



## 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

容冬丽<sup>1,2</sup>, 吴清平<sup>2</sup>, 吴诗<sup>2</sup>, 张菊梅<sup>2\*</sup>, 徐明芳<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>暨南大学生命科学技术学院, 广东 广州 510632

<sup>2</sup>广东省微生物研究所, 省部共建华南应用微生物国家重点实验室, 广东省菌种保藏与应用重点实验室, 广东省微生物应用新技术公共实验室, 广东 广州 510070

**摘要:**【目的】系统调查了我国 15 个代表性城市在即食食品(卤肉、烤肉、凉拌菜和巴氏奶)和蔬菜样品中金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)的污染分布情况, 并对分离株进行耐药性分析及多位点序列分型(Multilocus sequence typing, MLST)研究, 为食源性金黄色葡萄球菌的风险识别和分子溯源提供基础数据。【方法】依据 GB 4789.10-2010 对 540 份即食食品和蔬菜样品进行定性和最大可能数(Most probable number, MPN)分析; 采用 K-B 纸片扩散法检测金黄色葡萄球菌分离株的耐药特征并通过 PCR 检测 *mecA* 基因; 应用 MLST 方法确证金黄色葡萄球菌的主要 ST 型。【结果】结果发现 9.3%(50/540)的样品中检出金黄色葡萄球菌, 其中卤肉污染率最高, 为 16.3% (30/184), 其次为烤肉(9.2%, 6/65), 蔬菜(6/150, 4.0%)污染率最低。定量分析发现 62.0%的阳性样品污染水平处于 0.3–1.0 MPN/g, 其中 3 份阳性样品污染水平  $\geq 110$  MPN/g。对 50 株分离株进行 24 种抗生素耐药性检测, 发现 82.0%的分离株对氨苄西林和青霉素耐药, 64.0%的分离株为多重耐药株。对 *mecA* 阳性分离株进行 SCC*mec* 分型, 发现均为 SCC*mec*IVa。所有分离株进行 MLST 分型, 共检出 14 种型别, 其中 ST3595 和 ST3847 为新 ST 型。【结论】普遍的多重耐药性表明我国食源性金黄色葡萄球菌的耐药状况已较为严重, 对消费者的安全健康存在潜在威胁。ST 型与耐药存在一定的关联性, 这为进一步了解该菌在我国食品中的流行趋势和风险评估提供了科学的数据支撑。

**关键词:** 金黄色葡萄球菌, 即食食品, 蔬菜, 多重耐药, MLST 分型

金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, *S. aureus*, 以下简称金葡菌)是引起细菌性食物中毒的重要食源性致病菌之一。金葡菌多重耐药性菌株的流行及其携带毒力因子引发的感染, 对人类

基金项目: 广东省科技计划项目(2014B050504007); 广东省科技计划项目(2016A050502033)

\*通信作者。Tel: +86-20-37656160; E-mail: 张菊梅, Zhangjm926@126.com, 徐明芳, xmf20142014@163.com

收稿日期: 2017-03-29; 修回日期: 2017-07-12; 网络出版日期: 2017-07-24

公共健康带来了严重威胁。有研究显示,金葡菌引起的细菌性食物中毒事件仅次于副溶血性弧菌和沙门氏菌<sup>[1]</sup>,实际暴发的食物中毒事件远比报道出来的多。自青霉素的发现,抗生素给临床治疗带来了重大突破,但目前细菌对抗生素的耐药影响了医疗实践的发展。美国疾病预防控制中心统计,在2013年美国因多重耐药菌株引发的感染高达200万人,其中导致23000人死亡<sup>[2]</sup>。有报道,中国使用抗生素总量是英国的150倍,人均日常使用量是美国的6倍以上<sup>[3]</sup>。抗生素的大量使用导致食源性致病菌耐药性日益严重,而耐甲氧西林金葡菌(Methicillin-resistant *S. aureus*, MRSA)的出现,使得万古霉素、利奈唑胺和替考拉宁成为治疗金葡菌感染的最后一道防线<sup>[4]</sup>。因此,对于抗生素的泛滥,若不进行有效的控制,则有可能导致因小伤口而致命的威胁,所以掌握食源性金葡菌的耐药特征显得十分必要。

