



Petrifilm™

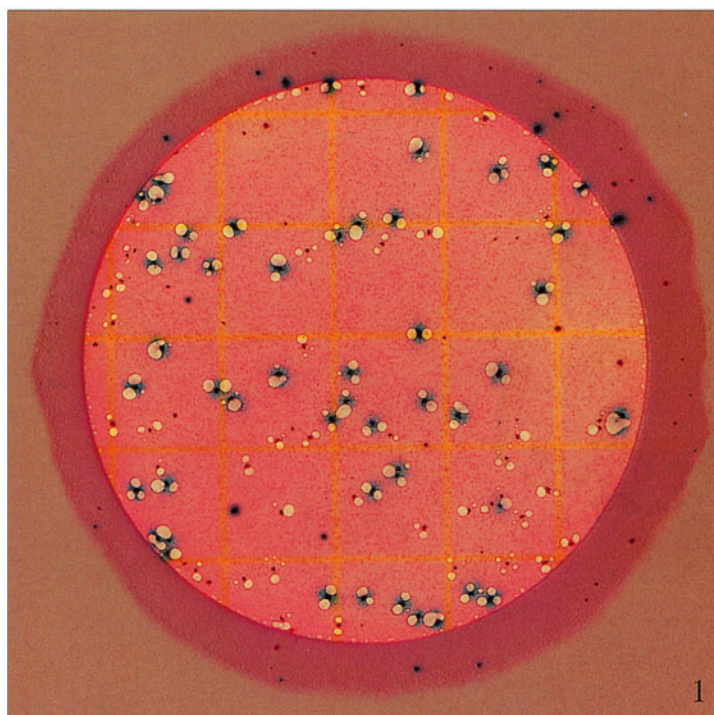
E.coli / Coliform Count Plate

大肠杆菌/大肠菌群测试片

该手册能指导你熟练掌握 3M Petrifilm™ 大肠杆菌/大肠菌群测试片的使用，你可与3M微生物产品代表接洽会得到更多的信息。

Petrifilm™ 大肠杆菌/大肠菌群测试片(E.coli / Coliform Count, EC)测试片含有VRB (Violet Red Bile)培养基，冷水可溶性凝胶及葡萄糖苷酶指示剂，可增强菌落计数效果。绝大多数 *E.coli* (约97%) 能产生β-葡萄糖苷酶与培养基中的指示剂反应，产生蓝色沉淀环绕在大肠杆菌菌落周围，表面覆盖的胶膜，可留住发酵乳糖的大肠菌群和大肠杆菌产生的气体，约有95%的大肠杆菌产气，形成蓝色和蓝红色菌落并有气泡相连接(气泡距离菌落约一个菌落直径的范围内)。

AOAC 和 FDA 细菌学分析手册(BAM)规定大肠菌群为革兰氏阴性杆菌，发酵乳糖产酸产气。大肠菌群菌落在Petrifilm™大肠杆菌/大肠菌群测试片上产酸，pH指示剂使培养基变暗红色。在红色菌落周围有气泡者，为大肠菌群细菌。大肠杆菌鉴定在不同国家有所不同（见培养时间和温度部分提示）。



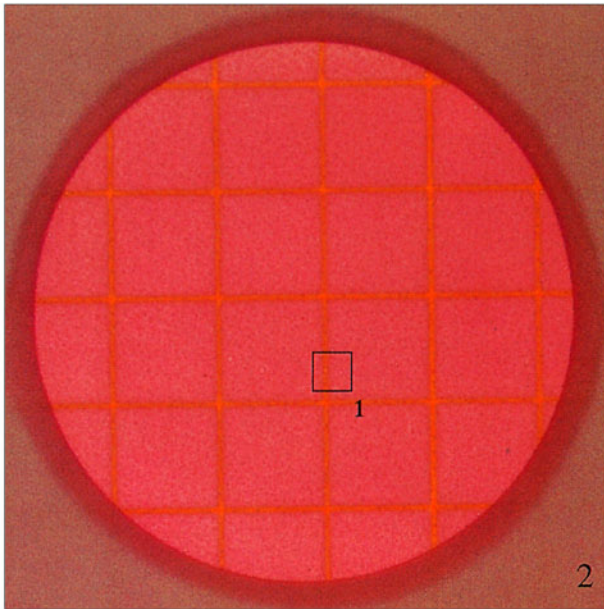
该测试片不能单独测定*E.coli* O157，像大多数其它大肠杆菌/大肠菌群培养基一样，它没有专门指示是否有任何*E.coli* O157菌株的存在。

