

细菌浊度标准概述

伊孝汴 许红李 乔荣艳

(卫生部药品生物制品检定所,北京)

细菌浊度标准是快速、简便测定细菌数目的一种工具。这种工具适用于各种类型的试验室,而且已有 50 多年的历史。目前有些国家有自己的细菌浊度标准,国际上又有由世界卫生组织分发的国际浊度参考制品,作为国际通用标准。这些浊度标准不一,表示浊度的方法各异,使用方法也不尽相同,情况比较复杂,为了便于交流经验,本文就各种标准间的关系以及如何正确使用细菌浊度标准等方面作一简单介绍。

(一) 我国使用细菌浊度标准的历史

解放前,细菌浊度标准没有一个机构统一制备分发。据我们所知,大都使用麦氏浊度标准^[1],或是布朗氏浊度标准^[2]。解放后,随着我国医药卫生事业的发展,卫生部药品生物制品检定所于 1951 年制备了细菌浊度标准,统一了全国的菌苗制品的浊度标准,控制菌苗类生物制品质量,保证人民用药安全有效。到目前为止,我所提供的细菌浊度标准在全国生物制品的生产和检定、卫生防疫、教学、药品检定、畜牧兽医等方面广泛使用,在国际上也进行了交流。

(二) 细菌浊度标准的制备

作为细菌的浊度标准,采用细菌菌体制备,

然而细菌菌体有溶菌或稳定性差的问题。又采用代用品如硫酸钡,白陶土,玻璃粉,有机玻璃来制备细菌浊度标准,其中应用最广泛的当属玻璃粉悬液,采用的有我国、美国^[3],苏联^[4],日本,丹麦^[5]等国的产品。当前,我国使用国产玻璃制备玻璃粉悬液,采用自然沉降法,选择颗粒平均值在 $1.52 \pm 0.17 \mu$ 范围内。分装用的管子要求口径在 $10 \pm 0.25 \text{ mm}$,玻璃质量符合国家标准规定,浊度达到规定要求,进行分装熔封。检定合于规定要求后,经审查发出。该标准有一支标准管,9 支对照用空管,一张比浊用相纸,组成一套标准,并附有使用说明书,提供 17 个细菌菌数,和 13 个试用菌数,其有效期为一年。

(三) 表示浊度的方法

各个国家有自己的细菌浊度标准,表示浊度的方法也各异。世界卫生组织分发的国际浊度参考制品用浊度单位表示^[6],称为 OU (Opacity unit) 10 个浊度单位,该浊度也相当于百日咳杆菌 100 亿/ml 。日本木村正一氏标准采用细菌的重量来表示浊度即 mg/ml ,用重量表示浊度,由于菌体含水量不一致,对菌体的重量也就产生差别,在浊度上形成较大的误差。另一

种表示浊度的方法是明确标出每毫升含有多少个细菌,按各自国家的习惯称百万/ml或亿/ml。我国标准采用亿/ml来表示浊度。

(四) 比较浊度的方法和应该注意的问题

一般发出的细菌浊度标准均附有试验用空管,备装入待测细菌悬液之用。也有的细菌浊度标准是用冷冻干燥的菌体制造的,则需要按规定要求稀释后方得使用。有的标准只有一个标准管,则需要选择二支或数支内外径一致的管子作为标准管,然后启开标准管摇匀取出标准悬液移入管内熔封后备用。有的则要求用仪器测定:首先按标准浊度在仪器上作出标准线,画于坐标纸上,然后将待测细菌悬液的菌数通过标准线求得。目测比浊的方法一般有二种:一种是背向光源,一种是面向光源,试验表明二种方法没有区别,背向光源时有的用印刷字作背景,有的采用比浊图片,这种图片有的用白色作底,黑色的线条或圆圈,通过细菌悬液观察黑色线条或圆圈透光的深浅,来推测浊度的浓淡区别浊度是否一致。有的则相反,用黑色作底透过白色线条来区别浓淡。我所提供的标准用法均采用前者,反复对比,当浊度一致时,查找菌数表,则可了解待测菌液的浊度,相当某种细菌的菌数/ml。目测的比浊方法较简单易行,准确,使用方便,不同测定者之间以及外界环境(如阴天,晴天),或视力疲劳,熟练与生疏程度等,都会产生误差,但在应用玻璃粉悬液制备的标准,一般人误差在 $\pm 10\%$ 范围内。而用有机玻璃制备的标准,除有放大作用外,一般人误差在 $\pm 15\%$ 范围内。使用光电比色计,或分光光度计仪器都是可以的,选用波长一般为530nm。值得注意的是标准管与细菌悬液不能直接在仪器上进行光密度值或透光度值的比较,因为两者物质不同会产生较大误差。玻璃粉制备的标准常见的是有玻璃粉沾附管壁,用力振摇也不能脱落,沾附管壁面积较大时说明标准浊度会下降,应停止使用。有机玻璃出现银丝裂纹也应停止使用应更换新标准,以免影响试验结果。

(五) 我国与其他国家浊度标准的关系

1963年曾根据文献提供的麦氏浊度标准,

布朗氏浊度标准制造方法进行研制,同时有日本木村正一氏细菌浊度标准,英国宝威(wellcome)公司制造的细菌浊度标准,以及1958年苏联塔拉塞维奇国家检定所制造并赠送的肠道细菌浊度标准,用目测方法对伤寒杆菌进行了浊度比较,测定结果表明,我国细菌浊度标准所示浊度伤寒杆菌每毫升相当麦氏浊度标准9.4亿/ml,相当布朗氏细菌浊度标准16.64亿/ml,相当木村正一氏浊度标准2mg/ml。相当英国宝威公司出品的细菌比浊标准19.6亿/ml,相当苏联肠道细菌浊度标准11.76亿/ml。近年来,我所陆续收到外国标准,如国际浊度参考制品第五批,该标准系英国国立生物标准检定研究所制造,英国国家标准局提供,标准采用有机玻璃制成。有机玻璃棒置于玻璃套管内,其浊度用10个浊度单位表示;日本细菌浊度标准,系日本国立预防卫生研究所制造并提供的。标准采用玻璃粉制成,包括15单位/ml,10单位/ml,5单位/ml,标准管各一支组成一套;美国细菌浊度标准,系美国食品和药品管理局制造并提供,标准含0.01%硫柳汞的玻璃粉悬液制成,玻璃粉悬液装在一支安瓿瓶内,标准标明在530nm波长为10个单位,而在420nm波长为9单位。采用目测比浊和光电比色计仪器测定。结果表明,我国细菌浊度标准所示浊度,每毫升相当国际浊度参考制品第五批7单位,相当美国细菌浊度标准5E批6.4单位,相当日本细菌浊度标准7.9单位/ml,从而各使用单位,可通过我国的细菌浊度标准了解其他国家细菌浊度及其所示的单位或菌数情况。

参 考 文 献

- [1] Farland, M. C.: *J. Amer. Med. Assoc.*, 49: 1176—1178, 1907.
- [2] Brown, H. C.: *India Journal of Medical Research*, November, 763—769. 1914.
- [3] Фихман, Б. А.: *ж. м. э. н.*, 12: 46—50, 1958.
- [4] Seligmann, Jr. E. B. and J. F. Farber: *Journal of Biological Standardization*, 4: 127—130, 1976.
- [5] Maale, O. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 12: 769—775. 1955.
- [6] Perkins, F. T. et al.: *Journal of Biological Standardization*, 1: 1—10, 1973.