

# 细菌新型生化鉴定管使用说明

—071860 大肠埃希氏菌 O157: H7/NM 生化鉴定盒 (GB/T 4789.36-2008, 14 种×10 次)

## 一) 整套试剂及用品

鉴定生化反应的 14 种试剂 (表 1)、10 瓶 0.85% 无菌生理盐水、1 瓶 0.5 McFarland 的浊度管、10 支一次性吸管。

## 二) 西林瓶的使用方法

开启西林瓶前, 用 75% 酒精棉消毒西林瓶表面, 在无菌条件下, 按铝盖上的箭头方向打开铝盖, 撕开铝盖, 打开西林瓶胶塞 (如图 1)。所有的西林瓶在使用后均高压灭菌后方可弃去。

## 三) 大肠埃希氏菌 O157: H7 生化鉴定盒的详细使用方法

大肠杆菌 O157: H7 为革兰氏阴性杆菌, 需氧或兼性, 有周鞭毛, 并有菌毛, 不产生芽孢的杆菌。发酵乳糖, 不发酵或迟缓发酵山梨醇; 氧化酶阴性; MUG 阴性。

从分离培养平板上挑取可疑菌苔接种于营养琼脂平板上分纯, 于 35—37℃ 培养 18—24h, 挑取菌落置于已配备的无菌生理盐水中, 与 0.5 McFarland 的浊度管比浊, 将菌悬液制备成 0.5McFarland (约  $10^8$  cfu/mL), 用吸管吸取 2 滴 (约 0.06mL) 菌悬液加入每种微量生化管内。将已接种的西林瓶再套上胶塞, 一般采用全加塞 (如图 2 左两瓶所示), 特殊情况在下表注明采用半加塞 (如图 2 右两瓶所示), 直立于内托的凹槽内 (如图 2), 或放置于合适的瓶架中, 于 35—37℃ 培养箱中培养, 结果观察见表 1。