多位点序列分型(Multilocus sequence typing, MLST)是一种基于核酸序列测定的细菌分型方法,目前MLST越来越多地作为金葡菌进行国际间实验室比对的常用工具<sup>[5]</sup>。通过选择金葡菌7个管家基因进行PCR扩增后测序,对测序结果组装后提交到国际网站(<https://pubmlst.org/databases.shtml>)进行比对,不同的菌株得到对应的序列型(Sequence types, STs)。该方法可以用于长期追踪菌株间遗传关系和宏观进化过程。统计显示目前金葡菌的ST型将近4000种,其中有的型别如ST1已蔓延全球,而ST59和ST72却有着明显的地域性,主要在亚太地区传播<sup>[6]</sup>,这可能与菌株本身的进化和对宿主适应性有关。SCCmec是针对MRSA的分型方法,目前共有XI种,其中医院获得性MRSA(Healthcare acquired-MRSA, HA-MRSA)主要为II和III,社区获得性MRSA(Community

acquired-MRSA, CA-MRSA)主要为IV和V型<sup>[7]</sup>。近年来,CA-MRSA的感染逐年增长且多发于健康人群,而目前我国CA-MRSA流行分布情况、传播途径及耐药性尚不清楚。金葡菌作为重要的食源性致病菌之一,有必要进一步加强食源性金葡菌的污染调查及耐药特性和遗传多样性分析,丰富其风险识别基础数据。

即食食品和蔬菜已成为广大消费者推崇的快销食品,但因其食用方式的特殊性使消费者更易遭受金葡菌引发的食物中毒和感染威胁。本团队前期已对我国的部分城市进行即食食品中金葡菌的污染调研分析<sup>[8]</sup>,本文在此基础上进一步采集了我国15个代表性城市540份即食食品和蔬菜样品,以期系统全面掌握我国该类食品中金葡菌的污染状况和耐药特征及遗传多样性,为金葡菌的风险评估提供数据参考。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

**1.1.1 样品采集:**于2015年6月–2016年6月,对我国15个省会城市和地区(长沙、杭州、贵阳、西宁、南京、沈阳、郑州、长春、银川、石家庄、拉萨、乌鲁木齐、呼和浩特、香港和澳门),根据GB4789.1-2010中样品的采集规则进行采样<sup>[9]</sup>,共采集540份食品样品(卤肉184,烤肉65,凉拌菜51,巴氏奶90和蔬菜150)。每个城市选取超市和集贸市场的采样点均为4个,平均每个采样点采集9份食品样品。所有样品放于保持在4℃以下运输箱的无菌密封储存袋中送到实验室,24h内进行检测。

**1.1.2 培养基和试剂:**10%氯化钠胰酪胨大豆肉汤、Muller-Hinton(MH)琼脂平板、金葡菌显色平

板、脑心浸出液肉汤(BHI)和冻干血浆(广东环凯微生物科技有限公司); API Staph 生化鉴定条(法国生物梅里埃公司); DNA 抽提试剂盒(广州美技(速纯)生物科技有限公司); HS<sup>TM</sup> PCR Premix (广州东盛生物科技有限公司)。

## 1.2 金葡萄菌的分离及鉴定

依据 GB4789.10-2010 第一法和第三法分别对食品样品进行金葡萄菌定性和定量分析(略作修改)<sup>[9]</sup>。采用金葡萄菌显色培养基平板代替 Baird-Parker 平板进行选择分离, 挑取金葡萄菌疑似单菌落进行血浆凝固酶实验和 API Staph 生化鉴定。

## 1.3 金葡萄菌耐药性分析

抗生素的药敏实验采用 K-B 纸片扩散法, 将麦氏浊度为 0.5 的菌液均匀涂布于 MH 琼脂平板上, (35±2) °C 培养 24 h。药敏纸片根据 2015 美国临床和实验室标准协会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)的指导方针, 选取目前临床上常用于治疗金葡萄菌感染的 10 大类及其他治疗候选抗生素共 24 种对分离株进行药敏分析, 其中对头孢西丁耐药, 则认为是 MRSA 菌株, 对三类及以上抗生素耐药为多重耐药性。另外, 万古霉素依据 CLSI 标准采用最小抑菌浓度法(Minimum inhibitory concentrations, MICs)进行检测<sup>[10]</sup>。

## 1.4 *mecA* 基因检测及 SCC*mec* 分型

采用细菌基因组 DNA 抽提试剂盒提取金葡萄菌基因组 DNA, 应用 Bio Spec-nano spectrophotometer 紫外分光光度计检测其浓度和纯度, 置于-20 °C 冰箱保存待用。通过 PCR 法检测 *mecA* 基因的存在情况, 对确证的 MRSA 菌株进行 SCC*mec* 分型, 反应条件为 94 °C 预变性 5 min, 94 °C 变性 45 s, 65 °C 退火 45 s, 72 °C 延伸 1.5 min, 10 个循环;

94 °C 变性 45 s, 55 °C 退火 45 s, 72 °C 延伸 1.5 min, 25 个循环, 72 °C 延伸 10 min; 于 4 °C 保存<sup>[11]</sup>。引物均在华大基因科技有限公司合成。

