

生食蔬菜源金黄色葡萄球菌毒素编码基因和药敏性分析

白小宝¹, 索佳¹, 曹晨阳¹, 苏丽¹, 赵超凡¹, 刘丽莎², 冯承谦³, 吕欣¹, 杨保伟^{1*}
(1.西北农林科技大学食品科学与工程学院, 陕西 杨凌 712100; 2.国家食品安全风险评估中心, 北京 100022;
3.汉中市汉台区市场监督管理局过街楼蔬菜批发市场监管所, 陕西 汉中 723000)

摘要:目的: 探究零售生食蔬菜中金黄色葡萄球菌分离株携带的毒素基因和药敏性。方法: 使用聚合酶链式反应扩增*nuc*基因, 对分离于陕西西安、宝鸡、汉中和延安等地大型超市、农贸市场和摊贩售卖的西红柿、生菜、菠菜和包菜的27株金黄色葡萄球菌进行鉴定, 检测19种毒素基因和12种耐药基因在其中的流行情况; 使用琼脂稀释法测定其对14种抗生素的药敏性。结果: 共检出17株甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌和10株苯唑西林敏感耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(oxacillin-susceptible methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, OS-MRSA)。共检出8种毒素编码基因, 其中*sec*检出率最高(29.6%, 8/27)。51.9%(14/27)的菌株至少携带1种毒素编码基因, 共检出9种毒素编码基因谱。共检出*blaZ*、*mecA*、*ermC*、*tetK*、*dfrG*、*dfrK*、*aac(6)/aph(2'')* 7种耐药基因。菌株对苯唑西林、利福平和万古霉素全部敏感, 对阿莫西林/克拉维酸耐药最为普遍, 其次分别对甲氧苄啶/磺胺甲恶唑、氨苄西林、红霉素、头孢西丁、环丙沙星、头孢曲松、庆大霉素、阿米卡星、四环素和氯霉素耐药。88.9%(24/27)的菌株对3种及以上抗生素耐药。结论: 陕西省生食蔬菜中存在OS-MRSA菌株, 具有多重耐药性, 携带多种毒素编码基因, 对食品安全具有潜在危害。

关键词: 生食蔬菜; 金黄色葡萄球菌; 毒素编码基因; 药敏性

Toxin-Encoding Genes and Drug Susceptibility of *Staphylococcus aureus* from Vegetables Consumed Raw

BAI Xiaobao¹, SUO Jia¹, CAO Chenyang¹, SU Li¹, ZHAO Yuefan¹, LIU Lisha², FENG Chengqian³, LÜ Xin¹, YANG Baowei^{1*}
(1. College of Food Science and Engineering, Northwest A&F University, Yangling 712100, China;
2. China National Center for Food Safety Risk Assessment, Beijing 100022, China; 3. Hanzhong City Hantai District Market Supervision Administration Cross Street Vegetable Wholesale Market Supervision Office, Hanzhong 723000, China)

Abstract: Objective: To investigate the toxin-encoding genes and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolates from retail vegetables consumed raw. Methods: The 27 *S. aureus* isolates from tomato, lettuce, spinach and cabbage collected from supermarkets, farmers' markets and vendors in Xi'an, Baoji, Hanzhong and Yan'an of Shaanxi province were identified by PCR amplification of the *nuc* gene, the prevalence of 19 toxin-encoding genes and 12 antibiotic resistance encoding genes in these isolates was evaluated, and the antibiotic susceptibility to 14 antibiotics was determined by the agar dilution method. Results: Seventeen of these isolates were identified as methicillin-susceptible *S. aureus* (MSSA) and the remaining 10 isolates were identified as oxacillin-susceptible methicillin-resistant *S. aureus* (OS-MRSA). A total of eight toxin-encoding genes were detected in the 27 isolates, and the detection rate (29.6%, 8/27) of *sec* was highest. In addition, 51.9% (14/27) of these isolates carried at least one toxin-encoding gene, and nine toxin-encoding gene profiles were totally identified. Seven antibiotic resistance genes including *blaZ*, *mecA*, *ermC*, *tetK*, *dfrG*, *dfrK*, and *aac(6)/aph(2'')* were detected. The isolates were all susceptible to oxacillin, rifampicin and vancomycin. Resistance to amoxicillin/clavulanate was most commonly detected, followed by trimethoprim/sulfamethoxazole, ampicillin, erythromycin, ceftiofloxacin, ciprofloxacin, ceftriaxone, gentamicin, amikacin, tetracycline and chloramphenicol. Twenty-four (88.9%) isolates were resistant to three or more

收稿日期: 2022-08-22

基金项目: “十三五”国家重点研发计划重点专项(2017YFC1601400)

第一作者简介: 白小宝(1998—)(ORCID: 0000-0002-3310-5218), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品安全。

E-mail: baixiaobao46@163.com

*通信作者简介: 杨保伟(1974—)(ORCID: 0000-0001-7112-0729), 男, 教授, 博士, 研究方向为食品科学。

E-mail: ybwsheng@nwsuaf.edu.cn

antibiotics. Conclusion: OS-MRSA is prevalent in vegetables consumed raw in Shaanxi province, and it has multiple antibiotic resistances and carries multiple toxin-encoding genes, posing a potential food safety hazard.

