

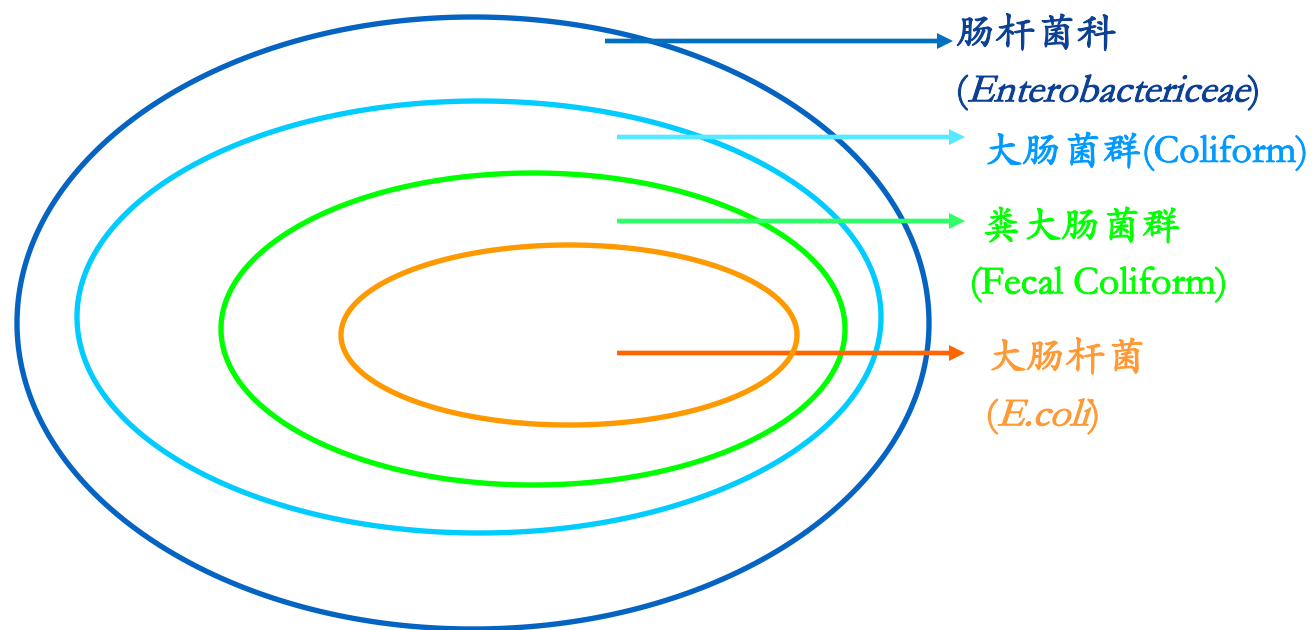


3M Health Care Academy

3M™ Petrifilm™ 大肠菌群系列产品培训

分类

四种指标菌的范围



肠杆菌科

◆ 定义：需氧和兼性厌氧的革兰阴性杆菌。营养要求不高，在普通培养基上生长良好，各种细菌菌落大小相似，直径 $2\sim 3\mu\text{m}$ 。致病菌不发酵乳糖，条件致病菌中除变形杆菌外，均可发酵。

◆ 发酵乳糖的有埃希菌属、克雷伯菌属和柠檬酸杆菌等；不发酵乳糖的有沙门氏菌，志贺氏菌，耶尔森氏菌和普罗威登斯菌等。

大肠菌群

定义：在一定培养条件下能发酵乳糖、产酸产气的需氧和兼性厌氧革兰氏阴性无芽胞杆菌。

卫生学概念，包括埃希氏菌属，克雷伯氏菌属、肠杆菌属和柠檬酸杆菌属等的细菌

检验比较简单，所以被广泛用做水源的卫生指标和食品加工卫生状况的通用指标

粪大肠菌群

- ◆ 定义：一群在44.5℃培养24-48h能发酵乳糖，产酸产气的需氧和兼性厌氧革兰氏阴性无芽孢杆菌。
- ◆ 卫生学意义：粪大肠菌群的存在表明食品近期内可能直接或间接的受到了粪便的污染。与大肠菌群相比，
- ◆ 北美国家一般使用“粪大肠菌群”的概念，如AOAC,FDA。SN中的“粪大肠菌群”概念为等同采用AOAC方法。而欧洲使用“耐热大肠菌群”概念。

大肠杆菌

- ◆ 大肠杆菌（E.coli）是大肠埃希氏菌的简称/从分类学上，归属于肠杆菌科中埃希氏菌属。
- ◆ 与人类疾病有关的大肠杆菌，统称为致泻性大肠杆菌。一般包括五种：
即肠毒素性大肠杆菌（ETEC）、致病性大肠杆菌（EPEC）、**出血性大肠杆菌（EHEC）** 侵袭性大肠杆菌（EIEC） 和粘附性大肠杆菌（EAEC）

大肠菌群的检测方法

大肠菌群的检测方法:

- MPN(Most Probable Number)法

最大可能数法

- 直接计数法

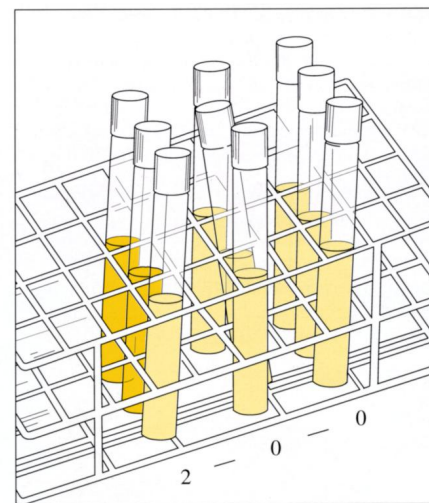
3MTMPetrifilmTM法

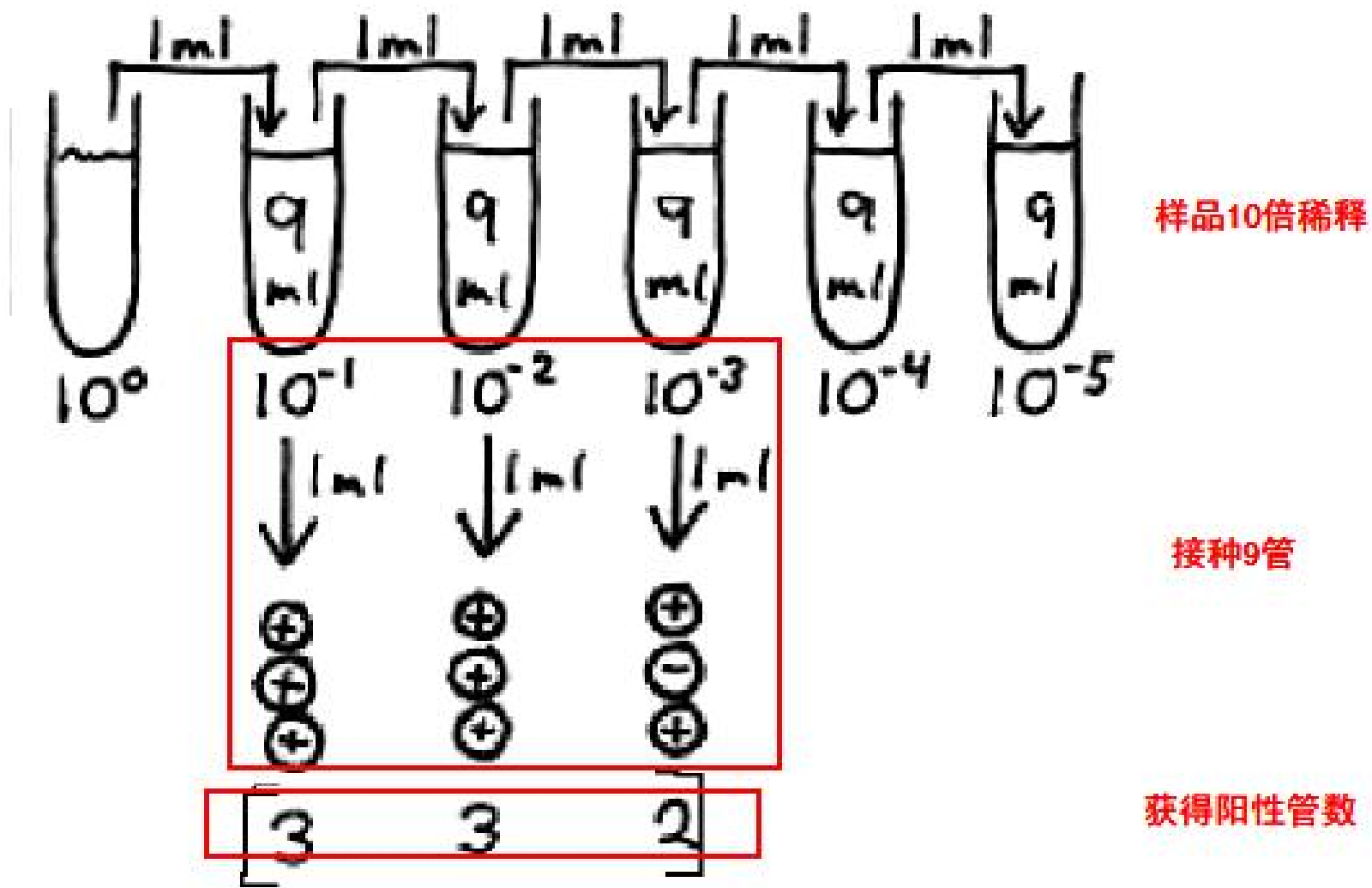
VRB(Violet Red Bile)培养基法

大肠菌群的检测方法

MPN 法

- 1915发表
- 估算菌落浓度
- 使用置信区间





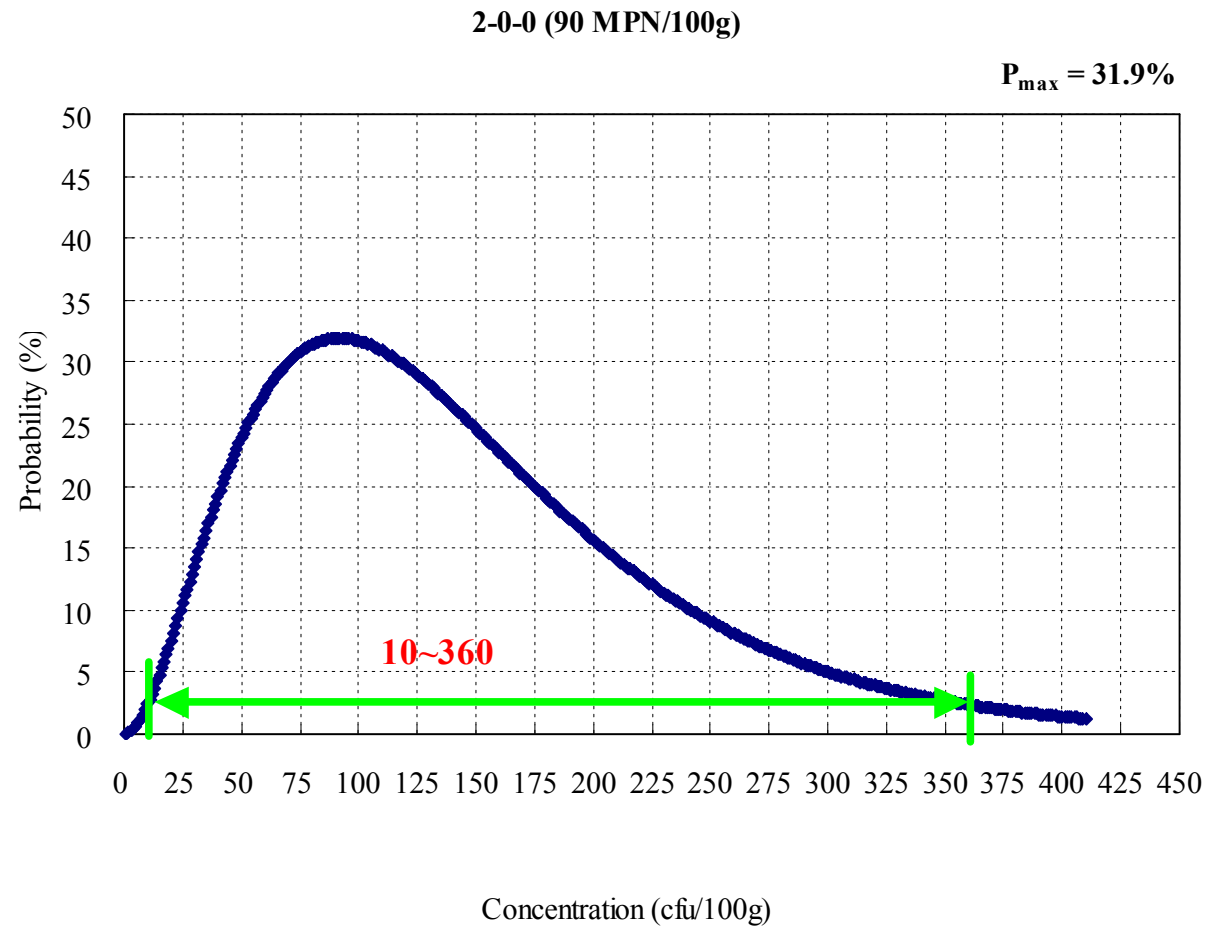
3M Food Safe

V1	V2	V3	MPN	P(%)
1	0.1	0.01	100ml(g)	
0	0	0	30	36.824750
0	0	1	30	0.331920
0	0	2	60	0.001473
0	0	3	90	0.000004
0	1	0	30	3.364442
0	1	1	60	0.045417
0	1	2	90	0.000346
0	1	3	120	0.000001
0	2	0	60	0.155558
0	2	1	90	0.003604
0	2	2	120	0.000039
0	2	3	160	0.000000
0	3	0	90	0.004171
0	3	1	130	0.000138
0	3	2	160	0.000002
0	3	3	190	0.000000
1	0	0	40	38.944967
1	0	1	70	0.622950
1	0	2	110	0.005661
1	0	3	150	0.000024
1	1	0	70	6.430150
1	1	1	110	0.178549
1	1	2	150	0.002353
1	1	3	190	0.000014
1	2	0	110	0.625678
1	2	1	150	0.025197
1	2	2	200	0.000442
1	2	3	240	0.000003
1	3	0	160	0.030068
1	3	1	200	0.001615
1	3	2	240	0.000036
1	3	3	290	0.000000

