

沙门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沙门氏菌生化鉴定试剂盒

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

【包装规格】 10测试/盒

【产品编号】 HKI002

【产品简介】

本试剂盒基于一步加样技术, 用于沙门氏菌的生化鉴定 (GB 4789.4)。

【产品组分】

主要组分: EasyID沙门氏菌生化鉴定条10条、氰化钾培养基10瓶、
氰化钾对照10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、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。

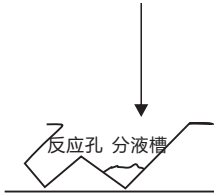
【使用指南】

- 1 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沙门氏菌属典型特征)接种于营养琼脂或TSA平板进行纯化;
- 2 取鉴定条及悬浮培养基, 使用前平衡至室温;
- 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中(需另外购买);
- 4 打开氰化钾培养基及对照管; 撕开鉴定条铝箔袋, 取出鉴定条及底

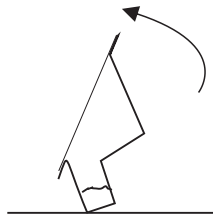
座，观察是否异常（如破损请勿使用），并分别在适当位置做好标记；
5 从底座上取下鉴定条，并从鉴定条右侧向左掀开贴膜，用移液器小心注入2 mL菌悬液于分液槽中（避免使菌液提前流入反应孔），贴回贴膜，并依次抬起左右两侧数次，使菌悬液液面达同一高度，然后水平托起分液槽端，确保菌液流入各反应孔中，贴紧薄膜并放回底座。再次从右侧掀开贴膜，向第8、9、10号孔中各滴加3~4滴无菌液体石蜡，贴紧薄膜；

图1 鉴定条横截面及操作示意图

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 吸取50 μ L菌悬液于氰化钾培养基及对照管中，盖紧胶塞；
7 将接种的鉴定条和反应管置于 $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养；培养完毕，记录三糖铁琼脂培养结果，按表6并对照比色卡读取鉴定条第1~10孔、氰化钾培养基及对照管生长情况并记录结果，掀开贴膜，向第11孔滴加2滴靛基质试剂，立即观察并记录第11孔结果；旋紧试剂瓶盖并放回 $2\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 8\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存；
8 综合菌落形态和GB 4789.4 沙门氏菌属生化试验反应结果（见表2~表5）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、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 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；
- 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 4789.4 食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验

【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】 2023年06月15日

【质量控制】

将接种后的鉴定条和反应管置于 36 ± 1 °C下培养24 h, 结果如表1:

表1 质量控制

序号	反应名称	肠炎沙门氏菌 ATCC13076	痢疾志贺氏菌 CMCC(B)51105	产气肠杆菌 ATCC13048	小肠结肠炎耶尔森氏菌 CMCC(B)52204
1	甘露醇	+	-	+	+
2	山梨醇	+	-	+	+
3	卫矛醇	+	-	-	-
4	水杨苷	-	-	+	-
5	ONPG	-	-	+	+
6	丙二酸盐	-	-	+	-
7	尿素	-	-	-	+
8	赖氨酸	+	-	+	-
9	氨基酸对照	黄色	黄色	黄色	黄色
10	硫化氢	+	-	-	-
11	靛基质	-	+	-	-
12	氰化钾	-	-	+	-
13	氰化钾对照	浑浊	浑浊	浑浊	浑浊
注: +阳性, -阴性。					

表2 GB4789.4沙门氏菌属在三糖铁琼脂和赖氨酸脱羧酶试验培养基内的反应结果

三糖铁琼脂			赖氨酸脱羧酶试验培养基	初步判断
斜面	产气	硫化氢		
K	A +(-)	+(-)	+	可疑沙门氏菌属
K	A +(-)	+(-)	-	可疑沙门氏菌属
A	A +(-)	+(-)	+	可疑沙门氏菌属
A	A +/-	+/-	-	非沙门氏菌
K	K +/-	+/-	+/-	非沙门氏菌

注: K: 产碱; A: 产酸; +: 阳性; -: 阴性; +(-): 多数阳性; +/-: 阳性/阴性

表4 GB4789.4沙门氏菌属生化反应初步鉴别表

pH7.2 尿素	氰化钾 (KCN)	赖氨酸脱羧酶	判定结果
-	-	-	甲型副伤寒沙门氏菌 (要求血清学鉴定结果)
-	+	+	沙门氏菌IV或V (要求符合本群生化特性)
+	-	+	沙门氏菌个别变体 (要求血清学鉴定结果)

注: +: 阳性; -: 阴性; +/-: 阳性/阴性

表3 GB4789.4沙门氏菌属生化反应初步鉴别表

反应序号	硫化氢 (H ₂ S)	靛基质	pH7.2 尿素	氰化钾 (KCN)	赖氨酸脱羧酶
A1	+	-	-	-	+
A2	+	+	-	-	+
A3	-	-	-	-	+/-

注: +: 阳性; -: 阴性; +/-: 阳性/阴性

反应序号A1: 典型反应判定为沙门氏菌属。如尿素、KCN和赖氨酸脱羧酶3项中有1项异常, 按表4可判定为沙门氏菌。如有2项异常为非沙门氏菌。

反应序号A2: 补做甘露醇和山梨醇试验, 沙门氏菌靛基质阳性变体两项试验结果均为阳性, 但需要结合血清学鉴定结果进行判定。

反应序号A3: 补做ONPG。ONPG阴性为沙门氏菌, 同时赖氨酸脱羧酶阳性, 甲型副伤寒沙门氏菌为赖氨酸脱羧酶阴性。

必要时按表5进行沙门氏菌生化群的鉴别。

表5 GB4789.4沙门氏菌属各生化群的鉴别

项目	I	II	III	IV	V	VI
卫矛醇	+	+	-	-	+	-
山梨醇	+	+	+	+	+	-
水杨苷	-	-	-	+	-	-
ONPG	-	-	+	-	+	-
丙二酸盐	-	+	+	-	-	-
KCN	-	-	-	+	+	-

注: +表示阳性, -表示阴性。

表6 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	甘露醇	黄色或黄绿色	蓝色或绿色	18~24	必要时需延长培养至48h
2	山梨醇				
3	卫矛醇				
4	水杨苷				
5	ONPG	黄色	无色		
6	丙二酸盐	蓝色或深绿色	淡绿色或黄绿色	24~48	必要时需延长培养至96h
7	尿素	深红色	粉红色黄色或橙色		
8	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
9	氨基酸对照	黑色沉淀	淡黄色		
10	硫化氢	紫红色环 (液面)	黄绿色或淡黄色环 (液面)		培养后滴加靛基质试剂2滴并立即观察
11	靛基质	试验管与对照管均浑浊	试验管澄清，对照管浑浊	24	接种后盖紧胶塞
12	氰化钾				
13	氰化钾对照				

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	11	12	13
阳性结果 (+)	甘露醇	山梨醇	卫矛醇	水杨苷	ONPG	丙二酸盐	尿素	赖氨酸	氨基酸对照	硫化氢	靛基质	氰化钾	氰化钾对照
阴性结果 (-)													

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6判定规则自行判定。