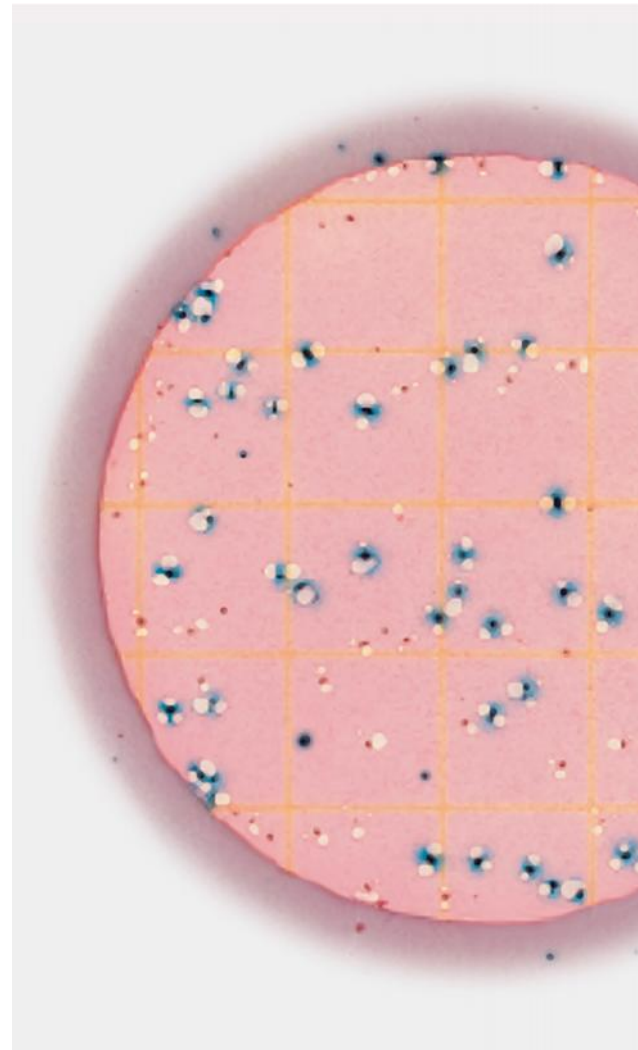




Petrifilm®

判读手册

纽勤® Petrifilm® 大肠埃希氏菌/大肠菌群测试片为即用型培养基系统, 含有改良VRB培养基、冷水可溶性胶凝剂、葡萄糖醛酸示剂、5-溴-4-氯-3-吡啶基-D-葡糖苷酸 (BCIG) 及有助于菌落计数的四唑指示剂。



EC

大肠埃希氏菌/大肠菌群测试片

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。

大多数大肠埃希氏菌(大约97%)能产生β-葡萄糖醛酸酶,会在菌落周围产生蓝色沉淀,从而使菌落呈现为蓝色到红蓝色。上层膜可留住由大肠菌群和大肠埃希氏菌发酵乳糖而产生的气体。约95%的大肠埃希氏菌能产生气体,显示为周围(在大约一个菌落直径内)有气泡的菌落。无气泡的蓝色菌落不计为大肠埃希氏菌*。其他大肠菌群为红色,与气泡密切连接。大肠菌群总数包含带气泡的红色和蓝色菌落*。

