

DONGWU
JINHUANGSE PUTAOQIUJUN
ZONGHE FANGKONG

动物金黄色葡萄球菌 综合防控

● 廖成水 张 健 / 主编



中国原子能出版社
China Atomic Energy Press

动物金黄色葡萄球菌 综合防控

● 廖成水 张 健 / 主编



中国原子能出版社
China Atomic Energy Press

图书在版编目(CIP)数据

动物金黄色葡萄球菌综合防控/廖成水,张健主编. --
北京:中国原子能出版社,2017.7
ISBN 978-7-5022-8218-9

I. ①动… II. ①廖…②张… III. ①葡萄球菌属—传
染病防治 IV. ①Q939.11

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2017)第 162266 号

动物金黄色葡萄球菌综合防控

出 版 中国原子能出版社(北京市海淀区阜成路 43 号 100048)
责任编辑 蒋焱兰 邮箱:ylj44@126.com QQ:419148731
印 刷 郑州泰宏印刷有限公司
经 销 全国新华书店
开 本 787mm×1092mm 1/16
印 张 19
字 数 440 千字
版 次 2017 年 7 月第 1 版 2017 年 7 月第 1 次印刷
书 号 ISBN 978-7-5022-8218-9
定 价 58.00 元

出版社网址:<http://www.aep.com.cn> E-mail:atomep123@126.com

发行电话:010-68452845

版权所有 侵权必究

编写人员

主 编 廖成水(河南科技大学)

张 健(汝阳县畜牧局)

副主编 陈永林(洛阳市动物疫病预防控制中心)

王晓利(河南科技大学)

张明亮(安阳工学院)

梁国栋(伊川县动物卫生监督所)

周翠粉(伊川县动物疫病预防控制中心)

武麦娟(伊川县畜牧站)

赵一楠(伊川县动物卫生监督所)

徐青波(栾川县动物疫病预防控制中心)

李为民(孟津县动物卫生监督所)

张克涛(栾川县畜牧局)

赵敬周(淇县畜牧局)

参 编 (以姓氏笔画为序)

王亚雷(洛阳市涧西区动物疫病预防控制中心)

史鹏远(洛阳市动物疫病预防控制中心)

闫新武(孟津县动物卫生监督所)

延丽丽(山西省晋城市阳城县润城兽医站)

李灿格(伊川县动物卫生监督所)

李海艳(长垣县农林畜牧局)

张旭阳(汝州市畜牧局)

孟培培(汝州市畜牧局)

袁军虎(漯河市畜牧工作站)

袁进强(汝州市畜牧局)

徐 莹(汝州市畜牧局)

崔淹鸽(洛阳市动物疫病预防控制中心)

梁蔚莉(伊川县动物卫生监督所)

韩晓明(洛阳市瀍河区动物卫生监督所)

翟琰琰(修武县动物卫生监督所)

雷志刚(长垣县农林畜牧局)

前言

人类与动物的日常生活紧密相关,动物源细菌以及其耐药性可以通过食物链从而传递给人类。在临床上,金黄色葡萄球菌多见于口腔黏膜、鼻腔、皮肤和上皮组织的感染中;在食品安全中,其可以产生肠毒素导致食物中毒,是重要的人畜共患致病菌之一。临床上抗生素的滥用,更是加剧了金黄色葡萄球菌的耐药菌株的出现,逐渐使得金黄色葡萄球菌的耐药现状严峻起来。

金黄色葡萄球菌呈典型的葡萄串状排列,直径 $0.8 \sim 1.0 \mu\text{m}$,无芽孢、无鞭毛、大多无荚膜,部分菌株具有粘层或荚膜,是一种革兰氏阳性球状菌。在自然界中,金黄色葡萄球菌广泛分布在水、土壤、空气、食具及患有化脓性皮肤病人畜的皮肤上。另外,金黄色葡萄球菌也常常可以在健康人或患有口腔疾患和急性上呼吸道炎症的病人的鼻、咽喉、头发、皮肤之中分离得到。其还是一种是常见的食物中毒致病菌,在自然界中广泛存在,可耐高盐及干旱环境,抵抗力强、营养要求较低。该菌在 0.1% 升汞水, 5% 苯酚中 $10 \sim 15 \text{ min}$ 即可死亡,在 $70^\circ\text{C} 1 \text{ h}$ 和 $80^\circ\text{C} 30 \text{ min}$ 的条件下能不被杀死,在干燥的环境中可以存活数月。该菌在低温贮存条件下存活率较高,所以还具有较强的抗冻性。金黄色葡萄球菌在医院中广泛分布并传播。该菌是一种重要的人畜共患病原菌,主要存在于皮肤、黏膜和鼻腔,可引起菌血症、脑膜炎、骨髓炎等全身性感染疾病,还常引起皮肤、软组织等的局部化脓性感染,同时也大约有 $30\% \sim 80\%$ 的健康人携带有该病原菌。