AOAC确认的方法：

大肠杆菌数 = 49 (蓝色菌落带有气泡)

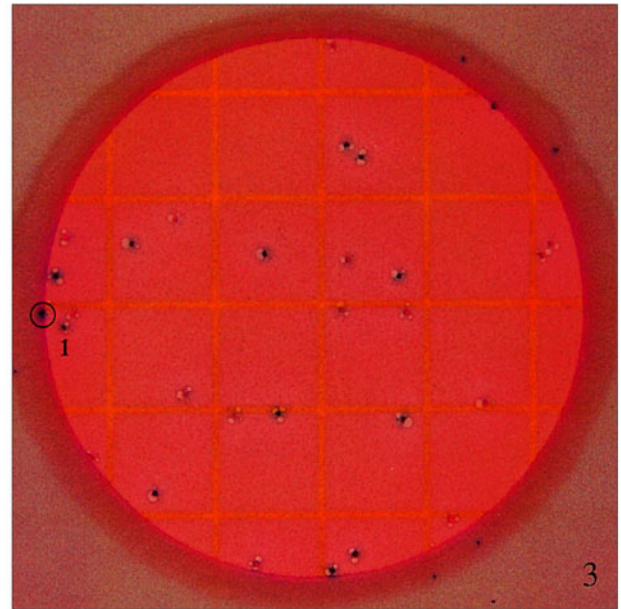
大肠菌群数 = 87 (红色和蓝色菌落带有气泡)

3M Petrifilm™ 大肠杆菌/大肠菌群测试片



没在菌落生长

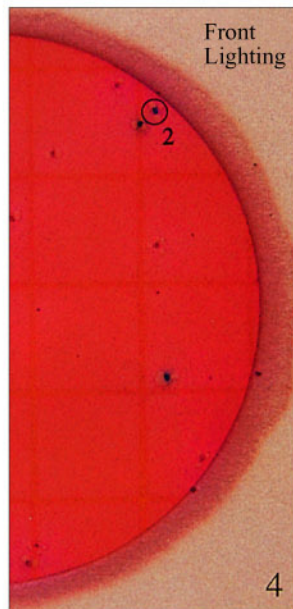
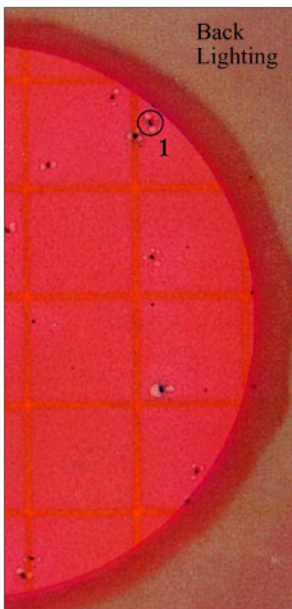
注意图2 到图8 培养基颜色的变化，随着大肠杆菌或大肠菌群菌数增多，培养基颜色变成暗红色或蓝紫色，背景的气泡为培养基现象，不是大肠杆菌或大肠菌群生长结果，见方框1。



