

条件,整个分析过程也是简便易行的,一般的单位都可以采用。预计今后,氯霉素残留检测技术将主要是在这两个方面上发展和完善。

参考文献:

[1] 张龙,主编. 兽医药物化学[M]. 北京:中国农业出版社,1999,280—282.

[2] 庄无忌,主编. 各国食品和饲料中农药兽药残留大全[M]. 北京:中国对外经济贸易出版社,1998,982—1014.

[3] Aerts, Keukens. Liquid chromatographic determination of chloramphenicol residues in meat: interlaboratory study[J]. J Assoc off Anal Chem, 1989,72(4):570—576.

[4] Hans R M, Galbraith M, Alguani W G. In analytical microbiology[M]. F Karanagh (Ed.) Academic Press New York, NY,1963,271—281.

[5] 刘智宏. 酶标免疫测定法(EIA)在检测动物性食品中氯霉素残留的应用[J]. 中国兽药杂志,1995,29(2):47.

[6] Arnold, Somogyi. Trace analysis of chloramphenicol residues in eggs, milk, and meat: comparison of gas chromatography and radioimmunoassay [J]. J Assoc off Anal Chem, 1985,68(5):984—989.

[7] Wal J M, Pelepan. High performance liquid chromatographic determination of chloramphenicol in milk[J]. J Assoc off Anal Chem,1980,63(5):1044—1048.

[8] Bories, Pelepan. Liquid chromatographic determination and mass spectrometric confirmation of chloramphenicol residues in animal tissues[J]. J Assoc off Anal Chem,1983,66(6):1521—1526.

[9] Schwartz, McDonough. Practical screening procedure for chloramphenicol in milk at low parts per billion level[J]. J Assoc off Anal Chem,1984,67(3):563—565.

[10] Keukens, Beek. High-performance liquid chromatographic

screening and confirmation methods for chloramphenicol residues in meat with off-line cartridge sample clean-up and on-line diode array UV-VIS detection[J]. Journal of Chromatography, 1986,352:445—453.

[11] Haagsma, Schreuder. Rapid sample preparation method for the determination of chloramphenicol in swine muscle by high-performance liquid chromatography [J]. Journal of Chromatography, 1986,363:353—359.

[12] Tjaden, Stegehuis. Liquid chromatographic determination of chloramphenicol in kidney tissue homogenates using valve-switching techniques[J]. Analyst,1988,113:171—174.

[13] Nagata, Saeki. Simultaneous determination of thiamphenicol, florfenicol, and chloramphenicol residues in muscles of animals and cultured fish by liquid chromatography[J]. J liquid chromatography,1992,15(12):2045—2056.

[14] 王秉栋,主编. 动物性食品卫生理化检验[M]. 北京:中国农业出版社,1991,399—400.

[15] 陈家华. 高效液相色谱快速测定家禽组织中氯霉素残留的研究[J]. 中国抗生素杂志,1992,17(5):351—355.

[16] 胡大晰,李庆才. 蜂蜜中氯霉素残留量的色谱分析[J]. 烟台师范学院学报(自然科学版),1994,2:45—47.

[17] 李兰生,王勇强. 氯霉素在对虾体内的动力学研究[J]. 色谱,1997,15(5):431—434.

[18] 谢君,李英伦. 反相高效液相色谱法同时测定动物血浆中泰乐松注射液的多组分[J]. 分析实验室,1998,17(3):87—89.

[19] 李英伦,谢君. HPLC法测定猪血浆中速免痢-C注射液两种组分[J]. 四川畜牧兽医,1999,94(2):17.

[20] 张存帅. 酶免疫分析法(EIA)在动物性食品中有机化学残留物测定上的应用[J]. 中国兽药杂志,1992,26(4):32—34.

