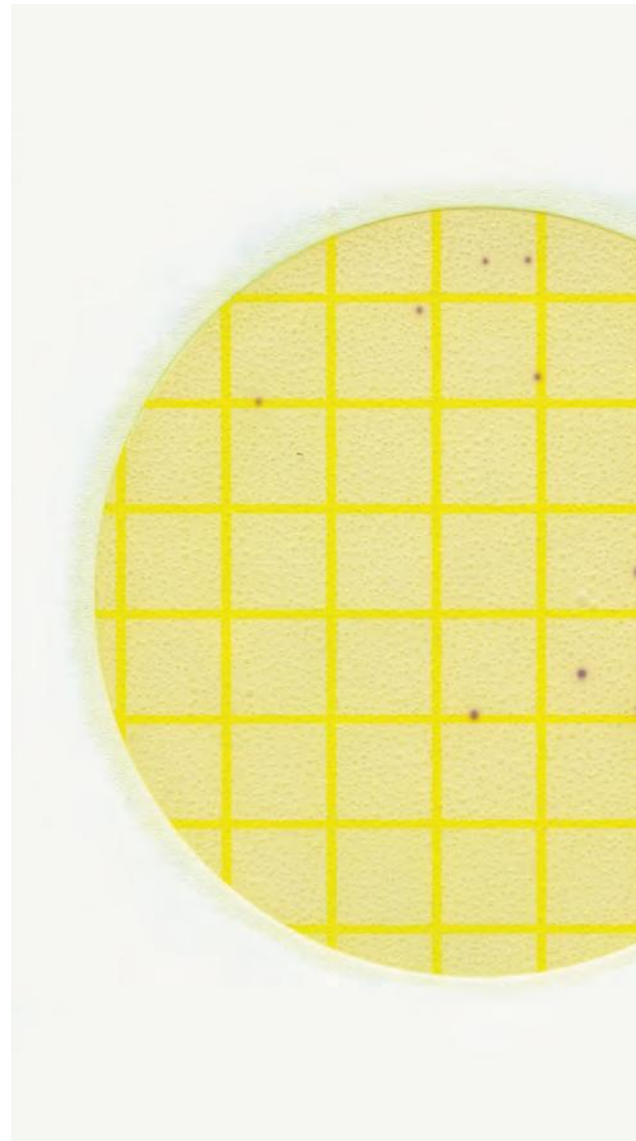




# Petrifilm®

## 判读手册

纽勤® Petrifilm® 环境李斯特菌测试片为即用型培养基, 含有选择性试剂、营养成分、冷水可溶性凝胶和有助于菌落检测的显色指示剂。Petrifilm 环境李斯特菌测试片可用于检测环境样本。



# EL

环境李斯特菌测试片

指示性李斯特菌(如英诺克李斯特菌)的存在证明了环境条件适合单核细胞增生李斯特菌生长。Petrifilm环境李斯特菌测试片检测大多数环境李斯特菌,其中包括单核细胞增生李斯特菌(*L.monocytogenes*)、英诺克李斯特菌(*L.innocua*)、威氏李斯特菌(*L.welshimeri*)、伊氏李斯特氏菌(*L.ivanovii*)、默氏李斯特菌(*L.grayi/murrayi*)、西尔李斯特氏菌(*L.seeligeri*)可以生长,但不形成典型的菌落。

环境条件和消毒剂可能会抑制或损伤微生物。缓冲蛋白胨水(Buffered Peptone Water, BPW)能用作修复肉汤和Petrifilm环境李斯特菌测试片结合使用,使受损伤的李斯特菌复苏,而不增加其数量。BPW中的修复过程不是增菌步骤。

