

研究报告

广州市白云口岸航空食品中金黄色葡萄球菌凝固酶基因分型及肠毒素基因研究

何淑华, 邓艳, 戴金, 黄燕琼, 赵尚志, 柏建山
(广州海关, 广东 广州 510470)

摘要:目的 对2013—2015年从广州市白云口岸航空食品中分离的金黄色葡萄球菌进行基因分型研究,为食源性金黄色葡萄球菌分子溯源提供基础数据。方法 以血浆凝固酶和肠毒素为目标基因,采用聚合酶链式反应(PCR)方法对9株金黄色葡萄球菌进行基因分型,其中6株为航空食品分离株,1株为配餐车间大门手持分离株,2株为标准菌株。肠毒素基因检测包括5种传统肠毒素基因(*sea*、*seb*、*sec*、*sed*、*see*)和6种新型肠毒素基因(*ser*、*seg*、*seh*、*sei*、*sej*、*sep*)。结果 6株航空食品分离株的血浆凝固酶基因扩增分型结果为2个PCR型,酶切后得3种亚型;肠毒素基因检测结果显示有2株航空食品分离株含有肠毒素基因,检出率为33.3%(2/6),检出的基因为2种传统肠毒素基因(*sec*、*sed*)和4种新型肠毒素基因(*ser*、*seg*、*sei*、*sej*),均同时携带2种以上肠毒素基因。结论 血浆凝固酶基因扩增分型结果显示,不同时间、不同采集地点存在相同的基因型,提示金黄色葡萄球菌存在交叉污染的可能性;航空食品分离株共检出6种肠毒素基因,提示金黄色葡萄球菌基因型多样性,应加强其他新型肠毒素基因检测。

关键词:航空食品;金黄色葡萄球菌;凝固酶基因;肠毒素基因;食源性致病菌;基因分型

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2018)04-0362-06

DOI:10.13590/j.cjfh.2018.04.005

Research on coagulase genotyping and enterotoxin genes of *Staphylococcus aureus* isolated from airline food samples in Guangzhou Baiyun Airport

HE Shu-hua, DENG Yan, DAI Jin, HUANG Yan-qiong, ZHAO Shang-zhi,
BAI Jian-shan

(Guangzhou Customs, Guangdong Guangzhou 510470, China)

Abstract: Objective To provide basic data for molecular tracing of foodborne *Staphylococcus aureus* by genotyping of isolates from airline food in Baiyun Airport during 2013-2015. **Methods** Foodborne *Staphylococcus aureus* isolates were identified through polymerase chain reaction (PCR) method targeting coagulase gene and enterotoxin genes, the enterotoxin genes included five traditional enterotoxin genes (*sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*) and six newly discovered genes (*ser*, *seg*, *seh*, *sei*, *sej*, *sep*). **Results** Six *Staphylococcus aureus* strains isolated from airline food were separated into two genotypes and three subtypes according to coagulase gene. The traditional enterotoxin genes (including *sec* and *sed*) and the newly discovered enterotoxin genes (including *ser*, *seg*, *sei* and *sej*) were detected from two *Staphylococcus aureus* strains isolated from airline food. **Conclusion** The result of the genotyping of coagulase gene displayed the same genotypes existing in different time and different collection sites, suggesting the maximum possibility of cross contamination of *Staphylococcus aureus*. Six strains of *Staphylococcus aureus* isolated from airline food were tested for 11 enterotoxin genes, and 2 isolates contained enterotoxin gene isolated from airline food, suggesting that *Staphylococcus aureus* genotype was diversified, and should strengthen the detection of the new discovered toxin gene.