[收稿日期:2001-09-17]

中图分类号:R15,R978.1 文献标识码:E 文章编号:1004-8456(2002)02-0044-04

医学相关弧菌的分类及鉴定进展(综述)

周洪彦 梁冬

(哈尔滨市传染病院,黑龙江 哈尔滨 150030)

多年来许多学者致力于致病性弧菌的研究。《伯杰氏系统细菌学手册》(1984.九版)自问世以来,有许多过去没能认定的致病性弧菌有所证实及归属。致病性弧菌的种类也由过去的几种增加到30多个种。为便于基层专业人员的日常工作,现将

国内外部分相关研究做一综述。

1 弧菌的分类变化 从医学细菌的鉴定需要出发,弧菌科包括弧菌属、气单胞菌属与邻单胞菌属。它们的共同特征是:革兰氏阴性杆菌、需氧及兼性厌



氧、有运动性、接触酶阳性、氧化酶阳性、发酵分解糖,所有菌种大部分还原硝酸盐。^[1]

这群细菌的特征相似,分类不断发生变化。贝内克菌属与射光杆菌名称现已废止,将它们移入弧菌属。而发光杆菌属仍然保留。弧菌属中的鳗鱼弧菌和美人鱼弧菌移入了李斯特氏菌属,1986 年获得公认,但不久美人鱼李斯特氏菌又移入发光杆菌属中。

气单胞菌属的分类研究很不充分,对鲑致病的气单胞菌与其它单胞菌不同,无动力,在 5 生长,37 不生长,能发酵葡萄糖产生少量气体,因此曾提出归入坏死气单胞菌属,但提案现未能通过,至今仍称为杀鲑气单胞菌。

邻单胞菌属的定义十分明确,属内的菌种是单一的。大多数类志贺邻单胞菌属与宋内氏志贺氏菌型诊断血清发生凝集,可能在遗传学上同肠杆菌科的关系比气单胞菌和弧菌更密切。基于 DNA 的碱性排列不同,有人重新将气单胞菌从弧菌科分开,另设气单胞菌科。在该菌科中,包括弧菌属,发光杆菌属,也包括李斯特氏菌属及第瓦氏菌属。后者无致病性,一部分菌种从前包括在丛胞菌属中。^[2,3]

尽管对一些菌属的归属仍有争议,但从细菌学检验的目的考虑,在日常工作中应将弧菌属、气单胞菌属及邻单胞菌属加以区别。

2 弧菌属的鉴定 至 1994 年属内有效发表的种已有 34 个,目前还在增加,但多数菌种尚未从临床分离到。它们生长时需要 NaCl,其浓度因菌种性状而异。霍乱弧菌、梅氏弧菌、拟态弧菌、河弧菌、少女鱼弧菌及鲑鱼李斯特氏菌中的部分菌株可在最适浓度以下及无盐胨水中生长。但解藻朊酸弧菌与副溶血性弧菌等好盐性海洋菌种都能耐受 6%~8% 的氯化钠浓度。精氨酸阳性的弧菌与气单胞菌鉴别可根据对氯化钠的要求不同。通常认为,霍乱弧菌或与海产品相关的海水细菌中的副溶血性弧菌能引起肠道感染,而其它许多弧菌菌种是引发散发腹泻的原因或是眼、耳与创伤感染的相关感染病原菌。^[4]

从食物及大便分离霍乱弧菌及其它弧菌,要同时作直接分离培养和增菌培养,已知作为肠道病原菌的所有弧菌都可以在 TCBS 上生长,它是国内外都公认的首选培养基,在此种培养基上 37 培养 24 h 后,将生长中等大小黄色菌落转种于普通琼脂,确认是纯培养后,再作霍乱 O₁ 血清凝集试验与氧化酶反应,但需进一步接种生化特征定属和定种。来自食物中毒相关的海产品及有关环境标本中分离的菌株,具有分散或游动生长倾向的大黄色菌落可能是

解藻朊酸弧菌,该菌具有嗜盐性,是一种分解几丁质的盐水细菌。在 TCBS 琼脂上出现绿色菌落的大部分是副溶血性弧菌。^[2,4]

分离培养弧菌,可先用 1%NaCl 胨水增菌,然后尽可能在早期从胨水表面将生长物种于 TCBS 琼脂或其它选择性琼脂培养基。但从食品及环境标本分离副溶血性弧菌时,应当使用多粘菌素氯化钠肉汤之类的选择性培养。从大便以及其它临床标本分离弧菌比较容易,因为菌种都能在血琼脂或其它非选择性培养基上生长。^[2~4]

