

文件类型: SQL/DS TABLE, ISPF
TABLE, CMS FILE

硬件:

主机: IBM 4341-M11

内存: 8MB

终端: 3180

磁盘: 3375

磁带: 3430

数据库像图书馆一样是一项社会公益事业, 它的生存需要大家的关心与帮助。本性状态库目前已投入试运行。我们竭诚希望广大微生物

学工作者, 尤其是从事细菌分类、生态及资源开发工作者向本库提出检索查询要求, 并对本库的数据结构和检索功能提出宝贵意见。另外, 如您研究的菌株仍完整地保存, 欢迎您把有关数据向本库提供, 我们愿尽力为您服务。同时本库将按照数据提供者的意愿在所要求的级别上采取保密措施, 保证原始数据不外泄。

参 考 文 献

1. 菅原秀明: *Bio. Industry*, 5(8):41—51, 1988.
2. 菅原秀明, 馆野义男: 信息管理, 26(8): 640—652, 1983.

电子计算机在厌氧菌鉴定中的应用

何道生

(军事医科学院微生物流行病学研究所)

余满松 毛远平 王亚平

(中国人民解放军 304 医院, 北京)

摘要 本文介绍了鉴定厌氧菌的微量系统配以电子计算机诊断, 提高了鉴定效果。经 356 株参考菌株和临床分离菌株的检测, 87.6% 的菌株可鉴定到种, 97.4% 菌株鉴定到属。种水平上诊断错误的占 12.6%, 属水平上诊断错误的仅占 2.6%。没有菌株不能诊断。与国外已成商品的鉴定系统相比, 无论是鉴定到种还是属, 其水平都较高。

关键词 厌氧菌鉴定; 微量系统; 计算机诊断

无芽孢厌氧菌的鉴定除根据菌落形态、细胞形态、革兰氏染色反应、药物耐受性以及代谢产物的气液相色谱分析和 DNA G+C 含量测定以外, 生化反应仍然是应用最普遍, 技术最简单, 一般实验室都能接受的方法。常规的生化试验方法已由 CDC (疾病控制中心)、VPI (弗吉尼亚多科技研究所) 和 Wadsworth 厌氧菌实验室建立并发展。然而这些系统既费时, 又费钱, 超出许多临床实验室的承受能力^[1]。近十年来出现了许多鉴定厌氧菌的微量系统 microsystem, 并已制成商品。这些微量系统大致分为两类: 依赖于细菌生长的 (需时较长 48—72 小时) 和不依赖于细菌生长的 (有氧条件下孵育 4—6 小时)。前者包括 Anaerobe-Tek (A/T) 系统^[2]、API-20A 系统^[3]、Minitek 系统^[4]和 Anaerobe Combo Panel 等^[5]; 后者包括 RapID-ANA 系统^[6]、An-Ident 系统^[7]。

我们的微量系统是属于前者配以电子计算机诊断。本文报道了用这种方法对 356 株临床分离菌的鉴定结果。

材 料 和 方 法

(一) 材料

1. 供试菌株及来源: 标准菌株 NCTC 9343 等 7 株, 临床分离菌 349 株 (口腔分离菌 212 株、阑尾分离菌 28 株、食管癌分离菌 17 株、眼疾患分离菌 12 株、实验动物分离菌 19 株, 其他来源的菌株 61 株) 共 356 株。其中含厌氧球菌 69 株, G⁺ 无芽孢厌氧杆菌 88 株, 胆汁耐受拟杆菌 62 株, 胆汁敏感无色拟杆菌 85 株, 产色素拟杆菌 20 株, 梭杆菌 32 株。

2. 微量生化管: 本试验所用的微量生化管包括靛基质试验、硝酸盐还原试验、七叶苷水解试验、尿素酶试验、淀粉水解试验、20% 胆汁耐

受试验、触酶试验和葡萄糖、乳糖、麦芽糖、甘露糖、甘露醇、蔗糖、纤维二糖、密二糖、松三糖、鼠李糖、水杨苷、海藻糖、阿拉伯糖、木糖、木聚糖、七叶苷、果糖、甘油等发酵试验。明胶液化、脂酶、卵磷脂酶试验则采取平板法,石蕊牛乳试验、凝固酶试验则采取试管法。

