

调查研究

雅安市部分市售凉菜中金黄色葡萄球菌污染调查及分子分型

吴任之¹,张翼¹,王鑫¹,代明涛¹,何小容¹,贺巧玲²,韩国全¹

(1. 四川农业大学食品学院,食品加工与安全研究所,四川雅安 625014;

2. 四川省食品检验研究院,四川成都 611731)

摘要:目的 了解部分市售凉菜中金黄色葡萄球菌的污染状况、毒力基因分布、生物被膜形成能力及菌株分子分型特征。方法 从餐饮店、超市、流动摊点采集 200 份凉菜进行金黄色葡萄球菌分离鉴定,采用刚果红平板法及结晶紫染色法检测分离菌株生物被膜形成能力;通过 PCR 技术检测其毒力基因和生物被膜基因,并进行 *agr* 分型和多位点序列(MLST)分型。结果 共分离出 24 株金黄色葡萄球菌,检出率为 10.50%(21/200);抽检的凉拌类样品检出率为 13.73%(14/102),卤制类检出率为 7.14%(7/98);传统肠毒素基因中 *seA* 检出率最高,为 50.00%(12/24);而 *seE* 的检出率最低,为 16.67%(4/24),中毒休克综合征毒素-1(*TSST-1*)与杀白细胞毒素(*PVL*)检出率分别为 4.17%(1/24)和 25.00%(6/24),溶血毒素基因检出率较高,脱皮毒素基因仅检出 *etd*;刚果红平板法试验中阳性占 62.5%(15/24),结晶紫染色法中阳性占 100%;生物被膜基因以 *cna* 和 *clfB* 为主,未检出 *bap*;菌株分子分型以 *agr I* 和 ST188 为主。结论 部分市售凉菜中存在金黄色葡萄球菌污染,菌株携带多种毒力基因,成膜能力强,有潜在食品安全风险。

关键词:凉菜;金黄色葡萄球菌;毒力基因;生物被膜;分子分型

中图分类号:R155

文献标识码:A

文章编号:1004-8456(2022)06-1257-06

DOI:10.13590/j.cjfh.2022.06.020

Investigation and molecular typing of *Staphylococcus aureus* in cold dishes sold in the market of Ya'an

WU Renzhi¹, ZHANG Yi¹, WANG Xin¹, DAI Mingtao¹, HE Xiaorong¹, HE Qiaoling², HAN Guoquan¹

(1. Sichuan Agricultural University Food College, Institute of Food Processing and Safety, Sichuan Ya'an 625014, China; 2. Sichuan Food Inspection ReseArch Institute, Sichuan Chengdu 611731, China)

Abstract: Objective To investigate the contamination status, virulence gene distribution, biofilm formation ability and molecular typing characteristics of *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) in some commercial cold dishes. **Methods** Two hundred cold dishes sold in restaurants, supermarkets and street vendor stalls were sampled, and *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) were separated. Congo red plate method and crystal violet staining method were used to detect the biofilm-forming ability of the isolates. Virulence genes and biofilm genes were detected by PCR, as well as *agr* typing and multilocus sequence typing (MLST). **Results** Twenty four strains of *S. aureus* were isolated, and the detection rate was 10.50%(21/200); the detection rate of cold dishes was 13.73%(14/102), and the detection rate of stewed meat product was 7.14%(7/98); the highest detection rate of *seA* in the traditional enterotoxin gene was 50.00%(12/24), and the lowest of *seE* was 16.67%(4/24). Poisoning shock syndrome toxin-1 (*TSST-1*) and leukotoxin (*PVL*) were 4.17%(1/24) and 25.00%(6/24), respectively. The detection rate of hemolysin gene was relatively high, and only *etd* was detected in the dermatoin gene. The positive rate was 62.5%(15/24) in Congo red plate test and 100% in crystal violet staining; the biofilm genes were mainly *cna* and *clfB*, and *bap* was not detected; the molecular typing of the strains was mainly *agr I* and ST188. **Conclusion** The *S. aureus* contamination exists in some cold dishes sold in Ya'an city. The strains carried multiple virulence genes, had strong film-forming ability and had potential food safety risks.

