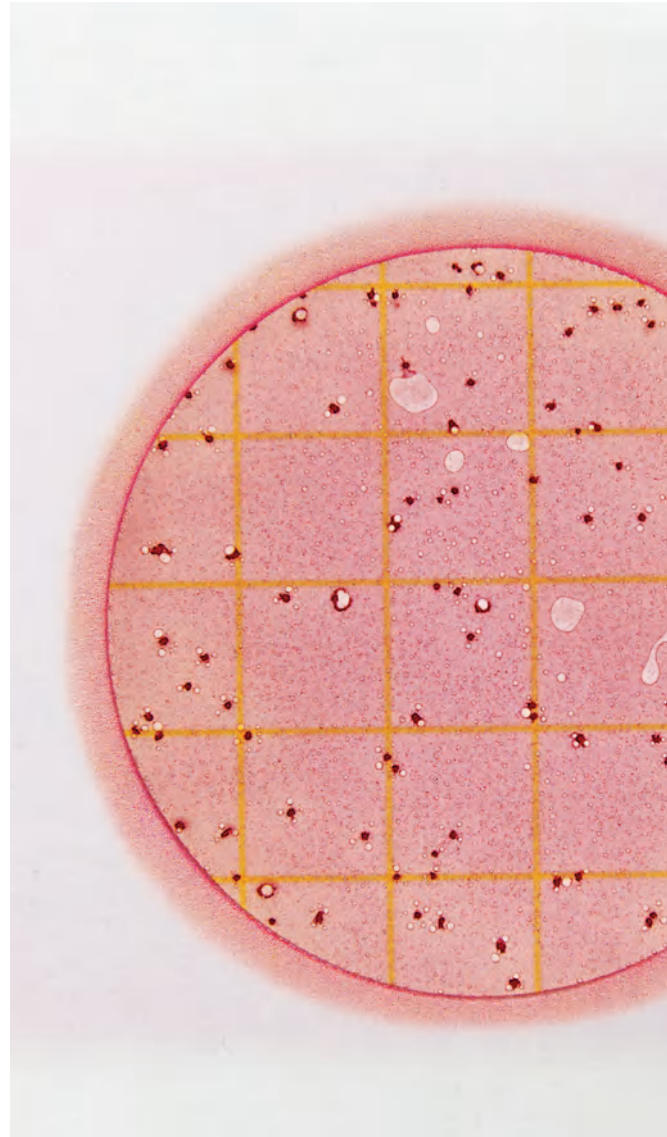




Petrifilm®

判读手册

纽勤® Petrifilm® 大肠菌群测试片为即用型培养基系统, 含有改良的VRB培养基、冷水可溶性凝胶以及有助于菌落计数的四唑指示剂。



大肠菌群测试片

按照不同方法确定大肠菌群

美国食品和药物管理局 (FDA)《细菌分析手册》(BAM) 规定大肠菌群为革兰氏阴性杆菌，能发酵乳糖产酸和产气。大肠菌群菌落在 Petrifilm 大肠菌群测试片上生长并产酸产气，pH 指示剂使其颜色加深，并有气体聚集在红色菌落周围。在本判读手册中，按照 FDA BAM 的定义，大肠菌群的数量就是带气泡的红色菌落的数量。

ISO 根据菌落在特定方法中的选择性培养基上的生长特性来判定大肠菌群。ISO 4832 方法计数紫红色胆汁乳糖 (VRBL) 琼脂上的典型大肠菌群菌落，并对非典型菌落进行确证。在 Petrifilm 大肠菌群测试片上，这些大肠菌群显示为带有或不带有气泡的红色菌落。ISO 4831 方法采用最大可能数 (MPN) 方法来计数大肠菌群，通过其在标准所述的条件下生长并产气的能力来定义大肠菌群。在 Petrifilm 大肠菌群测试片上，这些大肠菌群显示为带气泡的红色菌落。

也可以在 Petrifilm 大肠菌群测试片上计数耐热大肠菌群。通常可在培养温度升高后选择耐热大肠菌群。NF V08 060 中描述了一种计数耐热大肠菌群的方法。将 Petrifilm 大肠菌群测试片在 $44^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 下培养 24 小时 ± 2 小时，然后读取上面的红色菌落总数，其结果等同于采用 NF V08 060 的计数结果。

