

食品和临床来源金黄色葡萄球菌对 Caco-2 细胞侵袭力的比较研究

宋明辉¹, 施春雷², 李琼琼¹, 秦 峰¹, 刘 浩¹, 史贤明², 杨美成^{1*}

(1. 上海市食品药品检验研究院微生物所, 国家药品监督管理局药品微生物检测技术重点实验室, 上海 201203;
2. 上海交通大学农业与生物学院, 上海 200240)

摘 要: **目的** 研究食品和临床来源金黄色葡萄球菌不同克隆系(clonal complex, CC)菌株对 Caco-2 细胞的侵袭力和菌膜形成能力。**方法** 采用 Caco-2 细胞体外培养方法、庆大霉素与溶葡萄球菌酶保护试验, 研究金黄色葡萄球菌 12 个不同来源的克隆系菌株对人体肠道表皮细胞的体外侵袭力; 采用 96 孔板结晶紫染色法评估不同菌株的菌膜形成能力。**结果** 体外侵袭能力试验结果表明 CC5、CC25、CC30、CC50、CC59、CC239 和 CC398 等克隆系都具有细胞强侵袭株, 与牲畜特异相关的 CC9 也展现出细胞强侵袭力, 而 CC1、CC20、CC72 和 CC121 等克隆系则明显具有较弱的细胞侵袭能力。不同克隆系菌株菌膜形成的能力也具有一定差异, 其中 CC5、CC9、CC25 和 CC239 等克隆系菌膜形成能力相比较强, 而 CC1、CC72、CC59 和 CC121 等则菌膜形成能力较弱。进一步分析发现不同克隆系菌株的菌膜形成能力与细胞侵袭力呈现正相关($R=0.743$)。**结论** 金黄色葡萄球菌不同克隆系菌株的细胞侵袭能力、菌膜形成能力具有一定差异, 为有效防控金黄色葡萄球菌临床感染提供重要支持。

关键词: 金黄色葡萄球菌; 不同克隆系; Caco-2 细胞; 细胞侵袭力; 菌膜形成能力

Comparative study the invasiveness on Caco-2 cells of *Staphylococcus aureus* strains isolated from food and clinical samples

SONG Ming-Hui¹, SHI Chun-Lei², LI Qiong-Qiong¹, QIN Feng¹, LIU Hao¹,
SHI Xian-Ming², YANG Mei-Cheng^{1*}

(1. Shanghai Institute for Food and Drug Control, National Medical Products Administration Key Laboratory for Testing Technology of Pharmaceutical Microbiology, Shanghai 201203, China; 2. School of Agriculture and Biology, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200240, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the invasiveness on Caco-2 cells and biofilm formation ability of different clonal complex (CC) of *Staphylococcus aureus* strains isolated from food and clinical samples. **Methods** Caco-2 cells were cultured *in vitro*, and gentamicin combined with lysostaphin protection test were used to explore the invasiveness ability *in vitro* of clonal strains of *Staphylococcus aureus* from 12 different sources on human intestinal epidermal cells; 96-well plate crystal violet staining method was used to study the biofilm-forming ability of different

基金项目: 上海市科委技术标准项目(19DZ2202600)、国家重点研发计划项目(2018YFC1603900)

Fund: Supported by the Grants from Science and Technology Commission of Shanghai Municipality (19DZ2202600), and the National Key Research and Development Program of China (2018YFC1603900)

***通信作者:** 杨美成, 主任药师, 主要研究方向为食品药品微生物检验与实验室质量管理。E-mail: yangmeicheng@vip.sina.com

***Corresponding author:** YANG Mei-Cheng, Chief Pharmacist, Shanghai Institute for Food and Drug Control, No.1500, Zhangheng Road, Pudong District, Shanghai 201203, China. E-mail: yangmeicheng@vip.sina.com

strains. **Results** The results of *in vitro* invasion capabilities indicated that strong Caco-2 cell invasiveness strains were found in CC5、CC25、CC30、CC50、CC59、CC239 and CC398. In addition, some isolates belonging to livestock-associated lineage CC9 also showed strong invasion ability. In contrast, there was no strong invasiveness strains in CC1, CC20, CC72 and CC121. The biofilm-forming ability of different clonal lineages had obvious differences, among which the CC5, CC9, CC25 and CC239 showed stronger biofilm forming ability, while the strains of CC1, CC59, CC72 and CC121 had a less capable of biofilm forming ability. In addition, the biofilm formation ability and Caco-2 cell invasiveness ability of *Staphylococcus aureus* strains were positively associated ($R=0.743$). **Conclusion** The cell invasiveness ability and biofilm formation ability of *Staphylococcus aureus* belonging to different clone lineage has a certain differences, which can provide an important support for the effective prevention and control of clinical infection.