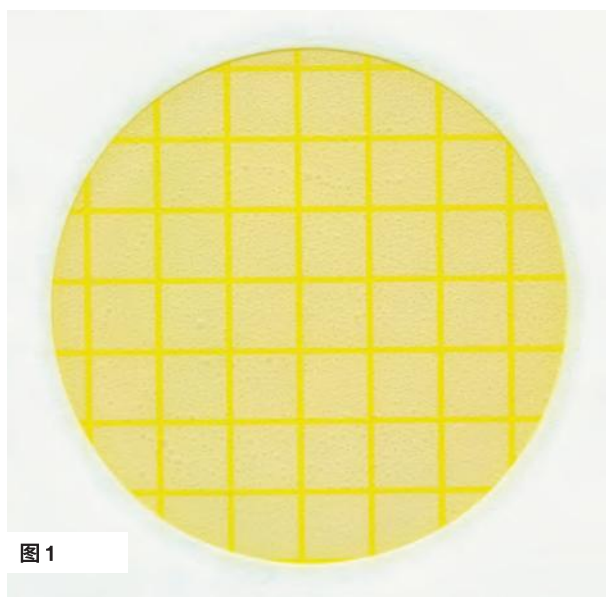


图 1

培养28小时后,此Petrifilm环境李斯特菌测试片上无菌落。测试完成。

- **定量判读:**该测试片上的李斯特菌菌落数为0。请参阅本指南的“定量采样”一节,以计算每个环境样本中李斯特菌的数量。
- **半定量判读:**李斯特菌的含量应记录为对采样区域和企业标准有指导意义的形式(如低、中、高,或可接受和不可接受)。
- **定性判读:**未检测到李斯特菌。

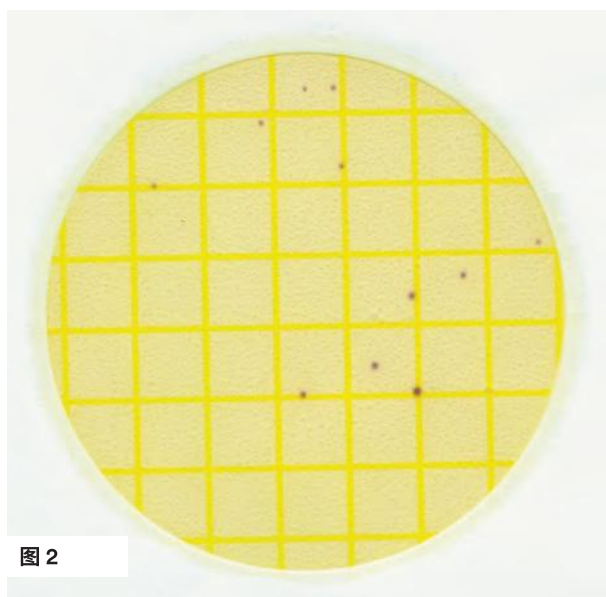
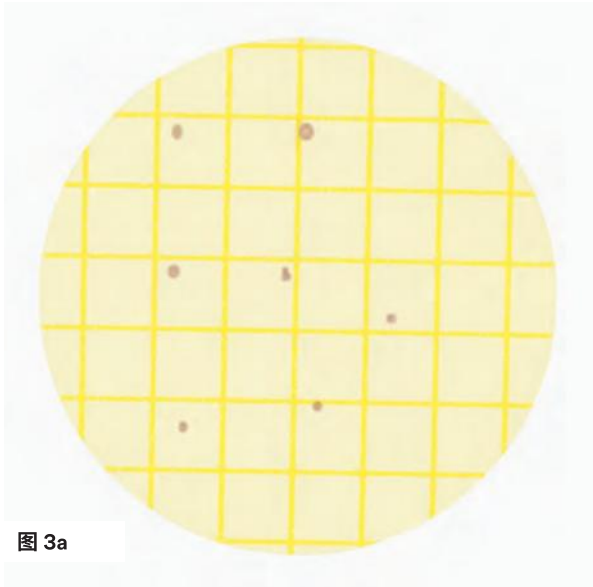


图 2

培养28小时后,该Petrifilm环境李斯特菌测试片只有强烈的紫红色菌落。测试完成。

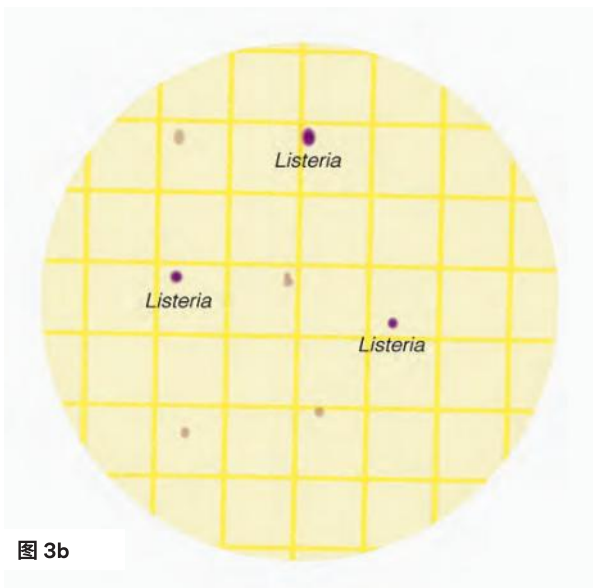
- **定量判读:**测试片上的李斯特菌数:11。
- **半定量判读:**李斯特菌的含量应记录为对采样区域和企业标准有指导意义的形式(如低、中、高,或可接受和不可接受)。
- **定性判读:**测试片检出李斯特菌。

