

市售猪肉金黄色葡萄球菌的分离及菌株耐消毒剂基因的检测

孟含¹, 李庆¹, 贺苏皖¹, 施春雷², 陈娟¹, 唐俊妮¹

(1. 西南民族大学生命科学与技术学院, 青藏高原动物遗传资源保护与利用教育部重点实验室, 四川成都 610041)

(2. 上海交通大学农业与生物学院中美食品安全联合研究中心, 上海 200240)

摘要: 研究市售猪肉源金黄色葡萄球菌的污染情况, 测定季铵盐类消毒剂对分离菌株 MIC 范围, 以及耐消毒剂基因携带情况。采集春夏季与秋冬季市售生猪肉样品 576 份, 采用肉汤稀释法测定苯扎溴铵对分离菌株的 MIC, 采用 PCR 技术对分离菌株 5 种耐消毒剂相关基因 (*qacA/B*, *qacC/D*, *qacG*, *qacH*, *qacJ*) 进行检测。576 份样品中分离得到 297 株金黄色葡萄球菌, 总分离率为 51.56%; 其中, 春夏季样品 374 份, 分离出 158 株; 秋冬季样品 202 份, 分离出 139 株。苯扎溴铵对分离菌株的 MIC 在 0.00125~0.01 μg/mL, 297 株中 168 株检出携带耐消毒剂基因, 总检出率为 56.6%, *qacA/B*, *qacC/D*, *qacG*, *qacH*, *qacJ* 的检出率分别为 2.36%、19.86%、40.74%、6.73%、0.67%。结果表明猪肉源金黄色葡萄球菌的分离率和菌株消毒剂抗性基因携带率较高, 猪肉中分离的金黄色葡萄球菌对季铵盐类消毒剂敏感。本研究为市售猪肉金黄色葡萄球菌的防控及消除提供参考。

关键词: 猪肉; 金黄色葡萄球菌; 消毒剂抗性基因; MIC

文章编号: 1673-9078(2020)04-296-303

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.4.039

Isolation of *Staphylococcus aureus* from Pork Source and the Detection of Disinfectant Resistance Genes

MENG Han¹, LI Qing¹, HE Su-wan¹, SHI Chun-lei², CHEN Juan¹, TANG Jun-ni¹

(1. College of Life Sciences and Technology & Key Laboratory of Qinghai-Tibet Plateau Animal Genetic Resource and Utilization, Southwest Minzu University, Chengdu 610041, China)

(2. MOST-USDA Joint Research Center for Food Safety, School of Agriculture & Biology, and State Key Lab of Microbial Metabolism, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai, 200240, China)

Abstract: In this work, the pollution of *Staphylococcus aureus* from pork purchased from the market was investigated. The MIC ranges of quaternary ammonium disinfectant to the isolated strains and the disinfectant resistant genes carrying were detected. The 576 samples of the commercial raw pork in four seasons were collected. The MIC values of the isolated strains were determined by broth dilution methods. The five anti-disinfectant-related genes (*qacA/B*, *qacC/D*, *qacG*, *qacH*, *qacJ*) were detected by PCR. The 297 strains of *S. aureus* were isolated from 576 pork source samples, and the total isolation rates was 51.56%. The 158 *S. aureus* strains were isolated from 374 samples that collected in spring and summer. The 139 *S. aureus* strains were isolated from 202 samples that collected in autumn and winter. The MIC ranges to benzalkonium bromide were 0.00125~0.01 μg/mL. Among 297 strains of *S. aureus*, 168 strains were found to carry the disinfectant-resistant genes, and the total detection rate was 56.6%. The positive detection rates for *qacA/B*, *qacC/D*, *qacG*, *qacH*, and *qacJ* were 2.36%, 19.86%, 40.74%, 6.73%, 0.67%, respectively. The result showed that the isolation rates from pork source and the resistance genes to disinfectant were relatively high. The *S. aureus* isolated from pork were sensitive to the quaternary salt-based disinfectant. This study will provides reference for

引文格式:

孟含, 李庆, 贺苏皖, 等. 市售猪肉金黄色葡萄球菌的分离及菌株耐消毒剂基因的检测[J]. 现代食品科技, 2020, 36(4): 296-303

MENG Han, LI Qing, HE Su-wan, et al. Isolation of *Staphylococcus aureus* from pork source and the detection of disinfectant resistance genes [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(4): 296-303

收稿日期: 2019-11-05

基金项目: 国家重点研发计划项目(2017YFC1600100); 四川省科技计划项目(2018JY0540, 2019YJ0261); 西南民族大学研究生创新项目(CX2019SZ156)

作者简介: 孟含(1995-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品加工与安全

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

the prevention and control of *S. aureus* pork isolates.