金黄色葡萄球菌污染食品后,会导致食品腐败变质,同时部分菌株能够产生肠毒素引起食物中毒,是一种引起细菌性食物中毒和食品污染的主要致病菌。伴随着金黄色葡萄球菌食物中毒事件的频频发生,人们对该菌更加重视,对于它的研究层次从表型上升到了基因型上。目前许多研究工作者发现葡萄球菌属的其他部分种已经变成食品污染的重要因素之一。据世界卫生组织(WHO)报告称食源性疾病和食品污染问题已经成为了世界性公共卫生问题。每年仅发生的食源性疾病高达数十亿例之多,尤其是发达

国家每年患食源性疾病的人群比例竟高达三成,其中有 170 万左右的 15 岁以下儿童因为食源性微生物污染造成食物中毒从而死亡。

金黄色葡萄球菌是一种能引起细菌性食物中毒的重要病原菌。金黄色葡萄球菌在发达国家和发展中国家所引起的食物中毒在细菌性食物中毒事例中都占有较大的比重。所以金黄色葡萄球菌污染食品的概率相对较大。尤其是在春、夏季节更易通过污染食品从而引发食物中毒问题。每年世界各地因金黄色葡萄球菌导致的食物中毒事件难计其数。据美国疾病预防控制中心 CDC 报告显示,金黄色葡萄球菌位于第 2 位,仅仅在大肠埃希菌之后,在细菌性食物中毒致病菌所引起的中毒事例中占有 33% 的比例。金黄色葡萄球菌在中国细菌性食物中毒事件中排在沙门氏菌和副溶血弧菌之后,位于第 3 位。

日本有调查表明大约有 32.5% 的食品中存在着金黄色葡萄球菌污染。美国每年约有超过 185000 人因金黄色葡萄球菌的原因引发食物中毒事件,其中因大约 1750 的人住院而造成损失就为 15 亿美元左右。在欧盟,在 1993—1998 年期间报告了约 926 起金黄色葡萄球菌引起的食物中毒事件,在食源性疾病中占有 4.5% 的比例。加拿大的金黄色葡萄球菌造成的食物中毒事件更加严重,占细菌性食物中毒事件的 45% 之多。尤其是近年来,每年我国由金黄色葡萄球菌造成的食物中毒事件已经位居全世界的第 4 位。综上所述,金黄色葡萄球菌引起的食物中毒已然成为世界性的公共卫生问题。

青霉素的发现打开了抗生素应用于感染治疗的新时代,青霉素曾在金黄色葡萄球菌的临床治疗上应用广泛致使金黄色葡萄球菌的感染情况一度得到较好的控制,但是抗生素临床上的广泛滥用也导致出现了耐受青霉素耐药菌株,在 20 世纪 40 年代即出现了耐青霉素金黄色葡萄球菌。耐青霉素金黄色葡萄球菌菌株能够产生青霉素水解酶,从而水解青霉素 β -内酰胺环,导致对青霉素产生耐药性。此后,新型抗生素——二甲氧苯基青霉素(即甲氧西林)研制成功,甲氧西林能够抵抗 β 内酰胺酶的水解。1959 年甲氧西林应用于临床后曾有效地控制了耐青霉素金黄色葡萄球菌的感染。可是在两年后,1961 年英国科学家 Jevons 报道,从临床中分离到了首例耐甲氧西林的金黄色葡萄球菌。现如今耐甲氧西林金黄色葡萄球菌感染已经在全球内遍及,成为了全球范围内院内感染及社区感染的首要致病菌。耐甲氧西林金黄色葡萄球菌有较强的适应环境的能力和多重耐

药性,使其在感染和治疗过程中更加复杂,耐甲氧西林金黄色葡萄球菌被称为超级细,与艾滋病和乙型肝炎一起被称为世界三大难治感染性疾病。

金黄色葡萄球菌在自然界中广泛存,鱼、奶、肉、蛋及其制品属于易受污染的食品。在我国,金黄色葡萄球菌所引起的食物中毒在细菌性食物中毒占有高达 50% 的比例,是造成食物中毒的主要病原菌。2008 年,黑龙江省疾病预防控制中心和食源性疾病预防网对生乳中金黄色葡萄球菌监测显示,生乳样品中金黄色葡萄球菌的检出率位于所有监测的致病菌的首位。

