

气单胞菌生态学分布研究概况

刘金玉^{1,2}, 李爱华¹, 杨五名^{1,2}

(1. 中国科学院水生生物研究所, 淡水生态与生物技术国家重点实验室, 湖北 武汉 430072; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100039)

摘要:通过研究近年来国内外学者关于气单胞菌(*Aeromonas spp.*)生态学分布方面的研究现状,发现气单胞菌在各种水体、生鲜食品、软体动物、鱼类、两栖类、畜、禽以及人体内以正常的微生态菌群的组分或病原细菌的形式分布,分布频率有较大差异;主要环境影响因子包括温度、pH值、盐度、水活度等。气单胞菌具有多种毒力基因,不同菌株毒力基因组合各不相同,致病能力也有较大差别;毒力基因的表达也受多种因素影响。作为条件致病菌,气单胞菌的生态学分布研究还需进一步开展,进而为其流行病学研究提供基础依据。[中国水产科学,2007,14(7):129-137]

关键词:气单胞菌;生态学;分布

中图分类号:Q938.1

文献标识码:A

文章编号:1005-8737-(2007)07-129-09

气单胞菌属细菌(*Aeromonas spp.*)隶属于气单胞菌科。嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)和其他运动性气单胞菌是水环境内分布最为广泛的细菌之一,在世界各地的淡水、咸水淤泥和污水等环境中广泛存在^[1]。气单胞菌的生物学特性极具多样性,生长温度范围较宽,对营养要求差异巨大,生化特征复杂多变。菌体为杆状,革兰氏染色阴性,极端单鞭毛,无芽孢,兼性厌氧,有机化能营养,氧化和发酵代谢。

气单胞菌包括运动、嗜温的嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)、豚鼠气单胞菌(*Aeromonas caviae*)、温和气单胞菌(*Aeromonas sobria*)、维隆气单胞菌(*Aeromonas veronii*)和舒伯特气单胞菌(*Aeromonas schubertii*),以及非运动性、嗜冷的杀鲑气单胞菌(*Aeromonas salmonicida*)。杀鲑气单胞菌是鱼类专有病原,还没有人感染的报道^[2]。有些嗜温种类是典型的人-兽-鱼共患病病原菌,如嗜水气单胞菌,受到医学界、兽医学界和水产学界的广泛关注^[3]。在国内对气单胞菌的研究主要集中在对水产动物致病性及致病机制方面,对气单胞菌的流行病学研究较少。已经确认有些气单胞菌的种类如嗜水气单胞菌可引起人类肠道内和肠道外感染,肠道内感染主要表现为腹泻,肠道外感染可引起软组织炎症和败血症,

偶尔还可引起心内膜炎、脑膜炎、肺炎、骨髓炎、腹膜炎等。同时也是某些鱼类、两栖类、爬行类、哺乳类等的重要病原,常引起重大的经济损失^[4]。

基于气单胞菌在生产实践、基础研究和公共卫生的意义,有必要开展其流行病学的研究。本文仅结合相关资料对气单胞菌的生态分布、影响因子及其致病作用作一简介,以求为气单胞菌流行病学研究提供借鉴。

1 生态分布

气单胞菌为水生菌,广泛分布于淡水环境中,池、塘、涧、江、河、湖、泊和邻海河口水、水中沉积物及污水、土壤和水生物中均有存在。在食品中气单胞菌也是普遍存在的。近年发现,一些非水栖动物,如鸟类、爬行类、哺乳类等亦能携带此菌,成为其宿主。人的肠道中偶尔也有此菌存在。

1.1 在水体中的分布

在地表水、地下水、饮用水、瓶装水、污水、灌溉水、海水及河口水中均发现有气单胞菌存在,但其分布存在明显差异。Gibotti 等^[4]研究了从巴西 Parana Cambe 河水中分离到的 32 株不同血清群的嗜水气单胞菌、豚鼠气单胞菌和温和气单胞菌,发现这些菌株均能溶解绵羊红细胞,其中嗜水气单胞菌、

收稿日期:2007-01-25; 修订日期:2007-05-10。

基金项目:国家自然科学基金项目资助(30670112);广东省中山市科技攻关项目(2005019)。

作者简介:刘金玉(1984-),女,硕士生,主要研究方向:鱼类微生物学。E-mail: liujinyu5134@sina.com

通讯作者:李爱华。Tel:027-68780053; E-mail: liaihua@ihb.ac.cn

温和气单胞菌可产生 β 溶血，豚鼠气单胞菌为 α 溶血。3种气单胞菌中均有少数菌株能产生肠毒素；除少数菌株外，均能凝集人和豚鼠红细胞，温和气单胞菌还能凝集马红细胞。作者认为，河水中检出气单胞菌对人类健康存在潜在威胁。Nakano等^[5]采集了2000多份河流和海洋的表层水样，从中分离鉴定出3个种类的气单胞菌，发现嗜水气单胞菌在相对清澈的河流水中分布较多，而温和气单胞菌在静止的水域相对较多，豚鼠气单胞菌在海水中分布相对较多。

