

电脑智能在肠杆菌科细菌分析鉴定中的应用

王志刚

(浙江省疾病预防控制中心,浙江 杭州 310009)

摘要:为肠杆菌科细菌分析的需要,应用C++语言,编制了《华顺微生物分析鉴定智能系统》(HUASUN),该系统的V2.0版主要由肠杆菌科细菌分析组件组成,该组件以伯杰氏细菌分类鉴定手册、美国临床微生物学手册和全国临床检验操作规程等为参考基础,编制肠杆菌科细菌分析鉴定组件(ent15和ent48)。该版本可鉴定分析肠杆菌科的常见的21个种类,包括了大部分临床上最新的分离菌种。与常用的VITEK、API、ATB及国内开发的常见鉴定系统比较,该系统可鉴定分析的肠杆菌科细菌最多。生化鉴定项目由常用的15个生化检验项目(ent15)和48个生化检验项目(ent48)两部分组成。在ent48中,可任意选择48个生化中的试验项目和个数,组成鉴定系列,进行鉴定分析,这一智能化特征在VITEK、ATB、API及国内开发的常见鉴定系统中是没有的。该版本对细菌鉴定过程中的异常生化及进一步区分的生化项目可作智能化选择分析。该系统的V2.0版还包括了沙门氏菌血清型分析和细菌性食物中毒分析组件。

关键词:肠杆菌科;软件;人工智能

中图分类号:R15;N34 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-8456(2002)06-0011-04

在分析评定食品卫生状况时,在检查食品生产、加工、运输和销售等环节的卫生情况时,都要进行微生物学的分析评判,以确保民众的食用安全,其中肠杆菌科细菌分析鉴定是微生物学分析评判的一个重要内容。由于经费、时间所限,肠杆菌科细菌分析鉴定难于深入进行。目前进行肠杆菌科细菌分析鉴定,通常采用3种方法:(1)经典传统的手工分析方法。该方法按照书本或专家的建议,选择不同的生化试验组合,逐步分析鉴定,费时费力,要求分析人员专业水平较高。(2)半自动的鉴定分析方法。通常由提供方法的厂家选择特定的生化试验组合及试剂、鉴定手册、软件、仪器等的不同组合。国内常用的较简单的有杭州天和微生物试剂公司“15e”系统,杭州微生物试剂厂“15e”系统,上海疾控中心的SWF(A)系统,北京路桥公司的E75/15系统,法国生物梅里埃公司的API系统,中科院微生物所的“革兰氏阴性杆菌新编码鉴定手册”;自动化较高的有上海复星实业的FORTUNE IMS系统,法国生物梅里埃公司的ATB系统等。(3)全自动的法国生物梅里埃公司的VITEK系统。后两者与前者相比,生化试验个数和类型是确定的,不能改变;每种都有各自类型,不能通用;可鉴定的菌株是有限的。我们经过多年的研究,分析比较以上各种类型的编码手册或软件,并制作成相应的计算机软件,发现了以上方法的优缺点。最终首创了通用性较强、智能选择生化试验个数和类型、可鉴定菌株多的肠杆菌科细菌分析鉴定

系统。该系统在2001年的“生物安全与健康”国际会议作了交流,受到与会者的好评。现把《华顺肠杆菌科细菌分析鉴定系统(V2.0b)》介绍如下。

1 材料与方法

1.1 以伯杰氏系统细菌分类鉴定手册,^[1]美国临床微生物学手册^[2]等为参考基础,以全国临床检验操作规程(第二版)^[3]为主要依据,鉴定菌株时的生化试验项目和方法及细菌分类单位的阳性率等绝大多数内容都能在该操作规程中找到依据。

1.2 依据微生物专业知识,采用概率论等数学模型,分析、推导和模拟其他厂家的数学模型,分析他们的优缺点,最终设计出自己的数学模型。

1.3 分析编程平台,先后采用了foxpro、Microsoft Excel、Visual B、C++ bulider 3.0、C++ bulider 5.0进行智能化设计;操作系统从DOS到windows95/98/Me的转换。

2 结果与讨论

2.1 用于鉴定菌株的生化项目 有吲哚、甲基红、VP、枸橼酸盐、H₂S、尿素、苯丙氨酸、赖氨酸、精氨酸、鸟氨酸、动力、明胶、KCN、丙二酸盐、葡萄糖产酸、葡萄糖产气、乳糖、蔗糖、甘露醇、卫矛醇、水杨素、侧金盏醇、肌醇、山梨醇、阿拉伯糖、棉子糖、鼠李糖、麦芽糖、木糖、蕈糖、纤维二糖、甲基葡萄糖苷、赤藓醇、七叶苷、蜜二糖、阿拉伯醇、甘油、粘液酸盐、酒

