

EasyID®

副溶血性弧菌生化鉴定 试剂盒使用说明书

- 使用前请详细阅读本说明书 •

广东环凯生物科技有限公司 研制

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5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 °C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；

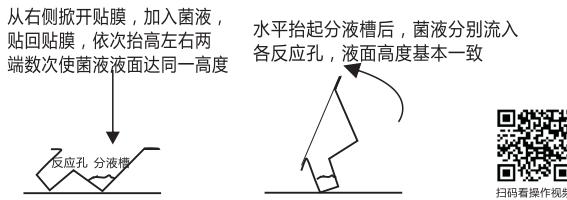
2 挑取纯培养的可疑单个菌落接种于悬浮培养基中，制成0.5麦氏浊度的均一菌悬液；挑取同一可疑单菌落接种3%氯化钠三糖铁琼脂斜面并穿刺底层(该琼脂需另购)；

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 °C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起贴膜，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°C±1°C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 °C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 °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 °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】 QS/BHK 0002-2020 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】 2021年03月31日

【质量控制】

将鉴定条接种质控菌株于 $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下培养24 h(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	VP	-	+	-
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	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	-

主：此生反应盒的葡萄糖产气和硫化氢反应用三糖铁（建议试管装）观察，结果通过三糖铁的生化特性，三糖铁反应为下黄，中间暗带生气阳性，管口硫化氢阳性。

名称	氧化酶	赖氨酸	精氨酸	鸟氨酸	明胶	脲酶	V	42℃生长	D-纤维二糖	D-乳糖	D-蔗糖	D-阿拉伯糖	D-甘露糖	O-葡萄糖	嗜粘性试验 氯化钠的含量 %				
															0	3	6	8	10
副溶血性弧菌 <i>V. parahaemolyticus</i>	+	-	+	+	V	-	+	-	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>	+	-	+	+	-	V	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
拟态弧菌 <i>V. mimicus</i>	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
河弧菌 <i>V. fluvialis</i>	-	+	-	+	-	V	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	V	-	-
弗氏弧菌 <i>V. fumisii</i>	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-
海氏弧菌 <i>V. metschnikovii</i>	-	+	-	+	-	V	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	V	-	-
霍利斯弧菌 <i>V. holllisse</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	nd	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-

主：+ 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			24~48	
3	甘露醇				
4	葡萄糖				
5	尿素	红色或橙红色	黄色或橙黄色		
6	ONPG	黄色	无色		
7	VP	红色	无色或淡黄色		
8	无盐胨水				
9	6%盐胨水				
10	8%盐胨水	浑浊	澄清		
11	10%盐胨水				
12	颤彎酸				
13	鸟氨酸	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		
14	精氨酸				
15	氨基喋呤对照				
16	动力	扩散生长	沿穿刺线生长		穿刺接种，竖立培养
17	氧化酶	蓝紫色	无色	-	取小块洁净滤纸(需自备)，滴加1滴氧化酶试剂，用无菌玻璃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

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

比色卡

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

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。