

# 嗜水气单胞菌自腹泻患者分离鉴定 及其病原性意义的探讨

徐州市卫生防疫站 权太淑 李薇 杨喜玲

嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*; 以下简称本菌), 是淡水鱼、青蛙、蛇等冷血动物的病原菌。近年来本菌所致疾病的研究进展迅速, 并屡有从人的败血症、化脓灶、腹泻患者的粪便中分离出来的报道, 因而本菌作为机会感染的病原菌已引起重视。我站于1982~84年采集我市成年急性腹泻患者的粪便1,415份, 进行多种肠道致病菌的分离培养, 其中分离出本菌54株, 现报告如下:

## 材料与方法

一、菌株来源: 采自我市二轻、商业局两职工医院肠道门诊急性腹泻患者粪便, 经细菌培养、鉴定而得本菌菌株。

二、分离与鉴定: 将标本收集在Cary-Blair运送培养基内, 然后直接分离培养在麦康凯及SS琼脂平板上, 经37℃18~24小时培养后, 取可疑菌落接种在克氏含铁双糖琼脂斜面, 普通琼脂斜面和赖氨酸, 靛基质、动力(LIM)半固体琼脂, 经37℃18~24小时培养后, 观察双糖铁及LIM琼脂反应的性状, 自琼脂斜面取菌作细胞色素氧化酶、氧化酶、过氧化氢酶、O-F试验。

三、生化反应: 凡氧化酶试验阳性, 在克氏含铁双糖琼脂上分解葡萄糖产酸(或产气), 不分解乳糖(少数例外), 不产硫化氢, 并且在LIM琼脂上呈赖氨酸阴性, 靛基质阳性(或阴性)并具有动力者, 再做系统生化反应。

1. 试验项目: 包括呼吸酶类试验、糖类发酵试验、蛋白质及氨基酸代谢试验、毒性酶类试验、枸橼酸盐及唯一碳源生长试验、嗜盐性

试验等。

2. 试验方法: 试验在37℃环境中进行。生化用培养基、试剂、试验方法见文献[1,2]。

## 四、动物试验:

1. 小白鼠腹腔接种: 用12~15克小白鼠腹腔接种18~24小时肉汤培养物0.3毫升, 每个菌株接种小白鼠3只, 观察动物发病情况, 将死亡小白鼠解剖, 并取心血、腹水、肠内容物作分离培养。

2. 家兔肠攀结扎试验: 按照WHO肠道感染协作中心[3]方法进行, 术后18小时测定肠攀内液体滞留量, 并量出肠段长度, 以两者的比值 $\geq 1.0$ 为阳性。

五、药敏试验: 采用纸片弥散法, 共做14种药物。药物纸片由上海市医学化验所供给。试验方法与结果判定, 按常规法进行。

## 实验结果

一、形态: 分离出的本菌54株, 为具有圆端的革兰氏阴性无芽胞的短杆菌, 菌体有时呈球状, 丝状, 暗视野下观察, 动力穿梭。部分菌株经鞭毛染色法检查, 均为端生单毛菌。

二、培养特性: 该菌于30~37℃环境下, 在无氯化钠及含3%氯化钠的胨水中生长良好, 但在含6%的氯化钠胨水中不生长。在肉汤培养基中也发育良好, 呈均匀混浊, 表面形成菌膜。在麦康凯琼脂平板上, 一般不分解乳糖, 大多能使培养基产硷呈黄色, 只有少数菌株分解乳糖, 形成类似大肠菌菌落。菌落圆形, 稍隆起, 较混浊, 直径可达1.5~2.0毫米, 在SS琼脂平板上, 大部分菌株能够生长,

菌落为半透明略扁平，中心混，不分解乳糖，不产硫化氢。在羊血琼脂平板上，菌落呈灰褐色、湿润、有光泽，直径2~3毫米，大多能形成透明的，较宽的β-溶血圈。但在TCBS琼脂平板上，则因菌株而异；有的不生长，菌落大

