

研究报告

甘露醇氯化钠琼脂培养基成分对鉴定金黄色葡萄球菌的影响

马嘉琦¹,李艳艳²,刘小燕²,白继超²,刘峰²,崔生辉³,赵琳娜²,杨保伟¹

(1. 西北农林科技大学食品科学与工程学院,陕西 杨凌 712100;2. 北京奥博星生物科技有限公司,北京 100193;3. 中国食品药品检定研究院,北京 100050)

摘要:目的 探究甘露醇氯化钠琼脂培养基成分中氯化钠和胰酪胨对甘露醇氯化钠琼脂培养基质量的影响,同时考察市售5个国产品牌和1个进口品牌的甘露醇氯化钠琼脂培养基的产品质量。方法 采用不同品牌不同浓度的氯化钠和胰酪胨配制甘露醇氯化钠琼脂培养基,应用平板涂布计数、半定量划线法探究氯化钠和胰酪胨对甘露醇氯化钠琼脂培养基质量的影响;对不同种金黄色葡萄球菌和大肠杆菌在5个国产品牌和1个进口品牌的甘露醇氯化钠琼脂培养基上的生长情况进行定量测定。参照GB 4789.28—2013比较不同品牌培养基对不同菌株的生长率、生长指数和菌落大小的影响,对培养基质量进行评价。结果 实验菌株在使用不同种类、不同浓度的氯化钠或胰酪胨配制的甘露醇氯化钠琼脂培养基上的生长率、生长指数存在较大差异;不同品牌的甘露醇氯化钠琼脂培养基非目标菌生长指数均合格,但目标菌的生长率和菌落生长大小存在显著差异。结论 氯化钠和胰酪胨对于甘露醇氯化钠琼脂培养基质量影响较大,会直接决定培养基的质量是否合格,市售的国内外不同品牌甘露醇氯化钠琼脂培养基质量存在较大差异,国产甘露醇氯化钠琼脂培养基的质量优于进口培养基。

关键词:金黄色葡萄球菌;大肠杆菌;甘露醇氯化钠培养基;氯化钠;胰酪胨;质量控制

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2024)04-0369-08

DOI:10.13590/j.cjfh.2024.04.001

Effects of composition of mannitol salt agar on identification of *Staphylococcus aureus*MA Jiaqi¹, LI Yanyan², LIU Xiaoyan², BAI Jichao², LIU Feng², CUI Shenghui³,
ZHAO Linna², YANG Baowei¹(1. College of Food Science and Engineering, Northwest Agriculture and Forestry University, Shaanxi Yangling 712100, China;2. Beijing Aoboxing Biotechnology Co., Ltd., Beijing 100193, China;
3. National Institute for Food and Drug Control, Beijing 100050, China)

Abstract: Objective To explore the effects of sodium chloride and tryptone in the components of mannitol salt agar on the quality of mannitol salt agar, and investigate the product quality of 5 domestic brands and 1 imported brand of mannitol salt agar sold on the market. **Methods** The effects of sodium chloride and tryptone with different brands and concentrations of sodium chloride and tryptone on the quality of mannitol salt agar were investigated using plate coating counting and semi quantitative scoring method. Quantitative determination of the growth of different types of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* on 5 domestic brands and 1 imported brand of mannitol salt agar. Referring to GB 4789.28—2013, the growth rate, growth index, and colony size of different brands of culture media for different strains were compared, and the quality of each brand of culture media was evaluated. **Results** There were significant differences in the growth rate and growth index of experimental strains on mannitol salt agar prepared with different types and concentrations of sodium chloride or tryptone. The growth index of non target bacteria in different brands of mannitol salt agar was qualified, but there were significant differences in the growth rate and colony size of the target bacteria. **Conclusion** Sodium chloride and tryptone have a significant impact on the quality of mannitol salt agar, which directly determines whether the medium is qualified. There are significant differences in the quality of different brands of mannitol salt agar sold domestically and

收稿日期:2023-10-07

基金项目:多重耐药食源性病原菌溯源及其耐药基因传播预警(2022YFC2303900)

作者简介:马嘉琦 男 硕士研究生 研究方向为食品微生物 E-mail:majiaqi0310@163.com

通信作者:赵琳娜 女 正高级工程师 研究方向为微生物检测及相关培养基 E-mail:jade_zhao@126.com

杨保伟 男 教授 研究方向为食品微生物 E-mail:ybw090925@163.com

赵琳娜和杨保伟为共同通信作者

internationally, and the quality of domestic mannitol salt agar is better than that of imported medium.

Key words: *Staphylococcus aureus*; *Escherichia coli*; mannitol salt agar; sodium chloride; tryptone; the quality control

金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)是一种常见的食源性致病菌,广泛分布于环境、动物和人体等,近些年来因金黄色葡萄球菌引起的食物中毒事件仅次于副溶血性弧菌和沙门菌^[1-2]。其中耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)是一种对所有青霉素、头孢菌素和碳青霉烯类药物具有耐药性的金黄色葡萄球菌,极易对多种抗生素产生耐药性,即出现多重耐药(Multidrug-resistant, MDR),对人类危害极大^[3]。目前MRSA已被认定为是一种具有全球威胁性和应优先实施预防措施的病原体^[4]。早期MRSA的传播主要发生在临床环境中,但近几十年已有报道指出在零售肉中存在MRSA,且会通过食物传播给人类,导致感染,严重危害人类的健康^[5]。GB 29921—2021《食品安全国家标准 预包装食品中致病菌限量》和GB 31607—2021《食品安全国家标准 散装即食食品中致病菌限量》均规定金黄色葡萄球菌是食品必检的致病菌^[6-7]。

