

现代化分支杆菌菌库和基因库的建立与管理

李洪敏 王仲元 王 巍 李志洪 刘 真

(中国人民解放军二零九医院结核科 北京 100091)

摘要: 医院分支杆菌菌库和基因库的建立, 应用了计算机管理, 不仅使各类菌及其相关资料得到系统管理, 也为进一步研究和临床制定治疗计划提供了可靠信息, 是医院现代化建设不可缺少的一环。

关键词: 分支杆菌, 基因组, 计算机

中图分类号: Q93-33 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2003) 04-0064-03

BUILDING AND MANAGEMENT OF BANK OF MYCOBACTERIUM AND THEIR GENOME

LI Hong-Min WANG Zhong-Yuan WANG Wei LI Zhi-Hong LIU Zhen

(Tuberculosis Department of Hospital 309 of PLA, Beijing 100091)

Abstract: With the development of technology, automatic management system Controlled by computer is necessary in hospitals. Building a bank of mycobacterium and their genome is a great step to this aim. It can make it easier to get the mycobacterium data than before, furthermore, it is helpful for further research for doctors to make a new treatment plan

收稿日期: 2002-09-02, **修回日期:** 2002-11-26

for the patients.

Key words: Mycobacterium, Genome, Computer

随着信息科学的发展,医院办公管理正在逐步走向自动化,其中实验室信息管理系统(Laboratory Information Management System, LIMS)已经引起国内各研究单位的普遍重视。近年来,耐多药结核(MDR-TB)病的发病率上升,此病病情重,治疗效果差,且传播广,对健康人群的危害大,已引起人们的广泛关注。保存MDR-TB各类菌株,为临床和科研提供第一手资料,是控制该病的关键之一。因此,建立医院科学化、系统化、现代化的结核菌库和基因库势在必行。

1 材料

1.1 试剂和孵化设备

结核菌培养基采用改良罗氏或7H10培养基,结核菌保养液采用改良7H9培养液^[1]。主要仪器设备采用BACTEC-960培养仪、水浴恒温孵化箱。

1.2 材料整理

详细记录原始材料,包括病人的一般资料,用药史和各类检查情况。对数据进行调查、核对和临床资料梳理,采用微软公司的中文ACCESS软件建立数据库。同时参考美国ONCOLOG提供的登记软件,对临床标本的多项信息进行系统化登记。

1.3 菌库设备

带WINDOWS“98”平台的台式计算机及相关工具软件,数码相机、扫描仪、低温冰箱和冰柜。

2 方法

2.1 编号方法

2.1.1 一级编号(典型菌株):已确定的典型结核菌和非结核分支杆菌。按国际和国内统一编号^[2],特别是外来标准株(标准株多源于世界上专门保存菌种的权威机构,为国内和国际公认),如美国ATCC(American Type Culture Collection);英国NCTC(National Collection Type Culture),我国的北京卫生部药品生物制品检定所菌种保存中心的编号。

2.1.2 不典型菌株编号:不典型株一般归为不明诊断一大类别中。根据其特性进行编号,如根据该菌的培养特性、染色情况、生化反应、临床特点等因素进行分类编号。

2.1.3 二级编号及同级多元编号。同种菌中对药物敏感或耐药情况进行二级分类编号,耐药菌株可根据其耐药程度不同还可分为单耐和多耐药株,多耐药株中又可分为耐二、三、四等多种药物菌株的同级多元编号(见图1)。非结核分支杆菌按其种属分组。

2.1.4 三级编号:不同多耐药株还要按耐药名称和耐该药不同药物浓度再进行三级编号,例:结核菌-耐利福平株-耐利福平药物浓度20mg/L。

2.1.5 根据耐药基因突变的情况分类编号:先按结核菌或非结核分支杆菌的二级编号进行编组,然后对基因突变型进行编组。例:非结核分支杆菌-草分支杆菌-耐四种药物菌株-3种基因突变型。输入具体内容后,一并把基因突变图谱进行照相、扫描和存储,见图1。

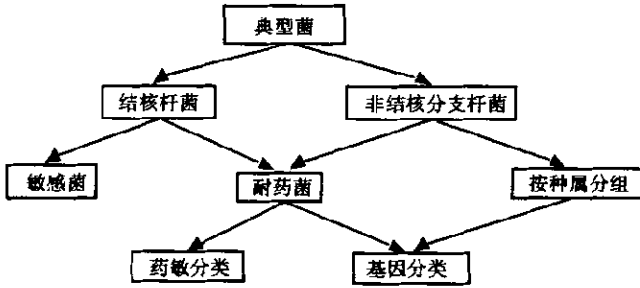


图1 3个级别编制图

2.2 增菌

所有收集的临床分离株，接种到改良罗氏或7H10培养基中，经过增菌，把对数生长旺盛期的菌接种到7H9保养液中编号入库。

2.3 菌种的几种保存法

2.3.1 真空冷冻干燥级：可用于长期标准株、耐药株、大批量卡介苗等保存，一般可保存10年以上。将对数生长期的菌株转种含20%的0.5mL甘油7H10培养基，迅速冷冻，干燥或真空密封保存。

2.3.2 超冻级：此为一般实验室最常用的方法，不需太多设备，保存时间5~10年。将对数生长期的菌株分别转种3~5个含有0.5mL 7H9保养液中，迅速至40℃~80℃下冻存。需要用菌时，一次仅溶解1瓶，注意不要反复溶解（反复溶解可加速菌株的变异或死亡）。库存缺额的小瓶应及时补上。

2.3.3 低温保存级：在4℃冰箱封口保存，一般不要超过6个月。根据结核菌生长情况定期进行转种，转种6次后，此菌就不能再用，应从一级或二级库中重新提取菌种。

2.3.4 应用菌株保存级：在室温中保存，一般不超过1个月，此法是暂时性或过渡性保存。

2.3.5 结核菌基因组的保存：一般在-20℃~-70℃冰柜中保存石蜡封上层（1~2年），时间过久应拿新菌重新灭活提取。

3 讨论.

我院在建立医院分支杆菌菌库和基因库的同时，应用了计算机数据库管理系统对它们进行信息化管理。计算机管理不仅仅是简单的数据存储，更是高效获取和加工信息的手段。设计分支杆菌和基因组数据库的目的，一是为了扩展人们的记忆，二是从大量的原始数据中迅速快捷地抽取、导出有价值的信息，以此作为医务人员进一步进行有针对性的科研、对相关患者安排治疗计划等决策的依据。在长期的工作中，我们已经保存和整理了近千份标本。这对于今后临床分离株的进一步研究；对难治性结核的原始依据的提出和新治疗方案的建立；对我院的信息化全面管理；对医院医、教、研综合水平的提高；对与其他医院的信息交流都起到了十分重要的作用。

参考文献

[1] 李洪敏, 刘 军, 林明贵, 等. 微生物通报, 2002, 29 (3): 105~107.
 [2] 张敦榕. 现代结核病学, 2000, 1: 21~164.