大多数大肠埃希氏菌O157菌株是非典型的,它们是葡萄糖醛酸酶阴性的;不会产生蓝色,因此,不能在Petrifilm大肠埃希氏菌/大肠菌群测试片上被检测到。

*通过AOAC® 官方分析方法计划进行验证。大肠埃希氏菌和大肠菌的定义因各区域定义方法而异。尤其,大肠杆菌的确证可能因国家而异。

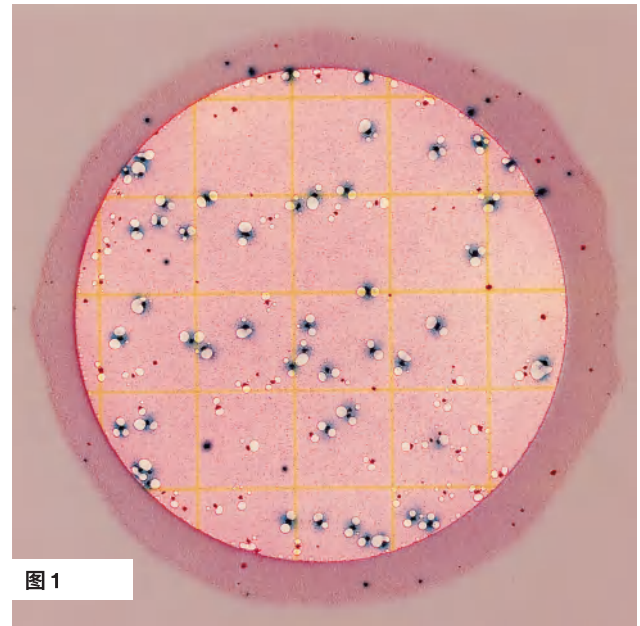


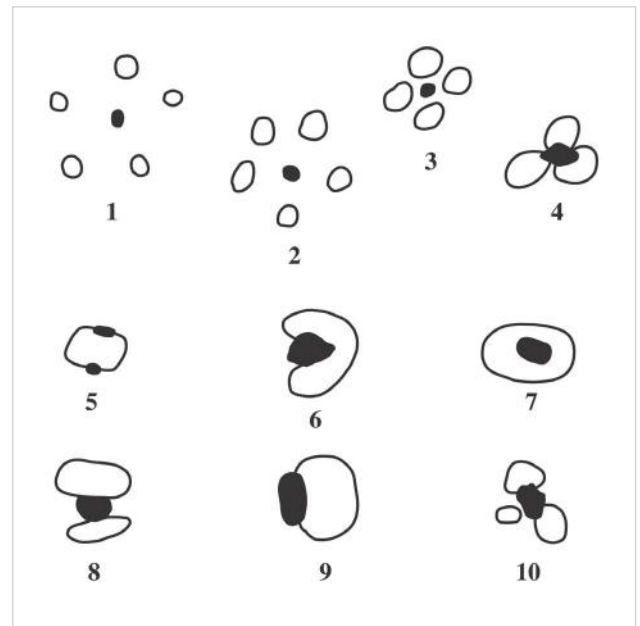
图 1

大肠埃希氏菌数 = 49 (带气泡的蓝色菌落)

大肠菌群数 = 87 (带气泡的红色和蓝色菌落)

所有数据均根据 AOAC® 官方分析方法 #998.08 和 #991.14 进行计数。

大肠埃希氏菌的确证可能因国家而异。



气泡

上图显示了与产气菌群相连接的各种气泡形状示例。所有例子都应计数。

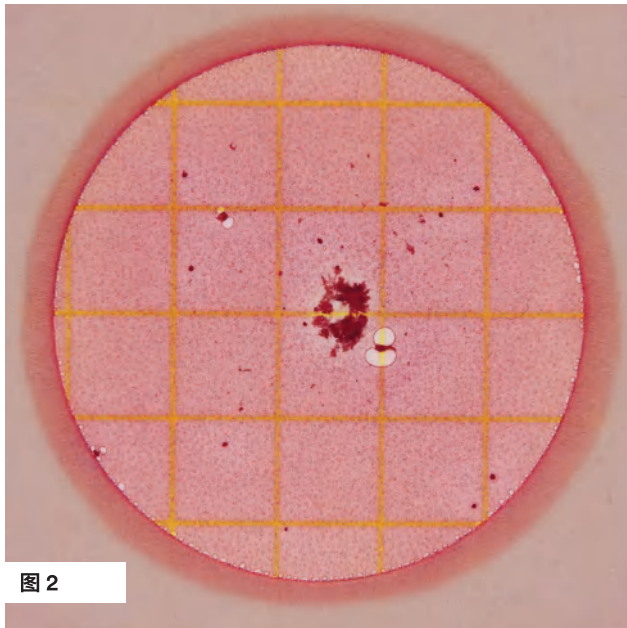


图 2

大肠菌群数 = 3 (带气泡的红色菌落)