Key words: Cold dishes; *Staphylococcus aureus*; virulence genes; biofilm; molecular typing

收稿日期:2021-09-28

作者简介:吴任之 男 微生物助理工程师 研究方向为食品药品微生物检测 E-mail:1414173602@qq.com

通信作者:韩国全 男 副教授 研究方向为微生物与食品安全及农产品加工与品质控制 E-mail:hans-980306@sicau.edu.cn

凉菜是将经初加工的原料添加配料制作装盘而成的即食菜肴,是我国居民较为喜爱的食品;由于食品原料多样,食品生产加工过程有加热或不加热后再处理加工环节,容易发生交叉污染,导致致病菌生长繁殖,尤其在夏季,其污染率远高于秋季^[1]。

金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*, *S. aureus*) 是一种常见的食源性致病菌,广泛分布于自然界中,能引起菌血症、肺炎、皮肤和软组织感染以及食物中毒。金黄色葡萄球菌含有 *nuc* 基因,编码的耐热核酸酶不仅是金黄色葡萄球菌所特有,且具有较高的保守性,根据 *nuc* 基因的特异性,可用于快速鉴定金黄色葡萄球菌。近年来,国内外金黄色葡萄球菌引起的食物中毒事件屡见不鲜:美国细菌性食物中毒事件中,金黄色葡萄球菌引起的事件居第2位^[2],2003—2012年石家庄地区细菌性食物中毒事件中,金黄色葡萄球菌占首位^[3]。自1961年英国首次发现耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)以来,MRSA已在全世界范围内广泛传播,MRSA常表现出广谱耐药性,给临床治疗带来了极大困难。金黄色葡萄球菌引起的食源性疾病主要与其产生的传统肠毒素(*seA~seE*)有关^[4]。生物被膜是附着于惰性或活性实体表面的细菌细胞和包裹细菌的水合性基质所组成的结构性细菌群落,可保护菌体免受抗生素和宿主防御细胞释放的蛋白酶等因素的影响,这种保护可使金黄色葡萄球菌在食品加工环境中持续存在,从而增加交叉污染的风险。附属基因调节因子(*Accessory gene regulator*, *agr*)属于金黄色葡萄球菌的群体感应系统,能控制其致病性和侵入性感染,系主要的毒力调控系统;由于 *agr* 调控系统控制着细菌毒力因子的表达,不同的 *agr* 型的菌株在临床致病性上具有差异;同时由于该分型方法操作简单、成本极低,因此在金黄色葡萄球菌的分子分型中常被用到。多位点序列分型(Multi-locus sequence typing, MLST)是一种基于核酸序列测定细菌分型的方法,通过PCR扩增多个管家基因内部片段,测定其序列,从而进行分型。MLST分型数据库属开放型国际数据库,既能在数据库中检索菌株的ST型,也能上传新的等位基因序列和ST型,能够实现金黄色葡萄球菌全球范围内流行病学数据共享。同时,能将同种细菌分为更多的亚型,并确定不同ST型之间的系统发育关系,为金黄色葡萄球菌溯源及遗传关系的调查分析提供有效技术手段。

本研究从雅安市的200份市售凉菜中分离金黄色葡萄球菌,并对分离菌株进行毒力基因及分子分型检测,以期为当地食源性金黄色葡萄球菌的风险防控提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 样品来源

2021年6—7月从四川省雅安市餐饮店、超市

和流动摊点无菌操作采集凉菜200份,每份样品50~100g,冷藏条件送入实验室。其中凉拌类样品102份(凉拌三丝、凉拌木耳等),卤制类样品98份(卤鸡爪、卤猪头肉等)。

1.2 主要仪器与试剂

自动高压灭菌器(山东新华医疗器械股份有限公司);T100型PCR仪、SUB-CELLGT水平电泳槽、GELDOXR+凝胶成像分析仪(美国Bio-Rad公司);DNP-9025电热恒温培养箱(上海精宏实验设备有限公司)。

