

- man breast tumor cells (MCF-7). *J Steroid Biochem* 1985, 23(1): 87-94.
- [12] Soto AM, Silvia RM, Sonnenschein C. A plasma-borne specific inhibitor of the proliferation of human estrogen-sensitive breast tumor cells (estroclyone-D). *J Steroid Biochem Mol Biol*, 1992, 43(7): 703-712.
- [13] Soule HD, Vazquez J, Long A, et al. A human cell line from a pleural effusion derived from a breast carcinoma. *J Natl Cancer Inst*, 1973, 51(5): 1409-1416.
- [14] Lippman M, Bolan G, Huff K. The effects of estrogens and antiestrogens on hormone-responsive human breast cancer in long-term tissue culture. *Cancer Res*, 1976 36(12): 4595-4601.
- [15] Lieberman ME, Jordan VC, Fritsch M, et al. Direct and reversible inhibition of estradiol-stimulated prolactin synthesis by antiestrogens in vitro. *J Biol Chem*, 1983, 258(8): 4734-4740.
- [16] Campen CA, Jordan VC, Gorski J. Opposing biological actions of antiestrogens in vitro and in vivo: induction of progesterone receptor in the rat and mouse uterus. *Endocrinology*, 1985, 116(6): 2327-2336.
- [17] Mayr UE. Estrogen-controlled gene expression in tissue culture cells by zearalenone. *FEBS Lett*, 1988, 239(2): 223-226.
- [18] Soto AM, Sonnenschein C, Chung KL, et al. The E-SCREEN assay as a tool to identify estrogens; an update on estrogenic environmental pollutants. *Environ Health Perspect* 1995, 103(s7): 113-122.
- [19] Sherry J, Gamble A, Fielden M, et al. An ELISA for brown trout (*Salmo trutta*) vitellogenin and its use in bioassays for environmental estrogens. *Sci Total Environ*, 1999, 225(1-2): 13-31.
- [20] 常艳, 朱心强, 祝慧娟, 等. 用乳腺癌细胞增殖法检测化学物的雌激素样作用[J]. *浙江大学学报(医学版)*, 2000, 31(4): 281-287.
- [21] Zacharewski T. In vitro bioassays for assessing estrogenic substances. *Environ Sci & Tech*, 1997, 31: 613-623.
- [22] McLachlan JA. Functional toxicology: a new approach to detect biologically active xenobiotics. *Environ Health Perspect* 1993, 101(5): 386-387.
- [23] Ng SY, Gunning P, Eddy R et al. Evolution of the functional human beta-actin gene and its multi-pseudogene family; conservation of noncoding regions and chromosomal dispersion of pseudogenes. *Mol Cell Biol*, 1985, 5(10): 2720-2732.
- [24] 何世华, 梁增辉, 战威, 等. 环境雌激素重组酵母测评系统的建立[J]. *环境与健康杂志*, 2002, 19(1): 57-59.

(收稿日期: 2003-12-20)

【综述】

【文章编号】1004-8685(2004)04-392-04

金黄色葡萄球菌及其肠毒素研究进展

李毅

(温州市疾病预防控制中心, 浙江 325000)

摘要 本文对金黄色葡萄球菌及其肠毒素的检测方法及其发展趋势进行了综述。金黄色葡萄球菌在分型方面一般不作血清学分型, 而噬菌体分型, 辨别力强, 重复性好, 在实验室里得到广泛的应用, 但是分子生物学分型技术性强、需要特殊设备, 所以不能普及。金黄色葡萄球菌快速检测方法的应用将大大缩短检测时间, 而金黄色葡萄球菌肠毒素检测的应用将有利于食物中毒的快速、灵敏的诊断。耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的出现, 萌生了我们进行金黄色葡萄球菌疫苗的研究。

关键词 金黄色葡萄球菌; 肠毒素; 食物中毒; 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌; 疫苗

Advancement in researches of *Staphylococcus aureus* and its enterotoxin

Li Yi. Wenzhou Center for Disease Control & Prevention, Wenzhou 325000, China

Abstract This paper summarizes the examination methods and developmental trend of *Staphylococcus aureus* and its enterotoxin. Serological typing is not always conducted for *Staphylococcus aureus*. However, bacteriophage typing with strong ability of discrimination and good repeatability has been widely used for laboratory test of the bacterium. Molecular biological typing is not widely available for test of the bacterium because it needs special instruments. Rapid detection of *Staphylococcus aureus* will greatly shorten the time for its assay. In addition, detection of enterotoxin of *Staphylococcus aureus* is helpful for rapid and sensitive diagnosis of food poisoning. As MRSA appears, we proceed the research of vaccine for *Staphylococcus aureus*.

