

微生物数码分类鉴定法

倪语星 主编

上海科学技术出版社

331



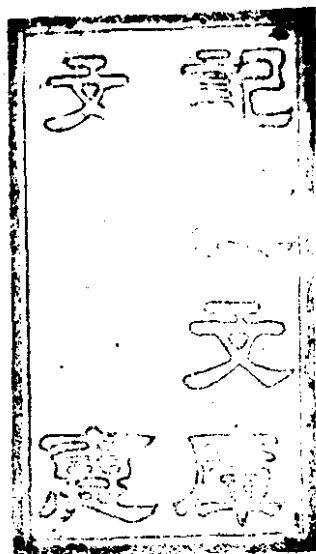
Q93-501

NYX

YH127/17

倪语星 主编

微生物数码分类鉴定法



A0278092

上海科学技术出版社

微生物数码分类鉴定法

倪语星 主编

上海科学技术出版社出版、发行

(上海瑞金二路 450 号)

新华书店上海发行所经销 江苏溧水印刷厂印刷

开本 787×1092 1/32 印张 8.75 字数 188,000

1994 年 12 月第 1 版 1994 年 12 月第 1 次印刷

印数 1—2,000

ISBN 7-5323-3584-4/R·999

定价: 7.30 元

(沪)新登字 108 号

内 容 提 要

《微生物数码分类鉴定法》的内容共分六章。第一章阐述数码分类鉴定法的原理；第二、三章分别介绍数码分类鉴定系统的组成和操作流程；第四章介绍国内外常用的一些数码分类鉴定系统；第五章为实用 API 鉴定手册，包括 API 系列的主要品种，用途以及常用的编码检索表和反应结果判定表。

本书可供大中专医学院校基础或临床微生物学师生、临床检验部门的医师、医技人员、有关的科研和生产单位的研究人员和技术人员以及卫生防疫、食品检疫、兽医微生物学工作者在工作、学习时参考。第五章鉴定手册中的检索表和判定表可供实际工作中随时查阅鉴定结果。因此，本书既从理论上详细介绍了“数码分类鉴定”这一新的鉴定技术，同时又是一本实用性较强的工具书。

微生物数码分类鉴定法

主 编 倪语星

副 主 编 陈志红 汪瑞忠 巫向前

参加编写人员(以姓氏笔画为序)

巫向前 汪瑞忠 张 琪 陈志红

倪语星 项明洁 樊建萌

序

长期以来,我国临床微生物学实验室一直沿用 100 多年前由革兰(Gram)、巴斯德(Pasteur)、郭霍(Koch)及皮特里(Petri)等所创造的传统的微生物学鉴定方法。但在今天看来,传统的微生物学鉴定不仅过程繁琐,费时费力,且在结果的判定上易发生主观片面,难以进行质量控制。

本世纪 70 年代诞生的微生物数码分类鉴定法集数学、电子、信息及自动分析技术于一体,可将已知菌科鉴定到属、群、种和亚种或生物型,以根据不同来源的临床标本进行有针对性的鉴定。该法目前已在世界范围内广泛应用,具有标准化、商品化、简易化、微量化、系统化等优点。

目前,我国的微生物工作者也正在逐步引进和开展数码分类鉴定技术。其中上海第二医科大学附属瑞金医院在这方面的研究与临床应用中取得了一些经验,并曾与法国生物-梅里埃集团共同举办了 API 鉴定系统应用研讨会和培训班。在此基础上,倪语星副教授领导和组织编著了这本《微生物数码分类鉴定法》。该书既从理论上详细介绍了“数码分类鉴定”这一新的鉴定技术,又是一本实用性较强的工具书,其中的数码检索表和判定表可供在实际工作中随时查阅而获得鉴定结果。我深信,该书的问世,必将对我国微生物数码分类鉴定技术的广泛应用起到很好的推广作用。

陆 德 源

1993.9

前 言

对各种标本中常见的微生物作出准确的鉴定是微生物学实验室的主要任务之一。传统的微生物学鉴定过程繁琐，需要配制多种生化反应培养基，费时费力。在方法学、结果的判定和解释等方面的主观性很强，很大程度上依赖于操作者个人的经验，人为的差异很大，难以进行质量控制。

