

标准化微生物培养基研究进展

吴清平 陈素云 阙绍辉 丘万英

(广东省微生物研究所, 广州 510070)

70 年代以来, 微生物学技术方法已从传统技术方法的改进、完善和应用范围的扩展, 逐步在微量、简易监测系统的兴起、发展和应用的基础上, 发展到微生物的自动化快速诊检技术开始走向实际应用阶段^[1~5]。

近年来, 随着分子生物学飞速发展, 冠以“分子”二字的学科或技术多不胜数, 从而也相继出现微生物分子、亚分子诊断试剂。但与微生物分子诊断试剂发展的同时, 微生物学工作者并没有丢弃常规(经典)的微生物诊断试剂和技术, 而是不断创新、不断完善, 向着定向、微量和自动化方向发展^[3]。

一种新的检测试剂的创造和发现, 有时可以推动微生物学的全面发展。在国内, 有关微生物分子诊断试剂的研究报告很多, 但对常规诊检试剂的研究报告则极少。在实际工作中, 则不仅对培养基研究不够, 还表现在将培养基的制备工作视为辅助性工作, 中高级科技人员甚少关注, 这种状况如不改变, 对我国的微生物学的发展和技术的提高极为不利^[5]。现就对标准化微生物培养基研究进展作一概要介绍, 以便掌握和了解这方面的发展动态, 并引起足够的重视。

1 常规微生物培养基的种类

根据各种微生物的不同需要, 培养基的成分亦有所不同, 因此, 培养基的种类繁多、成分复杂。按其原料成分, 可分为天然培养基、人工综合与半综合培养基; 按其物理性状, 又分为液体、固体和半固体培养基, 以及斜面、平板及高层等不同形状的培养基; 按其用途分类则更为复杂, 例如普通营养琼脂和肉汤、增菌及分离培养基、糖发酵等生化鉴别及选择鉴别培养基等; 另外, 按照不同培养对象, 尚可分为肠道杆菌、

霍乱弧菌、结核杆菌、化脓性球菌及产毒用的各种厌氧的培养基, 以及霉菌、酵母菌、噬菌体和抗生素效价测定等各种不同用途的培养基。总之规格不一, 品种相当繁多(表 1)^[1, 2, 4, 5]。

表 1 常规培养基的配方

作者	书名	培养基配方数
斯佩克 M.L.	食品微生物检验	194
	方法提要	
郑钧镛等	药品微生物学及	72
	检验方法	
美国食品与药 品管理局(FDA)	细菌学分析手册	102
郝士海	现代细菌学培养基 和生化试验手册	365

制备培养基是比较繁琐而又细致的常规工作。例如制备微生物各种实验研究的培养基时, 从容器的洗刷准备, 到各种成分的称量配制、过滤与分装灭菌, 以及成品的质量检验等各个工序, 均须严格操作, 偶有差错必将影响培养基灵敏度及其功能和可靠性。尤其是某些特殊培养基, 成分复杂, 质量极不稳定, 制作时更为麻烦。但随着科学的不断进步, 一些发达国家对培养基的制备已经实行原料配方标准化, 培养基脱水干燥化, 微量培养管试剂盒化, 以及生产供应专业化。近来, 更有部分国家和地区采用成品培养基, 这种成品培养基可达到即开即用的效果, 与脱水干燥培养基相比, 更省去了使用时的溶解及灭菌等手续。所以, 就培养基的成品化程度而言, 又可将培养基分为配制培养基、脱水干燥培养基和成品培养基等三大类。

1995-04-16收稿

在食品、药品及化妆品等的染菌限度检验、无菌检验、抗生素效价测定、药敏试验及其它抗菌、防腐等项微生物检验中,培养基的质量好坏、稳定与否,对检验结果有极重要的影响。由于培养基配方中各原料成分的理化性能,精制程度,及其对各类微生物生长繁殖,代谢产物的稳定性很不相同,致使结果也有较大差异,即使同一厂家生产的同一型号的原料产品,各个批号之间质量都有较大差异,加上各地实验室制备培养基的方法不一,同一实验结果常有显著不同,因此,培养基质量标准化就显得十分重要^[2]。目前市场上销售的脱水干燥培养基及成品培养基的质量,一般控制得比普通实验室配制的同样培养基要好。因为技术力量较强的生产厂家能对原来文献上介绍过的配方作出改进并完善它们,可以较好地控制 pH 和增菌或抑菌效果,这些配方的改变,通常能提高培养基达到某种特殊目的的功能;另外,商品培养基一般均有较完善的质量控制方案,具有一套经过仔细选择的试验(对照)菌株,用以试验每批培养基的增菌性能和抑菌作用等^[4]。

成品培养基采用的是一次性使用的包装及用具,因此其用户使用成本比脱水干燥培养基就显得略为高些。与我国的经济水平相适应,目前我国已逐步开始使用脱水干燥培养基。虽然一般的商品脱水干燥培养基的质量都有较好的保证,但由于影响脱水干燥培养基质量的原因较多,因此使用单位应尽量就地选择一些技术力量强的生产厂家生产的产品,而且不要经常变换使用不同厂家生产的产品,以免造成被检产品质量控制的极大非线性误差。目前,脱水干燥培养基基本上覆盖了常用的培养基种类。在国外,美国的 Sigma 化学公司 1995 年的目录中列出了 175 种脱水干燥培养基;在国内,广东省微生物研究所属下的广东环凯微生物科技公司生产的脱水干燥培养基有近 70 个品种,从全国来说,都属于种类齐全、技术力量强、质量有保障的产品,同时还可提供各种配套的微生物技术服务,对我国微生物检测技术的普及和提高起到一定作用。

