

# 从腹泻病人粪便检出河弧菌

福建省卫生防疫站 陈拱立 陈亢川 黄哲  
中国预防医学中心流行病学微生物学研究所 吴顺斌 高守一

河弧菌(*Vibrio fluvialis*)是近年来新发现的腹泻致病菌,最早于1975年从一名腹泻病人分离,英国公共卫生研究所称为F群弧菌(Group F *Vibrio*)<sup>[1]</sup>。美国疾病控制中心称类似的弧菌为EF<sub>6</sub>群(Group EF<sub>6</sub>)<sup>[2]</sup>。Lee等(1981)作过比较研究,认为F群和EF<sub>6</sub>群二者系同种异名,其分类位置应属弧菌,其性状介于弧菌与气单胞菌之间,将种名定为河弧菌,并分为2个生物型<sup>[4]</sup>。此菌不仅从腹泻病人检出,而且从港湾水和海产品中分离。至今已有亚、非、欧、美等18个港湾国家从腹泻病人分离出本菌<sup>[5~7]</sup>。1982年日本开

始将本菌列为食物中毒新病原菌<sup>[8]</sup>。我国海岸线漫长,港湾密布,可能有此菌存在。作者等对过去我国各地检出的不凝集弧菌即非O-1群霍乱弧菌进行复查鉴定。结果发现1962~79年,自上海、广东、江苏、新疆和福建等地的某些腹泻病人中分离的菌株有22株属河弧菌,现将这些菌株的性状报告如下。

## 材料和方法

一、菌株: 试验菌株与参考菌株来源见表1。

表1 试验菌株与参考菌株来源

菌 株	菌 号	来 源	株 数
试验菌株	62302	1962年上海腹泻病人	1
	63112	1963年广东汕头腹泻病人	1
	63235		
	63243	1963年江苏无锡腹泻病人	2
	739	1973年新疆南疆腹泻病人	1
	N(1, 5, 8, 9, 10, 29, 36, 40, 47, 55, 56, 59, 82, 88, 97, 98, 104)	1979年福建龙海腹泻病人	17
河弧菌参考菌株	145~150(巴西)	美国马里兰大学微生物系(1983)	6
埃尔托型	35	腹泻病人(小川型)	2
霍乱弧菌	729	腹泻病人(稻叶型)	2
嗜水气单胞菌	83-166, 170, 171, 178	1983年福建水	4
福氏志贺氏菌		1983年福建腹泻病人	1
大肠艾希氏菌	44814		
	44815	卫生部药品生物制品检定所	2

## 二、培养基和生化学试验:

1. 培养基: TCBS琼脂系Oxoid制品; 庆大霉素琼脂系中国预防医学中心流研所生产; 4号琼脂系浙江省卫生防疫站产品; SS琼脂系

上海医学化验所制品; 其他培养基均为实验室自制。

2. 糖发酵试验和其他生化试验: 按常规方法进行。



3. 赖氨酸、鸟氨酸脱羧酶试验：按Falkow氏法，精氨酸双水解酶测定参照Thorneley氏法进行，观察4天。

4. 耐盐性试验：用含0、3、6、8、10%氯化钠的1%蛋白胨水。取3%氯化钠胨水3小时培养物一铂环分别接种于各管，37℃培养，观察3天。

5. 粘丝试验：在玻片上，放0.5%去氧胆酸钠水溶液一滴，取菌少许磨碎研匀，观察菌液变清、变粘、挑取时可拉出细丝，阴性者呈均匀悬液。

三、药敏试验：弧菌抑制剂0/129(2,4-二氨基-6,7-二异丙基喋啶磷酸盐，BDH出品)敏感试验，用10微克和150微克纸片测定。其他药物敏感试验使用上海医学化验所出售的药物纸片。

四、致病性检查：产毒培养基用含0.6%酵母浸膏的水解酪蛋白肉汤(pH7.6)；家兔肠结扎段试验测定不耐热肠毒素(LT)；乳鼠胃内注射法测定耐热肠毒素(ST)；侵袭性测定采用豚鼠眼角膜试验(Sereny试验)。