食物颗粒形状不规则, 且不与气泡相连接。

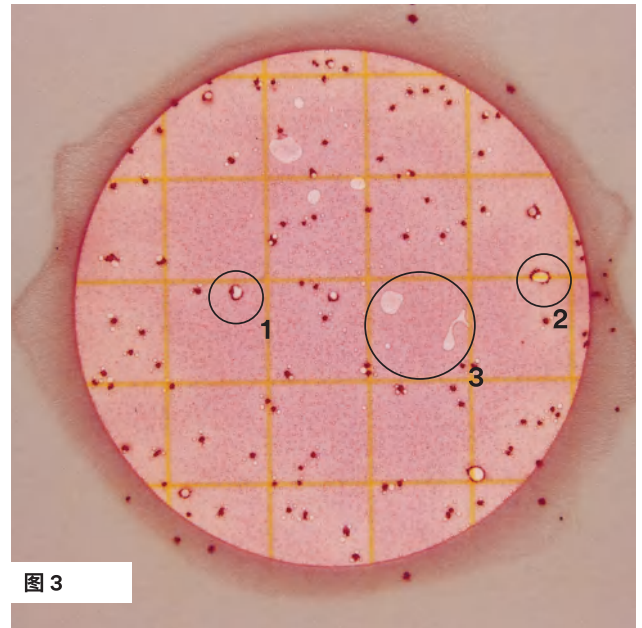


图 3

大肠菌群数估计值 = 150

大肠埃希氏菌/大肠菌群测试片的建议计数限值为150个菌落。

气泡模式可能会有所不同。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)。见圆圈3。

为了更精确地计数, 可能需要进一步稀释样品。

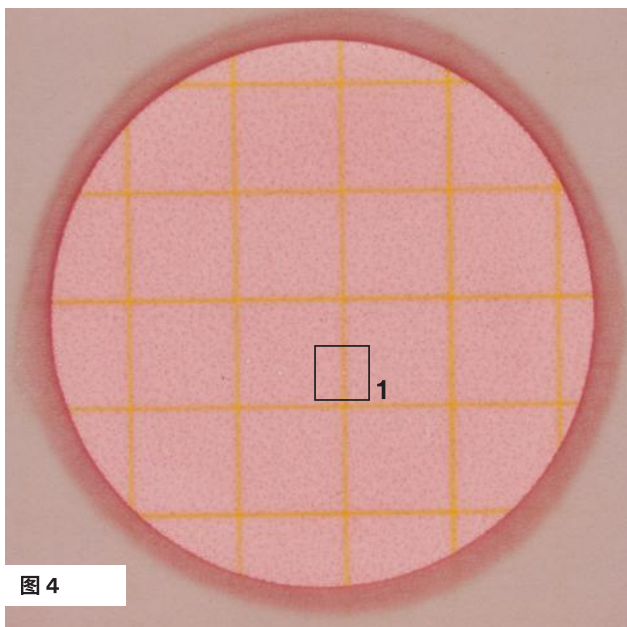


图 4

未生长 = 0

注意图4到图10中培养基颜色的变化。随着大肠埃希氏菌或大肠菌群数增加, 培养基颜色变为暗红色或紫蓝色。背景气泡是培养基凝胶的现象, 并非大肠埃希氏菌或大肠菌群生长所致。见方格1。