KEY WORDS: *Staphylococcus aureus*; different clonal complex; Caco-2 cells; invasiveness capability; biofilm formation ability

0 引言

金黄色葡萄球菌能够通过污染食品引起食物中毒^[1], 是一种重要的食源性和临床致病菌^[2-3]。通常金黄色葡萄球菌被认为是一种胞外化脓性致病菌^[4]。在引发化脓性组织感染、心内膜炎等临床疾病时, 金黄色葡萄球菌主要是定殖在细胞外, 释放毒力因子破坏组织细胞、逃避免疫系统攻击^[5-8]。但近年研究表明, 金黄色葡萄球菌很可能是一种兼性胞内致病菌, 能够在人体细胞中长期定殖^[9-10]。金黄色葡萄球菌引发的血管内感染患者, 经过抗生素治疗后, 往往具有较高的复发率^[11-12]。这些临床特征指出了研究金黄色葡萄球菌对人体组织细胞侵袭力的必要性。金黄色葡萄球菌临床流行株主要包含 CC1、CC5、CC59 和 CC239 等克隆系^[13-14]。而与肉类食品和牲畜相关的一些克隆系如 CC9 和 CC97 等, 则在临床感染样本中较少发现^[15]。金黄色葡萄球菌的致病能力与菌株的遗传多样性具有一定相关性。因此, 评估不同克隆系菌株对人组织细胞的侵袭力能够帮助认识其临床潜在致病力差异。此外, 有研究报道携带有肠毒素基因簇(*enterotoxin gene cluster, egc*)的金黄色葡萄球菌, 在婴儿的肠道表皮细胞中明显具有更强的存活能力^[16-17], 推测 *egc* 可能与对肠道表皮细胞的侵袭力相关。

研究食品和临床来源金黄色葡萄球菌主要克隆系对人肠道上皮细胞侵袭能力, 对于阐明不同基因型菌株的致病机制十分必要。Caco-2 细胞系模型是一种重要的人结肠腺癌细胞, 经过体外培养后类似于人的肠上皮细胞, 目前被广泛应用于微生物与人体肠道细胞的互作研究^[18-20]。潘海建^[21]研究了弯曲菌临床主要克隆系对 Caco-2 细胞的侵袭性, 结果发现 CC-353、CC-828、CC-21、CC-354、CC-464 等克隆系具有强侵袭菌株。也有研究发现单增李斯特菌血清型 1/2b 具有更强的细胞侵袭力, 食品菌株中侵袭关键因子内化素基因 *InlA* 的突变率(46.72%)明显高于人源性菌株(7.69%), 这可能是造成不同来源菌株侵袭能力差异的主

要原因^[20]。但对于食品和临床来源金黄色葡萄球菌不同克隆系菌株对 Caco-2 细胞的侵袭能力, 目前鲜少见有研究报道。因此, 本研究选择 Caco-2 细胞体外培养模型, 比较研究食品和临床来源金黄色葡萄球菌不同基因型菌株对肠上皮细胞的侵袭力, 并进一步探究菌株细胞侵袭力与菌膜形成能力的相关性, 为阐明金黄色葡萄球菌不同菌株的致病能力差异和有效防控相关疾病感染的发生提供数据。

1 材料与方法

1.1 主要材料和试剂

菌株大肠杆菌 DH5 α (*Escherichia coli* DH5 α)(北京百奥莱博科技有限公司); 金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) (ATCC6538, 美国菌种保藏中心)。

Caco-2 细胞系(上海市生命科学研究院); Dulbecco 改良 Eagle 培养基(DMEM)细胞培养液、胎牛血清(纯度 100%)、非必需氨基酸(纯度 100%)、胰蛋白酶(浓度 0.25%)、10 $\times$ 磷酸盐缓冲液(美国 Invitrogen 公司); 0.5% 曲拉通(Triton) X-100 溶液(美国默克公司); 胰酪大豆胨培养基(tryptic soy peptone broth, TSB)(美国碧迪公司); 结晶紫(分析纯, 中国医药集团有限公司)。

1.2 主要仪器设备

BB150 二氧化碳细胞培养箱、CA-1480-2 垂直流洁净工作台(美国赛默飞公司); 24 孔聚苯乙烯细胞培养板(美国 Invitrogen 公司); DensiCHEK Plus 麦氏电子比浊仪(法国 MERIEUX 公司); BX53M 光学倒置显微镜(日本奥林巴斯公司)。

1.3 方法

1.3.1 试验菌株及遗传背景

本研究共选择了 56 株不同基因型的金黄色葡萄球菌分离株, 试验菌株的遗传背景多样性如表 1 所示, 主要涵盖 12 种流行克隆系: CC1、CC5、CC9、CC20、CC25、CC30、