Key words: pork; *Staphylococcus aureus*; disinfectant-resistant genes; MIC

金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 是一种广泛分布于自然界的革兰氏阳性条件致病菌, 经常引起食物中毒, 也是人类化脓感染等最常见的病原菌^[1]。因此, 对金黄色葡萄球菌消毒防控显得尤为重要。近年来, 季铵盐类、醛类、含氯消毒剂的大量使用, 造成了细菌对消毒剂的耐受性增强, 并产生了携带耐消毒剂基因菌株。国内外学者已从金黄色葡萄球菌中检出携带耐季铵盐类消毒剂基因 *qac*^[2], 携带 *qac* 的金黄色葡萄球菌可表现出对胺类、胍类和胍类消毒剂耐药。*qac* 基因在金黄色葡萄球菌的检出率随地域和来源差异较大, 但大多研究主要集中于医院临床领域^[3], 如潘引军^[4]等报道医院临床分离的金黄色葡萄球菌中 *qacA* 基因检出率为 41.67%; 胡志东^[5]等在临床分离耐甲氧西林金黄色葡萄球菌中 *qacA/B* 基因的检出率为 40.4%。对于猪肉源金黄色葡萄球菌分离菌株的耐消毒剂基因和对消毒剂抗性检测较少, 市售生猪肉中金黄色葡萄球菌来源复杂, 传播途径可能有其它畜禽、加工人员、加工过程以及环境污染等, 耐消毒剂基因的出现给猪肉生产、销售环节消毒和污染控制带来困难, 而生猪肉往往也会成为食品交叉污染的重要来源^[6]。因此, 为了解本地区市售生猪肉中金黄色葡萄球菌分离菌株耐消毒剂基因的携带情况, 以及分离菌株对季铵盐类消毒剂的抗性情况。本研究对成都地区农贸市场及超市不同季节采集的生猪肉样品进行菌株的分离鉴定; 对所分离的菌株进行苯扎溴铵最小抑菌浓度及耐消毒剂基因的检测。研究结果对猪肉生产、销售等环节消毒防控工作提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 菌株来源

2017 年不同季节从成都市各区农贸市场分批采集生猪肉样品共 576 份。其中, 春夏季 (3~8 月) 374 份, 秋冬季 (9~11 月) 202 份。

1.1.2 试剂与培养基

胰蛋白胨大豆肉汤培养基 (trypticase soy broth, TSB), 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; 过氧乙酸溶液, 购自成都市科龙化工试剂厂; 次氯酸钠溶液, 购自成都市科隆化学品有限公司; 苯扎溴铵, 购自南昌白云药业有限公司。

1.1.3 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; UV-6100 分光光度计, 购自上海美普达公司; HZQ-F160 全温震荡培养箱, 购自上海齐欣科学仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 菌株的分离与鉴定

采集所有猪肉样品均按照 GB 4789.10《食品微生物学检验-金黄色葡萄球菌检验》进行分离^[7]。将所有试验菌株的 DNA 模板进行葡萄球菌 16s rDNA 和 *nuc* 基因的 PCR 扩增鉴定^[8]。

将金黄色葡萄球菌分离纯化的菌株分别接种于 5 mL 的 TSB 培养基中, 37 °C, 150 r/min 培养 18 h。取 1 mL 菌悬液 4 °C 条件下 12000 r/min 离心 2 min 后, 收集菌体, 提取 DNA 方法参考文献^[9]进行, 提取得到的 DNA 样本于 -20 °C 保存, 用于细菌的分子鉴定和抗消毒剂相关基因检测。

1.2.2 耐消毒剂基因的 PCR 检测

5 种耐消毒剂基因引物参考文献^[10], 引物由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成, 5 种耐消毒剂基因引物序列详见表 1。

以 1.2.1 提取的 DNA 为模板, 对金黄色葡萄球菌的耐消毒剂基因进行 PCR 扩增。PCR 扩增反应体系为 20 μL: 2×PCR Master Mix 10 μL, 上下游引物各 0.4 μL, DNA 模板 1 μL, 无菌水补足至 20 μL。扩增反应条件: 95 °C 预变性 5 min; 进入 PCR 循环, 95 °C 变性 40 s, 根据引物不同 45 °C~60 °C 退火 50 s, 72 °C 延伸 40 s, 35 个循环, 72 °C 延伸 10 min, 扩增产物于 4 °C 保存。产物分析: 利用 1% 的琼脂糖凝胶进行电泳, 每孔上样品 5 μL。电泳条件为 95 V, 50 min。最后用紫外凝胶成像系统观察, 并记录结果。同时, 挑取各基因的 1~2 个阳性扩增子送上海生工测序, 通过序列比对验证扩增结果的正确性。

表1 PCR引物序列及扩增产物大小

Table 1 PCR primers sequence and amplification products size

引物名称	引物序列 (5'→3')	产物长度/bp
<i>qacA/B-F</i>	GCTGCATTTATGCAATGTTTG	630
<i>qacA/B-R</i>	AATCCCACCTACTAAAGCAG	
<i>qacC/D-F</i>	ATAAGTACTGAAGTTATGGAAAGT	286
<i>qacC/D-R</i>	TTCCGAAAATGTTTAACGAAACTA	
<i>qacG-F</i>	TTTCGTTTGGAATTTGCTTT	213
<i>qacG-R</i>	AATGGCTTCTCCAAATACA	
<i>qacH-F</i>	CAATAGTCAGTGAAGTAATAGGCAGTG	295
<i>qacH-R</i>	TGTGATGATCCGAATGTGTTT	
<i>qacJ-F</i>	CTTATATTTAGTAATAGCG	306
<i>qacJ-R</i>	GATCCAAAAACGTAAAGA	