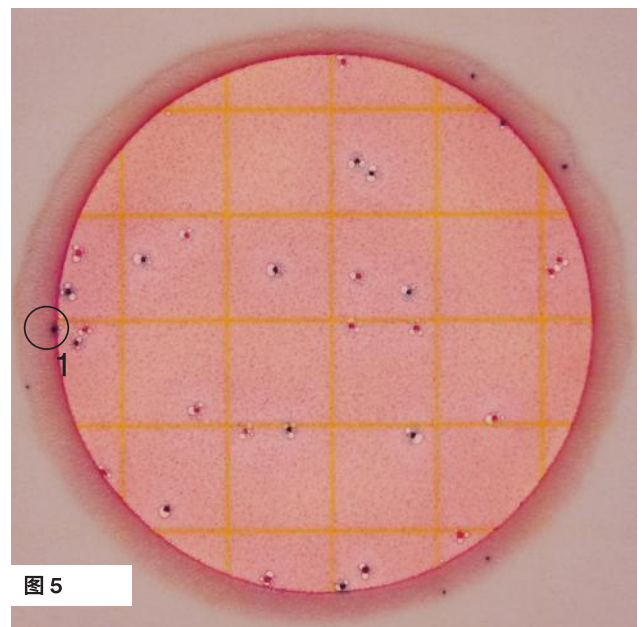


图 5

大肠埃希氏菌数 = 13 (带气泡的蓝色菌落)

大肠菌群数 = 28 (带气泡的红色和蓝色菌落)

不要计算圆形泡棉外的菌落, 因为泡棉上已不含选择性培养基。见圆圈1。

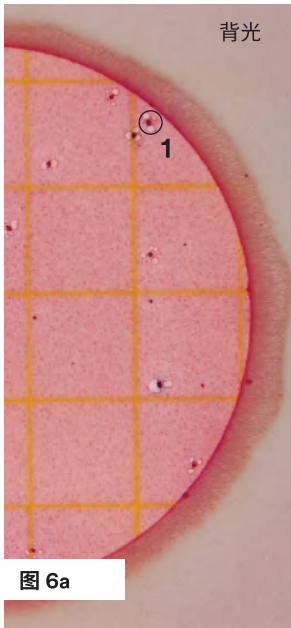


图 6a

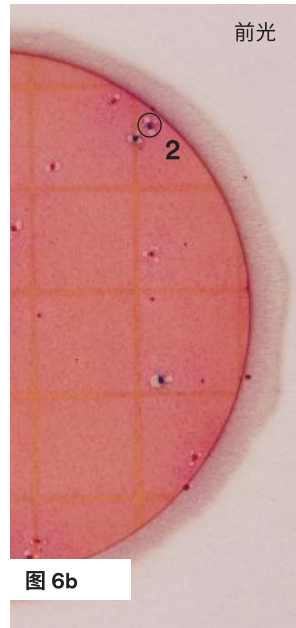


图 6b

大肠埃希氏菌数 = 3 (带气泡的蓝色菌落)

带气泡菌落中若有任何蓝色(蓝色到红蓝色), 则表明存在大肠埃希氏菌数。前光可加强检测由菌落形成的蓝色沉淀物。圆圈1显示使用背光时计入的某个红蓝色菌落。圆圈2显示了前光下的同一菌落。圆圈2中蓝色沉淀更明显。

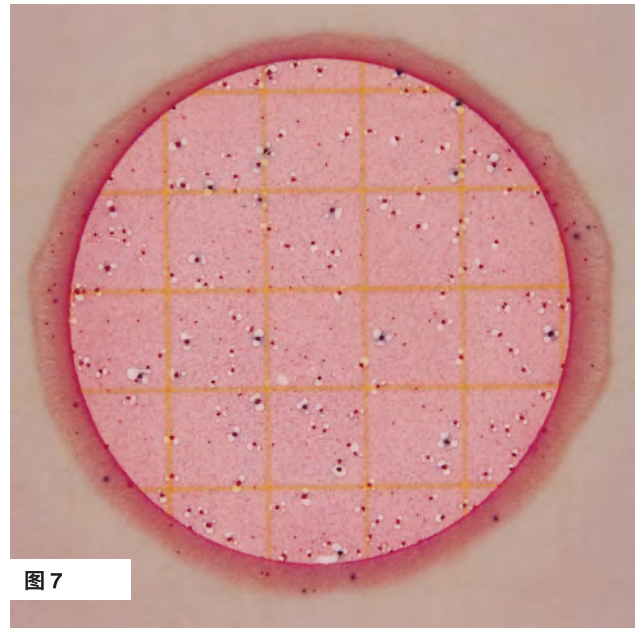


图 7

大肠埃希氏菌估计值 = 17 (带气泡的蓝色菌落)