Key words: Airline food; *Staphylococcus aureus*; coagulase genotype; enterotoxin genes; foodborne pathogen; genotyping

航空食品作为旅客及机组人员在飞行途中的

用餐需要,质量安全至关重要,若突发食品安全事件,空中应急措施有限,将严重影响飞行安全。2013—2015年广州市白云机场航空食品微生物污染情况研究结果^[1]显示,白云机场口岸航空食品存在食源性致病菌金黄色葡萄球菌污染。金黄色葡萄球菌是人类的一种重要病原菌,可引起多种严重感染,其中,致病因子血浆凝固酶和肠毒素对肠道

收稿日期:2018-05-02

基金项目:广东检验检疫局科技计划项目(2017GDK42,2017IK061)

作者简介:何淑华 女 工程师 研究方向为食品微生物检测

E-mail:qcqsch@126.com

通信作者:柏建山 男 高级工程师 研究方向为食品安全

E-mail:djsys@jc.gdcic.gov.cn

破坏性极大,可引起局部化脓感染和肺炎、伪膜性肠炎、心包炎等全身感染,给公众生活和健康造成不良影响^[2]。

为了解广州市白云口岸航空食品中分离的金黄色葡萄球菌主要致病因子血浆凝固酶和肠毒素基因分布及分型情况,本研究通过聚合酶链式反应(PCR)方法检测血浆凝固酶基因、传统肠毒素基因以及常见的6种新型肠毒素基因,旨在为金黄色葡萄球菌的监控以及追踪污染源提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株

本研究共9株金黄色葡萄球菌,其中6株为2013年1月—2015年12月广州市白云机场航空食品分离株,1株为航空食品配餐车间大门手拭分离株,以及2株标准菌株(ATCC 6538、ATCC 25923,广东环凯微生物科技有限公司)。9株菌株信息见表1。

表1 金黄色葡萄球菌菌株信息

Table 1 *Staphylococcus aureus* strain information

菌株编号	来源	分离时间
1	生食果蔬	2013.05.21
2	热食食品	2013.07.17
3	大门手拭子	2013.11.04
4	冷加工糕点、面包	2014.01.15
5	热食食品	2014.09.17
6	冷加工糕点、面包	2014.11.05
7	凉拌菜	2013.10.23
8	标准菌株(ATCC 25923)	2015.04.18
9	标准菌株(ATCC 6538)	2015.04.18

1.1.2 主要仪器与试剂

PCR扩增仪(德国 Biometra),凝胶成像系统(法国 Vilber Lourmat), ThermoA2 生物安全柜, Yamato 培养箱, IUL 标准稀释仪,基本型均质器,电泳槽,台式高速离心机。

微生物试剂和干粉培养基均购自广东环凯微生物科技有限公司, *Hae* III 内切酶(美国赛默飞), DNA 聚合酶、基因组 DNA 提取试剂盒、质粒小提试剂盒、琼脂糖凝胶均购自宝生物工程(大连)有限公司,引物由英潍捷基(上海)贸易有限公司合成,其他分子生物试剂均购自上海生工生物工程有公司。

1.2 方法

1.2.1 菌株的制备

将保存于 $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 金黄色葡萄球菌分离株接种于脑心浸液肉汤(BHI)37 $^{\circ}\text{C}$ 培养24 h,取增菌肉汤划线接种于BP平板37 $^{\circ}\text{C}$ 培养24 h,连续活化3次,

经过继代培养后观察菌株的溶血状态,选取 β 溶血明显血浆凝固酶阳性菌落进行试验。

1.2.2 DNA 模板的提取

将所有金黄色葡萄球菌菌株接种于BHI肉汤置于37 $^{\circ}\text{C}$ 培养24 h。培养物按试剂盒说明书进行操作,DNA模板置于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱备用。

1.2.3 PCR 扩增

1.2.3.1 血浆凝固酶基因多态性

血浆凝固酶基因检测使用GOH等^[3]使用的引物,引物序列见表2。

表2 凝固酶基因多态性分型引物序列

PCR 反应	引物	引物序列
第一次 PCR 反应	上游 COAG1	5'-ATACTCAACCGACGACACCG-3'
	下游 COAG4	5'-GATTTTGGATGAAGCGGATT-3'
第二次 PCR 反应	上游 COAG2	5'-CGAGACCAAGATTCAACAAG-3'
	下游 COAG3	5'-AAAGAAAACCACTCACATCA-3'

