



DBI-12 霍乱弧菌干制生化鉴定试剂盒使用说明书

1、用途：用于霍乱弧菌的生化鉴定。

2、试剂盒明细：

名称	规格
干制生化鉴定试剂	12种×10盒
三糖铁生化管	10支
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、靛基质试剂、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、6%盐胨水、8%盐胨水、10%盐胨水的4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3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三糖铁与半固体琼脂生化管，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、6%盐胨水、8%盐胨水、10%盐胨水4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，与三糖铁和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（三糖铁和半固体生化管外，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				霍乱弧菌生化现象	培养时间	说明
	阴性结果		阳性结果				
三糖铁	斜面	K	斜面	A	A	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		
半固体琼脂	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		阳性	18h-24h	——
<u>6%盐胨水</u>					阴性		
<u>8%盐胨水</u>					阴性		
<u>10%盐胨水</u>					阴性		
【靛基质】	黄色		玫瑰红色		阳性	18h-24h	滴加 2-3 滴靛基质试剂，即刻观察结果。
<u>葡萄糖</u>	绿色或蓝色		黄色		阳性	18h-24h	——
<u>蔗糖</u>					阳性		
<u>乳糖</u>					阴性		
<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		
<u>鸟氨酸脱羧酶</u>					阳性		
<u>精氨酸双水解酶</u>					阴性		

注：1) 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。