在饮用水分布系统中，众多气单胞菌菌株在水源处被频繁发现，虽然气单胞菌含量显著低于10 CFU/mL，但仍呈生长状态^[6-7]。Huys等^[8]从饮用水中分离到波氏气单胞菌(*Aeromonas popoffii*)，Figueras等^[9]从饮用水中分离到*Aeromonas culicicola*。Gavriel等^[10]研究了苏格兰饮用水中气单胞菌的分布及其与氯浓度、温度、pH值、降水的关系，发现经氯气消毒的水库中仍有气单胞菌存在，气单胞菌的恢复与降水量相关。Massa等^[11]研究了意大利天然矿泉水及井水中气单胞菌的分布状况，发现在60处天然矿泉水中检测到气单胞菌，在20份井水样品中5份发现有气单胞菌存在，其密度范围在26~1609 CFU/250 mL。这些气单胞菌的发现与粪便污染指示菌(faeces pollution index bacteria)并无关联。从井水分离物中还检测到气单胞菌的毒力因子溶血素(Hemolysin)和气溶素(Aerolysin)。由于缺乏系统的研究，这些发现的临床重要性及流行病学意义不得而知。Ivanova等^[12]在俄罗斯一处遭粪便污染的地表饮用水库中分离到维隆气单胞菌温和生物型(*Aeromonas veronii* biovar *sobria*)和波氏气单胞菌。有报道^[13]显示，肠胃炎与患者饮用水中含有气单胞菌相关。但是气单胞菌在各地饮用水中的分布各不相同，对人的致病性还没有建立确切的统计学关系，对气单胞菌的流行病学研究资料较少。许多问题尚未得到解决，如：饮用水中哪些种类的气单胞菌对人有致病性、如何迅速检测、达到多大密度范围才会有致病性、产生什么毒力因子、致病机制怎样、如何预防等等。这些问题的阐明将会从公共卫生学角度给人类健康带来帮助。

在污水中，气单胞菌分布更普遍^[14]。Maalej等^[15]研究了城市污水和沿海水中气单胞菌的分布状况：城市污水中，气单胞菌的分布与大肠菌群相

似，在冬季达到最大值(2.2×10^8 CFU/100 mL)，在夏季达到最低水平；在沿海水中，气单胞菌在夏季达到最大值(7.9×10^3 CFU/100 mL)，其最低水平难以检测到，只有在太阳辐射最强、水浊度最低时才会出现。由于粪便污染指示菌与气单胞菌缺乏相关性，所以粪便指示菌并不能指示气单胞菌是否在环境中存在。王豫林等^[16]研究发现，在32份城市污水和污泥标本中，检测出气单胞菌25株，检出率78.1%。Pianetti等^[17]研究发现灌溉水中的气单胞菌密度达 $10^2 \sim 10^4$ CFU/mL，灌溉水可能会污染水果和蔬菜。Soler等^[18]研究发现，波氏气单胞菌在淡水和海水中普遍存在。

由上述资料可以看出，气单胞菌是水生态系统中的土著成员。目前对气单胞菌的研究主要集中在定性分析方面，定量研究资料较少，各种气单胞菌的分布还没有系统地量化。环境中气单胞菌的存在量对人类健康的影响也有待于进一步深化研究。

1.2 在食品中的分布

气单胞菌在生鲜食品中存在普遍，尤其是绿色蔬菜。McMahon等^[19]利用富集方法对86份蔬菜样品中细菌的含量进行研究发现，所检测蔬菜中34%含有气单胞菌，即食蔬菜中41%含有气单胞菌，其中舒伯特气单胞菌含量最高，达21.0%，以下依次为嗜水气单胞菌(5.8%)、脆弱气单胞菌(*Aeromonas trota*) (5.8%)、豚鼠气单胞菌(3.5%)、维隆气单胞菌维隆生物型(2.3%)。绿色蔬菜中气单胞菌的高含量可能与所用灌溉水中有气单胞菌存在相关，其相关程度有待于深入研究。肉类、生牛奶、冰激凌和海产食品也发现有气单胞菌存在。Ibrahim等^[20]研究气单胞菌在牛肉、羊肉、猪肉和牛奶样品中的分布状况，发现检出频率较高，分别为60%、58%、74%、26%。Neyts等^[21]研究了68份食物样品嗜温气单胞菌的分布状况，发现26%的蔬菜、70%的肉类及72%的鱼虾含有气单胞菌，数量均在 $10^2 \sim 10^5$ CFU/g之间。Ottaviani等^[22]研究了亚得里亚海岸贻贝中致病性气单胞菌的分布，在144份分离物中检出32株气单胞菌，检出率达22.2%，其中12株气单胞菌对小鼠有毒性。

气单胞菌自1984年就被认为是潜在的食物传播病原^[23]，但至今几乎没有发现由食物传播导致气单胞菌疾病暴发的相关报道。食物中气单胞菌的高检出频率对人类健康是否存在潜在威胁，威胁程度如何，对人类是否具有致病性，这些问题还有待于进

行更深入的研究。

1.3 在动物中的分布

气单胞菌的研究历史是从青蛙“红腿病”病原研究开始的^[24], 被认定为动物病原体^[25]。许多种动物都可以携带此类细菌, 成为宿主, 致病或不致病。多种鱼类都可染上此类细菌, 如鲫、鳊、鲮、鲤、鲢、鳙、草鱼、香鱼、鳟、尼罗非鱼、鲶、黄鳝、乌鳢、鳗、鳜、剑尾鱼等。虹鳟是鲑鳟中对气单胞菌最敏感的种类之一。尽管运动性气单胞菌作为鱼类病原菌而倍受贬斥, 但这类细菌也是健康鱼的正常肠道微生物区系的组成部分^[26]。因此, 这类细菌的出现并不能作为鱼患病的指示。胁迫应激经常被认为是促成这类细菌导致的疾病暴发的一个重要因子。胁迫因子、肠道正常菌群的失调, 以及鱼类的环境参数及生理参数共同作用可导致疾病的暴发。杀鲑气单胞菌和嗜水气单胞菌能使鱼类患出血病、溃疡病、疥疮病、红痛病、败血病。

