

BÀI TỔNG QUAN

**ĐỘC TỔ NHÓM B CỦA VI KHUẨN TỤ CẦU VÀNG VÀ CÁC PHƯƠNG PHÁP PHÁT HIỆN**

Nguyễn Thị Hoài Thu, Nghiêm Ngọc Minh✉

Viện Nghiên cứu hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

✉ Người chịu trách nhiệm liên lạc. E-mail: nghieminh@igr.ac.vn

Ngày nhận bài: 19.8.2016

Ngày nhận đăng: 20.4.2017

TÓM TẮT

Tụ cầu vàng *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) là một trong những nguyên nhân chính gây ngộ độc thực phẩm do chúng tiết ra các độc tố ruột staphylococcal enterotoxin (SE). Độc tố của tụ cầu vàng được xếp vào họ những siêu kháng nguyên, chúng có tính ổn định cao, kháng với hầu hết các enzyme phân hủy protein và vì thế chúng giữ được hoạt tính trong đường tiêu hóa sau khi được ăn vào bụng. Đặc biệt, tính bền nhiệt là một trong những tính chất quan trọng nhất của các SE trong lĩnh vực an toàn thực phẩm. Chúng không bị phân hủy ở 100°C trong 30 phút, thậm chí ở 121°C trong 28 phút, các SE vẫn giữ được hoạt tính sinh học. Tính kháng nhiệt của các SE trong thực phẩm cao hơn so với trong môi trường nuôi cấy. Tụ cầu vàng sản sinh hơn 20 loại độc tố khác nhau từ SEA đến SEE, từ SEG đến SER và SEU. Trong các nhóm độc tố (siêu kháng nguyên) do *S. aureus* sản sinh kể trên thì độc tố ruột nhóm B (Staphylococcal enterotoxin B – SEB) là một độc tố mạnh, bền với nhiệt và hòa tan trong nước, chúng có phổ phân bố rộng rãi và là tác nhân phổ biến gây ngộ độc thực phẩm. Nguy hiểm hơn, SEB còn là một trong những nhóm độc tố được sử dụng làm vũ khí sinh học dùng để tấn công trong khủng bố sinh học và chiến tranh sinh học. Vì thế việc xác định sự có mặt của SEB trong thực phẩm nhằm đánh giá nguy cơ ngộ độc là vô cùng quan trọng. Trong bài tổng quan này, chúng tôi xin giới thiệu những nét cơ bản nhất về vi khuẩn tụ cầu vàng, độc tố ruột SEB và đề cập đến một số phương pháp để chẩn đoán, phát hiện độc tố SEB. Đặc biệt là, chúng tôi tập trung chủ yếu vào phương pháp que thử nhanh dạng sắc ký miễn dịch; đây là phương pháp có độ nhạy cao, cho kết quả trong thời gian ngắn, dễ sử dụng và bảo quản.

**Từ khóa:** độc tố ruột, ngộ độc thực phẩm, que thử sắc ký miễn dịch, *Staphylococcus aureus*, Staphylococcal enterotoxin B, SEB

TÌNH HÌNH NGỘ ĐỘC THỰC PHẨM DO TỤ CẦU VÀNG

Ngộ độc thực phẩm là hiện tượng đau bụng, nôn mửa, nóng sốt, tiêu chảy... của người do ăn phải thức ăn không đảm bảo vệ sinh hoặc bị hư hỏng. Có nhiều nguyên nhân dẫn đến thực phẩm không an toàn, nhiễm vi khuẩn là một trong những nguyên nhân phổ biến gây bệnh trên toàn cầu. Theo Tổ chức Y tế Thế giới (WHO), lương thực, thực phẩm nuôi con người nhưng cũng chính là nguyên nhân gây ra khoảng 50% các trường hợp tử vong trên toàn thế giới hiện nay. Hiện có tới 400 bệnh lây qua thực phẩm không an toàn, chủ yếu là dịch tả, tiêu chảy, thương hàn, cúm. Thực phẩm ô nhiễm bởi vi sinh vật hoặc độc tố của chúng là một trong những nguyên nhân chính và chủ yếu gây ngộ độc thực phẩm (NĐTP). Theo WHO/FAO (tháng 5/2005), ngộ độc

thực phẩm ảnh hưởng rất lớn đến sức khỏe con người và kinh tế, ở các nước công nghiệp 30% dân số bị ngộ độc thực phẩm hàng năm.

Ở Hoa Kỳ, ước tính mỗi năm có khoảng 76 triệu ca bệnh, 325 nghìn ca nhập viện và 5 nghìn ca tử vong do các bệnh truyền qua thực phẩm, chi phí điều trị cho các bệnh nhân khoảng 6,5 tỷ đô la, thiệt hại do nghỉ điều trị khoảng 34,9 tỷ đô la/năm (Mead *et al.*, 1999). *S. aureus* là nguyên nhân chủ yếu của các bệnh lây truyền qua thực phẩm, nó gây ra khoảng 241 ca bệnh mỗi năm tại Hoa Kỳ (Scallan *et al.*, 2011). Ngộ độc thực phẩm do tụ cầu vàng là một trong những bệnh truyền qua thực phẩm phổ biến nhất trên thế giới do tiêu thụ thức ăn có chứa độc tố của tụ cầu vàng được sinh ra từ các staphylococci dương tính với coagulase mà chủ yếu là *S. aureus* (Jablonski, Bohach, 1997). Hennekinne *et al.* (2012)

đã thống kê có tới 24 vụ ngộ độc phẩm do tụ cầu liên quan tới sự hiện diện của các độc tố ruột SE.

Năm 2013, điều tra ô nhiễm vi sinh vật trong các thực phẩm ăn sẵn được sản xuất tại một nhà máy chế biến lớn ở Trinidad, West Indies thì *S. aureus* là tác nhân gây bệnh phổ biến nhất được phát hiện (Syne *et al.*, 2013). Tỷ lệ *S. aureus* được phát hiện trong không khí, thực phẩm, và các mẫu môi trường chiếm 27,1% (46/170). Số lượng của *S. aureus* tăng lên sau khi xử lý nhiệt, và thực phẩm ăn sẵn có thể bị nhiễm tụ cầu vàng trong quá trình cất thái và đóng gói sản phẩm. *S. aureus* cũng thường xuyên tìm thấy trên gang tay xử lý thực phẩm (Syne *et al.*, 2013).

Tại Việt Nam, theo số liệu từ Cục Quản lý chất lượng vệ sinh an toàn thực phẩm, trong những vụ dịch được tổng kết từ năm 1997 đến 2002 thì ngộ độc thực phẩm do tác nhân vi sinh vật chiếm tỷ lệ cao 40-45% trong các loại gây ngộ độc, trong số đó có nhiều vụ được xác định tác nhân là *S. aureus* (Nguyễn Đỗ Phúc *et al.*, 2003).

Qua các cuộc khảo sát tình hình vệ sinh thức ăn đường phố và các thực phẩm chế biến sẵn tại các chợ cho thấy mức độ nhiễm *S. aureus* là rất cao, phù hợp với các kết quả xét nghiệm trong các vụ ngộ độc tại thành phố Hồ Chí Minh trong những năm qua. Đáng chú ý hơn cả là ở các mẫu bánh mì thịt nguội là 16/30 mẫu (53%), các mẫu thịt quay là 18/20 mẫu (90%) (Nguyễn Đỗ Phúc *et al.*, 2003; Nguyễn Lý Hương *et al.*, 2005).