2 定向检测培养基的开发

随着微生物学技术的迅速发展,培养基亦向着从简单到复杂,从完全培养基,逐步进入定向检测培养基的方向发展,这样才能为人类逐步揭开微生物神秘的面孔,并使之成为人类服务提供强有力的工具和手段。

完全培养基,亦称通用培养基,其应用范围广泛,并且对于某些实验,如微生物总数测定等是必需的。当然,所谓通用培养基是相对的,不能说它们对种类繁多的微生物都能适用。当有大量其它微生物混杂的情况下,要分离某种类型或某种特定的微生物,虽然可以用稀释分离法使它们分离开,但有时还很难得到预期效果。因此有必要采用对要分离的微生物生长有利,而对其它混杂的微生物生长不利的选择性培养基,根据它们的专化程度,选择性培养基又分为一般选择性培养基和特殊选择性培养基。然而,在逐步开发和使用选择性培养基后,目前还普遍面临的问题是,当有干扰物质存在,如消毒剂或防腐剂与检测样品共存的情况下,排除这些干扰,恢复受伤微生物的活力,就能大大地提高检测的灵敏度和准确性^[1]。所以,除了选择性培养基外,开发抗干扰性强的培养基,亦成为这一领域的研究者所要解决的迫切问题。例如,近年来全国矿泉水的生产在迅速发展,但质量问题却极令人担忧。1993 年有关部门的产品抽检结果表明,在一些市场上有约一半的产品微生物指标不合格,究其原因,虽然是现有生产环节及检测手段需要改善,但现有检测试剂抗干扰性差亦是其中一个不可忽视的重要原因,因为产品一旦生产出来,其中含有较高的臭氧(O_3),容易使结果造成假阴性;另外,检查包装物瓶及盖是否消毒彻底的试验中,由于消毒剂的残留,亦有可能造成结果的假阴性。目前,广东环凯微生物科技公司已开发成功此类抗干扰培养基并投入使用,将会大大有利于检测灵敏度及精确率的提高。

3 微量快速检测试剂的发展方向

随着微生物常规培养基的发展,微生物微量培养基也得到了快速发展,将培养基干燥而

载于纸片上、毛细管中或制成检测微生物的多种测定卡,这些产品在具体的检测工作中的实际应用,加快了检测速度,降低了检测的成本。另外,近年来,微生物的快速诊断技术迅速发展,种类繁多。目前推广应用得较多的是由美国麦克唐纳·道格拉斯公司所生产的自动微生物诊检仪(Vitek-Auto Microbic System)。它是不同组合的微量干燥培养基的集合体形成的多功能的微生物鉴定卡与自动化仪器相结合的产物,Vitek-AMS 的鉴定卡种类至少有 11 种以上,可对常见细菌和酵母进行自动化的快速鉴定(表 2),细菌鉴定一般在 10h 内完成,真菌

表 2 Vitek-AMS 鉴定卡种类

鉴定卡名称	用途
GNI	革兰氏阴性杆菌鉴定
GNS	革兰氏阴性杆菌药敏试验
GPI	革兰氏阳性球菌鉴定
GPS	革兰氏阳性球菌药敏试验
YBC	酵母菌鉴定
NH/H	奈瑟氏菌、嗜血杆菌鉴定
ANI	厌氧菌鉴定
UID	尿液菌落计数
GNU	尿液革兰氏阴性药敏试验
EPS	肠道致病菌筛选
BACILLUS	芽孢杆菌鉴定

鉴定一般在 20h 内完成,平均总符合率可达 95%~98%。这不仅节省了大量的人力、物力和财力,也提高了微生物分析鉴定的速度和质

量。此外,AMS 还开始被引入药物、注射液、食品、饮料和乳品等工业中作为微生物快速检测的一种有效手段^[4]。

4 讨论

微生物常规培养基的发展历史悠久,目前有如下发展趋势:一是迅速推广使用脱水干燥培养基,有条件的地方可逐步过渡到直接使用成品培养基;二是积极开发定向检测培养基,为生产和科研提供高灵敏度及高精确度的检测试剂,使整体的检测水平得到较快的提高;三是研究微生物微量培养基和鉴定卡,尽快提高检测速度和质量,降低检测费用。

我国各地方和各单位的具体情况不同,脱水干燥培养基的应用还处在一个初步发展的阶段,要提高整体的检测水平,要提高被检产品的质量,就必须按照目前的发展趋势,首先广泛地推广应用脱水干燥培养基,其次是努力开发定向检测培养基,然后向微生物自动化检测系统发展。

参 考 文 献

- [1] 斯佩克 M.L. 主编,何晓青,孟昭赫,吴光先等译. 食品微生物学检验方法提要. 北京:人民卫生出版社,1982, 21.
- [2] 郑钧镛,王光宝主编. 药品微生物学及检验技术. 北京:人民卫生出版社,1989, 134.
- [3] 程光胜,朱厚础,周方主编. 分析微生物学专辑. 北京:科学出版社,1988, 29.
- [4] 美国食品与药品管理局(FDA)主编,甄宏太,俞平译. 细菌学分析手册. 北京:轻工业出版社,1986, 406.
- [5] 郝士海主编. 现代细菌学培养基和生化试验手册, 中国科学技术出版社,1992, 118.