金黄色葡萄球菌容易通过感染破损的皮肤从而导致化脓感染或者产生各种毒素。金黄色葡萄球菌能够产生肠毒素(staphylococcal enterotoxin, SE), SE 是一类分子量小且耐高温的蛋白质,微量的肠毒素即可引起肠胃炎等综合征,严重时致死,是其致病的主要原因。目前为止发现的肠毒素的种类共有 8 种: A、B、C、D、E、G、H、I, 其中 SEA、SEB 这两种耐高温且稳定性高。金黄色葡萄球菌菌数到一定的数量级后产生的肠毒素增加了食物中毒的潜在风险。据医院的调查结果显示,耐甲氧西林金黄色葡萄球菌能够引起公共健康问题,是主要致病菌之一。金黄色葡萄球菌更容易污染高水分、高淀粉、高蛋白的食品,只需要有一个适宜的温度,该菌在几小时内就会大量生长繁殖且产生大量的肠毒素引起食物中毒。水产品、乳制品、奶制品等属于常见的易受污染的食品。

造成奶牛产业经济损失的最主要原因之一就是乳腺炎。据相关统计表明每年美国因奶牛发生乳腺炎所造成的经济损失就高达 20 亿美元。在我国,临床型乳腺炎的发病率约为 30%, 其中隐性乳腺炎发病率高达 50% ~ 70%, 会导致产奶量减少约 15%, 每年每头牛损失约 1000 元左右。需要值得特别注意的是,某些乳腺炎还具有传染性可能导致乳腺炎在整个牛场的蔓延。

本书参考和借鉴了国内众多专家、学者在人和动物金黄色葡萄球菌方面的研究成果,采用罗列、融合和分块整理方式从人金黄色葡萄球菌感染的病原学、流行病学、危害、实验室检测、发病机理以及诊断要点等方面展开论述,从而引出动物金黄色葡萄球菌,主要编写了动物金黄色葡萄球菌的耐药性、临床特点以及预防和控制措施,有助于开展动物金黄色葡萄球菌全面防控的临床应用。

在本书的编写期间,共 18 个单位 29 人参与了编写。包括河南科技大学(廖成水、王晓利)、汝阳县畜牧局(张健)、洛阳市动物疫病预防控制中心(陈永林、史鹏远、崔淹鸽)、安阳工学院(张明亮)、伊川县动物疫病预防控制中心(周翠粉)、伊川县畜牧站(武麦娟)、伊川县动物卫生监督所(梁国栋、赵一楠、李灿格、梁蔚莉)、栾川县动物疫病预防控制中心(徐青波)、孟津县动物卫生监督所(李为民、闫新武)、栾川县畜牧局(张克涛)、淇县畜牧局(赵敬周)、洛阳市涧西区动物疫病预防控制中心(王亚雷)、山西省晋城市阳城县润城兽医站(延丽丽)、漯河市畜牧工作站(袁军虎)、汝州市畜牧局(张旭阳、孟培培、袁进强、徐莹)、长垣县农林畜牧局(李海艳、雷志刚)、修武县动物卫生监督所(翟琰琰)、洛阳市瀍河区动物卫生监督所(韩晓明)。其中,廖成水负责编写 10 万字以上,王晓利、张健、陈永林、张明亮和赵敬周负责编写 2 万字以上,其他人员负责编写 1 万字以上。

最后,谨希望本书的出版能够让更多的科研工作者关注动物金黄色葡萄球菌感染。同时,因知识和能力有限,虽然做了最大的努力,本书仍然存在许多错误的地方,望广大专家和读者批评指正。

廖成水 张 健

河南科技大学

2017 年 5 月 10 日

目 录

第一章 绪 论	001
第二章 葡萄球菌简介	005
第一节 葡萄球菌的分类与命名	006
第二节 葡萄球菌的理化特征	018
第三节 葡萄球菌的耐药机制	020
第四节 金黄色葡萄球菌的耐药监测	037
第五节 金黄色葡萄球菌病的危害	046
第六节 葡萄球菌病的流行特点	047
第七节 金黄色葡萄球菌食物中毒事件	052
第三章 金黄色葡萄球菌的生物被膜	057
第四章 动物金黄色葡萄球菌的病原学	078
第一节 金黄色葡萄球菌的生物学特性	079
第二节 金黄色葡萄球菌的毒力因子	081
第三节 金黄色葡萄球菌的耐药菌株检测	109
第四节 金黄色葡萄球菌的基因组学和蛋白质组学研究	118
第五章 动物金黄色葡萄球菌病流行病学	124
第一节 金黄色葡萄球菌病在动物群体中的流行概况	124
第二节 流行特点	150
第三节 流行的影响因素	151
第六章 动物金黄色葡萄球菌病临床学	154
第一节 猪感染金黄色葡萄球菌的临床特征	154