70年代后期诞生的数码分类鉴定法集数学、电子、信息及自动分析技术于一身，采用标准化、成品化和配套的生化反应试剂条，简化了操作步骤，减少了实验室的工作量，并能提供及时、准确、重复性好的鉴定结果。目前该法已在世界范围内广泛应用，可将已知菌科鉴定到属、群、种和亚种或生物型，并可对不同来源的临床标本进行有针对性的鉴定。

数码鉴定系统的优点是：标准化、商品化、简易化、微量化、系统化，并可逐步达到半自动化和自动化。数码分析鉴定系统种类繁多，本书主要介绍应用最早、数据库资料最多以及在世界范围内使用最为广泛的法国生物-梅里埃集团的API鉴定系统。

限于编者的水平，本书难免出现差错和不妥之处，欢迎同道批评指正。

倪 语 星

1993·7

目 录

绪论	1
第一章 数码分类鉴定法的原理	3
一、数据库	3
二、数码鉴定的原理	3
三、解释	6
四、编码——从生化反应模式到数学模式的转换	7
五、查码——从数码到细菌名称的转换	8
第二章 数码分类鉴定系统的组成	10
一、试剂条	10
二、添加试剂	13
三、检索工具	14
第三章 操作程序	15
一、准备	15
二、接种	15
三、观察及记录结果	17
四、结果的解释	17
第四章 国内外常用的一些数码分类鉴定系统	19
一、几种国内的细菌鉴定生化反应试剂条(板)	19
二、国外几种微量生化反应及数值鉴定系统	21
第五章 实用 API 鉴定手册	25
一、API 系列的主要品种	25
二、常用 API 反应结果的判定	26
三、常用 API 品种的编码检索	31

绪 论

细菌的分类是在对细菌的大量分类标记进行鉴定和综合分析的基础上进行的。细菌分类的标记有形态学、生理生化学、免疫血清学与免疫化学及遗传学标记等。细菌的形态染色以及细菌的特殊附属结构是应用最早和最基本的分类依据,而细菌的生理、生化特征长期以来一直作为分类的主要依据。直至 1970 年,临床微生物学实验室仍在沿用 100 多年前由革兰(Gram)、巴斯德(Pasteur)、郭霍(Koch)及皮特里(Petri)等所创造的传统方法。在本世纪中,微生物学家致力于细菌的致病力、生理及基因等方面的研究,细致地研究描述各菌种,并将数学分析方法用于分类学,因为如没有分类学,鉴定亦不复存在。传统分类法主要按生物的基本性质逐级划分为界、门、纲、目、科、属和种,免疫学方法主要用于按抗原结构分型和亚型,遗传学技术主要用作传统分类法的补充。本文介绍一种集数学、电子、信息及自动分析技术于一身的数码分类鉴定法,该法目前已在世界范围内广泛应用,可将已知菌科鉴定到属、群、种和亚种或生物型,并可对不同来源的临床标本进行有针对性的鉴定。数码鉴定系统的优点是:①标准化:通过标准化的操作方法,可得到重复性好的结果,有利于细菌鉴定的质量控制;②商品化:有成品配套供应,节省人力物力;③简易化:操作、结果观察及鉴定方法均容易掌握,操作

者不需经验,便于推广使用;④微量化:只需少量菌液即可作出鉴定;⑤系统化:数码分析奠定了自动化鉴定的基础,根据数码分析的原理,用读数仪和电脑分析软件与之配套,便可形成半自动或全自动微生物分析系统。数码分析鉴定系统种类很多,其中以法国生物-梅里埃公司的 API 系统应用最早,数据库资料最多以及在世界范围内使用最广。本书以 API 鉴定系统为例介绍数码分类鉴定法的原理、组成、操作程序、主要品种及适用范围,并附有实用 API 鉴定手册,可供实际工作中随时查阅。

第一章

数码分类鉴定法的原理

一、数据库

数据库由细菌条目(taxa)组成,鉴定即通过 API 试剂条中的生化试验将一种(组)细菌与其他细菌相互鉴别,并用百分率(%)表示每种菌的可能性。

API 系统有许多种类,各有相应的数据库,可鉴定出不同数目的细菌,例如 API 20E V 3.0 数据库包括 108 个条目。每个条目可以代表:①一个细菌种,如伤寒沙门菌;②一个细菌生物型,如大肠埃希菌 1 型;③一个菌属,如沙门菌属,因单靠生化反应无法将该属细菌明确区分,只好定到菌属,可用血清学试验进一步鉴定;④有些细菌群目前只能用代码来表示,如 CDC、VE-1 群。

