

微生物检验中培养基的质量控制

Quality control of the media in microbiological test

肖 杨(XIAO Yang), 罗健梅(LUO Jian-mei), 龙芝美(LONG Zhi-mei)

(广州市疾病预防控制中心, 广东 广州 510080)

(Center for Disease Prevention and Control of Guangzhou, Guangzhou 510080, China)

[摘要] 目的 开展培养基的质量控制工作, 提高培养基的质量。方法 对微生物检验中培养基的配制、灭菌、无菌试验和性能测试及贮存等方面进行探讨。结果 配制培养基所用的容器宜为玻璃、搪瓷或不锈钢制品, 使用蒸馏水或离子交换水; 灭菌前后应测定 pH 值; 自行配制培养基应严格按照规定进行, 每次详细记录; 高压灭菌条件为 121℃, 15 min; 培养基在使用前应进行性能测试, 其保质期 2~3 年, 已开封的为 6 个月; 配制培养基使用的电子天平和酸度计应每年进行检定。结论 保证培养基的质量控制, 才能确保微生物检验的准确性和可靠性。

[关键词] 微生物检验; 培养基; 质量控制; 实验室技术与方法

[中图分类号] R117 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1671-9638(2010)05-0364-02

培养基是专供微生物生长繁殖使用的混合营养制品, 是微生物实验室检测工作的基础。培养基是否合格, 对微生物的生长、分离、鉴定及检验结果的正确与否起着至关重要的作用。因此, 开展培养基的质量控制十分必要。《检测和校准实验室能力认可准则在微生物检测领域的应用说明》中指出, 实验室应建立和保持有效的适合试验范围的培养基(试剂)质量控制程序^[1]。把好培养基的质量关, 才能保证微生物检验结果的正确性和有效性。笔者就培养基的配制、贮存及质量控制作一总结, 现报告如下。

1 培养基的配制

1.1 配制及分装培养基的容器 配制培养基所用的容器, 不宜用铜或铁锅。每 1 000 mL 培养基含铜量超过 0.3 mg 则细菌不易生长; 含铁量超过 0.14 mg 可妨碍细菌毒素的产生^[2]。配制培养基常用容器为玻璃、搪瓷或不锈钢制品。玻璃器皿必须是中性硬料玻璃, 否则影响培养基的酸碱度。分装培养基的一次性无菌物品, 如一次性试管、一次性平板使用前必须按卫生部 2002 版《消毒技术规范》^[3]进行验收。使用一次性平皿特别是倾倒 SS 平皿时, 不能使用灭菌时间较短的一次性平皿, 因为灭菌时间短, 平皿上有环氧乙烷残留, 倒出的 SS 平皿颜色变

成黄色, 不是正常的橘红色。通过使用中观察, 认为一次性平皿灭菌 2 个月后使用较好。

1.2 配制培养基的用水 制作培养基应使用蒸馏水或离子交换水, 因其不含杂质。而自来水和井水含有钙和镁, 与蛋白胨或牛肉浸膏中的磷酸盐作用, 生成不溶解性的磷酸钙或磷酸镁, 经高压灭菌后出现许多沉淀, 不符合培养基质量要求。

1.3 培养基 pH 值的校准 微生物必须在合适的 pH 值范围才能正常生长代谢。微生物所需 pH 值各不相同, 因此配制时测定和校正极为重要。培养基配方要求的 pH 值为高压灭菌后的值, 灭菌后 pH 值约降低 0.1~0.2, 所以灭菌前后都要测定 pH 值, 这样才能更好地掌握最终 pH 值。培养基 pH 值测定在 20℃~25℃条件下进行, 因为所含成分各不相同, 热和冷时测定相差较大。笔者对营养肉汤进行比较, 其 50℃时, pH 值为 6.99, 25℃时 pH 值为 7.44。乳糖蛋白胨培养液 55℃时 pH 值 7.00, 25℃时 pH 值 7.50; 温度升高时, 溶液中的离子游离数增多, pH 值偏酸; 温度降低时, 离子游离数减少, pH 值偏碱^[4]。故培养基 pH 值须在冷却后测定。用一般酸度计测定固体培养基 pH 值, 冷却至 25℃左右时已凝固, 其值不准确, 故应按 YY/T 0577-2005《营养琼脂培养基》^[5]测定 pH 值, 即取 6 mL 新鲜配制的液体培养基, 加蒸馏水至 40 mL,

[收稿日期] 2009-12-21

[作者简介] 肖杨(1956-), 女(汉族), 广东省兴宁县人, 主管技师, 主要从事微生物检验研究。

[通讯作者] 肖杨 E-mail: ljyljijianyu@sohu.com

灭菌后于 20℃~25℃时测定。此方法比常规方法高 0.08~0.29。有条件的实验室可用带平头电极的酸度计测定。

1.4 培养基的配制 自行配制培养基应严格按照规定进行。每次应有详细记录,包括名称、配制量、各种成分数量、生产厂家、批号、最初及最终 pH 值、配制日期和配制者,培养基贴标签注明生产日期和有效期,如培养基出现问题,则可通过这些资料追查原因。

