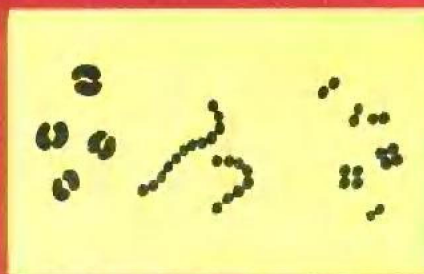
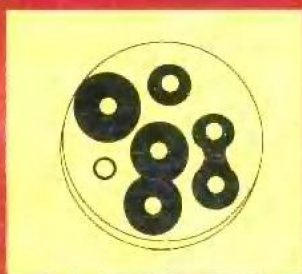


# 临床 细菌学



# 基础 实验室 程序



世界卫生组织



人民卫生出版社

# 临床细菌学 基础实验室程序

世界卫生组织 编

J. Vandepitte、K. Engbaek、P. Piot、C. C. Heuck 著

王登先 白念峰 史旭波 译  
牛胜田 逢惠 李红



人 民 卫 生 出 版 社

世界卫生组织委托中华人民共和国卫生部  
由人民卫生出版社出版本书中文译文



ISBN 92 4 154425 2

© 世界卫生组织 1991

根据《世界版权公约》第二号协议书规定,世界卫生组织出版物享有版权保护。要获得世界卫生组织出版物的部分或全部复制或翻译的权利,应向设在瑞士日内瓦的世界卫生组织出版办公室提出申请。世界卫生组织欢迎这样的申请。

本书中所用的名称和资料,特别是涉及任何国家、领土、城市或地区或其当局的合法地位,或涉及国境线或边界线的划分的内容,均不代表世界卫生组织秘书处的任何观点。

文中如提到一些公司或一些工厂的产品,并不意味着比其他未提及的同类公司或产品优先得到世界卫生组织的承认或推荐。除了错误和遗漏外,所有专利产品名称的字头均大写,以示区别。

## 临床细菌学基础实验室程序

世界卫生组织 编

王登先 等 译

人民卫生出版社出版发行  
(100050 北京市崇文区天坛西里 10 号)

人民卫生出版社印刷厂印刷

新华书店经销

880×1230 16 开本  $6\frac{3}{4}$  印张 145 千字  
1997 年 3 月第 1 版 1997 年 3 月第 1 版第 1 次印刷  
印数:00 001—1 000

ISBN 7-117-02596-4/R · 2597 定价:14.50 元

(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)

---

# 前言

在发展中国家，导致人类死亡的最主要原因是传染性疾病。对这些疾病进行诊断及治疗是这些地区的卫生保健机构的重要任务。世界卫生组织 (WHO) 一直长期从事发展与促进对这些疾病的实验室标准技术工作。最初是在 1960 年使致病菌的药敏试验标准化<sup>1</sup>。于 1976 年，WHO 标准化生物学专家委员会制订了应用圆盘法进行抗生素药敏试验的要求<sup>2</sup>。

同时，WHO 努力推广利用实验室工作的质量标准化。1981 年，WHO 制订了国际微生物学外部质量评价方案，现在已在 112 所实验室中应用。这些实验室在各种不同级别的卫生保健系统中为方案的执行起着主导性的作用。

该书将 WHO 在过去这些年中为实验室研究的标本、细菌鉴定和药敏试验的标准化而制订的各种方针加以总结，并进一步使其具有时代性。这些资料可用于指导微生物学研究和药敏试验以使其协调一致，以进一步提高各个中间实验室和中央实验室的技术质量。本书着重讲述实验室的工作程序，并非讲述有关显微镜和染色的基本技术，因为这些技术已在 WHO 的另一本出版物中被具体介绍<sup>3</sup>。

---

1 *The public health aspects of antibiotics in feedstuffs. Report on a Working Group. Bremen. 1-5 October 1973.* Unpublished document of the WHO Regional Office for Europe, EURO 3604 (2).

2 WHO Technical Report Series. No. 610, 1977 (*Twenty-eighth report of the WHO Expert Committee on Biological Standardization*), Annex 5.

3 *Manual of basic techniques for a health laboratory.* Geneva, World Health Organization, 1980.