请参阅产品说明，
以获取更多信息。

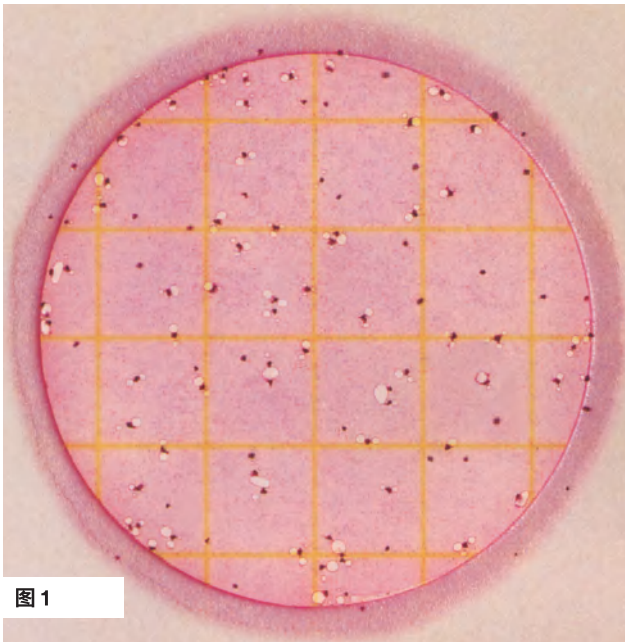


图 1

带气泡菌落数 = 69

总菌落数 = 94

大肠菌群的定义可能因国家而异。

请参阅上述部分以及产品说明，以了解定义。

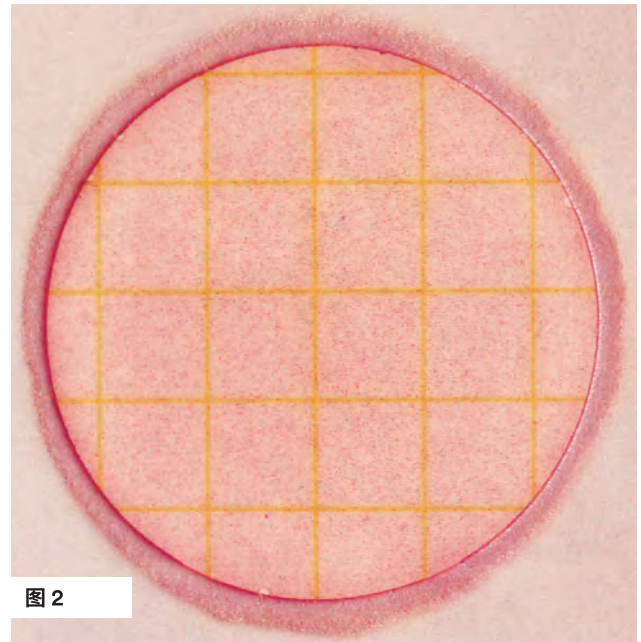


图 2

未生长 = 0

注意图2到图5中凝胶颜色的变化。随着大肠菌群数增加，培养基颜色加深。

背景气泡是培养基的现象，并非大肠菌群生长所致。

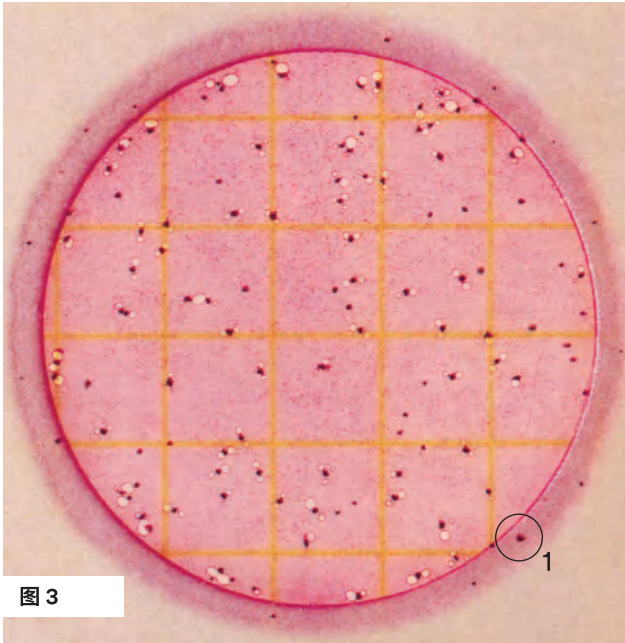


图 3

带气泡菌落数 = 79

总菌落数 = 109

Petrifilm 大肠菌群测试片的建议计数限值为小于150。

不要计算圆形培养区域外的菌落，因为泡棉上已不含选择性培养基(见圆圈1)。

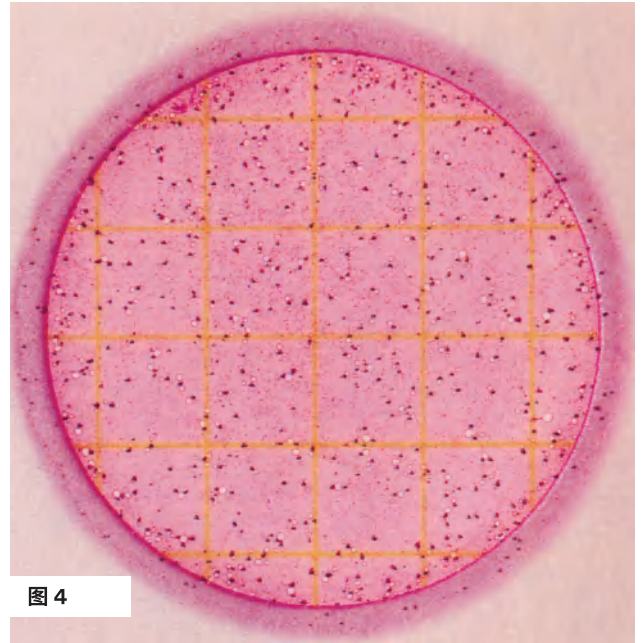


图 4

大肠菌群数估计值 = 220

菌落生长的圆形区域面积约为20平方厘米。要估算含有150 CFU以上菌落的测试片上的大肠菌群数，可计算一个或多个代表性方格中的菌落数并确定每方格内的平均菌落数。然后将平均数乘以20，即算出测试片上的大肠菌群数估计值。

