

金黄色葡萄球菌分离株体外传代稳定性的比较

徐环^{1*}, 卢勉飞¹, 李泽康¹, 李艳嫦¹, 蔡芷荷^{1,2,3#}, 余锦銮¹

¹广东环凯微生物科技有限公司, 广东 广州

²广东环凯生物科技有限公司, 广东 肇庆

³广东省科学院微生物研究所(广东省微生物分析检测中心), 广东 广州

收稿日期: 2026年6月3日; 录用日期: 2026年7月3日; 发布日期: 2026年7月15日

摘要

目的: 考察从中国地区食品中分离的3株金黄色葡萄球菌分离株的传代稳定性。方法: 根据GB 4789.10-2016《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》的要求从菌株形态特征、生长特性、生化特征等角度观察分离株在传代过程中的变化。结果: 3株金黄色葡萄球菌分离株隔天连续传代七代, 每代菌株在甘露醇氯化钠琼脂、Baird-Parker琼脂、血琼脂和RPF琼脂上均呈现菌落形态的一致性和稳定性; 3株分离株FSCC (I) 223553、FSCC (I) 22301717、FSCC (I) 22301533的1~7代和ATCC 25923在上述4个培养基上的生长率范围, 分别为0.92~1.28, 0.94~1.18, 0.85~1.19和0.87~1.06, 3株分离株与标准株相近, $P > 0.05$, 各代数之间均无显著性差异; 在API Staph鉴定条和MID 69鉴定条以及染色镜检、触酶、氧化酶试验和血浆凝固酶试验中, 其生化特征均无显著性变化, 鉴定结果均为金黄色葡萄球菌。结论: 3株金黄色葡萄球菌分离株隔天连续传代七代内均能保持形态和生化特征的稳定性, 可以为后续是否可作为参考菌株用于科学研究提供前期的研究基础。

关键词

金黄色葡萄球菌, 传代, 稳定性

Comparison of *in Vitro* Passage Stability of *Staphylococcus aureus* Isolates

Huan Xu^{1*}, Mianfei Lu¹, Zekang Li¹, Yanchang Li¹, Zhihe Cai^{1,2,3#}, Jinluan Yu¹

¹Guangdong Huankai Microbial Science and Technology Co., Ltd., Guangzhou Guangdong

²Guangdong Huankai Biologic Science and Technology Co., Ltd., Zhaoqing Guangdong

³Institute of Microbiology, Guangdong Academy of Sciences (Guangdong Detection Center of Microbiology), Guangzhou Guangdong

*第一作者。

#通讯作者。

Received: June 3, 2026; accepted: July 3, 2026; published: July 15, 2026

Abstract

Objective: To investigate the subculture stability of 3 strains of *Staphylococcus aureus* isolated from food sources in China. **Methods:** According to the requirements of GB 4789.10-2016 “National food safety standard food microbiological examination *Staphylococcus aureus* examination”, the changes of *Staphylococcus aureus* isolated strains during subculture were observed from the aspects of morphological characteristics, growth characteristics and biochemical characteristics. **Results:** The morphological characteristics of the 3 *Staphylococcus aureus* strains showed stability during transferring continuously every other day within seven generations, and each generation of strains showed the consistency and stability of colony morphology on Mannitol sodium chloride agar, Baird-parker agar, Blood agar and RPF agar. The growth rates of the 3 isolates-of FSCC (I) 223553, FSCC (I) 22301717, and FSCC (I) 22301533, in passages 1 to 7, and ATCC 25923 on the 4 media mentioned above ranged from 0.92 to 1.28, 0.94 to 1.18, 0.85 to 1.19, and 0.87 to 1.06, respectively. The 3 isolates exhibited similar growth rates to the standard strain, with $P>0.05$, indicating no significant difference between generations. In the API Staph identification strip and MID 69 identification strip, as well as staining microscopy, catalase, oxidase tests, and plasma coagulase tests, there were no significant changes in their biochemical characteristics, and the identification results were all *Staphylococcus aureus*. **Conclusion:** The 3 isolates of *Staphylococcus aureus* can maintain the stability of morphological and biochemical characteristics within 7 consecutive generations every other day, providing preliminary research foundation for determining their potential as reference strains for scientific studies.

