

ICS 65.020.30

B 44



中国实验动物学会团体标准

T/CALAS 92—2020

实验动物 木糖葡萄球菌检测方法

Laboratory animal-Method for the detection of *Staphylococcus xylosus*

2020-12-01 发布

2021-01-01 实施

中国实验动物学会 发布

前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020 给出的规则起草。

本文件由中国实验动物学会归口。

本文件由全国实验动物标准化技术委员会（SAC/TC281）技术审查。

本文件由中国实验动物学会实验动物标准化专业委员会提出并组织起草。

本文件起草单位：中国医学科学院医学实验动物研究所、中国食品药品检定研究院、浙江省医学科学院。

本文件主要起草人：张丽芳、邢进、戴方伟、向志光、刘子洋、阮研硕、魏强。

实验动物 木糖葡萄球菌检测方法

1 范围

本文件规定了实验动物木糖葡萄球菌检测方法。
本文件适用于啮齿类实验动物木糖葡萄球菌的检测。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。凡是注明日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

- GB 19489 《实验室生物安全通用要求》
- GB/T 14926.42 《实验动物 细菌学检测 标本采集》
- GB/T 14926.43 《实验动物 细菌学检测 染色法、培养基和试剂》

3 基本原理

木糖葡萄球菌为革兰氏阳性球菌，在葡萄球菌选择性培养基上形成特殊的菌落形态，有独特的生化反应，据此可进行该菌的分离培养和检测。

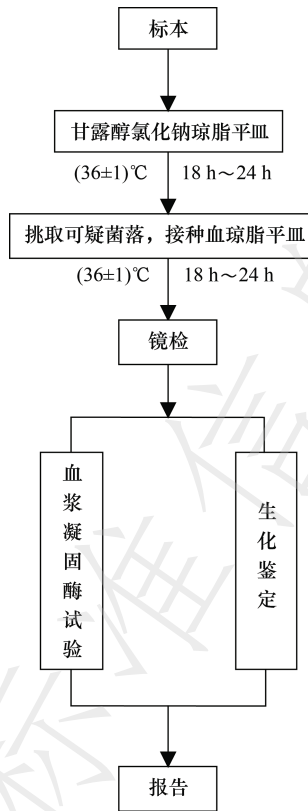
4 主要设备和材料

- 4.1 恒温生化培养箱。
- 4.2 生物显微镜。

5 培养基和试剂

- 5.1 甘露醇氯化钠琼脂平皿，按 GB/T 14926.43 方法配制。
- 5.2 血琼脂平皿，按 GB/T 14926.43 方法配制。
- 5.3 氧化酶试剂或试纸条。
- 5.4 革兰氏染色液。
- 5.5 已知血浆凝固酶阳性和阴性的葡萄球菌参考菌株各一株。
- 5.6 兔血浆
- 5.7 生化试剂：尿素酶、葡萄糖、甘露糖、海藻糖、麦芽糖、木糖、甘露醇、棉子糖、果糖、过氧化氢酶试剂、鸟氨酸脱羧酶、乳糖、蔗糖、纤维二糖、硝酸盐还原酶、碱性磷酸酶、吡咯烷酮酶、松三糖。

6 检测程序



7 操作步骤

7.1 生物安全措施

实验操作及处理按照 GB 19489 的规定, 由具备相关资质的工作人员进行相应操作。

7.2 采样

无菌采取动物皮肤病变或其他病变样本, 样本采集按照 GB/T 14926.42 要求进行。

7.3 分离培养

将样本划线接种于甘露醇氯化钠琼脂平皿, 置 $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$ 培养 18 h~24 h。

7.4 鉴定

从甘露醇氯化钠琼脂平皿上分别挑取 3~5 个可疑菌落, 在血琼脂平皿上进行纯培养, $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$ 培养 18 h~24 h, 涂片镜检, 菌落菌体符合木糖葡萄球菌特征的样品做生化反应试验。

