

# 测菌管在微生物学野外实习中的应用

徐德强, 肖义平, 王英明, 高江远, 王 丰, 董欣然, 辛竞一

(复旦大学 生命科学学院, 上海 200433)

**摘 要:** 测菌管是一种适用于水、化妆品和涂料等样品中的微生物数量分析的产品。测菌管具有简便、快速、较为准确等优点。在国内首次将测菌管应用于学生的微生物学野外实习的教学,不但使学生了解和掌握了野外环境水体中微生物数量分析的较新方法,并且也有助于学生创新意识的培养,从而取得了很好的教学效果。

**关键词:** 测菌管; 微生物学; 野外实习

**中图分类号:** Q93-3 **文献标志码:** B **文章编号:** 1002-4956(2010)10-0046-03

## The application of Mikrocount Combi to the students' field practice of microbiology

Xu Deqiang, Xiao Yiping, Wang Yingming, Gao Jiangyuan,  
Wang Feng, Dong Xinran, Xin Jingyi

(College of Life Sciences, Fudan University, Shanghai 200433, China)

**Abstract:** Mikrocount Combi is a product that is applicable to determine the total number of microorganisms present in water, cosmetics, paints, etc. It has many advantages such as simple, rapid and more accurate. It is the first time in domestic for us to apply Mikrocount Combi to students' the field practice of microbiology. It not only helps the students understand and grasp the new method about determining the total number of microorganisms present in field water, but also fosters their consciousness of innovation.

**Key words:** Mikrocount Combi; microbiology; field practice

高校学生的微生物学野外实习是微生物学教学的一个重要环节,教学实习中引入相关的实验新方法和新技术对于微生物学野外实习教学水平的提高具有重要意义。测菌管应用于学生在微生物学野外实习中的野外不同环境水体中细菌、霉菌和酵母菌的数量分析,这是对水样中微生物常规分析法的补充和更新<sup>[1]</sup>。此法特别适用于缺乏实验室条件时进行的野外水体中微生物数量分布调查研究。我们在学生的微生物学野外实习教学中,应用该技术进行了不同区域水体中微生物数量分布的初步调查,从而不但使学生掌握了该项较新的实验技术,也让学生认识到建立简便、快速、准确的野外不同类型水体中微生物数量分析新方法的重要性和必要性,也更有助于学生创新意识的培养。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

测菌管(mikrocount combi)德国舒美有限公司产品;恒温培养箱。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 测菌管简介

测菌管是由测菌片和塑料圆管组成。其中测菌片是由塑料薄板(7.7 cm × 1.9 cm)作为培养基载体,在其两面分别附有适于一般细菌和真菌生长的无菌固体培养基。图1中左侧为细菌培养基,右侧为真菌培养基。细菌生长培养基中加有氧化还原指示剂2,3,5-氯化三苯基四氮唑(TTC),其接受H后可形成非水溶性的红色2,3,5-三苯甲腈(TF,培养基表观呈黄色)。真菌培养基中加有孟加拉红等细菌抑制剂(培养基表观呈红色)。塑料薄板一端有一短柄,其上连有一螺旋盖子。平时测菌片是置于该无菌塑料圆管中,并密封,室温下保存。此外,测菌管产品还附有用以判别样品中微生物(细菌、霉菌和酵母菌)污染程度用的、标

收稿日期:2009-11-19

基金项目:国家基础科学人才培养基金项目“复旦大学生物学基地”(J0630643)

