



菌落总数测试片法在生活饮用水检测中的应用实验

程 权 何 苗 许 霞

(合肥供水集团有限公司水质检测中心, 安徽合肥 230011)

摘要: 本文针对测试片法能否应用于饮用水菌落总数的检测, 选用了两种测试片进行了测试片法与平皿计数法的最低检出限、检出率和检测结果的一致性试验。结果表明, 测试片法与平皿计数法的最低检出限和检出率是一致的; 测试片1的检测结果与平皿计数法有显著性差异, 测试片2的检测结果与平皿计数法无显著性差异。结论: 测试片法在最低检出限、检出率以及检测结果都与平皿计数法无显著差异, 可以应用于饮用水的菌落总数检测, 但需要在选用前进行验证试验。

关键词: 测试片法 平皿计数法 生活饮用水 菌落总数

前言

菌落总数作为生活饮用水微生物检测的首选项目在评价饮用水水质安全方面有其重要的意义。国标中饮用水菌落总数检测一直采用平皿计数法, 过程繁琐且对操作人员有较高的要求。2008年, 测试片法作为菌落总数的第二法写入了国标食品卫生微生物检验中^[1]。此方法可以减少前期配制培养基和后期清洗等大量工作, 提高工作效率。又可以避免用平皿计数法由于倾注的营养琼脂培养基温度过高造成的细菌失活。目前国内已有不少检测机构也对测试片法来检测菌落总数进行了方法验证试验, 但结论不一^{[2][3][4]}。本试验选用了两种菌落总数测试片(不同供应商提供的, 分别用测试片1和测试片2表示)与平皿计数法对各种生活饮用水水样进行了比较试验。

1、方法

1.1 平皿计数法^[5]: 以无菌操作方法吸取1mL充分混匀的水样, 注入灭菌平皿中, 倾注约15mL已融化并冷却到45℃左右的营养琼脂培养基, 并立即旋摇平皿, 使水样与培养基充分混匀。做平行和培养基空白。待冷却凝固后, 翻转平皿置于36±1℃培养箱内培养48h。计数。

1.2 测试片法: 吸取1mL充分混匀的水样, 注入菌落总数测试片中, 立即用压板使水样均匀覆盖于圆形面积内, 静置1min, 置于36±1℃培养箱内培养48h。计数。

1.3 最低检出限试验

采集水源水, 以1:10的比例进行梯度稀释, 最低稀释度为10⁻⁴。用两种测试片和平皿计数法选择适宜的稀释度进行检测, 检测时要考虑取样的均匀性和随机性。分别检测10个平行样, 结果取平均值。

1.4 检出率试验

随机抽取100个生活饮用水水样分别用两种测试片与平皿计数法进行菌落总数的检测。菌落数≥1CFU/mL为检出, 用检出的样品数占总样品数的百分数表示检出率。分别统计测试片1、测试片2和平皿计数法的检出率。

1.5 检测结果的差异性试验

分别用两种测试片与平皿计数法比较检测了13个含菌量不同的生活饮用水, 结果采用配对t检验进行分析。

2、结果

2.1 最低检出限试验

检测结果见表1

表1 最低检出限试验结果

稀释度 方法	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴
平皿计数法	170±14	20±4	1±1	<1
测试片1	150±10	16±3	1±1	<1
测试片2	170±11	21±3	1±1	<1

由表1可知, 两种测试片与平皿计数法的最低检

出限是同一个稀释度。

2.2 检出率试验

测试片 1、测试片 2 和平皿计数法的检出率见表 2。

表2 检出率试验结果

方法 \ 结果	总样品数 (个)	检出样品数 (个)	检出率 (%)
平皿计数法	100	19	19
测试片 1	100	20	20
测试片 2	100	20	20

由表 2 可见, 测试片法和平皿计数法对生活饮用水菌落总数的检出率是一致的。

2.3 检测结果的差异性试验

检测结果见表 3

表3 生活饮用水菌落总数的检测结果

序号	平皿计数法 (CFU/mL)	测试片 1 (CFU/mL)	测试片 2 (CFU/mL)
1	5	4	4
2	14	13	15
3	27	20	27
4	33	21	31
5	40	28	43
6	51	38	55
7	76	49	77
8	90	60	94
9	80	52	82
10	120	74	120
11	140	86	150
12	230	170	230
13	550	300	570

对表 2 中用测试片 1 检测的结果与平皿计数法进行配对 t 检验, $|t| > t_{12,0.05}$ (双侧), 即 $P < 0.05$, 表明两者有显著性差异^[6]。说明测试片 1 的检测方法与平皿计数法的检测结果不一致。

用同样的数据分析方法, 测试片 2 的检测方法与平皿计数法进行配对 t 检验, $|t| < t_{12,0.05}$ (双侧), 即 $P > 0.05$, 表明两者无显著性差异^[6]。

3、结论与讨论

3.1 由以上试验可知, 测试片法可以用于测定生活饮用水及其水源水中的菌落总数, 但由于测试片生产条件和工艺的差别, 使得其对水样中细菌的均匀分

散效果不同, 从而导致检出结果上存在差异, 因此在选用前需对每一批次的测试片进行验证试验, 以确保实验的准确性和稳定性。

3.2 测试片法检测水中菌落总数不需要前期的配制培养基、消毒平皿和后期的清洗培养平皿等大量准备工作, 并且由于菌落呈红色斑点状, 易于计数, 不仅减少了工作量, 提高了工作效率, 同时降低了操作人员的差错几率。

3.3 平皿计数法 (见图 1) 由于使用的是普通营养琼脂培养基, 不具选择性, 常出现特种菌由于过快繁殖造成的片状生长, 造成菌斑重叠覆盖, 严重影响准确计数。测试片 (见图 2) 在这方面有较大改善, 菌落分散均匀且不重叠, 方便计数; 个别样品会有红色溶菌斑现象, 这是由于特殊菌种的分泌物有溶胶作用, 不影响结果计数。



图1 平皿计数法菌落形态



图2 测试片法菌落形态

3.4、平皿计数法由于要求水样与培养基完全混匀使菌落分散均匀, 倾注平板时温度控制的误差容易造成细菌热损伤, 使得检测过程对检测人员要求很高, 容易造成结果不准确, 测试片法在这方面很好的缩小了由于检测人员的操作而产生的误差。

参考文献:

- [1] GB/T4789.2-2008《食品卫生微生物学检验菌落总数测定》. 中国标准出版社. 2009.
- [2] 陈德云等. 细菌菌落总数测试片快速检测菌落总数的研究和应用. 中国卫生检验杂志, 2009 (5): 1158.
- [3] 稽志远 3MPetriFilm 测试片法检测水中菌落总数. 中国给水排水, 2010 (7): 119-121.
- [4] 王中民, 田葆萍, 曹巧玲. 国标法和 3MPetriFilm 测试片法检测饮用水中菌落总数的比较. 实用预防医学, 2011 (2): 349-350.
- [5] 中华人民共和国国家标准. GB/T5750-2006《生活饮用水标准检验方法》. 中国标准出版社. 2007.
- [6] 杜荣寿.《生物统计学》: 高等教育出版社. 2003.

作者通联: 013966665143