



动物检验检疫技术

专业教学资源库

水中菌落总数的测定



水中菌落总数的测定

- 检验依据：GB/T5750.12-2006
- 方法：平皿计数法



菌落总数 (colony forming unit)

- 菌落总数 (cfu)

- 水样经过处理，在一定条件下培养后，所得1mL水样中细菌菌落数量。

- 细菌总数

- 一定数量水样经过处理，在显微镜下对细菌进行直接计数。



实验目标

- 掌握生活饮用水菌落总数的测定方法
- 掌握水源水菌落总数的测定方法
- 判定水被细菌污染的程度和水的卫生质量



实验内容

1

培养基制备

2

水样稀释与接种

3

结果分析与报告



实验器材

- 水样
 - 1、4号—自来水
 - 2、5号—水源水（养殖场）
 - 3、6号—桶装水
- 培养基
 - 营养琼脂培养基





实验器材

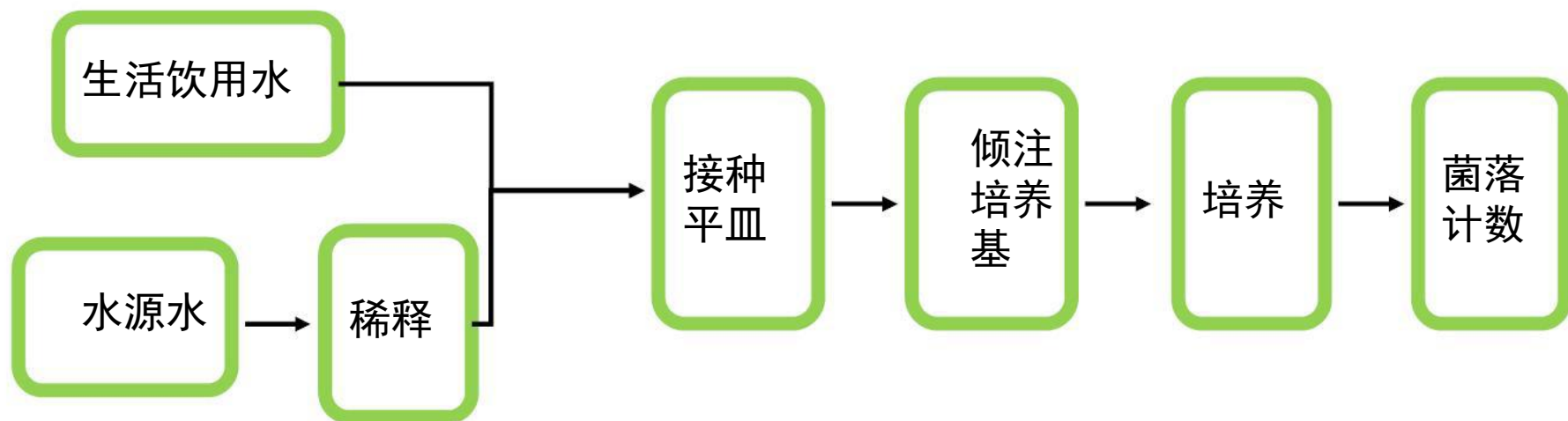
- 设备、器材

- 无菌工作台、酒精灯、灭菌吸管、灭菌试管、稀释液、灭菌平皿、恒温培养箱、高压蒸汽灭菌器、菌落计数器、天平、电炉等





检验程序





实验操作

- 生活饮用水

- 用灭菌吸管吸取**1mL**充分混匀的水样，注入灭菌平皿中

- 水源水

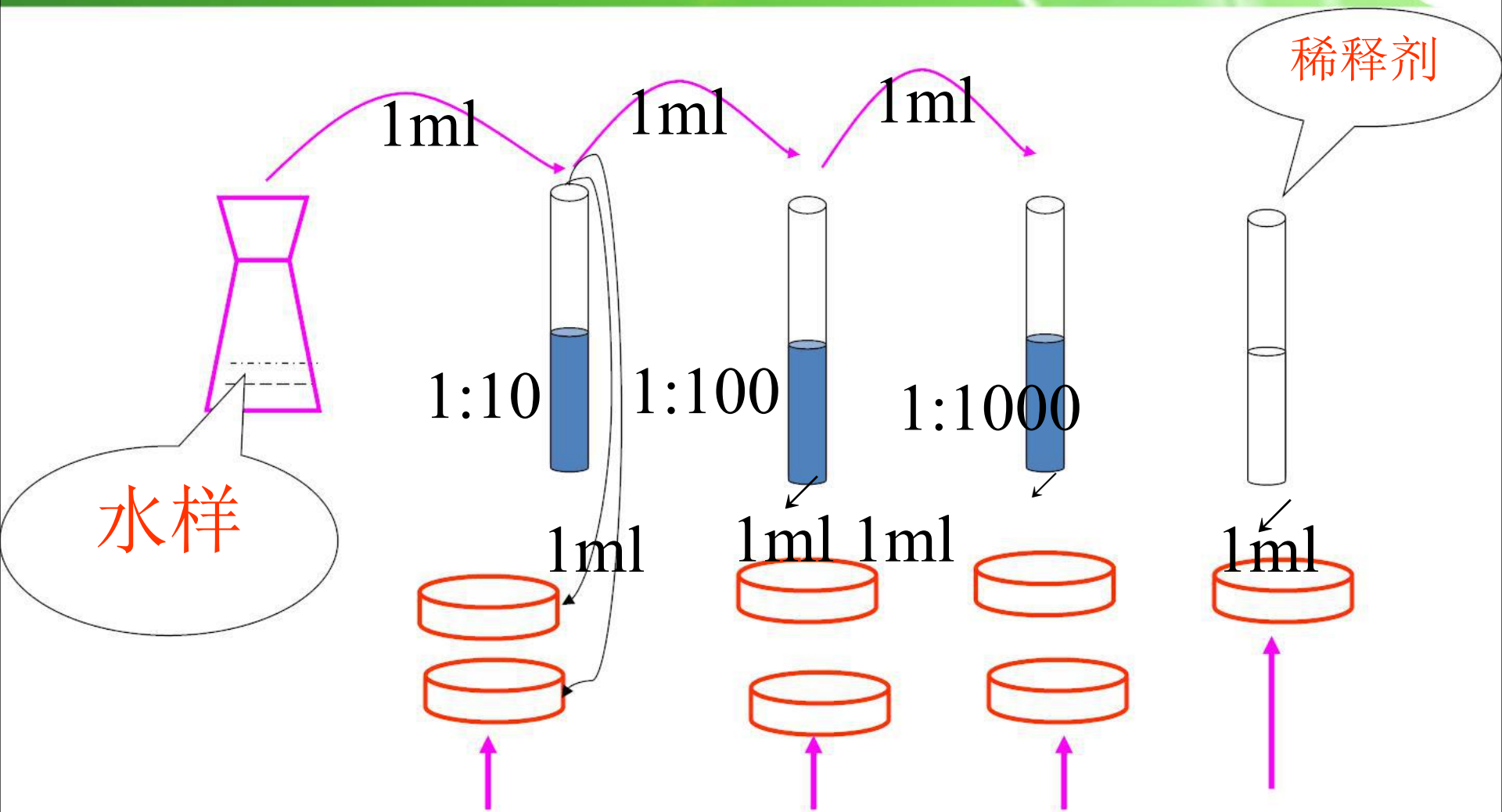
- 吸取**1ml**充分混匀的水样，注入盛有**9ml**灭菌生理盐水的试管中，混匀制成**1 : 10**稀释液