CC50、CC59、CC121、CC72、CC239 和 CC398, 其中有 30 株菌携带有 *egc* 基因簇。

表 1 菌株信息
Table 1 Strain information

菌株名称	克隆世系	<i>egc</i> 基因簇	菌株来源
20278	CC5	+	呕吐物
20966	CC5	+	牛乳
20723	CC5	+	牛乳
20991	CC5	+	鲜肉
20736	CC5	+	牛乳
20978	CC5	+	牛乳
B272	CC5	+	痰
C299	CC5	+	痰
D184	CC5	+	痰
Q152	CC5	+	痰
20973	CC9	+	牛乳
20979	CC9	+	牛乳
20350	CC72	+	呕吐物
20987	CC72	+	鲜肉
20994	CC72	+	鲜肉
C344	CC30	+	痰
K241	CC30	+	痰
O114	CC30	+	脓
L247	CC25	+	痰
20346	CC25	+	呕吐物
20347	CC25	+	呕吐物
20348	CC25	+	呕吐物
20836	CC20	+	鲜肉
20837	CC20	+	牛乳
20974	CC20	+	牛乳
L029	CC20	+	临床样本
C209	CC121	+	脓
F104	CC121	+	痰
20729	CC50	+	牛乳
20995	CC50	+	豆制品
A075	CC239	-	痰
B008	CC239	-	痰
B086	CC239	-	痰
C288	CC239	-	痰
D131	CC239	-	痰
F158	CC239	-	痰
A095	CC1	-	尿

表 1(续)

菌株名称	克隆世系	<i>egc</i> 基因簇	菌株来源
B226	CC1	-	临床样本
D004	CC1	-	临床样本
M146	CC1	-	血
20701	CC1	-	速冻米面制品
20963	CC1	-	牛肉
20965	CC1	-	猪肉
A176	CC59	-	脓
C256	CC59	-	痰
P361	CC59	-	大便
N71	CC59	-	血
20758	CC59	-	牛乳
20770	CC59	-	牛乳
20971	CC59	-	牛乳
A100	CC398	-	痰
N126	CC398	-	引流液
K185	CC398	-	脓
20725	CC398	-	牛乳
20839	CC398	-	绿豆芽
20755	CC398	-	牛乳

注: +指菌株 *egc* 基因簇特异 PCR 检测阳性, -指菌株 *egc* 基因簇特异 PCR 检测阴性。

1.3.2 Caco-2 细胞系的活化与传代培养

参考潘海建^[21]建立的方法进行细胞活化与培养, 从超低温冰箱取出细胞冻存管, 在 37℃水浴中融化后将转入新的离心管, 缓慢加入 4 mL DMEM 培养液, 轻轻混匀后 1000 r/min 转速离心 3 min, 弃上清后再加入 2 mL DMEM 培养液, 轻轻重悬后, 转接到新的含有 DMEM 培养液的细胞培养瓶, 置于二氧化碳培养箱中, 37℃培养两天。采用光学显微镜观察细胞培养密度, 当贴壁细胞密度达到 80%左右, 弃去培养液后加入胰蛋白酶溶液 1 mL, 作用 1 min 后移除溶液并置于培养箱作用 5 min。细胞离散后加入 15 mL 新鲜 DMEM 细胞培养液制成细胞悬液, 加入到新的细胞培养瓶中再次传代培养。

1.3.3 Caco-2 活化细胞的种板

多次传代培养的 Caco-2 细胞制成细胞悬液后, 转接到细胞培养板(每孔加入 1 mL), 在超净工作台中水平放置并采用十字法晃动培养板, 使其分布均匀^[21]。然后放入 5% 的二氧化碳培养箱, 37℃培养约 48 h。当细胞长满培养板底部后, 使用灭菌磷酸盐缓冲溶液轻轻冲洗 3 次。完成 Caco-2 细胞种板, 以备用。

1.3.4 金黄色葡萄球菌对 Caco-2 细胞最佳感染复数

感染复数(multiplicity of infection, MOI)是指细菌侵染

组织细胞初时, 细菌数量和侵染细胞数量的比值。选择最佳的 MOI 值对获得稳定可靠的试验结果非常重要。参考其他致病菌侵染细胞选择的感染复数^[22], 本研究共设置 10:1、40:1、100:1、200:1 4 个 MOI 值进行金黄色葡萄球菌对 Caco-2 细胞的最佳感染复数测定试验。当 Caco-2 细胞铺满 24 孔细胞培养板底部时, 细胞数目约为 3×10^5 cell/孔。将培养的金黄色葡萄球菌 B272 新鲜菌液计数后进行稀释, 使每个细胞培养孔里加入对应浓度的菌体, 分别为 3×10^6 、 1.2×10^7 、 3×10^7 和 6×10^7 CFU。轻轻晃动后置于二氧化碳培养箱, 37℃ 培养约 15 min 后, 使用磷酸盐缓冲液轻轻洗去游离菌体。每孔加入 500 μL 的 DMEM 培养液(添加有 250 μg/mL 庆大霉素、10 μg/mL 溶葡萄球菌酶), 37℃ 再培养 2 h。轻轻移去 DMEM 培养液, 使用磷酸盐缓冲液清洗 3 次后, 加入 100 μL 0.5% 浓度的 Triton X-100 溶液, 静置 10 min 后, 进行细菌计数, 每个浓度梯度重复 3 次。