五、血清学试验：以145号参考菌株和试验菌株N<sub>8</sub>和N<sub>47</sub>制成菌悬液，经100℃2.5小时加热处理，分别制成免疫原免疫家兔，制备抗血清，凝集效价达1:1280~1:2560。

### 结 果

一、形态与染色：均为革兰氏阴性无芽孢短杆菌，具有多形态性，菌体略弯曲或直杆状，两端钝圆或稍平，有单根端鞭毛。悬滴标本可见运动活泼，似穿梭状，在半固体琼脂中能沿穿刺线向周围扩散生长。

二、生长情况：在pH7.6蛋白胨水和肉汤培养基中均等混浊生长，无明显菌膜，有少许沉淀。在普通琼脂、pH8.4碱性琼脂上生长良好；在TCBS琼脂、不含多粘菌素B的庆大霉素琼脂和四号琼脂上除1株外均能生长；如培养基中含有10单位/毫升多粘菌素B则不生长；在SS琼脂上生长不良或不生长。

三、生化学性状：全部试验菌株氧化酶、过氧化氢酶和粘丝试验阳性。葡萄糖代谢为发酵型、除1株分解葡萄糖产气外，余均不产气。按海伯格氏弧菌分群21株属Ⅲ群，分解蔗糖、甘露糖和阿拉伯糖。另有一株不分解甘露糖，只分解蔗糖和阿拉伯糖。

对乳糖、木胶糖、鼠李糖、棉子糖、山梨醇、菊糖、蜜二糖、肌醇、卫茅醇、侧金盏花醇和水杨素均不分解；对七叶苷多数不分解；能发酵麦芽糖，蕈糖和半乳糖，水解淀粉和糊精；对甘油多能缓慢分解；VP试验阴性，MR反应弱阳性；不产生靛基质；明胶液化阳性；尿素酶阴性；不产生硫化氢(双糖铁)，能还原硝酸盐为亚硝酸盐。赖氨酸和鸟氨酸脱羧酶阴性，精氨酸双水解酶阳性。在含3~6%盐的胨水中生长良好，在无盐和10%盐胨水中不生长，77.2%菌株在8%盐胨水中仍能生长。

对0/129的敏感性：16株对10微克表现抵抗，6株表现敏感；22株对150微克均敏感。2株埃尔托弧菌对10微克和150微克均敏感。气单胞菌均不敏感。

22株试验菌株与气单胞菌、霍乱弧菌和河弧菌参考菌株主要生化性状比较见表2。

综上所述结果：上述22株试验菌株形态为革兰氏阴性弧形或杆状、具有极端单鞭毛、氧化酶阳性、糖代谢为发酵型、糖发酵大多属海伯格氏Ⅲ群、能在3%、6%及8%盐胨水中生长、但不能在无盐和10%盐胨水中生长、以及对0/129敏感性等方面与河弧菌参考菌株相符合。据此可以确定上述试验菌株为河弧菌。其中1株分解葡萄糖产气，属生物Ⅱ型，其余为不产气的生物Ⅰ型。

四、药物敏感试验：22株试验菌株对常用抗菌药物敏感性测定，结果对庆大霉素、氯霉素、卡那霉素、四环素、新霉素、妥布霉素、痢特灵等12种药物均敏感，以高敏居多。对青霉素和万古霉素具有耐性，对磺胺类、羧苄青霉素和氨苄青霉素分别有11株、3株和19株不敏感(表3)。



表 2 河弧菌和其他弧菌科细菌生化性状比较

生化性状	试验菌株 (22株)	参考菌株 (5株)	气单胞菌 (4株)	埃尔托 弧菌 (2株)
氧化酶	22	5	4	2
粘丝试验	22	5	0	2
葡萄糖产酸	22	5	4	2
葡萄糖产气	1	0	1	0
蔗糖	22	5	4	2
甘露糖	21	5	4	2
L-阿拉伯糖	22	5	4	0
乳糖	0	0	1	0
肌醇	0	0	0	0
七叶苷	5	0	3	0
靛基质	0	0	3	0
VP反应	0	0	1	2
明胶液化	22	5	4	2
赖氨酸脱羧酶	0	0	0	2
鸟氨酸脱羧酶	0	0	0	2
精氨酸双水解酶	22	5	4	0
0/129敏感性 10微克	6	0	0	2
150微克	22	5	0	2
不同盐量胨水生长				
0 %	0	0	4	2
3 %	22	5	4	2
6 %	22	5	0	0
8 %	17	5	0	0
10%	0	0	0	0