1.2.3 最小抑菌浓度 (MIC) 测定

根据临床和实验室标准协会 (CLSI2012) 所推荐的肉汤稀释法测定标准, 进行分离菌株对苯扎溴铵的最小抑菌浓度实验。采用二倍稀释法, 参考预实验结果, 通过换算, 苯扎溴铵添加的终浓度分别为 0.000625、0.00125、0.0025、0.005、0.01、0.02 $\mu\text{g/mL}$, 每个浓度梯度做 3 组平行。根据苯扎溴铵不同体积的添加, 补充 TSB 培养基至终体积为 5 mL (接菌量为 50 μL)。150 r/min、37 $^{\circ}\text{C}$ 震荡培养 16 h。用酶标仪在 630 nm 处测定吸光度, 并记录数据, 观察苯扎溴铵消毒剂能够抑制猪肉源金黄色葡萄球菌生长的最低浓度作为最小抑菌浓度 (MIC)。

1.2.4 数据处理

数据采用 Microsoft Excel、SPSS 25 软件进行分析处理。

2 结果与分析

2.1 猪肉源金黄色葡萄球菌的分离与鉴定结果

通过形态学分离和 PCR 分子鉴定, 采集的 576 份猪肉源样品中, 共分离出 297 株金黄色葡萄球菌, 总的分离率为 51.56%; 其中, 春夏季采集样品 374 份, 分离出 158 株金黄色葡萄球菌, 分离率为 59.40%; 秋冬季采集样品 202 份, 分离出 139 株金黄色葡萄球菌, 分离率为 68.81%。薛琳等^[11]的研究表明 126 份猪肉样中检出 84 株金黄色葡萄球菌, 检出率 66.67%, 该结果与我们的结果接近, 说明猪肉中金黄色葡萄球菌的携带率较高。并且检测结果显示秋冬季采集样品的分离率略高于春夏季采集样品的分离率, 造成此差异的原因可能与猪肉的生产屠宰环节以及采样环节有关。

2.2 分离菌株对苯扎溴铵最小抑菌浓度检测

结果

采用肉汤稀释法, 并用酶标仪测定 630 nm 处吸光度, 结果表明苯扎溴铵对猪肉源金黄色葡萄球菌分离菌株的最小抑菌浓度范围在 0.00125~0.01 $\mu\text{g/mL}$ 之间。与任哲^[12]等测得苯扎氯铵对医院分离耐甲氧西林金黄色葡萄球菌株 MIC 为 1.05 $\mu\text{g/mL}$ 的结果有一定差异。分析可能的原因是他们的研究菌株是医院源分离株, 由于医院对消毒剂的使用更为频繁, 可能会导致菌株对消毒剂产生一定的抗性。

2.3 金黄色葡萄球菌耐消毒剂基因检测结果

猪肉源金黄色葡萄球菌部分分离菌株的 5 种不同耐消毒剂基因 PCR 扩增产物的电泳图见图 1。通过对不同基因 1~2 个阳性扩增子进行测序比对, 验证了扩增结果的正确性。通过进一步分析表明, 297 株猪肉源金黄色葡萄球菌分离菌株中, 有 7 株检出携带 *qacA/B* 基因, 阳性率为 2.36%; 携带 *qacC/D* 基因的有 59 株, 检出率为 19.86%; *qacG* 基因检出 121 株, 检出率为 40.74%; *qacH* 基因检出 20 株, 检出率为 6.73%; *qacJ* 基因检出 2 株, 检出率为 0.67% (如图 2 所示), 检出结果表明猪肉源金黄色葡萄球菌携带 *qacG* 与 *qacC/D* 基因的比率高。将所检测的相关 5 种 *qac* 基因与其他报道对比, 发现与王华丽^[13]等对重庆地区临床分离菌株 (*qacA/B* 检出率为 4.73%)、纪风兵^[14]等在成都地区临床分离菌株 (*qacA/B* 检出率为 1.2%)、沈临海^[15] (*qacA/B* 检出率为 4.8%) 等报道结果相近, 但与徐丹^[16] (*qacA/B* 检出率为 43.66%)、冯

莉^[17] (*qacA/B* 检出率为 55.4%)、王笑笑^[18] (*qacA/B* 检出率为 38.89%) 等的研究结果有较大差异。说明各地区分离的金黄色葡萄球菌耐消毒剂基因的携带率不尽相同, 说明菌株的来源不同, 检测结果存在一定的差异。

