

论著

两起疑似同源的金黄色葡萄球菌食物中毒事件溯源及病原学分析

斯佳丽¹, 龚红瑾¹, 王璇¹, 窦雪如², 何敏¹, 周贵兰¹, 雍玮¹(1. 南京市疾病预防控制中心, 江苏 南京 210000; 2. 南京市栖霞区疾病预防控制中心,
江苏 南京 210000)

摘要:目的 对两起疑似同源的金黄色葡萄球菌食物中毒事件进行溯源和病原学分析。方法 使用多重食源性致病菌 PCR 试剂盒对样本进行病原菌初筛。依据 GB 4789.10—2016 并结合 MALDI-TOF MS 对病原菌进行分离培养鉴定。分离株进行全基因组测序和生物信息学分析。微量肉汤稀释法测定菌株的耐药性, ELISA 检测肠毒素。结果 两起事件具有共同食品暴露史, 事件一中分离出 12 株 ST2315-t11687 型金黄色葡萄球菌, 事件二中分离出 2 株 ST2315-t11687 和 1 株 ST398-t2346 型金黄色葡萄球菌。cgSNP 分析结果显示, 两起事件的 ST2315-t11687 型菌株高度同源(SNP 差异数≤8), ST398-t2346 型菌株遗传距离较远。ST2315-t11687 型菌株均携带肠毒素基因 *sea*、*sec*、*sell*, ELISA 显示部分菌株 SEA/SEC/SEE 阳性($n=9$), 少数菌株 SEA 阳性($n=2$)或阴性($n=3$); ST398-t2346 金黄色葡萄球菌不携带肠毒素基因且肠毒素表型阴性。ST2315-t11687 型金黄色葡萄球菌耐药基因谱一致, 对青霉素和左氧氟沙星耐药; ST398-t2346 型金黄色葡萄球菌携带 *mecA* 基因, 对青霉素、苯唑西林、头孢西丁耐药, 证实为耐甲氧西林金黄色葡萄球菌菌株。ST2315-t11687 型菌株携带先天免疫逃避基因簇 *sea-sak-chp-scn*, 且具有溶血素基因 *hly/hla*、*hlyB*、*hlyD*、*hlyA*、*hlyG*、*hlyC*; ST398-t2346 型菌株缺失 *sea*, 但携带溶血素及其他免疫调节相关毒力因子。结论 该两起食物中毒事件均由产肠毒素金黄色葡萄球菌引发, ST2315-t11687 克隆株在两事件间存在传播关联。该流行株具有强致病性, 提示需加强食源性疾病监测中高致病性金黄色葡萄球菌的监测。

关键词:金黄色葡萄球菌; 食物中毒; 全基因组测序; cgSNP; 肠毒素

中图分类号: R155 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2025)06-0505-08

DOI: 10.13590/j.cjfh.2025.06.001

Molecular tracing and pathogenic analysis of two suspected homologous *Staphylococcus aureus* food poisoning incidentsSI Jiali¹, GONG Hongjin¹, WANG Xuan¹, DOU Xueru², HE Min¹, ZHOU Guilan¹, YONG Wei¹

(1. Nanjing Municipal Center for Disease Control and Prevention, Jiangsu Nanjing 210000, China;

2. Nanjing Qixia District Center for Disease Control and Prevention, Jiangsu Nanjing 210000, China)

Abstract: Objective Traceability and pathogenetic analysis of two suspected homologous (*S. aureus*) food poisoning cases. **Methods** We conducted initial screening of pathogens in collected samples of suspected contaminated food, anal swabs from cases, and environmental swabs using a multiplex PCR kit for foodborne pathogens. The isolation, culture, and identification of pathogenic bacteria were performed according to GB 4789.10—2016 in combination with MALDI-TOF MS. Whole genome sequencing and bioinformatics analysis were performed on the isolates. Broth microdilution method for determining resistance to 15 antimicrobial agents, and ELISA for detecting enterotoxins. **Results** Both incidents shared a common food exposure history. Incident 1 yielded 12 ST2315-t11687 *S. aureus* isolates, while Incident 2 yielded 2 ST2315-t11687 and 1 ST398-t2346 isolates. cgSNP analysis showed high homology among ST2315-t11687 isolates from both incidents (SNP differences≤8), while ST398-t2346 was genetically distant. The ST2315-t11687 strain consistently carries enterotoxin genes *sea*, *sec*, and *sell*. ELISA results showed that some strains were positive for SEA/SEC/SEE ($n=9$), a few were positive only for SEA ($n=2$), or negative ($n=3$). The ST398-t2346 *S. aureus* strains were negative for both enterotoxin genes and enterotoxin production phenotypically. The ST2315-t11687 strains displayed consistent antimicrobial resistance profiles, being resistant to both penicillin and levofloxacin. Importantly, the ST398-t2346 strains were

收稿日期: 2025-03-06

基金项目: 南京市卫生科技发展专项资金项目(YKK23196); 南京市公共卫生检验检测重点实验室

作者简介: 斯佳丽 女 技师 研究方向为微生物检验 E-mail: SJL1889570@163.com

通信作者: 雍玮 女 主任技师 研究方向为微生物检验 E-mail: yw5977@163.com

confirmed as methicillin-resistant *S. aureus* through detection of the *mecA* gene and demonstrated resistance to penicillin, oxacillin, and cefoxitin. Virulence gene analysis showed ST2315-t11687 carried the immune evasion cluster (*sea-sak-chp-sc*) and hemolysin genes (*hly/hla*, *hly*, *hld*, *hlgA*, *hlgB*, *hlgC*). ST398-t2346 lacked *sea* but possessed hemolysins and other immune-modulating virulence factors. **Conclusion** Both food poisoning incidents were caused by enterotoxigenic *S. aureus*, with transmission linkage of ST2315-t11687 clone between incidents. The prevalent strain exhibits strong pathogenicity, highlighting the need to enhance surveillance of highly pathogenic *S. aureus* in foodborne disease monitoring.