1.3.5 金黄色葡萄球菌对 Caco-2 细胞的侵袭力试验

将试验菌株接种于新鲜的 TSB 液体培养基, 37℃ 培养 12 h 后, 吸取 1 mL 培养液与 12000 r/min 离心 30 s, 弃去上清液后, 使用磷酸盐缓冲液清洗两遍制成菌悬液, 稀释菌液到麦氏比浊度为 1.0(即 3×10^8 CFU/mL)。与 DMEM 培养液按 1:9 的体积比混匀后, 吸取 1 mL 加入到 Caco-2 细胞培养板中。轻轻晃动后置于二氧化碳培养箱, 37℃ 培养约 2 h 后, 使用磷酸盐缓冲液轻轻洗去游离菌体。每孔加入 500 μL 的 DMEM 培养液(添加有 250 μg/mL 庆大霉素、10 μg/mL 溶葡萄球菌酶), 37℃ 再培养 2 h。轻轻移去 DMEM 培养液, 使用磷酸盐缓冲液清洗 3 次后, 加入 100 μL 0.5% 浓度的 Triton X-100 溶液, 静置 10 min 后, 用移液枪反复吹打并稀释到合适浓度, 使用 TSB 固体培养基进行细菌计数, 每个浓度梯度重复 3 次^[21]。

以大肠杆菌 DH5α (*Escherichia coli* DH5α) 为参照菌株, 菌株的侵袭力是指待测菌株相比于参照菌株的侵袭倍数(n), 其中强侵袭株定义为 $n>25$, 弱侵袭株定义为 $n<10$ 。

1.3.6 菌膜形成能力

将待测菌株新鲜培养液与 TSB 以 1:100 的体积比例混匀, 加入到 96 孔细菌培养板, 每孔加入混合液 180 μL。37℃ 培养两天后移除菌液, 每孔加入 200 μL 的磷酸盐缓冲液溶液, 重复冲洗 3 次后自然风干。然后加入 0.1% 的结晶紫溶液 180 μL, 30 min 后轻轻移除, 再用磷酸盐缓冲液溶液轻轻冲洗 3 次。使用移液枪吸出残留液后, 加入 95% 的乙醇 180 μL, 静置 5 min 后混匀。使用酶标仪测定 OD₅₉₅ 吸光值。独立重复试验 3 次, 每株试验菌株 5 个平行^[23]。

参考文献报道选择 ATCC6538 为阳性对照、TSB 培养基作为空白对照, 空白对照的平均吸光值加上其 3 倍的标准差, 作为本研究菌判定膜形成的界定值(以 OD_c 表示)^[23]。当待测菌株 OD₅₉₅ ≤ OD_c 时, 则判为阴性; 当 OD_c < OD₅₉₅ 则判为具有一定的菌膜形成能力。试验菌株的 OD₅₉₅ 吸光

值越高, 表明其菌膜形成能力越强。

1.3.7 统计分析

采用 SPSS 18.0 软件, 运用单因素方差分析方法和 T-test 对相关试验数据进行显著性分析和制图。

2 结果与分析

2.1 金黄色葡萄球菌对 Caco-2 细胞最佳感染复数

本研究选择金黄色葡萄球菌菌株 B272 对 Caco-2 细胞的感染复数 10:1、40:1、100:1 和 200:1 进行了测试。经过 MOI 值优化试验, 金黄色葡萄球菌侵染 Caco-2 细胞的较优 MOI 值为 100:1。

2.2 金黄色葡萄球菌不同克隆系菌株的细胞侵袭力分析

CC1、CC20、CC5、CC25、CC30、CC50、CC72、CC121 和 CC398 在临床样本和动物群体均能发现, CC9 属于牲畜特异相关的克隆系, 而 CC239 则主要属于临床流行株。12 个不同来源克隆系菌株的细胞侵袭能力实验结果如表 2 和图 1 所示, 其中 CC5、CC9、CC30、CC25、CC59、CC50、CC398 和 CC239 菌株中均发现了细胞侵袭性强的菌株, 其中 CC239 强侵袭株比例最高(83.3%)、其次是 CC5 (70.0%)。而 CC1、CC20、CC72 和 CC121 等克隆系中菌株的细胞侵袭力则较弱, 特别是 CC72 和 CC121 弱侵袭株比例高达 100%。此外, CC5、CC9 和 CC25 等克隆系下分布的不同菌株间的细胞侵袭力则具有较大差异。值得注意的是临床 CC239 克隆系中的多数菌株均显示出了较强的细胞侵袭力, 与牲畜加工肉制品特异相关的 CC9 克隆系中也发现了强侵袭株。

表 2 不同克隆系中强侵袭株和弱侵袭株比例
Table 2 Percentages of hyper-invasive strains and low invaders belonging to different clonal complex