Giai đoạn từ năm 2006 đến năm 2010, cả nước đã ghi nhận 944 vụ ngộ độc thực phẩm, với 33.168 người mắc và 259 người tử vong. Theo số liệu năm 2012 của Cục An toàn thực phẩm – Bộ Y tế, trên toàn quốc có 164 vụ ngộ độc thực phẩm, trong đó có 33 người tử vong, nguyên nhân ngộ độc do vi sinh vật gây ra chiếm tỷ lệ cao nhất (chiếm hơn 45% tổng số vụ ngộ độc). Cũng theo báo cáo này, ở một số địa phương trong cả nước tỷ lệ thực phẩm nhiễm vi sinh vật gây bệnh như sau: tại Hà Nội (46,7%), Hải Phòng (76,4%), Đà Lạt (73,7%), Quảng trị (72 - 88%), Kon Tum (88 - 100%), thành phố Hồ Chí Minh (53,8%). Cũng theo thống kê của Cục An toàn thực phẩm, trong quý I/2016, toàn quốc ghi nhận 25 vụ ngộ độc thực phẩm với 969 người mắc, 669 người nhập viện và 2 người tử vong. Trong 9 vụ NĐTP do vi sinh vật thì ghi nhận 4 vụ do tụ cầu vàng *S. aureus*.

Ngộ độc thực phẩm có nguyên nhân do vi sinh vật chiếm tỷ lệ cao từ 32,8% - 55,8% và cao hơn hẳn so với các nguyên nhân khác. Trong đó, *S. aureus*

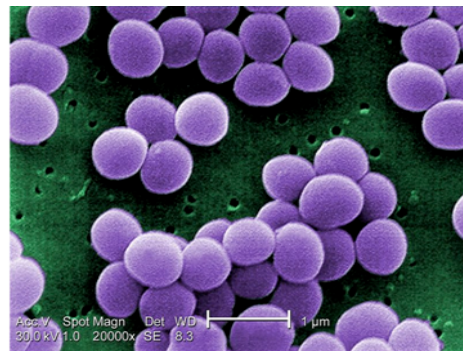
được xem là một trong ba tác nhân chính của các vụ ngộ độc thực phẩm ở nhiều nước chỉ sau *Salmonella* và *Clostridium perfringens* (Rosec, Gigaud, 2002; Normanno *et al.*, 2004).

## GIỚI THIỆU VỀ VI KHUẨN TỤ CẦU VÀNG

### Hình thái, đặc điểm sinh hóa

#### Hình dạng và kích thước

*S. aureus* thuộc giống *Staphylococcus*, do đó chúng mang những tính chất chung của *Staphylococcus*. *S. aureus* là những vi khuẩn hình cầu, không di động, gram dương, đường kính 0,5-1,5 µm, tế bào xếp thành hình chùm nho, không di động (Hình 1). Thành tế bào kháng với lysozyme và nhạy với lysotaphin, một chất có thể phá hủy cầu nối pentaglycin của tụ cầu.



Hình 1. Hình ảnh các vi khuẩn *S. aureus* dưới kính hiển vi điện tử (<http://www.bacteriainphotos.com/>).

#### Đặc điểm sinh hóa

*S. aureus* là những vi khuẩn hiếu khí hay kỵ khí tùy nghi, có catalase phân giải oxy già giải phóng oxy và nước. *S. aureus* cho phản ứng đông huyết tương dương tính do chúng tiết ra enzym coagulase. Đây được xem là tính chất đặc trưng của *S. aureus*, là tiêu chuẩn để phân biệt *S. aureus* với các tụ cầu khác. Có hai dạng coagulase: coagulase “cố định” (“bound” coagulase) gắn vào thành tế bào và coagulase “tự do” (“free” coagulase) được phóng thích khỏi thành tế bào. Có hai phương pháp để thực hiện thử nghiệm coagulase là thực hiện trên lam kính và trong ống nghiệm. Phương pháp lam kính giúp phát hiện những coagulase “cố định” bằng cách phản ứng trực tiếp với fibrinogen, phương pháp ống nghiệm phát hiện những coagulase “tự do” bằng phản ứng gián tiếp với fibrinogen qua cộng hợp với

những yếu tố khác trong huyết tương tạo thành từng khối hay thành cục (Collins *et al.*, 1995).

Ngoài ra, chúng còn cho phản ứng DNase, phosphatase dương tính, có khả năng lên men và sinh acid từ manitol, trehalose, sucrose. Tất cả các dòng *S. aureus* đều nhạy với Novobicine, có khả năng tăng trưởng trong môi trường chứa đến 15% muối NaCl (Trần Linh Thước, 2002).

Một số dòng *S. aureus* có khả năng gây tan máu trên môi trường thạch máu, vòng tan máu phụ thuộc vào từng chủng nhưng chúng đều có vòng tan máu hẹp hơn so với đường kính khuẩn lạc. Hầu hết các dòng *S. aureus* đều tạo sắc tố vàng, nhưng các sắc tố này ít thấy khi quá trình nuôi cấy còn non mà thường thấy rõ sau 1-2 ngày nuôi cấy ở nhiệt độ phòng. Sắc tố được tạo ra nhiều hơn trong môi trường có hiện diện lactose hay các nguồn hydrocarbon khác mà vi sinh vật này có thể bẻ gãy và sử dụng (Collins *et al.*, 1995).

Trên môi trường BP (Baird Parker), khuẩn lạc đặc trưng của *S. aureus* có màu đen nhánh, bóng, lồi, đường kính 1-1,5 mm, quanh khuẩn lạc có vòng sáng rộng 2-5 mm (do khả năng khử potassium tellurite K<sub>2</sub>TeO<sub>3</sub> và khả năng thủy phân lòng đỏ trứng của leithinase) (Sande, McKillip, 2002). Trên môi trường MSA (Manitol salt agar) hay còn gọi là môi trường Chapman, khuẩn lạc tròn, bờ đều và lồi, màu vàng nhạt đến vàng đậm và làm vàng môi trường xung quanh khuẩn lạc (do lên men đường manitol) (Sande, McKillip, 2002).

#### **Điều kiện tăng trưởng**

*S. aureus* thuộc loại dễ nuôi cấy, phát triển ở dải nhiệt độ rộng (7°C đến 48°C, khoảng nhiệt độ tối ưu là 30°C đến 37°C) (Schmitt *et al.*, 1990), pH (4,2 đến 9,3 và tối ưu là 7 đến 7,5) (Bergdoll, 1989), và nồng độ muối NaCl lên đến 15%. *S. aureus* là sinh vật chịu khô, nó có thể sống sót trong môi trường khô và khắc nghiệt, như trong mũi người, trên da và trên bề mặt các vật vô tri vô giác như quần áo (Chaibenjawong, Foster, 2011). Những đặc tính này tạo điều kiện thuận lợi cho sự phát triển của vi khuẩn tụ cầu vàng trong thực phẩm (Loir *et al.*, 2003). *S. aureus* có thể tồn tại trên tay và trên bề mặt môi trường trong một khoảng thời gian dài sau khi tiếp xúc (Kusumaningrum *et al.*, 2002).

#### **Khả năng đề kháng**

*S. aureus* có khả năng đề kháng với nhiệt độ và hóa chất cao hơn các vi khuẩn có nha bào khác. *S.*

*aureus* cũng có thể gây bệnh sau một thời gian dài tồn tại ở môi trường.

Sự kháng kháng sinh của tụ cầu vàng là một đặc điểm rất đáng chú ý. Hầu hết các dòng *S. aureus* kháng với nhiều loại kháng sinh khác nhau. Một vài dòng kháng với tất cả các loại kháng sinh ngoại trừ vancomycin, và những dòng này ngày càng tăng. Những dòng MRSA (Methicilin resistant *Staphylococcus aureus*) rất phổ biến và hầu hết các dòng này cũng kháng với nhiều kháng sinh khác. Trong phòng thí nghiệm, người ta đã tìm thấy plasmid kháng vancomycin ở *Enterococcus faecalis* có thể chuyển sang *S. aureus*, và người ta nghĩ rằng việc chuyển này có thể xảy ra ngoài tự nhiên, trong đường tiêu hóa chẳng hạn. Ngoài ra, *S. aureus* còn kháng với chất khử trùng và chất tẩy uế (Todar, 2005).