Key words: *Staphylococcus aureus*; food poisoning; whole genome sequencing; cgSNP; enterotoxin

金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*,以下简称“金葡菌”)是引起食物中毒最常见的致病菌之一,也是导致食源性胃肠炎发生的重要致病因子。根据国家食源性疾病预防监测结果显示,2023年中国大陆发生生物性食源性暴发事件724起,其中由金葡菌及其毒素引起的暴发事件85起,仅次于沙门菌和副溶血性弧菌^[1]。金葡菌在环境中广泛存在,极易污染食品和环境,其分泌的金葡菌肠毒素(*Staphylococcus aureus* enterotoxins, SEs)是导致食物中毒的最主要原因^[2]。常见SEs型别有A、B、C、D和E型,分别由*sea*、*seb*、*sec*、*sed*、*see*基因编码,其中以SEA最为常见,约占食物中毒事件的70%,SEB次之^[3]。

金葡菌的检测与溯源对遏制食物中毒事件扩散至关重要。当前,国内外金葡菌检测方法主要包括传统培养法、PCR、免疫学方法等。传统培养法如GB 4789.10—2016虽为经典但耗时较长,难以满足突发公共卫生事件的应急响应需求。PCR技术具有快速、灵敏度高等优势,但无法判断靶基因来自活菌、死菌或游离DNA片段,可能出现假阳性结果。免疫学方法如酶联免疫吸附试验(Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)常用于肠毒素检测。常用的分子溯源技术有脉冲场凝胶电泳(Pulsed-field gel electrophoresis, PFGE)、多位点序列分型(Multilocus sequence typing, MLST)、全基因组测序(Whole genome sequencing, WGS)等。PFGE通过限制性酶切与脉冲电场分离大片段DNA,曾被视为细菌分型的“金标准”,具有较高的重复性与分辨能力^[4];MLST分型标准化程度高,便于全球数据共享^[5];WGS可通过核心基因组SNP(Core genome single nucleotide polymorphism, cgSNP)、核心基因组MLST(Core genome multilocus sequence typing, cgMLST)及全基因组MLST(Whole genome multilocus sequence typing, wgMLST),精确区分菌株间核苷酸的细微差异,同时可获得耐药基因、毒力因子、移动遗传元件、ST型及*spa*分型等信息,实现“一测多析”^[6-7],随着测序成本下降,WGS已成为追踪细菌感染性疾病传播的“金标准”。

本研究结合传统培养法和新型检测技术,使用

“多重PCR初筛-分离培养-质谱快速鉴定”技术路线对两起疑似同源的食物中毒事件进行病原菌检测,同时,WGS揭示两起食物中毒事件金葡菌分离株的遗传学特征和进化关系。该研究不仅显著提升了检测效率,缩短检测时限,也为食源性疾病预防应急处置中的病原检测与分子溯源提供了参考。

1 材料与方法

1.1 样本来源

事件一:发生在地点A,依据《食品安全事故流行病学调查技术指南》开展流行病学调查、食品卫生学调查和样品采集工作,共采集样品42份,其中凉拌擀面皮留样及制作原料17份,病例肛拭子13份,店内工作人员手表面、肛拭子各3份,环境拭子样本6份。

事件二:发生在地点B,流行病学调查、食品卫生学调查和样品采集工作同事件一,共采集样品22份,包括凉拌擀面皮1份,病例肛拭子7份、呕吐物2份,店内工作人员手表面、肛拭子各3份,环境拭子样本6份。

1.2 主要仪器

全自动核酸提取仪(江苏硕世生物科技股份有限公司,SSNP-3000A),MALDI-TOF MS(郑州安图生物股份有限公司,MS1000),实时荧光定量PCR仪(美国ThermoFisher,QuantStudio 5),微生物鉴定及药敏分析系统(美国ThermoFisher,Aris 2X),酶标仪(瑞士TECAN,Infinite M Nano),测序仪(深圳华大智造科技股份有限公司,DNBSEQ-T7)。

1.3 主要试剂

14种食源性致病菌核酸检测试剂盒(北京美正生物科技有限公司,DZ10012-50 50T),肠毒素产毒培养基(北京陆桥技术有限责任公司,CM252),7.5%氯化钠肉汤(北京陆桥技术有限责任公司,CM306)、脑心浸出液肉汤(广东环凯微生物科技有限公司,024053)、冻干兔血浆(北京陆桥技术有限责任公司,CM304),金黄色葡萄球菌肠毒素总量检测试剂盒及分型检测试剂盒(德国R-Biopharm AG,R4105、R4101),FastPure Blood/Cell/Tissue/Bacteria DNA

Isolation Mini Kit(南京诺唯赞生物科技股份有限公司, DC112-01), Rapid Plus DNA Lib Prep Kit for Illumina(美国 ABclonal, RK20208), 革兰氏阳性定制药敏板(美国 ThermoFisher, CHN5GOVF)。