目 录

前言 ..... IV

引言..... 1

微生物学检验的质量保障..... 2

    引言..... 2

    定义..... 2

    内部质量控制..... 5

    外部质量评估 ..... 15

第一部分 细菌学研究

血液 ..... 19

    引言 ..... 19

    菌血症的病因 ..... 19

    血样采集 ..... 19

    血培养基 ..... 20

    血培养的过程 ..... 21

脑脊液 ..... 23

    引言 ..... 23

    标本的采集和运送 ..... 23

    肉眼观察 ..... 23

    显微镜检查 ..... 24

    初步鉴定 ..... 25

    药物敏感试验 ..... 26

尿液 ..... 27

    引言 ..... 27

    标本的采集 ..... 27

    细菌培养与分析 ..... 28

    尿液培养结果的定量分析 ..... 30

    细菌鉴定 ..... 31

    药物敏感试验 ..... 31

大便 ..... 32

    引言 ..... 32

    大便标本的采集 ..... 32

    直肠拭子的采样 ..... 32

    标本检验 ..... 32

    大便悬浮液的制备 ..... 33

    平皿培养基上的接种 ..... 33

|                           |    |
|---------------------------|----|
| <b>下呼吸道感染</b>             | 34 |
| 引言                        | 34 |
| 最常见的感染                    | 34 |
| 痰液标本的采集                   | 35 |
| 痰液标本在实验室中的检验过程（对非结核性感染而言） | 35 |
| 结核分支杆菌的培养                 | 39 |
| 一般安全注意事项                  | 40 |
| <b>上呼吸道感染</b>             | 41 |
| 引言                        | 41 |
| 咽部的正常菌群                   | 41 |
| 导致咽炎的细菌                   | 42 |
| 标本的采集和送发                  | 43 |
| 直接显微镜检查                   | 43 |
| 培养和辨认                     | 43 |
| 药物敏感性试验                   | 44 |
| <b>性传播疾病</b>              | 46 |
| 引言                        | 46 |
| 男性尿道炎                     | 47 |
| 女性生殖系统标本                  | 49 |
| 生殖道溃疡的标本                  | 51 |
| <b>化脓性渗出物、伤口以及脓肿</b>      | 54 |
| 引言                        | 54 |
| 常见的临床情况和最常见的致病因素          | 54 |
| 标本的采集和运送                  | 56 |
| 肉眼观察                      | 57 |
| 显微镜检查                     | 58 |
| 细菌培养                      | 59 |
| 细菌鉴定                      | 60 |
| 药物敏感试验                    | 62 |
| <b>厌氧细菌学</b>              | 63 |
| 引言                        | 63 |
| 与需氧有关的细菌的描述               | 63 |
| 细菌学                       | 63 |
| <b>抗菌敏感性试验</b>            | 68 |
| 引言                        | 68 |
| 抗菌敏感性试验的一般原则              | 68 |
| “抗药”和“敏感”的临床定义：三个类别的分类系统  | 69 |
| 常规敏感试验的指标                 | 70 |
| 临床实验室常规敏感试验所用药物的选择        | 71 |
| 改良的 Kirby-Bauer 法         | 73 |
| 直接敏感性试验与间接敏感性试验           | 80 |
| 影响盘扩散方法的抑制区带大小的技术因素       | 80 |
| 质量控制                      | 83 |

第二部分 分离和鉴定临床致病菌的常用培养基与试剂

---

|                                 |    |
|---------------------------------|----|
| 引言 .....                        | 87 |
| 致病菌、培养基和诊断试剂的主次顺序分级 .....       | 88 |
| 血培养 .....                       | 88 |
| 脑脊液标本 .....                     | 89 |
| 尿 .....                         | 90 |
| 大便培养 .....                      | 91 |
| 下呼吸道 .....                      | 93 |
| 上呼吸道 .....                      | 94 |
| 性传播疾病的泌尿生殖道分泌物标本 .....          | 95 |
| 脓和渗出物 .....                     | 96 |
| 为中层微生物学实验室推荐的培养基和诊断用试剂的目录 ..... | 97 |

