

# 食源性金黄色葡萄球菌肠毒素及其检测方法

李琼琼<sup>1</sup>, 范一灵<sup>1</sup>, 宋明辉<sup>2</sup>, 施春雷<sup>2</sup>, 杨美成<sup>1\*</sup>

(1. 上海市食品药品检验所, 上海 201203; 2. 上海交通大学农业与生物学院, 上海 200240)

**摘要:** 金黄色葡萄球菌是一种重要的食源性致病菌, 在自然界中广泛分布, 其引起的食物中毒是世界性的公共卫生问题。金黄色葡萄球菌肠毒素是引起金黄色葡萄球菌食物中毒的主要致病因子。目前共发现 22 种金黄色葡萄球菌肠毒素或类肠毒素(SEA-SEE、SEG-SET、SE/U、SE/U<sub>2</sub>和 SE/V), 其中具有催吐活性的被定义为肠毒素, 没有催吐活性或者尚待验证的被定义为类肠毒素(SEI)。传统肠毒素 SEA~SEE 被报道是引起金黄色葡萄球菌食物中毒的主要肠毒素类型, 但是大多数新型肠毒素或类肠毒素与食物中毒的关系还没有被真正认识。本文对近几年关于金黄色葡萄球菌肠毒素与食物中毒的关系、肠毒素的表达调控以及肠毒素检测方法的研究进展进行了总结, 以期更好地了解金黄色葡萄球菌新型肠毒素致病性, 为今后金黄色葡萄球菌食物中毒的预防和控制提供依据。

**关键词:** 金黄色葡萄球菌; 肠毒素; 食物中毒; 可移动基因元件

## Research advances on foodborne staphylococcal enterotoxins and its detection methods

LI Qiong-Qiong<sup>1</sup>, FAN Yi-Ling<sup>1</sup>, SONG Ming-Hui<sup>2</sup>, SHI Chun-Lei<sup>2</sup>, YANG Mei-Cheng<sup>1\*</sup>

(1. Shanghai Institute for Food and Drug Control, Shanghai 201203, China; 2. School of Agriculture and Biology, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200240, China)

**ABSTRACT:** *Staphylococcus aureus* is widespread in nature and an important foodborne pathogen that can cause worldwide staphylococcal food poisoning. Staphylococcal enterotoxins (SEs) are a major cause of staphylococcal food poisoning. Up to date, a total of 22 SEs or enterotoxin-like proteins (SEI/s) have been described (SEA-SEE, SEG-SET, Se/U, SE/U<sub>2</sub> and Se/V). Enterotoxin-like proteins are not emetic in a primate model or have yet to be tested. SEA~SEE are the common cause of staphylococcal food poisoning worldwide, but the relationships between new enterotoxin types or enterotoxin-like proteins and food poisoning have not been clearly demonstrated. This review focused on recent advances related to SEs and their pathogenesis, the expression of enterotoxins encoding genes, and the detection methods of enterotoxins. The aim was to have better knowledge about pathogenesis of SEs, so as to prevent and control of staphylococcal food poisoning.

**KEY WORDS:** *Staphylococcus aureus*; enterotoxins; food poisoning; mobile genetic elements

基金项目: 上海市食品药品检验所重大项目(SKT-2015-02-2)

**Fund:** Supported by Shanghai Institute for Food and Drug Control Key Project (SKT-2015-02-2)

\*通讯作者: 杨美成, 主任药师, 主要研究方向为药物分析和质量管理。E-mail: lqq1986228@126.com

\*Corresponding author: YANG Mei-Cheng, Chief Pharmacists, Shanghai Institute for Food and Drug Control, No.1500, Zhangheng Road, Pudong District, Shanghai 201203, China. E-mail: lqq1986228@126.com

## 1 引言

金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)是一种重要的临床致病菌,能够引起皮肤组织感染、肺炎及菌血症等疾病<sup>[1,2]</sup>,也是引起细菌性食物中毒的重要病原菌。金黄色葡萄球菌在自然界中广泛存在,在空气、水、灰尘、人和动物的排泄物中都可找到,所以金黄色葡萄球菌极易污染食物,因此金黄色葡萄球菌食物中毒是一个世界性公共卫生问题。无论在发达国家还是发展中国家,由金黄色葡萄球菌引起的食物中毒在细菌性食物中毒中均占较大比例。在美国,金黄色葡萄球菌每年大约引起185000例食物中毒;而在我国,20%~25%的细菌性食物中毒病例是由金黄色葡萄球菌引起的<sup>[3]</sup>。研究表明,肠毒素是造成金黄色葡萄球菌食物中毒的主要致病因子<sup>[4,5]</sup>。肠毒素是一类低分子量的毒素蛋白质(约26~29 kDa),进入人体消化系统后可造成严重的胃肠炎,引发恶心、呕吐或干呕、腹部痉挛、发汗、发冷、休克等症状。肠毒素蛋白的热稳定性非常高,经100℃煮沸30 min而不被破坏,属于热源性毒素超抗原家族<sup>[6]</sup>。因此,金黄色葡萄球菌污染的食物经过一般加热处理后,虽然细菌菌体可被杀死,但其产生的肠毒素仍然具有活性和致病力。如美国肯塔基州曾暴发的金黄色葡萄球菌食物中毒,就是巧克力牛奶在灭菌过程中肠毒素未失活造成的。