Keywords

Staphylococcus aureus, Passage, Stability

Copyright © 2026 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)是一种广泛存在于空气、水、土壤的革兰氏阳性细菌[1],可引起多种组织器官的化脓性炎症,产毒株金黄色葡萄球菌能够产生肠毒素进入人体引起食物中毒[2]-[6],其危害仅次于副溶血弧菌和沙门氏菌,是一种重要的食源性致病菌,在我国由金黄色葡萄球菌引起食物中毒一直高居微生物食物中毒的前5位[7]-[9]。一直以来,我国食品安全国家标准都把金黄色葡萄球菌列为致病菌,并在巴氏杀菌乳等乳制品中按GB 29921-2021《食品安全国家标准预包装食品中致病菌限量》不得检出。

由于凝固酶阳性的金黄色葡萄球菌在繁殖过程中可产生大量的肠毒素,这种肠毒素在食品加工过程难以被破坏,通常导致食物中毒的发生。因此,在食品中分离的金黄色葡萄球菌还必须确认其能否产生肠毒素,血浆凝固酶试验则是鉴别金黄色葡萄球菌致病性的重要实验之一[10]-[16]。我国国标GB 4789.10-2016《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》以及我国出入境检验检疫行业标准SN/T 0172-2010《进出口食品中金黄色葡萄球菌检验》和美国《细菌学分析手册》[17],一直采用Baird-Parker琼脂培养基技术的方法来检测金黄色葡萄球菌,并用兔血浆进行血浆凝固酶的检测。而欧盟和日

本则按 ISO 6888-2:2024-03《微生物学 - 食品链中凝固酶阳性葡萄球菌(金黄色葡萄球菌和其他种类)计数的水平方法 - 第 2 部分: 使用兔血浆纤维蛋白原琼脂培养基的方法》以及我国出入境检验检疫行业标准 SN/T 2154-2008《进出口食品中凝固酶阳性葡萄球菌检测方法兔血浆纤维蛋白原琼脂培养基技术》使用兔血浆纤维蛋白原琼脂(RPF)培养基技术进行血浆凝固酶检测和金黄色葡萄球菌的确认。目前研究该菌的进化规律和致病性使用的标准菌株大部分为国外临床来源的菌株, 并不能很好地反映该菌在食品中的传播特征。中国作为世界重要的食品消费国, 食品中金黄色葡萄球菌的检出率一直处于不低的水平, 却缺乏代表性的分离株作为具有自主知识产权的标准菌株来研究该菌在中国食品中的遗传结构和传播规律。

菌种在传代中可能会导致一些基因的突变产生性状的变化, 菌株的传代稳定性是决定该菌株能否实现实验室长期使用的关键。如果一株细菌在传代过程中容易发生变异, 就限制了它的使用次数[18]-[24], 所以在进入市场前必须确定它的安全传代数。

为保证试验菌株的生物学特性, 中国药典规定培养基灵敏度检查和培养基适用性检查所用的菌株传代次数不得超过 5 代[25]-[27]。尚利明等[28]研究发现溶血性链球菌在连续传代多次后菌株发生严重的变性现象, 具体表现为菌种的活力下降, 繁殖能力下降, 菌落形态发生变化。因此对菌株的遗传稳定性研究是很有必要的[23][29]。为了解 3 株中国地区食源性金黄色葡萄球菌分离株的传代稳定性, 本实验对其七代进行生物学特性、形态学以及生化特征与标准菌株同步进行检测, 验证此 3 株菌是否能在连续传接七代后保持其生理生化特征的稳定, 为后续是否能作为参考菌株用于科学研究提供前期的研究基础。

2. 材料与方法

2.1. 试剂

胰酪大豆胨琼脂培养基(TSA, 批号: 3105757)、血平板(批号: G0428Y)、甘露醇氯化钠琼脂培养基(批号: G0370Y)、Baird-Parker 琼脂(批号: G0402Y)、RPF 琼脂(批号: G1000Y)、革兰氏染色液(批号: 6104043)、触酶(批号: 6104094)、氧化酶试纸(批号: 6104044)、冻干血浆(批号: 6104063)、BHI 肉汤(批号: G0368Y)(广东环凯微生物科技有限公司产品); API Staph 生化鉴定条(法国生物梅里埃公司), MID69 生化鉴定条(英国 MICROGEN 公司)。

2.2. 仪器与设备

Wasp touch 螺旋接种仪(法国 ABE 公司); Smart counter 自动菌落计数仪(广东环凯微生物科技有限公司); BSC-1360-LIIB2 生物安全柜(北京东联哈尔仪器); HVE50 灭菌锅(日本 HIRAYAMA); DNP-9162 电热恒温培养箱(广东环凯微生物科技有限公司)。

