



弧菌属细菌的分类与鉴别

杨正时

(卫生部药品生物制品检定所, 北京)

凡是弯曲而具有极生单鞭毛的细菌, 都统称为弧菌(*Vibrios*)^[1]。这是由数量庞大, 特征相对突出的一群细菌所组成。广泛存在于外环境中, 尤其是地面水和海水中更为常见^[2]。许多是嗜盐性的。在分类上属于弧菌科(*Vibrionaceae*)和螺菌科(*Spirillaceae*)。近年在医学上甚为注意的, 已明确为腹泻病原的空肠弯曲菌, 以往称胎儿弧菌, 也为螺菌科成员。Bergey氏细菌鉴定手册(第九版, 1984)已撤销了螺菌科名词, 把需氧、微嗜氧、能运动, 线状的革兰氏阴性弧菌归属于该书第二部分。其中包括水螺菌属(*Aquaspirillum*), 螺菌属(*Spirillum*), 固氮

螺菌属(*Azospirillum*), 海洋螺菌属(*Oceanospirillum*), 弯曲杆菌属(*Campylobacter*), 蛭弧菌属(*Bdellovibrio*)和吸血弧菌属(*Vampirovibrio*)^[3]。

弧菌科由弧菌属(*Vibrio*), 发光杆菌属(*Photobacterium*), 气单胞菌属(*Aeromonas*)和邻单胞菌属(*Plesiomonas*)所组成。

按照国际细菌分类命名委员会的规定^[4], 弧菌属细菌是革兰氏阴性, 无芽孢, 杆状, 有一弯曲, 欠柔软, 有的弯曲不显著, 极生鞭毛, 有动力, 产生吲哚酚氧化酶和触酶, 发酵葡萄糖, 不产气, 葡萄糖产酸是通过 Embden-Meyerhol 糖酵

表 1 弧菌属与其它细菌的鉴别^[1,2]

试 验	弧菌属	气单胞菌属	邻单胞菌属	假单胞菌属	肠杆菌科
吲哚酚氧化酶	+	+	+	+	-
明胶酶	+	+	-	+	V
O-F 试验, 葡萄糖	F	F	F	O	F
葡萄糖, 产气	-	±	-	-	+
肌醇	-	-	+	NC	V
甘露醇	+	+	-	NC	V
赖氨酸脱羧酶	+	-	+	NC	V
鸟氨酸脱羧酶	+	-	+	NC	V
精氨酸双水解酶	- ^Δ	+	+	+	V
O/129 抑制***	+	-	±	-	-
粘丝试验	+	-	-	-	-
极生单鞭毛	+	+	+	+	-
在蒸馏水中丧失动力	+	-	-	-	-

+: 在 1-2 天内, 90% 以上阳性;

-: 90% 以上没有反应;

V: 在菌属内反应不一致;

F: 发酵;

Δ: 除外 F 群弧菌;

O: 氧化;

NC: 没有变化;

* 仅在非选择性培养基上试验

** 每端可能多于一根鞭毛

*** O/129 为弧菌抑制剂

表2 弧菌的分类

I. 非嗜盐性弧菌

霍乱弧菌: O1群
(*V. cholerae*)

古典生物型:

稻叶血清型 (A, C 因子)
小川血清型 (A, B, 因子)
彦岛血清型 (A, B, C 因子)
爱尔托生物型:
稻叶血清型 (A, C 因子)
小川血清型 (A, B, 因子)
彦岛血清型 (A, B, C 因子)

非 O1 群

(非霍乱弧菌; 不凝集弧菌)

II. 嗜盐性弧菌

副溶血性弧菌 (*V. parahaemolyticus*)
溶藻弧菌 (*V. alginolyticus*)
创伤弧菌 (*V. vulnificus*)
河弧菌 (*V. fluvialis*)
麦奇尼科夫氏弧菌 (*V. metschnikovii*)

解途径。DNA 的 G/C 比范围是 40—50 mol%。

Hugh 和坂崎建议把弧菌属的定义范围进一步扩大, 尚包括甘露醇产酸、赖氨酸、鸟氨酸脱羧酶反应阳性, 精氨酸双水解酶阴性的菌株。弧菌属与其它相似的细菌间的鉴别见表 1。