## 2 金黄色葡萄球菌肠毒素的种类

除了传统的SEA、SEB、SEC、SED和SEE 5种经典肠毒素外,随着金黄色葡萄球菌基因组测序与基因组比对研究的进展,17种新型肠毒素或类肠毒素相继被发现,根据被发现的先后顺序依次被定义为SEA~SEE, SEG-SET, SE/U, SE/U<sub>2</sub>, SE/V,其中具有催吐活性的被定义为肠毒素,缺乏催吐活性的或者尚未被验证的相关毒素被定义为类肠毒素<sup>[7]</sup>。2013年Omoe等<sup>[8]</sup>通过灵长类模式动物毒性验证试验发现,类肠毒素SEIK、SEIL、SEIM、SEIN、SEIO、SEIP和SEIQ等均具有使灵长类动物呕吐的活性,因此这些类肠毒素被重新定义为肠毒素SEK、SEL、SEM、SEN、SEO、SEP和SEQ。目前只有类肠毒素SE/U, SE/U<sub>2</sub>和SE/V的催吐活性还有待验证。

编码肠毒素或者类肠毒素的基因都定位于金黄色葡萄球菌的附属可移动基因元件中,包括质粒、前噬菌体、致病岛和基因岛等。根据文献报道,定位于质粒上的肠毒素基因有:*seb*、*sed*、*sej*、*ser*、*ses*、*set*;定位于前噬菌体上的肠毒素基因有:*sea*、*see*、*sek*、*sep*、*seq*;定位于致病岛上的肠毒素基因有:*seb*、*sec*、*sel*、*sek*、*seq*;定位于基因岛上的肠毒素基因有:*seg*、*sei*、*sem*、*sen*、*seo*、*selu*、*selv*<sup>[9]</sup>。携带肠毒素基因的可移动元件通过基因水平转移可以在金黄色葡萄球菌菌株之间传播,改变菌株的致病性,进而影

响金黄色葡萄球菌的进化<sup>[10]</sup>。许多编码肠毒素的基因具有连锁性,比如形成毒素基因簇或者操纵子。肠毒素*sed*与*sej*最早被发现连锁存在于质粒pIB485,后来进一步发现在与质粒pIB485亲缘关系较近的质粒PF5和PF5-like上,同时连锁存在其他3个肠毒素基因(*ser*、*ses*和*set*)<sup>[11,12]</sup>。*sea-sek-seq*同时定位于ΦSa3ms和ΦSa3mw<sup>[13]</sup>。而*seb-sek-seq*则定位于致病岛SaPI3上,同样定位于致病岛上的连锁毒素基因还有*tsst-sec-sel*<sup>[14,15]</sup>。*seg*、*sei*、*sem*、*sen*和*seo*5个肠毒素基因在基因岛vSAβ上形成一个操纵子(*egc* cluster)<sup>[16,17]</sup>。

## 3 金黄色葡萄球菌肠毒素与食物中毒

金黄色葡萄球菌食物中毒多发于春夏季,被肠毒素污染的食品集中于牛奶制品以及肉、蛋制品<sup>[18]</sup>,此外,剩饭、凉菜以及糕点引起的金黄色葡萄球菌食物中毒事件也常有报道。流行病学研究表明,95%的金黄色葡萄球菌食物中毒由传统肠毒素SEA、SEB、SEC、SED和SEE引起,其中SEA是引起金黄色葡萄球菌食物中毒最主要的肠毒素类型,占食物中毒事件的70%左右<sup>[6,19]</sup>。在金黄色葡萄球菌中,多种肠毒素基因共存是一个普遍现象,大部分菌株都携带至少两种以上的肠毒素基因,新型肠毒素基因虽然在食源性金黄色葡萄球菌分离菌株中具有很高的携带率<sup>[20-23]</sup>,但是很少有研究报道新型肠毒素能够引起金黄色葡萄球菌食物中毒,金黄色葡萄球菌新型肠毒素和食物中毒之间的相关性还没有得到完全阐述。