7.4.1 菌落特征

木糖葡萄球菌在甘露醇氯化钠琼脂平皿上呈黄色, 直径 1 mm~2 mm, 为圆形、凸起、表面光滑的菌落, 菌落周围的培养基由红色变成黄色。

木糖葡萄球菌在血琼脂平皿上呈灰白色, 直径 1 mm~2 mm 左右, 为圆形、扁平、表面光滑湿润、边缘整齐不溶血的菌落。

7.4.2 菌体特征

本菌为革兰氏阳性球菌，排列成葡萄状，无芽胞，无荚膜，直径 $0.5\ \mu\text{m}\sim 1\ \mu\text{m}$ 。

7.4.3 血浆凝固酶试验

挑取血琼脂平皿上至少 5 个可疑菌落（小于 5 个则全选），分别接种到 5 mL 营养肉汤， $(36\pm 1)\text{ }^\circ\text{C}$ 培养 18 h~24 h。

取新鲜配制兔血浆 0.5 mL，放入小试管中，再加入营养肉汤培养物 0.2 mL~0.3 mL，振荡摇匀，置 $(36\pm 1)\text{ }^\circ\text{C}$ 温箱或水浴箱内，每 0.5 h 观察一次，观察 6 h，如呈现凝固（即将试验管倾斜或倒置时，呈现凝块）或凝固体积大于原体积的一半，被判定为阳性结果。同时以血浆凝固酶试验阳性和阴性葡萄球菌株的肉汤培养物作为对照。也可用商品化的试剂，按说明书操作，进行血浆凝固酶试验。

结果如可疑，重复试验。

木糖葡萄球菌血浆凝固酶试验阴性。

7.4.4 生化试验

使用血琼脂平皿上的新鲜培养物，按表 1 各项生化试验进行木糖葡萄球菌各种生化鉴定，也可以使用 API20E 生化鉴定试剂盒或性能相似的产品进行生化鉴定。

表 1 木糖葡萄球菌生化鉴定

生化检测项目	结果	生化检测项目	结果
触酶	+	过氧化氢酶	-
葡萄糖	+	果糖	+
尿素酶	+	乳糖	+
甘露糖	+	蔗糖	+
海藻糖	+	纤维二糖	-
麦芽糖	+/-	硝酸盐还原酶	+
木糖	+	碱性磷酸酶	+
甘露醇	+	吡咯烷酮酶	+
鸟氨酸脱羧酶	-	棉子糖	-
		松三糖	-

+: 阳性; -: 阴性; +/-: 大多数菌株阳性。

8 结果报告

凡符合上述各项检测结果者作出阳性报告，不符合者作出阴性报告，并出具检测报告。

参考文献

2001, 中华人民共和国国家标准实验动物微生物学检测方法(1).

Bradfield J F, Wagner J E, Boivin G P, et al. 1993. Epizootic fatal dermatitis in athymic nude mice due to *Staphylococcus xylosus*. Lab Anim Sci, 43: 111-113.

GB/T 14926.42-14926.43—2001. 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. 北京: 中国标准出版社.

GB/T 14926.43—2001 实验动物 细菌学检测 标本采集.

GB/T 14926.43—2001 实验动物 细菌学检测 染色法、培养基和试剂.

Nicole V A, Monica L G, Tamas N, et al. 2017. Severe dermatitis associated with spontaneous *Staphylococcus xylosus* infection in *Rag^{-/-}Tpl2^{-/-}* mice .Comparative Medicine, 67(4): 344-349.

Paul De Vos, George M G, Dorothy J, et al. 2004, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2nd edition. Volume Three, USA The Firmicutes. Springer, USA.

Young S W, Hyo J K, Goo T O, et al. 2002. Identification of *Staphylococcus xylosus* isolated from C57BL/6J-Nos2^{tm1Lau} mice with dermatitis. Microbiol. Immunol, 46(9): 629-632.