第一次 PCR 反应体系(25 μl): DNA 模板 2.0 μl , 上、下游引物各 1.0 μl , 10 \times PCR Buffer 2.5 μl , MgCl_2 2.5 μl , dNTP Mixture 1.0 μl , *Taq* plus 酶 0.25 μl , 不足部分由 ddH₂O 补足。反应条件: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 55 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min, 循环 30 次; 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。

第二次 PCR 反应体系(25 μl): 取一次 PCR 产物 1.0 μl , 上、下游引物各 1.0 μl , 10 \times PCR Buffer 2.5 μl , MgCl_2 1.5 μl , dNTP Mixture 1.0 μl , *Taq* plus 酶 0.25 μl , 不足部分由 ddH₂O 补足。反应条件: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 58 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min, 循环 30 次; 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。

PCR 产物采用 *Hae* III 酶切。反应体系(20 μl): DNA 模板 10.0 μl , 10 \times Buffer 2.0 μl , H₂O 6 μl , *Bsu*RI 2 μl , 轻弹混匀, 点离后放 PCR 仪上 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 16 h。

1.2.3.2 金黄色葡萄球菌肠毒素基因

金黄色葡萄球菌肠毒素(SE)基因采用文献[4-7]使用的引物,引物序列见表3。

sea、*seb*、*see*、*sei*、*sej*、*seg*、*seh*、*sep* 基因反应体系(25 μl): DNA 模板 2.0 μl , 上、下游引物各 0.5 μl , 10 \times PCR Buffer 2.5 μl , MgCl_2 2.0 μl , dNTP Mixture 2.0 μl , *Taq* plus 酶 0.25 μl , 不足部分由 ddH₂O 补足。*sed*、*ser* 基因反应体系(25 μl): DNA 模板 2.0 μl , 上、下游引物各 1.0 μl , 10 \times PCR Buffer 2.5 μl , MgCl_2 2.5 μl , dNTP Mixture 2.0 μl , *Taq* plus 酶 0.25 μl , 不足部分由 ddH₂O 补足。*sec* 基因反应体系(25 μl): DNA 模板 2.0 μl , 相应的上、下游引物各 1.0 μl , 10 \times PCR Buffer 2.5 μl , MgCl_2 2.0 μl , dNTP Mixture 2.0 μl , *Taq* plus 酶 0.25 μl , 不足部

表3 金黄色葡萄球菌肠毒素基因引物序列
Table 3 Primers sequence of *Staphylococcus aureus*

		enterotoxin gene		
基因型	引物	引物序列(5'-3')	产物长度/bp	
<i>sea</i>	GSEAR-1	GGTTATCAATGTGCGGGTGG	102	
	GSEAR-2	CGGGACTTTTTTCTCTTCGG		
<i>seb</i>	GSEBR-1	GTATGGTGGTGAAGTACGAGC	164	
	GSEBR-2	CCAAATAGTGACGAGTTAGG		
<i>sec</i>	GSEcR-1	AGATGAAGTAGTTGATGTGTATGG	451	
	GSEcR-2	CACACTTTTAGAATCAACCG		
<i>sed</i>	GSEdR-1	CCAAATAATAGGAGAAAATAAAAG	278	
	GSEdR-2	ATTGGTATTTTTTTTCGTTTC		
<i>see</i>	SA-U (20)	TGTATGTATGGAGGTGTAAC	213	
	SA-E (16)	GCCAAAGCTGTCTGAG		
<i>ser</i>	SER1	AGATGTGTTTGGAAATACCCTAT	123	
	SER2	CTATCAGCTGTGGAGTGCAT		
<i>seg</i>	SEG-for	GTTAGAGGAGGTTTTATG	198	
	SEG-rev	TTGCTTCAACAGGTGGAGA		
<i>seh</i>	SEH-for	CAACTGCTGATTTAGCTCAG	173	
	SEH-rev	CCCAAACATTAGCACCA		
<i>sei</i>	SEI-for	GGCCACTTTATCAGGACA	328	
	SEI-rev	AACTTACAGGCACTCCA		
<i>sej</i>	SEJ-for	GTTCTGGTGGTAAACCA	131	
	SEJ-rev	GCGGAACAACAGTTCTGA		
<i>sep</i>	SEP-for	TCAAAAGACACCGCCAA	396	
	SEP-rev	ATTGTCCTTGAGCACCA		

