

Confident
results.

FASTER.



PAC&RAC 产品培训



菌落总数检测的意义



- 菌落总数测定是用来判定食品被细菌污染的程度及其卫生质量，它反映食品在生产加工过程中是否符合卫生要求，以便对被检食品作出适当的**卫生学评价**。
- 菌落总数的多少标志着食品卫生质量的优劣。菌落总数越多，说明食品的卫生质量越差，食品被病原菌污染的可能性越大。反之，食品被病原菌污染的可能性越小。



菌落总数超标的危害

- ✓ 产品的卫生状况达不到基本的卫生要求，将会破坏食品的营养成分，加速食品的腐败变质，使食品失去食用价值。
- ✓ 消费者食用微生物超标严重的食品，很容易患痢疾等肠道疾病，可能引起呕吐、腹泻等症状，危害人体健康安全。



原标题：贵州月饼市场 八个批次月饼菌落总数超标

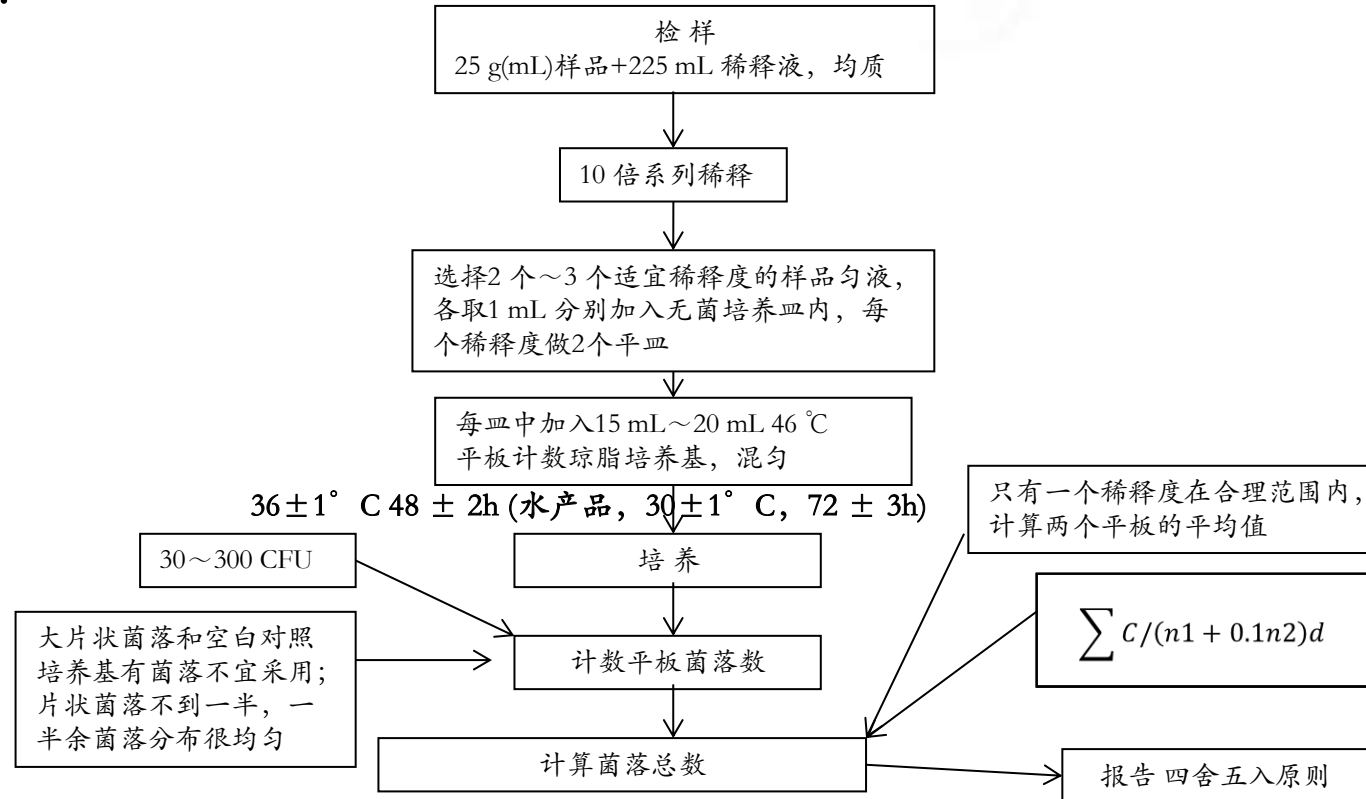


菌落总数的检测的参考方法

FDA-BAM 参考方法	ISO 参考方法	GB 参考方法
<p data-bbox="496 521 828 649">FDA-BAM, 倾倒平板计数琼脂, $35 \pm 1^\circ\text{C}$, 培养 $48 \pm 2\text{h}$</p> <p data-bbox="496 785 828 913">乳品 (SMEDP) 倾倒平板计数琼脂, $32 \pm 1^\circ\text{C}$, 培养 $48 \pm 2\text{h}$</p>	<p data-bbox="932 521 1337 649">ISO4833-2003 倾倒平板计数琼脂, $30 \pm 1^\circ\text{C}$, $72 \pm 3\text{h}$</p>	<p data-bbox="1388 521 1796 735"><u>GB 4789.2-2016</u> 倾倒至 46°C 平板计数琼脂, $36 \pm 1^\circ\text{C}$ 培养 $48 \pm 2\text{h}$; 水产品 $30 \pm 31^\circ\text{C}$ 培养 $72 \pm 3\text{h}$</p>

菌落总数的检测 GB4789.2-2016

GB方法:



7 结果与报告

7.1 菌落总数的计算方法

7.1.1 若只有一个稀释度平板上的菌落数在适宜计数范围内,计算两个平板菌落数的平均值,再将平均值乘以相应稀释倍数,作为每 g(mL)样品中菌落总数结果。

7.1.2 若有两个连续稀释度的平板菌落数在适宜计数范围内时,按式(1)计算:

$$N = \frac{\sum C}{(n_1 + 0.1n_2)d} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

N ——样品中菌落数;

$\sum C$ ——平板(含适宜范围菌落数的平板)菌落数之和;

n_1 ——第一稀释度(低稀释倍数)平板个数;

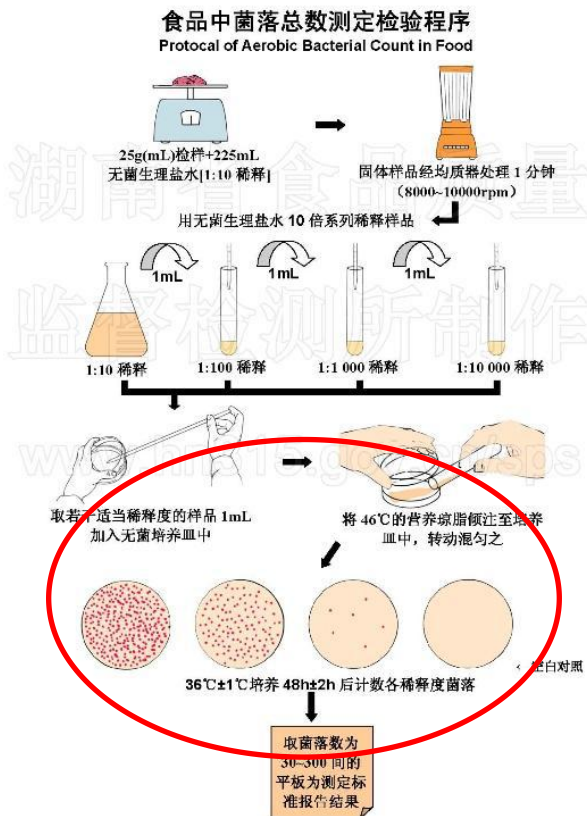
n_2 ——第二稀释度(高稀释倍数)平板个数;

d ——稀释因子(第一稀释度)。

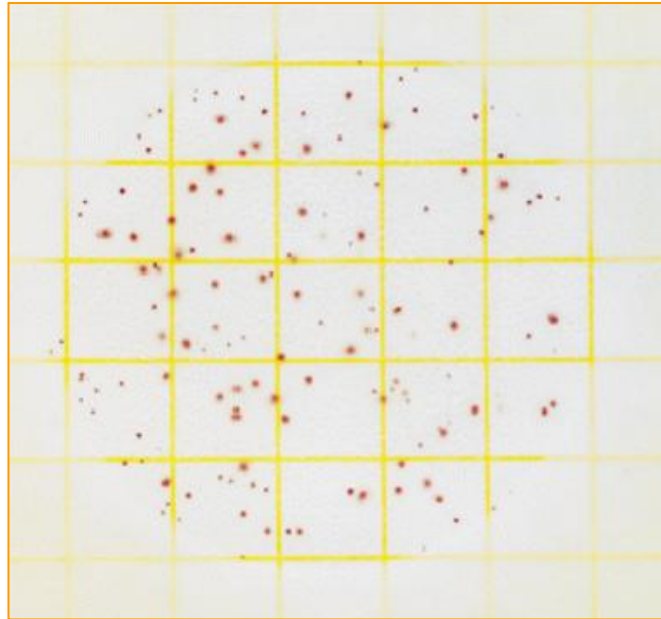
示例:

稀释度	1 : 100(第一稀释度)	1 : 1 000(第二稀释度)
菌落数(CFU)	232,244	33,35

菌落总数检测-传统平板计数法



细菌总数测试片

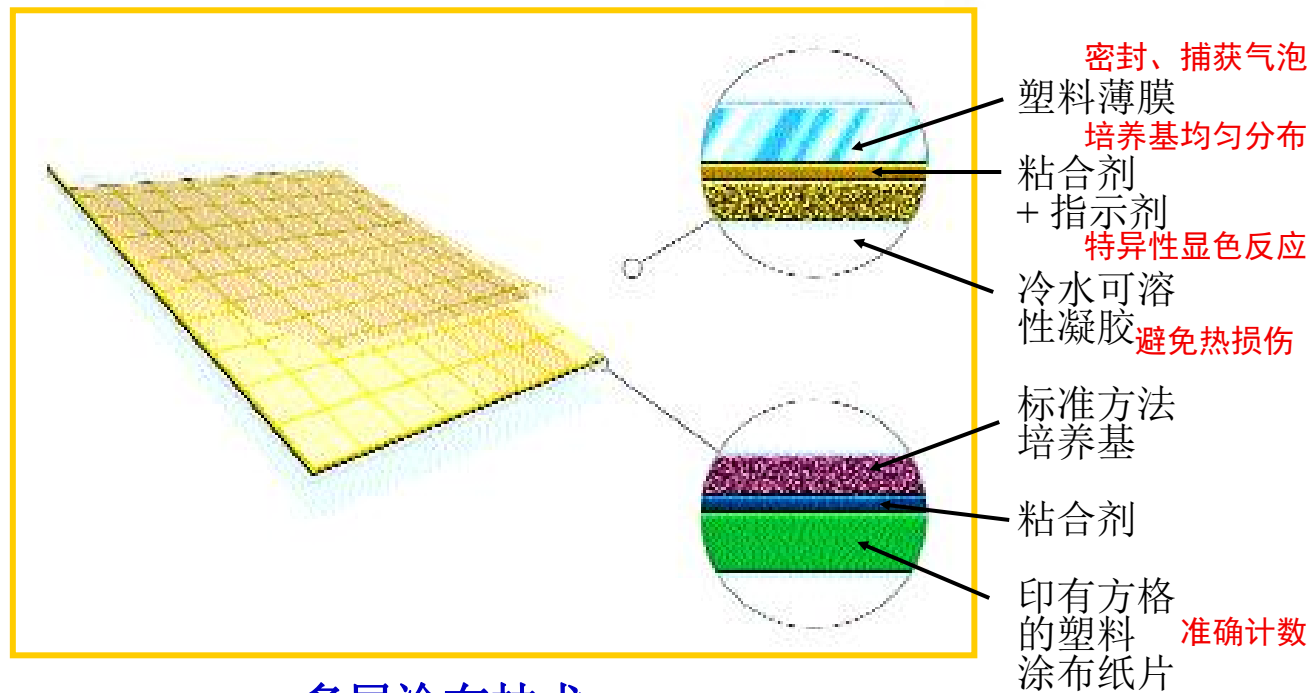


(PAC)
培养时间48h



(RAC)
培养时间24h

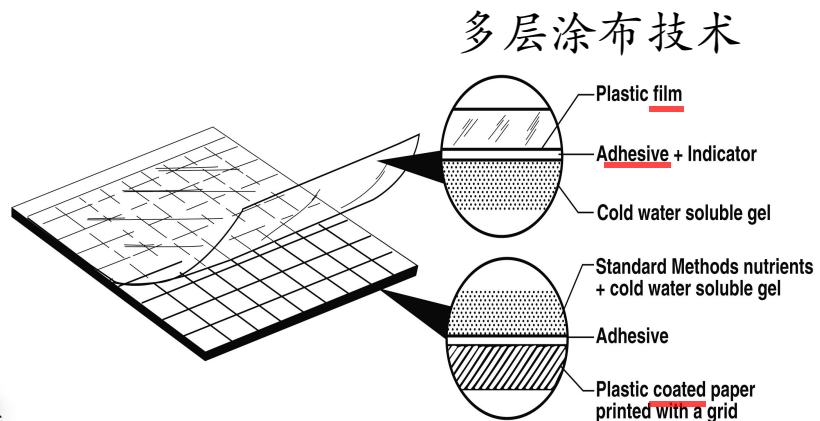
3M™ Petrifilm™ 菌落总数测试片



多层涂布技术

3M™ Petrifilm™ 菌落总数测试片的结构

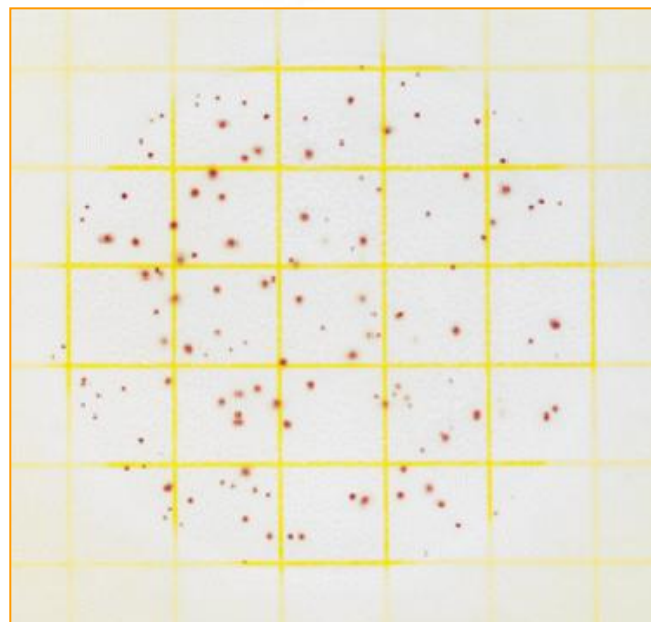
结构 (PAC) :



成分:胰蛋白胨、酵母浸膏、葡萄糖、琼脂、蒸馏水, PH7.0 ±0.2, 121 °C高压灭菌15min

3M™ Petrifilm™细菌总数测试片

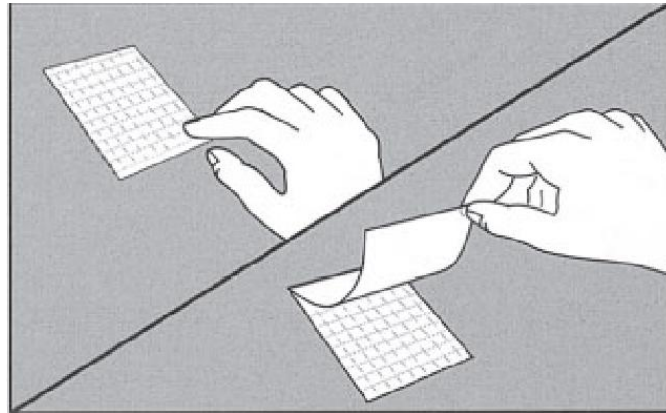
- 标准培养基
- 添加TTC菌落指示剂
- 计数所有**红点为菌落总数**
- 培养时叠放片数小于20
- 36±1° C, 48 ±2 h培养
- 合理计数范围 30-300
- 方格设计便于计数, 计数面积20CM²
- 样品的稀释液调PH 6.6-7.2



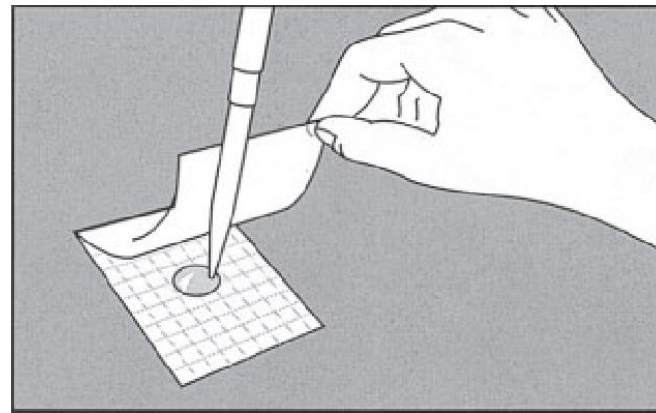
通过的标准

- AFNOR Certificate Number 3M 01/1-09/89(as compared to ISO 4833 method)
- Raw and pasteurized milk: Aerobic Count, Coliform Count Plates Method AOAC986.33
- Dairy products: Aerobic Count, Coliform Count Plates Method AOAC 989.10
- Foods: Aerobic Count plates Method AOAC 990.12

接种操作图示

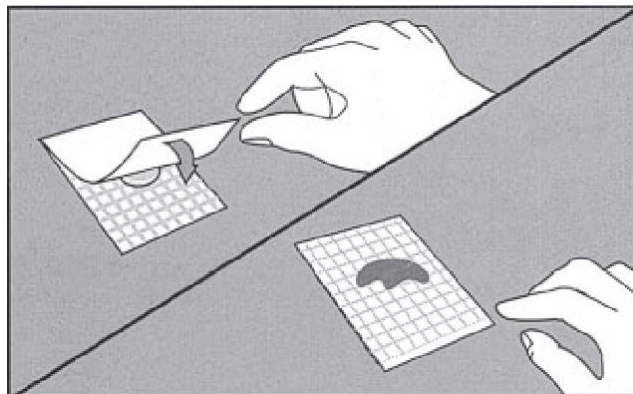


1.将测试片置于平坦处，揭开上层膜

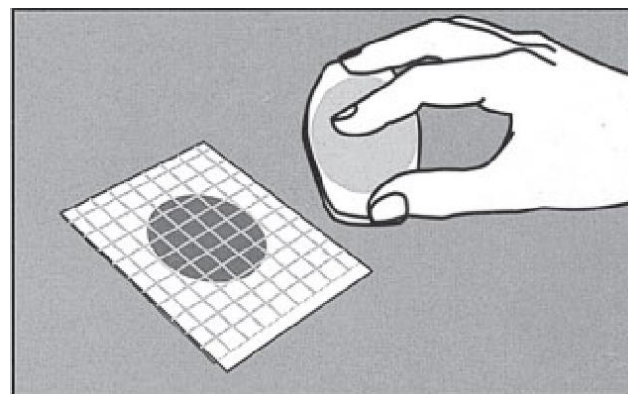


2.垂直滴加**1mL**样液于测试片中央

接种操作图示



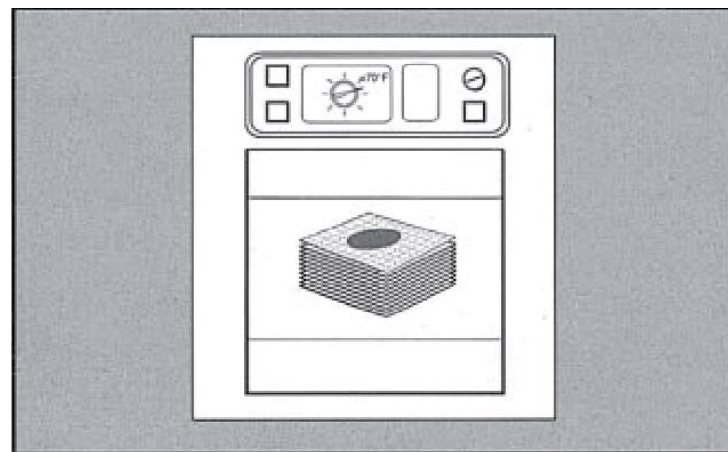
3.允许上层膜直接落下，但勿滚动上层膜



4.使用压板的凹面使样液均匀分布在圆形接种区域内，静置至少**1min**使胶凝固

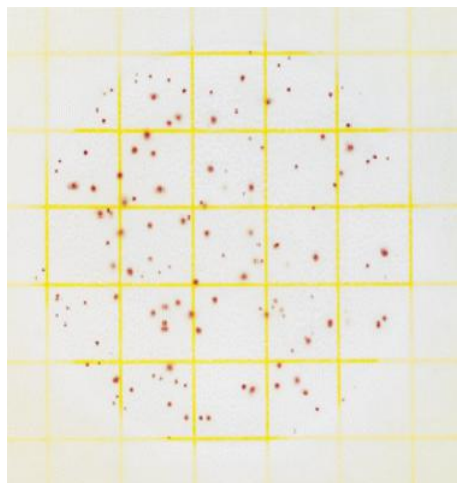
培养

将测试片的**透明面朝上**置于培养箱内，可堆叠至**20**片，培养温度和时间**为 $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, $48\text{h} \pm 2\text{h}$** 。水产品则为 **$30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, $72\text{h} \pm 3\text{h}$** 。

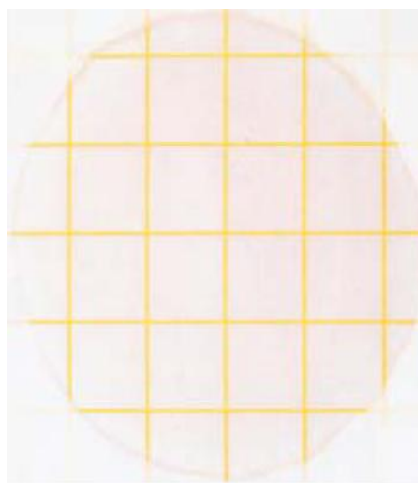


判读

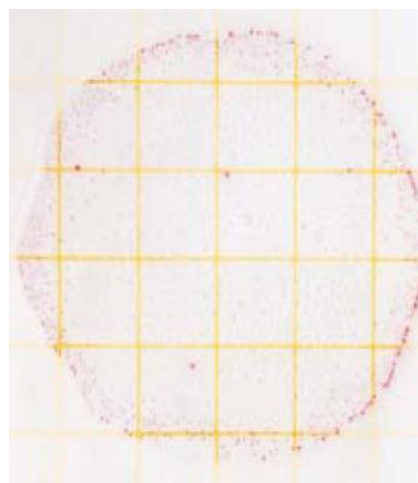
对所有的红色菌落进行计数



菌落密度很高时，整个测试片会变成红色或粉红色，将结果记为“多不可计”



圆形培养基的边缘有许多小的菌落，也记为“多不可计”

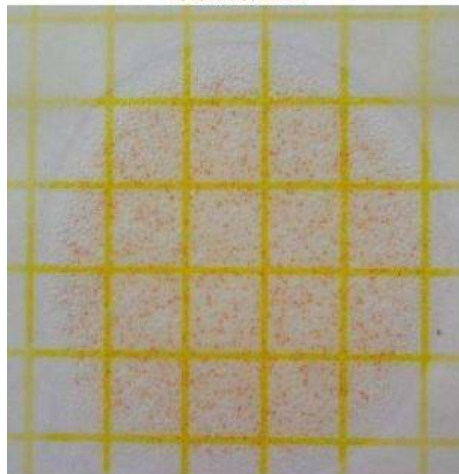


更容易辨认小菌落



易漏判

计数所有红点



3M™ Petrifilm™ 菌落总数测试片的判读——自动判读仪

3M Petrifilm Plate Reader

File View Run Options Window Help

Plate

Sample ID: 样品1

Plate Type: AC

Dilution: 1:10

Results

	Raw	Edited	Calculated
Red Colonies	137	-	1400

Edit Results

Explanation:

Excel Data Copy

All Data Fields

Mapped Data Fields

PAC

Log Data

View Log File...

