

综述

金黄色葡萄球菌及其引起的食物中毒的研究进展

向红,周黎,廖春,陈刚

(贵州省疾病预防控制中心,贵州 贵阳 550004)

摘要:金黄色葡萄球菌广泛存在于自然环境中,致病力强,是常见食物中毒的病原菌。本文对金黄色葡萄球菌致病因素、污染状况、食物中毒、试验诊断、预防措施等方面进行概述,为今后金黄色葡萄球菌食物中毒的预防提供参考。

关键词:金黄色葡萄球菌;肠毒素;食物中毒;检测

中图分类号:R155; R378.1⁺1 **文献标志码:**A **文章编号:**1004-8456(2015)02-0196-04

DOI:10.13590/j.cjfh.2015.02.023

Progress of *Staphylococcus aureus* and food poisoning

XIANG Hong, ZHOU Li, LIAO Chun, CHEN Gang

(Guizhou Provincial Center for Disease Control and Prevention, Guizhou Guiyang 550004, China)

Abstract: *Staphylococcus aureus* is widely distributed in nature and has a strong pathogenicity, and it is considered to be one of the major pathogens causing outbreaks of food poisoning. The pathogenic factor, food contamination status, food poisoning, laboratory diagnosis and preventive measure were described in this paper in order to provide the reference for prevention and control of staphylococcal food poisoning in the future.

Key words: *Staphylococcus aureus*; staphylococcal enterotoxins; food poisoning; detection

金黄色葡萄球菌广泛存在于自然界中,它为哺乳动物和鸟类皮肤及黏膜的正常菌群^[1]。在人体中主要存在于皮肤、粘膜以及外界相通的各种腔道中,特别是鼻咽部;30%~80%的人群为该病原菌的携带者^[2],而1/3~2/3的携带者中含有产肠毒素菌株^[1]。金黄色葡萄球菌可以通过各种途径和方式污染食品,成为细菌性食物中毒的一种重要病原菌之一。有报道^[2],在一些国家由金黄色葡萄球菌引起的食物中毒列居第二位或第三位。为此,本文就金黄色葡萄球菌及其引起的食物中毒相关研究工作进行综述。

1 致病因素

金黄色葡萄球菌为一种需氧或兼性厌氧革兰阳性球形细菌,营养要求不高,对不良环境抵抗力较强。它是常见的临床和食源性病原菌,大多数菌株能分泌一系列酶和细胞毒素如核酸酶、透明质酸酶和溶血素等,这些酶能将局部宿主组织转变成细菌生长的营养成分。一些菌株产生许多毒性蛋白包括肠毒素(*S. aureus* enterotoxins, SEs)、毒素休克

综合征1型毒素、剥脱毒素和杀白细胞素,可引起急性金黄色葡萄球菌毒血症和食物中毒。对于这些致病性物质,其中肠毒素在该菌的致病中起重要的作用,有报道70%以上的金黄色葡萄球菌株产生一种或多种肠毒素^[3]。肠毒素是由血浆凝固酶阳性的菌株产生的一类结构相关、毒力相似、抗原性不同的单肽链胞外蛋白,分子量在27~29 kDa,易溶于水,可抵抗200 kGy的射线,耐受高温、酸碱和蛋白酶^[4]。金黄色葡萄球菌产生肠毒素受温度、水分、营养成分等影响,如温度为37~45℃,食物中水活度>0.99是产生毒素的最适条件^[1]。同时在含蛋白质和淀粉丰富的食物中,肠毒素易于生成。

在金黄色葡萄球菌食物中毒中,由肠毒素超抗原家族成员引起的占95%,至今已发现22种不同类型的金黄色葡萄球菌肠毒素,分别为SEA~SEE、SEG~SEI、SEJ~SEIQ、SER~SET、SEIU、SEIU2和SEIV^[5]。SEA~SEE五种肠毒素为公认导致食源性疾病的致病因子,其中SEA、SEB和SEC是食物中毒爆发最常见的肠毒素种类。肠毒素超抗原与抗原提呈细胞膜上的主要组织相容性复合体II类分子抗原结合,激活T细胞,释放细胞因子。细胞因子刺激肠腔的神经受体,触发大脑的呕吐中心。因此,中毒症状通常在食入后1~6h发生,肠毒素通

收稿日期:2014-03-25

基金项目:贵州省卫生厅科学技术基金项目(gzwbkj2009-1-036)