目前针对金黄色葡萄球菌的鉴定检测主要使用的培养基是Baird-Parker(BP)琼脂培养基和甘露醇氯化钠琼脂(Mannitol salt agar, MSA)培养基^[8]。BP琼脂培养基现在经常用于检验分离食品中的金黄色葡萄球菌,但是在实际检测过程中可能会因食品中金黄色葡萄球菌的亚致死状态而出现漏检,从而给食品安全留下严重的安全隐患^[9]。研究表明,MSA培养基从食品和环境分离检测和回收金黄色葡萄球菌的能力强于BP琼脂培养基,但是BP琼脂培养基和MSA培养基均不具有分离和检测所有金黄色葡萄球菌的能力^[10-11]。在食品的实际检测过程中,可以同时使用BP琼脂培养基和MSA培养基来提高金黄色葡萄球菌检测结果的准确性^[12]。GB/T 14926.14—2001《实验动物 微生物学检测方法 金黄色葡萄球菌检测方法》和《中华人民共和国药典 非无菌产品微生物限度检查:控制菌检查法》(以下简称《中国药典通则 1106》)均规定使用MSA培养基对金黄色葡萄球菌进行控制检查^[13-14]。除此之外,MSA培养基被经常用于检测食品和环境中的MRSA^[15]。因此,MSA培养基是食品和环境金黄色葡萄球菌检测的重要培养基,其质量对于金黄色葡萄球菌的检测结果的准确性具有重要影响。

研究发现^[16],培养基成分的种类和含量会对培养基的质量产生一定影响,进而影响微生物在培养基上的生长。为了更好地探究MSA培养基中不同

成分对培养基质量的影响,本研究分别对MSA培养基中的主要抑菌物质氯化钠和营养物质胰酪胨进行实验研究,测定了不同种类或含量的氯化钠、胰酪胨对MSA培养基质量的影响,同时对市售6种不同品牌的MSA培养基质量进行比对分析,以期为企业及检测机构对培养基供应商的选择提供参考,通过优化培养基原料来提升MSA培养基的质量,进而提高检测机构对金黄色葡萄球菌检测的效率和准确性。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验菌株和培养基

本次实验参考GB 4789.28—2013《食品安全国家标准 食品微生物学检验 培养基和试剂质量要求》(以下简称GB 4789.28—2013)以及《中华人民共和国药典:一部》的规定^[14,17],选择了3株金黄色葡萄球菌和2株大肠杆菌进行实验,具体信息详见表1。从市场上购买了5个国内品牌和1个进口品牌的MSA培养基,编号为:A、B、C、D、E、F,具体信息详见表2;其他培养基:脑心浸出液肉汤(Brain heart infusion broth, BHI);营养琼脂(Nutrient agar, NA);胰酪大豆胨琼脂(Tryptose soya agar, TSA)。

表1 实验菌株信息

Table 1 Information of experimental strains

菌株	标准号
金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	CMCC(B) 26003
金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538
金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923
大肠埃希氏菌 <i>Escherichia coli</i>	CMCC(B) 44102
大肠埃希氏菌 <i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922

表2 实验培养基信息

Table 2 Information of test medium

培养基名称	品牌	地区	批号
MSA培养基	A	中国	20230718
MSA培养基	B	中国	230328
MSA培养基	C	中国	20230408
MSA培养基	D	中国	221210A11
MSA培养基	E	中国	221107
MSA培养基	F	美国	1349557

1.1.2 主要仪器与试剂

Scout 电子天平(奥豪斯仪器有限公司);AC2-4S1 生物安全柜、Multiskan FC 型酶标仪(美国 Thermo 公司);DHP-600 生化培养箱(天津中环实验电炉有限公司);PHS-3C pH 计(上海仪电分析仪器股份有限公司);icount 30D 全自动菌落计数仪(杭

州迅数科技有限公司); YX-280 高压灭菌锅(合肥华泰医疗设备有限公司); VITEK 2compact 全自动微生物快速检测分析系统(法国梅里埃公司)。

参照《中华人民共和国药典》^[14], 本次实验使用试剂为胰酪胨、动物组织胃蛋白酶水解物、牛肉浸出粉、D-甘露醇、氯化钠、琼脂粉、酚红。除胰酪胨和氯化钠外, 其余试剂在本次实验均为同一品牌同一批号的相同试剂。从市场上购买了 4 个国内品牌的氯化钠, 品牌编号为 H、I、J、K; 1 个国内品牌的 2 种胰酪胨和 2 个进口品牌的胰酪胨, 品牌编号为 H、L、M, 具体信息详见表 3。

表 3 实验试剂信息

Table 3 Information of experiment reagent

试剂名称	品牌	地区	批号
氯化钠	H	中国	230303
氯化钠	I	中国	B2303082
氯化钠	J	中国	201609018
氯化钠	K	中国	—
胰酪胨	H	中国	211021
胰酪胨	H	中国	220525
胰酪胨	L	美国	211713
胰酪胨	M	美国	2492604