曾勇等^[27]对暴发性鱼病流行季节及非发病季节的健康草鱼肠道气单胞菌的分布研究表明, 两者气单胞菌占总菌数的比例变化不大, 分别为 11.7% 和 13.12%, 只是冬季气单胞菌比例略显增高。但其在肠道内的分布有一定变化: 在进食高峰期, 前肠壁和后肠壁的气单胞菌占总菌数的比例基本相等, 为 12% 左右; 冬季停食阶段, 前肠壁的气单胞菌占总菌数的比例明显增高, 为 23.77%; 同时, 进食高峰期的前、中、后肠壁的总菌量依次相差 2 个数量级, 后肠壁的最高, 冬季停食期则基本相等。Eisa 等^[28]曾报道, 运动性气单胞菌败血症的流行率在饲养的及野生的尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 中分别为 10.0%、2.5%; 而在饲养的和野生的鲇 (*Karmout catfish*) 中的流行率分别为 18.75% 和 6.25%。董传甫等^[29]应用生化鉴定和 PCR 技术研究了福建鱼源气单胞菌, 共分离鉴定气单胞菌 115 株, 其中嗜水气单胞菌 69 株, 占分离菌总数的 60%, 具有相当的优势; 温和气单胞菌 29 株, 豚鼠气单胞菌 2 株, 未定种气单胞菌 15 株。

气单胞菌在爬行类和两栖类动物中也有分布。Gosling^[25]报道从患病的龟和短吻鳄中分离出嗜水气单胞菌。蛙红腿病就是由嗜水气单胞菌引起的, 这是人类最早发现的由气单胞菌引起的动物疾病。在鸟类粪便中也分离到气单胞菌, 气单胞菌可能会导致禽类败血症^[30]。在哺乳动物中也有气单胞菌

的存在。Gray^[31]从正常的马、猪、羊、牛的粪便中分离到嗜水气单胞菌。这可能是因为它们的食物和饮用水中有气单胞菌存在。Hathcock 等^[32]从健康的牛和猪的粪便、窝草、饮用水中分离到气单胞菌, 发现健康的和患病的动物粪便中都有气单胞菌排出。许新强等^[33]报道, 杭州动物园 38 种观赏动物中有 14 中检出气单胞菌, 包括天鹅、丹顶鹤、猴子、狮子等。

许多无脊椎动物也是气单胞菌的宿主。Nayduch 等^[34]在美国南卡罗来纳农场的普通苍蝇体内发现了温和气单胞菌; Gu 等^[35]从斑马贻贝中分离出中间气单胞菌 (*Aeromonas media*)、维隆气单胞菌、杀鲑气单胞菌。人工养殖的三角帆蚌在 5~7 月易被嗜水气单胞菌感染, 发病严重。Snower 等^[36]报道水蛭疗法会导致蜂窝织炎和败血症, 这可能是因为药用水蛭与维隆气单胞菌温和生物型菌株共生^[37]。值得注意的是, Chowdhury 等^[38]在日本冈山县进行的研究结果显示, 在各个季节, 气单胞菌在淡水、半咸水和海水等水环境中的浮游生物中普遍存在, 并且密度高于其在水样品中的密度。

气单胞菌在动物中分布广泛, 患病的和健康的动物中都有分布, 但在患病动物分布频率显著高于健康动物。作为动物体内的正常微生物区系组分, 在动物发病过程中, 气单胞菌发挥了何种作用; 只是数量增加导致患病还是由于其他缘故; 是否有毒力因子参与; 是气单胞菌独立致病还是与其他病原微生物共同致病; 不同的动物, 其发病机制是否一致。这些问题的解决将推动气单胞菌流行病学研究的进一步发展。

1.4 在人群中的分布

近年来, 国内外许多资料表明, 气单胞菌在患急性腹泻的病人中检出率高低不一, 但显著高于健康人, 并发现了一些特殊的毒力因子, 其病原学意义已得到肯定。Dumontet 等^[39]认为, 由于地区差异、人群易感性、饮食习惯、公共卫生设施水平和培养方法的不同, 气单胞菌在人类粪便标本中的检出率也有很大差别^[23]。但在患病和未患病的人群肠道中都发现有气单胞菌存在。

在发达国家, 无临床症状的人群粪便中气单胞菌的检出率为 0~4%^[40], 而在腹泻病患者中的检出率为 0.8% ~ 7.4%^[41]。在东南亚, Pazzaglia 等^[42]报道气单胞菌在无症状人群中的携带率高达 27.5%, 腹泻病人检出率达 34%; 在香港只有 6.9%

的患急性腹泻的成年病人携带有气单胞菌^[43]。Kannan 等^[44]研究了从印度临床标本中分离出的气单胞菌,嗜水气单胞菌占 59.3%,温和气单胞菌占 18.7%,维隆气单胞菌占 10.9%,舒伯特气单胞菌占 4.6%,简达气单胞菌 (*Aeromonas jandaei*) 占 3.1%,脆弱气单胞菌 (*Aeromonas trota*) 占 3.1%。Wu 等^[45]研究了从台湾南部临床标本中分离出的气单胞菌分布状况,发现嗜水气单胞菌占 52%,温和气单胞菌占 24%,豚鼠气单胞菌占 23%。王潭枫等^[46]从广州地区肠道门诊 1 168 例急性腹泻患者中检出气单胞菌 161 株,检出率达 13.8%,其中温和气单胞菌占 52.2%,嗜水气单胞菌占 35.4%,豚鼠气单胞菌占 10.6%。张勇刚等^[47]对安徽省马鞍山市 560 例急性腹泻患者粪便进行病原菌检测,气单胞菌的检出率为 13.04%,高于致贺氏菌属 (11.61%)、沙门氏菌属 (2.68%) 和弧菌属 (6.4%)。Adamski 等^[48]报道了芬兰 1 例因感染嗜水气单胞菌导致死亡的事件:患者在剔淡水鱼骨时刺伤手部,伤口感染导致蜂窝组织炎、骨疽、脓血症,4 d 后患者死亡。Balaji 等^[49]在研究中发现,从环境中分离的 36 株气单胞菌全部对 Vero 细胞有毒性,这些菌株主要包括嗜水气单胞菌、维隆气单胞菌温和生物型和豚鼠气单胞菌。这表明气单胞菌对人的生命健康造成严重威胁,其公共卫生学意义值得深究,有必要对其致病性及致病机理做更深入的研究。