Key words *Staphylococcus aureus*; Enterotoxin; Food poisoning; MRSA; Vaccine

【中图分类号】R378.1⁺1

【文献标识码】A

葡萄球菌(*Staphylococcus*)是革兰阳性球菌中的一种, 广泛分布于自然界, 如空气、水、土壤、饲料和一些物品上, 也存在于人、动物的体表、鼻咽部及肠道, 绝大多数对人致病, 少数可引起人或动物致病, 属于人兽共患病原菌。其中金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus* 金葡菌)致病力最强, 也最重要。金黄色葡萄球菌除了常引起皮肤、组织及器官的化脓性炎症外, 其产生的肠毒素可污染食物而致食物中毒。灵敏、快速、简易的方法检测肠毒素是研究的热点之一。由金黄色葡萄球菌肠毒素引起的中毒暴发事件, 近年来首推 2000 年日本“雪印奶粉”事件, 14000 多人受感染。金黄色葡萄球菌至今仍然是国内外医院获得性感染最常见的细菌之一。许多国家设有专

门机构研究, 对付金黄色葡萄球菌引起的医院感染。随着β-内酰胺类抗生素在临床的广泛应用, 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)在临床分离的葡萄球菌中比例不断增加, 由于 MRSA 不仅对甲氧西林和其他β-内酰胺类抗生素耐药, 而且还常对氨基糖苷类、红霉素等耐药, 因此了解其耐药机制及对其准确、及时的检出, 对于感染的早期快速诊断, 指导临床用药及防止医院内感染流行和耐药菌的播散都是极为重要的。

1 金黄色葡萄球菌的生物学特性

1.1 形态与染色 典型的金黄色葡萄球菌为球形, 直径 0.8~1.0 μm 左右, 显微镜下排列成葡萄串状。金黄色葡萄球菌无芽胞、鞭毛, 大多数无荚膜。革兰染色阳性, 衰老或死亡后可转

为阴性。

1.2 培养特性 金黄色葡萄球菌营养要求不高,在普通培养基上生长良好,需氧或兼性厌氧,最适生长温度 37℃,最适生长 pH7.4。平板上菌落厚、有光泽、圆形凸起,直径 1~2mm。血平板菌落周围形成透明的溶血环。金黄色葡萄球菌有高度的耐盐性,可在 10~15%NaCl 肉汤中生长。因此利用它的这个特性进行污染标本分离。

1.3 对不良环境抵抗力 抗干燥:在干燥环境中存活数月;空气中存在,但不繁殖;耐热:加热 70℃1h,80℃30min 不被杀死。耐低温:在冷冻食品中不易死亡,在参考文献[18,19]中有所阐述;耐高渗:在含有 50%~66%蔗糖或 15%以上食盐食品中才可被抑制,能在 15%NaCl 和 40%胆汁中生长。

2 金黄色葡萄球菌的抗原构造和分型

2.1 按表型分型

2.1.1 血清学分型 金葡菌水解,获得两种抗原成分:蛋白抗原和多糖抗原。蛋白抗原是凝集抗原,无特异性(是具有种、属特异性而无型特异性的完全抗原)。

多糖抗原具有特异性(为具有型特异性的半抗原)。绝大多数金葡含有 A 型抗原, B 型抗原主要存在于凝固酶阴性菌株, C 型抗原在致病性和非致病性菌株中都存在^[4]。报道已有 15 种金黄色葡萄球菌分型血清,但由于金葡菌分布广泛,抗原复杂,交叉多,免疫血清效价普遍低,而且还存在一些群抗原如 SPA 的非特异性凝集的干扰,故制备特异性分型血清比较困难,故一般不作金葡菌的血清学分型^[3]。