- 吸取**1 : 10**的稀释液**1ml**注入盛有**9mL**灭菌生理盐水的试管中，混匀制成**1 : 100**稀释液



实验操作

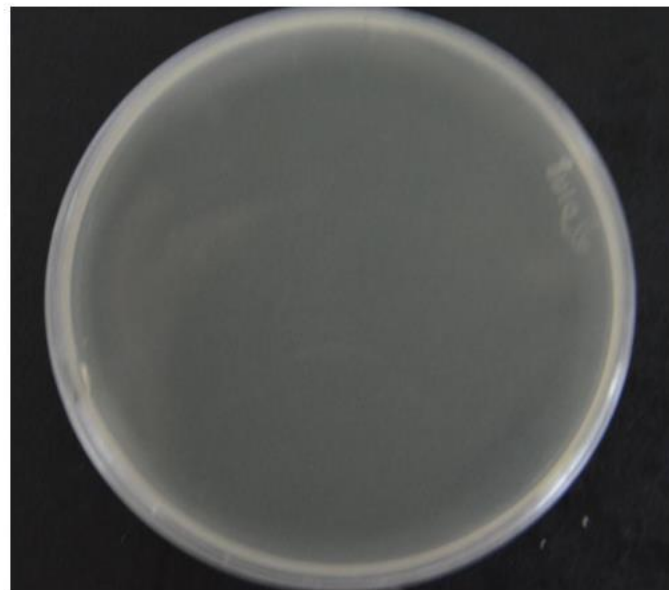
- 按同法依次稀释成**1: 1000** , **1: 10000**稀释液等备用
- 根据对水样污染情况的估计, 选择**3个**适宜稀释度, 分别作10倍递增稀释的同时, 即以吸取该稀释度的吸管移1mL稀释液于灭菌平皿中



