



## (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 116814401 A

(43) 申请公布日 2023. 09. 29

(21) 申请号 202310156749.4

(22) 申请日 2023.02.22

(71) 申请人 辽宁省微生物科学研究所

地址 122000 辽宁省朝阳市双塔区龙山街  
四段820号

(72) 发明人 敖静 池景良 李杨 高晓梅

刘晓辉 孙玉禄 宋立群

(51) Int. Cl.

C12M 1/34 (2006.01)

C12M 1/00 (2006.01)

C12Q 1/04 (2006.01)

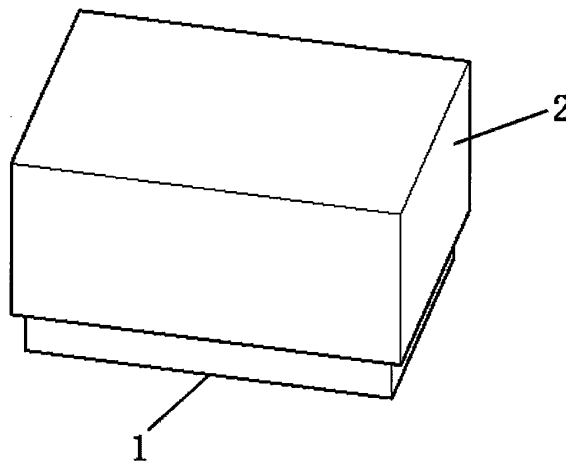
权利要求书1页 说明书4页 附图3页

### (54) 发明名称

一种土壤细菌定殖能力检测试剂盒及其应用

### (57) 摘要

本发明公开了一种土壤细菌定殖能力检测试剂盒及其应用,涉及试剂盒技术领域,包括试剂盒主体,所述试剂盒主体包括密封盖、平板、盖板以及镊子,所述试剂盒主体外部设有外壳,所述试剂盒主体内部插接有试剂管,所述试剂管顶部螺纹连接有密封盖,所述试剂管一侧设有平板,所述试剂管另一侧设有固定槽,所述固定槽顶部安装有盖板,所述盖板顶部放置有镊子,所述固定槽内部放置有药敏片,通过将抗生素试剂滴入药敏片中,通过带有不同抗生素的药敏片对菌株的抑菌圈直径分级和敏感值计算方法,从而来判断菌株在土壤中的定殖能力,该试剂盒体积较小,便于进行携带,能够准确判断出菌株在土壤中的定殖能力。



1. 一种土壤细菌定殖检测试剂盒,其特征在于:包括试剂盒主体(1),所述试剂盒主体(1)包括密封盖(4)、平板(5)、盖板(6)以及镊子(7),所述试剂盒主体(1)外部设有外壳(2),所述试剂盒主体(1)内部插接有试剂管(3),所述试剂管(3)顶部螺纹连接有密封盖(4),所述试剂管(3)一侧设有平板(5),所述试剂管(3)另一侧设有固定槽(8),所述固定槽(8)顶部安装有盖板(6),所述盖板(6)顶部放置有镊子(7),所述固定槽(8)内部放置有药敏片(9)。

2. 根据权利要求1所述一种土壤细菌定殖检测试剂盒,其特征在于:所述试剂管(3)设有二十个,且二十个试剂管(3)内部分别为庆大霉素、妥布霉素、克拉霉素、多粘菌素B、新霉素、卡那霉素、链霉素、阿奇霉素、罗红霉素、四环素、磷霉素、氯霉素、新生霉素、米诺环素、青霉素G、多西环素、红霉素麦迪霉素、利福平、氨苄西林。

3. 根据权利要求1所述一种土壤细菌定殖检测试剂盒,其特征在于:所述试剂盒检测方法如下:

S1:将9种待测微生物菌株进行平板涂布,菌株中3株为放线菌,其余为细菌,将20种抗生素药敏片(9)通过消毒后的镊子(7)放于平板(5)上,通过测定抑菌圈直径的大小检测其抑制菌株生长的情况,每种抗生素3个重复,参考不接菌的空白培养基,28-37℃培养24~48h后,抑菌圈直径计算其平均值;