糖发酵管是以不加葡萄糖和可溶性淀粉的 GAM 培养液为基础加上某种糖、醇、苷。后者先配成 6% 的母液,过滤除菌后,以母液 10ml 加基础液 90ml,再按比例加上氯化血红素、维生素 K₁ 和溴甲酚紫。分装于微量管内,每管约 0.2ml,熔封备用。

3. 电子计算机: 采用长城 0520 电子计算机。将临床常见的厌氧菌(约 80 多种)的各项生化反应划分成“重要”、“较重要”和“非常重要”三个等级,进行模糊数学处理,存入电子计算机中。

(二) 方法

1. 标本鉴定方法: 本鉴定系统是在耐氧试验、菌体形态及染色和药敏试验的基础上进行的^[3]。首先通过耐氧试验(2—3 次)确定是厌氧菌以后,再结合形态染色选择相应的一套微量生化管。如果是球菌,则不论其是 G⁺ 还是 G⁻ 皆接种测球菌的微量生化管。如果是 G⁺ 杆菌,则看它有无芽孢,有芽孢者接种测梭状芽孢杆菌的微量生化管;无芽孢者接种测无芽孢厌氧杆菌的微量生化管。如果是 G⁻ 杆菌,则先通过药敏试验:卡那霉素(1000 μ g/纸片)、万古霉素(5 μ g/纸片)、粘菌素(10 μ g/纸片)测定被检菌株的耐药性(R)或敏感性(S)。凡出现 SRS 模式,菌细胞细长,呈梭状或不呈梭状者,接种梭杆菌生化管。凡出现 RRR、RRS 或 SRS 任一种模式者,菌细胞呈短棒状,两端钝圆者接种 20% 胆汁管。在胆汁中生长者,接种在胆汁耐受的生化管;胆汁中不生长者接种在胆汁敏感的生化反应管。在胆汁敏感的拟杆菌中,那些产生色素的菌株,接种在产生色素的生化反应管。

2. 电子计算机诊断: 先根据被检菌株的形态、染色性、耐药试验、胆汁耐受试验以及菌落

是否带有色素等检验结果,从电子计算机中调出相应的生化反应系列,然后将生化试验结果诸一输入电子计算机中。阳性者以“11”的符号输入;阴性者以“00”的符号输入;可疑者以“10”或“01”的符号输入。当你将反应系列中的最后一项输入以后,它会立刻显示出待检菌株诊断的三种可能性,例如:001 号标本鉴定结果为:

微小消化链球菌 (*Peptostreptococcus micros*) 的可能性为 95%。

普氏消化链球菌 (*Peptostreptococcus prevotii*) 的可能性为 80%。

厌氧消化链球菌 (*Peptostreptococcus anaerobius*) 的可能性为 64%。

这个标本在鉴定时有三项试验未做,一是凝固酶试验,二是尿素酶试验,三是代谢产物的气液相色谱分析,所以扣 3 分,最大可能性为 95%。普氏消化链球菌的可能性有 80%,因为两种细菌只有硝酸盐还原试验一阴一阳,其它 10 项试验同为阴性。厌氧消化链球菌的可能性也有 64%,因为此菌与微小消化链球菌的重要鉴别要点是能否发酵葡萄糖,前者发酵葡萄糖,后者则否。两种细菌虽只有一项之差,但是关键鉴别项目之差,所以扣分较多。当然,一般都取可能性最大的诊断结果,除非它与气液相色谱和 DNA G + C 百分比的结果不符时,才考虑另两项诊断结果。

结 果

(一) 356 株无芽孢厌氧菌利 计 机 诊 断与常规法的符合情况(表 1)

表 1 356 株厌氧菌电子计算机诊断结果

	菌株数	与常规法的符合率(%)
种水平上相符	312	87.6
属水平上相符	347	97.4
种水平上不相符	45	12.6
属水平上不相符	9	2.5

计算机诊断与常规法诊断是相符的,在种的水平上有 312 株(87.6%);在属的水平上有 347 株(97.4%)。种诊断错误的有 45 株

(12.6%);属诊断错误的有9株(2.5%)。

(二) 水平上相符的 312 株菌群分布(表 2)

电子计算机诊断与常规法诊断在种的水平上相符的 312 株细菌中,各群比例见表 2。

(三) 水平上相符的 347 株厌氧菌菌群分布(表 3)

(四) 种水平上不符的 45 株厌氧菌菌群分布(表 4)