2012年Yan等<sup>[5]</sup>检测了*sea-sei*等8个肠毒素基因在金黄色葡萄球菌食物中毒菌株中的分布,发现有些致病菌株中不携带*sea-see*等基因,但是携带*seg*和*sei*等新型肠毒素基因。同样Mc Lauchlin等<sup>[24]</sup>发现英国引起食物中毒的23株金黄色葡萄球菌中没有检测到传统肠毒素基因,但是携带一种或者多种新型肠毒素基因,如*seg*、*seh*、*sei*或者*sej*。*egc* cluster被发现于食源性金黄色葡萄球菌中具有很高的携带率,并且位于*egc* cluster上的新型肠毒素基因在猪肉和鸡肉来源的金黄色葡萄球菌分离株中的检出率远远高于传统肠毒素基因的检出率<sup>[25]</sup>。而*egc* cluster在临床菌株中也具有较高的分布率,暗示完整的*egc* cluster可能在金黄色葡萄球菌的致病过程中发挥着重要的作用<sup>[26]</sup>。以上研究表明新型肠毒素也可能引起食物中毒,因此开展新型肠毒素致病性的研究具有重要的现实意义。

## 4 金黄色葡萄球菌肠毒素的表达

金黄色葡萄球菌部分肠毒素的表达受*agr*系统的调控,比如SEB、SEC和SED,只有当细菌的群体密度达到一定程度后才会表达<sup>[27]</sup>。其他一些肠毒素,如SEA、SGE和SEI等则不受*agr*系统的调控,在细菌密度低的时候也能够表达,其中SEA可以在金黄色葡萄球菌不同的生长时期内持

续表达<sup>[28,29]</sup>。细菌在液体纯培养状态和在食物基质中的生长行为可能存在很大差异, 而肠毒素的产生通常与金黄色葡萄球菌的生长状态紧密相关, 因此肠毒素在培养基和食品中的表达模式可能存在明显差异<sup>[30]</sup>。Wallin-Carlquist 等<sup>[31]</sup>对比研究了肠毒素 *sea* 在 4 种加工猪肉产品中以及在培养基中的表达情况。在液体培养基中 *sea* 转录会在对数后期出现峰值, 随后会立即下降。然而在肉类产品中比如水煮火腿和烟熏火腿, *sea* 基因会一直持续转录。尽管金黄色葡萄球菌在水煮火腿和烟熏火腿上的生长情况相似, 但是在水煮火腿上 SEA 会持续表达, 并在孵育 3 d 后达到最高值, 而烟熏火腿上 SEA 的浓度则比水煮火腿少很多。SEA 造成食物中毒的剂量是 100~200 ng, 金黄色葡萄球菌在烟熏火腿与水煮火腿上孵育 1 d 后的毒素量即远远超过了食物中毒剂量。总之, 与液体培养基相比, *sea* 在不同食物中的表达行为完全不同。因此, 调查食物成分、防腐剂、空气和温度等因素对肠毒素差异表达的影响, 对于指导企业规范食品生产以及预防金黄色葡萄球菌食物中毒意义重大。

## 5 金黄色葡萄球菌肠毒素检测方法

在食品基质中实现对肠毒素的定量检测是一项具有挑战性的任务。首先, 食物基质的成分较为复杂, 含有多种蛋白质、脂类及其他化合物, 这些成分的存在会给肠毒素的准确检测造成干扰; 其次, 金黄色葡萄球菌在食物中往往仅产生痕量或微量的肠毒素蛋白 (ng/g), 这对检测方法的灵敏度提出了较高的要求; 最后, 肠毒素种类多样, 且一株金黄色葡萄球菌往往会携带多种肠毒素, 因此全面检测食品中污染的肠毒素非常困难。目前检测肠毒素的方法主要分为以下几类: 分子生物学检测方法、免疫学检测方法、胶体金试纸条检测方法、基于质谱分析的检测方法、基于超抗原性的检测方法以及适配体传感技术检测方法等。

### 5.1 分子生物学检测方法

分子生物学方法主要是指基于 PCR 技术建立的检测方法, 该方法具有快速、简便、高通量等优点。目前很多研究报道了基于 PCR 方法检测食品中金黄色葡萄球菌和肠毒素基因的方法。例如 Ercolini 等<sup>[32]</sup>建立的检测 *nuc*、*sec*、*seg*、*seh* 和 *sei* 等毒素基因的多重 PCR 体系能够检测生奶中  $10^4\sim 10^7$  cfu/g 产毒性金黄色葡萄球菌。Tamarapu 等<sup>[33]</sup>基于 *nuc* 和 *sec* 建立的 PCR 体系最低能够检测奶酪中 5 cfu/g 左右的金黄色葡萄球菌。除了普通 PCR 技术外, 灵敏度更高的实时荧光 PCR 也被应用于食品中产毒金黄色葡萄球菌的检测。Letertre 等<sup>[34]</sup>利用该技术成功地检测出 *sea-sej* 共 9 种肠毒素基因。Duquenne 等<sup>[35]</sup>则利用 RT-qPCR 技术来检测奶酪中肠毒素 *sea* 和 *sed* 的表达。