1.2 方法

1.2.1 菌种的复苏和验证

实验所用的菌种均从保藏管中挑取并接种至 BHI 肉汤, 36 °C 培养 24 h 后分别取一环肉汤划线 NA 培养基, 37 °C 培养 24 h 后取单菌落使用 VITEK 2compact 全自动微生物快速检测分析系统进行验证确认。

1.2.2 MSA 培养基配制

《中华人民共和国药典 非无菌药品微生物限度标准》中 MSA 培养基配方为: 胰酪胨 5.0 g, 动物组织胃蛋白酶水解物 5.0 g, 牛肉浸出粉 1.0 g, 甘露醇 10.0 g, 氯化钠 75.0 g, 琼脂 15.0 g, 酚红 25.0 mg, 定容 1 L, 调整最适 pH 7.4±0.2^[12]。除氯化钠、胰酪胨以外, 其余 MSA 培养基配方中的试剂种类、含量均保持不变, 分别在保持胰酪胨种类和含量不变以及保持氯化钠种类和含量不变的情况下, 通过单独改变氯化钠或胰酪胨的种类和含量, 观察金黄色葡萄球菌的生长率和选择性变化, 以此来探究氯化钠和胰酪胨对 MSA 培养基质量的影响。具体信息见表 4。

1.2.3 平板涂布和半定量划线

本研究采用平板涂布计数法和半定量划线法比较不同种类或含量的氯化钠、胰酪胨对 MSA 培养基质量的影响。取 3 株金黄色葡萄球菌二代新鲜培养物, 加入无菌生理盐水中, 在吸光度 OD₆₂₀ 值制备 0.22~0.28 浊度的菌悬液, 无菌生理盐水稀释至

表 4 氯化钠和胰酪胨的添加量

Table 4 Addition level of sodium chloride and tryptone

实验试剂	品牌	批号	添加量/(g/L)			
氯化钠	H	230303	75	70	65	60
	I	B2303082	75	70	65	60
	J	201609018	75	70	65	60
	K	—	75	70	65	60
胰酪胨	H	211021	5	—	—	—
	H	220525	5	7.5	10	—
	L	211713	5	—	—	—
	M	2492604	5	—	—	—

适合稀释度; 使用无菌涂布棒涂布至不同种类或含量的氯化钠和胰酪胨配制的 MSA 培养基和 TSA 参比培养基上, 每种培养基涂布两个平板, 36 °C 培养 24 h, 进行计数, 接种水平为 20~200 CFU/平板。取 2 株大肠杆菌二代新鲜培养物, 加入 BHI 肉汤中过夜培养为工作菌悬液; 用 1 μL 接种环取选择性测试工作菌悬液 1 环, 在配制的不同 MSA 培养基表面划 6 条平行直线, 同时接种两个平板, 36 °C 培养 24 h 后观察。

1.2.4 MSA 培养基的生长率计算及选择性评价

参照 GB 4789.28—2013 中固体培养基质量控制要求, MSA 培养基定量方法质控评定标准为 PR≥0.7, 选择 TSA 琼脂为参比培养基。

取出待测培养基及参比培养基, 选择菌落数在 20~200 CFU 的平板按照以下公式计算生长率 (PR) 值:

$$PR = NS / NO$$

式中: PR 表示生长率; NS 表示待测培养基平板上得到的菌落总数; NO 表示参比培养基平板上得到的菌落总数。

参照 GB 4789.28—2013 中固体培养基质量控制要求, 通过计算 MSA 培养基的生长指数 G 一般小于或等于 1, 至少应达到小于 5。每条有比较稠密菌落生长的划线则 G 为 1, 每个培养皿上最多为 6 分。如果仅一半的线有稠密菌落生长, 则 G 为 0.5。如果划线上没有菌落生长、生长量少于划线的一半或菌落生长微弱, 则 G 为 0。记录每个平板的得分总和便得到 G。

1.2.5 市售不同品牌 MSA 培养基比对

根据说明书配制 MSA 培养基, 制备平板, 将凝固的 MSA 培养基平板倒置在生物安全柜中, 待蒸发多余水分后使用。取 3 株金黄色葡萄球菌二代新鲜培养物和 2 株大肠杆菌二代新鲜培养物进行实验, 实验方法同 1.2.3 和 1.2.4。实验结果使用迅数自动菌落计数分析仪 icount 30D 测量培养 24、36、48 h 后 MSA 培养基上金黄色葡萄球菌的菌落大小。

1.3 统计学分析

使用 Microsoft Excel 2016 对所有数据进行基本处理,使用 GraphPad Prism 9.5.1 软件进行单因素方差分析($P < 0.05$ 为差异有统计学意义)和结果可视化。