根据 WHO 第八次工作总规模中对世界卫生状况的分析, 传染性疾病的防治投资仍占发展中国家卫生经济预算的绝大部分。在 5 岁以下死亡儿童中, 30% 以上是急性腹泻所导致的, 每年死亡人数达 400 万人。急性呼吸道传染病 (原发性肺炎) 是引起死亡的另一种重要原因, 每年造成全世界 220 万人死亡。对肺部抽吸物的有关资料分析明确表明, 在发展中国家, 儿童肺炎的主要致病菌为流感嗜血杆菌和肺炎链球菌, 而不是病毒。流感嗜血杆菌和肺炎链球菌不断地产生  $\beta$ -内酰胺酶, 从而降低了对青霉素的敏感性。近来, 这些情况在世界各地均有发现, 因此, 非常有必要对这些病原体进行监控。

性传播疾病在各地正在不断增多, 并且存在着以病毒或细菌为病原体的疾病的流行与暴发流行的威胁, 这也许更是由于没有充分的进行流行病学的监控和缺乏有效的预防措施而造成的。为了预防和控制主要的细菌性疾病, 有必要开展简单可靠的诊断技术那样开发简便的流行病学监控工具。

为迎接这一形势的挑战, 卫生保健机构必须在实验室网络的基础上, 为保健中心、医院的医生、流行病学专家完成疾病的微生物学诊断工作, 进一步加强从基层实验室、中间实验室到中心实验室的工作, 尽快地收集相关信息, 促进监控工作, 以保证早期发现流行病或少见性传染病, 发展、应用特异性防治措施并对其加以评价。

---

# 微生物学检验的质量保障

## 引言

质量保障方案是保证国际性实验室诊断工作质量标准的有效措施，有必要对其加以不断更新。实验室的工作质量与它的可靠性（准确性）和可重复性（精确性）是一致的，然而在微生物领域质量不单是技术的完善，还包括试验的速度、投资、作用和临床的相关性。一般来讲，实验室试验投资较大，而且随着医药事业的不断发展，对其的投资在卫生经济预算中所占的比例将不断地增加。

## 定义

一项好的诊断性试验必须与临床有着密切的相关性，即它必须有助于疾病的预防或治疗。诊断性试验质量监测的其它方面是：

- 可靠性：这个结果正确吗？
- 可重复性：如果重复试验，能得到同样的结果吗？
- 速度：这个试验能否尽快地对正在安排、治疗的医生有所帮助吗？
- 花费-效益比例：与给病人和社会带来的利益相比，这个试验的花费值得吗？

## 影响试验结果可靠性和可重复性的因素

以下几方面是可能导致失误的原因：

- 人的因素：实验室工作人员或技术人员操作质量与所接受的教育和培训质量、个人经验及工作条件直接相关。
- 环境因素：不适宜的工作环境、照明、通风、高温、过大的噪声或不完备的工作条件，都会影响试验的结果。
- 标本：实验室可以控制的影响质量的因素是标本的运送、识别、保存及制备过程。但采样的方法和时间以及标本的来源常为实验室所不能控制。因此，实验室应教育那些取、送标本的工作人员严格执行工作条例，并与医护人员一起经常不断地温习，以便真正发挥工作条例的作用。
- 实验室设备：试剂、药品、玻璃器皿、染色剂、培养基和试验动物的质量均影响着试验结果的可靠性。
- 试验方法：应选择准确可靠的试验方法。
- 仪器装备：缺乏必要的设备、应用不标准或保养不良的仪器，均会降低试验结果的可靠性。
- 检查和阅读：不认真的阅读结果或没有进行足够多的显微镜下视野观察均会产生误差，影响结果的可靠性。
- 报告：报告抄写错误或报告不全面也会降低结果的可靠性。

## 试验结果的质量分析

微生物学的试验结果分析是特别重要的。应对检验标本的每一个步骤的结果加以解释，以选择在试验速度和可靠性方面皆佳的试验，以用于下一步的检验。

## 微生物实验室的质量保障

质量保障是实验室为保证其结果具有良好的可靠性而实行的各种措施，它必须具备：

- 全面性：即贯彻于从标本的采集到检验报告发到医生手中全过程的每一步；
- 合理性：即强调全过程的关键步骤；
- 周期性：即反复地对试验操作进行监测。
- 经常性：即随时发现检验错误并及时纠正。