小不定，多呈黄色较干燥的菌落。

三、生化试验结果：通过氧化-发酵试验证明，该菌具有呼吸和发酵两种代谢能力。氧化酶、细胞色素氧化酶、过氧化氢酶均为阳性(附表)。

附表 54株嗜水气单胞菌生化反应结果

试验名称	结果		试验名称	结果		试验名称	结果	
	+	-		+	-		+	-
靛基质	48	6	4%NaCl发育	38	16	鼠李糖	6	48
MR	45	9	葡萄糖产气	51	3	七叶甙水解	35	19
V-P	31	23	乳糖	6	48	吐温-80水解	43	11
西蒙氏枸橼酸盐	25	29	甘露糖	50	4	淀粉水解	45	9
氰化钾培养基生长	41	13	阿拉伯胶糖	29	25	L-谷氨酸	49	5
试管溶血	50	4	水杨素	26	28	L-丝氨酸	51	3
苯丙氨酸脱氨酶	16	38	菌藻糖	51	3	L-丙氨酸	47	7

注：氧化酶、动力、明胶、硝酸盐、精氨酸双水解酶、0%NaCl、3%NaCl、葡萄糖产酸、蔗糖、甘露醇、果糖、半乳糖、麦芽糖、ONPG、卵磷脂酶、DNA酶、L-精氨酸、L-组氨酸、L-天门冬酰胺均阳性；而尿素酶、H<sub>2</sub>S(双糖铁)、赖氨酸脱羧酶、鸟氨酸脱羧酶、6%NaCl、肌醇、棉子糖、卫茅醇、菊糖、木糖、山梨醇、O/129的敏感性10ug、150ug均阴性

四、动物试验结果：

1.小白鼠腹腔接种法，共做22株，有18株显示对小白鼠有很强的致病力。大多于6~8小时发病，并于12~24小时内死亡，死前竖毛，食欲不振，腹胀紧贴罐底，继之震颤，躯体强直而死亡。解剖后发现内脏器官充血，腹水较多，肠壁及肠系膜大量充血，腹腔内有气体。少数菌株在小白鼠的注射部位呈现暗红色，局部肌肉出现坏死。取心血、腹水、及肠内容物培养，均分离出气单胞菌。另外4株菌的毒力较弱，小白鼠于发病后，运动迟缓，食欲不振，在30小时后缓解。而肉汤对照观察2~3天，小白鼠健康如常。

2.家兔肠攀结扎试验：测定的26个菌株中，有19株菌的培养物滤液，在家兔肠攀内形成的积液超过1.0毫升/厘米，呈阳性反应，有几株菌的积液量高达1.5毫升/厘米，并且在注射的肠段内形成明显的炎症和棕黄色液体，阴性菌株的积液量在0.6~0.9毫升/厘米范围内。而作为阴性对照的非O1群霍乱弧菌与阳性对照的产毒大肠杆菌的积液量分别为0.8与1.2毫升

/厘米。

五、药敏试验结果：54株菌对庆大霉素、卡那霉素、丁胺卡那霉素、妥布霉素、新霉素、氯霉素、磺胺+TMP，均呈高度敏感，对四环素、多粘菌素B、链霉素、红霉素的敏感性稍次些；而对青霉素、氨苄青霉素、先锋霉素不敏感。

讨 论

一、我们于1982~84年对1,415例成年急性腹泻患者的粪便进行了多种肠道致病菌的分离培养，其中检出本菌54株，检出率为3.81%，高于非O-1群霍乱弧菌(3.36%)、致病性大肠杆菌(3.63%)、绿脓杆菌(3.36%)、类志贺毗邻单胞菌(3.23%)、副溶血性弧菌(1.61%)、小肠结肠炎耶尔森氏菌(1.48%)的检出率。低于痢疾杆菌(22.15%)、腐败假单胞菌(6.93%)、空肠弯曲菌(6.36%)、溶藻性弧菌(5.79%)、河弧菌(5.47%)、侵袭性大肠菌(4.65%)、沙门氏菌(4.44%)的检出频率。实验证明，感染性腹泻病原菌的种类较多，而嗜水气单胞菌所致

