

食源性金黄色葡萄球菌肠毒素基因型检测与分布研究

冯震, 蒋波, 房蕊, 杨美成*

(上海市食品药品检验所, 上海 201203)

摘要: **目的** 对食源性致病金黄色葡萄球菌肠毒素 SEA ~ SEJ 基因型分布状况进行调查, 并探讨菌株分型与肠毒素基因型分布之间的关联性。**方法** 采用 PCR 方法扩增金黄色葡萄球菌及肠毒素 SEA ~ SEJ 基因型核酸片段, 应用全自动微生物基因指纹鉴定系统(RiboPrinter)对菌株进行分型和类聚状况分析。**结果** 分离的 24 个待测菌株可分为 6 个亚型, 各亚型均匀分布; 待测 10 种肠毒素基因型中, SEI 型、SEG 型、SEA 型和 SEB 型的出现频率较高, 分别占 54.2%、41.7%、37.5%和 25.0%, 同时表达两种以上肠毒素基因型的比率约 50%, SEG 型和 SEI 型肠毒素的表达分布具有协同性; 金黄色葡萄球菌的溯源性特点与肠毒素分布规律一致。**结论** 食源性金黄色葡萄球菌肠毒素呈现多基因型协同表达的特点, 各菌株亚型与肠毒素基因型分布之间存在一定的关联性。

关键词: 金黄色葡萄球菌; 肠毒素; 全自动微生物基因指纹鉴定系统; 基因分型

Research on genetic subtyping and distribution for foodborne *Staphylococcal* enterotoxin

FENG Zhen, JIANG Bo, FANG Rui, YANG Mei-Cheng*

(Shanghai Institute for Food and Drug Control, Shanghai 201203, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the distribution principles of *Staphylococcal* enterotoxin genotypes from SEA to SEJ, and discuss correlative relationships between stain ribosomal subtypes and enterotoxin distribution. **Methods** Specific nucleotide fragments from *Staphylococcal aureus* (*S. aureus*) and *Staphylococcal* enterotoxin SEA ~ SEJ were amplified by PCR, bacterial strain subtypes and homology were analyzed by RiboPrinter. **Results** A total of 24 isolates were identified as *S. aureus* and classified into 6 subtypes, each subtype was hypodispersion *Staphylococcal* enterotoxin genotype SEI, SEG, SEA and SEB were high detection, the ratio was respectively at 54.2%, 41.7%, 37.5% and 25.0%, about 50% of strains were collaboratively detected at least 2 genotypes, and SEG and SEI were cooperated detection. The feature of ribosomal subtypes tracing was consistent with enterotoxin distribution. **Conclusion** *Staphylococcal* enterotoxin genotypes were collaboratively detected in foodborne *S. aureus*; there were correlative relationships between ribosomal subtypes and enterotoxin distribution.

KEY WORDS: *Staphylococcus aureus*; enterotoxin; RiboPrinter; genotyping

基金项目: 国家食源性致病菌风险监测项目

Fund: Supported by Special Research of National Evaluation of Foodborne Pathogenic Microorganisms

*通讯作者: 杨美成, 博士, 主任药师, 主要研究方向为实验室质量管理。E-mail: yangmeicheng@vip.sina.com

*Corresponding author: YANG Mei-Cheng, Ph.D, Chief Pharmacist, Shanghai Institute for Food and Drug Control, Shanghai 201203, China. E-mail: yangmeicheng@vip.sina.com

1 引言

食源性致病微生物是引起食品腐败变质,引发食物中毒和食品安全事件的重要因素,随着食品安全质量监管体系的逐渐完善,食源性致病微生物及毒素的检测和研究备受关注。金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)是典型的食源性致病微生物,其致病机制主要由肠毒素引起。金黄色葡萄球菌肠毒素(*Staphylococcal enterotoxin, SE*)是一种典型的细菌外毒素,由金黄色葡萄球菌在特定的生长条件下合成,其生物学本质是一类低分子量蛋白质及多肽^[1,2]。金黄色葡萄球菌肠毒素对肠道的破坏性极大,亦可引起局部化脓感染和肺炎、伪膜性肠炎、心包炎、败血症、脓毒症等全身感染,对百姓生活和健康造成了极大危害^[3]。目前,已被分离鉴定的金黄色葡萄球菌的肠毒素有 SEA、SEB、SEC、SED、SEE、SEG、SEH、SEI、SEJ 等 10 余种基因型,随着近年来研究的不断深入,一些新型肠毒素逐渐被报道,如 SEK、SEL、SEM、SEN、SEO、SEP、SEQ、SER、SET、SEU 等,但各类肠毒素的分布规律和致病机制尚待研究^[4-5]。