有几个因素影响显色指示剂转变为强烈的紫红色的速度,包括菌株、微生物所受胁迫的性质和程度。



在完整的30小时培养之前,如果有任何菌落存在但不是强烈的紫红色(例如,灰色或浅粉色,如3a所示),则继续培养至30小时。在最大培养时间(30小时),菌落仍没有变成强烈的紫红色(保持灰色或淡粉色,如图3a),不应判读为李斯特菌。

- **定量判读:**该测试片上的李斯特菌菌落数为0。
- **半定量判读:**李斯特菌的含量应记录为对采样区域和企业标准有指导意义的形式(如低、中、高,或可接受和不可接受)。
- **定性判读:**未检测到李斯特菌。



在最长30小时的培养时间内,灰色或浅粉色的菌落在培养期间变成强烈的紫红色(如3b所示)应判定为李斯特菌。

- **定量判读:**测试片上的李斯特菌数:3。
- **半定量判读:**李斯特菌的含量应记录为对采样区域和企业标准有指导意义的形式(如低、中、高,或可接受和不可接受)。
- **定性判读:**测试片检出李斯特菌。

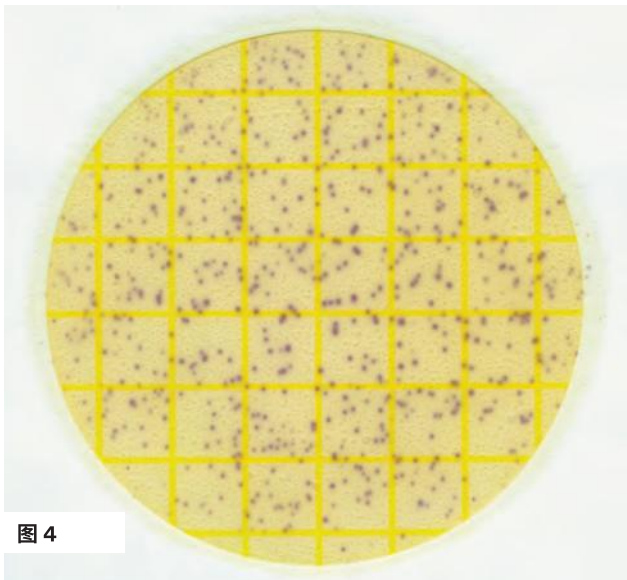


图 4

由于Petrifilm环境李斯特菌测试片的判读方式有三种,所以没有建议的计数范围。当菌落密集时,按以下方式判读定性或半定量的结果,或估算定量的结果。

- **定量判读:**测试片上估算的李斯特菌数:约600。当大量李斯特菌存在时,通过计数两个或两个以上具有代表性方格的菌落数来估算,确定每个方格的计数,再将每个方格的平均值乘以42。测试片接种区域的面积约为42 cm<sup>2</sup>。
- **半定量判读:**李斯特菌的含量应记录为对采样区域和企业标准有指导意义的形式(如低、中、高,或可接受和不可接受)。
- **定性判读:**测试片检出李斯特菌。