第二节 鸡感染金黄色葡萄球菌的临床特征 163

第三节 牛感染金黄色葡萄球菌的临床特征 168

第四节 獭兔感染金黄色葡萄球菌的临床特征 172

第五节 兔感染金黄色葡萄球菌的临床特征 174

第六节 鹅感染金黄色葡萄球菌的临床特征 175

第七章 动物金黄色葡萄球菌的发病机理 178

第八章 金黄色葡萄球菌噬菌体 190

第九章 动物金黄色葡萄球菌实验室检测 207

第十章 动物金黄色葡萄球菌病预防与控制 252

 第一节 药物控制研究 252

 第二节 防制措施 268

后 记 293

第一章 绪 论

葡萄球菌(Staphylococci)是一种革兰氏阳性菌,属于微球菌科,形态呈球形,直径在 $0.5 \sim 1.5 \mu\text{m}$ 之间,在显微镜下观察呈深黄色葡萄串状排列,同时葡萄球菌是需氧或兼性厌氧菌。无氧条件下,菌体不能合成细胞色素,但在有氧条件下,菌体易合成色素。金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)因极易产生耐药性而具有潜在的生物安全性问题。目前,金黄色葡萄球菌 N315 基因组已经成功测序,该菌属于一种耐甲氧西林金黄色葡萄球菌菌株(分离于 1982 年),其基因组结构共有 2814816 bp,估计约有 2593 个开放阅读框(ORF)。

近年来葡萄球菌感染因为广泛的环境分布和致病性上的一些特点使其感染趋势逐渐上升,并且还是社区获得性感染和医院感染的重要病原菌。1884 年,Rosenbach 等首次从人畜化脓性病灶中分离得到的葡萄球菌。此后随着现代分子生物学技术的发展和各种科研技术的不断完善,人们对葡萄球菌的分型和鉴定也不断加强。1974 年,第八版出版的伯杰氏鉴定细菌学手册与葡萄球菌和微球菌分类委员会根据以往研究报道分类的基础上,结合葡萄球菌产生血浆凝固酶、分解甘露醇的能力、有无葡萄球菌 A 蛋白、脱氧核糖核酸酶和脂酶等将葡萄球菌分为三个亚种,包括金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌和腐生葡萄球菌。

1880 年外科医生 Alexander Ogston 等在病人的溃疡脓疮中首次发现了金黄色葡萄球菌。金黄色葡萄球菌,葡萄球菌属,硬壁菌门,呈葡萄串状排列,直径约为 $0.8 \mu\text{m}$,革兰氏染色呈阳性,需氧或兼性厌氧,最适生长温度 37°C ,最适生长 pH7.4。金黄色葡萄球菌无芽孢,无鞭毛,大多数无荚膜,能分解甘露醇,可产生金黄色色素,血浆凝固酶实验、脱氧核糖核酸酶实验、乳糖发酵实验结果均为阳性。在血平板上菌落表现为圆形凸起、较厚、具有光泽、直径约为 $1 \sim 2 \text{ mm}$ 。大多数金黄色葡萄球菌具有溶血性,所以血平板上的菌落周围出现透明的溶血环。

金黄色葡萄球菌是一种常见的致病菌,是人类和动物化脓性感染的重要病原菌,毒力强,除引起局部毛囊炎、疖肿、蜂窝织炎外,可引起鼻腔、口腔黏膜以及皮肤和上皮组织的感染和致死性疾病,引起肺炎、心包炎、骨髓炎、肾盂肾炎、肾脓肿等多种系统的化脓性疾病以及菌血症、心内膜炎等危及生命的疾病。金黄色葡萄球菌也是造成食物中毒的重要致病菌之一在人群中约有 20% 的健康人在鼻腔处有金黄色葡萄球菌持久的定植,同时大约有 30% 的健康人会有间断性的定植金黄色葡萄球菌。金黄色葡萄球菌的定植部位除了鼻腔部外还包括腋窝、腹股沟和胃肠道。定植的菌株可作为菌株保存库,在机体防御系统出现损伤后,如手术前的备皮、使用呼吸机、留置导管的插入和手术,可由这些菌株可以引起感染。