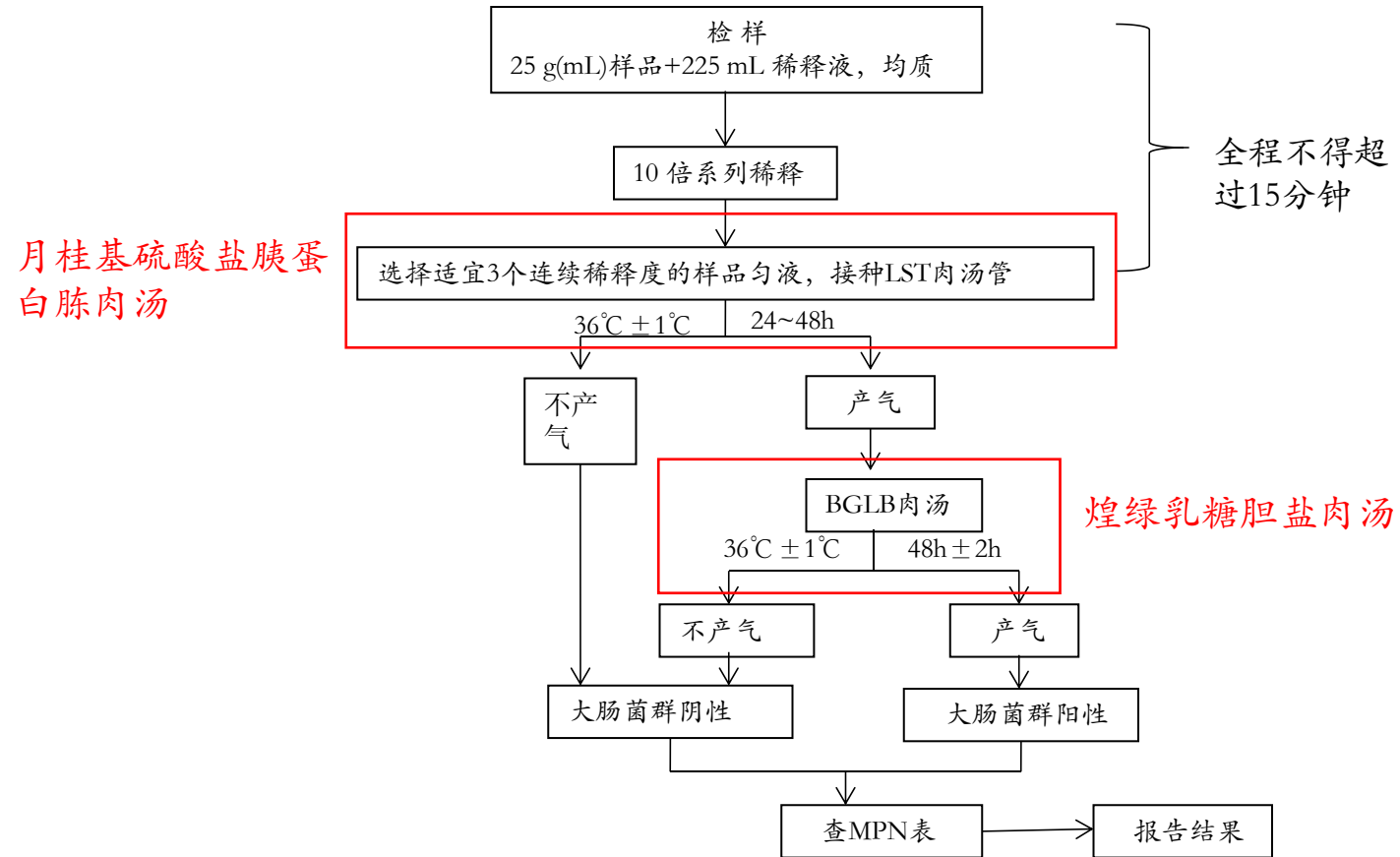
V1	V2	V3	MPN	P(%)
1	0.1	0.01	100ml(g)	
2	0	0	90	31.916132
2	0	1	140	1.118955
2	0	2	200	0.019208
2	0	3	260	0.000148
2	1	0	150	11.956167
2	1	1	200	0.631537
2	1	2	270	0.015038
2	1	3	340	0.000153
2	2	0	210	2.317562
2	2	1	280	0.170437
2	2	2	350	0.005383
2	2	3	420	0.000070
2	3	0	290	0.215558
2	3	1	360	0.021153
2	3	2	440	0.000862
2	3	3	530	0.000014
3	0	0	230	34.097556
3	0	1	390	3.098145
3	0	2	640	0.157771
3	0	3	950	0.004305
3	1	0	430	37.431791
3	1	1	750	6.578776
3	1	2	1200	0.647049
3	1	3	1600	0.031547
3	2	0	930	32.816431
3	2	1	1500	12.506472
3	2	2	2100	2.468265
3	2	3	2900	0.235151
3	3	0	2400	36.593489
3	3	1	4600	42.766144
3	3	2	11000	44.442153
3	3	3	>24000	#VALUE!



最大可能数 $\neq$ 最大数



第一法:大肠菌群MPN计数法 GB 4789.3—2016



要点

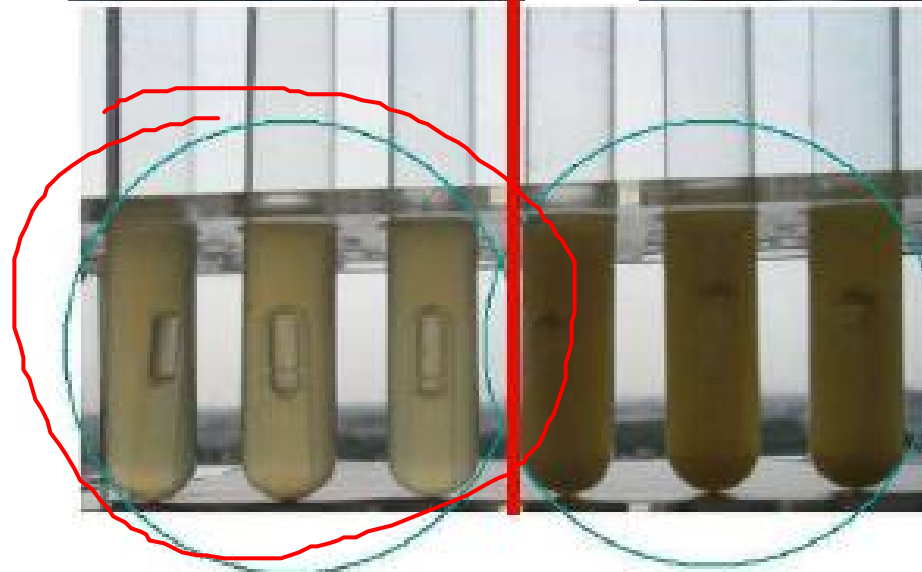
2010

LST



2003

乳糖胆盐肉汤



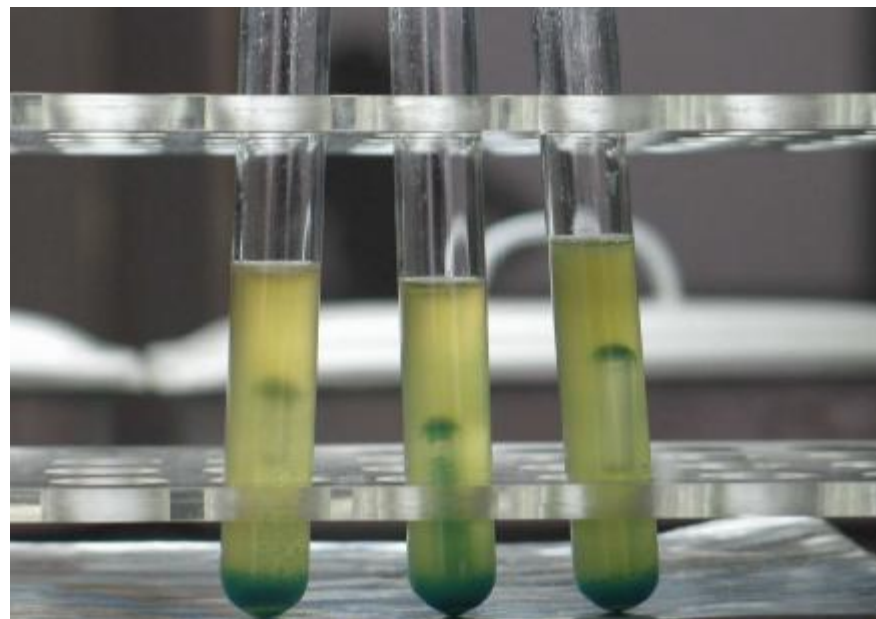
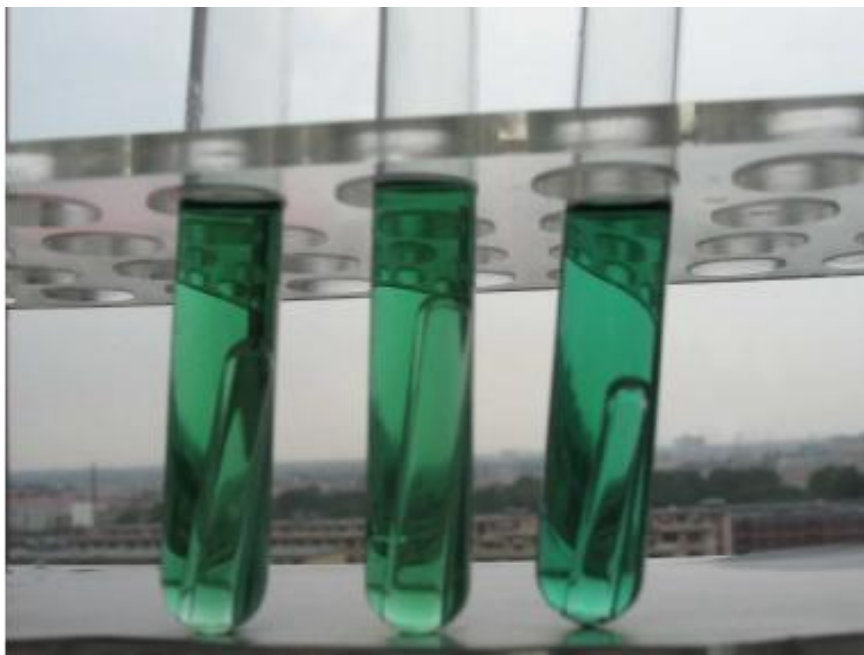
3M

月桂基硫酸盐胰蛋白胨（LST）肉汤的优点

LST肉汤是国际上通用的培养基。与乳糖胆盐肉汤的作用和意义相同，但具有更多的优越性，月桂基硫酸钠能抑制革兰氏阳性菌的生长，同时比胆盐的选择性和稳定性好。由于胆盐与酸产生沉淀，沉淀有时候会使对产气情况的观察变得有些困难。

（复发酵）用接种环从所有 $48\text{h} \pm 2\text{h}$ 内发酵产气的LST肉汤管中分别取培养物1环，移种于煌绿乳糖胆盐(BGLB)肉汤管中， $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 培养 $48\text{h} \pm 2\text{h}$ ，观察产气情况。产气者，计为大肠菌群阳性管。