克隆系	菌株数(n)	强侵袭株 (比例/%)	弱侵袭株 (比例/%)
CC1	7	0	5 (71.4)
CC5	10	7 (70.0)	2 (20.0)
CC9	2	1 (50.0)	1 (50.0)
CC20	4	0	1 (25.0)
CC25	4	2 (50.0)	2 (50.0)
CC30	3	1 (33.3)	0
CC50	2	1 (50.0)	1 (50.0)
CC59	7	3 (42.9)	3 (42.9)
CC72	3	0	3 (100)
CC121	2	0	2 (100)
CC239	6	5 (83.3)	1 (16.7)
CC398	6	3 (50.0)	0

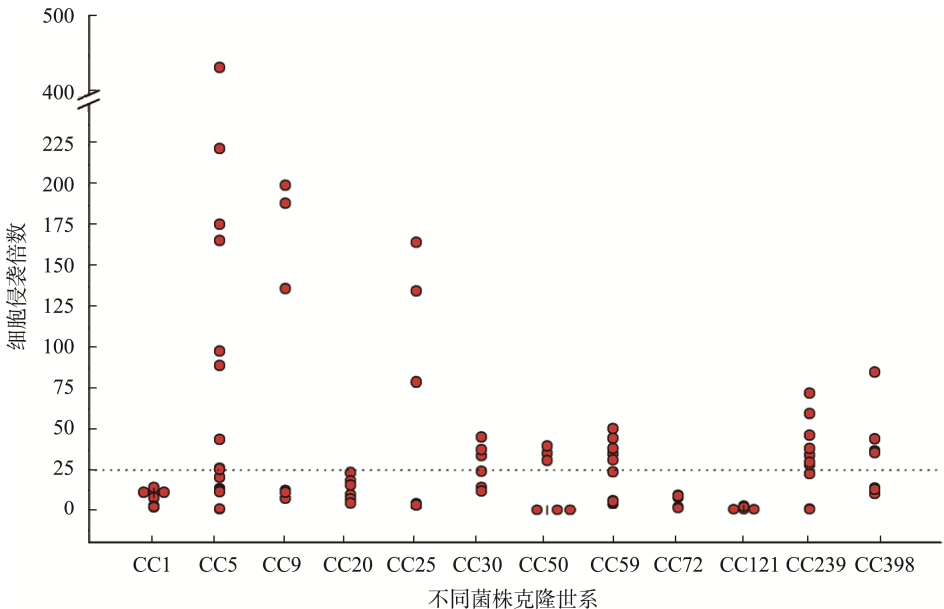


图 1 食品和临床来源金黄色葡萄球菌不同克隆系菌株对 Caco-2 细胞的侵袭能力
Fig.1 Caco-2 cell invasion capacities of different *Staphylococcus aureus* strains isolated from food and clinical samples

2.3 *egc* 基因簇阳性菌株与阴性菌株的细胞侵袭力分析

试验结果表明携带有 *egc* 基因簇的 CC9、CC5、CC30、CC25 和 CC50 等克隆系中的大多数菌株都表现出了较强的 Caco-2 细胞侵袭力,而在 CC121 和 CC72 等克隆系中则未发现有细胞侵袭力强的菌株(表 2)。尽管携带有 *egc* 基因簇的菌株整体比未携带的群体显示出了更强的细胞侵袭力(图 2),但统计分析表明两个群体之间并无显著性差异($P=0.052$)。

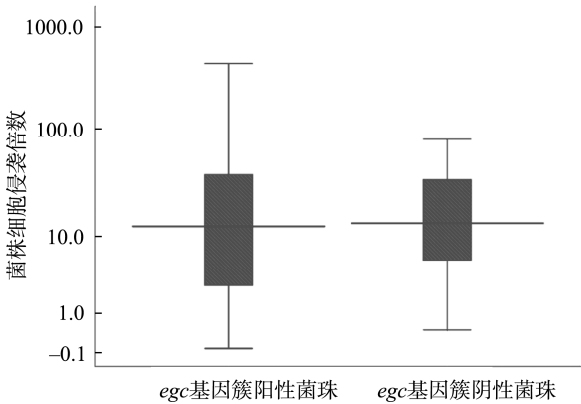


图 2 携带与未携带 *egc* 基因簇的菌株对 Caco-2 细胞的侵袭力分析
Fig.2 Invasion capacity analysis of *egc* locus-positive isolates and negative isolates on Caco-2 cell

2.4 不同基因型菌株的菌膜形成能力与细胞侵袭力的相关性

金黄色葡萄球菌是一种能够形成菌膜的致病菌,菌膜的形成往往使其引起的临床感染较难治疗。本研究结果发现

金黄色葡萄球菌 12 种克隆系菌株的菌膜形成能力具有明显多样性(图 3)。其中 CC5、CC9、CC25 和 CC239 等克隆系显示出了较强的形成菌膜能力,而 CC1、CC59、CC72 和 CC121 则相对较弱。进一步分析发现,不同菌株的细胞侵袭力与菌膜形成力为正相关(泊松相关分析, $R=0.743$)(图 4)。

