

爱德士 (IDEXX) 试验摘要

主题: 比较 Pseudalert*试剂与 ISO16266 方法检测 250ml 热池水和瓶装水样品中的绿脓杆菌的测试研究报告

标题: 爱德士 (IDEXX) 的 Pseudalert 试剂与 ISO16266 方法检测热池水和瓶装水样品中的绿脓杆菌回收率比较。

作者: 爱德士实验室

日期: 2011 年 3 月

报告重点:

- 在法国维特雀巢水质质量保证中心 (定期检测热池和瓶装水样品), 将 Pseudalert 试剂检测法与 ISO16266 检测法进行比较。
- 整个研究数据表明:
 - 0 检测 250ml 被细菌自然污染的热池水样品中的绿脓杆菌时, Pseudalert 试剂检测法堪比 ISO16266 检测法。
 - 0 检测 250ml 注入标准和自然菌株的瓶装水样品中的绿脓杆菌时, Pseudalert 试剂检测法堪比 ISO16266 检测法。
 - 0 Pseudalert 试剂能够抑制造成假阳性的恶臭假单胞菌, 恶臭假单胞菌检测浓度大于 100cfu/250ml。
- 在检测 250ml 热池水和瓶装水样品中的绿脓杆菌时, Pseudalert 试剂法与 ISO16266 方法一样好, 甚至好于 ISO16266。

*Pseudalert 是 IDEXX 实验室公司或其在美国或其它国家的附属公司的商标或注册商标。

技术说明

爱德士（IDEXX）的 Pseudalert 试剂与 ISO16266 方法检测热池水和瓶装水样品中的绿脓杆菌回收率比较

研究范围

此技术说明中包括在法国维特的雀巢水质保证中收集的数据，在 Pseudalert 试剂上市前对其检测性能进行评估。本研究中使用瓶装水生产中使用的水的样品和从热池（矿泉疗养池）中采集的水样品作为检测矩阵。这些水样品中存在的微生物为环境中自然生成的野生菌落，非补充注入产生。

其它样品通过流入不同种细菌得到，模拟污染情形。两个月后进行检测。在本研究中，经过 24 小时培养后，分别用 Pseudalert 试剂法和 ISO16266 法对已经确定的绿脓杆菌进行回收，比较两种方法的效果。

研究过程

1. 收集检测用的水样品（>500ml）。热池水样品在取样当天进行检测，并在室温下储存。瓶装水样品从位于全球各地的工厂获得。样品在检测前运送过来，在室温下储存。
2. 每种样品取 250ml，按照 ISO16266 协议中规定的过程进行处理和分析。
3. 每种样品取 250ml，按照 Pseudalert 试剂包装内的说明书规定的过程，用 IDEXX 取样瓶取样，使用定性方法检测。培养温度为 $38 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ，24 小时。
4. 根据 ISO16266 法推定为绿脓杆菌阳性的样品要按照下列过程进行确定：
 - 如果 CN 琼脂上的菌落为蓝色/绿色，不需要再确认。
 - 如果 CN 琼脂上的菌落不是蓝色/绿色，而是发亮，则要在乙酰胺肉汤内进行确认。
 - 如果 CN 琼脂上的菌落不发亮，而是呈红色/褐色，则应在氧化酶、kings B 和乙酰胺肉汤内进行确认。
5. 使用 Pseudalert 试剂检测出阳性样品无需确认实验。
6. 按照 ISO6222 的方法对各个水样品中异养菌进行计数。

