

细菌新型生化鉴定管使用说明

— 071801 蜡样芽胞杆菌生化鉴定盒（9种×10次）

一）整套试剂及用品

鉴定生化反应的9种试剂（表1）、配套试剂各1瓶（无菌液体石蜡、VP试剂甲、乙液、硝酸盐还原试剂甲、乙液），10瓶0.85%无菌生理盐水、1瓶1McFarland的浊度管、10支一次性吸管。

二）生化管的使用方法

开启西林瓶前，用75%酒精棉消毒西林瓶表面，在无菌条件下，按铝盖上的箭头方向打开铝盖，撕开铝盖，打开西林瓶胶塞（如图1）。所有的西林瓶在使用后均高压灭菌后方可弃去。

三）蜡样芽胞杆菌生化鉴定盒的详细使用方法

蜡样芽胞杆菌为革兰氏阳性大杆菌，宽度在 $1\mu\text{m}$ 或 $1\mu\text{m}$ 以上，芽胞呈卵圆形，不突出菌体，多位于菌体中央或稍偏于一端。能产生卵磷脂酶和酪蛋白酶，不发酵甘露醇和木糖。在MYP平板上为粉红色菌落，周围有粉红色的晕；在酪蛋白琼脂上菌落周围有透明圈。本菌在肉汤中生长浑浊，常微有菌膜或壁环，振荡易乳化，在普通琼脂平板上生成的菌落不透明、表面粗糙、似毛玻璃状或融蜡状、边缘不齐。

将待试品用10倍梯度稀释法稀释至合适的浓度，MYP平板分离， 37°C 培养12~20小时，将疑似蜡样芽胞杆菌的新鲜菌苔置于无菌生理盐水中，以1McFarland的浊度管为标准对照，制备成1McFarland（约 $3.0\times 10^8\text{cfu/mL}$ ）菌悬液，往每种微量生化管内滴加2滴（约0.06mL）菌悬液。**将已接种的西林瓶再套上胶塞，一般采用全加塞（如图2左两瓶所示），特殊情况在下表注明采用半加塞（如图2右两瓶所示），直立于内托的凹槽内（如图2），或放置于合适的瓶架中，于 $35-37^{\circ}\text{C}$ 培养箱中培养，结果观察见表1。**

注意：如有特殊的接种方式或培养时间，请详见每种生化鉴定管附带的使用说明。



按箭头方向打开西林瓶盖

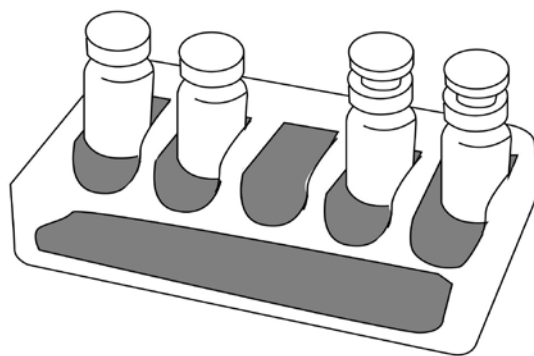


图2 西林瓶放置培养图

图1 西林瓶开启图

表1

产品名称	结果判定		培养时间 (小时)	使用说明
	阳性	阴性		
葡萄糖(厌氧)	黄色	绿色	24-48	加灭菌液体石蜡3~4滴覆盖表面。
3%过氧化氢溶液 (H_2O_2)	剧烈起泡	不明显	--	直接滴加在玻片的新鲜菌苔涂片上
半固体琼脂	穿刺线浑浊	穿刺线清晰	18-24	挑取新鲜菌苔穿刺接种后置 37°C 培养箱中培养。
硝酸盐(还原)	深红色	略带 淡粉红色	18-24	培养后加硝酸盐还原试剂甲、乙液各2滴，混匀，立即观察结果。
溶菌酶营养肉汤/ 质控营养肉汤	质控营养肉汤和营养肉汤浑浊	质控营养肉汤浑浊，溶菌酶营养肉汤清晰	24-48	取菌悬液一环，接种于溶菌酶肉汤中， 37°C 下培养。
甘露醇	黄色	紫色	18-24	
葡萄糖磷酸盐胨水 (VP)	红色	不变色	48	培养后依次加入8滴VP试剂甲液及4滴乙液，混匀，再培养10-20分钟观察结果。
蛋白质毒素结晶染色液	红色结晶体	无红色 结晶体		参见表3下面的文字表述。