Từ khi sử dụng penicillin vào những năm 1940, tính kháng thuốc đã hình thành ở tụ cầu trong thời gian rất ngắn. Nhiều dòng hiện nay đã kháng với hầu hết kháng sinh thông thường, và sắp tới sẽ kháng cả những kháng sinh mới. Thật sự là trong hai năm gần đây, việc thay thế kháng sinh cũ bằng vancomycin đã dẫn đến sự gia tăng các dòng kháng vancomycin VRSA (Vancomycin Resistant *Staphylococcus aureus*) (Todar, 2005).

#### **Các độc tố của *Staphylococcus aureus***

Tụ cầu vàng sản sinh ra 11 độc tố: độc tố gây hội chứng sốc nhiễm độc (TSST-Toxic shock syndrome toxin); độc tố hemolysin (alpha, beta, delta), độc tố exfoliatin hay độc tố epidermolitic; độc tố alpha; độc tố bạch cầu (leucocidin); ngoại độc tố sinh mù (pyrogenic); dung huyết tố (hemolysin hay staphylolysin); fibrinolysin (staphylokinase); catalase, coagulase; hyaluronidase;  $\beta$ -lactamase, một số enzym (Tnase, Dnase, FAME)... và 20 độc tố ruột (từ SEA đến SEE, từ SEG đến SER và SEU) (Martin *et al.*, 2004). Chính những khả năng tạo ra nhiều yếu tố độc lực mà *S. aureus* trở thành một trong những tác nhân gây bệnh chính ở người. Chúng có thể xâm nhiễm ở nhiều nơi trên cơ thể và gây ra nhiều triệu chứng bệnh khác nhau (Balaban, Rasooly, 2000), trong đó enterotoxin là dạng độc tố chịu nhiệt gây bệnh đường ruột thường gặp trong các vụ ngộ độc thực phẩm liên quan đến tụ cầu.

Các độc tố của *S. aureus* được phát hiện lần đầu tiên vào năm 1960 và được đặt tên các độc tố đường ruột (enterotoxins), do nó gây ra các triệu chứng về tiêu hóa như ói mửa và tiêu chảy khi bị ngộ độc (Sugiyama *et al.*, 1960). Khi các enterotoxin này gắn

vào chuỗi  $V_{\beta}$  của thụ thể tế bào lympho T sẽ kích hoạt một lượng lớn các tế bào lympho T, vì vậy chúng được đặt tên là các siêu kháng nguyên (Marrack *et al.*, 1989). Qua nghiên cứu người ta thấy rằng chỉ cần 0,1 pg/ml siêu kháng nguyên đủ kích hoạt các tế bào lympho T phân bào không kiểm soát được, dẫn đến bệnh nhân sốt và tử vong (Marrack *et al.*, 1989). Thông thường khi các kháng nguyên vào cơ thể chúng sẽ được thực bào bởi các tế bào Langerhans hoặc các tế bào trình diện kháng nguyên khác, trong túi thực bào các kháng nguyên sẽ được phân hủy thành các peptide miễn dịch. Các peptide miễn dịch này sẽ được gắn vào rãnh các phân tử phức hợp phù hợp tổ chức lớp II (histocompatibility complex class II molecules) và được vận chuyển ra bề mặt của các tế bào trình diện kháng nguyên (Sundstrom *et al.*, 1996). Và sau đó các kháng nguyên đã được trình diện sẽ được nhận diện bằng thụ thể trên bề mặt tế bào lympho T (Li *et al.*, 1998). Ngược lại, các siêu kháng nguyên là các proteins có khối lượng phân tử 24 - 30 kDa, không cần thực bào và xử lý bởi các tế bào trình diện kháng nguyên, nó gắn kết trực tiếp vào các phân tử phức hợp phù hợp tổ chức chính lớp II và chuỗi  $V_{\beta}$  của thụ thể tế bào lympho T. Các siêu kháng nguyên có thể kích hoạt được 10 - 20% tổng số tế bào lympho T (Papageorgiou *et al.*, 1998). Như vậy, các siêu kháng nguyên có khả năng kích hoạt các tế bào lympho T lớn hơn rất nhiều lần so với kháng nguyên thông thường.

Thông qua phản ứng huyết thanh và thực nghiệm trên động vật người ta đã xác định được và phân loại thành các nhóm độc tố ruột khác nhau. Nhóm độc tố chính bao gồm: Enterotoxin A; B; C1; C2; C3; D; và E. Bên cạnh đó, còn có một số nhóm độc tố: G, H và I; K, L và M; và gần đây là N, O, P, Q, R và U. Trong các nhóm độc tố (siêu kháng nguyên) do *S. aureus* sản sinh kể trên thì độc tố ruột nhóm B (Staphylococcal enterotoxins B - SEB) là một độc tố mạnh, bền với nhiệt và hòa tan trong nước, chúng có phổ phân bố rộng rãi và là nguyên nhân gây nhiễm trùng nhiễm độc thực phẩm thường gặp nhất. Bên cạnh đó, SEB có khả năng kháng kháng sinh (Van der Donk *et al.*, 2013), ví dụ tính kháng nhóm  $\beta$ -lactam như methicillin (Monaco *et al.*, 2013). Nguy hiểm hơn, SEB còn là một trong những nhóm độc tố được sử dụng làm vũ khí sinh học (Henghold, 2004) dùng để tấn công trong khủng bố sinh học (Leggiadro, 2000) và chiến tranh sinh học (Ler *et al.*, 2006). Chính vì vậy, trong thế chiến thứ II và chiến tranh lạnh, Cục Chiến tranh Hóa học Quân đội Hoa kỳ đã cung cấp SEB cho Cơ quan tình

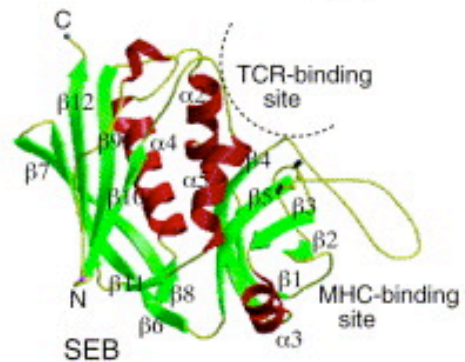
báo Hoa kỳ sử dụng làm vũ khí sinh học. Bởi thế cho nên, việc phát triển các kỹ thuật có khả năng phát hiện nhanh siêu kháng nguyên SEB đóng một vai trò cực kỳ quan trọng và ý nghĩa to lớn trong công tác phòng bệnh.

## ĐỘC TỐ RUỘT STAPHYLOCOCCAL ENTEROTOXIN B

### Đặc điểm cấu trúc

Năm 1986, gen mã hóa protein SEB của chủng *S. aureus* S6 đã được Christopher và đồng tác giả xác định trình tự (CAST, 1994). Cho đến nay nhiều trình tự gen *seb* từ các chủng khác nhau đã được công bố trên ngân hàng dữ liệu gen (NCBI) như gen từ PM36 (mã số AB479118), gen từ chủng ATCC14458 (mã số AY518386), gen từ chủng COL (mã số CP000046)...(Savransky *et al.*, 2004; Gill *et al.*, 2005).