2.3. 菌株

3 株金黄色葡萄球菌分离株[FSCC (I) 223553、FSCC (I) 22301717、FSCC (I) 22301533]均来自广东省微生物研究所, 标准株金黄色葡萄球菌 ATCC 6538、金黄色葡萄球菌 ATCC 25923 由广东省食品微生物安全工程研究中心保存。

2.4. 方法

将从食品中分离的 3 株金黄色葡萄球菌的 7 代按 GB 4789.10-2016 进行以下实验, 并以标准菌株金黄色葡萄球菌 ATCC 6538 和 ATCC 25923 作为参照菌株。

2.4.1. 菌株的传代

原始分离株在 TSA 平板上活化出初始零代(M_0)后, 在 4℃ 条件下保存 24 h, 再在 TSA 斜面活化出第

一代(M_1),依次活化出第二代到第六代(M_2 、 M_3 、 M_4 、 M_5 、 M_6),活化的菌株均 4℃ 保存(保存时间不应超过 1 个月),使用的时候依次用零代到第六代,活化出第一代到第七代。传代后的菌株培养物做涂片镜检,应符合金黄色葡萄球菌的应有特征。

2.4.2. 菌落形态及生长率测试

分别使用甘露醇氯化钠琼脂培养基、Baird-Parker 琼脂、RPF 琼脂按标签说明制作平板,和血平板一起,参照 GB4789.28-2013《食品安全国家标准食品微生物学检验培养基和试剂的质量要求》方法进行菌落计数,观察被测菌株在上述平板和 TSA 平板上的菌落形态。每株菌的每代分别做三个平行,参比培养基为 TSA。按下列公式计算生长率 P_R :

$$P_R = \frac{N_S}{N_0}$$

式中:

P_R ——生长率;

N_S ——待测培养基平板上的菌落总数平均值;

N_0 ——参比培养基平板上的菌落总数平均值。

2.4.3. 生化特征测试

对每株菌的 7 代按各个试剂盒说明书进行革兰氏染色、氧化酶、触酶、冻干血浆、API 和 MID 生化鉴定实验。

2.5. 数据处理

计量数据用平均值 $\pm$ 标准偏差表示,差异性比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 表示具有显著性差异,数据分析应用 SPSS 21 软件。

3. 结果与分析

3.1. 常规检验结果

3.1.1. 染色镜检、触酶、氧化酶试验、冻干血浆试验结果

由表 1 可以看出,3 株分离株的 1~7 代均为 G^+ 球菌,触酶阳性、氧化酶阴性,血浆凝固酶阳性,4 个指标均符合金黄色葡萄球菌的典型特征。

Table 1. Results of staining microscopy, catalase, oxidase test and lyophilized plasma test

表 1. 染色镜检、触酶、氧化酶试验、冻干血浆试验结果

项目	金黄色葡萄球菌			是否符合金黄色葡萄球菌典型特征
	FSCC (I) 223553 (1~7 代)	FSCC (I) 22301717 (1~7 代)	FSCC (I) 22301533 (1~7 代)	
染色镜检	G^+ 球菌	G^+ 球菌	G^+ 球菌	均符合
触酶试验	+	+	+	均符合
氧化酶试验	-	-	-	均符合
冻干血浆试验	+	+	++	均符合

注: +/— 分别代表阳性和阴性。

3.1.2. 在 Baird-Parker 琼脂等培养基上生长情况

由表 2 可以看出, 3 株分离株的 1~7 代在甘露醇氯化钠琼脂培养基、Baird-Parker 琼脂、血平板、RPF 琼脂培养基上的特征性反应与标准菌株 ATCC 25923 相同, 表明 3 株分离株培养特征均符合金黄色葡萄球菌在上述 4 种平板上的典型特征。

由表 3 和表 4 可以看出, 3 株分离株 FSCC (I) 223553、FSCC (I) 22301717、FSCC (I) 22301533 的 1~7 代和标准菌株 ATCC 25923 在甘露醇氯化钠琼脂培养基、Baird-Parker 琼脂、血平板、RPF 琼脂 4 个培养基上的生长率范围, 分别为 0.92~1.28, 0.94~1.18, 0.85~1.19 和 0.87~1.06, 3 株分离株与标准菌株 ATCC 25923 相近, $P>0.05$, 各代数之间均无显著性差异。