## 1.5 MLST 分型

根据 MLST 网站(<http://www.mlst.net>)中对金葡萄菌检测的 7 个管家基因(*arcC*、*aroE*、*glpF*、*gmk*、*pta*、*tpi* 和 *yqiL*)进行扩增测序, 每个管家基因获得对应的位点, 每株菌的 7 个位点组合获得一个 ST 型别。然后通过 eBURST (<http://eburst.mlst.net>)对分离株进行亲缘关系分析, 获得各 ST 型对应的克隆复合体(Clonal complex, CC)。

# 2 结果和分析

## 2.1 金葡萄菌污染调查

利用定性和定量法对我国 15 个代表性城市采集的 540 份样品进行金葡萄菌检测, 共检出 50 份阳性样品, 平均污染率为 9.3% (50/540), 其中卤肉污染率最高, 为 16.3% (30/184), 其次是烤肉(6/65, 9.2%), 蔬菜(6/150, 4.0%)污染率最低(表 1)。此外, 污染率最高的城市是香港, 唯一零检出的城市是乌鲁木齐。通过 MPN 定量检测发现 62.0% 的阳性样品 MPN 值为 0.3–1.0 MPN/g, 22.0% 的阳性样品 MPN 值为 1.0–10 MPN/g, 10.0% 的阳性样品 MPN 值为 10–110 MPN/g, 其中 3 份阳性样品的 MPN 值≥110 MPN/g, 分别来自香港、澳门和南京。且南京及澳门阳性样品平均污染水平高于 40 MPN/g。详细结果见表 2。

## 2.2 金葡萄菌耐药性分析

选取 10 大类及其他治疗候选抗生素共 24 种对 50 株分离株进行药敏分析, 结果显示分离株对 β-内酰胺类、氨基糖苷类和大环内酯类抗生素耐药率高, 其中 64.0% 的分离株为多重耐药性菌株

表 1. 不同食品中金葡萄菌的污染情况\*

Table 1. Prevalence and contamination level of *S. aureus* in different foods

Type of products	Sample number	Positive sample number	The positive rate/%	No. of positive samples by quantitative methods/(MPN/g)			
				0.3–1.0	1–10	10–110	≥110
Stewed meat	184	30	16.3	17	6	4	3
Roast	65	6	9.2	4	2	0	0
Salad	51	3	5.9	2	1	0	0
Pasteurized milk	90	5	5.6	4	1	0	0
Vegetable	150	6	4.0	4	1	1	0
Total	540	50	9.3	31	11	5	3

\*: The stewed meat, roast, and salad samples were considered as delicatessen; the vegetable samples were including cucumbers, tomatoes, lettuce, and cilantro.

表 2. 不同采样地点金葡萄菌的污染率和污染水平

Table 2. Prevalence and contamination level of *S. aureus* at different sampling sites

Sampling site	Sample number	Positive sample number	The positive rate/%	No. of positive samples by quantitative methods (MPN/g)				<i>S. aureus</i> level/(MPN/g)
				0.3–1.0	1–10	10–110	≥110	
澳门(Macao, China)	36	4	11.1		1	2	1	46.10
香港(Hong Kong, China)	36	9	25.0	5	2	1	1	15.70
贵阳(Guiyang, China)	36	1	2.8	1				0.15
长沙(Changsha, China)	36	1	2.8	1				0.15
拉萨(Lhasa, China)	36	6	16.7	5	1			0.97
南京(Nanjing, China)	36	2	5.6	1			1	55.20
郑州(Zhengzhou, China)	36	1	2.8		1			1.50
杭州(Hangzhou, China)	36	1	2.8		1			3.50
西宁(Xining, China)	36	5	13.9	5				0.23
银川(Yinchuan, China)	36	2	5.6	1	1			0.90
石家庄(Shijiazhuang, China)	36	6	16.7	4	2			1.10
乌鲁木齐(Urumqi, China)	36	0	0.0					0.00
呼和浩特(Huhehot, China)	36	2	5.6	2				0.45
沈阳(Shenyang, China)	36	5	13.9	3	2			1.30
长春(Changchun, China)	36	5	13.9	3		2		18.60
Total	540	50	9.3	31	11	5	3	9.70

(图 1)。另外, 所有分离株对阿米卡星、利奈唑胺和万古霉素敏感, 但对氨苄西林、青霉素、阿莫西林-克拉维酸、链霉素和红霉素耐药率分别达到 82.0%、82.0%、64.0%、46.0% 和 44.0%, 其中 80.0% 的分离株对 3 种及以上抗生素耐药, 40.0% 的分离

株对 6 种及以上抗生素耐药, 14.0% 的分离株对 9 种及以上抗生素耐药(表 3)。此外, 联用 K-B 法和 PCR 检测出 2 株 MRSA, 编号分别为 3939 和 4090A1 分离株。其中来自郑州市熟食编号为 3939 的 MRSA 分离株对 12 种抗生素耐药(图 1)。