*Pseudalert 是 IDEXX 实验室公司或其在美国或其它国家的附属公司的商标或注册商标。

检测结果

本研究中分析了 23 个热池水样品。其中 4 个发现是被天然绿脓杆菌污染。Pseudalert 试剂法和 ISO16266 法检测出的天然绿脓杆菌数量分别如下：

序号	检测日期	样品编号	水样类型	Pseudalert 试剂法 (24 小时)	ISO16266 法 (48 小时)		HPC
				容器 (POS 或 NEG)	推断	确认	Cfu/ml
1	7/7/2010	524229	热池/温泉	NEG	22	0	229
2	7/7/2010	524230	热池/温泉	NEG	11	0	260
3	7/7/2010	524232	热池/温泉	NEG	19	0	330
4	7/9/2010	524299	热池/温泉	NEG	>100	0	42
5	7/9/2010	524300	热池/温泉	NEG	0	0	0
6	7/21/2010	524615	热池/温泉	NEG	0	0	14
7	7/21/2010	524616	热池/温泉	NEG	0	0	130
8	7/21/2010	524617	热池/温泉	NEG	0	0	258
9	7/21/2010	524618	热池/温泉	NEG	0	0	8
10	7/29/2010	524910	热池/温泉	NEG	0	0	0
11	7/29/2010	524911	热池/温泉	NEG	0	0	17
12	7/29/2010	524913	热池/温泉	NEG	0	0	0
13	7/29/2010	524914	热池/温泉	NEG	0	0	2
14	7/30/2010	524930	热池/温泉	NEG	0	0	0
15	7/30/2010	524931	热池/温泉	NEG	0	0	5
16	7/30/2010	524932	热池/温泉	POS	14	14	3
17	8/19/2010	525320	热池/温泉	POS	69	69	/
18	8/23/2010	525388	热池/温泉	POS	>100	>100	0
19	8/23/2010	525389	热池/温泉	NEG	0	0	0
20	8/26/2010	525543	热池/温泉	POS	>100	>100	2
21	8/26/2010	525544	热池/温泉	NEG	0	0	0
22	8/26/2010	525545	热池/温泉	NEG	0	0	2
23	8/26/2010	525546	热池/温泉	NEG	0	0	0

两种方法回收的天然绿脓杆菌数量极为匹配，表明这两种方法对绿脓杆菌的特异性类似。用 ISO16266 法检测的 4 个样品（编号 1、2、3、4）中有假阳性菌落，需要再次确定，排除存在绿脓杆菌的可能性。Pseudalert 试剂能够抑制这些细菌，不需要进行其它检测。有一半以上的样品中含有异养型细菌，数量范围为 2-330（平均为 93cfu/ml），不会影响 Pseudalert 试剂法的检测效果。