Mark Colony:

Check or Uncheck All Colonies

Save Image As...

3M™ Petrifilm™ 菌落总数测试片的判读

- 菌落蔓延情况

原因：主要由食品中的芽孢杆菌引起的

易产生液化的产品：冰淇淋、饼干、紫菜、调味料

解决方案：

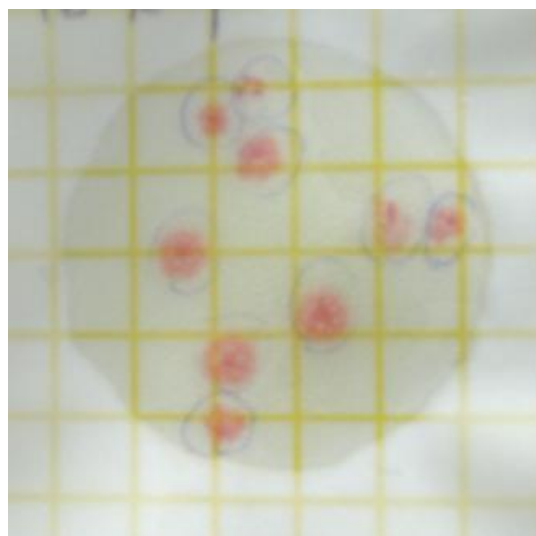
- 1、告诉客户液化的原因在于产品

- 2、解决问题：提高稀释度；24h判读，标记；减少叠放；

PYM压板；与客户现场判读，使用“Manual”解释

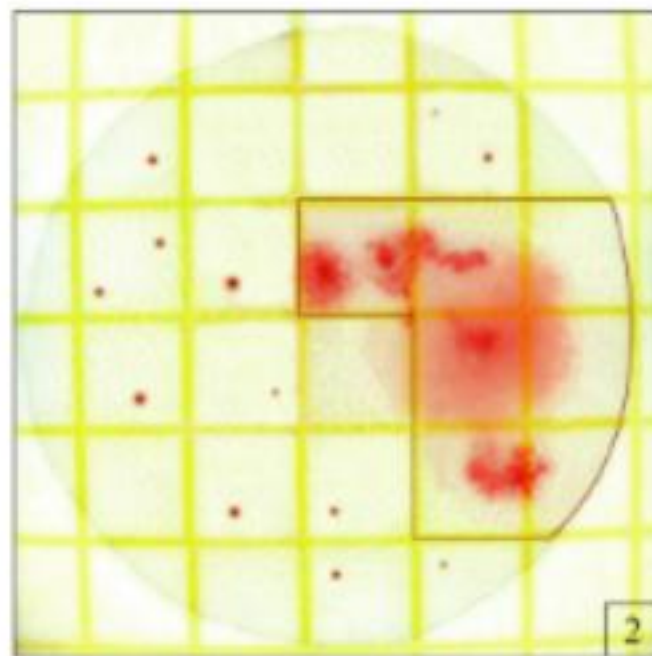
3M™ Petrifilm™ 菌落总数测试片的判读

情况1：当蔓延菌落面积较小而轮廓明显，按一般菌落计数



3M™ Petrifilm™ 菌落总数测试片的判读

情况2：当蔓延菌落面积较大时，且蔓延总面积小于总面积的一半时，计数蔓延面积以外的菌落后换算回整个面积的菌落数



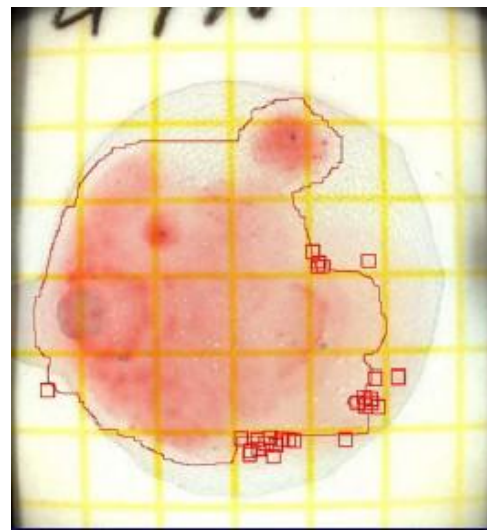
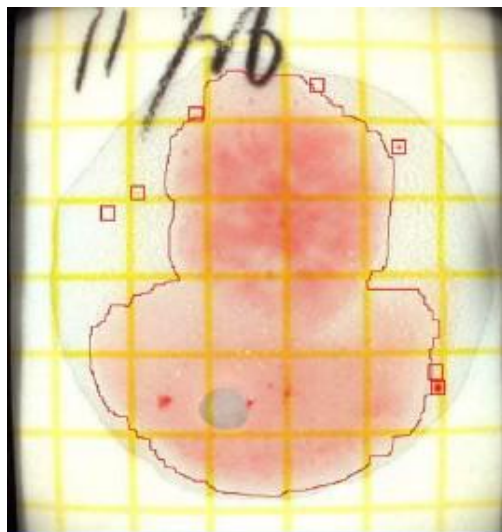
菌落总数 = 18

情况2

当蔓延菌落面积较大时，且蔓延面积小于总面积的一半时，计数蔓延面积以外的菌落后换算回整个面积的菌落数。Petrifilm™ 细菌总数测试片的接种面积为 20cm^2 ，相当于由 20 个 1cm^2 的方格所组成，如图 2，咖啡色线条标出的蔓延面积均为 6.5 个方格，忽略这些方格，计数其余个方格的菌落数为 12，然后乘以 $(20/20-6.5)$ ，得到最终的结果 18 个。

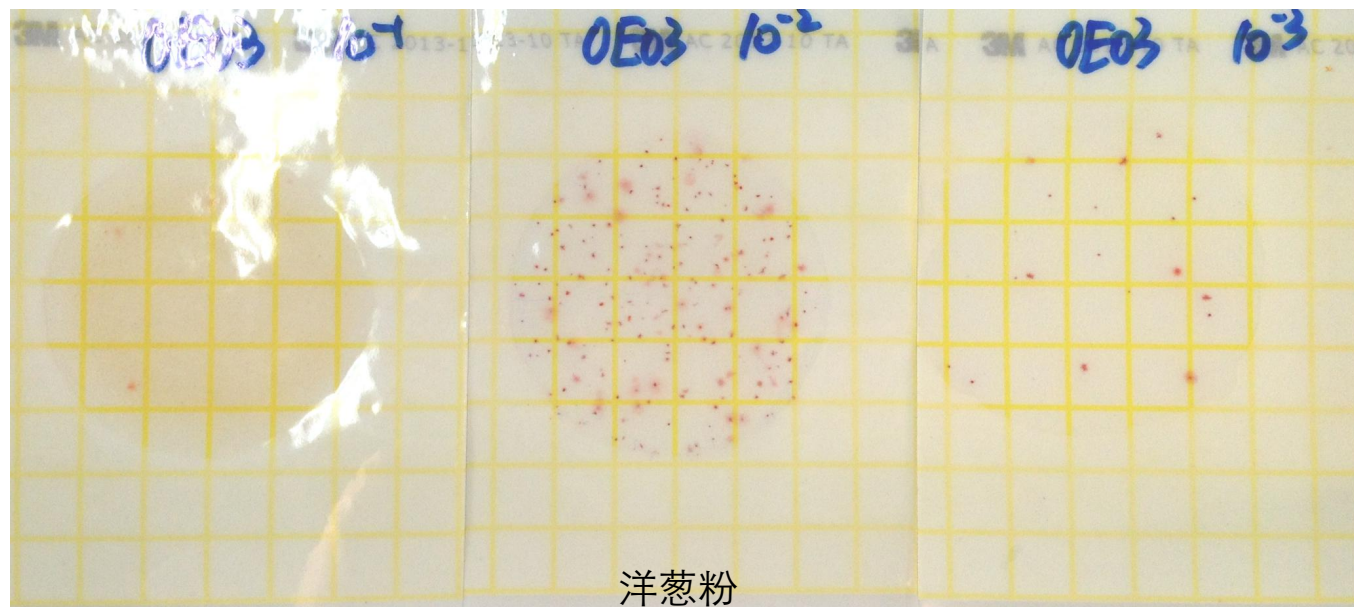
3M™ Petrifilm™ 菌落总数测试片的判读

情况3: 当蔓延菌落大于总面积的一半时, 建议客户提前12h/24h做标记, 或提前12h计数; 同时可以使用PYM的压板, 并减少叠放片数

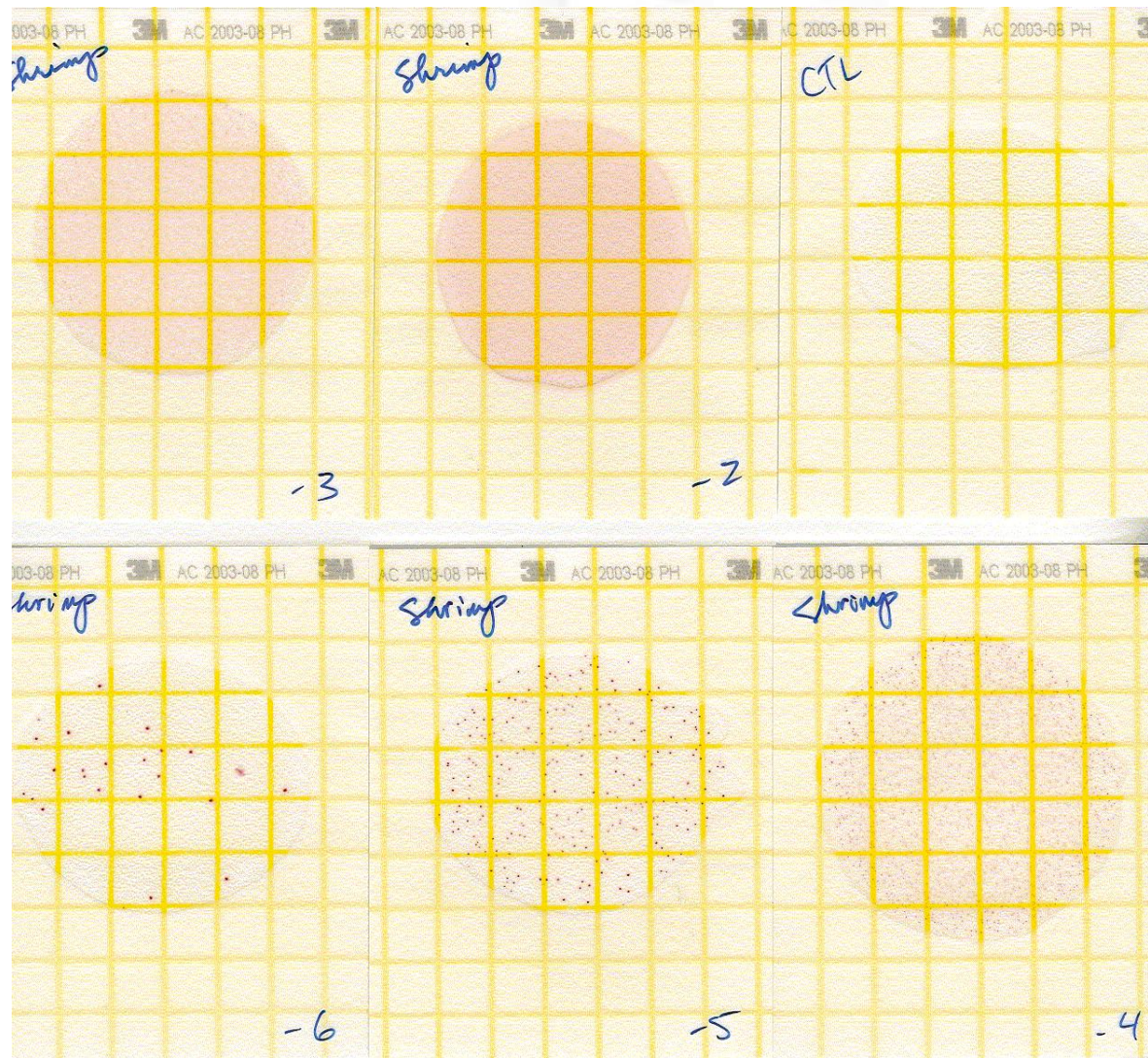


3M™ Petrifilm™ 菌落总数测试片的判读

调味料：低稀释度不生长？



系列稀释
有助于更
好地判读
结果!