3 讨论与结论

金黄色葡萄球菌对人体细胞侵袭力的强弱与携带的毒力因子种类关系密切。研究表明许多毒力基因分布与菌株遗传克隆系具有显著相关性^[15,17]。因此,研究金黄色葡萄球菌不同基因型菌株的对人体细胞的侵袭力,对于阐明食品和临床来源的不同基因型菌株致病机制、有效防控相关临床感染意义重大。

本研究发现食品和临床来源的 12 个不同克隆系对 Caco-2 细胞表现出了明显的侵袭力差异。其中属于 CC5、CC25、CC239 和 CC30 等克隆系的菌株显示出了强侵袭力。有学者在临床病例中发现 CC5、CC239 和 CC30 等克隆系致病菌株对扁桃体具有较强的细胞侵袭力^[24],这与本研究发现的具有细胞强侵袭力的克隆系比较一致。此外,本研究还发现 CC1、CC121 和 CC72 等克隆系对 Caco-2 细胞未显示出明显的侵袭能力。而有研究报道 CC121 克隆系对哺乳类动物也表现出了非常弱的细胞侵袭能力^[25]。此外,与牲畜特异相关的 CC9 克隆系,尽管能够在与牲畜接触的人群中发现^[26],但尚未发现 CC9 菌株能够引起临床感染。本研究结果表明来源于动物加工食品的 CC9 菌株具有极强的细胞侵袭力,提示其能够侵入人体细胞,具有一定的潜在人群致病力。

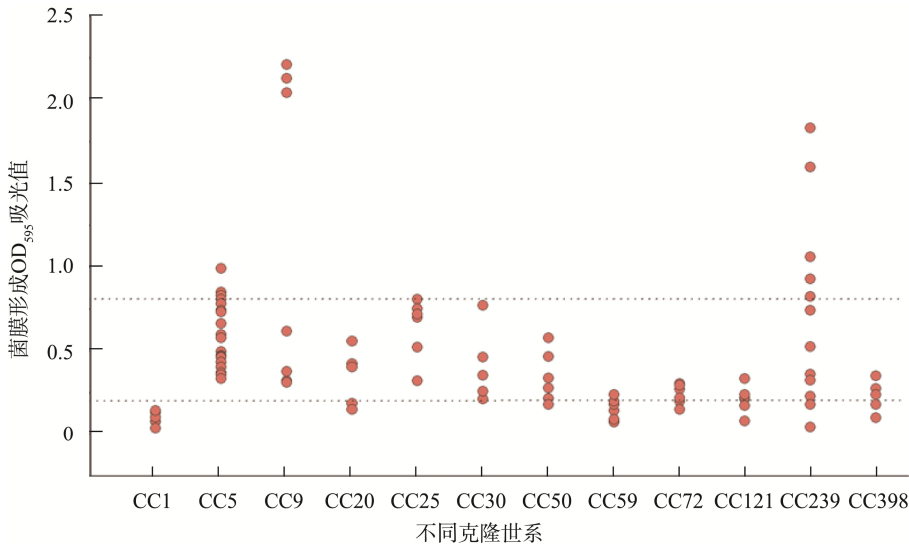


图 3 金黄色葡萄球菌 12 个不同克隆系菌株菌膜形成能力分析

Fig.3 Biofilm formation capacity analysis of 12 different clonal lineages isolates of *Staphylococcus aureus*

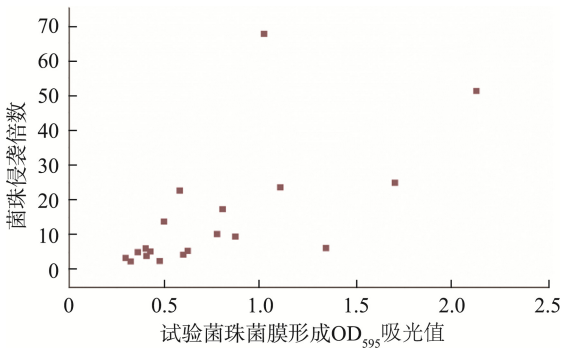


图 4 金黄色葡萄球菌不同克隆系菌株的菌膜与细胞侵袭力相关性分析

Fig.4 Pearson correlation analysis between biofilm formation capacity and cell invasion capacity of *Staphylococcus aureus* different clonal lineages isolates

研究表明 *egc* 基因簇在金黄色葡萄球菌共生和侵袭性菌株中都有较高的携带率^[27]。NOWROUZIAN 等^[16]进一步发现 *egc* 基因簇携带菌株在婴幼儿的肠道细胞中显示出更强的持续存活能力, 并推测其可能具有促进金黄色葡萄球菌菌株细胞内定殖的作用。本研究比较了携带有 *egc* 基因簇的菌株与不携带群体之间的细胞侵袭力差异, 尽管有 *egc* 基因簇菌株显示出了较强的细胞侵袭力, 但统计分析未发现两者之间有明显相关性($P=0.052$), 后续需要进一步探究。

