

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2022.10.020

滤纸法在三种温度条件下保存标准菌株应用初探

文德学,莫梢梢,吴 健,李 莹,王 丽,张 杰

黔西南州人民医院医学检验科,贵州兴义 562400

摘 要:**目的** 分析 3 种不同温度条件下滤纸法保存的标准菌株存活率、生物学性状和药敏试验结果的变化情况,以选择经济、有效的标准菌株保存方式。**方法** 用滤纸法将标准菌株于 0℃、-20℃、-80℃ 3 种温度条件下保存,在保存了 1、2、3、7 年后进行细菌的复苏,观察细菌的存活率、生物学性状,并用 PhoenixM50 全自动细菌鉴定及药敏分析系统进行细菌鉴定和药敏试验,观察标准菌株的基本生物学性状和药敏试验结果变化情况。**结果** 使用滤纸法保存的 4 种标准菌株,在 0℃ 条件下 3 年存活率为 100%,细菌基本生物学性状和药敏试验结果 3 年无明显变化;在 -20℃、-80℃ 温度条件下,其 7 年存活率均为 100%,细菌基本生物学性状和药敏试验结果也无明显变化。**结论** 滤纸法保存的非苛养类标准菌株在 0℃ 条件下可短期(3 年)保存,在 -20℃、-80℃ 条件下可较长期(7 年)保存。

关键词:保存温度; 滤纸法; 存活率; 标准菌株; 药敏试验

中图法分类号:R446.5

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2022)10-1373-06

Application of filter paper method to preserve standard strains under three temperature conditions

WEN Dexue, MO Shaoshao, WU Jian, LI Ying, WANG Li, ZHANG Jie

Department of Clinical Laboratory, Qian Xi Nan People's Hospital, Xingyi, Guizhou 562400, China

Abstract:**Objective** To analyze the changes of survival rate, biological characteristics and drug sensitivity test result of the standard strain under three different temperature conditions in order to select an economical and effective standard strain preservation method. **Methods** The standard strains were preserved at 0℃, -20℃ and -80℃ by filter paper method. After being preserved for 1, 2, 3 and 7 years, the bacteria were resuscitated to observe the survival rate and biological characteristics. The PhoenixM50 automatic bacterial identification and sensitivity analysis system were used for bacterial identification and drug sensitivity test result to observe the change of the basic biological characteristics and drug sensitivity test. **Results** The survival rate of the four standard strains preserved by filter paper method was 100% in 3 years at 0℃, and the basic biological characteristics and drug sensitivity test result of the bacteria had no obvious change in 3 years. Both of the survival rate were 100% at -20℃ and -80℃, and the basic biological characteristics and drug sensitivity test result of bacteria had no significant change in 7 years. **Conclusion** The non-fastidious standard strain preserved by filter paper method could be stored for a short period (3 years) at 0℃, and for a long period (7 years) at -20℃ and -80℃.

Key words: preservation temperature; filter paper method; survival rate; standard strain; drug sensitivity test

实验室质控工作需要保存各种标准(质控)菌株,而保证质控菌株的稳定是做好质控工作的前提条件。菌种保存的方法很多,根据不同的菌株或不同的实验要求,可选用不同的保存方法,常见的方法有传代培养保存法、液体石蜡覆盖保存法、冷冻保存法、冷冻干燥保存法等^[1]。大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、粪肠球菌等非苛养菌质控菌株生长条件要求不高,通常用斜面琼脂培养基和半固体琼脂培养基覆盖液状石蜡等方法均可很好保存^[2-3],但需要频繁移种以保证存活率,而反复传代又易导致细菌变异并造成菌种污染。在保存过程中,需使微生物的代谢处

于相对静止状态,以在一定的时间内使其不发生变异又保持很好的活性。低温、干燥和隔绝空气是使细菌代谢能力降低的重要因素。本课题组前期曾应用滤纸法保存标准菌株,基本满足上述 3 个条件,保存效果也很好^[4]。但是,温度条件对一些基层医院还是有一定的制约,尤其是一 80℃ 医用冰箱在基层医院目前尚未完全普及,且菌种从 -80℃ 复温至室温,对人员操作技术要求更高,温差较大对菌株也会产生一定的影响。本实验室在 0℃ 条件下可保存非苛养类标准菌株至少 3 年,在 -20℃、-80℃ 条件下可较长期(至少 7 年)保存非苛养类标准菌株。这可为基层医

