

大肠埃希氏菌O157:H7/NM 生化鉴定试剂盒使用说明书

- 使用前请仔细阅读本说明书 •

【产品名称】

通用名称: EasyID大肠埃希氏菌O157:H7/NM生化鉴定试剂盒

英文名称: EasyID Biochemical Identification Kit for
Escherichia coli O157:H7/NM

【包装规格】 10测试/盒

【产品编号】 HKI006

【产品简介】

本试剂盒基于一步加样技术,用于大肠埃希氏菌O157:H7/NM的生化鉴定(GB 4789.36)。

【产品组分】

主要组分: EasyID大肠埃希氏菌O157:H7/NM生化鉴定条10条、
半固体琼脂10瓶、氧化酶试剂1瓶。

其它组分: 悬浮培养基10瓶、麦氏比浊管1瓶、靛基质试剂1瓶、
无菌液体石蜡1瓶、VP试剂甲液1瓶、VP试剂乙液1瓶、
甲基红试剂1瓶、记录表1册、产品说明书1份。

【储存条件与保质期】

2~8 °C保存,有效期见试剂盒外标签。

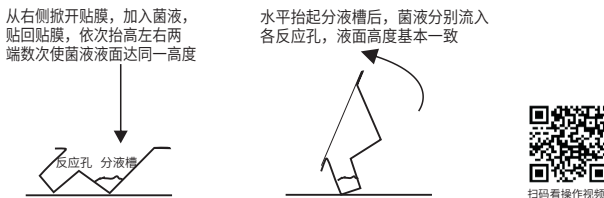
【使用指南】

- 1 从选择性平板上挑取可疑单菌落(需预先确保增菌和分离均符合大肠埃希氏菌O157:H7/NM典型特征)接种于营养琼脂或TSA平板进行纯化;
- 2 取鉴定条、悬浮培养基、半固体琼脂,使用前平衡至室温;开启半固体琼脂;
- 3 挑取经纯化的分离株新鲜菌苔于悬浮培养基中,制成0.5麦氏浊度的均一菌悬液;同时接种同一菌株于三糖铁琼脂(需另外购买)和半固体琼脂中;

4 取小块洁净滤纸(需自备), 滴加1滴氧化酶试剂, 用无菌玻棒或塑料接种环挑取同一可疑菌落并涂于纸片上, 30秒内观察滤纸片颜色, 按表3并对照比色卡记录结果, 用完旋紧瓶盖并放回试剂盒并置于2~8℃下保存;

5 从底座上取下鉴定条, 并从鉴定条右侧向左掀开贴膜, 用移液器心注入2 mL菌悬液于分液槽中(避免使菌液提前流入反应孔), 贴回贴膜, 并依次抬起左右两侧数次, 使菌悬液液面达同一高度, 然后水平托起分液槽端, 确保菌液流入各反应孔中, 贴紧薄膜并放回底座。再次从右侧掀开贴膜, 向第6、7、8号孔中各滴加3~4滴无菌液体石蜡, 贴紧薄膜;

图1 鉴定条横截面及操作示意图



6 将接种的鉴定条和反应管置于36℃±1℃培养(培养时间按表3); 培养完毕记录三糖铁琼脂培养结果, 按表3并对照比色卡读取鉴定条第1、3~8孔情况并记录结果; 取下鉴定条并置于365 nm紫外灯下, 观察第2孔是否有蓝色荧光, 然后取出鉴定条置自然光下, 掀开贴膜, 分别向第9孔滴加2滴靛基质试剂, 向第10孔逐滴滴入3滴VP试剂甲液和2滴VP试剂乙液, 向第11孔小心滴加1滴甲基红试剂, 不贴紧贴膜, 反应孔透气10min后, 记录结果;

7 综合菌落形态和GB 4789.36 大肠埃希氏菌O157:H7/NM生化试验反应结果(见表2)进行判读。

【注意事项】

1 需要使用者自备的试剂及用品有: 三糖铁琼脂、洁净滤纸、微量移液器及无菌吸头、生化培养箱等;

- 2 所含悬浮培养基为本试剂盒专用，不可替换或用于其他试验；
- 3 反应名称加上划线表示接种后培养前需添加配套试剂，反应名称加下划线表示培养结束后添加配套试剂；
- 4 甲基红试剂流动性强，滴加该试剂时应特别小心，防止试剂滴入其他的反应孔；未用完的试剂应旋紧瓶盖放回包装盒中并置于2~8 °C下保存；
- 5 向分液槽中加入菌液后，尽量分散均匀；极个别情况有反应孔分液量接近于100 μL，但不影响反应结果；
- 6 为避免污染，务必在超净工作台或生物安全柜中进行接种和添加配套试剂，培养前务必贴紧贴膜；
- 7 如果鉴定条已过期，或铝箔袋破损，请勿使用；
- 8 本说明书需重复使用，请妥善保管。

