ICS 67.050
CCS X00/09

# T/HIFSA

## 海 南 食 品 安 全 协 会 团 体 标 准

T/HIFSA 0002—2023

# 水质微生物检测 光电检测法

（征求意见稿）

XXXX－XX－XX 发布　　XXXX－XX－XX 实施

海南省食品安全协会　　发 布

# 目 录

前言 ..... 2
水质微生物检测 光电检测法 菌落总数测定 ..... 4
水质微生物快速检测方法 大肠菌群测定 ..... 6
水质微生物快速检测方法 大肠埃希氏菌测定 ..... 8
水质微生物快速检测方法 铜绿假单胞菌测定 ..... 10
附录 ..... 13

# 前　言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则　第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由海南大学提出并归口。

本文件起草单位：海南大学、海南省微氪生物科技股份有限公司、中国科学院海洋研究所、海南省产品质量监督检验所、广西中源山泉有限公司、海南热带海洋学院食品科学与工程学院。

本文件主要起草人：万逸、崔倩、钟永捷、王鹏、吴毓炜、唐闻宁、黄健泓、范晓、薛长风、赵文阳。

本文件的所有权和解释权归海南省食品安全协会。

# 水质微生物检测 光电检测法

## 1 范围

本标准规定了水源水、生活饮用水及矿泉水、饮用纯净水等包装饮用水的水质中的菌落总数、大肠菌群、大肠埃希氏菌、铜绿假单胞菌等微生物检测的基本原则和要求、检测方法。

本标准适用于水质中菌落总数、大肠菌群、大肠埃希氏菌、铜绿假单胞菌的定性测定、相对定量测定和绝对定量测定。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB 4789.1 食品安全国家标准 食品微生物学检验 总则

GB 4789.2 食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定

GB 4789.3 食品安全国家标准 食品微生物学检验 大肠菌群计数

GB 4789.28 食品安全国家标准 食品微生物学检验 培养基和试剂的质量要求

GB 4789.38 食品安全国家标准 食品微生物学检验 大肠埃希氏菌计数

GB 8538 食品安全国家标准 饮用天然矿泉水检验方法

GB/T 5750.12 生活饮用水标准检验方法 微生物指标

GB/T 5750.2 生活饮用水标准检验方法 水样的采集与保存

GB 19489 实验室 生物安全通用要求

RB/T 033 微生物检测方法确认与验证指南

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1 相对定量检测：测定目的基因在两个或多个样本中的含量的相对比例。