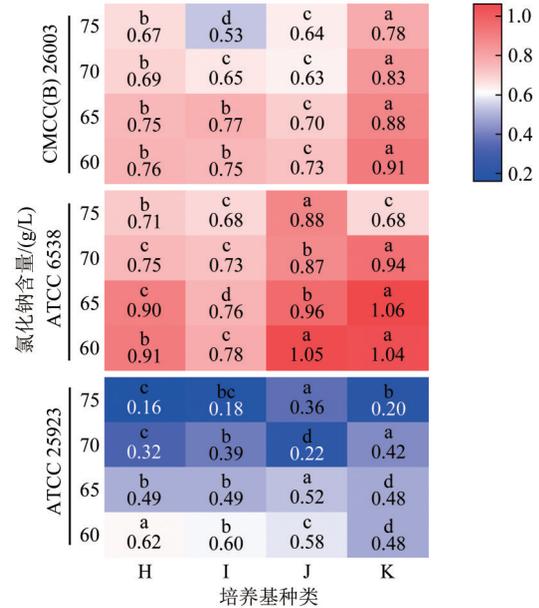
2 结果

2.1 氯化钠对 MSA 培养基质量的影响

氯化钠是 MSA 琼脂培养基中非常重要的一种成分,可以为培养基提供较高的渗透压,抑制大多数非葡萄球菌的微生物。不同品牌氯化钠对于金黄色葡萄球菌在 MSA 培养基上的生长率影响较大,3 株金黄色葡萄球菌在添加了相同含量不同品牌氯化钠的 MSA 培养基中的生长率差异有统计学意义,结果见图 1。

氯化钠的含量对于金黄色葡萄球菌在 MSA 培养基上的生长率也有一定影响,随着氯化钠含量的降低,金黄色葡萄球菌在 MSA 培养基上的生长率不断升高,如金黄色葡萄球菌 ATCC 25923 在 4 种品牌氯化钠浓度为 75 g/L 时,生长率仅为 0.16、0.18、0.36、0.20,但当氯化钠浓度降低至 60 g/L 时,生长率则升至 0.62、0.60、0.58、0.48。这说明高浓度的氯化钠不仅会抑制大多数非葡萄球菌的微生物,还会对金黄色葡萄球菌有一定的抑制作用。实验结果表明,按照标准 75 g/L 氯化钠含量配制的 MSA 培养基会出现生长率较低的情况,即 PR 值 ≤ 0.7 ,无法达到 GB 4789.28—2013 中固体培养基质量控制要求。详细结果见图 2。

不同品牌不同含量氯化钠对 MSA 琼脂培养基生长指数的影响结果见表 5,可以看出当 4 种品牌氯化钠含量 ≥ 70 g/L 时,对于大肠杆菌 ATCC 25922

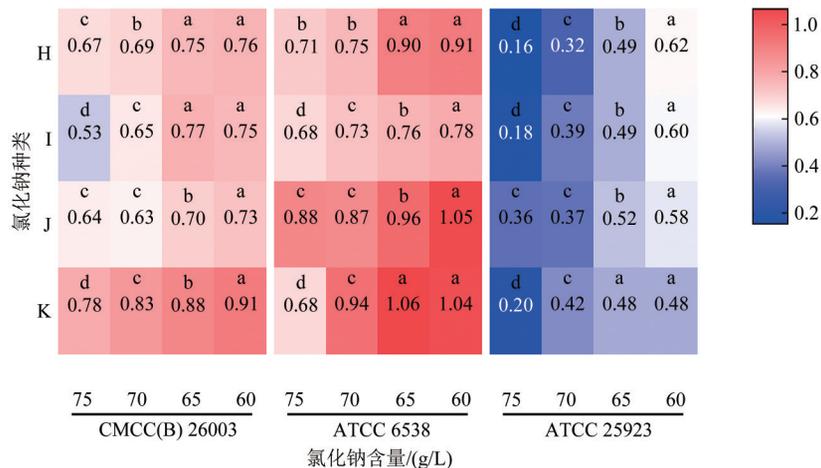


注:不同小写字母表示菌株在相同含量不同品牌氯化钠的 MSA 琼脂培养基中生长率差异有统计学意义($P < 0.05$);数字代表菌株生长率;右侧色带指菌株生长率/%

图 1 相同含量下不同品牌氯化钠对 MSA 琼脂培养基生长率的影响

Figure 1 The effect of different brands of sodium chloride at the same content on MSA medium

抑制是符合标准的,但随着氯化钠含量的进一步降低,大肠杆菌 ATCC 25922 在 MSA 琼脂培养基中的生长指数不断升高,且本实验所有品牌氯化钠在标准浓度 75 g/L 时均无法抑制大肠杆菌 CMCC(B) 44102 生长,大肠杆菌 CMCC(B) 44102 在 MSA 琼脂培养基中的生长指数均大于 5,不符合 GB 4789.28—2013 的选择性培养基生长指数标准。以上结果表明,不同品牌氯化钠和不同含量氯化钠对 MSA 培养基质量影响很大,不同氯化钠之间的质量差异和含



注:不同小写字母表示菌株在相同品牌不同含量的氯化钠的 MSA 琼脂培养基中生长率差异有统计学意义($P < 0.05$);数字代表菌株生长率;右侧色带指菌株生长率/%

图 2 相同品牌不同含量的氯化钠对 MSA 琼脂培养基生长率的影响

Figure 2 The effect of different content of sodium chloride of the same brand on the growth rate of MSA medium

表5 不同品牌不同含量氯化钠下MSA琼脂培养基的生长指数

Table 5 Growth index of MSA medium under different brands and different concentrations of sodium chloride