**良好的实验室质量是良好的医疗质量的保障**

质量保障有助于确定昂贵的试验是否被尽可能节俭地加以应用。还可有助于决定新试验的价值如何，可有助于改善临床和公共试验室的操作，并有助于各类实验室所得到的结果具有可比性。

### 质量保证的类型

有两种类型的质量保证：

- 内部保障：也叫质量控制，即每一实验室要利用一项试验工作来检查自己的实验质量。

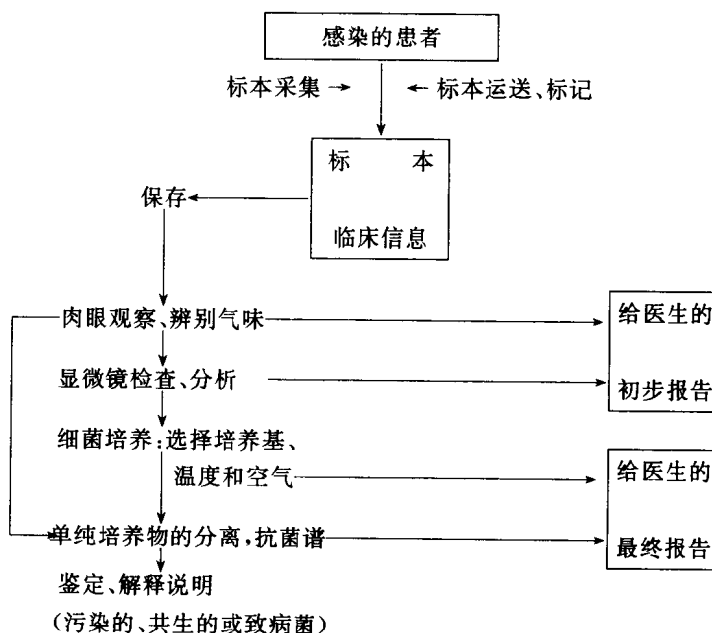


图1 对一感染患者的实验室研究步骤

理想的内部质量控制包括：

- 对试验质量的连续性监测

——对各个步骤进行全面的检查，从标本的采集（不论什么时间）到结论的产生。

实验室应对于病人承担道德方面的责任，应提供正确的、有意义的报告。

#### 内部质量控制对于良好的操作程序是绝对必要的

• 外部保障：这被称为质量评估。这意味着这个实验室的工作要受一个外部机构的控制。在某些国家，外部参与是必须的（受政府调控），并要求有工作执照。

外部保障包括：

——对试验质量的定期检查

——对鉴定试验，有时对分离技术定点检查

### 微生物学的质量标准

#### 临床意义

一个微生物学试验的重要质量标准是看它究竟能为预防或防治传染病起到多大作用；这被称作微生物学试验与临床工作的临床相关性。只有临床医生与实验室存在着良好的协作时，临床相关性才能得到保证。

