

## 细菌总数测试片

3M

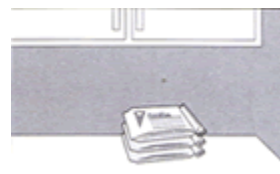


### 一、 测试细菌总数

#### 1、 操作方法

该手册能指导你熟练掌握 3MTM Petri film Aerobic Count Plates 的使用，

#### [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，高温时，凝固水可以排除，包装物最好于室温启开。
- 2、已开封的，将封口以胶带封紧。
- 3、保存再封的袋于 $\leq 25^{\circ}\text{C}$  ( $\leq 77^{\circ}\text{F}$ ) 和湿度 $< 50\%$ ，不要冷藏已开启的包装袋，并于一个月内使用完。

#### [样品制备]



- 4、制备 1: 10 和更大稀释的食物样品稀释液，称取或吸取食物样品，置入适宜的无菌容器内，如 WhirlPak bag 或者其他灭菌容器内。
- 5、加入适量的无菌稀释液，包括 Buffered peptone phosphate buffer (IDF 方法 6887)、0.0425g/L 的  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  调 PH 7.2)、0.1% 的蛋白胶水 (ISO 方法 6579)、缓冲蛋白胶水 (ISO 方法 6579)、盐溶液 (0.85-0.90%)、bi sulfite-free letheen broth 或蒸馏水。
- 6、搅拌或均质样品。

样品的稀释液调 PH 6.5 - 7.2

对酸性样品的稀释液用 1N NaOH

对碱性样品用 1N HCL 调 PH

不可使用含有枸橼酸盐、酸性亚硫酸盐或硫代硫酸盐的缓冲液。因为它们能抑止菌生长。

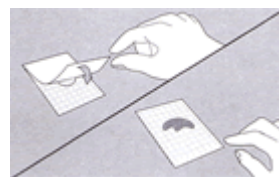
### [接种]



7、将测试片置于平坦表面

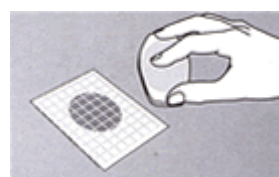


8、使用吸管将 1mL 样液垂直滴加在测试片的中央处，切勿向下滚动上层膜。



10、使用压板隆起面底朝下，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。

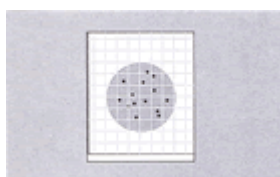


12、拿起压板，静置至少 1 分钟以使培养基凝固。

### [培养]



13、测试片的透明面朝上，可堆叠至 20 片，湿度养箱能保持最少份损失是需要的。

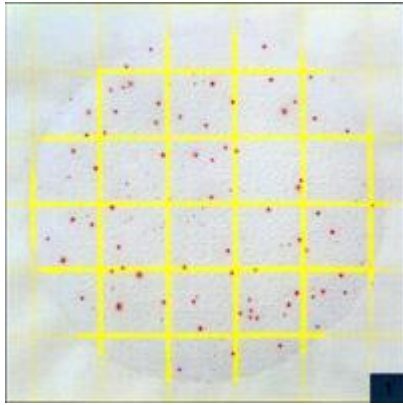


14、可目视及用标准菌落计数器或其它的照明放大镜检查计数，并可参考判读卡计算菌落数。



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。

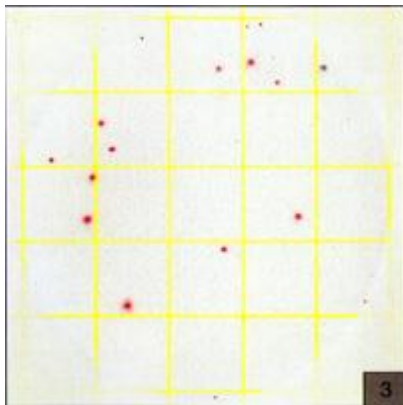
## 2、判读手册



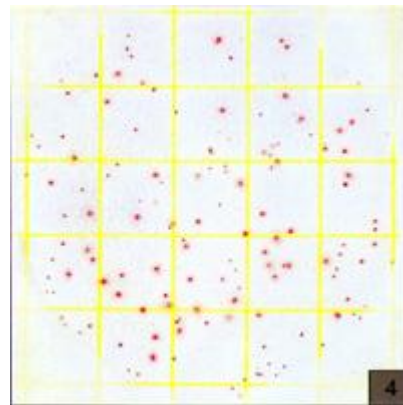
Aerobic bacteria count=152  
测试片中含有一种红色指示染剂可使菌落着色, 计算所有红色菌落(不论其大小和颜色深浅均计算之).



