

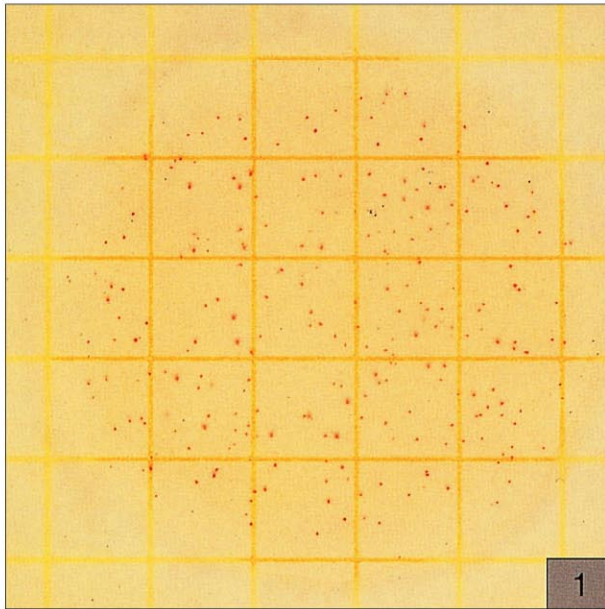
3M

Petrifilm™

Aerobic Count Plate Use For Growing Lactic Acid Bacteria

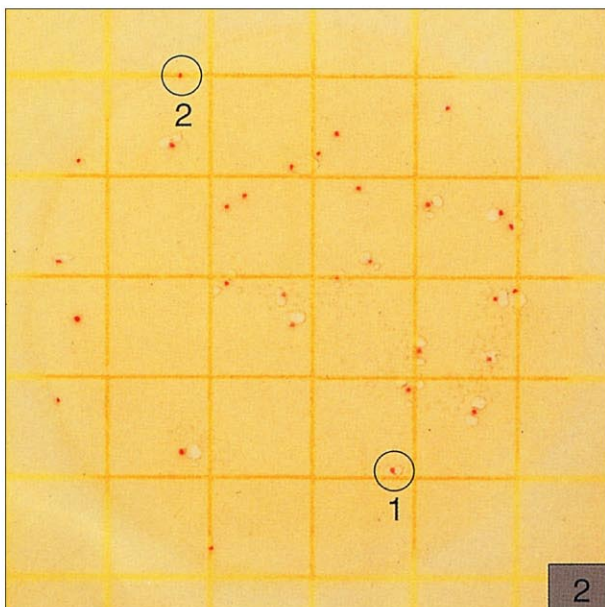
细菌总数测试片（用于乳酸菌检测）

该手册能指导你熟练掌握3M Petrifilm™细菌总数测试片用于乳酸菌的检测，你可与3M微生物产品代表接洽以获得更多的信息。

**乳酸菌数 = 238**

使用Petrifilm™的细菌总数测试片，用MRS肉汤稀释样品和厌氧培养，可促进同型或异型发酵的乳酸菌生长。

图1 为同型发酵的乳酸菌菌落（不产气）的例子。

**乳酸菌数 = 30**

测试片中有异型发酵的乳酸菌(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）。

异型发酵乳酸菌菌落在距离圆形边缘约6.4毫米的范围内，可能不产生可视的气泡（见黑圈2）。

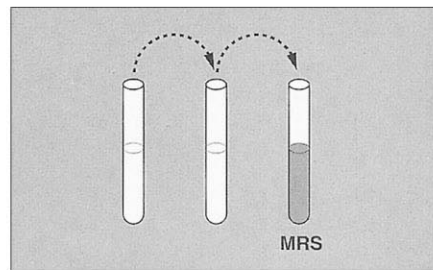
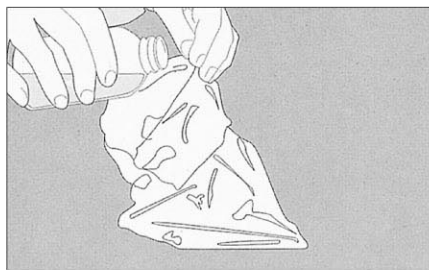
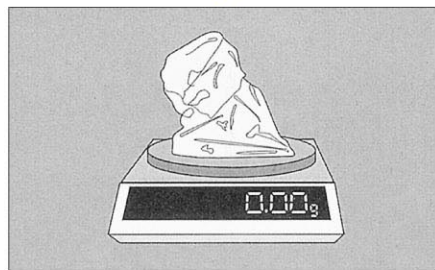
3M Petrifilm™ 细菌总数测试片（用于乳酸菌检测）