要点



大肠菌群最可能数（MPN）的报告

根据大肠菌群阳性管数，检索MPN表（见附录B），报告每克（或毫升）样品中大肠菌群的MPN值。

注意：当检样的量与表中的量有增加或减少时，表内的数也应相应减少或增加。

B.1 大肠菌群最可能数 (MPN) 检索表

每g (mL) 检样中大肠菌群最可能数 (MPN) 的检索见表B.1。

表B.1 大肠菌群最可能数 (MPN) 检索表

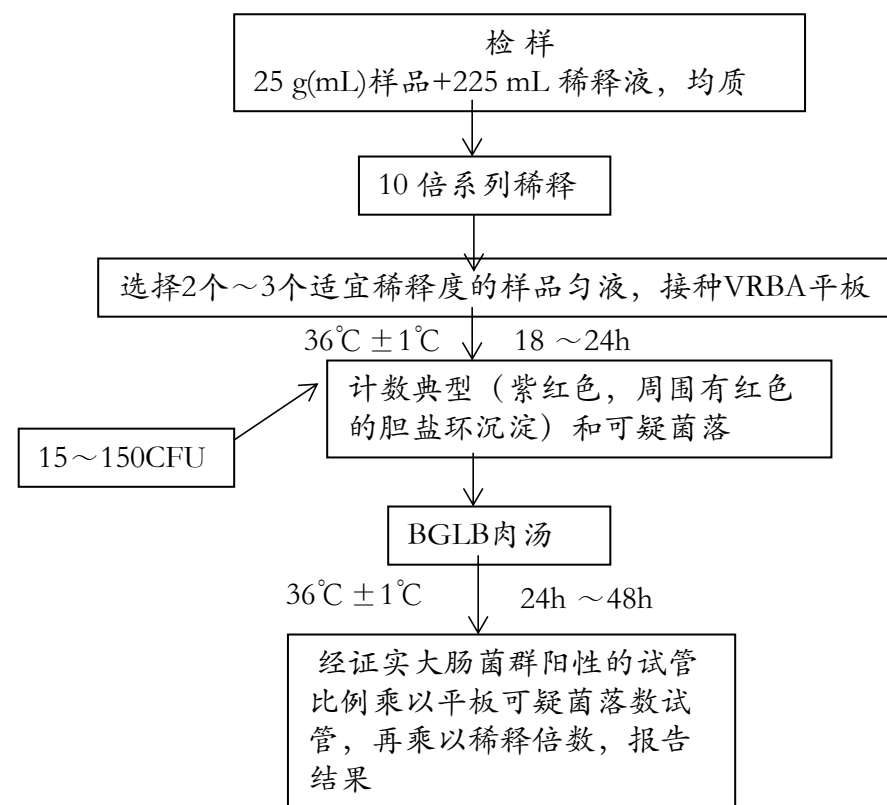
阳性管数			MPN	95%可信限		阳性管数			MPN	95%可信限	
0.10	0.01	0.001		下限	上限	0.10	0.01	0.001		下限	上限
0	0	0	<3.0	—	9.5	2	2	0	21	4.5	42
0	0	1	3.0	0.15	9.6	2	2	1	28	8.7	94
0	1	0	3.0	0.15	11	2	2	2	35	8.7	94
0	1	1	6.1	1.2	18	2	3	0	29	8.7	94
0	2	0	6.2	1.2	18	2	3	1	36	8.7	94
0	3	0	9.4	3.6	38	3	0	0	23	4.6	94
1	0	0	3.6	0.17	18	3	0	1	38	8.7	110
1	0	1	7.2	1.3	18	3	0	2	64	17	180
1	0	2	11	3.6	38	3	1	0	43	9	180
1	1	0	7.4	1.3	20	3	1	1	75	17	200
1	1	1	11	3.6	38	3	1	2	120	37	420
1	2	0	11	3.6	42	3	1	3	160	40	420
1	2	1	15	4.5	42	3	2	0	93	18	420
1	3	0	16	4.5	42	3	2	1	150	37	420
2	0	0	9.2	1.4	38	3	2	2	210	40	430
2	0	1	14	3.6	42	3	2	3	290	90	1,000
2	0	2	20	4.5	42	3	3	0	240	42	1,000
2	1	0	15	3.7	42	3	3	1	460	90	2,000
2	1	1	20	4.5	42	3	3	2	1100	180	4,100
2	1	2	27	8.7	94	3	3	3	>1100	420	—

注1: 本表采用3个稀释度[0.1 g(mL)、0.01 g(mL)和0.001 g(mL)], 每个稀释度接种3管。

注2: 表内所列检样量如改用1g (mL)、0.1 g(mL)和0.01 g(mL)时, 表内数字应相应降低10倍; 如改用0.01 g(mL)、0.001 g(mL)、0.0001 g(mL)时, 则表内数字应相应增高10倍, 其余类推。

3M™Petrifilm™大肠菌群的检测方法——直接计数法

第二法:大肠菌群平板计数法 GB4789.3-2016



第二法:大肠菌群平板计数法

选取菌落数在15-150 之间的平板，分别计数平板上出现的典型和可疑大肠菌群菌落。典型菌落为紫红色，菌落周围有红色的胆盐沉淀环，菌落直径为0.5 mm 或更大。



第二法:大肠菌群平板计数法

证实试验

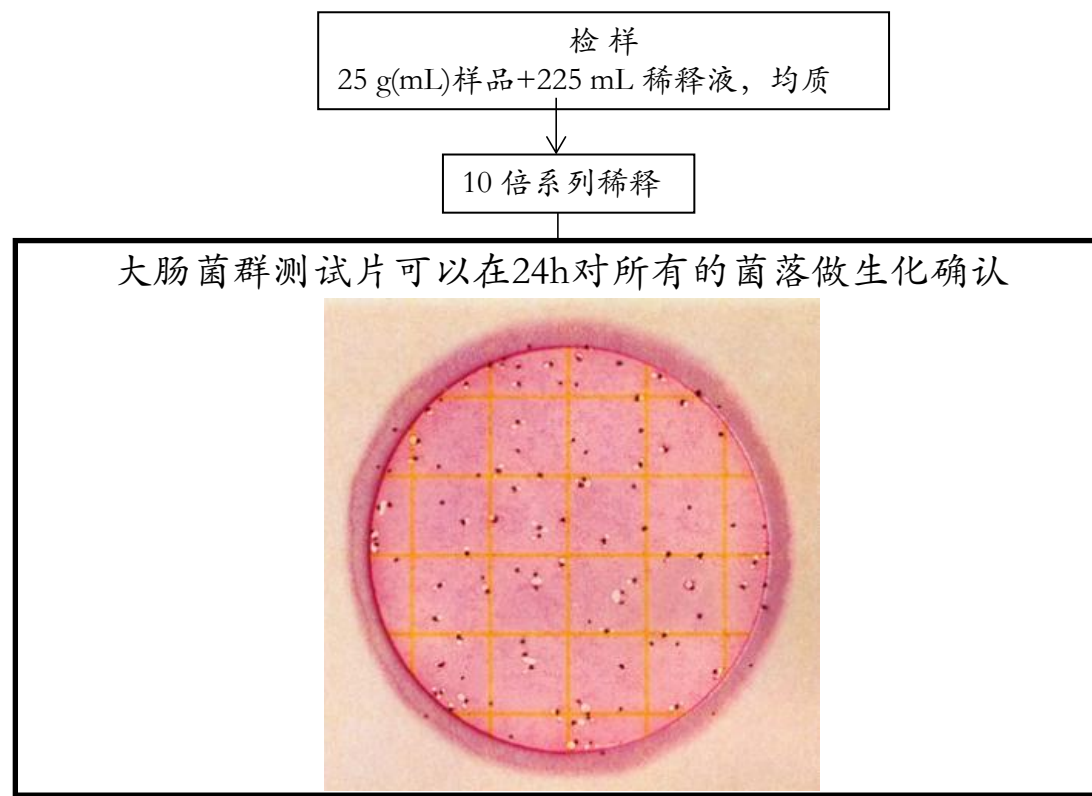
从VRBA 平板上挑取10 个不同类型的典型和可疑菌落，分别移种于BGLB 肉汤管内， $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 培养24h-48h，观察产气情况。凡BGLB 肉汤管产气，即可报告为大肠菌群阳性。

例： 10^{-4} 样品稀释液1 mL，在VRBA平板上有100个典型和可疑菌落，挑取其中10个接种BGLB肉汤管，证实有6个阳性管，则该样品的大肠菌群数为：

$100 \times 6 / 10 \times 10^4 / \text{g (mL)} = 6.0 \times 10^5 \text{CFU/g (mL)}$ 。

3M™Petrifilm™大肠菌群的检测方法——直接计数法

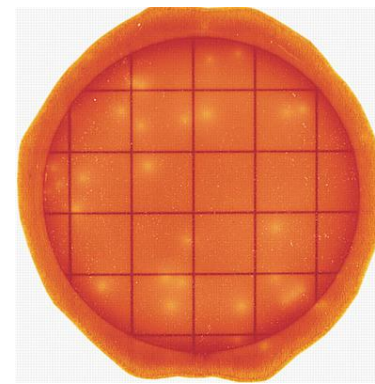
第二法:大肠菌群平板计数法 GB4789.3-2016



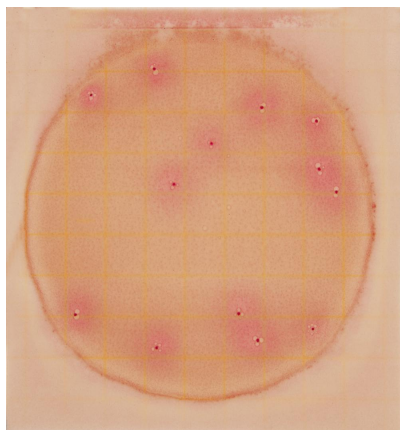
大肠菌群测试片



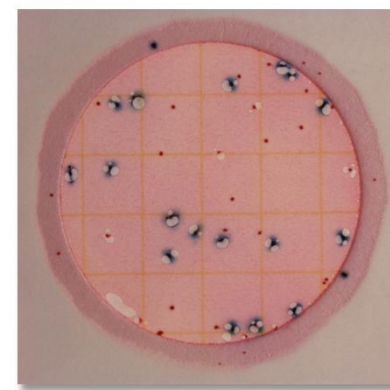
(PCC)
培养时间24h



(RCC)
培养时间24h



(HSCC)
培养时间24h



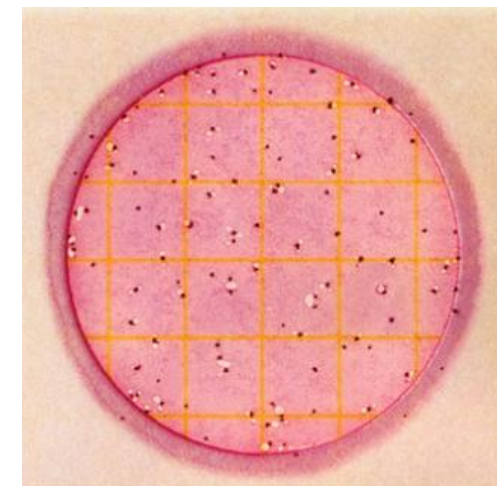
(PEC)
培养时间24h

相关认证、标准——3M™Petrifilm™大肠菌群测试片

- AOAC官方方法986.33和989.10
- AOAC官方方法91.14(食品类)
- NMKL方法(146.1993)
- AFNOR认可方法3M01/2-09/89A
- AFNOR认可方法3M01/2-09/89B

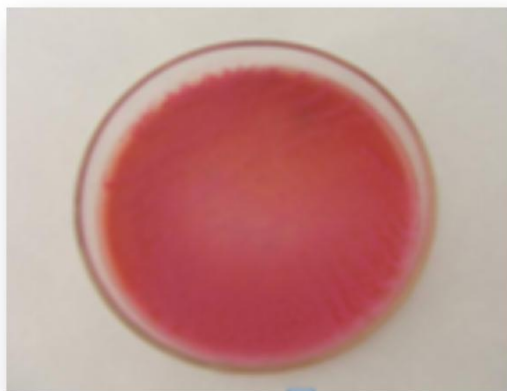
3M™ Petrifilm™ 大肠菌群测试片

- 含有改良的VRB培养基
- 目标菌落为红色带气泡
- 培养时叠放片数小于20
- 计数范围15-150cfu
- $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$, $24 \pm 2\text{ h}$ 培养
- 样品的稀释液调PH 6.6-7.2
- 方格设计便于计数, 计数面积 20CM^2

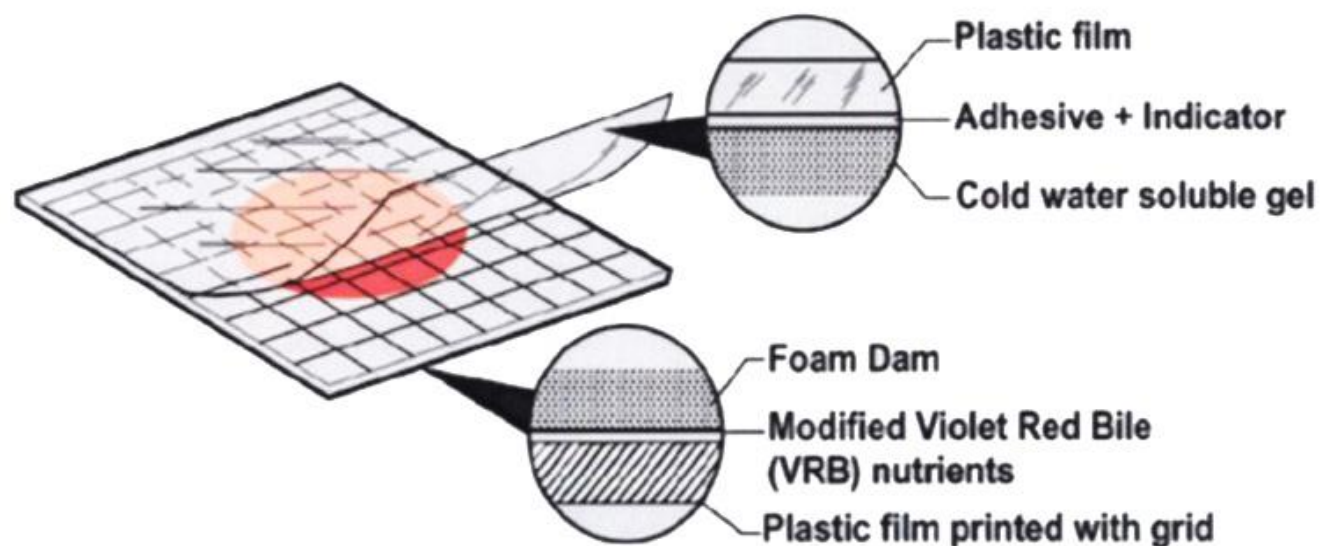
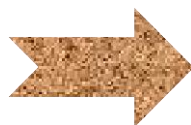