S2:将试剂管(3)中的药剂分别滴入药敏片(9),根据指定20种抗生素药敏片对待测菌株的抑菌圈直径对其进行分级:直径单位为cm,直径为0的为I级, $0 \leq D \leq 1$ 为II级, $1 \leq D \leq 2$ 为III级, $2 < D \leq 3$ 为IV级, $3 < D \leq 4$ 为V级, $4 < D \leq 5$ 为VI级,⋯,同时统计该菌株在各个级别的数量,统计各菌株在各级中的分布数量;

S3:计算菌株对抗生素的敏感值,根据公式计算出9株细菌的抗生素敏感值,由于抗生素敏感性越高则认为该菌的适应性越低,各菌株的敏感值排序为 $7 > 8 > 9 > 5 > 6 > 3 > 1 > 2 > 4$ ,因此初步判断供试的9株菌的定殖能力排序大小为 $4 > 2 > 1 > 3 > 6 > 5 > 9 > 8 > 7$ ;

S4:根据指定20种抗生素敏感值初步判断菌株定殖能力的验证及判断菌株在土壤中具有定殖能力的敏感值的确定。

4. 根据权利要求3所述一种土壤细菌定殖检测试剂盒,其特征在于:所述步骤S3中菌株对抗生素的敏感值计算公式:抗生素敏感值= $1 \times$ I级范围的数量 $+2 \times$ II级范围的数量 $+\dots+N \times$ N级范围的数量。

5. 根据权利要求3所述一种土壤细菌定殖检测试剂盒,其特征在于:判断菌株在土壤中定殖能力:若待测菌株对20种指定抗生素敏感值小于85,即可判断待测菌株在土壤中具有定殖能力。

6. 根据权利要求3所述一种土壤细菌定殖检测试剂盒,其特征在于:将待测9种菌株进行阶梯式递增浓度驯化,以此标记菌株在土壤中的定殖能力,并以摇瓶发酵检测其效果。

7. 根据权利要求3所述一种土壤细菌定殖检测试剂盒及其应用,其特征在于:将供试土壤在121℃高压灭菌3小时,分别在各个盆中装10kg灭菌土,将分别进行液体发酵的浓度为 $\times 10^8$ cfu/mL的1'号~9'号菌液与灭菌土壤进行混合,以不接菌的培养液为对照,栽培辣椒植株,每个菌液处理5个重复。

## 一种土壤细菌定殖能力检测试剂盒及其应用

### 技术领域

[0001] 本发明涉及试剂盒技术领域,具体为一种土壤细菌定殖能力检测试剂盒及其应用。

### 背景技术

[0002] 试剂盒一般是指盛放检验化学成分以及病毒种类的盒子,又叫做诊断试剂盒,由于试剂盒操作起来也比较简单,里面包含检测过程中所需要的东西。试剂盒是一个能完成特定生物实验的器材,从而在多个行业中有着广泛的使用;土壤是农业类功能微生物主要的载体,通常检测定殖能力的方法是采集土壤样品,通过相应的微生物观测仪器分析其中微生物的数量,由此来判断微生物在土壤中的定殖能力,虽然这个方法准确,但是过程过于烦琐、所需时间长,同时投入的成本较高,费时费力。

### 发明内容

[0003] (一)解决的技术问题

[0004] 针对现有技术的不足,本发明提供了一种土壤细菌定殖能力检测试剂盒及其应用,解决了背景技术中所提出的问题。

[0005] (二)技术方案

[0006] 为实现以上目的,本发明通过以下技术方案予以实现:一种土壤细菌定殖能力检测试剂盒,包括试剂盒主体,所述试剂盒主体包括密封盖、平板、盖板以及镊子,所述试剂盒主体外部设有外壳,所述试剂盒主体内部插接有试剂管,所述试剂管顶部螺纹连接有密封盖,所述试剂管一侧设有平板,所述试剂管另一侧设有固定槽,所述固定槽顶部安装有盖板,所述盖板顶部放置有镊子,所述固定槽内部放置有药敏片。

[0007] 优选的,所述试剂管设有二十个,且二十个试剂管内部分别为庆大霉素、妥布霉素、克拉霉素、多粘菌素B、新霉素、卡那霉素、链霉素、阿奇霉素、罗红霉素、四环素、磷霉素、氯霉素、新生霉素、米诺环素、青霉素G、多西环素、红霉素麦迪霉素、利福平、氨苄西林。