1.4 实验方法

1.4.1 分离培养与鉴定

取 25 g 食品加入 225 mL BHI 肉汤中,均质 2 min, 36 °C 增菌 4 h; 呕吐物取 1 mL 接种 10 mL BHI 肉汤,拭子样本直接将采样后的拭子置于 10 mL BHI 肉汤,充分混匀,36 °C 增菌 4 h。取上述增菌液各 200 μ L 于全自动核酸提取仪进行核酸提取,提取的核酸立即使用 14 种食源性致病菌核酸检测试剂盒进行病原菌初筛。金葡菌 PCR 初筛阳性,依据 GB 4789.10—2016《食品安全国家标准食品微生物学检验金黄色葡萄球菌检验》,对所有采集的样品进行金葡菌分离培养,可疑菌株使用 MALDI-TOF MS 进行初步鉴定,最后通过标准生化鉴定方法进行确证性鉴定。

1.4.2 肠毒素检测与分型

将金葡菌分离株接种肠毒素产毒培养基,37 °C 培养 24 h。第 2 天将 2 mL 菌液 12 000 g 离心 5 min,收集上清液。上清液经无菌过滤后,每孔取 100 μ L,按照金黄色葡萄球菌肠毒素检测试剂盒的说明书进行检测和分型,450/620 nm 波长处测量吸光度值。

1.4.3 药敏试验

采用微量肉汤稀释法,根据美国临床和实验室标准协会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)推荐的葡萄球菌属抗生素,选取 15 种抗生素进行药敏试验,分别为苯唑西林(Oxacillin, OXA)、红霉素(Erythromycin, ERY)、克林霉素(Clindamycin, CLI)、左氧氟沙星(Levofloxacin, LEV)、四环素(Tetracycline, TET)、庆大霉素(Gentamicin, GEN)、万古霉素(Vancomycin, VAN)、替考拉宁(Teicoplanin, TEC)、利福平(Rifampicin, RIF)、复方新诺明(Trimethoprim-Sulfamethoxazole, SXT)、达托霉素(Daptomycin, DAP)、青霉素(Penicillin, PEN)、利奈唑胺(Linezolid, LZD)、头孢西丁(Cefoxitin, FOX)、呋喃妥因(Nitrofurantoin, NIT)。具体试验步骤如下:将待测菌接种营养琼脂平板,37 °C 培养 18 h,使用无菌生理盐水制备 0.5 麦氏单位菌悬液,取 10 μ L 菌悬液加入 11 mL CAMHT 肉汤中充分混匀,使用全自动加样仪按照 50 μ L/孔加至药敏板,37 °C 孵育 24 h,根据 CLSI M100 ED34 判定结果。大肠埃希菌 ATCC 25922 作为质控标准菌株。

1.4.4 全基因组测序

根据核酸提取试剂盒说明书提取金葡菌全基

因组,使用 NEBNext® Ultra™ DNA Library Prep Kit for Illumina 进行文库制备,每个样品使用的 DNA 总量为 1 μ g。分别使用 Qubit 2.0、Agilent 2100、Q-PCR 对文库进行初步定量、插入片段检测、准确定量。库检合格的文库使用平台 BGI T7 PE150 进行测序。下机数据过滤掉低质量碱基(质量值 ≤ 20)和过多 N 碱基(默认值为 10%)的 reads,同时剔除与 Adapter 重叠超过 15 bp 且错配数少于 3 的 reads,获得高质量 Clean Data 用于组装拼接和分析。

1.4.5 生物信息学分析

使用 CLC Genomics Workbench 进行无参拼接。使用 abricate(<https://github.com/tseemann/abricate>)预测耐药基因和毒力基因,MLST(<https://github.com/tseemann/mlst>)进行 ST 分型,设定相似度和覆盖率阈值为 90%。Center for Genomic Epidemiology(<https://cge.food.dtu.dk/services/spaTyper/>)进行 spa 分型。以 LA-MRSA(CP013218.1)作为参考基因组,prokka(V 1.14.6)进行全基因组注释^[8],Roary(V 3.13.0)进行泛基因组分析,并提取所有菌株的核心基因组^[9],Snippy(<https://github.com/tseemann/snippy>)识别菌株基因组单核苷酸多态性(Single-nucleotide polymorphisms, SNPs)位点,分析时使用软件默认参数。利用 FastTree(V 2.1.11)软件,采用 GTR+T 模型构建最大似然树,bootstrap 值设置为 1 000^[10]。snp-dists(V 0.8.2)计算 SNP 差异数^[11],iTOL(<https://itol.embl.de/>)对分析结果可视化。

2 结果

2.1 流行病学调查结果

事件一:5月26日凌晨,某医院收治 17 例呕吐、腹泻患者。经调查,均于 25 日食用某店的凉拌擀面皮,无其他共同饮食史。店方负责人表示凉拌擀面皮由面皮和配料(烫豆芽、鱼豆腐、烤肠等)与调料凉拌而成,面皮由某经营部配送,配料自行采购。查阅附近医疗机构就诊记录,共搜索到 19 例病例。首发病例于 5 月 25 日 14:00 出现呕吐、腹泻症状,末例病例于 26 日 00:40 出现症状。暴露时间为 5 月 25 日 12 时至 21 时 30 分,最短潜伏期 2 h,最长潜伏期 4.5 h,平均潜伏期 3 h。症状分布情况见表 1。

事件二:5月27日凌晨,某医院收治 11 名呕吐、腹泻患者,均于 5 月 26 日食用某店凉拌擀面皮。店方负责人表示面皮是由某经营部配送,与事件一属于同一来源,配料同样自行采购。查阅附近医疗机构就诊记录,共搜索到 13 例病例。首发病例于 5 月 26 日 22:00 出现呕吐、腹泻症状,末例病例于 27 日 04:30 出现呕吐、腹泻症状。暴露时间