为说明临床相关性，以下几个例子：

1. 假如从一个住院病人的痰液或咽拭子中仅分离出几个革兰氏阴性杆菌，那么进一步的鉴定和抗菌谱都是没有临床相关性的，因为不会对治疗产生什么有效帮助。

2. 假如分离出化脓性链球菌，那么全面的抗菌谱没有什么临床相关性，因为青霉素 G 就是首选的药物，在人体内永远是有效的。

3. 假如从一散发性腹泻的病例中发现大肠杆菌，那么对血清分型的鉴定是没有临床相关性的，因为血清分型与致病灶之间尚没有建立起明确的关系。

4. 假如革兰氏染色片显示“混合性厌氧菌丛”，常规对这些厌氧菌进行鉴定则没有临床相关性，它将费时、费钱且对病人的治疗没有什么作用。

5. 假如从一个呼吸道标本中分离到酵母菌，则应做隐球菌的鉴定试验，其它进一步的细菌鉴定没有什么临床相关性，因为对治疗不会有什么帮助。

总之，一个高质量的试验应是一个准确的试验，并能为预防和治愈感染提供有用的试验结果。对标本中的所有类型微生物进行分离和鉴定是没有必要的。

#### 可靠性

对于提供数量结果的试验，需通过观察这些结果如何接近真实值来监测可靠性。这里有这种试验的几个例子。

- 血清抗菌素的鉴定；
- 测量人体内抗菌素的最小抑菌浓度值；
- 血清抗体的滴定方法。

对于提供定性结果的试验，则通过看结果是否正确来监测其可靠性，这种试验的例子如下：

- 鉴定致病菌；
- 应用圆盘法对分离物进行抗菌素敏感试验。

微生物学的标准术语对于可靠性是必要的。应一直使用国际认可的名词，例如：Staphylococcus aureus(金黄色葡萄球菌)，不用“Pathogenic staphylococcus”；Streptococcus pyogenes(化脓性链球菌)，不用“haemolytic streptococcus”。

应用统一的、已认可的方法是必需的。例如：盘药敏试验应采用国际承认的技术，如改良的 Kirby-Bauer 试验。

### 可重复性

微生物学试验的可重复性或精确性可因两方面的因素而被降低：

1. 缺乏同种性：来自一位病人的一个标本中可以含有不仅一种微生物。因此，重复培养会分离到不同的微生物。

2. 缺乏稳定性：随着时间的变化，一个标本中的微生物以不同的速度繁殖或死亡。因此，重复培养会分离到不同的微生物。为提高其精确性，采集标本后应尽可能快地进行试验。

### 功效

一个微生物学试验的功效在于它正确诊断某种致病菌或某种致病条件的能力。这可通过两个标准进行监测：

#### 1. 敏感性

敏感性 = 所有阳性结果数量 / 所有感染病人数

试验的敏感性越高，假阳性结果就越少。

例如：Mac Conkey 琼脂对于从小肠中分离的伤寒杆菌敏感性差。这种小肠非致病菌大量繁殖，可这个重要的小肠致病菌经常被遗漏。

#### 2. 特异性

特异性 = 阴性结果的总数 / 未感染病人的总数

特异性越高，假阳性结果越少。

例如：

- 对痰液进行 Ziehl-Neelsen 染色，对于诊断结核具有高度的特异性，因为它只产生很少的假阳性结果。

- 对尿液进行 Ziehl-Neelsen 染色，特异性差，因为它会产生许多假阳性结果（会产生不典型的分支杆菌结果）。

- 肥达试验 (Widal test) 对诊断伤寒热的特异性差，因为过去感染过相关血清分型的沙门菌的病人仍存在着交叉凝集抗体而产生假阳性结果。

试验的敏感性和特异性是相互联系的。改变限制的标准，试验的敏感性会增加，但会使特异性下降，反之亦然。

## 内部质量控制

### 要求

一项内部质量控制应当是：

- 实用的
- 现实的
- 经济的

内部质量控制并不是对每天的每一操作、试剂、培养基进行评价，而应当根据实际的程序表，参考每一项目对整个试验质量的重要性，以及每一操

作、试剂、培养基进行评价。

## 操作

内部质量控制应从正确的实验室工作开始。

### 实验室工作细则

每一实验室都应有一个工作细则，包括以下几方面：

- 清洁工作场所
- 个人卫生
- 就餐和吸烟区与工作区分开
- 安全措施
- 处理和抛弃被感染的物品
- 保护仪器设备
- 标本的采集
- 标本的登记
- 不合适标本的清除
- 标本的加工
- 结果的记录
- 试验结果的报告