结构 & 原理

结构 (PCC) :



成分:胰蛋白胨、酵母浸膏、葡萄糖、琼脂、蒸馏水, PH
7.0 ± 0.2, 121 °C 高压灭
菌15min



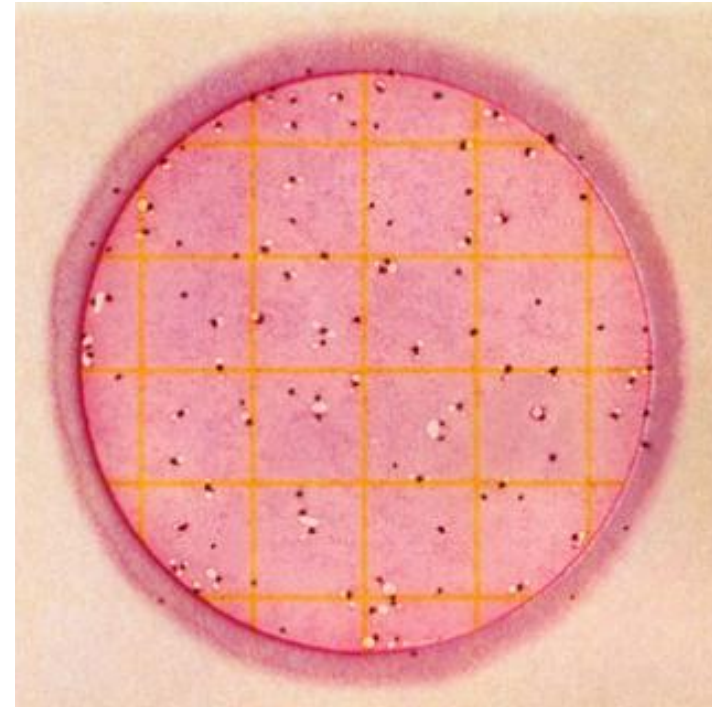
结构 & 原理

原理 (PCC) :

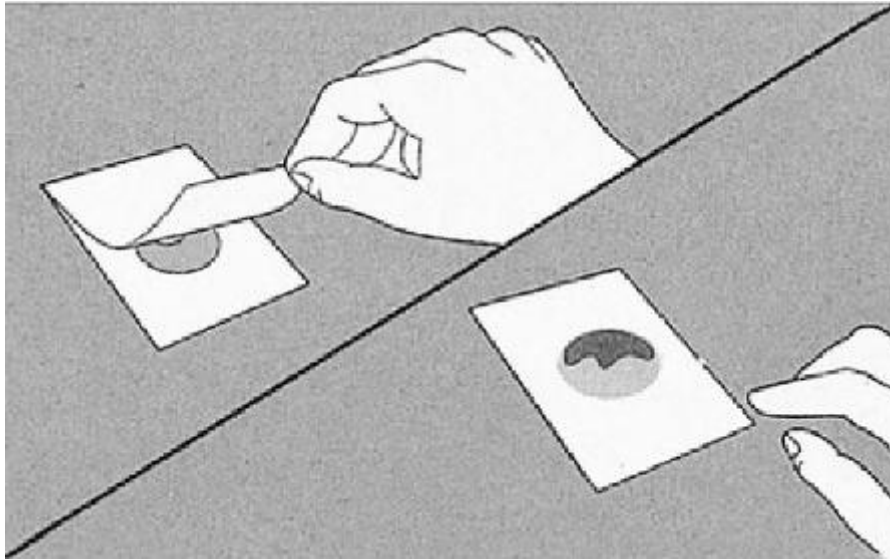
乳糖/葡萄糖发酵

(糖 $\rightarrow$ ATP + CO₂)

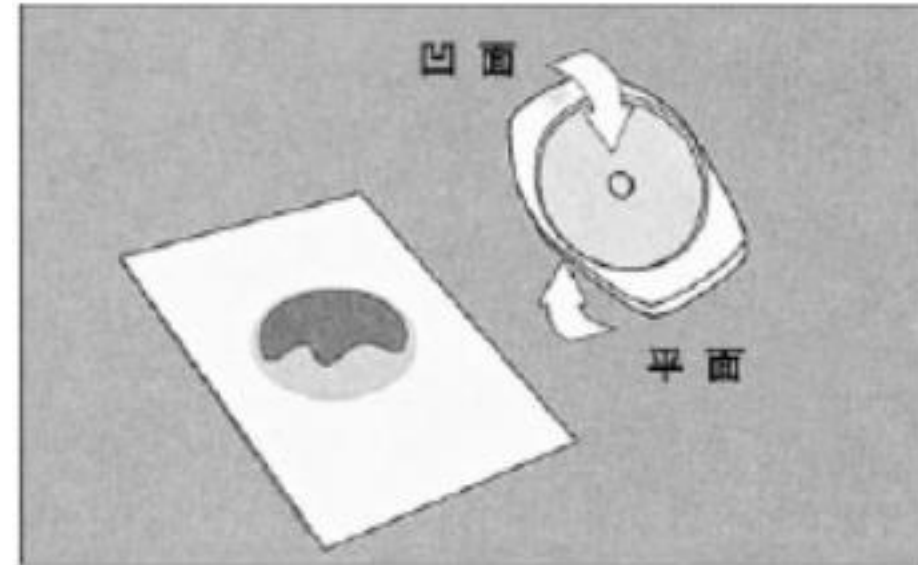
- 计数带有气泡的红色菌落
- 操作时缓缓落下上层膜，
尽量不要产生气泡



接种操作图示



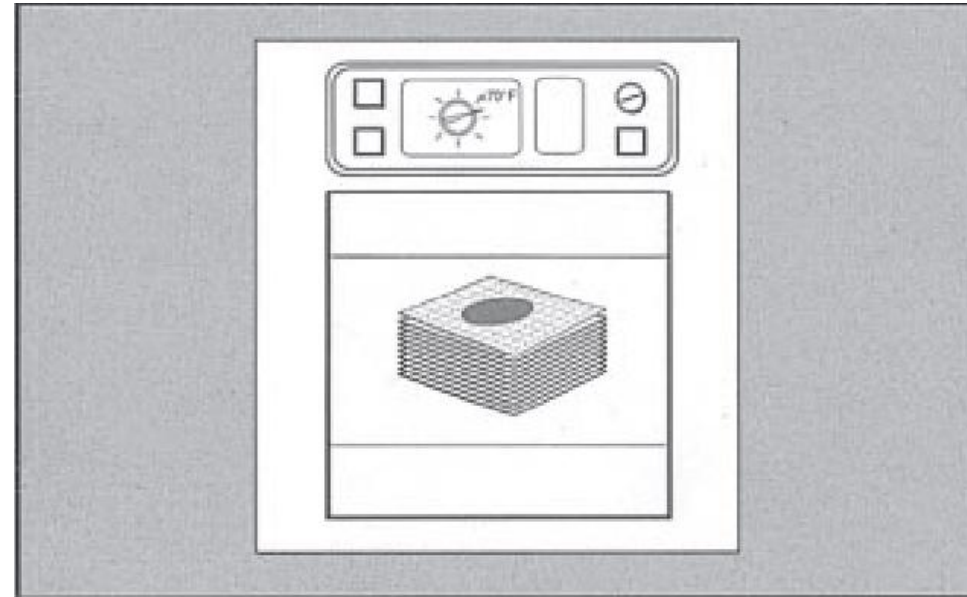
3. 缓慢落下上层膜，切勿直接落下，以免气泡产生



4. 使用压板（平面底朝下）放置在上层膜中央处

培 养

将测试片的透明面朝上置于培养箱内，可堆叠至20片，培养温度和时间为 $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ， $24\text{h} \pm 2\text{h}$ 。



3M™Petrifilm™大肠菌群测试片的判读规则

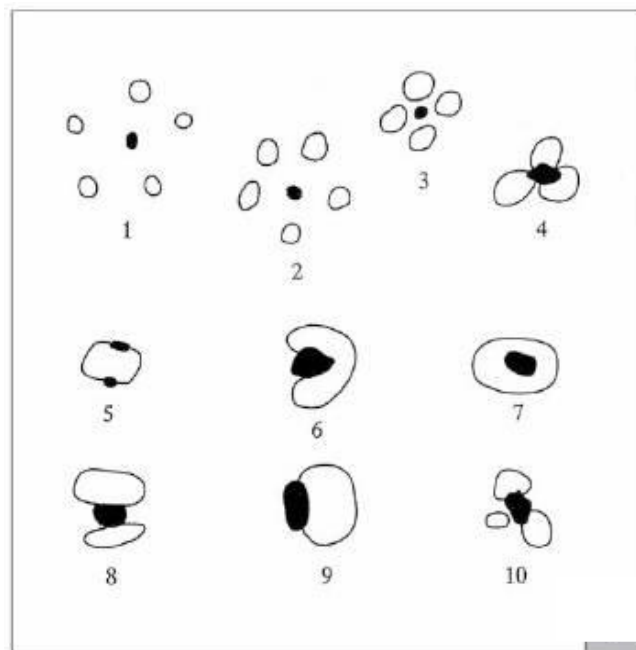
- 计数所有红色带气泡菌落，不论大小
- 培养圆形面积边缘上及边缘以外的菌落不作计数。
- 多不可计：当培养区域出现大量气泡（气泡多），大量不明显小菌落（红点多）或培养区呈暗红色（颜色深）三种情况，表明大肠菌群的浓度较高，需要进一步稀释样品来获得准确的读数。

3M™Petrifilm™大肠菌群测试片多不可计现象



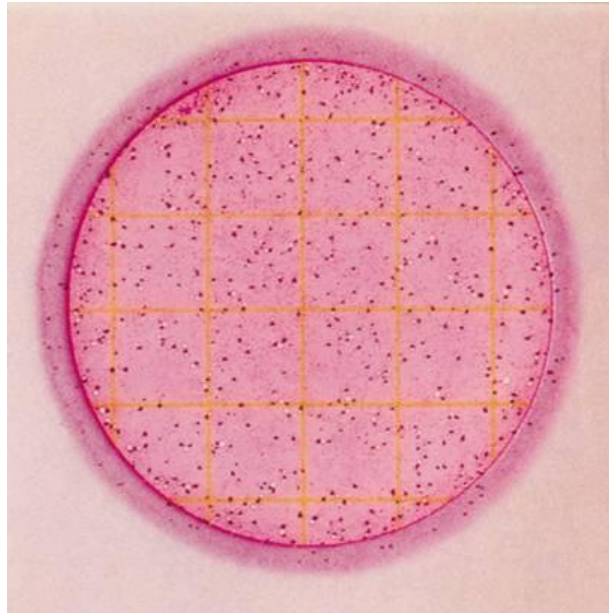
3M™Petrifilm™大肠菌群测试片的判读规则

不同类型气泡和菌落的连接情况，计数？



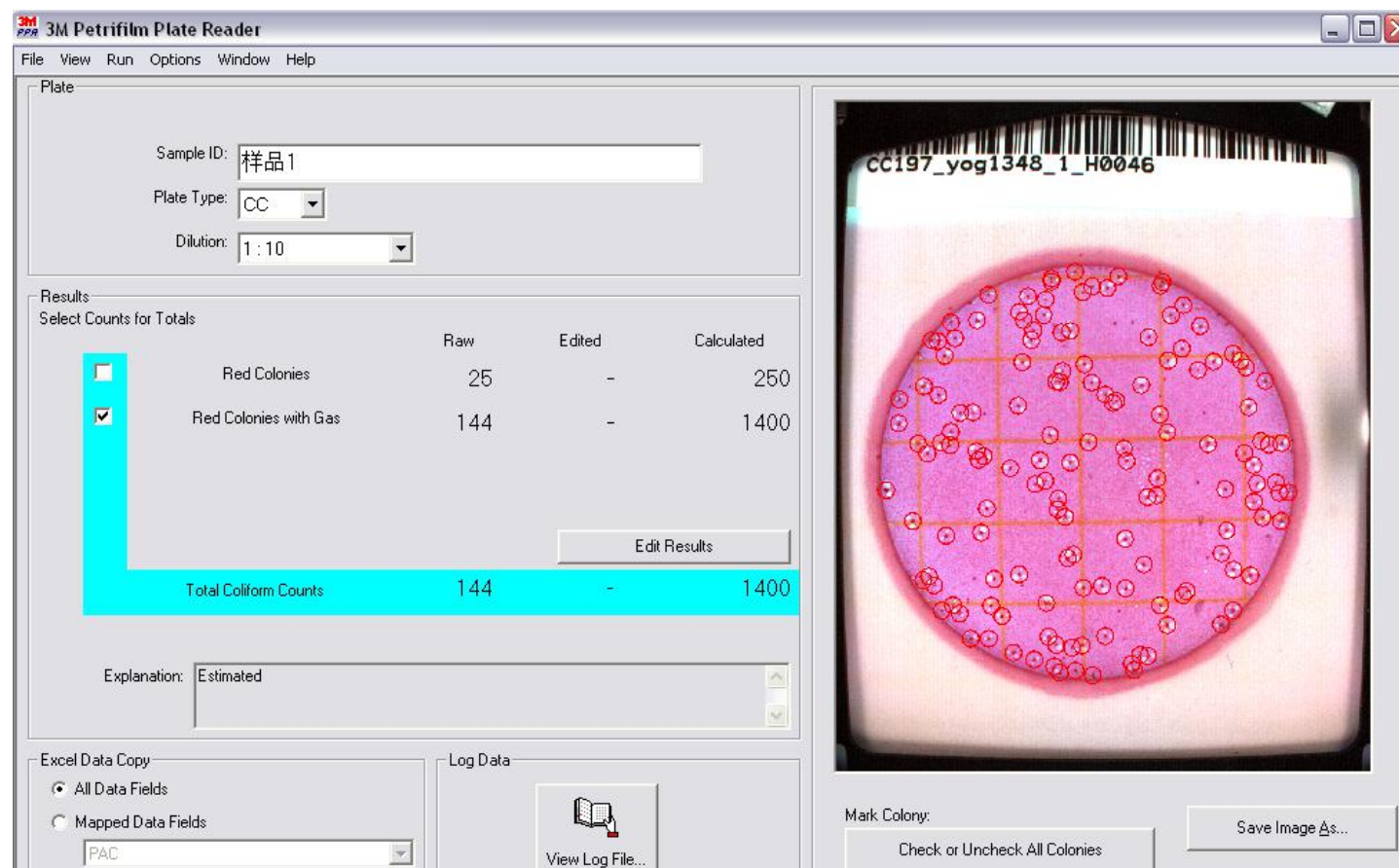
3M™Petrifilm™大肠菌群测试片的判读规则

TNTC: 菌落数大于150个时的计数



估算菌落数的方法：计数一个或两个具有代表性的方格内的菌落数，换算成单个方格内的菌落数后乘以20即为测试片上估算的菌落数 (圆形生长面积为20 cm²)

