

# EasyID志贺氏菌生化鉴定试剂盒

## 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志贺氏菌生化鉴定试剂盒

英文名称: EasyID Biochemical Identification Kit for *Shigella*

【包装规格】 5测试/盒

【产品编号】 HKI011

## 【产品简介】

本试剂盒基于一步加样技术，用于志贺氏菌的生化鉴定（GB 4789.5）。

## 【产品组分】

主要组分: EasyID志贺氏菌生化鉴定条A5条、EasyID志贺氏菌生化鉴定条B5条、半固体琼脂5瓶、氧化酶试剂1瓶。

其它组分: 悬浮培养基5瓶、麦氏比浊管1瓶、无菌液体石蜡1瓶、靛基质试剂1瓶、记录表1册、产品说明书1份。

## 【储存条件与保质期】

2~8℃保存，有效期见试剂盒外标签。

## 【使用指南】

- 1 取鉴定条（A、B条组成一个测试）及悬浮培养基，使用前平衡至室温；开启半固体琼脂；
- 2 从营养琼脂平板上直接挑取可疑单菌落接种于悬浮培养基中，制成0.5麦氏浊度的均一菌悬液；挑取同一可疑单菌落同时穿刺接种于三糖铁琼脂和半固体琼脂中，并在三糖铁斜面接种(三糖铁琼脂需另购)；
- 3 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

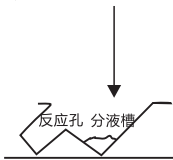
塑料接种环挑取同一可疑单菌落并涂于纸片上, 30秒内观察滤纸片颜色并记录, 用完旋紧瓶盖, 并置于2~8℃保存;

4 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;

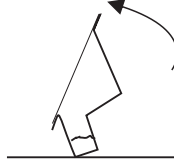
5 从底座上取下鉴定条, 并从鉴定条右侧向左掀开贴膜, 用微量移液器小心注入2mL菌悬液于分液槽中(避免使菌液提前流入反应孔, A、B条分别注入2mL), 贴回贴膜, 并依次抬起左右两侧数次, 使菌液液面达同一高度, 然后水平托起分液槽端, 确保菌液流入各反应孔中, 贴紧薄膜并放回底座。再次从右侧掀开B条贴膜, 向第6~10号孔各滴加3~4滴无菌液体石蜡, 并贴紧薄膜;

### 鉴定条横截面及操作示意图

从右侧掀开贴膜, 加入菌液, 贴回贴膜, 依次抬高左右两端数次使菌液液面达同一高度



水平抬起分液槽后, 菌液分别流入各反应孔, 液面高度基本一致



扫码看操作视频

6 将接过种的鉴定条和其他反应管置于 $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 下培养。培养完毕, 读取半固体琼脂及三糖铁琼脂结果, 并按表3并对照比色卡读取A条第1~7孔、B条第6~12孔颜色, 并记录结果; 掀开A条贴膜, 向第8号孔滴加2滴靛基质试剂并记录结果; 同时旋紧配套试剂瓶盖, 并置于2~8℃保存;

7 综合菌落形态和GB 4789.5志贺氏菌生化试验反应结果(见表2)进行判读。

## 【注意事项】

- 1 需要使用者自备的用品有：三糖铁琼脂、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 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  $\mu$ L，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℃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℃下湿热灭菌30分钟之后丢弃。

【执行标准】 Q/HK 0714 微生物微量生化鉴定试剂盒

## 【参考文献】

GB 4789.5 食品安全国家标准 食品微生物学检验 志贺氏菌检验

## 【生产企业】

企业名称：广东环凯微生物科技有限公司

生产地址：广州市科学城神舟路788号

销售热线：020-32078333-8602

技术热线：020-32078333-8877/8876

传真号码: 020-32078333-8619

邮政编码: 510663

企业网址: <http://www.huankai.com>

**【说明书版本】** 2020年05月01日

**【质量控制】**

将鉴定条、半固体琼脂接种质控菌株于 $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 下培养24h, 结果如表1:

表1 质量控制

| 序号 | 反应名称  | 痢疾志贺氏菌<br>CMCC(B)51105 | 福氏志贺氏菌<br>ATCC12022 | 产气肠杆菌<br>ATCC13048 | 小肠结肠炎耶尔森氏菌<br>CMCC(B)52204 |
|----|-------|------------------------|---------------------|--------------------|----------------------------|
| 1  | ONPG  | -                      | -                   | +                  | +                          |
| 2  | 尿素    | -                      | -                   | -                  | +                          |
| 3  | 水杨苷   | -                      | -                   | +                  | -                          |
| 4  | 七叶苷   | -                      | -                   | +                  | -                          |
| 5  | 甘露醇   | -                      | +                   | +                  | +                          |
| 6  | 棉子糖   | -                      | +                   | +                  | -                          |
| 7  | 甘油    | +                      | -                   | +                  | +                          |
| 8  | 靛基质   | +                      | -                   | -                  | -                          |
| 9  | 赖氨酸   | -                      | -                   | +                  | -                          |
| 10 | 鸟氨酸   | -                      | -                   | +                  | +                          |
| 11 | 氨基酸对照 | 黄色                     | 黄色                  | 黄色                 | 黄色                         |
| 12 | 粘液酸   | -                      | -                   | +                  | -                          |
| 13 | 粘液酸质控 | 深绿或蓝色                  | 深绿或蓝色               | 深绿或蓝色              | 深绿或蓝色                      |
| 14 | 葡萄糖铵  | -                      | -                   | +                  | -                          |
| 15 | 柠檬酸盐  | -                      | -                   | +                  | -                          |
| 16 | 动力    | -                      | -                   | +                  | -                          |
| 17 | 氧化酶   | -                      | -                   | -                  | -                          |

注: +阳性, -阴性。

表2 GB4789.5志贺氏菌属四个群的生化特征

| 生化反应                                                   | A 群：<br>痢疾志贺氏菌 | B 群：<br>福氏志贺氏菌 | C 群：<br>鲍氏志贺氏菌 | D 群：<br>宋内氏志贺氏菌 |
|--------------------------------------------------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|
| β-半乳糖苷酶                                                | - <sup>a</sup> | -              | - <sup>a</sup> | +               |
| 尿素                                                     | -              | -              | -              | -               |
| 赖氨酸脱羧酶                                                 | -              | -              | -              | -               |
| 鸟氨酸脱羧酶                                                 | -              | -              | - <sup>b</sup> | +               |
| 水杨苷                                                    | -              | -              | -              | -               |
| 七叶苷                                                    | -              | -              | -              | -               |
| 靛基质                                                    | - / +          | (+)            | - / +          | -               |
| 甘露醇                                                    | -              | + <sup>c</sup> | +              | +               |
| 棉子糖                                                    | -              | +              | -              | +               |
| 甘油                                                     | (+)            | -              | (+)            | d               |
| 注：+表示阳性；-表示阴性；-/+表示多数阴性；+/-表示多数阳性；(+)表示迟缓阳性；d表示有不同生化型。 |                |                |                |                 |
| a 痢疾志贺1型和鲍氏13型为阳性。                                     |                |                |                |                 |
| b 鲍氏13型为鸟氨酸阳性。                                         |                |                |                |                 |
| c 福氏4型和6型常见甘露醇阴性变种。                                    |                |                |                |                 |

## GB4789.5部分原文：

## 5.3 初步生化试验

5.3.1 自选择性琼脂平板上分别挑取2个以上典型或可疑菌落，分别接种TSI、半固体和营养琼脂斜面各一管，置36℃±1℃培养20h~24h，分别观察结果。

5.3.2 凡是三糖铁琼脂中斜面产碱、底层产酸（发酵葡萄糖，不发酵乳糖，蔗糖）、不产气（福氏志贺氏菌6型可产生少量气体）、不产硫化氢、半固体管中无动力的菌株，挑取其5.3.1中已培养的营养琼脂斜面上生长的菌苔，进行生化试验和血清学分型。

## 5.4 生化试验及附加生化试验

## 5.4.1 生化试验

用5.3.1中已培养的营养琼脂斜面上生长的菌苔，进行生化试验，即β-半乳糖苷酶、尿素、赖氨酸脱羧酶、鸟氨酸脱羧酶以及水杨苷和七叶苷的分解试验。除宋内氏志贺氏菌、鲍氏志贺氏菌13型的鸟氨酸阳性；宋内氏菌和痢疾志贺氏菌1型，鲍氏志贺氏菌13型的β-半乳糖苷酶为阳性以外，其余生化试验志贺氏菌属的培养物均为阴性结果。另外由于福氏志贺氏菌6型的生化特性和痢疾志贺氏菌或鲍氏志贺氏菌相似，必要时还需加做靛基质、甘露醇、棉子糖、甘油试验，也可做革兰氏染色检查和氧化酶试验，应为氧化酶阴性的革兰氏阴性杆菌。生化反应不符合的菌株，即使能与某种志贺氏菌分型血清发生凝集，仍不得判定为志贺氏菌属。志贺氏菌属生化特性见表2。

## 5.4.2 附加生化实验

由于某些不活泼的大肠埃希氏菌（anaerogenic E.coli）、A-D（Alkalescens-D isparbiotypes 碱性-异型）菌的部分生化特征与志贺氏菌相似，并能与某种志贺氏菌分型血清发生凝集，因此前面生化实验符合志贺氏菌属生化特性的培养物还需加葡萄糖酸、西蒙氏柠檬酸盐、粘液酸盐试验（36℃培养24h~48h）。志贺氏菌属和不活泼大肠埃希氏菌、A-D菌的生化特性区别见表3。