为了更精确地计数，可能需要进一步稀释样品。

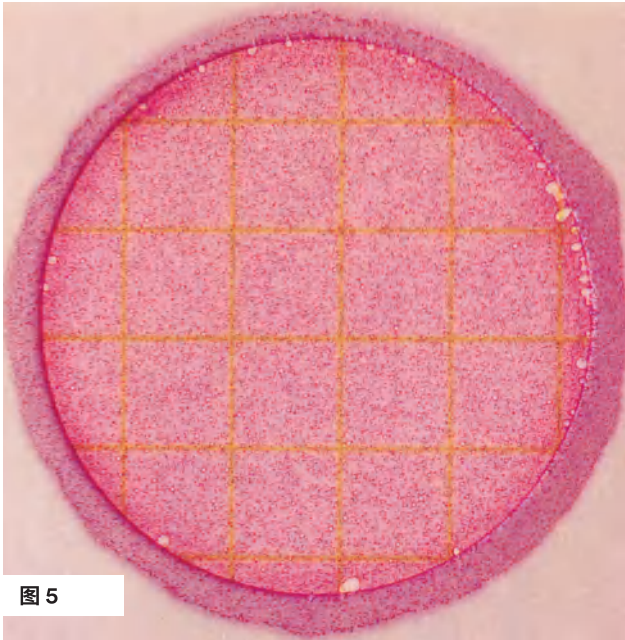


图 5

大肠菌群数 = TNTC

菌落多不可计 (TNTC) 的 Petrifilm 大肠菌群测试片具有以下一个或多个特征: 许多小菌落、许多气泡且培养基颜色加深。

为了更精确地计数，可能需要进一步稀释样品。

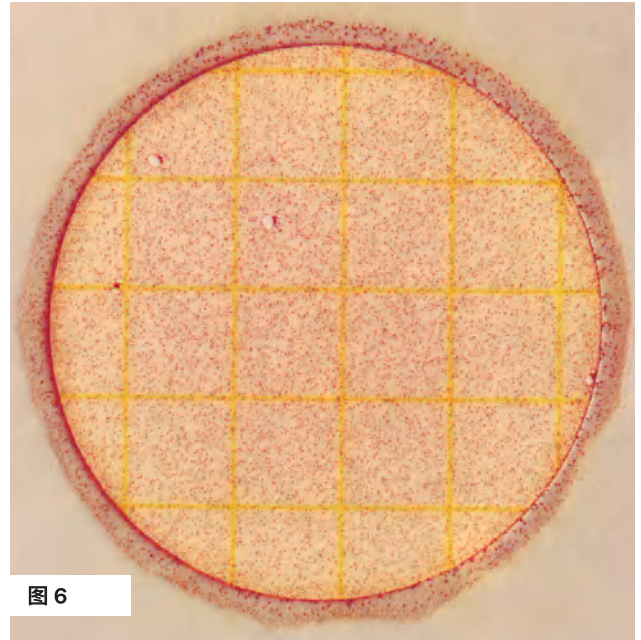


图 6

带气泡菌落数 = 4

当 Petrifilm 大肠菌群测试片上存在大量非大肠菌群(如假单胞菌)时，凝胶可能会变黄。

为了更精确地计数，可能需要进一步稀释样品。

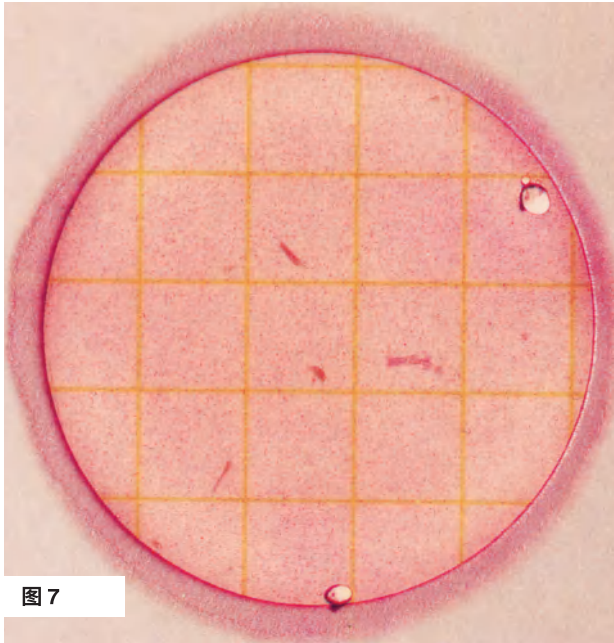


图 7

带气泡菌落数 = 2

总菌落数 = 2

食物颗粒形状不规则, 且不与气泡相连接。

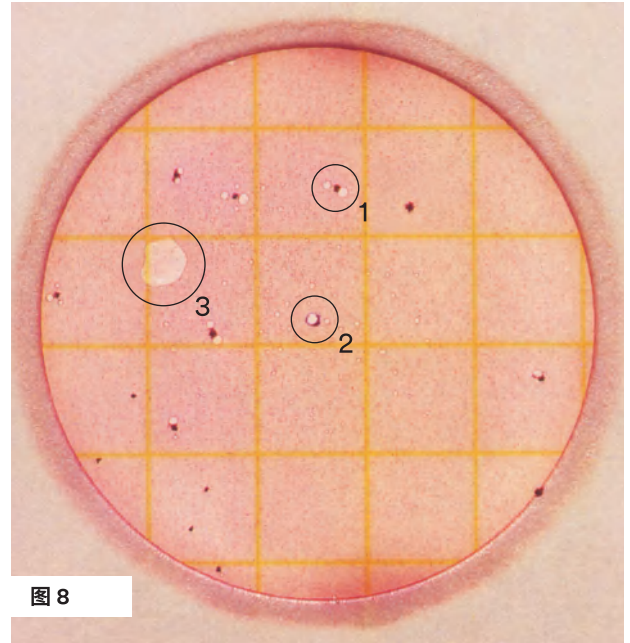


图 8

带气泡菌落数 = 8

总菌落数 = 15

气泡形状可能会有所不同。气体可能破坏菌落, 使菌落呈现出气泡的形状(见圆圈1和2)。伪影气泡可能是由于接种不当或样品内混入空气而导致的。它们形状不规则, 且不与菌落相连接(见圆圈3)。

