

居民饮用水微生物检测中快速测试板的应用探讨

吴 双

(乐陵市生态环境监控中心, 山东 乐陵 253600)

摘 要 微生物快速测试板作为一种高效、便捷的微生物检测用具, 其具备操作简便、检测效率高、实用性强等诸多优势, 将其应用于居民饮用水的微生物检测中, 可弥补传统检测方式工序繁琐、局限性强、检测速度慢等诸多不足。对此, 文章就居民饮用水微生物检测中快速测试板的应用展开全面探讨, 以供同行从业者参考。

关键词 居民饮用水 微生物检测 快速测试板

中图分类号: X172

文献标识码: A

文章编号: 1007-0745(2022)05-0055-03

1 微生物快速测试板的基本原理

1.1 检测原理

微生物快速测试板是预制的培养基, 为一次性使用, 主要成分是营养培养基、吸水凝胶(可溶性好)以及能反应生物菌落颜色与特征的可观察显色信息^[1]。快速测试板应用较为广泛, 可以直接在自然环境中对微生物进行检测或鉴定, 对混合的微生物也具有较好的检测效果。

培养基是通过微生物新陈代谢的酶和对应的显色底物产生反应, 即显色底物融合了产色基因和微生物的新陈代谢物质, 通过酶化作用显示出颜色, 以供观察、鉴定。作为新型的培养基, 其可以有效对微生物进行筛选、分离, 灵敏度更高、特异性更优, 而且能很快获得检测结果。

1.2 检测步骤

快速检测板使用便捷, 不需要处理水样、无需对设备消毒且无需准备制作培养基。在检测时, 将采集的水样静置于无菌的器皿和环境中, 将测试板放置到试验台, 打开上层膜, 吸取1毫升的水样, 滴落到测试板纸片上, 再将上层膜盖好, 静候10秒以上, 待培养基凝固的同时, 做一片空白阴性实验比对。将测试板整理叠加好, 放置到密封袋中, 做好封口处理, 再放置到(透明部分向上)保持恒温的培养箱中, 根据需检测的项目要求, 调节温湿度做好培养, 最后按照测试板显示的颜色、菌落情况对比分析, 以获得水样检测数据。如果水样中菌落含量较少, 可以直接测试原液, 以提高检测的准确度。^[2]

2 微生物快速测试板的具体应用

2.1 菌落总数检测

菌落总数是关系居民饮用水安全的重要指标, 也是饮用水监测最常用的指标。通常使用平皿计数法检测菌落总数, 采集的水样使用营养琼脂在37℃有氧环境下培养48小时, 取1毫升水样, 肉眼直接观测菌落总数。菌落总数测试板检测原理与国标法相同, 吸取1mL水样, 在测试板上提前涂刷营养琼脂培养基, 添加TTC溶剂, 培养24小时, 菌落呈现红色, 该检测方法可以有效节约计数时间、提升计数效果。

2.2 总大肠菌群检测

大肠菌群是食品卫生安全检验的重要指标, 主要存在于人类和动物粪便等有污染的场所, 具有较强的传染性。大肠菌群指标高, 则意味着食品和食品加工时受到污染程度高。总大肠菌群是在37℃环境下培养24小时, 能够发酵产生乳糖、产酸产气、需氧和兼性厌氧的革兰氏阴性的无芽孢杆菌。^[3]在居民饮用水安全检测中, 检测总大肠菌群可以采用多管发酵法、滤膜法和酶底物法等三种方式, 其中, 供水行业中较为常用的两种检测方式分别为滤膜法、大肠菌群测试板(基于酶底物法原理), 这两种检测方式有一定的区别与联系, 具体如下:

2.2.1 滤膜法

将水样通过0.45微米孔径的微孔滤膜过滤后, 再将含有菌群的滤膜贴在已含有乳糖的培养基上, 在37℃环境下培养24小时, 即可以形成有一定特征性菌落的革兰氏阴性无芽孢杆菌。这种检测方式较为简单,

但检测结果比较复杂,对这些特征性菌落还要进一步进行染色、镜检,再对呈现阴性的染色菌接种 LPB 培养液,继续在 37℃ 环境下培养 24 小时,直到出现产酸产气,这时可以判断总大肠菌群为阳性。