Table 2. Characteristic reactions of 4 strains of *Staphylococcus aureus* on four types of media

表 2. 4 株金黄色葡萄球菌在四种培养基上的特征性反应

培养基	特征性反应			
	FSCC (I) 223553 (1~7 代)	FSCC (I) 22301717 (1~7 代)	FSCC (I) 22301533 (1~7 代)	ATCC 25923
甘露醇氯化钠琼脂培养基	菌落金黄色, 周围有黄晕	菌落金黄色, 周围有黄晕	菌落金黄色, 周围有黄晕	菌落金黄色, 周围有黄晕
Baird-Parker 琼脂	菌落黑色凸起, 周围为一浑浊带, 在其外层有一透明圈	菌落黑色凸起, 周围为一浑浊带, 在其外层有一透明圈	菌落黑色凸起, 周围为一浑浊带, 在其外层有一透明圈	菌落黑色凸起, 周围为一浑浊带, 在其外层有一透明圈
血平板	菌落周围有 β 溶血环	菌落周围有 β 溶血环	菌落周围有宽阔的 β 溶血环	菌落周围有 β 溶血环
RPF 琼脂	灰黑色菌落, 周围有乳白色沉淀环	灰黑色菌落, 周围有乳白色沉淀环	灰黑色菌落, 周围有乳白色沉淀环	灰黑色菌落, 周围有乳白色沉淀环

Table 3. Summary of growth rates of 4 strains of *Staphylococcus aureus* on four types of media

表 3. 4 株金黄色葡萄球菌在四种培养基上的生长率结果汇总

培养基	FSCC (I) 223553 (1~7 代)		FSCC (I) 22301717 (1~7 代)		FSCC (I) 22301533 (1~7 代)		ATCC 25923
	生长率/	P	生长率	P	生长率	P	生长率
Baird-Parker 琼脂	1.03 ± 0.02	0.4908	1.03 ± 0.03	0.6684	1.12 ± 0.06	0.2552	1.05 ± 0.10
甘露醇氯化钠琼脂培养基	0.94 ± 0.02	0.5396	1.00 ± 0.05	0.075	0.89 ± 0.04	0.902	0.87 ± 0.09
血平板	0.97 ± 0.03	0.1925	1.05 ± 0.04	0.563	1.02 ± 0.07	0.1929	0.94 ± 0.10
RPF 琼脂	1.11 ± 0.08	0.497	1.09 ± 0.08	0.3274	1.07 ± 0.06	0.349	1.06 ± 0.07

Table 4. The growth rate of 4 strains of *Staphylococcus aureus* at various generations on four types of media

表 4. 4 株金黄色葡萄球菌在四种培养基上各代数的生长率

项目	代数	生长率			
		Baird-Parker	甘露醇氯化钠琼脂培养基	血平板	RPF 琼脂
FSCC (I) 223553	P1	1.07 ± 0.04	0.93 ± 0.05	1.01 ± 0.05	1.28 ± 0.13
	P2	1.03 ± 0.04	0.97 ± 0.05	0.96 ± 0.04	1.15 ± 0.09
	P3	1.01 ± 0.03	0.93 ± 0.02	0.97 ± 0.03	1.13 ± 0.08

续表

	P4	1.02 ± 0.03	0.93 ± 0.04	0.96 ± 0.02	1.03 ± 0.10
	P5	1.01 ± 0.04	0.97 ± 0.03	0.95 ± 0.01	1.09 ± 0.12
	P6	1.06 ± 0.04	0.96 ± 0.02	0.95 ± 0.02	1.07 ± 0.05
	P7	1.03 ± 0.07	0.92 ± 0.04	1.00 ± 0.04	1.04 ± 0.07
FSCC (I) 22301717	P1	1.10 ± 0.09	1.01 ± 0.05	1.07 ± 0.10	1.05 ± 0.07
	P2	1.02 ± 0.10	1.05 ± 0.10	1.00 ± 0.11	1.18 ± 0.08
	P3	1.03 ± 0.08	0.96 ± 0.04	1.10 ± 0.06	1.17 ± 0.12
	P4	1.02 ± 0.06	0.94 ± 0.03	1.07 ± 0.06	1.12 ± 0.15
	P5	1.04 ± 0.05	1.02 ± 0.03	1.06 ± 0.04	0.97 ± 0.10
	P6	1.03 ± 0.03	0.95 ± 0.03	1.04 ± 0.04	1.11 ± 0.15
	P7	0.98 ± 0.05	1.04 ± 0.03	1.01 ± 0.02	1.02 ± 0.13
FSCC (I) 22301533	P1	1.19 ± 0.06	0.91 ± 0.09	1.09 ± 0.11	0.99 ± 0.08
	P2	1.05 ± 0.08	0.85 ± 0.09	0.97 ± 0.13	1.09 ± 0.10
	P3	1.18 ± 0.09	0.85 ± 0.10	1.11 ± 0.08	1.16 ± 0.08
	P4	1.15 ± 0.10	0.94 ± 0.16	0.93 ± 0.07	1.09 ± 0.12
	P5	1.06 ± 0.10	0.92 ± 0.06	1.03 ± 0.08	0.99 ± 0.08
	P6	1.07 ± 0.05	0.90 ± 0.10	0.99 ± 0.05	1.12 ± 0.13
	P7	1.12 ± 0.07	0.89 ± 0.12	0.97 ± 0.09	1.05 ± 0.07
ATCC 25923		1.05 ± 0.10	0.87 ± 0.09	0.94 ± 0.10	1.06 ± 0.07