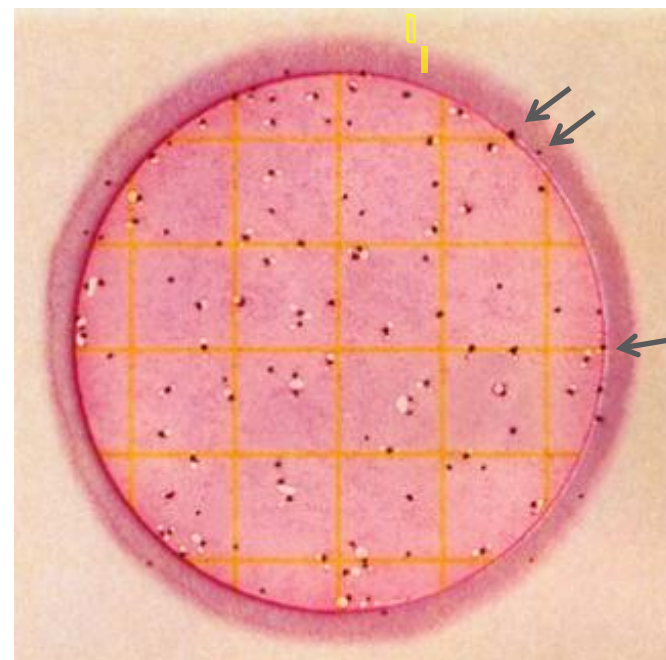
3M™Petrifilm™大肠菌群测试片的判读——自动判读仪



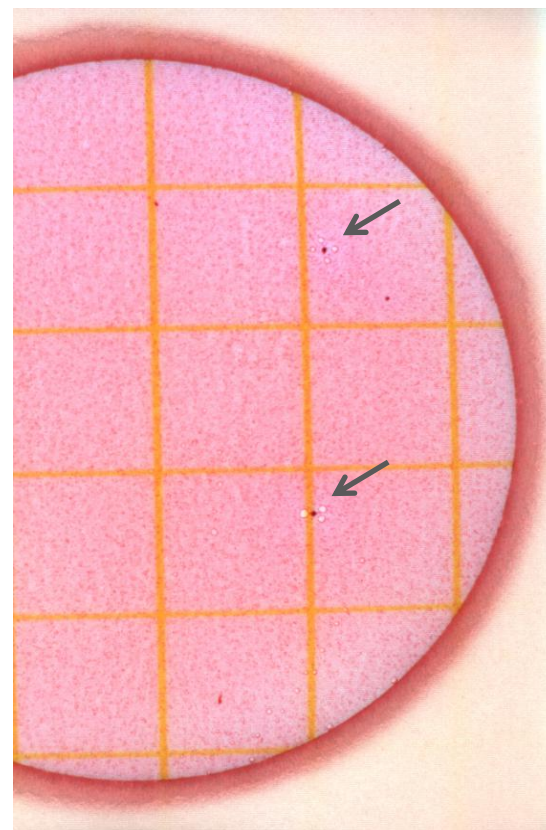
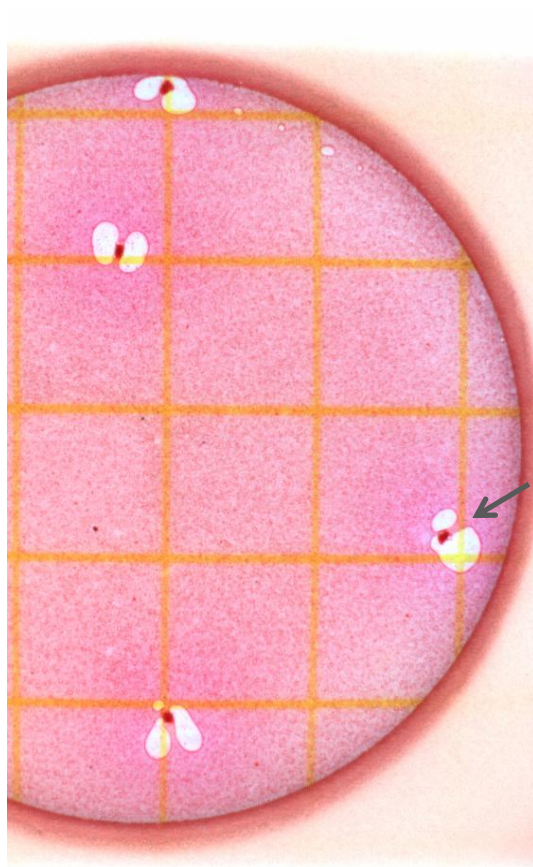
www.keno
gallery.com

3M™Petrifilm™大肠菌群测试片的注意事项

- 不要计数泡棉上的菌落
- 红色菌落&带气泡,两者缺一不可
一个菌落&多个气泡?
一个气泡&多个菌落?
- 上层膜缓缓落下,避免人为产生气泡
- 样品稀释液pH应调在6.6-7.2

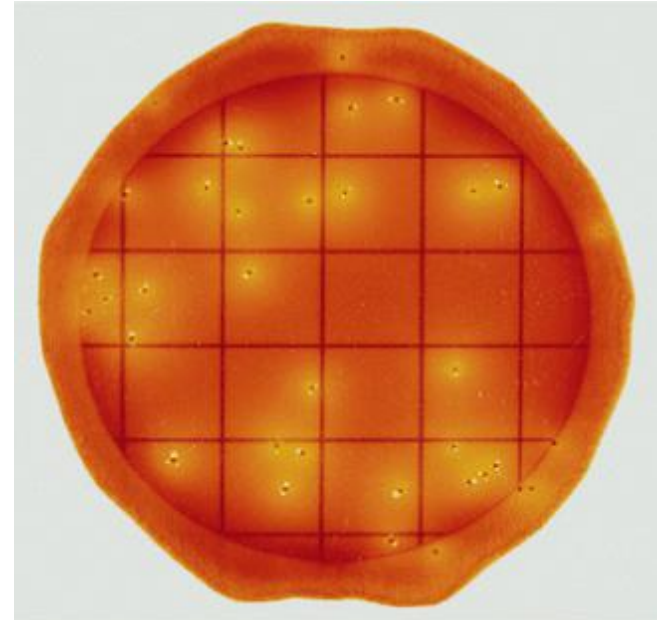


3M™Petrifilm™大肠菌群测试片的注意事项



3M™Petrifilm™快速大肠菌群测试片

- 含有改良的VRB培养基
- 含有酸检测的pH指示剂
- 快速检测大肠菌群
- $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 培养
- 6-14 h，推测大肠菌群
- 24 h，确认大肠菌群



3M™Petrifilm™快速大肠菌群测试片

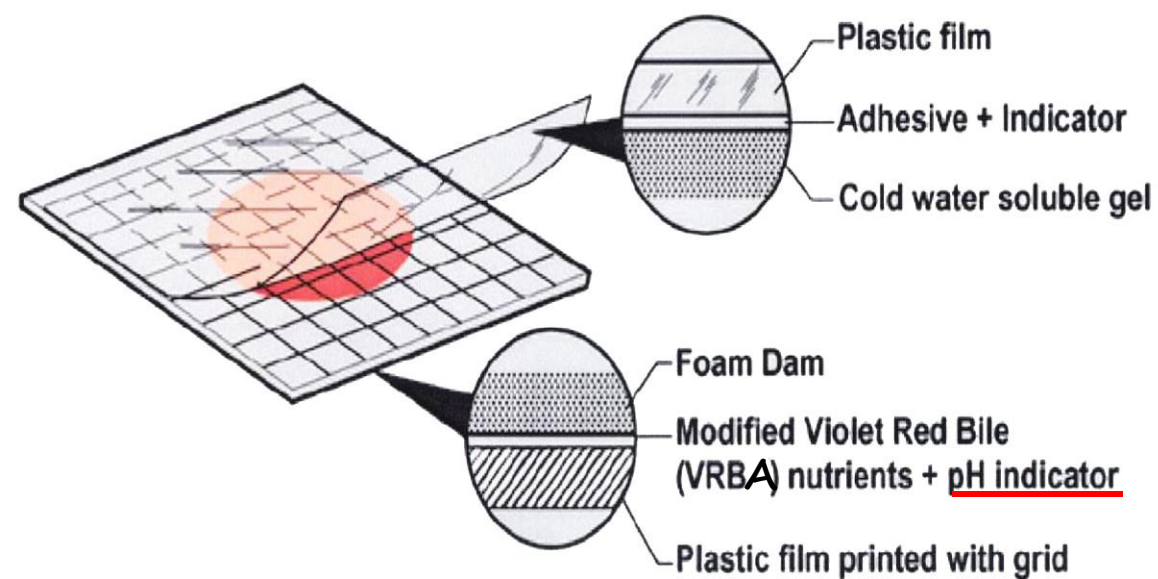
应用范围

- 食品、选择性食品
- 快速得到结果



结构&原理——3M™Petrifilm™快速大肠菌群测试片

结构 (RCC) :



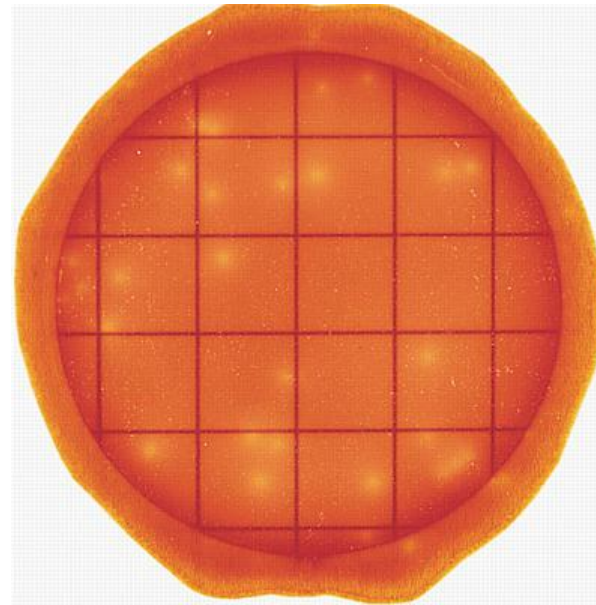
结构&原理——RCC

原理:

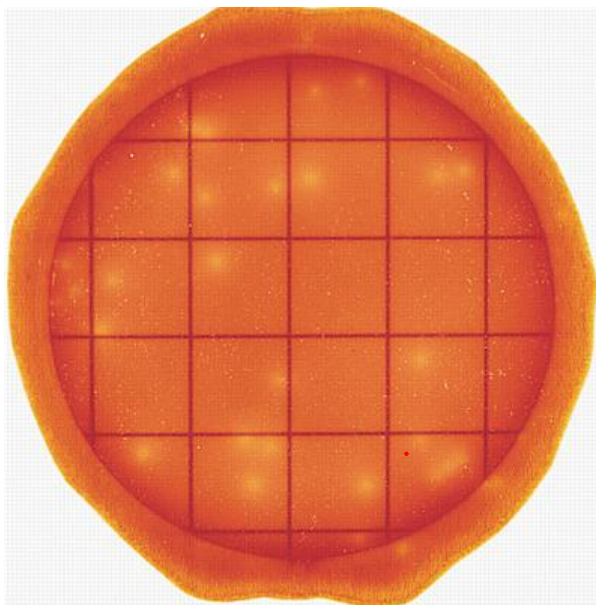
在测试片上生长产酸

颜色变化与pH相关

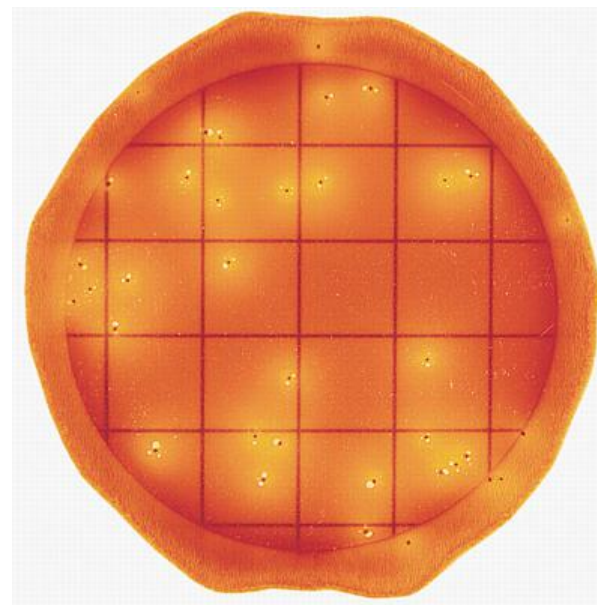
- PEB: 酚红 → 黄晕
- RCC: 甲基红 → 黄晕 →
- HSCC: → 粉红晕