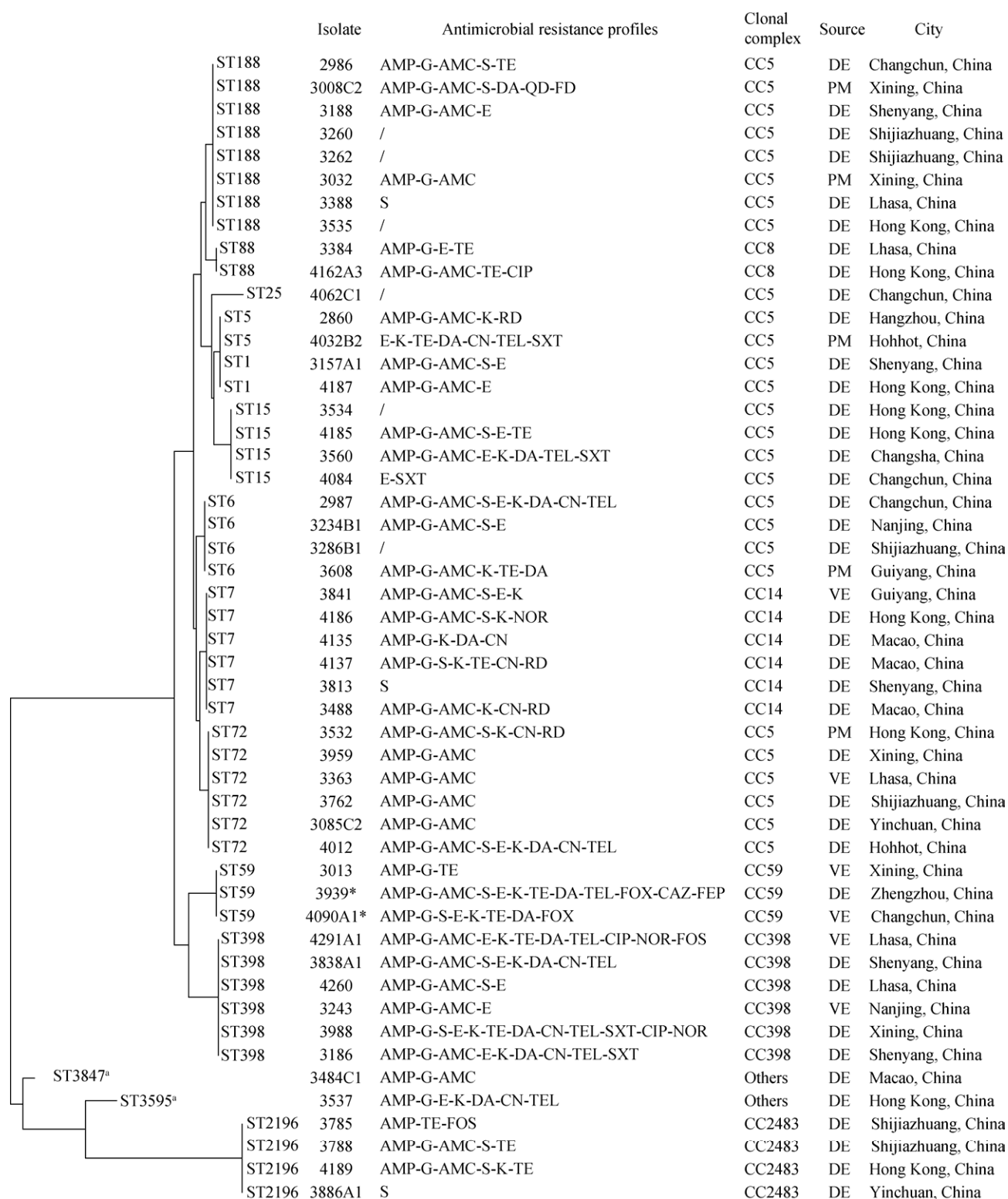


图 1. 即食食品和蔬菜中金葡萄菌的多重耐药性和 MLST 最小进化树聚类分析

Figure 1. MLST minimum evolution tree and multidrug resistance of *S. aureus* in ready-to-eat foods and vegetable samples. The tree was built with MEGA seven software using concatenated sequences. \* indicates MRSA isolates. <sup>a</sup> indicates the novel STs. Delicatessen: DE; Pasteurized milk: PM; Vegetable: VE.

