

分析监测

# 固定底物技术酶底物法检测上海地表水中肠球菌

陆志惠, 韩敏奇, 蒋增辉, 曹霞霓  
(上海市供水调度监测中心, 上海 200002)

**摘要:** 将固定底物技术酶底物法应用于检测地表水中肠球菌的含量, 并对上海7个样点的地表水进行检测。结果表明, 黄浦江水从上游至下游5个样点肠球菌平均含量分别为66.4, 166.2, 302.6, 436.5和3899.0 MPN/100 mL, 长江水2个样点为12.0和4.1 MPN/100 mL, 黄浦江水肠球菌含量远高于长江水, 所得结果均符合要求, 能够用于地表水的检测。

**关键词:** 固定底物技术; 酶底物法; 肠球菌

中图分类号: O657 文献标志码: C 文章编号: 1673-9353(2015)04-0053-03

doi: 10.3969/j.issn.1673-9353.2015.04.012

在细菌学分类上, 肠球菌(*Enterococcus*) 属原归属于链球菌属。1989年, 依据 Facklam 和 Collins 的分类, 划分出肠球菌, 该属共有12个种和1个变异株, 包括寄生于人类、牛及其他动物的粪肠球菌以及寄生于人类、牛及其他动物、家禽和猪中的屎肠球菌等。

肠球菌通常寄生于各种温血和冷血动物的腔肠, 也是健康人体的上呼吸道、口腔或肠道的常居菌, 其在宿主组织寄生, 导致宿主非特异及免疫防御机制紊乱, 并引起病理改变, 能导致感染, 可以引起宿主心内膜炎、胆囊炎、脑膜炎、尿路感染及伤口感染等多种疾病<sup>[1]</sup>。此属细菌极易污染食品以及生活和加工用水, 易传播疾病。此外, 肠球菌具有天然耐药和获得性耐药的特征, 故会使所致感染治疗困难<sup>[2-5]</sup>。因此, 肠球菌成为食品、水质、加工设备卫生和生产环境卫生状况的评估指标。

肠球菌可用作粪便污染的指示。多数菌种不能在水中繁殖, 而人粪便中的肠球菌数量比大肠菌群低一个数量级。该菌群的重要特点是在水中存活的时间比大肠杆菌(或耐热大肠杆菌)长, 对干燥和氯的抵抗力更强。肠球菌已被用于检测原水中存活时间比大肠杆菌长的粪源致病菌以及饮用水中对大肠杆菌的增强检测。此外, 它们还用于输配水系统维修后或新管线铺设后的水质检测<sup>[6]</sup>。现已将其列

入《生活饮用水卫生标准》(GB 5749—2006) 附录A中, 作为补充指标。在附录A中也给定了肠球菌的生活饮用水水质参考指标及限值要求。

卫生学家认为, 肠球菌对恶劣的外环境和冷冻条件具有较强的抵抗力, 因此将其作为监测水质、环境卫生质量的污染指标更具有卫生学意义。鉴于肠球菌对人体的危害程度, 加强原水中肠球菌的检测有一定的意义, 甚至在今后条件允许的情况下, 在水厂出厂水以及管网水的检测中增加对肠球菌的监测, 能进一步保障城市居民用水的安全性。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 仪器

封口机; 恒温培养箱:  $(41 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ ; 紫外光灯: 6 W, 365 nm; 无菌取样瓶: 100 mL。

#### 1.1.2 培养基及耗材

培养基 Enterolert<sup>TM</sup> 测试包; 检测耗材 97 孔定量盘套装。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 方法原理

肠球菌固定底物技术酶底物法 (Defined Substrate Technology, DST) 是指在选择性培养基上能产生 $\beta$ -葡萄糖苷酶 ( $\beta$ -glucosidase) 的革兰氏

阳性菌,该菌群能分解荧光底物β-D-配糖物(β-D-glucoside),释放出荧光产物4-甲基-伞形酮(4-methyl-umbelliferone),使菌落能够在紫外光条件下产生特征性荧光。

1.2.2 样品的采集及处理

检测水样来自黄浦江的5个地表水水样(从上游至下游分别编号为H1、H2、H3、H4和H5),以及长江的2个地表水水样(分别编号为C1和C2)。采样频率为每月1次,连续3个月。

1.2.3 试验步骤

- ① 将100 mL水样倒入无菌取样瓶中。
- ② 将一份Enterolert™测试包试剂倒入装有100 mL水样的无菌取样瓶中。盖上盖子,摇匀,至完全溶解。
- ③ 将瓶内的水样全部倒入97孔定量盘中,使用定量封口机进行封口。
- ④ 将封口完毕的定量盘放在(41 ± 0.5) °C培养箱中,培养24 h。
- ⑤ 培养24 h后,取出定量盘,在暗室中使用6 W、365 nm的紫外灯在距样品15 cm的位置处观

测其是否显示蓝色荧光。结果显示为蓝色荧光的为肠球菌阳性,无荧光的则为肠球菌阴性。根据计数的阳性格子数对照MPN表得到定量检测结果。

2 结果和分析

2.1 准确度计算及检测方法质量控制

通过购买肠球菌质控标样,采用上述方法进行检测,结果如表1所示。

表1 质控标样检测结果

项目	MPN · 10 <sup>-2</sup> mL <sup>-1</sup>		
	肠球菌 (阳性标样)	大肠杆菌 (阴性标样)	牛链球菌 (阴性标样)
平行1	59.4	0	0
平行2	45.5	0	0
平均值	52.5	0	0

