

生活饮用水中总大肠菌群质控考核结果分析与建议

王蓉慧¹ 容文皎¹ 陈艳芬²

1 北京中水江源水资源保护利用研究所有限公司 2 淮安自来水有限公司

DOI:10.12238/ems.v4i4.5630

[摘要] 本文对59个不同级别供水厂实验室开展水中总大肠菌群质控考核的结果进行了分析,在多管发酵法、滤膜法、酶底物法三种检测方法中酶底物法结果更为稳定;对不同级别实验室质控检测时存在的问题进行分析并提出建议,为各实验室今后检测水中总大肠菌群时提供参考。

[关键词] 生活饮用水; 总大肠菌群; 酶底物法; 多管发酵法; 滤膜法

中图分类号: X33 文献标识码: A

Analysis and Suggestions on Quality Control Assessment Results of Total Coliform Group in Drinking Water

Ronghui Wang¹ Wenjiao Ke¹ Yanfen Chen²

1 Beijing Zhongshui Jiangyuan Water Resources Protection and Utilization Research Institute Co. Ltd

2 Huai'an Water Supply Co. Ltd

[Abstract] In this paper, the quality control assessment results of total coliform group in 59 laboratories of different levels of water supply plants were analyzed. The results of enzyme substrate method were more stable among the three detection methods: multi-tube fermentation method, membrane filter method and enzyme substrate method. The problems of quality control testing in different laboratories were analyzed and suggestions were put forward, so as to provide reference for the detection of total coliform group in water in the future.

[Key words] drinking water; total coliform group; enzyme substrate method; multi-tube fermentation method; membrane filter method

近年来,随着生活水平的不断提高,饮用水安全问题被越来越多的人关注。大肠菌群是评价饮用水和食品卫生质量的重要指标之一,目前已被国内外广泛应用于食品卫生工作中。在饮用水微生物安全监测中,水中总大肠菌群含量的多寡,可在一定程度上反映水质受病原微生物污染的状况,预报水质的污染趋势,在进行水质卫生学评价时具有重要意义。我国《生活饮用水卫生标准》(GB 5749-2006)规定,平均每100ml饮用水中总大肠菌群不得检出^[1]。本文对59家不同级别实验室的总大肠菌群质控考核结果进行分析,为饮用水中总大肠菌群的检验提供参考。

1 材料与方法

1.1 考核对象

本次质控考核共计59家不同级别供水厂实验室参加。

1.2 样品发放

样品状态为白色冻干球,采用无菌冻存管包装。在样品发送前,进行了均匀性和稳定性试验。试验结果表明,测试样品足够均匀,在考核计划期间各个检验项目量值相对稳定。

1.3 测试项目与要求

我国国家标准《生活饮用水标准检验方法 微生物指标》(GB/T 5750.12-2006)规定,生活饮用水及其水源水中总大肠菌群检验方法有3种,即多管发酵法、滤膜法、酶底物法^[2]。魏金梅^[3]等研究指出,酶底物法克服了多管发酵法和滤膜法需要进一步验证、耗时长、操作简单的缺点,该法操作简单,检测时间较短(24h),准确度、灵敏度高,可同时检测大肠埃希氏菌,而且不受浊度的影响,适用范围广,可用于检测各种水样。雷静^[4]等研究指出,固定酶底物法操作方便,检测时间、培养时间都较短;特异性较高,灵敏度高,可以很大程度避免二次污染的发生,对实验操作环境要求较低,不需要严格的无菌环境,对监测人员技术能力要求降低。因此,本次考核,依据《生活饮用水标准检验方法微生物指标》,每个实验室发放2份样品,用于检测总大肠菌群,检测方法为酶底物法,同时采用另一种方法即多管发酵法或滤膜法检测另一份样品,用来与酶底物法检测结果进行对比分析。

