

# 单盒生化鉴定管使用说明

## ——普通细菌鉴定管

### 一) 西林瓶的使用方法

开启西林瓶前,用75%酒精棉消毒西林瓶表面,在无菌条件下,按铝盖上的箭头方向打开铝盖,撕开铝盖,打开西林瓶胶塞(如图1)。所有的西林瓶在使用后均高压灭菌后方可弃去。

### 二) 单盒生化鉴定的详细使用方法

挑取待检菌落进行革兰氏染色镜检,将新鲜菌苔用0.85%无菌生理盐水稀释至0.5McFarland(约 $10^8$ cfu/mL),各吸取0.05-0.08mL(约1~2滴)菌悬液加入每种微量西林瓶内。将已接种的西林瓶再套上胶塞,一般采用全加塞(如图2左两瓶所示),特殊情况在下表注明采用半加塞(如图2右两瓶所示),直立于内托的凹槽内(如图2),或放置于合适的瓶架中,于35-37°C培养箱中培养,结果观察见下表1。

**注意:**如有特殊的接种方式、培养时间或培养方式,请详见每种生化鉴定管附带的使用说明。如半固体琼脂、SIM/UIM培养管、葡萄糖半固体、缓冲动力-硝酸盐培养基,这些生化管接种前培养基出现移位变形情况,需通过沸水浴加热复融后,竖立放置待冷却至室温备用。



图1 西林瓶开启图

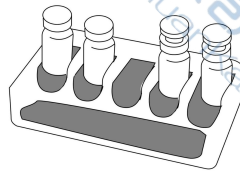


图2 西林瓶放置培养图

表1

| 产品名称  | 结果判断 |          | 培养时间<br>(小时) | 使用说明   |
|---|------|----------|--------------|--|
|   | 阳性   | 阴性       |              |  |
| 葡萄糖、乳糖、麦芽糖、甘露醇、蔗糖、阿拉伯糖、木糖、半乳糖、山梨醇、卫茅醇、鼠李糖、肌醇、侧金盏花醇、水杨素、甘油、棉子糖甘露糖、D-核糖、松二糖、松三糖、山梨糖、糊精、蕈糖、果糖、蜜二糖、纤维二糖 | 黄色   | 紫色       | 18-24        | 如培养24小时,未见阳性结果,可继续培养至72小时,再做最终结果判定。                                |
| 尿素(冻干)  | 桃红色  | 淡橙红色-淡黄色 | 12-24        | 打开西林瓶胶塞后,向西林瓶中加入所配备的1.5mL/瓶的无菌水,充分溶解。再用接种针或接种环挑取新鲜菌苔直接接种于西林瓶内进行培养。 |
| 七叶苷   | 棕黑色  | 不变色      | 18-24        |  |
| $\beta$ -半乳糖苷(ONPG)   | 深黄色  | 淡黄色或无色   | 12-24        |  |
| 丙二酸盐(冻干)  | 蓝色   | 绿色-黄绿色   | 24-48        | 打开西林瓶胶塞后,向西林瓶中加入所配备的1.5mL/瓶的无菌水溶解。再用接种针或接种环挑取新鲜菌苔直接接种于西林瓶内进行培养。    |
| 葡萄糖磷酸盐胨水  | MR   | 红色       | 24-48h       | 接种培养后加MR试剂1-3滴,立即观察结果。如是阴性,需继续培养至96h,再读结果。                         |
|   | VP   | 红色       | 24-48h       | 接种培养后依次加入10滴VP试剂甲液及4滴乙液,混匀,再培养10-20分钟观察结果。如为阴性,应继续培养4h再观察。         |

