

## 香港海鸥型菌的研究进展

### Advances in research of *Laribacter hongkongensis*

高璐璐(GAO Lu-lu)<sup>1</sup>, 陈志永(CHEN Zhi-yong)<sup>2</sup> 综述 陈清(CHEN Qing)<sup>2</sup> 审校

(1 广州军区空军后勤部卫生防疫队, 广东 广州 510620; 2 南方医科大学流行病学系, 广东 广州 510515)

(1 Health and Epidemic Prevention Team, The Air Force Logistic Department of Guangzhou Military District, Guangzhou 510620, China; 2 Department of Epidemiology, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

【关键词】 香港海鸥型菌; 病原学; 流行病学; 社区获得性胃肠炎; 旅行者腹泻; 淡水鱼

【中图分类号】 R378 【文献标识码】 A 【文章编号】 1671-9638(2009)05-0365-04

研究人员证实, 香港海鸥型菌自被发现以来, 即与社区获得性胃肠炎、旅行者腹泻有关, 甚至可能是近 20 年来发现的首种可致严重胃肠炎的新病菌。淡水鱼可能是香港海鸥型菌的主要储存宿主, 进食鱼类为其主要的感染途径。同时, 亚洲、欧洲、非洲及中美国国家相继发现感染个案, 提示病菌可能在全球范围广泛分布。本文描述了香港海鸥型菌的生物学及生化特性, 并阐述其病原学、流行病学、实验室诊断等方面的主要进展, 展望其研究前景。

2001 年, 香港大学学者 Yuen 等<sup>[1]</sup> 从一名 54 岁男性肝硬化患者的血液和胸腔积液中分离出 1 株细菌, 该菌革兰染色阴性, 兼性厌氧, 不产芽孢, 经鉴定为奈瑟菌科(Neisseriaceae)的一个新菌属, 又因该细菌首次发现地在我国香港, 菌体在电子显微镜下呈海鸥形状, 故命名为香港海鸥型菌(*Laribacter hongkongensis*), 首次分离到的菌株被命名为 HKU1 株。随后, Woo<sup>[2]</sup> 等 2003 年不仅在香港感染性腹泻患者粪便样本中检出香港海鸥型菌, 还在瑞士本土或该国前往亚洲、欧洲、非洲、美洲的腹泻患者粪样中发现该细菌, 并认为可能是感染性腹泻的潜在病原体。

#### 1 我国内地香港海鸥型菌流行病学研究现状

##### 1.1 我国内地淡水产品香港海鸥型菌检出情况

2004 年, 陈定强<sup>[3]</sup> 等首次广东省部分淡水养殖鱼类肠道中检出香港海鸥型菌, 10 份样本中有 3 份阳性。随后, 2005 年, 潘厚军<sup>[4]</sup> 等报道在广东某市池塘采集的 12 尾草鱼肠道中有 5 尾分离到香港海鸥

型菌, 阳性率为 41.67%, 同时对分离的细菌进行 16S rRNA 基因序列分析, 发现与 GenBank 中登录的 4 株香港海鸥型菌序列的同源性为 99.7%~99.9%。2005—2006 年, 中国疾病预防控制中心徐进<sup>[5]</sup> 等对广西、广东、福建、浙江和河北 5 个沿海省份采集的淡水鱼、海鱼类产品进行了带菌情况调查, 结果表明, 广东省淡水鱼的香港海鸥型菌检出率最高, 为 8.52% (15/176), 其次为广西 3.89% (7/180), 其他省份均未检出。2005—2006 年, 浙江省疾病预防控制中心梅玲玲<sup>[6]</sup> 等对浙江省内养殖和销售草鱼、鲤鱼、鲫鱼、小黄鱼等淡、海水鱼共计 369 份样品开展了香港海鸥型菌污染状况研究, 并对分离的香港海鸥型菌进行了耐药性检测, 共检出香港海鸥型菌 18 株, 阳性率为 4.88%; 其中鲤鱼阳性率为 25.00%, 草鱼阳性率为 10.26%, 海水鱼以及其他淡水鱼中未检出; 分离出的香港海鸥型菌 16S rRNA 序列与 HKU1 株仅相差 1~2 个碱基, 同源性达 99.6%~100.0%。2007 年, 广东省疾病预防控制中心宋曼丹<sup>[7]</sup> 等调查了广东省水产品中香港海鸥型菌污染及分离株的耐药情况, 222 份水产品样本检出 15 株目标菌, 阳性率为 6.76%, 其中 14 株来自草鱼肠道, 检出率 17.28% (14/81), 鲤鱼 2.44% (1/41), 海水鱼中未检出。