2.1.2 噬菌体分型 金葡菌的噬菌体分型,辨别力强,重复性好,无需特殊设备和试剂,简便快速,经典方法,适用于大规模调查,由于结果容易分析而被临床微生物实验室广泛采用,但仅用噬菌体分型尚不能满足流行病学分析的需要,应同时采用两种或多种方法,以提高分型率和辨别力。按照国际金葡菌噬菌体分型参考中心规定的方法对金葡菌菌株进行噬菌体分型。采用的分型噬菌体为国际通用基本分型噬菌体(包括 I 群, 29, 52, 52A, 79, 80; II 群, 3A, 3B, 3C, 55, 71; III 群, 6, 7, 42E, 47, 53, 54, 75, 77, 83A, 84, 85; IV 群, 42D; V 群, 94, 96; 不定群, 81, 187)和国际中心新建立的 10 个 MRSA 分型噬菌体(包括 MR8, MR12, MR25, 30, 33, 38, M₃, M₅, 622, 56B)。用 RTD(常规试验稀释度)和 100xRID 滴试,分型用的噬菌体 RTD 不应低于 10⁻³[7]。

2.1.3 根据肠毒素分型

2.1.4 根据血浆凝固酶分型

2.1.5 根据耐药谱分型 还可以分定性和定量,试验表明:定量耐药谱分型的分型率高(100%),重复性好(98.3%),辨别力强(0.988),且方法简便,是金葡菌流行病学分型的有效方法。血浆凝固酶分型和耐药谱分型,适用于无条件作基因分型的实验室作为初步筛选,或仅作辅助或补充分析。

2.2 分子生物学分型 分子生物学分型是从基因或分子水平来分析菌株间的亲缘性,较能为流行病学分析提供足够的证据,但是这些方法的技术性强,需要特殊设备,及判断结果的国际标准化等问题,使的这些分子水平的分型方法不能普及。以下是几种比较流行的分型方法:1、质粒分型;2、染色体 DNA 脉冲场电泳分型;3、核糖分型;4、全细胞蛋白图谱分型。

2.3 金黄色葡萄球菌的致病性 金黄色葡萄球菌是人类化脓感染中最常见的病原菌,可引起局部化脓感染,也可引起肺炎、心包炎等,甚至败血症、脓毒症等全身感染。假如产肠毒素的金黄色葡萄球菌污染食品可产生肠毒素,引起人类急性食物中毒。金黄色葡萄球菌的致病力强弱主要取决于其产生的毒素和侵袭性酶:1.溶血毒素:外毒素,分 α、β、γ、δ 四型,能

损伤血小板,破坏溶酶体,引起肌体局部缺血和坏死;对人类有致病作用的主要是 α 溶血素(卵磷脂酶)。2.杀白细胞素:为 F 和 S 两种蛋白质,可破坏人的白细胞和巨噬细胞。3.血浆凝固酶:当金黄色葡萄球菌侵入人体时,该酶使血液或血浆中的纤维蛋白沉积于菌体表面或凝固,阻碍吞噬细胞的吞噬作用。葡萄球菌形成的感染易局部化与此酶有关;4.脱氧核糖核酸酶:金黄色葡萄球菌产生的脱氧核糖核酸酶能耐受高温,可用来作为依据鉴定金黄色葡萄球菌;5.肠毒素:此外,金黄色葡萄球菌还产生溶表皮素、明胶酶、蛋白酶、脂肪酶、肽酶等。

3 金黄色葡萄球菌的常规检验

3.1 检验程序 样品→增菌→分离→分纯→革兰染色镜检/耐热核酸酶试验/血浆凝固酶试验/生化反应试验/肠毒素检查

3.2 培养基的原理 自食品中分离金黄色葡萄球菌应考虑腐生菌丛的抑制问题,因为金黄色葡萄球菌竞争力弱,食品中若有其他腐生菌存在,葡萄球菌的生长会受到抑制,肠毒素也难以形成。目前所选用的 Baird-Parker(B-P)培养基有较强的选择性。在 B-P 培养基上经 37℃,24h~48h 培养,典型菌落圆形,凸起,直径 1~2mm,中部黑色,有灰白色边缘,围以混浊环,其外层有一透明带。B-P 培养基含氯化锂可抑制革兰染色阴性菌生长,所含亚硝酸钾与甘氨酸联合可抑制其他革兰染色阳性菌生长,因亚硝酸钾被葡萄球菌还原为金属碲,故菌落呈黑色。培养基所含卵黄中卵磷脂和脂肪被细菌分解,故出现混浊环及透明。