加入46℃营养琼脂15~20ml



- 每递增稀释一次，必须更换一支1mL灭菌吸管
- 每个稀释度制作2个平皿
- 同时做空白试验





实验操作

- 倾注营养琼脂培养基

- 温度：46℃左右

- 用量：15mL~20mL

水样与培养基
混匀后

- 培养

- 温度：36±1℃

- 时间：48±2h



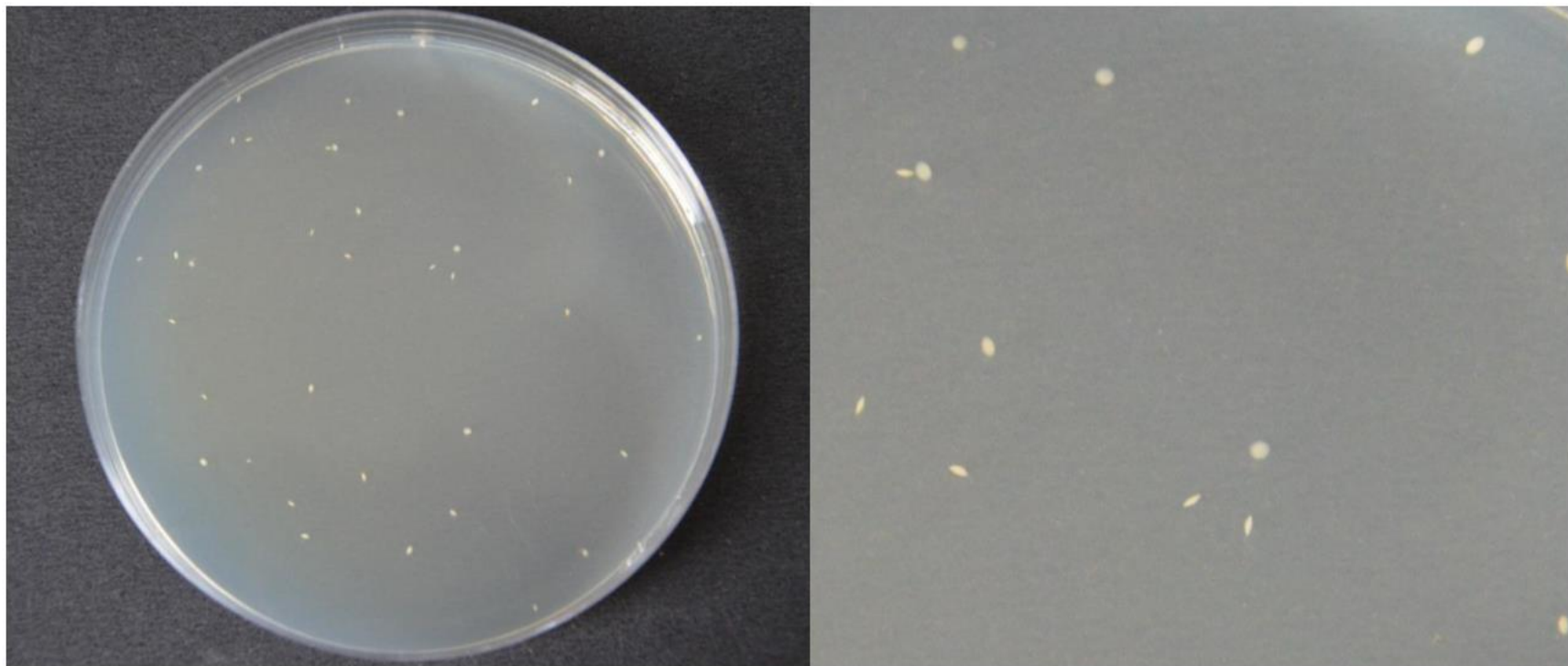
48小时后



平皿菌落生长情况

平皿菌落

同一稀释度两个平皿 一个水样所有平皿



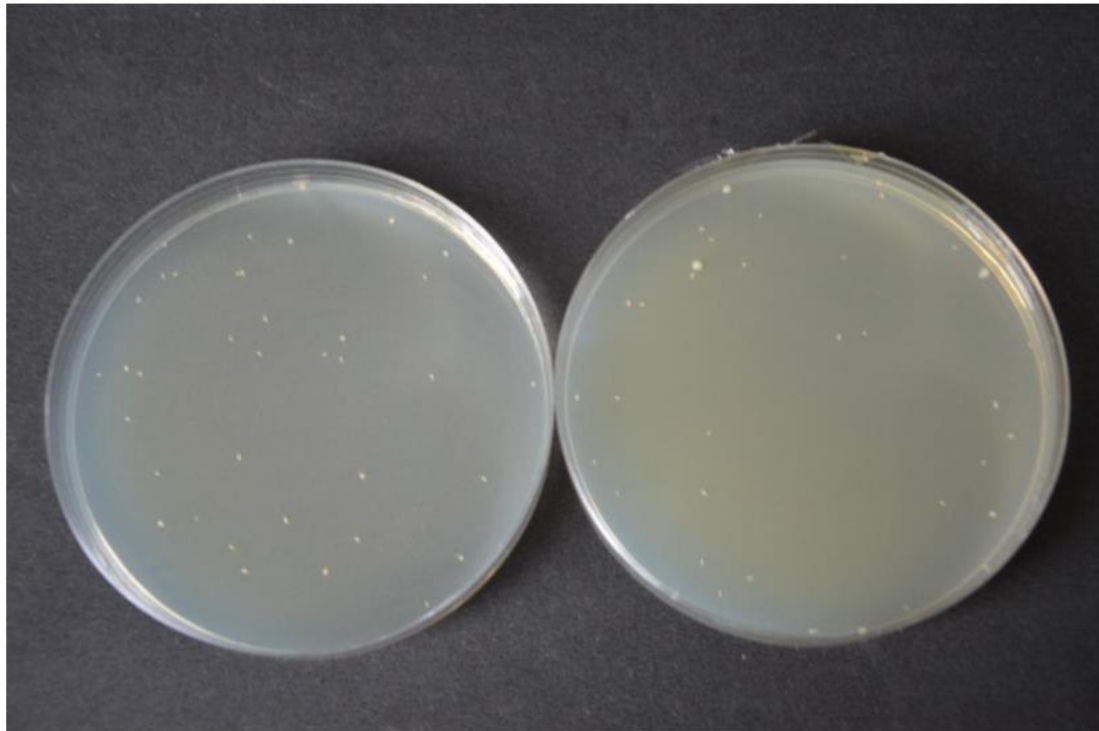


平皿菌落生长情况

平皿菌落

同一稀释度两个平皿

一个水样所有平皿

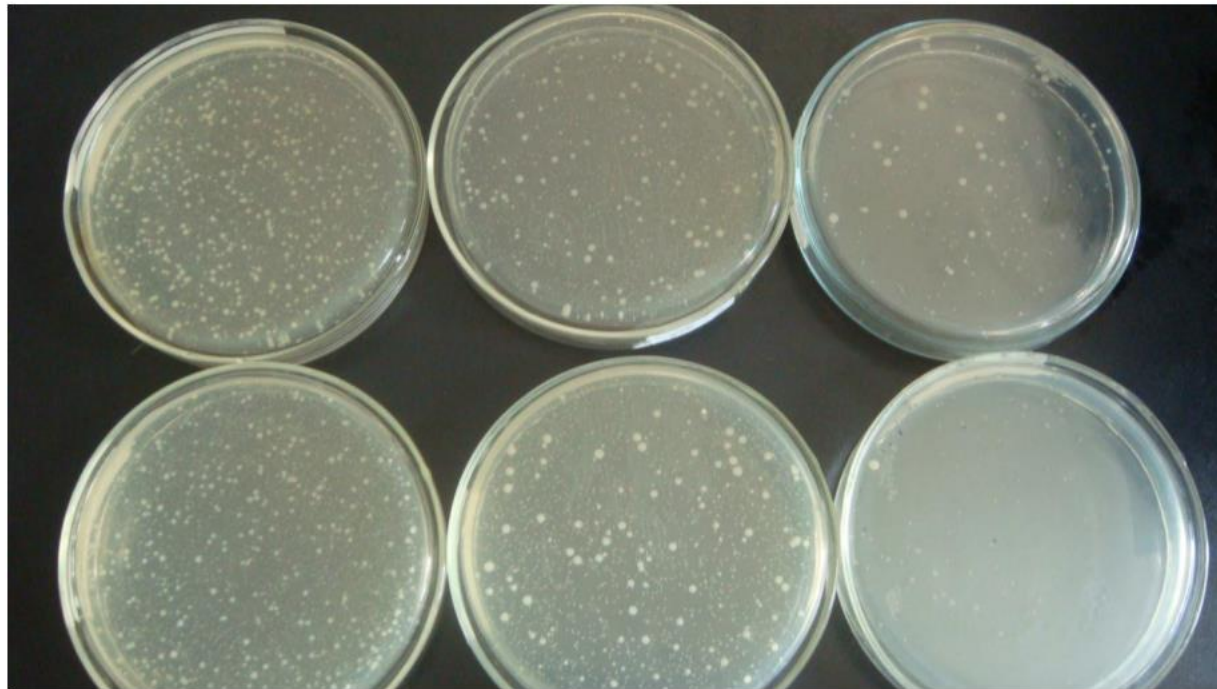




平皿菌落生长情况

平皿菌落 同一稀释度两个平皿

一个水样所有平皿





菌落计数及报告方法

- 记下各平板的菌落数后，求出同一稀释度两个平板的**平均菌落数**
- 选择平均菌落数在**30~300**之间者进行计算



不同稀释度的选择及报告方法

- 只有一个稀释度的平均菌落数符合此范围时，
则将该菌落数乘以稀释倍数报告（见表中实例1）

| 实例 | 不同稀释液的平均菌落数 | | | 菌落总数 (CFU/mL) | 报告方式 (CFU/mL) |
|----|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | 10 ⁻¹ | 10 ⁻² | 10 ⁻³ | | |