我国对于金黄色葡萄球菌及肠毒素的监控工作由来已久,然而,食品安全国家标准(GB 4789.10-2010)中对于金黄色葡萄球菌肠毒素的检验方法却始终停留在手工定性筛查的层面^[6];近年来研发的全自动酶联免疫荧光检测系统(VIDAS system)大大缩短了检测时间,但 VIDAS 系统仅能混合筛查 SEA~SEE 5 种传统肠毒素^[5],已无法满足致病菌监测和风险评估的要求。本文收集整理 24 株金黄色葡萄球菌肠毒素阳性菌株,在对菌株进行分子生物学鉴定与分型的基础上,对 SEA~SEJ 共 10 种肠毒素基因型的分布规律进行调查,并探讨菌株亚型与肠毒素各基因型之间的分布规律,旨在完善金黄色葡萄球菌及肠毒素的检测体系,为国家食品风险监测和评估提供方法依据和技术支撑。

2 材料与方法

2.1 菌株、仪器与试剂

本实验室历年承担国家食品风险监测任务,共收集金黄色葡萄球菌肠毒素阳性菌 24 株,参照食品安全国家标准(GB 4789.10-2010)进行生化鉴定后,

于实验室保藏。金黄色葡萄球菌标准菌株(CMCC26003、ATCC6538、CICC23656),表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)标准菌株(CICC10294)均为实验室保藏。

VERITI96 PCR 扩增仪(美国 Applied Biosystems 公司);琼脂糖凝胶电泳仪和 Gel Doc 凝胶成像系统(美国 BioRad 生物科技有限公司);RiboPrinter 全自动微生物指纹鉴定系统(美国 Dupont 公司);BioPhotometer Plus 核酸蛋白分析仪(德国 Eppendorf 公司);Heraeus Pico17 低温离心机(美国 Thermo 公司);SI-600R 恒温振荡培养箱(韩国 Lab companion 公司)。

原核生物基因组 DNA 提取试剂盒, Premix TaqTM DNA 聚合酶试剂盒均购自于宝生物工程大连有限公司;RiboPrinter 检测用试剂购自杜邦(中国)有限公司;Baird-Parker 琼脂培养基(BP)和胰酪大豆胨琼脂培养基(TSA)均购自美国 BD 公司;其他化学试剂均为分析纯。引物序列的合成、核酸片段的测序均委托上海生工生物科技有限公司完成。

2.2 实验方法

2.2.1 引物的设计与合成

从美国国立生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)官方网站上检索金黄色葡萄球菌血浆凝固酶基因序列、肠毒素基因型 SEA~SEJ 的基因序列^[7-9],设计并合成 PCR 引物,基因信息、引物序列与预计扩增片段如下:

2.2.2 核酸的提取与 PCR 检测

金黄色葡萄球菌基因组 DNA 的提取参照试剂盒说明书操作。

DNA 浓度和纯度的测定:采用核酸蛋白分析仪测定基因组 DNA 的浓度, A260 和 A280 的光吸收值,确定核酸的浓度和纯度后,制备成 100 ng/uL 的 DNA 溶液供后续实验用。

PCR 反应体系: Taq DNA 聚合酶: 0.5 μ L; 10X PCR buffer: 5 μ L; dNTP mix: 4 μ L; DNA 模板(100 ng/uL): 0.1 μ L; 上游引物(25 pmol/ μ L): 0.5 μ L; 下游引物(25 pmol/ μ L): 0.5 μ L; 加入 ddH₂O 补齐至 50 μ L 反应体系。

