes. Among them, 23 strains carried two or more enterotoxin genes, accounting for 50%. The detection rates of 21 staphylococcal enterotoxin genes in 46 enterotoxigenic *S. aureus* food isolates were as follows: *sex* (86.96%); *sei* and *sem* (32.61%); *sen* and *seo* (30.43%); *set* (21.74%); *seg* (13.04%); *sea*, *ser* and *seb* (10.87%), *sej* and *seu* (6.52%), *sek* and *seq* (4.34%), *sed* (2.17%). This study showed that the isolation rates of *S. aureus* strains and the detection rates of staphylococcal enterotoxin genes were very high in cooked food samples around campus. The genotypes of new enterotoxin were more than those of classical enterotoxins. This study provides a reference for staphylococcal food safety.

Key words: around campus; *Staphylococcus aureus*; delicatessen; isolation and identification; enterotoxin gene; PCR

收稿日期: 2018-07-11

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2018YFD0500500); 西南民族大学研究生创新项目 (CX2018SZ53); 西南民族大学食品科学与工程卓越农林工程师培养计划

作者简介: 曾宝锋 (1995-), 男, 在校研究生, 食品加工与安全

通讯作者: 唐俊妮 (1971-), 女, 博士, 教授, 食品安全与食品微生物

金黄色葡萄球菌是一种重要的条件致病菌, 广泛存在于自然界中, 污染食物的几率很大, 同时, 金黄色葡萄球菌在适宜的条件下能够产生肠毒素, 引发食物中毒, 它引起的食物中毒通常占居细菌性食物中毒的第 3 位^[1,2]。近年来, 我国由金黄色葡萄球菌引起的食物中毒事件也逐渐增多, 如 2016 年芜湖市的一家燃

面馆发生一起食物中毒事件,有3人在进食后2~3 h内均出现恶心、呕吐、腹痛、腹泻等症状,经流行病学调查和实验室检测结果证实这是一起由金黄色葡萄球菌及其肠毒素引起的食物中毒事件^[3]。欧秀华等^[4]从引起食物中毒的牛肉酱标本中分离到金黄色葡萄球菌并检测出肠毒素。李光辉等^[5]针对2003~2015年金黄色葡萄球菌食物中毒暴发资料进行统计与分析,发现报道的金黄色葡萄球菌食物中毒事件86起,累计发病2431人,死亡人数0,并认为肠毒素A引起食物中毒事件最多,其次为肠毒素C。吕国平等^[6]对石家庄市2007~2013年金黄色葡萄球菌食物中毒株进行分子分型和传统肠毒素检测,发现传统肠毒素 *sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see* 五种类型都有检出,认为食物源毒株可产生多种葡萄球菌肠毒素。蔡华等^[7]评估上海市居民食用凉拌菜引起金黄色葡萄球菌肠毒素中毒的风险,发现上海市市售凉拌菜中3.39% (21/620) 的样品可检出金黄色葡萄球菌,每次食用凉拌菜发生金黄色葡萄球菌中毒的概率为0.04%,每年可能的患病例数为51.81万例。国译丹等^[8]分析2010~2016年从云南省16个地州市农贸市场、超市及酒店餐馆采样并监测14大类食品23723份,检出金黄色葡萄球菌675株,检出率为2.85%,其中,肉与肉制品、速冻米面制品、餐饮食品污染金黄色葡萄球菌较为严重。从上述研究可以看出金黄色葡萄球菌极易污染各类食品,并且金黄色葡萄球菌的污染主要是由食品原料本身带菌以及食品在加工过程中由操作人员而引起^[9]。

为了解校园周边熟食中金黄色葡萄球菌的污染情况,本研究采集校园周边食品市场及周边摊点熟食进行金黄色葡萄球菌的分离鉴定,并针对菌株携带的21种肠毒素基因进行检测。目的是为了了解校园周边熟食中金黄色葡萄球菌的污染及其肠毒素基因的分布情况,研究结果为校园周边金黄色葡萄球菌引起的食品安全提供参考。

1 材料与方 法

1.1 培养基、试剂、菌株

7.5%的NaCl肉汤、Baird-Parker (BP) 琼脂基础、胰蛋白胨大豆肉汤培养基 (trypticase soy broth, TSB), 均购自海博生物技术有限公司; TE 缓冲液 (10 mmol/L Tris-HCL, 1 mmol/L pH 8.0 乙二胺四乙酸) 购自大连 TaKaRa 公司; 2×PCR Master Mix、DL 2000 DNA Marker, 均购自北京擎科新业生物技术有限公司; 金黄色葡萄球菌 ATCC6538 作为参考菌株, 由本实验室保存。