大肠杆菌数 = 13

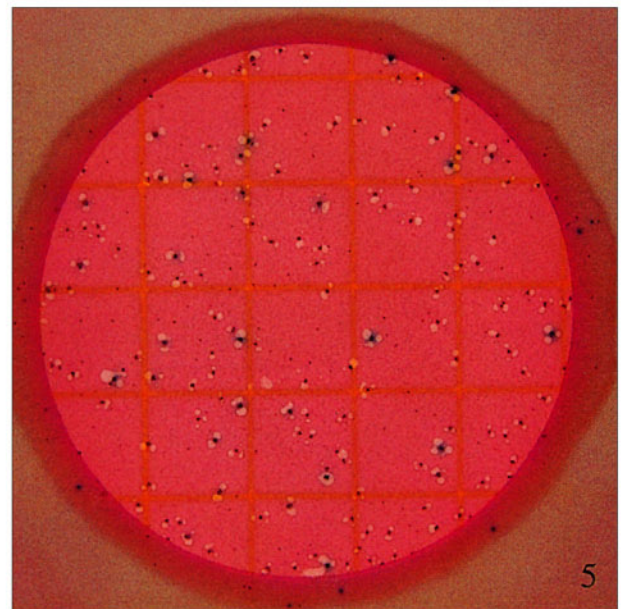
大肠菌群数 = 28

Petrifilm™ 大肠杆菌/大肠菌群测试片的合理计数范围是15-150，不要计算圆形培养基外的菌落，因为泡棉上已不含选择性培养基。见圆圈1



大肠杆菌数 = 3

任何蓝色菌落 (蓝色到红蓝色) 表明有大肠杆菌存在，正面照明增强形成蓝色沉淀菌落的测定，圆圈1示为背面光照的红蓝菌落，圆圈2示为同一菌落的正面光照蓝色沉淀更明显些。

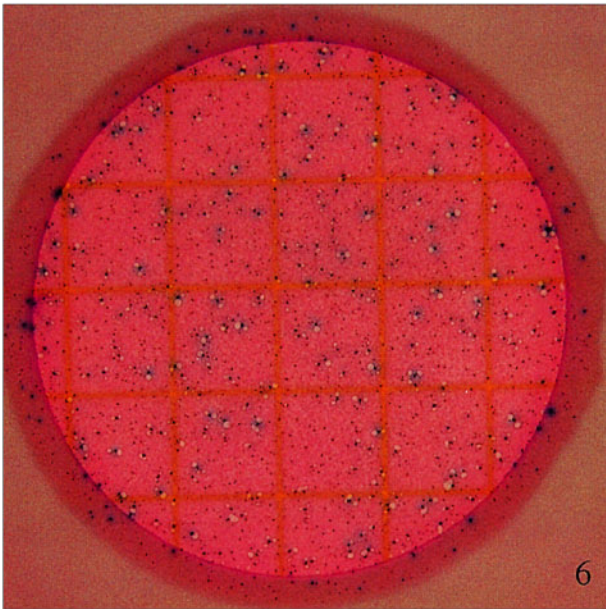


大肠杆菌数 = 17

大肠菌群数估计值 = 150

测试片面积约为20cm²，当菌落数超过150个，为了估计菌落数可选择其中一个或数个有代表性菌落的小方格(1cm²)计算平均菌落数，再乘以20方可得到整个测试片上的菌落数。

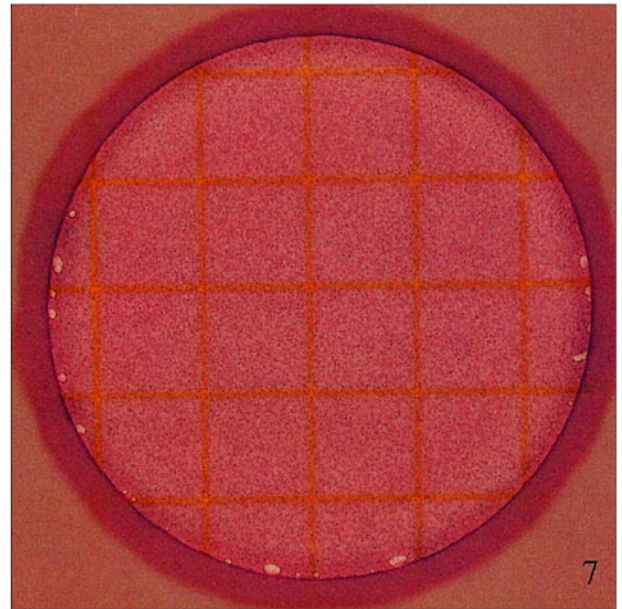
菌落数多不可计(Too Numerous To Count, TNTC)时，需进一步稀释样品以获得准确计数。