一、弧菌属的嗜盐性分类

作者从临床检验的实际出发, 可把弧菌属按其耐盐程度分为二类: 非嗜盐性弧菌和嗜盐性弧菌。所谓嗜盐性, 即在培养基中至少含有一定量的氯化钠, 供细菌生长的需要, 没有盐分, 就不能发育生长。而非嗜盐性弧菌, 即使在无盐的培养基中, 仍然生长良好 (表 2)。

二、非嗜盐性弧菌

非嗜盐性弧菌, 仅有一个种, 即霍乱弧菌, 其中的 O1 群菌株才是世界性霍乱流行的病原, 也即霍乱弧菌的流行株, 能与特异性多价 O1 抗血清发生凝集。而与特异性多价 O1 血清不凝集的弧菌, 则称为非 O1 群霍乱弧菌 (non-O1 *V. cholerae*), 以往曾称为不凝集弧菌 (NAG) 或非霍乱弧菌 (NCV) 这些菌株在形态学, 生化学上和流行的 O1 群菌株没有区别, 已经证明能产生和 O1 群弧菌结构上相似的不耐热肠毒素, 可引起散发的严重水泻病例或局部暴发的小流行。但与 O1 群血清不凝集。Smith^[6] 用活菌免疫家兔制备诊断血清, 可将非 O1 群弧菌至少分为 72 个血清型, 日本坂崎用加热抗原制备抗血清, 二者的分型结果不完全

一致。

具有流行性的 O1 群霍乱弧菌, 按其生物学特性, 可分古典生物型 (classic biotype) 和埃尔托生物型 (El Tor biotype)。二者均有相同的血清型。古典生物型以包括印度、巴基斯坦、孟加拉在内的南亚次大陆的恒河流域为疫源地, 在历史上, 曾有六次突破原有地方性流行的疆界, 构成世界大流行; 而埃尔托生物型菌株, 原仅限于印度尼西亚的苏拉威西岛, 在本世纪六十年代初期, 打破了以往的习性, 形成了规模最大一次的第七次世界流行。埃尔托弧菌引起的腹泻, 俗称副霍乱, 症状较古典型引起的轻, 但细菌的抵抗力、耐受性、适应性均较强大, 容易构成局灶性疫源地。这二种生物型菌株有许多鉴别特征, 但最常用而且简便有效的有五个试验, 列于表 3。

表3 O1 群霍乱弧菌古典和埃尔托生物型
典型菌株的鉴别^[7]

试 验	古典生物型	埃尔托生物型
试管溶血	—	+
IV 型噬菌体敏感性	+	—
多粘菌素 B 敏感性	+	—
VP 试验, 22℃ (48 小时)	—	+
鸡血球凝集	—	+

三、嗜盐性弧菌的一般特征^[8-10]

在五个嗜盐性弧菌种中, 最引人注目的是副溶血性弧菌, 因为它是一些沿海国家的主要

急性胃肠炎病原菌,研究得比较深入。它具有和其它弧菌不同的特征,形态多变,多形性,菌体椭圆状,有荚膜包绕,在 37℃ 肉汤培养时,产生极生鞭毛,运动快速,直线状。若在半固体琼脂上 22—28℃ 培养和在 37℃ 营养琼脂培养基上培养 5 小时,则运动微弱,可产生二种不同形态的鞭毛,一种是周毛,卷曲,脆易折断,较细;另一种为极生,可在一端,也有的长在二端,粗而具有波浪状,由于这个特性并不符合弧菌的定义,因此其分类学地位还未充分肯定,暂且放置于弧菌属中。

副溶血性弧菌具有鞭毛(H)、荚膜(K)和菌体(O)抗原,现在至少有 12 个 O 抗原,59 个 K 抗原。鞭毛抗原是相同的,无助于分类,基于 O、K 抗原可进行血清学分型,肠道致病性血清型是 O1:K38, O1:K56, O2:K3, O3:K4, O3:K33, O4:K8, O4:K9, O4:K11, O4:K12, O4:K13, O4:K55, O5:K12, O5:K15, O5:K17 O5:K30, O5:Cal/Ka, O5:K47, O8:K20, O8:K21, O8:K22, O9:K23, O10:K19, O10:K24, 这些血清型罕见于鱼及水中。

副溶血性弧菌可引起暴发性食物中毒,散发性米泔样腹泻和痢疾样症状,故也称肠炎弧菌,能引起人或兔红血球溶解用特异的我妻氏培养基,琼脂表面点状接种,在 35℃。24 小时可见明显 β 溶血,被称为神奈川现象,与致病力有关,从病人分离的菌株,96.5% 为阳性,而从海产品和海水中分离的菌株,仅 1% 溶血。