环介导等温扩增反应 (loop-mediated isothermal amplification, LAMP) 技术也被用于检测金黄色葡萄球菌肠毒素基因, 该技术的优点是反应时间短 (30~60 min)、不需要特殊的仪器、操作简单 (不论是 DNA 还是 RNA, 检测步骤都只需将反应液、酶和模板混合于反应管中, 置于水浴锅或恒温箱中 63 °C 左右保温 30~60 min, 肉眼直接观察结果)。Goto 等<sup>[36]</sup>基于 LAMP 技术开发了一种针对 *sea*、*seb*、*sec* 与 *sed* 的检测技术, 该法的灵敏度比 PCR 技术高, 且耗时更短。Sowmya 等<sup>[37]</sup>同样使用 LAMP 技术建立了 *sea-sed* 的检测方法。

基因芯片技术能够同时检测多个目标基因, 利用该技术检测肠毒素基因也有报道。Segreev 等<sup>[38]</sup>建立了荧光微阵列方法同时检测 17 个肠毒素基因, 但是未对其在食品和临床样品中的应用进行相关研究。Lin 等<sup>[39]</sup>开发了一种能够同时检测 *sea-see* 和 *seg* 基因的可视荧光微阵列方法, 并将其成功地应用于食品中产毒菌株的检测。

上述分子生物学检测技术为快速准确的检测肠毒素基因提供了一种新的方向, 但其只是核酸水平的检测, 并不能直接对应于肠毒素蛋白, 因此极大限制了该方法的应用。

### 5.2 免疫学检测方法

目前已经建立的定量检测肠毒素蛋白的方法主要基于免疫学技术, 比如传统的酶联免疫法 (ELISA), 还有一些近期发展的新方法, 如电化学免疫法、化学发光免疫、荧光免疫法和磁弹性免疫传感器法等<sup>[40-42]</sup>。这些免疫学方法基本上都是使用特异的抗体捕获抗原, 然后转化成光学或者电信号进行肠毒素的定量, 具有很高的灵敏度 (ng/mL), 并且检测时间较短, 为实时检测提供了可能。尽管这些新的免疫方法具有很好的前景, 但是高昂的检测成本以及食品基质的复杂性都给这些技术的实际应用设置了重重障碍。

目前市场上有一些商业化试剂盒可以直接用于传统肠毒素 SEA~SEE 的分析。大部分试剂盒都是基于特异性抗体的免疫识别, 如 Oxiod 公司的 SET-RPLA 试剂盒通过反向乳胶凝集试验来检测肠毒素, 还有一些试剂盒通过 ELISA 技术进行肠毒素检测 (TECRA Unique SET 和 TRANSIA plate SET), 也有一些通过酶联荧光法 (ELFA) 进行肠毒素检测 (VIDAS SET2)。基于 ELISA 和 ELFA (1.5~4 h) 的肠毒素检测试剂盒比 RPLA (20~24 h) 试剂盒要快很多。但是, 上述 ELISA 和 ELFA 类试剂盒使用多克隆抗体, 并不能鉴定肠毒素的类型, RPLA 类试剂盒可以实现对肠毒素类型的鉴定。

值得注意的是, 大部分免疫学方法应用到食品样品中的肠毒素检测时, 都可能会产生不准确的诊断结果。例如, 肠毒素 SEA 和 SED 经过加热处理后, 由于结构发生改变, 使用免疫学方法无法检出, 但是这些毒素仍然具有活性。此外, 目前已有的商业试剂盒, 只能检测 SEA~SEE 等

传统肠毒素, 缺乏检测新型肠毒素的免疫学方法, 特别是 SEH 已经被报道能够导致人类食物中毒, 另有一些新型肠毒素经过灵长类动物试验证明具有催吐活性, 这些新型肠毒素很有可能也参与到食物中毒中。因此, 迫切需要建立针对新型肠毒素的检测方法。