3.2 绝对定量检测：测定目的基因在样本中的分子数目，即通常所说的拷贝数。

## 4 样品的采集

### 4.1 采样原则

4.1.1 样品采样应具有代表性、随机性和均匀性。

4.1.2 采样时应严格执行无菌操作，减少或避免交叉污染。

### 4.2 采样方案

4.2.1 生活饮用水及水源水的采集、贮存等参考GB/T 5750.2 《生活饮用水标准检验方法 水样的采集与保存》进行。

4.2.2 饮用天然矿泉水的水源水的采集和保存等参考GB 8538《饮用天然矿泉水检验方法》进行。

4.2.3 矿泉水等包装饮用水应采集相同批次、独立包装、适量件数的样品,每件样品的采样量应满足微生物指标检验的要求。

### 4.3 采集样品的标记

应对采集的样品进行及时、准确的记录和标记,内容包括采样人、采样地点、时间、样品名称、来源、 批号、数量、保存条件等信息。

### 4.4 采集样品的贮存和运输

4.4.1 样品在保存运输等过程中，应尽可能保持原有的状态，送检一般不应超过 4h。

4.4.2 如不能及时运送的样品，应存放在 0～4℃的冰箱或冷藏库内。

## 5 试验方法

### 5.1 菌落总数测定

#### 5.1.1 原理

在特定温度下培养特定的时间，细菌发酵产酸，在指示剂的作用下导致培养基发生颜色变化。

#### 5.1.2 仪器和设备

5.1.2.1 冰箱:2 ℃～5 ℃。

5.1.2.2 均质器。

5.1.2.3 振荡器。

5.1.2.4 无菌吸管:1 mL(具 0.01 mL 刻度)、5 mL(具 0.1 mL 刻度)或微量移液器及吸头。

5.1.2.5 恒温培养箱:36 ℃±1 ℃。

5.1.2.6 微生物光电检测系统（如 FORBID-M 光电检测仪）。

5.1.2.7 FORBID-M 光电检测管。

#### 5.1.3 培养基和试剂

5.1.3.1 菌落总数快速检测试剂:见附录 2.1。

5.1.3.2 磷酸盐缓冲液:见附录 2.2。

5.1.3.3 无菌生理盐水:见附录 2.3。

#### 5.1.4 检验程序

菌落总数的检验程序见图 1。

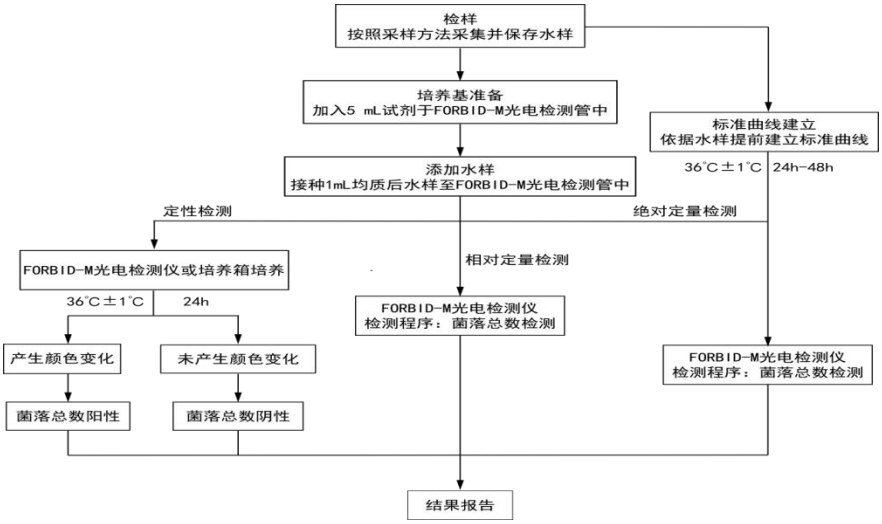


图 1 菌落总数检验程序

5.1.5 操作步骤

5.1.5.1 标准曲线建立（定量选做步骤）

5.1.5.1.1 使用无菌生理盐水对菌落总数质控菌株进行梯度稀释，选择 5-7 个适宜的稀释梯度，分别使用 FORBID-M 光电检测仪与传统营养琼脂平板法进行培养。

5.1.5.1.2 以仪器拟合拐点时间（h）为横坐标，平板计数结果对数值（log C）为纵坐标建立线性相关标准曲线，若线性相关系数满足 $R^2 \geqslant 0.98$ 可将标准曲线写入仪器并命名为菌落总数标准曲线，反之则需重新建立标准曲线。

5.1.5.2 培养基准备

使用一次性无菌吸管或微量移液器及吸头吸取菌落总数快速检测试剂加入 FORBID-M 光电检测管中，5 mL/管。

5.1.5.3 样品准备

在 100 级的洁净工作台进行样品混匀操作。

5.1.5.4 加样

使用一次性无菌吸管吸取 1 mL 混匀后的样品，注入已加好菌落总数快速检测试剂的 FORBID-M 光电检测管中并做好标记。其中 1 支检测管不加检测样品作为空白对照。

5.1.5.5 培养

5.1.5.5.1 定性检测：将 FORBID-M 光电检测管放入 36℃±1℃恒温培养箱培养 12-24 h 或者放入 FORBID-M 光电检测仪中，并设置程序：菌落总数，24 h。

5.1.5.5.2 相对定量检测：将 FORBID-M 光电检测管放入 FORBID-M 光电检测仪中，并设置程序：菌落总数，24 h。

5.1.5.5.3 绝对定量检测：将 FORBID-M 光电检测管放入 FORBID-M 光电检测仪中，选择菌落总数标准曲线，并设置程序为：菌落总数，24 h。

5.1.6 结果判定及表述

5.1.6.1 定性检测：培养结束后观察待检样品是否产生颜色变化。

5.1.6.1.1 若使用培养箱培养，则需人工观察结果。与空白对照相比，若测试孔明显浑浊或变黄即视

为菌落总数阳性，即“每 1 mL 水中检出菌落总数”；若测试孔未产生浑浊或变黄即视为菌落总数阴性，即“每 1 mL 水中未检出菌落总数”。

5.1.6.1.2 若使用 FORBID-M 光电检测仪培养，程序运行结束后会自动生成检测报告。若检测报告显示菌落总数 > 1 CFU/mL 即视为菌落总数阳性，即“每 1 mL 水中检出菌落总数”；若检测报告显示菌落总数 < 1 CFU/mL 即视为菌落总数阴性，即“每 1 mL 水中未检出菌落总数”。