详细信息请参见产品包装内说明

3M Petrifilm™ 细菌总数测试片可用于食品中的乳酸菌计数。

- * Petrifilm™ 测试片独特的结构使辨别异型发酵（产气）与同型发酵（不产气）的乳酸菌成为可能。
- * Petrifilm™ 细菌总数测试片对MRS肉汤的使用并结合厌氧培养，能促进乳酸杆菌及其他乳酸菌在高酸 / 高糖、生食及加工的产品，如胡椒、番茄制品、沙拉调料、沾酱以及加工过的肉制品中的生长。

样品制备



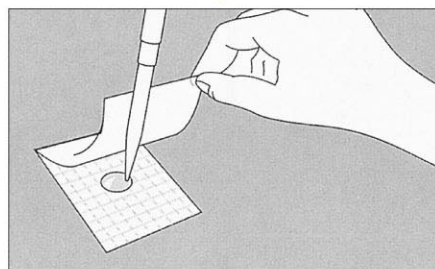
1 制备至少1:10或更高稀释度的样品稀释液。称量食品样品于Whirl-Pak® 取样袋、均质袋、稀释瓶或其他适合的消毒容器中。

2 加入适量的MRS肉汤稀释液，稀释液的配制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）。

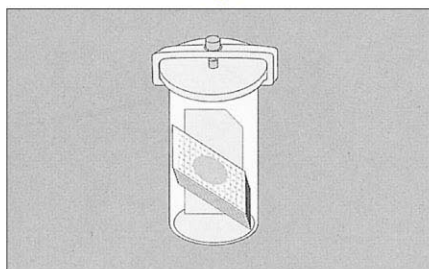
3 如果需要进行多倍稀释，MRS肉汤稀释液只能用于最终稀释步骤。初始稀释可使用标准稀释液，包括磷酸盐缓冲液（IDF磷酸盐缓冲液，0.0425g/L KH_2PO_4 pH7.2）、0.1%蛋白胨水、蛋白胨盐稀释液（ISO方法6887）、蛋白胨水缓冲液（ISO方法6579）、盐溶液（0.85~0.90%），不含硫酸氢盐的letheen肉汤或蒸馏水，每步稀释都应充分混匀。