刚果红琼脂:BHI肉汤37g/L⁻¹,蔗糖36g/L⁻¹,刚果红0.8g/L⁻¹,琼脂10g/L⁻¹,121℃高压蒸汽灭菌15min;Baird-Parker琼脂平板、脑心浸出液肉汤(Brain heart infusion, BHI)、兔血浆、营养琼脂、金黄色葡萄球菌(ATCC 25923)(广州环凯微生物科技有限公司);聚合酶链式反应应用2×Taq Master Mix、DL2000 DNA Marker、引物(成都擎科生物技术有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 菌株分离与鉴定

按照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》及耐热核酸酶基因(*nuc*)扩增,对样品进行菌株分离与鉴定。根据DNA提取试剂盒使用说明书进行细菌DNA提取,金黄色葡萄球菌(ATCC 25923)为阳性对照。

1.3.2 *mecA*基因和毒素基因分析

参照文献[5-6],对金黄色葡萄球菌的*mecA*基因和13种毒素基因进行PCR扩增,并进行琼脂糖凝胶电泳和凝胶成像,观察目的条带。

1.3.3 生物被膜形成能力检测

1.3.3.1 刚果红定性检测

挑取单菌落接种于TSB培养基中,37℃、180r/min培养过夜,将培养后的细菌划线于刚果红琼脂平板,37℃培养18h,置于室温72h后观察菌落特点;产生物被膜的菌落为黑色,不产生物被膜的菌落为红色,试验重复3次。根据菌落黑色的深浅,将产生物被膜阳性菌株分为3类:浅黑(弱)、黑色(中)和深黑(强)^[7-8]。

1.3.3.2 结晶紫染色法定量检测

参照WANG等^[6]和张阳^[9]的方法:挑取单菌落接种于TSB培养基中,37℃过夜培养,将菌液稀释至0.5麦氏浊度,备用。将200μL含1%葡萄糖的新鲜TSB(TSBglc)培养基分别加入96微孔板中,再取上述菌液按1%的接种量加入96微孔板中。生物被膜阳性菌株ATCC 25923作为阳性对照,TSB培养基作为空白对照,平行3次。37℃培养72h后

弃去菌液,用 200 μ L PBS 洗涤 3 次,并用 200 μ L 甲醇固定 20 min 后弃去甲醇,自然干燥;再用 200 μ L 0.4% 结晶紫染色 15 min;再用无菌 PBS 洗涤 3 次,自然风干;用 200 μ L 33% 冰醋酸溶解 30 min,酶标仪测定 570 nm 处的光密度值。

依据临界 OD_c 值(OD_c 等于空白孔的平均值加上其 3 倍的标准差而得到的 OD 值)对生物被膜分类: OD \leq OD_c 为不黏附, OD_c<OD \leq 2OD_c 为弱黏附(+), 2OD_c<OD \leq 4OD_c 为中等黏附(++), OD>4OD_c 为强黏附(+++).

1.3.3.3 生物被膜基因检测

参照 WANG 等^[6]的方法,检测金黄色葡萄球菌的成膜基因(*bap*, *icaA*, *icaD*)和黏附基因(*fnbA*, *fnbB*, *clfA*, *clfB*, *cna*)。

1.3.4 agr 分型

参照张阳^[9]的方法,采用多重 PCR 法对试验菌株进行 agr 分型。

1.3.5 多位点序列分型

根据 MLST 网站提供的 7 对管家基因(*arcC*, *aroE*, *glpF*, *gmk*, *pta*, *tpi* 和 *yqiL*)进行 PCR 扩增。将反应好的 PCR 产物进行双向测序。再将序列与 MLST 数据库(<http://www.mlst.net>)上公布的相应基因的等位基因进行比较,得到等位基因谱和相应的 ST 型。