1.2 仪器与设备

Eppendorf 5804R 型冷冻离心机, 购自 Eppendorf 生命科技公司; PTC-200 PCR 仪、Versadoc 2000 凝胶成像仪, 均购自美国 Bio-Rad 公司; DYY-6C 电泳仪, 购自北京六一仪器厂; HZQ-F160 全温震荡培养箱, 购自上海齐欣科学仪器有限公司。

1.3 引物设计与合成

16S rDNA 引物以及 21 种金黄色葡萄球菌肠毒素基因引物参考王琼等^[10]。引物合成由生工生物工程 (上海) 股份有限公司完成。

1.4 食品样品的采集与分离纯化

样品采集时间为2016年夏季(4~7月), 在校园周边农贸市场共采集食品熟食样品57份, 路边小摊共采集食品熟食样品32份, 合计89份。

每份样品约100g左右, 放入无菌采样袋中, 送回实验室进行细菌分离。所有食品样品均按照 GB4789.10《食品微生物学检验-金黄色葡萄球菌检验》进行操作^[11]。分离的菌株于-80℃超低温甘油保存备用。

1.5 DNA 提取

参照 Kalia 等^[12]和 Tang 等^[13]的方法提取样本的 DNA, 于-20℃保存备用。

1.6 金黄色葡萄球菌的 16S rDNA 测序鉴定

以提取的 DNA 为模板, 以 16S rDNA 的引物进行 PCR 扩增, 同时设对照。PCR 扩增反应体系: 20 μL 总反应体系: 10 μL 2×PCR Master Mix, 上下游引物各 0.4 μL, DNA 模板 1 μL, 补水至 20 μL。扩增反应条件: 95℃预变性 5 min; 进入 PCR 循环, 95℃变性 40 s, 55℃退火 50 s, 72℃延伸 40 s, 35 个循环, 72℃延伸 10 min, 4℃保存。扩增产物进行电泳检测和送样测序, 样品测序由生工生物工程 (上海) 股份有限公司完成。

1.7 肠毒素基因的 PCR 检测

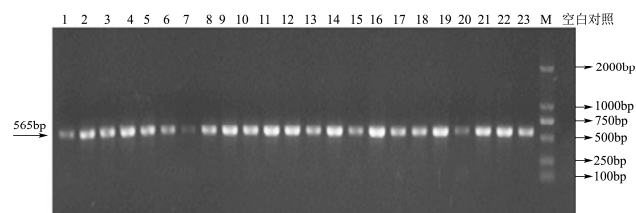
参考王琼等^[10]对金黄色葡萄球菌的肠毒素基因进行 PCR 扩检测, 扩增产物采用琼脂糖凝胶电泳和成像系统进行检测, 并记录结果。

1.8 数据分析

数据采用 Excel 进行处理。

2 结果与分析

2.1 样品采集和细菌的分离鉴定结果



备注:1-23号部分分离菌株的16S rDNA的PCR扩增结果、M为DL2000的DNA分子量

图1 部分菌株 16S rDNA 的 PCR 检测结果

Fig.1 The 16S rDNA PCR detection results for partial *S. aureus* strains

2016年4~7月,在校园周边的农贸市场及路边小摊共采集食品样品89份,样品采样来源和采样时间详见表1。分离的金黄色葡萄球菌在选择性分离培养基Baird-Parker平板上菌落形态为灰黑色、周围有浑浊带、边缘为淡色、外层有透明带,比较好辨认,革兰

染色也验证分离菌株为革兰阳性,并且在显微镜下呈圆形,葡萄串状。进一步对分离菌株进行16S rDNA的特异性PCR检测(图1)和序列比对分析,最终确认获得71株金黄色葡萄球菌。样品总的分离率为79.78%(71/89),其中,农贸市场分离46株,分离率为80.7%(46/57);路边小摊分离25株,分离率为78.1%(25/32);金黄色葡萄球菌在不同类别食品中的分离率见表1,由表1可以看出,烘焙食品类样品共5份,检出5份,分离率100%;豆类制品共14份,检出12份,分离率85.7%;袋装类小食品共7份,检出6份,分离率85.7%;凉拌菜类共25份,检出21份,分离率84.0%;米面制品类共18份,检出15份,分离率83.3%;熟食肉类制品共17份,检出11份,分离率64.7%;水果类2份未分离出;辣椒面只有1份样品,从中分离出1株细菌。可见,校园周边食品样品中,金黄色葡萄球菌的分离率较高,大多数食品为即食食品,存在食品安全隐患。