不要使用含有柠檬酸盐，硫酸氢盐或硫代硫酸盐的缓冲液，因为它们会抑制细菌的生长。

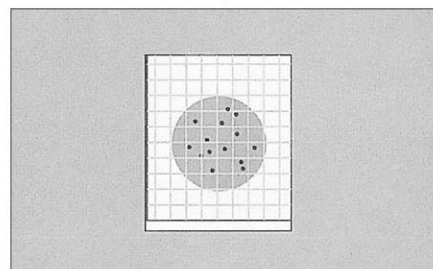
接种



培养



判读

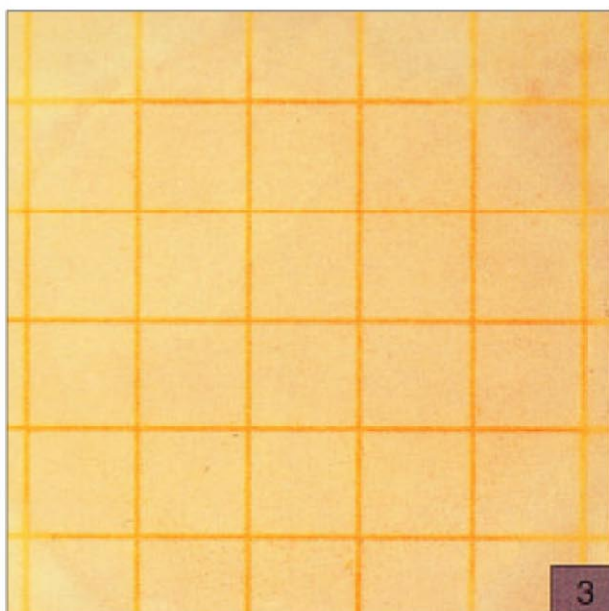


4 接种：按操作说明接种1.0mL样品稀释液于Petrifilm™ 细菌总数测试片上。

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，叠放数量不超过20片。如果测试片数量超过20片，可在同一罐中用一个坚硬的分隔物分开培养。将厌氧罐放入30°~35°C（86°~95°F）培养箱中培养48 ± 3h。

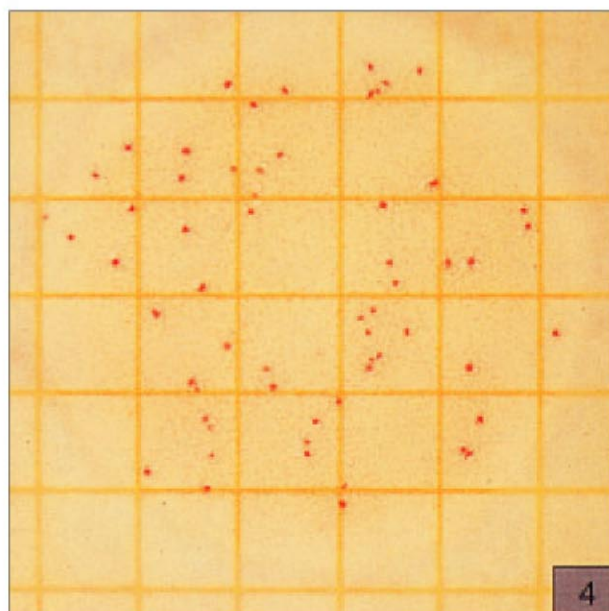
6 判读：Petrifilm™ 测试片可在标准菌落计数器或其他放大光源下计数。记录测试片上所有菌落数乘以稀释倍数，可获得每毫升样品中菌落数。参见判读手册。

3M Petrifilm™ 细菌总数测试片（用于乳酸菌的检测）



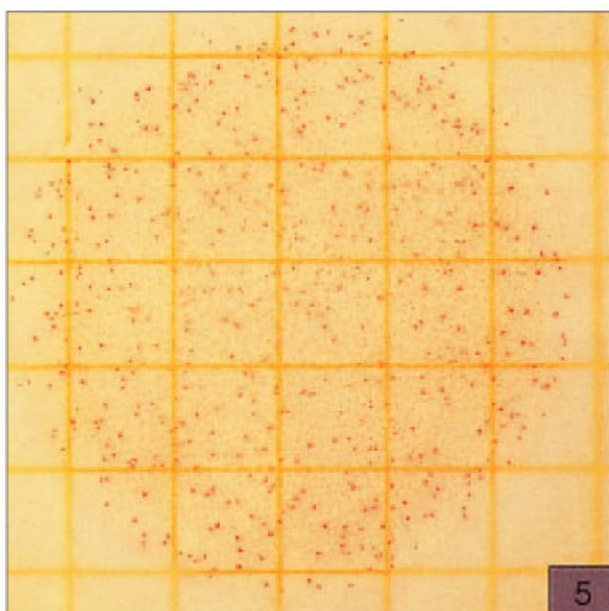
乳酸菌数 = 0

图3是用MRS肉汤为稀释液接种Petrifilm™细菌总数测试片作为对照，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。