大肠菌群数估计值 = 150

菌落生长的圆形区域面积约为20平方厘米。要估算含有150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。

多不可计 (TNTC)

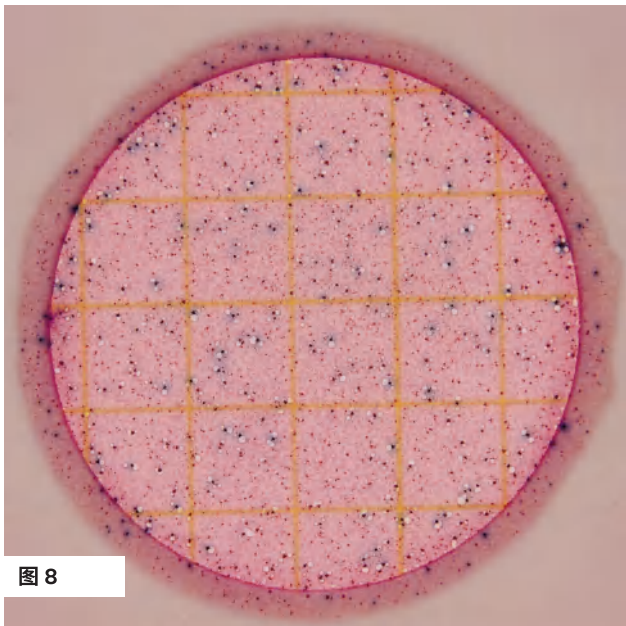


图 8

大肠菌群数 = TNTC

菌落多不可计(TNTC)的Petrifilm大肠埃希氏菌/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从红色加深为紫蓝色。

