

3M Petrifilm 纸片法与 SN 方法检测肠杆菌的比较

顿玉慧¹ 郑启伟² 徐建设³ 陈建国¹ 吴海¹

(1.温州出入境检验检疫局,浙江温州,325027; 2.浙江省发展规划研究院,浙江杭州,310012;
3.衢州出入境检验检疫局,浙江衢州,324002)

摘要: [目的] 探讨快速、便捷的监测港口水域肠杆菌科污染情况,为制定有效的港口水域卫生监管措施,保护我国水域卫生安全提供可靠的依据。[方法] 用 3M petrifilm 肠杆菌科测试片和 SN 方法同时对温州七里港口水样进行检测比对。[结果] 两种方法检测的结果差异不显著。[结论] 3M Petrifilm 肠杆菌科测试片可以用于海港水域水样中肠杆菌科的检测。

关键词: 3M Petrifilm 肠杆菌科检测卡, SN 方法

中图分类号: Q939.121, Q93-332

COMPARISON 3M Petrifilm METHOD AND SN METHOD FOR DETECTION OF ENTEROBACTERIACEAE

DUN Yuhui¹ ZHENG Qiwei² XU Jianshe³ CHEN Jianguo¹ WU Hai¹

(1.Wenzhou Enter-Exit Inspection & Quarantine Bureau, Wenzhou, Zhejiang, 325027,
2.Zhejiang Development & Planning Institute, Hangzhou, Zhejiang, 310012,
3.Qūzhou Enter-Exit Inspection & Quarantine Bureau, Qūzhou, Zhejiang, 324002)

Abstract: It is to discuss the simple and rapid method to monitor Enterobacteriaceae in water of ports. Samples were taken from the water of Wenzhou Qili Port and were detected by 3M petrifilm Enterobacteriaceae count plate method and SN method, respectively. The results showed that the two methods are consistently by SPSS10.0 analysis. 3M petrifilm Enterobacteriaceae count plate method was a feasible way to detect the Enterobacteriaceae in water bodies of ports.

Key words: 3M petrifilm Enterobacteriaceae count plate, SN method

1 前言

目前,世界各地广泛采用大肠菌群、粪大肠菌群和大肠杆菌作为食品及环境的卫生指标菌,但在欧洲,很早以前就大量使用在分类学上准确描述命名的肠杆菌科(Enterobacteriaceae)来代替无分类学名称的大肠菌群、粪大肠菌群作为食品及环境卫生指标菌,并于2006年1月1日起开始实施的欧盟第2005/2073/EC号指令中引入了肠杆菌科(Enterobacteriaceae)作为食品卫生指标菌^[1]。肠杆菌科的优点为可消除因大肠菌群、粪大肠菌群产气特性随检验方法和实验条件不同而造成结果的不准确性。

肠杆菌科的分类主要根据生化反应和抗原构造,按照 Bergery 分类法,分为5个族、12个属。近年来由于分子生物学技术的发展,现已可采用计算机技术分析各种生化反应和比较细胞核 DNA 的同源性等,在此基础上,伯杰细菌分类手册上将肠杆菌科细菌分

为44个属^[2],包括肠道病原性和非病原性的细菌。故以其作为指标菌则较大肠菌群等指标菌更敏感,更准确。

2 材料与方法

2.1 采样方法

用无菌海水采样器(国家海洋局天津海洋研究所研制)采集温州七里港海域水深2、3、4、5、6m水样,用无菌广口瓶盛装采水样,每个点采水两份,共10个水样。

2.2 培养基和试剂

PW 稀释液、VRBGA 琼脂、葡萄糖琼脂、氧化酶试剂(北京陆桥生物有限公司产品), 3Mpetrifilm 肠杆菌科测试卡。

2.3 试验方法

2.3.1 按照 SN/T0738-1997《出口食品肠杆菌科检验方法》,无菌吸取样品 25mL,置于 225mL PW 稀释液

中,充分混匀,制成1:10的样品稀释液。

2.3.2 对每一个试样,分别用灭菌吸管吸1mL分别接种到两个灭菌平皿(VRBGA 双层浇灌)和3M petrifilm 肠杆菌科测试卡。

2.3.3 将VRBGA平板及3Mpetrifilm 肠杆菌科测试卡放入37℃培养箱培养24h。

2.3.4 分别挑取3M Petrifilm 上的菌落和按照SN标准挑取VRBGA平板上的菌落,进行葡萄糖发酵及氧化酶确认试验,并对确认为肠杆菌科的细菌进行VITEK 鉴定。

