

*Petrifilm*测试片法检测环节表面菌落总数的效果评价

Evaluation of the Petrifilm method in determination of total plate colony on the contact surfaces

付长鸿¹ 李洁¹ 张磊¹ 彭少杰¹ 盛满钰² 秦克勤³ 任育华⁴

(1.上海市食品药品监督管理局, 上海 200021; 2.上海市副食品质量监督检验站, 上海 200235; 3.复旦大学公共卫生学院, 上海 200032; 4. 3M 中国有限公司, 上海 200336)

基金项目 上海市科委——上海市重点科技攻关项目 (课题编号 044319212)

Fu Chang-hong¹, Zhang Lei¹, Li Jie¹, Peng Shao-jie¹, Sheng Man-yu², Qin Ke-qin³, Ren Yu-hua⁴

(1. Shanghai Institute of Food and Drug Supervision, Shanghai, 200021 2. Shanghai Supervision & Testing Station for Non-staple Food 3. Public Health School of Fudan University, Shanghai 200032 4. 3M China Co., Ltd, Shanghai 200336)

摘要

[目的] 探讨 Petrifilm 测试片法 (以下简称测试片) 检测环节表面菌落总数的效果。[方法] 在实验室模拟食品生产加工环节表面的不锈钢平板上, 人工污染不同浓度的标准菌株, 分别用国标法和测试片法进行检测, 比较两种方法检测环节表面菌落总数的符合率。[结果] 国标法和测试片法检测结果无统计学显著性差异 ($P>0.05$)。[结论] 测试片法可以作为食品行业环节表面菌落总数污染状况的检测方法。

Abstract:

[Objective] To explore the effectiveness on the determination of total plate colony on the contact surface with PetrifilmTM method. [Method] On the flat stainless steel simulated as contact surface of food production and process, standard bacteria strains are contaminated with different concentration under lab condition, the consistent rate of the total plate colony on contact surface between PetrifilmTM method and GB method was compared. [Results] There's no significant difference between GB method and PetrifilmTM method statistically ($P>0.05$). [Conclusion] It is suitable to apply PetrifilmTM as one of methods for determination of total plate colony on contact surface in food industry.

关键词: 检测; 环节表面; 菌落总数; 效果评价

Key Word: Determination; Total Plate Colony; Contact Surfaces; Evaluation of effectiveness

传统的菌落总数国标检测方法已经使用了很多年, 且广为大家接受, 其正确性毋庸置疑。其主要缺点为: 需要专门的实验室和专业检验人员, 配制专门的培养基, 消毒、清洗工作量大, 出具检验结果的时间较长, 很难适应现代食品行业的自检自控和食品卫生的现场监管, 世界各先进国家无不致力于发展微生物便捷检测技术, 本文对美国 3M 公司生产用于检测环节标明菌落总数的测试片进行了实验室效果验证。

1 材料和方法

1.1 测试片

测试片是美国 3M 公司发明的一种用于细菌计数的可再生水合物的干膜, 它由上下两层薄膜组成, 下层的聚乙烯薄膜上印有网格并且覆盖有细菌生长所需的培养基, 上层是聚丙烯薄膜。使用时只需接种 1 毫升待测样品的稀释液在下层的培养基上, 盖上上层的聚丙烯薄膜, 此时聚乙烯层上的培养基由于水的作用生成水合物, 适合普通细菌生长。测试片中含有的红色指示染色剂可以使菌落着色而便于判读。

1.2 标准菌株

金黄色葡萄球菌 (标准菌株号: ATCC12600) 和大肠杆菌 (标准菌株号: ATCC8095), 由复旦大学公共卫生学院微生物教研室提供。

1.3 人工污染标准菌株的不锈钢平板

实验室人工配置含有上述标准菌株菌液, 按一定比例混合培养后, 得到两种高低浓度不同的混合菌液, 其

菌落总数的准确浓度用GB4789.2-2003^[1]营养琼脂平板浇注法得出，分别为2680cfu/ml和740cfu/ml，每种浓度菌壤液每隔5分钟吸取2份0.3ml菌壤液，依次平行涂布到2块（1对）8cm×10cm无菌不锈钢平板上，共涂抹24对（高低浓度组分别相当于1005cfu/100cm²和278cfu/100cm²），用L型玻璃棒在其表面涂抹均匀，然后将不锈钢平板放至层流通风橱干燥10分钟作为采样对象，依干燥时间顺序随机化配对编号后立即由两个试验员分别用3M测试片和国标法对同组不锈钢表面进行菌落总数检测。

1.4 营养琼脂培养基和相关材料

参照GB4789.2-2003执行^[1]

1.5 采样与检验

1.5.1 国标法

用无菌镊子将不锈钢平板放平，用经灭菌生理盐水湿润的4根灭菌棉签，按照自上而下、从左到右的顺序，与不锈钢平板呈30°角度严格采样，每根均匀充分涂抹20平方厘米采样对象表面，每块不锈钢平板共涂抹80平方厘米，剪去与手接触的棉棒部分，将棉签头置于40ml灭菌盐水试管中，充分振摇后制成原液，然后按GB4789.2-2003进行检验。

1.5.2 测试片法

用1mL无菌稀释液水化3M测试片，在使用前将纸片放置至少1小时，使胶固化。提起上层膜，使胶体部分置于目的表面5秒钟，用手指摩擦上层膜外侧，保证膜与表面充分接触，使上层膜与目的表面分离，然后将其与培养基合上，将纸片置于36℃±1℃培养箱内培养24小时。

1.6 质量控制

1.6.1 由工作经验丰富的检验技师严格按照标准化操作规程配置标准菌壤液以及人工污染不锈钢平板，测试片的采样、培养及结果判读由1名3M公司专业技术人员独立完成；国标法的采样、培养及结果判读由1名检验技师独立完成。所有试验检测均在上海市副食品质量检测站无菌室完成。

1.6.2 每个浓度组不锈钢平板样品试验前和试验后各检测1次空气中菌落总数，以确保实验室空气环境的洁净度达到菌落计数的要求。

1.7 数据统计与分析

将菌落总数计数统一转换成100cm²不锈钢平板采样面积上的结果。细菌在适合生长的培养基上一般以指数形式繁殖，为了真实反应菌落总数不同检测方法之间的差异，同时也是为了满足菌落总数检测结果符合配对t检验所需要的正态分布，一般将菌落总数结果取常用对数，并且使用SPSS.11对结果进行统计分析。其中：

相对标准偏差 (RSD) = 标准误 (S) / 均数 ()

采样率 = 均数 () / 人工配置不锈钢平板菌落总数浓度(C)

2 结果

2.1 两种检测方法结果精密度 (RSD, 即相对标准偏差) 的比较 (见表 2.1)

结果表明，不同浓度菌落总数污染的不锈钢表面，3M测试片法检测结果的RSD均明显低于国标法，但两种方法的采样率基本一致。

表 2.1 两种检测方法精密度和采样率的比较

组别	检测方法	样本数量	\bar{x}	$S_{\bar{x}}$	RSD	采样率
高浓度	国标法	12	3.0246	0.0482	0.0159	123.8%
(3.0022)	3M 测试片法	12	3.0187	0.0051	0.0017	123.5%
低浓度	国标法	12	2.3442	0.0871	0.0372	78.1%
(2.4440)	3M 测试片法	12	2.3911	0.0173	0.0072	79.6%

2.2 两种方法检测结果相关性 (见表 2.2)

结果表明，两种检测菌落总数的方法在高浓度和低浓度时的相关性不高，均未达到统计学显著性意义。