

260 株气单胞菌的表型特性与毒素原性研究

崔树玉 孙启华 李景学 周国清 李爱萍 张志国*

(山东省卫生防疫站 济南 250014)

摘要 本文对山东省 9 市(地)临床和外环境等 6 种标本中检出的 260 株气单胞菌进行了表型特性研究。结果表明:山东省以温和气单胞菌为主(52.69%),嗜水气单胞菌(23.4%)、豚鼠气单胞菌(23.08%)次之。自淡水鱼中检出维隆气单胞菌和易损气单胞菌各 1 株。随机抽取 163 株应用溶血试验、CHO 细胞测毒素试验、兔肠结扎及 CT 基因探针杂交试验进行毒素原性研究,温和、嗜水及豚鼠气单胞菌均可产生溶血素、肠毒素,某些菌株的肠毒素具有与霍乱肠毒素呈交叉反应因子(CTCE)。

关键词 气单胞菌,表型特性,毒素原性

近年来,国内已有从腹泻病人、食物中毒及外环境标本检出气单胞菌的报道^[1,2],毒素原性研究亦起步。为了解山东省气单胞菌的分布及致病性,为防治工作提供科学依据,作者对山东省 9 市(地)6 种标本中检出的 260 株气单胞菌进行了系统的表型特性检测,并应用溶血试验、CHO 细胞测毒素、兔肠结扎试验和 CT 基因探针杂交对 163 株气单胞菌进行了毒素原性研究,报告如下。

1 材料

1.1 菌株来源

260 株试验菌分离于济宁、潍坊、泰安、日照、滨州、青岛、威海、菏泽、济南 9 市(地)腹泻病人、食物中毒、淡水鱼、湖河水等标本,无其它

致病菌检出。试验用标准菌株均由中国医学菌种保藏中心提供。

1.2 培养基

所用培养基均为本站培养基室提供;各种生化培养基按文献 [3] 制备。

1.3 中国地鼠卵巢巢细胞(CHO 细胞)

由中国预防医学科学院病毒研究所提供。

1.4 CT 基因探针

中国军事医学科学院微生物学流行病学研究所提供。

1.5 健康家兔

由本站动物室提供。

* 禹城市卫生防疫站
1996-02-15 收稿

2 方法

2.1 表型特性的检测

2.1.1 属的确认: 取菌接种普通琼脂、SS琼脂平板, 37℃培养24h, 观察菌落形态, 做氧化酶试验、耐盐试验、革兰氏染色和O/F试验。应注意与弧菌属的霍乱弧菌(01和非01群)、拟态弧菌及类志贺氏邻单胞菌的鉴别。