PCR 程序设置: 94 $^{\circ}$ C: 2 min; 94 $^{\circ}$ C: 30 s; 58 $^{\circ}$ C: 30 s; 72 $^{\circ}$ C: 1 min; 72 $^{\circ}$ C: 3 min; 30 个反应循环。取 PCR 产物 3 μ L, 经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳, 于紫外凝胶成像仪下观察 PCR 扩增结果。

表 1 基因信息与引物序列汇总表
Table 1 Gene information and primer list

基因名称	基因信息	引物序列	预计扩增片段
COA	AJ306908.1	COA + : 5'-CGAGACCAAGATTCAACAAG-3' COA - : 5'-AAAGAAAACCACTCACATCA-3'	1000 bp
SEA	M18970	SEA + : 5'-GGTTATCAATGTGCGGGTGG-3' SEA - : 5'-CCCTCTGAACCTTCCCATCA-3'	268 bp
SEB	M11118	SEB + : 5'-ACTCGCCTTATGAAACGGGA-3' SEB - : 5'-CGGCGACACAGTAACTATCC-3'	398 bp
SEC	AB084256	SEC + : 5'-CAACCAGACCCTATGCCAGA-3' SEC - : 5'-TCCCATTATCAAAGTGGTTTCCT-3'	373 bp
SED	M28521	SED + : 5'-TCTGAATTAAGTAGTACCGCGC-3' SED - : 5'-TACCTTCGTGTGGAGTGACA-3'	304 bp
SEE	M21319	SEE + : 5'-TAGATAAGGTAAAAACAAGC-3' SEE - : 5'-TAACTTACCGTGGACCCTTC-3'	169 bp
SEF	AB084255	SEF + : 5'-AGCCAACATACTAGCGAAGGA-3' SEF - : 5'-ACCACCCGTTTTATCGCTTG-3'	243 bp
SEG	AB016487	SEG + : 5'-GGAGGTTGTTGTATGTATGGTGG-3' SEG - : 5'-TGAGCCAGTGTCTTGCTTTG-3'	175 bp
SHE	AJ937548	SEH + : 5'-TCAAGGTGATAGTGGAATGA-3' SEH - : 5'-GCACCAATCACCTTTCCTG-3'	201 bp
SEI	AY291445	SEI + : 5'-ACGTATGCTCAAGGTGATTTGG-3' SEI - : 5'-AGTATTGTCCTGATAAAGTGGCC-3'	274 bp
SEJ	AB075606	SEJ + : 5'-GTTACAATGCACTCCACAGCT-3' SEJ - : 5'-TCTCATATGCCGACCCATCAA-3'	196 bp

2.2.3 核糖体鉴定与分型:

所有菌株的核糖体鉴定与分型由 RiboPrinter 全自动微生物指纹鉴定系统自动完成^[10,11], 限制性内切酶采用 *EcoR I*, 操作步骤参照仪器标准化操作规程。菌株分型结果的图谱在 BioNumerics 6.6 软件中采用 UPGMA 法进行聚类分析^[12,13]。

3 结果与分析

3.1 金黄色葡萄球菌的鉴定与分型

编码金黄色葡萄球菌血浆凝固酶基因的 3'末端存在一系列 81 bp 的 DNA 重复序列, 且在不同菌株中重复数可能不同, 通过 PCR 扩增此可变区域, 根据扩增片段的特异性和片段长度, 可对金黄色葡萄球菌进行鉴定和分类^[14,15]。本文收集整理了实验室保藏的 24 株食源性金黄色葡萄球菌肠毒素阳性菌株,

经分离纯化、核酸提取与浓度测定, 在相同 PCR 反应体系和扩增条件下, 扩增血浆凝固酶基因片段, 对金黄色葡萄球菌进行筛查和鉴定, 实验结果如图 1 所示: 24 株金黄色葡萄球菌均可产生特异性的扩增条带, 而阴性对照菌均未见目的基因扩增片段, 引物的特异性和通用性均良好; 扩增片段纯化后进行核酸测序鉴定, 结果均与预期相符; 由于金黄色葡萄球菌的来源不同, 其血浆凝固酶基因 3'末端 DNA 重复序列片段的拷贝数不同, 故 PCR 扩增片段大小略有差异, PCR 扩增产物的差异可以作为不同来源菌株进行初步分类的依据。