3M™Petrifilm™快速大肠菌群测试片的判读



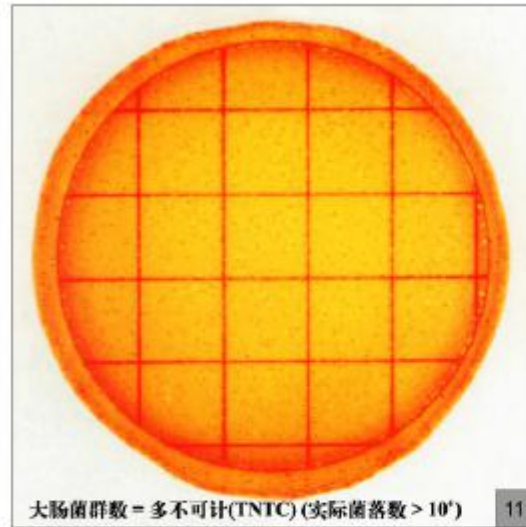
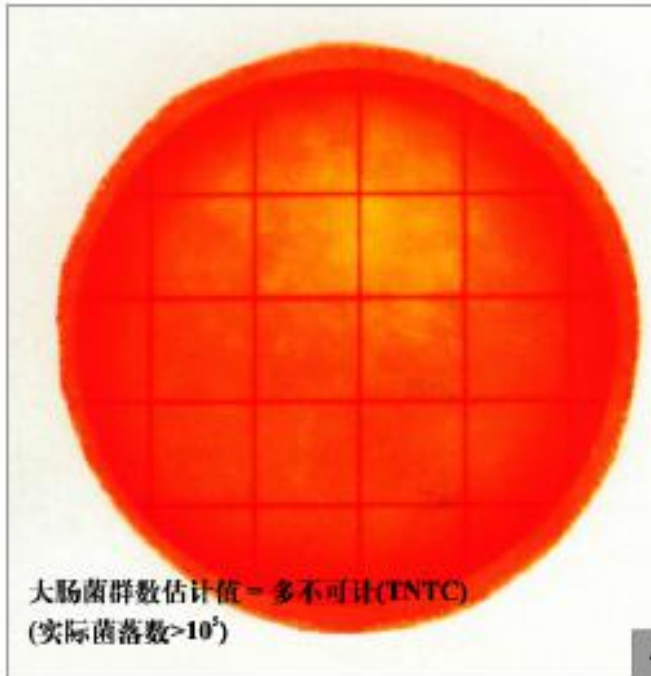
6-14小时出现黄晕，推测性判读
计数有或没有红点的黄色区域推测为大肠菌群



8-24小时出现带或不带气泡的菌落，
24小时确定性判读
计数红色带气泡的菌落为大肠菌群

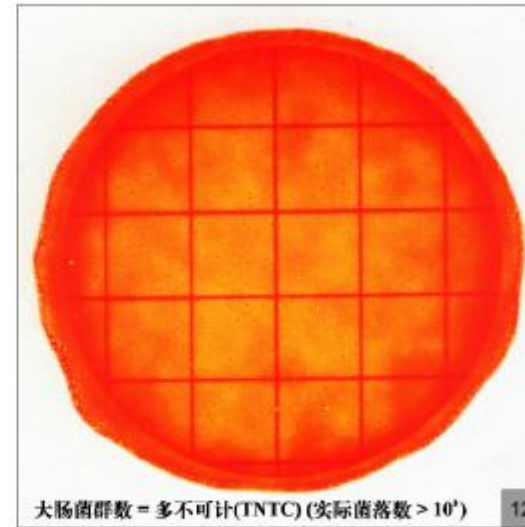
3M™Petrifilm™快速大肠菌群测试片的判读

- 黄色酸环带6小时后开始出现，判读结果为推测结果，若待进一步验证，培养至24h
- 不要计数泡棉上的菌落
- 多不可计：



在Petrifilm™快速大肠菌群测试片上菌落无法计数时，至少有下列一种或多种现象：

- (1) 培养基颜色变化，由桔红色到桔黄色
- (2) 有许多气泡
- (3) 有许多小菌落 见图11

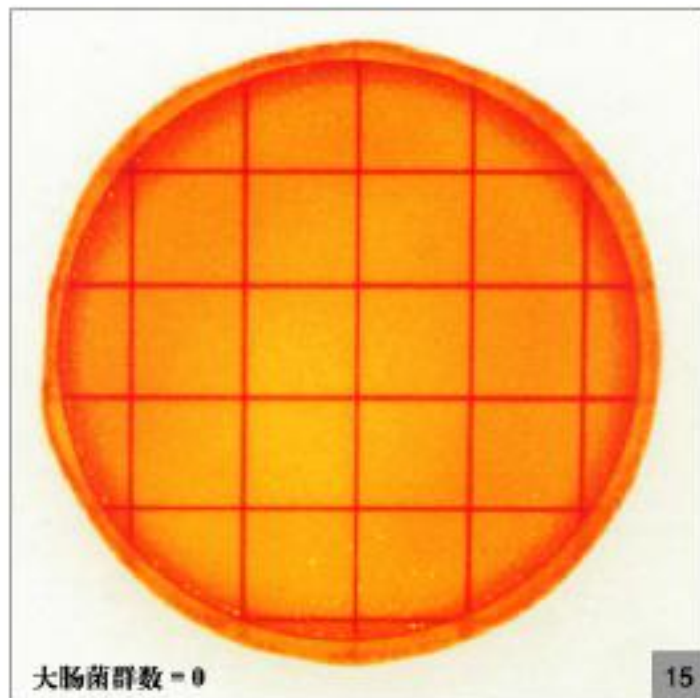


如图12所示，在Petrifilm™快速大肠菌群测试片上有两种特征指示多不可计(TNTC)菌落：

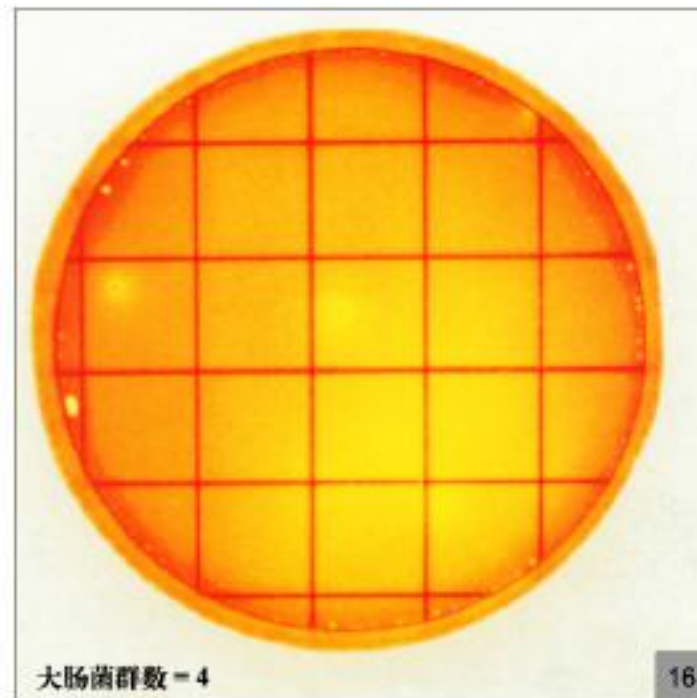
- (1) 培养基颜色的变化
- (2) 有许多小菌落

pH 绝大多数细菌最适生长环境的pH值为7.0左右，
pH值较低的样品在接种到测试片上前，需将pH值调至6.5~7.5。

图15和图16为调pH后的新鲜酸奶接种到测试片上的例子，培养基中的抑制剂可阻止革兰氏阳性菌的生长，但早期生长的细菌产生的酸可能会改变培养基背景颜色由桔红到桔黄色。可继续培养，进一步监测是否为多不可计(TNTC)。



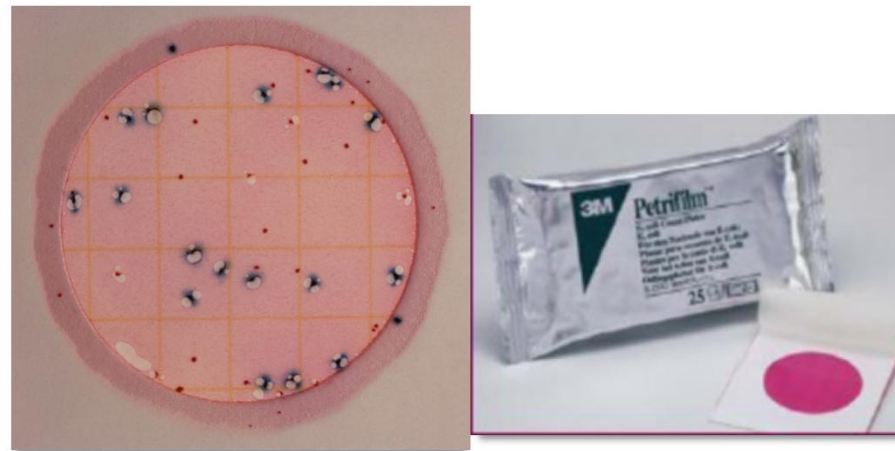
这阴性测试片同上述的多不可计(TNTC)测试片比较，注意到没有菌落和气泡存在，应记为多不可计(TNTC)。



尽管培养基颜色有变化，但大肠菌群产酸仍能很容易被识别，如图16所示。

3M™Petrifilm™大肠菌群/大肠杆菌测试片

- 食品；家禽、肉、海产品
- 同时检测大肠菌群/大肠杆菌，不能单独测定E.coli O157



3M™Petrifilm™大肠菌群/大肠杆菌测试片的使用

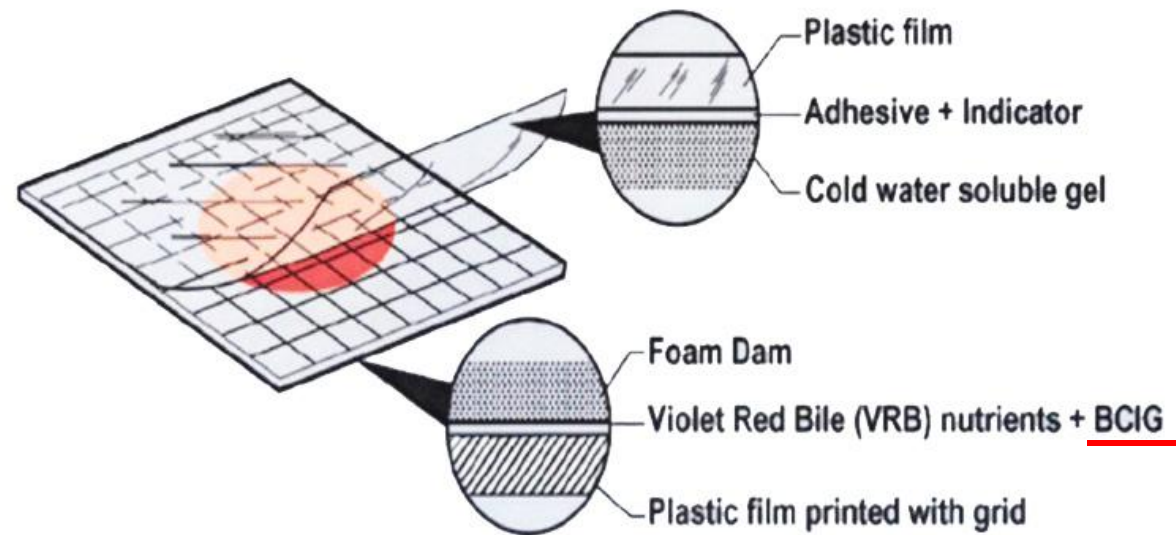
- 含有改良的VRB培养基
- 24-48 h 内即可获得结果
- 计数范围15-150
- 容易判读

带气泡的蓝色和红色菌落为大肠菌群

带气泡的蓝色菌落为大肠杆菌

结构&原理——3M™Petrifilm™大肠菌群/大肠杆菌测试片

结构 (PEC) :



结构&原理——3M™Petrifilm™大肠菌群/大肠杆菌测试片

葡萄糖苷酸酶底物 (BCIG)

原理:

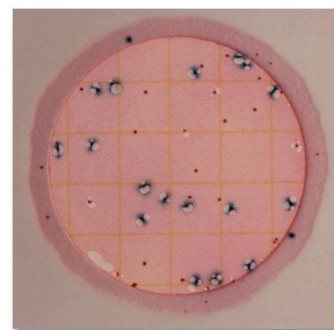
- 检测专一性酶的存在

- BCIG $\xrightarrow{\text{葡萄糖苷酶}}$ 蓝色产物

大肠菌群/大肠杆菌



β-葡萄糖苷酶



3M™Petrifilm™大肠菌群/大肠杆菌测试片的判读

3M Petrifilm Plate Reader

File View Run Options Window Help

Plate

Sample ID: 样品1

Plate Type: EC/CC

Dilution: 1 : 10

Results

Select Counts for Totals

	Raw	Edited	Calculated
☐ Red Colonies	13	-	130
☒ Red Colonies with Gas	58	-	580
☐ Blue Colonies	26	-	260
☒ Blue Colonies with Gas	38	-	380
Edit Results			
Total Coliform Counts	96	-	960
Total E. Coli Counts	38	-	380

Explanation:

Excel Data Copy

☒ All Data Fields

☐ Mapped Data Fields

PAC

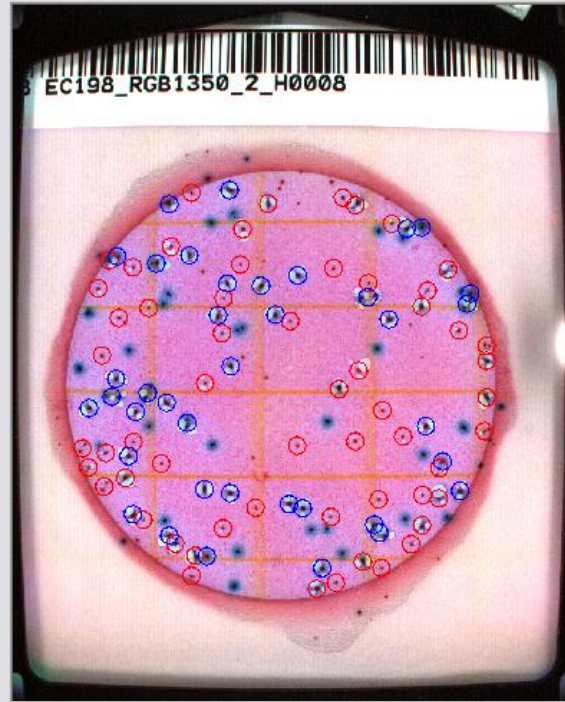
Log Data

View Log File...