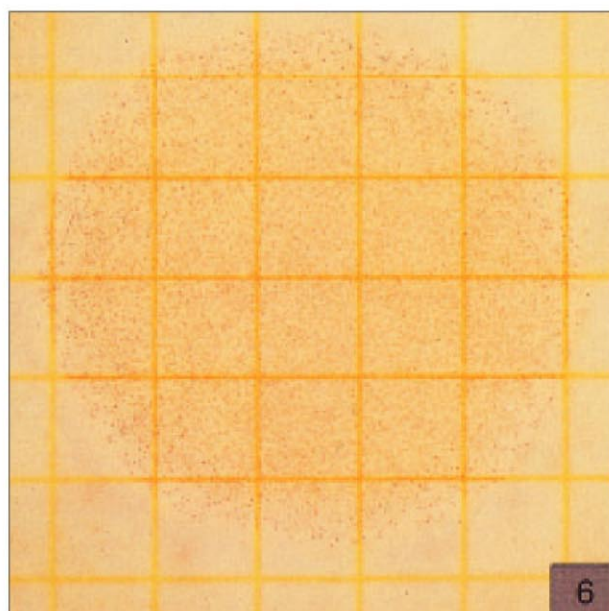
乳酸菌数 = 60

测试片的合理计数范围是25-250个菌落, 计数所有菌落, 不管其大小和颜色深浅。



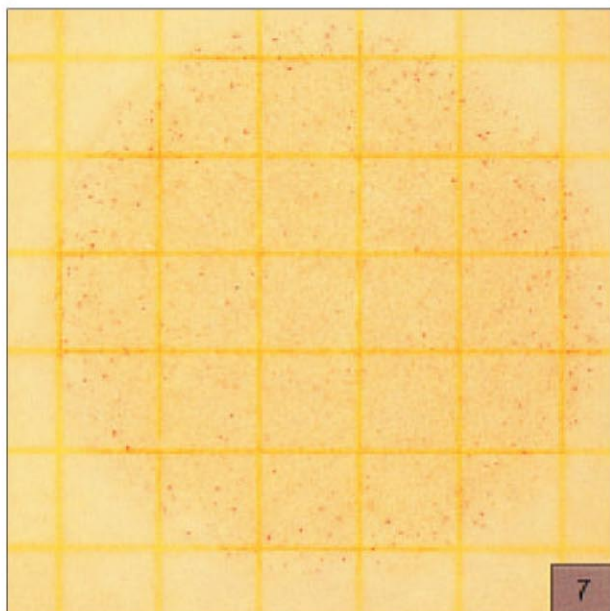
乳酸菌落估计值 = 440

测试片面积约为 20cm^2 。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^2), 计算平均菌落数, 再乘以20可得到测试片上的菌落总数。

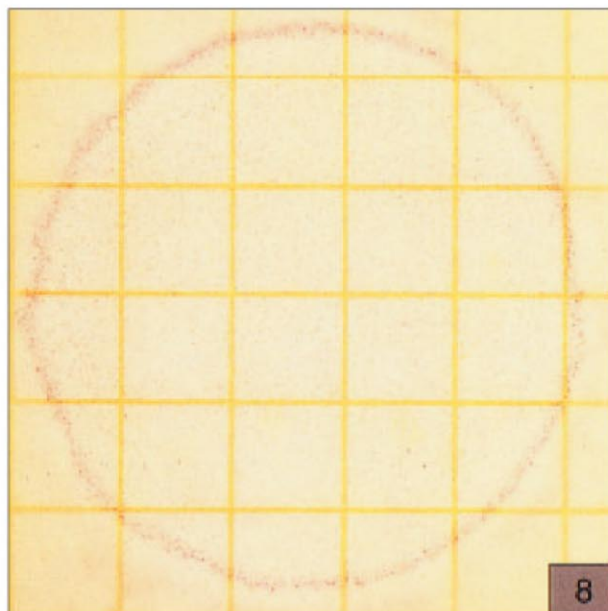


乳酸菌数 = 多不可计(TNTC) (乳酸菌数估计值 = 10^6)

