



综述

引起急性腹泻的新弧菌

中国人民解放军59170部队 程知义

1980年以前，被公认的弧菌属成员共有20个[1]，其中与人疾病有关的尚不及半。直至1975年底，对人致病的弧菌只有霍乱弧菌、副溶血弧菌和溶藻弧菌[2]。1976年，Hollis等[3]证明创伤弧菌(*Vibrio vulnificus*)是创伤感染和败血症的病因。原认为不致病的梅氏弧菌最近发现可引起腹膜炎和菌血症[4]。1980年，河弧菌(*K. fluvialis*)得到承认可能是引起急性腹泻的致病菌[5]。以后又相继报道了三个与人疾病有关的新弧菌，即海鱼弧菌(*V. damsela*)[6]、拟态弧菌(*V. mimicus*)[7]和霍利斯弧菌(*V. hollisae*)[8]。前者可引起人的创伤感染，而后面两种则与人的急性腹泻有关。

早在1935年，Heiberg曾根据甘露糖、蔗糖和阿拉伯糖的不同发酵作用，将弧菌属的细菌分成6个发酵群，1965年又增加至8个(表1)。实践证明，几乎所有古典型(稻叶、小川和璧岛)和埃尔托生物型均属于第一群，只有少数菌株分属于Ⅱ、Ⅴ和Ⅶ群。副溶血弧菌则只见于Ⅲ和Ⅴ群。虽然，Heiberg发酵分群法没有作为弧菌属细菌诊治的依据，但它对进行大量不凝集性(NAG)弧菌和非霍乱弧菌(NCV)的初步鉴定，却具有一定的参考意义。本文拟介绍的三个新弧菌：河弧菌、拟态弧菌和霍利斯弧菌，即分别属于Ⅲ、Ⅴ和Ⅶ群。

表 1 Heiberg氏弧菌属发酵群及其发生率

发酵群	发酵反应			菌株%
	蔗	甘	阿	
I	+	+	-	25
II	+	-	-	66
III	+	+	+	0
IV	+	-	+	0
V	-	+	-	6
VI	-	-	-	0
VII	-	+	+	3
VIII	-	-	+	0

本表根据2624株NCV检查结果计算发生%

河弧菌

此菌最早系1975年8月Furniss等[10]自一名来自巴林的腹泻病人大便中分离。后来，Huq等[5]报告，他们于1976年9月至1977年6月间，在孟加拉国从居住于达卡和距达卡40英里外的农村居民中，50余名腹泻病人的10,674份粪便中分离出一组属于HeibergⅢ群的弧菌。这种弧菌还曾分别在美国各地和英国沿海湾的水域和贝壳类动物体内分离到，并分别由美国疾病控制中心(CDC)和英国梅德斯通公共卫生实验室取名为EF-6菌群和F菌群。鉴于此菌广泛分布于世界各地，特别是河流、港湾等水域中，故Lee等[11]在研究其分类学位置后，给此菌取名为河弧菌(代表菌株：NCTC 11327)。

一、形态学：本菌为革兰氏阴性短杆菌，轴平直或弯曲，端圆，两侧一般呈平行状，单个、成双、有时出现3~4个菌衔接成短链状排列，有时可出现多形态。此菌有动力，在液体培养基中，电镜下可见此菌具有单根顶端带鞘鞭毛[12]，在固体培养基上生长时，用Leifson氏染色法可见部分菌体上有较短的无鞘周毛[11,13]。

二、培养特性：本菌系兼性厌氧菌，在心浸液琼脂平板上，30°C培养18小时后，生长呈半透明、光滑、圆整、隆起，菌落直径2~3毫米，有时出现粘液状菌落。在TCBS琼脂平板培养基上，呈直径2~3毫米黄色菌落；在CLED和麦康基琼脂平板上生长为不发酵菌落[10]。此菌最适生长温度为37°C，5和43°C培养均不生长。本菌乃一嗜盐菌-需要在含NaCl的培养基中生长。在无盐的条件下不生长或生长极差，最适生长浓度为1~3%(W/V)，3~7% NaCl的胨水中生长良好，9% NaCl的胨水中不生长。