3M™ Petrifilm™ 菌落总数测试片的判读

PAC - 低稀释度不生长?

稀释度	1:10	1:100	1:1000	1:10000
CFU	0	0	21	8

原因

- 防腐剂
- pH
- 乳酸菌
- 任何其它可能的抑制性成份

解决

- 提高稀释度 (未必10倍梯度)
- 过滤

3M™ Petrifilm™ 菌落总数测试片乳酸菌的检测

乳酸菌

- 利用糖发酵产大量乳酸的细菌
- 厌氧或兼性厌氧，革兰氏阳性，无芽胞，多数无动力，过氧化氢酶阴性
- 至少23个属，包括乳杆菌属、双歧杆菌属、链球菌属、肠球菌属等
- 同型（只产酸）& 异型（产酸产气）

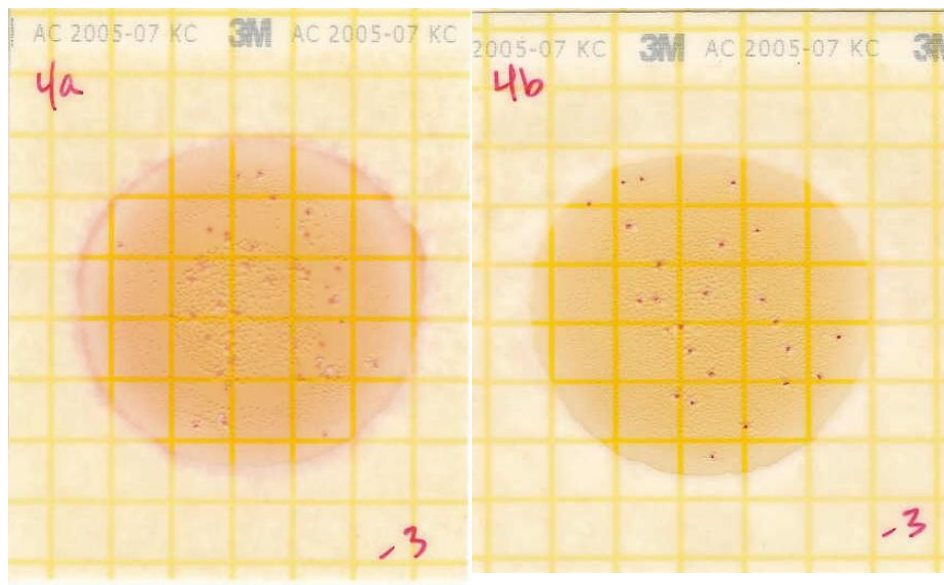
3M™ Petrifilm™ 菌落总数测试片乳酸菌的检测

PAC + MRS肉汤检测乳酸菌

- MRS肉汤的作用
- 两倍浓度(2×)MRS
0.5mL 1:10标准稀释液 + 0.5 mL (2×)MRS = 1:20含单
倍浓度MRS的样品稀释液
- 厌氧环境
- 结果判读与计数 — 确认的结果, 无需验证

3M™ Petrifilm™ 菌落总数测试片乳酸菌的检测

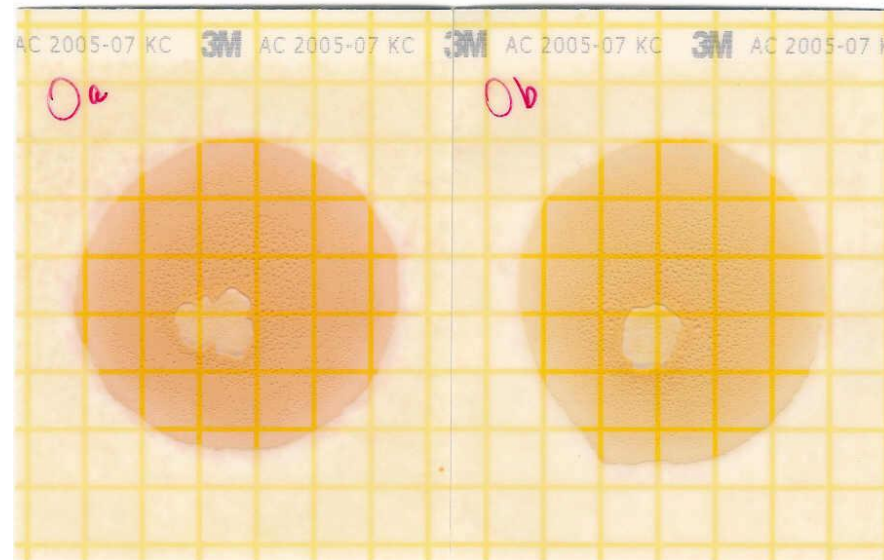
厌氧培养实例 1 — 还原性催化试剂



- 测试片a = 黄油奶酪， AnaeroPack 2.5 L System
- 测试片b = 黄油奶酪， BD GasPak 100 System

3M™ Petrifilm™ 菌落总数测试片乳酸菌的检测

厌氧培养实例 2 — 还原性气体



- 测试片a = 厌氧培养箱
- 测试片b = BD GasPak 100 System

3M™ Petrifilm™ 菌落总数测试片的菌落鉴定

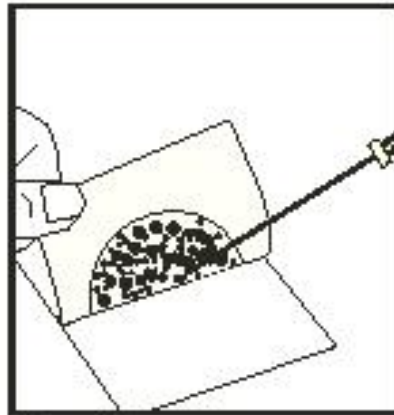


Figure 11
To isolate colonies for further identification, lift the top film and pick from the colony within the gel using a loop or similar device.

- 鉴定方法:

- 1、揭开上层膜
- 2、使用接种环或相似的工具从测试片上的胶体上挑取菌落
- 3、将菌落转移至非选择性培养基进行培养
- 4、鉴定



3M™ Petrifilm™快速菌落总数测试片RAC



双联指示剂技术对结果进行判读

主要特点

- 快速菌落测试片能在24小时对不同种类的食品进行检测。



3M™ Petrifilm™ 快速菌落总数测试片产品特征

检测时间	24 +/- 2 hr (奶粉、乳清粉48 +/- 2 hrs)
稀释液	0.1% 蛋白胨水 (ISO 标准), Butterfield' s 磷酸盐缓冲液(ISO 5541-1), 李氏肉汤 (不含硫酸氢盐), 蒸馏水, 盐溶液(0.85%-0.90%), 蛋白胨盐稀释液, 缓冲蛋白胨水(ISO).
培养温度	32° C 或 35° C
食品类型	所有食品
参考方法	24 hr 结果与48小时的参考方法无显著差异: • 标准平板法(SMA)
判读简单	比琼脂平板法或AC测试片更易判读, 减少液化
pH 范围	pH5 以上产品无需 pH调节
可计数范围	30-300CFU
培养时叠放片数	最多 40 片 (如果遵循SMEDP标准方法, 最多20片)
环境检测	测试片可用于环境涂抹、空气采样及表面样品。用于空气采样时, 水化测试片, 在使用前至少放置1天; 表面采样时, 水化好的测试片至少在使用前放置3天; 水化好的测试片最多冷藏放置7天。
冷冻测试片	培养后测试片可以冷冻最多1周判读, 菌落与立即判读类似
运输条件	周围温度运输, 收到后冷藏
货架期	未开封、冷藏: 18个月 2015年1月6日, 上市时货架期为: 9 个月并将根据实时试验结果延长 开封 (室温): 30 天

3M™ Petrifilm™ Rapid Aerobic Count Plates 判读规则

3M™ Petrifilm™ 快速菌落总数测试片可使用受照放大镜辅助计数。计数所有菌落，无论大小、颜色或色彩强烈度。 **双联指示技术-判读所有蓝色和红色菌落**

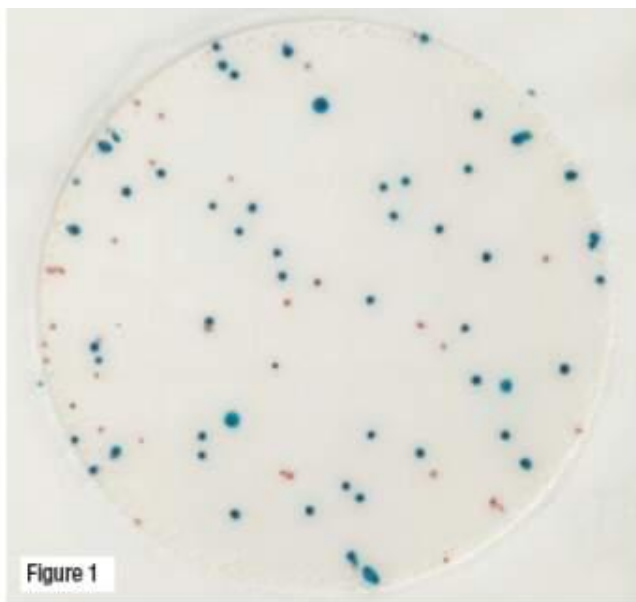


Figure 1
菌落总数=88

蓝色和红色指示剂使测试片中的菌落显色。计数所有菌落无论大小或色彩强烈。

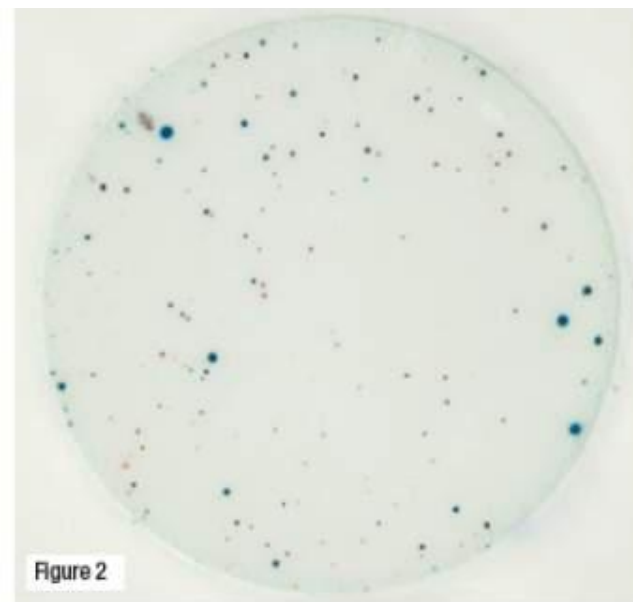


Figure 2
菌落总数=204

环境监控的应用

空气采样



表面接触采样



Swab 涂抹



- 测试片可用于环境涂抹、空气采样及表面样品。
- 用于空气采样时，水化测试片，在使用前至少放置1天；
- 表面采样时，水化好的测试片至少在使用前放置3天；
- 水化好的测试片最多冷藏放置7天。