表 2 在种的水平上相符的 312 株厌氧菌的菌群分布

菌 群	菌株数	符合率(%)
厌氧球菌	62/69	89.9
革兰氏阳性无芽孢厌氧杆菌	78/88	88.6
胆汁耐受拟杆菌	57/62	91.9
胆汁敏感不产色素拟杆菌	72/85	84.7
产色素拟杆菌	20/20	100
梭杆菌	23/32	71.9
合计	312/356	87.6

表 3 属水平上相符的 347 株菌群分布

菌 群	菌株数	符合率(%)
厌氧球菌	69/69	100
革兰氏阳性无芽孢厌氧杆菌	79/88	89.8
胆汁耐受拟杆菌	62/62	100
胆汁敏感不产色素拟杆菌	85/85	100
产色素拟杆菌	20/20	100
梭杆菌	32/32	100
合计	347/356	97.4

(五) 水平上不符的 9 株厌氧菌菌群分布(见表 5)

我们的鉴定系统 87.6% 可鉴定到种, 97.4% 可鉴定到属(包括种)。种水平上鉴定错

表 4 种水平上不符的 45 株菌群分布

菌 群	菌株数	误差率(%)
厌氧球菌	7/69	10
革兰氏阳性无芽孢厌氧杆菌	10/88	11
胆汁耐受拟杆菌	4/62	6.5
胆汁敏感不产色素拟杆菌	15/85	17.6
产色素拟杆菌	0/20	0
梭杆菌	9/32	28.1
合计	45/356	12.6

误的 12.6%, 属水平上鉴定错误的仅 2.5%(表

表 5 属水平上不符的 9 株菌群分布

菌 群	菌株数	误差率(%)
厌氧球菌	0/69	0
革兰氏阳性无芽孢厌氧杆菌	9/88	10
胆汁耐受拟杆菌	0/62	0
胆汁敏感不产色素拟杆菌	0/85	0
产色素拟杆菌	0/20	0
梭杆菌	0/32	0
合计	9/356	2.5

1)。不同属的细菌,种水平上的符合率梭杆菌最低(71.9%,表 2),误差率最高(28.1%,表 4),其次是胆汁敏感不产色素拟杆菌,符合率为 84.7%(表 2),误差率为 17.6%(表 4)。在属的水平上,不同菌群之间,只有革兰氏阳性无芽孢厌氧杆菌的符合率为 89.8%(表 3),其他各群都达到百分之百。由此可见,只有革兰氏阳性无芽孢厌氧杆菌才容易发生属水平上的诊断错误。

讨 论

目前国外所采用的厌氧菌鉴定系统试验项目较多。我们所采用的鉴定系统虽然也包含几十项试验,但并不是鉴定每一群厌氧菌都必须做这些试验,而是根据细菌形态和革兰氏染色结果选择相应的生化反应管进行鉴定,因此使用的试验项目较少。

在国外 80 年代出现许多评价上述鉴定系统的文章,择其材料比较完整者归纳于表 6。可以看出,在依赖于细菌生长的诸鉴定系统中,以 PRAS II 的效果最好。没有菌株不能鉴定,但属错定的菌株占 6%。英、美、日各国使用比较普遍的 API-20A 系统,错定的百分率虽只有 3%,但不能鉴定(找不着编码)的占 16%。RapID-ANA 系统错定菌株数在 10% 以上。An-Ident 系统比 RapID-ANA 系统鉴定菌株的百分数略胜一筹。

我们的鉴定系统无论是鉴定到种(87.6%),还是鉴定到属(97.4%)的水平都比较高。这可能与我们所采用的鉴定程序有关。我们是在细菌形态、革兰氏染色、药敏试验和胆汁耐受试验

表 6 评价生化鉴定系统的文献材料

作者(年份)	菌株数	鉴定系统	对照	鉴定到种菌株(%)	鉴定到属菌株(%)	错定菌株数(%)	不能鉴定菌株数(%)
Savuto (1984) ^[5]	114	Anaerobe Combo Panel	PRAS II	75(78)	85(89)	2(2)	9(9.4)
Karachewski ^[3] (1985)	80	API-20A	PRAS	57(71)	65(81.2)	2(3)	13(16)
Karachewski (1985)	78	PRAS II(改良)	PRAS	64(82)	73(93.7)	5(6)	0(0)
Karachewski (1985)	80	RapID-ANA	PRAS	50(62)	72(90)	8(10)	0(0)
Adney (1985) ^[1]	183	RapID-ANA		109(59.6)	149(81.4)	26(14.2)	8(4.4)
Murray (1985) ^[2]	132	AnIdent	API-20A	97(73.5)	119(90.2)		
Burlage (1985) ^[7]	98	AnIdent	PRAS II	76(77.6)	86(87.8)		