石酸盐、醋酸盐、脂酶、Dnase、硝酸盐、氧化酶、ONPG、黄色素、甘露糖、葡萄糖酸盐和苦杏仁苷。共 49 个项目,从表 1 中可见是国内常用系统中项目最多的。经比较,本系统已包含了国内大多数常用系统的生化鉴定项目,如 FORTUNE. IMS、API、15e、SWF (A) 和 E75/15 等等。

表 1 常用肠杆菌科分析鉴定系统的性能比较

鉴定系统	生化试验个数	可鉴定的种类	生化种类可选性	生化个数可选性
本系统	最多 48	121	可选	可选
FORTUNE. IMS	24	105	不可选	不可选
VITEK	32	74	不可选	不可选
ATB	32	71	不可选	不可选
API	21	70	不可选	不可选
E75/15	15	75	不可选	不可选
杭州天和 15e	15	73	不可选	不可选
SWF(A)	16	54	不可选	不可选
杭州微 15e	15	53	不可选	不可选

2.2 可鉴定的肠杆菌科细菌种类 有水生布特维西菌、乡间巴提奥菌、戴氏西地西菌、拉氏西地西菌、奈氏西地西菌、西地西菌 3 号、西地西菌 5 号、弗劳地枸橼酸杆菌、异型枸橼酸杆菌、丙二酸阴枸橼酸杆菌、法摩枸橼酸杆菌、扬格枸橼酸杆菌、布拉克枸橼酸杆菌、乌克曼枸橼酸杆菌、丝得富枸橼酸杆菌、枸橼酸杆菌种 9 号、枸橼酸杆菌种 10 号、枸橼酸杆菌种 11 号、迟缓爱得华菌、迟缓爱得华菌、保科爱得华菌、鲛鱼爱得华菌、产气肠杆菌、阴沟肠杆菌、聚团肠杆菌群、格高菲肠杆菌、坂崎肠杆菌、泰洛肠杆菌、河生肠杆菌 1 型、河生肠杆菌 2 型、阿斯布肠杆菌、霍米奇肠杆菌、中间肠杆菌、致癌肠杆菌、分解肠杆菌、超压肠杆菌、大肠埃希氏菌、大肠埃杀菌不活泼群、志贺氏菌 ABC 群、宋内志贺氏菌、费格森埃希氏菌、赫尔曼埃希氏菌、创伤埃希氏菌、蟑螂埃希氏菌、美洲爱文菌、峰房哈夫尼菌、峰房哈夫尼菌 1 群、肺炎克雷伯菌、产酸克雷伯菌、解鸟氨酸克雷伯菌、植生克雷伯菌、臭鼻克雷伯菌、鼻硬结克雷伯菌、土壤克雷伯菌、抗坏血酸克吕沃菌、栖冷克吕沃菌、不脱羧莱克菌、格林蒙勒米诺菌、理查德勒米诺菌、威斯康星默勒菌、摩氏摩根菌、摩氏摩根菌 1 群、摩氏摩根菌西伯尼、变形肥杆菌 2 群、泉居布拉格菌、奇异变形杆菌、普通变形杆菌、潘尼变形杆菌、产粘液变形杆菌、雷极普罗威登斯菌、斯图普罗威登斯菌、产碱普罗威登斯菌、拉氏普罗威登斯菌、海氏普罗威登斯菌、水生拉恩菌、沙门氏菌 DNA1 群大多血型、伤寒沙门氏菌、猪霍乱沙门氏菌、副伤寒甲沙门氏菌、鸡沙门氏菌、邹白痢沙门氏菌、沙门氏菌 DNA2 群、

沙门氏菌 DNA3a 群、沙门氏菌 DNA3b 群、沙门氏菌 DNA4 群、沙门氏菌 DNA5 群、沙门氏菌 DNA6 群、粘质沙雷菌、粘质沙雷菌 1 群、液化沙雷菌群、深红沙雷菌、芳香沙雷菌、芳香沙雷菌 2 群、普城沙雷菌、无花果沙雷菌、嗜昆虫沙雷菌、泉居沙雷菌、痰塔特姆菌、关岛特布尔西菌、发光致病杆菌 (25C)、发光致病杆菌 D5 群、嗜线虫致病杆菌、小肠结肠炎耶尔菌、弗氏耶尔森菌、中间耶尔森菌、克氏耶尔森菌、罗蒂耶尔森菌、奥尔德瓦耶尔森菌、波可望耶尔森菌、莫拉莱耶尔森菌、鼠疫耶尔森菌、假结核耶尔森菌、鲁氏耶尔森菌、雷吉斯伯约克纳菌、肠道菌 58 群、肠道菌 59 群、肠道菌 60 群、肠道菌 63 群、肠道菌 64 群、肠道菌 68 群和肠道菌 69 群。共 121 个种类。这些种类据美国临床微生物学手册介绍^[2]都曾在临床标本中出现过。从表 1 中可见可鉴定的种类在国内常用系统中也是最多的。

