

## 从斑点马鲛鱼检出产色素的非 OI 群霍乱弧菌

黄廷学 黄春德

刘长暖 陈天寿

(中华人民共和国海口卫生检疫站, 海南海口) (中国药品生物制品检定所, 北京)

**摘要** 作者从斑点马鲛鱼检出一株产褐色色素的非 OI 群霍乱弧菌, 具有这一特点之菌株尚未见有文献报道。虽该菌株未检出有肠毒素, 但有溶血素, 仍是可疑的腹泻病原菌。

**关键词** 非 OI 群霍乱弧菌; 褐色色素

近年来, 国内外报道的非 OI 群霍乱弧菌所引起的腹泻病例不断增加, 本菌已成为世界公认的急性腹泻病原菌之一。我国沿海地区如海南省每年都有许多腹泻病人是因吃了污染非 OI 群霍乱弧菌的水产品发病的。目前认为该菌的主要致病因子是其所携带的类霍乱毒素, 此外溶血毒素、粘附因子等也与致病有关。本文首次报道从海南产食用鱼——马鲛鱼中分离到产色素的非 OI 群霍乱弧菌, 而且实验证实菌株有溶血素, 其色素的产生与致病性的关系尚待进一步研究, 但这一新的发现提示在临床检验中产色素的菌株不能排除它是非 OI 群霍乱弧菌的可能性。

### 材料与 方法

#### (一) 标本采集

用 200ml 碱性蛋白胨水反复冲洗马鲛鱼鱼头、腮部。将此液体送回实验室即刻检验。

#### (二) 试剂

1. O/129 纸片: 用每片含 10 $\mu$ g 及 150 $\mu$ g 两种纸片(中国药品生物制品检定所提供)。

2. TCBS 培养基(中国药品生物制品检定所提供, 批号 89110)。

3. 四号基础琼脂(不加庆大霉素及亚碲酸钾, 浙江省卫生防疫站生产)。

4. 庆大霉素琼脂(中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所提供, 批号 89221)。

5. 诊断血清及诊断血球(均由中国药品生

物制品检定所提供)。

(1) 霍乱弧菌 OI 群多价血清(批号 89-7)

(2) 霍乱弧菌“R”型诊断血清(批号 88-01)

(3) 非 OI 群霍乱弧菌诊断血清: “M”多价血清(批号 90-1), “VBO”(批号 89-102)。

6. 霍乱肠毒素致敏血球(中国药品生物制品检定所提供)。

7. 其他各种生化试剂均为本实验室配制。

#### (三) 方法

将采集样品经 37℃ 18—24 小时增菌培养后, 分别接种 TCBS、四号基础琼脂、庆大霉素琼脂、血琼脂及营养琼脂平板, 37℃ 18—24 小时, 分别挑取可疑菌落做氧化酶、O/129 敏感性试验, 然后再做生化特性、血清学鉴定及肠毒素测定。

#### (四) 电镜观察

用负染法观察细菌形态。

### 试验 结果

#### (一) 不同培养基生长情况

1. 营养琼脂: 菌落圆形, 边缘整齐, 光滑, 湿润, 半透明, 直径 1.5—2mm。菌落具有明显的褐色色素, 并随时间延长而逐渐加深。

2. 血琼脂: 菌落直径 2—2.5mm, 圆形, 光滑, 湿润, 半透明, 产有褐色色素, 菌落周围有  $\beta$

国家自然科学基金资助项目, 编号: 3880179。电镜观察由谢念铭同志协助完成。

溶血环。

3. TCBS 琼脂:黄色菌落,直径 1.5—2mm,圆形,边缘整齐,光滑,湿润,半透明。

4. 庆大霉素琼脂:暗灰色菌落,直径 2.5—3mm,圆形,边缘整齐,光滑,湿润。

5. 四号基础琼脂:菌落直径 2.5—3mm,圆形,边缘整齐,光滑,湿润,半透明。

(二) 形态观察

菌体系革兰氏阴性短杆菌。经电镜观察为单端鞭毛的球杆菌(见图 1)。

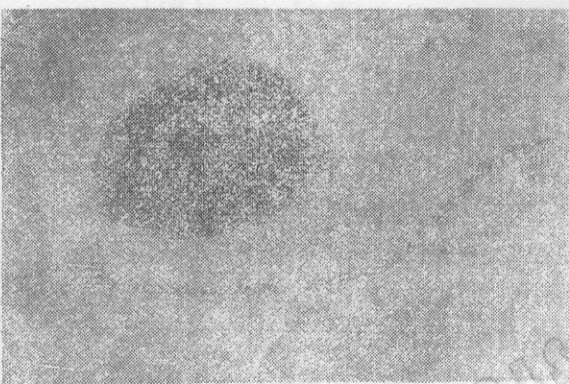


图 1 菌株的电镜形态 (X25000)