作者简介:向红 男 副主任技师 研究方向为食品、饮水安全与评价

E-mail:515170086@qq.com

过消化道进入血液循环,刺激呕吐中枢,引起恶心、呕吐、腹痛、腹泻等症状。这些症状一般在1~3 d内缓解,很少出现死亡病例。

2 污染状况

金黄色葡萄球菌污染的食品主要为乳制品、蛋及蛋制品、各类熟肉制品,其次是含有乳类的冷冻食品等。

巴西、美国、法国、韩国、日本和巴勒斯坦等国中肉、乳、乳制品和蛋类产品产肠毒素金黄色葡萄球菌的检出率在4.7%~77.4%之间^[6]。美国火鸡肉、猪肉、鸡肉和牛肉中金黄色葡萄球菌污染率分别为77%、42%、41%和37%,提示家畜和家禽是主要污染源,而部分来自人的污染^[7]。在即食食品金黄色葡萄球菌污染的监测中,韩国寿司、紫菜卷饭和加州卷样品中的总检出率为5.98%,未有季节性差异^[8]。尼日利亚肉、鱼和蔬菜类快餐即食食品中金黄色葡萄球菌的总污染率为62%,特别是最受欢迎的食品苏亚,陈列于室温,反复暴露于销售者和顾客之手,其金黄色葡萄球菌污染率高达86%^[9]。

在我国,2008年全国食源性疾病监测网的生奶样品中金黄色葡萄球菌阳性率为21.94%^[10]。中国台湾地区便利商店和超市中的三明治和凉面金黄色葡萄球菌的总污染率为17.9%^[11]。上海市不同食品中金黄色葡萄球菌的检出率以生鲜肉最高(32.9%),其次为生牛乳(26.3%)和速冻食品

(26.7%),水产品、果蔬和豆制品中相对较低^[12]。广西壮族自治区各类食品中金黄色葡萄球菌检出率为8.37%,沙拉检出率最高(15.63%)^[13]。福建省7类食品中金黄色葡萄球菌的总检出率为5.0%,其中熟肉制品污染最严重(9.5%),沙拉和冷冻饮品次之^[14]。江苏省八市8大类食品食源性致病菌主动监测显示,金黄色葡萄球菌主要污染速冻米面制品,阳性率为11.76%^[15]。近年来重庆市和山西省食源性致病菌监测显示金黄色葡萄球菌的检出率分别为2.15%^[16]和3.02%^[17]。

因此,食品成分、食品的生产、运输和销售环境、气候条件以及社会因素(如公共卫生)都可能对食品中金黄色葡萄球菌的污染率有较大的影响。

3 食物中毒

葡萄球菌食物中毒的爆发必须具备以下条件^[1]:①含有产肠毒素金黄色葡萄球菌的原材料以及健康或感染携带者;②将金黄色葡萄球菌从污染源转移至食品,如使用不洁食品器具;③食物成分在理化特性方面适宜于金黄色葡萄球菌生长和产毒;④满足细菌生长和产毒所需的温度及时间;⑤机体摄入足够量污染食物。一些食品如肉、色拉和奶油面包类食品可为金黄色葡萄球菌生长提供有利的介质,其污染率较高,常涉及金黄色葡萄球菌食物中毒的发生,表1列举了一些较大的金黄色葡萄球菌食物中毒事件。

表1 金黄色葡萄球菌食物中毒事件^[1]

Table 1 Events of *Staphylococcus aureus* food poisoning

年份	地点	污染食品	病例数/人
1968	美国德克萨斯州	鸡肉色拉	1 300
1971	英国部队	香肠卷、火腿三明治	100
1975	日本到丹麦的航班上	火腿	197
1982	美国北卡罗来纳州和宾夕法尼亚州	火腿奶酪三明治、填馅鸡	121
1983	加勒比海游轮	奶油酥皮点心	215
1985	美国肯塔基州	2%巧克力牛奶	>1 000
1990	泰国	酥卷	485
1992	美国德克萨斯州小学	鸡肉色拉	1 364
1998	巴西米纳斯吉拉斯州	鸡、烤牛肉、米饭和豆	4 000
2000	日本大阪	低脂牛奶	13 420
2007	奥地利小学	牛奶、可可奶、香草牛奶	166
2008	法国	凉拌面色拉	100