2.2.2 大肠菌群测试板

其主要成分的选择性培养基、肠菌群特异性显色指示剂和吸水凝胶,检测技术专业、速度较快,将以前的几步检测变成一步检测,将 3 天的检测时间减少至 24 小时,同时还减去提前制作培养基、清洗器皿的费时环节,在自来水的的目标检测中有着较好的适用性。具体检测步骤为:首先,检测时将制备好的饮用水样品加入无菌稀释液,按照 1 ~ 2 个稀释度进行检测,对于饮用纯净水或矿泉水等含菌量较低的水样样品,可直接吸收水样原液进行检测。其次,将大肠菌群测试板放置于平整的实验台上,轻轻揭开上层薄膜,用无菌吸管吸取均匀混合的水样样品约 1mL,然后垂直滴至测试板中央,然后缓慢将上层膜盖好,覆盖时应防止产生气泡。然后,使用平面压板在上层膜中央轻轻压下,使样品液体均匀覆盖在圆形测试板的培养面积上,切忌覆盖时不得扭转压板,静置至少 1min 至培养基凝固。最后,将大肠菌群测试板的透明面朝上,放置于 36℃ ± 1℃ 恒温的培养箱中,堆叠放置片数应 ≤ 20 片,培养 24 ± 2h。培养完成后观察测试板颜色,大肠菌群呈红色(如图 1),可通过目视、放大镜或菌落计数器判断大肠菌群的污染情况。

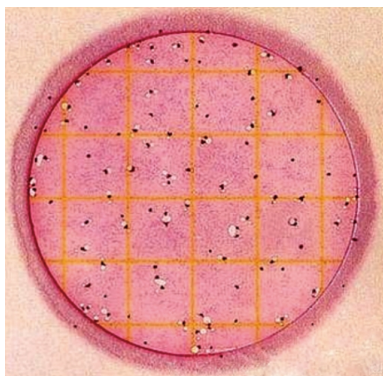


图 1 大肠菌群测试板图样

2.3 耐热大肠菌群检测

耐热大肠菌群,顾名思义,就是具有一定的抗热性。一般大肠菌群在超过 44.5℃ 时就不能继续生长,但耐热大肠菌群则是不然。在居民饮用水检测中,耐热大肠菌群检测可采用下列方式:

2.3.1 滤膜法

耐热大肠菌群滤膜法和上文的总大肠菌群滤膜法一样,将水样通过 0.45 微米孔径的微孔滤膜过滤后,

将菌群阻留到滤膜上,再将滤膜贴在已含有乳糖的培养基上,在 44.5℃ 环境下培养 24 小时,就能形成一定的特征性菌落。选择 MFC 作为耐热大肠菌群的培养基,耐热菌群的菌落呈现蓝色,不耐热菌群的菌落呈现灰白或奶油色。在检测中,有时因颜色特征性不明显,可能会出现结果偏差,如假阳性。这时还需要对可疑的菌落采用 EC 培养基二次培养,如果出现气体则为耐热大肠菌群。

2.3.2 耐热大肠菌群测试板

其主要成分是一定量的乳糖、溴甲酚紫和 TTC 指示剂以及其他营养成分,共同吸附在无菌滤纸上。当具备一定的条件,细菌能迅速生长和繁殖后,会产生一定的酸度,使 pH 值降低,溴甲酚紫就会由紫变黄。在产气过程中,还有一定的脱氢酶会催化底物还原 TTC,进而产生难溶的 TTF,在黄色背景下,会呈现红色点状或者块状现象。观察指示剂的颜色,就可以判断耐热大肠菌群是否产酸产气,进而确定其存在的情况,根据菌落分布,可以确定其特性和数量。

2.4 大肠埃希氏菌检测

大肠埃希氏菌通常是指大肠杆菌,其是一种较为常见的菌体,具有一定的传染性、病原性,在一定环境下,对人类、动物的肠胃等消化器官、尿道等泌尿系统造成感染,对婴幼儿和幼年的家禽、牲畜影响更为直接,常常导致腹泻、败血症,严重时危及生命安全^[4]。根据要求,当居民饮用水中检测出总大肠菌群后,要深入检测耐热大肠菌群和大肠埃希氏菌,如没有检测出大肠埃希氏菌,则不需要做进一步检测。大肠埃希氏菌检测方式有:

2.4.1 滤膜法

在无菌的环境下,将检测出总大肠菌群呈阳性的菌落样本由滤膜转到 NA-MUC 培养基板上,细菌面向上,在 36℃ 环境下培养 4 小时,再使用 366 纳米波长、6 瓦功率的紫外线直接照射样本,如果菌落边缘、背部呈现蓝光物质,则表示水样中有大肠杆菌(如图 2 所示)。



