

9215 异养菌平板计数

9215 E. 酶底物法

1、取样和样品处理

- 取样

取样要求参见9060A。取样后越尽早做检测则结果越准确。请尽量保证样品在8小时内做完检测。如果样品不能在8小时内完成检测请将样品在4°C以下保存，但不要冷冻。样品一定不能超过24小时后检测

- 样品处理

在取样瓶上标记好样品编号、稀释倍数、取样时间及其他必要的信息。准备至少两个板子用于样品检测及稀释使用。尽量将样品摇匀(大约上下或前后摇动25下)或者摇动15秒钟。

2、实验仪器装置

A、0.1ml, 1ml, 10ml移液管; 纯水; 量筒

B、培养箱(可调温度35 - 0.5°C)

C、6w, 365nm紫外灯

D、样品盘*

3、培养基

可选购商业化的产品。试剂储存温度为2-25°C。产品的有效期为12个月。检测无菌水(见下面的5—操作步骤), 取10ml无菌水稀释培养基后, 取10ml稀释后的培养基(无样品)倒入盘子中培养35°C 48 小时, 盘子内应没有荧光变化。

4、样品稀释

用去离子水、蒸馏水、缓冲液或者0.1%的蛋白胨作为稀释液

5、操作步骤

用100ml纯水稀释试剂，并摇匀。用无菌移液管取1ml水样和9ml液体培养基加入到样品盘中心。或者取0.1ml样品和9.9ml液体培养基加入到样品盘中。注意：最终样品和培养基的体积需在 10 ± 0.2 ml。盖上样品盘盖子，轻轻地转动样品盘将液体分配到每个孔中。然后将盘子竖起 $90^\circ - 120^\circ$ 将多余的液体吸到样品盘中的海绵上。将样品盘倒置在 35°C 培养 48 小时（培养时间范围是45-72小时，在此期间内读取的结果均有效）。如果样品结果怀疑超过738CFU/mL，则需稀释，取1ml样品用99ml纯水稀释。记得将最后的结果乘以稀释倍数

6、计数和报告

培养完，打开样品盘盖。用6-W，365nm紫外灯在样品盘上13cm处照射样品盘。建议在用紫外灯照射时，试验人员佩戴防紫外的护目镜。数出显荧光的孔数。对照MPN表读出MPN/mL值。如果样品进行了稀释，请记住读取结果应乘以稀释倍数。

7、参考文献

STILLINGS, A., D. HERZOG & B. ROLL. 1998. Comparative assessment of the newly developed SimPlate® method with the existing EPA-approved pour plate method for the detection of heterotrophic plate count bacteria in ozone-treated drinking water. Presented at International Ozone Assoc. Conf., October 19-23, 1998, Vancouver, B.C., Canada.

JACKSON, R.W., K. OSBORNE, G. BARNES, C. JOLLIFF. D. ZAMANI, B.

ROLL, A. STILLINGS, D. HERZOG, S. CANNON & S. LOVELAND. 2000.

Multiregional evaluation of the SimPlate® heterotrophic plate count method compared to the standard plate count agar pour plate method in water. *Appl. Environ. Microbiol.* 66:453.

*SimPlate® 试剂是爱德士公司生产的试剂。IDEXX Laboratories, Westbrook, ME.