



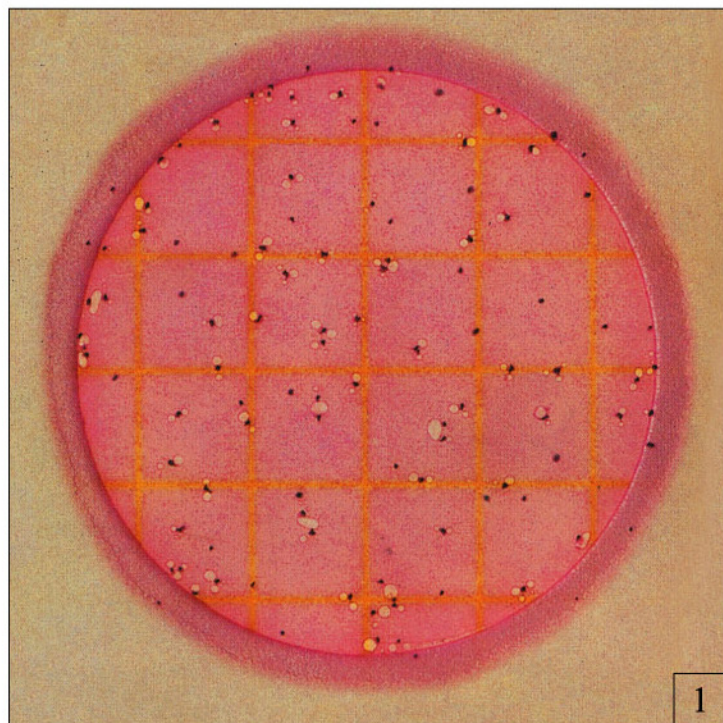
# Petrifilm™

## Coliform Count Plate

### 大肠菌群测试片

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

Petrifilm™大肠菌群 (Coliform Count, CC) 测试片含有改良的 VRB (Violet Red Bile) 培养基，冷水可溶性凝胶和四唑噻指示剂，可增强菌落计数效果。表面覆盖的薄膜可留住发酵乳糖的大肠菌群产生的气体。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™大肠菌群测试片上生长产酸，pH指示剂使培养基颜色变深，在红色菌落周围有气泡者，为大肠菌群。