### 5.3 胶体金试纸条检测方法

近几年来, 许多研究者开发了快速检测金黄色葡萄球菌肠毒素的试纸条, 其中最有代表性的是胶体金试纸条。其最主要的原理是胶体金标记技术, 它是将胶体金作为示踪标记物, 应用于抗原抗体反应的一种新型免疫标记技术。胶体金具有高电子密度、介电特性和催化作用, 能与多种生物大分子结合, 且不影响其生物活性。Shyu 等<sup>[43]</sup>开发了以胶体金和侧向层析技术为基础的快速检测 SEB 的胶体金试纸条, 其最突出的优点是能在 5~10 min 内完成样品检测, 并且肉眼就可以进行判断, 检出限能够达到 10 ng/mL, 并且具有良好的稳定性及重现性。胶体金免疫层析测试条携带方便、使用简单、结果易观察, 可满足现场快速检测与初步筛选的要求。

### 5.4 基于质谱分析建立的检测方法

现行的用于检测金黄色葡萄球菌肠毒素的分子生物学方法和免疫学方法都有各自的局限性, 所以很多研究者开始利用其他现代仪器分析技术来对肠毒素进行定量检测。其中, 质谱分析技术被认为是最有前景的方法。电喷射电离和基质辅助激光解吸电离这两种电离方式的出现以及飞行时间质谱技术的发展, 使得质谱分析能够用于生物小分子物质的测定。近年来, 基于质谱分析检测肠毒素的高通量方法有了很大发展。理论上, 利用放射性同位素标记的肠毒素作为内标参照物, 使用质谱方法能够检测复杂样品中污染的任何种类的肠毒素。而实际应用中, 最大的难点就是食品基质复杂, 蛋白质、脂质等成分会对目标毒素的定量检测造成干扰, 所以样品的预处理是质谱分析的关键步骤。

质谱分析已经被 Dupuis 应用于检测 SEA<sup>[44]</sup>。Bernardo 等<sup>[45]</sup>使用 MALDI-TOF 方法能够实现培养液上清中 SEA-SEE 的检测。Hennekinne 等<sup>[46]</sup>通过免疫亲和技术富集餐后甜点中的肠毒素 SEA, 再利用质谱方法检测, 获得了非常好的结果。Schlosser 把免疫磁珠富集与质谱分析结合起来能够检测牛奶中 2 ng 左右的肠毒素 SEB<sup>[47]</sup>。与免疫学方法相比, 基于质谱分析建立的检测方法在样品准备过程中要花费更多的时间, 并且花费也比免疫学方法贵, 但是免疫学方法的前期开发时间长、投入大, 使得它不能应对突发的食物中毒事件, 而质谱分析提供了非常准确的结果以及很高的特异性, 具备更好的应用前景。

### 5.5 基于超抗原性的检测方法

金黄色葡萄球菌的肠毒素是一种热源性超抗原, 极

少量的肠毒素就可以激活大量 T 淋巴细胞的增殖并产生细胞因子, 它能直接与抗原呈递细胞的主要组织相容性复合物 II 类分子结合, 再与 T 细胞受体的  $V\beta$  结合后, 即可激活 T 细胞增殖并释放大量细胞因子。免疫学方法检测肠毒素的一大困难是难以获得优质的单克隆抗体, 而利用金黄色葡萄球菌的超抗原性这一特点可以开发出特异性好、结合力强的基因工程蛋白用于肠毒素的检测。Tallent 等<sup>[48]</sup>开发了一种荧光标记的流式细胞小球微阵列技术来检测 SEB, 原理是基于包被了 T 细胞受体  $V\beta$ -TCR 的磁珠与 SEB 的特异性结合, 能有效地从多种食品基质中检出 SEB, 更换磁珠的包被物后还能用于检测其他类型的肠毒素, 使得该方法的应用范围更广。

### 5.6 基于适配体传感技术的检测方法

适配体是指通过折叠形成特定空间结构与靶分子特异性结合的人工单链 DNA 或 RNA 序列<sup>[49]</sup>。核酸适配体与靶标特异性结合后, 其空间结构将发生改变, 引起适配体电荷分布吸附性能以及空间位阻等发生变化, 将这些变化转换为可定量处理的光电信号, 是基于适配体传感检测的基础。由于适配体的高特异性和高亲和性, 被喻为“化学抗体”。与抗体相比, 适配体具有以下优点使得它可以作为取代抗体的理想候选者: (1) 几乎所有目标分子都有适配体, 并且适配体具有较高的化学稳定性, 不易失活, 拓宽了使用范围; (2) 可通过 PCR 技术大量合成高纯度的适配体序列, 花费较低; (3) 分子量小, 组织穿透性好, 易于化学修饰, 实现多功能化。因此, 适配体逐渐成为分析化学领域研究和应用的热点。目前已经发展出了基于适配体技术检测食品中肠毒素的高灵敏、高特异性方法。