续上表

| 产品名称     | 结果判断         |            | 培养时间<br>(小时) | 使用说明  |
|----------|--------------|------------|--------------|---|
|          | 阳性           | 阴性         |              |   |
| 葡萄糖铵     | 黄色           | 不变色        | 24           |   |
| 西蒙氏柠檬酸盐  | 蓝色           | 不变色        | 24-48        | 用接种针挑取新鲜菌苔在斜面上划“之”字形接种，西林瓶半加塞（如图2右两瓶所示）竖立培育。                                    |
| 葡萄糖酸盐    | 黄色或橙色        | 不变色        | 24-48        | 培养后加班氏试剂3-5滴，隔水煮沸数分钟后观察结果。  |
| 苯丙氨酸     | 显墨绿色         | 无墨绿色       | 18-24        | 培养后加10%FeCl <sub>3</sub> 溶液2-3滴，数分钟内观察结果。                                       |
| 蛋白胨水     | 红色           | 不变色        | 24           | 接种培养后加靛基质试剂2-3滴，立即观察结果。   |
| 鸟、赖氨酸脱羧酶 | 试验管黄绿色，对照管变黄 | 试验管与对照管均变黄 | 18-24        | 每株被检菌应同时接种氨基酸对照管一支，并加灭菌液体石蜡5-8滴覆盖培养基表面。培养24小时，未见阳性结果，可继续培养至48小时，再做最终结果判定。       |
| 硫化氢      | 黑色           | 无黑色        | 18-24        | 用接种针挑取新鲜菌苔穿刺接种，竖立培育。  |
| 明胶       | 4-8℃呈液态      | 4-8℃呈固态    | 24-72        | 挑取新鲜菌苔穿刺接种，西林瓶半加塞（如图2右两瓶所示）后竖立培育，培养后置4-8℃冰箱30分钟后观察结果。如果24h不液化，则继续培养到48h或72h再观察。 |
| 硝酸盐（还原）  | 深红色          | 略带淡粉红色     | 18-24        | 培养后加硝酸盐还原试剂甲、乙液各2滴，混匀，立即观察结果。   |
| 氰化钾      | 生长           | 不生长        | 24-48        | 试验管与对照管均生长为阳性；试验管不生长，对照管生长为阴性。  |
| 半固体琼脂    | 扩散生长         | 无扩散生长      | 24-48        | 用接种针挑取新鲜菌苔穿刺接种，竖立培育。  |
| 5%乳糖     | 黄色           | 绿色-蓝色      | 24           |   |
| 葡萄糖产气    | 产酸           | 黄色         | 18-24        | 使用前先确定倒管内无气泡。   |
|          | 产气           | 小倒管有气泡     |              |   |
| 淀粉       | 无色           | 蓝紫色        | 24-48        | 西林瓶半加塞（如图2右两瓶所示）培养后加Lugol氏碘液2滴，立即摇匀观察结果。  |
| 醋酸盐      | 蓝色           | 不变色        | 24-48        | 用接种针挑取新鲜菌苔穿刺接种，西林瓶半加塞（如图2右两瓶所示）竖立培育。  |
| 酒石酸盐     | 黄色           | 蓝色         | 18-48        |   |
| DNA      | 绿色完全褪去       | 绿色         | 24-48        | 阴性菌也可见绿色减退，但阳性菌完全褪去。  |
| 精氨酸脱羧酶   | 试验管蓝绿色，对照管变黄 | 试验管与对照管均变黄 | 18-24        | 每株被检菌应同时接种氨基酸对照管一支，并加灭菌液体石蜡5-8滴覆盖培养基表面。培养24小时，未见阳性结果，可继续培养至48小时，再做最终结果判定。       |