气单胞菌在人群肠道菌群中具有一定的分布频率,各地数据有一定差异,但是嗜水气单胞菌和温和气单胞菌的存在更为普遍,所占比例也较大,对人具有较强的致病性。但气单胞菌究竟是原发性感染还是继发性感染,还是与其他细菌的混合感染,还需要进行系统的专门研究。

1.5 毒力基因分布

气单胞菌有致病性菌株和非致病性菌株之别。致病性气单胞菌具有多种毒力基因,与致病性直接相关的至少有细胞毒肠毒素 /溶血素 /气溶素 (Ac / hlyA /aerA)、细胞紧张性肠毒素 (alt 和 ast)、弹性蛋白酶 (ahyB)、鞭毛蛋白 (fla) 和脂肪酶 (lip) 等^[50-52],其中几种肠毒素基因被认为是最关键的,但仅有它们还不足以产生毒力。病原体定居、黏附、随后感染宿主的能力是疾病发生的第一步。因此,运动性气单胞菌产生的黏附和侵袭肠黏膜的因子(如鞭毛蛋白)也是细菌毒力的重要因素,也是其致

病性的基本要求^[6]。

Cascon 等^[51]克隆出嗜水气单胞菌的编码弹性蛋白水解活性的弹性蛋白酶基因 (ahyB),该基因先合成前蛋白,在进一步形成成熟的蛋白酶和 C 肽。该蛋白酶能水解酪蛋白、弹性蛋白,与其他的金属蛋白酶有高度的序列相似性。Zhang 等^[53]利用分子分析法研究了毒性和无毒嗜水气单胞菌的遗传学差异,结果证实嗜水气单胞菌的毒力依赖于多种毒力因子的多重性分布。还表明,在大多数毒性菌株中都存在 22DNA 片段,这些基因编码 5 种毒力因子,包括溶血素 (hlyA)、蛋白酶 (寡肽 A)、外膜蛋白 (Omp)、多重抗性蛋白和组蛋白类似物 (HU-2),在被检测的无毒嗜水气单胞菌中也大量存在相似的片段。Sen 等^[6]研究了分离于美国市政饮用水中气单胞菌的 6 种毒力基因的分布状况。结果发现在 205 株菌株中,这些基因分布的频率分别为 88% (ahyB)、88% (lip)、59% (fla)、43% (alt)、70% (act)、30% (ast),只有 1 株气单胞菌具有全部的 6 种毒力基因,其他菌株具有各不相同的毒力基因组合。饮用水中具有毒力相关基因的气单胞菌的存在对人类健康造成一定的隐患。Abdullah 等^[54]研究了 52 株分离于鸡肉的气单胞菌,检测到溶血素基因 (hlyA) 和肠毒素基因 (alt),检出率分别为 77% 和 75%。

朱大玲等^[55]研究鱼源嗜水气单胞菌毒力基因分布,发现 3 种基因 (aerA、hlyA、ahpA) 的出现率分别为 66.7%、88.9%、77.8%,ahpA 菌株是无毒株;基因型为 aerA⁺ hlyA⁺ ahpA⁺ 的菌株都是有毒株,是致病性嗜水气单胞菌的主要基因型;ahpA 阳性菌株皆为毒力菌株。Wu 等^[45]研究台湾南部气单胞菌的临床分离物发现,116 份菌株中 62% 的气单胞菌导致显著的临床症状,如菌血症、软组织感染、肝胆管感染;但是却发现气单胞菌的 8 种毒力因子:溶细胞肠毒素 (cytolytic enterotoxin)、气溶素 (aerolysin)、溶血素 (hemolysin)、热敏感肠毒素 (enterotoxin)、热稳定肠毒素 (enterotoxin)、III 型分泌系统组分 (type III secretion system, TTSS) 与其侵入机体及菌血症无关。

目前,毒力基因的出现与致病性之间的关系还没有建立,具有毒力基因不一定有致病性;不同致病性菌株常具有不同组合的毒力基因^[6],这也提示还可能存在目前未知的关键毒力基因。许多资料显示,非致病性气单胞菌菌株也携带有不同的毒力基

因组合^[53~55]。那么非致病性气单胞菌所携带的毒力基因在环境中有何作用,是不是有可能像霍乱弧菌一样,成为毒力基因库(*Virulence gene pool*)^[56],在某些条件下进行种间或种内的水平转移,从而产生强致病性菌株?有人推测,非致病性菌株可能是致病性菌株的前体,或者说可能参与到基因转移事件中,从而导致强致病性菌株的出现。通过水平转移获得毒力基因簇似乎是致病性菌株的形成所必需的^[57]。所以,有必要对无毒气单胞菌菌株和具有不同毒力的气单胞菌菌株进行系统发育分析,进而研究它们之间的进化关系,阐明环境中致病性菌株的发育进程和获得毒力基因的机制。

综上所述,气单胞菌属细菌在各种水体、生鲜食品、软体动物、鱼类、两栖类、畜、禽以及人体内以正常的微生态菌群的组分或病原细菌的形式分布,广泛而复杂,毒力基因分布更是扑朔迷离。作为条件性病原细菌,气单胞菌可以使许多动物致病,也是人类的病原细菌之一。但是气单胞菌的存在并不代表疾病的发生,即气单胞菌与动物疾病间的统计学关系还远未明确。作者认为,仅对气单胞菌进行定性分析是远远不够的,有必要利用分子生物学技术手段建立气单胞菌的快速检测方法及其毒力基因的快速检测技术,进而对气单胞菌进行定量分析,阐明气单胞菌与动物疾病的数量关系。

2 影响因子

气单胞菌分布范围广泛,这与其较强的适应能力是相关的,气单胞菌生存的自然环境的温度、pH值、盐度、水活度等都具有较宽的范围。但环境因子对气单胞菌的生态学分布也是有影响的。