本研究中分析了 63 个瓶装水样品。这些样品中注入不同浓度的绿脓杆菌和恶臭假单胞菌，以比较这两种方法的相对灵敏性和特异性。检测结果如下所示：

序号	检测日期	样品编号	水样类型	注入菌株	注入浓度	Pseudalert 试	ISO16266 法 (48 小时)		HPC
						剂法 (24 小时)	推断	确认	Cfu/ml
						容器 (POS 或 NEG)			
1	7/6/2010	523901-bottle 1	瓶装水	/	/	NEG	0	0	>3000
2	7/6/2010	523901-bottle 2	瓶装水	/	/	NEG	0	0	0
3	7/6/2010	523901-bottle 3	瓶装水	/	/	NEG	0	0	>3000
4	7/6/2010	523901-bottle 4	瓶装水	/	/	NEG	0	0	>3000
5	7/6/2010	523901-bottle 5	瓶装水	/	/	NEG	0	0	0
6	7/15/2010	Pae01 (-7) R1	瓶装水	<i>P. aeruginosa</i> CIP82118	1 to 5 cfu/250ml	POS	4	4	180
7	7/15/2010	Pae01 (-7) R2	瓶装水	<i>P. aeruginosa</i> CIP82118	1 to 5 cfu/250ml	POS	5	5	180
8	7/15/2010	Pae01 (-7) R3	瓶装水	<i>P. aeruginosa</i> CIP82118	1 to 5 cfu/250ml	POS	6	6	180
9	7/15/2010	Pae01 (-7) R4	瓶装水	<i>P. aeruginosa</i> CIP82118	1 to 5 cfu/250ml	POS	9	9	180
10	7/15/2010	Pae01 (-7) R5	瓶装水	<i>P. aeruginosa</i> CIP82118	1 to 5 cfu/250ml	POS	3	3	180
11	7/15/2010	Pae01 (-6) R1	瓶装水	<i>P. aeruginosa</i> CIP82118	10 to 50 cfu/250ml	POS	>100	>100	180
12	7/15/2010	Pae01 (-6) R2	瓶装水	<i>P. aeruginosa</i> CIP82118	10 to 50 cfu/250ml	POS	35	35	180
13	7/15/2010	Pae01 (-6) R3	瓶装水	<i>P. aeruginosa</i> CIP82118	10 to 50 cfu/250ml	POS	24	24	180
14	7/15/2010	Pae01 (-6) R4	瓶装水	<i>P. aeruginosa</i> CIP82118	10 to 50 cfu/250ml	POS	30	30	180
15	7/15/2010	Pae01 (-6) R5	瓶装水	<i>P. aeruginosa</i> CIP82118	10 to 50 cfu/250ml	POS	30	30	180
16	7/15/2010	Pae01 (-5) R1	瓶装水	<i>P. aeruginosa</i> CIP82118	>100 cfu/250ml	POS	>100	>100	180
17	7/15/2010	Pae01 (-5) R2	瓶装水	<i>P. aeruginosa</i> CIP82118	>100 cfu/250ml	POS	>100	>100	180
18	7/15/2010	Pae01 (-5) R3	瓶装水	<i>P. aeruginosa</i> CIP82118	>100 cfu/250ml	POS	>100	>100	180
19	7/15/2010	Pae01 (-5) R4	瓶装水	<i>P. aeruginosa</i> CIP82118	>100 cfu/250ml	POS	>100	>100	180
20	7/15/2010	Pae01 (-5) R5	瓶装水	<i>P. aeruginosa</i> CIP82118	>100 cfu/250ml	POS	>100	>100	180
21	7/15/2010	Ppu 01 (-7) R1	瓶装水	<i>P. putida</i> wild strain n°1	1 to 5 cfu/250ml	NEG	0	0	180
22	7/15/2010	Ppu 01 (-7) R2	瓶装水	<i>P. putida</i> wild strain n°1	1 to 5 cfu/250ml	NEG	1	0	180
23	7/15/2010	Ppu 01 (-7) R3	瓶装水	<i>P. putida</i> wild strain n°1	1 to 5 cfu/250ml	NEG	4	0	180
24	7/15/2010	Ppu 01 (-7) R4	瓶装水	<i>P. putida</i> wild strain n°1	1 to 5 cfu/250ml	NEG	0	0	180
25	7/15/2010	Ppu 01 (-7) R5	瓶装水	<i>P. putida</i> wild strain n°1	1 to 5 cfu/250ml	NEG	1	0	180
26	7/15/2010	Ppu 01 (-6) R1	瓶装水	<i>P. putida</i> wild strain n°1	10 to 50 cfu/250ml	NEG	9	0	180
27	7/15/2010	Ppu 01 (-6) R2	瓶装水	<i>P. putida</i> wild strain n°1	10 to 50 cfu/250ml	NEG	7	0	180
28	7/15/2010	Ppu 01 (-6) R3	瓶装水	<i>P. putida</i> wild strain n°1	10 to 50 cfu/250ml	NEG	6	0	180
29	7/15/2010	Ppu 01 (-6) R4	瓶装水	<i>P. putida</i> wild strain n°1	10 to 50 cfu/250ml	NEG	8	0	180
30	7/15/2010	Ppu 01 (-6) R5	瓶装水	<i>P. putida</i> wild strain n°1	10 to 50 cfu/250ml	NEG	10	0	180
31	7/15/2010	Ppu 01 (-5) R1	瓶装水	<i>P. putida</i> wild strain n°1	>100 cfu/250ml	NEG	60	0	180
32	7/15/2010	Ppu 01 (-5) R2	瓶装水	<i>P. putida</i> wild strain n°1	>100 cfu/250ml	NEG	66	0	180
33	7/15/2010	Ppu 01 (-5) R3	瓶装水	<i>P. putida</i> wild strain n°1	>100 cfu/250ml	NEG	66	0	180