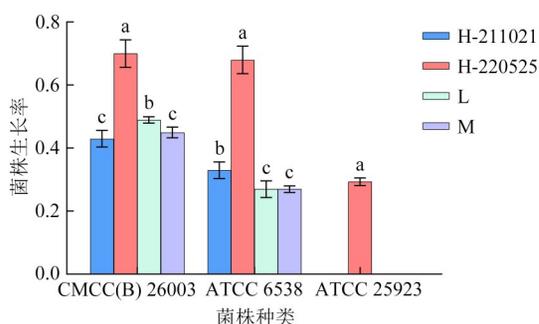
菌株	编号	MSA培养基							
		H				I			
		75 g/L	70 g/L	65 g/L	60 g/L	75 g/L	70 g/L	65 g/L	60 g/L
大肠埃希菌	CMCC(B) 44102	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
大肠埃希菌	ATCC 25922	1.5	2.5	5.0	5.5	1.0	2.0	5.0	5.5

菌株	编号	MSA培养基							
		J				K			
		75 g/L	70 g/L	65 g/L	60 g/L	75 g/L	70 g/L	65 g/L	60 g/L
大肠埃希菌	CMCC(B) 44102	6.0	6.0	6.0	6.0	5.5	6.0	6.0	6.0
大肠埃希菌	ATCC 25922	0.0	2.0	6.0	6.0	0.5	2.0	5.5	6.0

量会直接影响金黄色葡萄球菌在MSA培养基中的生长率和大肠杆菌在MSA培养基中的生长指数。

2.2 胰酪胨对MSA培养基质量的影响

胰酪胨是MSA培养基中的营养物质,为微生物提供必需的生长因子和微量营养素,如氮、维生素、矿物质和生长所必需的氨基酸等。不同品牌胰酪胨和不同含量胰酪胨对MSA培养基质量的影响结果见图3和图4。由图3可知,不同品牌胰酪胨对于金黄色葡萄球菌在MSA培养基上的生长率影响较大,金黄色葡萄球菌在添加H-211021、L和M品牌胰酪胨的MSA培养基上生长率较低,菌株ATCC 25923在添加上述胰酪胨的MSA培养基上甚至无法正常生长,而金黄色葡萄球菌则在添加H-220525品牌胰酪胨的MSA培养基上生长率则相对较高。

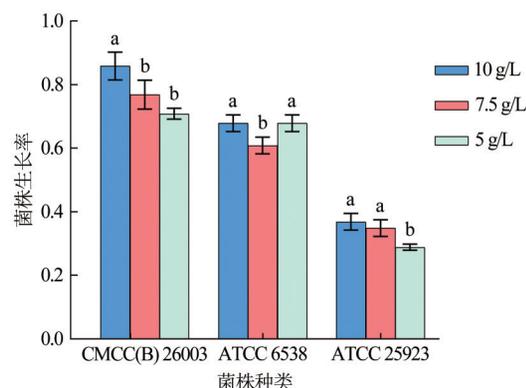


注:不同小写字母表示菌株在不同品牌5 g/L胰酪胨的MSA琼脂培养基中生长率差异有统计学意义(P<0.05)

图3 不同品牌5 g/L胰酪胨对MSA琼脂培养基生长率的影响

Figure 3 The effect of 5 g/L tryptone from different brands on the growth rate of MSA medium

由于菌株ATCC 25923仅在添加H-220525品牌胰酪胨的MSA培养基中可以正常生长,因此选择H-220525品牌胰酪胨进行不同含量胰酪胨对MSA培养基质量影响的实验。由图4可知,相同品牌不同含量的胰酪胨对MSA琼脂培养基中生长率有一定影响。随着胰酪胨含量的增加,金黄色葡萄球菌在MSA琼脂培养基中生长率有一定程度的提高,但是相较于其他因素,胰酪胨的含量对于MSA琼脂培养基生长率的影响较小。



注:不同字母表示菌株在相同品牌不同含量的胰酪胨的MSA琼脂培养基中生长率差异有统计学意义(P<0.05)

图4 相同品牌不同含量的胰酪胨对MSA琼脂培养基生长率的影响

Figure 4 The effect of different content of tryptone of the same brand on the growth rate of MSA medium

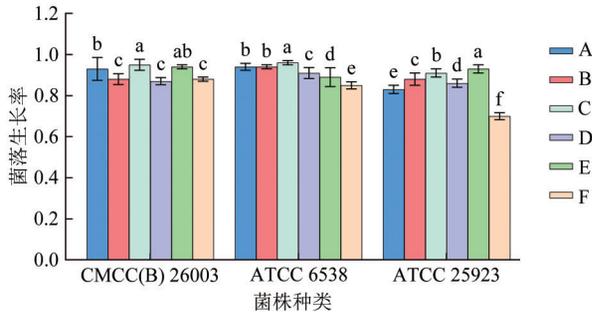
2.3 市售不同品牌MSA培养基的质量对比

GB 4789.28—2013中规定,金黄色葡萄球菌在MSA培养基上的生长率PR值应≥0.7。金黄色葡萄球菌CMCC(B) 26003、金黄色葡萄球菌ATCC 6538和金黄色葡萄球菌ATCC 25923在A、B、C、D、E和F品牌的培养基中生长率符合标准,PR值均≥0.7(表6)。由图5可知,金黄色葡萄球菌CMCC(B)26003在C品牌MSA培养基上生长率最高(PR=0.95),在D品牌MSA培养基上生长率最低(PR=0.87);金黄色葡萄球菌ATCC 6538在C品牌MSA培养基上的生长率最高(PR=0.96),在F品牌MSA培养基上生长率最低(PR=0.85);金黄色葡萄球菌ATCC 25923在E品牌MSA培养基上的生长率最高(PR=0.93),在F品牌MSA培养基上的生长率最低(PR=0.70),实验菌株在不同品牌的MSA培养基上的生长率差异有统计学意义。