2.1 温度

温度是气单胞菌生存的重要影响因子。气单胞菌一般能在0~45℃范围内生长,最适温度为22~32℃。Knochel^[58]研究发现临床菌株与环境菌株的生长温度具有差异:在4~5℃,只有近半数的临床菌株表现微弱生长,而所有环境菌株都正常生长;大多数临床菌株能在42℃下生长,而分离自5℃保存的蔬菜中的菌株只有少数能在高温下生长;而一些分离自冷水中的气单胞菌在37℃不生长。Nishikawa等^[59]研究发现,与其他食物传播病原相比,气单胞菌具有热敏感性:气单胞菌在55℃的蛋白胨水中只能存活2 min,而其他细菌能存活15 min以上,这些发现意味着气单胞菌污染可以通过热处理清除。温度对气

单胞菌的季节分布也有一定影响, Lee等^[60]利用基于PCR的限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)方法研究了分离自韩国4个鳟场的气单胞菌的季节性变化,发现气单胞菌在五月份和八月份的水平均高于一月份和十一月份的水平,其中杀鲑气单胞菌是一月份和十一月份的优势种类,致病性菌株嗜水气单胞菌、豚鼠气单胞菌和维隆气单胞菌的比例在五月份和八月份上升。温度对气单胞菌毒力基因的表达也具有显著的影响。胡靖等^[61]研究发现:4种毒力基因溶血素(*hlyA*)、气溶素(*aerA*)、外膜蛋白(*Omp*)和黏附素(*aha*)在15℃、25℃和37℃下均能高效表达,在4℃下溶血素(*hlyA*)和气溶素(*aerA*)两基因能持续表达,但外膜蛋白(*Omp*)和黏附素(*aha*)两基因表达停止。

2.2 pH值

气单胞菌能够生长的pH值范围较宽,为5~11;在pH7~9生长最好^[62]。根据这一特性,可以利用pH8.6的碱性胨水对气单胞菌进行富集培养。Sautour等^[63]研究发现,pH值在5~9范围内的改变不会对嗜水气单胞菌的生存造成影响;在pH值低于3.5时,嗜水气单胞菌对酸敏感;而长期生存于低pH值环境中的菌株会产生酸应激效应。pH值对气单胞菌毒力基因的表达也具有显著影响。胡靖等^[61]研究发现,在中性或偏酸性条件下(pH5.0和pH7.0),4种毒力基因溶血素(*hlyA*)、气溶素(*aerA*)、外膜蛋白(*Omp*)和黏附素(*aha*)都得以表达,在碱性条件下(pH9.0),只有溶血素基因(*hlyA*)得以表达,其他3个基因表达减弱或停止。

2.3 盐度

气单胞菌在高盐度环境中存活力较低。Brandi等^[64]曾采用有毒力的嗜水气单胞菌、豚鼠气单胞菌、温和气单胞菌污染不同类型的水样进行存活情况观察,结果在海水中3种气单胞菌均迅速减少,约第2天菌数减少90%。Delamare等^[65]对15株气单胞菌的耐盐性进行研究,在不同NaCl浓度(mol/L)中气单胞菌存活情况如下:无盐、0.08~0.34 mol/L NaCl SA培养基中试验菌株在24 h内均生长;在0.51 mol/L NaCl SA培养基中,有12株生长,杀鲑气单胞菌、温和气单胞菌和小鱼气单胞菌(*Aeromonas ichthiosmia*)等3株不生长;在0.68 mol/L NaCl SA中,有9株生长,6株不生长;0.85 mol/L NaCl SA中,只有肠棕气单胞菌(*Aeromonas enteropelogenes*)和脆弱气单胞菌生长;在1.02 mol/L NaCl SA中,

脆弱气单胞菌 48 h 仍能生长; 在 1.71 mol/L NaCl SA 中全部试验菌株均不生长。Vivekananndhan 等^[62]研究发现, 嗜水气单胞菌在 NaCl 质量分数界于 0.5%~2% 时表现出一定程度的生长, 4% NaCl 有少许生长, 5% NaCl 均不生长。上述研究成果可望在食品保存中获得应用。

其他一些因素, 如 CO₂ 浓度、辐射、营养、水活度等也会对气单胞菌的生存产生影响。可见光和紫外线产生的光氧化作用对气单胞菌具有极强的杀灭作用。Liltved 等^[66]研究发现, 杀鲑气单胞菌在太阳光下暴露 2 h 就会减少 99.9%。Golden 等^[67]发现高水平 CO₂ (94%~99%) 会显著影响气单胞菌的生长和生存。

3 展望

在水产养殖上, 气单胞菌可引起淡水养殖鱼类的大面积暴发性死亡(俗称“暴发病”)。通常认为气单胞菌只有中等毒力, 属于条件性致病菌。条件致病性的理论虽然可以解释零星的或者局部的感染死亡病例, 这是因为不同个体的抗病力的确存在差异, 但无法解释大面积的暴发性死亡, 因为所有个体的抗病力不可能同时出现问题, 而且在“暴发病”发生期间可以从病鱼体内分离到具有原发致病特征的强毒株(鲫的 LD₅₀ = 3 × 10² CFU)^[68]。所以, “暴发病”的发生机制一直不得其解。既然气单胞是水生生态系统和水生动物肠道中的常居菌, 那么暴发性感染如何发生? 这些强毒菌株从何而来? 一种可能的解释是, 强致病性菌株原本也是水环境中常居菌, 平时因密度太低, 不足以引发疾病, 但在某些未知的生态条件发生变化时, 就将这些强致病性菌株选择了出来, 并使其迅速繁殖和扩散。第 2 种可能的解释是, 像霍乱弧菌那样, 这些强致病性菌株是常居菌发生某种转化的结果, 然后在宿主体内进行繁殖, 最后扩散到整个系统中^[69]。要解答这个问题, 唯有借助分子生物学技术手段, 从基因水平进行深层次的分析研究。