上述研究表明, 我国沿海省份淡水鱼类产品中存在香港海鸥型菌的携带。

1.2 我国内地香港海鸥型菌人群感染情况研究 2005 年, 任淑华、倪晓平<sup>[8-9]</sup> 等对采集到的 274 份社区获得性胃肠炎患者的粪便样本进行检测, 分

【收稿日期】 2008-10-21

【作者简介】 高璐璐(1975-), 女(汉族), 江苏省南通市人, 博士, 主要从事分子流行病学研究。

【通讯作者】 陈清 E-mail: qingchen@fimmu.com

离到 1 株香港海鸥型菌, 16S rRNA 基因序列同源性测定结果显示, 该菌株与 HKU1 同源性达 100%。但流行病学调查结果显示, 患者发病前无外出旅游、无食用淡水鱼产品史。这项研究首次证实杭州社区获得性胃肠炎患者中分离出香港海鸥型菌, 也是我国内地首例病例报道, 但是患者通过何种途径感染, 目前还不得而知。

## 2 香港关于香港海鸥型菌的流行病学研究状况

2.1 香港水产品中香港海鸥型菌的感染情况 为了调查香港海鸥型菌在人们日常食用的动物性食物中感染情况, 2003 年 Teng<sup>[10]</sup> 等在香港开展了一项调查研究: 从香港的屠宰场和家禽养殖农场采集了 350 头猪和 80 头牛的粪便标本; 400 只鸡、50 只鸭和 50 只鹅的肛拭子标本; 6 种淡水鱼(大部分来源于养殖场)360 尾和从 10 个零售市场采集的 6 种食用海产鱼 360 尾, 使用消毒棉签在鱼的中肠和后肠部位采集标本。所有标本接种于头孢哌酮麦康凯琼脂(CMA)培养基, 37℃ 培育 48 h。结果香港海鸥型菌在淡水鱼中的检出率达到 23.89%(86/360), 其中草鱼 60.00%(36/60), 鳙鱼 53.33%(32/60), 鲮鱼 25.00%(15/60), 大嘴鲈鱼 5.00%(3/60); 在猪、牛、鸡、鸭、鹅、中华鲈、罗非鱼和海产鱼中, 均未分离出香港海鸥型菌。研究者从而推断, 淡水鱼类可能是香港海鸥型菌的储存宿主之一, 在香港海鸥型菌感染的流行中起着非常重要的作用; 进食未煮熟的淡水鱼类可能是感染香港海鸥型菌的重要途径之一。

为了解淡水中香港海鸥型菌的存在情况, Lau<sup>[11]</sup> 等对香港 10 个淡水湖进行了调查, 其中 6 个水库的淡水中分离出香港海鸥型菌, 并且夏季、高水温或自然环境温度较高时, 可观察到更多和更明显的菌落。该研究首次表明, 香港海鸥型菌也可能存在于自然水环境条件中, 提示被该菌污染的淡水可能是人群感染的来源之一。

同时, 为了更进一步研究香港海鸥型菌的流行特征和生态学情况, Lau<sup>[12]</sup> 等开展了一项监测性研究, 调查香港海鸥型菌分布的季节性变化以及其在淡水鱼不同部位及脏器中的分布情况。共采集草鱼、大头鱼各 20 尾整鱼标本以及 120 尾草鱼肠道标本, 结果表明该菌在淡水鱼中的分布与季节及气温等有关, 春夏季节明显高于秋冬季节, 37℃ 为香港海鸥型菌体外培养条件下的最适宜温度; 淡水鱼的鱼腮、胃肠道以及鱼皮表面等部位都有该细菌存在, 其

他脏器未发现。研究者提出, 为预防香港海鸥型菌感染和其他淡水鱼相关传染病, 在烹调淡水鱼时应采取正确的处理方法, 尤其是鱼腮和肠道部位。

2.2 香港海鸥型菌与社区获得性胃肠炎的关系 2001 年, 在 1 例酒精肝硬化患者的血液和胸腔积液中首次分离出香港海鸥型菌(HKU1)。但是, 该细菌从何而来? 通过什么方式感染等问题都仍然不清楚。2003 年, Woo<sup>[2]</sup> 等报道在香港和瑞士 6 名腹泻患者粪便标本中分离到 6 株香港海鸥型菌, 通过对这 6 株菌的表型分析、透射电镜观察、16S rRNA 基因序列测定以及基因分型, 发现此 6 株分离株属于香港海鸥型菌, 与 HKU1 不同的是, 此次分离菌株都有鞭毛, 具有运动性。因为在亚洲和欧洲都发现该细菌, 提示该菌可能不仅仅存在于局部地区, 其分布可能是全球性的。