2 统计分析设计原则

本次采用的考核样品为NSI混合菌饮用水大肠菌群质控标样,批号为061119-2和200123。将实验室的检测方法与质控样的

分析证书作比较, 检测结果为: 真值±1倍标准偏差内为优秀, 真值±2倍标准偏差内为良好, 真值±3倍标准偏差内为满意, 偏差超过3倍标准偏差为不满意。同时将检测结果与真值做相对偏差分析, 相对偏差越小, 表明检测结果越好。

本次质控考核使用到的统计术语及其定义有:

真值相对偏差(Relative deviation of true value): 检测结果与真值的偏差。真值相对偏差=(测定值-真值)/真值*100%。

真值(True value): 样品的真实值, 由样品的证书可以查得。真值是在进行10次或以上的验证分析之后得出的结论。

3 统计结果处理

本次考核共有59家实验室参加, 58家实验室采用酶底物法检测的同时, 32家实验室采用多管发酵法, 11家实验室采用滤膜法, 2家实验室采用酶底物法做平行检测, 13家实验室未做另外方法检测; 其余1家实验室由于一个样品损毁, 仅采用多管发酵法进行检测。

3.1 实验室检测结果

本次质控考核采用两个不同的质量控制标样, 061119-2质控样MPN法真值为125, 标准偏差为15, 滤膜法真值为85, 标准偏差为9; 200123质控样MPN法真值为237, 标准偏差为28, 滤膜法真值为260, 标准偏差为44; 单位为MPN或CFU/100mL。

参加质控考核的59个实验室中, 共34个实验室开展了质控批号为061119-2的质控样品检测, 检测结果评定见表1。

表1 质控批号为061119-2的质控样各实验室检测结果评定

实验室代码	酶底物法 (MPN/100mL)		另外方法 (MPN or CFU/100mL)		实验室代码	酶底物法 (MPN/100mL)		另外方法 (MPN or CFU/100mL)	
	结果评定	方法	结果评定	方法		结果评定	方法	结果评定	方法
1	良好	多管发酵法	优秀		29	优秀	-	-	
3	优秀	多管发酵法	优秀		31	优秀	-	-	
4	满意	多管发酵法	优秀		33	良好	-	-	
6	优秀	滤膜法	不满意		35	优秀	滤膜法	满意	
7	满意	滤膜法	满意		36	良好	多管发酵法	优秀	
9	满意	多管发酵法	不满意		37	优秀	多管发酵法	优秀	
11	良好	多管发酵法	不满意		39	优秀	-	-	
13	-	多管发酵法	满意		41	良好	多管发酵法	不满意	
15	优秀	多管发酵法	不满意		43	良好	多管发酵法	不满意	
16	优秀	酶底物法	优秀		45	优秀	多管发酵法	满意	
17	优秀	多管发酵法	优秀		47	优秀	多管发酵法	优秀	
19	满意	多管发酵法	满意		49	优秀	滤膜法	满意	
21	优秀	多管发酵法	优秀		51	良好	滤膜法	不满意	
22	良好	-	-		53	满意	多管发酵法	不满意	
23	满意	滤膜法	优秀		55	满意	多管发酵法	优秀	
25	满意	-	-		57	优秀	多管发酵法	优秀	
27	优秀	-	-		59	满意	滤膜法	优秀	