注：参照培养基为 TSA，P 为代数。

3.2. 鉴定结果

3.2.1. API Staph 鉴定

3 株分离株和标准株 ATCC 25923 的 API Staph 系统鉴定结果见表 5(各菌株 1~7 代内同一反应完全相同)，结论均为 *Staphylococcus aureus*，符合率分别为 77.7、97.8、77.7 和 97.8，T 值分别为 0.9、1.0、0.9 和 1.0，FSCC (I) 22301717 与标准菌株 ATCC25923 完全一致，FSCC (I) 223553 和 FSCC (I) 22301533 与 ATCC25923 的差别在于精氨酸双水解酶(ADH)反应的不同，所以符合率稍低，但 T 值仍达到 0.9。T (典型指数)是提示鉴定结果与最典型菌株接近的程度，最大数值为 1。

3.2.2. MID 69 鉴定

3 株分离株在 MID69 系统上鉴定结果见表 6 (各菌株 1~7 代内同一反应完全相同)，结论均为 *Staphylococcus aureus*，符合率略有差异，金黄色葡萄球菌 FSCC (I) 223553 和 FSCC (I) 22301717 两者与标准株 ATCC6538 一样均不代谢松二糖(TUR)，FSCC (I) 223553 和 FSCC (I) 22301533 均不代谢精氨酸双水解酶 (ARG)，FSCC (I) 223553、FSCC (I) 22301717、FSCC (I) 22301533、ATCC 25923 和 ATCC 6538 这五种菌的符合率分别为 99.2%、99.64%、100%、100%和 99.64%，其中可 FSCC (I) 223553、FSCC (I) 22301717 和 ATCC 6538 为接受的鉴定，FSCC (I) 22301533 和 ATCC 25923 均代谢松二糖，为优秀的鉴定。FSCC (I) 22301717 各反应结果与金黄色葡萄球菌标准菌株 ATCC 6538 完全一致。

Table 5. Identification results of 4 strains of *Staphylococcus aureus* in API Staph system
表 5. 4 株金黄色葡萄球菌在 API Staph 系统鉴定结果

菌株	反应结果																				反应 编码	符合 率/%	<i>T</i>
	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE	LSTR			
FSCC (I) 223553 (1~7 代)	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	6736152	77.7	0.9
FSCC (I) 22301717 (1~7 代)	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	6736153	97.8	1.0
FSCC (I) 22301533 (1~7 代)	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	6736152	77.7	0.9
ATCC 25923	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	6736153	97.8	1.0

Table 6. Identification results of 4 strains of *Staphylococcus aureus* in MID 69 system
表 6. 4 株金黄色葡萄球菌在 MID 69 系统鉴定结果

菌株	反应结果															反应 编码	符合 率/%
	LAT	CPG	NIT	SUC	TRE	MAN	NAG	MNS	TUR	PHO	BGL	BGN	URE	ARG	PYR		
FSCC (I) 223553 (1~7 代)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	77664	99.21
FSCC (I) 22301717 (1~7 代)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	77666	99.64
FSCC (I) 22301533 (1~7 代)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	77764	100
ATCC 25923	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	77766	100
ATCC6538	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	77666	99.64