分由 ddH₂O 补足。

sea、*seb*、*see*、*sed*、*ser*、*sec* 基因反应条件:94 ℃ 预变性 3 min;94 ℃ 变性 30 s,58 ℃ 退火 30 s,72 ℃ 延伸 30 s,循环 35 次;72 ℃ 延伸 7 min。*sei*、*sej*、*seg*、*seh*、*sep* 基因反应条件:94 ℃ 预变性 3 min;94 ℃ 变性 30 s,53 ℃ 退火 40 s,72 ℃ 延伸 30 s,循环 30 次;72 ℃ 延伸 7 min。

1. 2. 3. 3 扩增结果观察

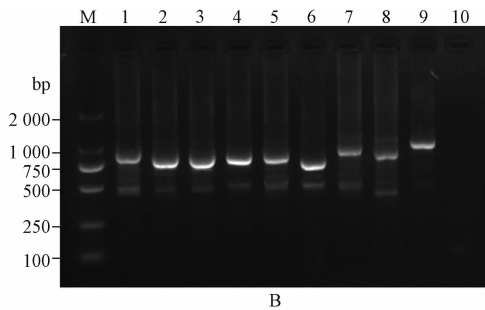
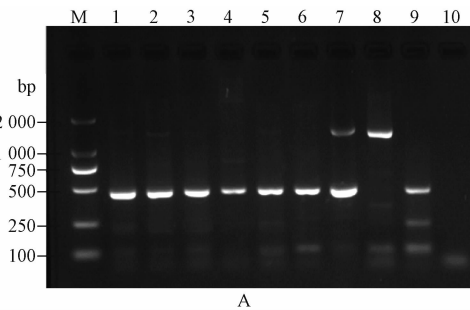
取 5 μl 扩增产物与 6 × Loading Buffer 混匀后点样于含 0.5 μg/ml 溴化乙锭的 2% 琼脂糖凝胶中,于紫外凝胶成像仪下观察 PCR 扩增结果。

2 结果

2.1 血浆凝固酶基因扩增多态性分型结果

2.1.1 PCR 扩增结果

第一次 PCR 扩增见图 1A,根据扩增片段大小,除泳道 7~9 不同外,其余菌株扩增片段大小约 300~500 bp,差异不明显。第二次 PCR 扩增见图 1B,根据产物片段大小,可分为 3 种 PCR 型。其中,PCR 1 型片段大小为 750~850 bp,PCR 2 型片段大小为 1 000 bp,PCR 3 型为 1 100 bp。



注:A 为第一次 PCR 电泳图;B 为第二次 PCR 电泳图;M 为 DL2000 DNA Marker;泳道 1~7 与表 1 样品编号对应,泳道 8、9 分别为标准菌株 ATCC 25923、ATCC 6538,泳道 10 为空白对照

图 1 血浆凝固酶基因 PCR 电泳图

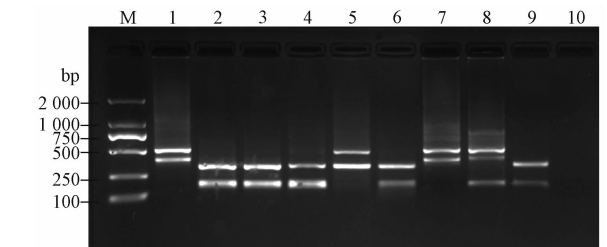
Figure 1 Identifying results of coagulase genotype by PCR

2.1.2 PCR 产物酶切

血浆凝固酶基因产物用限制性内切酶 *Hae* III 消化后,显示了 4 种血浆凝固酶亚型(图 2),亚型 I 包括热食食品、冷加工糕点和面包、大门手拭子以及标准菌株(ATCC 6538),亚型 II 为生食果蔬和凉拌菜,亚型 III 为热食食品,亚型 IV 为标准菌株(ATCC 25923)。