为了追踪致病性气单胞菌菌株出现过程中所发生的进化事件, 有必要对无毒菌株和具有不同毒力的菌株进行系统发育分析, 特别是分析来自同一养殖系统、不同生态位上菌株的毒力基因的同源性, 只有这样才有可能揭示气单胞菌感染的发生机制, 为气单胞菌相关疾病, 特别是“暴发病”的防治提供理论依据, 并因此将鱼病流行病学的研究提升到一个

新的发展水平。也为人类公共卫生学事业提供一定的理论依据和实践帮助。

参考文献:

- [1] Holmes P, Nicolls L M, Sartory D P. The ecology of mesophilic Aeromonas in aquatic environment [M]. In: Austin B, Altwein M, Gosling P & Joseph S W. The Genus Aeromonas, New York: John Wiley & Sons, 1996: 39~76.
- [2] 陆承平.致病性嗜水气单胞菌及其所致鱼病综述 [J].水产学报, 1992, 16: 282~288.
- [3] 郭闯, 王永坤.嗜水气单胞菌研究进展 [J].水产科学, 2003, 22: 48~51.
- [4] Gibotti A, Saridakis H O, Pelayo J S, et al. Prevalence and virulence properties of *Vibrio Cholerae* non-O1, *Aeromonas* sp. and *Plesiomonas shigelloides* isolated from Cambe Stream (State of parana, Brazil) [J]. J Appl Microbiol, 2000, 89: 70~75.
- [5] Nakano H, Kameyama T, Venkateswaran K, et al. Distribution and characterization of hemolytic, and enteropathogenic motile *Aeromonas* in aquatic environment [J]. Microbiol Immunol, 1990, 34 (5): 447~58.
- [6] Sen K, Rodgers M. Distribution of six virulence factors in *Aeromonas* species isolated from US drinking water utilities: a PCR identification [J]. J Appl Microbiol, 2004, 97: 1 077~1 086.
- [7] Van der Kooij D. Nutritional requirements of *Aeromonads* and their multiplication in drinking water [J]. Experientia, 1991, 47 (5): 444~446.
- [8] Huys G, Kampfer P, Altwein M, et al. *Aeromonas popoffii* sp. nov., a mesophilic bacterium isolated from drinking water production plants and reservoirs [J]. Int J Syst Bacteriol, 1997, 47 (4): 1 165~1 171.
- [9] Figueras M J, Suarez-Franquet A, Chacon M R, et al. First record of the rare species *Aeromonas culicicola* from a drinking water supply [J]. Appl Environ Microbiol, 2005, 71 (1): 538~541.
- [10] Gavriel A A, Landre J P, Lamb A J. Incidence of mesophilic *Aeromonas* within a public drinking water supply in north-east Scotland [J]. J Appl Microbiol, 1998, 84 (3): 383~392.
- [11] Massa S, Altieri C, Angela A D. The occurrence of *Aeromonas* spp. In natural mineral water and well water [J]. Int J Food Microbiol, 2001, 63 (1~2): 169~173.
- [12] Ivanova E P, Zhukova N V, Gorshkova N M, et al. Characterization of *Aeromonas* and *Vibrio* species isolated from a drinking water reservoir [J]. J Appl Microbiol, 2001, 90 (6): 919~927.
- [13] Borchardt M A, Stempor M E, Stoddridge J H. *Aeromonas* isolates from human diarrheic stool and ground water compared by pulsed-field gel electrophoresis [J]. Emery Infect Dis, 2003, 9: 224~228.
- [14] Kampfer P, Erhart R, Beimfohr C, et al. Characterization of bacterial communities from activated sludge: culture-dependent numerical identification versus in situ identification using group-and