参加质控考核的59个实验室中, 共25个实验室开展了质控批号为200123的质控样品检测, 检测结果评定见表2。

从表1和表2中检测数据可以看出, 本次质控考核整体满意率

76.9%, 三种检测方法满意率分别为: 多管发酵法57.6%(19/33), 滤膜法63.6%(7/11), 酶底物法90.0%(54/60)。

表2 质控批号为200123的质控样各实验室检测结果评定

实验室代码	酶底物法 (MPN/100mL)		另外方法 (MPN or CFU/100mL)		实验室代码	酶底物法 (MPN/100mL)		另外方法 (MPN or CFU/100mL)	
	结果评定	方法	结果评定	方法		结果评定	方法	结果评定	方法
2	优秀	多管发酵法	优秀		34	满意	滤膜法	满意	
5	优秀	多管发酵法	优秀		38	优秀	-	-	
8	优秀	滤膜法	不满意		40	优秀	多管发酵法	不满意	
10	满意	滤膜法	不满意		42	优秀	多管发酵法	不满意	
12	满意	酶底物法	不满意		44	优秀	多管发酵法	不满意	
14	满意	多管发酵法	不满意		46	优秀	滤膜法	满意	
18	优秀	多管发酵法	优秀		48	良好	多管发酵法	不满意	
20	不满意	多管发酵法	不满意		50	满意	多管发酵法	不满意	
24	不满意	-	-		52	优秀	多管发酵法	优秀	
26	不满意	-	-		54	优秀	多管发酵法	优秀	
28	良好	-	-		56	优秀	多管发酵法	优秀	
30	不满意	-	-		58	不满意	多管发酵法	不满意	
32	优秀	-	-						

3.2 定量测试结果与真值标准偏差

为使实验室更清晰地了解其测试结果与真值的偏差, 本文给出测试结果与真值的相对偏差散点图。图中横轴表示实验室代码, 纵轴表示真值相对偏差。

定量测试结果与真值标准偏差离散图可以看出, 酶底物法检测结果极差为94.09%, 传统方法检测结果极差为180%, 为酶底物法的1.9倍, 酶底物法检测结果更为稳定。

3.3 问题分析

在本次实验室间比对中, 实验室反馈的情况和问题较多, 对所追溯到的问题进行分析汇总, 从样品制备、样品检测、实验室设备、结果记录等几个方面进行了整理、分析, 并提出建议, 供各实验室在今后的质控考核以及饮用水中总大肠菌群检测时参考。

(1) 样品制备

①样品溶解时间长, 超过了30min。②质控考核样从低温冰箱取出, 放置时间12min后, 将冻干球先转移至无菌取样瓶后, 加入无菌缓冲液, 加入缓冲液和冻干球的顺序错误。③质控冻干球加入无菌缓冲液后, 待质控样完全溶解后, 静置了15min, 水合作用超过30min, 导致结果偏高。④样品收到时有稍融化的趋势(冻干球稍沾壁, 冰袋部分融化)。⑤酶底物试剂和质控样一起加入无菌缓冲液, 导致结果偏高。

建议: 严格按照SOP(标准作业程序)进行实验, 不能随意更改实验顺序, 质控考核样平衡温度的时间控制在10~15min, 水合作用30 min内完成检测。

(2) 样品检测

①考核样采用酶底物法检测时, 样品制备后未加入酶底物试剂, 无法获得检测结果。②样品检测过程中, 多管发酵法接种时没有充分混匀, 接种后, 未将试管摇匀。③使用的培养基没有