二、数码鉴定的原理

细菌数码鉴定的基本点是计算并比较数据库内每个细菌条目对 API 系统中每个生化反应出现频率的总和。以下以图表为例说明细菌数码鉴定的原理:

1. 假设一数据库,有 4 种反应和 4 个细菌条目 见表 1-1。

数码库中的数字为各菌对单项生化反应的阳性百分率(P)。

表 1-1 由 4 个细菌条目和 4 个反应结果组成的假设数据库

条目反应	1	2	3	4
A	50	93	87	2
B	0	100	85	98
C	15	15	91	3
D	0	95	98	1

2. 计算未知菌对上述 4 种反应的出现频率 见表 1-2。

表 1-2 未知细菌对 4 种反应出现频率计算表

条目反应	未知菌				最典型反应模式			
	1	2	3	4	1	2	3	4
	-	+	+	+				
A	0.500	0.929	0.869	0.021	0.50	0.929	0.869	0.970
B	0.990	0.990	0.849	0.979	0.99	0.99	0.849	0.979
C	0.843	0.151	0.909	0.031	0.843	0.843	0.909	0.961
D	0.990	0.949	0.979	0.011	0.99	0.949	0.979	0.980

阳性反应 = $P/100$

阴性反应 = $1 - (P/100)$

最典型反应模式从数据库的典型反应计算得到。

3. 计算单项总发生频率(每个细菌条目中各种生化反应频率之积)和多项总发生频率(各单项总发生频率之总和) 见表 1-3。

表 1-3 单项总发生频率计算表

条目	单项总发生频率	多项总发生频率
A	$0.500 \times 0.929 \times 0.869 \times 0.021 = 0.00846$	$0.500 \times 0.929 \times 0.869$ $\times 0.970 = 0.39154$
B	$0.990 \times 0.990 \times 0.849 \times 0.979 = 0.81463$	$0.990 \times 0.990 \times 0.849$ $\times 0.979 = 0.81463$
C	$0.843 \times 0.151 \times 0.909 \times 0.031 = 0.00359$	$0.843 \times 0.843 \times 0.909$ $\times 0.961 = 0.62079$
D	$0.990 \times 0.949 \times 0.979 \times 0.011 = 0.01012$	$0.990 \times 0.949 \times 0.979$ $\times 0.980 = 0.90138$
	0.83680	

4. 计算鉴定百分率%id 见表 1-4。

$$\%id = \frac{\text{单项总发生频率}}{\text{多项总发生频率}} \times 100$$

全体%id 之和应等于 100。

表 1-4 鉴定百分率计算表

条目	鉴定百分率%id	模式频率(PO/PT)
A	$(0.00846/0.83680) \times 100 = 1.01$	$0.00846/0.39154 = 0.0196$
B	$(0.81463/0.83680) \times 100 = 97.35$	$0.81463/0.81463 = 1$
C	$(0.00359/0.83680) \times 100 = 0.43$	$0.00359/0.62079 = 0.0058$
D	$(0.01012/0.83680) \times 100 = 1.21$	$0.01012/0.90138 = 0.0092$
	100.00	

5. 按%id 大小排序 将所得到的反应模式(PO)除以最典型的反应模式(PT)即得到 T 值(Tindex), 代表个体与总体的近似值, T 值越接近 1, 表明个体与总体越相近, 鉴定价值

亦越大。

$$T = \frac{\text{所得到的反应模式(PO)}}{\text{最典型的反应模式(PT)}}$$

%id 按大小排序后相邻两项的鉴定百分率之比为 R_1 , R_1 是第一条目与第二条目之比, 代表首选条目与次选条目之间的差距, R_1 值越大表明两者之间的差距越大, 亦越有价值。

$$R_1 = \frac{\text{第一条目 \%id}}{\text{第二条目 \%id}} \quad R_2 = \frac{\text{第二条目 \%id}}{\text{第三条目 \%id}}$$

以此类推……, 见表 1-5。

表 1-5 鉴定百分率排序表

排序	条目	鉴定百分率	T 值	
1.	B	%id=97.35	T=1	$R_1=97.35/1.21=80.45$
2.	D	%id=1.21	T=0	$R_2=1.21/1.01=1.2$
3.	A	%id=1.01	T=0.15	$R_3=1.01/0.43=2.34$
4.	C	%id=0.43	T=0	