瓶装水行业的应用

瓶装水样品在Petrifilm大肠菌群测试片上所有带气泡的红色菌落计数为大肠菌群。

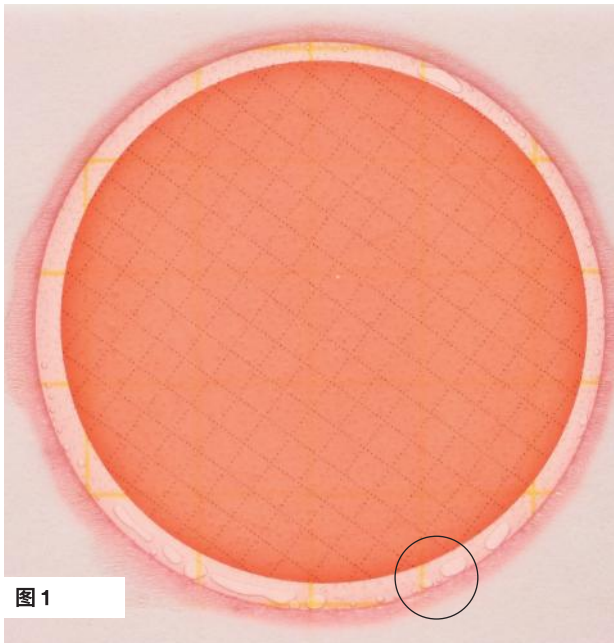


图 1

大肠菌群总数: 0

滤膜附近的气泡表示没有微生物生长。请参见图中圈出的示例。

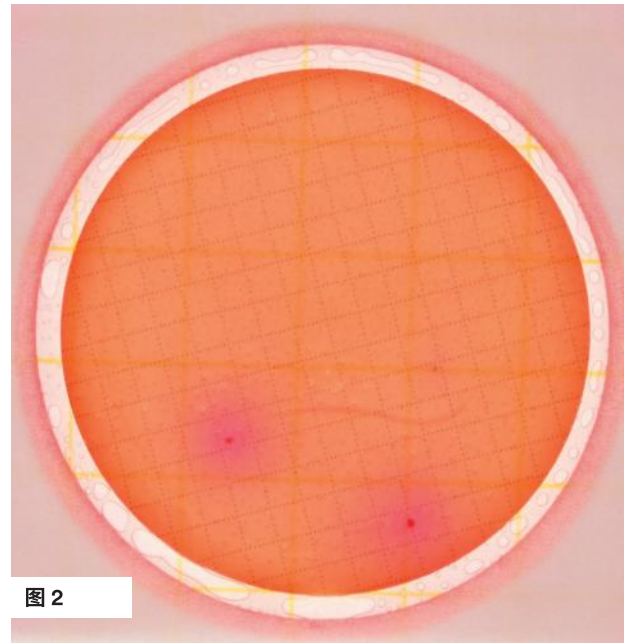


图 2

大肠菌群总数: 0

不带气泡的红色菌落可能是大肠菌群, 应挑取出来并采用适当确证方法进行进一步检测。

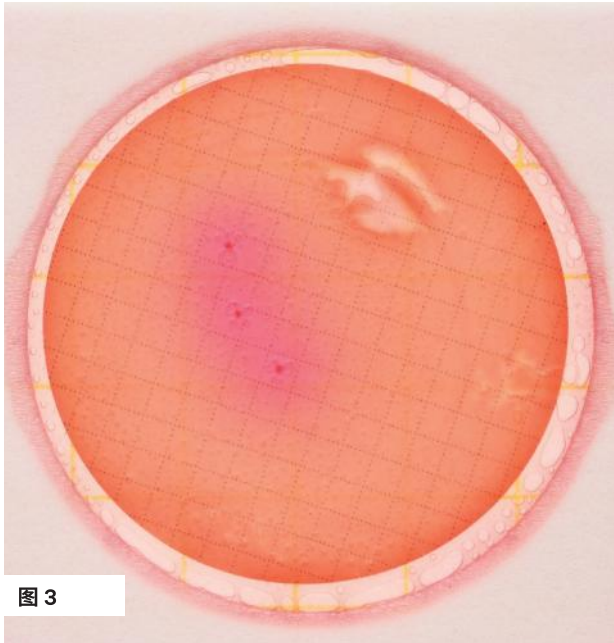


图 3

大肠菌群总数：3

大肠菌群产酸（菌落带浅粉色晕圈）产气，形成气泡。

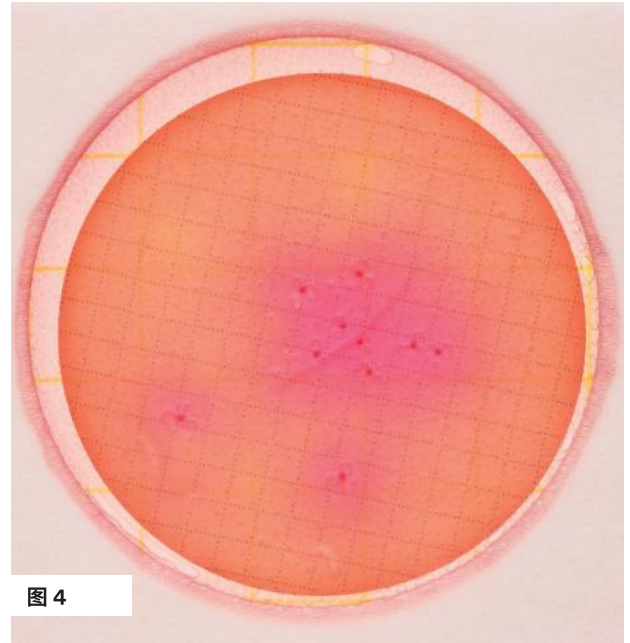


图 4

大肠菌群总数：10