Keywords: vegetables consumed raw; *Staphylococcus aureus*; toxin-encoding genes; antimicrobial susceptibility

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220822-256

中图分类号: TS201.6

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2023)14-0094-06

引文格式:

白小宝, 索佳, 曹晨阳, 等. 生食蔬菜源金黄色葡萄球菌毒素编码基因和药敏性分析[J]. 食品科学, 2023, 44(14): 94-99.

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220822-256. <http://www.spkx.net.cn>

BAI Xiaobao, SUO Jia, CAO Chenyang, et al. Toxin-encoding genes and drug susceptibility of *Staphylococcus aureus* from vegetables consumed raw[J]. Food Science, 2023, 44(14): 94-99. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220822-256. <http://www.spkx.net.cn>

金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 是一种常见的食源性致病菌, 广泛分布于环境、动物和人体^[1-2]。2016年, 金黄色葡萄球菌及其肠毒素引起的食源性疾病暴发事件仅次于副溶血性弧菌和沙门菌^[3]。随着抗生素的长期使用, 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) 和苯唑西林敏感耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (oxacillin-susceptible methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, OS-MRSA) 日渐流行, 给食品安全带来极大危害^[4-6]。

新鲜生食蔬菜可提供人体必需的维生素和矿物质等多种营养, 为日常饮食中不可或缺^[7]。此类蔬菜经常以生食为主, 进食前往往不经高温烹饪, 被金黄色葡萄球菌及其肠毒素污染后非常容易导致食物中毒^[8]。随着MRSA和OS-MRSA日渐流行, 其对食品安全构成的潜在风险日益加剧^[8-10]。

目前, 针对生食蔬菜中致病菌的研究主要集中于沙门氏菌和大肠杆菌^[7], 对金黄色葡萄球菌污染深入研究较少^[11-15]。本研究对前期分离于陕西4个城市大型超市、农贸市场和摊贩的西红柿、生菜、菠菜和包菜的金黄色葡萄球菌进行相关研究, 旨在为生食蔬菜中金黄色葡萄球菌的安全控制提供参考。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 菌株

27株疑似金黄色葡萄球菌, 分离于2020年9月—2021年9月在陕西西安、宝鸡、汉中和延安大型超市、农贸市场和摊贩采集的西红柿、生菜、菠菜和包菜。药敏实验质控菌株为金黄色葡萄球菌ATCC29213。

1.1.2 试剂

LB (Luria-Bertani) 琼脂培养基 北京陆桥技术股份有限公司; *Taq* DNA聚合酶、10×聚合酶

链式反应 (polymerase chain reaction, PCR) Buffer、dNTP Mixture、MgCl₂、DL2000 DNA Marker、Loading Buffer、Gel Red 大连宝生物工程有限公司; 14种抗生素 北京索莱宝科技有限公司; 引物由北京奥科鼎盛生物科技有限公司合成。

1.2 仪器与设备

PCR仪、GEL-DOCXR凝胶成像系统 美国伯乐公司; SW-CJ-1CU超净工作台 苏州安泰空气技术有限公司; Milli-Q Synthesis超纯水机 德国默克密理博公司; 微量移液枪 德国艾本德股份公司; GNP-9080隔水式恒温培养箱 上海精宏实验设备有限公司; MDF-U5411高压灭菌锅 上海申安高压仪器设备有限公司。

1.3 方法

1.3.1 PCR模板制备

将保存于一80℃的疑似菌划线接种至LB琼脂平板, 37℃培养过夜后, 挑取典型菌落再次划线至LB; 挑取1~2个菌落, 均匀分散于200μL无菌去离子水, 用煮沸法制DNA模板。

1.3.2 *nuc*、毒素和耐药性编码基因检测

使用PCR扩增*nuc*基因鉴定金黄色葡萄球菌。阳性菌株通过PCR扩增5种经典肠毒素编码基因*sea*、*seb*、*sec*、*sed*和*see*, 13种新型肠毒素编码基因*seg*、*seh*、*sei*、*sej*、*sek*、*sem*、*sen*、*seo*、*sep*、*seq*、*ser*、*set*和*seu*, 杀白细胞毒素编码基因*pvl*共19种基因; 扩增大环内酯类抗生素耐药性编码基因*ermA*、*ermB*、*ermC*和*msrA*, 四环素耐药性编码基因*tetK*, 氨基糖苷类抗生素耐药性编码基因*aac(6')/aph(2'')*, 甲氧苄啶耐药性编码基因*dfrD*、*dfrK*、*dfrG*和*dfrS1(dfrA)*, β-内酰胺类抗生素耐药性编码基因*blaZ*和*mecA*等。

