

Biolog 微生物鉴定系统在菌种鉴定中的应用

李 运,盛 慧,赵荣华

(山东烟台张裕集团公司技术中心,山东 烟台 264000)

摘 要: Biolog 微生物鉴定系统由浊度仪、读数仪、软件、数据库、微孔鉴定板组成,与计算机联网。对结果的鉴定需要考虑可能性、相似性、位距 3 个参数,通过 SIM、DIST 和 PROB 值与数据库中的 ID 比较,确定被鉴定的微生物的属种。(孙悟)

关键词: Biolog 微生物; 鉴定系统; 菌种鉴定

中图分类号:Q93-3;TS261.1 文献标识码:B 文章编号:1001-9286(2005)07-0084-02

Utilization of Biolog Microbes Identification System in the Identification of Microbial Species

LI Yun, SHENG Hui and ZHAO Rong-hua

(Technical Center of Zhangyu Group Co., Yantai, Shandong 264000, China)

Abstract: Biolog microbes identification system is made up of turbidity reading instrument, reading instrument, software, database, and micropore identification plate. Such system is connected with computers. Three parameters including possibility; similarity and distance should be fully considered during identification. Microbial species were identified through the comparison of SIM, DIST and PROB values with ID in databank. (Tran. by YUE Yang)

Key words: Biolog microbes; identification system; species identification

微生物个体微小结构简单,分类和鉴定采用传统的形态学、生理学和生态学特征之外,还必须寻找新的特征作为分类鉴定的依据^[1]。比较常用的有:血清学试验与噬菌体分型、氨基酸顺序和蛋白质分析、核酸的碱基组成和分子杂交以及基因重组^[2]。近 20 年来,随着微电子、计算机、分子生物学等先进技术向微生物学领域的渗透和多学科的交叉,微生物的快速鉴定和自动化分析技术有了突破性的进展,有代表性的是微量多项试验鉴定系统、快速自动化微生物检测仪器。Biolog 全自动微生物鉴定仪是计算机进行数据分析,使分析鉴定的过程快捷,结果准确可信,将传统的分类法向数值分类法迈出了一大步。

1 原理

微生物鉴定技术通过在一块鉴定板上使用 95 种碳源进行实验。微生物利用碳源进行呼吸时,会将四唑类氧化还原染色剂,从无色还原成紫色,从而在微生物的鉴定板上形成该微生物特征性的反应模式或“指纹”,通过纤维光学读取设备——读数仪来读取颜色变化,由于

对光密度的吸收值的差异,计算机通过概率最大模拟法,并将该反应模式或“指纹”与数据库相比较,将目标微生物与数据库的相关菌的特征数据进行比对,对分析的微生物进行最大限度的匹配,可以在瞬间得到鉴定结果,确定所分析的微生物的属名或种名。

2 系统组成

Biolog 微生物鉴定系统由浊度仪、读数仪、软件、数据库、微孔鉴定板组成。

3 结果鉴定的 3 个重要参数

对结果进行鉴定需要考虑 3 个参数:可能性(Probability)、相似性(Similarity)、位距(Distance)。

SIM 和 DIS 是 2 个重要的参数,表示测试结果与数据库相应的数据的匹配程度。当 DIS<5.0, SIM >0.75 为良好的匹配, SIM 值越接近于 1, 鉴定结果的可靠性越高。

4 应用实例

我们通过选择性培养获得一株良好的酿酒酵母菌

收稿日期:2005-01-07

作者简介:李运(1965-),女,山东人,大专,助理工程师,发表论文数篇

种,利用 Biolog 菌种鉴定仪对其进行种类分析。

4.1 BUY 培养基的配制

称取特定的 Biolog 专用配套使用的 BUY 培养基 60 g,溶解在 1000 mL 的蒸馏水中,搅拌溶解 10 min 后,加热进行完全溶解,放凉后分装 3 个 500 mL 的三角瓶中,进行高压蒸汽灭菌,温度 121 °C,时间 20 min。

4.2 接种培养^[2]

将上述两种培养基,在大约 36 °C 时倒平板。放置到 27±1 °C 的培养箱中培养 48 h,以确定平板没有被污染。然后将目标菌液接种到麦芽汁斜面培养基上进行活化培养,最好进行 2~3 次的转种培养,时间 48 h。

4.3 平板划线^[2]

