

水中粪大肠菌群检测方法的比较

丁程成¹ 沈丽娟² 张翔² 徐东炯² 陈桥² 张小琼² 汤云² 李晶²

(1. 环境保护部南京环境科学研究所, 江苏 南京 210042;

2. 常州市环境监测中心, 江苏 常州 213001)

摘要: 采用标准菌株、实际水样和国际标准样品, 比较纸片快速法与多管发酵法的一致性。标准菌株试验表明, 两种方法在粪大肠菌群的定性检测上没有显著性差异; 实际水样试验表明, 纸片快速法的检测结果略低于多管发酵法, 但两种方法检测结果的回归关系显著; 国际标准样品试验表明, 两种方法的精密度与准确度均无统计学意义上的显著性差异。

关键词: 粪大肠菌群; 纸片快速法; 多管发酵法; 水质

中图分类号: X832 文献标识码: B 文章编号: 1006-2009(2013)03-0038-03

Comparison between Paper Disk Method and Multiple-tube Fermentation Technique in Water Fecal Bacteria (Thermotolerant Coliform Bacteria) Detection

DING Cheng-cheng¹, SHEN Li-juan², ZHANG Xiang², XU Dong-jiong²,

CHEN Qiao², ZHANG Xiao-qiong², TANG Yun², LI Jing²

(1. Nanjing Institute of Environmental Sciences, China Ministry of Environmental Protection, Nanjing, Jiangsu 210042, China; 2. Changzhou Environmental Monitoring Centre, Changzhou, Jiangsu 213001, China)

Abstract: Three kinds of samples were used to compare the uniformity between multiple tube fermentation method and paper disk method on detection of fecal coliform, including water sample, reference culture, and international reference sample. The result showed: there was no significant difference between the qualitative detection, the accuracy and precision of the two test methods, although the difference on quantitative detection of water sample was significant. And there was a high correlation between them. All those showed that paper disk method could be a directive method to detect microbe in water.

Key words: Fecal coliform; Paper disk method; Multiple tube fermentation method; Water quality

粪大肠菌群(Fecal coliform)是粪便污染的指示菌,我国对地表水、生活污水、医疗机构及禽畜养殖业等其他行业排放的废水进行环境监测时,多采用此项指标。目前,粪大肠菌群的标准检测方法为多管发酵法^[1],检测时间相对较长,需48h,试验步骤较为繁琐,无法快速评价水的卫生学状况。

纸片快速法主要参照ISO 9308-1:2000方法^[2]和《水和废水监测分析方法(第四版)》(C类方法)^[3],是我国《食(饮)具消毒卫生标准》(GB 14934-94)^[4]和《公共场所茶具微生物检验方法》(GB/T 18204.3-2000)^[5]中粪大肠菌群的标准检验方法,用于定性检测(茶)餐具的消毒效果,在各

级疾病控制部门得到了广泛的应用^[6-8]。在水质监测工作中,纸片快速法的应用也逐年增多^[9-12]。

纸片快速法用于水样定量检测时,与多管发酵法相同,也采用最可能数(MPN, most probable number)技术,今对两种方法用于水中粪大肠菌群的检测作比较。

收稿日期:2012-05-30; 修订日期:2013-03-15

基金项目:2009年度国家环境保护标准制修订基金资助项目(987)

作者简介:丁程成(1980—),女,安徽蒙城人,高级工程师,理学博士,从事生物监测与研究工作。

1 试验

1.1 主要仪器与试剂

GSP-9270MBE 型隔水式恒温培养箱,上海博迅实业有限公司医疗设备厂。

测试纸片由山东省疾控中心提供; 试验菌株来源于中国普通微生物菌种保藏管理中心和中国典型培养物保藏中心,标准菌株包括大肠埃希氏菌(ATCC 25922)、产气肠杆菌(CCTCC AB200052)、伤寒沙门氏菌(CCTCC AB94010)、金黄色葡萄球菌(CGMCC 1. 2386)、肺炎克雷伯氏菌(CGMCC 1. 1736)、嗜水气单胞菌(CGMCC 1. 2017)、铜绿假单胞菌(CGMCC 1. 2387)、弗氏柠檬酸杆菌(CGM-CC 1. 1732); 粪大肠菌群国际标准样品(ERA Waste Water Coliform Microbe,批号分别为 P195-083 和 Q031-083),由上海禾登实业有限公司提供; 其他所用培养基与试剂参照文献[1]。