2004 年, Woo<sup>[13]</sup> 等报道了一项多中心的病例对照研究, 该研究证实了香港海鸥型菌与社区获得性胃肠炎及旅行者腹泻有关, 并表明淡水鱼可能是香港海鸥型菌的储存宿主。该研究选取入院前 48 h 腹泻次数  $\geq 3$  次/d 的腹泻患者作为病例组, 以无腹泻且粪便标本收集前 2 周末使用抗菌药物的人群为对照组; 结果显示, 3 788 例社区获得性胃肠炎患者中有 17 例检出香港海鸥型菌; 而对照组 1 894 人中, 未检出香港海鸥型菌( $P = 0.001$ )。香港海鸥型菌培养阳性的患者中, 近期有旅游史者占 58.82%(10/17), 而匹配对照组仅有 5.88%(2/34), 两者差异有高度显著性( $P < 0.001$ ); 进食过鱼类者占 94.12%(16/17), 而对照组占 55.88%(19/34), 差异亦有显著性( $P = 0.009$ ); 进食淡水鱼肉末者占 29.41%(5/17), 而对照组占 2.94%(1/34), 差异有显著性( $P = 0.012$ )。102 份淡水鱼肠道标本中, 25 份培养出香港海鸥型菌; 而 13 份淡水鱼肉末标本中 2 份培养出香港海鸥型菌; 其他动物性食物标本中均未检出。感染香港海鸥型菌的人群均有腹泻症状, 约 80% 呈水样便, 20% 呈血样便; 3/4 有腹痛, 1/3 有呕吐症状。然而作者认为, 香港海鸥型菌与社区获得性胃肠炎之间的病因作用仍然不明确, 要想确定香港海鸥型菌和胃肠炎之间的病因联系以及传播途径, 需要进一步做广泛的流行病学调查和深入的病原体、暴露致病因素寻找的研究。

## 3 实验室诊断

3.1 选择性分离培养基 香港海鸥型菌是在炭头

孢哌酮去氧胆酸盐琼脂培养基(charcoal cefoperazone deoxycholate agar, CCDA)上首次培养出来, 有氧环境下经过 48 h 培育后, 菌株生长良好, 但是大部分菌落很小。经过进一步研究, Lau<sup>[14]</sup>等发现添加 32  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的 CMA 是目前香港海鸥型菌选择性分离培养最佳的培养基。比较麦康凯琼脂、CMA (32  $\mu\text{g}/\text{mL}$  头孢哌酮)、CMA-8 (8  $\mu\text{g}/\text{mL}$  头孢哌酮)、CCDA (32  $\mu\text{g}/\text{mL}$  头孢哌酮)、CCDA-8 (8  $\mu\text{g}/\text{mL}$  头孢哌酮) 5 种不同培养基培育香港海鸥型菌和抑制其他肠道菌的能力, 采用血琼脂培养基作为对照, 结果显示 CCDA 微需氧环境条件下的菌落计数显著减少 ( $P < 0.01$ ), 并且培养 48 h 后, 菌落仍极小, 难以挑取。对于 4 种标准需氧肠道菌群的抑菌能力, CMA、CMA-8、CCDA 和 CCDA-8 培养基均未见菌株生长。但对于从人群腹泻粪便样本中分离的香港海鸥型菌而言, 与 CCDA 相比, CMA 有更高的分离率 ( $P < 0.05$ )。

**3.2 生物学特征及生化实验结果** 香港海鸥型菌是一种兼性厌氧、能运动、不产芽孢、革兰染色阴性、S 形或海鸥形状的细菌, 除 HKU1 株无鞭毛, 不能运动外, 随后分离的其他菌株均有鞭毛, 也许 HKU1 为一种非典型变异。该细菌能在羊血琼脂培养基、巧克力培养基、麦康凯琼脂培养基和 CCDA 上生长; 为一种嗜温菌, 在周围环境温度  $25^{\circ}\text{C} \sim 42^{\circ}\text{C}$  下生长良好, 但是  $< 4^{\circ}\text{C}$  或  $> 44^{\circ}\text{C}$  则不能生长; 可以在 1% 和 2% 的 NaCl 环境中生长, 但不能在  $> 3\%$  NaCl 的环境中生长<sup>[1]</sup>。Lau<sup>[12]</sup>等 2007 年报道的香港海鸥型菌季节性分布以及其在淡水鱼器官中分布的研究表明,  $37^{\circ}\text{C}$  为该细菌最适宜生长温度。香港海鸥型菌生化反应结果显示, 氧化酶、过氧化氢酶、尿素酶、精氨酸双水解酶等试验阳性, 其他皆为阴性, 不能还原硝酸盐, 不发酵或氧化糖类。