根据文献^[16-19]报道的序列合成引物。PCR体系为25μL, 其中10×buffer 2.5μL、MgCl₂ 1.5μL、dNTP 2μL、*Taq*酶0.25μL、上游引物0.3μL、下游引物0.3μL、超纯水13.15μL和模板DNA 5μL。

1.3.3 抗生素药敏性检测

采用临床实验室标准化委员会 (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) 颁布的琼脂稀释法, 测定27株菌对14种抗生素的敏感性。供试抗生素及其耐药折点分别为: 红霉素 (erythromycin, ERY; 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、氨苄西林 (ampicillin, AMP; 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、阿莫西林/克拉维酸 (amoxicillin/clavulanic acid, A/C; 8/4 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、苯唑西林 (oxacillin, OXA; 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、头孢西丁 (cefoxitin, FOX; 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、环丙沙星 (ciprofloxacin, CIP; 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、利福平 (rifampin, RIF; 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、万古霉素 (vancomycin, VAN; 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、四环素 (tetracycline, TET; 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、庆大霉素 (gentamicin, GEN; 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、氯霉素 (chloramphenicol, CHL; 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、阿米卡星 (amikacin, AMK; 64 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、甲氧苄啉/磺胺甲恶唑 (trimethoprim/sulfamethoxazole, T/S; 4/76 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 和头孢曲松 (ceftriaxone, CRO; 64 $\mu\text{g}/\text{mL}$)。

1.4 数据统计及图表绘制

采用Excel 2016软件进行数据统计分析和绘图。

2 结果与分析

2.1 金黄色葡萄球菌检出

经*nuc*鉴定, 27株疑似金黄色葡萄球菌均为金黄色葡萄球菌, 在各种生食蔬菜中的流行情况不同。其中, 10株 (37.0%, 10/27) 菌*mecA*阳性, 全部对OXA敏感, 均为OS-MRSA菌株 (表1)。17株 (63.0%, 17/27) 菌为甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌 (methicillin susceptible *Staphylococcus aureus*, MSSA)。

表1 MSSA和OS-MRSA在生食蔬菜中的流行状况

蔬菜	阳性率/% (菌株数/株)	
	MSSA	OS-MRSA
生菜 (n=5)	40.0 (2)	60.0 (3)
菠菜 (n=12)	66.7 (8)	33.3 (4)
包菜 (n=10)	70.0 (7)	30.0 (3)
总计 (n=27)	63.0 (17)	37.0 (10)

注: 西红柿中未检出金黄色葡萄球菌。下同。

2.2 毒素编码基因检出

在19种供试毒素编码基因中共检出*sea*、*seb*、*sec*、*seh*、*sek*、*sem*、*sen*、*seq* 8种。其中, *sec*检出率最高 (29.6%, 8/27), 其次分别为*seb*和*sek* (22.2%, 6/27), *seh* (11.1%, 3/27), *sea*、*sen*和*seq* (7.4%, 2/27), *sem* (3.7%, 1/27)。未检出*sed*、*see*、*seg*、*sei*、*sej*、*seo*、*sep*、*ser*、*set*和*seu*等肠毒素编码基因和杀白细胞毒素基因*pvl* (表2)。

表2 生食蔬菜中金黄色葡萄球菌毒素编码基因检出率

Table 2 Detection rates of toxin-encoding genes in *S. aureus* isolate from vegetables consumed raw

毒素编码基因	毒素编码基因检出率/% (菌株数/株)			总计 (n=27)
	生菜 (n=5)	菠菜 (n=12)	包菜 (n=10)	
<i>sea</i>	/	8.3 (1)	10.0 (1)	7.4 (2)
<i>seb</i>	20.0 (1)	25.0 (3)	20.0 (2)	22.2 (6)
<i>sec</i>	/	25.0 (3)	50.0 (5)	29.6 (8)
<i>seh</i>	/	8.3 (1)	20.0 (2)	11.1 (3)
<i>sek</i>	20.0 (1)	25.0 (3)	20.0 (2)	22.2 (6)
<i>sem</i>	/	/	10.0 (1)	3.7 (1)
<i>sen</i>	/	8.3 (1)	10.0 (1)	7.4 (2)
<i>seq</i>	20.0 (1)	8.3 (1)	/	7.4 (2)