菌膜主要是由一些微生物胞外黏附蛋白组成的紧密基质, 不仅能够帮助逃避宿主系统的免疫攻击, 还能够抵抗高浓度的抗生素, 一些金黄色葡萄球菌慢性感染的持续发生也与菌膜有关^[28-29]。本研究发现 CC5、CC25、CC239 和 CC9 等克隆系菌株形成菌膜能力较强, 而 CC1、CC59、CC121 和 CC72 等克隆系则具有较弱的形成菌膜能力。有

研究报道人体感染组织中发现的金黄色葡萄球菌具有较强的人体细胞侵袭力和形成菌膜的能力^[30]。而本研究发现 CC5、CC9、CC25 和 CC239 等克隆系菌株也表现出了较强的形成菌膜能力和细胞侵袭力, 且二者呈正相关。

综上所述, 通过本研究可以发现食品和临床来源金黄色葡萄球菌不同流行克隆系的细胞侵袭能力和菌膜形成能力均具有明显多样性, 这可能是造成不同克隆系菌株致病能力差异的重要原因, 后续仍需进一步深入研究。本研究结果能够为阐明金黄色葡萄球菌不同基因型菌株的致病机制、有效防控相关临床感染提供重要支持。

参考文献

[1] HAO H, DALSGAARD A, ANDERSEN PS, *et al.* Large-scale *Staphylococcus aureus* foodborne disease poisoning outbreak among primary school children [J]. Microbiol Res, 2021, 12(1): 43–52.

[2] GUPTA BB, SOMAN KC, BHOIR L, *et al.* The burden of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in surgical site infections: A review [J]. J Clin Diagn Res, 2021, 15(5): 46922.

[3] GRUNDMANN H, AIRES-DE-SOUSA M, BOYCE J, *et al.* Emergence and resurgence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a public-health threat [J]. Lancet, 2018, 368 (9538): 874–885.

[4] FINLAY BB, COSSART P. Exploitation of mammalian host cell functions by bacterial pathogens [J]. Science, 1997, 276(5313): 718–725.

[5] 顾飞飞. 金黄色葡萄球菌定植与感染[D]. 上海: 上海交通大学, 2016. GU FF. *Staphylococcus aureus* causing colonization and infections [D]. Shanghai: Shanghai Jiaotong University, 2016.

[6] DREYFUS JG, YU H, EBE G, *et al.* Incidence and burden of *Staphylococcus aureus* infection after orthopedic surgeries [J]. Infect Cont Hosp Ep, 2022, 43(1): 64–71.

[7] 谷雷, 赖国祥, 林灯述, 等. 社区相关性耐甲氧西林金黄色葡萄球菌感染的流行现状及微生物学特征[J]. 国际呼吸杂志, 2021, 41(3): 207–211.