2.2 金黄色葡萄球菌肠毒素基因检测结果

本研究共检测 11 种金黄色葡萄球菌肠毒素基因,包括 5 种传统肠毒素基因(*sea*、*seb*、*sec*、*sed*、*see*)和 6 种新型肠毒素基因(*ser*、*seg*、*seh*、*sei*、*sej*、*sep*),共 3 株金黄色葡萄球菌检出肠毒素基因,详细结果见表 4。



注:M 为 DL2000 DNA Marker;泳道 1~7 与表 1 样品编号对应,泳道 8、9 分别为标准菌株 ATCC 25923、ATCC 6538,泳道 10 为空白对照

图 2 血浆凝固酶基因 *Hae* III 酶切

Figure 2 *Hae* III restriction enzyme digest of the PCR

sea、*seb*、*see*、*seh*、*sep* 基因的 PCR 鉴定结果显示,PCR 扩增产物均没有预期大小的目的 DNA 片段,

表4 金黄色葡萄球菌肠毒素基因鉴定结果
Table 4 Identification of *Staphylococcus aureus* enterotoxin gene

菌株	传统肠毒素基因					新型肠毒素基因					
	<i>sea</i>	<i>seb</i>	<i>sec</i>	<i>sed</i>	<i>see</i>	<i>ser</i>	<i>seg</i>	<i>seh</i>	<i>sei</i>	<i>sej</i>	<i>sep</i>
样品1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
样品2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
样品3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
样品4	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-
样品5	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	-
样品6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
样品7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ATCC 25923	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-
ATCC 6538	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
空白对照	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