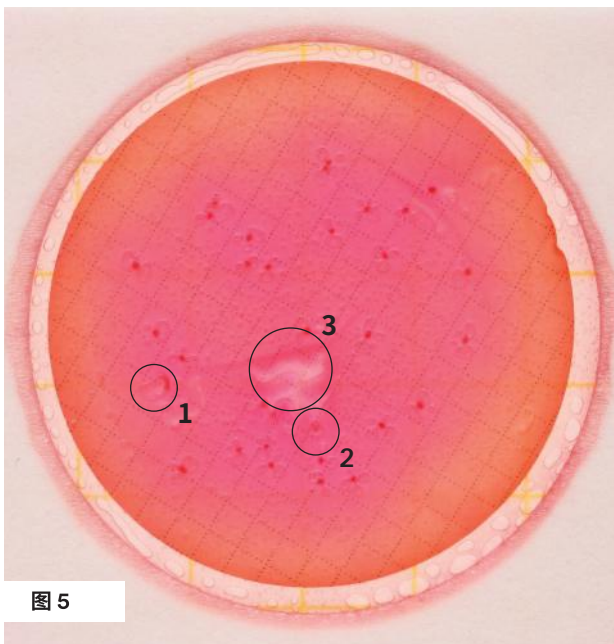


图 5

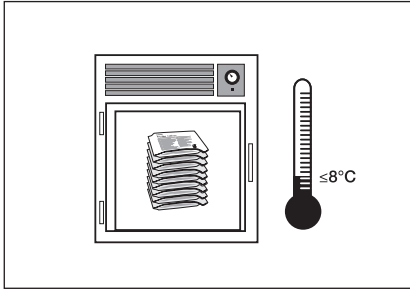
大肠菌群总数：30

气泡可能影响菌落形态。圆圈1中的菌落被气泡挤压变形。
圆圈2中的气泡下方有一个浅色菌落。测试片中央可见因人为操作产生的大气泡（见圆圈3）。

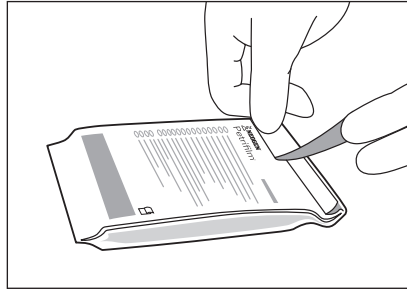
使用说明

食品和饮料中的应用

贮藏

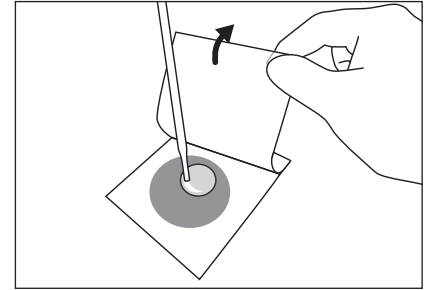


1 将未开封的测试片袋冷藏保存在 $\leq 8^{\circ}\text{C}$ ($\leq 46^{\circ}\text{F}$)的温度下。在包装上的到期日期之前使用。在湿度较高的地方,可能存在水气凝结问题。打开前最好让测试片袋恢复室温。