4. 讨论

微生物在多次连续传代中容易发生退化，遗传稳定性也会发生改变，导致其生理生化特征的变化，从而使菌株质量不能得到保障，连续传代往往是菌株退化的直接原因，传代越频繁，次数越多，菌株发生变化的几率也就越大[22] [24] [29] [30]。作为长期连续使用的标准化菌种，不仅应具备优异的表型特征和代谢特性，更应具备较好的稳定性，即保证菌株在连续传代过程中仍保持筛选时所具有的优良品质，所以，对于菌株稳定性的探究是必要的[31]。

形态学鉴定辅以生化试验在细菌鉴定中具有重要的意义，生化试验是根据细菌培养过程中不同菌种所产生的新陈代谢产物各异，表现出不同的生长特性，通过生物化学的方法来检测这些物质的存在与否，从而能够得到细菌的鉴定结果，如糖(醇)类代谢试验、氨基酸和蛋白质代谢试验、有机酸盐和铵盐利用试验、呼吸酶类试验、毒性酶类试验等。本研究使用 API、MID 两种生化鉴定系统同时对 3 株(各 7 代)金黄色葡萄球菌分离株进行了鉴定，两个系统中均包含 TRE、MAN、NIT、URE 四项反应且系统间同一生化结果完全一致，印证了鉴定结果的可靠性。本研究所用的 3 株金黄色葡萄球菌分离株生物学特征略有差异：FSCC (I) 22301533 在溶血性能、卵磷脂酶活性、凝固酶活性、还原亚碲酸钾等方面特征比 FSCC (I) 223553、FSCC (I) 22301717 更明显，不同的是，它能代谢松二糖，表明与 ATCC 25923 更为接近。而 FSCC

(I) 223553、FSCC (I) 22301717 不代谢松二糖, 与 ATCC 6538 更为接近。

本研究所测试的指标, 在国标两种方法[9]的基础上增加了甘露醇氯化钠琼脂培养基和 RPF 琼脂, 甘露醇氯化钠琼脂培养基来源于中国药典, 主要用于检验细菌代谢甘露醇产酸性能, RPF 琼脂来源于 ISO6888-2:2024-03 和 SN/T 2154-2008, 主要用于检验细菌还原亚碲酸钾及产血浆凝固酶活力强弱。本研究表明, 3 株分离株均能代谢 RPF 琼脂中的甘露醇并产酸, 均能还原亚碲酸钾并产生凝固酶活性。这些特征与甘露醇氯化钠琼脂培养基、Baird-Parker 琼脂及冻干血浆试验结果相符, 这进一步增加了鉴定结果的可靠性。

近年来, 由于金黄色葡萄球菌感染几率的增加以及抗生素滥用所导致的耐药性菌株的出现, 使该菌引起感染的治疗变得越来越困难[32] [33]。尤其是耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(Methicillin-resistant *S. aureus*, MRSA) [34]和耐万古霉素金黄色葡萄球菌(Vancomycin-resistant *S. aureus*, VRSA) [35]的相继出现, 使几乎所有抗生素的治疗均不起作用, CLSI 对多重耐药金黄色葡萄球菌的判断标准被逐年修订[36], 金黄色葡萄球菌的药敏结果变得越来越重要。本研究对菌株连续传代后的培养特性、生化特性等进行了验证, 但在耐药性、毒力基因和分子检测靶标等试验方面尚未涉及。下一步我们将开展这些方面的研究。

在后续团队的研究成果发明专利中[37], 表明这 3 株分离菌遗传背景清晰, 包括菌株分离源、采样日期及地点、生化鉴定特征、毒力基因携带情况、抗生素耐药性特征、MLST 分型特征等, 便于科研、生产等领域用作不同研究方向的参考及对照; 此外, 这些菌株携带特异性基因靶点, 具有可识别性, 并利用这些靶点设计了一组对应的 PCR 引物, 建立了鉴别上述 3 株金黄色葡萄球菌的快速检测方法。

