

实验技术与方法

北京某区一起疑似金黄色葡萄球菌肠毒素中毒分析

李湛^{1,2}, 黄振洲³, 李首飞^{1,2}, 康颖^{1,2}, 闫爱霞^{1,2}, 王苗^{1,2}, 王园园^{1,2}, 王洛桐^{1,2}, 张茂俊^{2,3}, 王凤双^{1,2}, 李颖^{1,2}
(1. 北京市顺义区疾病预防控制中心, 北京 101300; 2. 北京市顺义区疾病预防控制中心微生物感染性疾病检测工作站, 北京 101300; 3. 中国疾病预防控制中心传染病预防控制所, 北京 102206)

摘要:目的 通过实验室检测及全基因组测序, 分析一起金黄色葡萄球菌肠毒素(SEs)中毒, 为应对此类食源性暴发事件提供经验。方法 采集可疑受污染食品、病例肛拭子和环境涂抹样本, 采用金黄色葡萄球菌5种肠毒素(SEA、SEB、SEC、SED、SEE)的酶联免疫吸附实验(ELISA)检测及肠毒素基因(*sea*、*seb*、*sec*、*sed*、*see*)荧光PCR方法检测; 对分离株进行耐药表型检测 and 全基因组测序并构建进化树。结果 3件可疑受污染的食品未检出SEs。荧光PCR检测3件可疑污染食品的增菌液结果都为 *nuc*+/*seb*+。从3件可疑受污染食品中共分离到9株 *seb*+金黄色葡萄球菌, 其中从食品1中分离到2株 *t78*型和1株 *t437*型, 食品2和食品3中分离到的菌株均为 *t437*型, 同一 *spa*分型菌株具有相同耐药表型。从1件环境涂抹中分离出2株5种肠毒素基因均为阴性的金黄色葡萄球菌, 均为 *t571*型。由9株食品分离株和2株环境分离株构建cgSNP进化树, 显示形成3个独立且遗传关系较远分支。9株食品分离株产毒培养后ELISA肠毒素检测结果为SEB阳性。结论 本起事件为可疑SEB中毒事件, 全基因组测序可提供较为全面的生物信息数据以应对此类事件。

关键词: 食物中毒; 金黄色葡萄球菌肠毒素; 全基因组测序; 荧光PCR; 酶联免疫吸附试验

中图分类号: R155

文献标识码: A

文章编号: 1004-8456(2024)08-0910-06

DOI: 10.13590/j.cjfh.2024.08.003

Analysis of a suspected *Staphylococcus aureus* enterotoxin poisoning in a district of Beijing

LI Zhan^{1,2}, HUANG Zhenzhou³, LI Shoufei^{1,2}, KANG Ying^{1,2}, YAN Aixia^{1,2}, WANG Miao^{1,2},
WANG Yuanyuan^{1,2}, WANG Luotong^{1,2}, ZHANG Maojun^{2,3}, WANG Fengshuang^{1,2}, LI Ying^{1,2}

(1. Beijing Shunyi District Center for Disease Control and Prevention, Beijing 101300, China;

2. Microbiological Infectious Disease Detection Workstation, Beijing Shunyi District Center for Disease Control and Prevention, Beijing 101300, China; 3. Institute of Infectious Disease Prevention and Control, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 102206, China)

Abstract: Objective To provide experience for the response to *Staphylococcus aureus* enterotoxin (SEs) poisoning outbreak, lab test and whole genome sequencing (WGS) technology was used to analyze a SEs poisoning outbreak.

Methods Suspected contaminated food, anal swabs and environmental smear samples in this event was collected. enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for five SEs (SEA, SEB, SEC, SED, SEE), and real time PCR for genes of SEs (*sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*) were performed. Drug resistance phenotype and WGS were performed in *Staphylococcus aureus* strains isolated from samples, and a cgSNP evolutionary tree was constructed. **Results** SEs were negative for three suspected contaminated foods. Real time PCR for enrichment solution of the three suspected contaminated foods were all *nuc*+/*seb*+, and 9 isolates of *seb*+ *S. aureus* were isolated from three suspicious contaminated foods, among which two isolates of type *t78* and one isolate of type *t437* from food 1, and the isolates from food 2 and food 3 were all type *t437*, with the same *spa* typing isolates having the same drug-resistant phenotype. Two isolates of *S. aureus* were isolated from one environmental smear, which negative for five SEs genes and presenting the same type *t571*. Three independent and genetically distant branches were formed in a cgSNP evolutionary tree constructed based on nine food isolates and two environmental isolates of *S. aureus*. Nine food isolates were positive for SEB by ELISA. **Conclusion** This incident is a

收稿日期: 2023-06-30

基金项目: 首都卫生发展科研专项(2024-2G-7106)

作者简介: 李湛 女 微生物检验技术主管技师 研究方向为病原微生物 E-mail: lz19940509@sina.com

通信作者: 李颖 男 副主任技师 研究方向为微生物检验 E-mail: liying19830805@126.com

suspected SEB intoxication, and whole genome sequencing may provide more comprehensive bioinformatic data to respond to such incidents.