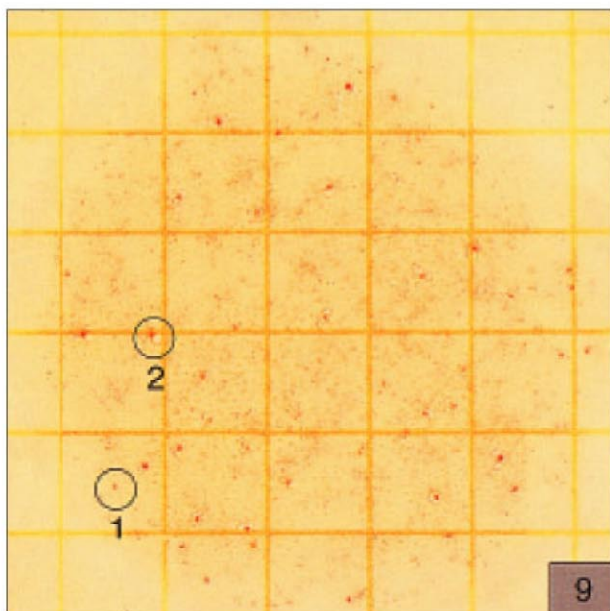
当菌落数多不可计(TNTC)时, 整个生长区可能变为粉红色, 如图6所示。将测试片与以MRS肉汤作对照的测试片做比较, 因为测试片的颜色变化是微小的(见图3), 此情况下样品需作进一步稀释。



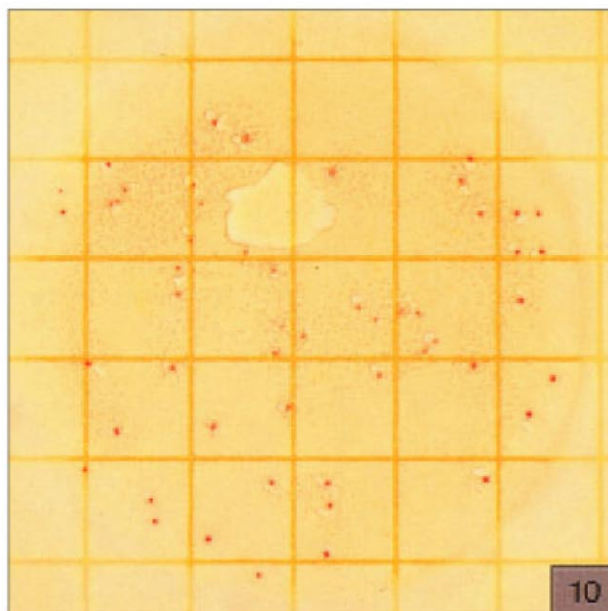
乳酸菌数 = 多不可计(TNTC) (乳酸菌数估计值 = 10^6)
 仔细观察, 在测试片生长区中心和边缘处可见针尖大小的细菌, 记录为TNTC结果。



乳酸菌数 = 多不可计(TNTC) (乳酸菌数估计值 = 10^8)
 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, 记录为多不可计(TNTC)。



乳酸菌数 = 多不可计(TNTC)
 图9 是多不可计 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。



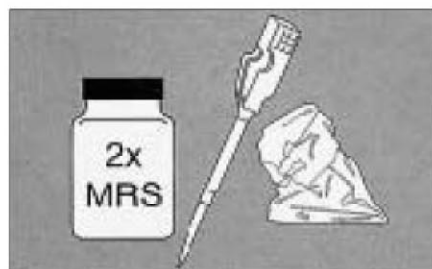
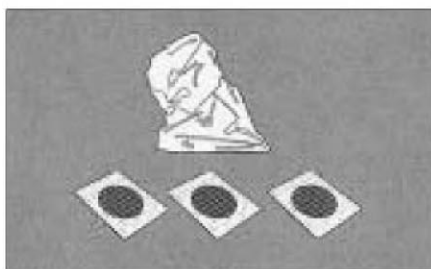
乳酸菌数 = 52
 人为的气泡可能是不适当的接种所致, 它们形状不规则, 且不与菌落相连接。

多重检测程序

可以直接使用现成的1:10样品稀释液，而无需专门为乳酸菌检测制备1:10的样品稀释液，这样使操作更为简便。

两倍浓度(2X) MRS的操作步骤

样品准备



- 1 按说明书要求的2倍用量制备2X MRS肉汤。例如：如果说明书要求1L水加入55g MRS，则2X MRS则为1L水中加入110g MRS。
- 2 用标准稀释液制备1:10样品稀释液，该样品稀释液可用于检测其它微生物。
- 3 用1mL 3M电子移液枪将1:10样品稀释液做1:2稀释。先取0.5mL 2X 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浓度MRS的1:20样品稀释液。