院微生物室在质控工作中对标准菌株的有效保存提供依据,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 标准菌株 大肠埃希氏菌(ATCC25922)、铜绿假单胞菌(ATCC27853)、金黄色葡萄球菌(ATCC25923)、粪肠球菌(ATCC29212)4种标准菌株购于国家卫生健康委员会临检中心。

1.1.2 仪器与试剂 血平皿(安图公司);营养肉汤培养基(杭州天合微生物试剂有限公司);0℃、-20℃、-80℃冰箱(海尔公司);二氧化碳培养箱(HF212),全自动细菌鉴定及药敏分析系统(PhoenixM50);配套的革兰阳性 PMIC/ID-55(448911)、革兰阴性 NMIC/ID-4(448505)鉴定药敏试验复合板。

1.2 方法

1.2.1 实验前准备 (1)自封袋:根据需要购买适宜大小的自封袋。(2)无菌 EP 管:将市售直径 2 cm 的 EP 管置于密闭的消毒盒内,121℃高压蒸汽灭菌 20 min 备用。(3)无菌滤纸条制备:将市售滤纸用剪刀剪成约 0.5 cm × 1.0 cm 滤纸条,置于带塞的小试管内,经 121℃高压蒸汽灭菌 20 min 备用。(4)营养肉汤培养基配制:按照说明书配制成成品肉汤后,分装于有塞小试管,每管 1 mL,经 121℃高压蒸汽灭菌 20 min 后备用。

1.2.2 标准菌株的保存 将标准菌株在血平皿上划线分离培养 18~24 h,获取纯菌落,然后用无菌眼科镊夹取 1 张无菌滤纸条,根据菌落大小,粘取 1 到数个菌落(以粘菌面积不超过滤纸 1/3,滤纸条尚未完全被水分浸湿为宜),放入无菌 EP 管中,盖紧 EP 管盖。根据需要,一次可制备数 10 管,将 1~2 条无菌滤纸条装一个 EP 管,贴上标签,标签上注明菌种名称和保存日期,再置于自封袋内,排尽袋内空气封严袋口,分别放入 0℃、-20℃、-80℃冰箱保存。

1.2.3 标准菌株的生物学性状观察和检测 将上述方法保存的 4 种标准菌株大肠埃希菌(ATCC25922)、铜绿假单胞菌(ATCC27853)、金黄色葡萄球菌(ATCC25923)、粪肠球菌(ATCC29212)在保存了 1、

2、3、7 年后,取出上述各种菌种的一个 EP 管,直接置于室温环境平衡 5~10 min,无菌操作取出相应菌种滤纸条,放入无菌营养肉汤管中复融 5~10 min,轻轻振摇混匀后取一环营养肉汤培养基转种在血平皿上,置于 35℃二氧化碳培养箱培养 18~24 h,观察菌株的存活情况、菌落形态特征等有无变化。用 PhoenixM50 全自动细菌鉴定及药敏分析系统进行鉴定和药敏试验,比较标准菌株的基本生物学性状和药敏试验结果变化情况。

2 结果

2.1 保存于 0℃的 4 种标准菌株 保存于 2014 年的大肠埃希菌(ATCC25922)、铜绿假单胞菌(ATCC27853)、金黄色葡萄球菌(ATCC25923)、粪肠球菌(ATCC29212),在保存 1 年(2015 年)、2 年(2016 年)、3 年(2017 年)时,用营养肉汤复融后分别移种到血平皿培养基上,置于 35℃二氧化碳培养箱培养 18~24 h,观察 4 种标准菌株均生长良好,存活率为 100%,菌落形态特征没有明显改变,用 PhoenixM50 全自动细菌鉴定及药敏分析系统进行鉴定和药敏试验,4 种菌株相应的基本生物学性状无改变,仪器鉴定菌种符合率为 100%,药敏试验结果无明显变化。见表 1、2。