表1 金黄色葡萄球菌分离菌株样品来源、种类、采样时间及分离结果

Table 1 the sampling sources, types, time, and isolation results of *S. aureus*

样品类别	采样日期(2016.4~7)	样品名称	采样来源	分离结果	菌株编号
豆类制品(共14份,检出12份,分离率85.7%)	4.14	豆干	农贸市场	+	SA-16-10
	4.14	豆豉	农贸市场	-	-
	4.14	腐乳	农贸市场	+	SA-16-12
	4.14	熟豆干	农贸市场	+	SA-16-13
	4.24	拌腐竹	农贸市场	+	SA-16-23
	5.08	臭豆腐	路边小摊	+	SA-16-31
	7.12	豆腐皮	农贸市场	+	SA-16-44
	7.12	豆腐皮	农贸市场	+	SA-16-46
	7.15	卤豆干	农贸市场	-	-
	7.15	豆干	农贸市场	+	SA-16-51
	7.15	腌豆干	农贸市场	+	SA-16-56
	7.19	豆皮	农贸市场	+	SA-16-64
	7.22	豆豉	路边小摊	+	SA-16-66
	7.22	熟黄豆	路边小摊	+	SA-16-67
熟食肉类制品(共17份,检出11份,分离率64.7%)	4.08	凉拌肉片	农贸市场	+	SA-16-4
	4.12	泡椒鸡爪	农贸市场	+	SA-16-5
	4.16	烤肠	路边小摊	+	SA-16-17
	4.24	炸鸡柳	路边小摊	+	SA-16-19
	5.08	烧烤牛肉	路边小摊	+	SA-16-29
	5.08	烤鱿鱼	路边小摊	+	SA-16-32
	5.08	麦香鸡卷	路边小摊	+	SA-16-33
	7.12	熟猪皮	路边小摊	+	SA-16-42

转下页

接上页

	7.12	鸡爪	农贸市场	+	SA-16-43
	7.12	猪大肠	农贸市场	-	-
	7.15	卤鸡爪	农贸市场	+	SA-16-57
	7.17	鸭肝	农贸市场	+	SA-16-61
	7.17	卤肉	农贸市场	-	-
	7.17	宫保鸡丁	农贸市场	-	-
	7.19	熟猪肠	农贸市场	-	-
	7.19	卤鸡爪	农贸市场	-	-
	7.22	卤鸡爪	路边小摊	-	-
	4.14	凉拌笋	农贸市场	+	SA-16-11
	4.24	凉拌莲藕	农贸市场	+	SA-16-20
	4.24	凉拌海带	农贸市场	+	SA-16-21
	4.24	拌土豆丝	农贸市场	+	SA-16-22
	4.24	凉拌花菜	农贸市场	+	SA-16-25
	5.08	黄瓜丝	农贸市场	+	SA-16-30
	5.08	豌豆泥	农贸市场	+	SA-16-35
	5.08	凉菜	农贸市场	+	SA-16-36
	7.12	豌豆泥	农贸市场	+	SA-16-40
	7.12	凉拌笋	农贸市场	-	-
	7.12	凉拌海带	路边小摊	-	-
	7.12	凉拌海带	农贸市场	+	SA-16-47
	7.15	凉拌藕	农贸市场	+	SA-16-50
	7.15	豌豆泥	农贸市场	+	SA-16-52
	7.15	凉拌豆角	农贸市场	+	SA-16-53
	7.15	凉拌蕨菜	农贸市场	+	SA-16-54
	7.15	凉拌粉丝	农贸市场	+	SA-16-55
	7.15	海带丝	农贸市场	+	SA-16-58
	7.15	凉拌竹笋	农贸市场	+	SA-16-59
	7.17	凉拌丝瓜	农贸市场	-	-
	7.17	凉拌辣椒	农贸市场	+	SA-16-62
	7.19	凉拌笋	农贸市场	+	SA-16-65
	7.22	腌笋丝	路边小摊	+	SA-16-68
	7.22	腌菜丝	路边小摊	+	SA-16-70
	7.22	萝卜丝	农贸市场	-	-
	4.08	肉馅包子	农贸市场	+	SA-16-2
	4.08	凉粉	路边小摊	+	SA-16-3
	4.12	寿司	路边小摊	+	SA-16-9
	4.14	梅干菜薄饼	路边小摊	+	SA-16-14
	4.16	鸡蛋饼	路边小摊	+	SA-16-18
	4.24	凉皮	农贸市场	+	SA-16-24
	4.24	葱油饼	路边小摊	-	-
	5.08	薄饼	路边小摊	+	SA-16-28
	5.08	鸡蛋皮	农贸市场	+	SA-16-37