3M™ Petrifilm™ Rapid Aerobic Count Plates

快速使用指南



1 将3M Petrifilm 快速菌落总数测试片放置在平坦处。揭开上层膜。使用3M电子移液枪或其他移液器吸取1mL样液或稀释后的样液垂直加至测试片的中心处。

2 轻轻将上层膜放回以防止样液溢出及避免截留住气泡。不允许上层膜直接落下。

3 将3M Petrifilm 快速菌落总数测试片压板(6425)或其他平面压板放在测试片上的中心处

4 轻压压板以使样液在圆形区域内分散开。不要拖动或滑动压板。

5 拿开压板。静置1分钟使凝胶凝固。

使用适宜的无菌稀释液：

磷酸盐缓冲液 (ISO 5541-1)，缓冲蛋白胨水 (ISO)，0.1%蛋白胨水，蛋白胨盐稀释液，生理盐水 (0.85-0.90%)，不含亚硫酸氢盐的letheen肉汤或蒸馏水。请勿将包含柠檬酸盐、硫酸氢盐或硫代硫酸盐的稀释液与3M Petrifilm快速菌落测试片配合使用；它们可抑制生长。如果指明使用柠檬酸盐缓冲液，以0.1%蛋白胨水代替，加热至40-45℃。

接种测试片的过程相同

3M™ Petrifilm™ Rapid Aerobic Count Plates

使用说明 - 培养时间与温度

乳制品（不包括奶粉）及海产品：

在 $32^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 温度下培养 3M Petrifilm RAC 测试片达到 24 小时 \pm 2 小时。

所有其他食品：

在 $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 温度下培养 3M Petrifilm RAC 测试片达到 24 小时 \pm 2 小时。

奶粉（包括乳清粉）：

在 $32^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 温度下培养 3M Petrifilm RAC 测试片达到 48 小时 \pm 2 小时。



3M™ Petrifilm™ 快速菌落总数测试片24小时出结果
以上温度培养，测试片效果最佳。

2014 IAFP 海报 - 与传统方法的比较

Rapid Quantitative Enumeration of Aerobic Count Bacteria in Foods
食品中菌落总数快速定量计数方法



实验方法

3M™ Petrifilm™ 快速菌落总数测试片 (RAC) 在 30°C、32°C 及 35°C 的表现性能与标准方法进行对比。此项研究检测了包括革兰氏阳性与革兰氏阴性菌在内的 36 株细菌菌株。每种细菌用 Butterfield's 磷酸盐缓冲液进行系列稀释。3M Petrifilm RAC 与标准方法各接种 1ml 适宜稀释度的样液（标准方法所用培养基；倾注平板法；乳酸菌检测参考方法：MRS 琼脂），每个稀释度接种两个。24 小时计数 3M PETRIFILM RAC，对比标准方法在 48 小时（32°C 或 35°C）或 72 小时（ISO 4833, 30°C）的结果。实验所用微生物在需氧环境下进行培养，乳酸菌需在厌氧罐中培养。

食品基质

此项研究评估3M Petrifilm RAC在不同的食品基质中及其他微生物存在的干扰条件下的表现性能。**78种自然污染的食品基质**使用这种新型的脱水膜片法与参考标准方法(美国, 食品及药物管理局细菌学分析手册 (FDA-BAM) 及ISO 4833) 进行对比。每种食品样品用Butterfield's 磷酸盐缓冲液进行系列稀释。3M Petrifilm RAC 与参考标准方法(标准方法所用培养基; 倾注平板法) 各接种1mL适宜稀释度的样液, 每个稀释度接种两个。3M PETRIFILM RAC 24小时的计数结果, 对比标准方法在48小时(32°C或35°C) 或72小时(ISO4833, 30°C) 的结果。



环境检测

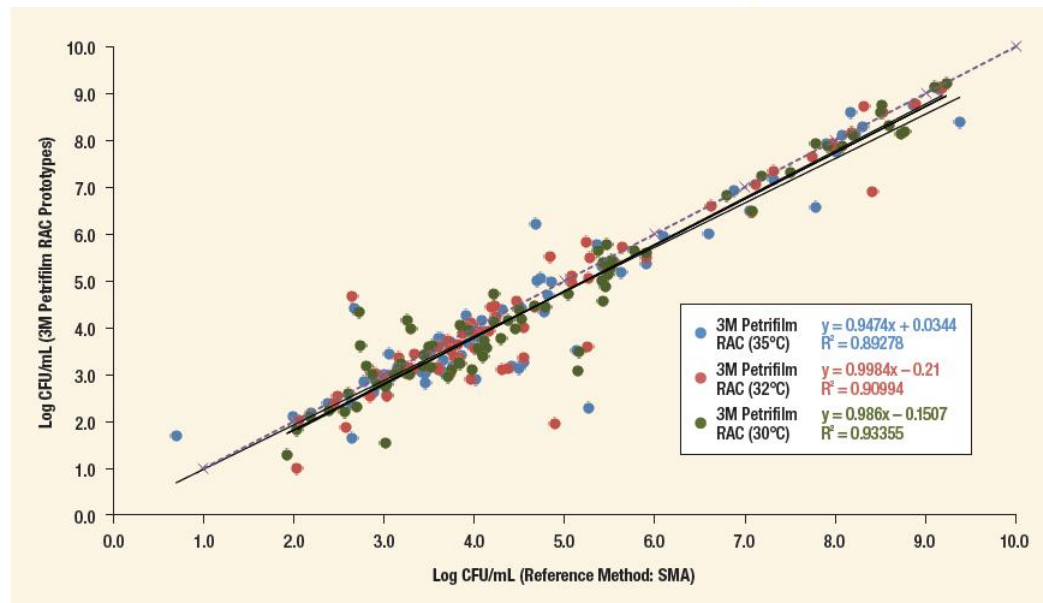
3M Petrifilm RAC使用空气取样法、涂抹接触法和**直接接触法**对环境进行监测, 对比适用的参考方法。空气取样法与直接接触法预先用1mL Butterfield's磷酸盐缓冲液与不含亚硫酸氢盐的Letheen肉汤进行水化。采样前水化好的测试片在冰柜中(<-20°C) 储存3天。

涂抹接触法使用含Letheen肉汤的3M™快速涂抹棒及含中和剂的3M™涂抹海绵。

2014 IAFP 海报 - 与传统方法的比较

Rapid Quantitative Enumeration of Aerobic Count Bacteria in Foods 食品中菌落总数快速定量计数方法

图4 线性回归分析图-3M™ Petrifilm™ 快速菌落总数测试片对各种自然污染的样品的培养计数结果(30°C, 32°C 和 35°C, 24小时); 标准方法(30°C, 72小时; 32°C 和 35°C, 48小时)



3M™ Petrifilm™ RAC 在 30C, 32C, 35C 检测78 种食品的结果与标准平板法一致

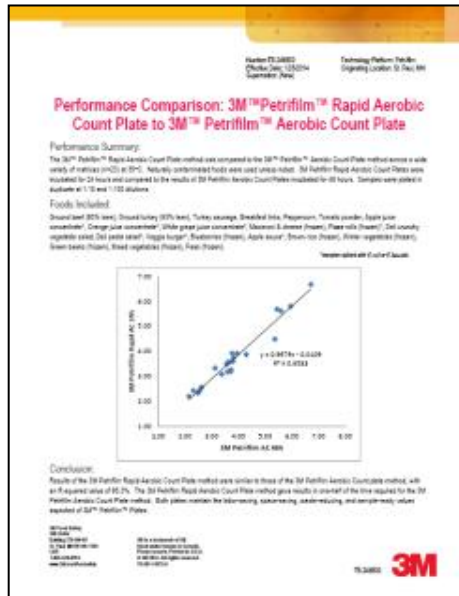
IAFP国际会议报道 - 与传统方法的比较



结 论

- 3M Petrifilm RAC 24小时的计数结果与标准方法48 - 72小时的结果一致。
- 3M Petrifilm快速菌落总数测试片在不同的培养温度下30°C, 32°C 和35°C 性能表现一致
- 此新方法在保证优异的表现性能前提下具有更加快速出结果、判读更加容易的优点, 这对食品加工企业至关重要。

Performance Comparison 性能比较 (RAC与PAC测试片的性能比较)



Performance Comparison: 3M™ Petrifilm™ Rapid Aerobic Count Plate to 3M™ Petrifilm™ Aerobic Count Plate

Performance Summary:

The 3M™ Petrifilm™ Rapid Aerobic Count Plate method was compared to the 3M™ Petrifilm™ Aerobic Count Plate method across a wide variety of matrices (n=23) at 35°C. Naturally contaminated foods were used unless noted. 3M Petrifilm Rapid Aerobic Count Plates were incubated for 24 hours and compared to the results of 3M Petrifilm Aerobic Count Plates incubated for 48 hours. Samples were plated in duplicate at 1:10 and 1:100 dilutions.

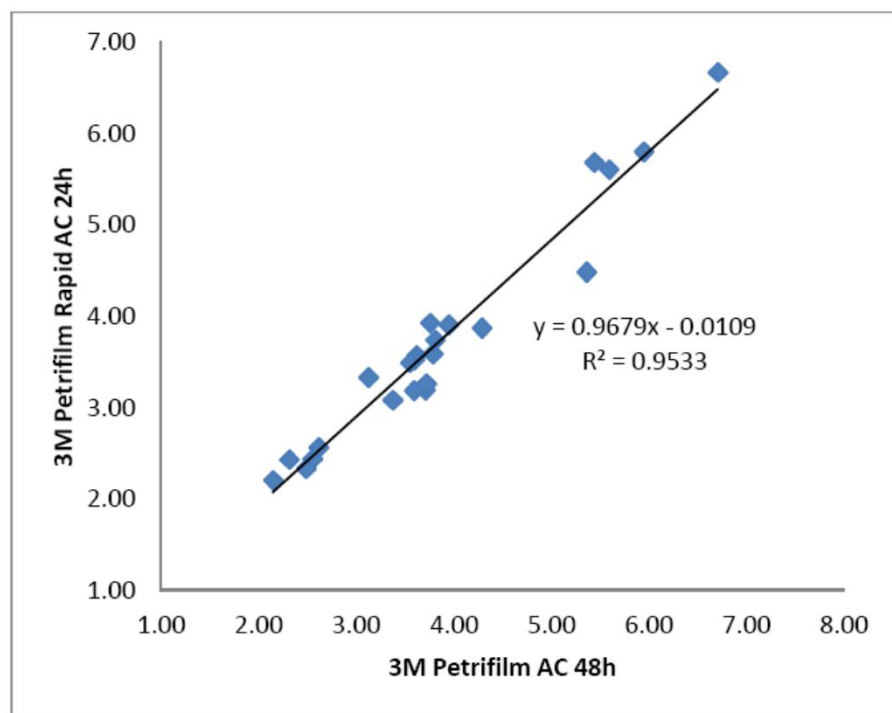
Foods Included:

Ground beef (80% lean), Ground turkey (93% lean), Turkey sausage, Breakfast links, Peppercorn, Tomato powder, Apple juice concentrate*, Orange juice concentrate*, White grape juice concentrate*, Macaroni & cheese (frozen), Pizza rolls (frozen)*, Deli crunchy vegetable salad, Deli pasta salad*, Veggie burger*, Blueberries (frozen), Apple sauce*, Brown rice (frozen), Winter vegetables (frozen), Green beans (frozen), Mixed vegetables (frozen), Peas (frozen).