1.4 数据处理

采用微软 Excel 2019 和 SPSS 19.0 软件进行数据整理和统计学分析。

2 结果

2.1 金黄色葡萄球菌检出情况

夏季(6—7月)从四川省雅安市雨城区餐饮店、超市和流动摊点分别采集凉菜样品 144 份、30 份和 26 份,检出率分别为 10.42%(15/144)、6.67%(2/30)、15.38%(4/26);200 份样品的总检出率为 10.50%(21/200)。餐饮店样品中,凉拌类检出率为 10.67%(8/75),卤制类检出率为 10.14%(7/69);超市和流动摊点凉拌类样品检出率为 18.18%(2/11)和 25.00%(4/16),卤制类样品均未检出金黄色葡萄球菌(表 1)。

表 1 样品中金黄色葡萄球菌的检出率

样品来源	检出率/%		
	凉拌类	卤制类	总污染
餐饮店	10.67(8/75)	10.14(7/69)	10.42(15/144)
超市	18.18(2/11)	0(0/19)	6.67(2/30)
流动摊点	25.00(4/16)	0(0/10)	15.38(4/26)

2.2 mecA 基因和毒力基因检出结果

24 株金黄色葡萄球菌中,有 3 株携带 *mecA* 基因,占 12.50%(3/24)。5 种肠毒素均能在分离株中检出,*seA* 检出率最高,为 50.00%(12/24),*seB* 和 *seC* 检出率均为 33.33%(8/24),*seD* 检出率为 29.17%(7/24),而 *seE* 检出率最低,为 16.67%(4/24)。

PVL 检出率为 25.00%(6/24),凉拌类样品分离株 12.50%(2/16),卤制类样品分离株 50.00%(4/8),*TSST-1* 仅在凉拌类样品分离株中检出一株。溶血毒素基因中,*hld* 检出率最高,为 50.00%(12/24),其次为 *hla* 45.83%(11/24)、*hly* 37.50%(9/24),脱皮毒素基因 *etd* 检出率为 8.33%(2/24),*eta*、*etb* 检出率均为 0。87.5% 的菌株携带至少一种毒力基因(21/24),无菌株携带相同毒力基因组合(表 2~3)。

表 2 金黄色葡萄球菌毒力基因检出结果

Table 2 Detection of virulence genes in *S. aureus*

基因	检出率/%		
	凉拌类	卤制类	总检出率
<i>seA</i>	43.75(7/16)	62.50(5/8)	50.00(12/24)
<i>seB</i>	43.75(7/16)	12.50(1/8)	33.33(8/24)
<i>seC</i>	37.50(6/16)	25(2/8)	33.33(8/24)
<i>seD</i>	18.75(3/16)	50(4/8)	29.17(7/24)
<i>seE</i>	6.25(1/16)	37.50(3/8)	16.67(4/24)
<i>PVL</i>	12.50(2/16)	50.00(4/8)	25.00(6/24)
<i>TSST-1</i>	6.25(1/16)	0(0/8)	4.17(1/24)
<i>hla</i>	37.50(6/16)	62.50(5/8)	45.83(11/24)
<i>hly</i>	31.25(5/16)	50.00(4/8)	37.50(9/24)
<i>hld</i>	56.25(9/16)	37.50(3/8)	50.00(12/24)
<i>eta</i>	0(0/16)	0(0/8)	0(0/24)
<i>etb</i>	0(0/16)	0(0/8)	0(0/24)
<i>etd</i>	6.25(1/16)	12.50(1/8)	8.33(2/24)

