

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, 用移液器小心注入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℃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℃下湿热灭菌30min之后，按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】 2025年04月01日

【质量控制】

将接种后的鉴定条和反应管置于36±1℃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 |
| 胍基质 | 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 | 18~24 | 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 | 黄色或黄绿色 或绿色 | 蓝色 | | |
| 4 | 纤维二糖 | | | | |
| 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 | M U G | 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 |    |    |    |    |    |    |   |   |   |   扩散 生长 |   |
| 阴性 结果 (-) |   |  无 荧光 |   |   |   |    |    |    |   |   |   |   沿穿 刺线 生长 |   |

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。