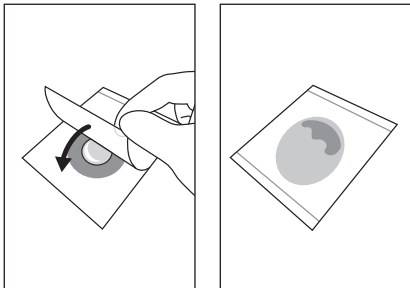


2 已开封的袋,将封口用胶带封紧。

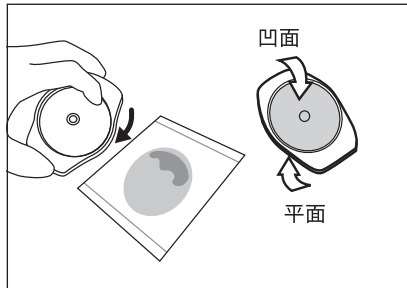
接种



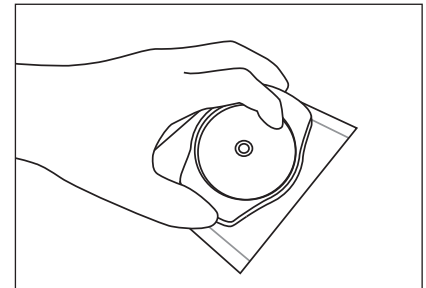
3 将测试片置于平坦表面上。掀起上层膜。将1mL样液垂直滴加到底膜中央处。



4 将上层膜缓慢盖下,防止样液溢出,和避免产生气泡,切勿使上层膜直接落下。

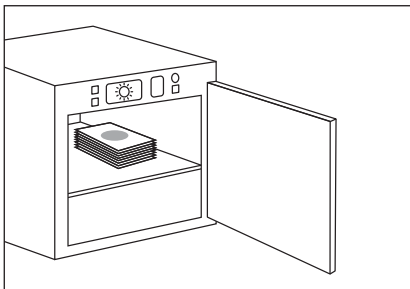


5 使用压板(平面底朝下),放置在上层膜中央处。



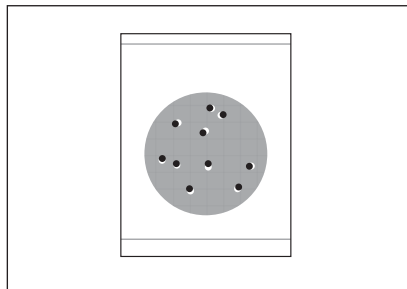
6 轻按压板,使样液均匀覆盖于圆形的培养基上,切勿扭转压板,拿起压板后,静止至少1分钟,以使培养基凝固。

