大肠菌群也是经常用来衡量食品卫生情况的重要指标，因此大肠菌群检测是食品微生物实验室进行的常规检测项目之一，绝大部分食品都会要求检测的项目。在食品微生物实验室里，大肠菌群和菌落总数的检测频次应该是最高的，但检测过程中总会有一些小问题困扰着大家，小编根据大家提出的一些问题，来讲解一下大肠菌群平板计数法的注意事项。

**方法选择**

相比于MPN计数法，平板计数法更适用于大肠菌群含量较高的食品。但大肠菌群多少算是含量较高呢？国标里没有明确规定，但通常认为，产品大肠菌群以100CFU/g（mL）为界，超过这个含量一般认为是含量较高。但具体什么时候选用平板计数法进行大肠菌群的检测，大部分情况还是要看你的产品执行的标准。假如产品标准要求大肠菌群含量的单位为CFU/g（mL），那必须选用平板计数法。若是/g(mL)或者MPN/100g(mL)，就应选择MPN计数法，MPN法具体选用哪版国标此处不再赘述。因此，根据自己产品的情况选择适当的检测方法。

**培养基的要求**

平板计数法使用的培养基为结晶紫中性胆盐琼脂培养基，简称VRBA。无论是国标，还是培养基的使用说明中都明确表示，VRBA是不需要进行灭菌的，煮沸2min即可使用。特地点出这一点是因为很多朋友都在问VRBA的灭菌条件，对不灭菌的培养基不信任，害怕出现检测异常，那是因为这些小伙伴们对其中的原理不清楚。

大肠菌群的定义是在一定培养条件下能够在发酵乳糖、产酸产气的需氧和兼性厌氧的革兰氏阴性无芽孢杆菌，因此大肠菌群是不能形成芽孢的，在VRBA培养基煮沸的过程中，即使有大肠菌群存在也会被杀灭，所以从培养基带入污染的可能性是没有的。

当然盛装培养基的容器是需要进行灭菌的，以免容器引入污染。另外，VRBA是一种选择性的培养基，含有的结晶紫对革兰氏阳性菌有比较强的抑制作用而对革兰氏阴性菌几乎没有作用，而且平板培养产生的菌落还需要进行复发酵的验证，因此VRBA培养基就不需要进行灭菌了。但值得注意的是，VRBA需要现配现用，配制出的培养基应当在3h之内使用完毕。

**稀释度的确定**

国标中要求选择2-3个适宜的连续稀释度。什么样的稀释度是合适的呢？这要根据计数来决定。计数环节要求选择菌落数在15CFU-150CFU的平板进行计数，因此培养后菌落数在这个范围内的稀释度就是适宜的稀释度。实验室经常检测的产品的大肠菌群的水平检测人员可以预计的，但是对盲样，我们能做的只有根据实际情况多检测几个稀释度了。这里需要提一句，液体样品的检测稀释度可以包括原液。

**证实试验**

需要从VRBA平板上挑取10个不同类型的典型和可疑菌落，少于10个菌落的挑取全部的典型和可疑菌落进行BGLB肉汤管验证。这里挑取的菌落也是应当有选择的，典型菌落和可疑菌落的比例应当与平板上培养的两种菌落的比例相同或相近，这样能够降低检测过程中的误差。

**计数的报告**

报告过程是很多朋友存在疑问的地方，因为平板计数法的结果报告需要结合培养基菌落数和复发酵验证两方面进行计算。

存在疑问的情况主要有以下几种：

1.所有稀释度都不在计数范围内怎么办？

这种情况一般都是最低稀释度的平板都小于15CFU，这种情况就是以最低稀释度的平板菌落数乘以验证试验的比例来计算。例如10倍稀释的两个平板上菌落数分别为10、8，菌落数为10的平皿挑取10个菌落复发酵中有8个菌落产气，菌落数为8的平皿挑取8个菌落复发酵中有7个菌落产气，则计算过程是这样的：(10\*8/10+8\*7/8)/2\*10=75CFU/g（mL）。

2.连续两个稀释度的四个平皿的菌落数都在计数范围内怎么办？

这个需要参考菌落总数检测国标里7.1.2里的公式计算。我们需要先计算每个平皿的验证后的菌落数，再代入公式计算即可。例如10倍稀释度两个平皿菌落数为120和125,100倍稀释度两个平皿的菌落数为17和16，经过复发酵验证产气的管数分别为7、8、8、8，则我们先计算每个平皿上的菌落数分别为120\*7/10=84,125\*8/10=100，17\*8/10=13.6（我们计14），16\*8/10=12.8（我们计13），然后将84、100、14、13四个数代入公式：（84+100+14+13）/（2+0.2）\*10=959，结果应报告960CFU/g（mL）。

3.只有一个稀释度的一个平皿的菌落数在计数范围，其他均不在计数范围怎么办？

这样我们只需要复发酵验证这一个平皿即可，根据这一个平皿的菌落数进行报告。例如10倍稀释度两个平皿菌落数为160和142,100倍稀释度两个平皿的菌落数为12和13，则我们只需要从菌落数为142CFU的平皿里挑取10个菌落进行复发酵验证即可，假如共有7支发酵管阳性，则应计算142\*7/10=99.4，结果报告990CFU/g（mL）。

泽析生物提供高性能全自动菌落计数仪，化繁为简，轻松上手，满足实验室对大肠菌落准确且精确计数的需求，减少手动菌落计数板的长时间繁琐操作，能够显著提升计数准确性和工作流程效率。