在美国,金黄色葡萄球菌是引起食源性疾病发生率较高的5种病原菌之一,每年由金黄色葡萄球菌引起的食源性疾病病例达24万例^[18]。欧盟食品安全局报道^[19],2009年在欧洲共爆发食源性疾病5 550起,其中293起由金黄色葡萄球菌及其毒素引起,在各类食源性疾病爆发中列为第四位。在韩国金黄色葡萄球菌列第三位常见食源性病原菌,1987—2002年间发生109起金黄色葡萄球菌食物中毒,

5 782例病人^[20]。根据我国国家监测网报道^[21],金黄色葡萄球菌引起的食物中毒排在第五位,2003—2007年间共发生94起金黄色葡萄球菌引起的食物中毒,涉及2 223例病例和导致1 186例住院治疗。

4 检测方法

金黄色葡萄球菌食物中毒的实验室诊断常通过检测剩余食品,根据金黄色葡萄球菌数量达到

10^5 cfu/g 以上,或者检出肠毒素来判定。

4.1 常规细菌培养法

目前,从食品中检测金黄色葡萄球菌的常规细菌培养方法(GB 4789.10—2010《食品微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验》^[22]),可对食品中金黄色葡萄球菌进行定性和定量检验,该方法设备简单、成本低;但检验时间较长(3~5 d),操作繁琐,且灵敏度较低;不宜应对突发性公共卫生和食物中毒事件中筛检出金黄色葡萄球菌。

4.2 免疫学方法

金黄色葡萄球菌有多种蛋白质抗原,其中肠毒素和金黄色葡萄球菌 A 蛋白常用于金黄色葡萄球菌的检测。金黄色葡萄球菌免疫学检测方法有免疫荧光技术、酶联免疫(ELISA)技术、乳胶凝集技术和免疫磁珠技术等,主要用于肠毒素的测定。如直接从食品中检测肠毒素的 ELISA、反向被动乳胶凝集等,检测限可达到 ng/g(ml)。同时,免疫学方法的一些缺陷削弱其应用,如需要高纯度的肠毒素制备特异性抗体,而纯化肠毒素是比较困难和昂贵的,到目前仅 SEA~SEE、SEG、SEH 和 SelQ 抗体得到广泛使用^[23],同时一些试剂盒特异性较低,可因食品成分干扰出现假阳性。

4.3 分子生物学方法

近年来,以分子生物学为基础的 PCR 方法和实时荧光定量 PCR 方法等广泛用于食品中金黄色葡萄球菌的快速检测,具有特异性强、灵敏度高、检测限低等优点,无需增菌就可从基因水平直接检测金黄色葡萄球菌,可以克服传统细菌培养法的缺点和不足。

4.3.1 PCR 方法

PCR 方法检测金黄色葡萄球菌所选用的靶基因主要有肠毒素基因、耐热核酸酶基因、凝固酶基因、抗生素抗性基因和 16S rRNA 基因等,而用于食品中检测的靶基因常用肠毒素基因和耐热核酸酶基因。在 2000 年日本发生的因奶粉被金黄色葡萄球菌肠毒素污染造成 13 000 多人食物中毒的事件中,尽管从毒奶粉中未分离到金黄色葡萄球菌,然而采用 PCR 方法检出了 *sea*, *seg*, *seh* 和 *sei* 肠毒素基因^[24]。

近年来一些研究者在同一反应体系中使用一通用引物和不同特异性引物检测金黄色葡萄球菌多种毒力基因的多重 PCR 方法,其实用性较好。Kim 等^[8]采用该方法分析了从即食冷冻食品中分离的金黄色葡萄球菌肠毒素基因(*sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*, *seg*, *she*, *sei* 和 *sej*)、毒性休克综合征毒素-1 基因(*tst-1*)和 2 种表皮剥落毒素基因(*eta* 和 *etb*),约一半的菌株有产毒特性,大部分产毒菌株具有编码两种及以上毒素的基因,产毒基因出现频率依次为 *seg* = *sei*

> *sea* > *tst-1* > *etb* > *seh* > *eta* > *sec* > *sej*。

在使用 PCR 检测肠毒素基因时,研究者发现金黄色葡萄球菌携带肠毒素基因的可变性高(75%~80%)^[25],它是由于金黄色葡萄球菌的基因组含有多种 IS 元件、原噬菌体序列和致病基因岛等可移动元件,而在可移动遗传元件上编码许多肠毒素,这些可移动元件的转移致使金黄色葡萄球菌肠毒素呈多样性以及新肠毒素基因和高致病力毒株的不断出现^[26]。