3.3 卫生微生物中金黄色葡萄球菌的检验 一次性使用卫生用品卫生标准(GB15979-2002);食品卫生微生物学检验金黄色葡萄球菌检验(GB4789.10-94);理发用具微生物检验方法金黄色葡萄球菌检验(GB/T18204.7-2000)。

3.4 一般检验 革兰染色镜检、耐热核酸酶试验、血浆凝固酶试验、生化反应试验参照文献^[1,3]。血浆凝固酶试验:血浆凝固酶试验是鉴定金黄色葡萄球菌的重要试验,有玻片法和试管法;吸取 1:4 新鲜兔血浆 0.5ml,放入小试管中,再加入培养 24h 的金黄色葡萄球菌肉浸液肉汤培养物 0.5ml,振荡摇匀,放 36℃±1℃温箱或水浴内,每 30min 观察 1 次,观察 6h,如呈现凝固,即将试管倾斜或倒置时,呈现凝块者,被认为阳性结果。同时以已知阳性和阴性葡萄球菌株及肉汤作为对照。

耐热核酸酶试验:试验方法:平板法和玻片法;取 3ml 甲苯胺蓝-DNA 琼脂平铺于载玻片上制成标本片。待琼脂凝固后,在琼脂上打成直径 2mm 的小洞(每个载玻片 10~12 个),抽出小洞中的琼脂块。加入约 0.01ml 加过热(在水浴中煮沸 15min)的供凝固酶试验的肉汤培养物至所制备载玻片上的小洞中。将载玻片置湿室中,于 35℃培养 4h。阳性反应为在小洞周围形成至少扩展约 1mm 的浅粉红色的晕圈。本试验金黄色葡萄球菌为阳性。

4 金黄色葡萄球菌快速检测方法^[5]

4.1 金黄色葡萄球菌鉴别培养基 生物梅里埃公司的 Baird-Parker+RPF 培养基是在 BP 琼脂的基础上加上 RPF(兔血浆),在此培养基上生长的金黄色葡萄球菌的菌落为黑色具半透明光晕,由于培养基中已经含有兔血浆,因此,在此培养基上生长的典型金黄色葡萄球菌不需要再做血浆凝固酶试验就可确认。科玛嘉的“金黄色葡萄球菌显色培养基”也为同一类产品。这解决了不少基层疾控中心在做血浆凝固酶试验时,没有新鲜的兔血的不便。参考文献^[10]表明新的快速检测方法与国际法结果相符程度很高,结果基本可靠,具有以下几个优点:①实验过程不需要新鲜兔血即可得到明确的结果,对基层技术人员来说减少了检测金葡菌最难的一个环节;②出结果

时间快, 国标法一般需 48h, 而快速法只需 24h, 快速检测方法具有快速、简便、准确等特点, 值得推广应用。

4.2 3M 金黄色葡萄球菌快速测试片法 原理: 该测试片由两部分组成, 第一部分是金黄色葡萄球菌培养基片, 此检测片含有改良的 Baird-Parker 营养物及一冷水可溶的胶体, 第二部分是热稳定核酸酶(Tnase)反应片, 包含有 DNA, 甲苯胺蓝(toluidine blue-O)及四唑指示剂(tetrazolium), 此指示剂有助于菌落的计数及确定葡萄球菌热稳定核酸酶的存在。热稳定核酸酶是一种金黄色葡萄球菌的酵素产物, 在高温下能维持稳定, 热稳定核酸酶的检测像凝固酶反应一样, 是一种鉴定金黄色葡萄球菌的方法。①在 Petrifilm RSA 检测片上, 热稳定核酸酶反应看起来像是粉红色环带包围着一个红色或蓝色菌落。②仪器设备和试剂 3M 金黄色葡萄球菌快速测试片法, 细菌培养箱(35℃, 62℃), 灭菌吸管, 样品均质器。③操作方法和判断见参考文献[5]。