| 1 | 1365 | 164 | 20 | 16 400 | 16 000 |



不同稀释度的选择及报告方法

- 若有两个稀释度，其生长的菌落数均在30~300之间，则视二者之比值来决定（见表中实例2、3、4）

| 实例 | 不同稀释液的平均菌落数 | | | 两个稀释度菌落数之比 | 菌落总数 (CFU/mL) | 报告方式 (CFU/mL) |
|----|------------------|------------------|------------------|------------|------------------|------------------|
| | 10 ⁻¹ | 10 ⁻² | 10 ⁻³ | | | |
| 2 | 2760 | 295 | 66 | 1.6 | 37750 | 38 000 |
| 3 | 2890 | 271 | 60 | 2.2 | 27100 | 27 000 |
| 4 | 150 | 30 | 8 | 2 | 1500 | 1500 |



不同稀释度的选择及报告方法

- 只若所有稀释度的平均菌落数均大于300，则应按稀释度最高的平均菌落数乘以稀释倍数报告之
(见表中实例5)

| 实例 | 不同稀释液的平均菌落数 | | | 菌落总数 (CFU/mL) | 报告方式 (CFU/mL) |
|----|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | 10 ⁻¹ | 10 ⁻² | 10 ⁻³ | | |
| 5 | 多不可计 | 1650 | 513 | 513000 | 510 000 |