2.3 智能选择生化个数和类型 自前商用的编码系统的试验生化个数和类型是各自确定的,采用某一系统进行菌株鉴定时,只能全套采用限定的生化个数和类型,并且生化试验结果不能在其他系统中使用,本系统则在这方面大大改进了一步,能在 48 个生化试验项目中任意选择生化个数和类型,进行智能鉴定分析。使用者可选择自己认为最优的方案进行菌株鉴定,也可选择其他厂家推荐的方案如 FORTUNE. IMS、API、15e、SWF (A) 和 E75/15 等进行生化试验,在本系统中进行菌株鉴定分析。在操作界面上除首创的 48 个生化项目页外,还设计了国内常用的 15 和 21 个生化项目页,以方便使用者选定。见图 1、2、3。

2.4 鉴定依据分析 随着学科的发展,肠杆菌科的种类不断增多,生化试验数据不断完善,因此本系统的菌种类型和生化试验数据主要采用最新版的卫生部颁发的《全国临床检验操作规程》。和表 1 的系统比较,除杭微和 FORTUNE. IMS 也大部分采用《全国临床检验操作规程》中的方案外,其他系统则有各自的方案,显然在鉴定某一菌株时,可能会有不同的结果。因此在法律法规上,在大众认可上及技术上本系统的优势是明显的。此外,《全国临床检验操作规程》最新版的肠杆菌科鉴定分类主要依据是《美国临床微生物学手册》,在我国进入 WTO 后,本系统的鉴定依据的国际性、通用性、合理性也是明显的。

2.5 在微生物生态学研究中的作用 在目前的食品卫生学评价中,主要是有害微生物的检测,然而更深层次的有害微生物与其他微生物的关系等生态学的研究难以开展,其主要原因之一是要对大量微生物进行鉴定,在研究经费、投入人力、时间上难以办

到。而采用本系统就可较大程度地解决一些问题。首先和国外鉴定系统比减少研究经费是明显的;其次在传统鉴定分析时,一些必须由专家进行的费时

费力的工作现在可由电脑进行分析,大大减少了智力和时间的浪费。本系统的采用,可有效地推动我国食品卫生微生物学研究的开展。

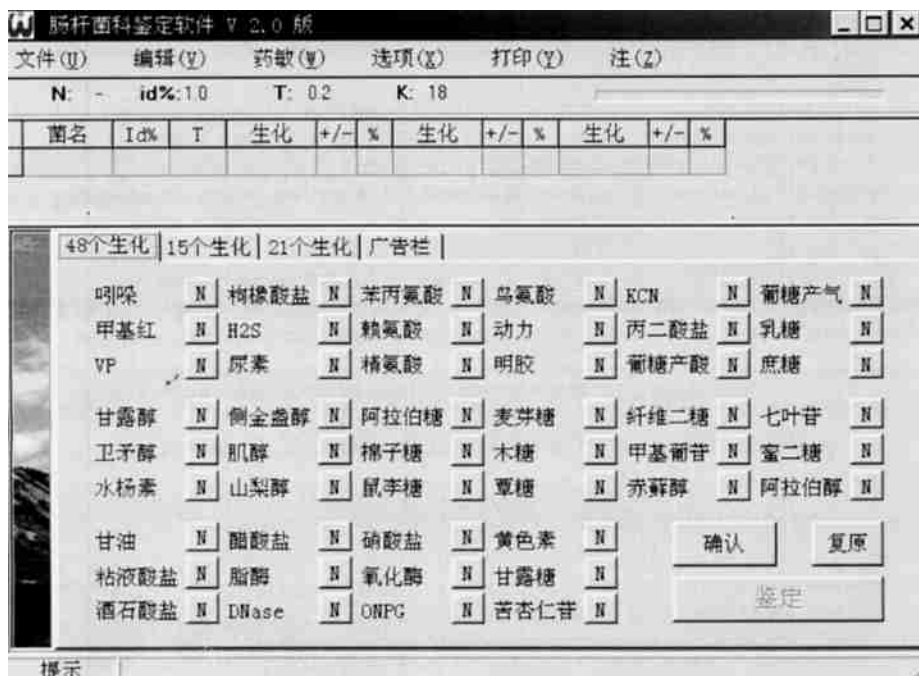


图1 48个生化项目页



图2 15个生化项目页

2.6 其他事项 肠杆菌科细菌鉴定系统是《华顺微生物分析鉴定智能系统》的一个组成部分,《华顺微生物分析鉴定智能系统》已获计算机软件著作权,受国家专利权保护,有自主知识产权。该《智能系统》在“生物安全与健康”国际会议(2001.08.06-