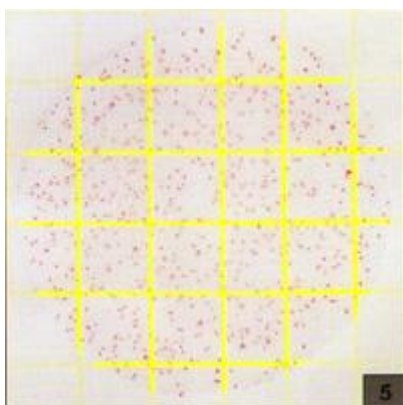
Count=0  
在 petri film AC 测试片上, 很容易解释, 图2测试片上没有任何菌落生长.



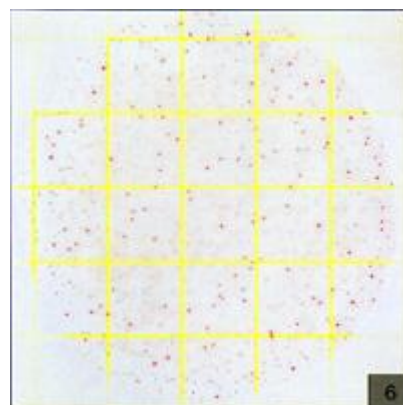
Count=16  
图3示有不多的菌落.



Count=143  
Petri film AC 测试片菌落数适宜计数范围是 25-250, 见图4



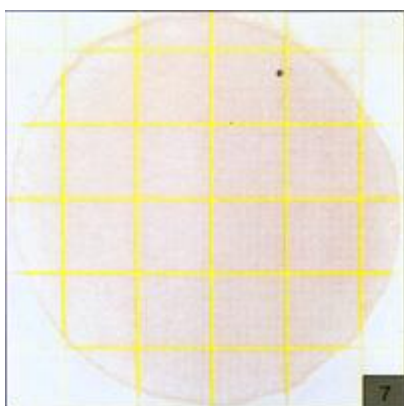
Count=560



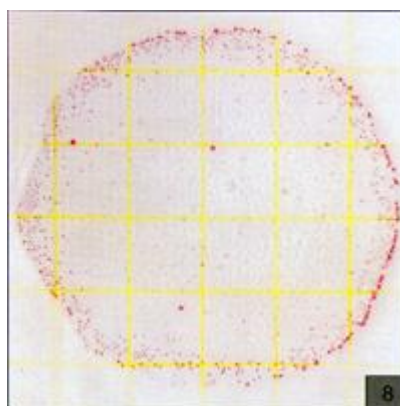
Count=tntc(estimated count=103)

测试片面积约为 20cm<sup>2</sup>, 当菌落数超过 250 个, 如图 5 所示, 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(1cm<sup>2</sup>), 计算平均菌落数, 再乘以 20 可得到整个测试片上的菌落数.

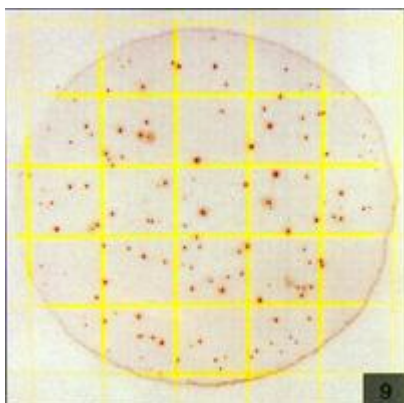
图 6 所示 petri film AC 测试片上菌落太多而无法计数(tntc)



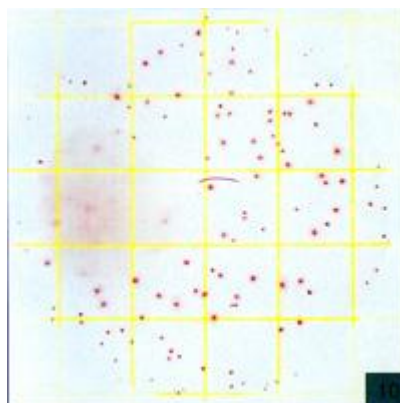
count=tntc(Estimated count=105)  
有很多高数量菌落, 使整个生长区变粉色, 如图 7 所示, 你仅可在生长区边缘观察到单个菌落, 应记录为菌落太多无法计数(TNTC)