5.1.6.2 相对定量检测：程序运行结束后自动生成检测报告。

若菌落总数为阳性，则会在检测报告上显示该样本的检出时间及菌落总数的范围值，也可根据附表 1 查表得出结果值；若菌落总数为阴性，则会在检测报告显示菌落总数 < 1 CFU/mL。

5.1.6.3 绝对定量检测：程序运行结束后自动生成检测报告。

若菌落总数为阳性，则会在检测报告上显示菌落总数的具体数值；若菌落总数为阴性，则会在检测报告显示菌落总数 < 1 CFU/mL。

## 5.2 大肠菌群测定

### 5.2.1 原理

在特定温度下培养特定的时间，大肠菌群能产生β-半乳糖苷酶( β_D-galactosidase )，将大肠菌群检测试剂中的邻硝基苯β-D-吡喃半乳糖苷（ONPG）分解为黄色的邻硝基苯酚（ONP）。

### 5.2.2 设备和材料

除微生物实验室常规灭菌及培养设备外,其他设备和材料如下:

### 5.2.3 设备

5.2.3.1 冰箱:2 ℃~5 ℃。

5.2.3.2 均质器。

5.2.3.3 振荡器。

5.2.3.4 无菌吸管:1 mL(具 0.01 mL 刻度)、5 mL(具 0.1 mL 刻度)或微量移液器及吸头。

5.2.3.5 恒温培养箱:36 ℃±1 ℃。

5.2.3.6 微生物光电检测系统（如 FORBID-M 光电检测仪）。

5.2.3.7 FORBID-M 光电检测管。

5.2.3.8 六联过滤器。

5.2.3.9 气液两用真空泵。

### 5.2.4 培养基和试剂

大肠菌群快速检测试剂:见附录 2.4。

### 5.2.5 检验程序

大肠菌群的检验程序见图 2。

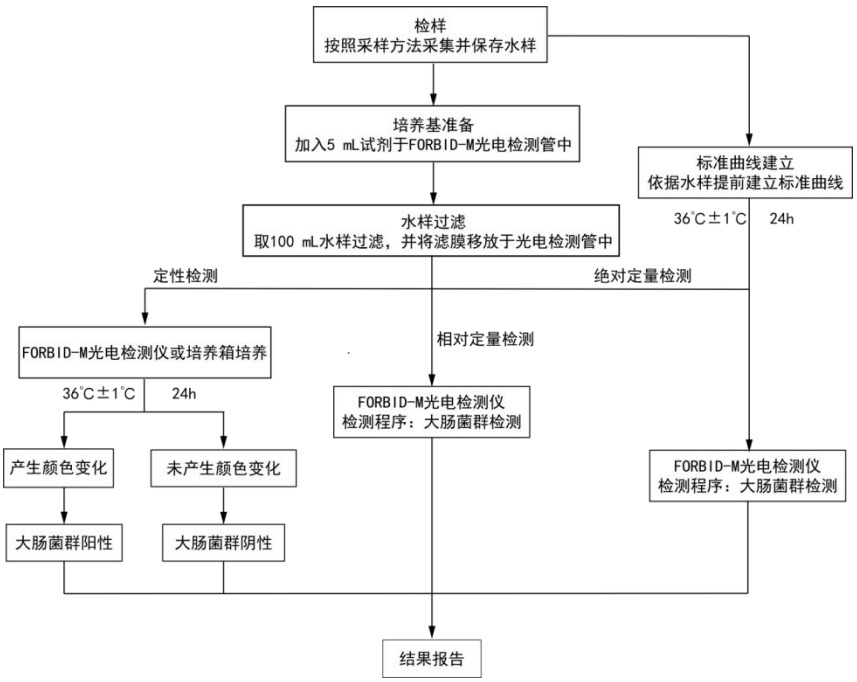


图 2 大肠菌群检验程序

5.2.6 操作步骤

5.2.6.1 标准曲线建立（定量选做步骤）

5.2.6.1.1 使用无菌生理盐水对大肠菌群质控菌株进行梯度稀释，选择 5-7 个适宜的稀释梯度，分别使用 FORBID-M 光电检测仪与传统 LB 平板法进行培养。