4.3.2 实时荧光定量 PCR 方法

采用 PCR 方法可对金黄色葡萄球菌进行快速诊断,但不能对其准确定量,同时容易产生交叉污染、出现假阳性等。而在普通 PCR 方法基础之上发展起来的实时荧光定量 PCR,克服了普通 PCR 方法的缺陷,目前已在食品中金黄色葡萄球菌检测方面得到应用。CHIANG 等^[27]采用实时荧光 PCR 检测奶和肉样品中的金黄色葡萄球菌,方法检出限为 10^3 cfu/ml 或 cfu/g;如样品经 10 h 增菌,检出限可达到 1 cfu/ml 或 cfu/g。

4.4 质谱分析

由于现有金黄色葡萄球菌检测方法的缺陷,以及对新的肠毒素缺乏可利用的抗体,为此一些研究人员建立了基于物理化学技术的分析方法,如基质辅助激光解吸-电离飞行时间质谱法,它是基于肠毒素作为金黄色葡萄球菌的特征性生物标志物,将样品在基质辅助下检测,得到含肠毒素分子量和结构信息的质谱图,与蛋白质组数据库中的质谱图比较,来判断食品是否被金黄色葡萄球菌污染。该方法具有定量、特异、快速和可靠的特点^[28]。

4.5 生物传感器检测法

近年来,生物传感器技术应用于金黄色葡萄球菌肠毒素检测,它具有所需样品量少、速度快、生物功能膜可多次使用等优点。目前主要有电化学免疫传感器、光学生物传感器和压电晶体免疫传感器等,基于单壁碳纳米管的生物传感器可实时监控样品中金黄色葡萄球菌的污染,最低检测浓度达到 8×10^2 cfu/ml^[29]。

5 预防措施

金黄色葡萄球菌污染食品的途径很多,预防金黄色葡萄球菌食物中毒需依靠良好的卫生规范,从食品的原料、加工、运输、储藏以及销售等全过程进行控制,减少食品从业人员和保存环境对食品的污染。同时,应防止食品中金黄色葡萄球菌的生长和产毒,其生长和产毒受温度、pH、水活度、大气条件、碳源、氮源和盐份等因素影响,因此通过冷藏保存、降低水活度等措施抑制金黄色葡萄球菌的生长和肠毒素的产生,能有效

预防金黄色葡萄球菌引起的食物中毒。

6 小结

金黄色葡萄球菌分布广泛,致病力强,是常见食源性疾病(食物中毒)的病原菌。通过采取一些卫生措施来避免或减少食品受污染、提高公众卫生意识以及热处理等方法杀灭食品中的微生物可预防金黄色葡萄球菌引起的食物中毒。同时食品中金黄色葡萄球菌检测方法的开发对于预防和控制其引起的食物中毒也具有重要意义。目前有多种检测方法,其中分子生物学技术作为近年来发展较快的技术,可检测细菌分离株毒力因子的编码基因及其表达来分析其致病能力,也有助于深入研究该病原菌毒力机制的遗传学特性。