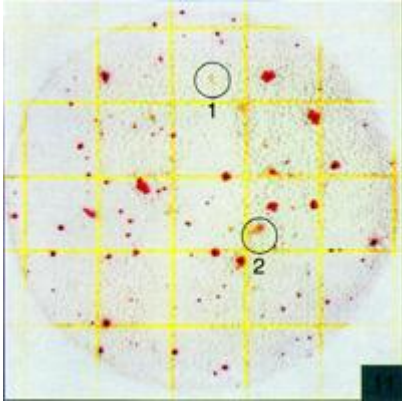
count=tntc(Estimated count=103)  
有时菌落分布出现不均衡, 如图 8 所示, 这也记录为 TNTC.



Count=tntc(Estimated count=107)  
在图 9 中 petri film AC 测试片上的菌落, 最先粗略一看是可计数的, 然而, 你密切注意到生长区边缘, 能看到高密度的菌落, 应记录为 TNTC



Estimated count=160  
极少数菌种会液化 petri film AC 测试片上的培养基, 如图 10 所示. 若有这种现象发生, 可选择没有液化区的几个有代表性菌落的小方格(1cm<sup>2</sup>), 计算平均菌落数. 不要计数液化区内的红点.



Count=83

因为在 petri film AC 测试片上菌落是红色的,你会和不透明的不规则形状的事物颗粒区分开,见圆圈 1 和 2.

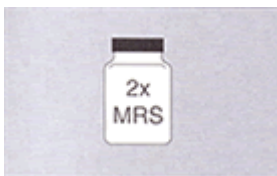
## 二、 测试乳酸菌

### 1、操作方法

该手册能指导你熟练掌握 3MTM PAC 的测试片用于乳酸菌的检测, 使用,

#### 2\*MRS 的操作步骤

##### [样品准备]



1、按说明书要求的 2 倍 2、用标准稀释液制备 1: 3、用 1mL 3M 电子加样器  
 用量制备 2×MRS 肉汤。10 样品稀释液, 该样品 将 1:10 样品稀释液做 1:  
 例如: 如果说明书要求 稀释液可用于检测其他 2 稀释。先取 0.5mL 肉  
 1L 水中加入 55gMRS, 则 微生物。

2×MRS 则为 1L 水中加入  
 110gMRS.

2×MRS 肉汤, 然后再吸  
 取 0.5mL 1: 10 样品稀  
 释液, 混匀后即可获得含单  
 倍 MRS 的 1: 20 样品稀  
 释液。

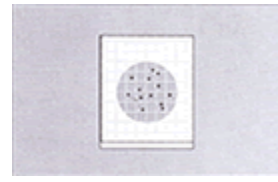
### [接种]



### [培养]



### [判读]



4、接种：在 PAC 检测片上接种 1mL 1: 20 样品稀释液。将检测片透明膜一面在标准菌落计数器或其稀释液（0.5mL 1: 10 标准朝上放入厌氧罐中，叠放他放大光源下计数。测试稀释液+0.5mL 2×MRS 肉汤数量不得超过 20 片。如片赏的菌落数×稀释倍汤=1: 20 含单倍 MRS 的果检测片超过 20 片，可数（20）即为每毫升样品样品稀释液）。

在同一罐中用一个坚硬中酸乳菌数。详见[判读手册](#)。

培养。将厌氧罐放入 30℃~35℃（86℃~95°F）培养箱中培养 48+3h。

该手册能指导你熟练掌握 3MTM PAC 的测试片用于乳酸菌的检测，使用，你可就近与 3M 微生物产品代理接洽会得到更多的信息。

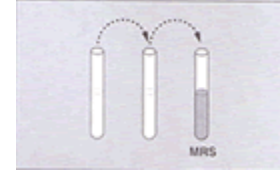
#### 4\*MRS 肉汤的操作程序

- 1、按说明书要求的 4 倍用量制备 4\*MRS 肉汤
- 2、用标准稀释液制备 1: 10 样品稀释液（11g/99mL 或 25g/225mL）。取 8mL 供其它种类的微生物检测用。
- 3、将 4\*MRS 肉汤加入 1: 10 标准样品稀释液中，将获得含 0.5 MRS 的样品稀释液。
  - \* 如果稀释液中含有 11g 样品、99mL 标准稀释液，接种其它微生物测试片后，再加入 18mL 4\*MRS 肉汤。  
PAC 测试片上生长的菌落数乘以 11 即为最终结果（个/g）。
  - \* 如果稀释液中含有 25g 样品、255mL 标准稀释液，接种其它微生物检测片后，再加入 41mL 4\*MRS 肉汤。  
PAC 测试片上生长的菌落数乘以 11 即为最终结果（个/g）。