4.3 金黄色葡萄球菌乳胶凝集试验 作为免疫学方法之一, 乳胶凝集试验在金黄色葡萄球菌的检测分析中, 既用作初筛, 同时也是确认方法之一。这一类的产品也很多, 除 AOAC995. 12 中的 Aureus TestIM 外还有生物梅里埃公司的 Slidex Staph-kit 等。具体操作方法参见 AOAC995. 12《从食品中分离的金黄色葡萄球菌乳胶凝集试验方法》。

4.4 DNA 探针技术 法国生物梅里埃公司的 GEN-PROBE 系统, 采用杂交保护分析法(HPA)研制金黄色葡萄球菌检验和鉴定试剂盒, 用于检测食品中的金黄色葡萄球菌。需要 Leader 50i 发光计量仪, 具体方法参见文献[5]。

5 金黄色葡萄球菌肠毒素

金黄色葡萄球菌肠毒素是个世界性卫生问题, 在美国由金黄色葡萄球菌肠毒素引起的食物中毒占整个细菌性食物中毒的 33%, 加拿大则更多, 占 45%, 我国每年发生的此类中毒事件也非常多。葡萄球菌食物中毒诊断及处理原则(WS/T 80-1996)对食物中毒的实验诊断例出以下 4 条标准: 1、中毒食品中检出肠毒素。2、从中毒食品、患者吐泻物中经培养检出金黄色葡萄球菌, 菌株经肠毒素检测证实不同样品中检出同一型别肠毒素。3、从不同患者吐泻物中检出金黄色葡萄球菌, 其肠毒素为同一型别。4、凡符合其中一项者即可判断葡萄球菌食物中毒。由于金黄色葡萄球菌食物中毒系由于进食含有肠毒素的食物, 并非活菌所引起。所以用灵敏、快速、简易的方法检测肠毒素是我们研究的热点也是我们的难点。

5.1 肠毒素形成条件 存放温度, 在 37℃ 内, 温度越高, 产毒时间越短; 存放地点, 通风不良氧分压低易形成肠毒素; 食物种类, 含蛋白质丰富, 水分多, 同时含一定量淀粉的食物, 肠毒素易生成。

5.2 肠毒素的性质 肠毒素可耐受 100℃ 煮沸 30min 而不被破坏, 它引起的食物中毒症状是呕吐和腹泻。

5.3 肠毒素的分型 金黄色葡萄球菌能产生数种引起急性胃肠炎的蛋白质性肠毒素。根据其血清学特征的不同, 目前已发现肠毒素有 A、B、C、D、E、F、G、H、I 和 J 等十个毒素血清型。其中 A 型的毒力最强, 摄入 1 μ g 即能引起中毒, 所以是引起食物中毒最多的。而 C 型又可分为 C₁、C₂ 和 C₃ 三亚型。所有的肠毒素都是由单个无分支的多肽链所组成。溶于水及盐溶液; 它们不受胰蛋白酶的影响; 对热较稳定, 其耐热性比较结果 B 型大于 D 型和 A 型。一株金葡菌产毒株能产生一型、两型以上的肠毒素(在混合型中, 常以一型的肠毒素为主), 因此, 肠毒素的型别不能代表细菌的型别。

5.4 肠毒素与酶的关系 葡萄球菌的致病力取决于它所产生的毒素和酶的能力, 致病性菌株可产生肠毒素、溶血毒素、杀

白细胞素、血浆凝固酶、耐热 DNA 酶等, 其中肠毒素、血浆凝固酶和耐热 DNA 酶有密切关系, 能产生肠毒素的葡萄球菌在厌氧条件下, 发酵葡萄糖, 可产生耐热的核酸内切酶。

T5.5 肠毒素引起的食物中毒的中毒机理及症状 中毒由摄食菌体产生的肠毒素引起, 毒素刺激中枢神经系统而引起中毒反应, 主要以呕吐和腹泻为主。中毒的潜伏期短, 病程通常 1~2d, 预后良好。

