



DBI-06 大肠埃希氏菌 O157:H7/NM 干制生化鉴定试剂盒使用说明书

1、用途：用于大肠埃希氏菌 O157:H7/NM 的生化鉴定（GB 4789.36-2016）。

2、试剂盒明细：

名称	规格
干制生化鉴定试剂	10 种×10 套
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	10 支
配套试剂	无菌液体石蜡、靛基质试剂、甲基红试剂、VP 甲乙液试剂各 1 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 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；

③ 使用无菌移液管吸取制备好的 0.5 麦氏浊度的均匀菌悬液，分别至试剂盒的 10 个圆孔中，每孔接种量为 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“___”的生化项目表示在接种后需滴加无菌石蜡 2-3 滴，标有“【 】”的生化项目表示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（除三糖铁生化管外，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				大肠埃希氏菌 O157:H7/NM 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	18h-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	阳性		
半固体琼脂	穿刺线清晰，周围无扩散生长		沿穿刺线扩散生长，周围呈红色雾状		阳性或阴性	18h-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>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		
【MR】	不变色		红色		阳性	18h-24h	MR: 培养后滴加 2-3 滴甲基红试剂，即刻观察结果。 VP: 培养后依次滴加 VP 甲液 3 滴、乙液 1 滴，10-30min 内观察结果，如为阴性应放在 36℃±1℃ 继续培养 4h 后再观察。
【VP】					阴性		
【靛基质】	黄色		玫瑰红色		阳性	18h-24h	培养后滴加 2-3 滴靛基质试剂，即刻观察结果。
西蒙氏柠檬酸盐	浅绿色		蓝色		阴性	18h-24h	---
纤维二糖	蓝色或绿色		黄色		阴性	18h-24h	---
棉子糖					阳性		
山梨醇					阴性或迟缓发酵		

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。