3 弧菌之间以及类似菌属与菌种间的鉴别 见附表 1。

初步推测性鉴定,弧菌是发酵葡萄糖不产生气体,具有运动性的革兰氏阴性杆菌,对 0/129 敏感。除了不典型的梅氏弧菌之外氧化酶均阳性。所有弧菌的 DNA G+C mol % 为 38%~51%。大部分为单极毛。但有些特征在日常检验中几乎不明显。因此有必要进行 O-F-V-P 及糖发酵试验,精氨酸、赖氨酸及鸟氨酸试验,硝酸盐还原试验以及耐盐性等检查。

在霍乱弧菌分类上具有类似生化特征及共同的 H 抗原,遗传学上也具有密切关系的 O₁ 群和 O₁₃₉ 群为霍乱的病原菌。到目前为止,对霍乱毒素的性状已进行了许多研究,已确定其遗传基因。检验 DNA 探针已被开发研制,并用于毒素原性菌株的快速筛选。其它血清型大多数不产生霍乱毒素,非流行地区的 O₁ 株,特别是来自环境的菌株通常不具有霍乱毒素基因,称之为非 O₁ 群霍乱弧菌。^[5]

表 1 弧菌属、气单胞菌属、邻单胞的鉴定

| | | 霍乱 弧菌 | 河弧 菌 | 梅氏 弧菌 | 霍氏 弧菌 | 气单 胞菌 | 杀鲑气 单胞菌 | 类志贺 邻单胞菌 |
|------------|---|----------|---------|----------|----------|----------|------------|-------------|
| 37 生长 | | + | + | + | + | + | - | + |
| 动力 | | + | + | + | + | d | - | + |
| 氧化酶 | | + | + | - | + | + | + | + |
| 硝酸盐还原 | | + | + | - | + | + | + | + |
| 精氨酸 | | - | + | + | - | + | + | + |
| 赖氨酸 | | + | d | d | - | d | d | + |
| 鸟氨酸 | | d | - | - | - | - | - | + |
| 葡萄糖产气 | | - | d | - | - | d | w/- | - |
| 抵抗 | | | | | | | | |
| 0/129 10vg | d | d | - | d | + | + | + | d |
| 0/129 50vg | - | - | - | d | + | d | d | d |
| 9%NaCl 生长 | d | d | d | - | + | + | + | + |
| 6%NaCl 生长 | d | d | + | + | - | - | - | - |

非 O₁ 群霍乱弧菌分布在世界各含盐河口附近的水域,这些环境的菌株几乎都不产生霍乱毒素,不致于成为腹泻的病原菌。但毒素原性菌株却能长期

存活于水域中。非 O₁ 群霍乱弧菌有时可从散发的腹泻病例分离到,在霍乱流地区以及从温热带地方归国的病人中,分离率比 O₁ 株高许多倍,在我国已有非 O₁ 群霍乱弧菌引起肠炎的报道。^[6,7]

根据霍乱弧菌“O”抗原不同,用血清学方法将其分为 6 个“O”抗原群,认为 O₁ 群是真正的霍乱病原菌。阪崎等将其分成 83 个血清群,其中 O₁ 群是霍乱病原菌,其它菌称为非霍乱弧菌或非 O₁ 群霍乱弧菌。1984 年岛田等将霍乱弧菌分为 155 个“O”血清群,其中 O₁ 群和 O₁₃₉ 群为霍乱病原菌。O₁ 群的两个生物型含有共同的群特异抗原成分 A,同时它们有不同型的特异性抗原成分 B 和 C,所以两个生物型可分成 3 种血清型:小川型、稻叶型和彦岛型。由于后者容易发生血清型变异而成为稻叶或小川型,故又称之为不稳定型。^[12]

副溶血性弧菌和解藻朊酸弧菌是 2 个生物型不相同的耐盐性弧菌,是世界各国的温热沿海水域分布的细菌,感染此菌与食用不熟的鱼贝类有关,日本由此菌引起的食物中毒较多。从病人分离的菌株神奈川现象多为阳性,而从环境及鱼贝类分离者多数为阴性。近年来在国内外均有解藻朊酸弧菌的报导。^[8]

拟态弧菌与霍乱弧菌具有共同的 H 抗原。原来认定它是霍乱弧菌的一个蔗糖阴性变异株,后经 DNA 杂交等一系列研究定为一个新种。它常常从食用鱼贝类引起散发腹泻的患者分离到,其肠道毒素原性与非 O₁ 群霍乱弧菌以及由该菌引起的腹泻及食物中毒国内外已有报导。^[9]

