DOI:10.16016/j.1000-5404.1993.02.023

淋球菌低温液氮保存法

唐书谦 叶庆俏 (第三军医大学西南医院皮肤科) 630038

随着性病(STD)的传播,实验室诊断则是一个重要环节,其中淋病在国内性传播疾病中占居首位。淋病的病原菌是淋菌,由于保存菌种是实验研究的基础,所以本文简介在淋菌菌种的收集过程中对淋菌菌种的保存方法。

1 材料与方法

1.1 材料

(1)液体氮;(2)液氮生物容器;(3)脱脂消毒牛奶(将牛奶煮沸、冷却、去脂,反复 3～4 次。消毒时 8 磅压力 15min 即可,或采取常规巴氏消毒法);(4)消毒安瓿;(5)消毒空针;(6)酒精灯等。

1.2 方法

1.2.1 将消毒牛奶 0.5ml 注入消毒安瓿内。

1.2.2 将培养 18～24 h 已鉴定需收集的菌种,取 1－2 接种环种入上述牛奶安瓿中轻轻摇动混均。

1.2.3 将牛奶菌种安瓿用酒精灯封口。

1.2.4 置封口好了的牛奶菌种安瓿于液氮生物容器中保存,置放时动作要快。

1.3 复温转种

将冰冻保存的牛奶菌种安瓿从液中取出后,速置 38±2℃温水中解冻,自完全解冻后即可转种。

2 结果

实验过程中先后共收集了菌种 11 株,其中来源于临床标本 10 例(2 例来自重庆市第一人民医院皮肤科、8 例为本科门诊收集)、另 1 例为外购菌种(来自上海市卫生防疫站)。保存时间最长者 1 年(3 例),最短者 1 周,平均保存时间 2.6 个月,复温转种后均完全生长,无污染,集落和菌体形态、染色特异性未见改变。

3 注意事项

3.1 牛奶脱脂要尽量脱尽,消毒的压力不能过高,一般不超过 8 磅为宜。

3.2 当牛奶菌种安瓿置于放液氮时,除动作要快而外安瓿应先直放,不能倒置让牛奶在安瓿的尖端。

3.3 复温时除严格控制水的温度而外(一般不能超过 40℃),可将牛奶菌种安瓿快速转动,以便加速解冻,溶解后即刻取出转种。

3.4 复温转种用培养基,应先在 37℃温箱中预温后再应用。

4 体会

4.1 淋菌对外环境温度变化比较敏感,特别对寒冷的抵抗力很弱[1],所以对于淋菌菌种的收集保存比较困难,一般保存法(如 50% 卵蛋生理盐水法等)时间较短而且不很理想,真空低温干燥法虽好但需有一定的设备,以液氮低温保存淋菌菌种国内尚未见类似有关报导,因此,可以认为液氮是目前淋菌菌种保存较好,而且方便的一种方法。

4.2 被保存菌种,应以培养 18～24 h 为宜,以免降低活力,一般不要超过 48 h,因菌落达到稳定的生长后不能成活很久,菌落衰老后除菌落形态等有较大的改变而外,再接种可不生长。

4.3 通过实践,我们先后收集了 11 株菌种,进行了较长时间的保存观察,复温转种后均可完全成活,有利于保证科研教学的临时需要。

4.4 以此法保存淋菌菌种,方法简单、方便可靠,有利于推广应用。

关键词 淋病奈瑟菌;液氮

参考文献

1. 叶顺章 张木有,主编。性传播疾病实验诊断手册。广州:广东科技出版社,1991:19～23

(收稿:1992-07-04;修回:1992-11-30)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net