Key words: Food poisoning; *Staphylococcus aureus* enterotoxin; whole genome sequencing; real time PCR; enzyme-linked immunosorbent assay

金黄色葡萄球菌广泛分布在自然界中,在人和动物的鼻咽部、体表及排泄物中均可分离^[1],是一种重要的人兽共患病原菌。食品及容器容易受到金黄色葡萄球菌的污染,部分金黄色葡萄球菌可分泌肠毒素(*Staphylococcus aureus* enterotoxins, SEs),极低浓度 SEs 即可引起食物中毒^[2]。常见 SEs 型别为 A、B、C、D 和 E 型,分别由 *sea*、*seb*、*sec*、*sed*、*see* 基因编码,其中以 SEA 导致食物中毒事件居多,SEB 次之^[3-7]。

在 SEs 中毒事件的实验室检测中,病原学诊断首选方法为直接对可疑污染食品进行 SEs 的酶联免疫吸附试验(Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA),也可进行金黄色葡萄球菌分离培养,再对分离菌株产毒培养后进行 SEs 的 ELISA 检测^[8-9]。在中毒事件中常通过荧光 PCR 法检测样本的增菌(Whole genome sequencing, WGS)被广泛应用在细菌性疾病暴发事件中,其能全面反映病原体基因组变异,在暴发溯源调查中拥有广阔的应用前景。通过 WGS 可获得金黄色葡萄球菌 A 蛋白基因分型(*spa* 分型)、多位点序列分型(Multilocus sequence typing, MLST),可进行基于菌株核心基因组单核苷酸多态性(cgSNP)进行遗传聚集性和遗传进化分析,但目前 WGS 在 SEs 导致暴发事件中进行分离株特征解析的实例还鲜有报道。既往基于一代测序进行 *spa* 分型检测的报道中,*t701*、*t127*、*t091* 型在我国 SEs 暴发事件中最为常见^[10-14]。

本事件基于 2022 年 8 月发生在北京地区一起 SEB 导致中毒暴发事件,期间应用荧光 PCR 筛查肠毒素基因并使用 WGS 技术进行暴发溯源,为类似事件实验室应对提供经验。

1 材料与方法

1.1 流行病学调查

暴发事件发生在某工地食堂,5 名病例在同一食堂于当日 11:00 用午餐后出现急性胃肠炎症状并到医院就医,首发病例为当日 13:30,症状为腹泻,随后出现恶心、腹痛;末发病例为当日 15:30,首发症状为腹泻、呕吐。病例各症状出现频率为腹泻(100%, 5/5)、呕吐(80.00%, 4/5)和腹痛(60.00%, 3/5),病例潜伏期为 2~4 h。5 名病例配合调查人员采集到肛拭子样本(命名为 P1~P5),同时采集到病

例共同食用过的全部可疑污染食品 3 件(命名为 F1~F3)和食堂环境涂抹样本 8 件(T1~T8)。所有样本在 4 °C 条件下转运至区疾控中心实验室进行病原学检测。

1.2 主要仪器与试剂

CFX96 荧光 PCR 仪(Bio-Rad);VITEK2 Compact 全自动细菌鉴定系统(法国梅里埃公司);革兰氏阳性需氧菌药敏检测板(复星科技诊断上海有限公司)。

金黄色葡萄球菌显色培养基(科马嘉公司);7.5% 氯化钠肉汤、Baird-Park 琼脂平板、甘露醇卵黄多黏菌素平板、金黄色葡萄球菌产毒培养基和营养琼脂平板(北京陆桥生物技术有限公司);SEs 分型检测 ELISA 试剂盒(RIDASCREEN® SET ABCDE, 德国 r-biopharm);Genomic Wizard 试剂盒(Promega);金黄色葡萄球菌和肠毒素荧光 PCR 检测试剂盒、沙门菌、志贺菌、弯曲杆菌、致泻大肠埃希菌、副溶血性弧菌、诺如病毒、扎如病毒、轮状病毒、肠道腺病毒实时荧光 PCR 检测试剂盒(北京卓成惠生公司);磁珠法核酸提取试剂盒(江苏硕世公司);