SEB hoàn chỉnh bao gồm một trình tự tín hiệu (signal peptide) gồm 27 amino acid ở đầu N (Jones, Khan, 1986). Đoạn peptide tín hiệu này có chức năng “dẫn” SEB tiết ra ngoài môi trường nuôi cấy, sau đó trình tự này sẽ bị cắt bởi protease ở vị trí nhất định. SEB ở dạng hoạt động là 1 chuỗi polypeptide đơn gồm 239 amino acid với khối lượng phân tử khoảng 28,336 kDa, SEB có sự tương đồng cao với SEC1, cũng bao gồm 239 amino acid. Cấu trúc không gian của SEB gồm: 7 vùng xoắn  $\alpha$ ; 14 phiến gấp nếp  $\beta$  và một cầu nối disulfite nối cysteine ở vị trí 120 và 140 (Kijek *et al.*, 2000). Protein SEB hình thành 2 vùng cấu trúc đặc biệt phức tạp được đóng gói nhỏ gọn chặt chẽ, cho phép SEB chống lại sự tác động của các protease trong dịch ruột, dạ dày như trypsin, chymotrypsin và papain (Gleason, 2011). Cấu trúc tinh thể của protein SEB được mô phỏng ở hình 2.



**Hình 2.** Cấu trúc tinh thể của protein SEB (Papageorgiou, Acharya, 2000).

### Cơ chế gây độc

Đầu tiên SEB đi vào cơ thể và xâm nhập vào các tế bào miễn dịch để gây độc. SEB liên kết với phân tử phức hợp tương mô chính nhóm II (MHC) và kích thích các tế bào T bằng cách liên kết với thụ thể kháng nguyên tế bào T ái lực mạnh, nhận diện kháng nguyên độc lập. 1/5 các tế bào T bị kích hoạt, trong khi đó đối với trình diện kháng nguyên thông thường chỉ có 1/ 10.000 tế bào T bị kích hoạt. Khi những tế bào T bị kích hoạt, sự hoạt hóa trực tiếp và sự tăng nhanh của tế bào T với vùng biến đổi trên chuỗi  $\beta$  của thụ thể tế bào T sẽ xảy ra ngay sau đó (Kappler *et al.*, 1989). Khi tiếp xúc với SEB, tế bào T chín mang đáp ứng của vùng V $\beta$  đích sẽ tiết ra lượng lớn cytokine là chất trung gian gây độc của SEB (Stiles *et al.*, 2001). SEB liên kết trực tiếp với phức hợp phù hợp tổ chức chính lớp II của tế bào trình diện kháng nguyên bên ngoài vị trí bám của kháng nguyên thông thường. Phức hợp này chỉ nhận diện các chuỗi V $\beta$  chuyên biệt của thụ thể kháng nguyên tế bào T. Độc tố này có thể liên kết chéo với thụ thể kháng nguyên tế bào T và phức hợp phù hợp tổ chức chính lớp 2 của tế bào nhận diện kháng nguyên. Do việc hoạt hóa không chuyên biệt này đã làm tăng nhanh lượng tế bào T và sản xuất hàng loạt các cytokine như IL-1, TNF, IL-2... gây ra tình trạng nhiễm độc và viêm trên lâm sàng.

### Những triệu chứng thường gặp

Các triệu chứng của nhiễm độc SEB khởi phát là sốt đột ngột, khoảng 40°C đến 41°C, ớn lạnh, nhức đầu, đau cơ và ho khan. Trường hợp nặng, bệnh nhân cảm thấy khó thở và tức ngực. Sốt có thể kéo dài 2-5 ngày và ho có thể kéo dài đến một tháng. Khi ăn phải độc tố, bệnh nhân bị viêm ruột dẫn tới buồn nôn, nôn và tiêu chảy (Ulrich *et al.*, 1997). Các triệu chứng nghiêm trọng hơn đối với những người tiếp xúc đang trong trạng thái căng thẳng, ví dụ như: các binh sĩ chiến đấu trong quân đội. Nó có thể gây giãn mạch, giảm huyết áp, suy hô hấp, sốc và tử vong trong vòng 40-60 giờ tiếp xúc. Trong một phát hiện gần đây, những người làm việc trong phòng thí nghiệm đã được chẩn đoán bị viêm kết mạc mắt hoặc sưng mắt là hậu quả của việc mắt hoặc da tiếp xúc với độc tố này. Đây là báo cáo đầu tiên về việc mắt bị kích ứng liên quan đến SEB. Điều này nhấn mạnh tầm quan trọng của việc sử dụng mặt nạ để bảo vệ mắt và mặt cho những cá nhân tiếp xúc với SEB (Rusnak *et al.*, 2004). Mặc dù SEB không được coi là độc tố gây chết, nhưng với mức độ phơi nhiễm cao có thể dẫn đến nhiễm trùng, sốc và tử vong.

## CÁC PHƯƠNG PHÁP PHÁT HIỆN ĐỘC TỐ SEB

### Các phương pháp chẩn đoán miễn dịch

Dựa trên nguyên lý phản ứng kháng nguyên – kháng thể, chẩn đoán mầm bệnh thông qua phức hợp kháng nguyên – kháng thể. Thông thường, động vật được gây miễn dịch với kháng nguyên hoặc độc tố của vi sinh vật nhằm tạo ra kháng thể đặc hiệu. Để có chẩn đoán chính xác, kháng thể thu được phải có tính đặc hiệu chỉ với kháng nguyên của mầm bệnh. Tuy nhiên, khả năng phản ứng đặc hiệu kháng nguyên – kháng thể còn phụ thuộc vào độ ổn định của kháng nguyên dưới tác động của các yếu tố như nhiệt độ, chất bảo quản, axit, muối hoặc các hoá chất khác có trong thực phẩm.

Các phương pháp để xác định độc tố dựa trên phân loại huyết thanh với các kháng thể là một kỹ thuật hữu ích, nó như một công cụ dịch tễ học trong việc điều tra các bệnh truyền nhiễm khác nhau. Tuy nhiên, huyết thanh ít nhạy đối với lượng nhỏ các SEs so với phương pháp dựa trên DNA, hơn nữa nó tương đối phức tạp, tốn nhiều thời gian và không thiết thực cho phát hiện và xác định một nhóm lớn các SEs liên quan với các kháng nguyên tương đồng (Lee *et al.*, 1978). Phát hiện độc tố Staphylococcal trên môi trường dịch nổi bằng phương pháp phân loại khuếch tán miễn dịch, ngưng kết và ELISA thường tốn nhiều thời gian, phải thao tác trong phòng thí nghiệm, chi phí hoá chất xét nghiệm đắt và đòi hỏi cán bộ nghiên cứu phải có trình độ chuyên môn cao và khéo về thao tác thí nghiệm. Sử dụng phương pháp ELISA phát hiện SEB trong phomat ở nồng độ thấp từ 0,1 đến 1 ng/ml nhưng quá trình phát hiện hoàn thành mất 3,5 giờ (Celine *et al.*, 1990).

Ngoài ra, có một phương pháp miễn dịch khác sử dụng các hạt từ tính gắn kháng thể, các hạt này có nhiệm vụ gắn (bắt giữ) với tế bào và tập trung các tế bào từ mẫu thực phẩm. Các tế bào đã bị bắt giữ sau đó được phát hiện bằng nhiều kỹ thuật, trong đó có kỹ thuật sử dụng các biosensor. Biosensor là những công cụ phát hiện các chất sinh học hoặc hóa học nằm trong phức hợp kháng nguyên – kháng thể, enzyme – cơ chất. Phần lớn các biosensor hiện chỉ phát hiện được các loài vi khuẩn trong môi trường nuôi cấy thuần nhất. Vì vậy, các mầm bệnh vi sinh vật phải được phân lập từ thực phẩm rồi mới được xác định bằng biosensor. Hiện nay có rất ít nghiên cứu các biosensor phát hiện mầm bệnh vi sinh vật trực tiếp từ thực phẩm. Nguyên nhân là do các biosensor được ứng dụng công nghệ nano để phát hiện mầm bệnh, trong khi công nghệ này gặp khó

khăn khi chẩn đoán các mầm bệnh nằm trong thực phẩm vốn có thành phần rất phong phú, bao gồm: chất béo, protein, carbohydrate, các loại hoá chất, chất bảo quản, có độ tan khác nhau, nồng độ muối khác nhau và nhiều chất tạo màu.v.v. Ngoài ra, lượng vi khuẩn cần phát hiện thường có số lượng rất ít so với quần thể các vi khuẩn có mặt trong thực phẩm.