参照GB 4789.28—2013和《中国药典通则1106》,将大肠杆菌CMCC(B) 44102和大肠杆菌ATCC 25922划线接种至不同品牌MSA培养基上。结果如表7所示,6种MSA培养基的生长指数G≤0.5,因此这6种MSA培养基的选择性均符合标准。

表6 金黄色葡萄球菌在不同品牌MSA培养基生长率
Table 6 Growth rate of *Staphylococcus aureus* on MSA medium of different brands

编号	MSA培养基品牌											
	A		B		C		D		E		F	
	NS/NO	PR	NS/NO	PR	NS/NO	PR	NS/NO	PR	NS/NO	PR	NS/NO	PR
CMCC(B) 26003	181/195	0.93	171/195	0.88	185/195	0.95	169/195	0.87	183/195	0.94	173/195	0.88
ATCC 6538	152/162	0.94	152/162	0.94	156/162	0.96	149/162	0.91	144/162	0.89	137/162	0.85
ATCC 25923	146/176	0.83	155/176	0.88	161/176	0.91	152/176	0.86	164/176	0.93	124/176	0.70



注:不同字母表示菌株在不同品牌MSA培养基的生长率差异有统计学意义($P < 0.05$)

图5 金黄色葡萄球菌在不同品牌MSA培养基生长率
Figure 5 Results of growth rate of *Staphylococcus aureus* on MSA medium of different brands

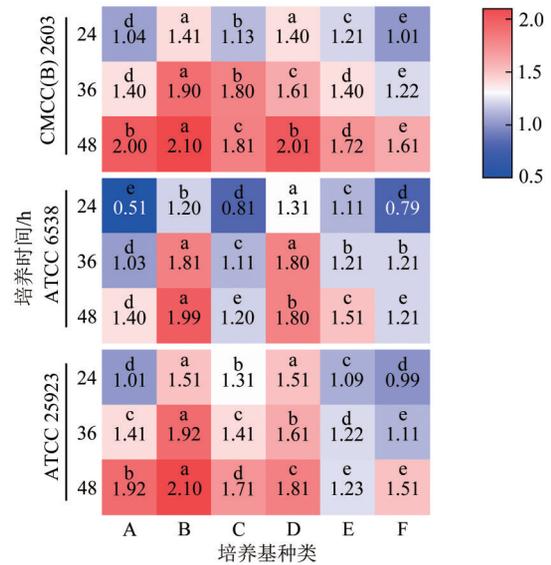
3株金黄色葡萄球菌在不同品牌MSA培养基上生长的菌落大小结果见图6。结果表明,在不同品牌MSA培养基上生长24、36、48h后的菌株菌落大小存在明显差异。在相同培养时间下,实验菌株在B和D品牌MSA培养基上的生长情况均显著较好,所有菌株菌落大小均在1.20mm以上,便于观察计数;而在A、C、E和F品牌上的生长情况较为一般,如金黄色葡萄球菌ATCC 6538在A、C和F品牌MSA培养基培养24h后的菌落大小仅为0.51、0.81和0.79mm,不便观察计数,这在一定程度上反映了不同品牌MSA培养基之间存在较大的质量差异。

表7 大肠杆菌在不同品牌MSA培养基的生长指数
Table 7 Growth index of *Escherichia coli* in different brands of MSA medium

菌株	编号	MSA培养基品牌					
		A	B	C	D	E	F
大肠埃希氏菌	CMCC(B) 44102	0.5	0	0	0	0	0.5
大肠埃希氏菌	ATCC 25922	0.5	0	0	0	0	0.5

3 讨论

目前选择性培养基被广泛应用于食品微生物的检测,是微生物检测中重要的一部分,为了确保微生物检测结果的准确性,需要严格控制培养基的质量。本研究采用GB 4789.28—2013中指定的金黄色葡萄球菌ATCC 6538、金黄色葡萄球菌ATCC 25923、大肠杆菌ATCC 25922以及《中国药典 通则1106》中指定的金黄色葡萄球菌CMCC(B) 26003、大肠杆菌CMCC(B) 44102进行实验。通过比较实



注:不同小写字母表示菌株在不同品牌MSA培养基的菌落大小差异有统计学意义($P < 0.05$);数字代表菌落大小,单位为mm;右侧色带指菌株尺寸/mm

图6 金黄色葡萄球菌在不同品牌MSA培养基的菌落大小
Figure 6 Colony size of *Staphylococcus aureus* on MSA medium of different brands

验菌株在不同氯化钠和胰酪胨配制而成的MSA培养基和国内外不同品牌MSA培养基上的生长率及生长指数,来探究不同种类和含量的氯化钠、胰酪胨对MSA培养基质量的影响,同时对市售不同品牌的MSA培养基质量进行比对分析实验,评估市售6种品牌MSA培养基的质量差异。

实验结果发现,使用4种市售不同品牌氯化钠配制而成的MSA培养基质量差异巨大,不同种类和不同含量的氯化钠都会显著影响金黄色葡萄球菌在MSA培养基上的生长情况,4种品牌氯化钠在标准浓度75g/L时都无法抑制大肠杆菌的生长;在使用4种胰酪胨配制而成的MSA培养基中,仅有H-220525品牌胰酪胨配制而成的MSA培养基检测金黄色葡萄球菌ATCC 6538和金黄色葡萄球菌CMCC(B) 26003的生长率符合标准,其他3种胰酪胨配制而成的MSA培养基检测3株金黄色葡萄球菌的生长率均不符合标准,以上结果表明不同种类和含量的氯化钠和胰酪胨对于MSA培养基的质量具有显著影响。研究指出,不同种类氯化钠和胰酪胨等营养物质质量存在较大差异,成分品质的不稳