DeGrasse<sup>[50]</sup>筛选获得了一个能够跟肠毒素 SEB 特异结合的单链 DNA 适配体, 并成功地将其应用于复杂混合物中 SEB 的检测, 获得了良好的效果。Wu 等<sup>[51]</sup>把适配体与纳米颗粒传感结合起来, 建立了一种极其灵敏的荧光共振能量转移方法检测食品中的 SEB, 线性检测范围为 0.001~1 ng/mL, 最低检测限为 0.3 pg/mL。

目前, 利用适配体传感技术检测复杂基质中危害因子的研究尚处于探索阶段, 将适配体传感技术应用于食品安全分析仍然面临一些问题。但是, 随着适配体理论研究的不断完善和纳米科技的兴起, 相信未来适配体检测技术在食品毒素分析中具有广阔的应用前景。

## 6 展望

尽管有研究表明引起食物中毒的金黄色葡萄球菌携带新型肠毒素基因, 但是新型肠毒素能否像传统肠毒素一样引起人类胃肠道疾病还缺乏直接的证据。因此, 开展新型肠毒素的致病性研究具有重要意义。大部分肠毒素基因定位于可移动基因元件中, 这些基因元件在金黄色葡萄球菌菌株之间的转移, 可能是推动肠毒素进化的重要动力, 未

来可能会发现更多新的肠毒素类型。目前市场上较成熟的肠毒素检测方法大多基于免疫学技术, 由于肠毒素的种类较多, 以及获得特异性抗体和从复杂食品基质中实现肠毒素富集的困难性等因素, 免疫学方法存在很大的局限性, 所以发展新的肠毒素检测方法也是未来需要解决的一个重要课题。