[0008] 优选的,所述试剂盒检测方法如下:

[0009] S1:将9种待测微生物菌株进行平板涂布,其中3株为放线菌,其余为细菌,将20种抗生素药敏片通过消毒后的镊子放于平板上,通过测定抑菌圈直径的大小检测其抑制菌株生长的情况,每种抗生素3个重复,参考不接菌的空白培养基,28-37℃培养24~48h后,测量抑菌圈直径计算其平均值;S2:将试剂管中的药剂分别滴入药敏片,根据指定20种抗生素药敏片对待测菌株的抑菌圈直径对其进行分级:直径单位为cm,直径为0的为I级,0≤D≤1为II级,1≤D≤2为III级,2≤D≤3为IV级,3≤D≤4为V级,4≤D≤5为VI级,⋯,同时统计该菌株在各个级别的数量,统计各菌株在各级中的分布数量;S3:计算菌株对抗生素的敏感值,根据公式计算出9株细菌的抗生素敏感值,由于抗生素敏感性越高则认为该菌的适应性越低,各菌株的敏感值排序为7>8>9>5>6>3>1>2>4,因此初步判断供试的9株菌的定殖能力排序大小为4>2>1>3>6>5>9>8>7;S4:根据指定20种抗生素敏感值初步判断

菌株定殖能力的验证及判断菌株在土壤中具有定殖能力的敏感值的确定。

[0010] 优选的,所述步骤S3中菌株对抗生素的敏感值计算公式:抗生素敏感值=1×I级范围的数量+2×II级范围的数量+…+N×N级范围的数量。

[0011] 优选的,判断菌株在土壤中定殖能力:若待测菌株对20种指定抗生素敏感值小于85,即可判断待测菌株在土壤中具有定殖能力。

[0012] 优选的,将待测9种菌株进行阶梯式递增浓度驯化,以此标记菌株在土壤中的定殖能力,并以摇瓶发酵检测其效果。

[0013] 优选的,将供试土壤在121℃高压灭菌3小时,分别在各个盆中装10kg灭菌土,将分别进行液体发酵的浓度为 $\times 10^8$ cfu/mL的1'号~9'号菌液与灭菌土壤进行混合,以不接菌的培养液为对照。

[0014] (三)有益效果

[0015] 本发明提供了一种土壤细菌定殖能力检测试剂盒及其应用。具备以下有益效果:

[0016] 该一种土壤细菌定殖能力检测试剂盒及其应用,本发明通过将抗生素试剂滴入药敏片中,通过带有不同抗生素的药敏片对菌株的抑菌圈直径分级和敏感值计算方法,从而来判断菌株在土壤中的定殖能力,该试剂盒体积较小,便于进行携带,能够准确判断出菌株在土壤中的定殖能力。

## 附图说明

[0017] 图1为本发明整体结构示意图;

[0018] 图2为本发明内部结构示意图;

[0019] 图3为本发明固定槽与药敏片结构示意图;

[0020] 图4为本发明试剂盒检测方法流程示意图。

[0021] 图中,1-试剂盒主体、2-外壳、3-试剂管、4-密封盖、5-平板、6-盖板、7-镊子、8-固定槽、9-药敏片。

## 具体实施方式

[0022] 下面将结合本发明实施例中的附图,对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整的描述,显然,所描述的实施例仅仅是本发明一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都属于本发明保护的范围。

[0023] 实施例一:

[0024] 一种土壤细菌定殖检测试剂盒,包括试剂盒主体1,所述试剂盒主体1包括密封盖4、平板5、盖板6以及镊子7,所述试剂盒主体1外部设有外壳2,所述试剂盒主体1内部插接有试剂管3,所述试剂管3顶部螺纹连接有密封盖4,所述试剂管3一侧设有平板5,所述试剂管3另一侧设有固定槽8,所述固定槽8顶部安装有盖板6,所述盖板6顶部放置有镊子7,所述固定槽8内部放置有药敏片9。