注：1.表中数字表示试验阳性、敏感或生长的菌株数；

2.参考菌株即146~150巴西株

五、毒力试验：22株试验菌在兔肠段结扎试验中1株阳性，其肠段积液与长度比值大于1.0，另外约有半数菌株达到0.6或大于0.6。乳鼠胃内注射试验2株阳性，肠重与剩余体重比值大于0.09。豚鼠眼角膜试验均阴性(表4)。

六、血清学：用参考菌株145和试验菌株N<sub>3</sub>和N<sub>47</sub>制备的抗“O”血清，与17株试验菌作试管凝集。结果除与相应的免疫菌凝集达1:1280~2560外，仅有1株能与N<sub>3</sub>血清凝集达全效价，其它菌株凝集效价在1:10~1:40或不凝集。

### 讨 论

#### 一、关于河弧菌的生物学特性及其鉴定：

表 3 河弧菌对药物的敏感性

药 物	菌株数	敏感性 *			
		高	中	低	抗
氯霉素	22	21	1		
庆大霉素	22	21	1		
卡那霉素	22	21	1		
四环素	22	19	3		
土霉素	17	5	11	1	
红霉素	22	17	5		
新霉素	22	21	1		
妥布霉素	22	21	1		
羧苄青霉素	17	14			3
青霉素	22				22
磺胺类	22	7	4		11
磺胺+TMP	22	22			
痢特灵	22	18	4		
呋喃妥因	22	12	10		
万古霉素	17				17
氨基青霉素	22			3	19
链霉素	22	22			

注：\*抑菌环直径>15mm为高敏、10~15mm为中敏、7~9mm为低敏。

据Lee等(1981)[4]研究，河弧菌在分类学上介于弧菌属和气单胞菌之间，河弧菌DNA的G+C含量是49.3~50.6mol%，低于气单胞菌(57~63mol%)，在弧菌属(40~50mol%)中居最高。对弧菌抑制剂的敏感性测定在鉴别弧菌与其它革兰氏阴性杆菌方面甚为有用，弧菌对10微克纸片敏感而气单胞菌对150微克抵抗。河弧菌介于其间，对10微克抵抗，对150微克敏感，但本试验有6株对10微克也敏感。河弧菌的赖氨酸、鸟氨酸脱羧酶阴性，而精氨酸双水解酶阳性，与气单胞菌的反应相同，与0-1群及非0-1群霍乱弧菌完全不同。河弧菌对氯化钠耐受性明显高于气单胞菌和霍乱弧菌。除5株外均能在8%盐胨水中生长。在无盐和10%盐胨水中均不生长。VP反应阴性，靛基质阴性，这与多数报告结果一致[1,2,6,9]。虽然有一些例外菌株的报道[3,4,6,10]，但作为鉴定标准的氧化酶试验、三糖发酵、氨基酸分解试验、盐耐受试验和0/129敏感性测定的综合判断可以做出鉴别。



表 4 毒力试验结果

菌号	兔肠段 结扎	乳鼠 试验	豚鼠角膜 试 验
62302	0.60	0.067	—
63112	0.60	0.072	—
63235	0.03	0.068	—
63243	0.03	0.068	—
739	0.03	0.064	—
N <sub>1</sub>	0.50	0.071	—
N <sub>6</sub>	0.39	0.072	—
N <sub>8</sub>	0.65	0.090	—
N <sub>9</sub>	0.60	0.077	—
N <sub>10</sub>	0.70	0.065	—
N <sub>20</sub>	0.80	0.066	—
N <sub>30</sub>	0.25	0.081	—
N <sub>40</sub>	1.20	0.071	—
N <sub>47</sub>	0.69	0.066	—
N <sub>55</sub>	0.43	0.070	—
N <sub>58</sub>	0.50	0.064	—
N <sub>59</sub>	0.50	0.078	—
N <sub>82</sub>	0.61	0.079	—
N <sub>85</sub>	0.60	0.093	—
N <sub>97</sub>	0.31	0.081	—
N <sub>98</sub>	0.90	0.077	—
N <sub>104</sub>	0.50	0.077	—
145巴西	0.67	0.080	—
44814	1.55~1.94		
44815		0.138	
福氏志贺氏菌			卅
培养基对照	0.3~0.38	0.060	