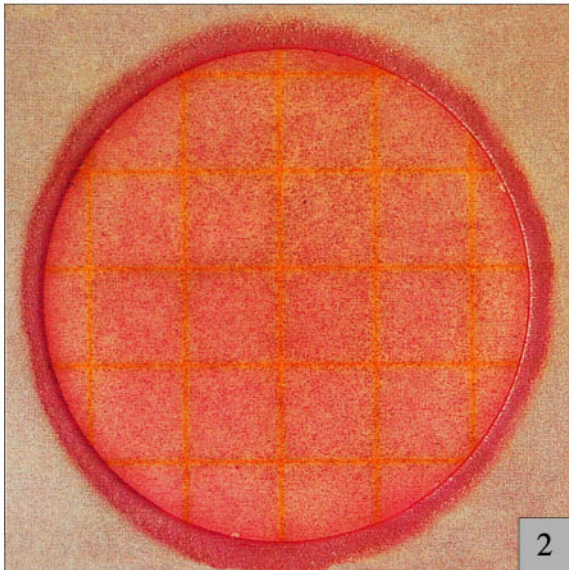


大肠菌群鉴定，在不同国家有所不同（见培养时间和温度部分提示）。

AOAC确认的方法：

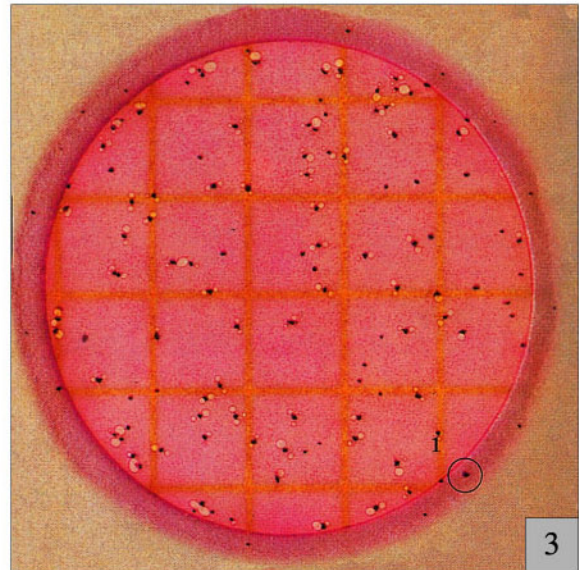
**大肠菌群数 = 69**（有气泡的菌落）

# 3M Petrifilm™ 大肠菌群测试片



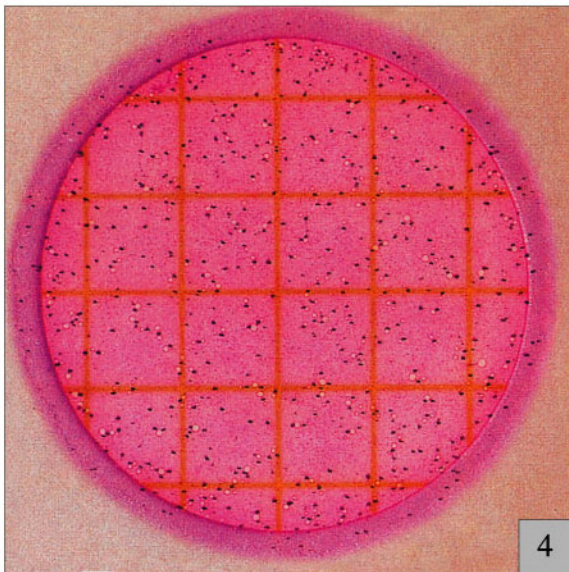
大肠菌群数 = 0

注意图2到图5培养基颜色的变化，随着大肠菌群菌数增多，培养基颜色变深。背景气泡为培养基现象，不是大肠菌群生长引起的。



大肠菌群数 = 79

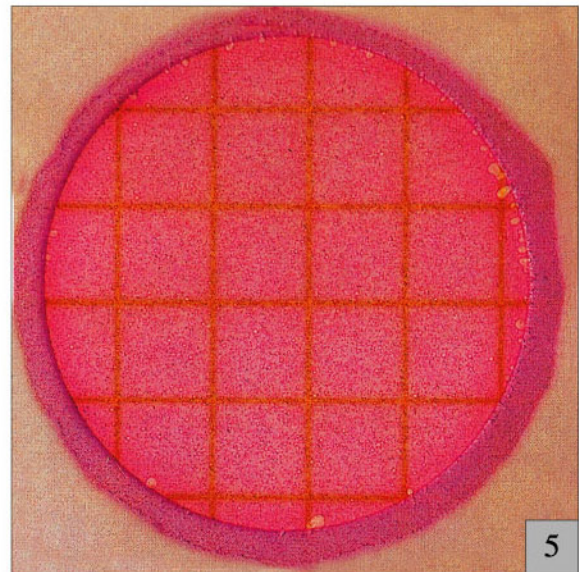
Petrifilm™ 大肠菌群测试片的合理计数范围是15-150，不要计算圆形培养基外的菌落，因为泡棉上已不含选择性培养基。见圆圈1



大肠菌群数估计值 = 220

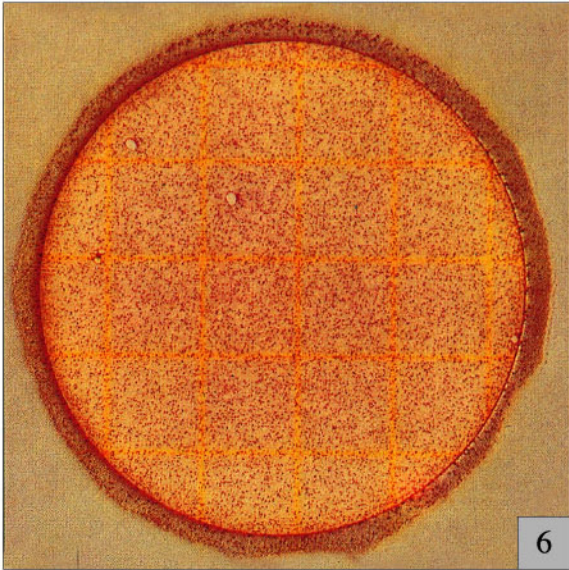
测试片面积约为 $20\text{cm}^2$ ，当菌落数超过150个，为了估计菌落数可选择其中一个或数个有代表性菌落的小方格（ $1\text{cm}^2$ ）计算平均菌落数，再乘以20方可得到整个测试片上的菌落数。

