

ICS . 13. 060. 70
G 51
备案号: 38763-2013

DB44

广东省地方标准

DB44/T 1163—2013

水中菌落总数复合酶底物检测方法

Multiple Enzyme Technology™ to detect heterotrophic plate count (HPC)

bacteria in water

2013-08-24 发布

2013-11-24 实施

广东省质量技术监督局 发布

前 言

本标准附录A为规范性附录。

本标准按照GB/T 1.1-2009《标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写规则》的要求进行编写。

本标准由广东省城镇供水协会提出。

本标准由广东省分析测试标准化技术委员会（GD/TC 22）归口。

本标准主要起草单位：中山市供水有限公司、中山市住房和城乡建设局。

本标准主要起草人：凌永平、孙东卫、陈飒、黄静美、陈冬贤、赵丹清、曾银东。

本标准首次发布。

当的容器（如水桶、直立式采水器或带有坠子的采样瓶）系着绳子投入水中采集。采样后立即贴上标签，每件样品必须标记清楚（如样品名称、来源、数量、采样地点、采样人及采样时间等）。

4.2 样品保存

样品应尽快送往实验室，如果路途遥远，可将样品保存在1℃~4℃环境中，并尽量保证样品在8 h内检测。如果样品不能在8 h内检测，将样品在1℃~4℃保存，并在24 h内检测。

5 操作步骤

5.1 用无菌水稀释培养基至刻度，摇匀并完全溶解，制成液体培养基。

5.2 用无菌吸管分别将1 mL水样和9 mL液体培养基加入到SimPlate样品盘中心，盖上样品盘盖子，轻轻转动样品盘将液体分配到每个孔中，同时用1 mL无菌水代替样品作空白对照，若空白对照上检出菌落总数，则此次检测结果无效。

5.3 然后慢慢将盘子竖起90°~120°，将多余的液体吸到样品盘中的海绵上。

5.4 把样品盘缓慢倒置，放入36℃±1℃培养箱中，培养48 h。

5.5 如怀疑样品结果超过上限值（738 MPN/mL），则应以无菌操作方法用无菌水逐级稀释样品，并按5.2-5.4进行操作。

6 结果和报告

6.1 将培养48 h后的样品盘取出，打开盘盖，置于6 W，365 nm紫外灯下13 cm处观察。观察时佩戴防紫外线的护目镜。样品盘中的84个孔，无论荧光强弱，只要显荧光，即计入结果，但海绵条显荧光不计入结果。

6.2 数出显荧光的孔数，对照表A.1查出孔数对应的每毫升样品中的菌落总数（MPN/mL）。如果样品进行了稀释，读取结果应乘以稀释倍数。结果以每毫升水中所含菌落总数表示（MPN/mL）。

7 质量控制

每新购一批新的培养基，都应进行阴性和阳性检验。

7.1 阴性对照

用无菌吸管分别将1 mL无菌水和9 mL液体培养基加入到样品盘中心，盖上样品盘盖子，轻轻转动样品盘将液体分配到每个孔中，其他操作步骤同5.3和5.4，结果和报告同6。如无荧光产生则为阴性。

7.2 阳性对照

可选用市售的菌落总数质控标样，按其标准证书要求进行配制标准样品。操作步骤按5.2-5.4，结果和报告按6。如有荧光产生则为阳性，定量结果应与标准证书相对应。

水中菌落总数复合酶底物检测方法

1 范围

本标准规定了用复合酶底物技术方法测定地表水中的菌落总数。

本标准适用于地表水中菌落总数的测定。

本标准的检测下限为2 MPN/mL、未稀释样品的检测上限为738 MPN/mL。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

菌落总数复合酶底物法

菌落总数复合酶底物法是指水样在一定条件下培养生长的细菌群组分解复合酶底物培养基上的物质，分解产物在365 nm紫外灯照射下能产生蓝色荧光，通过计算样品盘中显荧光的孔数来检测水中菌落总数的方法。

3 设备和材料

3.1 培养基：含多剂量生化酶物质的100mL瓶装无菌培养基，或10mL试管装无菌培养基。本方法采用SimPlate®100mL瓶装无菌培养基。可选购同类商业化产品，贮存于4℃-8℃冰箱中。