2.2 保存于-20℃、-80℃冰箱的 4 种标准菌株 保存于 2014 年的 4 种标准菌株大肠埃希菌(ATCC 25922)、铜绿假单胞菌(ATCC27853)、金黄色葡萄球菌(ATCC25923)、粪肠球菌(ATCC29212)在保存 1 年(2015 年)、2 年(2016 年)、3 年(2017 年)、7 年(2021 年)时用营养肉汤复苏分别移种到血平皿培养基上,置于 35℃二氧化碳培养箱培养 18~24 h,观察 4 种标准菌株均生长良好,存活率为 100%,除金黄色葡萄球菌(ATCC25923)在-20℃、-80℃条件下保存到第 7 年(2021 年)时,用接种环取菌落时出现轻微拉丝现象外,其余菌落形态特征没有明显改变,用 PhoenixM50 全自动细菌鉴定及药敏分析系统进行鉴定和药敏试验,4 种菌株相应的基本生物学性状无改变,仪器鉴定菌种符合率为 100%,药敏试验结果无明显变化,结果见表 3、4、5、6。

表 1 0℃保存的革兰阴性标准菌株药敏试验结果[最低抑菌浓度(MIC)法,μg/mL]

抗菌药物	大肠埃希菌(ATCC25922)			铜绿假单胞菌(ATCC27853)		
	2015 年	2016 年	2017 年	2015 年	2016 年	2017 年
AMC	≤8	≤8	≤8	>16/8	>16/8	>16/8
ATM	≤2	≤2	≤2	4	4	4
AMP	≤4	≤4	≤4	>16	>16	>16
SAM	≤4/2	≤4/2	≤4/2	>16/8	>16/8	>16/8
AMK	≤8	≤8	≤8	≤8	≤8	≤8
POL	≤0.5	≤0.5	≤0.5	1	1	1

续表 1 0 ℃ 保存的革兰阴性标准菌株药敏试验结果[最低抑菌浓度(MIC)法,μg/mL]

抗菌药物	大肠埃希菌(ATCC25922)			铜绿假单胞菌(ATCC27853)		
	2015 年	2016 年	2017 年	2015 年	2016 年	2017 年
SXT	≤0.5/9.5	≤0.5/9.5	≤0.5/9.5	>2/38	>2/38	>2/38
CIP	≤0.5	≤0.5	≤0.5	≤0.5	≤0.5	≤0.5
CHL	≤4	≤4	≤4	>16	>16	>16
MEM	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1
MFX	≤1	≤1	≤1	—	—	—
GEN	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2
TCY	≤2	≤2	≤2	>8	>8	>8
CAZ	≤1	≤1	≤1	2	2	2
FEP	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2
CZO	≤4	≤4	≤4	>16	>16	>16
CTX	≤1	≤1	≤1	32	32	32
IPM	≤1	≤1	≤1	2	2	2
LVX	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1
PIP	≤4	≤4	≤4	≤4	≤4	≤4
TZP	≤4/4	≤4/4	≤4/4	≤4/4	≤4/4	≤4/4

注：/ 表示该合成药物的 2 种成分的质量浓度；—表示此项无数据；AMC 为阿莫西林/克拉维酸,ATM 为氨曲南,AMP 为氨苄西林,SAM 为氨苄西林/舒巴坦,AMK 为阿米卡星,POL 为多黏菌素 B,SXT 为复方磺胺甲噁唑,CIP 为环丙沙星,CHL 为氯霉素,MEM 为美罗培南,MFX 为莫西沙星,GEN 为庆大霉素,TCY 为四环素,CAZ 为头孢他啶,FEP 为头孢吡肟,CZO 为头孢唑啉,CTX 为头孢噻肟,IPM 为亚胺培南,LVX 为左氧氟沙星,PIP 为哌拉西林,TZP 为哌拉西林/他唑巴坦。

表 2 0 ℃ 保存的革兰阳性标准菌株药敏试验结果(MIC 法,μg/mL)

抗菌药物	金黄色葡萄球菌(ATCC25923)			粪肠球菌(ATCC29212)		
	2015 年	2016 年	2017 年	2015 年	2016 年	2017 年
AMC	≤1.0/0.5	≤1.0/0.5	≤1.0/0.5	≤1.0/0.5	≤1.0/0.5	≤1.0/0.5
AMP	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2
OXA	≤0.25	≤0.25	≤0.25	>2	>2	>2
AMK	≤8	≤8	≤8	>32	>32	32
SXT	≤1/19	≤1/19	≤1/19	≤1/19	≤1/19	≤1/19
ERY	0.5	0.5	0.5	2	2	4
CIP	≤0.25	≤0.25	≤0.25	1	4	0.5
CLI	≤0.5	≤0.5	≤0.5	>2	>2	>2
QDA	≤0.5	≤0.5	≤0.5	>2	2	>2
RIF	≤0.5	≤0.5	≤0.5	2	2	2
LNZ	2	4	2	2	4	2
MUP	≤256	≤256	≤256	≤256	≤256	≤256
PEN	≤0.06	≤0.06	≤0.06	>0.25	>0.25	>0.25
GEN	≤1	≤1	≤1	8	8	4
GEH	≤500	≤500	≤500	≤500	≤500	≤500
TCY	≤0.5	≤0.5	≤0.5	>8	8	>8
TEC	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1
FOX	≤2	≤2	≤2	>8	>8	>8
TOB	≤2	≤2	≤2	8	8	8
VAN	≤1	≤1	≤1	2	2	2
FA	≤1	≤1	≤1	2	2	2
NIT	≤16	≤16	≤16	≤16	≤16	≤16

