

分析与监测

# 3M Petrifilm 测试片法检测水中菌落总数

嵇志远

(杭州市水业集团有限公司水质监测中心, 浙江 杭州 310014)

**摘要:** 采用3M Petrifilm 测试片法检测水中的菌落总数, 检验了该方法的灵敏度及其与传统平皿计数法检测结果的一致性, 结果表明两种方法检测结果的一致性较好, 且3M 测试片法具有操作简便、灵敏度高的优点, 可以作为水质菌落总数检测的新方法。

**关键词:** 3M Petrifilm 测试片法; 菌落总数; 平皿计数法

**中图分类号:** TU991 **文献标识码:** C **文章编号:** 1000-4602(2010)14-0119-03

## 3M Petrifilm Plate Method for Determination of Bacterial Count in Water

Ji Zhi-yuan

(Water Quality Monitoring Center, Hangzhou Water Group Co. Ltd., Hangzhou 310014, China)

**Abstract:** 3M Petrifilm plate method was used to determine the bacterial count in water. The sensitivity of 3M Petrifilm plate method and its consistency with conventional plate count technique were tested. The results show that the consistency of determination results between both methods is excellent. Due to high sensitivity and simple operation, 3M Petrifilm plate method is suitable for determination of bacterial count in water.

**Key words:** 3M Petrifilm plate method; bacterial count; plate count method

菌落总数是用于水质卫生学评价的最基本指标, 特别是对于各类生活饮用水, 国家标准对菌落总数指标有着严格的控制( $<100$  CFU/mL)。

目前国内用于检测各类水质菌落总数指标的通用方法为平皿计数法, 而3M Petrifilm 法是一种区别于传统方法的菌落总数测定方法, 目前已经被广泛应用于食品类检测领域<sup>[1]</sup>, 饮用纯净水的国家标准也已经将其列入菌落总数的检测方法<sup>[2]</sup>。测定原理如下: 3M Petrifilm 为预先制备好的培养基系统, 测试片上的培养基含有冷水可溶性凝胶和指示剂, 菌落测试片中含有的指示染料可使菌落显示红色。在接种样品并经过一定时间的培养后, 计数测试片所在区域红色菌落的数量来判定样品的菌落总数指标。笔者采用3M Petrifilm 测试片检测水中的菌落总数。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

① 菌株。大肠埃希氏菌, 购自中国工业微生物种保藏中心(CICC), CICC 编号: 10003。

② 培养基。营养琼脂、营养肉汤, 购自杭州微生物试剂厂。

③ 3M Petrifilm 菌落总数测试片。购自3M 中国有限公司。

④ 样品。包括菌种加标样品和实际水样。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 3M Petrifilm 测试片法

① 纸片包装袋未开封时, 冷藏于温度 $\leq 8$  °C 的环境下, 并在保存期内用完, 温度高时, 凝固水可以排除, 包装物最好于室温开启。开封后将封口用胶带封紧。保存再封的袋于25 °C 以下和湿度 $< 50\%$  下保存, 不要冷藏已开启的包装袋, 并于一个月

内使用完。

② 将测试片置于平坦表面处,揭开上层膜。

③ 用吸管将1 mL样液垂直滴加在测试片的中央处。

④ 允许上层膜直接落下,切勿向下滚动上层膜。

⑤ 将压板隆起面底朝下,放置在上层膜中央处。

⑥ 轻轻压下,使样液均匀覆盖于圆形的培养面积上,切勿扭转压板。

⑦ 拿起压板,静置至少1 min以使培养基凝固。

⑧ 测试片的透明面朝上放置于(36±1)℃培养箱内培养48 h,可堆叠至20片。

⑨ 用目视及标准菌落计数器或其他照明放大镜计数所有红色菌落数(无论大小和深浅都计算之),并用3M Petrifilm 菌落总数测试片判读方法进行结果统计:当纸片上有红色菌落时,为“检出”,应首先选择菌落数在25~250个范围内的样本进行统计,结果取平均数再乘以稀释倍数。测试片面积为20 cm<sup>2</sup>,当菌落数>250个时,可选择其中一个或数个有代表性的小方格(1 cm<sup>2</sup>),计算平均菌落数,再乘以20得到整个测试片上的菌落数。若纸片没有任何红色菌落,则报告为“未检出”。其他特殊情况见3M Petrifilm 菌落总数测试片判读卡说明。

1.2.2 平皿计数法<sup>[3]</sup>

以无菌操作方式用灭菌吸管吸取1 mL充分混匀的水样(或对样品用无菌生理盐水进行适当比例稀释后的稀释液),注入灭菌平皿中,倾注约15 mL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。待冷却凝固后翻转平皿,使底面向上,置于(36±1)℃培养箱内培养48 h后进行菌落计数。同时另取一个未加样品的空平皿,加入约15 mL营养琼脂,待琼脂凝固后翻转平皿,在相同条件下放入培养箱内培养,作为空白对照。结果判定依照GB/T 5750.12—2006中菌落总数的判定方法。

1.2.3 最低检出限试验

以无菌操作方式用接种环挑取大肠埃希氏菌的标准菌株至营养肉汤培养基,培养18 h后,在420 nm波长下比浊测定肉汤菌悬液的OD值,用无菌生理盐水配制成0.5个麦氏浓度的菌悬液备用。取以

上制备的菌悬液以10:1的比例稀释成不同梯度的菌悬液样品,最低稀释至10<sup>-10</sup>。选择适宜稀释梯度的菌悬液接种3M Petrifilm 菌落总数测试片,每个梯度接种2片,操作方法按照第1.2.1节进行,结果取平均值。同时以营养琼脂平皿计数法测定相同梯度的菌液的菌落数,每个梯度同样平行测定2个平皿,放置于(36±1)℃培养箱内培养48 h,结果取平均值。