表 3 金黄色葡萄球菌多重毒力基因携带情况

Table 3 Multiple virulence genes of *S. aureus*

基因数	基因组合	菌株数	百分比/%
0	—	3	12.50
1	<i>seB</i>	3	12.50
	<i>hld</i>		
	<i>etd</i>		
2	<i>seA</i> , <i>tst</i>	4	16.67
	<i>seB</i> , <i>hld</i>		
	<i>pvl</i> , <i>hld</i>		
	<i>hla</i> , <i>hly</i>		
3	<i>seA</i> , <i>seB</i> , <i>seC</i>	2	8.33
	<i>pvl</i> , <i>hla</i> , <i>hld</i>		
4	<i>seA</i> , <i>seE</i> , <i>hla</i> , <i>hly</i>	5	20.83
	<i>seA</i> , <i>seC</i> , <i>seD</i> , <i>pvl</i>		
	<i>seA</i> , <i>seD</i> , <i>hld</i> , <i>etd</i>		
	<i>seB</i> , <i>hla</i> , <i>hly</i> , <i>hld</i>		
	<i>seB</i> , <i>seC</i> , <i>pvl</i> , <i>hld</i>		
5	<i>seA</i> , <i>seB</i> , <i>seC</i> , <i>hla</i> , <i>hly</i>	2	8.33
	<i>seA</i> , <i>seD</i> , <i>pvl</i> , <i>hla</i> , <i>hld</i>		
6	<i>seA</i> , <i>seC</i> , <i>seD</i> , <i>hla</i> , <i>hly</i> , <i>hld</i>	2	8.33
	<i>seA</i> , <i>seC</i> , <i>seE</i> , <i>hla</i> , <i>hly</i> , <i>hld</i>		
7	<i>seA</i> , <i>seB</i> , <i>seC</i> , <i>seD</i> , <i>hla</i> , <i>hly</i> , <i>hld</i>	3	12.50
	<i>seA</i> , <i>seB</i> , <i>seD</i> , <i>seE</i> , <i>hla</i> , <i>hly</i> , <i>hld</i>		

2.3 生物被膜形成能力检测结果

刚果红琼脂试验中,生物被膜呈阳性的菌株占62.50%(15/24),其中凉拌类分离株占45.83%(11/24),卤制类16.67%(4/24)。生物被膜呈阴性的菌株占37.50%(9/24),其中凉拌类分离株20.83%(5/24),卤制类16.67%(4/24)。

结晶紫染色试验中,70.83%(17/24)株菌形成强生物被膜,其中凉拌类分离株占50.00%(12/24),卤制类占20.83%(5/24)。凉拌类和卤制类均有12.50%(3/24)的菌株形成中生物被膜,弱生物被膜仅在凉拌类中检出1株(4.17%)。

成膜基因检测中,91.67%(22/24)的菌株至少携带一种成膜基因或黏附基因。*cna*基因检出率最高,为83.33%(20/24);*clfB*、*icaD*、*fnbB*、*icaA*、*clfA*、*fnbA*检出率分别为70.83%(17/24)、58.33%(14/24)、50.00%(12/24)、20.83%(5/24)、16.67%(4/24)、12.50%(3/24);*bap*未检出(表4~5)。

表4 刚果红试验及结晶紫试验结果

Table 4 Congo red test and crystal violet test results

菌株	刚果红试验		结晶紫染色试验		
	阳性/株	阴性/株	强黏附/株	中黏附/株	弱黏附/株
凉拌类	11	5	12	3	1
卤制类	4	4	5	3	0

表5 金黄色葡萄球菌生物被膜基因携带情况

Table 5 Multiple biofilm genes of *S.aureus*

基因	检出率/%		
	凉拌类	卤制类	总检出率
<i>icaA</i>	12.50(2/16)	37.50(3/8)	20.83(5/24)
<i>icaD</i>	43.75(7/16)	87.50(7/8)	58.33(14/24)
<i>clfA</i>	12.50(2/16)	25.00(2/8)	16.67(4/24)
<i>clfB</i>	68.75(11/16)	75.00(6/8)	70.83(17/24)
<i>fnbA</i>	6.25(1/16)	25.00(2/8)	12.50(3/24)
<i>fnbB</i>	50.00(8/16)	50.00(4/8)	50.00(12/24)
<i>cna</i>	75.00(12/16)	100(8/8)	83.33(20/24)
<i>bap</i>	0(0/16)	0(0/8)	0(0/24)

2.4 *agr*分型及MLST分型

对24株金黄色葡萄球菌进行*agr*分型,优势型为*agr* I,占41.67%(4/24);*agr* III占4.17%(1/24),*agr* II和*agr* IV均未检出。13株菌未分型,占54.17%(图1)。