注: /: 未检出。下同。

51.9% (14/27) 的分离株至少携带1种毒素编码基因, 共检出9种毒素编码基因谱。其中, *seb-sec-sec* (11.1%, 3/27), *sec*、*sec-seh*和*seb-sek-seq* (7.4%, 2/27), *sea*、*sen*、*sea-seh*、*seb-sek*和*sec-sem-sen* (3.7%, 1/27) 比较常见 (表3)。

表3 生食蔬菜中金黄色葡萄球菌毒素编码基因谱

Table 3 Profiles of toxin-encoding genes in *S. aureus* isolates from vegetables consumed raw

毒素编码基因谱	基因个数	毒素编码基因谱检出率/% (菌株数/株)			总计 (n=27)
		生菜 (n=5)	菠菜 (n=12)	包菜 (n=10)	
<i>sea</i>	1	/	8.3 (1)	/	3.7 (1)
<i>sec</i>	1	/	/	20.0 (2)	7.4 (2)
<i>sen</i>	1	/	8.3 (1)	/	3.7 (1)
<i>sea-seh</i>	2	/	/	10.0 (1)	3.7 (1)
<i>seb-sek</i>	2	/	/	10.0 (1)	3.7 (1)
<i>sec-seh</i>	2	/	8.3 (1)	10.0 (1)	7.4 (2)
<i>seb-sec-sek</i>	3	/	16.7 (2)	10.0 (1)	11.1 (3)
<i>seb-sek-seq</i>	3	20.0 (1)	8.3 (1)	/	7.4 (2)
<i>sec-sem-sen</i>	3	/	/	10.0 (1)	3.7 (1)

2.3 药敏性检测

27株金黄色葡萄球菌全部对OXA、RIF和VAN敏感。对A/C耐受最为普遍 (100.0%, 27/27), 其次分别为T/S (96.3%, 26/27), AMP (92.6%, 25/27), ERY (74.1%, 20/27), FOX (40.7%, 11/27), CIP (22.2%, 6/27), CRO (14.8%, 4/27), GEN (11.1%, 3/27), AMK和TET (7.4%, 2/27), CHL (3.7%, 1/27) (表4)。

表4 生食蔬菜中金黄色葡萄球菌耐药率

Table 4 Drug resistance rates of *S. aureus* isolates from vegetables consumed raw

抗生素类别	抗生素	耐药率/% (菌株数/株)			总计 (n=27)
		生菜 (n=5)	菠菜 (n=12)	包菜 (n=10)	
β -内酰胺类	AMP	100.0 (5)	83.3 (10)	100.0 (10)	92.6 (25)
	A/C	100.0 (5)	100.0 (12)	100.0 (10)	100.0 (27)
头孢素类	FOX	60.0 (3)	33.3 (4)	40.0 (4)	40.7 (11)
	CRO	/	25.0 (3)	10.0 (1)	14.8 (4)
喹诺酮类	CIP	40.0 (2)	8.3 (1)	30.0 (3)	22.2 (6)
	氯霉素类	CHL	/	/	10.0 (1)
氨基糖苷类	GEN	/	16.7 (2)	10.0 (1)	11.1 (3)
	AMK	/	8.3 (1)	10.0 (1)	7.4 (2)
四环素类	TET	/	8.3 (1)	10.0 (1)	7.4 (2)
	大环内酯类	ERY	80.0 (4)	58.3 (7)	90.0 (9)
叶酸代谢途径抑制剂	T/S	100.0 (5)	91.7 (11)	100.0 (10)	96.3 (26)

27株分离株共呈现出12种耐药谱(表5)。最常检出的耐药谱为AMP-FOX-ERY-A/C-T/S(29.6%, 8/27),其次分别为AMP-ERY-A/C-T/S(14.8%, 4/27),AMP-A/C-T/S和AMP-CIP-ERY-A/C-T/S(11.1%, 3/27),A/C-T/S(7.4%, 2/27),AMP-A/C、AMP-CIP-A/C-T/S、AMP-CRO-ERY-A/C-T/S、AMP-FOX-CIP-ERY-A/C-T/S、AMP-FOX-GEN-TET-CRO-ERY-A/C-T/S、AMP-FOX-CIP-GEN-AMK-CRO-ERY-A/C-T/S和AMP-CHL-GEN-TET-AMK-CRO-ERY-A/C-T/S(3.7%, 1/27)。

表5 生食蔬菜中金黄色葡萄球菌的耐药谱
Table 5 Antibiotic resistance spectrum of *S. aureus* from vegetables consumed raw