作者简介:徐德强(1951—),男,上海市人,大学,副教授,研究方向:环境微生物学。

E-mail: dqxu@fudan.edu.cn

准的对照图谱(见图2—图4),图中的 $10^2$ 、 $10^3$ 等数为细菌数量,单位为cfu/mL。

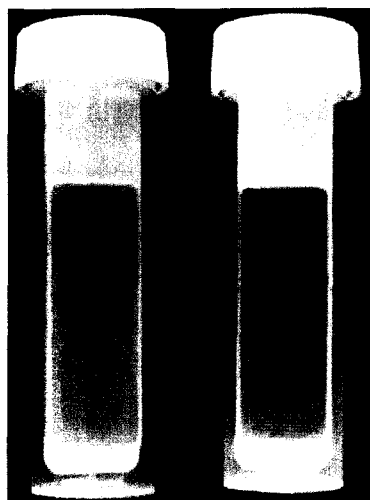


图1 测菌管

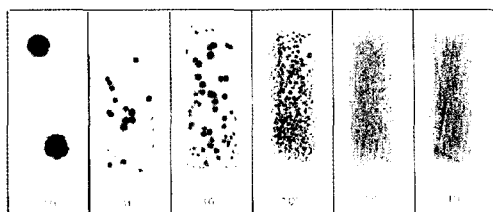


图2 细菌标图图谱

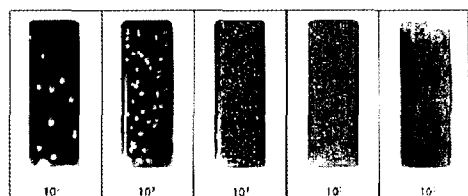


图3 酵母菌标准图谱

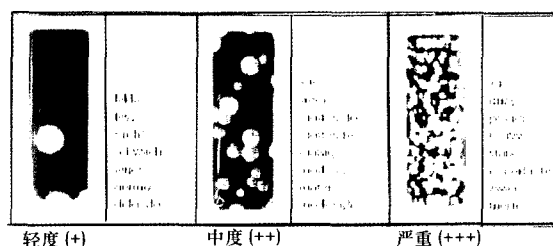


图4 霉菌标准图谱

### 1.2.2 实验步骤

当进行野外水体中微生物数量检测时,可按下述步骤进行:

(1) 将本产品提供的标签贴在测菌管盖子表面(注明时间、地点);

(2) 拧开测菌管的盖子,取出测菌片;

(3) 速将测菌片浸入待检测的水体中(培养基全浸入水中,维持5~10s);

(4) 速将测菌片放回塑料圆管中,拧紧盖子;

(5) 将测菌管竖放在27~30℃恒温培养箱中,无恒温培养箱则可将测菌管竖放在室内(春、夏或秋季);

(6) 1~2d后,观察测菌片黄色培养基面上细菌菌落数;绝大多数细菌形成红色小点状菌落,偶然也有呈无色小点状菌落;

(7) 3d后观察红色培养基一面上霉菌或酵母菌菌落数;

(8) 将观察结果与本产品所附的标准对照图谱进行比较,以判断所检的水体中微生物污染程度。

## 2 实验结果

在学生的微生物学野外实习中,我们采用测菌管分别对天目山部分区域的溪水、上海郊区某市河及校园池水中微生物数量分布进行了检测,结果见表1。

表1 不同环境水体中微生物数量测定结果

测定地点	细菌数量/(cfu·mL <sup>-1</sup> )	霉菌数量/(cfu·mL <sup>-1</sup> )	酵母菌数量/(cfu·mL <sup>-1</sup> )	备注
开山老殿边溪水	$10^2$	未检出	未检出	海拔高度约1000m
五里亭边溪水	$10^2$	未检出	未检出	
天目山 三里亭边溪水	$10^3$	未检出	未检出	
一里亭边溪水	$10^3$	未检出	未检出	
禅源寺边池水	$10^3$	轻度污染	未检出	海拔高度约300m
上海郊区 三桥旁河水	$10^1$	轻度污染	未检出	
某市河 泰平桥旁河水	$10^1$	轻度污染	未检出	
校内 燕园池水	$10^3$	轻度污染	未检出	

注:1.天目山五里亭、三里亭和一里亭边溪水是由高向低快速流动的同一溪水;2.开山老殿海拔高度与五里亭较接近;3.禅源寺海拔高度略低于一里亭。

表1中的结果表明,天目山五里亭边和开山老殿边溪水中细菌数量最少,而一里亭、三里亭边溪水和禅源寺边池中细菌数量比前两者明显增多。其原因很可能是水体中微生物通常来自于空气、土壤、动、植物残体及人类活动等,而海拔较低处空气中尘埃、微粒较多,人类活动也增多,因而直接或间接地增加了水体被有机物或微生物污染的机会,并进而导致水体中微生物数量增加。天目山水体中除海拔高度较低的禅源寺边水体中检测到少量霉菌外,其余地区未检测到霉菌和酵母菌,原因很可能是由于水体中霉菌和酵母菌数量是太少了,以至不能被本法所检测到。上海郊区某市河中细菌数量达 $10^4$  cfu/mL,明显高于上述天目山部分区域溪水等中细菌数量,原因是该河道两旁均为居民生活区及商业区,水体经常受到来自人类活动所产生的含有有机物的生活污水等污染,此外该地区海拔高度明显低于天目山,空气中尘埃、微粒较多,从而导致该水体中细菌和霉菌等微生物数量也相应增多。校内燕园池中微生物测试结果是低于上海郊区某市河,并与天目山禅源寺边池水相似,原因可能是由于该池处于校内相对偏僻处,周围绿化环境等较好,有机物污染也相对较少,从而水体中微生物数量也相对少些。