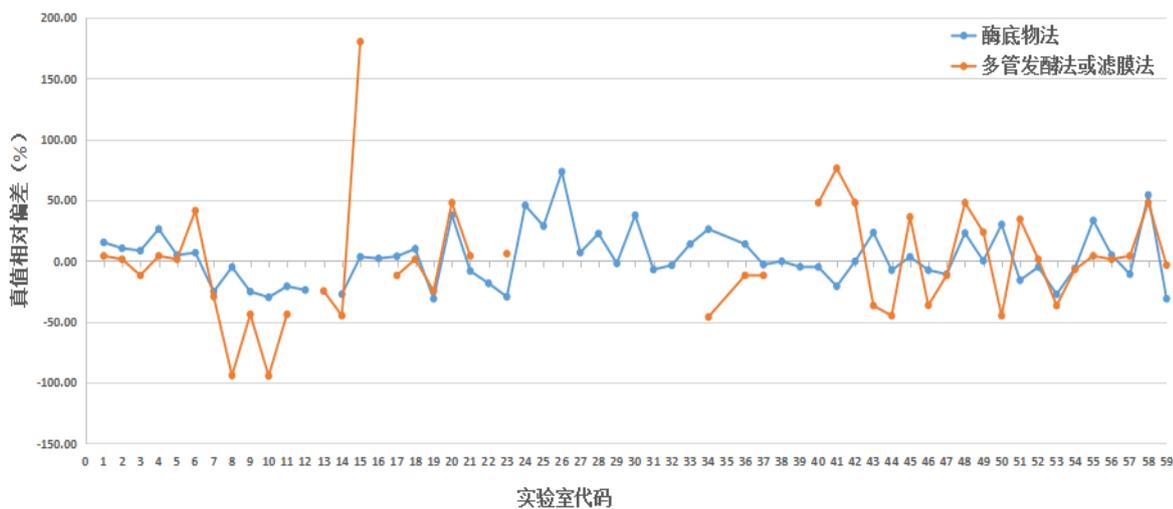


图1 定量测试结果与真值相对偏差散点图

经过验收。④多管发酵法加样过程中,发现有试管缺失小倒管,更换试管后进行实验,在实验过程中,对样品混匀不够。⑤滤膜法检测,三张滤膜放在同一个平板培养。⑥多管发酵法初发酵有可疑管,未进行复发酵验证,直接按照阴性计算。⑦多管复发酵有一管不确定,实验室按照阳性计算;检测结果中,有一管有阳性特征但是不明显,实验室按照阴性计算。

建议:质控菌株水合作用后,应手动摇匀样品或采用涡旋混合器混匀样品,并严格控制在30min内完成检测。正确准备实验用品。多管发酵法应每根试管添加之前摇匀样品。滤膜法检测,每个平板放置一张滤膜。对于检测可疑管,应在验证实验后进行结果统计。

(3) 实验室设备

①培养过程中,实验室断电,导致培养温度中断,检测结果不合格。②实验室检测样品均在一台培养箱进行,结果均偏高,需要监测培养箱温度波动情况。

建议:实验室重要的温控设备,比如恒温培养箱、冰箱等需要有备用电源,以备实验室断电时使用;加强温控设备温度监测及记录。

(4) 结果记录

①提交的结果图片为多管发酵法的图片,但是检测数据为滤膜的结果。②滤膜法检测初发酵有三种典型菌落,每种分别挑取2个单菌落验证后,有两种特征菌是真阳性,结果统计方式为总菌落数乘以三分之二,计数方法不准确。

建议:规范填写实验结果报告单,实验结果统计应准确。

4 总结和建议

本次饮用水中总大肠菌群质控考核,共有59家不同级别供水厂实验室参加,考核整体满意率76.9%,三种检测方法满意率

分别为:多管发酵法57.6%,滤膜法63.6%,酶底物法90.0%。从问题分析中发现,不同实验室在人、机、料、法、环、测等环节存在不同问题,如检测步骤不够熟悉,传统方法验证实验掌握不够扎实,检测结果判读需要加强,实验室温控设备要做好监控等。

饮用水水质关乎人类生命健康,总大肠菌群作为水质污染的指示菌,具有科学的卫生学意义。针对本次质控考核,建议各实验室在检测各个环节都要做好质量控制,实验人员上岗前需经过培训考核,熟练掌握微生物检验检测相关标准、检测方法,熟悉生物检测安全操作知识和消毒知识;实验室需对培养设备做到温度监控,确保设备运行良好;实验室应有严格的培养基验收程序,做好不同批次培养基的验证实验;以期获得更准确的检测结果。实验室应定期参加微生物质控考核和能力验证,及时发现并解决检验检测可能存在的问题,保持良好的检测能力,提高微生物安全管控能力,为安全供水做出保障和贡献。

[参考文献]

- [1]GB 5749-2006,生活饮用水卫生标准[S].
- [2]GB/T 5750.12-2006,生活饮用水标准检验方法微生物指标[S].
- [3]魏金梅,钟国庆.生活饮用水中总大肠菌群检测方法探讨[J].现代食品,2020,(15):154-156.
- [4]雷静,廖爽,乔茜茜,等.固定酶底物法测定生活饮用水中总大肠菌群和大肠埃希氏菌精密度分析[J].科技资讯,2022,20(14):124-126.

作者简介:

王蓉慧(1988--),女,汉族,河南省林州市人,研究生,工程师,研究方向:水务技术管理和水资源管理。