备注：本鉴定盒是按照环凯产品目录中的品种成份从左到右的顺序摆放。

四) 蜡样芽胞杆菌的生化分型和鉴定特征 (只供参考)

1. 蜡样芽胞杆菌可根据对柠檬酸盐利用、硝酸盐还原、淀粉水解、V-P 反应、明胶液化性状的试验, 将该菌分成不同的型别。见表 2。

表 2 蜡样芽胞杆菌生化分型

型别	硝酸盐还原	柠檬酸盐利用	淀粉水解	明胶液化	V-P 反应
1	+	+	+	+	+
2	+	-	+	+	+
3	+	+	-	+	+
4	-	-	+	+	+
5	-	-	-	+	+
6	-	+	-	+	+
7	-	+	+	+	+
8	+	-	-	+	+
9	+	-	-	+	-
10	+	-	+	+	-
11	+	+	+	+	-
12	+	+	-	+	-
13	-	-	+	-	-
14	-	+	-	+	-
15	-	+	+	+	-

注：“+” 90%~100%的菌株阳性；“-” 90%~100%菌株阴性

2. 本菌与其他类似菌的鉴别。见表 3。

表 3 蜡样芽胞杆菌与其他类似菌的鉴别

特征	蜡样芽胞杆菌	苏云金芽胞杆菌	蕈状芽胞杆菌	炭疽芽胞杆菌	巨大芽胞杆菌
革兰氏染色	+a	+	+	+	+
过氧化氢酶	+	+	+	+	+
动力	±	±	-	-	±
硝酸盐还原	+	+	+	+	-
酪蛋白分解	+	±	±	-/+	±
溶菌酶耐性	+	+	+	+	-
卵黄反应	+	+	+	+	-
葡萄糖利用(厌氧)	+	+	+	+	-
V-P 试验	+	+	+	+	-
甘露醇	-	-	-	-	+
溶血	+	+	+	-/+	-
根状生长	-	-	+	-	-
蛋白质毒素晶体	-	+	-	-	-

注：“+” 90%~100%的菌株阳性；“-” 90%~100%菌株阴性；“±” 大多数菌株阳性。

本菌在生化性状上与苏云金芽胞杆菌极为相似, 但后者可藉细胞内产生蛋白质毒素结晶体加以鉴别。其方法如下: 取经 30±1℃培养 24±2h 并于室温放置 3~4 天的营养琼脂 (022022, 适用于芽胞杆菌蛋白质毒素结晶体的形成) 培养物少许于载玻片上, 滴加蒸馏水混匀并涂成菌膜。经自然干燥, 微火固定后, 加甲醇作用 30 秒后倾掉, 再通过火焰干燥, 于载玻片上滴满 0.5% 碱性复红液, 放火焰上加热微见蒸气(勿使染液沸腾)后持续 1.5 分钟, 移去火焰, 更换染色液再次加温染色 30 秒, 倾去染液用自来水彻底清洗、晾干后油镜镜检。观察有无游离芽胞和染成深红色的菱形、正方形或其它性状的蛋白质毒素结晶体(如发现游离芽胞形成的不丰富, 应将培养物置室温 2~3 天再行检查), 如有即为苏云金芽胞杆菌, 蜡样芽胞杆菌检查为阴性。

广东环凯微生物科技有限公司

地址: 广州市萝岗区广州开发区科学城神舟路 788 号

邮编: 510663 传真: 020-32078333 转 8619

销售热线: 020-32078333 转 8620、8602、8618、8611

技术热线: 020-32078333 转 8877、8876

Http://www.huankai.com E-mail: Webmaster@huankai.com