为进一步进行菌株鉴定, 并对菌株在分子生物学层面上进行分类, 本文采用 RiboPrinter 系统, *EcoR I* 限制性酶切, 将 24 株金黄色葡萄球菌进行核糖体分型, 分别将实验结果导入 BioNumerics 6.6 软件,

采用 UPGMA 类聚分析法, 建立菌株之间的类聚分布树状图, 如图 2 显示: 以相似度大于 80% 为分类依据, 所有金黄色葡萄球菌可分为 6 个亚型, 每个亚型中又可分为若干亚类, 其中金黄色葡萄球菌亚型 I 包含 7 株, 占有菌株的 29.2%; 亚型 II 包含 4 株, 占有菌株的 16.7%; 亚型 III 包含 5 株, 占有菌株的 20.8%; 亚型 IV 包含 3 株, 占有菌株的 12.5%; 亚型 V 包含 3 株, 占有菌株的 12.5%; 亚型 VI 包含 2 株, 占有菌株的 8.3%, 各亚型呈现均匀分布。

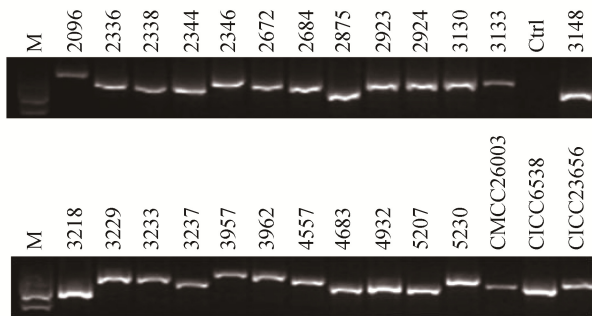


图 1 24 株食源性金黄色葡萄球菌血浆凝固酶基因片段扩增图

Fig. 1 Amplification of coagulase gene for 24 foodborne *S. aureus* isolates
 M: DL2000 分子量标准; Ctrl: 表皮葡萄球菌 (CICC10294); CMCC26003、ATCC6538、CICC23656 为三株阳性对照标准菌株, 其余均为实验室自编号
 M: DL2000 marker; Ctrl: *Staphylococcus epidermidis* (CICC10294); CMCC26003、ATCC6538、CICC23656: Positive ctrl

3.2 金黄色葡萄球菌肠毒素基因型的检测与分布

金黄色葡萄球菌肠毒素包含 10 余种血清型, 是该致病菌的主要致病因子。本研究在检索金黄色葡萄球菌肠毒素基因序列的基础上, 通过 PCR 方法特异性扩增 SEA, SEB, SEC, SED, SEE, SEF, SEG, SEH, SEI 和 SEJ 10 种血清型的肠毒素基因, 扩增产物纯化后, 委托上海生工生物科技有限公司测序, 将测序结果与 NCBI 数据库中的序列进行同源性比对, 结果均与预期一致。

(1) 24 株金黄色葡萄球菌肠毒素阳性菌株中, 肠毒素各血清型基因的分布状况如下: SEA 型包含 9 株, 占 37.5%; SEB 型包含 6 株, 占 25.0%; SEC 型包含 1 株, 占 4.2%; SED 型包含 3 株, 占 12.5%; 未见 SEE