1.2 样品来源

采集水库、湖泊、溪流、河流、污水处理厂废水、医院废水,以及禽畜养殖业废水,盛装于无菌广口瓶中。

1.3 试验方法

多管发酵法参照文献[1]; 纸片快速法参照文献[2-3]; 精密度与准确度计算参照《环境监测

分析方法标准制修订技术导则》(HJ 168-2010)的相关规定; 数据统计与整理使用 Excel 和 SPSS 10.0 软件。

2 结果与讨论

2.1 标准菌株模拟样品定性检测结果

将标准菌株的 24 h 肉汤培养物用无菌去离子水做 10 倍系列稀释,取合适的稀释度(10⁻⁹ ~ 10⁻⁴)检测。将多管发酵法和纸片快速法的检测结果作配对卡方检验(见表 1),表明无显著性差异(P=0.125)。

表 1 标准菌株模拟样品定性检测结果

Table 1 Qualitative detection of multiple tube fermentation method and paper disk method

多管发酵法	阳性	阴性	合计
纸片快速法 阳性	30	4	34
纸片快速法 阴性	0	71	71
合计	30	75	105

2.2 实际水样检测结果

用纸片快速法和多管发酵法对 72 个实际水样中的粪大肠菌群作比对检测,结果见图 1。

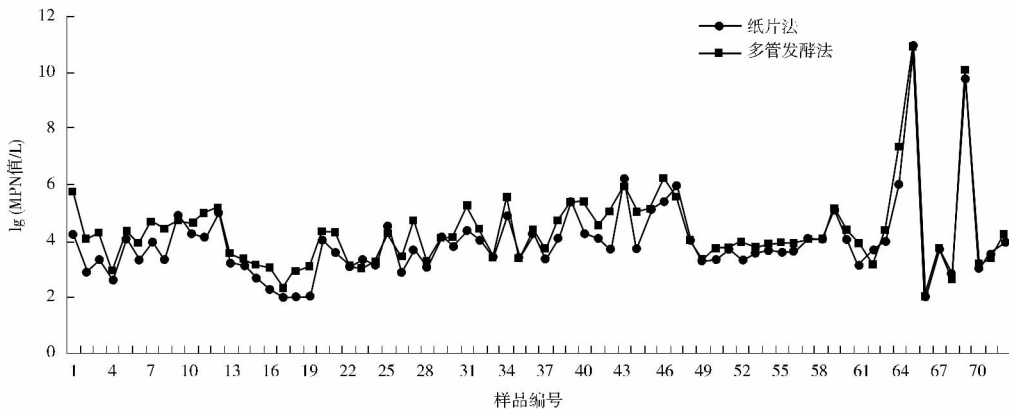


图 1 实际水样比对检测结果

Fig. 1 Quantitative detection of multiple tube fermentation method and paper disk method

为了使两组数据呈正态分布,对数据作对数处理后进行配对 t 检验^[13-14],结果见表 2。由表 2 可见,在粪大肠菌群的 MPN 值检测方面,纸片快速法与多管发酵法有显著性差异(P=0)。

对两种方法的检测结果作线性回归分析(见

表 3),线性关系为: lg 纸片快速法检测结果 = -0.116 + 0.946 lg 多管发酵法检测结果(R² = 0.894)。回归分析结果表明,回归系数(B)为 0.946,标准化回归系数(Beta)为 0.946,回归系数 t 检验 t = 24.335, P = 0(P < 0.05),可认为纸片快

速法与多管发酵法的检测结果之间有显著的相关关系。

表 2 实际水样配对 *t* 检验结果

Table 2 Paired *t*-test of multiple tube fermentation method and paper disk method

均值	标准偏差	标准误差	95% 置信区间		<i>t</i> 值	<i>df</i>	<i>P</i> 值
			差异性比较				
			下限	上限			
-0.034 7	0.467	0.055	-0.456	-0.237	-6.29	71	0

表 3 两种方法检测结果的线性回归分析

Table 3 Linear regression analysis of multiple tube fermentation method and paper disk method

参数	非标准化相关系数		标准化相关系数		<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
	<i>B</i>	标准误差	Beta	Beta		
变量	0.946	0.039	0.946	0.946	24.335	0