表 3. 金葡菌药敏分析结果

Table 3. Results of antimicrobial susceptibility of *S. aureus* isolates

Antimicrobial agents	<i>S. aureus</i> (n=50)		
	Resistant/%	Intermediate/%	Susceptible/%
<b><math>\beta</math>-Lactams</b>			
Ampicillin (10 $\mu$ g)	82.0	0.0	18.0
Penicillin G (10 units)	82.0	0.0	18.0
Amoxicillin-clavulanic acid (30 $\mu$ g)	64.0	4.0	32.0
Cefoxitin (30 $\mu$ g)	4.0	0.0	96.0
Ceftazidime (30 $\mu$ g)	2.0	12.0	86.0
Cefepime (30 $\mu$ g)	2.0	0.0	98.0
<b>Aminoglycosides</b>			
Streptomycin (10 $\mu$ g)	46.0	28.0	26.0
Kanamycin (30 $\mu$ g)	40.0	6.0	54.0
Gentamicin (10 $\mu$ g)	22.0	0.0	78.0
Amikacin (30 $\mu$ g)	0.0	0.0	100.0
<b>Macrolides</b>			
Erythromycin (15 $\mu$ g)	44.0	0.0	56.0
Telithromycin (15 $\mu$ g)	20.0	2.0	78.0
<b>Tetracyclines</b>			
Tetracycline (30 $\mu$ g)	32.0	0.0	68.0
<b>Lincosamides</b>			
Clindamycin (2 $\mu$ g)	28.0	2.0	70.0
<b>Sulfonamides and synergistic agents</b>			
Trimethoprim-sulfamethoxazole (25 $\mu$ g)	10.0	0.0	90.0
<b>Quinolones and fluoroquinolones</b>			
Norfloxacin (10 $\mu$ g)	6.0	4.0	90.0
Ciprofloxacin (5 $\mu$ g)	6.0	6.0	88.0
Quinupristin/dalfopristin (15 $\mu$ g)	2.0	2.0	96.0
<b>Phenicol</b>			
Chloramphenicol (30 $\mu$ g)	0.0	4.0	96.0
<b>Oxazolidinones</b>			
Linezolid (30 $\mu$ g)	0.0	0.0	100.0
<b>Glycopeptides</b>			
Vancomycin ( MIC)	0.0	0.0	100.0
<b>Others</b>			
Fosfomycin (200 $\mu$ g)	4.0	2.0	94.0
Fusidic acid (10 $\mu$ g)	2.0	0.0	98.0
Rifampicin (5 $\mu$ g)	8.0	2.0	90.0
<b>Pansusceptible</b>			
$\geq 3$ Antimicrobial	80.0		
$\geq 6$ Antimicrobial	40.0		
$\geq 9$ Antimicrobial	14.0		

### 2.3 MLST 和 SCCmec 分型

采用 MLST 方法对 50 株金葡菌分离株进行遗传多样性分析, 共获得 14 种型别, 其中发现 ST3595 和 ST3847 两种新型, 主要型别为 ST188 (16.0%)、ST72 (12.0%)、ST7 (12.0%) 和 ST398 (12.0%)。STs 型进一步应用 eBURST 软件分析, 共获得 6 种克隆复合体(CC5、CC8、CC14、CC59、CC398 和 CC2483), 主要为 CC5 型(ST1、ST5、ST6、ST15、ST25、ST72 和 ST188)。如图 1 所示, 两株 MRSA 属于 SCCmecIVa 型且 ST 型均为 ST59。

## 3 讨论

本研究在 2015 年 6 月至 2016 年 6 月, 调查了我国 15 个代表性城市的即食食品和蔬菜中金葡菌污染分布情况, 总体污染率为 9.3%。其中卤肉污染率最高, 为 16.3%, 与 2011 年 12 月至 2014 年 5 月对我国即食食品污染调查结果相近(12.5%)<sup>[8]</sup>, 但高于韩国(6.0%)及瑞士(7.0%)对即食食品的报道<sup>[12-13]</sup>。此外, 从污染水平看, 本研究中的南京及澳门阳性样品平均污染水平平均高达 40 MPN/g 以上, 应引起相关部门和消费者重视。有研究者认为即食食品污染的主要来源并非食品来源本身, 而是食品制作过程中参与者(人和接触材料表面)携带而导致的交叉污染<sup>[14-15]</sup>, 因此加强监控食品加工过程中每个环节的微生物污染显得非常重要。

金葡菌可以通过自发突变、诱变、转化、接合和转导等多种途径获得耐药, 而抗生素的广泛使用, 无疑加速了金葡菌对耐药基因及新耐药表型的获得<sup>[16]</sup>。本研究的金葡菌分离株对氨苄西林、青霉素和阿莫西林-克拉维酸抗生素体现高耐药