表1 两起事件病例症状分布
Table 1 Symptom distribution among cases in the two incidents

症状	事件一		事件二	
	病例人数(n=19)	比例/%	病例人数(n=13)	比例/%
呕吐	19	100.00	13	100.00
恶心	16	84.21	9	69.23
腹泻	16	84.21	11	84.62
腹痛	12	63.16	5	38.46
发热	1	5.26	0	0

为 5 月 26 日 18 时 30 分至 23 时 30 分,最短潜伏期 1.5 h,最长潜伏期 6.5 h,平均潜伏期 3 h。症状分布情况见表 1。

2.2 样本检测与分离培养结果

事件一 42 份样品中,2 份可疑食品和 6 份病例

肛拭子金葡菌核酸阳性。对 42 份样品进一步分离培养,分别在 12 份样品中分离出 12 株可疑菌株,MALDI-TOF MS 初步鉴定均为金葡菌,依据 GB 4789.10—2016 生化鉴定结果与 MALDI-TOF MS 一致,见表 2。12 株金葡菌中 9 株来源于病例,菌株编号为 JP1-JP9,3 株来源于食品,分别为烤肠、5 月 25 日制作面皮(表中简写为 5.25 面皮)、5 月 26 日制作面皮(表中简写为 5.26 面皮),菌株编号为 JP10-JP12,见表 3。其他样本未检出金葡菌。事件二 22 份样品中 5 份样品金葡菌核酸阳性,分别来源于可疑食品(凉拌擀面皮)、病例肛拭子、呕吐物、店内环境,见表 2。所有样品进一步分离培养鉴定,过程同事件一,最终在 3 份样品中鉴定出 3 株金葡菌,均来自病例,菌株编号为 JP13-JP15,见表 3。

表2 两起食物中毒事件核酸检测和分离培养结果
Table 2 Nucleic acid detection and isolation culture results of two food poisoning incidents

样本类型	事件一			事件二		
	样本数	核酸检测金葡菌阳性数	分离培养金葡菌阳性数	样本数	核酸检测金葡菌阳性数	分离培养金葡菌阳性数
可疑食品	17	2	3	1	1	0
病例肛拭子	13	6	9	7	1	3
病例呕吐物	0	0	0	2	1	0
工作人员手表面	3	0	0	3	0	0
工作人员肛拭子	3	0	0	3	0	0
店内环境	6	0	0	6	2	0
总数	42	8	12	22	5	3

表3 15株金葡菌病原学特征一览表
Table 3 Overview of etiological characteristics of 15 *S. aureus* isolates

事件	菌株编号	菌株来源	MLST 型	<i>spa</i> 型	肠毒素	肠毒素基因	耐药谱
事件一	JP1	病例	ST2315	t11687	—	<i>sea, sec</i>	LEV-PEN
	JP2	病例	ST2315	t11687	—	<i>sea, sec</i>	LEV-PEN
	JP3	病例	ST2315	t11687	A	<i>sea, sec</i>	LEV-PEN
	JP4	病例	ST2315	t11687	ACE	<i>sea, sec</i>	LEV-PEN
	JP5	病例	ST2315	t11687	ACE	<i>sea, sec</i>	LEV-PEN
	JP6	病例	ST2315	t11687	ACE	<i>sea, sec</i>	LEV-PEN
	JP7	病例	ST2315	t11687	ACE	<i>sea, sec</i>	LEV-PEN
	JP8	病例	ST2315	t11687	ACE	<i>sea, sec</i>	LEV-PEN
	JP9	病例	ST2315	t11687	ACE	<i>sea, sec</i>	LEV-PEN
	JP10	烤肠	ST2315	t11687	A	<i>sea, sec</i>	LEV-PEN
	JP11	5.25 面皮	ST2315	t11687	—	<i>sea, sec</i>	LEV-PEN
	JP12	5.26 面皮	ST2315	t11687	ACE	<i>sea, sec</i>	LEV-PEN
事件二	JP13	病例	ST2315	t11687	ACE	<i>sea, sec</i>	LEV-PEN
	JP14	病例	ST2315	t11687	ACE	<i>sea, sec</i>	LEV-PEN
	JP15	病例	ST398	t2346	—	—	OXA-FOX-PEN

注:—表示未检出;LEV 为左氧氟沙星;PEN 为青霉素;OXA 为苯唑西林;FOX 为头孢西丁

2.3 MLST 分型、*spa* 分型、肠毒素分型、肠毒素基因、药敏试验

如表 3 所示,JP1-JP14 MLST 型为 ST2315,JP15 为 ST398,表明 JP1-JP14 具有高度遗传同源性。*spa*

分型进一步证实了该结果,JP1-JP14 为 t11687 型,JP15 为 t2346 型。ELISA 结果显示,JP4-JP9、JP12-JP14 SEA/SEC/SEE 阳性,JP3、JP10 SEA 阳性,JP1、JP2、JP11 和 JP15 肠毒素表型阴性。JP1-JP14 携带

肠毒素基因 *sea*、*sec*,JP15 不携带该基因。JP1-JP14 耐药谱一致,对青霉素和左氧氟沙星耐药。JP15 对青霉素、苯唑西林、头孢西丁耐药,耐药谱见表 3。

2.4 耐药基因和毒力基因

与 abricate 中 CARD 数据库比对显示,JP1-JP14 耐药基因谱一致,携带基因 *blaZ*、*ANT(4')-Ib*、*arlR*、*arlS*、*norA*、*mgrA*、*mepA*、*mepR*、*tet(38)*、*FosB*、*LmrS*。JP15 缺失 *ANT(4')-Ib* 和 *FosB*,但携带 *mecA*,结合其对苯唑西林和头孢西丁耐药,证实其为耐甲氧西林金葡菌(Methicillin-resistance *Staphylococcus aureus*,MRSA)(图 1)。与 VFDB 数据库对比发现,JP1-JP14 携带 60~64 个毒力基因,JP15 携带 54 个毒力基因,主要的毒力基因见图 1。15 株金葡菌均携带溶血素基因 *hly/hla*、*hlyB*、*hlyD*、*hlyA*、*hlyG*、*hlyC* 和先天免疫逃避簇(Immune evasion cluster,IEC)基因。