三、生化反应：本菌可分解葡萄糖、麦芽糖、甘露醇、甘露糖、蔗糖、阿拉伯糖、海藻糖、果糖、半乳糖、水杨苷产酸不产气。乳糖、棉子糖、鼠李糖、肌醇、山梨醇、蜜二糖、松三糖均不发酵。氧化酶，硝酸盐、明胶液化、MR和溶血试验均为阳性反应，靛基质、

尿素酶、H₂S和VP试验则呈阴性结果。本菌对杀弧菌剂0/129(150微克纸片)敏感[11]。

此菌根据靛基质、赖氨酸和鸟氨酸脱羧酶阴性和精氨酸二聚水酶阳性反应而与霍乱弧菌相区别[5];借助于在6%NaCl胨水中生长的能力与气单胞菌属细菌进行鉴别。

四、分类学: 河弧菌在分类学上与贝内克氏菌属和弧菌属关系密切, 而与发光杆菌属和气单胞菌属细菌则较疏远。河弧菌现有两个亚型1a和1b(或生物变种I和II)。它们均可从世界各地的河水、海湾、海生软体生物和贝壳类生物体内分离。亚型1a还曾从巴林、孟加拉国、埃及、印度、印度尼西亚、伊拉克、伊朗、约旦、肯尼亚、菲律宾、沙特阿拉伯、西班牙、坦桑尼亚和突尼斯等国家的腹泻病人大便中分离出来。亚型1b虽曾报道自牛、猪和家兔粪便中分离, 但尚未见有自人便中分离的报道。关于亚型1a菌株的肠致病性问题, CDC的Huq小组曾采用Y-1肾上腺细胞、幼鼠和Sereny(眼角结膜)试验检查了9株孟加拉国国际腹泻病研究中心(ICDDR)分离的菌株, 均得阴性结果。其他研究者则曾报告, 用该菌腹腔注射小鼠, 可使动物致死; 产生的不耐热毒素可引起家兔回肠积液[5,15]。因此, 这一问题尚有待进一步研究予以澄清。

亚种1a和1b的菌株在生化特性上互有不同, 从而可供两者鉴别之用(表2)。

表2 1a和1b亚型河弧菌生化特性的鉴别

生化特性	1a 亚型	1b 亚型
葡萄糖产气	—	+(89)
七叶苷水解作用	V(72)	—
含纤维二糖培养基中生长	V(63)	-(4)
葡萄醛酸盐	+(94)	-(7)
瓜氨酸	+(97)	-(4)
腐胺	V(31)	+
δ-NH ₄ 戊酸盐	—	V(63)

注: 括弧内数字表示具有该特性的菌株%

河弧菌DNA G+C含量为49.3~52.2克分子%, 平均为51.0%[5,10,11,13,14]。

五、抗菌素敏感性: 河弧菌对四环素(30微克, 纸片)、氨苄青霉素(10微克)、氯霉素(30微克)、庆大霉素(10微克)、卡那霉素(30微克)、链霉素(10微克)、新霉素(30微克)、奈丁酸(30微克)、羧苄青霉素(100微克)和TMP-SMZ(1.25:23.75微克)敏感; 对头孢利定(30微克)、青霉素(10单

位)和新生霉素(5微克)耐药[5,11]。

六、临床: 本菌引起的腹泻病人大多是婴儿、儿童和青年。住院的病人中, 部分的有呕吐, 大多数的有中度脱水现象。除有一些病人有血便和粘液便、出现腹痛和发烧外, 多数病人的临床症状与霍乱病人极为相似[15]。感染病人住院期一般自18至80小时, 在这段时间内, 每个病人的排便量可达0.5至7.0升。病人初入院时, 白细胞总数升高, 每毫升大便内平均约含河弧菌10⁶个, 这与大肠杆菌引起的腹泻大便含菌量10⁵~10⁶/毫升大致相当。治疗病人以四环素或氨苄青霉素或两者结合使用为宜。失水过多的病人应采取静脉补液措施, 一般根据具体病情补液1.0至11.0升[5]。病人家属成员中, 此菌的分离率约在1%以下。