- genus-specific rRNA-targeted oligonucleotide probes [J]. *Microbiol Ecol*, 1996, 32(1): 101–121.
- [15] Maalej S, Mahjoubi A, Hammoun A, et al. Motile *Aeromonas*: Which spatial and temporal evolution in an urban effluent and in coastal marine environmental [J]. *J Water Sci*, 2002, 15(1): 2865–2874.
- [16] 王豫林. 城市污水、污泥中气单胞菌及其病原学意义 [J]. 环境与健康杂志, 1989, 6(3): 12–14.
- [17] Pianetti A, Sabatini L, Bruscolini F, et al. Faecal contamination indicators, *Salmonella*, *Vibrio* and *Aeromonas* in water used for the irrigation of agricultural products [J]. *Epidemiol Infect*, 2004, 132(2): 231–238.
- [18] Soler L, Figueras M J, Chacon M R, et al. Potential virulence and antimicrobial susceptibility of *Aeromonas popoffii* recovered from freshwater and seawater [J]. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 2002, 32(3): 243–247.
- [19] McMahon M A S, Wilson I G. The occurrence of enteric pathogens and *Aeromonas* species in organic vegetables [J]. *Int J Food Microbiol*, 2001, 70(1–2): 155–162.
- [20] Ibrahim A, MacRae I C. Incidence of *Aeromonas* and *Listeria* spp. in red meat and milk samples in Brisbane, Australia [J]. *Int J Food Microbiol*, 1991, 12(2–3): 263–269.
- [21] Neys K, Huys G, Uyttendaele M, et al. Identification of mesophilic *Aeromonas* spp. from retail foods [J]. *Lett Appl Microbiol*, 2000, 31(5): 359–363.
- [22] Ottaviani D, Santarelli S. Occurrence and characterization of *Aeromonas* spp. in mussels from the Adriatic Sea [J]. *J Food Microbiol*, 2006, 23(5): 418–422.
- [23] Buchanan R L. The New' pathogens: An update of selected examples [J]. *Assoc Food Drug Q Bull*, 1984, 48: 142–155.
- [24] Cipriano R C, Bullock G L, Pyle S W. *Aeromonas hydrophila* and motile aeromonad septicemias of fish [J]. *Revision of Fish Disease Leaflet* 68. 2001.
- [25] Gosling P. *Aeromonas* species in disease of animals [M] / Austin B, Altwegg M, Gosling P & Joseph S W. *The Genus Aeromonas*, New York: John Wiley & Sons, 1996: 39–76.
- [26] Trust T J, Bull L M, Currie B R, et al. Obligate anaerobic bacteria in the gastrointestinal microflora of the grass carp (*Ctenopharyngodon idella*), goldfish (*Carassius auratus*), and rainbow trout (*Salmo gairdneri*) [J]. *J Fish Research Board Canada*, 1974, 36: 1 174–1 179.
- [27] 增勇, 袁明雄. 健康草鱼肠道气单胞菌季节变化及胞外酶调查 [J]. 中国水产科学, 1999, 6(2): 79–81.
- [28] Eissa I A M, Badran A F, Moustafa M, et al. Contribution to motile *Aeromonas* septicemia in some cultured and wild freshwater fish [J]. *Veterin Med J Giza*, 1994, 42: 63–69.
- [29] 董传甫, 林天龙, 俞伏松, 等. 鱼源气单胞菌的分离鉴定及血清学调查 [J]. 水利渔业, 2004, 24(6): 78–81.
- [30] Saif Y M, Busch W F. *Aeromonas* and *Salmonella* infections in turkey poultries [J]. *Ohio Agr Res Dev Ctr*, 1974, 0: 119–120.
- [31] Gray S J. *Aeromonas hydrophila* in livestock: incidence, biochemical characteristics and antibiotic susceptibility [J]. *J Hyg (Lond)*, 1984, 92(3): 365–375.
- [32] Hathcock T L, Schumacher J, Wright J C, et al. The prevalence of *Aeromonas* species in feces of horses with diarrhea [J]. *J Vet Int Med*, 1999, 13(4): 357–360.
- [33] 许新强, 邹立军. 噪水气单胞菌的生态学调查 [J]. 中国人兽共患病杂志, 1989, 5(4): 36–37.
- [34] Nayduch D, Honko A, Noblet G P, et al. Detection of *Aeromonas caviae* in the common housefly *Musca domestica* by culture and polymerase chain reaction [J]. *Epidemiol Infect*, 2001, 127(3): 561–566.
- [35] Gu J D, Mitchell R. Indigenous microflora and opportunistic pathogens of the freshwater zebra mussel, *Dreissena polymorpha* [J]. *Hydrobiologia*, 2002, 474(1–3): 81–90.
- [36] Snower D P, Ruef C, Kuritza A P, et al. *Aeromonas hydrophila* infection associated with the use of medicinal leeches [J]. *J Clin Microbiol*, 1989, 27(6): 1 421–1 422.
- [37] Graf J. Symbiosis of *Aeromonas veronii* biovar sobria and *hirudo medicinalis*, the medicinal leech: a novel model for digestive tract association [J]. *Infect Immun*, 1999, 67(1): 1–7.
- [38] Chowdhury M A, Yamanaka H, Miyoshi S, et al. Ecology of mesophilic *Aeromonas* spp. in aquatic environments of a temperate region and relationship with some biotic and abiotic environmental parameters [J]. *Zentralbl Hyg Umweltmed*, 1990, 190(4): 344–356.
- [39] Dumontet S, Pasquale V, Mancino M, Normanno G, et al. Incidence and characterization of *Aeromonas* spp. in environmental and human samples in southern Italy [J]. *New Microbiol*, 2003, 26(2): 215–225.
- [40] Svenungsson B, Lagergren A, Ekwall E, et al. Enteropathogen in adult patients with diarrhea and healthy control subjects: A 1-year prospective study in a Swedish clinic for infectious diseases [J]. *Clin Infect Dis*, 2000, 30(5): 770–778.
- [41] Albert M J, Ansaruzzaman M, Talukder K A, et al. Prevalence of enterotoxin genes in *Aeromonas* spp. isolated from children with diarrhea, healthy controls, and the environment [J]. *J Clin Microbiol*, 2000, 38(10): 3 785–3 790.
- [42] Pazzaglia G, Escalante J R, Sack R B, et al. Transient intestinal colonization by multiple phenotypes of *Aeromonas* species during the first week of life [J]. *J Clin Microbiol*, 1990, 28(8): 1 842–1 846.
- [43] Chan S W, Ng K C, Lyon D J, et al. Acute bacterial gastroenteritis: a study of adult patients with positive stool cultures treated in the emergency department [J]. *Emerg Med J*, 2003, 20(4): 335–338.
- [44] Kannan S, Suresh K P, Karkuzhal K, et al. Direct detection of diarrheagenic *Aeromonas* from faeces by polymerase chain reaction (PCR) targeting aerolysin toxin gene [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2001, 5(3): 91–94.
- [45] Wu C J, Wu J J, Yan J J. Clinical significance and distribution of putative virulence markers of 116 consecutive clinical *Aeromonas*