注意: 如有特殊的接种方式、培养时间或培养方式, 请详见每种生化鉴定管附带的使用说明。



图 1 西林瓶开启图

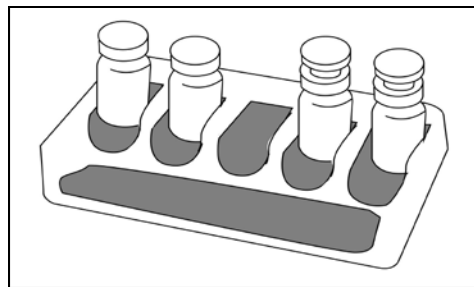


图 2 西林瓶放置培养图

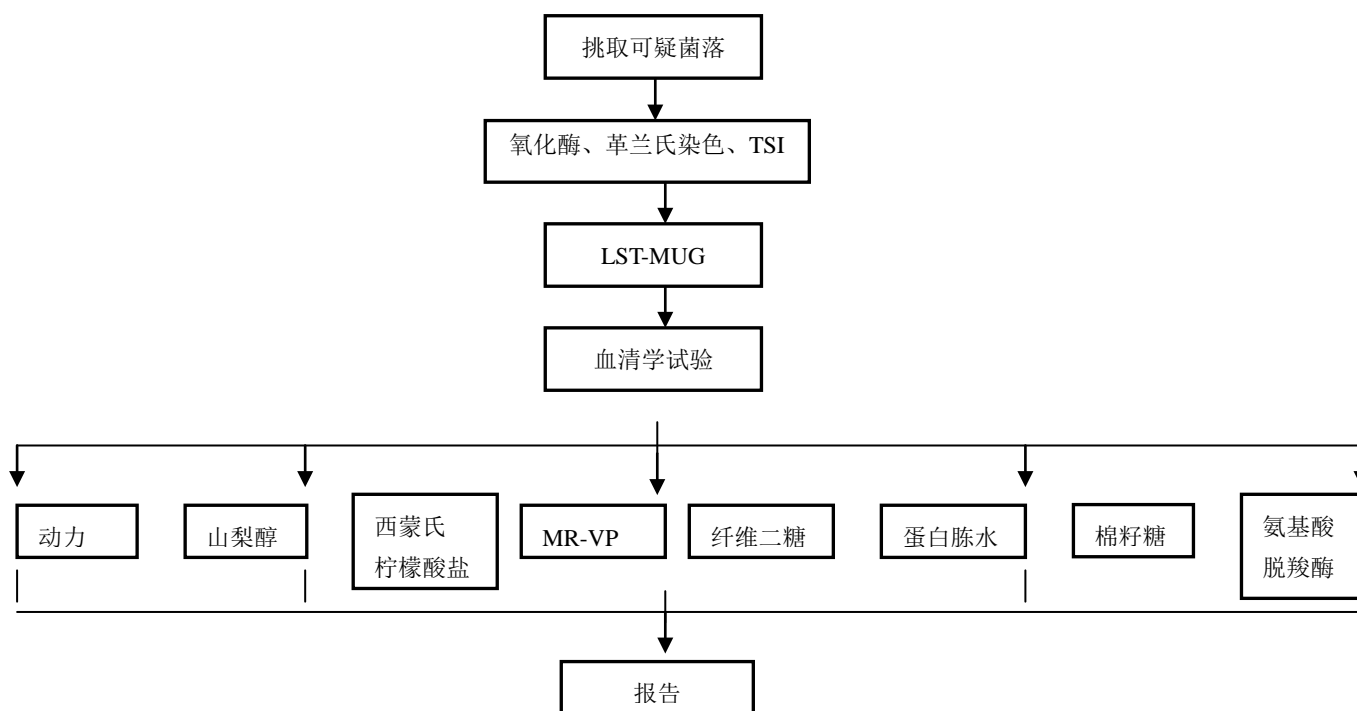
表 1

产品名称	结果判定		培养时间 (小时)	使用说明
	阳性	阴性		
山梨醇	黄色	紫色	8—24	
纤维二糖				
棉子糖				
蛋白胨水	红色	不变色	24	西林瓶半加塞 (如图 2 右两瓶所示) 培养后加靛基质试剂 2—3 滴, 立即观察结果。
西蒙氏枸橼酸盐	蓝色	不变色	24—48	西林瓶半加塞 (如图 2 右两瓶所示) 用接种针挑取新鲜菌苔在斜面上划“之”字形接种, 竖立培育。
鸟、赖氨酸脱羧酶	试验管绿色或黄绿色, 对照管变黄	试验管与对照管均变黄	18—24	每株被检菌应同时接种氨基酸对照管一支, 并加灭菌液体石蜡 5-8 滴覆盖培养基表面。培养 18—24 小时, 未见阳性结果, 继续培养 4 天, 再做最终结果判定。
半固体琼脂	扩散生长	无扩散生长	24—48	用接种针挑取新鲜菌苔穿刺接种, 竖立培育。
氧化酶试剂	蓝紫色	不变色	30 秒内	滴加 1 滴试剂到一小块洁净滤纸上, 以刚刚浸湿为宜; 用玻棒或接种环 (铂或塑料) 挑取适量新鲜菌苔涂在纸片上。
三糖铁琼脂	产酸变黄色, 产硫化氢变黑色	不变色	24	用接种针挑取新鲜菌苔穿刺, 穿刺完毕后在斜面上划“之”字形接种, 西林瓶半加塞 (如图 2 右两瓶所示) 后竖立培育。
葡萄糖磷酸盐胨水	MR: 红色	不变色	96	西林瓶半加塞 (如图 2 右两瓶所示) 培养后加 MR 试剂 2—3 滴, 立即观察结果。
	VP: 红色	不变色	48	西林瓶半加塞 (如图 2 右两瓶所示) 培养后依次加入 8 滴 VP 试剂甲液及 4 滴乙液, 混匀, 再培养 10—20 分钟观察结果。
LST-MUG 试验	有荧光	无荧光	18—24	置 366nm 紫外灯下约 5cm 处观察

备注: 本鉴定盒是按照环凯产品目录中的品种成份从左到右的顺序摆放。

四) 出血性大肠杆菌 O157: H7 的生化鉴定程序 (见下图) 和生化鉴定特征 (见表 2)

出血性大肠杆菌 O157: H7 生化鉴定程序图:



在营养琼脂平板上挑取分纯的菌落, 用 O157: H7 标准血清或 O157 乳胶凝集试剂测试, 对于 H7 因子血清不凝集者, 应穿刺接种半固体琼脂, 检查动力, 经连续传代 3 次, 动力试验阴性, H7 因子血清凝集阴性者, 确定为无动力株。

表 2 大肠杆菌 O157: H7/NM 的生化反应特征

试验项目	特征反应
山梨醇	阴性或迟缓
纤维二糖	阴性
棉子糖	阳性
蛋白胨水	阳性
西蒙氏枸橼酸盐	阴性
鸟氨酸脱羧酶	阳性
赖氨酸脱羧酶	阳性
半固体琼脂	有动力或无动力
三糖铁琼脂	底及斜面呈黄色, H <sub>2</sub> S 阴性
葡萄糖磷酸盐胨水	MR 阳性 VP 阴性
MUG 试验	阴性
氧化酶	阴性

注: “+” 阳性; “-” 阴性 ; “+/-” 阳性或阴性

广东环凯微生物科技有限公司

地址: 广州市黄埔区广州开发区科学城神舟路 788 号

邮编: 510663 传真: 020-32078333 转 8619

销售热线: 020-32078333 转 8620、8602、8618、8611

技术热线: 020-32078333 转 8877、8876

Http://www.huankai.com E-mail: Webmaster@huankai.com