

丙三醇菌种保存法

曹会生 李丽影

(江西医学院上饶分院, 上饶 334000)

摘要 本文介绍一种新的菌种保存法——丙三醇菌种保存法。将待保存的菌种用接种环刮取4—5环,置于装有0.5—1.0ml 丙三醇的血清管中, -30℃—-20℃ 冰箱保存。经保存的菌种有金黄色葡萄球菌、溶血性链球菌和伤寒沙门氏菌等种。经四年多的保存结果表明,细菌的形态结构、染色特性、生化反应、抗原结构和毒力等均与标准株相符。此法保存菌种操作简便,设备简单,保存时间较长,稳定性好,适用于各级微生物研究和教学单位。

关键词 菌种保存, 丙三醇

菌种保存是从事微生物研究和教学不可缺少的环节之一。目前常用的菌种保存方法有冷冻真空干燥法和半固体培养基法等。但这些方法都有一定的缺陷,如冷冻真空干燥法,制备过程复杂,又需要较好的设备条件^[1],而半固体培养基保存法保存时间不长^[2]。为了克服上述缺陷,笔者改用丙三醇原液保存菌种,取得成功,现报告如下。

1 材料与方方法

1.1 材料

1.1.1 标准菌株

金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)

0101-4, 白色葡萄球菌(*S. albus*)0102-2, 柠檬色葡萄球菌(*S. citres*)0103-2, 草绿色链球菌(*Streptococcus viridans*) 0601-1, 溶血性链球菌 (*S. hemolyticus*) 0602-10, 不溶血链球菌 (*S. non-hemolyticus*) 0603-1, 肺炎链球菌 (*S. pneumoniae*) 0501-5, 炭疽杆菌(*Bacillus anthracis*) 63009-2, 破伤风杆菌 (*Clostridium tetani*) 2301-3, 绿脓杆菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 1701-2, 白喉杆菌 (*Corynebacterium diphtheriae*) 0701-2, 伤寒沙门氏菌 (*Salmonella typhi*) 1401-3, 甲型副伤寒沙门

1994-12-15 收稿

氏菌 (*S. paratyphi* A) 1402-4, 乙型副伤寒沙门氏菌 (*S. paratyphi* B) 1403-4, 丙型副伤寒沙门氏菌 (*S. paratyphi* C) 1404-3, 福氏志贺氏菌 (*Shigella flexneri*) 1508-3, 宋内氏志贺氏菌 (*Shigella sonnei*) 1510-1, 大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 0901-2, 上述菌株均由江西医学院提供。变形杆菌 (*Proteus vulgaris*) 由上海医科大学提供。

1.1.2 丙三醇(分析纯或化学纯);塑料血清管。

1.2 方法

将待保存的菌株接种于营养丰富的固体培养基中纯化,再进行扩种。

于血清管中加入 0.5—1.0ml 丙三醇原液(不超过血清管总容量的1/2),盖好盖子,高压(1.029 × 10⁶MPa)蒸汽灭菌 20min 备用。

从扩种的菌株(18—24h)用接种环刮取4—5环菌苔至装有丙三醇血清管中, -30℃—-20℃ 冰箱保存。

2 结果与讨论

采用本法保存的菌种有金黄色葡萄球菌和肺炎链球菌等种。保存的时间从1990年3月至1994年12月,除了肺炎链球菌只存活半年,其他菌株都存活至今。在保存过程中,每半年时间做一次存活培养,并结合教学试验进行了细菌形态、染色特性、生化反应、抗原结构以及毒力试验等,其结果均与标准株相符^[1],与冷冻真空干燥法和半固体培养基保存的菌株相比较也相符。现仅以用本法保存的8株肠道杆菌生化特性为例说明(表1)。

此外,还对破伤风杆菌培养液经过滤除菌后,进行了小白鼠毒力试验及抗毒素中和毒力试验,绿脓杆菌产生色素试验,炭疽杆菌、白喉杆菌培养特性、形态染色特性的观察,以及用已知抗体对表1列举的沙门氏菌和志贺氏菌进行了抗原测定,均与标准株相符。

表1 丙三醇保存的主要肠道杆菌生化特性

种名	生化特性				
	动力	乳糖	葡萄糖	H ₂ S	胨基质
伤寒沙门氏菌	+	-	+		-
甲型副伤寒沙门氏菌	+	-	⊕		-
乙型副伤寒沙门氏菌	+	-	⊕	+++	-
丙型副伤寒沙门氏菌	+	-	⊕	+	-
福氏志贺氏菌	-	-	+	-	
宋内氏志贺氏菌	-		+	-	
普通变形杆菌	+	-	+	+	+
大肠杆菌	+	⊕	⊕	-	+

注:空格部分未做

笔者认为选用丙三醇保存菌种法具有如下优点:第一,方法简便,价格便宜,不需要特殊的仪器和设备。只要刮取少量菌苔置于盛有丙三醇的血清管中即可。适用于各级微生物研究、检验和教学单位。第二,保存时间较长。本工作表明,保存的菌株不死亡,不变异。用丙三醇保存菌种法,在某种程度上可代替冷冻真空干燥法。丙三醇保存菌种具有保存时间长而又不易变异的优点。究其原因,笔者认为这与丙三醇在-20—-30℃不冰冻有关。因此细菌在移种过程中就不存在冻融的问题,减少了细菌的破坏死亡,因而存活率高。另外在低温和高渗的丙三醇中细菌的代谢降低,因而细菌不易发生变异,稳定性好。有人用甘油蔗糖作为菌种的保护剂,但此保护剂在低温时仍处于冰冻状态,移种时存在着融化过程,会导致部分细菌的死亡。至于肺炎链球菌用本法保存半年后死亡,可能与细菌产生的自溶酶有关。

参 考 文 献

- [1] 上海市卫生防疫站. 卫生防疫检验(细菌检验)上海:上海科学技术出版社,1979,8.
- [2] 刘家驹,刘士先,刘良运,等. 全国医学专科学校教材,(医学微生物学)第二版,北京:人民卫生出版社,1988,126,131,135,138.