表3 GB4789.5志贺氏菌属和不活泼大肠埃希氏菌、A-D菌的生化特性区别































































| 生化反应                                                                     | A 群：痢疾志贺氏菌 | B 群：福氏志贺氏菌 | C 群：鲍氏志贺氏菌 | D 群：宋内氏志贺氏菌 | 大肠埃希氏菌 | A-D 菌 |
|--------------------------------------------------------------------------|------------|------------|------------|-------------|--------|-------|
| 葡萄糖铵                                                                     | -          | -          | -          | -           | +      | +     |
| 西蒙氏柠檬酸盐                                                                  | -          | -          | -          | -           | d      | d     |
| 粘液酸盐                                                                     | -          | -          | -          | d           | +      | d     |
| 注1：+表示阳性；-表示阴性；d表示有不同生化型。                                                |            |            |            |             |        |       |
| 注2：在葡萄糖铵、西蒙氏柠檬酸盐、粘液酸盐试验三项反应中志贺氏菌一般为阴性，而不活泼的大肠埃希氏菌、A-D（碱性-异型）菌至少有一项反应为阳性。 |            |            |            |             |        |       |

表4 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  | ONPG         | 黄色                                  | 无色                       | 18~24   |                                                                      |
| 2  | 尿素           | 红色或橙红色                              | 黄色或橙黄色                   |         |                                                                      |
| 3  | 水杨苷          | 黄色或黄绿色                              | 蓝色或绿色                    |         |                                                                      |
| 4  | 七叶苷          | 黑色或棕黑色                              | 棕黄色或黄色                   |         |                                                                      |
| 5  | 甘露醇          | 黄色或黄绿色                              | 蓝色或绿色                    |         | 24~48                                                                |
| 6  | 棉子糖          |                                     |                          |         |                                                                      |
| 7  | 甘油           |                                     |                          |         |                                                                      |
| 8  | <u>靛基质</u>   | 紫红色环<br>(液面)                        | 黄绿或淡黄色环<br>(液面)          | 18~24   | 接种后滴加3~4滴石蜡覆盖液面                                                      |
| 9  | <u>赖氨酸</u>   | 试验孔变为<br>绿色或蓝色,<br>同时对照管为<br>黄色或黄绿色 | 试验管和对照<br>管均变为黄色<br>或黄绿色 |         |                                                                      |
| 10 | <u>鸟氨酸</u>   |                                     |                          |         |                                                                      |
| 11 | <u>氨基酸对照</u> |                                     |                          |         |                                                                      |
| 12 | <u>粘液酸</u>   | 试验管黄色或黄<br>绿色, 同时对照<br>管蓝色或绿色       | 试验管与对照<br>管均为蓝色<br>或绿色   |         |                                                                      |
| 13 | <u>粘液酸质控</u> |                                     |                          |         |                                                                      |
| 14 | 葡萄糖铵         | 黄色或黄绿色                              | 蓝色或绿色                    |         |                                                                      |
| 15 | 柠檬酸盐         | 蓝色或深绿色                              | 淡绿或黄绿色                   | 24~48   |                                                                      |
| 16 | 动力           | 扩散生长                                | 沿穿刺线生长                   | 18~24   | 穿刺接种, 竖立培育                                                           |
| 17 | 氧化酶          | 蓝紫色                                 | 无色                       | —       | 取小块洁净滤纸(需自备), 滴加1滴氧化酶试剂, 用无菌玻璃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                                                                                                                                                                         | 14                                                                                                                                                                         | 15                                                                                                                                                                         | 16             | 17                                                                                                                                                                         |
|---------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 反应名称    | O<br>N<br>P<br>G                                                                                                                                                       | 尿素                                                                                                                                                                     | 水杨苷                                                                                                                                                                    | 七叶苷                                                                                                                                                                    | 甘露醇                                                                                                                                                                    | 棉子糖                                                                                                                                                                    | 甘油                                                                                                                                                                     | 淀粉质                                                                                                                                                                    | 赖氨酸                                                                                                                                                                    | 鸟氨酸                                                                                                                                                                    | 氨基酸对照                                                                                                                                                                    | 粘液酸                                                                                                                                                                        | 粘液酸质控                                                                                                                                                                      | 葡萄糖铵                                                                                                                                                                       | 柠檬酸盐                                                                                                                                                                       | 动力             | 氧化酶                                                                                                                                                                        |
| 阳性结果(+) | <br> | <br> | <br> | <br> | <br> | <br> | <br> | <br> | <br> | <br> | <br> | <br> | <br> | <br> | <br> | 扩散<br>生长       | <br> |
| 阴性结果(-) |                                                                                       | <br> | <br> | <br> | <br> | <br> | <br> | <br> | <br> | <br> | <br> | <br> | <br> | <br> | <br> | 沿穿<br>刺线<br>生长 |                                                                                         |

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。