5.2.6.1.2 得出结果后，以仪器拟合拐点时间（h）为横坐标，平板计数结果对数值（log C）为纵坐标建立线性相关标准曲线，若线性相关系数满足 $R^2 \geqslant 0.98$ 可将标准曲线写入仪器并命名为大肠菌群标准曲线，反之则需重新建立标准曲线。

5.2.6.2 培养基准备

使用一次性无菌吸管或微量移液器及吸头吸取大肠菌群快速检测试剂加入 FORBID-M 光电检测管中，5 mL/管。

5.2.6.3 水样过滤

在 100 级的洁净工作台进行过滤操作。首先用无菌镊子夹取灭菌滤膜边缘部分,将粗糙面向上,贴放在已灭菌的滤床上,固定好滤器,将 100 mL 水样或稀释液通过孔径 0.45 μm 的滤膜过滤。

5.2.6.4 加样

将过滤后的滤膜（有菌面朝下）贴在已加好大肠菌群快速检测试剂的 FORBID-M 光电检测管中并做好标记。其中 1 支检测管不加检测样品作为空白对照。

5.2.6.5 培养

5.2.6.5.1 定性检测：将 FORBID-M 光电检测管放入 36℃±1℃恒温培养箱培养 12-24 h 或者放入 FORBID-M 光电检测仪中，并设置程序：大肠菌群，24 h。

5.2.6.5.2 相对定量检测：将 FORBID-M 光电检测管放入 FORBID-M 光电检测仪中，并设置程序：大肠菌群，24 h。

5.2.6.5.3 绝对定量检测：将 FORBID-M 光电检测管放入 FORBID-M 光电检测仪中，选择大肠菌群标

准曲线，并设置程序为：大肠菌群，24 h。

5.2.7 结果判定及表述

5.2.7.1 定性检测：培养结束后观察待检样品是否产生颜色变化。

5.2.7.1.1 若使用培养箱培养，则需人工观察结果。与空白对照相比，若测试孔明显浑浊或变黄即视为大肠菌群阳性，即“每 100 mL 水中检出大肠菌群”；若测试孔未产生浑浊或变黄即视为大肠菌群阴性，即“每 100 mL 水中未检出大肠菌群”。

5.2.7.1.2 若使用 FORBID-M 光电检测仪培养，程序运行结束后会自动生成检测报告。若检测报告显示大肠菌群 > 1 CFU/mL 即视为大肠菌群阳性，即“每 100 mL 水中检出大肠菌群”；若检测报告显示大肠菌群 < 1 CFU/mL 即视为大肠菌群阴性，即“每 100 mL 水中未检出大肠菌群”。

5.2.7.2 相对定量检测：程序运行结束后自动生成检测报告。

若大肠菌群为阳性，则会在检测报告上显示该样本的检出时间及大肠菌群的范围值，也可根据附表 1 查表得出结果值；若大肠菌群为阴性，则会在检测报告显示大肠菌群 < 1 CFU/mL。

5.2.7.3 绝对定量检测：程序运行结束后自动生成检测报告。

若大肠菌群为阳性，则会在检测报告上显示大肠菌群的具体数值；若大肠菌群为阴性，则会在检测报告显示大肠菌群 < 1 CFU/mL。

5.3 大肠埃希氏菌测定

5.3.1 原理

在特定温度下培养特定的时间，大肠埃希氏菌能产生β-葡萄糖醛酸酶(β-Glucuronidase)，将大肠埃希氏菌快速检测试剂中的 4-甲基伞形酮-β-D-葡萄糖醛酸苷(MUG)分解为 4-甲基伞形酮，在 365nm 紫外灯照射下产生 450nm 的荧光。

5.3.2 设备和材料

除微生物实验室常规灭菌及培养设备外,其他设备和材料如下:

5.3.3 设备

5.3.3.1 冰箱:2 ℃~5 ℃。

5.3.3.2 均质器。

5.3.3.3 振荡器。

5.3.3.4 无菌吸管:1 mL(具 0.01 mL 刻度)、5 mL(具 0.1 mL 刻度)或微量移液器及吸头。

5.3.3.5 恒温培养箱:36 ℃±1 ℃。

5.3.3.6 微生物光电检测系统（如 FORBID-M 光电检测仪）。

5.3.3.7 FORBID-M 光电检测管。

5.3.3.8 365 nm 紫外光源。

5.3.3.9 六联过滤器。

5.3.3.10 气液两用真空泵。

5.3.4 培养基和试剂

大肠埃希氏菌快速检测试剂:见附录 2.5。

5.3.5 检验程序

大肠埃希氏菌的检验程序见图 3。

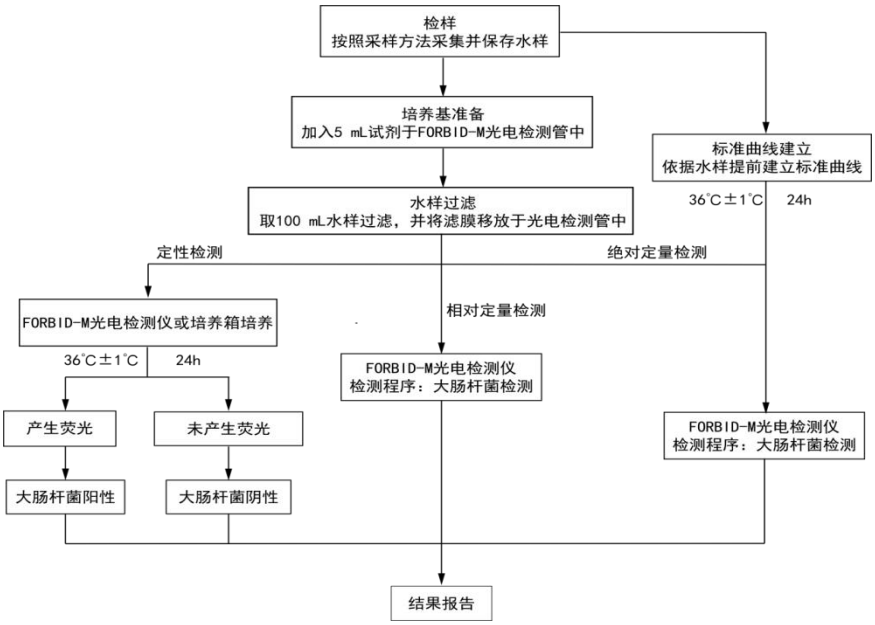


**图 3 大肠埃希氏菌检验程序**

### 5.3.6 操作步骤

#### 5.3.6.1 标准曲线建立（定量选做步骤）

5.3.6.1.1 使用无菌生理盐水对大肠杆菌质控菌株进行梯度稀释，选择 5-7 个适宜的稀释梯度，分别使用 FORBID-M 光电检测仪与传统 LB 平板法进行培养。

5.3.6.1.2 得出结果后，以仪器拟合拐点时间（h）为横坐标，平板计数结果对数值（log C）为纵坐标建立线性相关标准曲线，若线性相关系数满足 $R^2 \geqslant 0.98$ 可将标准曲线写入仪器并命名为大肠杆菌标准曲线，反之则需重新建立标准曲线。

#### 5.3.6.2 培养基准备

使用一次性无菌吸管或微量移液器及吸头吸取大肠杆菌快速检测试剂加入 FORBID-M 光电检测管中，5 mL/管。

#### 5.3.6.3 水样过滤

在 100 级的洁净工作台进行过滤操作。首先用无菌镊子夹取灭菌滤膜边缘部分,将粗糙面向上,贴放在已灭菌的滤床上,固定好滤器,将 100 mL 水样或稀释液通过孔径 0.45 μm 的滤膜过滤。

#### 5.3.6.4 加样

将过滤后的滤膜（有菌面朝下）贴在已加好大肠杆菌快速检测试剂的 FORBID-M 光电检测管中并做好标记。其中 1 支检测管不加检测样品作为空白对照。

#### 5.3.6.5 培养

5.3.6.5.1 定性检测：将 FORBID-M 光电检测管放入 36℃±1℃恒温培养箱培养 12-24 h 或者放入 FORBID-M 光电检测仪中，并设置程序：大肠杆菌，24 h。

5.3.6.5.2 相对定量检测：将 FORBID-M 光电检测管放入 FORBID-M 光电检测仪中，并设置程序：大肠杆菌，24 h。

5.3.6.5.3 绝对定量检测：将 FORBID-M 光电检测管放入 FORBID-M 光电检测仪中，选择大肠杆菌标准曲线，并设置程序为：大肠杆菌，24 h。

5.3.7 结果判定及表述

5.3.7.1 定性检测：培养结束后观察在 365 nm 紫外光源照射下待检样品是否有荧光产生。

5.3.7.1.1 若使用培养箱培养，则需人工观察结果。与空白对照相比，若被检样品产生明显的蓝白色荧光即视为大肠杆菌阳性，即“每 100 mL 水中检出大肠杆菌”；若被检样品测试孔未产生蓝白色荧光即视为大肠杆菌阴性，即“每 100 mL 水中未检出大肠杆菌”。