Mark Colony:

Check or Uncheck All Colonies

Save Image As...

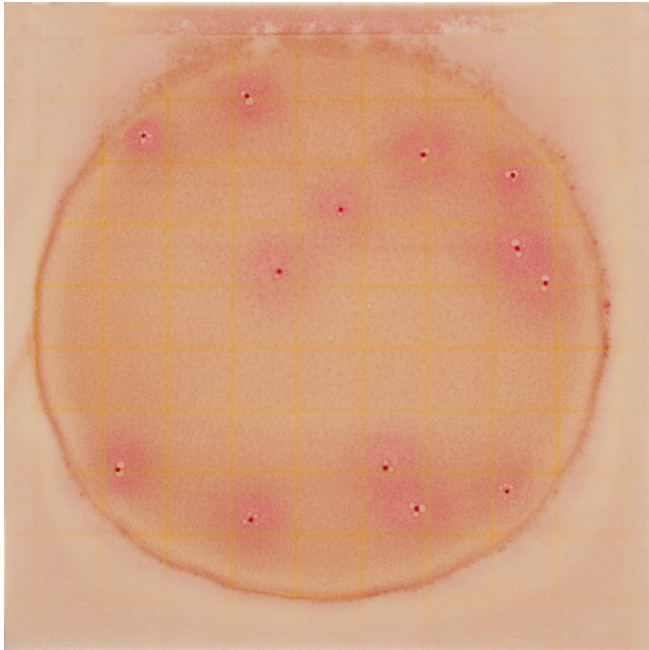


www.theme
gallery.com

3M™Petrifilm™大肠菌群/大肠杆菌测试片的注意事项

- 24 h得出大肠菌群数
- 肉、家禽和海鲜，24 h得出大肠杆菌数
- 其它食品，48 h得出大肠杆菌数
- E. coli O157表现为大肠菌群
- 蓝色，不论深浅，或部分蓝色

3M™Petrifilm™高灵敏度大肠菌群测试片



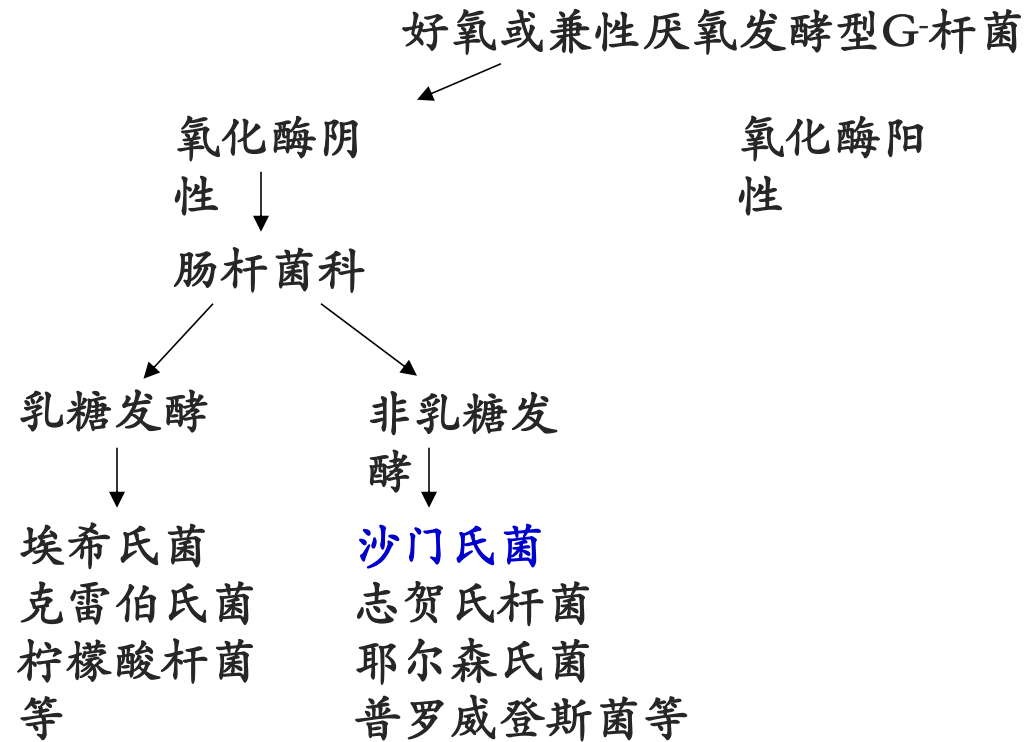
- 含有改良的VRB培养基
- 灵敏度 1 cfu/5 mL 或 1 cfu/5g
- 目标菌落为红色带气泡
- 粉红色晕圈辅助判读
- 计数范围15-150
- $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$, 24 ± 2 h
- 培养时叠放片数小于10

肠杆菌检测

- 加工后污染的优良指示
- 范畴更广，包含沙门氏菌，志贺氏菌等
- 更好预示潜在致病菌的存在可能
- 适合干燥的加工区域（大肠菌群不易存活）
- 欧洲广泛使用



什么是肠杆菌科?



3M™ Petrifilm™ 肠杆菌科测试片

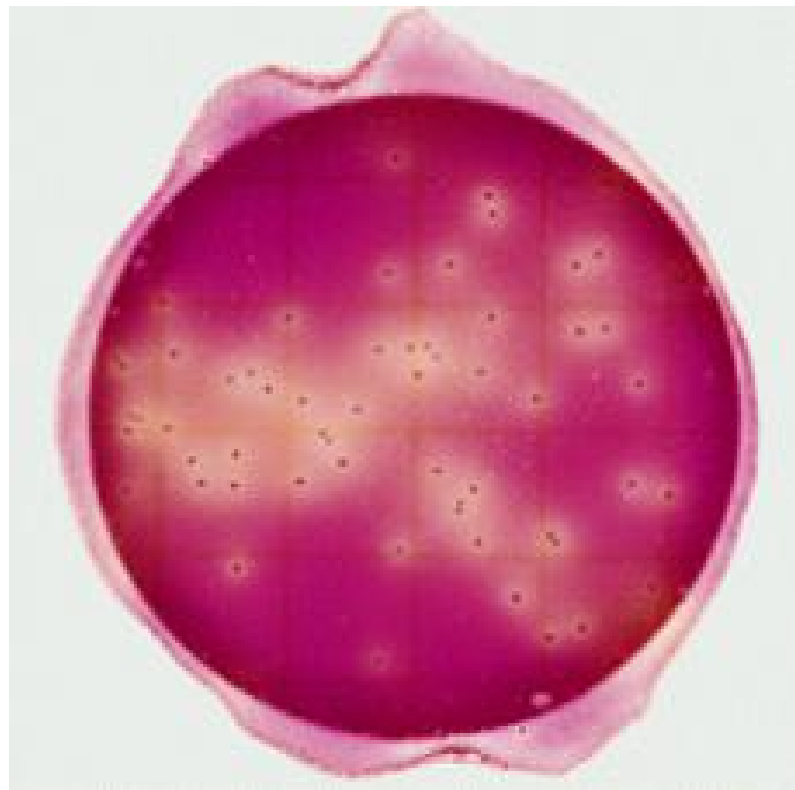
■ 结果判读:

计数红点带黄晕，或红点带气泡的菌落，或红点带有两者的菌落为肠杆菌科菌落

■ $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 或 $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ，24小时确认结果

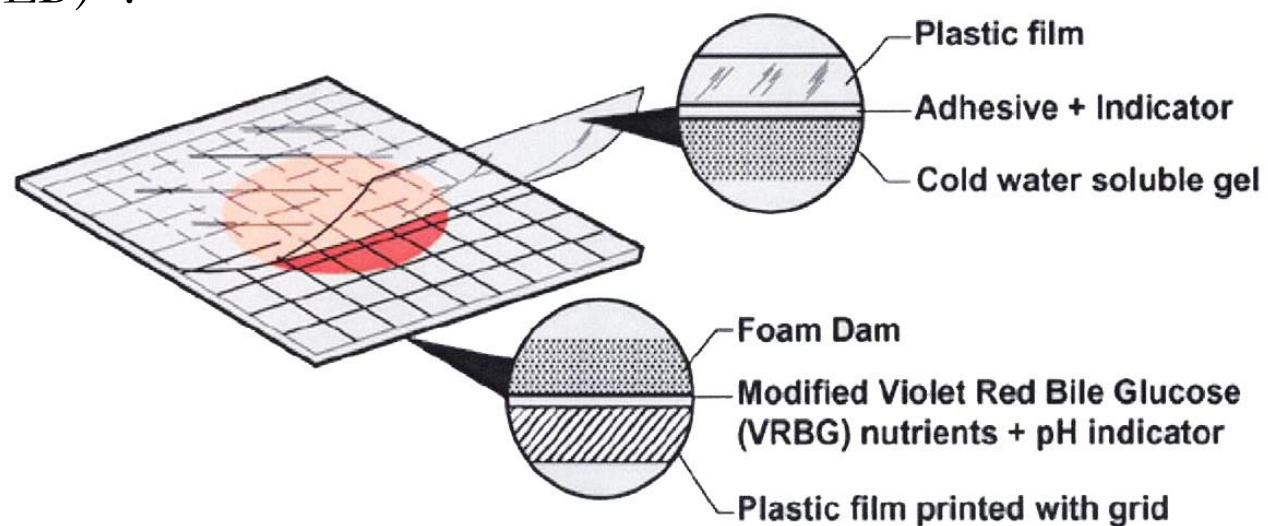
■ 计数范围15-100

■ 样品稀释液PH6.5-7.5



3M™Petrifilm™肠杆菌测试片的结构&原理

结构
(PEB) :



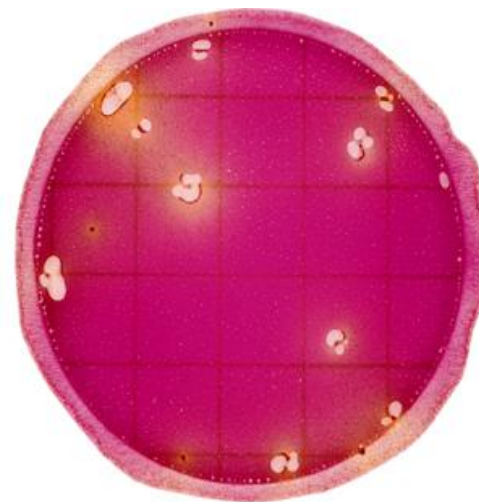
结构&原理——PEB

原理:

在测试片上生长产酸

颜色变化与pH相关

- PEB: 酚红 → 黄晕
- RCC: 甲基红 → 黄晕 →
- HSCC: → 粉红晕



小 结:

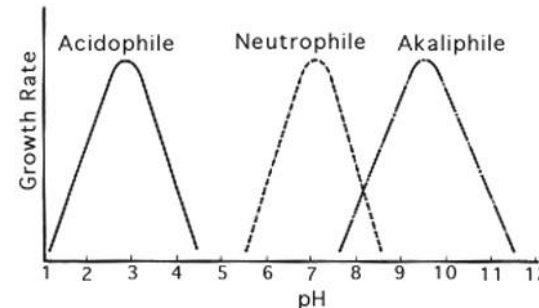
样品处理需要调 pH 吗?

为什么要调节?

- 大多数微生物在中性 pH 下生长最好
- 某些检测利用 pH 变化指示微生物的生长
- 不止 Petrifilm 的使用需要调节 pH 值, Agar 也需要调节 pH 值

例外:

- PYM、RYM
- PEL、LAB



提示: 产品说明和判读手册中均列出了样品的合适 pH 范围

相关国际标准 ISO 6887

EN ISO 6887-1:1999

ISO 6887-4:2003(E)

Introduction

Because of the large variety of food and feed products, this horizontal method may not be appropriate in every detail for certain products. In this case, different methods, which are specific to these products may be used if absolutely necessary for justified technical reasons. Nevertheless, every attempt should be made to apply this horizontal method as far as possible.