注意:不要考虑或计算泡棉上的菌落,因为它们不受选择性培养基的作用。

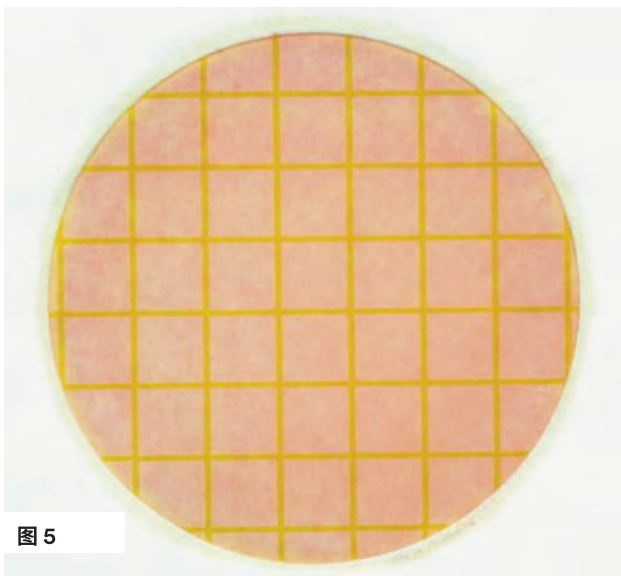


图 5

当菌落数很多时, Petrifilm环境李斯特菌测试片上可能有许多小的、不清晰的菌落,和(或)整体呈现粉红色至棕色。

- **定量判读:**测试片上的李斯特菌数为多不可计(TNTC)。
- **半定量判读:**李斯特菌的含量应记录为对采样区域和企业标准有指导意义的形式(如低、中、高,或可接受和不可接受)。
- **定性判读:**测试片检出李斯特菌。

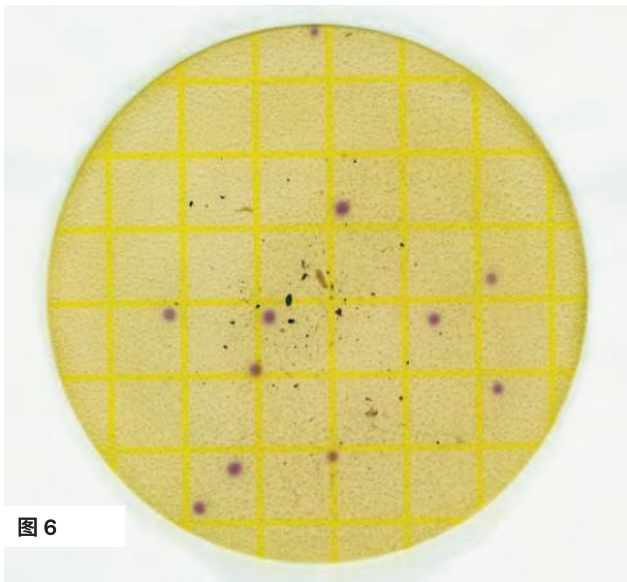


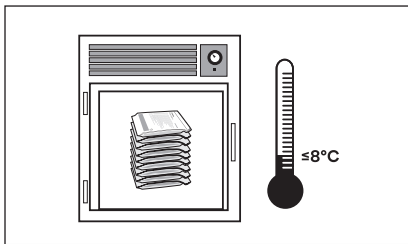
图 6

背景颜色可能会因为环境样本中的灰尘、泥土、砂子、或其它沉淀物而发生变化,也可能是因为采样设备和(或)缓冲蛋白胨水(修复肉汤)的品牌不同而引起。强烈的紫红色菌落判读或计数为李斯特菌。

- **定量判读:**测试片上的李斯特菌数:11。
- **半定量判读:**李斯特菌的含量应记录为对采样区域和企业标准有指导意义的形式(如低、中、高,或可接受和不可接受)。
- **定性判读:**测试片检出李斯特菌。

## 使用说明

### 贮存

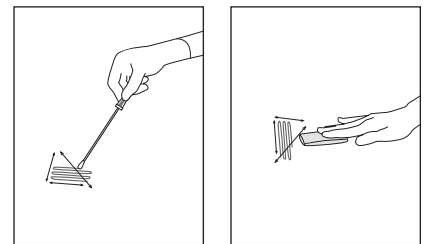


- 1 将未开封的测试片贮藏在 $\leq 8^{\circ}\text{C}$ ( $46^{\circ}\text{F}$ )的环境下,并在包装标注的保存期内用完。在使用之前,应使未开封的包装袋在开封前恢复到室温。