溶藻性弧菌是一种经常在海水中发现的细

菌,由于该菌在海产品中的数量远比副溶血性弧菌为多,因此在食品中选择性地分离副溶血性弧菌时,也能经常地分离到溶藻性弧菌。偶而也可以从腹泻病人中分离到,但还不被认为是致病菌,某些菌株可能毒力较强,与伤口感染败血症有关。

创伤弧菌与副溶血性弧菌,溶藻性弧菌相似,但具有发酵乳糖的能力。有二种感染形式,一是败血症,经常在食用生海味后 24 小时内发病,对肝脏疾患病人威胁较大,致死率高;二是伤口感染,可能是由于伤口浸泡于细菌污染的海水,或由于被螃蟹伤害所致。

麦奇尼可夫氏弧菌,美国疾病控制中心称肠道菌群 16,广泛分布于河水,海水和沟水中,也曾从人和动物的肠道中分离到,迄今还没有发现任何证据说明它们引起人和某些动物疾病。麦氏弧菌和其它弧菌不同之处在于氧化酶阴性和不还原硝酸盐为亚硝酸盐。

河弧菌,也称下群弧菌,或 EF6 弧菌,从一些国家和地区的食物中毒病人中分离到,特别是在孟加拉,每年病例在 500 例以上,是近年新发现和确立的腹泻病原菌。作者对国内徐州地区暴发性腹泻病人中分离的 48 株 F 群菌株的血清学研究,发现具有 8 个 O 抗原群。

四、弧菌的分离特征与鉴定程序

硫代硫酸钠-枸橼酸盐-胆盐-蔗糖琼脂(TCBS)对弧菌具有高度选择性,肠道杆菌在此培养基上一般不能生长,各种弧菌都生长良好,并且对蔗糖发酵与否可反映在菌落颜色上,从而可作初步鉴别,副溶血性弧菌和创伤弧菌不

表 4 各类弧菌在选择性平板上培养 24 小时后的菌落特征^[6]

弧菌种别	TCBS 琼脂		TTG 琼脂		
	菌落特征	菌落大小 (mm)	菌落特征	明胶酶晕	菌落大小 (mm)
霍乱弧菌	黄色	1.0—1.5	透明	有	0.5—1.5
副溶血性弧菌	蓝—绿色	0.5—2.0	透明	有	0.5—2.0
溶藻性弧菌	黄色	0.5—1.5	透明,不规则,卵圆形	有,可能弱	1.0—2.0
创伤弧菌	蓝—绿色	0.5—1.0	透明	有	0.5—1.0
河弧菌	黄色	0.5—1.5	透明	无,48 小时后弱	0.5—1.0
麦氏弧菌*	黄色	1.0—2.0	透明	不定	1.0—1.5

* 一些菌株,在这些培养基上,在 24 小时内生长不良或不生长

发酵蔗糖，蓝绿色菌落；而霍乱弧菌、溶藻性弧菌、F 群弧菌及麦氏弧菌发酵蔗糖为黄色不透明菌落。上述各种弧菌在 TCBS 上形成直径为 1—2 毫米的菌落。

在亚硝酸钾-胆盐-明胶琼脂 (TTG) 上，创伤性弧菌、F 群弧菌的菌落，其大小相似于霍乱弧菌，平均直径 1 毫米，而副溶血性弧菌和溶藻弧菌的菌落可能大些。菌落透明，并有一明

表 5 弧菌属细菌生化与生长特性鉴别^[4]