金黄色葡萄球菌不但能在宿主细胞外生存,而且还能侵入宿主细胞内生长,是一种

兼性胞内菌,常见的宿主细胞主要有上皮细胞、内皮细胞、甚至巨噬细胞等。金黄色葡萄球菌可以通过内在化逃避吞噬细胞吞噬,从而逃避宿主的免疫调节作用。纤连蛋白(Clfs)和黏附素蛋白 I(Fnbps)均属于黏附蛋白 MSCRA mms 家族的成员,能够识别并结合胶原蛋白、纤维蛋白、玻璃黏连 m 蛋白等胞外基质,从而使得细菌与宿主细胞发生吸附作用。

细菌通过黏附到细胞表面从而侵入细胞。细菌表面特异蛋白(配体)能够识别宿主细胞表面受体,从而能够和宿主细胞进行特异性黏附。金黄色葡萄球菌对宿主细胞黏附的作用机制与其表面蛋白的分泌表达有着密切的关系。PierreVaudaux 等通过实时荧光定量 PCR 技术检测发现与野生型菌株相比较金黄色葡萄球菌突变菌株 SCVs 的 ClfA 和 Fnbp 的表达量明显增高,这是其对宿主细胞的内在化能力更强的原因,所以其对细胞的黏附能力增强;Dziewanowska 等通过研究野生型和 Fnbp 缺失突变型菌株对牛乳腺上皮细胞系 MAT-C 作用发现,金黄色葡萄球菌依赖于 Fnbp 对宿主细胞进行黏附。细菌发生黏附作用后,继而导致细菌侵入细胞,参与调控宿主细胞的信号转导过程,使细菌在宿主细胞内得以生存。

金黄色葡萄球菌可引发一系列常见的疾病,如食物中毒、非感染性疾病和中毒性休克综合征等。引起该类疾病的主要因素是金黄色葡萄球菌产生的外毒素。根据世界卫生组织发布的公告显示,食源性病原菌所引发的食品污染被认为是世界性公共卫生的重大问题,所以食品安全工作的重点应该是保证食品中致病性病原体低于能够引发疾病的量。美国疾病控制与预防中心的研究资料表明,在细菌性食物中毒的重要病原菌中,金黄色葡萄球菌被认为是其中一种最为重要的病原菌,占全部细菌性食物中毒的 33%,其引起的食物中毒的数量仅次于大肠杆菌所引发的中毒事件,名列第 2 位。

20 世纪 40 年代,青霉素问世后,金黄色葡萄球菌引起的临床感染得到了较好的控制。但随着青霉素的广泛使用,金黄色葡萄球菌借助产生青霉素酶水解 β -内酰胺环来对青霉素产生耐药。因此人们又研制出一种新型的耐青霉素酶的半合成青霉素,即甲氧西林(methicillin)。甲氧西林于 20 世纪 60 年代用于临床治疗不久,1961 年,英国学者 Jevons 首先报道了耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(Acquired methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)的发生。此后耐甲氧西林金黄色葡萄球菌在世界各地,不同人群,甚至动物以及环境中的感染率和分离率不断增加。在人类感染中,耐甲氧西林金黄色葡萄球菌感染已与 HBV、AIDS 并列世界范围内的 3 大难解决的感染性疾病。耐甲氧西林金黄色葡萄球菌最初依据其来源不同,可以分为社区性获得耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, CA-MRSA)以及典型的医院获得性耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(Hospital-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)。

生物被膜是一种结构性细菌群落,是由包裹细菌的水合性基质和附着于活性或惰性实体表面的细菌细胞组成的。在人们日常生活环境中,金黄色葡萄球菌等一些易导致食源性疾病的病原菌常常会以这种生物被膜的形式存在。在医院和社区中,金黄色葡萄球菌是生物膜感染常见的病原菌,也是造成感染的重要病原菌之一,其具有很强大的形成