应认真遵守工作细则，并不断地修订，使之具有时代感。

### 仪器设备的保护

认真保护实验室设备特别重要。如果所用仪器设备质量差或保管差，就不可能进行高质量的试验。

表 1 是常规保护、管理必备设备的一览表，开动仪器的温度会以图 2 中的某一形式记录。

表 1 仪器的质量控制

| 仪 器           | 保 养                                          | 注意事项                                         | 技术方面的管理和检查  |
|---------------|----------------------------------------------|----------------------------------------------|-------------|
| 厌氧瓶           | 每周清洁瓶的内部，每次开动（160℃，2h）后重新活化催化剂，每 3 个月重新放置催化剂 | 每次开动时应用美兰指示条；每周注意和记录一次指示条脱色的时间               | 每周检查封在盖内的垫片 |
| 高压灭菌器         | 每月清洁并换水一次                                    | 在每次开动前检查并调整水平面；记录每次开动的的时间、温度和压力；每周记录一次孢子条的变化 | 每 6 个月 1 次  |
| 离心机           | 每周或在玻璃试管破裂或溢出后，用抗菌液擦离心机内壁                    |                                              | 每年换一次刷      |
| 玻璃器皿<br>灭菌热风炉 | 每月清洁内部                                       | 记录每次开动的的时间和温度                                | 每 6 个月 1 次  |
| 保温箱           | 每月清洁内壁和搁板                                    | 记录每个工作日开始的温度（允许 35±℃）                        | 每 6 个月 1 次  |
| 显微镜           | 在每天工作后，用薄纸或透镜纸擦透镜；每周清洁和润滑机械部分；不用时用防尘罩保护      | 每月检查冷凝器的排列                                   | 每年一次        |

续表

| 仪 器  | 保 养                   | 注意事项                                    | 技术方面的<br>管理和检查 |
|------|-----------------------|-----------------------------------------|----------------|
| 冰 箱  | 每 2 个月或制冷失败后<br>清洁并除霜 | 记录每周第一天的温度<br>(允许 2~8℃)                 | 每 6 个月 1 次     |
| 水-浴器 | 每月擦内壁和换水              | 每天检查水平面; 记录<br>每周第一天的温度 (允<br>许 54~57℃) | 每 6 个月 1 次     |

温度\_\_\_\_\_

仪器\_\_\_\_\_

房间\_\_\_\_\_

每天阅读, 检查温度显示数据是否允许, 如果温度失常, 则在空格内记录下这一温度

| 日期 | 1 月 | 2 月 | 3 月 | 4 月 | 5 月 | 6 月 | 7 月 | 8 月 | 9 月 | 10 月 | 11 月 | 12 月 | 日期 |
|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|------|------|----|
| 1  |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |      | 1  |
| 2  |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |      | 2  |
| 3  |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |      | 3  |
| 4  |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |      | 4  |
| 5  |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |      | 5  |
| 6  |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |      | 6  |
| 7  |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |      | 7  |
| 8  |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |      | 8  |
| 9  |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |      | 9  |
| 10 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |      | 10 |
| 11 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |      | 11 |
| 12 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |      | 12 |
| 13 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |      | 13 |
| 14 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |      | 14 |
| 15 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |      | 15 |
| 16 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |      | 16 |
| 17 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |      | 17 |
| 18 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |      | 18 |
| 19 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |      | 19 |
| 20 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |      | 20 |
| 21 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |      | 21 |
| 22 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |      | 22 |
| 23 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |      | 23 |
| 24 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |      | 24 |
| 25 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |      | 25 |
| 26 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |      | 26 |
| 27 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |      | 27 |
| 28 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |      | 28 |
| 29 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |      | 29 |
| 30 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |      | 30 |
| 31 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |      | 31 |

图 2 记录仪器设备开动的温度

## 培养基

培养基可以在实验室用基础物质制备，或可用市场上的脱水粉制备，也可以购买成品使用。推荐使用脱水的粉末商品，因为运送和保存都较经济，而且比实验室制作的培养基质量好。为得到良好的试验结果，提出如下要求：

### 培养基的选择

一个高效率的实验室应保存与所开展的各种试验相一致而范围又尽可能小的培养基。例如：一种好的琼脂可被用作各种目的的培养基，用于制备血琼脂、巧克力琼脂和几种可选择的培养基。

一种高选择性的培养基（沙门菌/志贺菌琼脂或脱氧胆酸枸橼酸盐琼脂）和一个低选择性培养基（Mac Conkey 琼脂）对于分离大便中致病的肠杆菌是必要的。

为了重获空肠弯曲菌，应加上特殊的培养基。

### 无水培养基的安排与储存

1. 安排 6 个月，或者最多 1 年的用量；
2. 将 1~2 个月所用总量装在容器内；
3. 收到培养基后，牢牢地拧紧所有容器的盖子。无水培养基会吸收空气中的水分，在潮湿的天气，用石蜡封闭无水培养基容器的顶盖（用蜡填充容器与盖之间的间隙）；
4. 记录每一容器的收到日期；
5. 应在阴凉、通风处保存；
6. 调整应用，先旧后新；
7. 要记录容器打开的日期；
8. 废弃所有变成饼块或颜色变黑的无水培养基；
9. 备有所储存培养基的全部记录。