耐药谱	耐药种类	耐药谱检出率/%(菌株数/株)			总计(n=27)
		生菜(n=5)	菠菜(n=12)	包菜(n=10)	
AMP-A/C	2	/	8.3(1)	/	3.7(1)
A/C-T/S	2	/	16.7(2)	/	7.4(2)
AMP-A/C-T/S	3	/	16.7(2)	10.0(1)	11.1(3)
AMP-ERY-A/C-T/S	4	/	16.7(2)	20.0(2)	14.8(4)
AMP-CIP-A/C-T/S	4	20.0(1)	/	/	3.7(1)
AMP-FOX-ERY-A/C-T/S	5	60.0(3)	16.7(2)	30.0(3)	29.6(8)
AMP-CRO-ERY-A/C-T/S	5	/	8.3(1)	/	3.7(1)
AMP-CIP-ERY-A/C-T/S	5	20.0(1)	/	20.0(2)	11.1(3)
AMP-FOX-CIP-ERY-A/C-T/S	6	/	/	10.0(1)	3.7(1)
AMP-FOX-GEN-TET-CRO-ERY-A/C-T/S	8	/	8.3(1)	/	3.7(1)
AMP-FOX-CIP-GEN-AMK-CRO-ERY-A/C-T/S	9	/	8.3(1)	/	3.7(1)
AMP-CHL-GEN-TET-AMK-CRO-ERY-A/C-T/S	9	/	/	10.0(1)	3.7(1)

菌株对β-内酰胺类抗生素的耐药表型和基因型基本一致,对大环内酯类、四环素类和氨基糖苷类抗生素的耐药表型和基因型检出不一致(图1)。

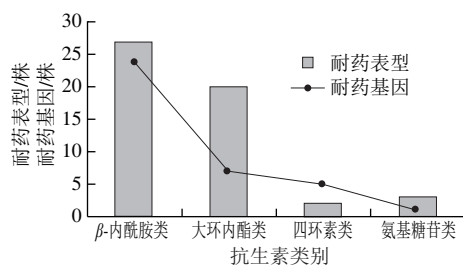


图1 金黄色葡萄球菌耐药表型和基因型相关性分析

Fig. 1 Correlation between antibiotic-resistant phenotypes and genotypes of *S. aureus*

2.4 耐药基因检出

在12种供试耐药性编码基因中共检出 $blaZ$ 、 $mecA$ 、 $ermC$ 、 $tetK$ 、 $dfrG$ 、 $dfrK$ 、 $aac(6')/aph(2'')$ 7种基因。其中, $blaZ$ 检出最高(88.9%, 24/27),其次分别为 $mecA$ (37.0%, 10/27), $ermC$ (25.9%, 7/27), $tetK$ (18.5%, 5/27), $dfrG$ 和 $dfrK$ (14.8%, 4/27), $aac(6')/aph(2'')$ (3.7%, 1/27)(表6)。

表6 生食蔬菜中金黄色葡萄球菌耐药基因检出率

Table 6 Detection rates of antibiotic resistance-encoding genes in *S. aureus* from vegetables consumed raw

抗生素类别	耐药基因	耐药基因检出率/%(菌株数/株)			总计(n=27)
		生菜(n=5)	菠菜(n=12)	包菜(n=10)	
β-内酰胺类	$blaZ$	100.0(5)	75.0(9)	100.0(10)	88.9(24)
	$mecA$	60.0(3)	33.3(4)	30.0(3)	37.0(10)
大环内酯类	$ermC$	20.0(1)	25.0(3)	30.0(3)	25.9(7)
四环素类	$tetK$	/	16.7(2)	30.0(3)	18.5(5)
甲氧苄啶类	$dfrG$	20.0(1)	16.7(2)	10.0(1)	14.8(4)
	$dfrK$	20.0(1)	16.7(2)	10.0(1)	14.8(4)
氨基糖苷类	$aac(6')/aph(2'')$	/	/	10.0(1)	3.7(1)

88.9%(24/27)的分离株至少携带1种耐药基因。27株分离株中共检出9种耐药基因谱,其中 $blaZ$ 和 $blaZ-mecA$ (22.2%, 6/27)最为常见,其次分别为 $ermC-blaZ$ 和 $dfrK-dfrG-blaZ$ (11.1%, 3/27), $tetK-blaZ-mecA$ (7.4%, 2/27), $ermC-tetK-blaZ$ 、 $ermC-dfrK-dfrG-blaZ$ 、 $ermC-tetK-blaZ-mecA$ 和 $ermC-tetK-aac(6')/aph(2'')$ - $blaZ-mecA$ (3.7%, 1/27)(表7)。

表7 生食蔬菜中金黄色葡萄球菌耐药性编码基因谱

Table 7 Drug resistance gene profiles of *S. aureus* from vegetables consumed raw