图 2 大肠埃希氏菌检测

2.4.2 大肠埃希氏菌测试板

大肠埃希氏菌能产生 β -半乳糖苷酶和 β -葡萄糖醛酸酶,其中 β -半乳糖苷酶在培养基中,能催化底物,释放一定的色原体; β -葡萄糖醛酸酶在培养基中,能分解底物,释放一定的荧光物,两者经过44.5℃培养后,能使培养基的颜色出现变化,在紫外线灯照射下,菌落呈现荧光特征。通过这种方式,可以很快检测出大肠埃希氏菌是否存在。其中,大肠埃希氏菌呈蓝色,耐热大肠菌群呈紫红色或蓝色菌斑(如图3)。

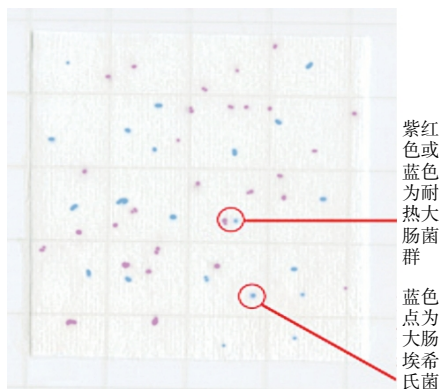


图3 大肠埃希氏菌耐热大肠菌群测试板

3 效果对比

3.1 检测结果

在实验室中,对居民饮用水的500份水样,随机抽取30份水样,对菌落总数、总大肠菌群、耐热大肠菌群、大肠杆菌这四类指标,分别采用国标法和测试板两种方式进行检测,并对比有关试验数据。其中,采用测试板方式检测的水样,都进行了5次平行试验。根据检测结果,两种检测方式中阴性结果完全一致;测试板方式的阳性结果相对标准偏差很小,不超过1%。取5次平行试验结果的平均值和国标法试验结果的平行双样值进行对比分析,结果都不超过2.5%,计算公式如下:

$$\eta = \frac{|X_1 - X_2|}{(X_1 + X_2)/2} \times 100\%$$

式中: η 为相对偏差; X_1 为测试板方法的5次平行试验结果的平均值; X_2 为国标方法试验结果^[5-6]。

3.2 检测成本

对居民饮用水微生物检测采用国标法方式,其耗材不多、较为低廉,成本主要包括培养基、滤膜和其他辅助性能的药品,在每份水样测试时,四个微生物指标耗费约5~10元。而采用快速测试板方式,因其是一次性消耗产品,不能回收利用,在每份水样测试时,

四个微生物指标耗费25~40元。因此,相比国标法,快速测试板的成本较高。^[7]

3.3 检测效率

快速测试板使用非常简单,程序不复杂,准确度较高,测试较为灵敏,对操作人员专业要求不高。在检测时不用增加菌量,可以随时进行检测,甚至可以在普通环境下直接测试,并且能够直接反映样品的污染情况、具体程度。在几组对比测试中,测试板的效率比国标法效率高一倍以上。^[8]

综合以上对比分析,在对成本关注不高时,可多应用快速测试板开展相应检测。

4 结语

水乃生命之源,故居民饮用水的安全检测至关重要。经大量实验验证与实际应用检验,微生物快速测试板能够有效改善传统检测方式的不足与弊端、优化检测程序、节约检测时间,还可提高检测的有效性与精准性,特别适用于检测水样较多、专业检测人员不足的情况。因此,快速测试板必将在居民饮用水的微生物检测中得到愈发广泛的实践应用。

参考文献:

- [1] 王丹云,黄海民,吉晓兰.快速测试板在饮用水微生物检测中的运用[J].食品安全导刊,2020(26):56-58.
- [2] 祁燕,亢卫华.快速测试板在饮用水微生物检测中的应用[J].城镇供水,2017(03):51-54.
- [3] 张秀宇,何涛,尹华涛,等.饮用水生物性污染物快速检测技术研究进展[J].食品安全质量检测学报,2019,10(21):7253-7259.
- [4] 范俊.快速检测技术助力饮用水生产企业的微生物控制[J].食品安全导刊,2020(13):36-37.
- [5] 张兰.快速测试板用于饮用水微生物检验的效果分析[J].医药前沿,2020,10(22):253.
- [6] 刘菲,王伟.生活饮用水微生物检验方法和评价标准分析[J].健康必读,2021(10):48.
- [7] 尹红.浅析生活饮用水总大肠菌群两种不同检验方法的比较[J].疾病监测与控制,2016,10(07):568-570.
- [8] 刘晖.生活饮用水微生物检验方法和评价标准研究[J].中国保健营养,2015(07):226,229.