实际菌落数 $\sim 10^6$

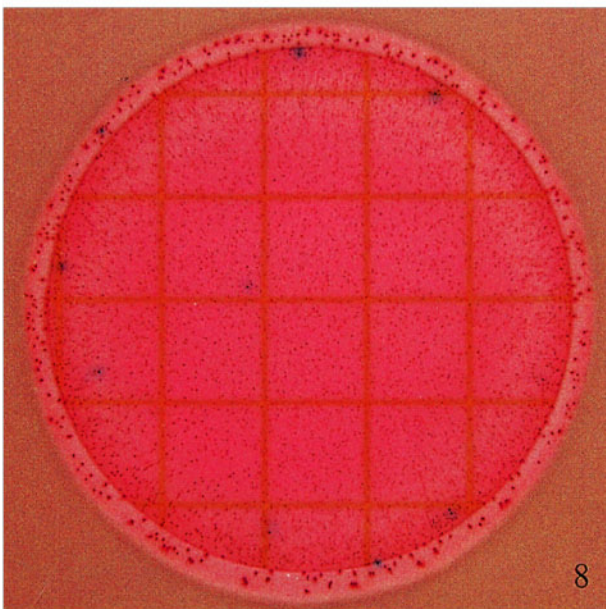
Petrifilm™大肠杆菌/大肠菌群测试片菌落无法计数时至少有下列现象之一：

1. 很多小菌落
2. 有许多气泡
3. 培养基的颜色变深，由红色到蓝紫色



实际菌落数 $\sim 10^8$

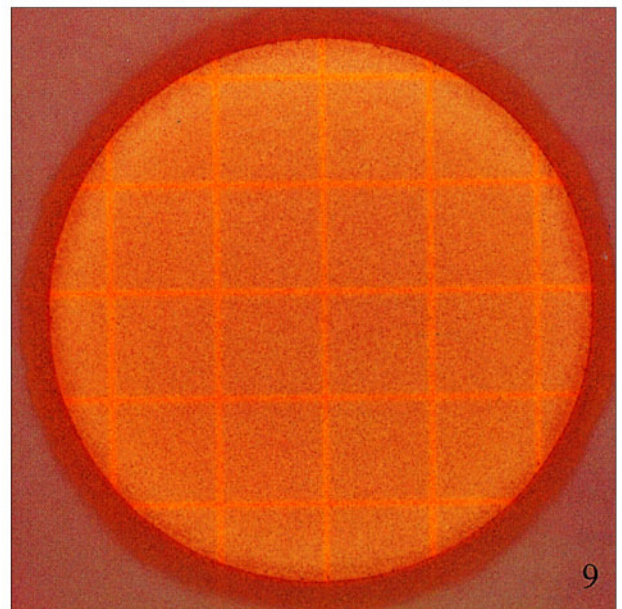
高浓度的大肠杆菌可以引起生长区变成蓝紫色。



大肠杆菌数推测值 ~ 8

大肠菌群数估计值 $\sim 10^8$

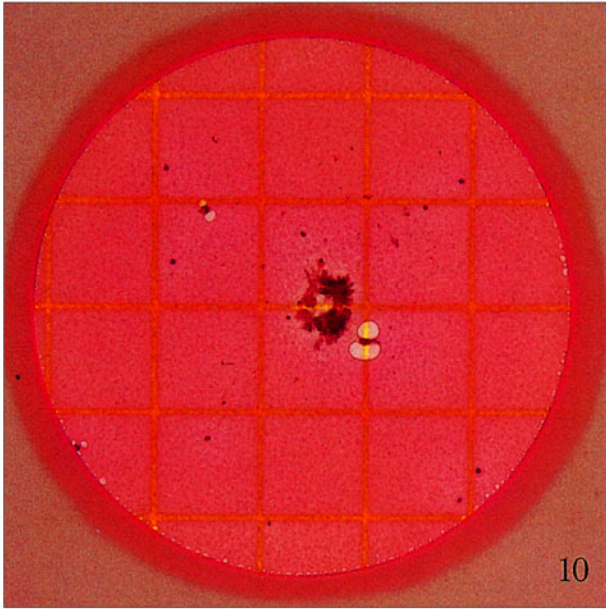
当大肠菌群数 $> 10^8$ 时，一些大肠杆菌菌株可能产生少量气体和不明晰的蓝色菌落。所有不带气泡的蓝色菌落和（或）蓝色环带，推定为大肠杆菌需计数，如有必要需挑取不带气泡的蓝色菌落，进行确认试验。