拟态弧菌^[7]

拟态弧菌是1981年美国疾病控制中心肠道菌小组的Davis等人, 在利用DNA相关度技术对一群自腹泻病人大便中分离的、生化不典型的霍乱弧菌菌株, 进行研究过程中发现的一个新种。该菌为蔗糖阴性、甘露糖阳性、阿拉伯糖阴性反应, 属Heiberg V群弧菌。鉴于该组细菌在DNA相关度试验证明与霍乱弧菌的关系比同其它受试的弧菌更为密切, 和在形态学上同霍乱弧菌的相似性, 故取名拟态弧菌(代表菌株: ATCC-33653)。

一、形态学和培养特性: 本菌在形态学和培养特性上基本上与霍乱弧菌相同, 均能在不含NaCl或含1%NaCl的营养肉汤中生长良好, 约有50%的菌株在6%NaCl的营养肉汤内也能生长。

二、生化特性: 本菌可根据蔗糖、V-P试验、脂酶(玉米油)和Jordan氏酒石酸盐阴性反应, 和对多粘菌素(50单位)的敏感性与霍乱弧菌加以鉴别。此菌为氧化酶、赖氨酸和鸟氨酸脱羧酶阳性, 苯丙氨酸脱氨酶和精氨酸二聚水酶阴性反应, 靛基质、明胶液化、硝酸盐还原、串珠试验和ONPG试验阳性; 发酵葡萄糖、麦芽糖, 甘露醇、甘露糖、半乳糖、海藻糖产酸不产气, 乳糖晚发酵; 阿拉伯糖、纤维二糖、卫矛醇、肌醇、棉子糖、鼠李糖、水杨苷、山梨醇、木糖均为阴性反应; 对杀弧菌剂0/129敏感。

三、菌体(O)抗原和肠毒素: Davis等报告, 采用Y-1肾上腺细胞测毒法或酶联免疫吸附试验, 进行不耐热毒素(LT)或用乳鼠试验作热稳定性肠毒素(ST)的检测, 结果发现有8株产毒菌株, 产生LT的有5株, 产生ST的3株。它们均限于Smith氏

O-血清群：106、113和23，未发现同一菌株同时产生两种毒素的。属O-23血清群的5株菌全部产毒。LT阳性株均系从腹泻病人大便中分离，2株ST阳性株，1株从病人大便中，另1株则系从创伤感染分离。根据这一结果，作者等确认此菌对人的致病性。

四、抗菌素敏感性：除磺胺嘧啶外，试验的23株拟态弧菌对四环素、庆大霉素、链霉素、氯霉素、氨苄青霉素、羧苄青霉素和头孢金素敏感，个别菌株对青霉素、粘菌素、奈丁酸和卡那霉素耐药。除大多数霍乱弧菌菌株对粘菌素耐药外，拟态弧菌和霍乱弧菌的抗菌谱型极为相似。

近年来，拟态弧菌自美洲的水域和水生贝壳类动物的分离率日益增长。此外，它还曾在孟加拉国、墨西哥、新西兰、关岛、加拿大和其他亚洲国家和地区分离到。虽然，现在还未见到有关此菌引起腹泻的详细流行病学调查材料，但从该菌分离物的来源来看，充分表明了此菌所引起的腹泻，是与食用水生贝壳类动物有着密切的关系。据报道，拟态弧菌和其它致病性弧菌一样，很可能也是引起耳疾的病原菌之一。

霍利斯弧菌^[8]

霍利斯弧菌系美国CDC肠道菌小组和特种菌小组(SBS)继拟态弧菌DNA相关度研究后，发现的另一个弧菌新种。试验菌株是来自美国七个州送至CDC作进一步检定研究的分离物，其中大多数是自