率, 这一结果与前期研究报道的金葡菌<sup>[8]</sup>、单增李斯特菌<sup>[17]</sup>、副溶血性弧菌<sup>[18]</sup>和克罗诺阪崎肠杆菌<sup>[19]</sup>等食源性致病菌对以上三种抗生素表现出高的耐药率结果比较一致, 这可能与临床经常使用形成的选择压力有关。本研究发现对 6 种及以上抗生素耐药的分离株达 40.0%, 显著高于国内 Yang 等<sup>[8]</sup>对即食食品(12.9%)及 Zhang 等<sup>[20]</sup>对牛奶样品(10.3%)的检测结果。我国有研究调查显示临床样本中 MRSA 的多重耐药率为 88.4%<sup>[21]</sup>, 而本研究食源性金葡菌分离株的多重耐药性菌株已达到 64.0%。严重的多重耐药, 暗示着新的耐药基因在不断地获得和转移<sup>[20]</sup>。因此严格控制并减少抗生素的使用是必要的, 这或许会对已成熟的医疗实践产生影响, 所以挖掘新型药物靶标且研发不易产生耐药的抗生素药物对治疗细菌感染具有重要意义。

在熟食和蔬菜样品中各发现一株 MRSA 菌株, 均为 MRSA-ST59-IVa, 该类型首先在中国台湾发现, 继而迅速在亚太地区传播<sup>[6]</sup>。我国在引发皮肤和软体组织感染、脓血症和肺炎等疾病中检测到的 MRSA 主要为 ST59-IVa<sup>[22-23]</sup>。根据前人的报道及本研究表明 ST59 已成为我国 MRSA 主要流行型别<sup>[24-25]</sup>, 其具体的传播途径仍有待进一步深入研究。另外, Hung 等<sup>[26]</sup>对 CC59 (ST59 和 ST338 等)的遗传进化史研究显示, CC59 因获得一些移动元件而提高了其耐药性及对宿主的适应性。本研究在熟食和蔬菜中获得的 MRSA 分离株分别对 12 种和 8 种抗生素耐药, 其中熟食的 MRSA 分离株对所检测的 6 种  $\beta$ -内酰胺类抗生素均耐药。可见该类型分离株若在食品链中传播, 将会成为食品安全防控的重要挑战。

ST188 和 ST72 属于 CC5, 是本研究发现的主要 ST 型, 与目前国际上流行的克隆复合体相同。

该两种型别平均耐药率低于总的平均耐药率, 特别是 ST188 的平均耐药率小于 3 种抗生素。Song 等<sup>[27]</sup>发现我国生肉加工食品主要污染为 ST188 型, 该型别在我国和中东的一些国家中均有引发过食物中毒事件<sup>[28]</sup>。ST72 为韩国主要流行的型别, 引发过败血症和严重的肺炎等疾病<sup>[29]</sup>, 而且我国有研究者发现 ST72 可携带多种毒力基因<sup>[27]</sup>。因此, 食品源 ST188 和 ST72 型可能给消费者带来潜在的危害。另外, ST3595 和 ST3847 是本研究发现的两种新 ST 型, 其突变的位点均为管家基因 *aroE*, 或许该基因位点更易受环境等外在选择压力的影响, 有必要对其毒素情况、致病性等特征进行深入研究。

本研究系统调查了我国 15 个代表性城市即食食品和蔬菜中金葡菌的污染状况, 初步掌握了其耐药特性、遗传多样性等表型和遗传型特征, 为食源性金葡菌的风险识别和分子溯源提供了基础数据。