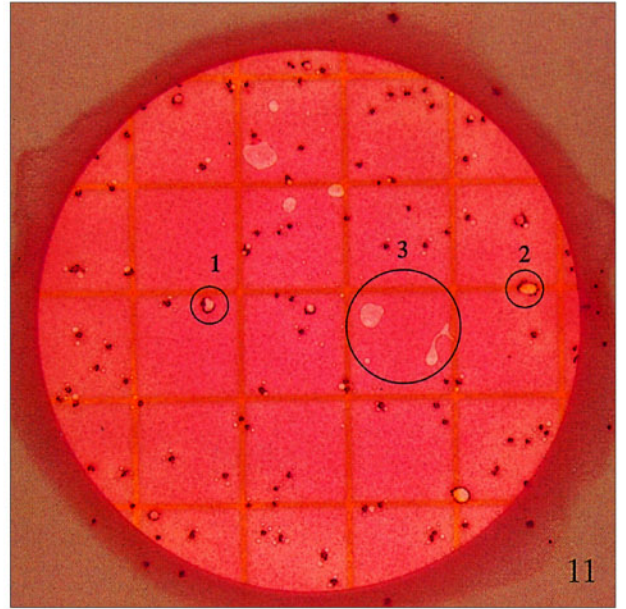
实际菌落数 $\sim 10^8$

当有大量的非大肠菌群细菌如假单胞菌属细菌存在时，Petrifilm™大肠杆菌/大肠菌群测试片培养基颜色呈黄色。

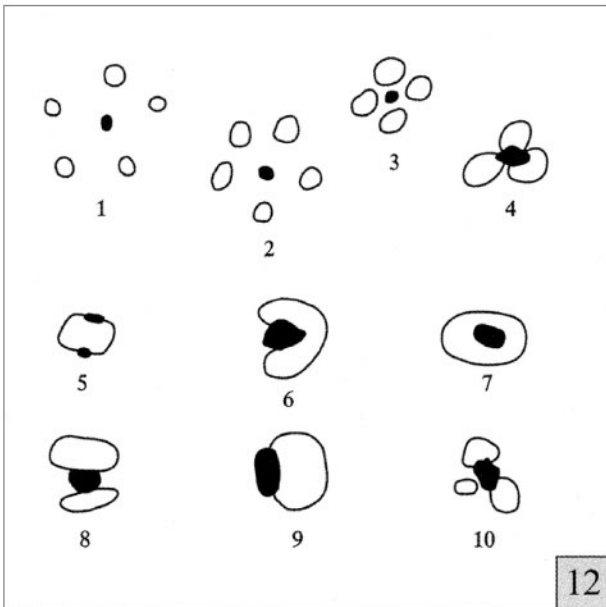
气泡



大肠菌群数 = 3
食物颗粒为不规则形状，且不带气泡。



大肠菌群数 = 78
气泡可有不同形状，气泡可使菌落撑散，使菌落轮廓似气泡，见圆圈1和2。
人为气泡可能是不当的操作所致，或是来自样品内的气体，他们成不规则形状，且不与菌落相连接。见圆圈3

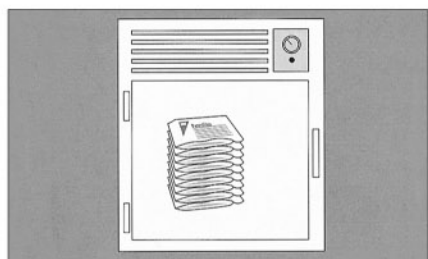


12

图例1-10为不同形状气泡与菌落连接情况，所有菌落应计数。

(详见产品包装袋说明)

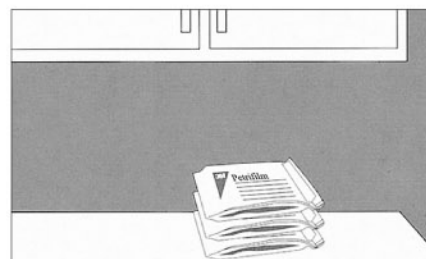
贮藏



1 未开封时，冷藏于 $\leq 8^{\circ}\text{C}$ ($\leq 46^{\circ}\text{F}$)，并在保存期内用完。在高湿度的环境，最好在开包前将包装物恢复到室温，以防止水气凝结。