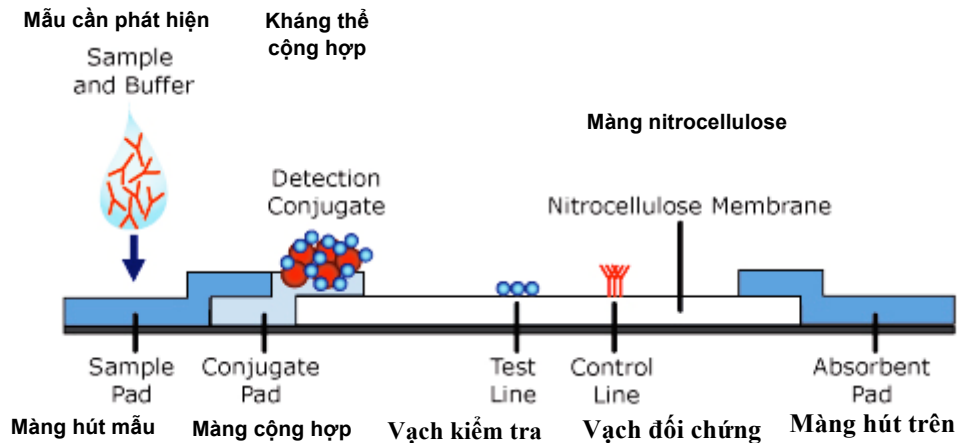
Hiện tại có một số kỹ thuật chế tạo các biosensor phát hiện vi khuẩn như: *Biosensor sợi quang học (fiber-optic biosensor)*: sử dụng các sợi quang phát hiện theo thời gian thực các tác nhân sinh học (vi khuẩn, độc tố hoặc các bào tử). Nguyên lý hoạt động: sợi quang học liên kết đồng hoá trị với một kháng thể đặc hiệu, kháng thể này khi kết hợp với kháng nguyên của nó sẽ tạo thành phức hợp kháng nguyên – kháng thể. Phức hợp này được phát hiện thông qua một kháng thể thứ hai có gắn với các phân tử phát huỳnh quang. Huỳnh quang khi phát ra được laser detector ghi nhận. Các biosensor sợi quang đã được nghiên cứu ứng dụng trong chẩn đoán độc tố SEB (King *et al.*, 1999). Sensor cộng hưởng sinh chất bề mặt (surface plasmon resonance sensor) là sensor quang học có khả năng phát hiện sự liên kết giữa các phân tử sinh học theo thời gian (vài giây đến vài phút) mà không cần đánh dấu các phân tử đó. Khả năng phát hiện này dựa trên sự thay đổi cường độ ánh sáng phản xạ từ bề mặt nhận cảm. Kháng thể hoặc thụ cảm thể được cố định trên màng sinh học, màng này được gắn với một bề mặt nhận cảm. Khi có hiện tượng liên kết kháng nguyên – kháng thể, góc phản xạ của môi trường bị thay đổi và tạo ra tín hiệu. Kỹ thuật này đã được sử dụng để phát hiện độc tố SEB trong sữa dưới 1 ng/ml (Marjorie, 2005). Các biosensor điện áp (piezoelectric (PZ) biosensor) là sensor phát hiện sự thay đổi khối lượng trên bề mặt của tinh thể quartz. Kháng thể khi gắn với kháng nguyên đặc hiệu làm tăng khối lượng bề mặt của tinh thể, đồng thời làm tần số dao động giảm tương ứng. Kỹ thuật này đã được dùng để phát hiện độc tố SEB với ngưỡng phát hiện là 2,5 µg/ml (Lin *et al.*, 2003).

Gần đây, một số phương pháp đã được nghiên cứu để phát hiện nhanh SEB ở nồng độ thấp, trong thời gian ngắn đã được công bố, tuy nhiên nhược điểm là phải tiến hành tại các phòng thí nghiệm, đặc biệt phải cần các trang thiết bị hiện đại đi kèm và yêu cầu người thực hiện phải có kỹ thuật, cẩn thận và chu đáo. Ví dụ như: phương pháp cảm biến sinh học điện dung phát hiện ở nồng độ tối thiểu là 0,3

pg/ml (Mahmoud *et al.*, 2009); huỳnh quang miễn dịch liposome đánh dấu trên cột sắc kí miễn dịch, phát hiện ở nồng độ 20 pg/ml (Nathalie *et al.*, 2008); thử nghiệm miễn dịch hóa điện từ sandwich, phát hiện tới 1 ng/ml SEB (Madhu *et al.*, 2007); huỳnh quang điện hóa-từ miễn dịch, phát hiện 0,1 – 100 ng/ml (Todd *et al.*, 2000); phương pháp gắn hạt nano vàng – dựa trên tăng cường cảm biến miễn dịch hóa huỳnh quang, phát hiện được gần 0,01 ng/ml SEB trong thời gian khoảng 10 phút (Minghui *et al.*, 2009).

#### **Phương pháp phát hiện nhanh dạng sắc ký miễn dịch (lateral flow test strip)**

Test phát hiện nhanh dựa trên cơ sở phản ứng kháng nguyên – kháng thể trên màng mỏng còn được gọi là sắc ký miễn dịch hay ICT test (immunochromatography) hay test nhanh (rapid test) hay test dạng que thử nhanh đơn giản (simple strip tests). Chúng được phát triển dựa trên nguyên lý của phản ứng kết dính đặc hiệu giữa kháng nguyên và kháng thể trên một màng mỏng làm bằng giấy, nilon hoặc nitrocellulose (Hình 3). Phản ứng xảy ra trong quá trình dịch chuyển theo mao dẫn trên màng mỏng. Trong đó kháng nguyên cần phát hiện là yếu tố đặc hiệu của vi khuẩn hay bào tử vi khuẩn. Kháng thể phát hiện (detector) thường là một kháng thể đơn dòng di động trên màng. Một kháng thể khác có thể là kháng thể đơn dòng hoặc đa dòng cố định trên màng. Phản ứng kết hợp giữa phức hợp - kháng nguyên - kháng thể di động và kháng thể cố định trên màng để tạo thành vạch T (Test line) vạch C (control line) theo dạng “bánh mỳ kẹp” (Sandwich assay). Kết quả là khi mẫu cần phát hiện có vi khuẩn, độc tố trên que thử sẽ xuất hiện hai vạch màu đỏ gạch tại vị trí vạch kiểm tra (test line "T") và trên vạch đối chứng "C", nếu không có trên que thử chỉ xuất hiện một vạch tại vùng "C". Ưu điểm của que thử sắc ký miễn dịch là có kết cấu gọn nhẹ chỉ dưới dạng một “que nhúng” cho kết quả nhanh (không quá 10 phút) với độ nhạy cỡ ng/ml và độ đặc hiệu cao. Que thử miễn dịch áp dụng kiểm tra mẫu tại hiện trường, cách sử dụng rất dễ dàng với thao tác đơn giản, vận chuyển và bảo quản test dễ dàng. Que thử miễn dịch có thể áp dụng trong nhiều lĩnh vực, Y, Dược, khoa học hình sự, kiểm tra các chất gây nghiện...Đặc biệt là với công tác phát hiện các vi sinh vật độc hại trong phòng dịch và trong phòng chống khủng bố thì đây là một giải pháp lí tưởng.