### 培养基的制备

1. 严格按照厂家的指导说明制备；
2. 不能应用过期的原料。

### 培养基的保存

1. 避光；
2. 避热。含有血液、其它有机添加剂或抗菌素的培养基应存放在冰箱内；
3. 存放于阴凉处，其保存期限与所用储存的容器类型有关。  
常用的保存期限为：  
——用脱脂棉堵塞的试管，3 周；  
——用软木塞堵塞的试管，2 周；  
——有旋盖的容器，3 个月；  
——Petri dish（佩特里）细菌培养皿假如封闭在塑料袋内，则为 4 周。

### 已制备的培养基的质量控制

1. pH 试验：如果正确地用脱水粉剂制备培养基，则不必常规检查它的 pH 值。如果是用基础物质制备的，须在变凉后再测 pH。固体培养基应用表面电极检测或用蒸馏水浸软后再测 pH 值，如果测得的 pH 值与说明书相差 0.2 单位，则需用酸或碱调节，或者再重新准备新的原料。

2. 无菌试验：高压灭菌后，对加入血液或其它成分的培养基常规地进行无菌试验。取每种原料的 3%~5%，在 35℃ 的条件下培养 2 天。剩余的冷藏。如果每一盘上发现 2 个菌落以上，则证明原料已被污染。

3. 演变试验：实验室应保存一整套货品菌株，用来观察培养基的演变，表 2 是一个备用菌株目录，这些菌株可以通过常规工作得到，或通过购买或上级部门供应得到，有关菌株的保存与用法的推荐意见写在第 13 页。

常用培养基的演变试验一览表见表 3。

表 2 用于质量控制的备用菌株目录<sup>a</sup>

| 革兰氏阳性球菌                        | 厌氧菌                                |
|--------------------------------|------------------------------------|
| 类肠球菌 (ATCC 29212 或 33186)      | 脆弱类杆菌                              |
| 表皮葡萄球菌                         | 产生荚膜梭状芽孢杆菌                         |
| 金黄色葡萄球菌 (ATCC 25923)           | 肠杆菌科                               |
| 低分泌链球菌                         | 弗劳地氏枸橼酸杆菌                          |
| 轻链球菌                           | 阴沟杆菌                               |
| 肺炎链球菌                          | 大肠杆菌 (ATCC 25922)                  |
| 化脓性链球菌                         | 肺炎杆菌                               |
| 不易生长的革兰氏阴性菌                    | 奇异变形杆菌                             |
| <i>Branhamella catarrhalis</i> | 鼠伤寒沙门氏菌                            |
| b 型流感嗜血杆菌                      | 粘质沙雷氏菌                             |
| β-内酰胺酶阴性                       | 福氏痢疾杆菌                             |
| β-内酰胺酶阳性                       | 结肠炎耶尔氏杆菌                           |
| 副流感嗜血杆菌                        | 其它革兰氏阴性杆菌                          |
| 淋病奈瑟菌                          | <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> |
| 脑膜炎双球菌                         | biovar/woffii                      |
|                                | 绿脓杆菌 (ATCC 27853)                  |
|                                | 霍乱弧菌 (non-01)                      |
|                                | 真菌                                 |
|                                | 白色念珠菌                              |

a. 应选择那些实验室最为需要的菌株。

表 3 常用培养基的试验观察

| 培养基             | 培养时间<br>(小时)                | 监控生物体   | 预期结果     |
|-----------------|-----------------------------|---------|----------|
| 胆汁-七叶苷琼脂        | 24                          | 类肠球菌    | 生长或变黑    |
|                 |                             | 化脓性葡萄球菌 | 无生长      |
| 血琼脂             | 24, CO <sub>2</sub><br>(烛瓶) | 化脓性葡萄球菌 | 生长, β-溶血 |
|                 |                             | 肺炎葡萄球菌  | 生长, α-溶血 |
| 巧克力琼脂           | 24, CO <sub>2</sub>         | 流感嗜血杆菌  | 生长       |
| 脱羧酶<br>(用无菌油覆盖) |                             |         |          |