注：/ 表示该合成药物的 2 种成分的质量浓度；OXA 为苯唑西林,ERY 为红霉素,CLI 为克林霉素,QDA 为奎奴普汀/达福普汀,RIF 为利福平,LNZ 为利奈唑胺,MUP 为莫匹罗星,PEN 为青霉素 G,GEH 为高浓度庆大霉素,TEC 为替考拉宁,FOX 为头孢西丁,TOB 为妥布霉素,VAN 为万古霉素,FA 为呋西地酸,NIT 为呋喃妥因。

表 3 大肠埃希菌(ATCC25922)－20 ℃、－80 ℃保存 4 个时间段药敏试验结果(MIC 法,μg/mL)

抗菌药物	－20 ℃				－80 ℃			
	2015 年	2016 年	2017 年	2021 年	2015 年	2016 年	2017 年	2021 年
AMC	≤8	≤8	≤8	≤8	≤8	≤8	≤8	≤8
ATM	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2
AMP	≤4	≤4	≤4	≤4	≤4	≤4	≤4	≤4
SAM	≤4/2	≤4/2	≤4/2	≤4/2	≤4/2	≤4/2	≤4/2	≤4/2
AMK	≤8	≤8	≤8	≤8	≤8	≤8	≤8	≤8
POL	≤0.5	≤0.5	≤0.5	≤0.5	≤0.5	≤0.5	≤0.5	≤0.5
SXT	≤0.5/9.5	≤0.5/9.5	≤0.5/9.5	≤0.5/9.5	≤0.5/9.5	≤0.5/9.5	≤0.5/9.5	≤0.5/9.5
CIP	≤0.5	≤0.5	≤0.5	≤0.5	≤0.5	≤0.5	≤0.5	≤0.5
CHL	≤4	≤4	≤4	≤4	≤4	≤4	≤4	≤4
MEM	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1
MFY	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1
GEN	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2
TCY	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2
CAZ	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1
FEP	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2
CZO	≤4	≤4	≤4	≤4	≤4	≤4	≤4	≤4
CTX	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1
IPM	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1
LVX	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1
PIP	≤4	≤4	≤4	≤4	≤4	≤4	≤4	≤4
TZP	≤4/4	≤4/4	≤4/4	≤4/4	≤4/4	≤4/4	≤4/4	≤4/4

注：/ 表示该合成药物的 2 种成分的质量浓度。

表 4 铜绿假单胞菌(ATCC27853)－20 ℃、－80 ℃保存 4 个时间段药敏试验结果(MIC 法,μg/mL)

抗菌药物	－20 ℃				－80 ℃			
	2015 年	2016 年	2017 年	2021 年	2015 年	2016 年	2017 年	2021 年
AMC	>16/8	>16/8	>16/8	>16/8	>16/8	>16/8	>16/8	>16/8
ATM	4	4	4	4	8	4	4	4
AMP	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16
SAM	>16/8	>16/8	>16/8	>16/8	>16/8	>16/8	>16/8	>16/8
AMK	≤8	≤8	≤8	≤8	≤8	≤8	≤8	≤8
POL	1	1	1	2	1	1	1	1
SXT	>2/38	>2/38	>2/38	>2/38	>2/38	>2/38	>2/38	>2/38
CIP	≤0.5	≤0.5	≤0.5	≤0.5	≤0.5	≤0.5	≤0.5	≤0.5
CHL	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16
MFY	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1
GEN	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2
TCY	>8	8	>8	>8	>8	8	>8	>8
CAZ	2	2	2	2	2	2	2	2
FEP	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤4
CZO	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16
CTX	32	32	32	32	32	32	32	32
IPM	2	2	2	2	2	2	2	2
LVX	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1
PIP	≤4	≤4	≤4	≤4	≤4	≤4	≤4	≤4
TZP	≤4/4	≤4/4	≤4/4	≤4/4	≤4/4	≤4/4	≤4/4	≤4/4

