

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 ●

【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】

本试剂盒基于一歩加样技术, 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(或可向各孔准确添加150μL菌液)贴回贴膜，并依次抬起左右两侧数次，使菌液的液面达到同一高度，然后水平托起分液槽端，确保菌液流入各反应孔中（B条进行同样操作），并向A条第9~12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

从右侧掀开贴膜，加入菌液，贴回贴膜，依次抬高左右两端数次使菌液面达同一高度



水平抬起分液槽后，菌液分别流入各反应孔，液面高度基本一致



扫码看操作视频

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 μ L, 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 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ C下湿热灭菌30 min之后, 按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】 2025年04月27日

【质量控制】

将鉴定条接种质控菌株于36℃±1℃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	无盐胨水	-	-	+
6	6%盐胨水	+	+	-
7	8%盐胨水	+	+	-
8	10%盐胨水	-	+	-
9	赖氨酸	+	+	+
10	鸟氨酸	+	+	+
11	精氨酸	-	-	-
12	氨基酸对照	黄色	黄色	黄色
13	尿素	-	-	-
14	ONPG	-	-	+
15	VP	-	+	-
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，结合副溶血弧菌的生化特性，三糖铁反应为上红，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	V-P	42℃生长	蔗糖	D-纤维二糖	乳糖	阿拉伯糖	D-甘露糖	D-甘露醇	O-N-P-G	增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	—	+	—	V	—	+	+	+	—	—	+	+	+	—
创伤弧菌 <i>V.vulnificus</i>	+	+	—	+	+	—	—	+	—	+	+	—	+	V	+	—	+	+	—	—
溶藻弧菌 <i>V.algolyticus</i>	+	+	—	+	+	—	+	+	+	—	—	—	+	+	—	—	+	+	+	+
霍乱弧菌 <i>V.cholerae</i>	+	+	—	+	+	—	V	+	+	—	—	—	+	+	+	+	+	—	—	—
拟态弧菌 <i>V.mimicus</i>	+	+	—	+	+	—	—	+	—	—	—	—	+	+	+	+	+	—	—	—
溶藻菌 <i>V.fluvialis</i>	+	—	+	—	+	—	—	V	+	+	—	+	+	+	+	—	+	+	V	—
弗氏弧菌 <i>V.furnissii</i>	+	—	+	—	+	—	—	—	+	—	—	+	+	+	+	—	+	+	+	—
梅氏弧菌 <i>V.metschnikovii</i>	—	+	+	—	+	—	+	V	+	—	—	—	+	+	+	—	+	+	V	—
霍乱弧菌 <i>V.hollisae</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	接种后滴加3~4滴石蜡覆盖液面
2	乳糖			24~48	
3	甘露醇			18~24	
4	葡萄糖				
5	无盐陈水				
6	6%盐陈水				
7	8%盐陈水				
8	10%盐陈水	浑浊	澄清		
9	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	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	穿刺接种，竖立培育
10	鸟氨酸				
11	精氨酸				
12	氨基酸对照				
13	尿素	红色或橙红色	黄色或橙黄色		
14	ONPG	黄色	无色		
15	VP	红色	无色或淡黄色		
16	动力	扩散生长	沿穿刺线生长	-	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
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	无盐胨水	6%盐胨水	8%盐胨水	10%盐胨水	赖氨酸	鸟氨酸	精氨酸	氨基酸对照	尿素	O N P G	V P	动力	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。