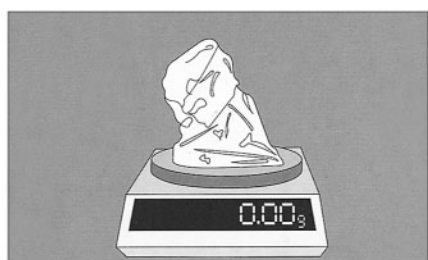


2 已开封的袋，将封口以胶带封紧。



3 重新封好的袋子保存于 $\leq 25^{\circ}\text{C}$ ($\leq 77^{\circ}\text{F}$) 和湿度 $\leq 50\%$ ，不要冷藏已开启的包装袋，并于一个月内使用完。

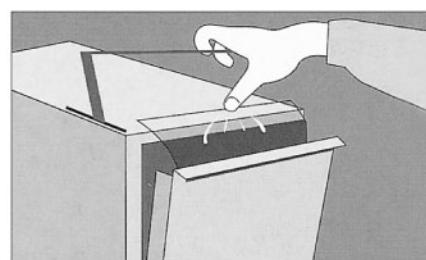
样品制备



4 制备1:10或更大稀释的食物样品稀释液。称取或吸取食物样品，置入适宜的无菌容器内，如均质袋、稀释瓶、Whirl-Pak® bag或其它灭菌容器内。



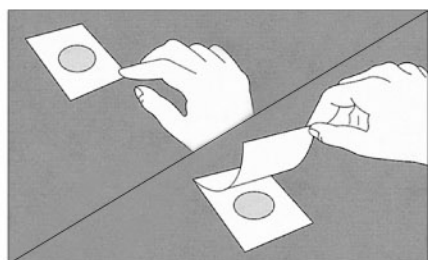
5 加入适量的无菌稀释液，包括 Butterfield's phosphate buffer (IDF phosphate buffer, 用0.0425g/L的 KH_2PO_4 调pH7.2)、0.1%的蛋白胨水、蛋白胨盐水稀释液(ISO方法6887)、缓冲蛋白胨水(ISO方法6579)、盐溶液(0.85-0.90%)、无硫酸氢盐的letheen肉汤或蒸馏水。



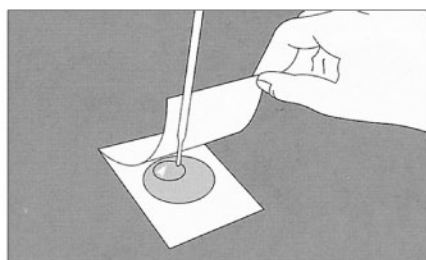
6 搅拌或均质样品
酸性样品的稀释液用1N NaOH调pH6.5-7.5，对碱性样品的稀释液用1N HCl调pH6.5-7.5。