型菌株的分布; SEF 型包含 2 株, 占 8.3%; SEG 型包含 10 株, 占 41.7%; SEH 型包含 1 株, 占 4.2%; SEI 型包含 13 株, 占 54.2%; SEJ 型包含 4 株, 占 16.7%。不同肠毒素的基因型中, SEI 型、SEG 型、SEA 型和 SEB 型肠毒素的出现频率较高, 分别占 54.2%、41.7%、37.5% 和 25.0%。目前, 金黄色葡萄球菌肠毒素的检测标准多基于酶联免疫的方法, 市售商品化试剂盒也大多基于 SEA ~ SEE5 种传统肠毒素, 且为混合血清型检测, 已无法满足风险监测的要求, 随着研究的不断深入, 新型肠毒素不断被发现, 原有的检测手段造成“漏检”的概率越来越高, 对新型肠毒素造成致病风险的评估也愈加必要, 本研究结果显示: 食源性致病菌中新型肠毒素的基因型分布远高于传统型, 一方面说明了现有检测手段的局限性, 另一方面也提示进行新型肠毒素检测和致病风险评估的研究的重要意义(表 2)。

表 2 24 株金黄色葡萄球菌肠毒素基因型分布表
 Table 2 Distribution table of different enterotoxin serotype in *Staphylococcus aureus*

肠毒素类别	表达菌株数量	(占比)
SEA	9	37.5%
SEB	6	25.0%
SEC	1	4.2%
SED	3	12.5%
SEE	0	0%
SEF	2	8.3%
SEG	10	41.7%
SEH	1	4.2%
SEI	13	54.2%
SEJ	4	16.7%

(2) 本文研究的 24 株金黄色葡萄球菌肠毒素阳性菌株中, 11 株呈现多种基因型同时表达的特征, 占有肠毒素阳性菌株的 45.8%, 其中仅表达 1 种肠毒素基因的包含 13 株; 同时表达 2 种肠毒素基因的包含 2 株; 同时表达 3 种肠毒素基因的包含 5 株; 同时表达 4 种肠毒素基因的包含 4 株, 各肠毒素分布信息统计如表 3。研究结果显示: 食源性致病金黄色葡萄球菌肠毒素阳性菌株中, 肠毒素呈现多基因型同时分布的特点, 同时表达两种以上肠毒素的频率将近占

