



DBI-07 蜡样芽孢杆菌干制生化鉴定试剂盒使用说明书

1、用途：用于蜡样芽孢杆菌的生化鉴定（GB 4789.14-2014）。

2、试剂盒明细：

名称	规格
干制生化鉴定试剂	6种×10套
动力培养基（蜡样）生化管	10支
溶菌酶营养肉汤生化管	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	20支
配套试剂	无菌液体石蜡、糖发酵添加剂、硝酸盐还原甲乙液试剂、VP甲乙液试剂各1瓶；另外配备用于蜡样芽孢杆菌染色用的0.5%碱性复红染色液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、避免长条槽中水进入试剂圆孔中。）；

② 打开盒盖，使用一次性滴管滴加一滴糖发酵添加剂于葡萄糖试验孔中（标有“”的生化项目）；

③ 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动力培养基（蜡样）生化管中，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；

④ 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，吸取2-3滴至溶菌酶营养肉汤生化管中，同时接种于试剂盒的6个圆孔中，每孔接种量为0.2mL，盖上盒盖，试剂盒与溶菌酶营养肉汤生化管统一于36±1℃培养，动力培养基（蜡样）生化管于30±1℃培养。注



意：标有“___”的生化项目在接种后需滴加无菌液体石蜡 2-3 滴，标有“【 】”的生化项目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。

表 1 结果判定表

试验项目	结果判定		蜡样芽孢杆菌生化现象	培养时间	说明
	阴性结果	阳性结果			
动力	穿刺线周围无扩散生长	沿穿刺线扩散生长	大多数阳性	48h	用接种针挑取可疑菌落穿刺。
溶菌酶	不生长, 菌液澄清	生长, 菌液混沌	阳性	18h-24h	接种 0.5 麦氏浊度菌悬液 2-3 滴。
<u>葡萄糖</u>	蓝色或绿色	黄色	阳性	18h-24h	接种后需滴加 2-3 滴无菌液体石蜡覆盖培养基表面。
【VP】	不变色	红色	阳性或阴性	18h-24h	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。
【硝酸盐】	不变色	红色	阳性	18h-24h	培养后依次滴加硝酸盐还原甲 3 滴、乙液 1 滴, 即刻观察结果, 如不变色。加入微量锌粉 5min 后变红为阴性, 黄色为阳性。
甘露醇	蓝色或绿色	黄色	阴性	18h-24h	——
明胶	黑色素不扩散	黑色素扩散	阳性	48h	——
西蒙氏柠檬酸盐	浅绿色	蓝色	阳性或阴性	18h-24h	——

注：1) 制备的菌悬液浓度不宜过大，否则可能产生假阳性结果；

2) 明胶试验中若黑色素扩散不明显，可轻轻晃动试剂盒以观察黑色素是否扩散。