续上表

| 产品名称                            |     | 结果判断                |                   | 培养时间<br>(小时)                                | 使用说明   |
|---------------------------------|-----|---------------------|-------------------|---|--|
|                                 |     | 阳性                  | 阴性                |   |  |
| UIM<br>培养管                      | 尿素  | 桃红色                 | 淡橙红色              | 12-24                                       | 用接种针挑取新鲜菌苔穿刺接种，竖立培育。培养后加脲基质试剂 2-3 滴，立即观察结果。  |
|                                 | 脲基质 | 红色                  | 不变色               |   |  |
|                                 | 动力  | 扩散生长                | 无扩散生长             |   |  |
| SIM 培养<br>管                     | 硫化氢 | 黑色                  | 不变色               | 12-24                                       | 用接种针挑取新鲜菌苔穿刺接种，竖立培育。培养后加脲基质试剂 2-3 滴，立即观察结果。  |
|                                 | 脲基质 | 红色                  | 不变色               |   |  |
|                                 | 动力  | 扩散生长                | 无扩散生长             |   |  |
| 6.5%高盐肉汤<br>pH9.6 肉汤<br>40%胆汁肉汤 |     | 生长                  | 不生长               | 24-48                                       |  |
| 粘液酸测试肉汤                         |     | 质控肉汤不变色，<br>测试肉汤变黄色 | 质控肉汤和测试<br>肉汤均不变色 | 24-48                                       | 每株被检菌应同时接种粘液酸质控肉汤一支。   |
| 精氨酸双水解酶                         |     | 试验管蓝绿色，<br>对照管变黄    | 试验管与对照管<br>均变黄    | 24-48                                       | 使用方法同脱羧酶。作假单胞菌属鉴定时不需覆盖液体石蜡。  |
| 亚硝酸盐产气                          |     | 倒管内有气泡              | 倒管内无气泡            | 18-24                                       | 使用前确定倒管内无气泡。   |
| 硝酸盐产气                           |     | 倒管内有气泡              | 倒管内无气泡            | 18-24                                       | 使用前确定倒管内无气泡。   |
| OF(Hugh-leifson)                |     | 见说明                 | 见说明               | 24-48                                       | 被检菌同时接种两支生化管，其中一支加灭菌液体石蜡 5-8 滴覆盖表面。两支管均为黄色判断为发酵型细菌；加石蜡管不变黄，而未加石蜡管变黄为氧化型细菌；两支管均不变黄为产碱型细菌。                                 |
| 紫牛乳                             |     | 黄色                  | 蓝色                | 18-24                                       |  |
| 0.1%美兰牛乳                        |     | 褪色                  | 蓝色                | 18-24                                       | 若培养后仅表面为蓝色，底层为白色，是由于空气中的氧气与美兰发生反应，仍视为阳性结果。   |
| 胆汁溶菌                            |     | 试验管变澄清；对<br>照管混浊    | 试验管和对照管<br>均混浊    | 3-4   | 取试验管与对照管各一支，分别接种待检菌，摇匀后置 37°C 温箱 3h，每小时观察一次。结果判断：试验管的菌液透明，而对照混浊为溶解，如两管均混浊为不溶解。   |
| 三糖铁琼脂                           |     | 产酸变黄色，<br>产硫化氢变黑色   | 不变色               | 24  | 用接种针挑取新鲜菌苔穿刺，穿刺完毕后在斜面上划“之”字形接种，西林瓶半加塞（如图 2 右两瓶所示）后竖立培育。  |
| 葡萄糖半固体                          |     | 黄色，<br>扩散生长         | 不变色，<br>无扩散生长     | 24-48                                       | 用接种针挑取新鲜菌苔穿刺接种，竖立培育。   |
| 马尿酸盐                            |     | 紫色                  | 黄色或灰色             | 36°C±1°C 培<br>养 4h 或者<br>36°C±1°C 水<br>浴 2h | 刮取半环菌苔接种于反应管中并用接种环搅拌成均一乳浊液，盖紧胶塞。36°C±1°C 培养箱中培养 4h 或者 36°C±1°C 水浴 2h，加茚三酮试剂 5 滴并再次盖紧胶塞，在 36°C±1°C 水浴锅或培养箱放置 10min 再观察结果。 |
| 乙酰胺肉汤                           |     | 产生红褐色沉淀             | 黄色                | 20-24                                       | 接种培养后滴加钠氏试剂 1~2 滴，立即观察结果。  |
| Koser 氏枸橼酸盐肉汤                   |     | 生长                  | 不生长               | 24-48                                       |  |

续上表

| 产品名称            |       | 结果判断                 |                            | 培养时间<br>(小时) | 使用说明   |
|-----------------|-------|----------------------|----------------------------|--------------|--|
|                 |       | 阳性                   | 阴性                         |              |  |
| 乳糖明胶<br>培养基     | 乳糖发酵  | 产气产酸变黄               | 不变色                        | 18-24        | 用移液枪吸取 50 $\mu$ l 已在 FTG 培养液培养 24h 的菌液接种于该培养基，培养后观察产酸产气现象。   |
|                 | 明胶液化  | 4-8 $^{\circ}$ C 呈液化 | 4-8 $^{\circ}$ C 呈凝固       | 18-24        | 4-8 $^{\circ}$ C 放置 0.5-1h，观察明胶状态。若是固态，则需要继续培养 24h 后再观察。     |
| 缓冲动力-<br>硝酸盐培养基 | 动力    | 扩散生长                 | 沿穿刺线生长                     | 18-24        | 用接种针取已在 FTG 培养液培养 24h 的菌液接种于该培养基再进行培养。                       |
|                 | 硝酸盐还原 | 红色                   | 不变色                        | 18-24        | 滴加硝酸盐还原甲液 2 滴，然后滴加硝酸盐还原乙液 2 滴，观察结果。若无变色，加入少量锌粉，不变色为阳性，变色为阴性。 |
| 溶菌酶营养肉汤/质控营养肉汤  |       | 质控营养肉汤和<br>营养肉汤浑浊    | 质控营养肉汤浑<br>浊，溶菌酶营养<br>肉汤清晰 | 24-48        | 取菌悬液一环，接种于溶菌酶肉汤中，再培<br>养。                                    |
| 苦杏仁苷            |       | 黄色                   | 红色                         | 18-24        | 接种后置于 30 $^{\circ}$ C $\pm$ 1 $^{\circ}$ C 中培养               |

### 广东环凯微生物科技有限公司

地址：广州市黄埔区广州开发区科学城神舟路 788 号 邮编：510663 传真：020-32079986

销售热线：020-32078333-8602 技术热线：020-32078333-8876、8877 [Http://www.huankai.com](http://www.huankai.com)

E-mail: [Webmaster@huankai.com](mailto:Webmaster@huankai.com)