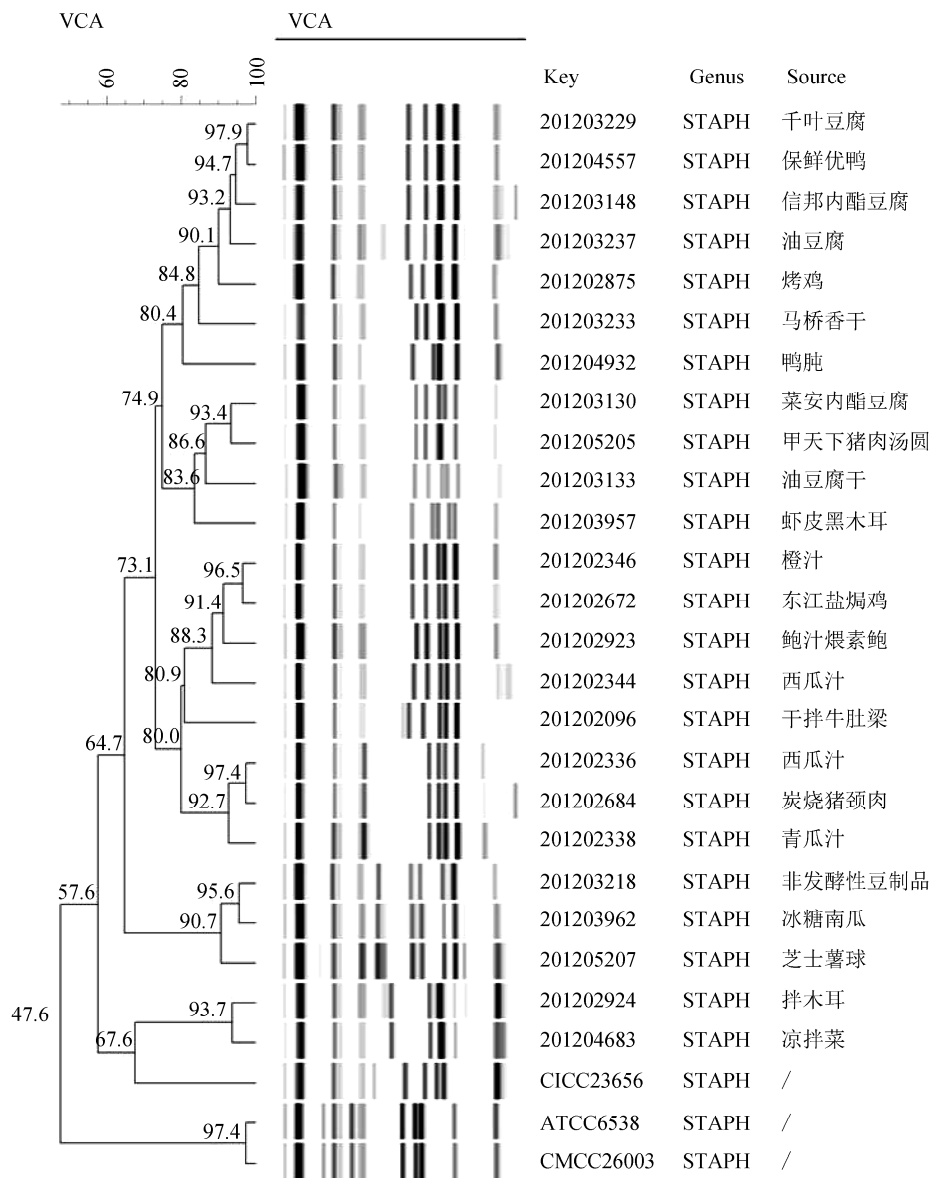


图 2 24 株金黄色葡萄球菌 RiboPrinter 亚型类聚分布树状图

Fig. 2 Dendrogram of RiboPrinter patterns from 24 foodborne *Staphylococcus aureus*

50%; 另外, 统计结果显示: SEG 和 SEI 两种基因型同时分布的菌株有 9 株, 提示两者之间的表达可能存在关联性, 研究结果与国外文献报道一致^[2,16]。

(3) 本文探讨了金黄色葡萄球菌各亚型与肠毒素表达的关系, 以 RiboPrinter 核糖体分型方法建立的类聚分布树状图为依据, 各亚型菌株分布与肠毒素基因检出情况具有以下特点(表 4): 1) 菌株同源性与肠毒素分布特点一致, 如金黄色葡萄球菌亚型 II 中, 3130(菜安内酯豆腐)和 3133(油豆腐干)两个编号

的样品来源于相同的采样时间和地点, 菌株亚型归属相同、菌株源性关系高、样品视为同源污染, 两个菌株中均检出肠毒素 SEA 型, 表明其肠毒素的分布特点也一致; 如金黄色葡萄球菌亚型 III 中, 2344(西瓜汁)和 2346(橙汁)两个编号的样品来源相同, 亦同时检出肠毒素 SEB、SEG 和 SEI 型; 如金黄色葡萄球菌亚型 IV 中, 2336(西瓜汁)和 2338(青瓜汁)两个编号的来源相同, 且同时检出肠毒素 SEA 型。2) 各菌株亚型的归属与肠毒素分布特点之间存在一定关联性,

表 3 金黄色葡萄球菌肠毒素各基因型表达情况统计表
 Table 3 Statistical table of enterotoxin distribution in *Staphylococcus aureus*

类别	肠毒素血清型	菌株数目(株)
仅表达 1 种肠毒素基因(13 株)	SEA	6
	SEB	2
	SED	1
	SEH	1
	SEI	2
	SEJ	1
	同时表达 2 种肠毒素基因(2 株)	SEA&SEI
SEG&SEI		1
同时表达 3 种肠毒素基因(5 株)	SEB&SEG&SEI	3
	SEA&SEB&SEJ	1
	SED&SEG&SEI	1
同时表达 4 种肠毒素基因(4 株)	SED&SEG&SEI&SEJ	2
	SEA&SEF&SEG&SEI	1
	SEC&SEF&SEG&SEI	1

表 4 金黄色葡萄球菌亚型与肠毒素基因型分布关系统计表
 Table 4 Statistical analysis between ribotypes and enterotoxin distribution in *S. aureus*