5.3.7.1.2 若使用 FORBID-M 光电检测仪培养，程序运行结束后会自动生成检测报告。若检测报告显示大肠杆菌 > 1 CFU/mL 即视为大肠杆菌阳性，即“每 100 mL 水中检出大肠杆菌”；若检测报告显示大肠杆菌 < 1 CFU/mL 即视为大肠杆菌阴性，即“每 100 mL 水中未检出大肠杆菌”。

5.3.7.2 相对定量检测：程序运行结束后自动生成检测报告。

若大肠杆菌为阳性，则会在检测报告上显示该样本的检出时间及大肠杆菌的范围值，也可根据附表 1 查表得出结果值；若大肠杆菌为阴性，则会在检测报告显示大肠杆菌 < 1 CFU/mL。

5.3.7.3 绝对定量检测：程序运行结束后自动生成检测报告。

若大肠杆菌为阳性，则会在检测报告上显示大肠杆菌的具体数值；若大肠杆菌为阴性，则会在检测报告显示大肠杆菌 < 1 CFU/mL。

5.4 铜绿假单胞菌测定

5.4.1 原理

在特定温度下培养特定的时间，铜绿假单胞菌能产生β-丙氨酰氨肽酶，将选择性培养基中的探针 L-丙氨酸-7-氨基-4-甲基香豆素三氟乙酸盐（H-Ala-AMC-TFA）分解为 4-甲基伞形酮，在紫外灯照射下产生荧光。

5.4.2 设备和材料

除微生物实验室常规灭菌及培养设备外,其他设备和材料如下:

5.4.3 设备

5.4.3.1 冰箱:2 ℃~5 ℃。

5.4.3.2 均质器。

5.4.3.3 振荡器。

5.4.3.4 无菌吸管:1 mL(具 0.01 mL 刻度)、5 mL(具 0.1 mL 刻度)或微量移液器及吸头。

5.4.3.5 恒温培养箱:36 ℃±1 ℃。

5.4.3.6 微生物光电检测系统（如 FORBID-M 光电检测仪）。

5.4.3.7 FORBID-M 光电检测管。

5.4.3.8 365 nm 紫外光源。

5.4.3.9 气液两用真空泵。

5.4.4 培养基和试剂

铜绿假单胞菌快速检测试剂:见附录 2.6。

5.4.5 检验程序

铜绿假单胞菌的检验程序见图 4。

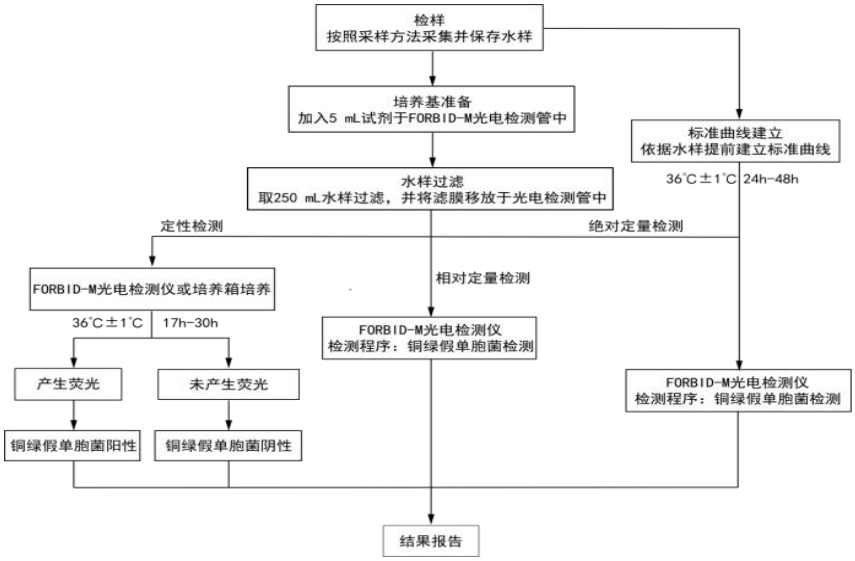


图 4 铜绿假单胞菌检验程序

5.4.6 操作步骤

5.4.6.1 标准曲线建立（定量选做步骤）

5.4.6.1.1 使用无菌生理盐水对铜绿假单胞菌质控菌株进行梯度稀释，选择 5-7 个适宜的稀释梯度，分别使用 FORBID-M 光电检测仪与传统 LB 平板法进行培养。