- GU L, LAI GX, LIN DS, *et al.* Prevalence status and microbiological characteristics of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection [J]. *Int J Respiration*, 2021, 41(3): 207–211.
- [8] CHEUNG GYC, BAE JS, OTTO M. Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus* [J]. *Virulence*, 2021, 12(1): 547–569.
- [9] GARZONI C, KELLEY WL. *Staphylococcus aureus*: New evidence for intracellular persistence [J]. *Trends Microbiol*, 2009, 17(2): 59–65.
- [10] YOUSSEF N, RECASENS-ZORZO C, MOLLE V, *et al.* *Staphylococcus aureus* decreases sumoylation host response to promote intramacrophage survival [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(15): 8108.
- [11] 刘聚源, 蔡虹, 李燕明, 等. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌感染与定植危险因素分析[J]. *中华医院感染学杂志*, 2014, 24(1): 28–30.
- LIU JY, CAI M, LI YM, *et al.* Risk factors for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections and colonization [J]. *Chin J Nosocomiol*, 2014, 24(1): 28–30.
- [12] 王慧铃, 戴光跃, 施文勇. 某院2017年-2019年住院患者金黄色葡萄球菌感染现状及其耐药性分析与用药对策[J]. *抗感染药学*, 2021, 18(8): 1143–1147.
- WANG HL, DAI GY, SHI WY. *Staphylococcus aureus* infection and drug resistance analysis and countermeasures of inpatients in a hospital from 2017 to 2019 [J]. *Anti-infect Pharm*, 2021, 18(8): 1143–1147.
- [13] 陈泰尧, 葛忆琳, 刘雪薇, 等. 2017—2018年上海某医院耐甲氧西林金黄色葡萄球菌分子生物学特征研究[J]. *中华预防医学杂志*, 2020, 54(8): 849–853.
- CHEN TY, GE YL, LIU XW, *et al.* Molecular epidemiological characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* during 2017–2018 at a hospital in Shanghai [J]. *Chin J Prev Med*, 2020, 54(8): 849–853.
- [14] 耿文静, 董世霄, 靳维, 等. 新生儿金黄色葡萄球菌临床分离株分子分型及毒力基因研究[J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2020, 40(6): 429–436.
- GENG WJ, DONG SX, JIN F, *et al.* Molecular and virulence characteristics of *Staphylococcus aureus* isolated from neonates [J]. *Chin J Microbiol Immunol*, 2020, 40(6): 429–436.
- [15] 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): 1–8.
- [16] NOWROUZIAN FL, OLIVIER D, HELENE M, *et al.* Adhesin and superantigen genes and the capacity of *Staphylococcus aureus* to colonize the infantile gut [J]. *J Infect Dis*, 2011, 204(5): 714–721.
- [17] SONG M, SHI C, XU X, *et al.* Molecular typing and virulence gene profiles of enterotoxin gene cluster (*egc*)-positive *Staphylococcus aureus* isolates obtained from various food and clinical specimens [J]. *Foodborne Pathog Dis*, 2016, 13(11): 592–601.
- [18] 杜维霞. 肠道微生物对 Caco-2 肠上皮细胞单层屏障作用的机制研究 [D]. 重庆: 重庆医科大学, 2014.
- DU WX. Mechanism of intestinal barrier function regulation by microorganisms in Caco-2 cell monolayers [D]. Chongqing: Chongqing Medical University, 2014.
- [19] PAN H, GE Y, XU H, *et al.* Molecular characterization, antimicrobial resistance and Caco-2 cell invasion potential of *Campylobacter jejuni/coli* from young children with diarrhea [J]. *Pediatric Infect Dis J*, 2016, 35(3): 330–334.
- [20] SU X, CAO G, ZHANG J, *et al.* Characterization of internalin genes in *Listeria monocytogenes* from food and humans, and their association with the invasion of Caco-2 cells [J]. *Gut Pathog*, 2019, 11(30): 1–10.
- [21] 潘海建. 上海市部分医院致泻性大肠杆菌和弯曲菌临床分离株的耐药性与分子分型[D]. 上海: 上海交通大学, 2016.
- PAN HJ. Antimicrobial susceptibility and subtyping of clinical isolates of diarrheagenic *Escherichia coli* and *Campylobacter* from Shanghai hospitals [D]. Shanghai: Shanghai Jiaotong University, 2016.
- [22] KALPANA, KUSHWAHA, PETER M, *et al.* Comparison of invasiveness among surface-adherent variants of *Listeria monocytogenes* in Caco-2 cell culture assays [J]. *Int J Food Microbiol*, 2010, 138(1–2): 166–171.
- [23] SONG M, LI QQ, ZHANG Y, *et al.* Biofilm formation and antibiotic resistance pattern of dominant *Staphylococcus aureus* clonal lineages in China [J]. *J Food Saf*, 2016, 37(2): e12304.
- [24] ZAUTNER AE, KRAUSE M, STROPAHL G, *et al.* Intracellular persisting *Staphylococcus aureus* is the major pathogen in recurrent tonsillitis [J]. *PLoS One*, 2010, 5(3): e9452.
- [25] OOSTHUYSEN WF, ORTH H, LOMBARD C, *et al.* *In vitro* characterization of representative clinical South African *Staphylococcus aureus* isolates from various clonal lineages [J]. *New Microbes Infect*, 2014, 2(4): 115–122.
- [26] DONG Q, LIU Y, LI W, *et al.* Cross-species transmission risk of livestock-associated MRSA: A systematic review and Bayesian meta-analysis of global data [J]. *Prev Vet Med*, 2021, 194(1): e105429.
- [27] KWAPISZ E, GARBACZ K, KOSECKA-STROJEK M, *et al.* Presence of *egc*-positive major clones ST 45, 30 and 22 among methicillin-resistant and methicillin-susceptible oral *Staphylococcus aureus* strains [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): e18889.
- [28] SENDI P, PROCTOR RA. *Staphylococcus aureus* as an intracellular pathogen: The role of small colony variants [J]. *Trends Microbiol*, 2009, 17(2): 54–58.
- [29] NOWROUZIAN FL, LJUNG A, HESSELMAR B, *et al.* Bacterial carriage of genes encoding fibronectin-binding proteins is associated with long-term persistence of *Staphylococcus aureus* in the nasal and gut microbiota of infants [J]. *Appl Environ Microb*, 2021, 87(15): e0067121.
- [30] KALINKA J, HACHMEISTER M, GERACI J, *et al.* *Staphylococcus aureus* isolates from chronic osteomyelitis are characterized by high host cell invasion and intracellular adaptation, but still induce inflammation [J]. *Int J Med Microbiol*, 2014, 304(8): 1038–1049.

(责任编辑: 韩晓红 郑 丽)

作者简介



宋明辉, 主管药师, 主要研究方向为
食品药品质量控制及微生物快速检测。
E-mail: sminghui88@163.com



杨美成, 主任药师, 主要研究方向为
食品药品微生物检验与实验室质量管理。
E-mail: yangmeicheng@vip.sina.com