菌株亚型	菌株编号	SEA	SEB	SEC	SED	SEE	SEF	SEG	SEH	SEI	SEJ
	3229	+	+								+
	4557		+								
	3148		+								
	3237									+	
	2875								+		
	3233										+
	4932							+		+	
	3130	+									
	5205			+			+	+		+	
	3133	+									
	3957							+		+	
	2346		+					+		+	
	2672		+					+		+	
	2923	+									
	2344		+					+		+	
	2096	+								+	
	2336	+									
	2684	+									
	2338	+									
	3218				+			+		+	+
	3962				+			+		+	
	5207				+			+		+	+
	2924									+	
	4683	+					+	+		+	

如金黄色葡萄球菌亚型 V 为肠毒素协同表达亚型,其协同表达的肠毒素基因型均在 3 种以上,其中 SED, SEG 和 SEI 检出率为 100%, SEJ 检出率大于 66%, 菌株来源信息显示: 3218(非发酵豆制品)、3962(冰糖南瓜)和 5207(芝士薯球)三个编号的样品来源于不同的采样时间和地点,肠毒素基因型的分布与菌株来源无关,但与菌株亚型的归属存在一定关联性,提示该菌株亚型为致病风险高等级亚型;又如金黄色葡萄球菌亚型 IV 中,2684(炭烧猪颈肉)虽与前两者(2336、2338)的来源不同,但具有相同的肠毒素分布特点。上述实验结果表明:金黄色葡萄球菌的溯源性特点与肠毒素分布规律一致,各菌株亚型与肠毒素分布特点之间存在一定的关联性,由于待测菌株数量有限,两者的分布规律仍需进一步验证。

金黄色葡萄球菌肠毒素是引起肠道感染,导致食物中毒的关键要素,随着新型肠毒素不断被发现,对于各型肠毒素致病机制的研究迫在眉睫,食源性致病菌风险监测工作的重点,也应逐渐完成由“菌株筛查”到“毒素筛查”的转变,综合菌株亚型和毒素表达特点,评估潜在的致病风险,由于肠毒素蛋白水平的检测成本高、且耗时费力,从核酸水平上开展致病毒素的分布与时序性表达研究,更能真实反映菌株潜在的致病风险;另外,开展食源性致病菌及毒素的快速筛查和检测研究,也是对食品安全监管和检测机构提出的新要求,本研究内容可为致病毒素的“快检”提供有益尝试。

4 结 论

本文收集整理了实验室保藏的食源性致病金黄色葡萄球菌肠毒素阳性菌株 24 株,以血浆凝固酶基因为检测靶点完成菌株的分子生物学鉴定,以 RiboPrinter 核糖体分型系统进行了菌株分型,并对肠毒素基因型 SEA ~ SEJ 进行了检测与分布研究,结果显示金黄色葡萄球菌的溯源性特点与肠毒素分布规律一致,各菌株亚型与肠毒素分布特点之间存在一定的关联性。本文的研究结果可为食源性致病金黄色葡萄球菌的分子生物学鉴定与分类,金葡肠毒素的检测与表达规律研究提供方法依据,为食源性致病菌及毒素的风险评估提供技术支持。

参考文献

[1] 柳旭伟,葛文霞.金黄色葡萄球菌肠毒素[J].微生物学杂志,

2008, 28(5): 86-90.

Liu XW, Ge WX. Enterotoxins of *Staphylococcus aureus* [J]. J Microbiol, 2008, 28(5): 86-90.

[2] 彭力符,万成松.葡萄球菌肠毒素的研究进展[J].微生物学免疫学进展,2004,32(4): 64-69.

Peng LX, Wan CS. Review of *Staphylococcal* enterotoxins [J]. J Microbiol, 2004, 32(4): 64-69.

[3] 李琳,黄金海,赵耘,等.葡萄球菌肠毒素基因分型 PCR 检测技术的研究[J].食品科学,2008,29(7): 340-344.

Li L, Huang JH, Zhao Y, et al. Study on PCR method for differentiating gene type of enterotoxin of *S. aureus* [J]. Food Sci, 2008, 29(7): 340-344.

[4] 张严峻,张俊彦,梅玲玲,等.金黄色葡萄球菌肠毒素基因的分型和分布[J].中国卫生检验杂志,2005,15(6): 682-684.