续表

| 培养基                             | 培养时间<br>(小时) | 监控生物体                            | 预期结果                |
|---------------------------------|--------------|----------------------------------|---------------------|
| ——溶解素                           | 48           | 鼠伤寒沙门氏菌                          | 阳性                  |
|                                 |              | 福氏痢疾杆菌                           | 阴性                  |
| ——鸟氨酸                           | 48           | 鼠伤寒沙门氏菌                          | 阳性                  |
|                                 |              | 肺炎杆菌                             | 阴性                  |
| ——精氨酸(双水解酶)                     | 48           | 鼠伤寒沙门氏菌                          | 阳性                  |
|                                 |              | 奇异变形杆菌                           | 阴性                  |
| 明胶酶(快速试验)                       | 24           | 大肠杆菌                             | 阴性                  |
|                                 |              | 粘液沙雷氏菌                           | 阳性                  |
| Kilgler 铁琼脂                     | 24           | 大肠杆菌                             | 红色菌落                |
| (见三倍糖铁琼脂)                       |              | 奇异变形杆菌                           | 无色菌落(没有丛集)          |
| 含紫罗兰水晶的<br>MacConkey 琼脂         |              | 类肠球菌                             | 无生长                 |
| 丙二酸培养基                          | 24           | 大肠杆菌                             | 阴性(绿色)              |
|                                 |              | 肺炎杆菌                             | 阳性(蓝色)              |
| 甘露醇盐琼脂                          | 24           | 金黄色葡萄球菌                          | 黄色菌落                |
|                                 |              | 表皮葡萄球菌                           | 玫瑰红色菌落              |
|                                 |              | 大肠杆菌                             | 无生长                 |
| 甲基红/(福格斯-普罗<br>斯考尔试验)           | 48           | 大肠杆菌                             | 阳性或阴性               |
|                                 |              | 肺炎杆菌                             | 阴性或阳性               |
| Mueller-Hinton 琼脂               | 24           | 大肠杆菌<br>ATCC 25922               | 可接受的区域范围<br>(见表 13) |
|                                 |              | 金黄色葡萄球菌<br>ATCC 25923            |                     |
|                                 |              | 绿脓杆菌<br>ATCC 27853               |                     |
| 硝酸盐培养基                          | 24           | 大肠杆菌                             | 阳性                  |
|                                 |              | A. calcoaceticus                 | 阴性                  |
| (无油)葡萄糖的氧化、发酵                   | 24           | 绿脓杆菌                             | 表面氧化                |
|                                 |              | A. calcoaceticus<br>biovar/woffi | 无变化                 |
| 水蛋白胨(吡啶)                        | 24           | 大肠杆菌                             | 阳性                  |
|                                 |              | 肺炎杆菌                             | 阴性                  |
| 苯丙氨酸脱氨酶                         | 24           | 大肠杆菌                             | 阴性                  |
|                                 |              | 奇异变形杆菌                           | 阳性                  |
| 沙门菌/志贺菌琼<br>脂或脱氧胆酸枸橼<br>酸盐琼脂    | 24           | 大肠杆菌                             | 无生长                 |
|                                 |              | 鼠伤寒沙门氏菌                          | 无色菌落                |
|                                 |              | 结肠炎耶尔森氏菌                         | 无色菌落                |
|                                 |              | 福氏痢疾杆菌                           | 无色菌落                |
| 硒酸培养基                           | 24           | 鼠伤寒沙门氏菌                          | 传代培养后生长             |
|                                 |              | 大肠杆菌                             | 传代培养后生长             |
| 西蒙枸橼酸盐<br>(用松的旋盖培养)             | 48           | 大肠杆菌                             | 无生长                 |
|                                 |              | 肺炎杆菌                             | 生长, 蓝色菌落            |
| 硫代硫酸盐、枸橼<br>酸盐、胆汁盐<br>(TCBS) 琼脂 | 24           | 弧菌菌种(不可凝<br>集的)                  | 黄色菌落                |
|                                 |              | 大肠杆菌                             | 无生长                 |