

胎儿弯曲杆菌的分离鉴定方法

胎儿弯曲杆菌的分离鉴定方法

1 范围

本文件规定了胎儿弯曲杆菌（*Campylobacter fetus*）的分离鉴定方法。

本文件适用于公牛包皮垢及精液、母牛阴道粘液、流产胎盘及胎儿的肝、肺和胃内容物等样品中胎儿弯曲杆菌的分离与鉴定，其他动物也可参照使用。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款，其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB 19489 实验室 生物安全通用要求

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

PCR：聚合酶链式反应（Polymerase chain reaction）

实时荧光 PCR：实时荧光聚合酶链式反应（Real-time polymerase chain reaction）

DNA：脱氧核糖核酸（Deoxyribonucleic acid）

rRNA：核糖体核糖核酸（Ribosomal ribonucleic acid）

Ct 值：循环阈值（Cycle Threshold value）

5 器材设备

5.1 荧光定量 PCR 仪。

5.2 PCR 仪。

5.3 电泳设备。

5.4 高速冷冻离心机（可控温至 4℃、离心速度可达 12 000g 以上）。

5.5 高压灭菌器。

5.6 天平（感量 0.01 g，感量 0.0001g）。

- 5.7 冰箱 (2 °C~8 °C、-20 °C或以下)。
- 5.8 涡旋混合器。
- 5.9 微量移液器 (0.2 μL~2 μL、1 μL~10 μL、10 μL~100 μL、20 μL~200 μL、100 μL~1 000 μL, 并配备与移液器匹配的吸头)。
- 5.10 二级生物安全柜。
- 5.11 微需氧培养装置 (提供微需氧条件: 5%氧气、10%二氧化碳、85%氮气)。
- 5.12 显微镜 (10×~100×)
- 5.13 微生物生化鉴定系统。
- 5.14 分光光度计或核酸蛋白测定仪。
- 5.15 麦氏比浊仪
- 5.16 电泳凝胶成像分析系统
- 5.17 微生物质谱仪 (MALDI-TOF MS)
- 5.18 水浴装置: 36 °C±1 °C、100 °C。
- 5.19 恒温培养箱。

1 试剂和材料

6.1 要求

除另有规定外,所有试剂均为分析纯,分子生物学试验用水符合 GB/T 6682 规定的一级水,其它试验用水符合 GB/T 6682 规定的二级水。培养基按附录A 配制或用商品化产品。

6.2 培养基和试剂

- 6.2.1 增菌运输培养基 (transport enrichment medium, TEM): 按照附录 A 的 A.1 执行。
- 6.2.2 Skirrow 血琼脂: 按照附录A 中 A.2 的规定执行。
- 6.2.3 哥伦比亚血琼脂: 按照附录A 中 A.3 的规定执行。
- 6.2.4 布氏肉汤: 按照附录 A 中 A.4 的规定执行。
- 6.2.5 氧化酶溶液: 按照附录A 中 A.5 的规定执行。
- 6.2.6 3%过氧化氢溶液: 按照附录A 中 A.6 的规定执行。
- 6.2.7 巯基乙酸盐肉汤: 按照附录A 中 A.7 的规定执行。
- 6.2.8 马尿酸钠水解试剂: 按照附录A 中 A.8 的规定执行。
- 6.2.9 5%来苏尔。
- 6.2.10 无菌 PBS。
- 6.2.11 生化鉴定试剂盒或生化鉴定卡。
- 6.2.12 琼脂糖。
- 6.2.13 50×TAE 电泳缓冲液。
- 6.2.14 实时荧光 PCR 预混液。
- 6.2.15 α-氰-4-羟基肉硅酸 (HCCA): 色谱纯。

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/636232100111010151>