试 验	霍乱弧菌	副溶血性弧菌	溶藻弧菌	创伤弧菌	F 群弧菌	麦氏弧菌
盐耐受性试验(生长)						
0% NaCl	+100	-0	-0	-0	V(73)	-
3% NaCl	+100	+100	+100		+100	+
6% NaCl		+100	+100	+100	+100	+
7% NaCl		+100	+100		+100	+
8% NaCl	-0	+99	+100	-8		V
10% NaCl	-0	-0	+100	-0	-0	O
赖氨酸脱羧酶	+100	+97	+100	+93(3)	-0	V
精氨酸双水解酶	-0	-0	-0	-0	+100	V
鸟氨酸脱羧酶	+>99	+96	V57	V66(26)	-0	-
蔗 糖	+100	-1	+100	-3	+100	+
乳 糖	+(99)	-0	-0	+81(16)	-0	V
氧化酶	+100	+100	+100	+100	+100	-
硝 噪	+100	+99	V90	+97(3)	-0	V
对 O1 群血清凝集	V			-0	-0	-
VP	V47	-0	+93	-0	-0	+
水杨素	-0	-0		+100		-
硝酸盐还原	+100	+100	+100	+100	+100	-
硫化氢	-0	-0	-0	-0	-0	-
尿 素	-0	-0	-4	-0	-0	-
甲基红	+(95)		V19			V
枸橼酸盐(西蒙氏)	V(74)	+100	V66	V76(11)		V
动 力	+97	+100	+100	+97	+100	+
明胶酶	+>96	+100	+94	+97	(+)10(96)	+
葡萄糖: 产酸	+100	+100	+100	+100	+100	+
产气	-0	-0	-0	-0	-0	-
阿拉伯糖	-	V81			+100	-
侧金盏花醇	-0	-0				
纤维二糖	V38	V54		+100		
卫茅醇	-0	-0				-
肌 醇	-0	-0				V
丙二酸钠	V	-0				
麦芽糖	+100	+100	+100	+100		+
甘露醇	+100	+100	+100	V66	V81	+
甘露糖	+100	+100		+100	+100	V
鼠李糖	-0	-0				-
山梨醇	V64	-6				V
木 糖	-6	-0	-0			-
氧化-发酵	F100	F100		F100		
触 酶	+100	+100	+97		+100	+
对 O/129 敏感性					+100	+

+: 90% 以上阳性; -: 90% 以上阴性; V 10—90% 阳性。数字: 表示阳性百分比; () 表示迟缓阳性; F 表示发酵; 空白: 文献中未予记载

胶酶活性所形成的晕区, F 群菌株菌落的明胶酶活性在 24 小时, 或甚 48 小时仍较微弱(表 4)。

检查标本中的各类弧菌, 仅需应用以 TCBS 为主的若干试验。

五、弧菌属中各种间的鉴别特征

各种弧菌系统的鉴别特征列于表 5。由于各种弧菌对盐浓度在生长中的需求差别很大, 因此盐耐受性试验是弧菌的一个重要鉴别要点。嗜盐性弧菌一般在无盐的培养基中不生长, 必须要用含盐培养基, 溶藻性弧菌最高耐盐量达 10%, 而这个浓度时其它嗜盐菌也不生长, 因此 10% 盐浓度具有鉴别意义。三种氨基酸的脱羧试验不但在属间鉴定时有价值, 也常用于属内菌种间的鉴定。F 群弧菌精氨酸阳性, 赖氨酸、鸟氨酸阴性而区别于其它弧菌。副溶血性弧菌不发酵蔗糖, VP 阴性而有别于溶藻性弧菌。由于表 5 中霍乱弧菌包括有 O1 群与非 O1 群, 因此对 O1 群血清的凝集以不定 (V) 来表示。根据表 5 所列试验, 则不难对一株未

知弧菌作出种的鉴定。

参 考 文 献

- [1] Chatterjee, B. D.: *Vibrios*, ed. by Braude, A. I., Microbiology, Saunders Co., pp. 353—365, 1982.
- [2] Colwell, R. R.: *Vibrios*, in *Environment*, New York, pp. 134—156, 1984.
- [3] Krieg, N. R.: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 1, pp. 167—183, The William and Wilkins Co. Baltimore, 1984.
- [4] Subcommittee on Taxonomy of *Vibrio*: *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 22: 123, 1972.
- [5] Finegold, S. F. and W. J. Martin: *Bailay and Scotts Diagnostic Microbiology*, pp. 240—248, Mosby, C. V., Co. St. Louis, 1982.
- [6] Smith, H. L.: *Tr. J. Clin. Microbiol.*, 10: 85—90, 1979.
- [7] Wachsmuth, I. K. et al.: *Vibrio*, ed. by Lennette, E. H., *Manual of Clinical Microbiology*, 3rd ed, American Society for Microbiology, Washington, D. C., 1980.
- [8] Weaver, R. E. and D. G. Hollis: *Ann Rev. Microbiol.*, 34: 341—367, 1980.
- [9] Lee, J. V.: *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 28: 99—111, 1978.
- [10] Toshio Shimada and R. Sakazaki: *Japan J. Med. Sci. Biol.*, 37: 241—246, 1984.