

# β-内酰胺酶检测试剂盒

本试剂盒由中国药品生物制品检定所（NICPBP）监制，试剂盒内所采用试药、菌株和培养基均是通过 NICPBP 验证的国家级标准品，可溯源。完全符合中华人民共和国卫生部《乳及乳制品中舒巴坦敏感 β-内酰胺酶类药物检验方法》。

NICPBP 2007 年发表的文章《Development of a Method for the Detection of β-Lactamases in Milk Samples》被 AOAC 认可为“已知的第一个牛奶中 β-内酰胺酶检测方法”，同时 NICPBP 根据实验结果，开发了 β-内酰胺酶的专用试剂盒，并授权北京祥龙环宇生物技术有限公司代理销售。

牛乳中添加 β-内酰胺酶并未进行安全性评价，因此，属于非法添加。本试剂盒是检测牛乳中添加 β-内酰胺酶的专用试剂盒，检测限为 4 U/mL。

**检测原理：**β-内酰胺酶可水解 β-内酰胺类抗生素（如青霉素），使其失去抗菌活性。而 β-内酰胺酶抑制剂（如舒巴坦）可抑制 β-内酰胺酶活性，使抗生素（如青霉素）维持其抗菌活性。

## 1 试剂盒包装规格（订货号：LAA-0000）

编号	组分名称	规格说明	货号	数量
1.1	培养基 II	200 mL , pH 6.8	LAA-000P	1 瓶
1.2	冷冻干燥青霉素（瓶号 A）	1 μg	LAA-000Q	12 管
1.3	冷冻干燥青霉素+舒巴坦（瓶号 B）	1 μg+50 μg	LAA-000QS	12 管
1.4	藤黄球菌 CMCC(B)28001 菌悬液(瓶号 C)	500 μL	LAA-000J	1 管
1.5	β-内酰胺酶标准品（瓶号 D）	1.6×10 <sup>4</sup> U/mL, 100 μL	LAA-000M	1 管
1.6	牛津杯（灭菌小钢管）	不包括 自己另配	LAA-000N	可选

## 2 操作程序

2.1 检测用平板为双层培养基（平皿直径 90 mm，底层培养基为 10 mL+菌层培养基 5 mL），200 mL 培养基可制备 11 块平板，其中 1 块平板作为对照用，其余 10 块平板可用于检测用。

2.2 取瓶装培养基，置沸水中使培养基彻底融解至液体状，铺平板底层，制备 11 块平板后，将瓶内剩余的 90 mL 培养基置于 55 °C 水浴中，加 90 μL 菌悬液(1.4)，在水浴中迅速摇匀，取 5 mL 铺菌层培养基。该操作在冬季时，要避免因平板底层温度过低而导致菌层厚薄不均，影响检测结果。

2.3 待菌层培养基彻底凝固后，将牛津杯置于制备好的检测用平板上，平均分配于平板的 4 个象限，放置 3 min。

2.4 待检样品的制备：液体样品需充分混匀，如样品为乳粉，则将乳粉按 1:10 的比例稀释。如样品为

酸性乳制品，应调节 pH 值至 6-7。

2.5 取待检样品 2 mL 置于瓶号 A 内，充分混匀，加 200  $\mu$ L 于牛津杯内。

2.6 取上述待检牛乳样 2 mL 置于瓶号 B 内，充分混匀，加 200  $\mu$ L 于牛津杯内。

2.7 水样对照：取瓶号 A 和瓶号 B 各 1 支，分别加无菌水 2 mL，各取 200  $\mu$ L 按上述检测程序加于牛津杯内。取瓶号 A 和瓶号 B 各 1 支，分别加无菌水 2 mL，再各加 5 倍稀释的  $\beta$ -内酰胺酶 10  $\mu$ L，充分混匀后。从上述 2 只管各取 200  $\mu$ L 按上述检测程序加于牛津杯内。

2.8 平板加盖陶瓷盖，37  $^{\circ}$ C 培养 16 h，观察结果。

### 3 结果判定

#### 3.1 水样对照

瓶号 A（含青霉素）水样，有抑菌圈约 25~30 mm；

瓶号 B（含青霉素+舒巴坦）水样，有相同直径的抑菌圈；

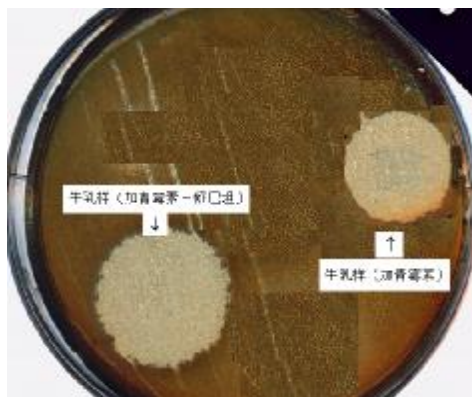
加酶瓶号 A（含青霉素+酶）水样，无抑菌圈或明显小于上述抑菌圈；

加酶瓶号 B（含青霉素+舒巴坦+酶）水样，有相同直径的抑菌圈。

水样对照必须符合上述结果，系统才能判定为成立，可对样品结果按照 3.2 进行判定。

#### 3.2 待检牛乳结果

当加于瓶号 B（青霉素+舒巴坦）样品牛奶的抑菌圈直径比加于瓶号 A（青霉素）的抑菌圈直径 $\geq$ 3mm 时，判定为阳性，即该待检牛奶中加有  $\beta$ -内酰胺酶（如下图示）。



3.3 如果瓶号 A（青霉素）和瓶号 B（青霉素+舒巴坦）均不产生抑菌圈，应将样品稀释后再进行检测。

### 4 注意事项：

试剂盒应在 4  $^{\circ}$ C 冰箱保存，有效期为 14 天。当保存时间超过 7 天后，菌层的加菌量可适当增加 1 倍，即剩余 90 mL 培养基加菌悬液 180  $\mu$ L。

**\*注意：所有沾过菌液的物品，必须经过无菌处理后方可再利用或丢弃。**