

副溶血性弧菌生化鉴定

试剂盒使用说明书

- 使用前请仔细阅读本说明书 ●

EasyID[®]

【产品名称】

通用名称: EasyID副溶血性弧菌生化鉴定试剂盒

英文名称: EasyID Biochemical Identification Kit for *Vibrio Parahemolyticus*

【包装规格】 5 测试/盒

【产品编号】 HKI009

【产品简介】

本试剂盒基于一步加样技术，用于副溶血性弧菌的生化鉴定（GB 4789.7）。

【产品组分】

主要组分: EasyID副溶血性弧菌生化鉴定条A 5条、EasyID副溶血性弧菌生化鉴定条B 5条、3%NaCl半固体5支、氧化酶试剂1瓶。
其它组分: 悬浮培养基10瓶、麦氏比浊管1瓶、无菌液体石蜡1瓶、VP试剂甲液1瓶、VP试剂乙液1瓶、记录表1册、产品说明书1份。

【储存条件与保质期】

2~8℃保存，有效期见试剂盒外标签。

【使用指南】

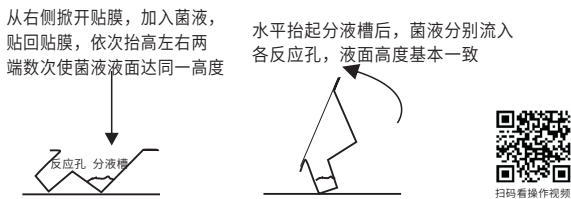
- 1 取鉴定条（A、B条组成一个测试）及悬浮培养基，使用前平衡至室温；开启氧化酶试剂；
- 2 挑取纯培养的可疑单个菌落接种于悬浮培养基中，制成0.5麦氏浊度的均一菌悬液；挑取同一可疑单菌落接种 3%氯化钠三糖铁琼脂斜面并穿刺底层(该琼脂需另购)；
- 3 取小块洁净滤纸(需自备)，滴加1滴氧化酶试剂，用无菌玻棒或

塑料接种环挑取同一可疑单菌落并涂于纸片上，30秒内观察滤纸片颜色并记录结果，用完旋紧瓶盖，并置于2~8℃保存；取洁净玻片开展革兰氏染色（染色液需另购），镜检并记录染色结果；

4 撕开铝箔袋，取出鉴定条及底座，观察是否异常（如破损请勿使用），并在合适位置做好标记；

5 从底座上取下鉴定条，并从鉴定条右侧向左掀开贴膜，用微量移液器向A条小心注入2 mL菌悬液于分液槽中（避免使菌液提前流入反应孔），贴回贴膜，并依次抬起左右两侧数次，使菌液液面达到同一高度，然后水平托起分液槽端，确保菌液流入各反应孔中，贴紧薄膜并放回底座。再向B条第5-12孔各孔准确添加150 μL 菌液并向第9~12号孔各滴加3~4滴无菌液体石蜡，贴紧薄膜放回底座；

鉴定条横截面及操作示意图



6 将已接种的鉴定条等置36℃±1℃下培养。培养完毕，读取3%氯化钠三糖铁琼脂结果。按表4并对照比色卡读取A、B试剂条并记录结果(其中B条需取下置明亮处)；配套试剂用完后需旋紧瓶盖，并置于2~8℃保存；

7 综合菌落形态和GB 4789.7副溶血性弧菌生化试验反应结果(见表2和表3)进行判读。

【注意事项】

- 1 需要使用者自备的用品有: 3%氯化钠三糖铁琼脂、革兰氏染色液、微量移液器及无菌吸头、洁净滤纸、生化培养箱等;
- 2 所含悬浮培养基为本试剂盒专用, 不可替换或用于其他试验;
- 3 反应名称加上划线表示接种后培养前需添加配套试剂, 反应名称加下划线表示培养结束后添加配套试剂;
- 4 向分液槽中加入菌液后, 尽量分散均匀; 极个别情况有反应孔分液量接近于100 μL , 但不影响反应结果;
- 5 为避免污染, 务必在超净工作台或生物安全柜中进行接种和添加配套试剂, 培养前务必贴紧贴膜; 未用完的配套试剂应旋紧瓶盖并置于2~8 $^{\circ}\text{C}$ 保存;
- 6 如果鉴定条已过期, 或铝箔袋破损, 请勿使用;
- 7 本说明书需重复使用, 请妥善保管。

【废物处理】

带菌的鉴定条、吸头和悬浮培养基等试验材料应置121 $^{\circ}\text{C}$ 下湿热灭菌30 min之后, 按医疗垃圾相应的处理方式处理。

【执行标准】 BHK/QW-SJZ-ZD-024-2021 Easy ID生化鉴定试剂盒

【参考文献】

GB 4789.7 食品安全国家标准 食品微生物学检验 副溶血性弧菌检验

【生产企业】

企业名称: 广东环凯生物科技有限公司

生产地址: 肇庆高新技术产业开发区科技大街中13号

销售热线: 0758-3680999-8001

技术热线: 0758-3680999-8018

邮政编码: 526238

企业网址: <https://www.bhkbio.com>

【说明书版本】 2024年04月15日

【质量控制】

将鉴定条接种质控菌株于36℃±1℃下培养24h(氧化酶反应除外), 结果如表1:

表1 质量控制

	反应名称	副溶血性弧菌 ATCC33847	溶藻弧菌 ATCC33787	拟态弧菌 ATCC33653
1	蔗糖	-	+	-
2	乳糖	-	-	-
3	甘露醇	+	+	+
4	葡萄糖	+	+	+
5	尿素	-	-	-
6	ONPG	-	-	+
7	<u>VP</u>	-	+	-
8	无盐胨水	-	-	+
9	6%盐胨水	+	+	-
10	8%盐胨水	+	+	-
11	10%盐胨水	-	+	-
12	<u>赖氨酸</u>	+	+	+
13	<u>鸟氨酸</u>	+	+	+
14	<u>精氨酸</u>	-	-	-
15	氨基酸对照	黄色	黄色	黄色
16	动力	+	+	+
17	氧化酶	+	+	+

注: +阳性, -阴性。

**表 2 GB4789.7
副溶血性弧菌
的生化性状**

试验项目	结果
革兰氏染色镜检	阴性，无芽胞
氧化酶	+
动力	+
蔗糖	-
葡萄糖	+
甘露醇	+
分解葡萄糖产气	-
乳糖	-
硫化氢	-
赖氨酸脱羧酶	+
V-P	-
ONPG	-

注：+表示阳性；-表示阴性。

注：此生化反应盒的葡萄糖产气和硫化氢反应通过三糖铁（建议试管装）观察，结合副溶血性弧菌的生化特性，三糖铁反应应为上红，下黄，中间琼脂柱没有断裂，且不黑。即葡萄糖产气阴性，硫化氢阴性。

表 3 GB4789.7副溶血性弧菌主要性状与其他弧菌的鉴别

名称	氧化酶	赖氨酸	精氨酸	鸟氨酸	明胶	脲酶	42℃生长	蔗糖	D-纤维二糖	乳糖	阿拉伯糖	D-甘露糖	D-甘露醇	ONPG	嗜盐性试验氯化钠含量 %					
															0	3	6	8	10	
副溶血性弧菌 <i>V. parahaemolyticus</i>	+	+	-	+	+	-	+	-	V	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	
创伤弧菌 <i>V. vulnificus</i>	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+	V	+	-	+	+	-	-	
溶藻弧菌 <i>V. alginolyticus</i>	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	
霍乱弧菌 <i>V. cholerae</i>	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	
拟态弧菌 <i>V. mimicus</i>	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	
河阴菌 <i>V. fluvialis</i>	+	-	+	-	+	-	V	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	V	-	
弗氏弧菌 <i>V. furnissii</i>	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	
梅氏弧菌 <i>V. metschnikovii</i>	-	+	+	-	+	-	V	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	V	-	
霍利斯弧菌 <i>V. hollisiae</i>	+	-	-	-	-	-	nd	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	






























注：+表示阳性；-表示阴性；nd 表示未试验；V表示可变。

表4 各项反应判定规则

序号	反应名称	结果判断		培养时间(h)	备注		
		阳性特征	阴性特征				
1	蔗糖	黄色或黄绿色	蓝色或绿色	18~24			
2	乳糖						
3	甘露醇						
4	葡萄糖						
5	尿素						
6	ONPG						
7	VP	红色	无色或淡黄色	18~24	培养后依次逐滴加入3滴VP试剂甲液和2滴VP试剂乙液，室温下暴露空气10~30min后记录结果		
8	无盐胨水	浑浊	澄清				
9	6%盐胨水						
10	8%盐胨水						
11	10%盐胨水						
12	赖氨酸	试验孔变为绿色或蓝色，同时对照管为黄色或黄绿色	试验管和对照管均变为黄色或黄绿色			接种后滴加3~4滴石蜡覆盖液面	
13	写氨酸						
14	精氨酸						
15	氨基酸对照						
16	动力	扩散生长	沿穿刺线生长				穿刺接种，竖立培育
17	氧化酶	蓝紫色	无色				-

注：反应名称加上划线表示接种后培养前需添加配套试剂；
反应名称加上下划线表示培养结束后添加配套试剂。

比色卡

反应序号	反应名称	阳性结果(+)	阴性结果(-)
1	蔗糖	 	 
2	乳糖	 	 
3	甘露醇	 	 
4	葡萄糖	 	 
5	尿素	 	 
6	ONPG	 	
7	V P	 	 
8	无盐胨水	 	
9	6% 盐胨水	 	
10	8% 盐胨水	 	
11	10% 盐胨水	 	
12	赖氨酸	 	 
13	鸟氨酸	 	 
14	精氨酸	 	 
15	氨基酸对照	 	 
16	动力	 	 
17	氧化酶	 	

注: 比色卡所印均为典型实例, 未列出的实例请按表4判定规则自行判定。