耐药性编码基因谱	基因个数	耐药性编码基因谱检出率/%(菌株数/株)			总计(n=27)
		生菜(n=5)	菠菜(n=12)	包菜(n=10)	
$blaZ$	1	/	16.7(2)	40.0(4)	22.2(6)
$blaZ-mecA$	2	60.0(3)	25.0(3)	/	22.2(6)
$ermC-blaZ$	2	20.0(1)	/	20.0(2)	11.1(3)
$tetK-blaZ-mecA$	3	/	/	20.0(2)	7.4(2)
$ermC-tetK-blaZ$	3	/	8.3(1)	/	3.7(1)
$dfrK-dfrG-blaZ$	3	20.0(1)	8.3(1)	10.0(1)	11.1(3)
$ermC-dfrK-dfrG-blaZ$	4	/	8.3(1)	/	3.7(1)
$ermC-tetK-blaZ-mecA$	4	/	8.3(1)	/	3.7(1)
$ermC-tetK-aac(6')/aph(2'')$ - $blaZ-mecA$	5	/	/	10.0(1)	3.7(1)

3 讨论与结论

新鲜蔬菜含有糖类、蛋白质、矿物质、维生素、纤维素等多种营养成分,是人们膳食的重要组成部分,规律地摄入蔬菜可以防治肿瘤、心血管疾病和降低血脂^[17,20]。在中国居民膳食平衡宝塔(2022)中,第2层为蔬菜和水果类,蔬菜每日应摄入量为300~500g^[21]。随着人们生活水平的提高,近年来对蔬菜、特别是生食蔬菜的消费量持续增加。因此,生食蔬菜的食用安全性尤为重要。目前,已有在生食蔬菜中检出金黄色葡萄球菌的报道^[8,15,22]。

为更好掌握陕西省生食蔬菜中金黄色葡萄球菌的流行状况及其基本特性,本研究对历时13个月,从省内4个地区大型超市、农贸市场和摊贩采集的西红柿、

生菜、菠菜和包菜中分离出的27株金黄色葡萄球菌的药敏性、耐药基因和毒素基因进行了研究。对27株金黄色葡萄球菌的*mecA*基因和OXA敏感性检测结果表明OS-MRSA菌株占37.0% (10/27)。张鹏飞等^[4]在生猪养殖场分离到的OS-MRSA占金黄色葡萄球菌的13.4% (9/67), Zhang Pengfei等^[23]在184株零售食品源金黄色葡萄球菌中检出7株 (3.8%) OS-MRSA。本研究发现生食蔬菜中OS-MRSA的检出率高于生猪养殖场和零售食品。OS-MRSA菌株携带*mecA*, 有可能在抗生素选择下变为高度耐药的MRSA变种^[24-25]。蔬菜生产产业链主要包括种植、运输、贮藏、加工或直接销售等环节, 任一环节都可能受到金黄色葡萄球菌的污染^[7,13,26]。在种植地, 蔬菜可能会被携带金黄色葡萄球菌的粪便和灌溉水直接或间接污染^[7,13]。蔬菜从种植地采收、被运输到大型超市、农贸市场和摊贩过程中, 包装不严、运输车辆、用具和人员被金黄色葡萄球菌污染等也均可导致蔬菜污染^[7,13]。粪便、灌溉水和环境中金黄色葡萄球菌种类繁多, 药敏特性各不相同。因此, 复杂众多的生产环节均可能导致蔬菜携带较多OS-MRSA菌株。这充分表明, 不应忽视蔬菜作为食品载体进一步传播OS-MRSA的可能, 对蔬菜种植及相关环境中OS-MRSA的存在和演变进行追溯研究非常必要。

本研究发现陕西省蔬菜中51.9% (14/27) 的金黄色葡萄球菌携带1~3种毒素编码基因, *sec*基因检出率为29.6%, 同时也检出了*seb*和*sek* (22.2%), *seh* (11.1%), *sea*、*sen*和*seq* (7.4%), *sem* (3.7%)等, 与肉鸡屠宰加工环节金黄色葡萄球菌*seb*、*sek* (18.8%)的检出率比较相似^[27]。Wu Shi等^[15]在零售蔬菜源金黄色葡萄球菌中也检出了*sec* (83.3%)、*seb* (36.7%)、*sek* (30.0%)、*seh* (50.0%)、*sea* (26.7%)、*sen* (36.7%)、*seq* (50.0%)和*sem* (86.7%)等毒素编码基因, 但其检出率均高于本研究。检出率的差异可能与分离菌株地理位置和样品类型有关。本研究中几乎一半的分离株携带毒素基因, 有9种毒素编码基因谱, 比现制饮品中金黄色葡萄球菌毒素基因检出率 (34.9%)高, 但比肉鸡屠宰环节 (96.9%)低^[27-28]。表明蔬菜被肠毒素基因阳性金黄色葡萄球菌污染情况较为严重, 可能会对食品安全产生潜在危害。

