EasyID®

克罗诺杆菌
生化鉴定试剂盒使用说明书

• 使用前请详细阅读本说明书 •

广东环凯生物科技有限公司 研制

EasyID®

【产品名称】

通用名称: EasyID克罗诺杆菌生化鉴定试剂盒

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

【包装规格】 10测试/盒

【产品编号】 HKI004

【产品简介】

本试剂盒基于一步加样技术，用于克罗诺杆菌的生化鉴定（GB 4789.40）。

【产品组分】

主要组分: EasyID克罗诺杆菌生化鉴定条10条、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、氧化酶试剂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 取鉴定条及悬浮培养基，使用前平衡至室温;

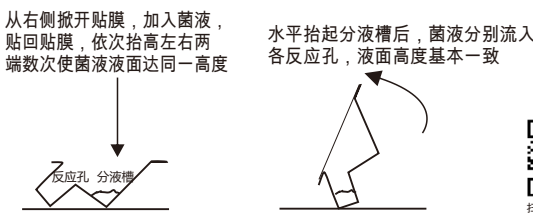
2 从TSA平板上直接挑取可疑单菌落接种于悬浮培养基中，制成0.5麦氏浊度的均一菌悬液; 取一小块洁净滤纸(需使用者自备)，滴加1滴氧化酶试剂，以刚刚浸湿为宜，用无菌玻棒或塑料接种环挑取同一可疑单菌落并涂于纸片上，30秒内观察滤纸片颜

色并记录，旋紧氧化酶试剂瓶盖放回包装盒并置于2～8 ℃保存；

3 打开发酵添加剂；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(或可每孔加入150μL菌悬液)。再次从右侧掀开贴膜，向第4、5号孔中准确添加30 μL发酵添加剂，再分别向第6、7、8、9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



5 将接种的鉴定条和反应管置于36 ℃±1 ℃培养18～24 h；培养完毕，按表3并对照比色卡读取各孔颜色，并记录结果;

6 综合菌落形态和GB4789.40克罗诺杆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、无菌吸头、生化培养箱;

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 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;

4 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;

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; 所有未用完的配套试剂均应旋紧瓶盖放回包装盒并置于2～8 ℃下保存；

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 min之后，按医疗垃圾相应的处理方式处理。

【执行标准】 BHK/QW-SJZ-ZD-024-2021 Easy ID 生化鉴定试剂盒

【参考文献】

GB 4789.40 食品安全国家标准 食品微生物学检验 克罗诺杆菌检验

【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】 2024年03月27日

【质量控制】

将鉴定条、反应管接种质控菌株于36 ℃±1 ℃下培养18-24 h(氧化酶除外)，结果如表1:

表1 质量控制

序号	反应名称	阪崎肠杆菌 ATCC29544	大肠埃希氏菌 ATCC8739	福氏志贺氏菌 CMCC(B)51572
1	柠檬酸盐	+	-	-
2	山梨醇	-	+	-
3	蔗糖	+	-	-
4	蜜二糖	+	+	-
5	鼠李糖	+	+	-
6	赖氨酸	-	+	-
7	鸟氨酸	+	-	-
8	精氨酸	+	-	-
9	氨基酸对照	黄色	黄色	黄色
10	氧化酶	-	-	-
注：+阳性，-阴性。				

表2 GB 4789.40 克罗诺杆菌的主要生化特征

生化试验		特征
氧化酶		-
L-赖氨酸脱羧酶		-
L-鸟氨酸脱羧酶		(+)
L-精氨酸双水解酶		+
柠檬酸水解		(+)
发酵	D-山梨醇	(-)
	L-鼠李糖	+
	D-蔗糖	+
	D-蜜二糖	+
注：+： ＞99%阳性；-： ＞99%阴性；(+)：90%~99%阳性；(-)：90%~99%阴性。		

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	柠檬酸盐	蓝色	淡绿色或绿色	18-24	必要时延长培养至48h
2	山梨醇	黄色或橙黄色	红色或橙红色		
3	蔗糖				
4	蜜二糖				接种后，准确添加30μL发酵添加剂
5	鼠李糖				接种后，准确添加30μL发酵添加剂
6	赖氨酸	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为黄色或黄绿色		接种后滴加3-4滴石蜡覆盖液面
7	鸟氨酸				
8	精氨酸				
9	氨基酸对照				
10	氧化酶	蓝紫色	不变色	无	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

注：反应名称加上划线表示接种后培养前需添加配套试剂；

EasyID®

比色卡

反应序号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
反应名称	柠檬酸盐	山梨醇	蔗糖	蜜二糖	鼠李糖	赖氨酸	鸟氨酸	精氨酸	氨基酸对照	氧化酶试验
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。