[0025] 所述试剂管3设有二十个,且二十个试剂管3内部分别为庆大霉素、妥布霉素、克拉霉素、多粘菌素B、新霉素、卡那霉素、链霉素、阿奇霉素、罗红霉素、四环素、磷霉素、氯霉素、新生霉素、米诺环素、青霉素G、多西环素、红霉素麦迪霉素、利福平、氨苄西林。

[0026] 所述试剂盒检测方法如下：

[0027] S1：将9种待测微生物菌株进行平板涂布，菌株中其中3株菌为放线菌，其余为细菌，将20种抗生素药敏片9通过消毒后的镊子7放于平板5上，通过测定抑菌圈直径的大小检测其抑制菌株生长的情况，每种抗生素3个重复，参考不接菌的空白培养基，30℃培养24h后，抑菌圈直径计算其平均值；

[0028] S2：将试剂管3中的药剂分别滴入药敏片9，根据指定20种抗生素药敏片对待测菌株的抑菌圈直径对其进行分级：直径单位为cm，直径为0的为I级， $0 \leq D \leq 1$ 为II级， $1 \leq D \leq 2$ 为III级， $2 < D \leq 3$ 为IV级， $3 < D \leq 4$ 为V级， $4 < D \leq 5$ 为VI级，…，同时统计该菌株在各个级别的数量，统计各菌株在各级中的分布数量；

[0029] S3：计算菌株对抗生素的敏感值，根据公式计算出9株细菌的抗生素敏感值，由于抗生素敏感性越高则认为该菌的适应性越低，各菌株的敏感值排序为 $7 > 8 > 9 > 5 > 6 > 3 > 1 > 2 > 4$ ，因此初步判断供试的9株菌的定殖能力排序大小为 $4 > 2 > 1 > 3 > 6 > 5 > 9 > 8 > 7$ ；

[0030] S4：根据指定20种抗生素敏感值初步判断菌株定殖能力的验证及判断菌株在土壤中具有定殖能力的敏感值的确定。

[0031] 所述步骤S3中菌株对抗生素的敏感值计算公式：抗生素敏感值 =  $1 \times$  I级范围的数量 +  $2 \times$  II级范围的数量 + … +  $N \times$  N级范围的数量。

[0032] 判断菌株在土壤中定殖能力：若待测菌株对20种指定抗生素敏感值小于85，即可判断待测菌株在土壤中具有定殖能力。

[0033] 将待测9种菌株进行阶梯式递增浓度驯化，以此标记菌株在土壤中的定殖能力，并以摇瓶发酵检测其效果。

[0034] 将供试土壤在121℃高压灭菌3小时，分别在各个盆中装10kg灭菌土，将分别进行液体发酵的浓度为 $\times 10^8$ cfu/mL的1'号~9'号菌液与灭菌土壤进行混合，以不接菌的培养液为对照。

[0035] 实施例二：

[0036] 一种土壤细菌定殖检测试剂盒，包括试剂盒主体1，所述试剂盒主体1包括密封盖4、平板5、盖板6以及镊子7，所述试剂盒主体1外部设有外壳2，所述试剂盒主体1内部插接有试剂管3，所述试剂管3顶部螺纹连接有密封盖4，所述试剂管3一侧设有平板5，所述试剂管3另一侧设有固定槽8，所述固定槽8顶部安装有盖板6，所述盖板6顶部放置有镊子7，所述固定槽8内部放置有药敏片9。

[0037] 所述试剂管3设有二十个，且二十个试剂管3内部分别为庆大霉素、妥布霉素、克拉霉素、多粘菌素B、新霉素、卡那霉素、链霉素、阿奇霉素、罗红霉素、四环素、磷霉素、氯霉素、新生霉素、米诺环素、青霉素G、多西环素、红霉素麦迪霉素、利福平、氨苄西林。

[0038] 所述试剂盒检测方法如下：

[0039] S1：将9种待测微生物菌株进行平板涂布，菌株中3株为放线菌，其余为细菌，将20种抗生素药敏片9通过消毒后的镊子7放于平板5上，通过测定抑菌圈直径的大小检测其抑制菌株生长的情况，每种抗生素3个重复，参考不接菌的空白培养基，28-37℃培养48h后，抑菌圈直径计算其平均值；