药敏结果表明, 所有菌株对A/C耐药, 70%以上的菌株分别对T/S、ERY和AMP耐药, 40%左右的菌株对FOX耐药, 可耐受2~9种抗生素。菌株对AMP、CIP和RIF的耐药率与Wu Shi等^[15]在零售蔬菜中研究结果相似, 对T/S、ERY、CIP和AMP的耐药率与张鹏飞等^[27]对肉鸡屠宰环节的研究结果较相近, 对A/C和AMP的耐药率高于

哈爱日等^[29]对内蒙古奶牛乳源中金黄色葡萄球菌的耐药率。分离株呈现出的耐药谱种类多于肉鸡屠宰环节和现制饮品中金黄色葡萄球菌的耐药谱^[27-28]。耐受3种及以上抗生素菌株的检出率 (88.9%)也高于即食食品和蔬菜 (80.0%)^[8]及鸡肉中耐受相同种类抗生素菌株的检出率 (65.78%)^[18]。蔬菜中金黄色葡萄球菌多重耐药情况非常严重, 这可能与抗生素在人类及农业生产中过度使用相关^[30-32]。因此, 需要严格控制并减少抗生素的使用限制耐药细菌的出现。

综上, 在陕西省蔬菜中分离的27株金黄色葡萄球菌中检出了OS-MRSA, 也检出了MRSA。菌株多重耐药情况比较严重, 携带多种抗生素编码基因和毒素编码基因。应加强对生食蔬菜中金黄色葡萄球菌的检测和防控, 以防止其通过食物链传播, 减少由此可能引发的食源性疾病。

参考文献:

- [1] LI S X, WANG P P, ZHAO J L, et al. Characterization of toxin genes and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* from retail raw chicken meat[J]. Journal of Food Protection, 2018, 81(4): 528-533. DOI:10.4315/0362-028X.JFP-17-309.
- [2] 索玉娟. 食品中金黄色葡萄球菌的分布及其肠毒素基因的研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2008: 1-7.
- [3] 李薇薇, 郭云昌, 刘志涛, 等. 2016年中国大陆食源性疾病暴发监测资料分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2022, 34(1): 86-91. DOI:10.13590/j.cjfh.2022.01.017.
- [4] 张鹏飞, 寇明莹, 张强, 等. 苯唑西林敏感、*mecA*基因阳性的猪源金黄色葡萄球菌的流行、分子分型及耐药性研究[J]. 微生物学报, 2021, 61(11): 3607-3618. DOI:10.13343/j.cnki.wsxb.20210086.
- [5] 刘柔杉, 王俊瑞. 苯唑西林敏感耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(OS-MRSA)研究进展[J]. 中国抗生素杂志, 2021, 46(8): 736-742. DOI:10.3969/j.issn.1001-8689.2021.08.003.
- [6] ONICIUC E A, NICOLAU A I, HERNÁNDEZ M, et al. Presence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the food chain[J]. Trends in Food Science & Technology, 2017, 61: 49-59. DOI:10.1016/j.tifs.2016.12.002.
- [7] 成黎. 新鲜蔬菜中的微生物污染危害、检测和控制方法研究进展[J]. 食品科学, 2015, 36(23): 347-352. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201523062.
- [8] 容冬丽, 吴清平, 吴诗, 等. 我国部分地区即食食品和蔬菜中金黄色葡萄球菌污染分布及耐药和基因分型情况[J]. 微生物学报, 2018, 58(2): 314-323. DOI:10.13343/j.cnki.wsxb.20170144.
- [9] 章海通, 邢家溧, 傅晓, 等. 食源性金黄色葡萄球菌产肠毒素情况及其耐药性分析[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(20): 175-179. DOI:10.12161/j.issn.1005-6521.2019.20.031.
- [10] 罗曼, 刘倩. 食源性金黄色葡萄球菌耐药机制分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2022, 17(6): 685-688. DOI:10.13350/j.cjpb.220613.
- [11] HONG J, KIM Y, KIM J, et al. Genetic diversity and antibiotic resistance patterns of *Staphylococcus aureus* isolated from leaf vegetables in Korea[J]. Journal of Food Science, 2015, 80(7): M1526-M1531. DOI:10.1111/1750-3841.12909.
- [12] SEO Y H, JANG J H, MOON K D. Occurrence and characterization of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolated from minimally

