

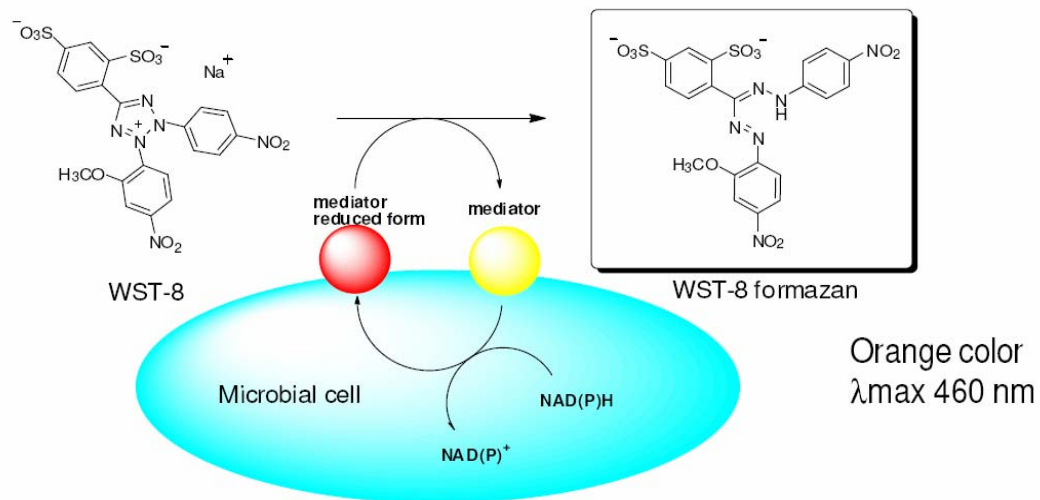
请在使用前仔细阅读说明书

## 微生物活性检测试剂盒-WST

——比色法微生物代谢活性检测

### 概述:

微生物活性检测试剂盒-WST是一种全新的通过比色法检测微生物代谢活性的试剂盒。本试剂盒采用WST<sup>®</sup>-8作为比色指示剂。WST<sup>®</sup>-8通过电子载体被细胞内的脱氢酶还原为水溶性的橙黄色甲臞染料。(如下图所示),生成的甲臞量与活细胞数量成正比。本试剂盒包含所有所需的试剂。可以简单,快速的进行检测。



### 试剂内含:

- WST 溶液 : 1 ml x 5 tubes
- 电子载体溶液 (DMSO溶液) : 0.5ml x 1 tube

贮藏条件: 4℃保存。

### 所需设备和材料:

- 酶标仪 (450-490nm滤光片)
- 96孔培养板
- 培养箱
- 10  $\mu$ l, 200  $\mu$ l 单枪和 200  $\mu$ l 排枪
- 1.5ml tube

### 操作说明书:

#### 染色溶液的配制:

在无菌的1.5ml tube内, 按9:1的比例混合WST溶液和电子载体溶液。(该配制好的染色溶液可以在4℃保存1个月)

\*在96孔板中, 每孔需加入10  $\mu$ l染色溶液, 请提前计算并准备好适当提及的染色溶液。

\*如果您检测的样品是革兰氏阳性菌、真菌、低响应菌种(如副溶血弧菌), 请先用DMSO或无菌水8倍稀释电子载体溶液, 将WST溶液和稀释后的电子载体溶液按照9:1的比例配制成染色溶液。

#### 微生物代谢检测:

1. 制备适当浓度微生物细胞的悬液, 在96孔板内每孔接种190 $\mu$ l该悬液
2. 每孔加入10 $\mu$ l的染色溶液
3. 将培养板在培养箱中培养(37℃或合适的温度)
4. 用酶标仪测定在450nm处的吸光度

### 经本试剂盒测试过的微生物种类:

**真菌:** *Candida utilis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Zygos accharomyces rouxii*, *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis*

**革兰氏阳性菌:** *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Corynebacterium glutamicum*, *Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus casei*, *Listeria monocytogenes*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*

**革兰氏阴性菌:** *Acetobacter sp.*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Serratia marcescens*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Yersinia enterocolitica*

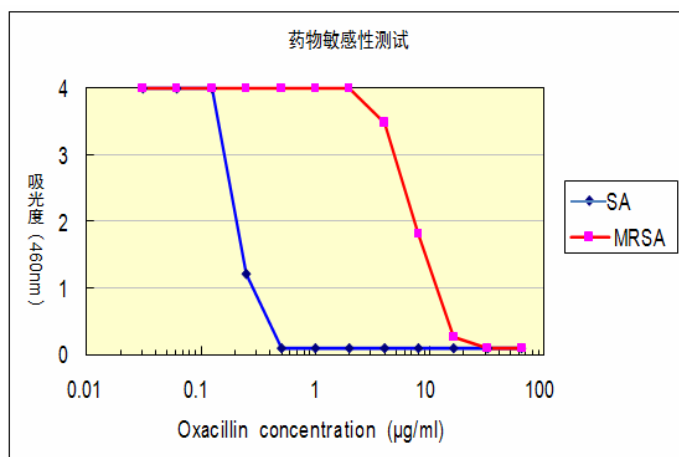
### 药物敏感性测试:

#### 革兰氏阴性菌:

1. 根据McFarland比浊法制备 $10^7$ CFU/ml的微生物细胞悬液。  
(例: 用无菌生理盐水稀释细胞悬液, 调整550nm处的吸光度在0.125。再用无菌生理盐水10倍稀释, 此时的细胞浓度约为 $10^7$ CFU/ml)
2. 用Mueller-Hinton肉汤稀释制备不同浓度的抗菌药物溶液  
(例: 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0.5, 0.25, 0.12, 0.06  $\mu\text{g/ml}$ )
3. 每孔加入Mueller-Hinton肉汤稀释过的抗菌药物溶液180 $\mu\text{l}$
4. 每中接种10 $\mu\text{l}$ 的 $10^7$ CFU/ml的细胞悬液 (最终细胞密度为 $10^4$ CFU/ml)
5. 在适当温度的培养箱内培养6个小时
6. 每孔加入10 $\mu\text{l}$ 的染色溶液后再培养2个小时
7. 用酶标仪测定在450nm处的吸光度

#### 革兰氏阳性菌、真菌、副溶血弧菌:

用DMSO或无菌水8倍稀释电子载体溶液, 将WST溶液和稀释后的电子载体溶液按照9:1的比例配制成染色溶液。其他步骤与革兰氏阴性菌的操作步骤一样。



MIC (Oxacillin concentration $\mu\text{g/ml}$ )		
	Microbial Viability Assay Kit-WST	Microdilution method
SA	0.5	0.5
MRSA	32	64

SA : *Staphylococcus aureus subsp. aureus* ( NBRC12732 ),

MRSA : Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus subsp. aureus* ( FJCM8702 )

### 注意事项:

1. WST<sup>®</sup>-8有可能会和还原物质反应造成吸光度的增加, 如果检测时的背景值过高 (O.D. >0.5) 请将还原物质从样品中分离。
2. 操作时要尽量避免气泡的产生, 否则会造成实验误差。
3. 实验的灵敏度 (O.D.值) 与微生物细胞的种类和代谢活性有关。建议先做预实验, 找出最佳的细胞数量和染色时间。