[0040] S2：将试剂管3中的药剂分别滴入药敏片9，根据指定20种抗生素药敏片对待测菌株的抑菌圈直径对其进行分级：直径单位为cm，直径为0的为I级， $0 \leq D \leq 1$ 为II级， $1 \leq D \leq 2$

为III级,  $2 < D \leq 3$ 为IV级,  $3 < D \leq 4$ 为V级,  $4 < D \leq 5$ 为VI级, ..., 同时统计该菌株在各个级别的数量, 统计各菌株在各级中的分布数量;

[0041] S3: 计算菌株对抗生素的敏感值, 根据公式计算出9株细菌的抗生素敏感值, 由于抗生素敏感性越高则认为该菌的适应性越低, 各菌株的敏感值排序为  $7 > 8 > 9 > 5 > 6 > 3 > 1 > 2 > 4$ , 因此初步判断供试的9株菌的定殖能力排序大小为  $4 > 2 > 1 > 3 > 6 > 5 > 9 > 8 > 7$ ;

[0042] S4: 根据指定20种抗生素敏感值初步判断菌株定殖能力的验证及判断菌株在土壤中具有定殖能力的敏感值的确定。

[0043] 所述步骤S3中菌株对抗生素的敏感值计算公式: 抗生素敏感值 =  $1 \times \text{I级范围的数量} + 2 \times \text{II级范围的数量} + \dots + N \times \text{N级范围的数量}$ 。

[0044] 判断菌株在土壤中定殖能力: 若待测菌株对20种指定抗生素敏感值小于85, 即可判断待测菌株在土壤中具有定殖能力。

[0045] 将待测9种菌株进行阶梯式递增浓度驯化, 以此标记菌株在土壤中的定殖能力, 并以摇瓶发酵检测其效果。

[0046] 将供试土壤在  $121^\circ\text{C}$  高压灭菌3小时, 分别在各个盆中装10kg灭菌土, 将分别进行液体发酵的浓度为  $\times 10^8 \text{cfu/mL}$  的1'号~9'号菌液与灭菌土壤进行混合, 以不接菌的培养液为对照。

[0047] 通过将抗生素试剂滴入药敏片中, 通过带有不同抗生素的药敏片对菌株的抑菌圈直径分级和敏感值计算方法, 从而来判断菌株在土壤中的定殖能力, 该试剂盒体积较小, 便于进行携带, 能够准确判断出菌株在土壤中的定殖能力。

[0048] 本发明的1-试剂盒主体、2-外壳、3-试剂管、4-密封盖、5-平板、6-盖板、7-镊子、8-固定槽、9-药敏片, 部件均为通用标准件或本领域技术人员知晓的部件, 其结构和原理都为本技术人员均可通过技术手册得知或通过常规实验方法获知。

[0049] 以上显示和描述了本发明的基本原理和主要特征和本发明的优点, 对于本领域技术人员而言, 显然本发明不限于上述示范性实施例的细节, 而且在不背离本发明的精神或基本特征的情况下, 能够以其他的具体形式实现本发明。因此, 无论从哪一点来看, 均应将实施例看作是示范性的, 而且是非限制性的, 本发明的范围由所附权利要求而不是上述说明限定, 因此旨在将落在权利要求的等同要件的含义和范围内的所有变化囊括在本发明内。不应将权利要求中的任何附图标记视为限制所涉及的权利要求。

[0050] 此外, 应当理解, 虽然本说明书按照实施方式加以描述, 但并非每个实施方式仅包含一个独立的技术方案, 说明书的这种叙述方式仅仅是为清楚起见, 本领域技术人员应当将说明书作为一个整体, 各实施例中的技术方案也可以经适当组合, 形成本领域技术人员可以理解的其他实施方式。