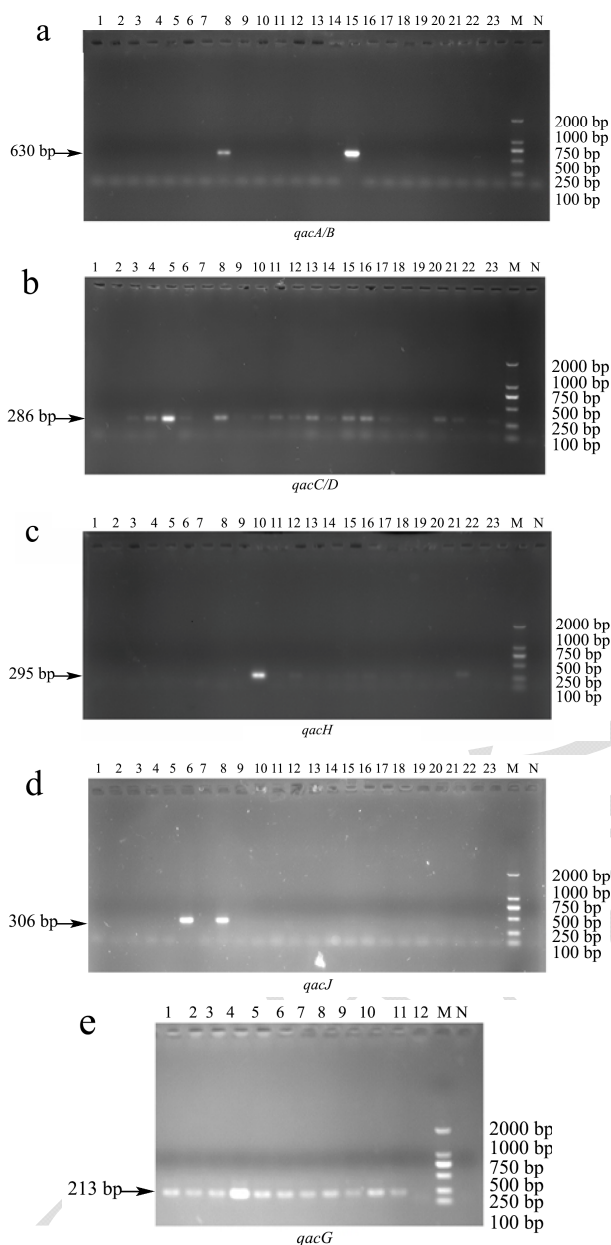


图1 部分金黄色葡萄球菌分离菌株不同耐消毒剂基因扩增产物电泳图

Fig.1 Electrophoresis of PCR amplification products for *qac* genes in partial *S. aureus* isolates

本研究中, *qacG* 基因的阳性检出率为 40.74%, *qacC/D* 基因的阳性检出率为 19.86%, *qacH* 基因的阳性检出率为 6.73%, *qacA/B* 基因阳性检出率为 2.36%, *qacJ* 基因的阳性检出率为 0.67%, 而刘庆中^[19]等从上海和温州 5 所医院临床中分离的金黄色葡萄球菌 *qacA/B*、*qacC/D*、*qacH* 的检出率分别为 83.0%、77.4%、

13.2%, 未检出 *qacG*、*qacJ*; 张宏梅^[20]等人从公共消毒环境中分离的金黄色葡萄球菌 *qacA/B* 和 *qacC/D* 的携带率分别为 34.62% (9/26) 及 3.85% (1/26); 叶建中^[21]等人在医院所分离的临床金黄色葡萄球菌中得出 *qacA/B*、*qacC/D* 和 *qacH* 的携带率分别为 47.3% (35/74)、4.1% (3/74) 及 1.4% (1/74), 未检测出 *qacG*、*qacJ*。而我们的研究中发现了携带 *qacG* 和 *qacJ* 的菌株, 也进一步说明了不同地区流行株的特征不同^[22-23]。质粒介导的主动外排泵机制在金黄色葡萄球菌对消毒剂抗性的产生中起着重要作用。其中, 最主要的外排泵家族为 *qac* 基因家族^[24-27], *qacA/B* 基因在革兰阳性菌中比较普遍, 尤其是葡萄球菌, 是介导消毒剂抗性的最重要基因, 通常位于大质粒上, 其外排泵底物广泛, 包括所有一价有机阳离子(如苯扎溴铵)及二价有机阳离子(如洗必泰), 可表现为对胺类(如苯扎溴铵)、胍类(如氯己定)胺类消毒剂耐药^[28]。而 *qacC/D* 通常位于小质粒上, 其编码的主动外排泵蛋白主要外排季铵盐类消毒剂, 介导对季铵类化合物和溴化乙啶的耐药, 通常位于临床分离葡萄球菌的接合和非接合性质粒上^[29]。*qacG* 和 *qacH* 也常常被发现于革兰阳性菌中, 一般位于小于 3 kb 的质粒上^[30]。学者通过质粒消除试验证实 *qac* 基因家族排泵蛋白不仅对季铵类、双胍类消毒剂耐药, 也对聚维酮碘和戊二醛消毒剂耐药^[31]。这些耐消毒剂基因的出现可能会导致细菌对消毒剂敏感性下降, 抗性增加^[32]。针对携带耐消毒剂基因型与消毒剂抗性表型之间的具体关系未来还需要进一步加大研究。