腹泻病人大便中分离。最初，此菌为SBS的D.G. Hollis取名为“EF-13菌群”，后来，人们为纪念她对该群细菌所作的贡献而改名霍利斯弧菌(代表菌株：ATCC-33564)^[8]。

一、形态学：本菌为一革兰氏阴性小杆菌，部分细胞稍呈弯曲状，约0.5微米宽、1.5-2.0微米长。此菌有单根顶端鞭毛；固体培养基上生长物未见有侧身或周身鞭毛，36°C培养7天始出现缓慢的运动。

二、培养特性：此菌在血琼脂和海盐琼脂培养基上生长良好。24小时培养的血琼脂平板上，此菌长成直径1~2毫米大小的菌落，单个菌落四周可出现微弱的溶血环。海盐琼脂平板上，菌落大小与血琼脂培养基上的相仿。在该两种琼脂培养基上，常出现有两种菌落型别：一种型较不透明，但两种菌落型别均产生同样的生化反应。霍利斯弧菌乃一嗜盐性弧菌，接种于TCBS琼脂或麦康基琼脂平板上，2天内无生长。此菌在不含NaCl的营养肉汤中不生长，但可在含有1、3、5，一般为6%NaCl中生长。此菌于25和36°C条件下均生长良好。

三、生化特性：霍利斯弧菌为氧化酶、靛基质和硝酸盐还原试验阳性；发酵D-葡萄糖、L-阿拉伯糖、D-半乳糖和D-甘露糖产酸不产气；以下常用的肠道细菌学试验：脂酶(玉米油)、明胶酶、Dnase、M-R、V-P、枸橼酸盐、乙酸盐和丙二酸盐的利用，Möller氏L-鸟氨酸脱羧酶、L-赖氨酸脱羧酶和精

表3 霍利斯弧菌与其它致病性嗜盐弧菌的鉴别

试 验	致 痘 性 嗜 盐 弧 菌						
	霍利斯(16)	副溶血(65)	河(20)	海鱼(16)	溶藻(28)	创伤(51)	梅氏(17)
靛基质*	100	88	17	0	50	92	24
V-P*	0	0	0	100	93	0	100
氧化酶*	100	100	100	94	100	100	0
L-赖氨酸(Möller)*	0	100	0	56	100	98	24
L-精氨酸(Möller)*	0	0	92	100	0	0	53
L-鸟氨酸(Möller)*	0	82	0	0	65	57	0
产酸：L-阿拉伯糖	94	80	89	0	3	0	0
纤维二糖	0	2	39	0	3	100	12
乳 糖	0	0	4	0	0	95	59
麦 芽 糖	0	99	100	100	100	100	100
D-甘露醇	0	100	96	0	100	41	100
水 杨 苷	0	0	0	0	0	100	12
蔗 糖	0	3	100	0	97	14	100
硝酸盐还原*	100	100	100	100	100	100	0

注：括弧内数字为受试菌株数，*培养基内加有1%NaCl；表内数字表示阳性%，表内未包括霍乱弧菌和拟态弧菌，因为它们生长无需加NaCl。

表4 引起腹泻的五种弧菌生化反应鉴别[16]

	弧 菌				
	霍乱	副溶血	霍利斯	拟态	河
生长于:	0% NaCl	+	-	-	+
	6% NaCl	V	+	V	V
	10% NaCl	-	-	-	-
氧化酶	+	+	+	+	+
赖氨酸脱羧酶	+	+	-	+	-
鸟氨酸脱羧酶	+	+	-	+	-
精氨酸二聚水酶	-	-	-	-	+
β-半乳糖苷酶(ONPG)	+	-	+	+	V
产 酸:	乳 糖	-	-	V	-
	蔗 糖	+	-	-	+
	阿 拉伯 糖	-	V	+	+
	麦 芽 糖	+	+	-	+
	甘 露 醇	+	+	-	+
产 气:	葡 萄 糖	-	-	-	V
硝酸盐还原	+	+	+	+	+
VP 试验	V	-	-	-	-