*samples spiked with *E. coli* or *E. faecalis*

结论:

3M 快速菌落总数测试片(RAC)与菌落总数测试片(AC)的结果等效, 线性相关系数为95.3%. RAC出结果的时间仅为AC的一半。两种测试片均能有效节省劳力, 空间, 样品制品的好处。



RAC能快速出结果, 减少液化, 减少pH调节, 具有限定的接种区域, 以及能检测PAC上不易判读的微球菌。

AOAC PTM 121403

- 生牛肉、猪肉、火鸡
- 新鲜虾、金枪鱼、苏瓦伊鱼
- 鸡肉、生畜
- 樱桃番茄、冷冻蓝莓，杏子、色拉
- 面团
- 香草冰淇淋、奶粉、巴氏乳

AOAC OMA 2015.13



17.2.11

AOAC Official Method 2015.13 Enumeration of Aerobic Bacteria in Food 3M Petrifilm Rapid Aerobic Count Plate First Action 2015

[Applicable to the enumeration of aerobic bacteria from raw ground beef, raw ground pork, raw ground turkey, chicken carcass rinsate, fresh swai, fresh tuna, fresh tiger shrimp, raw easy-peel shrimp, cherry tomato wash, frozen blueberries, Mediterranean apricots, creamy salad dressing, fresh pasta, vanilla ice cream, instant nonfat dry milk (NFDM), and pasteurized skim milk.]

Caution: After use, the diluents and 3M Petrifilm RAC Plates may contain microorganisms that may be a potential biohazard. When testing is complete, follow current industry standards for the disposal of contaminated waste. Consult the Material Safety Data Sheet for additional information and local regulations for disposal.

To reduce the risks associated with bacterial infection and workplace contamination: Perform 3M Petrifilm RAC Plate testing in a properly equipped laboratory under the control of a skilled microbiologist. The user must train personnel in current proper testing techniques; for example Good Laboratory Practices, ISO 17025, or ISO 7218.

对于企业意味着…

检测时间的缩短 (48h缩短到24h)

- 对原料加速放行, 提高企业的生产率
- 降低仓储压力, 节约库存成本
- 快速结果
 - 可行帮助企业进行成品放行
 - 质量问题的快速纠正

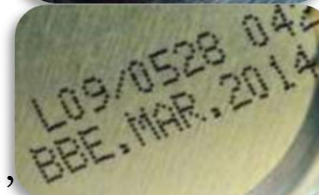


原奶分离菌.
3M Petrifilm 快速菌落
总数测试片 24 小时.

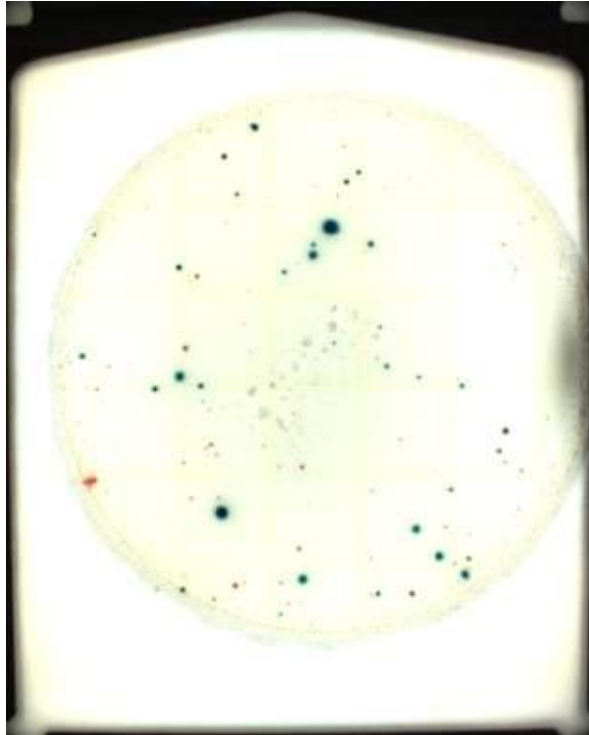


原奶分离菌
标准平板法, 48 小
时

- 测试片仅需很少的存放空间
- 得到更多的增值服务
- 可以对有疑问的菌株进行保存, 鉴定, 帮助客户寻找污染源



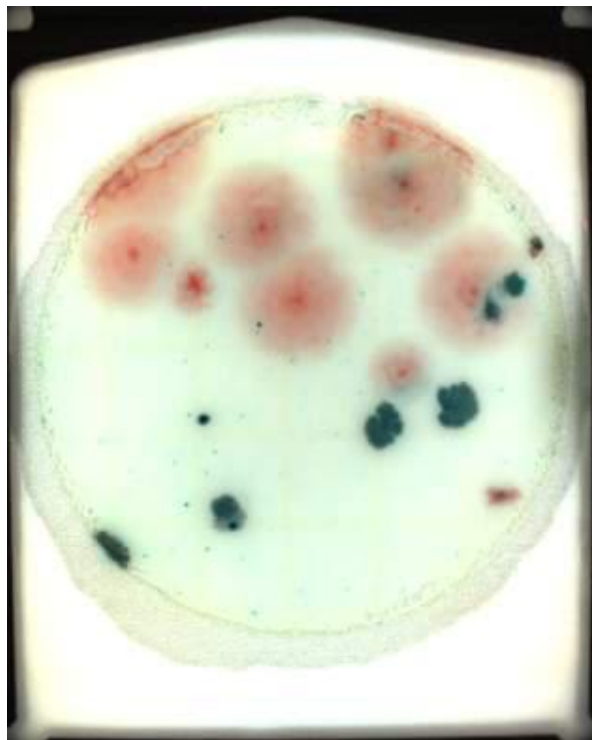
猪肉



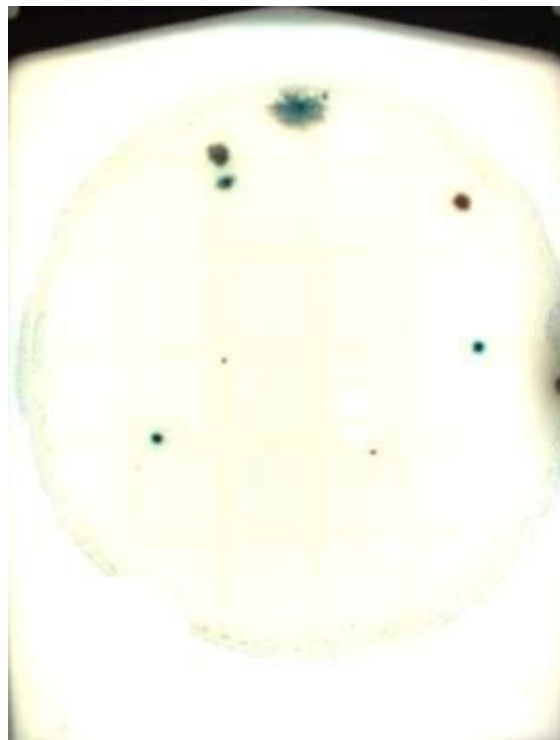
对虾



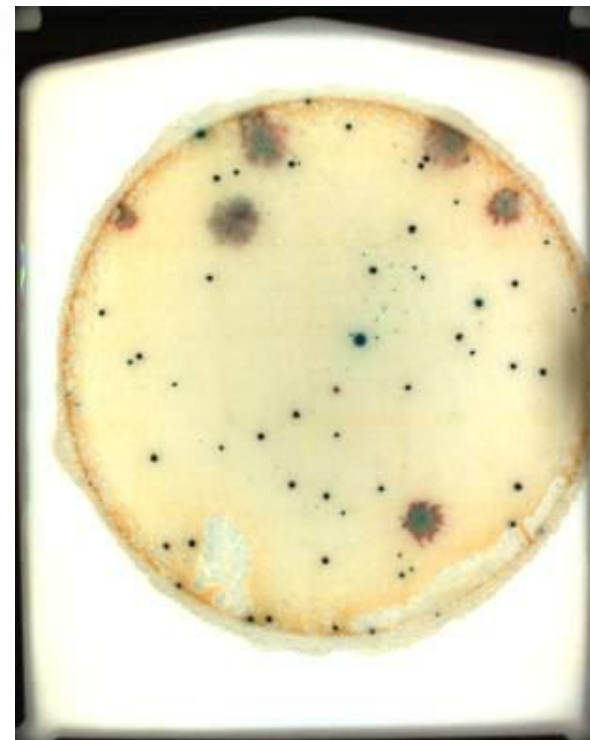
大蒜粉



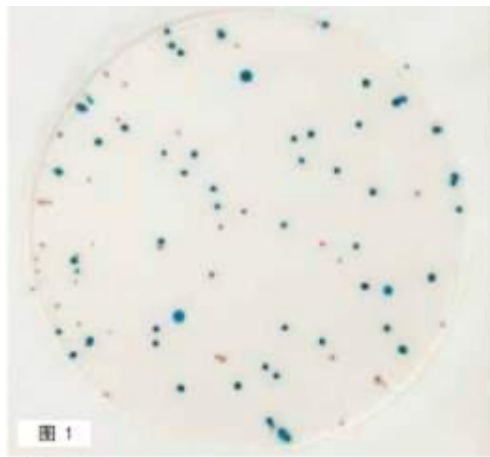
面粉



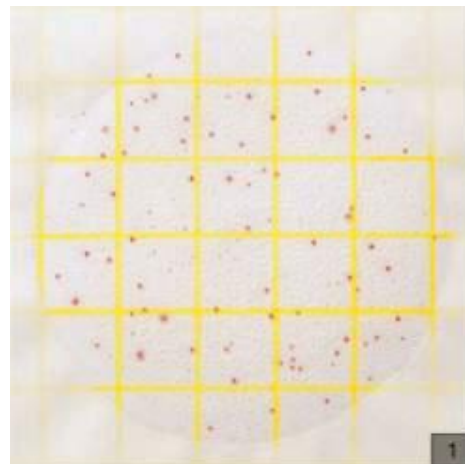
乳清粉



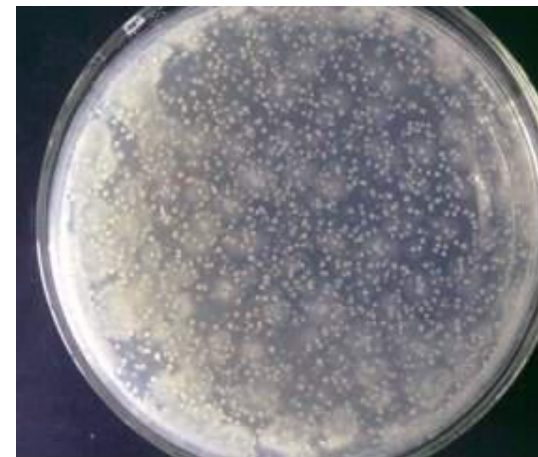
3M™ Petrifilm™ 快速菌落总数测试片 (RAC) 相对于PAC和传统平板方法, 有哪些改进?