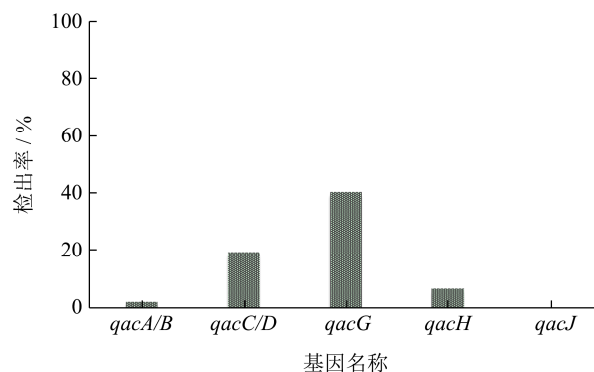


图2 金黄色葡萄球菌猪肉分离菌株耐消毒剂基因检出率

Fig.2 Detection rates of disinfectant-resistant genes in *S. aureus* pork isolates

2.4 不同季节分离菌株耐消毒剂基因比较及基因谱型分析

不同季节猪肉分离菌株的耐消毒剂基因检出结果比较分析见图 3。*qacA/B* 基因在春夏季采集的猪肉样

品分离金黄色葡萄球菌菌株中检出 2 株, 阳性检出率为 1.27%; 秋冬季采集的猪肉样品分离菌株中检出 5 株, 阳性检出率为 3.60%。*qacC/D* 基因在春夏季采集的猪肉样品分离金黄色葡萄球菌菌株中检出 18 株, 阳性检出率为 11.39%; 在秋冬季采集的猪肉样品分离金黄色葡萄球菌菌株中检出 41 株, 阳性检出率为 29.50%。*qacG* 基因在春夏季采集的猪肉样品分离金黄色葡萄球菌菌株中检出 66 株, 阳性检出率为 41.77%; 在秋冬季采集的猪肉样品分离金黄色葡萄球菌菌株中检出 55 株, 阳性检出率为 39.57%。*qacH* 基因在春夏季采集的猪肉样品分离金黄色葡萄球菌菌株中检出 3 株, 阳性检出率为 1.90%; 秋冬季采集的猪肉样品分离金黄色葡萄球菌中 *qacH* 基因检出 17 株, 阳性检出率 12.23%。*qacJ* 基因在春夏季采集的猪肉样品分离金黄色葡萄球菌菌株中未检出, 秋冬季采集的猪肉样品分离金黄色葡萄球菌菌株中 *qacJ* 基因检出 2 株, 阳性检出率为 1.44%。本次研究的检测结果显示, 秋冬季采集样品分离菌株的耐消毒剂基因的阳性检出率明显高于春夏季采集样品分离菌株中耐消毒剂基因的阳性检出率, 经方差分析检出率差异显著 ($p < 0.05$)。分析原因可能与生猪的屠宰及采样环境和季节等有关。

从 PCR 检测结果可以看出, 猪肉中分离得到的 297 株金黄色葡萄球菌菌株中, 有 168 株检出携带耐消毒剂基因, 总检出率为 56.6% (168/297)。由表 2 可见, 携带 1 种耐消毒剂基因型的共有 130 株, 检出率

为 43.77%; 携带 2 种耐消毒剂基因型的共 35 株, 检出率为 11.78%; 携带 3 种基因型的有 3 株, 检出率为 1.01%。携带 1 种耐消毒剂基因型的菌株中, 只携带 *qacA/B* 基因的有 3 株, 只携带 *qacC/D* 基因的有 32 株, 只携带 *qacG* 基因的有 88 株, 只携带 *qacH* 基因的有 5 株, 只携带 *qacJ* 基因的有 2 株。在携带 2 种耐消毒剂基因型的菌株中, 同时携带 *qacA/B* 和 *qacC/D* 基因的菌株有 3 株, 同时携带 *qacA/B* 和 *qacG* 基因的菌株有 1 株, 同时携带 *qacC/D* 和 *qacG* 基因的菌株有 19 株, 同时携带 *qacH* 和 *qacC/D* 基因的菌株有 2 株, 同时携带 *qacG* 和 *qacH* 基因的菌株有 10 株。同时携带 *qacC/D*、*qacG* 和 *qacH* 这 3 种基因型的有 3 株。