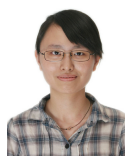
#### 参考文献

- [1] Kaasch A J, Michels G. *Staphylococcus aureus* bloodstream infection: When is transthoracic echocardiography sufficient? [J]. JACC: Cardiovas Imaging, 2015, 8(8): 932–933.
- [2] Le Moing V, Alla F, Doco-Lecompte T, et al. *Staphylococcus aureus* bloodstream infection and endocarditis-A prospective cohort study [J]. PLoS One, 2014, 10(5): e0127385–e0127385.
- [3] 彭国华, 胡主花, 薛琳, 等. 食物中毒样品中金黄色葡萄球菌及肠毒素检测[J]. 现代预防医学, 2008, 35(20): 3943–3945.  
Peng GH, Hu ZH, Xue L, et al. Detection of *Staphylococcus aureus* and enterotoxin in food poisoning samples [J]. Mod Prev Med, 2008, 35(20): 3943–3945.
- [4] Johler S, PS Tichaczek-Dischinger, J Rau, et al. Outbreak of Staphylococcal food poisoning due to SEA-producing *Staphylococcus aureus* [J]. Foodborne Pathog Dis, 2013, 10(9): 777–781.
- [5] Yan X, Wang B, Tao X, et al. Characterization of *Staphylococcus aureus* strains associated with food poisoning in Shenzhen, China [J]. Appl Environ Microbiol, 2012, 78(18): 6637–6642.
- [6] Le Loir Y, Baron F, Gautier M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning [J]. Genet Mol Res, 2003, 2(1): 63–76.
- [7] Argudín MÁ, Mendoza MC, Rodicio MR. Food poisoning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins [J]. Toxins, 2010, 2(7): 1751–1773.
- [8] Omoe K, Hu DL, Ono HK, et al. Emetic potentials of newly identified staphylococcal enterotoxin-like toxins [J]. Infect Immun, 2013, 81(10): 3627–3631.
- [9] Hennekinne JA, ML De Buyser, Dragacci S, *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation [J]. FEMS Microbiol Rev, 2012, 36(4): 815–36.
- [10] Song M, Bai Y, Xu J, et al. Genetic diversity and virulence potential of *Staphylococcus aureus* isolates from raw and processed food commodities in Shanghai [J]. Int J Food Microbiol, 2015, 195: 1–8.
- [11] Omoe K, Hu DL, Takahashi-Omoe H, et al. Identification and characterization of a new staphylococcal enterotoxin-related putative toxin encoded by two kinds of plasmids [J]. Infect Immun, 2003, 71(10): 6088–6094.
- [12] Ono HK, Omoe K, Imanishi K, et al. Identification and characterization of two novel staphylococcal enterotoxins, types S and T [J]. Infect Immun, 2008, 76(11): 4999–5005.
- [13] Baba T, Takeuchi F, Kuroda M, et al. Genome and virulence determinants of high virulence community-acquired MRSA [J]. Lancet, 2002, 359(9320): 1819–1827.
- [14] Novick RP, Christie GE, Penades JR. The phage-related chromosomal islands of Gram-positive bacteria [J]. Nat Rev Microbiol, 2010, 8(8): 541–551.
- [15] Lindsay JA, Holden MT. Understanding the rise of the superbug: investigation of the evolution and genomic variation of *Staphylococcus aureus* [J]. Funct Integr Genomics, 2006, 6(3): 186–201.
- [16] Jarraud S, Peyrat MA, Lim A, et al. Egc, a highly prevalent operon of enterotoxin gene, forms a putative nursery of superantigens in *Staphylococcus aureus* [J]. J Immunol, 2001, 166(1): 669–77.
- [17] Fusco V, Quero GM, Morea M, et al. Rapid and reliable identification of *Staphylococcus aureus* harbouring the enterotoxin gene cluster (egc) and quantitative detection in raw milk by real time PCR [J]. Int J Food Microbiol, 2011, 144(3): 528–537.
- [18] Schmid D, Fretz R, Winter P, et al. Outbreak of staphylococcal food intoxication after consumption of pasteurized milk products, June 2007, Austria [J]. Wiener Klinische Wochenschrift, 2009, 121(3–4): 125–131.
- [19] Kérouanton A, Hennekinne JA, Letertre C, et al. Characterization of *Staphylococcus aureus* strains associated with food poisoning outbreaks in France [J]. Int J Food Microbiol, 2007, 115(3): 369–375.
- [20] Chao G, Bao G, Cao Y, et al. Prevalence and diversity of enterotoxin genes with genetic background of *Staphylococcus aureus* isolates from different origins in China [J]. Int J Food Microbiol, 2015, 211: 142–147.
- [21] Wang X, Meng J, Zhang J, et al. Characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from powdered infant formula milk and infant rice cereal in China [J]. Int J Food Microbiol, 2012, 153(1–2): 142–147.
- [22] Spanu V, Spanu C, Viridis S, et al. Virulence factors and genetic variability of *Staphylococcus aureus* strains isolated from raw sheep's milk cheese [J]. Int J Food Microbiol, 2012, 153(1–2): 53–57.
- [23] Argudin MA, Mendoza MC, Gonzalez-Hevia MA, et al. Genotypes, exotoxin gene content, and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* strains recovered from foods and food handlers [J]. Appl Environ Microbiol, 2012, 78(8): 2930–2935.
- [24] McLauchlin J, Narayanan GL, Mithani V, et al. The detection of enterotoxins and toxic shock syndrome toxin genes in *Staphylococcus aureus* by polymerase chain reaction [J]. J Food Prot, 2000, 63(4): 479–488.
- [25] Hwang SY, Kim SH, Jang EJ, et al. Novel multiplex PCR for the detection of the *Staphylococcus aureus* superantigen and its application to raw meat isolates in Korea [J]. Int J Food Microbiol, 2007, 117(1): 99–105.
- [26] Xie Y, He Y, Gehring A, et al. Genotypes and toxin gene profiles of *Staphylococcus aureus* clinical isolates from China [J]. PLoS One, 2011, 6(12): e28276.
- [27] Tseng CW, Zhang S, Stewart GC. Accessory gene regulator control of staphylococcal enterotoxin d gene expression [J]. J Bacteriol, 2004, 186(6): 1793–1801.
- [28] Munson SH, Tremaine MT, Betley MJ, et al. Identification and characterization of staphylococcal enterotoxin types G and I from *Staphylococcus aureus* [J]. Infect Immun, 1998, 66(7): 3337–3348.
- [29] Pocsfalvi G, Cacace G, Cuccurullo M, et al. Proteomic analysis of exoproteins expressed by enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* strains [J]. Proteomics, 2008, 8(12): 2462–2476.
- [30] Resch A, Rosenstein R, Nerz C, et al. Differential gene expression profiling of *Staphylococcus aureus* cultivated under biofilm and planktonic conditions [J]. Appl Environ Microbiol, 2005, 71(5): 2663–2676.
- [31] Wallin-Carlquist N, Marta D, Borch E, et al. Prolonged expression and production of *Staphylococcus aureus* enterotoxin A in processed pork meat [J]. Int J Food Microbiol, 2010, 141 Suppl 1: S69–S74.