2.5 cgSNP分析结果

以 LA-MRSA(CP013218.1)为参考菌株,基于

cgSNP 构建系统发育树。如图 2 显示,15 株金黄色葡萄球菌分离株主要分化为两个分支。分支 1 包含 JP1-JP14,其 SNP 差异数范围为 0~8,表明这些菌株具有高度同源性。分支 2 仅包含 JP15 一株菌株,其与分支 1 的 SNP 差异数为 27 311~29 790,显示出显著的遗传分化。这一结果提示,JP15 与分支 1 的菌株在遗传背景上存在显著差异。

3 讨论

事件一中,从病例和可疑食品(面皮和烤肠)中分离出 12 株 ST2315-t11687 型金葡菌,所有菌株均携带 *sea*、*sec* 基因,肠毒素表型阳性,根据 WS/T 80—1996 中葡萄球菌肠毒素食物中毒的病原学诊断标准^[12],该事件可判定为金葡菌及其肠毒素导致的食物中毒。事件二病例样本中分离出 2 株 ST2315-t11687 型和 1 株 ST398-t2346 型菌株,环境和食品样本虽 PCR 阳性,但未能分离出金葡菌。环境及食品样本中金葡菌核酸 Ct 值较高(Ct 值>34),提示样

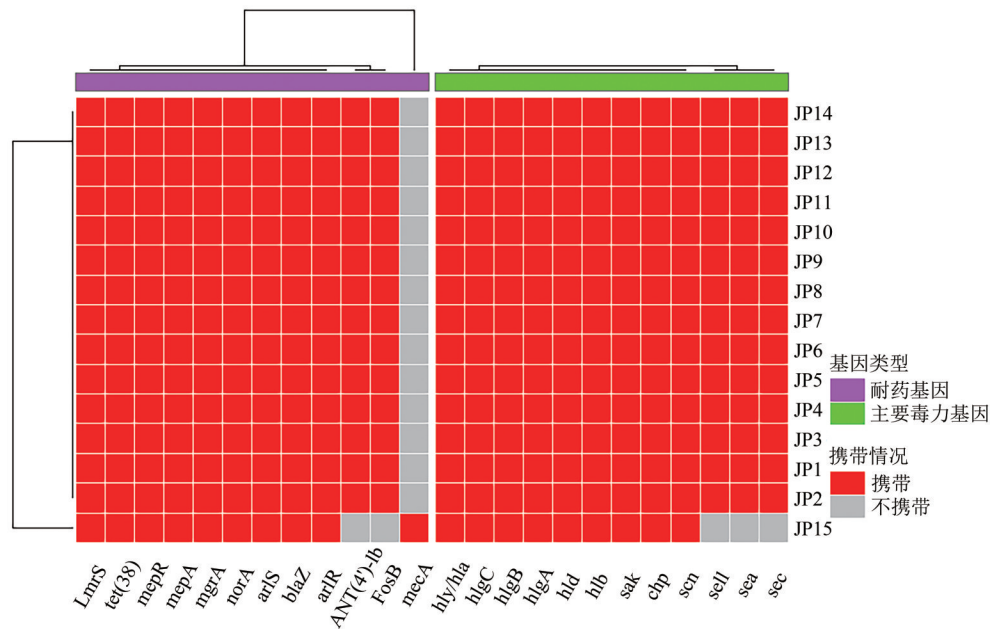


图 1 15 株金葡菌耐药基因和主要毒力基因携带情况

Figure 1 Distribution of antimicrobial resistance genes and major virulence genes in 15 *S. aureus* isolates