3M Petrifilm 快速菌落总数
测试片



3M Petrifilm 菌落总数测试
片

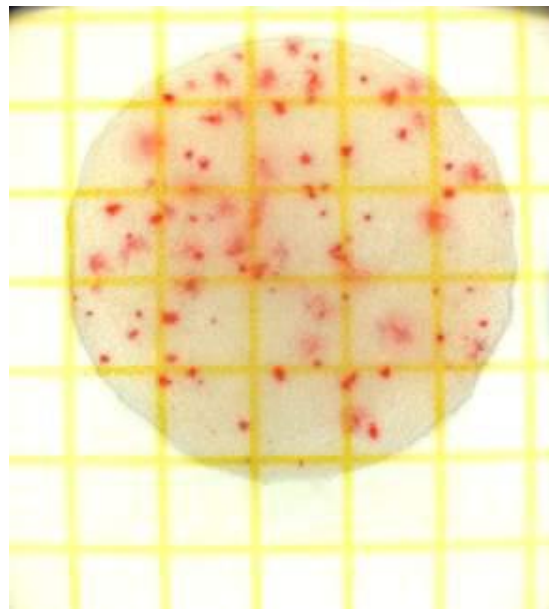
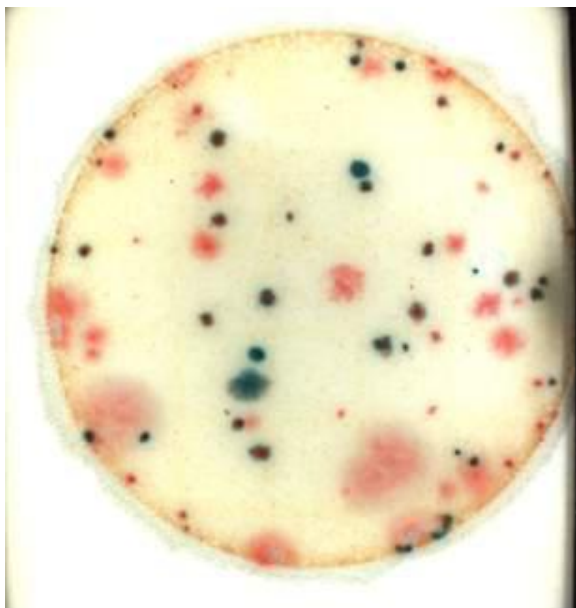


传统平板

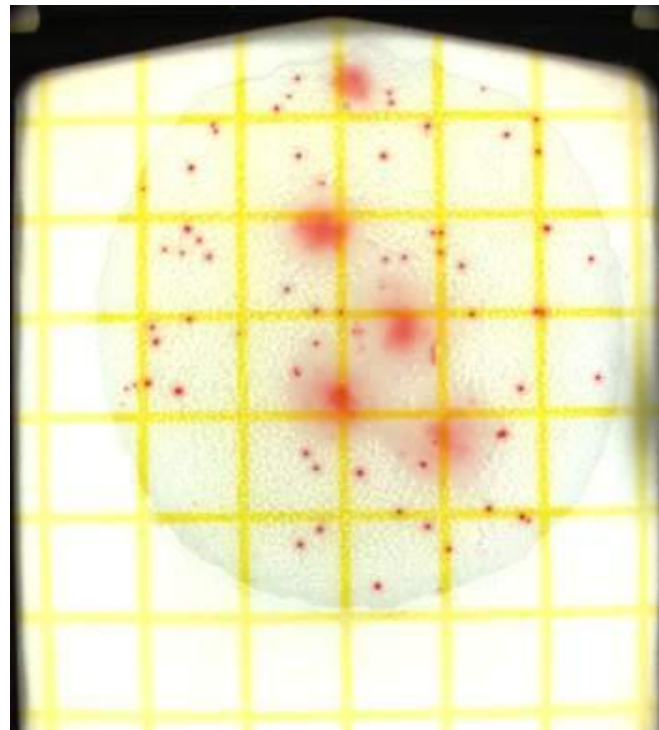
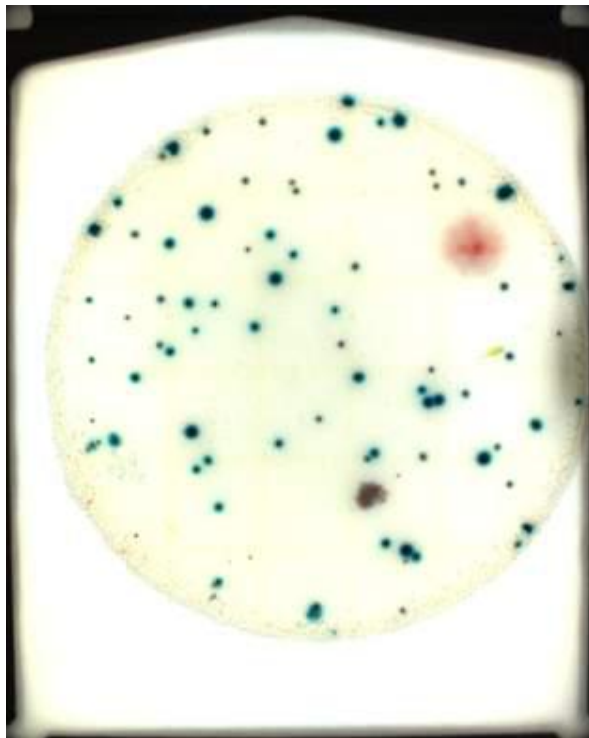
RAC Vs PAC

<u>性能参数</u>	<u>PAC</u>	<u>RAC</u>
样品的PH	PH在6.6-7.2之间	pH5 以上产品无需 pH调节
培养时叠放片数	20片	40片
培养时间	36 ± 1°C 培养48 ± 2h	36 ± 1°C 培养24 ± 2h 奶粉（包括乳清粉） 36 ± 1°C 培养48 ± 2h
菌落颜色	只计数红色菌落	红色和蓝色菌落均计数
接种面积	20cm ²	30cm ²
接种区域	无固定的泡棉	有固定的泡棉（防止样液溢出）
指示剂	TTC	双联指示剂
特殊菌（微球菌）的判读	能检测PAC上不易判读的微球菌	
	测试片上蔓延菌落的改进	

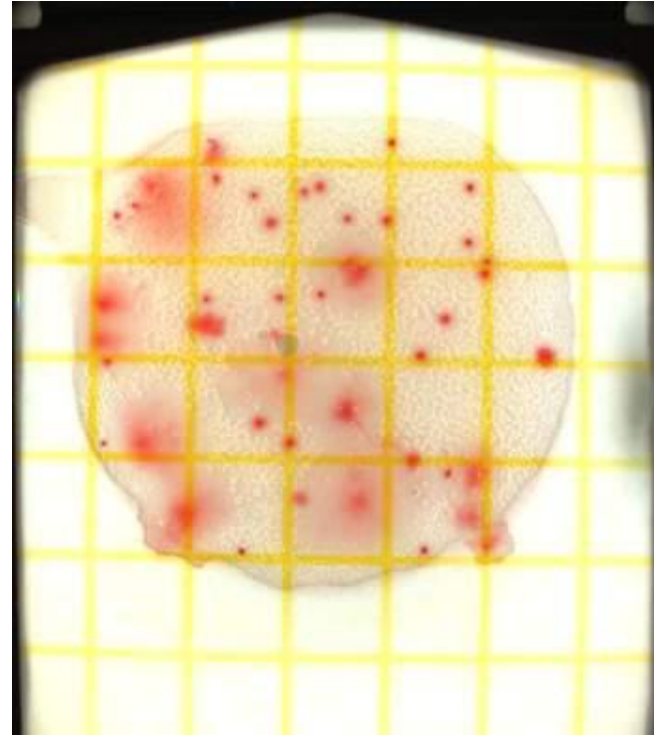
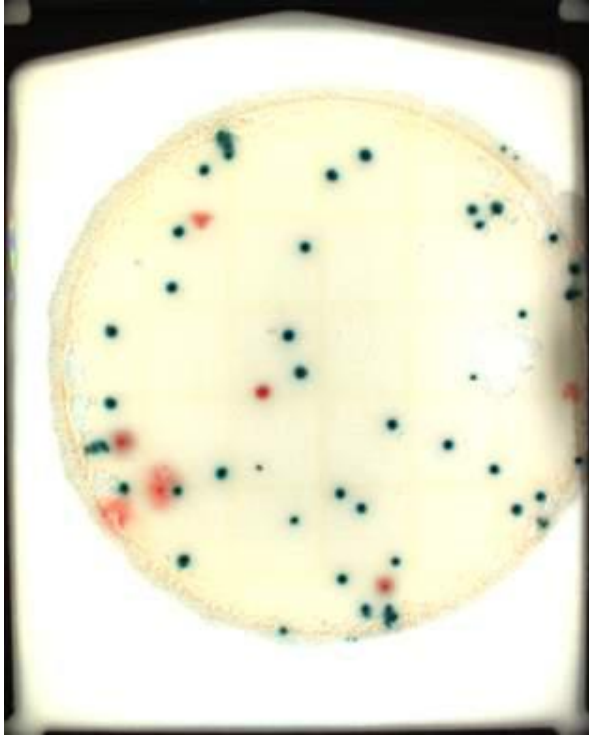
饼干, 36C (面粉类)



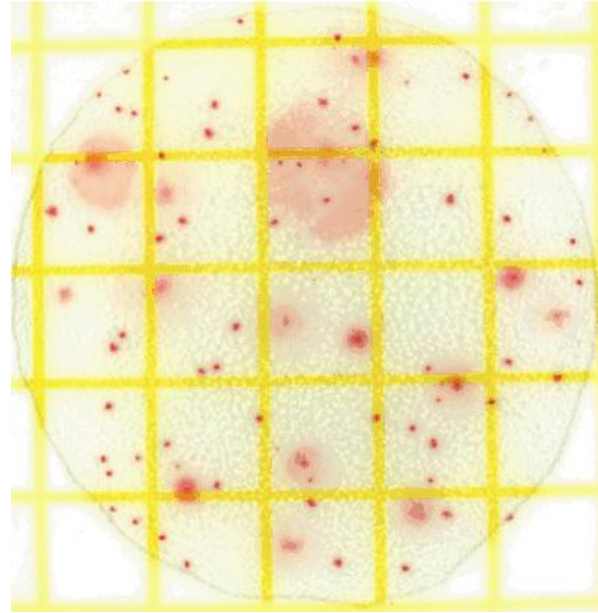
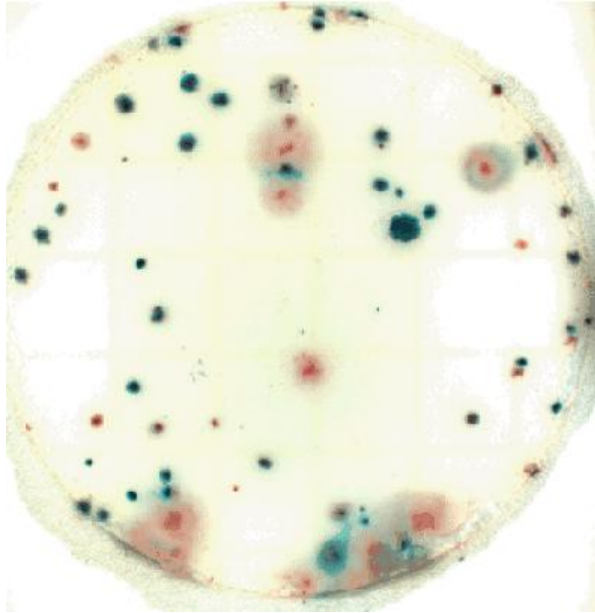
航空配餐 (面粉类)



冰淇淋



腌制粉 (调味料)



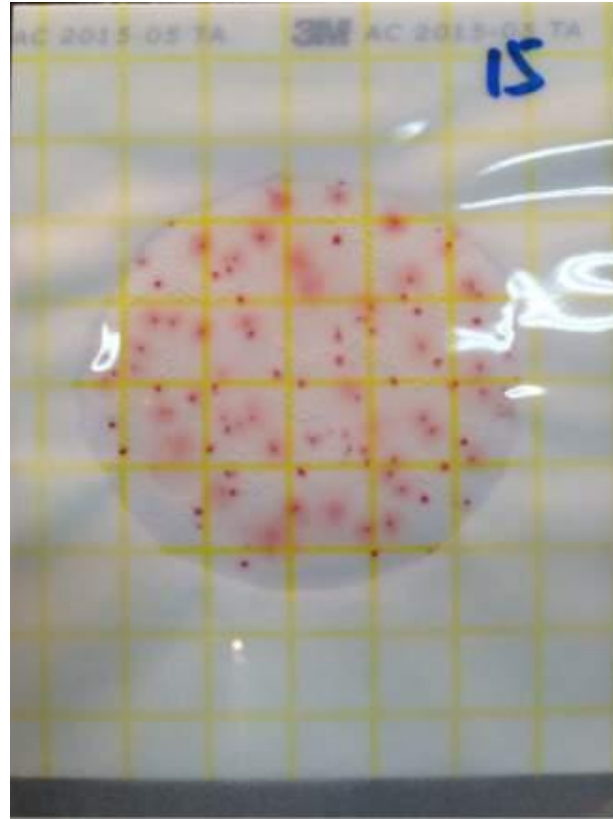
RAC Vs 传统方法

性能参数	RAC	传统方法
培养时叠放数	40片	6块
培养时间	乳品：不包括奶粉：32±1℃ 培养 24±2h 奶粉（包括乳清粉）：32±1℃ 培养 48±2h 其他食品：36±1℃ 培养24±2h	36±1℃ 培养48±2h； 水产品30±31℃ 培养 72±3 h
菌落颜色	红色和蓝色菌落均计数	白色
试验准备	不需要	准备培养基
材质	纸片，薄膜	玻璃
特殊菌的判读	蔓延菌落的改进	