- [32] Ercolini D, Blaiotta G, Fusco V, *et al.* PCR-based detection of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in the early stages of raw milk cheese making [J]. *J Appl Microbiol*, 2004, 96(5): 1090–1096.
- [33] Tamarapu S, McKillip JL, Drake M. Development of a multiplex polymerase chain reaction assay for detection and differentiation of *Staphylococcus aureus* in dairy products [J]. *J Food Prot*, 2001, 64(5): 664–668.
- [34] Letertre C, Perelle S, Dilasser F, *et al.* Detection and genotyping by real-time PCR of the staphylococcal enterotoxin genes sea to sej [J]. *Mol Cell Probes*, 2003, 17(4): 139–147.
- [35] Duquenne M, Fleuret I, Aigle M, *et al.* Tool for quantification of staphylococcal enterotoxin gene expression in cheese [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2010, 76(5): p. 1367–1374.
- [36] Goto M, Hayashidani H, Takatori K, *et al.* Rapid detection of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* harbouring genes for four classical enterotoxins, SEA, SEB, SEC and SED, by loop-mediated isothermal amplification assay [J]. *Lett Appl Microbiol*, 2007, 45(1): 100–107.
- [37] Sowmya N, Thakur MS, HK Manonmani. Rapid and simple DNA extraction method for the detection of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* directly from food samples: comparison of PCR and LAMP methods [J]. *J Appl Microbiol*, 2012, 113(1): 106–113.
- [38] Sergeev N, Volokhov D, Chizhikov V, *et al.* Simultaneous analysis of multiple staphylococcal enterotoxin genes by an oligonucleotide microarray assay [J]. *J Clin Microbiol*, 2004, 42(5): 2134–2143.
- [39] Lin CM, Chiang YC, Tsen HY. Development and use of a chromogenic macroarray system for the detection of *Staphylococcus aureus* with enterotoxin A, B, C, D, E, and G genes in food and milk samples [J]. *Foodborne Pathog Dis*, 2009, 6(4): 445–452.
- [40] Chatrathi MP, Wang J, Collins GE. Sandwich electrochemical immunoassay for the detection of Staphylococcal enterotoxin B based on immobilized thiolated antibodies [J]. *Biosens Bioelectron*, 2007, 22(12): 2932–2938.
- [41] Gholamzad M, Khatami MR, Ghassemi S, *et al.* Detection of staphylococcus enterotoxin B (SEB) using an immunochromatographic test strip [J]. *Jundishapur J Microbiol*, 2015, 8(9): e26793.
- [42] Wu L, Gao B, Zhang F, *et al.* A novel electrochemical immunosensor based on magnetosomes for detection of staphylococcal enterotoxin B in milk [J]. *Talanta*, 2013, 106: 360–366.
- [43] Rong-Hwa S, Shiao-Shek T, Der-Jiang C, *et al.* Gold nanoparticle-based lateral flow assay for detection of staphylococcal enterotoxin B [J]. *Food Chem*, 2010, 118(2): 462–466.
- [44] Dupuis A, Hennekinne JA, Garin J, *et al.* Protein standard absolute quantification (PSAQ) for improved investigation of staphylococcal food poisoning outbreaks [J]. *Proteomics*, 2008, 8(22): 4633–4636.
- [45] Bernardo K, Pakulat N, Macht M, *et al.* Identification and discrimination of *Staphylococcus aureus* strains using matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry [J]. *Proteomics*, 2002, 2(6): 747–753.
- [46] Hennekinne JA, Brun V, De Buyser ML, *et al.* Innovative application of mass spectrometry for the characterization of staphylococcal enterotoxins involved in food poisoning outbreaks [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2009, 75(3): 882–884.
- [47] Schlosser G, Kacer P, Kuzma M, *et al.* Coupling immunomagnetic separation on magnetic beads with matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for detection of staphylococcal enterotoxin B [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2007, 73(21): 6945–6952.
- [48] Tallent SM, Degrasse JA, Wang N, *et al.* Novel platform for the detection of *Staphylococcus aureus* enterotoxin B in foods [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2013, 79(5): 1422–1427.
- [49] 梁森, 刘锐, 苏荣欣, 等. 面向食品安全分析的核酸适配体传感技术[J]. *化学进展*, 2012, 24 (07): 1378–1387.  
Liang M, Liu R, Su RX, *et al.* Aptamer-based sensing technology towards food safety [J]. *Anal Prog Chem*, 2012, 24(07): 1378–1387.
- [50] DeGrasse JA. A single-stranded DNA aptamer that selectively binds to *Staphylococcus aureus* enterotoxin B [J]. *PLoS One*, 2012, 7(3): e33410.
- [51] Wu S, Duan N, Ma X, *et al.* A highly sensitive fluorescence resonance energy transfer aptasensor for staphylococcal enterotoxin B detection based on exonuclease-catalyzed target recycling strategy [J]. *Anal Chim Acta*, 2013, 782: 59–66.

(责任编辑: 杨翠娜)

## 作者简介



李琼琼, 硕士, 微生物检验师, 主要从事食品和药品的微生物检验和方法研究。  
E-mail: lqq1986228@126.com



杨美成, 博士, 主任药师, 主要从事药物分析和质量管理。  
E-mail: lqq1986228@126.com