二、关于河弧菌毒力问题：各地报告结果不甚一致，但多数试验结果认为有毒力<sup>[3,11,12]</sup>。我们此次22株试验菌，兔肠段结扎积液超过1.0者1株，达0.9、0.8各1株。乳鼠试验阳性2株。Sereny试验均阴性。由于我们的菌株在实验室保存多年，有的出现一定程度的粗糙，对毒力可能有影响。

三、关于药物的敏感性：Huq(1980)<sup>[3]</sup>测定208株菌对常用抗菌药物即四环素、氨苄青霉素、氯霉素、庆大霉素、卡那霉素、链霉素及TMP-磺胺甲基异恶唑的敏感情况，结果均敏感。Thekdi等(1980)<sup>[10]</sup>采用纸片法，检查10株菌对四环素、氨苄青霉素、氯霉素与呋喃唑酮的敏感性，结果亦敏感。本次检查22株菌，经过17种常用抗菌药物试验，结果与国外

报告的资料一致。

四、关于河弧菌血清学研究：迄今为止报告不多。最近Kudoh等报告116株河弧菌之中半数可分成12个“O”血清型<sup>[6]</sup>。Shimada等(1983)<sup>[13]</sup>报告，从138株中确定了18个“O”血清群，全部菌株具有共同的H抗原。在一些菌株中存在抑制“O”凝集的粘液型抗原，说明河弧菌存在复杂的抗原结构和血清群别。此次试验仅有1株对N<sub>8</sub>血清凝集达全效价，其余只有低价凝集或不凝集，也表明河弧菌存在多种血清群。

摘 要

本文报告1962~79年从上海、广东、江苏、新疆和福建等地腹泻病例检出的弧菌保存株中查出22株河弧菌。说明六十年代初以来我国某些沿海省市和内地已有本菌存在。其形态、生长情况及生物学特性与国外报道相符合。有少数菌株产生LT或ST肠毒素，侵袭力试验阴性。药物敏感性方面，对青霉素、万古霉素全部耐受，对磺胺类、羧苄青霉素和氨苄青霉素部分耐受。对氯霉素、庆大霉素、卡那霉素、四环素、土霉素、红霉素、新霉素、妥布霉素、链霉素、呋喃妥因、痢特灵和TMP+磺胺(Cotrimoxazole)等均敏感。与3株菌的抗血清作凝集试验，仅有1株与N<sub>8</sub>血清凝集达全效价，其余均呈低价交叉或不凝集。可能存在多种血清群。

ABSTRACT

Twenty-two strains of *V. fluvialis* were recognized in the vibrio stock cultures which had been isolated from patients with diarrhoea in Shanghai, Guangdong, Jiangsu, Xinjiang and Fujian during 1962~1979. It revealed that the discovery of *V. fluvialis* in certain coastal provinces in China could be traced back to early sixties.

The bacteria appeared as Gram-negative, motile and curved rods. They were oxidase-positive and acid-producing from glucose, sucrose and arabinose, but not from lactose and inositol. They differed from *V. cholerae* in negative reaction in lysine and ornithine decarboxylase test and in positive reaction in arginine dihydrolase test. They grew well in pepton water containing 3%, 6% and 8% NaCl, but did not in pepton water without salt. They were all sensitive to chloramphenicol, gentamycin, kanamycin, tetracycline, streptomycin, neomycin, furazolidone, tobramycin and cotrimoxazole.