【废物处理】

带菌的鉴定条、吸头和悬浮培养基等试验材料应置121 °C下湿热灭菌30min之后，按医疗垃圾相应的处理方式处理。

【执行标准】

BHK/QW-SJZ-ZD-024-2021 Easy ID生化鉴定试剂盒

【参考文献】

GB 4789.36 食品安全国家标准 食品微生物学检验 大肠埃希氏菌 O157:H7/NM检验

【生产企业】

企业名称: 广东环凯生物科技有限公司

生产地址: 肇庆高新技术产业开发区科技大街中13号

销售热线: 0758-3680999-8001

技术热线: 0758-3680999-8018

邮政编码: 526238

企业网址: <https://www.bhkbio.com>

【说明书版本】 2024年04月15日

【质量控制】

将接种后的鉴定条和反应管置于 36 ± 1 °C下培养24 h(氧化酶除外)，结果如表1:

表1 质量控制

序号	反应名称	大肠埃希氏菌O157:H7 NCTC12900	大肠埃希氏菌 ATCC25922	产气肠杆菌 ATCC13048	痢疾志贺氏菌 CMCC(B)51105
1	柠檬酸盐	-	-	+	-
2	MUG	-	+	-	-
3	棉子糖	+	-	+	-
4	纤维二糖	-	-	+	-
5	山梨醇	-	+	+	-
6	赖氨酸	+	+	+	-
7	鸟氨酸	+	+	+	-
8	氨基酸对照	黄色	黄色	黄色	黄色
9	靛基质	+	+	-	+
10	VP	-	-	+	-
11	MR	+	+	-	+
12	动力	+	+	+	-
13	氧化酶	-	-	-	-
注: +阳性, -阴性。					

表2 GB4789.36大肠埃希氏菌O157:H7/NM生化反应特征





























































生化试验	特征反应
三糖铁琼脂	底层及斜面呈黄色, H ₂ S 阴性
山梨醇	阴性或迟缓发酵
胍基胍	阳性
甲基红-伏普试验 (MR-VP)	MR阳性, VP阴性
氧化酶	阴性
西蒙氏柠檬酸盐	阴性
赖氨酸脱羧酶	阳性
鸟氨酸脱羧酶	阳性
纤维二糖发酵	阴性
棉子糖发酵	阳性
MUG试验	阴性 (无荧光)
动力试验	有动力或无动力

表3 各项反应判定规则

序号	反应名称	结果判断		培养时间 (h)	备注
		阳性特征	阴性特征		
1	柠檬酸盐	蓝色	淡绿色或绿色		必要时需延长培养至48h
2	MUG	蓝色荧光	无荧光		培养后置取下鉴定条置365nm紫外灯下观察
3	棉子糖				
4	纤维二糖	黄色或黄绿色或绿色	蓝色		
5	山梨醇				
6	赖氨酸	试验孔蓝色或深绿色，同时对照孔变黄色，或黄绿色	试验孔与对照孔均变为黄色或黄绿色	18-24	培养前须滴加3~4滴无菌液体石蜡
7	鸟氨酸				
8	氨基酸对照				
9	靛基质	紫红色环(液面)	黄绿色或浅黄色环(液面)		培养后滴加靛基质试剂2滴并立即观察
10	VP	红色	无色或淡黄色		培养后依次逐滴加入3滴VP试剂甲液和2滴VP试剂乙液，不贴紧贴膜，室温放10~30min后观察并记录结果
11	MR	红色	黄色或橙色		培养后小心滴加1滴甲基红试剂，立即观察并记录结果
12	动力	扩散生长	沿穿刺线生长	24~48	穿刺接种，竖立培育
13	氧化酶	蓝紫色	无色	无	取小块洁净滤纸(需自备)，滴加1滴氧化酶试剂，用无菌玻棒或塑料接种环挑取同一可疑单菌落并涂于纸片上，30秒内观察滤纸片颜色并记录

注: 反应名称加上划线表示接种后培养前需添加配套试剂，反应名称加上下划线表示培养结束后添加配套试剂。

比色卡

反应序号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
反应名称	柠檬酸盐	MUG	棉子糖	纤维二糖	山梨醇	赖氨酸	鸟氨酸	氨基酸对照	靛基质	V P	M R	动力	氧化酶
阳性结果 (+)		 蓝色  荧光	  	  	  	  	  	  	 	 	 	 	 
阴性结果 (-)	 无  荧光	 	 	 	 	  	  	  	 	 	 	 	 

注: 比色卡所列印均为典型实例, 未列出的反应和实例请按表3判定规则自行判定。