膨化食品



1day



2days



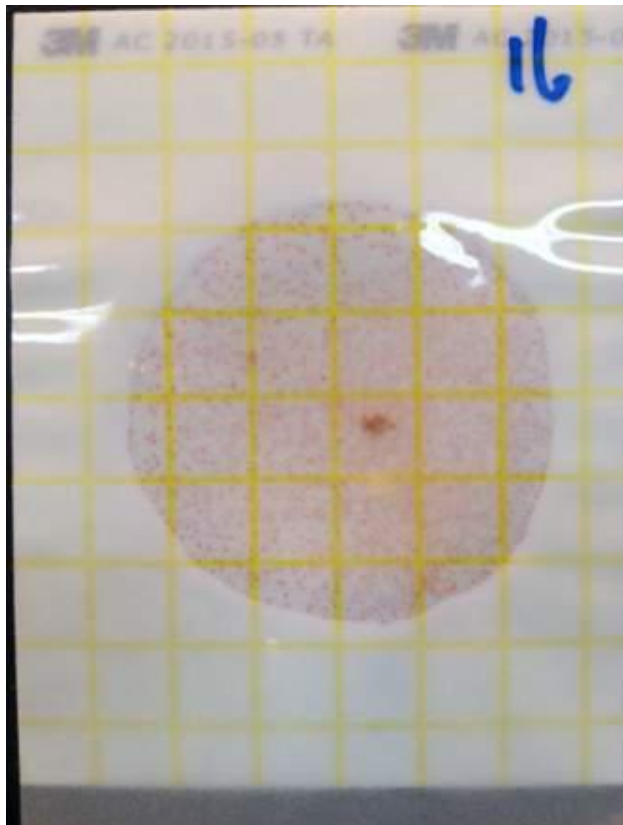
2days

有蔓延

糕点类



1day

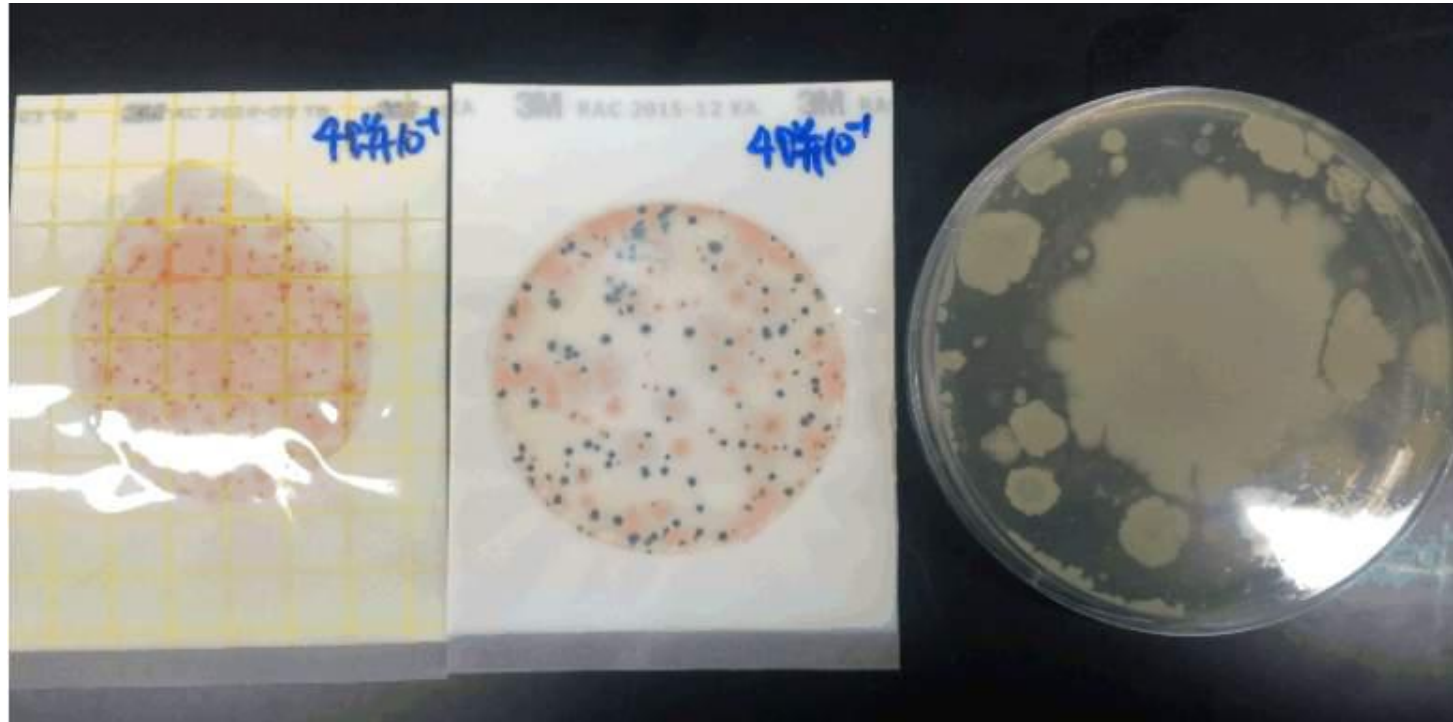


2days

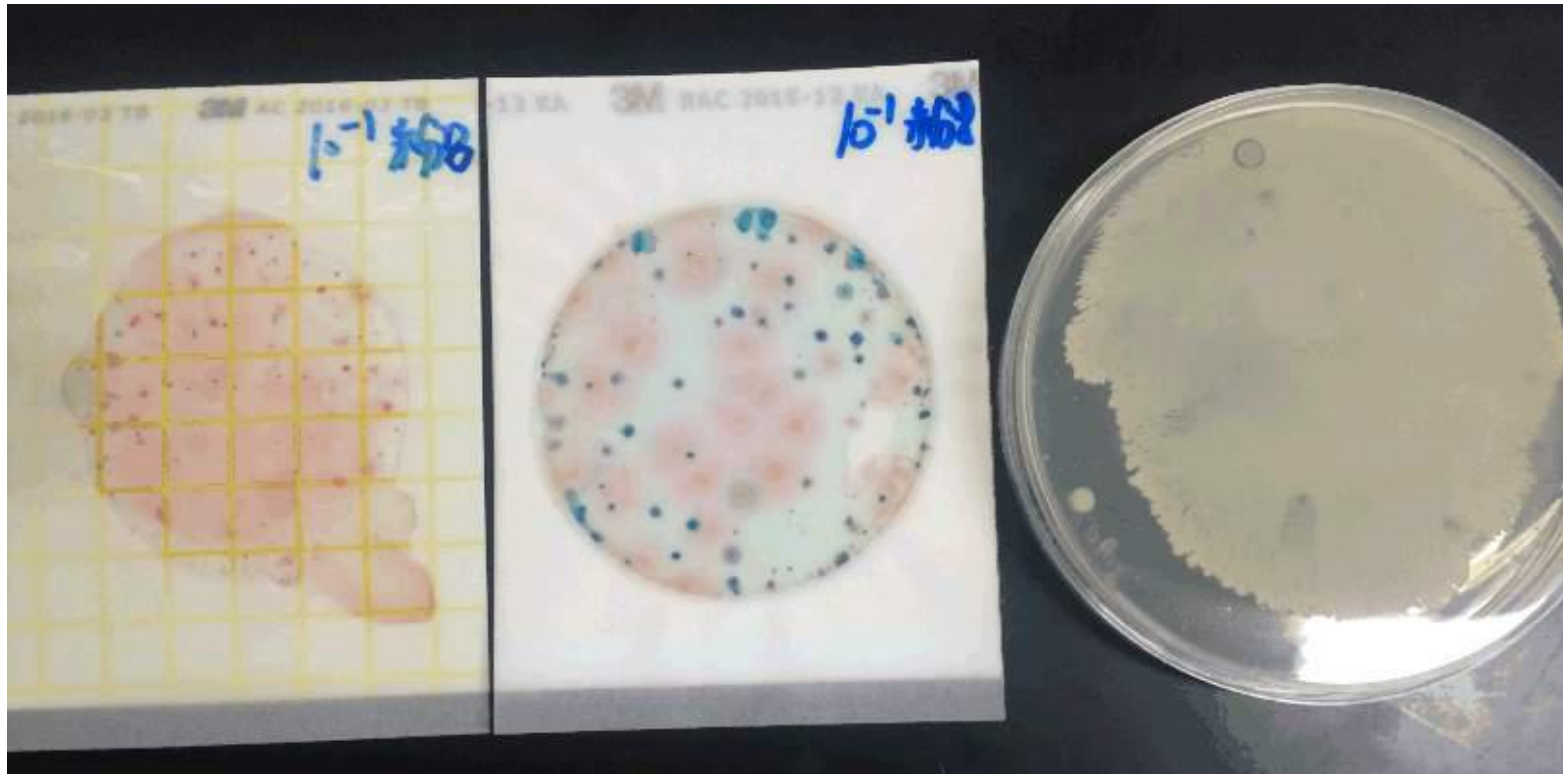


2days

饼干



面粉

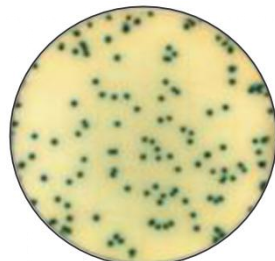


3M Petrifilm™ 快速菌落总数测试片 - 解决客户问题

琼脂平板上菌落蔓延
原奶, 调味品, 香料

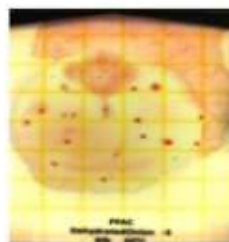


原奶, 标准平板法-48h

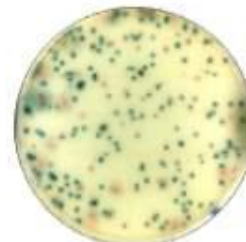


原奶 RAC-24h

AC测试片上的液化现象

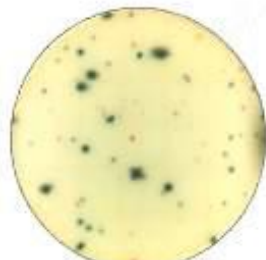


脱水洋葱, AC测试片-48h

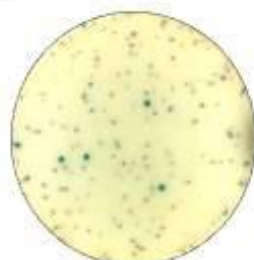


脱水洋葱 RAC-24h

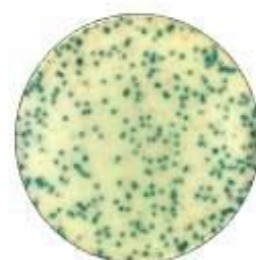
易腐烂、短货架期产品需要快速出结果
肉、水产品、乳制品、环境样品



Swab涂抹



碎牛肉



原奶

谢谢大家!