凉拌菜类 (共 25 份, 检出
21 份, 分离率 84.0%)
米面制品类 (共 18
份, 检出 15 份, 分离率
83.3%)

转下页

接上页					
	5.08	凉面	路边小摊	+	SA-16-38
	7.12	肉馅包子	农贸市场	+	SA-16-39
	7.12	菜馅包子	农贸市场	-	-
	7.12	酱香饼	路边小摊	+	SA-16-41
	7.12	炒饭	路边小摊	+	SA-16-45
	7.15	酱香饼	农贸市场	+	SA-16-60
	7.19	肉馅包子	农贸市场	+	SA-16-63
	7.19	凉面	路边小摊	-	-
	7.22	肉馅包子	农贸市场	+	SA-16-71
烘焙食品类 (共5份, 检出5份, 分离率100%)	4.12	蛋糕	农贸市场	+	SA-16-6
	5.08	黑米糕	路边小摊	+	SA-16-27
	5.08	绿豆糕	路边小摊	+	SA-16-34
	7.12	巧克力面包	路边小摊	+	SA-16-48
	7.22	巧克力蛋糕	路边小摊	+	SA-16-69
袋装类小食品 (共7份, 检出6份, 分离率85.7%)	4.08	辣条	农贸市场	+	SA-16-1
	4.12	花生米	农贸市场	+	SA-16-7
	4.12	包装卤蛋	路边小摊	+	SA-16-8
	4.16	华夫饼	农贸市场	+	SA-16-15
	4.16	袋装小鱼	路边小摊	+	SA-16-16
	5.08	咸菜	农贸市场	+	SA-16-26
	5.08	袋装油炸豆	路边小摊	-	-
水果类 (共2份, 分离率0%)	7.15	无花果	路边小摊	-	-
	7.17	苹果	路边小摊	-	-
其它1份	7.15	辣椒面	农贸市场	+	SA-16-49

注：“+”代表分离出金黄色葡萄球菌，“-”代表未分离出金黄色葡萄球菌。

2.2 金黄色葡萄球菌分离菌株肠毒素基因检测

检测结果

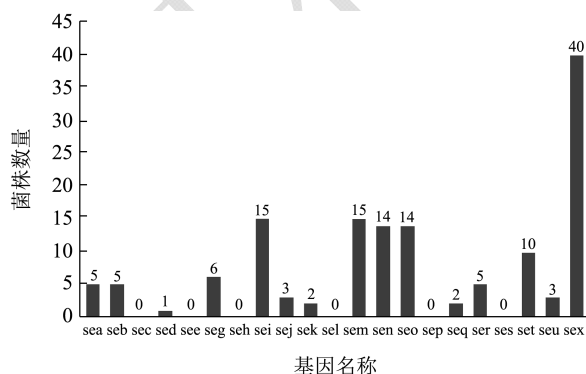


图2 金黄色葡萄球菌分离菌株肠毒素基因的检出情况

Fig.2 the detection results of staphylococcal enterotoxin genes of *S. aureus* food isolates

针对肠毒素基因的详细检出结果见表2。PCR 检测结果表明：分离的 71 株金黄色葡萄球菌中，有 46 株

分离菌株检出携带肠毒素基因，携带肠毒素基因菌株的检出率为 64.78% (46/71)。由表 2 可见，携带 1 种肠毒素基因型的共有 23 株分离菌株；携带 2 种肠毒素基因型的共 7 株；携带 3 种肠毒素基因型的有 1 株分离菌株；携带 4 种肠毒素基因型的有 1 株分离菌株；携带 5 种肠毒素基因型的有 4 株分离菌株；还有 4 株分离菌株同时携带 6 种肠毒素基因；3 株分离菌株携带 7 种肠毒素基因；1 株分离菌株携带 8 种肠毒素基因；2 株菌株携带 11 种肠毒素基因。