When this part of ISO 6887 is next reviewed, account will be taken of all information then available regarding the extent to which this horizontal method has been followed and the reasons for deviations from this method in the case of particular products.

The harmonization of test methods cannot be immediate, and for certain group of products International Standards and/or national standards may already exist that do not comply with this horizontal method. It is hoped that when such standards are reviewed they will be changed to comply with this part of ISO 6887 so that eventually the only remaining departures from this horizontal method will be those necessary for well-established technical reasons.

This part of ISO 6887 defines the general rules for the preparation of the initial suspension and of decimal dilutions for microbiological examination. Part 2 of ISO 6887 (under preparation) will specify specific rules for the preparation of the test sample and of the initial suspension, taking into account the variety of food and feed products to which ISO 6887 applies.

For a number of products, it is necessary to take special precautions especially when preparing the initial suspension, because of the physical state of the product (such as a dry product, a highly viscous product), or the presence of inhibitory substances (such as spices, salted fishes), or the acidity, etc. It is recommended that, whilst waiting for the publication of part 2, any special diluents or practices specified for particular products in an appropriate specific standard be used in the preparation of the initial suspension. This may include:

- adjustment of the pH of a food suspension to neutrality;
- the use of buffered peptone water, and no other diluent, for products with high inhibitory effect, or products containing microorganisms that have been stressed (e.g. acidic pH);

- specific rehydration procedures for foods of low water activity to minimize osmotic shock;
- the use of adequate temperatures to aid suspension of cocoa, gelatine, milk powder, etc.;
- resuscitation procedures for the improved recovery of stressed microorganisms resulting from food processing and storage;
- homogenization procedures and duration specific to certain products (e.g. cereals) and/or to certain determinations (e.g. yeasts and moulds);
- the use of surface-active agents for high-fat foods.

1 Scope

This part of ISO 6887 defines general rules for the aerobic preparation of the initial suspension and of decimal dilutions for microbiological examinations of products intended for human or animal consumption.

This part of ISO 6887 is applicable to the general case, except for products mentioned in ISO 6887-2.

2 Normative reference

The following normative document contains provisions which, through reference in this text, constitute provisions of this part of ISO 6887. For dated references, subsequent amendments to, or revisions of, this publication do not apply. However, parties to agreements based on this part of ISO 6887 are encouraged to investigate the possibility of applying the most recent editions of the normative documents indicated below. For undated references, the latest edition of the normative document referred to applies. Members of ISO and IEC maintain registers of currently valid International Standards.

ISO 7218, *Microbiology of food and animal feeding stuffs — General rules for microbiological examinations*.

3 Definitions

For the purposes of this part of ISO 6887, the following definitions apply.

3.1

initial suspension (primary dilution)

suspension, solution or emulsion obtained after a weighed or measured quantity of the product under examination (or of a test sample prepared from the product) has been mixed with a nine-fold quantity of diluent, allowing large particles, if present, to settle

NOTE See clause 5 and notes 1 and 2 of 9.1.

7.2 Hard and dry products

For hard or dry products, do not homogenize in a rotary homogenizer (6.1.1) for more than 2,5 min at a time.

For dry and hard or heterogeneous products, it may be necessary to mince or to grind the laboratory sample. In this case, to avoid an excessive rise in temperature, do not mince or grind for more than 1 min.

7.3 Liquid and non-viscous products

Before analysing, the test sample should be taken after having shaken the laboratory sample by hand (e.g. 25 times through an arc of 25 cm; see ISO 8261 for details) or by mechanical means in order to ensure that the microorganisms are uniformly distributed.

7.4 Heterogeneous products

For heterogeneous products (which contain pieces of different foods), sampling should be carried out by taking aliquots of each component representative of their proportions in the initial product.

It is also possible to homogenize the whole laboratory sample to allow the sampling of an homogenized test sample.

It may be necessary to mince or to grind the laboratory sample. In this case, to avoid an excessive rise in temperature, do not mince or grind for more than 1 min.

8 General procedures

8.1 General

All preparations and manipulations should be carried out using good aseptic techniques and with sterile equipment to prevent microbial contamination of samples from all external sources. See ISO 7218.

Indicate in the report which procedure is used for analysis if it is different from the procedure described in this part of ISO 6887.

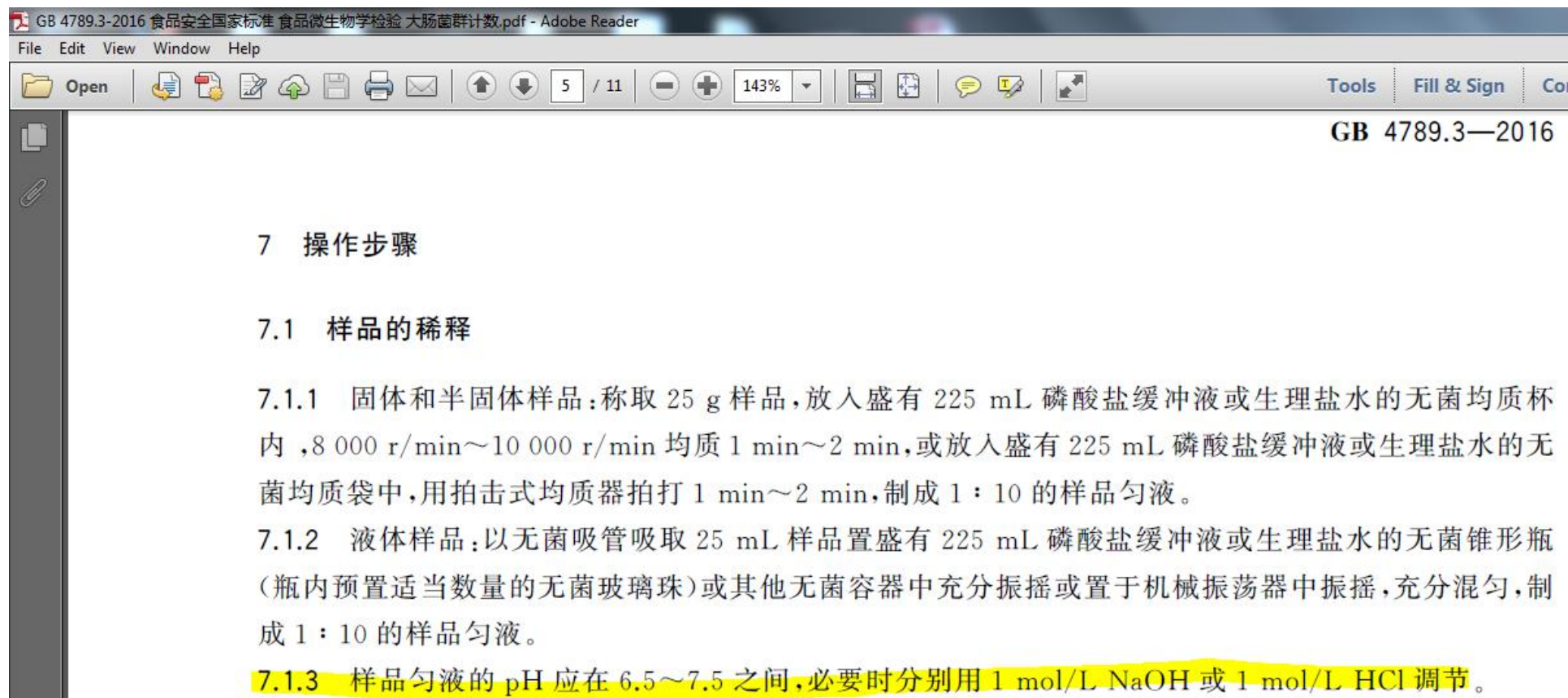
8.2 General case for acidic products

It is important when using a suspension solution of acidic products to ensure that the pH is brought back to neutral. The use of diluent with an added pH indicator (5.3.1) can avoid the need to use and sterilize pH probes: add sodium hydroxide (NaOH) to bring back the coloration of the suspension until the indicator starts to change.

For use with buffered diluents, the addition of NaOH is often necessary to increase the buffering capacity of the alkaline component. The concentration of added NaOH is depends on the product acidity. The most suitable concentration (e.g. 0,1 mol/l or 1 mol/l) is the concentration which is still close to a ratio of 1 + 9 with diluent.

www.theme
gallery.com

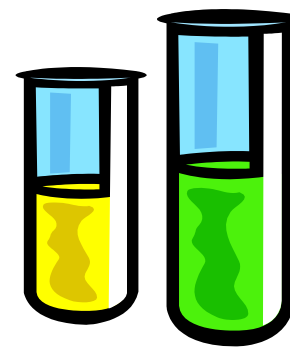
相关国内标准 GB4789.2-2016



样品pH调节方法

中性pH: 7.0 (6.5-7.5) 绝大多数细菌最适生长环境的pH值为7.0左右

- 单独稀释好的样品
- - 酸性样品：逐滴加入1N NaOH，同时检测 pH
- - 碱性样品：逐滴加入1N HCl，同时检测 pH
- 直接用合适pH的缓冲液稀释
- - 确定稀释比例
- - 确定缓冲液合适pH
- - 灭菌前预先制备相应缓冲液



附：

GB4789.3 大肠菌群 2010版和2016版对比

前 言

本标准代替 GB 4789.3—2010《食品安全国家标准 食品微生物学检验 大肠菌群计数》、GB/T 4789.32—2002《食品卫生微生物学检验 大肠菌群的快速检测》和 SN/T 0169—2010《进出口食品中大肠菌群、粪大肠菌群和大肠杆菌检测方法》大肠菌群计数部分。

本标准与 GB 4789.3—2010 相比,主要变化如下:

- 增加了检验原理;
- 修改了适用范围;
- 修改了典型菌落的形态描述;
- 修改了第二法平板菌落数的选择;
- 修改了第二法证实试验;
- 修改了第二法平板计数的报告。

1、增加“检验原理”：

3.1 MPN 法

MPN 法是统计学和微生物学结合的一种定量检测法。待测样品经系列稀释并培养后,根据其未生长的最低稀释度与生长的最高稀释度,应用统计学概率论推算出待测样品中大肠菌群的最大可能数。

3.2 平板计数法

大肠菌群在固体培养基中发酵乳糖产酸,在指示剂的作用下形成可计数的红色或紫色,带有或不带有沉淀环的菌落。

2、修改“适用范围”：

1 范围

本标准规定了食品中大肠菌群（Coliforms）计数的方法。

本标准适用于食品中大肠菌群的计数。

2010
版

1 范围

本标准规定了食品中大肠菌群（Coliforms）计数的方法。

本标准第一法适用于大肠菌群含量较低的食品中大肠菌群的计数；第二法适用于大肠菌群含量较高的食品中大肠菌群的计数。

2016
版

3、修改“典型菌落形态描述”“平板菌落数的选择”：

2010
版

8.3 平板菌落数的选择

选取菌落数在 15 CFU~150 CFU 之间的平板，分别计数平板上出现的典型和可疑大肠菌群菌落。典型菌落为紫红色，菌落周围有红色的胆盐沉淀环，菌落直径为 0.5 mm 或更大。

2016
版

9.3 平板菌落数的选择

选取菌落数在 15 CFU~150 CFU 之间的平板，分别计数平板上出现的典型和可疑大肠菌群菌落（如菌落直径较典型菌落小）。典型菌落为紫红色，菌落周围有红色的胆盐沉淀环，菌落直径为 0.5 mm 或更大，最低稀释度平板低于 15 CFU 的记录具体菌落数。

4、修改“第二法证实试验”：

8.4 证实试验

2010
版

从 VRBA 平板上挑取 10 个不同类型的典型和可疑菌落，分别移种于 BGLB 肉汤管内， $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h~48 h，观察产气情况。凡 BGLB 肉汤管产气，即可报告为大肠菌群阳性。

9.4 证实试验

2016
版

从 VRBA 平板上挑取 10 个不同类型的典型和可疑菌落，少于 10 个菌落的挑取全部典型和可疑菌落。分别移种于 BGLB 肉汤管内， $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h~48 h，观察产气情况。凡 BGLB 肉汤管产气，即可报告为大肠菌群阳性。

5、修改“第二法平板计数的报告”：

2010
版

8.5 大肠菌群平板计数的报告

经最后证实为大肠菌群阳性的试管比例乘以8.3中计数的平板菌落数，再乘以稀释倍数，即为每g（mL）样品中大肠菌群数。例： 10^{-4} 样品稀释液1 mL，在VRBA平板上有100个典型和可疑菌落，挑取其中10个接种BGLB肉汤管，证实有6个阳性管，则该样品的大肠菌群数为： $100 \times 6 / 10 \times 10^4 / \text{g}(\text{mL}) = 6.0 \times 10^5 \text{ CFU/g}(\text{mL})$ 。

2016
版

9.5 大肠菌群平板计数的报告

经最后证实为大肠菌群阳性的试管比例乘以 9.3 中计数的平板菌落数，再乘以稀释倍数，即为每g（mL）样品中大肠菌群数。例： 10^{-4} 样品稀释液 1 mL，在 VRBA 平板上有 100 个典型和可疑菌落，挑取其中 10 个接种 BGLB 肉汤管，证实有 6 个阳性管，则该样品的大肠菌群数为： $100 \times 6 / 10 \times 10^4 / \text{g}(\text{mL}) = 6.0 \times 10^5 \text{ CFU/g}(\text{mL})$ 。若所有稀释度（包括液体样品原液）平板均无菌落生长，则以小于 1 乘以最低稀释倍数计算。

Thank you