5.6 肠毒素检测的方法 (1) 动物学试验 主要用幼猫和猴。但是这种生物学试验, 动物来源比较困难, 个体差异也比较大, 所以受到一定的限制。目前倾向于应用血清学方法检测食品中金黄色葡萄球菌肠毒素; (2) 血清学试验: 原理—肠毒素作为抗原, 可以和特异性抗体发生结合性反应, 产生可见沉淀。方法主要有: (2.1) 免疫琼脂扩散法: 常用双向琼脂扩散检测肠毒素, 请参见 GB4789. 10-94 中附录 A 葡萄球菌肠毒素检验。采用比较多, 此法常用的有两类: 一类是小管琼脂单扩散试验, 也称 Oudin 试验, 主要用于对肠毒素的定量测定。二类是平板琼脂扩散法, 主要用于对肠毒素的鉴定和分型。(2.2) 反向间接血凝试验: 测定原理是致敏血球与被检液的相应抗原发生凝集反应即出现反向间接血凝现象。具体方法参见文献[5]。(2.3) 酶联免疫吸附法(ELISA): 常用双抗体法, 原理是酶标抗体与肠毒素特异结合, 加入底物后发生显色反应。操作可参见文献[5]。此法具有简便、快速、敏感、特异的优点, 可直接从中毒中检测肠毒素, 而不必经提取、浓缩等繁杂手段。(2.4) 免疫荧光法; (2.5) 放射免疫检测法(RIA); 因此, 研究掌握金黄色葡萄球菌肠毒素的提取、纯化技术也应该是我们应该提高的问题, 如何简化提取肠毒素的步骤将大大提高检测方法的准确度。(3) 聚合酶链反应或多聚酶链反应(Polymerase Chain Reaction, PCR), 又称无细胞克隆技术: 用 PCR 的方法检测金葡菌的肠毒素, 也正在研究阶段。(4) miniVIDAS: 利用荧光免疫的方法检测葡萄球菌肠毒素, 在仪器上 45min 可以得到结果。具体操作方法可参见其说明书。miniVIDAS 是生物梅里埃公司生产的一种全自动免疫荧光酶标仪, 在微生物检测中主要是利用酶联免疫的原理对微生物或毒素等进行筛选检测。按方法来分也可以归纳在血清学试验中, 只是利用仪器可以快速地检测出致病菌。

6 金黄色葡萄球菌的耐药及其检测方法^[17]

耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)是引起医院感染的多重耐药菌, 其有效的治疗药物为万古霉素。近年来发现对万古霉素耐受的金黄色葡萄球菌, 金黄色葡萄球菌一旦对万古霉素耐药, 临床将面临无药可供选择的局面。由于其所造成治疗上的困难, 对其耐药机制的深入研究和该菌准确、及时的检出对于寻找新的治疗靶位和防止其播散有着极其重要的意义。一、MRSA 的耐药表达及其影响因素 (1) mecA 耐药决定子, β -内酰胺类抗生素能与细胞膜上的青霉素结合蛋白(PBP)结合, 从而导致细菌的死亡。而 MRSA 则产生一种新的 PBP, 即 PBP2a。PBP2a 与 β -内酰胺类抗生素的亲合力极低, 因此很少或不被 β -内酰胺类结合, 从而产生了耐药。编码合成 PBP2a 的基因称为 mecA。(2) mecA 的调节基因; (3) 染色体的辅助基因对甲氧西林耐药水平的影响 4、其他影响表达的因素: 葡萄球菌(SA)的甲氧西林耐药性也受多种外界因素如温度、pH、NaCl 浓度、二价金属离子、湿度等影响, 适当地降低温度和增加 NaCl 浓度有利于甲氧西林耐药的表达。二、MRSA 的检测方法: (一) 表型检测法 1、纸片扩散法: 此法简便, 适合于 MRSA 的常规检测, 但该方法敏感性较低, 尤其是低表达水平的 MRSA, 可能漏检 MRSA。2、微量肉汤稀释法; 3、琼脂稀释法: 此法的重复性较好, 尤其适合于大批量标本, 因一个平板