21 种肠毒素基因中，共有 15 种基因被检出（详见图 2），包括 3 种传统肠毒素基因和 12 种新型肠毒素基因，其中，*sex* 有 40 株检出，检出率最高，为 86.96% (40/46)；*sei* 和 *sem* 各有 15 株检出，检出率为 32.61% (15/46)；*seo* 和 *sen* 各有 14 株检出，检出率为 30.43% (14/46)；*set* 有 10 株检出，检出率为 21.74% (10/46)；*seg* 有 6 株检出，检出率为 13.04% (6/46)；*sea*、*seb*、*ser* 各有 5 株检出，检出率为 10.87% (5/46)；*sej*、*seu* 各有 3 株检出，检出率为 6.52% (3/46)；*sek*、*seq* 各有

2 株检出, 检出率为 4.34% (2/46); *sed* 有 1 株检出, *sel*、*sep* 和 *ses* 未检出。校园周边熟食分离的金黄色葡萄球菌中肠毒素基因的携带率较高。

表 2 金黄色葡萄球菌食品分离菌株肠毒素基因分布及类型

Table 2 The distribution of enterotoxin genes in *S. aureus* food isolates

类别	携带肠毒素基因类型	菌株编号	菌株数	合计
1	<i>seb</i>	SA-16-20	1	23
	<i>sei</i>	SA-16-39	1	
	<i>sej</i>	SA-16-6	1	
	<i>seo</i>	SA-16-26、45	2	
	<i>seu</i>	SA-16-42	1	
	<i>sex</i>	SA-16-5、8、9、17、18、23、24、29、30、31、32、40、62、65、66、67、70	17	
2	<i>sea+sex</i>	SA-16-25、34	2	7
	<i>seb+sex</i>	SA-16-2	1	
	<i>ser+sex</i>	SA-16-7	1	
	<i>set+sex</i>	SA-16-4、10	2	
	<i>seo+sex</i>	SA-16-28	1	
3	<i>seb+set+sex</i>	SA-16-1	1	1
4	<i>sei+sem+sen+sex</i>	SA-16-54	1	1
5	<i>sei+sem+sen+seo+sex</i>	SA-16-43、58、60	3	4
	<i>sei+sej+sem+sen+sex</i>	SA-16-44	1	
6	<i>seg+sei+sem+sen+seo+sex</i>	SA-16-41、56	2	4
	<i>sei+sem+sen+seo+seu+sex</i>	SA-16-33	1	
	<i>sei+sem+sen+seo+set+sex</i>	SA-16-55	1	
7	<i>seg+sei+sem+sen+seo+set+sex</i>	SA-16-49、50	2	3
	<i>sea+seg+sei+sem+sen+set+sex</i>	SA-16-53	1	
8	<i>sea+seb+sek+sem+seq+ser+set+sex</i>	SA-16-12	1	1
11	<i>sed+seg+sei+ser+sej+sem+sen+seo+set+seu+sex</i>	SA-16-15	1	2
	<i>sea+seb+sei+sek+sem+sen+seo+seq+ser+set+sex</i>	SA-16-22	1	

3 结论

3.1 近几年, 有很多关于金黄色葡萄球菌食物中毒的报道, 由金黄色葡萄菌肠毒素引起的食物中毒占整个细菌食物中毒的 33%~45%^[14,15]。金黄色葡萄球菌在食物中的污染率也较高, 雷云瑞等^[16]在 54 份样品中的检出率达 42.6%; 苑学霞^[17]在 130 份生牛乳中样品中的检出率为 43.85%。本研究从校园周边市场和小摊贩采集的 89 份食品中, 污染率高达 79.78%。其中, 烘焙食品及糕点样品的污染率为 100%; 豆类制品、袋装类小食品、凉拌菜类、米面制品、熟食肉类等的污染率也较高。另外, 农贸市场采样的污染率为 80.7%; 路边小摊采样的污染率为 78.1%, 农贸市场和路边小摊的污染率较为接近。我们的研究结果高于其他报道, 分析原因可能与采样时间、采样种类以及样品所处环