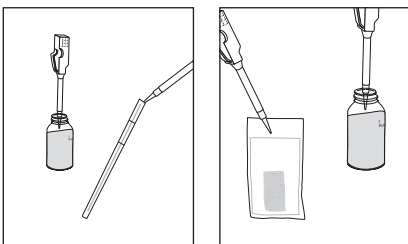


- 2 已开封的测试片,将开口反折,用胶带封好。请勿冷藏已开口的包装袋,以防止暴露在潮湿环境中。将重新密封的袋子存放于阴凉干燥处,存放时间不超过一个月。

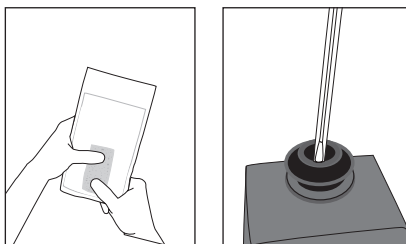
### 样本制备



- 3 使用快速涂抹棒、海绵或其它润湿的采样设备收集环境样本。润湿剂可以是 $\leq 10\text{ mL}$ 的无菌水、缓冲蛋白胨水(Buffered Peptone Water, BPW),如果有消毒剂存在,推荐使用中和缓冲液,如Lethen肉汤或DE中和肉汤。

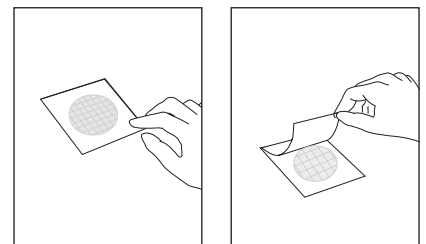


- 4 在无菌环境下,在收集的样品中添加 $2\text{ mL}$ (swab)或 $5\text{ mL}$ (sponge)灭过菌的缓冲蛋白胨水( $20^{\circ}\text{C}$ - $30^{\circ}\text{C}$ )。请勿在该测试片上使用增菌肉汤。

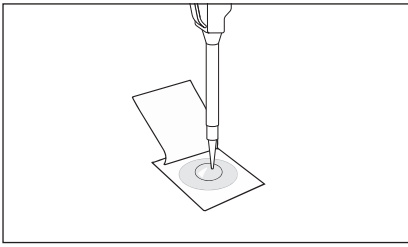


- 5 剧烈混合或涡旋样品与BPW的混合液将近一分钟。将样品置于室温( $20$ - $30^{\circ}\text{C}$ ) $1\text{ h}$ ,最多不超过 $1.5\text{ h}$ ,然后再次剧烈混合。此步骤是为了修复受伤的李斯特菌。样本的pH值应在 $4$ 到 $9$ 之间,以获得最佳的细菌生长或回收率。

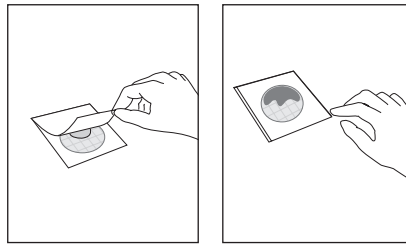
### 接种



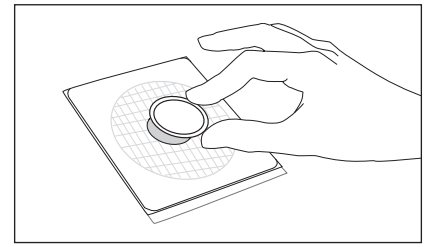
- 6 将Petrifilm环境李斯特菌测试片放置于平坦表面上。掀起上层膜。



**7** 用移液枪或其它移液器垂直滴加3 mL样品到 Petrifilm环境李斯特菌测试片下层膜的中央。

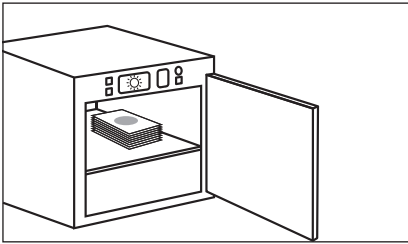


**8** 轻轻地将上层膜缓慢盖下。



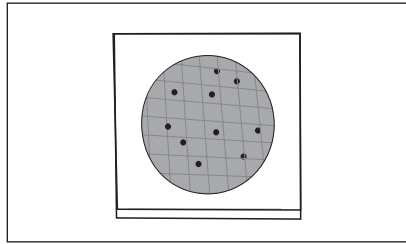
**9** 轻轻地将 Petrifilm 大方形压板放在接种区上方的上层膜上。不要按压、扭转或滑动压板。掀起压板。等待至少10分钟，以便凝胶形成。

