

细菌新型生化鉴定管使用说明

——071830 霍乱弧菌生化鉴定盒（23 种×5 次）
（SN/T 1022-2010）

一）整套试剂及用品

鉴定生化反应的 23 种试剂（表 1）、配套试剂各 1 瓶（靛基质试剂、无菌液体石蜡）、5 瓶 0.85% 无菌生理盐水、1 瓶 0.5 McFarland 的浊度管、5 支一次性无菌吸管。

二）西林瓶的使用方法

开启西林瓶前，用 75% 酒精棉消毒西林瓶表面，在无菌条件下，按铝盖上的箭头方向打开铝盖，撕开铝盖，打开西林瓶胶塞（如图 1）。所有的西林瓶在使用后均高压灭菌后方可弃去。

三）弧菌科生化鉴定盒的详细使用方法

霍乱弧菌为革兰氏阴性短小稍弯曲的杆菌， $0.5-0.8\times1.4-2.6\mu\text{m}$ ，菌体一端有一条鞭毛，运动活泼。生长最适宜温度为 $35^{\circ}\text{C}\sim38^{\circ}\text{C}$ 最适 pH7.2~7.4，在 pH6.0~9.2 内可以生长，具有耐碱性。

挑取 TCBS 平板分离的可疑菌落进行革兰氏染色镜检，将疑是霍乱弧菌的菌落接种于 T1N1 琼脂上， $37\pm1^{\circ}\text{C}$ 培养 18—24h，置于已配备的无菌生理盐水中，与 0.5 McFarland 的浊度管比浊，将菌悬液制备成 0.5McFarland (约 $1\times10^8\text{cfu/mL}$)，用吸管吸取 2 滴(约 0.06mL) 菌悬液加入每种微量生化管内。将已接种的西林瓶再套上胶塞，一般采用全加塞（如图 2 左两瓶所示），特殊情况在下表注明采用半加塞（如图 2 右两瓶所示），直立于内托的凹槽内（如图 2），或放置于合适的瓶架中，于 $35-37^{\circ}\text{C}$ 培养箱中培养，结果观察见表 1。

注意：如有特殊的接种方式、培养温度、时间或培养方式，请详见每种生化鉴定管附带的使用说明。



图 1 西林瓶开启图

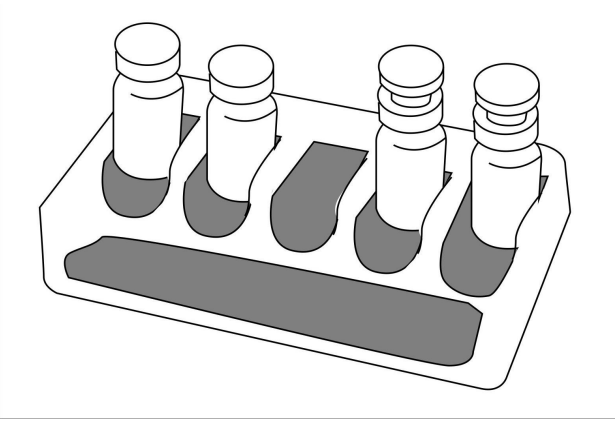


图 2 西林瓶放置培养图

表 1

产品名称	结果判定		培养温度、时间 (小时)	使用说明
	阳性	阴性		
3%NaCl 三糖铁琼脂(TSI)、	产酸变黄色 产硫化氢变黑色	不变色	$35-37^{\circ}\text{C}$ 、 18-24h	用接种针挑取新鲜菌苔穿刺，穿刺完毕后在斜面上划“之”字形接种，西林瓶半加塞（如图 2 右两瓶所示）后直立培育。
无盐胨水、2%NaCl 胨水、6% NaCl 胨水、8%NaCl 胨水、10%NaCl 胨水	生长	不生长	$35-37^{\circ}\text{C}$ 、 24h	
3%NaCl 蛋白胨水	红色	不变色	$35-37^{\circ}\text{C}$ 、 24h	西林瓶半加塞（如图 2 右两瓶所示）培养后加靛基质试剂 2—3 滴，立即观察结果。
1%NaCl 蔗糖、1%NaCl 乳糖、1%NaCl 葡萄糖产气、1%NaCl 阿拉伯糖、1%NaCl 甘露糖、1%NaCl 纤维二糖	黄色	紫色	$35-37^{\circ}\text{C}$ 、 8—24h	
β -半乳糖苷（ONPG）	深黄色	淡黄色或无色	$35-37^{\circ}\text{C}$ 、 12—24h	

续上表

产品名称	结果判定		培养时间 (小时)	使用说明
	阳性	阴性		
氧化酶试剂	蓝紫色	不变色	30 秒内	滴加 1 滴试剂到一小块洁净滤纸上，以刚刚浸湿为宜；用玻棒或接种环（铂或塑料）挑取适量新鲜菌苔涂在纸片上。
1%NaCl 赖氨酸脱羧酶、 1%NaCl 鸟氨酸脱羧酶	试验管绿色或黄绿色，对照管变黄	试验管与对照管均变黄	35—37℃、 18—24h	每株被检菌应同时接种氨基酸对照管一支，并加灭菌液体石蜡 3—4 滴覆盖培养基表面。培养 18—24 小时，未见阳性结果，继续培养 4 天，再做最终结果判定。
1%NaCl 精氨酸双水解酶	试验管蓝绿色，对照管变黄	试验管与对照管均变黄色	35—37℃、 24—48h	
1%胰蛋白胍大豆琼脂斜面 (42℃生长)	生长	不生长	42℃、24h	划线接种至斜面。
明 胶	4℃液态	4℃固态	35—37℃、 48—72h	挑取新鲜菌苔穿刺接种，西林瓶半加塞（如图 2 右两瓶所示）后竖立培育，培养后置 4℃冰箱 30 分钟后观察结果。如果 24h 不液化，则继续培养到 48h 再观察。
尿素	桃红色	淡橙红色	35—37℃、 12—24h	打开西林瓶胶塞后，向西林瓶中加入所配备的 1.5mL/瓶的无菌水，充分溶解。再用接种针挑取新鲜菌苔直接接种于西林瓶内。接种后，置于 35-37℃培养箱中培养 12-24h，观察结果。

备注：本鉴定盒是按照环凯产品目录中的品种成份从左到右的顺序摆放。

四）SN/T1022-2010 霍乱弧菌生化鉴定特征见表 2

表 2 霍乱弧菌生化鉴定特征（均含 1%NaCl）

生化项目	生化性状	生化项目	生化性状
TCBS	Y	D-甘露糖	+
TSI	A/A	葡萄糖产气	—
0%氯化钠	+	氧化酶	+
2%氯化钠	+	ONPG	+
6%氯化钠	—	精氨酸双水解酶	—
8%氯化钠	—	赖氨酸脱羧酶	+
10%氯化钠	—	鸟氨酸脱羧酶	+
靛基质	+	抑菌试验	
42℃生长	+	10ug O/129	S
蔗糖	+	150ug O/129	S
D-纤维二糖	—	明胶酶	+
乳糖	—	尿素酶	—
阿拉伯糖	—		

注：Y-黄色；K-碱性；A-微酸性；+80%或更多的菌株阳性；—80%或更多的菌株阴性；S-敏感。所有测试均不产硫化氢或者气体。

广东环凯微生物科技有限公司

地址：广州市黄埔区广州开发区科学城神舟路 788 号

邮编：510663

传真：020-32078333 转 8619

销售热线：020-32078333 转 8620、8602、8618、8611

技术热线：020-32078333 转 8877、8876

Http://www.huankai.com

E-mail:Webmaster@huankai.com