境有关。采样时间是在夏季, 采样种类大多为熟食即食食品。校园周边熟食中金黄色葡萄球菌的污染率较高。因此, 应加强对校园周边食物中金黄色葡萄球菌的污染调查。

3.2 另一方面, 由于肠毒素可引起食物中毒, 研究肠毒素基因在金黄色葡萄球菌中的分布也非常重要。目前发现金黄色葡萄球菌肠毒素有许多不同的血清型^[18,19]。从现有的报道可以看出, 金黄色葡萄球菌肠毒素基因的检出率可高达 93.5%^[20]。顾其芳等^[21]从上海地区生牛乳中分离的金黄色葡萄球菌携带肠毒素基因的阳性率达 53.1%; 刘思超等^[22]从惠州市熟肉制品中分离的金黄色葡萄球菌携带肠毒素基因的阳性率达 41.16%。本研究中, 我们共检测了 21 种肠毒素基因, 检出了 15 种不同类型的肠毒素基因。71 株菌株有 46 株分离菌株携带肠毒素基因, 携带肠毒素基因菌株的

检出率为 64.78%，携带两种及两种以上肠毒素基因的菌株占 50% (23/46)。传统肠毒素基因检出 *sea*、*seb* 和 *sed*。新型肠毒素基因中，*sex*、*sei*、*sem*、*seo*、*sen* 检出率较高，其中 *sex* 检出率最高为 86.96% (40/46)。齐欢欢等^[23]对内蒙古地区乳源金黄色葡萄球菌的检测结果显示新型肠毒素基因检出率高于传统肠毒素基因。McLauchlin 等^[24]调查引起食物中毒的 23 株金黄色葡萄球菌，没有检测到传统肠毒素基因，但每株菌都携带一种或者多种新型肠毒素基因。黄嘉慧等^[25]从我国 39 个城市采集市售食用菌样本，其中分离的金黄色葡萄球菌也发现新型肠毒素基因检出率高。另外，Becker 等^[26]研究了人血液和人鼻腔分离出的 429 株金黄色葡萄球菌的肠毒素基因分布情况，以及 Akineden 等^[27]对患乳腺炎奶牛产的牛奶中分离的 103 株金黄色葡萄球菌的肠毒素基因进行检测，都显示新型肠毒素检出率较高，与本研究结果具有一致性。这些结果表明新型肠毒素可能对人体健康同样具有潜在威胁^[28]。因此，未来应加强对新型肠毒素致病性研究。

3.3 进一步从单个菌株携带肠毒素基因种类来分析，我们发现大多数菌株具有不同的肠毒素基因型，从另一个侧面也反映了菌株的遗传背景多样性。23 株菌株携带两种及以上的肠毒素基因，有 4 株菌株甚至携带 6 种肠毒素基因；3 株菌株携带 7 种肠毒素基因；1 株分离菌株携带 8 种肠毒素基因；2 株分离菌株携带 11 种肠毒素基因。说明食物源金黄色葡萄球菌菌株可产多种类型葡萄球菌肠毒素，并且肠毒素基因在不同食物源毒株中的分布具有多样性。本研究的缺陷是未对菌株进行分子分型，以后的工作应加强这方面的研究。

3.4 综上，通过本研究，我们发现校园周边熟食中金黄色葡萄球菌分离率和肠毒素基因携带率较高，新型肠毒素基因检测率高于传统肠毒素基因型，研究结果为金黄色葡萄球菌食品安全提供参考依据。

