

DBI-11 创伤弧菌干制生化鉴定试剂盒使用说明书

1、用途：用于创伤弧菌的生化鉴定（GB 4789.44-2020）。

2、试剂盒明细：

名称	规格
干制生化鉴定试剂	13 种×10 盒
3%NaCl 三糖铁生化管	10 支
3%NaCl 半固体琼脂生化管	10 支
0.5 麦氏浊度比浊管	1 支
使用说明书	1 份
一次性滴管	20 支
配套试剂	无菌液体石蜡、V-P 甲乙液试剂、糖发酵添加剂各 1 瓶，无菌水 2 瓶

注：一份生化鉴定试剂盒可鉴定 10 个可疑菌落

3、实验操作：

- ① 从铝箔袋中取出试剂盒，打开盒盖，在试剂盒的长条槽中加入 1mL 无菌水或无菌生理盐水，防止培养过程中菌悬液干燥（注：1、取出时切勿将托盘倒置，以免试剂盒和生化管掉落；2、避免长条槽中无菌水进入试剂圆孔中。）；
- ② 用无菌移液管吸取无菌水至无盐胨水、3% 盐胨水、6% 盐胨水、8% 盐胨水、10% 盐胨水的 5 个试验孔中（标有“ ”的生化项目），每孔中加入 0.2mL；
- ③ 使用试剂盒中提供的一次性滴管吸取糖发酵添加剂，于葡萄糖、蔗糖、乳糖、纤维二糖 4 个试验孔（标有“”的生化项目）中各滴加一滴；
- ④ 先将可疑单菌落接种于非选择性培养基上进行纯化培养，用接种针挑取平板上新鲜培养物接种于 3%NaCl 三糖铁与 3%NaCl 半固体琼脂生化管，同时用接种环挑取同一纯化平板上新鲜培养物至适量 0.85% 生理盐水中，仔细研磨，与标准 0.5 麦氏浊度比浊管比较，制成 0.5 个麦氏浊度的均匀菌悬液；
- ⑤ 首先使用无菌移液管吸取制备好的 0.5 麦氏浊度的菌悬液接种于无盐胨水、3% 盐胨水、6% 盐胨水、8% 盐胨水、10% 盐胨水 5 个试验孔中，每孔一滴，其他 8 个试验孔中各接种制备好的 0.5 麦氏浊度的菌悬液 0.2mL，盖上盒盖，与 3%NaCl 三糖铁和 3%NaCl 半固体琼脂生化管统一于 36℃±1℃ 培养。注意：标有“ ”的生化项目在接种后需滴加无菌液体石蜡 2-3 滴，



标有“【】”的生化项目在观察结果时需滴加附加试剂。

4、结果判定：见表 1。

5、保存条件和保质期：

2-8℃冷藏避光保存 1 年（除 3%NaCl 三糖铁和 3%NaCl 半固体琼脂生化管外，其余试剂可室温避光保存 1 年）。

表 1 结果判定表

试验项目	结果判定				创伤弧菌生化现象	培养时间	说明
	阴性结果		阳性结果				
3%NaCl 三糖铁	斜面	K	斜面	A	颜色不变或 K	24h	用接种针挑取可疑菌落先在斜面上划线，再于底层穿刺，竖直或水平放置于托盘对应的凹槽中。
	底层	K	底层	A	A		
	硫化氢	不变黑	硫化氢	变黑	阴性		
	产气	无气孔	产气	有气孔	阴性		
3%NaCl 半固体	穿刺线清晰，周围无变化		沿穿刺线扩散生长，周围呈红色雾状		阳性	24h	用接种针挑取可疑菌落穿刺，竖直或水平放置于托盘对应的凹槽中。
<u>无盐胨水</u>	无色		红色		阴性	18h-24h	——
<u>3%盐胨水</u>					阳性		
<u>6%盐胨水</u>					阳性		
<u>8%盐胨水</u>					阴性		
<u>10%盐胨水</u>					阴性		
<u>葡萄糖</u>	绿色或蓝色		黄色		阳性	18h-24h	——
<u>蔗糖</u>					阴性		
<u>乳糖</u>					阳性		
<u>纤维二糖</u>					阳性		
<u>氨基酸对照</u>	——		——		黄色	18h-24h	接种后需滴加 2-3 滴无菌液体石蜡覆盖培养基表面。
<u>赖氨酸脱羧酶</u>	对照管为黄色 试验管为黄色		对照管为黄色 试验管为紫色		阳性		
【V-P】	不变色		红色		阴性	18h-24h	培养后依次滴加 V-P 甲液 3 滴、乙液 1 滴，10-30min 内观察结果。
ONPG	微黄色		黄色至亮黄色		阳性	18h-24h	阴性结果呈微黄色，为试剂自身颜色，与阳性结果反应的黄色有明显区别

注：1) 3%NaCl 三糖铁穿刺接种时，勿穿到底部，否则会影响观察底层培养基颜色的变化；

2) 制备的菌悬液浓度不宜过大，否则可能会产生假阳性结果；

3) “K”：产碱，培养基变为紫红色；“A”：产酸，培养基变为黄色。