### 3 结论

#### 3.1 测菌管技术应用实习教学中的意义

我们在国内首次将测菌管技术应用于学生的野外实习教学<sup>[2-3]</sup>,不仅使学生了解并掌握了较新的微生物数量测定方法,更使学生认识到在对野外水体中微生物数量分布调查研究中采用简便、快速、准确的微生物

数量分析新方法的重要性和必要性,从而也有助于学生创新意识的培养。

#### 3.2 测菌管技术的优点

(1) 能快速得到结果。常规的水中细菌总数测定需将样品培养2 d才能取得结果,而本技术只需1~2 d即可。

(2) 可同时检测水体中细菌、霉菌和酵母菌。

(3) 使用方便、操作简单。不需要实验室及大量准备工作和复杂的操作过程,只需将测菌片浸入待检水体中维持5~10 s,然后速将此片置于配套的塑料圆管中、拧紧盖子并置于恒温培养箱中或室内(春、夏、秋季)即可。即使没有经过微生物学培训的人也能胜任。

(4) 结果较为准确可靠。该技术附有相应的细菌、霉菌和酵母菌的标准对照图谱,学生可根据测菌片上微生物菌落数就能很快确定该水体中微生物的数量或污染程度。

因此该技术确实是一种简便、快速、较为准确的微生物数量分析方法,尤其适用于学生的微生物学野外实习及野外水体中微生物数量的调查研究。

#### 参考文献(References):

- [1] 周德庆. 微生物学实验教程[M]. 2版. 北京:高等教育出版社,2006.
- [2] 何晓青,谢响明,李志茹,等. 理科(生物学)基地微生物实践教学的研究与探索[J]. 中国现代教育装备,2009(4):123-125.
- [3] 康健,王海华. 师范类学生野外实习增加微生物学内容的探讨[J]. 微生物学通报,2000,27(3):228,223.

(上接第45页)

本文提出的热丙三醇水溶液抗原修复法,具有创新性,是免疫组化技术进步,在研究和检测中极有推广应用价值。

#### 参考文献(References):

- [1] 杨军,杨元华. 临床实验诊断中抗原修复的生化机制[J]. 中国医师杂志,2004,6(2):286-287.
- [2] Shi S R, Key E M, Kalra K L. Antigen retrieval in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues an enhancement method for immunohistochemical staining based on microwave oven heating of tissue sections [J]. The Journal of Histochemistry and Cytochemistry, 1991 (39):741.
- [3] 杨军. 生理盐水作为抗原修复液的可行性[J]. 临床与实验病理学杂志,2009,25(2):217-218.
- [4] Daneshmand N, Dore J E, Smeda J S. Troubleshooting tissue speci-

ficity and antibody selection: Procedures in immunohistochemical studies[J]. Journal of Pharmacological and Toxicological Methods, 2010,61(2):127-135.

- [5] 魏波,郑鸿. 高压锅和微波抗原修复法的对比分析[J]. 实用医技杂志,2005(12):611-612.
- [6] 朱忆凌,周新木. 抗原修复预处理对层黏连蛋白免疫组织化学的影响[J]. 现代中西医结合杂志,2007,16(14):1962.
- [7] 王伯云,李玉松,黄高. 病理学技术[M]. 北京:人民卫生出版社,2000:367.
- [8] 吴计生,段淑云,郝建平. 免疫组化抗原修复的应用进展[J]. 实用医技杂志,2006,13(20):3592-3593.
- [9] 周航波,马恒辉,周晓军. 应用高温高压抗原修复提高第一抗体稀释度[J]. 临床与实验病理学杂志,2009,25(6):270-271.
- [10] 顾长芳,张雷,汪迎. 应用压力锅和微波炉法进行石蜡切片抗原修复的比较[J]. 中华病理学杂志,1996,25(12):377-378.
- [11] 高才,周国燕. 丙三醇水溶液玻璃结构松弛现象学研究[J]. 物理化学学报,2005,21(8):909-914.