菌落太多时需进一步稀释样品，方能获得准确计数。



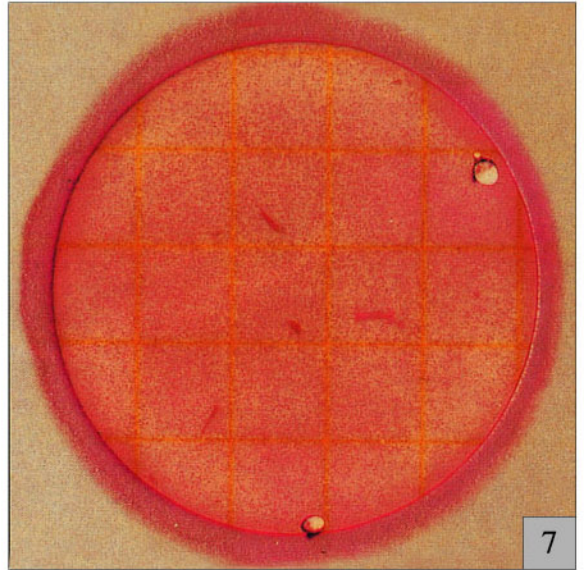
菌落数多不可计(TNTC)

Petrifilm™ 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）培养基的颜色变深暗。



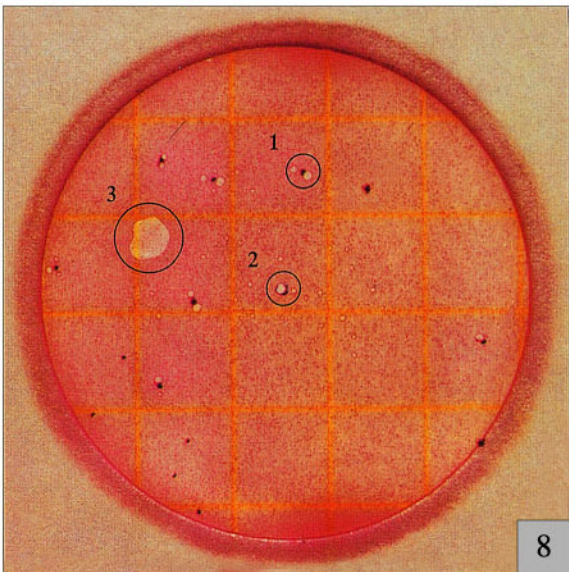
**实际大肠菌群数=4**

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



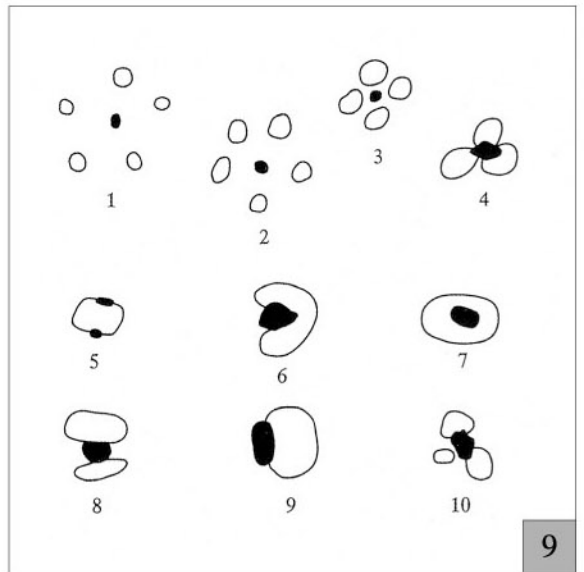
**大肠菌群数=2**

食物颗粒为不规则形状，且不带气泡。



**大肠菌群数=8**

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，人为的气泡可能是不当的操作所致，或是来自样品内的气体，它们成不规则形状，且不与菌落相连接。见圆圈3