参考文献

- [1] Hennekinne J A, De Buyser M L, Dragacci S. *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation[J]. FEMS Microbiol Rev, 2012, 36(4): 815-836.
- [2] Atanassova V, Meindl A, Ring C. Prevalence of *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxins in raw pork and uncooked smoked ham—a comparison of classical culturing detection and RFLP-PCR[J]. Int J Food Microbiol, 2001, 68(1/2): 105-113.
- [3] Jorgensen H J, Mork T, Hogasen H R, et al. Enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in bulk milk in Norway [J]. J Appl Microbiol, 2005, 99(1): 158-166.
- [4] Kamboj D V, Nema V, Pandey A K, et al. Heterologous expression of staphylococcal enterotoxin B (*seb*) gene for antibody production[J]. Electronic Journal of Biotechnology, 2006, 9(5): 552-558.
- [5] Argudín M Á, Mendoza M C, Rodicio M R. Food poisoning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins [J]. Toxins, 2010, 2 (7) : 1751-1773.
- [6] Adwan G, Abu-Shanab B, Adwan K. Enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in raw milk in the North of Palestine [J]. Turk J Biol, 2005, 29: 229-232.
- [7] Waters A E, Contente-Cuomo T, Buchhagen J, et al. Multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* in US meat and poultry [J]. Clin Infect Dis, 2011, 52(10): 1227-1230.
- [8] Kim N H, YUN A R, Rhee M S. Prevalence and classification of toxigenic *Staphylococcus aureus* isolated from refrigerated ready-to-eat foods (sushi, kimbab and California rolls) in Korea [J]. Journal of Applied Microbiology, 2011, 111(6): 1456-1464.
- [9] Sokari T. Distribution of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in ready-to-eat foods in eastern Nigeria [J]. Int J Food Microbiol, 1991, 12(2/3): 275-279.
- [10] 闫军, 遇晓杰, 苏华, 等. 原料乳中金黄色葡萄球菌风险评估基础研究 [J]. 中国公共卫生管理, 2010, 26(1): 39-40.
- [11] FANG T J, WEI Q K, LIAO C W, et al. Microbiological quality of 18 °C ready-to-eat food products sold in Taiwan [J]. Int J Food Microbiol, 2003, 80(3): 241-250.
- [12] 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(1): 268-271.
- [13] 吕素玲, 诸葛石养, 韦程媛, 等. 广西食品中金黄色葡萄球菌污染状况及耐药情况分析 [J]. 应用预防医学, 2012, 18(2): 111-112.
- [14] 叶玲清, 陈伟伟, 杨毓环, 等. 福建省 2010 年食品中金黄色葡萄球菌的污染状况及耐药性分析 [J]. 海峡预防医学杂志, 2012, 18(2): 53-54.
- [15] 王燕梅, 乔昕, 袁宝君, 等. 2008 年江苏省食源性致病菌监测分析 [J]. 中国卫生检验杂志, 2010, 20(8): 2011-2013.
- [16] 李志峰, 王红, 王文斟, 等. 2011 年重庆市食品风险监测食源性致病菌监测分析 [J]. 中国卫生检验杂志, 2013, 23(5): 1252-1254.
- [17] 宋晓红, 乔玫, 刘晔. 2010 年山西省食品中食源性致病菌监测分析 [J]. 中国食品卫生杂志, 2013, 25(4): 374-377.
- [18] Scallan E, Hoekstra R M, Angulo F J, et al. Foodborne illness acquired in the United States: major pathogens [J]. Emerg Infect Dis, 2011, 17(1): 7-15.
- [19] Schelin J, Wallin-Carlquist N, Cohn M T, et al. The formation of *Staphylococcus aureus* enterotoxin in food environments and advances in risk assessment [J]. Virulence, 2011, 2 (6) : 580-592.
- [20] Cha J O, Lee J K, Jung Y H, et al. Molecular analysis of *Staphylococcus aureus* isolates associated with staphylococcal food poisoning in South Korea [J]. Journal of Applied Microbiology, 2006, 101(4): 864-871.
- [21] 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.
- [22] 中华人民共和国卫生部. GB 4789. 10—2010 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 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [23] Chlievert P M, Case L C. Molecular analysis of staphylococcal superantigens [J]. Methods Mol Biol, 2007, 391: 113-126.
- [24] Ikeda T, Tamate N, Yamaguchi K, et al. Mass outbreak of food poisoning disease caused by small amounts of staphylococcal enterotoxins A and H [J]. Appl Environ Microbiol, 2005, 71(5): 2793-2795.
- [25] Tkáčiková L, Tesfaye A, Mikula I. Detection of the genes for *Staphylococcus aureus* enterotoxin by PCR [J]. Acta Vet Brno, 2003, 72: 627-630.
- [26] Novick R P. Mobile genetic elements and bacterial toxinoses: the superantigen-encoding pathogenicity islands of *Staphylococcus aureus* [J]. Plasmid, 2003, 49(2): 93-105.
- [27] CHIANG Y C, FAN C M, LIAO W W, et al. Real-time PCR detection of *Staphylococcus aureus* in milk and meat using new primers designed from the heat shock protein gene *htrA* sequence [J]. Journal of Food Protection, 2007, 70(12): 2855-2859.
- [28] Hennekinne J A, De Buyser M L, Dragacci S. *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation [J]. FEMS Microbiol Rev, 2012, 36(4): 815-836.
- [29] Zelada-Guillén G A, Sebastián-Avila J L, Blondeau P, et al. Label-free detection of *Staphylococcus aureus* in skin using real-time potentiometric biosensors based on carbon nanotubes and aptamers [J]. Biosens Bioelectron, 2012, 31(1): 226-232.