3.2 样品盘：含有84个孔穴。

3.3 无菌水。

3.4 培养箱：36℃±1℃。

3.5 高压蒸汽灭菌器。

3.6 紫外灯：6 W, 365 nm。

3.7 无菌吸管：1mL、5mL、10mL。

3.8 无菌瓶：100mL、250mL、500mL或1000mL。

3.9 冰箱。

4 采样和样品保存

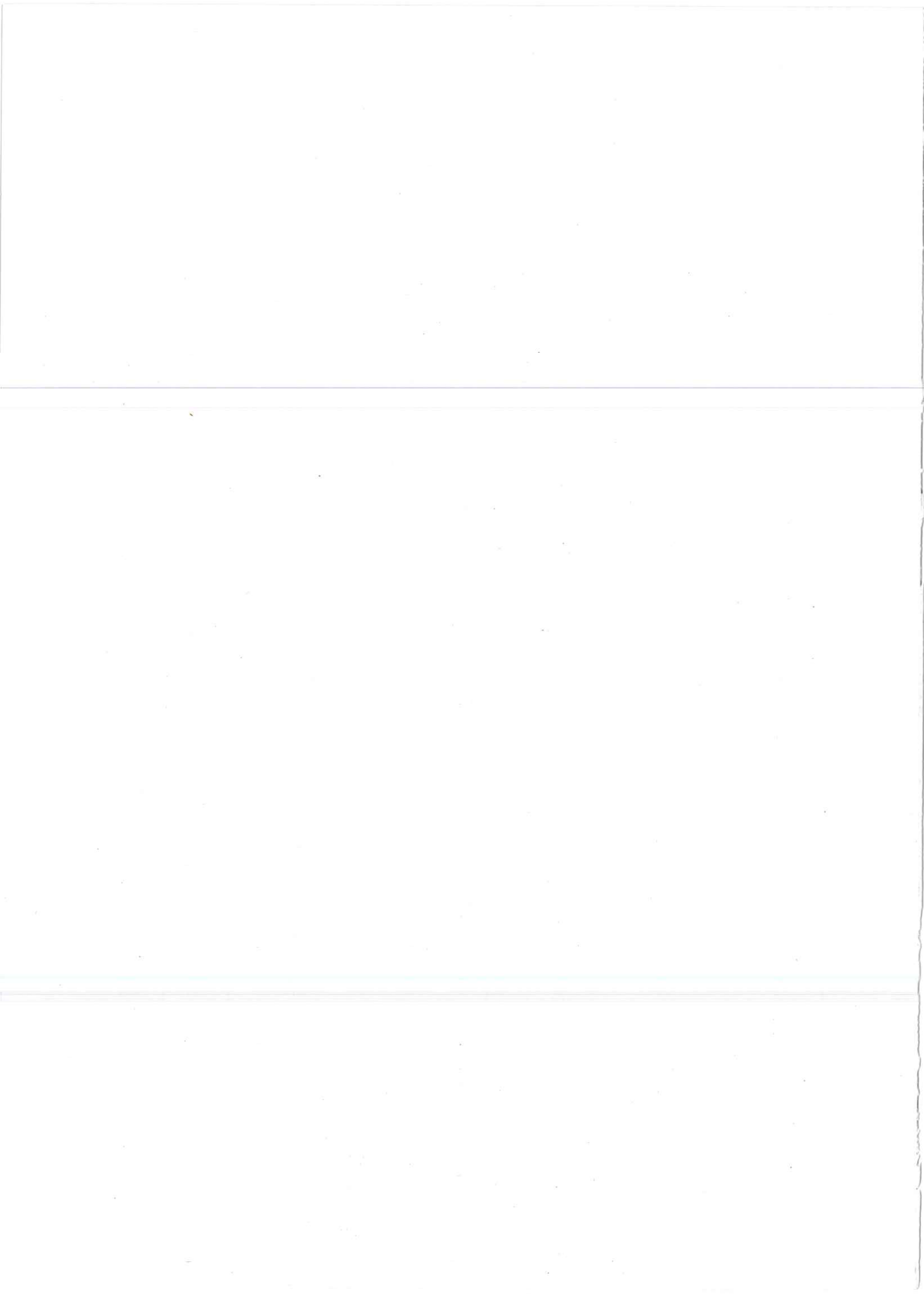
4.1 采样

采样必须在无菌操作下进行，采样时应直接采集，不得用水样涮洗已灭菌的采样瓶，并避免手指和其他物品对瓶口的沾污。河流、湖泊等地表水可直接用无菌瓶采集。在桥上等地方采样时，可用适

附 录 A
(规范性附录)
菌落总数 MPN 检索表

表A.1 菌落总数 MPN 检索表 (95%置信区间)

阳性孔数	菌落总数/ (MPN/mL)	下限	上限	阳性孔数	菌落总数/ (MPN/mL)	下限	上限
0	<2	<0.3	<14	43	120	88	162
1	2	0.3	14	44	124	91	167
2	4	1	16	45	128	95	173
3	6	2	19	46	132	98	178
4	8	3	22	47	137	102	183
5	10	4	25	48	141	106	189
6	12	6	27	49	146	109	195
7	15	7	30	50	151	113	201
8	17	8	33	51	156	117	207
9	19	10	36	52	161	121	213
10	21	11	39	53	166	125	220
11	23	13	42	54	171	130	227
12	26	15	45	55	177	134	234
13	28	16	48	56	183	139	241
14	30	18	51	57	189	144	249
15	33	20	54	58	195	149	257
16	35	22	58	59	202	154	265
17	38	23	61	60	209	159	273
18	40	25	64	61	216	165	282
19	43	27	67	62	223	171	292
20	45	29	70	63	231	177	302
21	48	31	74	64	239	183	312
22	51	33	77	65	248	190	323
23	53	35	80	66	257	197	335
24	56	38	84	67	266	204	347
25	59	40	87	68	276	212	361
26	62	42	91	69	287	220	375
27	65	44	94	70	299	229	390
28	68	47	98	71	311	238	407
29	71	49	102	72	324	248	425
30	74	51	106	73	339	258	444
31	77	54	109	74	355	270	466
32	80	56	113	75	372	282	491
33	83	59	117	76	392	296	519
34	86	62	121	77	414	311	551
35	90	64	126	78	440	328	589
36	93	67	130	79	470	348	636
37	97	70	134	80	507	371	695
38	100	73	139	81	555	398	775
39	104	76	143	82	623	432	899
40	108	79	148	83	738	476	1146
41	112	82	152	84	>738	>476	>1146
42	116	85	157				



广东省地方标准
水中菌落总数复合酶底物检测方法
DB44/T 1163—2013

*

广东省标准化研究院组织印刷
广州市海珠区南田路 563 号 1104 室
邮政编码：510220
网址：www.bz360.org
电话：020-84250337
南方医科大学广卫印刷厂