图例，1-10为不同类型气泡与菌落的连接情况，所有菌落应计数。



## 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

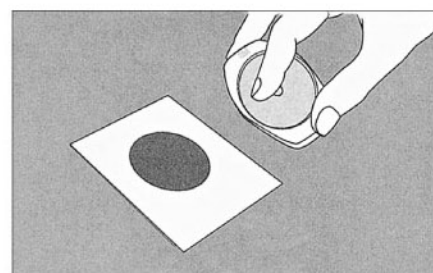
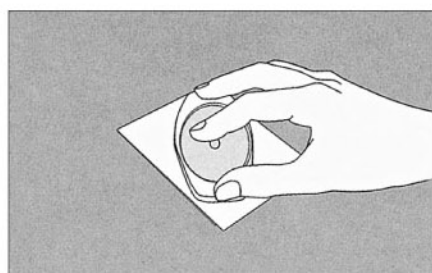
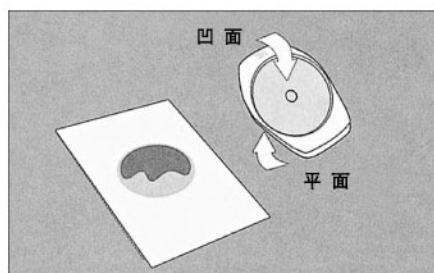
**郑州办事处**  
郑州市中原中路220号  
裕达国际贸易中心A座22层2205室  
邮编: 450007  
电话: 86-371-67939335  
传真: 86-371-67930388

**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>

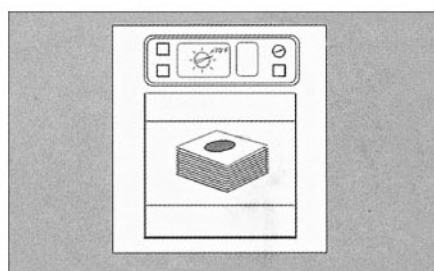


10 使用压板（平面底朝下）放置在上层膜中央处。

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。

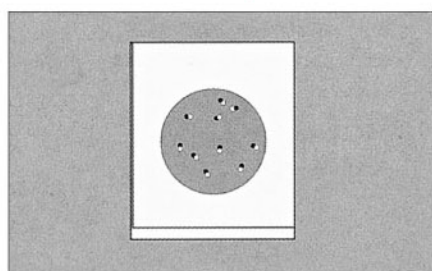
12 拿起压板，静置至少1分钟以使培养基凝固。

## 培养

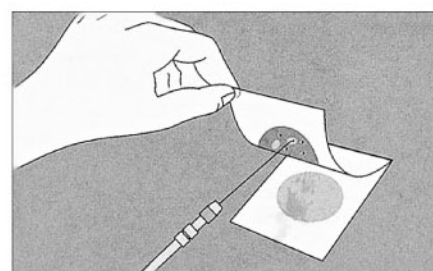


13 测试片的透明面朝上，可堆叠至20片。

## 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:

### 总大肠菌群

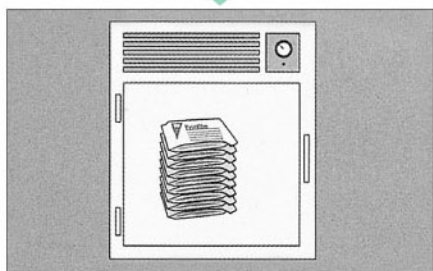
- AOAC官方方法986.33和989.10 (乳/生乳和其它乳制品)  
大肠菌群:  $32 \pm 1^\circ\text{C}$  培养  $24 \pm 2\text{h}$
- AOAC官方方法991.14(食品类)  
大肠菌群:  $35 \pm 1^\circ\text{C}$  培养  $24 \pm 2\text{h}$
- NMKL方法 (147.1993)  
大肠菌群:  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  培养  $24 \pm 2\text{h}$
- AFNOR认可方法3M01/2-09/89A (与ISO4832VRBL方法等效)  
AFNOR认可方法3M01/2-09/89B (与ISO4832MPN方法等效)  
大肠菌群:  $30 \pm 1^\circ\text{C}$  培养  $24 \pm 2\text{h}$