上能同时测定多株细菌。4. 琼脂筛选法: 此法的特异性和灵敏度优于以上 3 种方法, MRSA 的检出率可达 100%。5. 乳胶凝集筛选试验: 如以 PCR 为对照, 该方法特异性为 100%, 敏感性为 98%, 因此, 此法简便, 特异性强, 有较高的敏感性, 但该胶乳试剂不易获得, 限制了其应用。(二) 基因检测法: 此法具有敏感、特异、快速、结果客观的优点。1. 探针杂交法: 此法能一次检测大量标本, 适合于大批量标本, 缺点是可能存在放射性污染, 操作也较繁琐、费时。2. PCR 法 有报道 *mecA* 基因不仅仅 MRSA 中有, 值得注意的是在大部分凝固酶阴性葡萄球菌 (CNS) 也有。综上所述, MRSA 耐药表达的影响因素较多, 因此直接检测 *mecA* 基因较表型检测更为快速、准确、客观。利用分子生物学的杂交、PCR 等技术直接检测 *mecA* 基因往往成为判断 MRSA 的金标准。有报道称阴沟肠杆菌 B8 提取物对所有葡萄球菌菌株尤其是 MRSA 及 MSSA 显示了很强的抑菌效果, 未发现没有抑菌环的葡萄球菌。但其作用机理尚不清楚, 有待进一步研究。

7 金黄色葡萄球菌疫苗的研究进展

金黄色葡萄球菌是医院内、外感染最常见的病原体之一, 其所致感染病死率高、耐药严重, 给治疗带来了极大困难。疫苗是预防金黄色葡萄球菌感染的有效手段, 现研究的疫苗主要分为四大类: 以金黄色葡萄球菌全菌或部分菌体为疫苗, 针对荚膜和黏附因子的疫苗、针对毒素和酶的疫苗和针对毒力因子表达调控蛋白的疫苗。金黄色葡萄球菌 (简称金葡菌) 疫苗是预防金黄色葡萄球菌感染的有效手段, 可缓解抗生素应用所致的选择性压力, 大大延缓耐药菌的产生, 且与抗生素有协同作用, 有望解决金葡菌感染这一棘手问题。现将近年来有关这方面的研究作一介绍。

7.1 以金黄色葡萄球菌全菌或部分菌体为疫苗 效果是活菌苗的效果好于灭活菌苗。此外由于金葡菌菌苗为全菌疫苗, 除保护性抗原外, 还有很多不相关的和有毒的成分, 毒副反应较大, 所以临床应用受限。

7.2 针对荚膜和黏附因子的疫苗 荚膜多糖 (capsular polysaccharide, CP) 共有 11 种血清型, 80% 以上的金葡菌所产生的 CP 为 CP₅ 和 CP₈。接种的副反应多较轻, 大多数在 2d 内消失。黏附因子是金葡菌表面表达的一些特异性蛋白。

7.3 针对毒素和酶的疫苗 金葡菌肠毒素是引起食物中毒的重要原因, 可分为主要也分以下几种血清型, 即 SEA、SEB、SEC1、SEC2、SEC3、SED、SEE。由 SEA 引起的食物中毒最多, SEC 和 SED 次之。以金葡菌所分泌的毒素和酶为疫苗虽有一定的预防感染作用, 但是金葡菌产生的毒素和酶的种类甚多, 且致病机制尚未完全明了, 故对此类疫苗的应用价值还无明确定论, 尚需进一步深入研究。

7.4 针对毒力因子表达调控蛋白的疫苗 此种疫苗最大的缺点是单用调控蛋白为疫苗是否可完全阻断感染的发生还需要进一步研究, 还有天然的调控蛋白的提取、纯化十分困难, 限制了大规模的开发。

8 金黄色葡萄球菌的流行病学

金黄色葡萄球菌在自然界中无处不在, 空气、水、灰尘及人和动物的排泄物中都可找到。作为人和动物的常见病原菌, 其主要存在于人和动物的鼻腔、咽喉、头发上, 50% 以上健康人的皮肤上都有金黄色葡萄球菌存在。因而, 食品受其污染的机会很多。金黄色葡萄球菌的流行病学一般有如下特点: 季节分布, 多见于春夏季; 中毒食品种类多, 如奶、肉、蛋、鱼及其制品。此外, 剩饭、油煎蛋、糯米糕及凉粉等引起的中毒事件也有报道。上呼吸道感染患者鼻腔带菌率 83%, 所以人畜化脓性感染部位常成为污染源。一般说, 金黄色葡萄球