序号	检测日期	样品编号	水样类型	注入菌株	注入浓度	Pseudalert 试剂法 (24 小时)		ISO16266 法 (48 小时)		HPC
						容器 (POS 或 NEG)	推断	确认	Cfu/ml	
34	7/26/2010	Pae02(-)R2	瓶装水	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	1 to 5 cfu/250ml	NEG	0	0	0	
35	7/26/2010	Pae02(-)R3	瓶装水	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	1 to 5 cfu/250ml	POS	0	0	0	
36	7/26/2010	Pae02(-)R4	瓶装水	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	1 to 5 cfu/250ml	NEG	1	1	0	
37	7/26/2010	Pae02(-)R5	瓶装水	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	1 to 5 cfu/250ml	POS	2	2	0	
38	7/26/2010	Pae02(-)R1	瓶装水	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	10 to 50 cfu/250ml	POS	8	8	0	
39	7/26/2010	Pae02(-)R2	瓶装水	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	10 to 50 cfu/250ml	POS	4	4	0	
40	7/26/2010	Pae02(-)R3	瓶装水	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	10 to 50 cfu/250ml	POS	17	17	0	
41	7/26/2010	Pae02(-)R4	瓶装水	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	10 to 50 cfu/250ml	POS	19	19	0	
42	7/26/2010	Pae02(-)R5	瓶装水	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	10 to 50 cfu/250ml	POS	10	10	0	
43	7/26/2010	Ppu02(-)R1	瓶装水	<i>P. putida</i> wild strain n°2	1 to 5 cfu/250ml	NEG	0	0	0	
44	7/26/2010	Ppu02(-)R2	瓶装水	<i>P. putida</i> wild strain n°2	1 to 5 cfu/250ml	NEG	0	0	0	
45	7/26/2010	Ppu02(-)R3	瓶装水	<i>P. putida</i> wild strain n°2	1 to 5 cfu/250ml	NEG	0	0	0	
46	7/26/2010	Ppu02(-)R4	瓶装水	<i>P. putida</i> wild strain n°2	1 to 5 cfu/250ml	NEG	1	0	0	
47	7/26/2010	Ppu02(-)R5	瓶装水	<i>P. putida</i> wild strain n°2	1 to 5 cfu/250ml	NEG	0	0	0	
48	7/26/2010	Ppu02(-)R1	瓶装水	<i>P. putida</i> wild strain n°2	10 to 50 cfu/250ml	NEG	1	0	0	
49	7/26/2010	Ppu02(-)R2	瓶装水	<i>P. putida</i> wild strain n°2	10 to 50 cfu/250ml	NEG	1	0	0	
50	7/26/2010	Ppu02(-)R3	瓶装水	<i>P. putida</i> wild strain n°2	10 to 50 cfu/250ml	NEG	0	0	0	
51	7/26/2010	Ppu02(-)R4	瓶装水	<i>P. putida</i> wild strain n°2	10 to 50 cfu/250ml	NEG	>100	0	0	
52	7/26/2010	Ppu02(-)R5	瓶装水	<i>P. putida</i> wild strain n°2	10 to 50 cfu/250ml	NEG	0	0	0	
53	8/16/2010	526152	工业水	/	/	POS	>100	>100	7130	
54	8/18/2010	Mixture Pae01 & Ppu01(-) R1	瓶装水	<i>P. aeruginosa</i> CIP82118 <i>P. putida</i> wild strain n°1	1 to 5 cfu/250ml	POS	3	3	393	
55	8/18/2010	Mixture Pae01 & Ppu01(-) R2	瓶装水	<i>P. aeruginosa</i> CIP82118 <i>P. putida</i> wild strain n°1	1 to 5 cfu/250ml	POS	4	4	393	
56	8/18/2010	Mixture Pae01 & Ppu01(-) R3	瓶装水	<i>P. aeruginosa</i> CIP82118 <i>P. putida</i> wild strain n°1	1 to 5 cfu/250ml	POS	1	1	393	
57	8/18/2010	Mixture Pae01 & Ppu01(-) R4	瓶装水	<i>P. aeruginosa</i> CIP82118 <i>P. putida</i> wild strain n°1	1 to 5 cfu/250ml	POS	7	7	393	
58	8/18/2010	Mixture Pae01 & Ppu01(-) R5	瓶装水	<i>P. aeruginosa</i> CIP82118 <i>P. putida</i> wild strain n°1	1 to 5 cfu/250ml	POS	3	3	393	
59	8/18/2010	Mixture Pae01 & Ppu01(-) R1	瓶装水	<i>P. aeruginosa</i> CIP82118 <i>P. putida</i> wild strain n°1	10 to 50 cfu/250ml	POS	38	38	393	
60	8/18/2010	Mixture Pae01 & Ppu01(-) R2	瓶装水	<i>P. aeruginosa</i> CIP82118 <i>P. putida</i> wild strain n°1	10 to 50 cfu/250ml	POS	48	48	393	
61	8/18/2010	Mixture Pae01 & Ppu01(-) R3	瓶装水	<i>P. aeruginosa</i> CIP82118 <i>P. putida</i> wild strain n°1	10 to 50 cfu/250ml	POS	49	49	393	
62	8/18/2010	Mixture Pae01 & Ppu01(-) R4	瓶装水	<i>P. aeruginosa</i> CIP82118 <i>P. putida</i> wild strain n°1	10 to 50 cfu/250ml	POS	65	65	393	
63	8/18/2010	Mixture Pae01 & Ppu01(-) R5	瓶装水	<i>P. aeruginosa</i> CIP82118 <i>P. putida</i> wild strain n°1	10 to 50 cfu/250ml	POS	63	63	393	

