

蜡样芽孢杆菌生化鉴定 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蜡样芽孢杆菌生化鉴定试剂盒

英文名称: EasyID Biochemical Identification Kit for *Bacillus cereus*

【包装规格】 10测试/盒

【产品编号】 HKI003

【产品简介】

本试剂盒基于一步加样技术, 用于蜡样芽孢杆菌的生化鉴定 (GB 4789.14)。

【产品组分】

主要组分: EasyID蜡样芽孢杆菌生化鉴定条10条、半固体琼脂10支、3%过氧化氢溶液10瓶、西蒙氏柠檬酸盐生化管10支、明胶生化管10支。

其它组分: 悬浮培养基10瓶、麦氏比浊管1瓶、无菌液体石蜡1瓶、VP试剂1套、硝酸盐还原试剂1套、Lugol氏碘液1瓶、记录表1册、产品说明书1份。

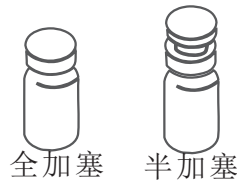
【储存条件与保质期】 2~8℃保存, 有效期见试剂盒外标签。

【使用指南】

- 1 取鉴定条及悬浮培养基并平衡至室温; 开启3%过氧化氢溶液、半固体琼脂、西蒙氏柠檬酸盐生化管和明胶生化管;
- 2 撕开铝箔袋, 取出鉴定条及底座, 观察是否异常 (如破损请勿使用), 并在合适位置做好标记;
- 3 挑取纯培养的可疑单个菌落接种于悬浮培养基中, 制成1.0麦氏浊度的均一菌悬液; 挑取同一可疑单菌落接种3%过氧化氢溶液

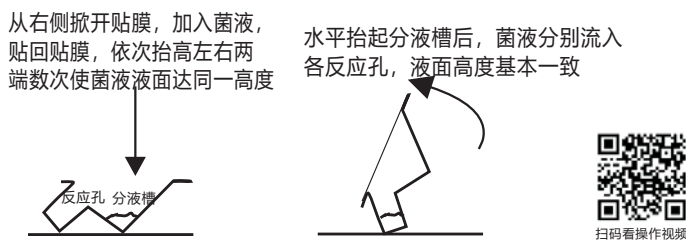
(接种后立即观察有无气泡)、半固体琼脂(穿刺,全加)、西蒙氏柠檬酸盐生化管(半加)和明胶生化管(全加),并将3种生化管卡入鉴定条底座圆孔中;

西林瓶放置示意图



4 从底座上取下鉴定条,并从鉴定条右侧向左掀开贴膜,用微量移液器小心注入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。再次掀开贴膜向第4号反应孔小心加入3~4滴无菌液体石蜡,贴回贴膜并放回底座;

鉴定条横截面及操作示意图



5 将已接种的半固体琼脂置于30℃±1℃下培养,鉴定条和西蒙氏柠檬酸盐、明胶生化管置于36℃±1℃下培养。培养完毕,参考表4和比色卡读取各项反应结果;旋紧配套试剂瓶盖,并置于2~8℃保存;

6 综合菌落形态和GB 4789.14蜡样芽孢杆菌生化试验反应结果(见表2和表3)进行判读。

【注意事项】

- 1 需要使用者自备的用品有：MYP琼脂等平板培养基、革兰氏染色液等染色试剂、微量移液器及无菌吸头、洁净滤纸、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 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；
- 5 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；未用完的配套试剂应旋紧瓶盖并置于2~8 $^{\circ}\text{C}$ 保存；
- 6 如果鉴定条已过期，或铝箔袋破损，请勿使用；
- 7 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 $^{\circ}\text{C}$ 下湿热灭菌30 min之后，按医疗垃圾相应的处理方式处理。

【执行标准】 QS/BHK 0002-2020 Easy ID 生化鉴定试剂盒

【参考文献】

GB 4789.14 食品安全国家标准 食品微生物学检验 蜡样芽孢杆菌检验

【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】 2021年03! 31"

【质量控制】

将已接种质控菌的半固体琼脂置于30 °C 1 °C下培养; 鉴定条和西蒙氏柠檬酸盐、明胶生化管置于36 °C 1 °C下培养(过氧化氢反应除外), 结果如表1:

表1 质量控制

序	反应名称	蜡样芽孢杆菌 ATCC11778	巨大芽孢杆菌 ATCC14581	短小芽孢杆菌 CMCC(B)63202
1	溶菌酶	+	-	+
2	溶菌酶质控	浑浊或沉淀	浑浊或沉淀	浑浊或沉淀
3	甘露醇	-	+	+
4	葡萄糖	+	-	+
5	淀粉	+	+	-
6	硝酸盐	+	-	-
7	VP	+	-	+
8	动力	+	+	+
9	柠檬酸盐	-	+	+
10	明胶	+	+	-
11	3%过氧化氢	+	+	+
注: +阳性, -阴性。				

表2 GB4789.14蜡样芽胞杆菌生化特征与其他芽胞杆菌的区别

	蜡样芽胞杆菌 Bacillus cereus	苏云金芽胞杆菌 Bacillus thuringiensis	萹状芽胞杆菌 Bacillus mycoides	炭疽芽胞杆菌 Bacillus anthracis	巨大芽胞杆菌 Bacillus megaterium
革兰氏染色	+	+	+	+	+
过氧化氢酶	+	+	+	+	+
动力	+/-	+/-	-	-	+/-
硝酸盐还原	+	+/-	+	+	-/+
酪蛋白分解	+	+	+/-	-/+	+/-
溶菌酶耐性	+	+	+	+	-
卵黄反应	+	+	+	+	-
葡萄糖利用 (厌氧)	+	+	+	+	-
V-P试验	+	+	+	+	-
甘露醇产酸	-	-	-	-	+
溶血 (羊红细胞)	+	+	+	-/+	-
根状生长	-	-	+	-	-
蛋白质 毒素晶体	-	+	-	-	-

注：+ 表示90%~100%的菌株阳性；- 表示90%~100%的菌株阴性；
+/- 表示大多数的菌株阳性；-/+ 表示大多数的菌株阴性。

表3 GB4789.14蜡样芽胞杆菌生化分型试验

型别	生化试验			
	柠檬酸盐	硝酸盐	淀粉	VP
1	+	+	+	+
2	-	+	+	+
3	+	+	-	+
4	-	-	+	+
5	-	-	-	+
6	+	-	-	+
7	+	-	+	+
8	-	+	-	+
9	-	+	-	-
10	-	+	+	-
11	+	+	+	-
12	+	+	-	-
13	-	-	+	-
14	+	-	-	-
15	+	-	+	-




















注：+ 表示90%~100%的菌株阳性；
- 表示90%~100%的菌株阴性。

表4 各项反应判定规则

序	反应名称	结果判断		培养时间(h)	备注
		阳性特征	阴性特征		
1	溶菌酶	生长孔与质控孔均出现浑浊或沉淀	生长孔澄清, 但质控孔出现浑浊或沉淀	18~24	培养完毕, 取下鉴定条置于亮处观察
2	溶菌酶质控				
3	甘露醇	黄色或黄绿色	蓝色或绿色	24~48	接种后滴加3~4滴石蜡覆盖液面
4	葡萄糖				
5	淀粉粒	棕色或金黄色	蓝色或黑色		培养后加1滴Lugol氏碘液,立即观察结果
6	硝酸盐	红色或褐色	灰色或淡粉色		培养后依次加入1滴硝酸盐还原试剂甲液和1滴硝酸盐还原试剂乙液,立即观察结果
7	VP	红色	无色或淡黄色	18~24	培养后依次逐滴加入3滴VP试剂甲液和2滴VP试剂乙液, 室温下暴露空气10~30min后记录结果
8	动力	扩散生长	沿穿刺线生长		穿刺接种, 竖立培育
9	柠檬酸盐	斜面全部或局部变蓝	绿色	24~48	接种量不少于半环, 半加 竖立培育
10	明胶	4°C呈液态	4°C呈固态	18~24	穿刺接种, 竖立培育, 培养后置4°C半小时,然后观察流动性
11	3%过氧化氢	产生气泡	不产生气泡	-	挑取纯培养物接种到试剂中, 立即观察是否有气泡产生

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	反应名称	阳性结果(+)	阴性结果(-)
1	溶菌酶	 	
2	溶菌酶质控	 	
3	甘露醇	 	 
4	葡萄糖	 	 
5	淀粉	 	 
6	硝酸盐	 	 
7	V P	 	 
8	动力	扩散 生长	沿穿 刺线 生长
9	柠檬酸盐	 	 
10	明胶	4℃ 液态	4℃ 固态
11	3% 过氧化氢	产生 气泡	不产生 气泡

注：比色卡所印均为典型实例，未列出的实例请按表4判定规则自行判定。