挑取斜面上的菌,进行平板划线,最好采用分区划线的形式,这样比较容易得到一个培养良好的单菌落,然后进行培养,时间是 48 h,温度控制在 27±1 °C。

4.4 浊度调整

用灭菌棉签挑取已经培养好的菌落,在无菌状态下接种到浊度管中。用空白调至 100%,用酵母菌液标准管调至 47±1%。再用接种后的浊度管进行测量,可以用无菌水不断调整浊度的大小,以达到以上标准浊度值。

4.5 接种鉴定板

将已经调整好浊度的菌液,用微量加样器很仔细地接种到 Biolog 鉴定板上,放置在一个大小相宜的托盘中,并保持一定的湿度,培养 48 h。

4.6 读取数据

开启鉴定系统,将已经培养好的鉴定板放置到菌种鉴定仪的读数仪上,计算机读取数据,按照可能性大小给出的 10 个 ID 的名称(见表 1)。

4.7 结论与数据分析

通过以上分析结果我们可很清楚的看到 SIM 值=0.835>0.75, DIST 值=2.00<5.0, PROB 值=96%。

表 1 菌种鉴定结果

序号	编号	菌种	PROB	SIM	DIST	TYPE
1	221#	A/TOR.PRETORIEN 酿酒酵母	96	0.835	2.00	YT
2	141#	乳酸克鲁维酵母	3	0.025	3.16	YT
3	191#	奥默毕赤酵母	0	0.002	4.00	YT
4	144#	耐热克鲁维酵母	0	0.000	4.49	YT
5	264#	发酵性接合酵母	0	0.000	4.61	YT
6	265#	FLORENTINUS 接合酵母	0	0.000	4.96	YT
7	219#	酿酒酵母贝酵母	0	0.000	5.03	YT
8	84#	浅白隐性酵母	0	0.000	5.10	YT
9	195#	SYDOWIORUM 毕赤酵母	0	0.000	5.21	YT
10	194#	SUBPELLICULOSA 毕赤酵母	0	0.000	5.26	YT

系统得到的 3 个重要参数比较理想,因此与数据库有一个良好的匹配,在 ID 地址栏里显示出有一个最佳的匹配名称,属名 *saccharomyces*, 种名 *cerevisiae A/tor.preorien*, 是数据库中的第 221# 菌,是一株啤酒酵母。另外在名称栏里还有比较接近的 10 个名称列出作为参考,它们在排列空间上是与第一株菌最近的 9 个菌种,如果 10 个 SIM 值的总和>0.5 时,系统给出的鉴定结果的 ID 只是一个属名。

5 异常鉴定结果的原因

5.1 排在前几位的 ID 是离散而不相关的属。

5.2 对 YT(48 h 结果)SIM<0.5, DIST>5.0;第一个和第二个所得 ID 的 DIST 几乎相等,边界反应多于 15 个。

5.3 如果无 ID, %PROB 将无显示,阴阳反应都有不匹配,则该种可能不在数据库中;如果不匹配的反应全部为阳性或阴性,则很可能是操作的失误,譬如纯化不好、培养时间过长或过短、污染、菌细胞太老、培养基错误、接种液浊度调整不适、培养温度有误等。

参考文献:

- [1] 黄秀梨. 微生物学[M].北京:高等教育出版社,1999.
- [2] 陶文沂.工业微生物生理与遗传育种学[M].北京:中国轻工业出版社,1997.
- [3] 沈萍,范秀容,李广武.微生物学实验(第三版)[M].北京:高教出版社,1999.

贵州茅台上榜《新财经》“漂亮 50 名单”

本刊讯:在最新出版的一期《新财经》杂志中,贵州茅台酒股份有限公司入选了该杂志评选的“漂亮 50——未来十年中国最具成长性的蓝筹公司”名单。在沪深两市上市的 1352 家 A 股公司中,贵州茅台之所以能够入选这一名单,主要是由于其高成长性和贵州茅台自身所具备的竞争优势。

漂亮 50(Nifty Fifty)的概念,最先出现在美国股票市场上,在 20 世纪 60 年代末至 70 年代初,美国机构投资者热衷于投资一小部分大盘蓝筹股,它们被人们称为“漂亮 50”,包括 IBM、柯达、麦当劳、可口可乐、吉列等。这些股票多为行业龙头,业绩优良,受到投资者的热烈追捧。“漂亮 50”事实也证明这些股票给投资者带来了惊人回报。

贵州茅台曾荣获 2003 年中国上市公司百强称号,列 2003 年度上市公司 100 强排行榜第 35 位,列中国 2004 最具竞争力的上市公司 20 强的第五名,列酿酒食品前 10 强的第二名。(江砂)