的基础上测定生化反应的,一般不太可能发生属水平上的诊断错误。但是我们的鉴定程序比较复杂,需时较长,最快5天,最慢9天才能完成鉴定。但第三天就可以给临床予初步报告。

梭杆菌和胆汁敏感不产色素的拟杆菌容易发生种水平上的诊断错误,这不是方法本身的问题,而是因为试验项目做得不全之故。例如,鉴定梭杆菌的乳酸转化为丙酸,苏氨酸转化为丙酸两项试验尚待建立等。

参 考 文 献

- 1 Adney WS et al.: *Journal of Clinical Microbiology*, 22(6): 980—983, 1985.
- 2 Buesching WJ et al.: *Journal of Clinical Microbiology*,

17(5): 824—829, 1983.

3. Karachewski NO et al. *Journal of Clinical Microbiology*, 21(1): 122—126, 1985.
4. Allen SD et al.: Isolation and examination of anaerobic bacteria, In *Manual of Clinical Microbiology*. Eds., E. H. Lennette, A. Balows, W. J. Hausler, Jr., H. J. Shadomy. Washington, DC: American Society for Microbiology, p 429, 1985.
5. Savuto PS et al.: *Journal of Clinical Microbiology* 20(1): 81—83, 1984.
6. Appelbaum PC et al.: *Journal of Clinical Microbiology* 21(6): 894—898, 1985.
7. Burlage PS et al.: *Journal of Clinical Microbiology*. 22 (1): 32—35, 1985.
8. Lennette, EH. *Manual of Clinical Microbiology* 4th ed Washington, DC: American Society for Microbiology, 1985.
9. Murray PR et al.: *Journal of Clinical Microbiology*, 22(1): 52—55, 1985.

(上接第204页)

- 性。中国免疫学杂志, 5(1): 20, 1989。
- 郑建等: 轮状病毒(HRV)感染患儿双份血清特异性IgG、IgM、IgA抗体动态观察。中国免疫学杂志, 5(1): 32, 1989。
- 夏汉章等: 抗人全T细胞单克隆抗体大鼠杂交瘤细胞株的建立。中国免疫学杂志, 5(2): 71, 1989。
- 张惠华等: P物质对小鼠腹腔巨噬细胞功能的调整作用。中国免疫学杂志, 5(2): 75, 1989。
- 王江滨等: 抗胃癌细胞系MKN-74单克隆抗体的制备及其初步应用。中国免疫学杂志, 5(2): 78, 1989。
- 范辉宙: 用协同凝集试验和SPA-固相免疫电泳技术检测EHFV抗原。中国免疫学杂志, 5(2): 103, 1989。
- 王兴林等: 白细胞介素1和2测定方法的某些改进。中国免疫学杂志, 5(2): 106, 1989。
- 杨东亮等: 免疫转EP技术在肾综合征出血热病毒多

肽抗原研究中的应用。中国免疫学杂志, 5(2): 109, 1989。

- 王洪海等: 用狂犬病毒糖蛋白单克隆抗体分析其抗原决定簇。中国免疫学杂志, 5(2): 112, 1989。
- 崔运昌等: EB病毒转化的人外周血淋巴细胞与SHM-D33融合制备人单克隆抗体。中国免疫学杂志, 5(3): 133, 1989。
- 黄钟云等: 钙离子在巨噬细胞活化中的作用。中国免疫学杂志, 5(3): 141, 1989。
- 李萌等: 巨噬细胞活化因子的双相效应及巨噬细胞的促瘤细胞生长作用。中国免疫学杂志, 5(3): 144, 1989。
- 马晓英等: 小鼠腹腔巨噬细胞体外产生的细胞毒性因子。中国免疫学杂志, 5(3): 148, 1989。
- 杨骅等: 干扰素对淋巴细胞FcR受体的调变作用。中国免疫学杂志, 5(3): 155, 1989。

(下转第228页)