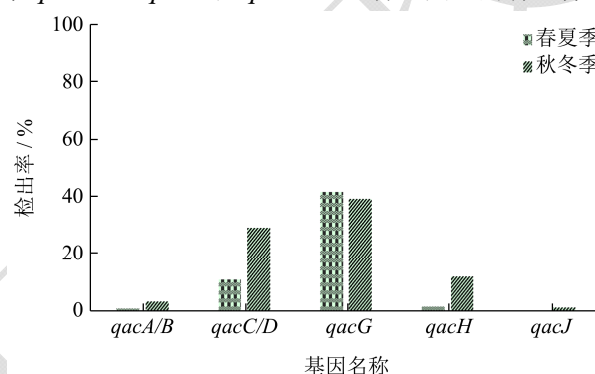


图 3 不同季节猪肉分离菌株的耐消毒剂基因检出结果

Fig.3 The detection rates of disinfectant resistance genes carrying in *S. aureus* pork isolates in different seasons

表 2 金黄色葡萄球菌猪肉分离菌株耐消毒剂基因分布及类型

Table 2 The distribution of disinfectant-resistant genes in *S. aureus* pork isolates

携带耐消毒剂基因数量	耐消毒剂基因谱型	检出菌株数量/株	检出率/%
1	<i>qacA/B</i>	3	
	<i>qacC/D</i>	32	
	<i>qacG</i>	88	43.77
	<i>qacH</i>	5	
	<i>qacJ</i>	2	
合计		130	
2	<i>qacA/B+qacC/D</i>	3	
	<i>qacA/B+qacG</i>	1	
	<i>qacC/D+qacG</i>	19	11.78
	<i>qacC/D+qacH</i>	2	
	<i>qacG+qacH</i>	10	
合计		35	
3	<i>qacC/D+qacG+qacH</i>	3	1.01
合计		3	

3 结论

本研究从 576 份猪肉样品中分离得到 297 株金黄色葡萄球菌,总分离率为 51.56%;其中,春夏季样品 374 份,分离出 158 株(59.40%);秋冬季样品 202 份,分离出 139 株(68.81%)。苯扎溴铵对分离菌株的 MIC 在 0.00125~0.01 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之间。297 株分离菌株中,168 株检出携带耐消毒剂基因,总检出率为 56.6%;*qacA/B*、*qacC/D*、*qacG*、*qacH*、*qacJ* 的检出率分别为 2.36%、19.86%、40.74%、6.73%、0.67%。从本研究结果可以看出四川地区市售猪肉中金黄色葡萄球菌分离率较高,耐消毒剂基因的携带也比较普遍,建议以后应加强菌株携带耐消毒剂基因的检测。猪肉中分离的金黄色葡萄球菌对季铵盐类消毒剂敏感,商用消毒剂使用浓度范围能有效抑制金黄色葡萄球菌生长,本研究为市售猪肉金黄色葡萄球菌的防控及消除提供参考。

参考文献

- [1] 赵富玺,姜国枢.医学微生物学[M].北京:人民军医出版社,1999:16-39
ZHAO Fu-xi, JIANG Guo-shu. Medical Microbiology [M]. Beijing: People's Military Medical Press, 1999: 16-39
- [2] Noguchi, N. Susceptibilities to Antiseptic agents and distribution of antiseptic-resistance genes *qacA/B* and *smr* of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated in Asia during 1998 and 1999 [J]. Journal of Medical Microbiology, 2005, 54(6): 557-565
- [3] 王伟,李彩霞.浙江、江西地区 MRSA 耐 *mecA*、*qacA/B* 基因检测[J].中华医院感染学杂志,2005,15(9):961-964
WANG Wei, LI Cai-xia. Detection on *mecA* gene and *qacA/B* gene in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from Zhejiang and Jiangxi provinces [J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2005, 15(9): 961-964
- [4] 潘引君,谢玲丽,任志华,等.临床不同来源金黄色葡萄球菌耐消毒剂抗力及相关基因分析[J].中国消毒学杂志,2015, 32(5):448-451
PAN Yin-jun, XIE Ling-li, REN Zhi-hua, et al. Analysis of disinfectant resistance of *Staphylococcus aureus* from different clinical sources and related gene analysis [J]. Chinese Journal of Disinfection, 2015, 32(5): 448-451
- [5] 胡志东,李金,马睿,等.耐甲氧西林金黄色葡萄球菌耐药基因及耐消毒剂基因的研究[J].中华医院感染学杂志,2006, 5:481-484
HU Zhi-dong, LI Jin, MA Rui, et al. Drug-resistant gene and disinfectant-resistant gene for MRSA [J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2006, 5: 481-484
- [6] 石磊,周臣清,闫鹤.广州市售生猪肉中金黄色葡萄球菌检测及其耐药性研究[J].现代食品科技,2014,4:255-259
SHI Lei, ZHOU Chen-qing, YAN He. Isolation and antimicrobial susceptibilities of *Staphylococcus aureus* in commercially available raw pork in Guangzhou [J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 4: 255-259
- [7] GB 4789.10-2010,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]
GB 4789.10-2010, National Standard of Food Safety; Detection of *Staphylococcus aureus* in Food Microbiology Experiment [S]
- [8] 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
- [9] 王琼,唐俊妮,汤承,等.一种利用微波炉加热快速提取细菌 DNA 用于 PCR 扩增的方法[J].西南民族大学学报(自然科学版),2015,41(2):150-155
WANG Qiong, TANG Jun-ni, TANG Cheng, et al. Rapid method with microwave oven heating for bacterial DNA extraction applied to PCR amplification [J]. Journal of Southwest University for Nationalities (Natural Science Edition), 2015, 41(2): 150-155
- [10] Wassenaar TM, Ussery D, Nielsen LN, et al. Review and phylogenetic analysis of *qac* genes that reduce susceptibility to quaternary ammonium compounds in *Staphylococcus* species [J]. European Journal of Microbiology and Immunology, 2015, 5(1): 44-61
- [11] 薛琳,刘彦,王振文,等.市售猪肉的金黄色葡萄球菌污染状况调查及菌株耐药性分析[J].畜牧与兽医,2014,46(11): 82-84
XUE Lin, LIU Yan, WANG Zhen-wen, et al. Investigation on the contamination of *Staphylococcus aureus* in the commercial pork and the analysis of the drug resistance of the strain [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2014, 46(11): 82-84
- [12] 任哲,魏秋华,苏裕心,等.MRSA 对 6 种消毒剂耐药性及相关抗性基因的比较研究[J].中国消毒学杂志,2012,29(3): 173-175
REN Zhe, WEI Qiu-hua, SU Yu-xin, et al. Comparative study

