介绍几种微生物检验的有关技术

陈我菊(杭州 310004 浙江省药品检验所)

药品微生物检验是检查药品卫生质量的一种手段。随着微生物检验、科研工作的发展,检验设备及技术也发展很快。下面列举一些,供同行参考[1,2]。

1 分子生物学技术

传统微生物检查主要根据形态培养,生化、血清学检查,动物实验及组织培养等方法进行识别及判定,这些主要观察整个微生物在不同实验中的表现,运用分子生物学的技术后,可以洞察微生物微细结构的变化,从而鉴定细菌的型别。

近年来发展的噬菌体诊断技术已得到广泛的应用,噬菌体是一类具有严格寄生性和高度特异性的细菌和真菌的病毒。一种噬菌体只能裂解其相应的一种细菌,故可用于细菌的鉴定。比如沙门菌的鉴定。分离和筛选可用于菌属诊断的枸橼酸杆菌噬菌体(c),埃希菌属噬菌体(E),枸橼酸杆菌-埃希菌属噬菌体(CF)等噬菌体与沙门菌属 O-I 噬菌体联合检测,显著地降低了误检率[3]。聚合酶链反应(PCR)技术也是近几年微生物分子生物学研究的热点[4]。它是一种模拟天然 DNA 复制过程,以三磷酸脱氧核苷酸(DNTP)为底物,在体外扩增特异性 DNA 片断,扩增产物,可用琼脂糖凝胶电泳或其他核酸分子杂交技术加以检测。达到了高灵敏度、快速的效果。目前国内外药品、饮水、环保、临床鉴定,预防医学正在广泛应用。

20 世纪 90 年代中期又发展起生物芯片的微生物微量分析技术。它是将大量的基因探针、基因片断或抗原(抗体)按特定方式固定的排列在特制的载体(如玻片)上,在特定条件下与待检样品进行作用,通过精密的扫描仪器进行记录、检测、分析的一种技术[5]。具有取样量少、灵敏度高的特点。可以预料,21 世纪,许多生物化学反应将在芯片上进行。许多今天以塑料板、凝胶和滤膜为载体的反应将让位给生物芯片。

2 物理化学技术

色谱法是一种物理分离手段,它是利用细菌混合物在不同的固定相与流动相两相中溶解、解析、吸附、脱附,反复多次得到互相分离,然后采用各种检测手段进行,可将细菌鉴定到属、种和株。

高效液相色谱与常规色谱相比,具有分辨率高,分析速度快,易于操作等优点。在细菌检验中,如当代的细菌分类鉴定中,细菌核酸组成的碱基比(G+Cmol%)是一项稳定可靠的指标,HPLC 为此提供了一种直接测定的灵敏快速的方法。因为每一种细菌 DNA 均有稳定的(G+Cmol%),不同细菌的 G+Cmol% 含量有所差异,且每一种细菌 G+Cmol% 通常是恒定的,不受菌龄、生长条件等各种外界因素的影响。G+Cmol% 测定在细菌分类鉴定中有较大的应用价值。例如双岐杆菌分五个聚类群,十二个亚群,每个亚群均有一个恒定的 DNA G+Cmol%,从而可鉴定到菌株[6]。

物理化学技术中有放射测定法(RM),阻抗测定法(IMP)及微量生化反应系统。后者采用多种生化反应系统来鉴定细菌。现已有商品化的成套产品。常用的 Micro-ID 系统、API 系统主要用于肠杆菌科细菌鉴定,方法简便,达到快速鉴定的效果。

3 显微镜技术

显微镜是观察细菌的基本工具,随着科学技术发展,电子显微镜在物理学、化学、生物学,医药学,冶金、地矿、材料、农业等学科领域得到广泛的应用。电镜也被称之谓"科学之眼",发明者 Ruska 也因此而获得了 1986 年诺贝尔物理奖。电子显微镜的电子流波长极短,仅为可见光波长的几万分之一(约为 0.005nm),故放大倍数很高,可达数十万倍,能分辨 1nm 物体。电子显微镜有透射电子显微镜和扫描电子显微镜。前者可观察细菌及病毒等的超微结构,也可以照相拍摄,后者是用电子流对物体表面进行扫描,可更清楚暴露物体三维空间的立体形象。特别适用于对细菌表面结构及附件

的观察。

参考文献

1 唐珊熙主编. 微生物学及微生物检验. 北京: 人民卫生出版社, 1998. 5: 128.

2 严杰、罗海波、陆德源等主编. 现代微生物实验技术及其应用. 北京: 人民卫生出版社, 1995. 63. 101.

3 郑钧镛、王光宝主编. 药品微生物学及检验技术. 北京: 人民卫生出版社, 1989. 228.

4 李国艾. 多聚酶链反应检测白色念珠菌. 国外医学微生物学分册. 1994, 17(6)3.

5 白东亭. 生物芯片技术及应用. 中国生物制品, 2000, (13), 4.

6 凌代文、周岩、袁秋. 双歧杆菌的数值分类及代表性菌株同源性的分析. 微生物学报. 1998, 38: 5.

收稿日期: 2001-09-25

中国现代医药杂志 www.chinjmm.com