如鉴定百分率 ≥ 80.0 , 参考 T 值和 R_1 值可作出鉴定。

上表中条目 B 是唯一选择, 因为, %id = 97.35, T = 1。

三、解释

1. 如果排序第一的细菌其 %id ≥ 80.0 , 则可将未知菌鉴定在此“条目”中, 并按 %id 值的大小对鉴定的可信度作出评价:

%id ≥ 99.9	“最佳的鉴定”
%id 99.0~99.8	“很好的鉴定”
%id 90.0~98.9	“好的鉴定”
%id 80.0~89.9	“可接受的鉴定”

2. 如果第一个条目的%id <80.0 ,就将前二个条目的%id加在一起,若还不够80.0,就将前三个条目的%id加在一起。若其和 ≥ 80.0 ,就有两种可能:①“鉴定到种水平”,这必须是这几个加在一起的条目是同一细菌种内不同的生物型;②“鉴定到属水平”,这必须是这几个加在一起的条目是同一细菌属内的不同细菌种。在上述两种情况下,所得到的鉴定菌名都以前述相同方式来评价,即根据相加以后%id的大小,作出最佳、很好的鉴定……等。

“低分辨力”,这是指几个条目既不属于同一细菌种,又不属于同一细菌属,在评价中就会指示“补充生化反应”用的表号,可通过进一步生化反应将这几项菌区分开来,而得菌名。如果头三个项的和小于80.0,则此结果将认为是“不可接受的”,数据库对其无能为力。

四、编码——从生化反应模式到数学模式的转换

编码,即将所得生化反应模式转换成数学模式,可把某一菌的全部生化反应结果快速转录成数字,经查阅检索本又可将该组数字(编码)转化成细菌名称。

编码的原则是将20个生化反应的阴阳性结果而得出的+/-为标志的信息缩编为一组数字。具体作法是:将全部反应每三个为一组,每个组的第一位反应阳性时记作1,第二位反应阳性时记作2,第三位反应阳性时记作4,各种反应阴性时均记为0。再将每组三个反应得出的三个数字相加成一个数字,结果可能为0-7中的任何一个数字。

以API 20 E为例,API 20 E适用于革兰阴性杆菌中肠杆菌科细菌的鉴定,其反应条中有20个试验,编成7个组,附加的氧化酶为第21个试验。若得出的7个数码是:5144512,

经查检索本可得知该编码即代表大肠埃希菌（见图 1-1）。

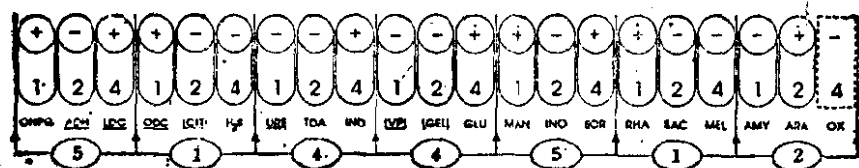


图 1-1 5144512 大肠埃希菌

在有些情况下，7 位数码还不足以分辨，这就要作一些补充试验，包括：

硝酸盐还原成亚硝酸盐 (NO_2)

硝酸盐还原成 N_2 (N_2)

动力 (MOB)

麦康凯琼脂上生长 (MCF)

葡萄糖氧化 (OF-O)

葡萄糖发酵 (OF-F)

五、查码——从数码到细菌名称的转换

在检索表内寻找数码谱，有两种可能性：

1. 有此数码，并写有以下信息：

(1) 有一个或几个菌名条目及其 %id 值；

(2) 对鉴定结果好坏的评价，最佳……等；

(3) 用小括号指出不符合的生化结果(如有的话)，并列
出该项反应应得的阳性百分率；

(4) 遇到分辨不清或多条菌名列在一起时，指出必须增
加补充试验的鉴定表表号；

(5) 指出某些注意要点，如还要用上“推测性鉴定”。当
许多菌都有可能时，要作相应的双歧法鉴定，并将此菌送至参

考实验室;有可能是欧文菌属,查表 1-1;用血清学证实,适用于志贺菌属及沙门菌属等。

2. 无此数码,可能有三种原因:

(1) 此生化谱太不典型;

(2) 不能接受, %id < 80.0;

(3) 可疑,未知菌某一生化反应为阳性,而其相似菌对该反应的阳性百分率为 0。

如果不是污染,即保证是纯菌的前提下,可与就近的 API 电脑服务部联系,以求进一步解决。

(倪语星 陈志红)