



EasyID小肠结肠炎耶尔森氏菌 生化鉴定试剂盒使用说明书

• 使用前请详细阅读本说明书 •

广东环凯微生物科技有限公司 研制

【产品名称】

通用名称: EasyID小肠结肠炎耶尔森氏菌生化鉴定试剂盒

英文名称: EasyID Biochemical Identification Kit for *Yersinia enterocolitica*

【包装规格】 10测试/盒

【产品编号】 HKI010

【产品简介】

本试剂盒基于一步加样技术，用于小肠结肠炎耶尔森氏菌的生化鉴定（GB 4789.8）。

【产品组分】

主要组分: EasyID小肠结肠炎耶尔森氏菌生化鉴定条10条、半固体琼脂20瓶、发酵添加剂10瓶。

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；开启发酵添加剂和两倍数量的半固体琼脂；
- 2 从TSA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；用接种针挑取同一可疑单菌落并同时穿刺接种于2支半固体琼脂中；

- 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起贴膜，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），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。再次从右侧掀起贴膜，向第6号孔准确添加30 μL发酵添加剂，再分别向第7、8号孔中各滴加3~4滴无菌液体石蜡，贴紧薄膜；

鉴定条横截面及操作示意图

从右侧掀起贴膜，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 取一支已接种的半固体琼脂置于36°C ± 1°C下培养，再将鉴定条和其他反应管置于26°C ± 1°C培养；培养完毕，按表3并对照比色卡读取两支半固体琼脂结果及鉴定条第1~8孔颜色，并记录；掀起贴膜，向第9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10~30min后，观察并记录结果；用毕旋紧配套试剂瓶盖，并置于2~8°C保存；
- 6 综合菌落形态和GB 4789.8小肠结肠炎耶尔森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：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 $100 \mu\text{L}$ ，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 $2\sim8^\circ\text{C}$ 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°C 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 4789.8 食品安全国家标准 食品微生物学检验 小肠结肠炎耶尔森氏菌检验

【生产企业】

企业名称：广东环凯生物科技有限公司

生产地址：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】 2019年12月01日

【质量控制】

将已接种的鉴定条、反应管置于 $26^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 下（其中一支半固体琼脂培养于 $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ）培养24h，结果如表1：

表1 质量控制

序号	反应名称	小肠结肠炎耶尔森氏菌 CMCC(B)52204	产气肠杆菌 ATCC13048	痢疾志贺氏菌 CMCC(B)51137
1	尿素酶	+	-	-
2	蔗糖	+	+	-
3	棉子糖	-	+	-
4	山梨醇	+	+	-
5	甘露醇	+	+	-
6	鼠李糖	-	+	+
7	鸟氨酸	+	+	-
8	氨基酸对照	黄色	黄色	黄色
9	<u>VP (26°C)</u>	+	+	-
10	26 \pm 1°C	+	+	-
	36 \pm 1°C	-	+	-

注: +阳性, -阴性。

表2 GB4789.8 小肠结肠炎耶尔森氏菌与其他相似菌的生化性状鉴别表

项目	小肠结肠炎耶尔森氏菌 <i>Yersinia enterocolitica</i>	中间型耶尔森氏菌 <i>Yersinia intermedia</i>	弗氏耶尔森氏菌 <i>Yersinia frederiksenii</i>	克氏耶尔森氏菌 <i>Yersinia kirstenseni</i>	假结核耶尔森氏菌 <i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	鼠疫耶尔森氏菌 <i>Yersinia pestis</i>
动力 (26℃)	+	+	+	+	+	-
尿素酶	+	+	+	+	+	-
V-P试验 (26℃)	+	+	+	-	-	-
鸟氨酸脱羧酶	+	+	+	+	-	-
蔗糖	d	+	+	-	-	-
棉子糖	-	+	+	-	-	d
山梨醇	+	+	-	+	-	-
甘露醇	+	+	+	+	+	+
鼠李糖	-	+	+	-	-	+

注:+阳性,-阴性;d有不同生化型。

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	尿素	红色	黄色或橙色	18~24	
2	蔗糖			24~48	
3	棉子糖				
4	山梨醇	黄色或黄绿色	蓝色或蓝色		
5	甘露醇				
6	鼠李糖				接种后，准确添加30 μL发酵添加剂
7	鸟氨酸	试验孔变为蓝色或深绿色，同时对照孔为黄色或黄绿色	试验孔和对照孔均变黄或黄绿色	18~24	接种后滴加3~4滴石蜡覆盖液面
8	氨基酸对照				培养后依次逐滴加入3滴VP试剂甲液和2滴VP试剂乙液，不贴紧贴原，室温放10~30min后观察并记录结果
9	VP (26°C)	红色	无色或淡黄色		
10	动力	26 ± 1°C 36 ± 1°C	扩散生长	沿穿刺线生长	穿刺接种，竖立培育

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	36℃	26℃
											V	P
反应名称	尿素	蔗糖	棉子糖	山梨醇	甘露醇	鸟氨酸	鼠李糖	甘露醇	氨基酸对照	扩散生长	沿穿刺线生长	沿穿刺线生长
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。