

单核细胞增生李斯特氏菌生 化鉴定试剂盒使用说明书

- 使用前请仔细阅读本说明书 •

EasyID[®]

【产品名称】

通用名称: EasyID单核细胞增生李斯特氏菌生化鉴定试剂盒

英文名称: EasyID Biochemical Identification Kit for *Listeria monocytogenes*

【包装规格】 10测试/盒

【产品编号】 HKI008

【产品简介】

本试剂盒基于一步加样技术,用于单核细胞增生李斯特氏菌的生化鉴定(GB 4789.30)。

【产品组分】

主要组分: EasyID单核细胞增生李斯特氏菌生化鉴定条10条、发酵添加剂10瓶、半固体琼脂10瓶、3%过氧化氢溶液10瓶。

其它组分: 悬浮培养基10瓶、麦氏比浊管1瓶、甲基红试剂1瓶、VP试剂甲液1瓶、VP试剂乙液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。

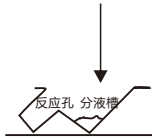
【使用指南】

- 1 取鉴定条及悬浮培养基,使用前平衡至室温;开启同等数量的发酵添加剂、3%过氧化氢溶液和半固体琼脂;
- 2 从TSA-YE平板上直接挑取可疑单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穿刺接种于半固体琼脂和血平板中;按表3备注方法开展过氧化氢酶试验并记录结果;

- 3 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；
- 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。再次从右侧掀开贴膜，向第3、4、5、6号孔准确添加30 μL发酵添加剂，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

- 5 将已接种的半固体琼脂置于25~30℃下培养，血平板和鉴定条置于36℃±1℃培养；培养完毕，按国标要求读取溶血试验结果，按表3并对照比色卡读取第1~6孔颜色和半固体琼脂并生长情况，记录结果；掀开贴膜，向第7号孔小心滴加1滴甲基红试剂，立即观察并记录结果；向第8号孔依次逐滴加入3滴VP试剂甲液和2滴VP试剂乙液，不贴紧贴膜，暴露空气10~30 min后，观察并记录结果；旋紧配套试剂瓶盖，并置于2~8℃保存；
- 6 综合菌落形态和GB 4789.30单核细胞增生李斯特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：血平板、微量移液器及无菌吸头、生化培养箱等；
- 2 所含悬浮培养基及发酵添加剂为本试剂盒专用，不可替换或用于其他试验；第3、4、5、6孔可使用同一瓶发酵添加剂；
- 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 μ 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 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ 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 4789.30 食品安全国家标准 食品微生物学检验 单核细胞增生李斯特氏菌检验

【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月31日

【质量控制】

接种质控菌株后，将鉴定条于36 °C ± 1 °C下、半固体琼脂于30 °C下培养24 h，结果如表1:

表1 质量控制

序号	反应名称	单核细胞增生 李斯特氏菌 ATCC19115	粪产碱杆菌 CMCC(B)40001	肠炎沙门氏菌 ATCC13076
1	七叶苷	+	-	-
2	甘露醇	-	-	+
3	<u>葡萄糖</u>	+	-	+
4	<u>麦芽糖</u>	+	-	+
5	<u>鼠李糖</u>	+	-	+
6	<u>木糖</u>	-	-	+
7	<u>MR</u>	+	-	+
8	<u>VP</u>	+	-	-
9	动力	+	+	+
10	过氧化氢酶	+	+	+

注: +阳性, -阴性。

表2 GB4789.30单核细胞增生李斯特氏菌特征与其他李斯特氏菌的区别

菌种	溶血反应	葡萄糖	麦芽糖	MR/VP	甘露醇	鼠李糖	木糖	七叶苷
单核细胞增生李斯特氏菌	+	+	+	+/+	-	+	-	+
格氏李斯特氏菌	-	+	+	+/+	+	-	-	+
斯氏李斯特氏菌	+	+	+	+/+	-	-	+	+
威氏李斯特氏菌	-	+	+	+/+	-	V	+	-
伊氏李斯特氏菌	+	+	+	+/+	-	-	+	+
英诺克李斯特氏菌	-	+	+	+/+	-	V	-	+

















注：+ 阳性；- 阴性；V 反应不定。

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	七叶苷	黑色或棕黑色	棕黄色或黄色	18~24	接种后, 准确添加30 μL 发酵添加剂
2	甘露醇				
3	<u>葡萄糖</u>				
4	<u>麦芽糖</u>	黄色或黄绿色	蓝色或绿色		
5	<u>鼠李糖</u>				
6	不糖				
7	<u>MR</u>	红色	黄色或橙色	24	培养后小心滴加1滴甲基红试剂, 立即观察并记录结果
8	<u>VP</u>	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
9	动力	扩散生长	沿穿刺线生长	24~48	穿刺接种, 竖立培育
10	过氧化氢酶	产生气泡	不产生气泡	-	挑取固体培养基上菌落一接种环, 置于一瓶3%过氧化氢溶液中, 观察结果

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	反应名称	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
		七叶苷	甘露醇	葡萄糖	麦芽糖	鼠李糖	木糖	M R	V P	动力	过氧化氢酶
	阳性结果(+)										
	阴性结果(-)										

注：比色卡所印均为典型实例，未列出的实例请按表3判定规则自行判定。