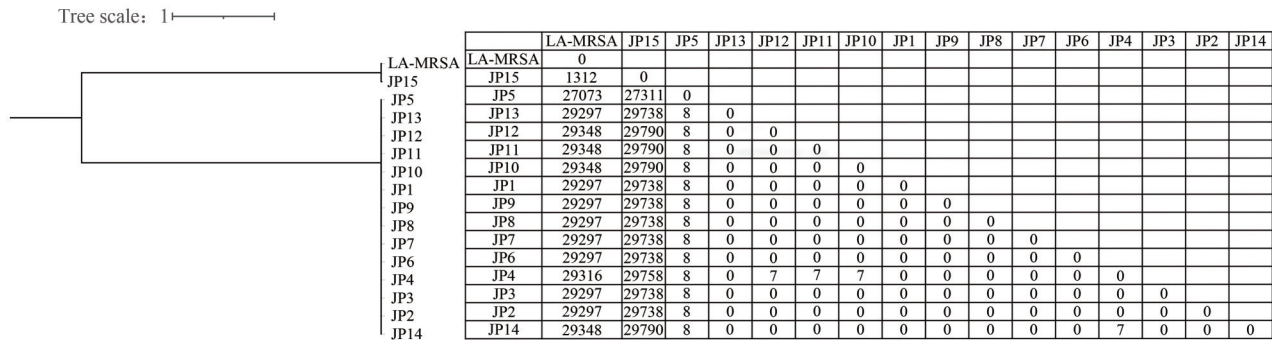


图 2 基于 cgSNP 构建系统发育树和 SNP 差异矩阵

Figure 2 Phylogenetic tree constructed based on cgSNP and SNP difference matrix

本中细菌载量偏低,可能无法通过培养法获取菌株,也不能排除是菌体死亡后残留DNA导致的PCR假阳性。由于采样的滞后性,事件二未能采集到引发食物中毒的同批次面皮,这可能是食品样本未分离出菌株的原因。问题面皮由经营部统一配送,事发店内非第一污染现场,因此工作人员及环境样本中也未检出相关菌株。经流行病学调查显示,两起事件具有相同食品暴露史,即食用了相同经营部生产的面皮,且进一步的cgSNP分析显示两起事件中分离的14株ST2315-t11687型金葡菌SNP差异数 ≤ 8 ,表明这些菌株来源于同一克隆传播,再次提示这两起食物中毒事件具有高度相同的污染源。虽然事件一在另一食品样本配菜烤肠中也检出金葡菌,但配菜由该店内自行采购,推测是被面皮污染所致。综上,推测这两起事件皆因食用同一经营部生产配送的被产肠毒素金葡菌污染面皮而引起的。此外,事件二某病例中检出的ST398-t2346型金葡菌,与其他金葡菌分离株遗传距离较远,我们考虑该菌株与本次食物中毒没有直接关联,可能来自事件二店内不同来源金葡菌污染,如食品加工过程中的交叉污染、环境中金葡菌的长期定植,或是无症状携带者污染,进而在食品加工与处理环节中引发了间接污染。ST398型菌是全球家畜养殖中最主要的ST型之一,在社区和医院环境中不断传播,正朝着增强毒力和提高抗菌药物耐药性的方向进化^[13],近年来在食品安全监测中的检出率也逐渐上升^[14]。后续我们将持续关注该ST型菌株的流行病学背景,以期揭示其传播路径、污染源及潜在影响因素。

我国由金葡菌引发的食物中毒事件中,ST6、ST7和ST398等占主要地位^[15-18]。ST6型菌株不仅广泛存在于食品中,还在健康人群的鼻咽拭子以及机场、火车站等公共场所的环境样本中频繁检出,具有较强的社区传播能力和环境适应性^[19-20]。ST7型菌株主要与零售肉制品及禽类屠宰环节相关,提示其在肉类加工链中的潜在传播风险^[15]。ST398型菌株最初被认为主要定植于家畜,且仅感染与家畜密切接触的人群,但近年来在食品安全监测中的检出率逐渐上升,表明其传播范围可能正在扩大^[14,21]。本研究首次揭示了由ST2315-t11687型菌株引起的食物中毒案例,为该菌的流行病学研究提供了新的视角。

目前鉴定的金葡肠毒素有20余种,包括肠毒素和类肠毒素^[22]。本研究结合ELISA和WGS鉴定金葡菌肠毒素,发现两者结果不一致,ST2315-t11687型金葡菌携带*sea*、*sec*基因,但在JP1、JP2、JP11中并未检测到肠毒素。TSENG和STEWART^[23]

发现肠毒素基因的表达与金葡菌的生长阶段密切相关,对数生长期后期和平衡期前期细菌浓度升高,基因表达量提升。此外,温度、pH值、营养成分等环境因素均能影响肠毒素的合成^[24-25],当实验室环境条件不适宜,可能表现为基因沉默或表达量低而检测不出。部分金葡菌虽未携带肠毒素基因,但表型阳性,类似现象也有文献报道,推测可能是ELISA方法在检测过程中因酶类或蛋白质干扰导致的假阳性结果或交叉反应所致^[26]。ST2315-t11687型金葡菌含有类肠毒素基因*sell*,其被证实在灵长类动物模型中无催吐作用^[22]。上述发现表明,ELISA方法虽然具有较高特异性,但易受到抗体质量、操作过程等因素影响,导致假阳性或假阴性结果。

IEC是位于金葡菌原噬菌体 ϕ Sa3int上的一组重要基因簇,其编码多种与免疫逃逸相关的毒力因子,包括葡萄球菌肠毒素A(*sea*)、葡萄激酶(*sak*)、金黄色葡萄球菌趋化抑制蛋白(*chp*)以及葡萄球菌补体抑制剂(*scn*)等^[27]。IEC能够显著提升金葡菌在宿主体内的定植、传播及长期存留的能力^[15]。根据VAN WAMEL等^[28]对IEC的分类,本研究中ST2315-t11687型金葡菌携带基因*sea-sak-chp-scn*,属于最强的毒力A型;ST398-t2346型菌株携带*sak-chp-scn*,属于B型。本研究中所有菌株均有溶血素基因(*hly/hla/hlb/hld/hlgA/hlgB/hlgC*),其编码的溶血素可通过破坏宿主细胞膜(特别是红细胞),在致病过程中发挥关键作用。ST2315-t11687型金葡菌耐药谱及耐药基因谱高度一致,均对青霉素和左氧氟沙星耐药,并携带多种耐药基因,包括 β -内酰胺酶基因(*blaZ*)、氨基糖苷类修饰酶基因(*ANT(4')-Ib*)、四环素耐药基因[*tet(38)*]及多种外排泵相关基因(*norA*、*mepA*等)。这些基因的共存可能通过多重机制介导耐药性,尤其是外排泵系统的过度表达可能显著增强菌株对喹诺酮类药物的耐药性。ST398-t2346型菌株对苯唑西林和头孢西林耐药,且携带*mecA*基因,证实为MRSA菌株,须引起高度重视。