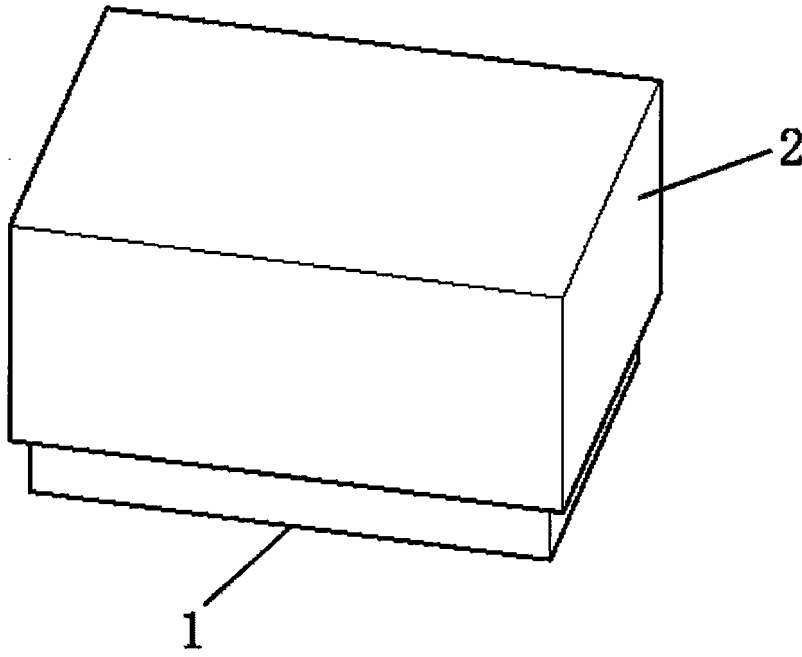


图1

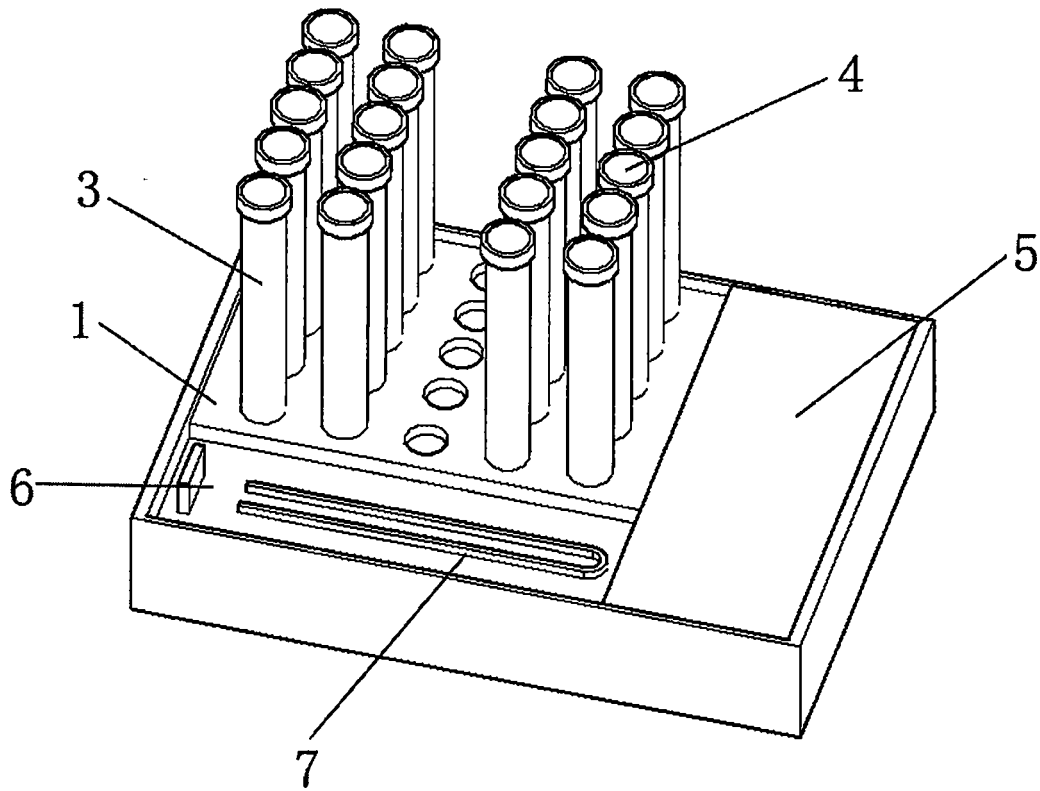


图2