### 耐热的(粪)大肠菌群

- AFNOR认可方法3M 01/2—09/89C (所有食品)。  $44 \pm 1^\circ\text{C}$  培养  $24 + 2\text{h}$ 。当提高培养温度时,培养箱需要保持一定的湿度。

(详见产品包装袋内说明)

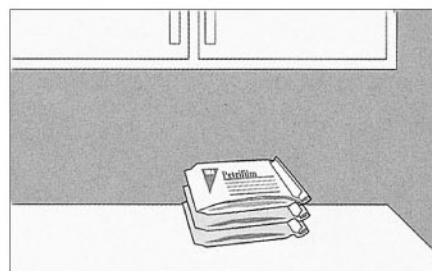
## 贮藏



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。

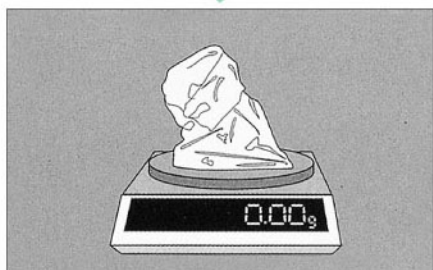


2 已开封的袋，将封口以胶带封紧。

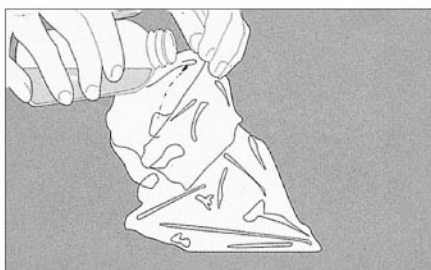


3 已启开的包装袋不要冷藏并于一个月内使用完。

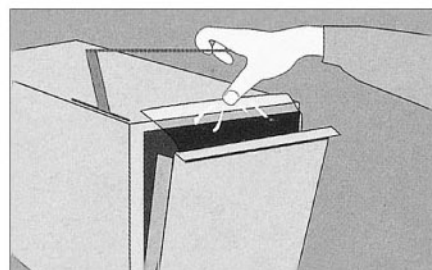
## 样品制备



4 制备食物样品稀释液，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或者其他灭菌容器内。



5 加入适量的无菌稀释液，包括 Butterfield's phosphate buffer (IDF phosphate buffer, 用 $0.0425\text{g/L}$ 的 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 调 $\text{pH}7.2$ )、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 letheen 肉汤或蒸馏水。

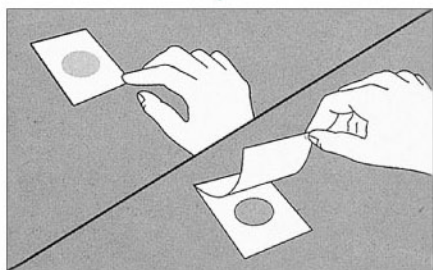


6 搅拌或均质样品

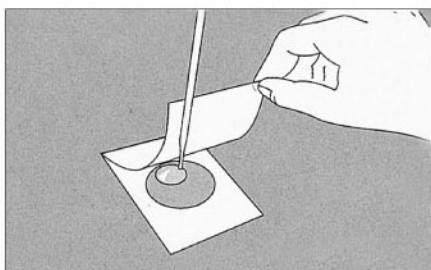
样品的稀释液调 $\text{pH}6.6-7.2$ 对酸性样品 $1\text{N}$  NaOH、碱性样用 $1\text{N}$  HCl调 $\text{pH}$ 。

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。

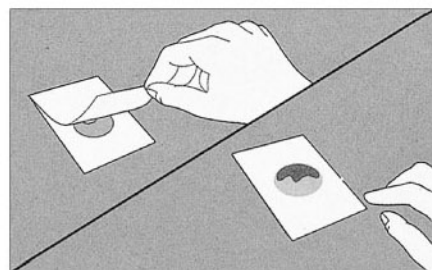
## 接种



7 将测试片置于平坦表面处，揭开上层膜。



8 使用吸管将 $1\text{ml}$ 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。