该手册能指导你熟练掌握 3MTM PAC 的测试片用于乳酸菌的检测，使用，

## 乳酸菌检测方法

### [样品准备]



1、制备至少 1: 10 或更高稀释度的样品稀释液。称量食品样品于 Wi rPak 取样袋、均质袋、稀释瓶或其它适合的消容器中。

2、加入适当的肉汤稀释液，稀释液的配置方法根据说明书制备。如果使用一种 1: 10 稀释液检测多种微生物，3M 公司提供了更为简便的多种菌检测程序（见前页）。

3、如果需要进行多倍稀释，肉汤稀释液只能用于最终稀释步骤。初始稀释可使用标准稀释液，包括磷酸盐缓冲液（ID F 磷酸盐缓冲液，0.0425g/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> Ph7.2）、0.1% 蛋白胶水，蛋白胶盐稀释液（ISO 方法 6887）、蛋白胶水缓冲液（ISO 方法 6579）、生理盐水（0.85~0.90%），不含亚硫酸氢盐的 Letheen 肉汤或蒸馏水，每步稀释都应充分混匀。

### [接种]



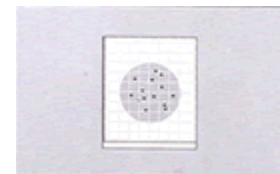
4、接种：按操作说明接种 1.0mL 样品稀释液于 Petri film.

### [培养]



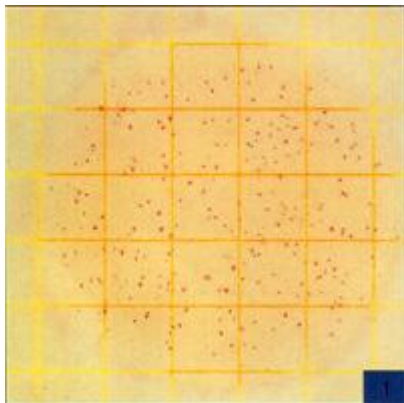
5、培养：厌氧培养测试片。将测试片透明面朝上放入 GASPak 厌氧罐中，叠放数量不得超过 20 片。如果检测片超过 20 片，可在同一罐中用一个坚硬的分隔器将检测片分开培养。将厌氧罐放入 30℃~35℃（86°F~95°F）培养箱中培养 48+3h.

### [判读]



6、判读：Petri film: PAC 测试片可在标准菌落计数器或其他放大光源下计数。测试片赏的菌落数乘以稀释倍数，可获得每毫升样品中酸乳菌落数。详见判读手册。

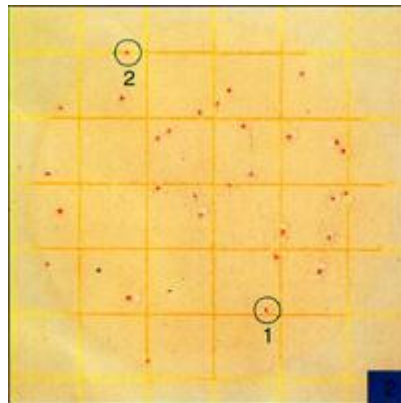
## 2、判读手册



Count=238

使用 PAC 测试片,用 MRS 肉汤稀释样品和厌氧,可促进同型发酵的乳酸菌生长.

图 1 为同型发酵的乳酸菌落(不带气泡)的例子.