## 参考文献

- [1] Liu XM, Chen Y, Fan YX, Wang MQ. Foodborne diseases occurred in 2003-report of the national foodborne diseases surveillance system, China. *Journal of Hygiene Research*, 2006, 35(2): 201–204. (in Chinese)  
刘秀梅, 陈艳, 樊永祥, 王茂起. 2003 年中国食源性疾病暴发的监测资料分析. *卫生研究*, 2006, 35(2): 201–204.
- [2] Marston HD, Dixon DM, Knisely JM, Palmore TN, Fauci AS. Antimicrobial resistance. *The Journal of the American Medical Association*, 2016, 316(11): 1193–1204.
- [3] Zhang QQ, Ying GG, Pan CG, Liu YS, Zhao JL. Comprehensive evaluation of antibiotics emission and fate in the river basins of China: source analysis, multimedia modeling, and linkage to bacterial resistance. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(11): 6772–6782.
- [4] Bhattacharyya D, Banerjee J, Bandyopadhyay S, Mondal B, Nanda PK, Samanta I, Mahanti A, Das AK, Das G, Dandapat P, Bandyopadhyay S. First report on vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* in bovine and caprine milk. *Microbial Drug Resistance*, 2016, 22(8): 675–681.
- [5] Saunders NA, Holmes A. Multilocus sequence typing (MLST) of *Staphylococcus aureus*. *Methods in Molecular Biology*, 2007, 391: 71–85.
- [6] Chuang YY, Huang YC. Molecular epidemiology of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Asia. *The Lancet Infectious Diseases*, 2013, 13(8): 698–708.
- [7] Lim KT, Yeo CC, Suhaili Z, Thong KL. Comparison of methicillin-resistant and methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* strains isolated from a tertiary hospital in Terengganu, Malaysia. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 2012, 65(6): 502–509.
- [8] Yang XJ, Zhang JM, Yu BS, Wu QP, Guo WP, Huang JH, Cai SZ. Prevalence of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in retail ready-to-eat foods in China. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 816.
- [9] Ministry of Health, PRC. GB 4789.10-2010. Food microbiological examination: staphylococcus aureus. Beijing: China Standard Press, 2010. (in Chinese)  
中华人民共和国卫生部. GB 4789.10-2010 食品安全国家标准 食品微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [10] Clinical and Laboratory Standards Institute. M100-S25. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-fifth informational supplement. Wayne, PA: CLSI, 2015.
- [11] Zhang KY, McClure JA, Elsayed S, Louie T, Conly JM. Novel multiplex PCR assay for characterization and concomitant subtyping of staphylococcal cassette chromosome *mec* types I to V in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Microbiology*, 2005, 43(10): 5026–5033.
- [12] Baumgartner A, Niederhauser I, Johler S. Virulence and resistance gene profiles of *Staphylococcus aureus* strains isolated from ready-to-eat foods. *Journal of Food Protection*, 2014, 77(7): 1232–1236.
- [13] Kim NH, Yun AR, Rhee MS. Prevalence and classification of toxigenic *Staphylococcus aureus* isolated from refrigerated ready-to-eat foods (sushi, kimbab and California rolls) in Korea. *Journal of Applied Microbiology*, 2011, 111(6): 1456–1464.
- [14] Baumgartner A, Niederhauser I, Johler S. Virulence and



- resistance gene profiles of *Staphylococcus aureus* strains isolated from ready-to-eat foods. *Journal of Food Protection*, 2014, 77(7): 1232–1236.
- [15] Tango CN, Hong SS, Wang J, Oh DH. Assessment of enterotoxin production and cross-contamination of *Staphylococcus aureus* between food processing materials and ready-to-eat cooked fish paste. *Journal of Food Science*, 2015, 80(12): M2911–M2916.
- [16] Stefani S, Goglio A. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: related infections and antibiotic resistance. *International Journal of Infectious Diseases*, 2010, 14 Suppl 4: S19–S22.
- [17] Jamali H, Thong KL. Genotypic characterization and antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* from ready-to-eat foods. *Food Control*, 2014, 44: 1–6.
- [18] Xie TF, Xu XK, Wu QP, Zhang JM, Cheng JH. Prevalence, molecular characterization, and antibiotic susceptibility of *Vibrio parahaemolyticus* from ready-to-eat foods in China. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 549.
- [19] Xu XK, Li CS, Wu QP, Zhang JM, Huang JH, Yang GZ. Prevalence, molecular characterization, and antibiotic susceptibility of *Cronobacter* spp. in Chinese ready-to-eat foods. *International Journal of Food Microbiology*, 2015, 204: 17–23.
- [20] Zhang LL, Li YC, Bao HD, Wei RC, Zhou Y, Zhang H, Wang R. Population structure and antimicrobial profile of *Staphylococcus aureus* strains associated with bovine mastitis in China. *Microbial Pathogenesis*, 2016, 97: 103–109.
- [21] He WQ, Chen HB, Zhao CJ, Zhang FF, Li HN, Wang Q, Wang XJ, Wang H. Population structure and characterisation of *Staphylococcus aureus* from bacteraemia at multiple hospitals in China: association between antimicrobial resistance, toxin genes and genotypes. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2013, 42(3): 211–219.
- [22] Qu TT, Feng Y, Jiang Y, Zhu PQ, Wei ZQ, Chen Y, Otto M, Yu YS. Whole genome analysis of a community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST59 isolate from a case of human sepsis and severe pneumonia in China. *PLoS One*, 2014, 9(2): e89235.
- [23] Li J, Wang LJ, Ip M, Sun MJ, Sun J, Huang GY, Wang QC, Deng L, Zheng YJ, Fu Z, Li CC, Shang YX, Zhao CG, Yu SJ, Yao KH, Yang YH, Shen XZ. Molecular and clinical characteristics of clonal complex 59 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in Mainland China. *PLoS One*, 2013, 8(8): e70602.
- [24] Geng WJ, Yang YH, Wu DJ, Huang GY, Wang CQ, Deng L, Zheng YJ, Fu Z, Li CC, Shang YX, Zhao CG, Yu SJ, Shen XZ. Molecular characteristics of community-acquired, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from Chinese children. *Pathogens and Disease*, 2010, 58(3): 356–362.
- [25] Qin Y, Wen FQ, Zheng YJ, Zhao RZ, Hu QH, Zhang RL. Antimicrobial resistance and molecular characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from child patients of high-risk wards in Shenzhen, China. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 2017, doi: 10.7883/yoken.JJID.2016.328.
- [26] Hung WC, Wan TW, Kuo YC, Yamamoto T, Tsai JC, Lin YT, Hsueh PR, Teng LJ. Molecular evolutionary pathways toward two successful community-associated but multidrug-resistant ST59 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* lineages in Taiwan: dynamic modes of mobile genetic element salvages. *PLoS One*, 2016, 11(9): e0162526.
- [27] Song MH, Bai YL, Xu J, Carter MQ, Shi C, Shi XM. Genetic diversity and virulence potential of *Staphylococcus aureus* isolates from raw and processed food commodities in Shanghai. *International Journal of Food Microbiology*, 2015, 195: 1–8.
- [28] Song QF, Zhu ZH, Chang YZ, Shen XY, Gao H, Yang YB. Prevalence and characteristics of enterotoxin B-producing *Staphylococcus aureus* isolated from food sources: a particular cluster of ST188 strains was identified. *Journal of Food Science*, 2016, 81(3): M715–M718.
- [29] Shin E, Hong H, Park J, Oh Y, Jung J, Lee Y. Characterization of *Staphylococcus aureus* faecal isolates associated with food-borne disease in Korea. *Journal of Applied Microbiology*, 2016, 121(1): 277–286.