- on resistance to six disinfectants in MRSA and resistance related genes [J]. Chinese Journal of Disinfection, 2012, 29(3): 173-175
- [13] 王华丽,盛家琦,黄文祥.金黄色葡萄球菌耐消毒剂基因 *qacA* 的研究[J].中国抗生素杂志,2007,32(4):229-231
WANG Hua-li, SHENG Jia-qi, HUANG Wen-xiang. Study on the disinfectant-resistant gene *qacA* in *Staphylococcus aureus* [J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2007, 32(4): 229-231
- [14] 纪风兵,熊杰,胡章勇,等.成都地区耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的 *qacA* 基因检测及对常见消毒剂的抗性研究[J].四川医学,2017,4:12-15
JI Feng-bing, XIONG Jie, HU Zhang-yong, et al. Detection of *qacA* gene in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and its resistance to common disinfectants in Chengdu area [J]. Sichuan Medicine, 2017, 4: 12-15
- [15] 沈林海,赵岚,谢利军,等.金黄色葡萄球菌耐药基因与耐消毒剂基因的检测与分析[J].中国消毒学杂志,2016,8:732-734
SHEN Lin-hai, ZHAO Lan, XIE Li-jun, et al. Detection and analysis of antibiotic-resistant genes and disinfectant-resistant genes among *Staphylococcus aureus* [J]. Chinese Journal of Disinfection, 2016, 8: 732-734
- [16] 徐丹,陈玉凤,栾明春,等.临床分离金黄色葡萄球菌耐药性及耐消毒剂基因的检测[J].中国消毒学杂志,2015, 32(5):507-509
XU Dan, CHEN Yu-feng, LUAN Ming-chun, et al. Detection of drug resistance and disinfectant resistance gene of *Staphylococcus aureus* isolated in clinic [J]. Chinese Journal of Disinfection, 2015, 32(5): 507-509
- [17] 冯莉.耐甲氧西林金黄色葡萄球菌耐药基因及耐消毒剂基因研究[J].中华医院感染学杂志,2009,19(3):244-246
FENG Li. Drug-resistant gene and disinfectant-resistant gene in MRSA [J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2009, 19(3): 244-246
- [18] 王笑笑,傅鹰,林军明,等.金黄色葡萄球菌耐药性与消毒剂抗性基因 *qac(A/B)* 的研究[J].浙江预防医学,2015,2: 134-136
WANG Xiao-xiao, FU Ying, LIN Jun-ming, et al. A study on drug resistance and disinfection-resistant gene *qac (A/B)* in *Staphylococcus aureus* [J]. Zhejiang Journal of Preventive Medicine, 2015, 2: 134-136
- [19] 刘庆中,韩立中,孙景勇,等.高水平莫匹罗星耐药 MRSA 消毒剂耐受基因的流行及其对氯己定的敏感性[C]//全国临床微生物与感染免疫学术研讨会,2012:69-69
LIU Qing-zhong, HAN Li-zhong, SUN Jing-yong, et al. Prevalence of high-level mupirocin-resistant MRSA disinfectant tolerance genes and their sensitivity to chlorhexidine [C]// National Symposium on Clinical Microbial and Infectious Immunity, 2012: 69-69
- [20] 张宏梅,刘学禄,李发俊,等.公共消毒环境中金黄色葡萄球菌对季铵盐类消毒剂抗性研究[J].环境与健康杂志,2010,3:224-226
ZHANG Hong-mei, LIU Xue-lu, LI Fa-jun, et al. Study on quaternary ammonium compounds resistance among *Staphylococcus* spp. in disinfected public environment [J]. Journal of Environment and Health, 2010, 3: 224-226
- [21] 叶建中,尉晓,李小四,等.男性泌尿生殖道感染患者分离的金黄色葡萄球菌耐药性及耐消毒剂基因流行特性研究[J].中华男科学杂志,2014,20(7):630-636
YE Jian-zhong, WEI Xiao, LI Xiao-si, et al. Antimicrobial resistance characteristics of and disinfectant-resistant gene distribution in *Staphylococcus aureus* isolates from male urogenital tract infection [J]. National Journal of Andrology, 2014, 20(7): 630-636
- [22] 徐伟红,张骏,刘杰.耐甲氧西林金黄色葡萄球菌耐消毒剂基因的研究[J].中国感染与化疗杂志,2014,5:432-435
XU Wei-hong, ZHANG Jun, LIU Jie. Disinfectant-resistant gene of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. Chinese Journal of Infection and Chemotherapy, 2014, 5: 432-435
- [23] 董霞,李培群,罗东,等.五种常用消毒剂对金黄色葡萄球菌的杀灭效果评价[J].中国感染控制杂志,2017,16(12): 1116-1119
DONG Xia, LI Pei-qun, LUO Dong, et al. Bactericidal efficacy of five kinds disinfectant on *Staphylococcus aureus* [J]. Chinese Journal of Infection Control, 2017, 16(12): 1116-1119
- [24] Smith K, Gemmell C G, Hunter I S. The association between biocide tolerance and the presence or absence of *qac* genes among hospital-acquired and community-acquired MRSA isolates [J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2007, 61(1): 78-84
- [25] Paulsen I T, Brown M H, Littlejohn T G, et al. Multidrug resistance proteins *QacA* and *QacB* from *Staphylococcus aureus*: Membrane topology and identification of residues involved in substrate specificity [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1996, 93(8): 3630-3635
- [26] Brown MH, Skurray RA. Staphylococcal multidrug efflux