但不可用含有柠檬酸盐、硫酸氢盐或硫代硫酸盐的缓冲液，因为它们会抑制菌的生长。

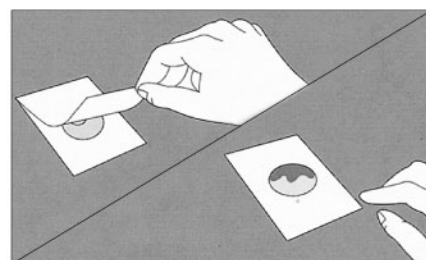
接种



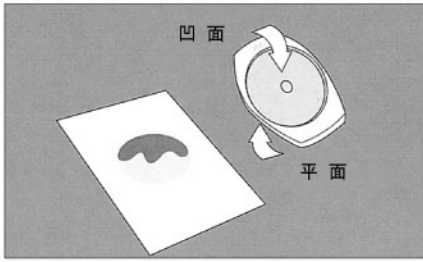
7 将测试片置于平坦表面处，揭开上层膜。



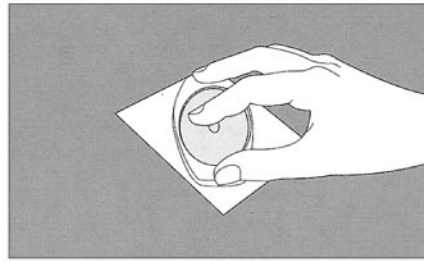
8 使用吸管将1mL样液垂直滴加在测试片的中央处。



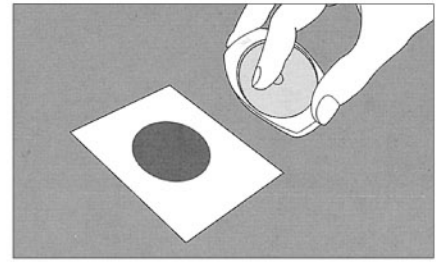
9 细心将上层膜缓慢盖下，避免有气泡产生，切勿使上层膜直接落下。



10 使用压板(平面底朝下)放置在上层膜中央处。

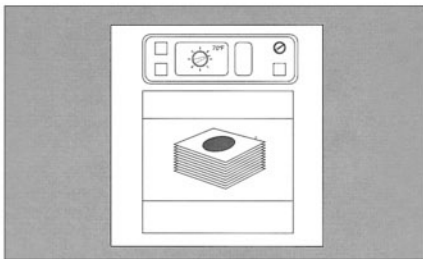


11 轻轻的压下,使样液均匀覆盖于圆形的培养面积上,切勿扭转压板。



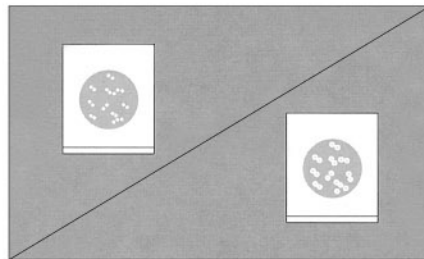
12 拿起压板,静置至少1分钟以使培养基凝固。

培养

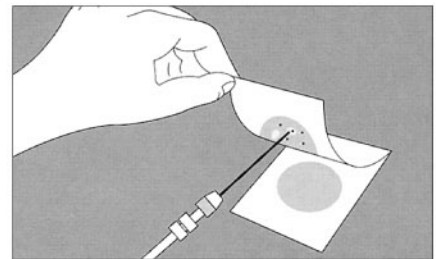


13 测试片的透明面朝上,可堆叠至20片,对有一定湿度培养箱能保持最少水份损失是需要的。

解释



14 可目视,用菌落计数器,放大镜或Petrifilm™自动判读仪计数,并可参考判读手册计数菌落数。



15 可以分离菌落作进一步鉴定,即掀起上层膜,由培养胶上挑取单个菌落。

培养的时间和温度因方法而有不同,最常用的认可方法是:

AOAC官方方法991.14

大肠菌群 $35 \pm 1^\circ\text{C}$ 培养 $24 \pm 2\text{h}$

大肠杆菌 $35 \pm 1^\circ\text{C}$ 培养 $48 \pm 2\text{h}$

AOAC官方方法998.08

大肠杆菌(肉、禽和海产品)

$35 \pm 1^\circ\text{C}$ 培养 $24 \pm 2\text{h}$

AFNOR认可方法3M 01/4—09/92

大肠杆菌 $42 \pm 1^\circ\text{C}$ 培养 $24 \pm 2\text{h}$

NMKL方法(147.1993)

大肠菌群 $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 培养 $24 \pm 2\text{h}$

大肠杆菌 $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 培养 $48 \pm 2\text{h}$

3M

3M中国有限公司

总办事处

上海市兴义路8号
万都中心大厦38楼
邮编: 200336
电话: 86-21-62753535
传真: 86-21-62752343

北京办事处

北京市朝阳区光华路7号
汉威大厦20层东区
邮编: 100004
电话: 86-10-65613336
传真: 86-10-65610188

广州办事处

广州市天河路228号之一
广晟大厦25楼
邮编: 510620
电话: 86-20-38331238
传真: 86-20-38331234

青岛办事处

青岛市香港中路12号
丰合广场B座202室
邮编: 266071
电话: 86-532-85028845
传真: 86-532-85027848

沈阳办事处

沈阳市和平区南京北街206号
沈阳城市广场3-903室
邮编: 110001
电话: 86-24-23341158
传真: 86-24-23341859

郑州办事处

郑州市中原中路220号
裕达国际贸易中心A座22层2205室
邮编: 450007
电话: 86-371-67939335
传真: 86-371-67930388

研发中心

医疗产品部食品工业安全产品
上海市田林路222号
邮编: 200233
电话: 021-22105335
传真: 021-22105036

欢迎访问

英文网址: <http://www.mmm.com/microbiology>

中文网址: <http://FPS.3M.com.cn>