Hình 3. Cấu tạo của que thử sắc ký miễn dịch (<http://sites.path.org>).

Năm 2010, Shyu và các đồng tác giả đã thành công trong việc tạo ra que thử phát hiện SEB dựa theo nguyên lý này. Que thử sắc ký miễn dịch SEB được phát triển sử dụng hạt nano keo vàng để nhận diện chính xác SEB. Que thử này có thể phát hiện được độc tố SEB ở nồng độ 1 ng/ml trong khoảng 5 phút và không phản ứng chéo với các SE khác như SEA, SEC, SED và SEE (Shyu *et al.*, 2010). Và gần đây, nghiên cứu của Mehrdad cũng sử dụng nguyên lý sắc ký miễn dịch để tạo que thử phát hiện SEB dạng sandwich và cạnh tranh. Que thử dạng sandwich có giới hạn phát hiện SEB ở nồng độ 10 ng/ml với độ nhạy 84%, độ đặc hiệu 91%. Que thử dạng cạnh tranh có giới hạn phát hiện SEB ở nồng độ 250 ng/ml với độ nhạy 68%, độ đặc hiệu 77% (Mehrdad *et al.*, 2015).

Hiện nay, trên thị trường có rất nhiều hãng sản xuất que thử nhanh phát hiện độc tố SEB được sinh ra từ *S. aureus* dựa trên cơ sở sắc ký miễn dịch như: Tetracore, Envirionics, BBI Detection, Alexeter, AdVnt, GenPrime.

### Kỹ thuật sinh học phân tử

Kỹ thuật PCR là phương pháp không quá phức tạp, nhạy và đặc hiệu cao đã và đang được áp dụng trong chẩn đoán các vi sinh vật, kể cả vi sinh vật trong thực phẩm. Gần đây PCR là một kỹ thuật đã được chứng minh có nhiều hữu ích và là một công cụ đáng tin cậy để phát hiện gen (Johnson *et al.*, 1991; Tamaparu *et al.*, 2001; Cunha *et al.*, 2007). Phản ứng PCR được sử dụng lần đầu tiên để phát hiện gen seb là vào năm 1991 do Wilson và các đồng tác giả thực hiện (Wilson, *et al.*, 1991). PCR là kỹ thuật thường

quy được sử dụng để phát hiện SEB và các SE khác của tụ cầu vàng ở hầu hết các loại thực phẩm như rau, sữa, pho mát và các sản phẩm từ thịt. Tuy nhiên, trên thực tế phương pháp PCR chỉ có thể chỉ ra một gen có mặt hay không có mặt trong mẫu nhưng không xác định được liệu độc tố được tạo ra có đáng kể hay không.

Hiện nay có thêm nhiều phương pháp phát hiện SEB và các gen SE khác được phát triển từ kỹ thuật PCR như PCR đa môi (Multiplex PCR) (Naresh *et al.*, 2000; Shylaja *et al.*, 2010); PCR định lượng theo thời gian (real-time PCR) (Letertre *et al.*, 2003; Rodríguez *et al.*, 2016); PCR phiên mã ngược (reverse-transcriptase PCR hay RT-PCR) (Matsui *et al.*, 1997). So sánh với các phương pháp dựa trên kỹ thuật PCR cơ bản thì phương pháp PCR đa môi có lợi thế hơn cả vì nó có thể phát hiện đồng thời các gen độc tố SE trong cùng một phản ứng và xác định đúng 99% tương ứng với các loại độc tố được xác định theo tiêu chuẩn kiểm tra miễn dịch (Naresh *et al.*, 2000), nhưng kỹ thuật này không cơ động, khá phức tạp và đòi hỏi cán bộ nghiên cứu có chuyên môn, kỹ thuật.

Tại Việt Nam có một số tác giả đã nghiên cứu phương pháp phát hiện độc tố SEB của chủng vi khuẩn *S. aureus* trong thực phẩm. Năm 2007, tác giả Diệp Thế Tài đã nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật Multiplex PCR phát hiện gen sinh độc tố SEA, SEB trong đề tài: “Nghiên cứu ứng dụng multiplex PCR phát hiện sự hiện diện của *E. coli* và *S. aureus* mang gen sinh độc tố trong thức ăn nhanh tại Tp. HCM”. Năm 2009, tác giả Nguyễn Đỗ Phúc và cs đã nghiên cứu xây dựng quy trình ELISA xác định độc tố ruột

SEB của chủng vi khuẩn *S. aureus* (Nguyễn Đỗ Phúc, 2009). Ngoài ra, trường Đại học khoa học tự nhiên Tp Hồ Chí Minh đã tạo ra bộ kit phát hiện *S. aureus* trong thực phẩm bằng phương pháp PCR. Phương pháp này cho kết quả dương tính cao hơn phương pháp nuôi cấy, độ nhạy cao hơn, giảm thiểu thời gian trả lời kết quả so với phương pháp nuôi cấy, nhưng lại có nhược điểm là không phân biệt được tế bào sống và tế bào chết nên có thể dẫn đến trường hợp dương tính giả do DNA từ tế bào chết.

## KẾT LUẬN

Hiện nay tình hình vệ sinh an toàn thực phẩm ở nước ta đang ở mức báo động cao, hơn nữa tình hình an ninh chính trị trên thế giới có những biến đổi phức tạp, việc các nước đã và đang sản xuất và sử dụng ngày càng nhiều các loại vũ khí có mầm mống sinh học trong đó độc tố SEB là một tác nhân trong chiến tranh khủng bố sinh học thì việc phát hiện nhanh độc tố này là một nhu cầu cấp bách, nó sẽ nâng cao chất lượng an toàn thực phẩm, bảo vệ người dân, phát hiện và đáp ứng nhanh trong trường hợp khủng bố sinh học. Vì vậy, việc áp dụng các phương pháp miễn dịch hoặc sinh học phân tử, đặc biệt là que thử dựa trên cơ sở sắc ký miễn dịch sẽ cho phép phát hiện nhanh độc tố SEB, cho kết quả trong thời gian ngắn, dễ sử dụng, dễ bảo quản và có có giá trị phát hiện cao.

**Lời cảm ơn:** Bài báo được thực hiện từ nguồn kinh phí của đề tài cấp nhà nước “Nghiên cứu chế tạo que thử phát hiện nhanh độc tố *Staphylococcal enterotoxin B (SEB)* của tụ cầu vàng”- mã số KC.04.14/11-15 giai đoạn 2013 - 2015 do PGS. TS. Nghiên Ngọc Minh, Viện Nghiên cứu hệ gen chủ nhiệm.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

Mead PS, Slutsker L, Dietz V, McCaig LF, Bresee JS, Shapiro C, Griffin PM, Tauxe RV (1999) Food-related illness and death in the United States. *Emerg Infect Dis* 5(5): 607-625.

Scallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ, Tauxe RV, Widdowson MA, Roy SL, Jones JL, Griffin PM (2011) Foodborne illness acquired in the United States-major pathogens. *Diseases* 17(1): 7-15.

Jablonski LM, Bohach GA (1997) *Staphylococcus aureus*. Food Microbiology Fundamentals and Frontiers (Doyle

MP, Beuchat LR & Montville TJ, eds). American Society for Microbiology Press, Washington, DC: 353-357.

Hennekinne JA, De Buyser ML, Dragacci S (2012) *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. *FEMS Microbiol Rev* 36: 815-836.

Syne SM, Ramsubhag A, Adesiyun AA (2013) Microbiological hazard analysis of ready-to-eat meats processed at a food plant in Trinidad, West Indies. *Infect Ecolo Epidemiol* 3.