参 考 文 献

1. Furniss AL et al: Lancet II : 565, 1977  
 2. Brenner DR et al: Abstracts of the Annual meeting of the American Society for Microbiology, 35, 1979  
 3. Huq MI et al: J Clin Microbiol, 11 : 621, 1984  
 4. Lee J V et al: J Appl Bacteriol, 50 : 73, 1981  
 5. WHO Scientific Working Group: Bull WHO, 58 : 353, 1980  
 6. Kudoh Y et al: In Kuwahara, S. Pierce NF (eds) : Advances in Research On Cholera and related Di-

arrheas, P 75, KTK Scientific Publishers, Tokyo, 1983  
 7. Tacket C O et al: J Clin Microbiol, 16 : 991, 1982  
 8. 坂崎利一: 食品卫生研究, 32:41, 1982  
 9. Jensen MJ et al: Curr Microbiol, 3 : 373, 1980  
 10. Thekdi R et al: Indian J Med Res, 76 : 80, 1982  
 11. Seidler R J et al: Appl Environ Microbiol, 40 : 715, 1980  
 12. SanYal S C et al: Japan J Med Sci Biol, 33 : 217, 1980  
 13. Shimada T et al: Japan J Med Sci Biol, 36 : 315, 1983

### 从绵羊和马血清中发现军团菌抗体

中国预防医学中心流行病学微生物学研究所

万超群 田登安 陈建平

新疆博尔塔拉蒙古州卫生防疫站 王连城

湖南省郴州地区卫生防疫站 李作鸟

1984年12月, 我们检测了来自新疆博尔塔拉蒙古州的部分绵羊和马血清, 发现羊、马群中具有不同程度的嗜肺军团菌抗体水平, 结果如下:

**1. 材料和方法:** 绵羊血清120份, 马血清18份。抗原系用CDC提供的嗜肺军团菌株制备的。阳性血清系用上述菌株免疫家兔而获得。实验方法为间接血凝法, 同时检测嗜肺军团菌I型(LP<sub>0</sub>)和VI型(LP<sub>1</sub>)抗体。

**2. 结果:** 血清抗体平均滴度: LP<sub>0</sub>抗体平均滴度: 绵羊为1:16.47; 马为1:20.16, 两者无显著差别(P>0.05)。LP<sub>1</sub>抗体平均滴度: 绵羊为1:10.93; 马为1:10.89, 两者差别亦无显著性

(P>0.05)。此外, 羊和马两种动物的LP<sub>0</sub>抗体均显著高于LP<sub>1</sub>抗体水平(P<0.01)。血清抗体阳性(≥1:32)率: 120份羊血清中28份(23.33%) LP<sub>0</sub>抗体滴度≥1:32, 其中3份(2.5%)为1:128。马LP<sub>0</sub>抗体阳性率为38.89%。7/120(5.83%)份羊血清LP<sub>1</sub>抗体滴度≥1:32, 且有3份(2.5%)高达1:256。LP<sub>1</sub>抗体阳性率马为5.56%。羊、马LP<sub>0</sub>和LP<sub>1</sub>抗体阳性率差异非常显著(P<0.01)。

上述检查结果表明, 羊、马可能是军团菌的易感动物, 尤其是LP<sub>0</sub>。因此, 受感染的羊、马群对周围人群的潜在性威胁不可忽视。

### 石家庄地区流行性出血热传染源初步调查

石家庄地区防疫站 韩秀兰 胡淑英 张长青

我区自1984年1月首次发现流行性出血热(EHF)以来, 发病疫区不断扩大。为逐步查清我区 EHF 传染源鼠种类及其携带本病病毒抗原情况, 于1985年2~3月, 在疫区正定县东白庄、藁城县小奉化、赵县常信营、赵县南庄和非疫区灵寿县北纪城、藁城县五界村共捕家鼠645只, 其中褐家鼠为优势种, 占总数的77.05%, 再有小家鼠、黑家鼠、大仓鼠共四种。野外捕鼠13只均为黑线姬鼠。

取鼠肺做冷冻切片进行免疫荧光(直接法)检查。

所用EHF单克隆荧光抗体系北京病毒所产品, 批号: 25-1。生产日期84年11月15日。我病毒室以1:12稀释为最适浓度。检查结果: 褐家鼠平均EHF带毒率为4.62%。各县分别为4.62%、9.52%、3.81%、8.33%、0%、1.65%。小家鼠总阳检率为1.04%(1/96)。其余均为阴性。褐家鼠雌雄性带毒率分别为2.17%和7.69%。两者比较有非常显著性差异。(χ<sup>2</sup>>6.63, P<0.01)