5.4.6.1.2 得出结果后，以仪器拟合拐点时间（h）为横坐标，平板计数结果对数值（log C）为纵坐标建立线性相关标准曲线，若线性相关系数满足 $R^2 \geqslant 0.98$ 可将标准曲线写入仪器并命名为铜绿假单胞菌标准曲线，反之则需重新建立标准曲线。

5.4.6.2 培养基准备

使用一次性无菌吸管或微量移液器及吸头吸取铜绿假单胞菌快速检测试剂加入 FORBID-M 光电检测管中，5 mL/管。

5.4.6.3 水样过滤

在 100 级的洁净工作台进行过滤操作。首先用无菌镊子夹取灭菌滤膜边缘部分,将粗糙面向上,贴放在已灭菌的滤床上,固定好滤器,将 250 mL 水样或稀释液通过孔径 0.45 μm 的滤膜过滤。

5.4.6.4 加样

将过滤后的滤膜（有菌面朝下）贴在已加好铜绿假单胞菌快速检测试剂的 FORBID-M 光电检测管中并做好标记。其中 1 支检测管不加检测样品作为空白对照。

5.4.6.5 培养

5.4.6.5.1 定性检测：将 FORBID-M 光电检测管放入 36℃±1℃恒温培养箱培养 17-30 h 或者放入 FORBID-M 光电检测仪中，并设置程序：铜绿假单胞菌，30 h。

5.4.6.5.2 相对定量检测：将 FORBID-M 光电检测管放入 FORBID-M 光电检测仪中，并设置程序：铜绿假单胞菌，30 h。

5.4.6.5.3 绝对定量检测：将 FORBID-M 光电检测管放入 FORBID-M 光电检测仪中，选择铜绿假单胞菌标准曲线，并设置程序为：铜绿假单胞菌，30 h。

5.4.7 结果判定及表述

5.4.7.1 定性检测：培养结束后观察在 365 nm 紫外光源照射下待检样品是否有荧光产生。

5.4.7.1.1　若使用培养箱培养，则需人工观察结果。与空白对照相比，若被检样品产生明显的蓝白色荧光即视为铜绿假单胞菌阳性，即“每 250 mL 水中检出铜绿假单胞菌”；若被检样品测试孔未产生蓝白色荧光即视为铜绿假单胞菌阴性，即“每 250 mL 水中未检出铜绿假单胞菌”。

5.4.7.1.2　若使用 FORBID-M 光电检测仪培养，程序运行结束后会自动生成检测报告。若检测报告显示铜绿假单胞菌 ＞ 1 CFU/mL 即视为铜绿假单胞菌阳性，即“每 100 mL 水中检出铜绿假单胞菌”；若检测报告显示铜绿假单胞菌 ＜ 1 CFU/mL 即视为铜绿假单胞菌阴性，即“每 1 mL 水中未检出铜绿假单胞菌”。

5.4.7.2　相对定量检测：程序运行结束后自动生成检测报告。

若铜绿假单胞菌为阳性，则会在检测报告上显示该样本的检出时间及铜绿假单胞菌的范围值，也可根据附表 1 查表得出结果值；若铜绿假单胞菌为阴性，则会在检测报告显示铜绿假单胞菌 ＜ 1 CFU/mL。

5.4.7.3　绝对定量检测：程序运行结束后自动生成检测报告。

若铜绿假单胞菌为阳性，则会在检测报告上显示铜绿假单胞菌的具体数值；若铜绿假单胞菌为阴性，则会在检测报告显示铜绿假单胞菌 ＜ 1 CFU/mL。

# 附录

## 1 微生物实验室常规检验用品和设备

### 1.1 设备

1.1.1 消毒灭菌设备:干烤/干燥设备,高压灭菌、过滤除菌、紫外线等装置。
1.1.2 稀释设备:移液器等。
1.1.3 冷藏冷冻设备:冰箱、冷冻柜等。
1.1.4 样品处理设备:均质器(剪切式或拍打式均质器)、离心机、六联抽滤装置、气液两用真空泵等。
1.1.5 生物安全设备:生物安全柜。
1.1.6 培养设备:恒温培养箱。
1.1.7 结果判读设备：365 nm 紫外光源。
1.1.8 其他设备：FORBID-M 光电检测仪，见图 1（集微生物培养、检测于一体）。