Nguyễn Đỗ Phúc, Hoàng Hoài Phương, Bùi Kiều Nương (2003) Đánh giá mức độ ô nhiễm vi sinh vật thức ăn đường phố tại thành phố Hồ Chí Minh năm 2002. Viện Vệ Sinh Y tế Công Cộng Thành phố Hồ Chí Minh, Thông tin khoa học, Cục an toàn vệ sinh thực phẩm.

Nguyễn Lý Hương, Nguyễn Thị Phấn, Bùi Thị Kim Dung (2005) Khảo sát tình hình ô nhiễm vi sinh vật trên một số mặt hàng thực phẩm ăn liền bán tại các chợ ở Tp. Hồ Chí Minh trong 3 năm 2002-2004. Trung tâm y tế dự phòng Tp. Hồ Chí Minh, Thông tin khoa học, Cục an toàn vệ sinh thực phẩm. <<http://www.vfa.gov.vn/Default.aspx>>]

Rosec JP, Gigaud O (2002) Staphylococcal enterotoxin genes of classical and new types detected by PCR in France. *Int J Food Microbiol* 35: 61-70.

Normanno G, Firinu A, Virgilio S, Mula G, Dambrosio A, Poggiu A, Decastelli L, Mioni R, Scuota S, Bolzoni G, Di Giannatale E, Salinetti AP, La Salandra G, Bartoli M, Zuccon F, Pirino T, Sias S, Parisi A, Quaglia NC, Celano GV (2004) Coagulase-positive *Staphylococci* and *Staphylococcus aureus* in food products marketed in Italy. *Int J Food Microbiol* 98: 73-79.

Collins CH, Patricia ML, Grange JM (1995) *Staphylococcus* and *Micococcus*. Collines and Lyne's Microbiological Methods: 353-359.

Trần Linh Thuộc (2002) Phương pháp phân tích vi sinh vật trong nước, thực phẩm và mỹ phẩm. Nxb Giáo dục. 230 trang.

Sande MK, McKillip JL (2002) Virulence and recovery of *Staphylococcus aureus* to the food industry using improvement on traditional approaches. *Food control* 15: 5-10.

Schmitt M, Schuler-Schmid U, Schmidt-Lorenz W (1990) Temperature limits off growth, Tnase, and enterotoxin production of *Staphylococcus aureus* strain isolated from food. *Int J Food Microbiol* 11: 1-19.

Bergdoll MS (1989) *Staphylococcus aureus*. In: Foodborne Bacterial Pathogens (Doyle, M.P., ed). Marcel Dekker, Inc., New York, NY, USA: 463-523.

Chaibenjawong P, Foster SJ (2011) Desiccation tolerance in *Staphylococcus aureus*. *Arch Microbiol* 193(2): 125-135.



- Kusumaningrum HD, Van Putten MM, Rombouts FM, Beumer RR (2002) Effects of antibacterial dishwashing liquid on foodborne pathogens and competitive microorganisms in kitchen sponges. *J Food Protect* 65(1): 61–65.
- Todar K (2005) Todar's Online Textbook of Bacteriology University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology (Staphylococcus). Kenneth Todar University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology.
- Martin MC, Fueyo JM, Gonzalez-Hevia MA, Mendoza MC (2004) Genetic procedures for identification of enterotoxigenic strains of *Staphylococcus aureus* from three food poisoning outbreaks. *Int J Food Microbiol* 94(3): 279-286.
- Balaban N, Rasooly A (2000) Staphylococcal enterotoxins. *Int J Food Microbiol* 61: 1-10
- Sugiyama H, Bergdoll MS, Dack GM (1960) In vitro studies on staphylococcal enterotoxin production. *J Bacteriol* 80: 265-70.
- Marrack P, McCormack J, Kappler J (1989) Presentation of antigen, foreign major histocompatibility complex proteins and self by thymus cortical epithelium. *Nature* 338(6215): 503-505.
- Sundstrom M, Abrahmsen L, Antonsson P, Mehindate K, Mourad W, Dohlsten M (1996) The Co-crystal structure of staphylococcal enterotoxin type A with Zn<sup>2+</sup> at 2.7 Å resolution. Implications for major histocompatibility complex class II binding. *J Biol Chem* 271(50): 32212-6.
- Li H, Llera A, Tsuchiya D, Leder L, Ysern X, Schlievert PM, Karjalainen K, Mariuzza RA (1998) Three-dimensional structure of the complex between a T cell receptor beta chain and the superantigen staphylococcal enterotoxin B. *Immunity* 9(6): 807-816.
- Papageorgiou AC, Tranter HS, Acharya KR (1998) Crystal structure of microbial superantigen staphylococcal enterotoxin B at 1.5 Å resolution: implications for superantigen recognition by MHC class II molecules and T-cell receptors. *J Mol Biol* 277(1): 61-79
- Van der Donk CF, Schols JM, Schneiders V, Grimm KH, Stobberingh EE (2013) Antibiotic resistance, population structure and spread of *Staphylococcus aureus* in nursing homes in the Euregion Meuse-Rhine. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 32(11): 1483-1489.
- Monaco M, Pedroni P, Sanchini A, Bonomini A, Indelicato A, Pantosti A (2013) Livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* responsible for human colonization and infection in an area of Italy with high density of pig farming. *BMC Infect Dis* 13(1): 258.
- Henghold WB (2004) Other biologic toxin bioweapons: ricin, staphylococcal enterotoxin B, and trichothecene mycotoxins, 2nd. *Dermatol Clin* 22(3): 257-262.
- Ler SG, Lee FK, Gopalakrishnakone P (2006). Trends in detection of warfare agents. Detection methods for ricin, staphylococcal enterotoxin B and T-2 toxin. *J Chromatogr A* 1133(1-2): 1-12.
- CAST (1994) Foodborne Pathogens: Risks and Consequences. Task Force Report No. 122.
- Savransky V, Pinelis D, Korolev S, Ionin B, Fegeding K (2004) Immunogenicity of the histidine-to-tyrosine staphylococcal enterotoxin B mutant protein in C3H/HeJ mice. *Toxicol* 43(4): 433-438.
- Gill SR, Fouts DE, Archer GL, Mongodin EF, Deboy RT, Ravel J, Paulsen IT, Kolonay JF, Brinkac L, Beanan M, Dodson RJ, Daugherty SC, Madupu R, Angiuoli SV, Durkin AS, Haft DH, Vamathevan J, Khour IH, Utterback T, Lee C, Dimitrov G, Jiang L, Qin H, Weidman J, Tran K, Kang K, Hance IR, Nelson KE, Fraser CM (2005) Insights on evolution of virulence and resistance from the complete genome analysis of an early methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain and a biofilm-producing methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* strain. *J Bacteriol* 187: 2426-2438.
- Jones CL, Khan SA (1986) Nucleotide Sequence of the Enterotoxin B Gene from *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol* 166(1): 29–33.
- Kijek TM, Rossi CA, Moss D, Parker RW, Henchal EA (2000) Rapid and sensitive Immunomagnetic-electrochemiluminescent detection of Staphylococcal Enterotoxin B. *J Immunol Methods* 236(1-2): 9–17.
- Gleason BA (2011) CBRNE - Staphylococcal Enterotoxin B. <http://emedicine.medscape.com/article/830715-overview>.
- Papageorgiou AC, Acharya KR (2000) Microbial superantigens: from structure to function. *Trends Microbiol* 8(8): 369-375.
- Kappler J, Kotzin B, Herron L, Gelfand EW, Bigler RD, Boylston A, Carrel S, Posnett DN, Choi Y, Marrack P (1989) Vβ specific stimulation of human T cells by toxins. *Science* 244: 811–813.
- Stiles BG, Garza AR, Ulrich RG, Boles JW (2001) Mucosal vaccination with recombinantly attenuated staphylococcal enterotoxin B and protection in a murine model. *Infect Immun* 69: 2031-2036.
- Ulrich RG, Sidell S, Taylor TJ, Wilhelmsen CL, Franz DR (1997) Staphylococcal enterotoxin B and related pyrogenic toxins. In the textbook of military medicine, warfare, weaponry, and the casualty. Medical aspects of chemical and biological warfare. Falls Church, VA: Office of the Surgeon General, Department of the Army. Available at: [www.bordeninstitute.army.mil/cwbw/Ch31.pdf](http://www.bordeninstitute.army.mil/cwbw/Ch31.pdf).
- Rusnak JM, Kortepeter M, Ulrich R, Poli M, Boudreau E (2004) Laboratory Exposures to Staphylococcal Enterotoxin B. *Emerg Infect Dis* 10: 1544-1549.