定可能是造成培养基质量存在差异的重要因素^[18]。而本实验之后对不同品牌 MSA 培养基的质量比对结果也证明了不同培养基生产企业使用不同原料生产出的 MSA 培养基存在质量差异。

实验菌株在 6 种品牌 MSA 培养基上的生长率和生长指数均符合标准(PR 值 ≥ 0.7 ;G ≤ 0.5)。其中中国产品牌 C 检测金黄色葡萄球菌 CMCC(B) 26003 和金黄色葡萄球菌 ATCC 6538 的生长率最高,分别为 0.95 和 0.96;国产品牌 E 检测金黄色葡萄球菌 ATCC 25923 的生长率最高,为 0.93;进口品牌 F 检测 3 株金黄色葡萄球菌的生长率为 6 种品牌培养基中最低,分别为 0.88、0.85 和 0.70。而实验菌株在 6 种品牌 MSA 培养基上生长的菌落大小差异较大,国产品牌 B 和 D 上实验菌株菌落较大,且均生长稳定,在培养 24 h 后便于观察菌落形态和计数;而国产品牌 A、C、E 和进口品牌 F 上实验菌株菌落较小,且 3 株金黄色葡萄球菌在 A、C、E 和 F 品牌 MSA 培养基上生长不稳定,无法稳定地保证 3 株金黄色葡萄球菌在相同的培养时间均可以生长为便于观察菌落形态和计数的菌落大小。上述结果表明,国内外 6 种品牌 MSA 培养基虽然均符合国家质量标准,但是仍存在一定质量差异,在实际使用中可能会因为培养基质量差异而影响实验结果准确性。

近年来商品化培养基品牌越来越多,市场上出现各类型的培养基可能存在原料差异、批间差异、选择性不佳等各种风险导致其质量和效果存在一定的差异^[19]。本研究所获得的市售不同品牌 MSA 培养基的质量数据及差异对培养基生产厂家的产品质控和提升具有一定参考价值。同时,基于氯化钠和胰酪胨对 MSA 培养基的质量实验结果分析,对 MSA 培养基和同样依靠氯化钠抑菌作用来进行食品中金黄色葡萄球菌增菌使用 7.5% 氯化钠肉汤培养基的生产厂商提升产品质量具有参考意义。建议培养基生产厂家在生产培养基时应当对培养基原料进行筛选,选择合适优质的培养基原料可以显著提升培养基的质量,相关检验检测机构也可以进一步探索和优化培养基的成分配比,为培养基的生产和使用提供更规范的质量控制,确保金黄色葡萄球菌检测结果的科学准确。

参考文献

[1] 刘婷婷,崔春霞,宋壮志,等. 2010—2020 年中国大陆金黄色葡萄球菌及其肠毒素引起的食源性疾病暴发事件归因分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2022, 34(5): 1029-1034.
LIU T T, CUI C X, SONG Z Z, et al. Attribution analysis of foodborne disease outbreaks caused by *Staphylococcus aureus*

and its enterotoxin in China's Mainland from 2010 to 2020[J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2022, 34(5): 1029-1034.

- [2] 李红秋,贾华云,赵帅,等. 2021 年中国大陆食源性疾病暴发监测资料分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2022, 34(4): 816-821.
LI H Q, JIA H Y, ZHAO S, et al. Analysis of foodborne disease outbreaks in Chinese Mainland in 2021 [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2022, 34(4): 816-821.
- [3] TASNEEM U, MEHMOOD K, MAJID M, et al. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: A brief review of virulence and resistance [J]. Journal of the Pakistan Medical Association, 2022, 72(3): 509-515.
- [4] ABDELMALEK S M A, QINNA M W, AL-EJIELAT R, et al. Methicillin-resistant *Staphylococci* (MRS): Carriage and antibiotic resistance patterns in college students[J]. Journal of Community Health, 2022, 47(3): 416-424.
- [5] LIU H, DONG L, ZHAO Y, et al. Antimicrobial susceptibility, and molecular characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from different raw milk samples in China[J]. Front Microbiol, 2022, 13: 840670.
- [6] 国家卫生健康委员会. 食品安全国家标准 预包装食品中致病菌限量: GB 29921—2021[S]. 北京: 中国标准出版社, 2021. National Health Commission. National standard for food safety, Pathogens standard for prepackaged foods GB 29921—2021[S]. Beijing: China standard press, 2021.
- [7] 国家卫生健康委员会. 食品安全国家标准 散装即食食品中致病菌限量: GB 31607—2021[S]. 北京: 中国标准出版社, 2021. National Health Commission. National standard for food safety, Limits of pathogenic bacteria in bulk ready-to-eat food GB 29921—2021[S]. Beijing: China standard press, 2021.
- [8] RIBEIRO DE SOUZA DA CUNHA MDEL. Chapter 6-Methods for the Identification, Characterization, and Tracking the Spread of *Staphylococcus aureus* [J]. Staphylococcus Aureus, 2018: 105-125.
- [9] 沈宇飞,周海波,万佳佳,等. 即食果蔬中金黄色葡萄球菌选择增菌培养基的研究[J]. 南京农业大学学报, 2022, 45(1): 183-195.
SHEN Y F, ZHOU H B, WAN J J, et al. A Selective enrichment broth for detection of *Staphylococcus aureus* in ready-to-eat fruits and vegetables[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2022, 45(1): 183-195.
- [10] SOTO ESTERAS T, SÁIZ ALVAREZ F, RODRÍGUEZ DE LECEA J, et al. Evaluation of staphylococcal food contamination in four different culture media[J]. Rev Latinoam Microbiol, 1991, 33(2-3): 141-144.
- [11] CHANG C W, WANG L J. Impact of culture media and sampling methods on *Staphylococcus aureus* aerosols[J]. Indoor Air, 2015, 25(5): 488-498.
- [12] HAGHI F, ZEIGHAMI H, HAJILOO Z, et al. High frequency of enterotoxin encoding genes of *Staphylococcus aureus* isolated from food and clinical samples [J]. Journal of Health, Population and Nutrition, 2021, 40(1): 27.
- [13] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. 实验动物微