2.1.2 种的确认: 所有菌株均检测表1中26种生化特性, 其中葡萄糖管放37℃和22℃两种温度培养, 糖类观察14d。

2.2 毒素原性检测试验

2.2.1 溶血试验: 将纯菌点种5%羊血平板上, 37℃培养18~24h, 观察结果。以α、β溶血及不

溶血为判定标准。

2.2.2 CHO细胞测毒素试验: 按方法[4]操作。同时设阳性、阴性对照, 以20%以上的细胞由圆变长为阳性。

2.2.3 兔肠结扎试验: 按常规方法^[1]进行, 每株菌均重复3次试验, 比值大于或等于1者判为阳性, 设阳性菌株和阴性菌株对照。

2.2.4 CT基因探针菌落原位杂交: 其方法详见文献[5]。

3 结果

3.1 表型特性

3.1.1 形态与培养特性: 260株菌均为革兰氏阴性杆菌, 有动力。本菌营养要求不高, 普通肉

表1 260株气单胞菌生化结果

项目	嗜水气单胞菌(61株)		温和气单胞菌(137株)		豚鼠气单胞菌(60株)		维隆氏气 胞菌(1株)	易损气单 胞菌(1株)
	反应	%	反应	%	反应	%		
O/F试验	+	100	+	100	+	100	+	+
氧化酶	+	100	+	100	+	100	+	+
葡萄糖产气								
37℃	+	93.44	+	98.54	-	0	+	+
22℃	+	100	+	100	-	0	+	+
甘露醇	+	96.72	+	97.81	+	100	+	+
乳糖	d	29.51	d	18.51	d	56.67	+ ⁶	+
肌醇	-	0	-	0	-	0	-	-
L-阿拉伯糖	d	44.26	d	19.70	d	38.33	-	+
水杨素	d	75.41	-	3.65	+	91.67	+	-
蔗糖	+	96.72	+	100	+	100	+	-
七叶苷	+	98.36	-	1.46	+	98.33	+	-
V-P	+	95.08	d	79.56	-	0	+	-
脲基质	+	100	+	100	+	100	+	+
精氨酸	+	95.08	+	100	+	100	-	+
赖氨酸	d	57.38	d	17.52	-	5.00	+	+
鸟氨酸	-	0	-	0	-	0	+	-
西蒙氏								
柠檬酸盐	d	68.85	d	83.94	d	73.33	+	-
明胶	+	96.72	+	97.81	+	96.67	+	+
氰化钾	+	93.44	-	9.49	+	95.00	+	-
脲酶	-	0	-	0	-	0	-	-
硫化氢	-	0	-	0	-	0	-	-
动力	+	100	+	100	+	100	+	+
耐盐试验								
0%	+	100	+	100	+	100	+	+
3%	+	98.36	+	100	+	100	+	+
6%	-	0	-	0	-	0	-	-

注: +: 90%以上的为阳性, -: 90%以上的为阴性 d: 不同反应

汤中生长良好,在营养琼脂平板上培养18~24h,可见1~3mm微白色、光滑菌落,SS平板上多数菌生长呈碱性反应,菌落呈无色,少数分解乳糖者为粉红色。

3.1.2 生化特性:260株气单胞菌经鉴定其中温和气单胞菌137株(52.69%),嗜水气单胞菌61株(23.46%),豚鼠气单胞菌60株(23.08%),维隆及易损气单胞菌各1株,生化结果详见表1。

3.2 毒素原性研究结果(见表2)

3.2.1 溶血试验:试验菌163株, α 溶血55株, β 溶血97株,共计152株(93.25%),不溶血11株。

3.2.2 CHO细胞测毒素试验:163株试验菌中36株阳性(22.09%)。

3.2.3 兔肠结扎试验:阳性47株(28.83%),其中20株CHO细胞测毒素试验亦阳性,27株仅兔肠结扎试验阳性。

3.2.4 CT基因探针测毒素:来自腹泻病人标本的5株菌呈阳性,其中4株兔肠结扎试验阳性,另1株虽阴性,但三次均值(0.7)仍高于阴性对照(0.3)。

4 讨论

本研究确认的260株气单胞菌,其中以温和气单胞菌为主,嗜水气单胞菌、豚鼠气单胞菌次之,该结果基本反映了山东省气单胞菌种类分布情况。

在温和气单胞菌、嗜水气单胞菌和豚鼠气

表2 163株菌的溶血、CHO细胞、兔肠结扎和CT探针杂交试验结果

菌名	来源	株数	溶血试验		CHO试验	兔肠结扎试验	CT探针杂交
			α	β	阳性株数	阳性株数	阳性株数
嗜水 气单 胞菌	腹泻病人	12	3	9	2	4	1
	健康查体	2	1	1	0	0	0
	淡水鱼	21	4	15	5	10	0
温和 气单 胞菌	湖水	6	4	1	1	1	0
	腹泻病人	19	3	15	6	4	2
	食物中毒	2	0	2	0	0	0
豚鼠 气单 胞菌	淡水鱼	33	3	30	8	16	0
	湖水	25	13	12	3	8	0
	腹泻病人	21	16	4	6	3	2
合计	健康查体	3	1	1	0	0	0
	淡水鱼	6	0	5	2	0	0
	海产品	3	1	0	1	0	0
	湖水	10	6	2	2	1	0
合计		163	55	97	36	47	5