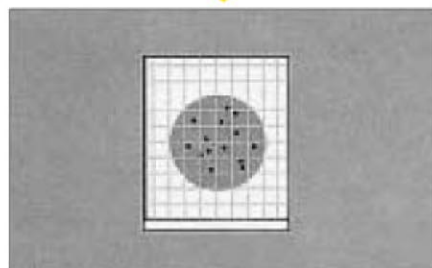
接种



培养



判读



- 4 接种：在Petrifilm™ 细菌总数测试片上接种1mL 1:20样品稀释液(0.5mL 1:10标准稀释液+0.5mL 2X MRS肉汤=1:20含单倍浓度MRS的样品稀释液)。
- 5 培养：厌氧培养Petrifilm™ 细菌总数测试片。将测试片透明膜一面朝上放入GasPak厌氧罐中，叠放数量不超过20片。如果测试片超过20片，可在同一罐中用一个坚硬的分隔物将测试片分开培养。将厌氧罐放入30~35°C (86°~95°F) 培养箱中培养48±3h。
- 6 判读：Petrifilm™ 细菌总数测试片可在标准菌落计数器或其他放大光源下计数。测试片上的菌落数乘以稀释倍数(20)即为每毫升样品中乳酸菌数。详见判读手册。

四倍浓度(4X) MRS肉汤操作程序

1. 按说明书要求的4倍用量制备4X MRS肉汤
2. 用标准稀释液制备1:10样品稀释液(11g/99mL或25g/225mL)。最多取8mL供其他种类的微生物检测用。
3. 将4X MRS肉汤加入1:10标准样品稀释液中，将获得含1/2浓度MRS的样品稀释液。
 - * 如果稀释液中含有11g样品、99mL标准稀释液，接种其他微生物检测片后，再加入18mL 4X MRS肉汤。Petrifilm™ 细菌总数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、225mL标准稀释液，接种其他微生物检测片后，再加入41mL 4X MRS肉汤。Petrifilm™ 细菌总数测试片上生长的菌落数乘以11即为最终结果(个/g)。

产气菌与非产气菌的区别

比较 3M Petrifilm™ 测试片和 MRS 琼脂在检测 161 种天然污染的食品中乳酸菌的复苏情况，3M Petrifilm™ 测试片较 MRS 法在鉴定专性厌氧或兼性厌氧的产气异型发酵乳酸菌方面更为灵敏。下表列出的是乳酸菌产气情况的一些事例。

菌名	产气	
	Pertifilm™ 测试片 (48小时)	MRS管 ^a (2-7天)
专性厌氧异型发酵乳酸菌： (产气)		
<i>Lactobacillus fermentum</i> (2株)	+	+
<i>Lactobacillus buchneri</i>	+	+
<i>Lactobacillus brevis</i>	+	+
兼性厌氧异型发酵乳酸菌： (可能产气)		
<i>Lactobacillus plantarum</i> (10株)	+	+/- ^b
<i>Lactobacillus casei</i> (2株)	+	-
<i>Lactobacillus curvatus</i> (3株)	+	-
专性厌氧同型发酵乳酸菌： (不产气)		
<i>Lactobacillus delbrueckii subsp.delbrueckii</i>	-	-
<i>Lactobacillus delbrueckii subsp.Lactis</i>	-	-
<i>Lactobacillus amylovorus</i>	-	-
<i>Lactobacillus animalis</i>	-	-
<i>Lactobacillus farciminis</i>	-	-
<i>Lactobacillus helveticus</i>	-	-

a. MRS是检测食品中乳酸菌的常用培养基

b. 十分之八为阴性



3M 中国有限公司

欢迎访问

英文网址：<http://www.mmm.com/microbiology>

中文网址：<http://www.mmm.com/intl/cn/medical/medical/petrfilm/product-csp.htm>

<http://www.yiqibank.com>