1.2.4 饮用水检出率试验

取60个生活饮用水样品,同时以纸片法和平皿计数法进行菌落总数的测定,操作方法同1.2.1和1.2.2节。

样品结果的统计:以检出菌落≥1个为检出,没有菌落检出则为未检出。统计两种方法各自检出的样本数占样品总数的百分率。

1.2.5 检测结果一致性试验

取10个杭州地区水源水样品,同时以纸片法和平皿计数法测定菌落总数,操作方法同第1.2.1和1.2.2节。对两种方法的检测结果进行一致性检验,统计方法采用t函数检验。

2 结果与讨论

2.1 最低检出限试验

最低检出限试验结果见表1。

表1 最低检出限试验结果

Tab.1 Results of detection limit test

| 菌液浓度数量级                          | 10 <sup>-7</sup> | 10 <sup>-8</sup> | 10 <sup>-9</sup> | 10 <sup>-10</sup> |
|----------------------------------|------------------|------------------|------------------|-------------------|
| 3M 纸片法结果/(CFU·mL <sup>-1</sup> ) | 48               | 5                | 1                | 0                 |
| 平皿计数法结果/(CFU·mL <sup>-1</sup> )  | 47               | 3                | 0                | 0                 |

由表1可知,纸片法在10<sup>-9</sup>的稀释度仍然有检出,比平皿计数法的最低检出量高一个稀释梯度。

2.2 生活饮用水检出率试验

生活饮用水检出率试验结果见表2。

表2 生活饮用水检出率试验结果

Tab.2 Results of detection rate of drinking water

| 检测方法   | 样本数/个 | 检出数/个 | 检出率/% |
|--------|-------|-------|-------|
| 3M 纸片法 | 60    | 21    | 35    |
| 平皿计数法  | 60    | 15    | 25    |

由表2可知,纸片法对饮用水的检出率要高于平皿计数法。

2.3 检测结果的一致性试验

3M 纸片法与平皿计数法检测结果的一致性试验结果见表3。

表 3 检测一致性试验结果  
Tab. 3 Consistency of test results

| CFU · mL <sup>-1</sup> |        |        |
|------------------------|--------|--------|
| 样品编号                   | 平皿计数法  | 3M 纸片法 |
| 1                      | 110    | 99     |
| 2                      | 250    | 290    |
| 3                      | 420    | 500    |
| 4                      | 760    | 1 300  |
| 5                      | 780    | 950    |
| 6                      | 2 100  | 3 500  |
| 7                      | 4 900  | 5 500  |
| 8                      | 6 000  | 4 700  |
| 9                      | 6 400  | 8 100  |
| 10                     | 17 000 | 19 000 |

对表 3 两种方法的检测结果使用  $t$  函数检验,  $P > 0.05$  ( $\alpha = 0.05$ ), 说明这两种方法的检测结果无显著性差异。

3 讨论

由 3M 纸片法和平皿计数法两种方法的最低检出限试验和生活饮用水检出率试验的结果可知, 3M 纸片法的灵敏度要高于传统的平皿计数法。两种方法的一致性试验结果也表明, 3M 纸片法对于水质复杂水样的检测结果也是可信的。此外, 相比之下, 3M 纸片法还具有如下优点:

① 操作简便迅速。传统平皿计数法在接种水样后需要再倾倒营养琼脂培养基, 并且需要控制培养基的冷凝温度, 过程较为繁琐。而 3M 纸片法的培养基已经在纸片上, 且由于纸片是一次性使用, 免去了平皿灭菌和培养基配制操作, 只需要接种 1 mL 水样并压片即可。在不稀释的情况下, 整个试验过程只需要 1 min, 极其迅速。在试验条件有限的情况

下, 3M 纸片法更适合于各种应急检测。

② 易于观察和计数。传统平皿计数法的培养结果往往是菌落大小形状不一, 菌落颜色与营养琼脂培养基背景色区分度不高, 且常有大面积的片状菌落扩散至整个平皿, 不利于结果的统计。而 3M 纸片法的菌落颜色是红色, 与培养基的色差十分明显, 更有利于人肉眼计数的准确性。此外, 3M 纸片法的菌落大小均一, 在合适的稀释梯度下极少发生菌落的重叠。利用纸片上的小方格, 在菌落数量很多且分布均匀的情况下, 可以只计数一个小方格的数量, 再乘以 20 的倍数即可获得最终的结果。

③ 测试过程中不容易被污染。在包装冷藏未开封的情况下, 3M Petrifilm 菌落总数测试片的有效期可达三年。开袋后的纸片随用随取, 既适合大批量的水样, 也适合单个水样的检测, 不影响同一袋内剩余纸片的检测性能。避免了平皿计数法使用营养琼脂培养基随着熔融次数的增多, 营养琼脂培养基的成分和性能会发生衰变的缺陷。

可见, 3M 纸片法是一种可靠简便的水质菌落总数检测方法, 可以作为水质菌落总数检测的新方法。

参考文献:

[1] GB/T 4789.2—2008, 食品卫生微生物学检验 菌落总数测定[S].

[2] GB 17324—2003, 瓶(桶)装饮用纯净水卫生标准[S].

[3] GB/T 5750.12—2006, 生活饮用水标准检验方法 微生物指标[S].

电话: (0571) 88333157  
E-mail: 95593344@qq. com  
收稿日期: 2010-01-14

节约用水 合理用水  
防治水污染 保护水资源