注: + 表示检出; - 表示未检出

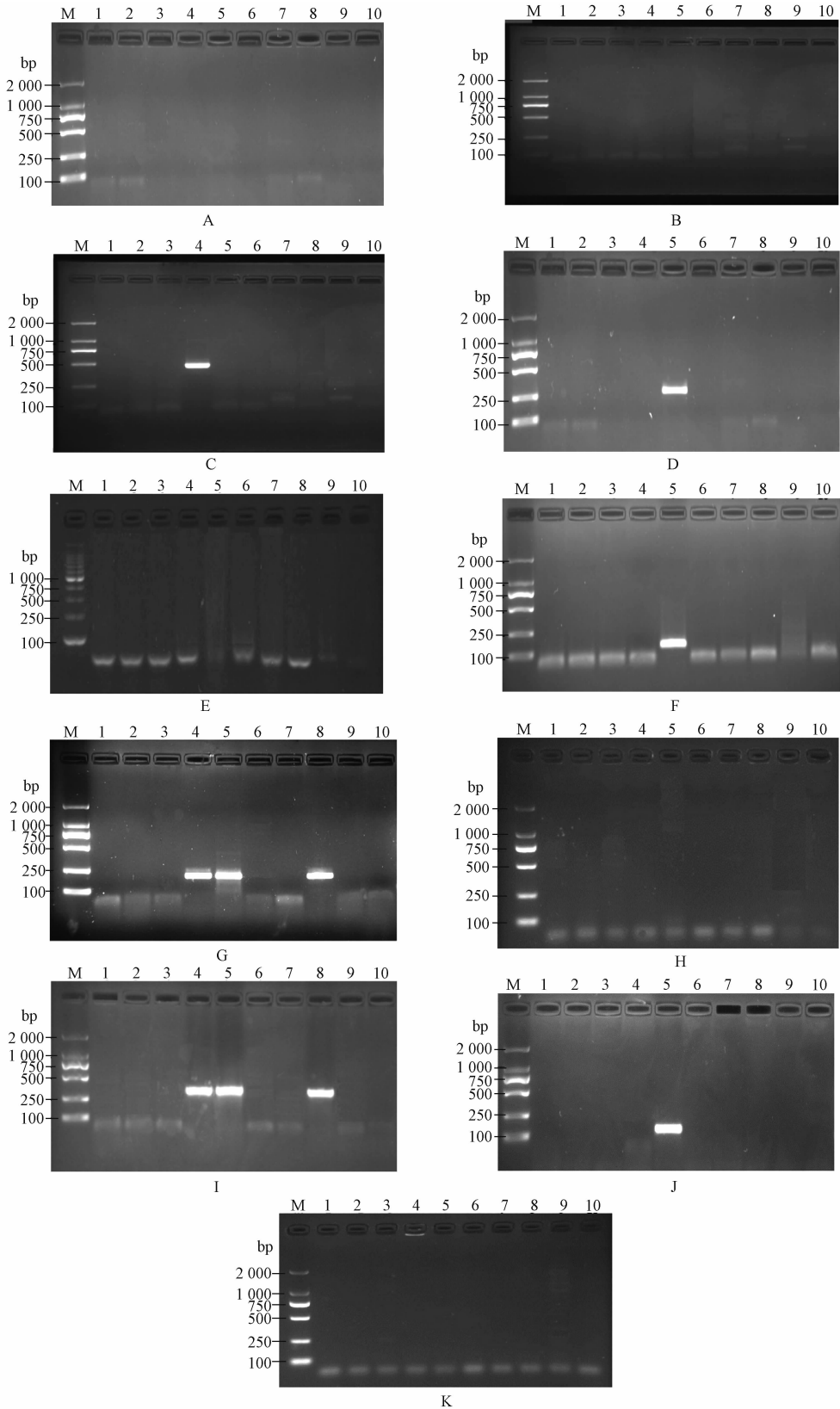
预期片段位置分别为 102、164、213、173、396 bp, 见图 3。 *sec* 基因的 PCR 鉴定结果显示, 泳道 4 的 PCR 扩增产物有预期大小(451 bp)的目的 DNA 片段, 其余扩增产物均没有预期大小的目的 DNA 片段。 *sed* 基因的 PCR 鉴定结果显示, 泳道 5 的 PCR 扩增产物有预期大小(278 bp)的目的 DNA 片段, 其余扩增产物均没有预期大小的目的 DNA 片段。 *ser* 基因的 PCR 鉴定结果显示, 泳道 5 的 PCR 扩增产物有预期大小(123 bp)的目的 DNA 片段, 其余扩增产物均没有预期大小的目的 DNA 片段。 *seg* 基因的 PCR 鉴定结果显示, 泳道 4、5、8 的 PCR 扩增产物有预期大小(198 bp)的目的 DNA 片段, 其余扩增产物均没有预期大小的目的 DNA 片段。 *sei* 基因的 PCR 鉴定结果显示, 泳道 4、5、8 的 PCR 扩增产物有预期大小(328 bp)的目的 DNA 片段, 其余扩增产物均没有预期大小的目的 DNA 片段。 *sej* 基因的 PCR 鉴定结果显示, 泳道 5 的 PCR 扩增产物有预期大小(131 bp)的目的 DNA 片段, 其余扩增产物均没有预期大小的目的 DNA 片段。

3 讨论

金黄色葡萄球菌是一种重要的致病菌, 依赖于不同的毒力因子, 可引起医院各种感染, 也可引起食物中毒, 金黄色葡萄球菌引起的中毒性食源性疾病被命名为金黄色葡萄球菌食物中毒。金黄色葡萄球菌可产生多种毒素, 致病性强, 其毒力因子主要包括肠毒素、溶血素、杀白细胞素以及一系列与毒力相关的成分, 如荚膜多糖、黏附素、血浆凝固酶、耐热核酸酶等。这些毒力因子在金黄色葡萄球菌感染及致病的过程中具有重要的作用^[8]。血浆凝固酶是金黄色葡萄球菌重要的致病因子, 具有保护病原菌不被吞噬或免受抗体结合等作用, 随着分子生物学技术在病原菌鉴定方面的广泛应用, 凝固酶基因越来越多应用于致病性金黄色葡萄球菌的