1.3 方法

1.3.1 荧光 PCR 检测、分离培养和 ELISA 检测

原始食品样本 SEs 检测、金黄色葡萄球菌分离培养及分离株产毒后 SEs 检测均参照食品安全国家标准 GB 4789.10—2016《金黄色葡萄球菌检验》方法进行^[8];食品、病例肛拭子和环境涂抹均使用 7.5% NaCl 肉汤 36 °C 增菌 24 h,将增菌液 8 000 r/min 离心 5 min,然后使用 500 μL 去离子水重悬,分别使用磁珠提取法(已确认可以用于革兰阳性菌的提取)和水煮法提取细菌 DNA,进行金黄色葡萄球菌 *nuc*、*sea*、*seb*、*sec*、*sed*、*see* 基因实时荧光 PCR 检测,反应条件按照试剂盒说明书进行。肛拭子和环境涂抹样本增菌 24 h 后接种 Baird-Park 平板,所有疑似菌落均使用镜检、血浆凝固酶、VITEK2 Compact 全自动细菌鉴定系统鉴定。

1.3.2 耐药表型检测

金黄色葡萄球菌分离株药敏试验参考临床实验室标准化协会(Clinical and Laboratory Standard Institute, CLSI)^[15]M100 微量肉汤稀释法对金黄色葡萄球菌分离株进行 12 种抗生素的最低抑菌浓度(Minimum inhibitory concentration, MIC)测定并进行

耐药折点判读, 抗生素包括氨苄西林(Ampicillin, AMP)、青霉素(Penicillin, PEN)、苯唑西林(Oxacillin, OXA)、红霉素(Erythromycin, ERY)、克林霉素(Clindamycin, CLI)、环丙沙星(Ciprofloxacin, CIP)、达托霉素(Daptomycin, DAP)、复方新诺明(Sulfamethoxazole, SXT)、万古霉素(Vancomycin, VAN)、四环素(Tetracycline, TET)、氯霉素(Chloramphenicol, CHL)、庆大霉素(Gentamicin, GEN), 经数据分析得到MIC值药敏数据表达敏感S、中介敏感I和耐药R。

1.3.3 全基因组测序

菌株增菌培养后, 参考 Genomic Wizard 试剂盒说明书提取基因组 DNA。构建长度为 350 bp 插入片段的 DNA 测序文库; 采用 Illumina 公司的 Illumina HiSeq X Ten 测定序列, 读长为双端 150 bp。使用 SPAdes 3.12 软件进行序列组装; 使用 MUMmer、SAMtools 等软件进行序列比对并获取核心基因组单核苷酸多态性(Single nucleotide polymorphism, SNP), MUMmer 使用默认参数“-mum -b -c”, SAMtools 使用 mpileup 参数, 再使用 bcftools 进行 SNP 和 Indel 的分析; 使用 RaxML 软件构建最大似然树, Bootstrap 设置为 1 000; 将组装后的 fasta 数据提交在线网站 (<http://genomicepidemiology.org/services>) 获得菌株 spa 分型^[15]。

2 结果

2.1 样本检测

3 件食品(F1~F3)ESISA 检测 SEs 结果均为阴性, 食品增菌液的荧光 PCR 结果均为 *nuc+*/*sea-*/*seb+*/*sec-*/*sed-*/*see-*; 使用磁珠法提取和水煮法提取后的增菌液荧光 PCR 阳性结果分布一致。3 件食品共分到 9 株金黄色葡萄球菌(每件食品均分离到 3 株, 菌株命名为 2022BF06SA001~2022BF06SA009),

1 件环境涂抹(T6, 垃圾桶)分离出 2 株金黄色葡萄球菌(命名为 2022BF06SA010 和 2022BF06SA011)。病例肛拭子未检出金黄色葡萄球菌。所有样本沙门菌、志贺菌、弯曲杆菌、致泻大肠埃希菌、副溶血性弧菌、诺如病毒、札如病毒、轮状病毒、肠道腺病毒实时荧光 PCR 检测均为阴性, 致病菌检出情况见表 1。