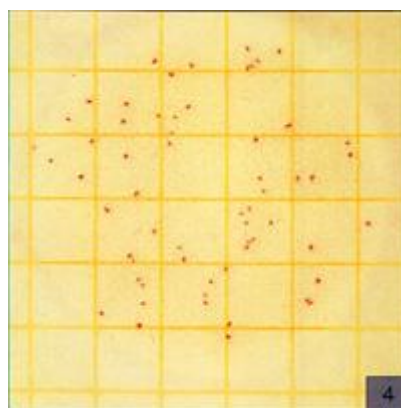
Count=30

测试片中有产型发酵的乳酸菌(产气)和同型发酵的乳酸菌.用 MRS 肉汤稀释,使异型发酵的乳酸菌在暗影背景下有明显气泡产生(见黑圈 1)生长区边缘的异型发酵乳酸菌菌落大约在 1/4 英寸时,可能不产生可视的气泡(见黑圈 2).



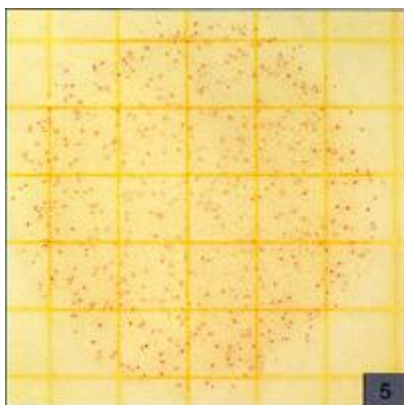
Count=0

图 3 是用 MRS 肉汤为稀释液接种 PAC 测试片作为对照,以 MRS 为稀释液及厌氧培养将在测试片上产生一个稍显暗色的浅色圆形生长区域.



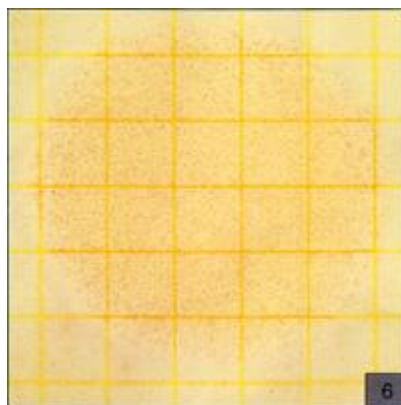
Count=60

测试片最适宜计数范围是 25-250 个菌落,计数所有菌落,不管其大小和颜色深浅.



Estimated count=440

测试片面积约为 20cm<sup>2</sup> .当菌落数超过 250 个(如图 5 所示)时,可估算菌落数.选择其中一个或数个有代表性菌落的小方格(1cm<sup>2</sup>),计算平均菌落数,在乘以 20 可得到测试片上的菌落总数.



Count=TNTC(Estimated count=106)

当菌落数多不可计(tntc)时,整个生长区可能变为粉红色,如图 6 所示.将测试片与以 MRS 肉汤作对照的测试片做比较,因为测试片的颜色变化是微小的(见图 3),此种情况下样品需作进一步稀释.



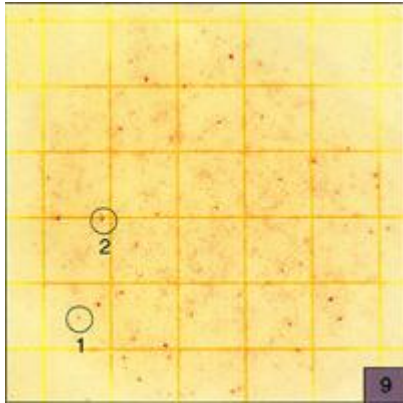
Count=TNTC(Estimated count=106)

仔细观察,在测试片生长区中心和边缘处可见针尖大小的菌落,记录为 TNTC 结果.



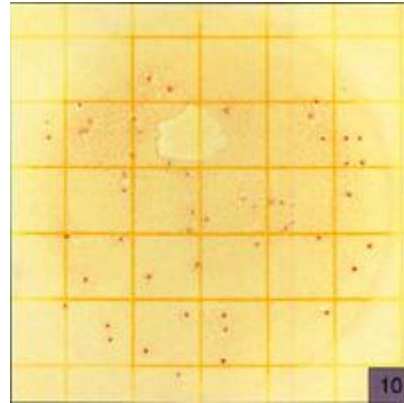
Conut=TNTC(Estimated count=108)

当菌落数很多时,许多针尖大小的菌落会环绕在生长区边缘,记录为 TNTC.



Count=TNTC

图9是TNTC的又一个例子.同型发酵乳酸菌菌落(无气泡产生)(黑圈1)与异型发酵乳酸菌菌落(有气泡产生)(黑圈2)同时出现.



Count=52

人为的气泡可能是不适当的接种所致,他们形状不规则,且不与菌落相连接.