2.3 国际标准样品检测结果

用纸片快速法和多管发酵法对国际标准样品作比对试验 ($n = 4$), 并对两种方法检测结果的精密度与准确度作 *t* 检验, 表明均无显著性差异 ($P > 0.05$) 结果见表 4。

表 4 国际标准样品检测结果

Table 4 Accuracy and precision of multiple tube fermentation method and paper disk method

参数	多管发酵法(均值 ± 标准偏差) /%	纸片快速法(均值 ± 标准偏差) /%	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
精密度	4.57 ± 1.68	6.15 ± 1.86	1.26	0.26
准确度	-1.76 ± 5.19	-8.67 ± 1.72	-2.53	0.07

2.4 讨论

标准菌株模拟样品试验表明, 纸片快速法和多管发酵法在粪大肠菌群的定性检测上没有显著性差异。国际标准样品试验证明, 两种方法的精密度与准确度均无统计学意义上的显著性差异。实际水样试验表明, 纸片快速法的检测结果略低于经典的多管发酵法, 但两种方法检测结果的回归关系显著。这可能是由于纸片快速法是将接种后的样品直接置于培养箱中在 44.5 °C 培养, 而多管发酵法是将接种后的样品先置于 37 °C 环境中作初发酵试

验, 再置于 44.5 °C 环境中作复发酵试验, 比前者多一个富集过程。

纸片快速法相对于传统的多管发酵法, 具有操作简便、检测时间短(18 h ~ 24 h) 等优点^[15], 能够较为准确地判断水样微生物污染状况, 可以作为环境分析方法中粪大肠菌群的快速筛查方法。

[参考文献]

[1] 国家环境保护总局. HJ/T 347-2007 水质 粪大肠菌群的测定 多管发酵法和滤膜法(试行) [S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2007.

[2] ISO 9308 - 1: 2000, Water quality—Detection and enumeration of Escherichia coli and coliform bacteria—Part 1: Membrane filtration method [S].

[3] 国家环境保护总局《水和废水监测分析方法》编委会. 水和废水监测分析方法 [M]. 4 版增补版. 北京: 中国环境科学出版社, 2002: 714.

[4] 中华人民共和国卫生部. GB 14934-94 食(饮)具消毒卫生标准 [S]. 北京: 中国标准出版社, 1994.

[5] 国家质量技术监督局. GB/T 18204.3-2000 公共场所茶具微生物检验方法 大肠菌群测定 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2000.

[6] 余淑冰, 梁景涛, 陈淑玲. 检测大肠菌群纸片可疑结果的实验研究 [J]. 中国热带医学, 2004, 4(8): 618-619.

[7] 潘慧华, 李晶晶, 刘坚真. 大肠菌群一步发酵法检测的研究 [J]. 食品科学, 2006, 27(12): 637-641.

[8] 卢崇南. 纸片法检测大肠菌群测定结果的实验研究 [J]. 热带医学杂志, 2005, 5(1): 98-99.

[9] 方东, 陆贞芝, 王国祥. 纸片法快速测定水质总大肠菌群 [J]. 环境监测管理与技术, 1996, 8(4): 32-33.

[10] 马乐好, 阚方琦. 水中大肠菌群快检纸片的研究与应用效果观察 [J]. 中国卫生检验杂志, 2007, 17(2): 287-289.

[11] 韩桂春. 生活污水中粪大肠菌群快速监测方法——纸片法 [J]. 中国卫生检验杂志, 2003, 13(4): 475-476.

[12] 赵凌宇. 粪大肠菌群快速测定——纸片法的应用 [J]. 环境监测管理与技术, 2007, 19(4): 18-20.

[13] 罗应婷, 杨钰娟. SPSS 统计分析从基础到实践 [M]. 北京: 电子工业出版社, 2008.

[14] 高瑞坤, 汤琳, 付强. 水中粪大肠菌群快速检测方法——固定底物酶底物法与多管发酵法的比较 [J]. 中国环境监测, 2008, 24(4): 39-42.

[15] 赵春霞, 张哲海, 厉以强, 等. 酶底物法与多管发酵法和纸片法监测环境水样大肠菌群的比较 [J]. 环境监测管理与技术, 2009, 21(2): 63-64.