MLST试验中,共计6种ST型。优势分子型为ST188 33.33%(8/24),其余依次为ST15 29.17%(7/24)、ST398 20.83%(5/24)、ST88 8.33%(2/24)、ST25 4.17%(1/24)、ST59 4.17%(1/24)(图2)。

3 讨论

本研究从四川省雅安市雨城区餐饮店、超市、流动摊点采集凉菜样品200份,总检出率为10.50%,与YANG等^[10]对即食食品的调查结果相似

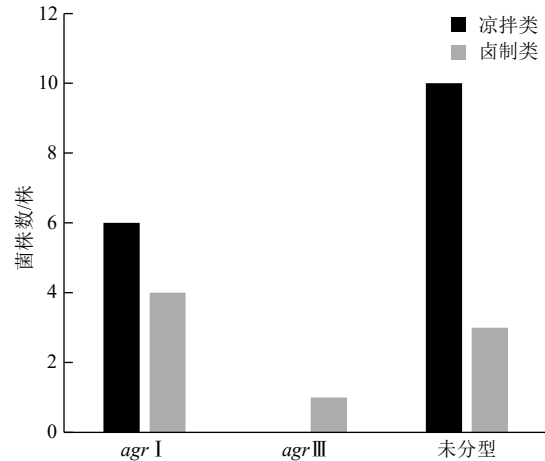


图1 金黄色葡萄球菌 *agr*分型

Figure 1 *agr* typing of *S.aureus*

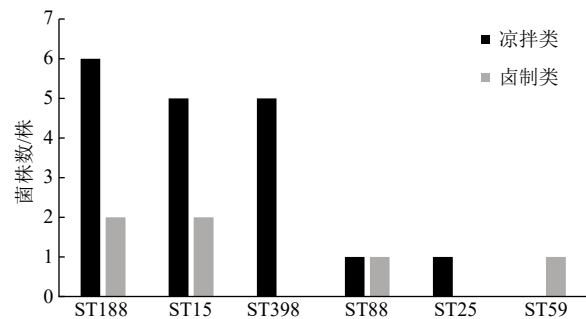


图2 多位点序列分型结果

Figure 2 Results of MLST

(12.5%),但高于韩国(5.98%)对即食食品的报道^[11]。流动摊点源样品检出率最高,超市源样品检出率最低,这可能与流动摊点加工不规范、卫生条件差有关。即食食品污染的主要来源并非食品来源本身,而是食品制作过程中人员和器械表面携带而导致污染^[12]。本研究中,凉拌类样品检出率高于卤制类样品,可能与卤制品加工过程为高温熟制有关。

由食源性致病微生物感染而引起的疾病中,金黄色葡萄球菌是最常见的食源性致病菌之一,其分泌的肠毒素是导致食物中毒的关键毒力因子。金黄色葡萄球菌肠毒素引起食物中毒事件主要与分泌的*seA*有关^[13],本研究*seA*分离率为50.00%,与国内LV等^[14]对食物中毒分离株研究相似;*seE*检出率为16.67%,与HAGHI等^[15]研究一致,但也有研究表明*seE*检出率为0^[16];因此,不同地区金黄色葡萄球菌肠毒素检出率可能不同。*PVL*是金黄色葡萄球菌重要的毒力基因,不同国家和地区的检出率有一定差异^[17]。相关研究表明MRSA菌株的*PVL*检出率高于甲氧西林敏感菌株(MSSA)^[18],本研究中MRSA菌株*PVL*检出率较MSSA菌株高,与之相符。溶血毒素检出率低于LI等^[19]的研究,高于国外PUAH等^[20]的研究,说明不同地区、不同来源的金黄色葡萄球菌,携带溶血毒素基因的情况不同。