- processed vegetables and sprouts in Korea[J]. Food Science and Biotechnology, 2010, 19(2): 313-319. DOI:10.1007/s10068-010-0045-7.
- [13] 刘晓慧, 郭凤柳, 贾月梅, 等. 金黄色葡萄球菌在蔬菜中生长状况分析[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(8): 304-307. DOI:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.08.101.
- [14] 瞿洋, 何昭颖, 周昌艳, 等. 生菜生产到消费全程金黄色葡萄球菌的定量风险评估[J]. 食品科学, 2022, 43(10): 295-301. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20210514-170.
- [15] WU S, HUANG J H, WU Q P, et al. Prevalence and characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from retail vegetables in China[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 1263. DOI:10.3389/fmicb.2018.01263.
- [16] ZHANG P F, LIU X Y, ZHANG M, et al. Prevalence, antimicrobial resistance, and molecular characteristics of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from retail ice cream in Shaanxi province, China[J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2022, 19(3): 217-225. DOI:10.1089/FPD.2021.0069.
- [17] 刘肖利, 刘璐瑶, 李缤昱, 等. 金黄色葡萄球菌性奶牛乳房炎调查及菌株耐药性和毒力分析[J]. 西北农业学报, 2021, 30(10): 1452-1460. DOI:10.7606/j.issn.1004-1389.2021.10.003.
- [18] 李佳婷, 柳雅馨, 宋琪, 等. 鸡肉生产中分离金黄色葡萄球菌的基因分型与耐药性分析[J]. 食品工业科技, 2021, 42(10): 68-74. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2020060080.
- [19] 屈云, 佟尧, 谈永萍, 等. 牦牛屠宰中金黄色葡萄球菌分离菌株的流行特征[J]. 食品科学, 2020, 41(17): 169-175. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20190730-407.
- [20] CEUPPENS S, HESSEL C T, RODRIGUES R D, et al. Microbiological quality and safety assessment of lettuce production in Brazil[J]. International Journal of Food Microbiology, 2014, 181: 67-76. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2014.04.025.
- [21] 曹清明, 王蔚婕, 张琳, 等. 中国居民平衡膳食模式的践行——《中国居民膳食指南(2022)》解读[J]. 食品与机械, 2022, 38(6): 22-29. DOI:10.13652/j.spjx.1003.5788.2022.60050.
- [22] DA CRUZ M R G, LEITE Y J B D, MARQUES J D, et al. Microbiological quality of minimally processed vegetables commercialized in Brasilia, DF, Brazil[J]. Food Science and Technology, 2019, 39: 498-503. DOI:10.1590/fst.16018.
- [23] ZHANG P F, MIAO X, ZHOU L H, et al. Characterization of oxacillin-susceptible *mecA*-positive *Staphylococcus aureus* from food poisoning outbreaks and retail foods in China[J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2020, 17(11): 728-734. DOI:10.1089/fpd.2019.2774.
- [24] QUIJADA N M, HERNANDEZ M, ONICIUC E A, et al. Oxacillin-susceptible *mecA*-positive *Staphylococcus aureus* associated with processed food in Europe[J]. Food Microbiology, 2019, 82: 107-110. DOI:10.1016/j.fm.2019.01.021.
- [25] GOERING R V, SWARTZENDRUBER E A, OBRADOVICH A E, et al. Emergence of oxacillin resistance in stealth methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* due to *mecA* sequence instability[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2019, 63(8): e00558-19. DOI:10.1128/AAC.00558-19.
- [26] BEUCHAT L R. Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables[J]. Microbes and infection, 2002, 4(4): 413-423. DOI:10.1016/S1286-4579(02)01555-1.
- [27] 张鹏飞, 徐旭, 王婷, 等. 肉鸡屠宰环节中金黄色葡萄球菌的流行及分子特征和耐药性[J]. 食品科学, 2022, 43(14): 302-310. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20210521-261.
- [28] 李辉, 包轶伦, 田蕙珺, 等. 现制饮品中金黄色葡萄球菌耐药及遗传特征研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(12): 3916-3922. DOI:10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.2022.12.041.
- [29] 哈爱日, 樊宏亮, 关红, 等. 内蒙古地区奶牛乳源金黄色葡萄球菌耐药性研究[J]. 中国兽医杂志, 2018, 54(5): 90-93.
- [30] 沙国萌, 陈冠军, 陈彤, 等. 抗生素耐药性的研究进展与控制策略[J]. 微生物学通报, 2020, 47(10): 3369-3379. DOI:10.13344/j.microbiol.china.200668.
- [31] 迟小惠, 冯友军, 郑焯文. 耐药菌在人-动物-环境中的传播和遗传机制[J]. 微生物学通报, 2019, 46(2): 311-318. DOI:10.13344/j.microbiol.china.180864.
- [32] TADIĆ D, HERNANDEZ M J B, CERQUEIRA F, et al. Occurrence and human health risk assessment of antibiotics and their metabolites in vegetables grown in field-scale agricultural systems[J]. Journal of Hazardous Materials, 2021, 401: 123424. DOI:10.1016/j.jhazmat.2020.123424.