培养



7 培养时,测试片透明面朝上,可堆叠至20片。

判读



8 可目视、用菌落计数器、放大设备或测试片高级判读仪计数,并可参考判读手册计数菌落数。也可以分离菌落做进一步鉴定,即掀起上层膜,挑取单菌落。

使用适宜的无菌稀释液

Butterfield's磷酸盐缓冲稀释液,0.1%蛋白胨水,蛋白胨盐稀释液,缓冲蛋白胨水,生理盐水(0.85-0.90%),不含亚硫酸氢盐的letheen肉汤或蒸馏水。

为了微生物的最佳生长和恢复,将样品稀释液的pH值调至6.6-7.2。

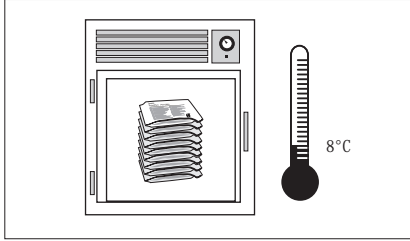
不要将含柠檬酸盐、亚硫酸氢盐或硫代硫酸盐的稀释剂与Petrifilm大肠菌群测试片搭配使用,否则它们会抑制微生物的生长。

若标准步骤中指明使用柠檬酸盐缓冲液,则用上面列出的某种缓冲液代替,加热至40-45°C。

使用说明

瓶装水行业的应用

贮藏

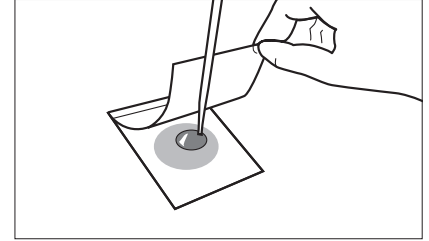


1 未开封的包装袋应置于8°C以下(≤46°F)冷藏。应在包装上标注的有效期前使用。临用前，将未开封的测试片静置至室温，再开封使用。

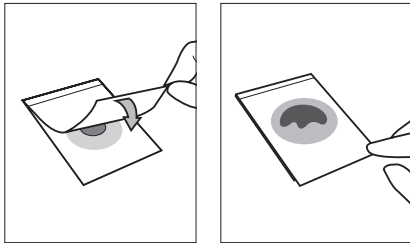


2 将开口处折叠，并用胶带封口，重新密封已开封的包装。开封后不可再冷藏。Petrifilm大肠菌群测试片开封后应在一个月内用完。

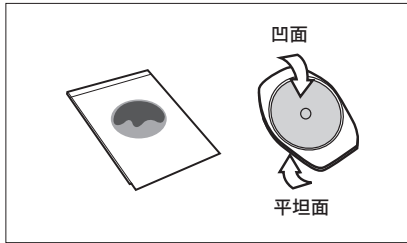
水合过程



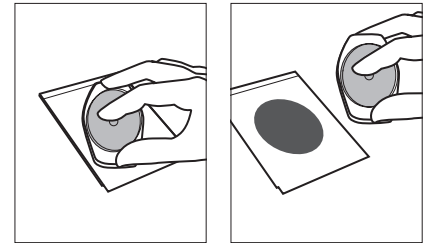
3 将Petrifilm测试片置于平坦的水平表面。用移液枪移取水合稀释液，垂直滴加在底膜中央处。水合稀释剂包括蒸馏水、去离子水和反渗透水。