生物学检测方法 金黄色葡萄球菌检测方法: GB/T 14926.14—2001[S]. 北京: 中国标准出版社, 2001.

General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Laboratory animal-Microbiological examination methods of *Staphylococcus aureus*: GB/T 14926.14—2001[S]. Beijing: China Standard Press, 2001.

[14] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.

Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Part 1[M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020.

[15] LEITE DPSBM, BARBOSA IC, DA SILVA RA, et al. Occurrence of antimicrobial-resistant *Staphylococcus aureus* in a Brazilian veterinary hospital environment [J]. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2023, 54(3): 2393-2401.

[16] KOIM-PUCHOWSKA B, KŁOSOWSKI G, DRÓZDŹ-AFELT J M, et al. Influence of the medium composition and the culture conditions on surfactin biosynthesis by a native *Bacillus subtilis* natto BS19 strain[J]. *Molecules*, 2021, 26(10): 2985.

[17] 国家卫生和计划生育委员会. 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: GB 4789. 28—2013[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014.

National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China, China Food and Drug Administration, Microbiological examination of food hygiene-Statnning methods, culture mediums and reagents: GB 4789.28—2013[S]. Beijing: China Standard Press, 2014.

[18] LIU Q, YANG J, WANG X, et al. Effect of culture medium optimization on the secondary metabolites activity of *Lysobacter antibioticus* 13-6[J]. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 2021, 51(10): 1008-1017.

[19] 李超莹. 食品微生物检验中培养基质量控制要点探究[J]. *食品安全导刊*, 2021(6): 97-100.

LI C Y. Exploration of key points for quality control of culture medium in food microbial testing[J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 2021(6): 97-100.

《中国食品卫生杂志》顾问及第五届编委会名单

顾问: 陈君石、黄璐琦、江桂斌、李林、沈建忠、吴清平、Jianghong Meng(美国)、Patrick Wall(爱尔兰)、Samuel Godefroy(加拿大)、Gerald Moy(美国)、Paul Brent(澳大利亚)、Marta Hugas(比利时)、Yukikko Yamada(日本)、Tom Heilandt(德国)、Andreas Hensel(德国)、Christopher Elliott(英国)、Christine Nelleman(丹麦)

主任委员: 卢江

副主任委员: 王竹天、李宁、孙长颢、王涛、谢剑炜、应浩、丁钢强、张峰、张永慧

主编: 吴永宁

编委(按姓氏笔画排序)

丁钢强(中国疾病预防控制中心营养与健康所)
于洲(国家食品安全风险评估中心)
于维森(青岛市疾病预防控制中心)
马宁(国家食品安全风险评估中心)
马会来(中国疾病预防控制中心)
马群飞(福建省疾病预防控制中心)
王君(国家食品安全风险评估中心)
王茵(浙江省医学科学院)
王涛(浙江清华长三角研究院)
王硕(南开大学医学院)
王慧(上海交通大学公共卫生学院)
王永芳(国家卫生健康委员会卫生健康监督中心)
王竹天(国家食品安全风险评估中心)
王松雪(国家粮食和物资储备局科学研究院)
王晓英(中国动物疫病预防控制中心)
计融(国家食品安全风险评估中心)
邓小玲(广东省疾病预防控制中心)
卢江(国家食品安全风险评估中心)

应浩(中国科学院上海营养与健康所)
张丁(河南省疾病预防控制中心)
张峰(中国检验检疫科学研究院)
张卫兵(南通市疾病预防控制中心)
张立实(四川大学华西公共卫生学院)
张永慧(广东省疾病预防控制中心)
张旭东(国家卫生健康委员会医院管理研究所)
张剑峰(黑龙江省疾病预防控制中心)
张朝晖(中国海关科学技术研究中心)
张惠媛(中国海关科学技术研究中心)
张遵真(四川大学华西公共卫生学院)
陈波(湖南师范大学化学化工学院)
陈颖(中国检验检疫科学研究院)
陈卫东(广东省市场监督管理局)
邵兵(北京市疾病预防控制中心)
武爱波(中国科学院上海营养与健康所)
赵舰(重庆市疾病预防控制中心)
赵云峰(国家食品安全风险评估中心)