鉴定^[2]。RAIMUNDO 等^[9]、GÜLER 等^[10] 研究报道由于凝固酶基因 3' 末端重复序列可变区具有多态性, 酶切位点各有差异, 所以根据酶切后片段长度多态性对凝固酶基因进行二次分型, 可弥补 PCR 分型后区分力不足的缺点。本研究结合标准菌株(ATCC 25923、ATCC 6538)以及分离自航空食品和航空配餐车间共 9 株金黄色葡萄球菌进行了凝固酶基因扩增分型, 结果显示航空食品分离株共 3 种酶切亚型, 亚型 I 包括 2013 年的热食食品、2014 年的冷加工糕点和面包, 亚型 II 包括 2013 年的生食果蔬和凉拌菜, 亚型 III 为 2014 年热食食品, 说明采集时间、地点不相同也可存在相同的基因型, 大门手拭子分离株酶切类型为 I 型, 根据监管部门提供资料显示, 大门手拭子采自热食配餐间外侧门, 进一步说明存在样品、人员交叉污染的可能性, 应注意加强食品安全操作规范。

肠毒素是金黄色葡萄球菌产生的一种耐热外毒素, 它的热稳定性非常高, 经 100 °C 煮沸 30 min 而不被破坏^[11]。本研究对 9 株金黄色葡萄球菌进行 11 种金黄色葡萄球菌肠毒素的检测发现, 2 株航空食品分离株共含有 6 种肠毒素基因, 均为同时携带 2 种以上肠毒素基因, 与研究报道^[12-13] 检出肠毒素的金黄色葡萄球菌菌株中有 70% 以上能同时检出 2 种或以上的肠毒素基因结果相同, 提示金黄色葡萄球菌肠毒素基因型的多样性。本研究中 2 株航空食品分离株中检出的 2 种传统肠毒素基因(*sec*、*sed*)和 4 种新型肠毒素基因(*ser*、*seg*、*sei*、*sej*)占已被证实能够诱发胃肠炎综合症肠毒素基因(*sea*、*seb*、*sec*、*sed*、*see*、*seh*、*sei*、*seg*)^[12] 的 50% (4/8), 因菌株数量较少, 肠毒素检出率不能与其他报道作比较, PCR 方法检测不能证明肠毒素的产生, 但 11 种金黄色葡萄球菌肠毒素基因检出 6 种, 检出率达 54.5% (6/11), 提示有必要进行其他类型肠毒素基因的检测分析, 更好地掌握金黄色葡萄球菌肠毒素的分布



注:A~K分别为 *sea*、*seb*、*sec*、*sed*、*see*、*ser*、*seg*、*seh*、*sei*、*sej*、*sep* 基因的 PCR 电泳图;M 为 DL2000 DNA Marker;泳道 1~7 与表 1 样品编号对应,泳道 8、9 分别为标准菌株 ATCC 25923、ATCC 6538,泳道 10 为空白对照

图 3 金黄色葡萄球菌肠毒素基因 PCR 结果

Figure 3 Identifying results of *Staphylococcus aureus* enterotoxin gene by PCR

规律。

综上所述,血浆凝固酶基因扩增多态性结果提示了金黄色葡萄球菌存在交叉污染的可能性,应规

范食品加工过程,提高相关工作人员卫生安全意识,从源头控制污染,从而降低食源性疾病暴发和传播。从金黄色葡萄球菌肠毒素基因分型结果得

出,传统肠毒素检出率为 40.0% (2/5),新型肠毒素检出率为 66.7% (4/6),新型毒素较高的检出率不容忽视,有研究^[14]表明新型肠毒素与金黄色葡萄球菌的致病性有着一定的相关性,它们不仅有可能引起食物中毒,还可能造成一些非感染性过敏反应及其他一些免疫系统疾病,进行其他类型肠毒素基因的检测分析,从整体上把握金黄色葡萄球菌肠毒素的分布特点,探明不同毒素基因型的金黄色葡萄球菌规律性,为预防和制定食品安全监管提供参考依据,为保障航空食品质量提供有力支持。