生物被膜是导致细菌耐药性增强的一个重要原因,刚果红试验中,生物被膜呈阳性的有 62.5%,低于郭慧琴等^[8]的研究,卤制类样品分离株生物被膜阳性率低于凉拌类,说明不同来源金黄色葡萄球菌生物被膜形成能力不同。结晶紫试验中,形成强生物被膜的有 70.83%,高于 WANG 等^[6]的研究,3 株 MRSA 菌株均能形成强生物被膜。91.67% 的金黄色葡萄球菌至少检测出一种生物被膜基因。

agr 分型试验中,以 *agr* I 型为主,这与张阳研究结果相符^[9],*agr* II、IV 均未检出,研究表明,*agr* II 和 *agr* III 为临床分离的主要优势型^[21-22],本研究 *agr* III 仅检出一株。PAULANDER 等^[23]研究发现,金黄色葡萄球菌临床分离株有 15%~60% 为 *agr* 缺陷性菌株,这与本研究一致(54.17%)。MLST 分型共检出 6 种 ST 型,以 ST188 为主要流行株。YU 等^[24]的研究表明,ST188 型菌株多为 MSSA,本研究与之相符。ST398 是世界上流行范围最广的菌株,ST398-MSSA 菌株常在人与人之间传播,易对人造成侵袭性感染^[25],本研究检出 4 株 ST398-MSSA,占 16.67%。YANG 等^[10]研究表明,即食食品金黄色葡萄球菌以 ST59 和 ST338 为主,但本研究仅检出一株 ST59,未检出 ST338,这表明不同地区金黄色葡萄球菌的遗传特性存在较大差异。

本研究中金黄色葡萄球菌含多种毒力因子,分子分型特征多样,引起食物中毒的风险较大;因此,在凉菜的加工、售卖过程中,不仅要保证食品安全,加强自身卫生状况,还需在售卖过程中让食品保持相对低的温度,以防止金黄色葡萄球菌肠毒素的产生;同时相关部门应在相应的季节加大采样量,做好风险防控。

参考文献

- [1] 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 H, QIN L X, LUO B Z, 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.
- [2] SCALLAN E, HOEKSTRA R M, ANGULO F J, et al. Foodborne illness acquired in the United States—major pathogens [J]. Emerging Infectious Diseases, 2011, 17(1): 7-15.
- [3] 郭玉梅,秦丽云,徐保红,等.2003至2012年石家庄地区细菌性食物中毒病原菌特征研究[J].微生物学杂志,2013,33(5): 73-77.
GUO Y M, QIN L Y, XU B H, et al. Pathogenic characteristics of bacterial food-poisoning in 2003 to 2012 in Shijiazhuang[J]. Journal of Microbiology, 2013, 33(5): 73-77.
- [4] KÉROUANTON A, HENNEKINNE J A, LETERTRE C, et al. Characterization of *Staphylococcus aureus* strains associated with food poisoning outbreaks in France [J]. International Journal of Food Microbiology, 2007, 115(3): 369-375.
- [5] OTE I, TAMINIAU B, DUPREZ J N, et al. Genotypic characterization by polymerase chain reaction of *Staphylococcus aureus* isolates associated with bovine mastitis [J]. Veterinary Microbiology, 2011, 153(3-4): 285-292.
- [6] WANG W, LIN X H, JIANG T, et al. Prevalence and characterization of *Staphylococcus aureus* cultured from raw milk taken from dairy cows with mastitis in Beijing, China [J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 1123.
- [7] 回丽媛,李军,朱明星,等.抗菌肽 17BIPHE2 对金黄色葡萄球菌生物被膜的抑制作用 [J].微生物学通报,2017,44(4): 872-880.
HUI L Y, LI J, ZHU M X, et al. Inhibition of *Staphylococcus aureus* biofilm by antimicrobial peptide 17BIPHE2 [J]. Microbiology China, 2017, 44(4): 872-880.
- [8] 郭慧琴,李田,肖鹏,等.牛源金黄色葡萄球菌的分离鉴定、耐药性分析及木糖醇对生物被膜形成的干预 [J].中国兽医学报,2019,39(5): 889-893.
GUO H Q, LI T, XIAO P, et al. Isolation, identification and bacterial resistance of dairy cows' *Staphylococcus aureus* and intervention of biofilm formation by xylitol [J]. Chinese Journal of Veterinary Science, 2019, 39(5): 889-893.
- [9] 张阳.猪源金黄色葡萄球菌的毒力基因分布,生物被膜形成和凝血致病性的研究 [D].广州:华南理工大学,2018.
ZHANG Y. The Distribution of virulence genes, biofilm formation and coagulation pathogenicity of porcine *Staphylococcus aureus*. Guangzhou [D]: South China University of Technology, 2018.
- [10] YANG X J, ZHANG J M, YU S B, et al. Prevalence of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in retail ready-to-eat foods in China [J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 816.
- [11] 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.
- [12] TANGO C N, HONG S S, WANG J, et al. Assessment of enterotoxin production and cross-contamination of *Staphylococcus aureus* between food processing materials and ready-to-eat cooked fish paste [J]. Journal of Food Science, 2015, 80(12): M2911-M2916.
- [13] ISLAM M A, PARVEEN S, RAHMAN M, et al. Occurrence and characterization of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in processed raw foods and ready-to-eat foods in an urban setting of a developing country [J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 503.
- [14] LV G, JIANG R P, ZHANG H, et al. Molecular characteristics of *Staphylococcus aureus* from food samples and food poisoning outbreaks in Shijiazhuang, China [J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 652276.
- [15] HAGHI F, ZEIGHAMI H, HAJILOO Z, et al. High frequency of enterotoxin encoding genes of *Staphylococcus aureus* isolated