菌可通过以下途径污染食品: 食品加工人员、炊事员或销售人员带菌, 造成食品污染; 食品在加工前本身带菌, 或在加工过程中受到了污染, 产生了肠毒素, 引起食物中毒; 熟食制品包装不严, 运输过程受到污染; 奶牛患化脓性乳腺炎或禽畜局部化脓时, 对肉体其他部位的污染。

9 金黄色葡萄球菌污染的防治原则

9.1 防止食品受到金黄色葡萄球菌的污染。

9.2 防止金黄色葡萄球菌的生长和产毒。

9.3 食品的消毒和杀菌处理。

10 金黄色葡萄球菌研究的展望

随着金葡菌食物中毒的暴发, 有效的检验方法的研究, 将有利于金葡菌快速的检出, 但是金黄色葡萄球菌食物中毒系进食含有肠毒素的食物, 并非活菌所引起, 所以用灵敏、快速、简易的方法检测肠毒素是我们今后研究的热点也是我们的难点。而金黄色葡萄球菌耐药菌株的出现, 成为临床抗生素治疗的棘手问题, 为了解决这个问题, 将促进在疫苗方面的大力开发。

参 考 文 献

- [1] 丁恩庶, 魏承毓主编. 新发现和再肆虐传染病诊断标准和防治指南 [M]. 国际炎黄文化出版社, 2002: 186-190.
- [2] 王秀茹主编. 预防医学微生物学及检验技术 [M]. 北京: 人民卫生出版社 2002: 754-759.
- [3] 中华人民共和国国家标准·食品检验方法 微生物学部分, GB4789, 10-94, 1995.
- [4] 莫世华主编. 消毒及医院感染知识问答 [M]. 浙江科学技术出版社, 1996: 303-309.
- [5] 王晶, 等主编. 食品安全快速检测技术 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2002: 115-119, 150-153.
- [6] 中华人民共和国国家标准. 公共场所卫生标准 检验方法 GB/T18204. 7-2000.
- [7] 张燕, 等. 金黄色葡萄球菌的定量耐药谱分型 [J]. 中国卫生检验杂志, 2000, 10(2): 9-130.
- [8] 康斌, 等. 金黄色葡萄球菌毒力基因的调控位点 [J]. 国外医学·微生物分册, 1999, 22(3): 22.
- [9] 邵荣标, 等. 致食物中毒葡萄球菌生物学特性研究报告 [J]. 中国卫生检验杂志, 2003, 13(1): 26-28.
- [10] 黄吉城, 等. 金黄色葡萄球菌快速检测培养基检测效果观察 [J]. 中国卫生检验杂志, 2000, 10(5): 614-615.
- [11] 赵春燕, 等. 金黄色葡萄球菌耐药性质粒提取方法的研究 [J]. 中国卫生检验杂志, 2001, 11(2): 147-148.
- [12] 张怡滨, 等. 4 株金黄色葡萄球菌临床分离株的多位点测序分型 [J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2003, 23(7): 512.
- [13] 刘钰, 等. 牛乳中金黄色葡萄球菌等四种致病菌的监测分析 [J]. 中国卫生检验杂志, 2003, 13(1): 88.
- [14] 闫丽, 等. 市售糕点、医院内环境的葡萄球菌污染状况与耐甲氧西林葡萄球菌 [J]. 中国卫生检验杂志, 2003, 13(1): 96-97.
- [15] 熊咏民, 等. 聚合酶链反应检测耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 *mecA* 和 *femB* 基因 [J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2003, 23(6): 452.
- [16] 张嵘, 等. 阴沟肠杆菌 B8 提取物对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的抑制作用 [J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2003, 23(3): 172.
- [17] 陈军. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的耐药及其检测方法 [J]. 国外医学·微生物分册, 2002, 25(3): 10-12.
- [18] 陈敏, 王颖, 顾其芳. 巧克力中金黄色葡萄球菌存活及产毒情况观察 [J]. 中国卫生检验杂志, 2000, 10(5): 532-533.
- [19] 徐景野, 等. 棒冰中金黄色葡萄球菌存活观察 [J]. 中国卫生检验杂志, 1998, 8(5): 293.
- [20] 李向阳, 等. 温度对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌代谢过程的规律研究 [J]. 中国卫生检验杂志, 2001, 11(5): 559.

(收稿日期: 2004-02-26)