的腹泻，在病原学上占一定比例，值得重视。

在检出本菌的临床病人中，除极少数患者有混合感染外，大多分离自未检出其他病原菌的散发病例，感染者的症状主要为急性胃肠炎型，其次为痢疾综合型，感染发病的季节一年中除1月和12月外，每月均有发病，但病例多集中在夏秋季。流行病学调查发现，只有极少数患者有与淡水及鱼类的密切接触史，推测绝大部分患者可能与进食污染了本菌的不洁食物有关。本菌所致腹泻的临床表现不易鉴别，唯有通过病原学检查、鉴定、才是区别本菌与其他病原体引起腹泻病的可靠方法。

二、国外报道，分离气单胞菌的培养基，多采用DHL和TCBS琼脂<sup>[4]</sup>，我们采用麦康凯琼脂平板进行分离，结果较为满意。在SS琼脂和TCBS琼脂平板上，因菌株而异，均有不能生长者，因此使用这两种培养基分离，很容易造成漏检。我们分离鉴定本菌54株，其培养特性、生化试验结果与文献<sup>[2,5]</sup>所列嗜水气单胞菌嗜水亚种的生化性状基本相同。

三、对本菌致病机理研究的报告尚少，我们用动物模型所做的初步研究表明，虽然与产生的LT肠毒素有关，但还有一部分菌株未检出肠毒素，表明本菌引起腹泻可能还涉及其他致病因素，或许还有上述方法尚不能测出的毒素。据文献报道，嗜水气单胞菌对豚鼠、小白鼠、家兔接种后，可稳定的表现出致病作用，对Hela细胞，小白鼠肾上腺细胞也呈现细胞毒性反应，其所以毒力强与本菌产生的组织毒性、溶血毒性、致死毒性等有直接关系。我们测定了部分菌株的毒力，有81.81%的菌株能迅速致死小白鼠，并有少数菌株在小白鼠的注射部位呈现局部组织坏死。有73.07%的菌株能产生LT肠毒素，还有92.59%的菌株能产生试管溶血的能力。因此，推测嗜水气单胞菌的

致病性与其产生的上述毒性因素有直接关系。

### 摘 要

1982~84年，徐州市卫生防疫站在市内两所职工医院建立腹泻监测点，对肠道门诊1,415例腹泻患者的检材，进行多种肠道致病菌的分离培养及流行病学调查，从中检出嗜水气单胞菌54株，检出率为3.81%。并对本菌的形态、生化反应、肠毒素测定、药敏试验作了实验研究。有81.81%的菌株能使小白鼠迅速发病致死，有73.07%的菌株能产生LT肠毒素。作者认为本菌所致腹泻，在临床上不易与别种腹泻相鉴别，因此，在腹泻病原学检验时，应对本菌进行特异性检验。

### ABSTRACT

From 1982 to 1984, we established a diarrhea surveillance spot in two hospitals in Xuzhou to perform bacteriological examination of stools as well as epidemiological studies of 1415 cases. Totally, 54 isolates from above patients were obtained, the rate of recovery is 3.81%. The morphology, biochemical characteristics, enterotoxin production, drug sensitivity of these strains were studied when they were given to mice, 81.81% of them could rapidly cause mice ill, followed by death. 73.07% could produce LT enterotoxin. Clinically the diarrhea caused by *Aeromonas hydrophila* could hardly be differentiate from the diarrhea caused by other microorganisms. Hence, the authors suggest that in the examination of specimens from diarrhea patients, the specific examination for *Aeromonas hydrophila* must be performed.

### 参 考 文 献

1. 何晓青主编：卫生防疫检验（细菌检验），第二版，第272页，1980
2. 中国科学院微生物研究所细菌分类组：一般细菌常用鉴定方法，第68页，科学出版社，1978
3. 世界卫生组织肠道感染协作中心：国家腹泻病实验诊断学习班讲义，第34页，1982
4. 坂崎利一：食品卫生研究，32（6）：47，1982
5. 坂崎利一：临床检查，27（6）：39，1983