不同稀释度的选择及报告方法

- 只有若所有稀释度的平均菌落数均小于30，则应按稀释度最低的平均菌落数乘以稀释倍数报告之
(见表中实例6)

| 实例 | 不同稀释液的平均菌落数 | | | 菌落总数 (CFU/mL) | 报告方式 (CFU/mL) |
|----|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | 10 ⁻¹ | 10 ⁻² | 10 ⁻³ | | |
| 6 | 27 | 11 | 5 | 270 | 270 |



不同稀释度的选择及报告方法

- 若所有稀释度的平均菌落数均不在30~300之间，则应以最接近30或300的平均菌落数乘以稀释倍数报告之（见表中实例7）

| 实例 | 不同稀释液的平均菌落数 | | | 菌落总数 (CFU/mL) | 报告方式 (CFU/mL) |
|----|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | 10 ⁻¹ | 10 ⁻² | 10 ⁻³ | | |
| 7 | 多不可计 | 305 | 12 | 30500 | 31 000 |



不同稀释度的选择及报告方法

- 若所有稀释度的平板上均无菌落生长，则以未检出报告之
- 不要用“多不可计”报告



菌落计数的报告

- 菌落数在100以内时
 - 按实有数字，以整数报告
- 菌落数大于100时
 - 第3位数“四舍五入”，取前2位数字，后面用0代替
 - 也可用**10**的指数来表示

见表中“报告方式”栏



| 实例 | 不同稀释液的平均菌落数 | | | 两个稀释度菌落数之比 | 菌落总数 (CFU/mL) | 报告方式 (CFU/mL) |
|----|------------------|------------------|------------------|------------|------------------|--------------------------------|
| | 10 ⁻¹ | 10 ⁻² | 10 ⁻³ | | | |
| 1 | 1365 | 164 20 | --- | 16 400 | | 16 000 或 1.6×10^4 |
| 2 | 2760 | 295 | 66 | 1.6 | 37750 | 38 000 或 3.8×10^4 |
| 3 | 2890 | 271 | 60 | 2.2 | 27100 | 27 000 或 2.7×10^4 |
| 4 | 150 | 30 | 8 | 2 | 1500 | 1500 或 1.5×10^3 |
| 5 | 多不可计 | 1650 | 513 | --- | 513000 | 510 000 或 5.1×10^5 |
| 6 | 27 | 11 | 5 | --- | 270 | 270 |
| 7 | 多不可计 | 305 | 12 | --- | 30500 | 31 000 或 3.1×10^4 |



注意事项

1. 无菌操作。
2. 进行稀释时, 吸管口不得与下一个稀释液接触。
3. 从开始稀释到倾注最后一个平皿所用时间不宜超过15min。



4. 稀释倍数愈高菌落数愈少，稀释倍数愈低菌落数愈多。如出现逆反现象，不可作为水样计数报告的依据。考虑水中含抑菌物质
5. 应提前作好稀释用试管和各稀释度培养皿的标记。
6. 若空白对照上有菌落生长，则此次检测结果无效。



习题作业

1. 平皿计数法 (GB/T5750.12-2006) 测定的细菌数量是样品中的实际菌数吗？为什么？
2. 某样品菌落总数测定时，所有稀释度平板上都无菌落生长，试分析出现此结果的原因有哪些。



习题作业

3. 某种鸡厂对生产用水井的水样进行菌落总数测定时，按国家标准将水样处理及培养后，培养皿上生长的菌落数量记录如下：

| 稀释度 菌落数 | 10 ⁻¹ | 10 ⁻² | 10 ⁻³ |
|------------|------------------|------------------|------------------|
| 1# | 291 | 35 | 0 |
| 2# | 279 | 37 | 3 |



习题作业

请回答下列问题：

- (1) 对水样进行处理及培养条件是指什么？
- (2) 本次实验选择的稀释度是多少？选择依据是什么？
- (3) 列式计算并正确对测定结果进行报告。
- (4) 该指标（菌落总数）国家检验标准是什么（写出GB代号）？简要写出其检验程序。



动物检验检疫技术

专业教学资源库

Thank You!