Zhang YJ, Zhang JY, Mei LL, et al. Typing and distribution of toxin genes among *Staphylococcus aureus* isolates from samples of raw milk [J]. Chin J Health Lab Tech, 2005, 15(6): 682-684.

[5] 章乐怡,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.

Zhang LY, Li Y, Ma XL. Research of enterotoxin and its gene in *Staphylococcus aureus* stains isolated from food poisoning and food samples [J]. Chin J Health Lab Tech, 2009, 19(12): 2851-2853.

[6] GB 4789.10-2010《食品微生物学检验金黄色葡萄球菌检验》[S].

GB 4789.10-2010 Food microbiological examination: *Staphylococcus aureus* [S].

[7] Johnson WM, Tyler SD, Ewan EP, et al. Detection of genes for enterotoxins, exfoliative toxins, and toxic shock syndrome toxin 1 in *Staphylococcus aureus* by the polymerase chain reaction [J]. Clin Microbiol, 1991, 29(3): 426-430.

[8] Elizabete RS, Nivaldo S. Coagulase gene typing of *Staphylococcus aureus* isolated from cows with mastitis in southeastern Brazil [J]. Can J Veter Res, 2005, 69(1): 260-264.

[9] Monday SR, Bohach GA. Use of multiplex PCR to detect classical and newly described pyrogenic toxin genes in staphylococcal isolates [J]. J Clin Microbiol, 1999, 37(1): 3411-3414.

[10] 钟玮,冯震,鲍英,等.金黄色葡萄球菌的 API-STAPH 生化鉴定及核糖体分型分析[J].中国抗生素杂志,2013,38(5): 354-359.

Zhong W, Feng Z, Bao Y, et al. Identification of *Staphylococcus aureus* by API-STAPH test and ribosomal typing analysis [J].

- Chin J of Antibio, 2013, 38(5): 354–359.
- [11] Botes J, Williamson G, Sinickas V, *et al.* Genomic typing of *Pseudomonas aeruginosa* isolates by comparison of ribotyping and PFGE: correlation of experimental results with those predicted from the complete genome sequence of isolate PAO1 [J]. J Microbiol Met, 2003, 55(1): 231–240.
- [12] Zhang XA, Bai XM, Ye CY, *et al.* Establishment and comparison of pulsed-field gel electrophoresis, multiple-locus variable number tandem repeat analysis and automated ribotyping methods for subtyping of *Citrobacter* strains [J]. Biomed Envi Sci, 2012, 25(6): 653–662.
- [13] 白莉, 李薇薇, 王岗, 等. 我国 4 省肉鸡屠宰场沙门氏菌脉冲场凝胶电泳分子分型 [J]. 中国食品卫生杂志, 2013, 25(4): 303–308.
- Bai L, Li WW, Wang G, *et al.* Molecular typing of *Salmonella* isolates from poultry slaughterhouses in four provinces by pulsed-field gel electrophoresis [J]. Chin J Food Hyg, 2013, 25(4): 303–308.
- [14] Aarestrup FM, Dangler CA, Sordillo LM. Prevalence of *coagulase* gene polymorphism in *Staphylococcus aureus* isolates causing bovine mastitis [J]. Can J Vet Res, 1995, 59(2): 124–128 .
- [15] Raimundo O, Deighton M, Capstick J, *et al.* Molecular typing of *Staphylococcus aureus* of bovine origin by polymorphisms of the *coagulase* gene [J]. Vet Microbiol, 1999, 66(4): 275–284.
- [16] Jarraud S, Peyrat MA, Lim A, *et al.* A putative nursery of superantigens in *Staphylococcus aureus* [J]. J Immunol, 2001, 166(1): 669–677.

(责任编辑: 白洪健)

作者简介



冯 震, 博士, 主管药师, 主要研究方向为分子生物学与微生物学检验。
E-mail: zfeng929@sina.cn



杨美成, 博士, 主任药师, 主要研究方向为实验室质量管理。
E-mail: yangmeicheng@vip.sina.com