10)上进行了交流,受到与会者好评,获优秀论文奖。该《智能系统》的V2.0b版还包含了《沙门氏菌血清型分析》和《细菌性食物中毒分析》组件,目前正在开发《常见霉菌鉴定及霉菌毒素分析》组件。欢迎有兴趣的同行共同参与开发,促进本学科的发展。

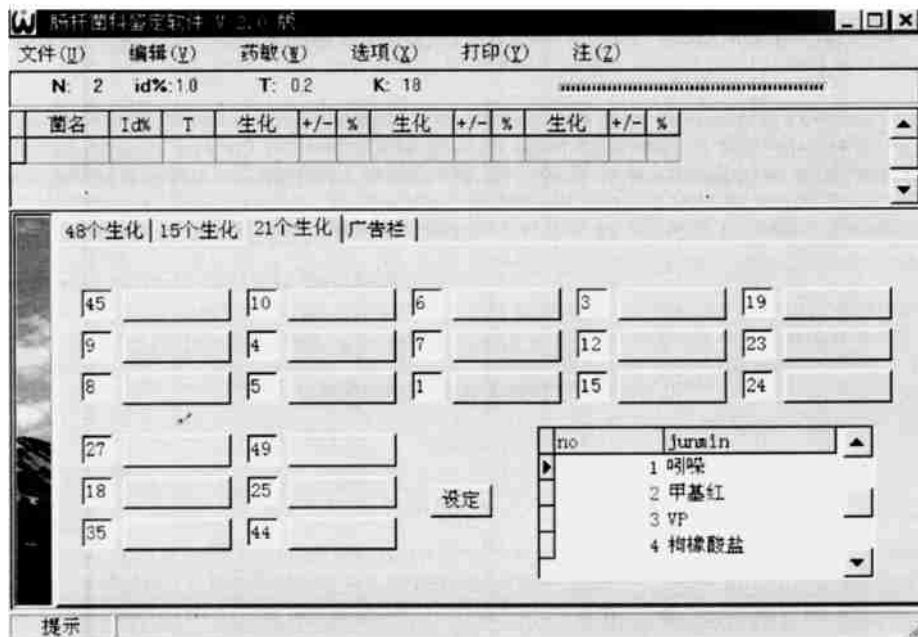


图3 21个生化项目页

参考文献:

[1] Holt J G, Krieg N R, Sneath P H. Bergey's manual of determinative bacteriology [M]. 9 edition. Lippincott: Williams and Wilkins Ed, 1994, 1-787.

[2] Murray P R, Baron EJ, Tenover FC, Tenover FC. Manual of clinical microbiology [M], 7th. Portland: ASM Press, 1999, 442-496.

[3] 中华人民共和国卫生部医政司. 全国临床检验操作规程 [M]. 第二版. 北京: 东南大学出版社, 1997, 1-621.

Application of computer intelligence for analysis and identification of microorganism/Wang Zhigang//Chinese Journal of Food Hygiene. - 2002, 14(6): 11~14.

Abstract: Utilizing C++ compiler language, 《HUASUN microorganism identification intelligence system》(HUASUN) was programmed for analysis of Enterobacteriaceae. HUASUN V2.0 mainly composed of Enterobacteriaceae bacteria package unit. The ent15 and ent48 in the package unit coded with reference of Bergey's manual of determinative bacteriology, manual of clinical microbiology and national clinical examination operating regulation. HUASUN V2.0 can analyse common 121 species of Enterobacteriaceae, including the most part of the new clinical isolates, and have the largest Enterobacteriaceae bacteria data base compared with the common use's VITEK, API, ATB and domestic identification systems. Two biochemical test kits were designed separately in ent15 and ent48, which made of more conventional 15 test items and all of 48 test items respectively. In the ent48, may choose randomly items and volumes of number and then compose of identification series, proceeding judgement analysis, this focused feature in many other identification systems (VITEK, ATB, API and domestic identification systems) is not available. HUASUN V2.0 may also selective-analyse abnormal and future-sort biochemical test items in an identification process. HUASUN V2.0 also include *Salmonella* serotype analysis and bacteria food poisoning analysis package units.

Author's address: Wang Zhigang, Zhejiang Provincial Center of Disease Prevention and Control, Zhejiang Hangzhou, 310009 PRC.

Key Words: Enterobacteriaceae; software; Intelligence