为了更精确地计数, 可能需要进一步稀释样品。

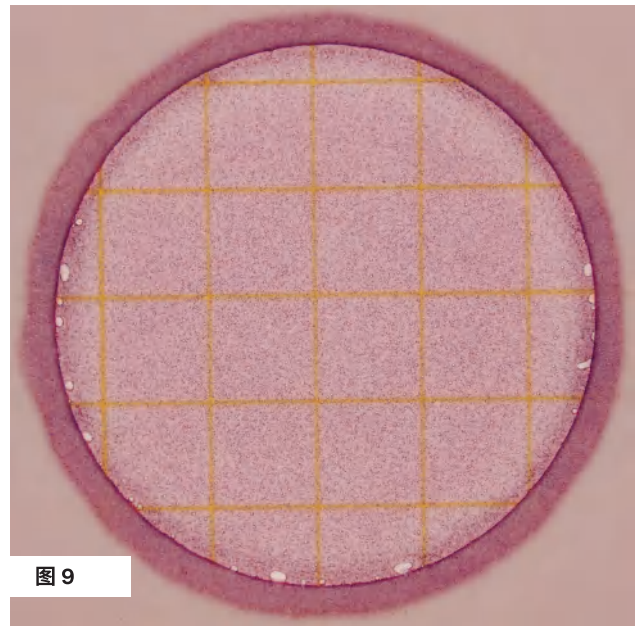


图 9

大肠菌群总数 = TNTC

高浓度的大肠埃希氏菌可能导致生长区域变成紫蓝色。

为了更精确地计数, 可能需要进一步稀释样品。

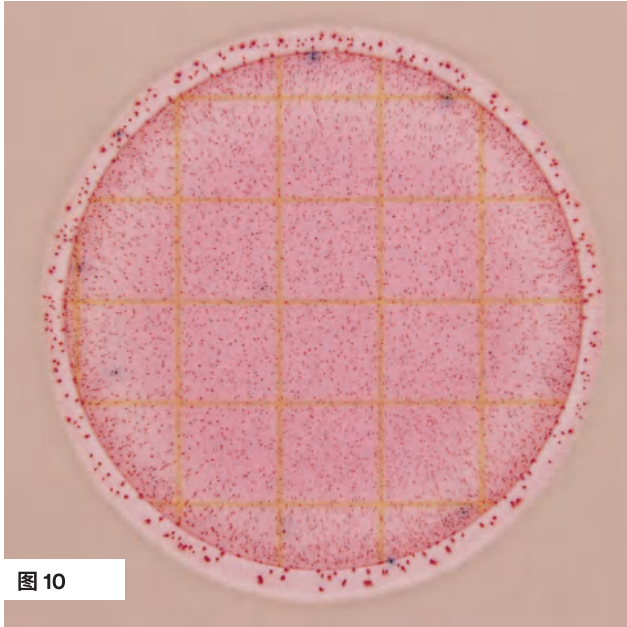


图 10

大肠菌群数= TNTC

高浓度的大肠埃希氏菌可能导致培养基颜色加深以及很多小而模糊的菌群。

为了更精确地计数,可能需要进一步稀释样品。

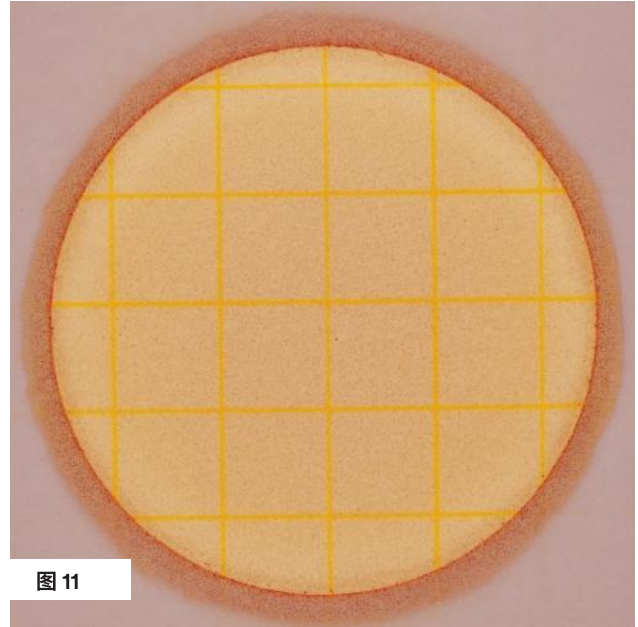


图 11

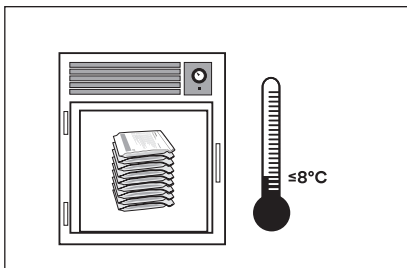
大肠菌群数= TNTC

当Petrifilm大肠埃希氏菌/大肠菌群测试片上存在大量非大肠菌群(如假单胞菌)时,培养基可能会变黄。

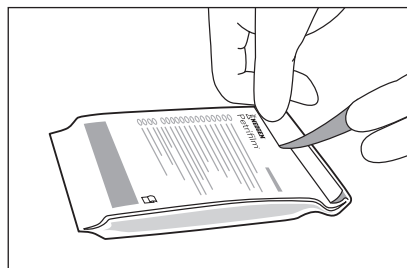
为了更精确地计数,可能需要进一步稀释样品。

使用说明

贮藏

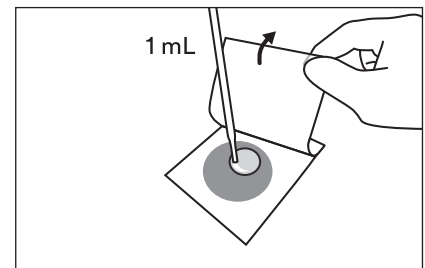


1 将未开封的测试片袋冷藏储存温度 $\leq 8^{\circ}\text{C}$ ($\leq 46^{\circ}\text{F}$)。在包装上的到期日期之前使用。打开前最好让测试片袋恢复室温。