### 培养



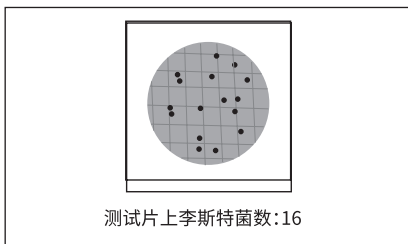
**10** 将测试片透明面朝上，可叠放至10片，在  $35^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$  或  $37^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$  下培养  $28\text{h}\pm 2\text{h}$ 。不要超过30小时。超过建议的培养时间可能会产生不明确的结果。有关第三方验证方法，请参阅产品说明。

### 判读

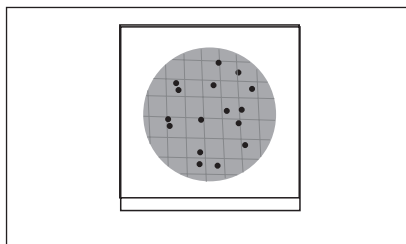


**11** Petrifilm环境李斯特菌测试片能够用标准的菌落计数器或其他放大设备计数或判读。不要考虑或计算泡棉上的菌落，因为它们不受选择性培养基的作用。

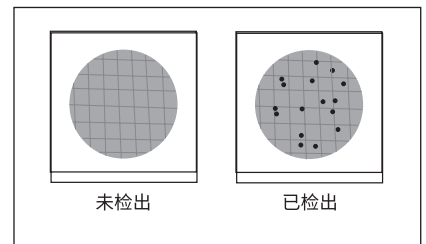
## Petrifilm 环境李斯特菌测试片法可用于定量、半定量及定性检测



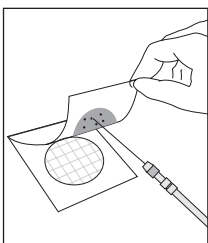
**12** 对于定量测试，计数并记录所有强烈的紫红色菌落。如果您根据菌落数来采取相应的措施，可以采用定量检测。请参阅本指南的“定量采样”一节，以计算每个环境样本中李斯特菌的数量。



**13** 对于半定量检测，根据出现强烈的紫红色菌落的相对数量来记录结果。如果您根据当前的相对水平采取不同的措施，并且不需要记录实际数量，您可能希望选择半定量测试。李斯特菌的含量应记录为对采样区域和企业标准有指导意义的形式(如低、中、高，或可接受和不可接受)。



**14** 对于定性检测，根据强烈的紫红色菌落的存在与否，将结果计为检出和未检出。如果是/否的结果已经能够满足报告要求，那么您可以选择定性检测。



**15** 可选：可分离菌落进行进一步鉴定。掀起上层膜，从凝胶中挑起菌落。

# 定量采样与判读

如果您的工厂以定量方式使用Petrifilm环境李斯特菌测试片, 请参考产品说明, 然后按下述方式计算单位面积的菌落形成单位(Colony Forming Units, CFU)。您可能还需要考虑以下几点:

- 一致性是在环境监控方案中获得有用信息的关键。在每次采样过程中应使用相同的步骤。理想情况下, 应使用相同类型的采样设备和技术。
- 可基于法规、内部标准和/或监测位置确定采样面积的大小。
- 更多关于环境采样的信息, 请见如下的参考文献。

为了测定单位采样面积的李斯特菌数, 您需要记录以下数据:

1. 采样面积

2. 采样设备的水化液体体积

3. 添加缓冲蛋白胍水的体积

4. 接种体积

5. 计数的菌落数

使用以下公式或工作表确定CFU/采样面积。请参见以下几页中的示例。有关方法的完整详细信息, 请参阅产品说明和使用提醒。

您还可以确定每个样本的结果, 例如CFU/下水道。

$$\text{CFU/面积} = (\text{菌落数} \times [\text{mL 水化液体} + \text{mL BPW}] \div 3 \text{ mL}) \div \text{采样面积}$$

或

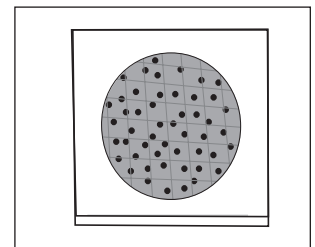
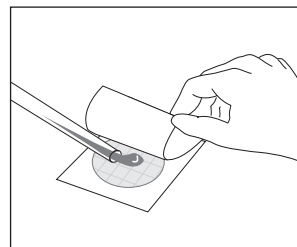
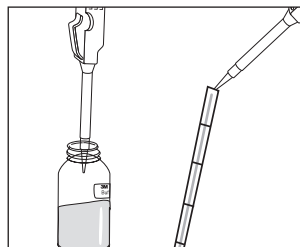
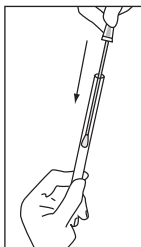
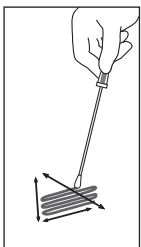
A. 水化液体和BPW的总体积(mL):	_____	A
B. 接种量(mL):	3mL	B
C. A除以B:	_____	C
D. 计数的菌落数: (如果菌落数为零, 在“D”行中插入“<1”)。	_____	D
E. C乘以D:	_____	E
F. 采样面积:	_____	F
G. E除以F:	_____	G
<b>G等于 CFU/面积</b>		