2.2 分离金黄色葡萄球菌的肠毒素、肠毒素基因、spa 分型和耐药表型检测

分离自 3 件食品的 SEs 检测结果均为 SEB+, 其肠毒素基因携带特征均为 *sea-*/*seb+*/*sec-*/*sed-*/*see-*。分离自食品 1 的 2 株菌(2022BF06SA001 和 2022BF06SA003) spa 分型均为 *t078*, 分离自食品 1 的 1 株菌(2022BF06SA002)以及从食品 2 和食品 3 中分离的 6 株菌(2022BF06SA004~2022BF06SA009) spa 分型均为 *t437*。分离自环境涂抹的 2 株金黄色葡萄球菌(2022BF06SA010 和 2022BF06SA011)肠毒素及肠毒素基因检测结果均为阴性, 菌株 spa 分型均为 *t571*, 见表 1。

9 株由食品分离的金黄色葡萄球菌有 2 种耐药谱, 2 株 *t078* 菌株耐药表型均为 PEN, 7 株 *t437* 均为 PEN+ERY+CLI+TET 耐药; 2 株由环境涂抹分离的金黄色葡萄球菌耐药表型均为 PEN+ERY。见表 1。

2.3 分离金黄色葡萄球菌菌株构建进化树

9 株分离自食品和 2 株分离自环境涂抹金黄色葡萄球菌基于 cgSNP 构建进化树。以 GCF000013425 *S. aureus* 为参考菌株, 11 株菌形成 3 个相互独立且遗传距离较远的分支, 2 株 *t078* 菌株、7 株 *t437* 菌株和 2 株 *t571* 各位于一个独立分支, 标记为 Lineage 1、Lineage2 和 Lineage 3。Lineage 1 中 2 株菌 SNP 差异为 1, Lineage 2 中 7 株菌 SNP 差异介于 0~3, Lineage 3 中 2 株菌 SNP 差异为 1。

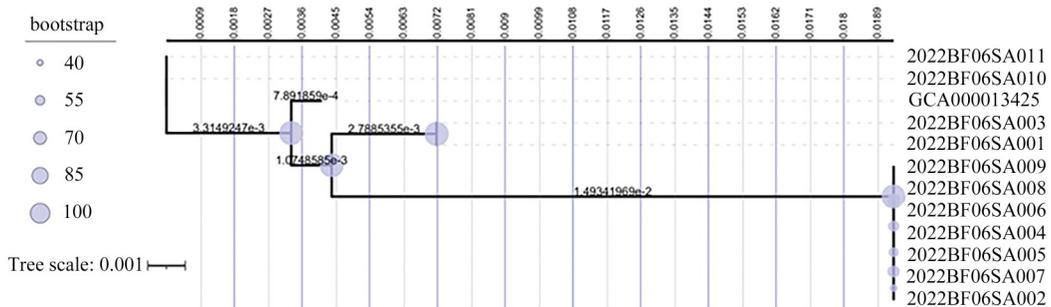


图 1 11 株金黄色葡萄球菌 cgSNP 进化树

Figure 1 Core genome SNPs (cgSNPs) based phylogenetic tree of 11 *S. aureus* strains

3 讨论

本事件中病例的潜伏期介于 2~4 h, 病例中呕吐症状出现频率高, 病例共同食用的全部食品中均

检出 *seb+*金黄色葡萄球菌, 且菌株产毒培养后 SEB ELISA 检测结果阳性, 在不同食品中分离到相同 spa 分型的高度克隆化金黄色葡萄球菌。疑似污染食

表1 金黄色葡萄球菌分离株荧光PCR、ELISA 试验、*spa* 分型和耐药表型结果
Table 1 Result of real time PCR, ELISA, *spa* typing results and resistant phenotype