- protein *QacA* [J]. Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology, 2001, 3(2): 163-170
- [27] Anthonisen IL, Sunde M, Steinum TM, et al. Organization of the antiseptic resistance gene *qacA* and Tn552-related-lactamase genes in multidrug-resistant *Staphylococcus haemolyticus* strains of animal and human origins [J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2002, 46(11): 3606-3612
- [28] 孙静娜,张征,武艳,等.45株MRSA消毒剂的最小杀菌浓度和耐消毒剂基因的检测[J].河北医科大学学报,2009,30(8): 804-804
SUN Jing-na, ZHANG Zheng, WU Yan, et al. Detection of the MIC to disinfectant-resistant gene in forty-five strains of MRSA [J]. Journal of Hebei Medical University, 2009, 30(8): 804-804
- [29] Heir E, Sundheim G, Holck AL. Resistance to quaternary ammonium compounds in *Staphylococcus* spp. isolated from the food industry and nucleotide sequence of the resistance plasmid pST827 [J]. The Journal of Applied Bacteriology, 1995, 79(2): 149-156
- [30] Russell AD. Plasmids and bacterial resistance to biocides [J]. Journal of Applied Microbiology, 1997, 83(2): 11
- [31] 李双,李武平,闫沛,等.耐甲氧西林金黄色葡萄球菌对消毒剂抗性研究进展[J].中国消毒学杂志,2012,29(3):223-226
LI Shuang, LI Wu-ping, YAN Pei, et al. Research progress on resistance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to disinfectants [J]. Chinese Journal of Disinfection, 2012, 29(3): 223-226
- [32] 卢中一,陈勇,陈伟,等.金黄色葡萄球菌对消毒剂的抗性及其流行病学研究进展[J].中国感染控制杂志,2014,7:442-446
LU Zhong-yi, CHEN Yong, CHEN Wei, et al. Research advances in resistance of *Staphylococcus aureus* to disinfectant and its epidemiology [J]. Chinese Journal of Infection Control, 2014, 7: 442-446

(上接第 81 页)

- [34] Raederstorff D G, Schlachter M F, Elste V, et al. Effect of EGCG on lipid absorption and plasma lipid levels in rats [J]. Journal of Nutritional Biochemistry, 2003, 14(6): 326-332
- [35] Gallaher C M, Munion J, Hesslink Jr R, et al. Cholesterol reduction by glucomannan and chitosan is mediated by changes in cholesterol absorption and bile acid and fat excretion in rats [J]. The Journal of Nutrition, 2000, 130(11): 2753-2759
- [36] 周小理,钱韻芳,周一鸣,等.不同处理工艺对苦荞麸皮膳食纤维体外抗氧化活性的影响[J].食品科学,2011,32(8):1-4
ZHOU Xiao-li, QIAN Yun-fang, ZHOU Yi-ming, et al. Effect of different processing methods on *in vitro* antioxidant properties of dietary fiber from tartary buckwheat bran [J]. Food Science, 2011, 32(8): 1-4