如使用商品培养基,购买时必须选择通过质量管理体系认证的生产厂家,并索要检测报告。收到商品培养基时仔细检查外观、包装、产品批号,以及产品标签是否标明各种成分、用途、培养基的 pH 值、有效期;商品培养基采用什么标准,根据自己的使用目的加以选择。商品培养基应严格按照生产商提供的有关说明准确配制,并做好配制记录。

2 培养基的灭菌和无菌试验

培养基的高压灭菌一般为 121℃, 15 min, 而容器和装量较大的基础培养基, 则应适当延长其灭菌时间。含糖或特殊培养基按配方要求或产品生产厂家的说明进行高压灭菌, 高压后迅速冷却, 避免长时间保存于灭菌器内, 影响营养成分。葡萄糖、麦芽糖、乳糖和蔗糖等可在灭菌前加入培养基内。阿拉伯糖、木糖和鼠李糖等不能与培养基一起高压灭菌, 因其发酵管高压灭菌后 pH 值明显下降, 培养基颜色变黄如阳性反应, 故应按所需用量配好单独高压灭菌, 再以无菌操作将糖加入培养基中分装小试管。不同灭菌要求的培养基不能放在一起灭菌。要做好灭菌记录, 培养基不可重复高温灭菌。

每批配好的培养基均需进行无菌试验, 以确保灭菌效果。配制大量培养基, 可采取抽样方法进行, 选取任意 10 支的量做无菌试验, 少于 100 份样本选取 5%~10% 做无菌试验。无菌分装培养基则需全部做无菌试验。样本在 36℃ 过夜培养, 观察是否有细菌生长, 无菌生长才可使用。即使做过无菌试验, 接种样本时, 首先仍应检查液体培养基有无混浊生长和颜色有无改变, 平皿培养基上是否长菌, 有无干裂、脱水现象。

3 培养基的性能测试及贮存

培养基在使用前应按《商业性微生物培养基质量检验规程》^[6] 和《培养基性能测试实用指南》^[7] 等相关标准, 根据目的不同进行性能测试。基础培养

基不仅要求细菌能够生长, 还必须发育良好并能使细菌充分表现出其典型的特征, 如典型菌落形态, 溶血特征等。选择性培养基应分别选择 1 株可生长、1 株可抑制的菌株进行接种培养, 可生长菌应生长良好, 抑制菌则不生长。鉴别培养基应选择已知阳性和阴性菌接种培养, 以证实应有的生化反应能力。

商品培养基未开封时保质期为 2~3 年, 已开封为 6 个月。贮存于阴凉干燥处, 避免强光直射, 注意观察产品在有效期内是否有质量变化, 吸潮结块或颜色改变不能使用, 最好不放冰箱保存。成品培养基在保质期内使用。灭菌后的培养基保存有效期各不相同, 无法作统一规定。培养基经灭菌后, 不能立即使用的应避光、干燥保存。除特殊说明和标准规定, 通常情况下, 配制好的培养基应在 4℃ 冰箱中贮存不超过 3 个月, 或室温 (20℃) 下贮存不超过 1 个月, 生化鉴定用培养基在 4℃ 冰箱保存不超过 1 个月, 以保证其成分不改变。自制平皿培养基于 4℃ 冰箱保存 1 周, 密封袋中冷藏保存可延长贮存期限。

4 实验仪器的质量控制

配制培养基用的电子天平和酸度计, 应每年请专业机构进行检定, 同时在两次检定/校准周期之间进行核查, 以保证其置信度。培养箱、无菌室的紫外线灯和高压灭菌器也应定期检查, 高压灭菌器应定期进行灭菌效果的生物学检测。

培养基的质量直接影响微生物检验结果, 如不保证培养基的质量, 就会导致检验结果的误差。因此, 从各环节加强培养基质量控制工作, 不断提高质控水平, 才能确保微生物检验工作的准确性和可靠性。

[参考文献]

- [1] 中国合格评定国家认可委员会. 检测和校准实验室能力认可准则在微生物检测领域的应用说明[S]. 北京, CNAS-CL09, 2006:1.
- [2] 王钦升, 周正明, 高屹. 实用医学培养基手册[M]. 北京: 人民军医出版社, 1999:48.
- [3] 中华人民共和国卫生部. 消毒技术规范[S]. 北京, 2002:96-99.
- [4] 陈润生, 刘华荣, 林杰, 等. 影响培养基 pH 值稳定因素的探讨[J]. 海峡预防医学杂志, 2002, 8(1):58-59.
- [5] 国家食品药品监督管理局. 营养琼脂培养基[S]. 北京, YY/T 0577-2005:2.
- [6] 中华人民共和国卫生部. 商业性微生物培养基质量检验规程[S]. 北京, WS/T 232-2002:1-5.
- [7] 国家质量监督检验检疫总局. 培养基制备指南(第 2 部分): 培养基性能测试实用指南[S]. 北京, SN/T 1538.2-2007:3-8.