样本类别	样本编号	样本名称	食品原始样本肠毒素ELISA检测结果(SEA/SEB/SEC/SED/SEE)			增菌液荧光PCR结果Ct值(磁珠法/水煮法)		分离金黄色葡萄球菌菌株编号	分离株肠毒素ELISA检测结果(SEA/SEB/SEC/SED/SEE)	<i>spa</i> 分型结果	耐药表型
			结果(SEA/SEB/SEC/SED/SEE)	<i>nuc</i> 基因	<i>seb</i> 基因	分离金黄色葡萄球菌菌株编号	分离株肠毒素ELISA检测结果(SEA/SEB/SEC/SED/SEE)				
食品	F1	番茄炒鸡蛋	(-/-/-/-/-)	30.63/32.08	30.70/32.73	2022BF06SA001	(-/+/-/-/-)	<i>t078</i>	PEN		
						2022BF06SA002	(-/+/-/-/-)	<i>t437</i>	PEN+ERY+CLI+TET		
						2022BF06SA003	(-/+/-/-/-)	<i>t078</i>	PEN		
	F2	魔芋酱鸭	(-/-/-/-/-)	23.41/27.47	24.64/27.87	2022BF06SA004	(-/+/-/-/-)	<i>t437</i>	PEN+ERY+CLI+TET		
						2022BF06SA005	(-/+/-/-/-)	<i>t437</i>	PEN+ERY+CLI+TET		
						2022BF06SA006	(-/+/-/-/-)	<i>t437</i>	PEN+ERY+CLI+TET		
	F3	肉炒豆角	(-/-/-/-/-)	27.58/31.43	29.62/31.90	2022BF06SA007	(-/+/-/-/-)	<i>t437</i>	PEN+ERY+CLI+TET		
						2022BF06SA008	(-/+/-/-/-)	<i>t437</i>	PEN+ERY+CLI+TET		
						2022BF06SA009	(-/+/-/-/-)	<i>t437</i>	PEN+ERY+CLI+TET		
环境	T6	垃圾桶	/	22.69/25.12	-/-	2022BF06SA010	(-/-/-/-/-)	<i>t571</i>	PEN+ERY		
						2022BF06SA011	(-/-/-/-/-)	<i>t571</i>	PEN+ERY		

品及病例肛拭子中均未检测到除金黄色葡萄球菌外其他导致急性胃肠炎的常见病原,且肛拭子样本中也未检出SEB肠毒素及其菌株。本次研究的局限是未能采集到病例呕吐物标本。因SEs导致暴发事件潜伏期短,且通常以呕吐为最主要临床症状,在缺少病例呕吐物中金黄色葡萄菌分离株的情况下,无法完成食品和病例分离菌株的溯源比对。但综合现场流行病学调查及临床特征和实验室检测结果,本事件部分结果证据符合WS/T 80—1996中葡萄球菌肠毒素食物中毒的病原学诊断标准^[9],故事件判定为疑似SEB肠毒素导致食物中毒。

本次事件从3件可疑受污染食品中分离的金黄色葡萄球菌全部产SEB,且都检测到一组高度克隆化菌株(*t437*),说明3件食品中存在交叉污染。而除*t437*菌株外,在食品1中还分离到*t078*,说明导致本次暴发的产SEB菌株并非单一克隆。多克隆产SEs金黄色葡萄球菌导致的食物中毒也有既往报道^[16],说明在此类事件中,有必要多挑取菌落培养并进行分子特征分析。从3件食品增菌液荧光PCR结果可以看出,魔芋酱鸭增菌后荧光PCR检测*nuc*基因和*seb*基因的Ct值均低于另外2件受污染食品,这可能与魔芋酱鸭中产SEB金黄色葡萄球菌载量更高有关,本次暴发中魔芋酱鸭可能发挥了更大的致病作用,且具有更高的致病风险。相关研究显示国内常见导致SEs中毒食品主要包括熟肉制品、蛋及蛋制品、乳制品等^[17-20],熟肉制品中蛋白质含量丰富,在加工、运输、销售过程中一旦受污染容易造成细菌大量繁殖,进而导致食物中毒,这与本事件中魔芋酱鸭(熟肉制品)具有更高风险相符合。

3件可疑受污染食品的原始样本直接使用ELISA检测SEs结果均为阴性,但该方法为国标GB4789.6—2016中的方法,也是目前检测SEs中

毒最常用且最为快速的方法。本次暴发中食品原始样本ELISA检测结果和分离培养产毒后进行ELISA检测结果完全相反,这可能与原始食品中SEs载量低,无法达到ELISA方法检出限有关,因此分离株产毒后再检测毒素的方法十分必要。另外本案例中基于食品增菌液检测肠毒素基因、基于分离株检测肠毒素基因和基于分离株进行SEs ELISA检测结果完全一致,说明肠毒素基因检测是暴发应对中比较重要的辅助检查手段。

3件食品分离株的*spa*分型包含*t437*和*t078*。有报道称*t437*被确定为来自亚洲的主要社区相关耐甲氧西林金黄色葡萄球菌^[21],也有报道称零售蔬菜中耐甲氧西林金黄色葡萄球菌优势*spa*分型为*t437*^[22];而*t078*金黄色葡萄球菌与亚洲社区获得性皮肤和软组织感染有关^[23],此分型是耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的主要分型之一。*t437*和*t078*金黄色葡萄球菌应在疾病、食品等的监测工作中引起关注。