单胞菌鉴别中,发酵葡萄糖是否产气是重要项目之一。经22℃、37℃反复试验发现同一产气菌株的不同菌落产气特性22℃较37℃稳定^[6]。上述三种菌中赖氨酸脱羧酶是否阳性,国内外报道不甚一致,我们研究证明三者均有阳性株(5.00%~57.38%),不同于国外文献报道^[7]的三种气单胞菌均为阴性,与国内文献^[1,2]报告的嗜水气单胞菌和温和气单胞菌赖氨酸脱羧酶试验结果(76.9%~100%)也不尽相同,以上结果差异可能与菌株地域分布不同有关。

溶血试验结果表明(见表2),三种气单胞菌均可产生 α 或 β 溶血,43株豚鼠气单胞菌溶血

试验阳性率为83.72%,与Natarans^[8]等报告无溶血活性不同,而与周尚汉等^[9]报道结果一致,经统计学处理,仅低于温和气单胞菌($\chi^2 = 10.2426, P < 0.01$)。

所试163株气单胞菌CHO细胞测毒素试验阳性36株,根据所用细胞及其形态改变,此36株菌所具有的毒素为细胞兴奋性肠毒素^[10,11]。兔肠结扎试验47株呈阳性,20株同时CHO测毒素试验阳性,另27株菌仅兔肠结扎阳性,所测毒素应为细胞溶解性与细胞毒性肠毒素,细胞溶解性肠毒素又称霍乱毒素交叉反应因子(CTCE)。

CT基因探针阳性的5株菌均来自腹泻病

人标本,外环境中分离菌株未见CT肠毒素阳性,由此可以确认气单胞菌某些菌株具有与人类致病有关的CT肠毒素。

参 考 文 献

[1] 刘永大,张书勤. 中国卫生检验, 1995, 5(1): 35.
 [2] 潘幸福. 中华预防医学, 1995, 29(2): 124.
 [3] 何晓青主编. 卫生防疫细菌检验, 南昌: 新华出版社, 1989: 253~674.
 [4] 袁佩娜编. 细菌肠毒素及其测定(全国细菌学习班讲义), 中国药品生物制品研究所, 1987.
 [5] 林万明主编. 细菌分子遗传学分类鉴定法, 上海: 上

海科技出版社, 1990: 23~58.
 [6] 崔树玉, 李景学. 中国卫生检验, 1992, 2(2): 92.
 [7] Sakazaki R, et al. The prokaryotes, a handbook on habitats, isolation and identification of bacteria In: Starr MR, et al. eds. Springer-verlag, Berlin, 1981: 1272.
 [8] Noterman S Havelaar A, Jansen W. et al. J clin Microbiol, 1986, 23(6): 1140.
 [9] 周尚汉, 人民军医, 1987, 2(12): 22.
 [10] Chopra A. K., C. W. Houston, and C. T. Genaux, et al. J Clin Microbiol. 1986, 24: 661.
 [11] Potomski J, et al. J Med Microbiol 1987, 23: 179.

STUDY ON THE PHENOTYPIC CHARACTERS AND PATHOGENIC FACTORS OF *AEROMONAS*

Cui Shuyu Sun Qihua Li Jingxue Zhou Guoqing Li Aiping Zhang Zigou

(Shandong Provincial Anti-epidemic Station Jinan 250014)

Abstract The phenotypic charaters and the pathogenic facctors of 260 *aeromonas* isolated from 6 different kinds of specimens such as clinic and enviromental materials were studied. The result showed that *A. sobria* was most common. accounts for 52.6%, followed by *A. aydropihila* and *A. caviaae* which account for 23.46% and 23.08% respectively. A strain of *A. veronii* and a strain of *A. trota* were isolated from freshwater fish. 163 strains were randomly sampled and then their pathogenic factors were studied with hemolysin test, CHO cell virulence-detecting test, rabbit enteroligation as well as CT gene probe hybridization. The study result suggested that *A. sobria*, *A. aydropihila* and *A. caviae* could produce hemolysin and enterotoxin. The enterotoxin from some strains contains certain factors (CTCE) which could cross-react with cholera enterotoxin.

Key words *Aeromonas*, Phenotypic character, Pathogenic Factors