图1 FORBID-M 光电检测仪

### 1.2 检验用品

1.2.1 常规检验用品:接种环(针)、酒精灯、镊子、剪刀、消毒棉球、多孔培养板、记号笔、均质袋等。
1.2.2 现场采样检验用品:无菌采样容器、棉签、涂抹棒、采样规格板、转运管等。

## 2 培养基和试剂

### 2.1 菌落总数快速检测试剂

#### 2.1.1 成分

| | |
|---|---|
| 蛋白胨 | 7 g |
| 牛肉浸粉 | 2.5 g |
| 氢氧化钠 | 0.012 g |
| 葡萄糖 | 2 g |
| 氯化钠 | 0.01 g |
| 溴钾酚紫 | 1.5 g |
| 蒸馏水 | 1000 mL |

#### 2.1.2 制法

用 1 mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 至 7.2 ± 0.1，121 ℃高压灭菌 15 min。

## 2.2 磷酸盐缓冲液

### 2.2.1 成分

磷酸二氢钾（$KH_2PO_4$）　34.0 g
蒸馏水　500 mL

### 2.2.2 制法

贮存液:称取 34.0 g 的磷酸二氢钾溶于 500 mL 蒸馏水中,用大约 175 mL 的 1 mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 至 7.2,用蒸馏水稀释至 1000 mL 后贮存于冰箱。

稀释液:取贮存液 1.25 mL,用蒸馏水稀释至 1000 mL,分装于适宜容器中,121 ℃高压灭菌 15 min。

## 2.3 无菌生理盐水

### 2.3.1 成分

氯化钠（NaCl）　8.5 g
蒸馏水　1000 mL

### 2.3.2 制法

称取 8.5 g 的氯化钠溶于 1000 mL 蒸馏水中,121 ℃高压灭菌 15 min。

## 2.4 大肠菌群快速检测试剂

### 2.4.1 成分

胰蛋白胨　10.0 g
氯化钠　6.0 g
氯化钾　2 g
亚硫酸钠　0.03 g
硫酸铵　5.0 g
硫酸锰　0.0005 g
硫酸锌　0.0005 g
硫酸镁　0.1 g
两性霉素 B　0.001 g
ONPG　0.3 g
HEPES　6.9 g
HEPES 钠盐　5.3 g
蒸馏水　1000 mL

### 2.4.2 制法

用 1 mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 至 7.3 ± 0.1，121 ℃高压灭菌 15 min。

## 2.5 大肠埃希氏菌快速检测试剂

### 2.5.1 成分

蛋白胨　15 g
磷酸二氢钾　1.2 g
磷酸氢二钠　3.2 g
亚硫酸钠　0.01 g
去氧胆酸钠　2 g
硫酸镁　0.2 g
氯化钠　3 g

氯化钙　　0.01 g
MUG　　0.075 g
硫酸锌　　0.001 g
蒸馏水　　1000 mL

**2.5.2 制法**

用 1 mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 至 7.3 ± 0.1，121 ℃高压灭菌 15 min。

**2.6 铜绿假单胞菌快速检测试剂**

**2.6.1 成分**

蛋白胨　　10 g
甘露醇　　2 g
磷酸氢二钠　　3.5 g
磷酸二氢钾　　1.5 g
牛胆粉　　2 g
萘啶酮酸　　0.015 g
探针　　70~80mg
蒸馏水　　1000 mL

**2.6.2 制法**

用 1 mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 至 7.3 ± 0.1，121 ℃高压灭菌 15 min。

**附表 1 微生物快速检测时间快查表**

| | 菌落总数 | 大肠菌群 | 大肠埃希氏菌 | 铜绿假单胞菌 |
|---|---|---|---|---|
| 培养温度 | 37℃ | 37℃ | 37℃ | 37℃ |
| 阴性样本 | 紫色 | 无色 | 无荧光 | 无荧光 |
| 阳性样本 | 灰紫色或黄色 | 黄色 | 有荧光 | 有荧光 |
| 样本中细菌浓度（CFU/mL） | 检出时间（h） | | | |
| $10^5$ | | | | |
| $10^4$ | | | | |
| $10^3$ | | | | |
| $10^2$ | | | | |
| $10^1$ | | | | |
| 10 | | | | |
| 1 | | | | |
| 0 | | | | |