参考文献

- [1] 朱淑英,胡元玮,张兵,等.82 株不同来源金黄色葡萄球菌肠毒素的分型检测分析[J].中国卫生检验杂志,2015,25(1):52-54
ZHU Shu-ying, HU Yuan-wei, ZHANG Bin, et al. Analysis of enterotoxin typing detection of 82 strains of *Staphylococcus aureus* isolated from different sources [J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2015, 25(1): 52-54
- [2] Bahk G J, Hong C H, Oh D H, et al. Modeling the level of contamination of *Staphylococcus aureus* in ready-to-eat kimbab in Korea [J]. Journal of Food Protection, 2006, 69(6): 1340
- [3] 高朋,王毅,钱瑞罡.一起金黄色葡萄球菌引起的食物中毒事件检测结果分析[J].安徽预防医学杂志,2017,4:271-274
GAO Peng, WANG Yi, QIAN Rui-gang. Analysis of detection results of a food poisoning case caused by *staphylococcus aureus* [J]. Anhui Journal of Preventive Medicine, 2017, 4: 271-274
- [4] 欧秀华,邱艺燕,谢文忠,等.一起金黄色葡萄球菌肠毒素食物中毒的实验分析[J].海峡预防医学杂志,2018,24(2):78-80
OU Xiu-hua, QIU Yi-yan, XIE Wen-zong, et al. Experimental analysis of a food poisoning of *Staphylococcus aureus* enterotoxin [J]. Strait Journal of Preventive Medicine, 2018, 24(2): 78-80
- [5] 李光辉,郭卫芸,高雪丽,等.2003 年~2015 年金黄色葡萄球菌食物中毒事件特征分析[J].食品研究与开发,2018,39(6):200-203
LI Guang-hui, GUO Wei-yun, GAO Xue-li, et al. Epidemiological analysis of *Staphylococcus aureus* food poisoning events in China during 2003-2015 [J]. Food Research and Development, 2018, 39(6): 200-203
- [6] 吕国平,李亚子,郭玉梅,等.金黄色葡萄球菌食物中毒株遗传特征分析[J].中国病原生物学杂志,2018,13(2):185-188
LV Guo-ping, LI Ya-zi, GUO Yu-mei, et al. Analysis of the characteristics of *Staphylococcus aureus* isolated in outbreaks of food poisoning [J]. Journal of Pathogen Biology, 2018, 13(2): 185-188
- [7] 蔡华,秦璐昕,罗宝章,等.上海市市售凉拌菜中金黄色葡萄球菌的定量风险评估[J].中国食品卫生杂志,2018,30(1):84-88
CAI Hua, QIN Lu-xin, LUO Bao-zhang, et al. Quantitative risk assessment on *Staphylococcus aureus* in ready-to-eat salads in Shanghai [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2018, 30(1): 84-88
- [8] 国译丹,杨祖顺,邹颜秋硕,等.2010~2016 年云南省食品金黄色葡萄球菌污染监测分析[J].食品安全质量检测学报,2017,8(10):3790-3794
GUO Yi-dan, YANG Zu-shun, ZOU Yan-qiu-suo, et al. Monitoring and analysis of *Staphylococcus aureus* contamination in food of Yunnan province in 2010~2016 [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2017, 8(10): 3790-3794
- [9] 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,2008,3:88-93
Suo Yu-juan, YU Hong-wei, LING Wei, et al. Study on the contamination status of *Staphylococcus aureus* in food [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology,