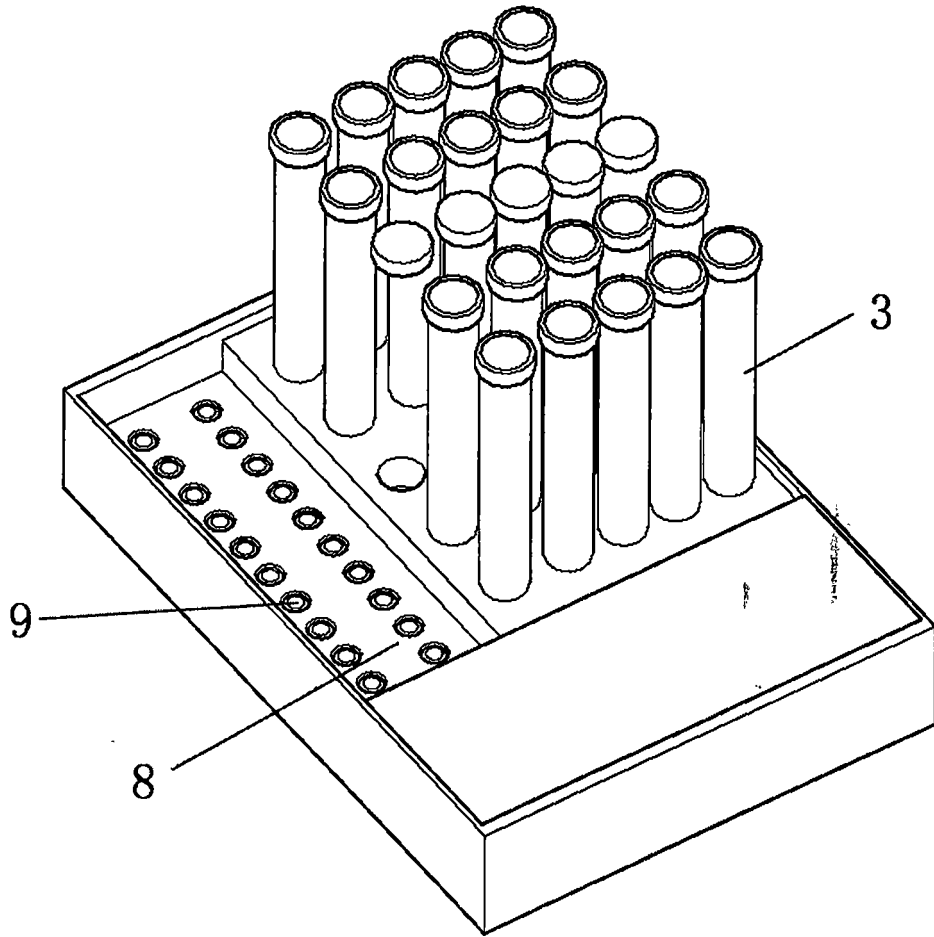


图3



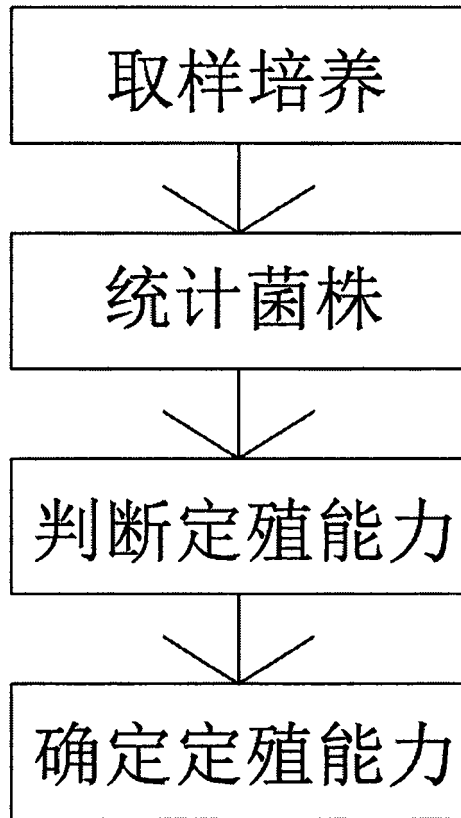


图4