- Lee AC, Robbins RN, Bergdoll MS (1978) Isolation of specific and common to staphylococcal enterotoxins A and E by affinity chromatography. *Infect Immun* 21: 387-391.
- Celine M, Jacques G, Gilles L (1990) Rapid and sensitive sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for detection of Staphylococcal enterotoxin B in cheese. *Appl Environ Microbiol* 57(3): 836-842.
- King KD, Anderson GP, Bullock KE, Regina MJ, Saaski EW, Ligler FS (1999) Detecting staphylococcal enterotoxin B using an automated fiber optic biosensor. *Biosens Bioelectron* 14(2): 163-70.
- Marjorie BM (2005) A biosensor method for a competitive immunoassay detection of staphylococcal enterotoxin B (SEB) in milk. *J Rapid Methods Autom Microbiol* 13: 37-55.
- Lin H, Tsai W (2003) Piezoelectric crystal immunosensor for the detection of staphylococcal enterotoxin B. *Biosens Bioelectron* 18: 1479-1483.
- Mahmoud L, Martin H, Magdy A, Bo M (2009) A capacitive biosensor for detection of staphylococcal enterotoxin B. *Anal Bioanal Chem* 393: 1539-1544.
- Nathalie K, Patricia La, Hervé B, Karine D, Christophe C, Hervé V (2008) Detection of Staphylococcus enterotoxin B using fluorescent immunoliposomes as label for immunochromatographic testing. *Anal Bioanal Chem* 377: 182-188.
- Madhu PC, Joseph W, Greg EC (2007) Sandwich electrochemical immunoassay for the detection of Staphylococcal enterotoxin B based on immobilized thiolated antibodies. *Biosens Bioelectron* 22: 2932-2938.
- Todd MK, Cynthia AR, Don M, Roger WP, Erik AH (2000) Rapid and sensitive immunomagnetic-electrochemiluminescent detection of staphylococcal enterotoxin B. *J Immunol Methods* 236: 9-17.
- Minghui Y, Yordan K, Hugh AB, Avraham R (2009) Gold nanoparticle-based enhanced chemiluminescence immunosensor for detection of Staphylococcal Enterotoxin B (SEB) in food. *Int J Food Microbiol* 133(3): 265-71.
- Shyu RH, Tang SS, Chiao DJ, Hung YW (2010) Gold nanoparticle-based lateral flow assay for detection of staphylococcal enterotoxin B. *Food Chem* 118: 462-466.
- Mehrdad G, Mohammad RK, Soheil G, Ziba V, Malekshahi, Mohammad BS (2015) Detection of Staphylococcus Enterotoxin B (SEB) using an Immunochromatographic Test Strip. *Jundishapur J Microbiol* 8 (9): e26793.
- Johnson WM, Tyler SD, Ewan EP, Ashton FE, Pollard DR, Rozee KR (1991) Detection of genes for enterotoxins, exfoliative toxins, and toxin shock syndrome toxin 1 in *Staphylococcus aureus* by the polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 29: 426-430.
- Tamapar S, McKillip J, Drake M (2001) Development of a polymerase chain reaction assay for detection and differentiation of *Staphylococcus aureus* in dairy products. *J Food Prot* 64: 664-668.
- Cunha MLRS, Calsolari RA, Araújo JrJP (2007) Detection of enterotoxin and toxic shock syndrome toxin 1 genes in *Staphylococcus*, with emphasis on coagulase-negative staphylococci. *Microb Immun* 51: 381-390.
- Wilson IG, Cooper JE, Gilmour A (1991) Detection of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in dried skimmed milk: Use of the polymerase chain reaction for amplification and detection of Staphylococcal enterotoxin genes entb and entc1 and the thermonuclease gene nuc. *Appl Environ Microbiol* 1991(57): 1793-1798.
- Naresh KS, Catherine EDR, Christine ERD (2000) Development of a single-reaction multiplex PCR toxin typing assay for *Staphylococcus aureus* strains. *Appl Environ Microbiol* 66(4): 1347-1353.
- Shylaja R, Murali H, Batra H, Bawa A (2010) A novel multiplex PCR system for the detection of Staphylococcal enterotoxin B, TSST, Nuc and Fem genes of *Staphylococcus aureus* in food system. *J Food Saf* 2010(30): 443-454
- Letertre C, Perelle S, Dilasser F, Fach P (2003) Detection and genotyping by real-time PCR of the Staphylococcal enterotoxin genes SEA to SEJ. *Mol Cell Probes* 2003(17): 139-147.
- Rodríguez A, Gordillo R, Andrade M, Córdoba J, Rodríguez M (2016) Development of an efficient real-time PCR assay to quantify enterotoxin-producing Staphylococci in meat products. *Food Control* 2016(60): 302-308.
- Matsui S, Terabe M, Mabuchi A, Takahashi M, Saizawa M, Tanaka S, Yokomuro K (1997) A unique response to Staphylococcal enterotoxin B by intrahepatic lymphocytes and its relevance to the induction of tolerance in the liver. *Scand J Immunol* 1997(46): 230-234.
- Nguyễn Đỗ Phúc (2009) Nghiên cứu xác định độc tố ruột (enterotoxin) của *Staphylococcus aureus* gây ngộ độc thực phẩm. Luận án tiến sĩ. Trường Đại học khoa học tự nhiên thành phố Hồ Chí Minh.

## **STAPHYLOCOCCAL ENTEROTOXIN B (SEB) TOXIN OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* AND THE DETECTION METHODS**

**Nguyen Thi Hoai Thu, Nghiem Ngoc Minh**

*Institute of Genome Research, Vietnam Academy of Science and Technology*

### **SUMMARY**

Staphylococcal enterotoxins (SEs) secreted by *Staphylococcus aureus* is one of the principal causes of food poisoning. The SEs are superantigens; they are highly stable, resisting most proteolytic enzymes and thus keeping activity in the gastrointestinal tract after being ingestion. In particular, heat-stable enterotoxin is one of the most important property related to food safety. They are not degraded at 100°C for 30 minutes, even at 121°C for 28 minutes, the SEs retain biological activity. Heat resistance of SEs in foods is higher than in the culture medium. *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) produces more than 20 different types of enterotoxins, including SEA to SEE, SEG to SER and SEU. Among these, Staphylococcal enterotoxin B (SEB) is a powerful toxin, heat-stable, water-soluble and is a common cause of food poisoning. Moreover, SEB is one of the harmful or hazardous agents used as biological weapons in bioterrorism or biological warfare. Therefore, determining presence of SEB toxin in food is extremely important. In this review, we introduce the most basic features about *S. aureus*; about SEB toxin and conventional methods for SEB diagnosis, detection. Especially, we focus on rapid detection strip based on an immunochromatography; this technique is an highly sensitive, rapid, easy for use and storage.

**Keywords:** *Enterotoxin, food poisoning, immunochromatography strip, Staphylococcus aureus, Staphylococcal enterotoxin B, SEB*