本事件中对3件食品增菌液均同步进行磁珠法和水煮法提取细菌DNA,并进行荧光PCR检测,虽然2种提取方法*nuc*基因和肠毒素基因检测定性结果完全一致,但各样本基于磁珠法Ct值均低于水煮法,尤其F1食品增菌液水煮法检测*seb*基因Ct值较高(32.73),接近检测灰区(通常为35),这可能与该菌为革兰阳性菌,水煮法破坏细菌细胞壁能力较差有关。金黄色葡萄球菌相关样本PCR检测应优先考虑较为优化的DNA提取方法,避免因样本低载量继而发生漏检。

我国食物中毒事件高发月常为5~9月,其主要致病因素为沙门菌、副溶血性弧菌和金黄色葡萄球菌等^[24]。在SEs暴发事件中,对污染食品中分离金黄色葡萄球菌进行深入的病原特征分析意义重大。首先,沙门菌、副溶血性弧菌等致病菌导致暴发事

件以病例腹泻为主,采集粪便及肛拭子标本即可分离培养上述病原菌,得到病例分离株,进行病例与食品分离株的分子特征比对,继而达到溯源的目的^[25-27];而SEs暴发事件以病例呕吐为主,呕吐物较难采集,且由于胃肠道内温度较高,难以培养得到分离株^[28]。其次,SEs食物中毒事件最先使用ELISA方法直接检测污染食品中的SEs,但大部分SEs食物中毒还是需要增菌培养分离到产SEs金黄色葡萄球菌来支撑暴发事件的判定^[10,16]。第三,金黄色葡萄球菌在自然界广泛分布,单纯的分离培养阳性无法证明该菌是导致暴发的致病菌,1996年发布的暴发诊断标准中认为食品中分离到金黄色葡萄球菌,且菌株产SEs,即可判定暴发^[9],但与沙门菌、副溶血性弧菌等相关暴发事件相比,实验室可提供的SEs暴发相关“证据链”数据较少。基于上述背景,对食品分离金黄色葡萄球菌进行深入的菌株特征分析对支撑SEs导致暴发事件具有重要意义。本事件应用WGS测序数据构建了cgSNP的进化树,相同spa分型菌株均为高度克隆化菌株且具有相同的耐药表型结果。相对于传统的PFGE分子分型,WGS提供了更为精细的菌株遗传特征数据,测算出3件食品中含有一组高度克隆化菌株,这为本次暴发中3件可疑受污染食品可能为同一污染来源的结论提供了较强证据。WGS技术在SEs导致暴发中可进一步推广应用,为暴发应对提供更为充足的实验室证据。

该事件提示相关部门对工地等大型食堂的管理不应忽视。由于厨师等食堂工作人员存在未按食品安全要求进行操作的情况,易发生食源性暴发事件。相关监管部门应加强开展餐饮从业人员食品安全培训,重点防控由致病微生物引起的熟食类等肉制品的污染或变质,做到器具专用,生熟分开,烹饪过程烧熟、煮透,防止生、熟食品交叉污染。此外,食品监管部门应加强对食物原料的卫生监管,做到源头管理,防止类似事件发生,保障食品安全。