WGS在金葡菌及SEs引发的食源性暴发中具有显著优势。相较于传统分型方法,全基因组测序技术分辨率更高,能够分析菌株间的同源性,明确污染来源,为流行病学调查提供实验室证据。同时可快速检测毒力基因(如肠毒素SEA-SEE、TSST-1等)和耐药基因携带情况,揭示暴发菌株的致病与耐药特征,为临床治疗提供参考。

参考文献

- [1] 范鹏辉,李红秋,褚遵华,等. 2023年中国大陆食源性疾病

- 暴发监测结果分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2024, 36(10): 1199-1208.
- FAN P H, LI H Q, CHU Z H, et al. Analysis of foodborne diseases outbreak surveillance in China's Mainland, 2023[J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2024, 36(10): 1199-1208.
- [2] 安刚. 食品中金黄色葡萄球菌肠毒素研究进展[J]. 食品安全导刊, 2024, 18(33): 141-143.
- AN G. Research progress on staphylococcal enterotoxins in food [J]. China Food Safety Magazine, 2024, 18(33): 141-143.
- [3] LIM K L, KHOR W C, ONG K H, et al. Occurrence and patterns of enterotoxin genes, spa types and antimicrobial resistance patterns in *Staphylococcus aureus* in food and food contact surfaces in Singapore[J]. Microorganisms, 2023, 11(7): 1785.
- [4] HE Y, XIE Y, REED S. Pulsed-field gel electrophoresis typing of *Staphylococcus aureus* isolates [M]//Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) protocols. Totowa, NJ: Humana Press, 2013: 103-111.
- [5] LIU Y, JI Y. Multilocus Sequence Typing of *Staphylococcus aureus* [M]//Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) protocols. New York, NY: Humana Press, 2020: 95-102.
- [6] 贾慧琼, 阮陟. 全基因组测序在病原菌分型与溯源中的应用研究进展[J]. 微生物学报, 2022, 62(3): 949-967.
- JIA H Q, RUAN Z. Advances on whole genome sequencing-powered typing and source tracking of bacterial pathogens [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2022, 62(3): 949-967.
- [7] 李湛, 黄振洲, 李首飞, 等. 北京某区一起疑似金黄色葡萄球菌肠毒素中毒分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2024, 36(8): 910-915.
- LI Z, HUANG Z Z, LI S F, et al. Analysis of a suspected *Staphylococcus aureus* enterotoxin poisoning in a district of Beijing [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2024, 36(8): 910-915.
- [8] SEEMANN T. Prokka: Rapid prokaryotic genome annotation [J]. Bioinformatics, 2014, 30(14): 2068-2069.
- [9] PAGE A J, CUMMINS C A, HUNT M, et al. Roary: Rapid large-scale prokaryote pangenome analysis [J]. Bioinformatics, 2015, 31(22): 3691-3693.
- [10] PRICE M N, DEHAL P S, ARKIN A P. FastTree: Computing large minimum evolution trees with profiles instead of a distance matrix [J]. Molecular Biology and Evolution, 2009, 26(7): 1641-1650.
- [11] PAGE A J, TAYLOR B, DELANEY A J, et al. SNP-sites: rapid efficient extraction of SNPs from multi-FASTA alignments [J]. Microbial Genomics, 2016, 2(4): e000056.
- [12] 中华人民共和国卫生部. 葡萄球菌食物中毒诊断标准及处理原则 WS/T 80—1996[S]. 北京: 中国标准出版社, 1996.
- Ministry of Health, People's Republic of China. Diagnostic criteria and principles of management for food poisoning of *Staphylococcus aureus* WS/T 80—1996[S]. Beijing: Standards Press of China, 1996.
- [13] LAUMAY F, BENCHETRIT H, CORVAGLIA A R, et al. The *Staphylococcus aureus* CC398 lineage: An evolution driven by the acquisition of prophages and other mobile genetic elements [J]. Genes, 2021, 12(11): 1752.
- [14] 李辉, 闫琳, 陈伟伟, 等. 我国食源性金黄色葡萄球菌耐药及遗传特征情况研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2023, 35(6): 801-806.
- LI H, YAN L, CHEN W W, et al. Resistance and genotype characterization of foodborne *Staphylococcus aureus* in China[J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2023, 35(6): 801-806.
- [15] 方艳梅, 龙冬玲, 京舒婷, 等. 2021年8月珠海一起食源性疾病暴发事件中金黄色葡萄球菌病原学特征分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2024, 36(6): 735-740.
- FANG Y M, LONG D L, JING S P, et al. Pathogenic characteristics of *Staphylococcus aureus* isolates from a foodborne disease outbreak in Zhuhai City in August, 2021 [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2024, 36(6): 735-740.
- [16] 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.
- LYU G P, LI Y Z, GUO Y M, 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.
- [17] YAN X, WANG B, TAO 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.
- [18] 王多, 陶晓霞, 王文周, 等. ST6型金黄色葡萄球菌食物中毒菌株的毒力因子分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2021, 16(1): 64-70, 75.
- WANG D, TAO X X, WANG W Z, et al. Virulence factors of sequence type (ST) 6 *Staphylococcus aureus* in food poisoning outbreaks [J]. Journal of Pathogen Biology, 2021, 16(1): 64-70, 75.
- [19] CHEN Z, HAN C, HUANG X, et al. A molecular epidemiological study of methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* contamination in the airport environment [J]. Infection and Drug Resistance, 2018, 11: 2363-2375.
- [20] LIN J L, PENG Y, OU Q T, et al. A molecular epidemiological study of methicillin-resistant *Staphylococci* environmental contamination in railway stations and coach stations in Guangzhou of China [J]. Letters in Applied Microbiology, 2017, 64(2): 131-137.
- [21] 朱元军, 李天铭, 王亚楠, 等. 社区获得性金黄色葡萄球菌 ST398 克隆株与医院获得性 ST5、ST239 克隆株毒力及耐药特征[J]. 中国感染与化疗杂志, 2015, 15(4): 295-301.
- ZHU Y J, LI T M, WANG Y N, et al. Community-associated *Staphylococcus aureus* ST398 isolates compared with hospital-associated ST5 and ST239 isolates in terms of virulence and antimicrobial resistance [J]. Chinese Journal of Infection and Chemotherapy, 2015, 15(4): 295-301.
- [22] ARGUDÍN M Á, MENDOZA M C, RODICIO M R. Food poisoning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins [J]. Toxins, 2010, 2(7): 1751-1773.
- [23] TSENG C W, STEWART G C. Rot repression of enterotoxin B expression in *Staphylococcus aureus* [J]. Journal of Bacteriology, 2005, 187(15): 5301-5309.
- [24] GOMEZ-LUCÍA E, GOYACHE J, ORDEN J A, et al. Production of enterotoxin A by supposedly nonenterotoxigenic *Staphylococcus*