- from food and clinical samples[J]. *Journal of Health, Population, and Nutrition*, 2021, 40 (1): 27.
- [16] VARSHNEY A K, MEDIAVILLA J R, ROBIOU N, et al. Diverse enterotoxin gene profiles among clonal complexes of *Staphylococcus aureus* isolates from the Bronx, New York[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75 (21): 6839-6849.
- [17] FU Y, XIONG M Y, LI X H, et al. Molecular characteristics, antimicrobial resistance and virulence gene profiles of *Staphylococcus aureus* isolates from Wuhan, central China[J]. *Infection and Drug Resistance*, 2020, 13: 2063-2072.
- [18] MARTÍNEZ-AGUILAR G, AVALOS-MISHAAN A, HULTEN K, et al. Community-acquired, methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* musculoskeletal infections in children[J]. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 2004, 23 (8): 701-706.
- [19] LI X H, HUANG T, XU K, et al. Molecular characteristics and virulence gene profiles of *Staphylococcus aureus* isolates in Hainan, China[J]. *BMC INFECTIOUS DISEASES*, 2019, 19(1): 873.
- [20] PUAH S M, CHUA K H, TAN J A M A. Virulence factors and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolates in ready-to-eat foods: Detection of *S. aureus* contamination and a high prevalence of virulence genes[J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2016, 13 (2): 199.
- [21] KHAN S, RASHEED F, ZAHRA R. Genetic Polymorphism of agr Locus and Antibiotic Resistance of *Staphylococcus aureus* at two hospitals in Pakistan [J]. *Pakistan Journal of Medical Sciences*, 2014, 30 (1): 172-176.
- [22] XIE Y P, HE Y P, GEHRING A, et al. Genotypes and toxin gene profiles of *Staphylococcus aureus* clinical isolates from China[J]. *PLoS One*, 2011, 6 (12): e28276.
- [23] PAULANDER W, NISSEN VARMING A, BÆK K T, et al. Antibiotic-mediated selection of quorum-sensing-negative *Staphylococcus aureus*[J]. *mBio*, 2013, 3(6): e00459-e00412.
- [24] YU F Y, LI T J, HUANG X Y, et al. Virulence gene profiling and molecular characterization of hospital-acquired *Staphylococcus aureus* isolates associated with bloodstream infection[J]. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 2012, 74 (4): 363-368.
- [25] UHLEMANN A C , MCADAM P R , SULLIVAN S B , et al. Evolutionary dynamics of pandemic methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* st398 and its international spread via routes of human migration[J]. *Mbio*, 2017, 8(1): e01375-16.