5. 结论

本实验通过观察金黄色葡萄球菌分离株在多种培养基中的传代培养情况和生化反应表现, 得出每个分离株连续传至 7 代时, 形态学、生长特性、生化特征没有发生改变, 与原始分离株菌落形态一致, 本研究验证的 3 株食源性金黄色葡萄球菌分离株可稳定传至 7 代, 具有标准的葡萄球菌菌体显微形态和生理生化特征, 完全满足其相关标准使用 5 代的需求, 可用于检验金黄色葡萄球菌在血平板、甘露醇氯化钠琼脂培养基、Baird-Parker 琼脂、RPF 琼脂、革兰氏染色液、触酶、氧化酶试纸、冻干血浆和 BHI 肉汤等培养基或试剂的准确性。相较于其它类型该物种的标准菌株, 这些菌株具有中国地区分离到的食品源金黄色葡萄球菌最为典型的生化反应, 可反映中国地区食品源流行背景的菌株, 具有一定的代表性, 可作为参考菌株用于科学研究, 根据研究的用途以及上述 3 株菌株各自不同的特点及特征性反应来进行菌株的选择。本研究的局限性是暂未进行液体生长曲线测定实验, 后期可以通过比较不同代次菌株的生长动力学参数(迟滞期、比生长速率、最大生物量), 为菌株生理活性的稳定性提供更灵敏、更全面的数据支持。

基金项目

国家重点研发计划(No. 2018YFC1604201)。

参考文献

- [1] 徐重新, 陈蔚谢, 雅晶, 等. 食品中金黄色葡萄球菌检测及防控技术研究[J]. 农产品质量与安全, 2019(3): 49-56.
- [2] 田洪亮, 徐刘溢, 彭练慈, 等. 金黄色葡萄球菌病防治研究进展[J]. 微生物学报, 2023, 63(12): 4441-4450.
- [3] 黄利明, 胡连鑫, 俞骅, 等. 杭州市 2014 年一起金黄色葡萄球菌肠毒素所致食源性疾病暴发调查[J]. 中华流行病学杂志, 2017, 38(12): 1642-1644.
- [4] 温应铭, 刘思超, 邱斯平, 等. 一起金黄色葡萄球菌引起食物中毒的实验室检测与病原溯源[J]. 华南预防医学, 2018, 44(5): 463-465.
- [5] 刘小红, 毛亚, 李丹, 等. 一起由金黄色葡萄球菌肠毒素引起超市食物中毒的病原学分析[J]. 实用预防医学,