生物被膜的能力。

金黄色葡萄球菌的特点有耐热性强、耐低温、耐高渗等,在干燥环境中可数月存活。在所有的人畜致病菌中金黄色葡萄球菌是非常重要的,金黄色葡萄球菌可以引起的主要临床疾病包括皮肤软组织感染、脑膜炎、骨髓炎、乳房炎、心内膜炎、肺炎、肠炎、筋膜炎、关节炎、败血症、中毒性休克综合征等。在一份来自美国疾病控制中心的报告中显示,由金黄色葡萄球菌引起的感染居于第二位,仅次于大肠杆菌。在兽医临床上,金黄色葡萄球菌对大部分动物可以导致很多疾病,主要包括家畜乳房炎、禽类关节炎、肺炎、乳腺炎、静脉炎、子宫内膜炎、泌尿系统炎症、外伤化脓性炎症、心内膜炎、骨髓炎、脑膜炎、仔猪渗出性皮炎等,如若治疗不及时,将会引起败血症而导致死亡,从而严重损害家畜健康,造成巨大的经济损失。

在临床上,金黄色葡萄球菌所引起的奶牛乳腺炎的特点是:危害最大、最顽固、易形成耐药性等,继而导致抗生素在临床治疗上无效和预防控制难度太大的问题。目前人们主要通过疫苗免疫对金黄色葡萄球菌进行预防。尽管通过疫苗接种能提升体内特异性抗体的滴度,从而增强机体的细胞免疫力。但金葡萄灭活全菌疫苗中有很多不相关的和有毒的成分,毒副反应较大,也限制了临床上的应用和推广。

随着金黄色葡萄球菌食物中毒事件的频繁发生,食品安全问题的重要性越来越凸显。因此,在我国食品安全国家标准食品微生物检验常规检测项目中,金黄色葡萄球菌被列为重要检测项目之一。对以金黄色葡萄球菌为代表的葡萄球菌属的各种类进行正确的检测和分型对于评价食品的危险性具有很重要的意义,有助于预防和控制动物性食品污染,保障食品安全。同时,由于传统的细菌分离、培养及生化试验已远远不能满足当前病原微生物的检测要求。因此需要建立一类快速、简便、特异、敏感、低耗且适用的金黄色葡萄球菌快速准确检测鉴定技术对于解决食品安全具有重要的指导意义。

利用表型标记分型和分子生物学分型的各种分型方法均可对金黄色葡萄球菌进行正确的分型。表型标记分型和分子生物学分型是目前细菌分型的常见两大类方法。目前有多种方法用于金黄色葡萄球菌的分型,可归为两大类,目前来看,金黄色葡萄球菌分型主要包括表型分型(又称传统分型)和基因分型(又称遗传学分型)两大分型方法。表型分型主要包括血清学分型、生化分型、毒素分型、凝固酶分型、荚膜分型、噬菌体分型、耐药谱分型、抗生素分型以及蛋白电泳分型等十余种分型方法。随着检测技术的不断发展和完善,特别是现代分子生物技术的广泛应用,分子生物学技术的发展为金黄色葡萄球菌的分型工作提供了强大的工具,使细菌的分型更加完善,同时使得更多的科研和临床工作者开始关注金黄色葡萄球菌的分子流行病学调查工作,如金黄色葡萄球菌确定和分型、临床分离菌株间相关性等方面。而分子生物学分型方式种类较多,应用也最为广泛,主要包括利用普通 PCR 技术扩增特殊基因的分型、重复片段 PCR、DNA 序列测定、任意引物 PCR、脉冲场凝胶电泳、扩增片段长度多态性、限制性断长度多态性分析、多位点序列分型、质粒图谱分析、青霉素结合蛋白基因指纹图谱、DNA 印迹、核糖体分型、全细胞蛋白图谱分型等。

随着抗生素的广泛使用,导致耐药菌株不断出现,尤其是近年来多种超级细菌(如耐

甲氧西林金黄色葡萄球菌和产新德里金属 β -内酰胺酶-1 肠杆菌科细菌等) 的出现, 细菌耐药性问题日益严重, 临床细菌性感染的治疗难度日益增大。而中草药具有高效的抗菌效果, 且不易产生抗药性, 因此成为研发新型抗菌药物的研究焦点。

在金黄色葡萄球菌疫苗研究的初期, 研究的焦点是灭活疫苗和减毒疫苗的免疫效果。Watson 等分别将制备好的金黄色葡萄球菌灭活疫苗和减毒疫苗免疫接种乳牛, 结果显示这两种疫苗均具有抵抗金黄色葡萄球菌感染的能力, 且减毒疫苗的效果优于灭活疫苗。由于灭活疫苗和减毒疫苗均属于全菌体疫苗, 除了有效的保护性抗原位点以外, 还有存在许多与免疫无关的有毒成分, 对机体产生毒副作用较大, 大大限制了该类疫苗的临床应用。同时由于该类疫苗产生的抗体水平滴度不足以保护宿主机体被感染以及二次感染, 因此, 需要寻找与免疫相关的抗原, 从而研制出安全高效的金黄色葡萄球菌疫苗。国内外专家学者为此进行了大量的科研探索, 深入研究了与金黄色葡萄球菌致病力相关的各种结构成分, 如外毒素、表面多糖及蛋白等, 为研制新一代金黄色葡萄球菌疫苗奠定了基础。