环境定量采样与以下参考文献一致:

- Standard Methods for the Examination of Dairy Products, Section 3.084, American Public Health Association, Washington D.C. 2004, 17th edition. 美国公共卫生协会, 乳制品检验的标准方法, 第3.084节, 2014年第17版, APHA, 华盛顿特区
- Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, Section 3.81 and 3.82, American Public Health Association, Washington D.C. 2015, 5th edition. 美国公共卫生协会, 食品微生物检验方法概要, 第3.81和3.82节, 2015年第5版, 华盛顿特区。

## 定量判读

### 示例: 快速涂抹棒法



**1** 用含有1mL letheen肉汤(见A行)的快速涂抹棒(或同类拭子), 对一个区域采样。在本例中, 面积为50平方厘米(见F行)。将快速涂抹棒放回无菌容器。

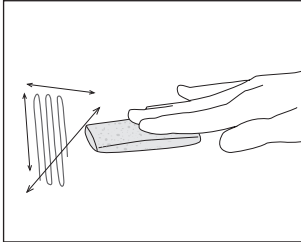
**2** 添加2 mL缓冲蛋白胍水(见A行)。

**3** 修复步骤完成后, 接种3 mL到Petrifilm环境李斯特菌测试片(见B行)。

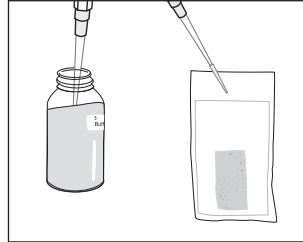
**4** 培养后, 进行菌落计数。在本例中, 假设菌落数为50(见D行)。

A. 水化液体和BPW的总体积(mL):	$1+2=3$	A
B. 接种量 (mL):	3	B
C. A除以B:	1	C
D. 计数的菌落数:	50	D
E. C乘以D:	50	E
F. 采样面积:	50 cm <sup>2</sup>	F
G. E除以F:	1 CFU/cm <sup>2</sup>	G
<b>G等于 CFU/面积</b>		

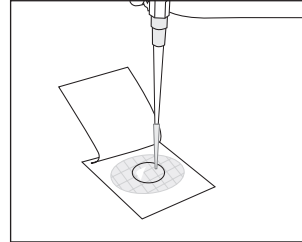
### 示例:海绵法



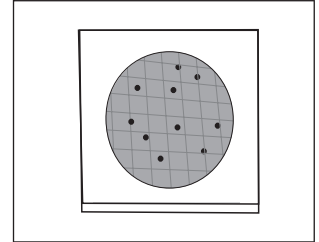
**1** 使用10 mL水化液润湿的海绵, 对一个区域进行采样(见A行)。在本例中,面积为1平方英尺(见F行)。



**2** 将海绵放回无菌容器中,加入5 mL缓冲蛋白胨水(见A行)。



**3** 修复步骤完成后,接种3 mL到Petrifilm 环境李斯特菌测试片(见B行)。



**4** 培养后,进行菌落计数。对于本例,假设菌落数为10(见D行)。

A. 水化液体和BPW的总体积(mL):	$10+5=15$	A
B. 接种量 (mL):	3	B
C. A除以B:	5	C
D. 计数的菌落数:	10	D
E. C乘以D:	50	E
F. 采样面积:	1 ft <sup>2</sup>	F
G. E除以F:	50 CFU/ft <sup>2</sup>	G
<b>G等于 CFU/面积</b>		

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](http://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](mailto:info@NEOGENchina.com.cn)

电话: +86 21 62717013  
网站: [www.NEOGEN.com](http://www.NEOGEN.com)



关注“Neogen 纽勤”  
微信公众号

NC-F-EL-202403