表 1 一株产色素的非 O1 群霍乱弧菌生化特性

| 生化项目          | 结果 | 生化项目             | 结果 |
|---------------|----|------------------|----|
| 耐盐试验          |    | 葡萄糖产酸            | +  |
| 0%NaCl 胨水     | +  | 葡萄糖产气            | -  |
| 1%NaCl 胨水     | +  | 麦芽糖              | +  |
| 3%NaCl 胨水     | +  | 蜜二糖              | -  |
| 6%NaCl 胨水     | -  | 山梨醇              | -  |
| 8%NaCl 胨水     | -  | 肌 醇              | -  |
| 10%NaCl 胨水    | -  | 木 糖              | -  |
| 动 力           | +  | 甘露醇              | +  |
| 氧化酶           | +  | 卫矛醇              | -  |
| 粘 丝           | +  | H <sub>2</sub> S | -  |
| 硝酸盐还原         | +  | 乳 糖              | -  |
| 鞭 基 质         | +  | 鼠李糖              | -  |
| V-P           | +  | 棉子糖              | -  |
| 赖氨酸 Moeller's | +  | 蔗 糖              | +  |
| + 1%NaCl      |    |                  |    |
| 鸟氨酸 Moeller's | +  |                  |    |
| + 1%NaCl      |    |                  |    |
| 精氨酸 Moeller's | -  |                  |    |
| + 1%NaCl      |    |                  |    |

(三) O/129 敏感试验

10μg 纸片的抑菌环为 14mm, 150μg 纸片的抑菌环为 21mm。

(四) 生化反应(表 1)

表 1 结果表明试验菌株符合霍乱弧菌的基本特性。

(五) 血清学试验(表 2)

表 2 血清学试验结果

|      | O1 群霍乱弧菌<br>抗血清 |   | 非 O1 群霍乱弧菌<br>抗血清   |                       | 盐水<br>对照 |
|------|-----------------|---|---------------------|-----------------------|----------|
|      | O               | R | M(群)                | VBO(型)                |          |
| 试验菌株 | -               | - | +(M <sub>14</sub> ) | +(VBO <sub>70</sub> ) | -        |

血清凝集试验结果证实试验菌株为 VBO<sub>70</sub> 血清型的非 O1 群霍乱弧菌。

(六) 反向间接血凝法测定肠毒素 (CT)

将试验菌株与产毒的对照菌株 (569B) 分别接种于产毒培养基中, 37℃ 水浴振荡 16 小时, 菌液经 8000r/min 离心 2 分钟去菌体, 取上清测肠毒素。共试验 3 次(表 3)。

表 3 试验菌株霍乱肠毒素测定结果

|      | 1 | 2 | 3 |
|------|---|---|---|
| 试验菌株 | - | - | - |
| 对照菌株 | + | + | + |

注: 阳性对照的血凝效价为 4X—64X

表 3 结果表明经过反复试验, 在试验菌株的培养液中未能测出霍乱弧菌肠毒素, 对照的产毒菌株呈阳性反应。

讨 论

非 O1 群霍乱弧菌为世界公认的腹泻病原菌。因为它有较强的致病因子, 可造成部分地区流行或集体食物中毒<sup>[1]</sup>。根据近年来流行病学调查, 在海南省海口地区的腹泻病源中, 非 O1 群霍乱弧菌占有相当重要地位<sup>[2]</sup>, 在海港检疫工作中也是需要十分注意的问题。

作者从海南省人们常食用的斑点马鲛鱼 (*Scomberomorus guttatus*) 体表及鳃部分离出非 O1 群霍乱弧菌 (VBO<sub>70</sub>), 表示该菌在这种鱼类中有寄生的可能性, 而且菌株有分泌色

素的能力,这在致病性弧菌中尚未有先例报道。因此在鉴别诊断中值得注意。

霍乱肠毒素目前仍被认为是 OI 群及非 OI 群霍乱弧菌主要致腹泻因子。经测定试验菌株未能测出霍乱弧菌肠毒素,这种现象与色素的产生有无联系,尚需做进一步研究。

### 参 考 文 献

1. Farmer III J J et al.: Manual of Clinical Micro-

biology. American Society for micrology Washington D. C. p. 288—291, 4th Ed, 1985.

2. 陈天寿等:微生物学报,29(4): 307—313,1989。

3. 徐海英等:中华流行病学杂志,10(6): 337—340,1989。

4. Krieg N R et al. (eds): Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 1, P. 516—538, Williams and Wilkins, Baltimore-London, 1984.