(廖成水)

参考文献:

- [1] 郭新梅. 葡萄球菌属的鉴定及分类方法研究. 贵州: 贵州大学, 2006.
- [2] 袁文常. 金黄色葡萄球菌适应性耐药及 MRSA 耐药调控机制的研究. 重庆: 第三军医大学, 2013.
- [3] 李冰, 刘晓晨, 李琳, 徐振波. 金黄色葡萄球菌生物被膜基因型的分子鉴定. 现代食品科技, 2015, 31(7): 74-79.
- [4] 叶小华. 动物源性耐甲氧西林金黄色葡萄球菌跨宿主感染的风险研究. 广州: 南方医科大学, 2015.
- [5] 刘彩林. 金黄色葡萄球菌流行病学及致病机制研究. 武汉: 华中科技大学, 2014.
- [6] 高路, 何聪芬. 金黄色葡萄球菌检测技术的研究进展. 北京日化, 2014, 1: 28-33.
- [7] 杜洪利, 张双双, 欧旭, 等. 金黄色葡萄球菌检测技术研究进展, 2010, 45(5): 12-14.
- [8] 王元萍, 王元婷. 金黄色葡萄球菌实验室检测方法的分类与进展. 中国城乡企业卫生, 2011, 146(6): 109-111.
- [9] 张晓艳. 金黄色葡萄球菌疫苗的研究进展. 微生物学免疫学进展, 2009, 37(2): 74-77.
- [10] 杨益隆. 金黄色葡萄球菌疫苗及其免疫治疗进展. 微生物学免疫学进展, 2012, 40(2): 47-52.

第二章 葡萄球菌简介

葡萄球菌直径为 $0.5 \sim 1.5 \mu\text{m}$, 以单个、成双、四联、短链(3 个或 4 个菌)和不规则的葡萄串状排列, 是一种革兰氏阳性球菌。葡萄球菌不产生芽孢, 非运动性, 还有一些金黄色葡萄球菌株会产生荚膜。本属菌触酶试验呈阳性, 葡萄球菌的基因组 DNA 的 G + C 含量在 30% ~ 40% 的范围内, 大多数菌种是兼性厌氧菌, 仅有很少数菌种是厌氧菌。在人体皮肤、呼吸道和胃肠道等都有分布的葡萄球菌亦是一种正常的常见菌群, 在空气、水、土壤、物品、人和动物的自然界中广泛存在。以前很多人以为凝固酶阴性葡萄球菌是没有致病性的, 只有金黄色葡萄球菌才是病原菌。但是从目前的研究来看, 临床上已承认凝固酶阴性葡萄球菌同样致病, 同时葡萄球菌的分类和鉴定也有了重大的进展。心瓣膜修复术后心内膜炎、插管病人的感染、年轻妇女的泌尿道感染、免疫抑制病人的感染、食物源性胃肠炎、皮肤脓肿、败血症、腹膜透析病人的腹膜炎和手术后伤口感染等都是凝固酶阴性葡萄球菌的感染。凝固酶阴性葡萄球菌的深部感染持续时间长久, 可达数月乃至数年。通过对家兔耳缘静脉注射表皮葡萄球菌, 能够使其发生心内膜炎疾病。有研究发现葡萄球菌产生的肠毒素 F 或毒素休克综合征毒素会产生毒素休克综合征。凝固酶阳性菌株(*staphylococcus aureus*, SA)和凝固酶阴性菌株(*coagulase negative staphylococcus*, CNS)是葡萄球菌根据有无产生凝固酶可进行的的一种分类。葡萄球菌是引起人类化脓性感染的最常见病原菌, 其传播方式是直接或间接接触。