质控标样证书给出的真值为56 MPN/100 mL,置信区间为23~85 MPN/100 mL。所得检测结果的平均值在置信区间范围内,符合要求,并且与真值的相对偏差为6.67%,在可接受范围内。

2.2 精密度和不确定度计算

抽选H1水样,对其进行10组平行样检测,结果如表2所示。

表2 H1水样平行样检测结果

项目	肠球菌/(MPN · 10 <sup>-2</sup> mL <sup>-1</sup> )										平均值
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>	X <sub>5</sub>	X <sub>6</sub>	X <sub>7</sub>	X <sub>8</sub>	X <sub>9</sub>	X <sub>10</sub>	
结果	39.3	39.9	65.0	63.1	46.5	51.2	34.1	49.6	61.3	62.4	51.2
lgX	1.594	1.601	1.813	1.800	1.667	1.709	1.533	1.695	1.787	1.795	1.700

$$\text{标准偏差: } S(X_k) = \sqrt{\frac{\sum(\lg X - \lg \bar{X})^2}{n-1}} =$$

$$0.099755; \text{相对标准偏差 RSD}(\%) = \frac{S(X_k)}{\bar{X}} =$$

$$0.059 = 5.9\%; \text{单次测量不确定度: } U(X_k) = S(X_k) =$$

$$0.099755; \text{平均值的标准不确定度: } U(\bar{X}) =$$

$$\frac{S(X_k)}{\sqrt{n}} = \frac{0.099755}{\sqrt{10}} = 0.032。 \text{由于标准差以及标准}$$

不确定度都相对较小,故表明该方法相对稳定。

2.3 黄浦江水 and 长江水结果对比

对黄浦江水 and 长江水的肠球菌含量进行比较,结果如表3所示。可以看出,长江水的肠球菌含量远小于黄浦江水的肠球菌含量。

表3 不同地表水结果对比

Tab.3 Comparison of different raw water

MPN · 10<sup>-2</sup> mL<sup>-1</sup>

项目	水样编号	第一次结果	第二次结果	第三次结果	平均值
黄浦江水	H1	73.3	60.9	65.0	66.4
	H2	204.6	160.7	133.3	166.2
	H3	261.3	410.6	235.9	302.6
	H4	1 203.3	1 119.9	1 986.3	1 436.5
	H5	1 553.1	1 299.7	1 046.2	3 899.0
长江水	C1	13.4	11.9	10.8	12.0
	C2	3.0	5.2	4.1	4.1

### 3 结论

对7个点的地表水水样进行了肠球菌的检测, 共计采集35次水样。其中包含5个黄浦江水样点和2个长江水样点。通过多次试验, 分别对该方法的准确度、精密度、不确定度进行计算, 得出以下结论。

① 质控样的检测结果与真值之间的相对偏差为6.67%, 在可接受范围内。

② 随机抽取H1点水样, 进行10组平行样测定, 得出相对标准偏差为5.9%, 标准不确定度为0.032, 两者都相对较小。

③ 黄浦江水比长江水中所含的肠球菌数量要高, 主要是由于黄浦江上游农业、畜牧业相对较多, 水体受污染较严重。

#### 参考文献:

[1] 赵红艳, 孙艳平, 张静凯, 等. 肠球菌的致病性及耐药性分析[J]. 中国厂矿医学 2009 22(2): 198 - 199.

[2] 瞿婷婷, 陈亚刚, 俞云松, 等. 肠球菌耐药性研究[J]. 浙江预防医学 2004 16(7): 3 - 5.

[3] 李建升. 243株肠球菌感染菌种分布及其耐药性观察[J]. 南华大学学报: 医学版 2006 34(1): 102 - 103.

[4] Andresa M. Antimicrobial resistance of *Enterococcus* sp. isolated from the intestinal tract of patientd from a university hospital in Brazil [J]. Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz 2004 99 (7): 303 - 308.

[5] 周倩宜, 张坚磊, 卫京平. 粪肠球菌和屎肠球菌耐药性分析[J]. 微生物与感染 2008 3(2): 70 - 72.

[6] 世界卫生组织. 饮用水水质准则(第4版) [M]. 上海: 上海交通大学出版社 2014.



作者简介: 陆志惠(1987 - ), 男, 本科, 助理工程师, 主要从事水中微生物方面的检测工作。

E-mail: 89707364@qq.com

收稿日期: 2015 - 04 - 17

• 期刊动态 •

## 《供水技术》微信公众平台正式开通运行

《供水技术》已于2014年6月10日开始启用微信订阅号, 我们会每天推送一条国内外供排水行业相关的前沿信息。

添加方式: 您可以打开微信, 在添加朋友中点“查找公众号”, 搜索“供水技术”添加即可, 或者扫描右侧二维码。欢迎大家用另一种形式与我们沟通, 更多地了解本刊, 加入我们的大家庭!