注：/ 表示该合成药物的 2 种成分的质量浓度。

表 5 金黄色葡萄球菌(ATCC25923)－20℃、－80℃保存 4 个时间段药敏试验结果(MIC 法,μg/mL)

抗菌药物	－20℃				－80℃			
	2015 年	2016 年	2017 年	2021 年	2015 年	2016 年	2017 年	2021 年
AMC	≤1/0.5	≤1/0.5	≤1/0.5	≤1/0	≤1/0.5	≤1/0.5	≤1/0.5	≤1/0
AMP	≤2	≤2	≤2	0.25	≤2	≤2	≤2	0.25
OXA	≤0.25	0.5	0.5	≤0.25	≤0.25	≤0.25	≤0.25	≤0.25
AMK	≤8	≤8	≤8	≤8	≤8	≤8	≤8	≤8
SXT	≤1/19	≤1/19	≤1/19	≤1/19	≤1/19	≤1/19	≤1/19	≤1/19
ERY	0.5	1	1	≤0.25	≤0.25	0.5	0.5	0.5
CIP	≤0.25	≤0.25	≤0.25	≤0.25	≤0.25	≤0.25	≤0.25	≤0.25
CLI	≤0.5	≤0.5	≤0.5	≤0.5	≤0.5	≤0.5	≤0.5	≤0.5
QDA	≤0.5	≤0.5	≤0.5	0.25	≤0.5	≤0.5	≤0.5	0.25
RIF	≤0.5	≤0.5	≤0.5	≤0.5	≤0.5	≤0.5	≤0.5	≤0.5
LNZ	2	4	4	2	2	2	2	2
MUP	≤256	≤256	≤256	≤256	≤256	≤256	≤256	≤256
PEN	≤0.06	≤0.06	≤0.06	≤0.06	≤0.06	≤0.06	≤0.06	≤0.06
GEN	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1
GEH	≤500	≤500	≤500	≤500	≤500	≤500	≤500	≤500
TCY	≤0.5	≤0.5	≤0.5	≤0.5	≤0.5	≤0.5	≤0.5	≤0.5
TEC	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1
FOX	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2
TOB	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2
VAN	2	≤1	≤1	≤1	≤1	2	≤1	≤1
FA	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1
NIT	≤16	≤16	≤16	≤16	≤16	≤16	≤16	≤16

注：/表示该合成药物的 2 种成分的质量浓度。

表 6 粪肠球菌(ATCC29212)－20℃、－80℃保存 4 个时间段药敏试验结果(MIC 法,μg/mL)

抗菌药物	－20℃				－80℃			
	2015 年	2016 年	2017 年	2021 年	2015 年	2016 年	2017 年	2021 年
AMC	≤1/0.5	≤1/0.5	≤1/0.5	≤1/0	≤1/0.5	≤1/0.5	≤1/0.5	≤1/0
AMP	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2
OXA	>2	>2	>2	>2	>2	>2	>2	>2
AMK	32	>32	>32	>32	>32	32	32	>32
SXT	≤1/19	≤1/19	≤1/19	≤1/19	≤1/19	≤1/19	≤1/19	≤1/19
ERY	2	4	2	4	2	2	2	4
CIP	1	2	1	0.5	0.5	>4	1	0.5
CLI	>2	>2	>2	>2	>2	>2	>2	>2
QDA	>2	>2	>2	2	>2	>2	>2	2
RIF	2	2	≤0.5	2	2	2	2	2
LNZ	2	4	2	2	2	4	2	2
MUP	≤256	≤256	≤256	≤256	≤256	≤256	≤256	≤256
PEN	>0.25	>0.25	>0.25	>0.25	>0.25	>0.25	>0.25	>0.25
GEN	8	8	8	8	4	>8	8	8
GEH	≤500	≤500	≤500	≤500	≤500	≤500	≤500	≤500
TCY	>8	>8	>8	8	>8	>8	>8	8

续表 6 粪肠球菌(ATCC29212)−20℃、−80℃保存4个时间段药敏试验结果(MIC法,μg/mL)