参考文献

- [1] 冯巧玲,张继红.一起由金黄色葡萄球菌引起的学生食物中毒调查分析[J].河南预防医学杂志,2020,31(5):421-423.
FENG Q L, ZHANG J H. Investigation and analysis of a student food poisoning caused by *Staphylococcus aureus* [J]. Henan Journal of Preventive Medicine, 2020, 31(5): 421-423.
- [2] 余艳,赵上瑛,杜雪飞.一起由金黄色葡萄球菌混合感染引起食物中毒的检测与分析[J].热带医学杂志,2022,22(12):1741-1744.
YU Y, ZHAO S Y, DU X F. Detection and analysis of a case of food poisoning caused by *Staphylococcus aureus* mixed infection [J]. Journal of Tropical Medicine, 2022, 22(12): 1741-1744.
- [3] 张晓英.食物中毒样本及日常食品中金黄色葡萄球菌肠毒素的分型检测研究[J].中国农村卫生,2021,13(17):68-69.
ZHANG X Y. Detection of *Staphylococcus aureus* enterotoxins in food poisoning samples and daily foods [J]. China Rural Health, 2021, 13(17): 68-69.
- [4] 陈万义,游春萍,刘振民.金黄色葡萄球菌肠毒素的研究进展[J].乳业科学与技术,2015,38(6):31-37.
CHEN W Y, YOU C P, LIU Z M. Research progress of *Staphylococcus aureus* enterotoxin [J]. Dairy Science and Technology, 2015, 38(6): 31-37.
- [5] 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.
- [6] DENAYER S, DELBRASSINNE L, NIA Y, et al. Food-borne outbreak investigation and molecular typing: High diversity of *Staphylococcus aureus* strains and importance of toxin detection [J]. Toxins (Basel). 2017, 9(12): 407.
- [7] SATO'O Y, OMOE K, NAITO I, et al. Molecular epidemiology and identification of a *Staphylococcus aureus* clone causing food poisoning outbreaks in Japan [J]. Journal of Clinical Microbiology, 2014, 52(7): 2637-2640.
- [8] 国家卫生和计划生育委员会,国家食品药品监督管理总局.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:GB 4789.10—2016[S].北京:中国标准出版社,2016.
National Health and Family Planning Commission, State Food and Drug Administration. National Standard for Food Safety Food Microbiological Tests *Staphylococcus aureus* Test: GB 4789.10—2016 [S]. Beijing: China Standard Press, 2016.
- [9] 中华人民共和国卫生部.中华人民共和国卫生行业标准 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. People's Republic of China health industry standard staphylococcal food poisoning diagnostic criteria and treatment principles WS/T 80—1996 [S]. Beijing: China Standard Press, 1996.
- [10] 王孟珂,韩瑞芳,王晶.一起金黄色葡萄球菌食物中毒病原学诊断及其SPA分子分型溯源分析[J].河南预防医学杂志,2020,31(11):878-880.
WANG M K, HAN R F, WANG J. Pathogenetic diagnosis of *Staphylococcus aureus* food poisoning and traceability analysis of SPA molecular typing [J]. Henan Journal of Preventive Medicine, 2020, 31(11): 878-880.
- [11] 汪永禄,王多春,詹圣伟,等.马鞍山市金黄色葡萄球菌鉴定及SPA基因多态性分析[J].公共卫生与预防医学,2011,22(4):50-53.
WANG Y L, WANG D C, ZHAN S W, et al. Identification of *Staphylococcus aureus* and analysis of SPA gene polymorphism in Maanshan [J]. Public Health and Preventive Medicine, 2011, 22(4): 50-53.
- [12] 栾阳,金子懿,张晔,等.2013—2017年西安市食物中毒中金黄色葡萄球菌分型分析[J].中华疾病控制杂志,2019,23(2):213-216,222.