# Prevalence, antimicrobial susceptibility, and genetic characteristics of *Staphylococcus aureus* from retail ready-to-eat foods and vegetables in some regions of China

Dongli Rong<sup>1,2</sup>, Qingping Wu<sup>2</sup>, Shi Wu<sup>2</sup>, Jumei Zhang<sup>2\*</sup>, Mingfang Xu<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> College of Life Science and Technology, Jinan University, Guangzhou 510632, Guangdong Province, China

<sup>2</sup> State Key Laboratory of Applied Microbiology Southern China, Guangdong Institute of Microbiology; Guangdong Provincial Key Laboratory of Microbial Culture Collection and Application, Guangdong Open Laboratory of Applied Microbiology, Guangzhou 510070, Guangdong Province, China

**Abstract:** **[Objective]** To investigate the prevalence, antimicrobial susceptibility, and genetic characteristics of *Staphylococcus aureus* from ready-to-eat foods (stewed meat, roast, salad and pasteurized milk) and vegetables from 15 representative cities of China and to provide baseline information for effective tracing *S. aureus* source and controlling food contamination. **[Methods]** All samples were subjected to qualitative and most probable number (MPN) analysis for *S. aureus* according to the National Food Safety Standard-Food microbiological examination: *S. aureus*. Antimicrobial susceptibility of all isolates was evaluated using the Kirby-Bauer disk diffusion and *mecA*-positive isolates was obtained by PCR. The sequence types of *S. aureus* were performed via multilocus sequence typing (MLST). **[Results]** In total 540 food samples, 9.3% (50/540) were tested positive for *S. aureus*, of which the most polluted foods were stewed meat (16.3%, 30/184) followed by roast (9.2%, 6/65), and vegetable showed lowest prevalence (4.0%, 6/150). Most probable number (MPN) analysis showed that 62.0% samples were ranged from 0.3 to 1 MPN/g, and three samples exceeded 110 MPN/g. 82.0% isolates were resistant to ampicillin and penicillin G, and 64.0% isolates were multi-drug resistant. In addition, the *mecA*-positive isolates were both belonged to the SCCmecIVa subtype using staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCCmec) typing. Furthermore, 14 sequence types (STs) were obtained by MLST, including two novel STs (ST3595 and ST3847). **[Conclusion]** The general multi-drug resistance exhibited by *S. aureus* was still the most serious issue of common concern, which posing a health risk for consumers. In addition, the antimicrobial susceptibility of *S. aureus* was highly associated with STs. Therefore, it is necessary to provides scientific data for further analysis of epidemic trends and risk assessment of bacteria prevalent in foods.

**Keywords:** *Staphylococcus aureus*, ready-to-eat foods, vegetables, antibiotic resistance, multilocus sequence typing

(本文责编: 张晓丽)

Supported by the Science and Technology Planning Project of Guangdong Province (2014B050504007) and by the Science and Technology Planning Project of Guangdong Province (2016A050502033)

\*Corresponding author. Tel: +86-20-37656160; E-mail: Jumei Zhang, Zhangjm926@126.com, Mingfang Xu, xmf20142014@163.com

Received: 29 March 2017; Revised: 12 July 2017; Published online: 24 July 2017