4 小心将上层膜缓慢盖上，以免产生气泡。

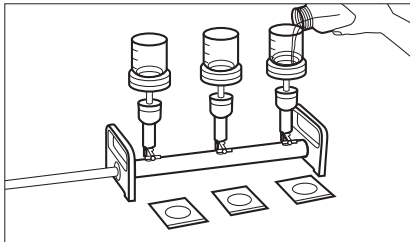


5 将Petrifilm压板的平坦面置于Petrifilm测试片上层膜上。

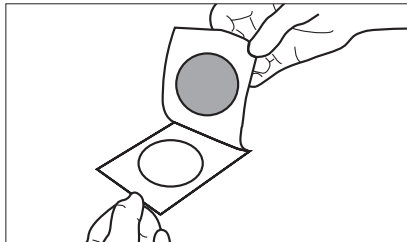


6 在凝胶形成前，轻轻按压Petrifilm压板，使接种物或稀释液均匀分布于圆形区域。不要旋转或滑动压板。取下Petrifilm压板。

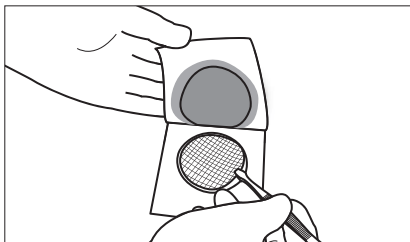
- 在使用前将水化好的测试片静置至少1小时。
- 水化好的Petrifilm大肠菌群测试片可以储存在密封袋或塑料袋中。避光并置于2至8°C(36至46°F)下冷藏，最多可储存7天。



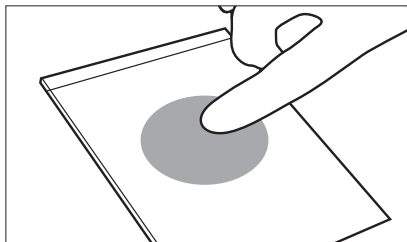
7 遵循水分析标准程序，用47 mm 0.45 μm混合纤维素酯微孔滤膜过滤水样。



8 小心揭开上层膜。

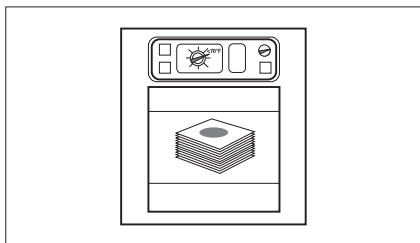


9 将滤膜置于测试片中央。将上层膜缓慢盖下，以尽量减少气泡或者滤膜与测试片之间的间隙。



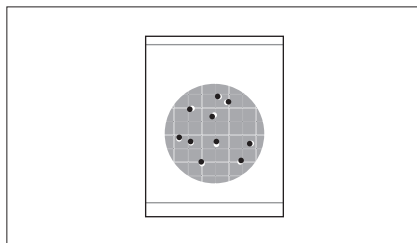
10 轻轻按压上层膜，确保凝胶与滤膜均匀接触，并排出气泡。

培养

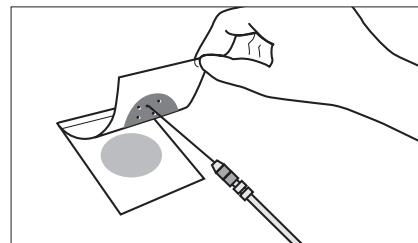


- 11 将Petrifilm大肠菌群测试片透明面朝上水平叠放(最多不超过20个),置于 $35 \pm 1^\circ\text{C}$ 下孵育 24 ± 2 小时,或者置于 $36 \pm 1^\circ\text{C}$ 下孵育 24 ± 2 小时。关于经第三方验证的方法的信息,请参阅产品说明书。

判读



- 12 Petrifilm大肠菌群测试片可使用标准菌落计数仪或其他照明放大镜进行计数。

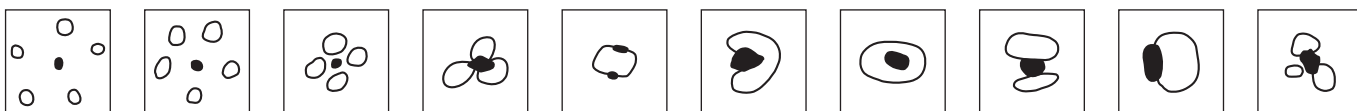


- 13 可挑取菌落进行进一步鉴定。揭开上层膜,从凝胶中挑取菌落。不带气泡的红色菌落可能是大肠菌群,应挑取出来并采用适当确认方法进行进一步检测。

气泡

下图显示了与产气菌群相连接的各种气泡形状的例子。

所有例子都应计数。



纽勤提供全系列产品,以满足您的各种微生物检测需求。欲了解更多产品信息,请访问:

info.neogen.com/petrifilm



用户责任: 纽勤 Petrifilm 测试片性能尚未通过微生物菌群、培养条件和食品基质的所有组合评估。用户有责任确定任何测试方法和结果都符合用户的要求。若需要重新打印本判读手册,用户的打印设置可能会影响图像和颜色质量。

请参阅产品包装说明书,了解有关详细注意事项,免责声明/有限补救措施以及纽勤责任,存储和处置信息以及使用说明。



纽勤生物科技(上海)有限公司
邮箱: info@NEOGENchina.com.cn

电话: +86 21 62717013
网站: www.NEOGEN.com



关注“Neogen 纽勤”
微信公众号

NC-F-CC-202403