注: +: > 85% 阳性(48小时); -: < 10% 阳性(48小时); V: 11-84% 阳性(48小时)。

氨酸二聚水酶, KCN 培基上生长, 以及 D-侧金盏花醇、D-阿拉伯醇、纤维二糖、卫矛醇、赤藓糖醇、蜜二糖、α-甲基-D-葡萄糖、粘蛋白盐、棉子糖、L-鼠李糖、水杨苷、D-山梨醇、蔗糖、海藻糖和D-木糖均为阴性反应。表3列有霍利斯弧菌与其它致病性嗜盐性弧菌的生化特性鉴别要点。

四、抗菌素敏感性: 霍利斯弧菌对氨苄青霉素(10微克)、羧苄青霉素(100微克)、头孢金素(30微克)、氯霉素(30微克)、庆大霉素(10微克)、卡那霉素(30微克)、奈丁酸(30微克)、青霉素(10单位)、链霉素(10微克)、四环素(30微克)、磺胺嘧啶(250微克)、粘菌素(10微克)和多粘菌素B(50单位)有不同程度的敏感性。

五、DNA的碱基组成和相关度: 霍利斯弧菌DNA的G+C含量为49.3~51.0克分子%, 平均49.8%。DNA杂交试验证明, 此菌与弧菌属中已知的20种弧菌中的17种和3种发光杆菌属细菌菌株, 只有细微相关。

有关霍利斯弧菌的流行病学、发病机理以及生态学等问题, 目前正在研究中。

结 束 语

自1976年以来, 世界各地NAG和NCV菌株的数量日益增长, 引起急性腹泻的新弧菌大有随古典型霍

乱弧菌数量下降的同时而出现上升的趋势。为此, 有关工作者必须引起足够的重视。为了便于迅速作出准确的鉴定, 今将Tacket等[16]提出的, 引起腹泻的五种弧菌生化反应鉴别表(表4)引列如上, 供同道们工作中参考。

参 考 文 献

- 1.Baumann P et al: Curr Microbiol, 4: 127, 1980
- 2.Buchanan RE & Gibbons N D (ed): Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8th ed, The Williams & Wilkins Co, Baltimore, 1974
- 3.Hollis DG et al: J Clin Microbiol, 3: 425, 1976
- 4.Jacques JW et al: ibid, 14: 711, 1981
- 5.Huq MI et al: ibid, 11: 621, 1980
- 6.Love M et al: Science, 214: 1139, 1981
- 7.Davis BR et al: J Clin Microbiol, 14: 631, 1981
- 8.Hickman FW et al: ibid, 15: 395, 1982
- 9.Smith HL Jr: ibid, 10: 85, 1979
- 10.Furniss AL et al: Lancet, 2: 565, 1977
- 11.Lee JV et al: J Appl Bacteriol, 50: 73, 1981
- 12.Baumann P & Baumann L: Ann Rev Microbiol, 31: 39, 1977
- 13.Jansen MJ et al: Curr Microbiol, 3: 373, 1980
- 14.Lee JV et al: Int J Syst Bacteriol, 28: 99, 1978
- 15.Blake PA et al: Ann Rev Microbiol, 34: 341, 1980
- 16.Tacket CO et al: J Clin Microbiol, 16: 991, 1982

1983年4月7日收稿

新 书 消 息

中国预防医学中心编辑出版的《出国人员进修考察和参加国际会议汇报资料汇编》将于1985年5~6月份问世。该书汇编了自“中心”成立以来(1983~1984)派出人员在国外进修考察和参加国际会议的汇报资料。其内容涉及几十个国家预防医学研究的现状和主要成就, 包括: 总论、寄生虫学、病毒学、流行病学、放射卫生、营养和食品卫生、环境卫生、劳动卫生和职业病等。还介绍了出国人员的收获和体会。全书约20万字, 售价2元(含邮费)。预订者邮局汇款: 北京昌平流字5号编辑部; 银行汇款: 北京昌平县沙河办事处流研所, 帐号: 880110, 注明“购考察汇编”。征订至1985年4月底止。

中国预防医学中心 1985年1月10日