近年来葡萄球菌感染因为广泛的环境分布和致病性上的一些特点使其感染趋势逐渐上升, 并且还是社区获得性感染和医院感染的重要病原菌。2002 年国家细菌耐药性监测网收集了首次分离株 40379 株, 分别来自于 8 个省、市、自治区的 57 家三级甲等医院的患者之中, 得到的结果是: 最为常见的菌种是铜绿假单胞菌、大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、肺炎克雷伯菌、表皮葡萄球菌。早些年研究学者们认为凝固酶阴性葡萄球菌是一种共栖于人皮肤和黏膜的非致病菌, 但随着静脉导管等医用植入材料的使用, 人们发现在医院感染中, 属于凝固酶阴性菌株的表皮葡萄球菌所造成的感染病例逐渐增加。甚至在血行感染中, 比起金黄色葡萄球菌, 表皮葡萄球菌的检出率更高。牛其昌等对 1999—2003 年青岛市人民医院中发现医院感染进行了调查, 发现表皮葡萄球菌在所有的革兰阳性菌感染中位于 1 位。

近年来食物中毒所引起的食品安全问题也越来越受到重视。“危害分析与关键控制点”系统(Hazard Analysis and Critical Control Point, HACCP)是一种国际食品安全控制系统, 它的目的是控制食品安全卫生问题。该系统是一种控制食品安全危害的通常技术, 一种重要的管理体系, 一个分析工具, 还可以和任何操作相结合, 使正在开展的食品安全

性项目保持经济有效。葡萄球菌属在空气、水、灰尘和人和动物的排泄物存在着,在自然界中能够轻易找到。食品受金黄色葡萄球菌污染后会产生腐败变质,部分菌株还可以产生肠毒素引起食物中毒,其是引起食品污染和细菌性食物中毒的主要细菌。截至目前,葡萄球菌属的其他部分种属已经是人们关注的主要致病菌。对我国的食品加工行业,我国加入“危害分析与关键控制点”系统,即充满挑战的同时也是一种机遇。为了促进我国食品产业更加顺利地走向国际市场,我们对金黄色葡萄球菌及葡萄球菌属的其他种会导致的食品危害进行准确的分析是很有必要的。

第一节 葡萄球菌的分类与命名

首次得到葡萄球菌(*Staphylococci*)是在1884年由Rosenbach从人畜化脓性病灶中分离得到的,在1929年Dack等也证实了该菌的存在。众多研究人员从各个方面对“两个圣诞蛋糕引起的11人中毒事件”进行了深入的研究。近些年来,随着新的种属的不断发现,葡萄球菌的分类也有了显著变化。近年来,在医疗中广谱抗生素和免疫抑制剂等化学治疗剂被普遍使用,进一步也造成葡萄球菌生态学和病理学意义上发生变化,尤其是曾认为是非致病菌的凝固酶阴性葡萄球菌(凝固酶阴性葡萄球菌)所致的各类感染的趋势正在逐渐上升。已经有许多研究学者们在葡萄球菌属的分类与分型方面取得了更深一层的研究成果。通过对这方面的研究能够更深入地分析葡萄球菌的耐药性、致病性、追查传染源、控制感染流行和防治食物中毒等。

一、葡萄球菌的分类

口腔球菌属、微球菌属、动性球菌属和葡萄球菌属都属于微球菌科。而葡萄球菌属是革兰氏阳性、触酶阳性的球菌。有学者对通过对葡萄球菌的基因组DNA基本组成、DNA-rRNA杂交和16S rRNA顺序的分析发现,葡萄球菌属属于芽孢杆菌-乳杆菌-链球菌群,其与微球菌属的亲缘关系不密切,与肠球菌属、李斯特氏菌属、芽孢杆菌属、动性球菌属和*Brochothnx*的亲缘关系反而更加密切一些。葡萄球菌属基因组DNA序列的G+C含量在30%~39%之间。

1963年和1965年Baird-Parker等分别根据葡萄球菌的生理学和生物化学特点,将葡萄球菌属分为6个亚群,根据这个分群规则,第Ⅰ亚群、第Ⅲ亚群和第Ⅳ亚群分别为金黄色葡萄球菌、家畜葡萄球菌和表皮葡萄球菌,第Ⅱ亚群、Ⅴ亚群和Ⅵ亚群为白色葡萄球菌、表皮葡萄球菌和腐生葡萄球菌等的混合亚群。在1965年,国际葡萄球菌和微球菌分类学会将葡萄球菌分为金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)和表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)。1974年Baird-Parker又介绍了一种新的分群方法,即根据葡萄球菌凝固酶的产生、细胞壁中磷壁酸的类型、甘露醇需氧和厌氧产酸、葡萄糖的厌氧分解、 α -毒素的产生、耐热核酸内切酶的产生、A蛋白的产生、生长时对生物素的需要以及对新生毒素的敏感性等为依据,把葡萄球菌分为金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌和腐生葡