- 2008, 3:88-93
- [10] 王琼,唐俊妮,汤承,等.金黄色葡萄球菌新型肠毒素 *sek* 基因在 3 株食品分离菌株中的表达[J].食品科学, 2016,37(13): 140-146
WANG Qiong, TANG Jun-ni, TANG Cheng, et al. Temporal expression of staphylococcal enterotoxin K (*sek*) gene in three isolates from food samples [J]. Food Science, 2016, 37(13): 140-146
- [11] GB4789.10-2010,食品安全国家标准:食品微生物学实验金黄色葡萄球菌检验[S]
GB4789.10-2010, National food safety standard Food microbiological examination: Staphylococcus aureus [S]
- [12] Kalia A, Rattan A, Chopra P. A method for extraction of high-quality and high-quantity genomic DNA generally applicable to pathogenic bacteria [J]. Analytical Biochemistry, 1999, 275(1): 1-5
- [13] Tang JN, Shi XM, Shi CL, Chen HC. Characterization of a duplex PCR assay for the detection of enterotoxigenic strains of *Staphylococcus aureus* [J]. Journal of Rapid Methods & Automation in Microbiology, 2006, 14(3): 201-217
- [14] 高涛.食品中金黄色葡萄球菌肠毒素及检测方法的研究进展[J].福建分析测试,2003,12(2):1775-1778
GAO Tao. Research advance on *Staphylococcus aureus* enterotoxine and its detection methods in Food [J]. Fujian Analysis & Testirg, 2003, 12(2): 1775-1778
- [15] 张严峻,张俊彦,梅玲玲,等.金黄色葡萄球菌肠毒素基因的分型和分布[J].中国卫生检验杂志, 2005,15(6):682-684
ZHANG Yan-jun, ZHANG Jun-yan, MEI Ling-ling, et al. Typing and distribution of toxin genes among *Staphylococcus aureus* isolates from samples of raw milk [J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2005, 15(6): 682-684
- [16] 雷云瑞,柴文平,解立满,等.廊坊市食品中金黄色葡萄球菌的检测及污染状况分析[J].食品与发酵科技, 2010,46(1): 100-104
LEI Yun-rui, CHAI Wen-ping, XIE Li-man, et al. Detection and pollution analysis of *Staphylococcus aureus* on foodstuff in Langfang city [J]. Food and Fermentation Technology, 2010, 46(1): 100-104
- [17] 苑学霞,苏梅,邬元娟,等.生牛乳中金黄色葡萄球菌的耐药性研究[J].山东农业科学,2018,50(03):117-119,128
Yuan Xue-xia, Su Mei, Wu Yuan-juan, et al. Drug resistance of *Staphylococcus aureus* in raw cow milk [J]. Shandong Agricultural Sciences, 2018, 50(3): 117-119, 128
- [18] Hennekinne J A, De Buyser M L, Dragacci S. *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation [J]. FEMS Microbiology Reviews, 2012, 36(4): 815-836
- [19] Ono H K, Sato'o Y, Narita K, et al. Identification and characterization of a novel staphylococcal emetic toxin [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2015, 81(20): 7034-7040
- [20] 曹虹,王敏,郑荣,等.金黄色葡萄球菌临床分离株肠毒素基因的调查分析[J].南方医科大学学报,2012,32(5):738-741, 745
CAO Hong, WANG Min, ZHENG Rong, et al. Investigation of enterotoxin gene in clinical isolates of *Staphylococcus aureus* [J]. Journal of Southern Medical University, 2012, 32(5): 738-741, 745
- [21] 顾其芳,张红芝,陈炯,等.上海地区生牛乳中金黄色葡萄球菌污染状况及耐药性分析[J].上海预防医学,2018,30(6):1-4
GU Qi-fang, ZHANG Hong-zhi, CHEN Jiong, et al. Contamination and drug resistance of *Staphylococcus aureus* in raw milk in Shanghai [J]. Shanghai Journal of Preventive Medicine, 2018, 30(6): 1-4
- [22] 刘思超,罗泽燕,徐励琴,等.惠州市熟肉制品中金黄色葡萄球菌污染状况及 PFGE 分型[J].中国热带医学,2018,18(5): 459-463
LIU Si-chao, LUO Ze-yan, XU Li-qin, et al. Contamination of *Staphylococcus aureus* in cooked meat products and molecular typing by PFGE in Huizhou [J]. China Tropical Medicine, 2018, 18(5): 459-463
- [23] 齐欢欢,周雨霞,麻昌姣,等.内蒙古地区乳源金黄色葡萄球菌肠毒素基因的分型[J].黑龙江畜牧兽医,2017,17:49-52
QI Huan-huan, ZHOU Yu-xia, MA Chang-jiao, et al. The distribution of staphylococcal enterotoxin genes from milk in Inner Mongolia area [J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 2017, 17: 49-52
- [24] McLauchlin J, Narayanan G L, Mithani V, et al. The detection of enterotoxins and toxic shock syndrome toxin genes in *Staphylococcus aureus* by polymerase chain reaction [J]. Journal of Food Protection, 2000, 63(4): 479-488
- [25] 黄嘉慧,吴诗,张峰,等.我国市售食用菌中金黄色葡萄球菌污染调查、耐药性及其肠毒素基因检测[J].食品科学技术学报,2018,36(3):25-32,55
HUANG Jia-hui, WU Shi, ZHANG Feng, et al. Prevalence, antibiotic resistance, and enterotoxin gene detection of *Staphylococcus aureus* isolated from retail edible mushrooms in China [J]. Journal of Food Science and Technology, 2018, 36(3): 25-32
- [26] Becker K, Friedrich A W, Lubritz G, et al. Prevalence

- of genes encoding pyrogenic toxin superantigens and exfoliative toxins among strains of *Staphylococcus aureus* isolated from blood and nasal specimens [J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2003, 41(4): 1434
- [27] Akineden O, Annemüller C, Hassan A A, et al. Toxin genes and other characteristics of *Staphylococcus aureus* isolates from milk of cows with mastitis [J]. *Clinical & Diagnostic Laboratory Immunology*, 2001, 8(5): 959
- [28] 薛云浩,吴玲玲,李艳芬,等.金黄色葡萄球菌食物中毒的多重PCR快速检测及产肠毒素耐药分析[J].*中国卫生检验杂志*,2018,28(10):1166-1168,1172
- XUE Yun-hao, WU Ling-ling, LI Yan-fen, et al. Rapid detection of food-borne disease caused by *Staphylococcus aureus* by multiplex PCR and analysis of enterotoxin resistance [J]. *Chinese Journal of Health Laboratory Technology*, 2018, 28(10): 1166-1168, 1172