- aureus* strains[J]. Applied and environmental microbiology, 1989, 55(6): 1447-1451.
- [25] 乐怡, 李毅, 马雪莲. 食物中毒及食品中金黄色葡萄球菌的肠毒素及基因的研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2009, 19(12): 2851-2853.
- LE Y, LI Y, MA X L. Research on food poisoning and enterotoxin and gene of *Staphylococcus aureus* in food[J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2009, 19(12): 2851-2853.
- [26] 何娇明, 杨东芳, 马佳智, 等. 全基因组测序技术用于深圳地区一起食物中毒中金黄色葡萄球菌遗传特征分析[J]. 华南预防医学, 2024, 50(12): 1104-1108, 1114.
- HE J M, YANG D F, MA J Z, et al. Whole genome sequencing for the analysis of the genetic characteristics of *Staphylococcus aureus* in a food poisoning of Shenzhen[J]. South China Journal of Preventive Medicine, 2024, 50(12): 1104-1108, 1114.
- [27] AHMADRAJABI R, LAYEGH-KHAVIDAKI S, KALANTAR-NEYESTANAKI D, et al. Molecular analysis of immune evasion cluster (IEC) genes and intercellular adhesion gene cluster (ICA) among methicillin-resistant and methicillin-sensitive isolates of *Staphylococcus aureus* [J]. Journal of Preventive Medicine and Hygiene, 2017, 58(4): E308-E314.
- [28] VAN WAMEL W J B, ROOIJAKKERS S H M, RUYKEN M, et al. The innate immune modulators staphylococcal complement inhibitor and chemotaxis inhibitory protein of *Staphylococcus aureus* are located on β -hemolysin-converting bacteriophages[J]. Journal of Bacteriology, 2006, 188(4): 1310-1315.

《中国食品卫生杂志》顾问及第五届编委会名单

顾问: 陈君石、黄璐琦、江桂斌、李林、沈建忠、吴清平、Jianghong Meng(美国)、Patrick Wall(爱尔兰)、Samuel Godefroy(加拿大)、Gerald Moy(美国)、Paul Brent(澳大利亚)、Marta Hugas(比利时)、Yukikko Yamada(日本)、Tom Heilandt(德国)、Andreas Hensel(德国)、Christopher Elliott(英国)、Christine Nelleman(丹麦)

主任委员: 李宁

副主任委员: 王竹天、孙长颢、王涛、谢剑伟、应浩、丁钢强、张峰、张永慧

主编: 吴永宁

编委(按姓氏笔画排序)

丁钢强(中国疾病预防控制中心营养与健康所)	应浩(中国科学院上海营养与健康所)
于洲(国家食品安全风险评估中心)	张丁(河南省疾病预防控制中心)
于维森(青岛市疾病预防控制中心)	张峰(中国检验检疫科学研究院)
马宁(国家食品安全风险评估中心)	张卫兵(南通市疾病预防控制中心)
马会来(中国疾病预防控制中心)	张立实(四川大学华西公共卫生学院)
马群飞(福建省疾病预防控制中心)	张永慧(广东省疾病预防控制中心)
王君(国家食品安全风险评估中心)	张旭东(国家卫生健康委员会医院管理研究所)
王茵(浙江省医学科学院)	张剑峰(黑龙江省疾病预防控制中心)
王涛(浙江清华长三角研究院)	张朝晖(中国海关科学技术研究中心)
王硕(南开大学医学院)	张惠媛(中国海关科学技术研究中心)
王慧(上海交通大学公共卫生学院)	张遵真(四川大学华西公共卫生学院)
王永芳(国家卫生健康委员会卫生健康监督中心)	陈波(湖南师范大学化学化工学院)
王竹天(国家食品安全风险评估中心)	陈颖(中国检验检疫科学研究院)
王松雪(国家粮食和物资储备局科学研究院)	陈卫东(广东省市场监督管理局)
王晓英(中国动物疫病预防控制中心)	邵兵(北京市疾病预防控制中心)
计融(国家食品安全风险评估中心)	武爱波(中国科学院上海营养与健康所)
邓小玲(广东省疾病预防控制中心)	赵舰(重庆市疾病预防控制中心)
卢江(国家食品安全风险评估中心)	赵云峰(国家食品安全风险评估中心)
匡华(江南大学食品学院)	赵贵明(中国检验检疫科学研究院)
朱心强(浙江大学医学院)	钟凯(科信食品与营养信息交流中心)
刘弘(上海市疾病预防控制中心)	姜毓君(东北农业大学食品学院)

(下转第525页)