

3405 活菌（芽孢）计数法（标准草案）

取菌（芽孢）液或疫苗用适宜的稀释液进行稀释（冻干苗宜用 10~40 ml 稀释液进行放大稀释），接种适宜本菌（芽孢）生长的琼脂培养基，在一定条件下培养，所得细菌菌落（芽孢）数乘以稀释倍数，即为其活菌（芽孢）数。

1 测定方法

活菌计数可按下列任一方法进行，芽孢计数按 1.1 项进行。

1.1 表面培养测定法 每个样品取 1.0ml，用各制品适宜的稀释液进行 10 倍系列稀释，（每个稀释度换 1 支吸管）。具体稀释方法是：先取一定数量系列的试管，每一管中加入 9.0ml 稀释液，然后准确吸取菌（芽孢）液 1.0ml，放入盛有稀释液的第 1 支试管中（不接触液面），将菌（芽孢）液与稀释液混合均匀，另取 1 支吸管从第 1 支试管中吸取 1.0ml 放入第 2 支试管中，依次稀释至最后一管。根据对样品含菌（芽孢）数的估计，选择适宜的稀释度，吸取最终稀释度的菌液接种适宜的琼脂培养基平板 3 个，每个平板 0.1ml，使菌（芽孢）液散开，置 36~38℃ 晾干后，翻转平板，培养 24~48 小时（亦可适当延长）。

1.2 混合培养测定法 稀释方法同上。取最终稀释度的菌液接种平板 3 个，每个 1.0ml，取平板 3 个，每个平板接种 1.0ml 最终稀释度的菌液，然后将溶化并冷却至 45℃ 左右的适宜琼脂培养基倾注入平板中，轻轻摇动平板，使稀释的菌液与培养基混合均匀，待琼脂凝固后翻转平板，置 36~38℃ 培养 16~48 小时（可适当延长）。

2 菌落（芽孢）数计算

肉眼观察菌落，并在平板底面点数，算出 3 个平板的平均菌落（芽孢）数，乘以稀释倍数（表面培养法应再乘以 10），即为每 1.0ml 原液样品所含的活菌（芽孢）数。最终稀释度一般选择每个平板菌落（芽孢）数为 40~200CFU 的稀释度。如果有片状菌落（芽孢）生长如果菌落呈片状生长，或同一稀释度 3 个平板间菌落（芽孢）数标准差（SD，计算公式如下）值大于 20，应重检。

$$SD = \sqrt{\frac{(X_1 - X)^2 + (X_2 - X)^2 + (X_3 - X)^2}{3}}$$

其中，X₁、X₂、X₃ 分别表示同一样品相同稀释度 3 个平板上的菌落（芽孢）数，X 表示 X₁、X₂、X₃ 的算术平均数。