结果表明，用 Pseudalert 试剂法回收注入的绿脓杆菌菌株时，结果与 ISO16266 法相同，即使样品中的浓度低于 1cfu/250ml。Pseudalert 试剂法还能够抑制各种浓度的误检的恶臭假单胞菌菌株。恶臭假单胞菌和高浓度 (> 3000cfu/ml) 的异养型细菌存在时，对 Pseudalert 试剂法检测没有影响。工业水样品中发现含有天然绿脓杆菌，两种方法均检测到。两种方法对 35 和 36 号样品的检测结果不一致，这两种方法均未检测出注入的绿脓杆菌。这可能是由于注入瓶装水样品中的细菌浓度较低 (~1cfu/250ml)，导致其中的一种方法未能检测到细菌。这一事实证明了两种方法具有相近的检测极限。

结论

上述数据证明，在检测热池和瓶装水样品中的绿脓杆菌时，Pseudalert 试剂法和 ISO16266 法相当。Pseudalert 试剂法能够准确地回收浓度极低的绿脓杆菌（样品中的浓度低至 1cfu/250ml），而不受水样中的生物或化学试剂干扰。在 5 个被绿脓杆菌自然感染的样品（4 个热池水和 1 个工业水）和 32 个注入绿脓杆菌的瓶装水样品检测中，Pseudalert 试剂法与 ISO16266 法有回收率相当。Pseudalert 试剂还能够抑制注入的恶臭假单胞菌的误检，即使浓度超过 100 cfu/样品。

根据雀巢水质保证中心收集的数据，我们可以推断，Pseudalert 试剂经过 24 小时培养后，在专门检测 250ml 热池和瓶装水时，其检测效果与 ISO16266 法一样好，甚至超过 ISO16266 法。

若需咨询相关技术问题，请联系：

IDEXX 实验室

技术支持部

1 IDEXX Drive

Westbrook, ME 04092

207-556-4496/1-800-321-0207

www.idexx.com/water

Pseudalert 快速参考指南

关于 IDEXX 实验室

IDEXX 实验室有限公司是全球动物健康和水及牛奶质量诊断和信息技术方案市场的领导者。总部位于美国缅因州。公司在世界各地拥有 60 多个工厂，4700 多名员工。

IDEXX 是世界保证水质安全的微生物检测技术领导者。作为世界首选的创新饮用水微生物检测工龄的提供商，IDEXX 以其突破性的产品而著称。公司提供方便、快速、准确、低成本的水质检测方案。公司的销售、客服和技术支持队伍遍布世界 75 个国家，为客户提供周到的服务。全世界有 38 个国家的政府已经批准或接受我们的产品。