- LUAN Y, JIN Z Y, ZHANG Y, et al. Analysis of *Staphylococcus aureus* typing in food poisoning in Xi'an from 2013 to 2017[J]. Chinese Journal of Disease Control, 2019, 23(2): 213-216,222.
- [13] 王冰, 扈庆华, 张锦周. 深圳市食物中毒来源金黄色葡萄球菌的分子流行病学分析[J]. 中国热带医学, 2015, 15(2): 151-154,196.
- WANG B, HU Q H, ZHANG J Z. Molecular epidemiologic analysis of *Staphylococcus aureus* from food poisoning sources in Shenzhen[J]. Chinese Tropical Medicine, 2015, 15(2): 151-154,196.
- [14] 袁梦, 黄汉伟, 胡鹏威, 等. 2009—2015年深圳市不同来源样本中金黄色葡萄球菌毒力耐药特征及分子分型研究[J]. 实用预防医学, 2019, 26(4): 420-426.
- YUAN M, HUANG H W, HU P W, et al. Characterization of virulence resistance and molecular typing of *Staphylococcus aureus* in samples from different sources in Shenzhen, 2009—2015 [J]. Practical Preventive Medicine, 2019, 26(4): 420-426.
- [15] HARMSE D, CLAUS H, WITTE W, et al. Typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a university hospital setting by using novel software for spa repeat determination and database management[J]. Journal of Clinical Microbiology, 2003, 41(12).
- [16] 甄国新, 李颖, 冀国强, 等. 一起诺如病毒感染混合金黄色葡萄球菌肠毒素中毒相关急性胃肠炎暴发事件的实验室检测分析[J]. 疾病监测, 2020, 35(3): 5.
- ZHEN G X, LI Y, JI G Q, et al. Laboratory testing and analysis of an acute gastroenteritis outbreak associated with norovirus infection mixed with *Staphylococcus aureus* enterotoxin poisoning [J]. Disease Surveillance, 2020, 35(3): 5.
- [17] HUMPHRIES R, BOBENCHIK A M, HINDLER J A, et al. Overview of changes to the clinical and laboratory standards institute performance standards for antimicrobial susceptibility, testing M100, 31st edition[J]. Journal of Clinical Microbiology, 2021, 59(12): e0021321.
- [18] 阙凤霞, 韩东方, 钟海明, 等. 2018—2019年金山区食源性致病菌污染情况[J]. 实用预防医学, 2021, 28(8): 1006-1008.
- QUE F X, HAN D F, ZHONG H M, et al. Foodborne pathogenic bacteria contamination in Jinshan District, 2018—2019 [J]. Practical Preventive Medicine, 2021, 28(8): 1006-1008.
- [19] 方太松, 王军, 王晔茹, 等. 我国熟肉制品中金黄色葡萄球菌污染状况 Meta 分析[J]. 生物加工过程, 2020, 18(3): 386-391.
- FANG T S, WANG J, WANG Y R, et al. Meta-analysis of *Staphylococcus aureus* contamination in cooked meat products in China[J]. Bioprocessing, 2020, 18(3): 386-391.
- [20] 赵朵, 裴曼君, 张文乐, 等. 鄂西北地区食源性金黄色葡萄球菌污染及耐药性和毒力基因分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2020, 32(6): 620-625.
- ZHAO D, PEI M J, ZHANG W L, et al. Analysis of foodborne *Staphylococcus aureus* contamination and genes for drug resistance and virulence in Northwest E region[J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2020, 32(6): 620-625.
- [21] ZHAO H, WU X, WANG B, et al. Phenotypic and genomic analysis of the hypervirulent ST22 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in China[J]. mSystems, 2023, 8(3): e0124222.
- [22] BAI Z, CHEN M, LIN Q, et al. Identification of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* and molecular characterization in Quanzhou, China[J]. Frontiers in Cell and Developmental Biology, 2021, 9: 629681.
- [23] ZHAO X, PALMA MEDINA L M, STOBERNACK T, et al. Exoproteome heterogeneity among closely related *Staphylococcus aureus* t437 isolates and possible implications for virulence [J]. Journal of Proteome Research, 2019, 18(7): 2859-2874.
- [24] 黄彬彬, 刘文艳, 江柯. 一起金黄色葡萄球菌引起的食源性疾病暴发事件调查 [J]. 医学动物防制, 2020, 36(3): 244-247.
- HUANG B B, LIU W Y, JIANG K. Investigation of a foodborne disease outbreak caused by *Staphylococcus aureus* [J]. Medical Animal Control, 2020, 36(3): 244-247.
- [25] 曲梅, 田祎, 黄瑛, 等. 2010—2019年北京市副溶血性弧菌临床分离株血清型和耐药性分析[J]. 首都公共卫生, 2020, 14(6): 285-290.
- QU M, TIAN Y, HUANG Y, et al. Analysis of serotypes and drug resistance of *Vibrio parahaemolyticus* clinical isolates in Beijing from 2010 to 2019[J]. Capital Public Health, 2020, 14(6): 285-290.
- [26] 王小龙, 张梦寒, 朱莉勤, 等. 2016—2019苏州市副溶血性弧菌的毒力基因和耐药性及分子分型研究[J]. 现代预防医学, 2020, 47(21): 3975-3980.
- WANG X L, ZHANG M H, ZHU L Q, et al. Study on virulence genes and drug resistance and molecular typing of *Vibrio parahaemolyticus* in Suzhou City, China, 2016—2019[J]. Modern Preventive Medicine, 2020, 47(21): 3975-3980.
- [27] 朱莉勤, 邹文燕, 张梦寒, 等. 苏州一起肠炎沙门菌食源性疾病暴发事件的病原学特征分析[J]. 上海预防医学, 2022, 34(7): 665-670.
- ZHU L Q, ZOU W Y, ZHANG M H, et al. Pathogenetic characterization of a *Salmonella* enteritidis foodborne disease outbreak in Suzhou [J]. Shanghai Preventive Medicine, 2022, 34(7): 665-670.
- [28] FLETCHER S, BOONWAAT L, MOORE T, et al. Investigating an outbreak of *Staphylococcal* food poisoning among travellers across two Australian states [J]. Western Pacific Surveillance and Response Journal. 2015, 6(2): 17-21.