- [45] isolates in southern Taiwan [J]. *J Infect*, 2007, 54 (2): 151 – 158.
- [46] 王潭枫, 文博. 急性腹泻粪便中气单胞菌的分离鉴定与耐药性分析 [J]. *临床检验杂志*, 2000, 18 (2): 110.
- [47] 张勇刚, 王永禄. 560 例急性腹泻病患者气单胞菌感染调查 [J]. *中华流行病学杂志*, 1997, 18 (6-B): 153 – 155.
- [48] Adamski J, Koivuranta M, Leppanen E. Fatal case of myonecrosis and septicaemia caused by *Aeromonas hydrophila* in Finland [J]. *Scand J Infect Dis*, 2006, 38 (11 – 12): 1 117 – 1 119.
- [49] Balaji V, Jesudason M V, Sridharan G. Cytotoxin testing of environmental *Aeromonas* spp. in Vero cell Culture [J]. *J Indian Med Res*, 2004, 119 (5): 186 – 189.
- [50] Sha J, Kozlova E V, Chopra A K. Role of various enterotoxins in *Aeromonas hydrophila*-induced gastroenteritis: generation of enterotoxin gene-deficient mutants and evaluation of their enterotoxic activity [J]. *Infect Immun*, 2002, 70: 1 924 – 1 935.
- [51] Cascoo A, Yugueros J, Temprano A, et al. A major secreted elastase is essential for pathogenicity of *Aeromonas hydrophila* [J]. *Infect Immun*, 2000, 68: 3 233 – 3 241.
- [52] Rabaan A A, Gryllos I, Tomas J M, et al. Motility and the polar flagellum are required for *Aeromonas caviae* adherence to HEp-2 cells [J]. *Infect Immun*, 2001, 69: 4 257 – 4 267.
- [53] Zhang Y L, Ong C T, Leung K Y. Molecular analysis of genetic differences between virulent and avirulent strains of *Aeromonas hydrophila* isolated from diseased fish [J]. *Microbiology*, 2000, 146: 999 – 1 009.
- [54] Abdullah A I, Hart C A, Winstanley C. Molecular characterization and distribution of virulence-associated genes amongst *Aeromonas* isolates from Libya [J]. *J Appl Microbiol*, 2003, 95: 1 001 – 1 007.
- [55] 朱大玲, 李爱华, 汪建国, 等. 嗜水气单胞菌毒力与毒力基因分布的相关性 [J]. *中山大学学报*, 2006, 45 (1): 82 – 85.
- [56] Faruque S M, Kamruzzaman M, Meraz I, et al. Pathogenic potential of environmental *Vibrio cholerae* strains carrying genetic variants of the toxin-coregulated pilus pathogenicity island [J]. *Infect Immun*, 2003, 71: 1 020 – 1 025.
- [57] Faruque S M, Chowdhury N, Kamruzzaman M, et al. Genetic diversity and virulence potential of environmental *Vibrio cholerae* population in a cholera-endemic area [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 2 123 – 2 128.
- [58] Knochel S, Jeppesen C. Distribution and Characteristics of *Aeromonas* in Food and Drinking Water in Denmark [J]. *Int J Food Microbiol*, 1990, 10 (3 – 4): 317 – 322.
- [59] Nishikawa Y, Ogasawara J, Kimura T. Heat and acid sensitivity of motile *Aeromonas*: a comparison with other food – poisoning bacteria [J]. *Int J Food Microbiol*, 1993, 18 (4): 271 – 278.
- [60] Lee C, Cho J C, Lee S H, Lee D G, et al. Distribution of *Aeromonas* spp. As identified by 16S rDNA restriction fragment length polymorphism analysis in a trout farm [J]. *J Appl Microbiol*, 2002, 93: 976 – 985.
- [61] 胡婧, 李爱华, 胡成钰, 等. 温度和 pH 值对嗜水气单胞菌毒力基因表达的影响 [J]. *南京理工大学学报: 自然科学版*, 2006, 30 (3): 375 – 380.
- [62] Vivekanandan G, Savithramani K, Lakshmanaperumalsamy P. Influence of pH, salt concentration and temperature on the growth of *Aeromonas hydrophila* [J]. *J Environ Biol*, 2003, 24 (4): 373 – 379.
- [63] Sautour M, Mary P, Chihib N E, et al. The effects of temperature, water activity and pH on the growth of *Aeromonas hydrophila* and on its subsequent survival in microcosm water [J]. *J Appl Microbiol*, 2003, 95 (4): 807 – 813.
- [64] Brandi G, Sisti M, Giardini F, et al. Survival ability of Cytotoxic strains of motile *Aeromonas* spp. In different types of water [J]. *J Appl Microbiol*, 1999, 29 (4): 253 – 257.
- [65] Delamare A P, Costa S O, Da Silveira M M, et al. Growth of *Aeromonas* species on increasing concentration of sodium Chloride [J]. *J Appl Microbiol*, 2000, 30: 57 – 60.
- [66] Liltved H, Landfald B. Effects of high intensity light on ultraviolet – irradiated and non-irradiated fish pathogenic bacteria [J]. *Water Res*, 2000, 34 (2): 481 – 486.
- [67] Golden D A, Eyles M J, Beuchat L R. Influence of modified-atmosphere storage on the growth of uninjured and heat – injured *Aeromonas hydrophilia* [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1989, 55 (11): 3 012 – 3 015.
- [68] 徐伯亥, 殷战, 吴玉琛, 等. 淡水养殖鱼类暴发性传染病致病细菌的研究 [J]. *水生生物学报*, 1993, 17: 259 – 266.
- [69] Faruque S M, Mekalanos J J. Pathogenicity islands and phages in *Vibrio cholerae* evolution [J]. *Trends Microbiol*, 2003, 11: 505 – 510.

A review on ecological distribution of *Aeromonas*

LIU Jin-yu^{1,2}, LI Ai-hua¹, YANG Wu-ming^{1,2}

(1. State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China; 2. Graduate College of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

Abstract: The advances in the research of ecological distribution of *Aeromonas* spp. were reviewed from following aspects: 1) Distribution in varieties of natural mediums. *Aeromonas* as members of microecological bacteria in normal state or as pathogenic bacteria, have been found in all kinds of water, crude foodstuff, mollusc, fishes, amphibian, domestic animals, birds and human. The distribution frequencies of medium are different for each species. 2) Environmental factors which influence the distribution of *Aeromonas*. The distribution of *Aeromonas* is influenced by many environmental factors, such as temperature, pH, salinity, water activity and so on. Many virulence – associated genes have been found in *Aeromonas*. Different strains of *Aeromonas* have different virulence – associated gene combinations, with variety of pathogenicity. Expression of virulence – associated genes is also influenced by multifactors. Owing to conditional pathogenic bacteria, the research on ecological distribution of *Aeromonas* should be strengthened in order to provide reference for epidemiological research. [Journal of Fishery Sciences of China, 2007, 14 (7) : 129 – 137]

Key words: *Aeromonas*; ecology; distribution

Corresponding author: LI Ai-hua. E-mail: liaihua@inb.ac.cn