河流弧菌过去曾称为 F 群或“CDCEF”6 群,它是一种嗜盐性弧菌。分为 (不产气) 及 (产气) 2 个生物型,生物型 后来通过 DNA 杂交等定为一个新种—弗尼斯弧菌。不产气生物型的沙弧菌分布在世界各地的河、海水中,对肠道致病性的研究正在进行中,致病机制尚未阐明。^[10]

弗尼斯弧菌与河弧菌的形态相近。很少从腹泻病分离到。它与河弧菌的鉴别点是糖类产气。不久前发现,使用羊血琼脂从大便分离嗜盐性的霍乱弧菌时,因在 TCBS 琼脂及 Macconkey 琼脂等肠道致病菌用的选择性培养基上不生长,有可能将它漏掉,致使对其病原性研究有所忽视。解藻朊酸弧菌,梅氏弧菌一类的菌种很少从大便中分离到,同时与腹泻的关系尚未明了。^[11]

除了哈氏弧菌,需纳弧菌和鳗弧菌以外的嗜盐性菌种均在创伤感染表面分离到。创伤弧菌是一种“乳糖阳性弧菌”,它是创伤感染或败血症的一种病原菌,发酵水阳素熊果苷。1986 年新发现的辛辛那提弧菌最初从脑膜炎病人的血液和脑脊液中分离到,与此相类似的细菌目前已从动物大便中分离到。^[11]

4 弧菌及近似菌的鉴定 弧菌及近似菌的研究进展如上所述,其鉴定方法即利用 TCBS 琼脂平板上的菌落形态结合耐盐试验等简易推断鉴定。这个程序已经在各级检测部门及临床化验室应用。

编码鉴定已推广应用,如法国梅立埃公司生产的 API—20E 生化系列鉴定培养基进行编码鉴定,可以对致病性弧菌及近似菌在短时间内作出鉴定。

参考文献:

- [1] Bergey's. Manual of systematic Bacteriology[M]. London: Williams and Wilkins Baltimore, 1984, 284.
- [2] 徐迪诚. 感染性腹泻的细菌[A]. 见:微生物分类和鉴定技术进展. 北京:光明日报出版社, 1989, 291—296.
- [3] 徐迪诚,蔡妙英. 革兰氏阴性杆菌新编码鉴定手册[M]. 哈尔滨:黑龙江科学技术出版社, 1994, 603.
- [4] 李仲兴,郑家齐,李家宏. 诊断细菌学[M]. 香港:黄河文化出版社, 1992, 671—672.
- [5] 赵惠敏,陈天寿. 我国首次分离到抗 O/129 非 O₁ 群霍乱弧菌[J]. 疾病监测, 1993, 8(4): 91.
- [6] 赵惠敏. 1992 年与 1993 年我院分离的抗 O/129 非 O₁ 群霍乱弧菌特性的比较[J]. 疾病监测, 1994, 9(8): 217—218.
- [7] 林均符. VBO₅₁ 型非 O₁ 群霍乱弧菌引起的食物中毒[J]. 中华流行病学杂志, 1993, 14: 106.
- [8] 纪舒萍,纪奎滨,杨署伏,等. 溶藻弧菌引起食物中毒的病原学研究[J]. 中华预防医学杂志, 1989, 71—73.
- [9] 纪舒萍,黄明越,李连洁,等. 拟态弧菌食物中毒病原学分析[J]. 中国卫生检验杂志, 1996, (6): 341—342.
- [10] 久保势津子. Vibrio 科检查と技术—感染症の検査法[M]. 1989, 801—802.
- [11] John G. Holt Noel R. Krieg, et al. Bergey's manual of determinative bacteriology [M]. Ninth Edition Williams and Wilkins. Baltimore, 1994, 190—193.
- [12] 日本细菌学教育委员会. 新 7 分类学 7 伴走す細菌同定法[M]. 日本薬根出版, 1987, 14—25.

[收稿日期:2001 - 08 - 29]

中图分类号:R15, R117; R378.3 文献标识码:C 文章编号:1004 - 8456(2002)02 - 0047 - 03