2.3.5 取出VRBGA平板及3Mpetrifilm 肠杆菌科测试卡进行计数。计数VRBGA平板上直径 $\geq 0.5\text{mm}$,有或无沉淀环的粉红色—红色的菌落,计数3Mpetrifilm 上带有气泡和/或黄晕的菌落。

2.4 统计

用SPSS10.0统计软件对不同水体菌的检出率和构成比进行统计分析。

3 结果

3.1 3M 肠杆菌科测试卡法和SN法对不同水体中肠杆菌科检出份数的结果比较(表1)

表1 纸片法和SN法对水样的检测结果

试验方法	试验项目	试验结果(阳性份数)
纸片法	肠杆菌科	10
SN法	肠杆菌科	10

表1显示,纸片法和SN法对肠杆菌科阳性份数一致。

3.2 两种测试方法对肠杆菌科检测结果(表2)

表2 纸片法和SN法检测不同水体肠杆菌科计数比较

编号	深度(m)	肠杆菌科数	
		纸片法(cfu/mL)	SN法(个/mL)
1	2	220	200
2	2	200	210
3	3	120	150
4	3	140	150
5	4	150	150
6	4	150	160
7	5	170	210
8	5	180	200
9	6	180	200
10	6	190	180

表2显示,纸片法和SN法对肠杆菌科的结果很接近,差异不显著($F=0.762>0.05$)。

3.3 VITEK 鉴定

水样中分离出的肠杆菌科细菌有埃希菌属的大肠

埃希氏菌、爱德华菌属的保科爱德华菌、克雷伯菌属的肺炎克雷伯菌、肠杆菌属的阴沟肠杆菌、变形菌属奇异变形菌、普罗威登斯属的雷氏普罗威登斯菌、摩根菌属的摩氏摩根菌。

4 讨论

4.1 从样品试验数据可以看出,用SN/T0738-1997 肠杆菌科计数方法和3M Petrifilm 肠杆菌科检测纸片法检测水样的肠杆菌科结果无显著性差异。虽然两种方法检测所需时间一样,但SN方法需要对VRBGA 平板上的菌落进行葡萄糖发酵及氧化酶确认试验,而3M Petrifilm 法减掉了配制培养基和准备消毒平皿显示出快速简便的优势,且因培养后细菌显示颜色而方便计数,可避免漏计,减少人工计数误差,但成本较高。

4.2 3M Petrifilm 肠杆菌科检测纸片计数肠杆菌科不会出现假阳性的结果。从3M Petrifilm 上挑取单菌落进行葡萄糖发酵及氧化酶确认试验,结果表明3M Petrifilm 上生长的均是肠杆菌科细菌。

4.3 本次实验结果显示水深度(2~6m)与肠杆菌科数量没有明显关系,此范围内均有肠杆菌科细菌生长,显示此区域水已被肠杆菌科污染。但限于我国还没有关于水域中肠杆菌科限量的法规,还无法评估此水域被肠杆菌科污染的程度。建议有关方面从保护我国水域卫生安全的角度,针对肠杆菌科尽快制定适宜的污染限度标准。

4.4 大肠菌群仅包含了对乳糖发酵型细菌的检测,如大肠埃希氏菌、克雷伯氏菌、柠檬酸杆菌等,但不包括非乳糖发酵型的沙门氏菌、志贺氏菌、耶尔森氏菌等致病菌的检测。大肠菌群中包含了沙雷氏菌和气单胞菌等非肠道菌,在非肠道菌占优势的环境,使用大肠菌群会夸大其污染情况,而肠杆菌科除了大肠菌群中的乳糖发酵型细菌还包括了很多非乳糖发酵型细菌,所以现在正被世界上很多国家采用。基于肠杆菌科对评价环境卫生的作用相当突出,本研究采用了肠杆菌科作为港口水域环境的指标菌,并在国内首次使用3M Petrifilm 肠杆菌科检测纸片计数水域中的肠杆菌科,实验结果证明使用3M Petrifilm 检测片来检测水域中的肠杆菌科是可行的,肠杆菌科可以真实的指示水域中肠道指标菌的污染。

参考文献

- [1] COMMISSION REGULATION (EC) No 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs.
- [2] 伯杰氏系统细菌学手册(2004版) Bergey's manual of systematic bacteriology (second edition,2004)伯杰氏系统细菌学手册.