- 2021, 28(9): 1146-1149.
- [6] 李孟寒, 李莹, 闫琳, 等. 中国食源性金黄色葡萄球菌耐药及肠毒素特征[J]. 中国公共卫生, 2019, 35(5): 574-578.
- [7] Jonathan, S.E., Laurie, B., Monica, L.F., *et al.* (2013) Molecular Basis of Antibiotic Multi-Resistance Transfer in *Staphylococcus aureus*. *National Academy of Sciences*, **11**, 2679-2680.
- [8] 时威, 卢勉飞, 蔡芷荷, 等. 冻干兔血浆在金黄色葡萄球菌检验中的应用研究[J]. 食品与发酵科技, 2012, 48(6): 44-47.
- [9] 燕瑞英. 金黄色葡萄球菌致病毒素基因分布及与致病性的相关性分析[J]. 临床研究, 2019, 27(8): 156-157.
- [10] 容艳芬, 李艳嫦, 卢勉飞, 等. 兔血浆纤维蛋白原琼脂(RPF)培养基技术与 Baird-Parker 琼脂培养基技术检测食品中金黄色葡萄球菌的比较[J]. 中国卫生检验杂志, 2017, 27(5): 642-645, 648.
- [11] 陈道利, 高峥, 霍开兰. 凝固酶及核酸酶试验综合评价金黄色葡萄球菌致病力的实验研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2001, 11(3): 271-272.
- [12] 蔡双福, 陈婉文, 彭荣金. 食品中金黄色葡萄球菌的分析[J]. 食品安全导刊, 2015(15): 141-142.
- [13] 叶硕, 杨祖萍, 刘思国, 等. 一起食物中毒事件中产独特肠毒素表型的金黄色葡萄球菌病原学分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2016, 28(2): 188-191.
- [14] 王书冉, 高艳芳, 张良. 金黄色葡萄球菌肠毒素引起的食物中毒检测分析[J]. 河南医学高等专科学校学报, 2015, 27(6): 753-754.
- [15] 陈俊, 陈伟, 林新华. 葡萄球菌血浆凝固酶试验的探讨[J]. 广东医学, 2001, 22(5): 445-446.
- [16] Silva, N., Igrejas, G., Figueiredo, N., *et al.* (2008) Characterization for Enterotoxin Production, Virulence Factors, and Antibiotic Susceptibility of *Staphylococcus aureus* Isolates from Various Foods in Portugal. *Food Microbiology*, **25**, 618-623.
- [17] Tallent, S., Hait, J., Bennet, R.W., *et al.* (2016) Chapter 12. *Staphylococcus aureus*. In: *Bacteriological Analytical Manual (BAM)*, U.S. Food and Drug Administration (FDA), 317-338.
- [18] 练光辉, 卢放根, 刘小新, 等. 肠道青春双歧杆菌体外传代稳定性研究[J]. 临床和实验医学杂志, 2008, 7(7): 12-14.
- [19] 孙美英, 何剑斌. 金黄色葡萄球菌毒力基因在传代过程中的稳定性[J]. 现代畜牧兽医, 2014(2): 13-16.
- [20] 张冰, 洪丽娟, 段广才, 等. 4 株志贺菌无抗生素压力下连续传代 90 次的耐药表型及 CRISPR/Cas 系统变化[J]. 中华流行病学杂志, 2017, 38(2): 235-239.
- [21] 宋衍燕, 王海滨, 何利华, 等. 幽门螺杆菌实验室长期传代 *cagA* 启动子的进化[J]. 世界华人消化杂志, 2011, 19(32): 3365-3369.
- [22] 曹蕊, 余萌, 马仕洪, 等. 《中国药典》拟收载洋葱伯克霍尔德菌群检查法中标准菌株的稳定性研究[J]. 中国药事, 2022, 36(7): 724-735.
- [23] Chin, P., Liao, H., Li, B., Hung, G., Tsai, S. and Lo, S. (2018) Genomic Alterations of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 after Prolonged Passage in the Laboratory. *Microbiology Resource Announcements*, **7**, e01108-18. <https://doi.org/10.1128/mra.01108-18>
- [24] 王可欣, 刘晓晔, 李伟程, 等. 植物乳植杆菌 P-8 连续传代过程中遗传稳定性分析[J]. 微生物学通报, 2023, 50(9): 4154-4167.
- [25] 中国食品药品检定研究院. 科学研究中规范使用病原微生物(毒)种专家共识[J]. 中国生物制品学杂志, 2022, 35(11): 1409-1415.
- [26] 杜昕, 黄文静, 丁家奇, 等. 支原体培养基质控菌株菌种代次与生长曲线研究[J]. 中国兽医杂志, 2015, 51(3): 87-89.
- [27] 周锦龙, 李艳, 王静, 等. 改良 Frey 氏液体培养基质控菌株菌种代次与生长曲线研究[J]. 中国兽药杂志, 2016, 50(1): 14-18.
- [28] 尚利明, 秦哲, 张景艳, 等. 种子液传代次数对益生菌 FGM 株发酵黄芪转化多糖的影响[J]. 中国畜牧兽医, 2014, 41(6): 136-139.
- [29] 伍晓斌, 韩铮. 连续继代培养对链格孢菌菌株的生长以及产毒的影响[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(2): 112-120.
- [30] 林辉, 詹森然, 李佳欢, 等. 连续传代对斑玉蕈菌种生产性能的影响[J]. 食用菌学报, 2018, 25(5): 34-22.
- [31] 盛祖嘉. 微生物遗传学[M]. 第 3 版. 北京: 科学出版社, 2007.

-
- [32] Livermore, D.M. (2000) Antibiotic Resistance in Staphylococci. *International Journal of Antimicrobial Agents*, **16**, 3-10. [https://doi.org/10.1016/s0924-8579\(00\)00299-5](https://doi.org/10.1016/s0924-8579(00)00299-5)
- [33] Miller, L.G., Perdreau-Remington, F., Rieg, G., Mehdi, S., Perlroth, J., Bayer, A.S., *et al.* (2005) Necrotizing Fasciitis Caused by Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Los Angeles. *New England Journal of Medicine*, **352**, 1445-1453. <https://doi.org/10.1056/nejmoa042683>
- [34] Barber, M. (1961) Methicillin-Resistant Staphylococci. *Journal of Clinical Pathology*, **14**, 385-393. <https://doi.org/10.1136/jcp.14.4.385>
- [35] Goldrick, B. (2002) First Reported Case of VRSA in the United States. *AJN, American Journal of Nursing*, **102**, 17. <https://doi.org/10.1097/00000446-200211000-00015>
- [36] 陈宏斌, 王辉. 2017 年 CLSI M100-S27 主要更新内容解读[J]. 中华检验医学杂志, 2017, 40(4): 238-241.
- [37] 吴诗, 吴清平, 代京莎, 等. 含有特异性分子靶标的金黄色葡萄球菌标准菌株及其检测和应用[P]. 中国, ZL202011619828.7. 2020.