参考文献

- [1] 何淑华,黄燕琼,么晓燕,等. 2013—2015 年白云机场航空食品微生物污染情况调查[J]. 实用预防医学,2017,24(7): 772-775.
- [2] 冯震,杨燕,范一灵,等. 金黄色葡萄球菌分型方法的建立及应用[J]. 中国食品卫生杂志,2014,26(5): 475-480.
- [3] GOH S H, BYRNE S K, ZHANG J L, et al. Molecular typing of *Staphylococcus aureus* on the basis of coagulase gene polymorphisms[J]. Journal of Clinical Microbiology, 1992, 30(7): 1642-1645.
- [4] MANISHA M, WANG G H, JOHNSON W M. Multiplex PCR for detection of genes for *Staphylococcus aureus* enterotoxins, exfoliative toxins, toxic shock syndrome toxin 1, and methicillin resistance[J]. Journal of Clinical Microbiology, 2000, 38(3): 1032-1035.
- [5] SHARMA N K, REES C E D, DODD C E R. Development of a single-reaction multiplex PCR toxin typing assay for *Staphylococcus aureus* strains[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2000, 66(4): 1347-1353.
- [6] CHIANG Y C, LIAO W W, FAN C M, et al. PCR detection of

Staphylococcal enterotoxins (SEs) N, O, P, Q, R, U, and survey of SE types in *Staphylococcus aureus* isolates from food-poisoning cases in Taiwan[J]. International Journal of Food Microbiology, 2008, 121(1): 66-73.

- [7] JACEK B, ANNA D, JAROSLAW B, et al. Distribution of newly described enterotoxin-like genes in *Staphylococcus aureus* from food[J]. International Journal of Food Microbiology, 2006, 108(1): 36-41.
- [8] 于宏伟,郭润芳,贾英民. 食品中金黄色葡萄菌的分布及相关毒力基因的表达研究[J]. 河北农业大学学报,2014,37(1): 87-93.
- [9] RAIMUNDO O, DEIGHTON M, CAPSTICK J, et al. Molecular typing of *Staphylococcus aureus* of bovine origin by polymorphisms of the coagulase gene[J]. Veterinary Microbiology, 1999, 66(4): 275-284.
- [10] GÜLER L, OK Ü, GÜNDÜZ K, et al. Antimicrobial susceptibility and coagulase gene typing of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine clinical mastitis cases in Turkey[J]. Journal of Dairy Science, 2005, 88(9): 3149-3154.
- [11] GENIGEORGIS C A. Present state of knowledge on staphylococcal intoxication [J]. International Journal of Food Microbiology, 1989, 9(4): 327-360.
- [12] KATSUHIKO O, MACHIKO I, YU S, et al. Detection of *seg*, *seh*, and *sei* genes in *Staphylococcus aureus* isolates and determination of the enterotoxin productivities of *S. aureus* isolates harboring *seg*, *seh*, or *sei* genes [J]. Journal of Clinical Microbiol, 2002, 40(3): 857-862.
- [13] 陈智,江远山,熊燕,等. 金黄色葡萄球菌食物中毒分离株毒素基因的 PCR 分析[J]. 中国卫生检验杂志,2009,19(1): 21-23.
- [14] THOMAS D, CHOU S, DAUWALDER O, et al. Diversity in *Staphylococcus aureus* enterotoxins [J]. Chemical Immunology and Allergy, 2007, 93(1): 24-41.

· 公告 ·

市场监管总局关于发布《畜肉中卡拉胶的测定》食品补充检验方法的公告

〔2018 年第 10 号〕

按照《食品补充检验方法工作规定》有关规定,《畜肉中卡拉胶的测定》食品补充检验方法已经国家市场监督管理总局批准,现予发布。

特此公告。

附件:畜肉中卡拉胶的测定(BJS 201804)

市场监管总局

二〇一八年六月十一日

(相关链接: http://samr.saic.gov.cn/gg/201806/t20180614_274626.html)