抗菌药物	−20℃				−80℃			
	2015 年	2016 年	2017 年	2021 年	2015 年	2016 年	2017 年	2021 年
TEC	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1
FOX	>8	>8	>8	>8	>8	>8	>8	>8
TOB	8	8	8	8	8	8	8	8
VAN	2	2	2	2	2	2	2	2
FA	2	2	4	2	2	2	2	2
NIT	≤16	≤16	≤16	≤16	≤16	≤16	≤16	32

注:/表示该合成药物的2种成分的质量浓度。

3 讨 论

菌种保存温度条件始终是重要的影响因素,4℃条件最容易获取,试验证明稳定性不好^[5],只能用于临时性保存,不宜用于质控菌株的长期保存。在−80℃条件下菌种保存的稳定性是得到肯定的,多数研究证明可保存5~10年^[6-7]。但是−80℃医用冰箱在基层医院目前尚未完全普及,且菌种从−80℃复温至室温,对人员操作技术要求要高一些,温差较大对菌株也会产生一定的影响。在−20℃条件下,有报道滤纸片冷冻保存、灭菌牛奶保存、甘油保存可保存至少2年^[8],其他用多种方法保存多种菌种,一般保存1~5年^[9-10],根据不同菌种的特性,选择适宜的保存方法和相应的温度条件,才能获得理想的保存效果^[11]。本研究用滤纸法保存的4种标准菌株大肠埃希菌(ATCC 25922)、铜绿假单胞菌(ATCC27853)、金黄色葡萄球菌(ATCC25923)、粪肠球菌(ATCC29212),在0℃条件下保存3年或在−20℃、−80℃条件下保存7年,4种标准菌株均生长良好,存活率为100%,菌落形态特征没有明显改变,用PhoenixM50全自动细菌鉴定仪及配套鉴定药敏试验复合板进行鉴定和药敏试验,菌株相应的基本生物学性状无改变,仪器鉴定菌种符合率为100%,药敏试验无明显变化,少部分检测值有变化,但不排除仪器及试剂的原因。这提示该方法保存的标准菌株在0℃条件下保存3年或在−20℃、−80℃条件下保存7年,菌株相应的基本生物学性状和药敏试验结果是稳定的。

本研究结果表明,滤纸保存法在0℃条件下保存非苛养菌标准菌株,3年内能满足实验室室内质控的要求,在−20℃、−80℃条件下保存非苛养菌标准菌株,7年内能满足实验室内质控的要求。基层医院微

生物实验室,在扎实做好菌种保存管理工作的前提下^[12],用滤纸法选择在0℃、−20℃条件下保存非苛养菌标准菌株,是一个能满足实验室室内质控要求,操作简便,实用有效、安全的菌种保存方法。

参考文献

[1] 尚红,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].4版.北京:人民卫生出版社,2015:566.

[2] 孙立艳.三种温度保存实验室常用菌种的比较[J].中国城乡企业卫生,2017,32(11):149-150.

[3] 王茜,栾海蓉,高青,等.磁珠菌种保存法在教学实验室保存菌种工作中的发展前景[J].实验室科学,2018,21(5):83-84.

[4] 文德学,顾雪梅,王兴林,等.菌种滤纸保存法的应用[J].检验医学与临床,2013,10(11):1486-1487.

[5] 解慧.金黄色葡萄球菌定量质控菌株的制备及其在检验工作中的应用[J].天津药学,2018,30(5):7-10.

[6] 耿冬青.瓷珠保存法定量制备单核细胞增生李斯特菌质控菌株[J].肉类工业,2020,7(7):45-47.

[7] 梁梅娟,陈亚波,苏佩冰.菌种超低温保存法与人工传代法的比较[J].现代食品,2018(21):184-186.

[8] 田广文,程雪妮.重组菌低温冷冻保藏试验[J].陕西农业科学,2020,66(4):51-54.

[9] 费嫦,桂芳,李争鸣,等.医学微生物实验室四种菌种保存方法的比较[J].医学理论与实践,2017,30(12):1827-1829.

[10] 杨文君.食品微生物实验室标准菌株的瓷珠保藏方法[J].现代食品,2020(12):47-48.

[11] 于颖,牟星禹,陆萌,等.微生物教学中噬菌蛭弧菌的最佳保藏方法探究[J].实验科学与技术,2018,16(1):1-3.

[12] 苏嘉妮,周露.食品微生物实验室菌种的管理[J].检验检疫学刊,2019,29(2):86-88.