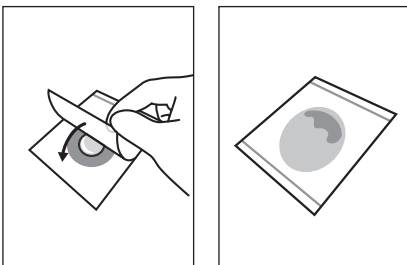


2 若要密封,请将袋子开口反折并贴上胶带。为防止受潮,不要冷藏已开封的包装。将密封袋存放在阴凉干燥的地方,时间不超过一个月。

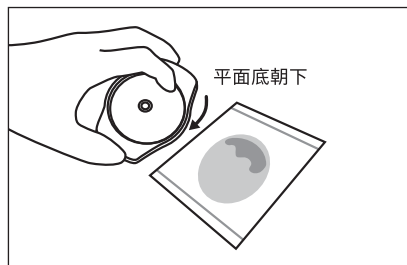
接种



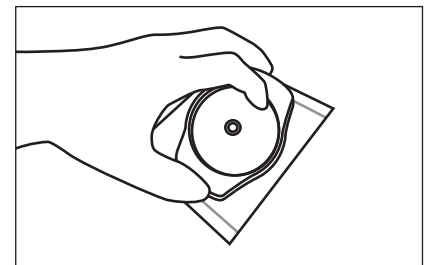
3 将Petrifilm大肠埃希氏菌/大肠菌群测试片放在平坦的水平表面上。掀起上层膜,使移液枪或其他设备与测试片垂直,将1 mL样品悬浮液滴加到底膜中央处。



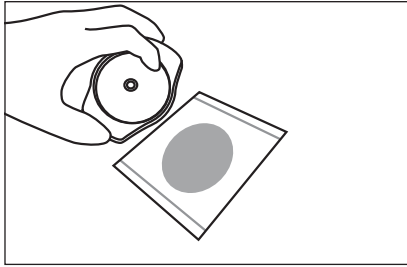
4 将上层膜轻轻盖在样品上,以防止样品逸出胶膜,并避免生成气泡。切勿使上层膜直接落下。



5 将Petrifilm压板放在Petrifilm大肠埃希氏菌/大肠菌群测试片中央,平面底朝下。

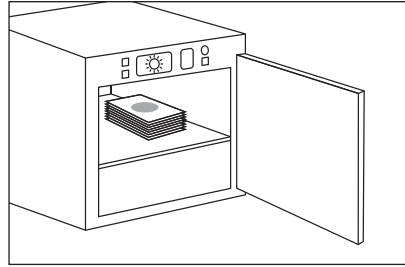


6 用力按压压板中央,使样品均匀散开。在形成凝胶之前,使接种物分散到整个生长区域。不要将压板在上层膜上滑动。



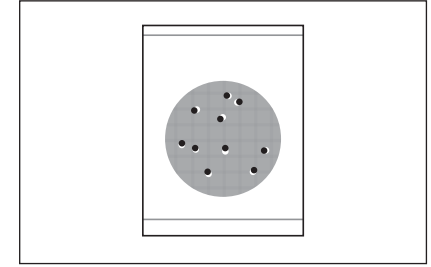
7 取下压板,并将测试片静置1分钟,以形成凝胶。

培养



8 培养时,Petrifilm大肠埃希氏菌/大肠菌群测试片透明面朝上,可堆叠至20片。可能需要对培养箱进行加湿处理,以减少水分损失。请查看产品说明,了解第三方已验证方法。

判读



9 可使用Petrifilm测试片高级判读仪、标准菌落计数器或其他放大设备计数。可分离菌落作进一步鉴定。掀起上层膜,由培养基上挑取单个菌落。

使用适宜的无菌稀释液

Butterfield's磷酸盐缓冲稀释液,0.1%蛋白胍水,蛋白胍盐稀释液,1/4浓度的林格氏溶液,生理盐水(0.85-0.90%),不含亚硫酸氢盐的Ietheen肉汤或蒸馏水。

为了最好地培育和回收微生物,将样品稀释液的pH值调节至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 大肠杆菌/大肠菌群测试片搭配使用,否则它们会抑制生长。

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。

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-EC-202403