根据上述特征, 可以基本认定分离的菌株为香港海鸥型菌。倪晓平<sup>[15]</sup>等认为 3 项简便的生化试验, 即氧化酶、触酶试验同时阳性且三糖铁反应为阴性的菌株, 其诊断为香港海鸥型菌的可能性极高, 可作为香港海鸥型菌的初筛方法。

**3.3 16S rRNA 基因序列分析** 自从聚合酶链反应(PCR)和 DNA 序列发现以来, 细菌种间基因序列比较已证实, 16S rRNA 基因在种内或同属的种间高度保守, 因此可以作为细菌种属水平鉴定的金标准, 根据不同种间的碱基差别, 可以构建种系进化树<sup>[16-17]</sup>。依据香港海鸥型菌 16S rRNA 基因序列测定分析结果, 可以对其进行鉴定。

#### 4 结语

香港海鸥型菌作为一种新发现的细菌, 目前还缺乏系统、详尽的研究资料。虽然研究表明香港海鸥型菌主要分离自淡水鱼类, 尤其是草鱼和鲤鱼, 但是从流行病学角度来说, 该菌从何而来, 它的自然储存宿主范围、与人类腹泻病的因果关系等都还不是很明显<sup>[18]</sup>, 尤其是后者。此外, 该菌的病原学特征以及诊断、致病机制、流行病学、预防控制措施等方面都需要进一步深入地研究。

#### [参考文献]

- [1] Yuen K Y, Woo P C, Teng J L, et al. *Laribacter hongkongensis* gen. nov. sp. nov. a novel gram-negative bacterium isolated from a cirrhotic patient with bacteremia and empyema[J]. J Clin Microbiol, 2001, 39(12): 4227 - 4232.
- [2] Woo P C, Kuhnert P, Burnens A P, et al. *Laribacter hongkongensis*: a potential cause of infectious diarrhea[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2003, 47(4): 551 - 556.
- [3] 陈定强, 谢海平, 陆敢, 等. 淡水养殖鱼类中香港海鸥型菌 *Laribacter hongkongensis* 的分离和鉴定[J]. 中山大学学报(自然科学版), 2004, 43(5): 131 - 132.
- [4] 潘厚军, 吴淑勤, 李宁求, 等. 草鱼肠道中香港海鸥型菌的选择性分离与鉴定[J]. 中国水产科学, 2005, 12(3): 307 - 313.
- [5] 徐进, 张静, 刘秀梅, 等. 2005 年中国 5 个沿海省份鱼类产品中香港海鸥菌的污染调查[J]. 中国食品卫生杂志, 2006, 18(6): 517 - 520.
- [6] 梅玲玲, 高雯洁, 朱敏, 等. 浙江省 369 份淡、海水鱼香港海鸥型菌污染状况研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2007, 19(4): 300 - 303.
- [7] 宋曼丹, 严纪文, 朱海明, 等. 广东省水产品中香港海鸥型菌的污染调查与耐药性检测[J]. 中国热带医学, 2007, 7(8): 1473 - 1474.
- [8] 任淑华, 倪晓平, 孙建荣, 等. 社区获得性胃肠炎患者中分离出香港海鸥型菌的研究报告[J]. 中华流行病学杂志, 2006, 27(7): 614 - 617.
- [9] Ni X P, Ren S H, Sun J R, et al. *Laribacter hongkongensis* isolated from a patient with community-acquired gastroenteritis in Hangzhou City[J]. J Clin Microbiol, 2007, 45(1): 255 - 256.
- [10] Teng J L, Woo P C, Ma S S, et al. Eco-epidemiology of *Laribacter hongkongensis*, a novel bacterium associated with gastroenteritis[J]. J Clin Microbiol, 2005, 43(2): 919 - 922.
- [11] Lau S K, Woo P C, Fan R Y, et al. Isolation of *Laribacter hongkongensis*, a novel bacterium associated with gastroenteritis, from drinking water reservoirs in Hong Kong[J]. J Appl Microbiol, 2007, 103(3): 507 - 515.

目前国内外厂家生产的皱纹纸的色系较单调,一般一个品牌的厂家只有 1~2 种色系。但如果我们引进不同厂家、不同色系和不同规格的皱纹纸,将有利于消毒供应中心工作的开展。我们现使用的皱纹纸色系有绿、白、蓝 3 种颜色。根据消毒供应中心无菌物品的种类和性质不同,我们分别用绿色皱纹纸包装急救物品(如静脉切开包、气管切开包、切开缝合包等),蓝色皱纹纸包装常用物品(如成人腰椎穿刺包、成人骨穿包、导尿包等),白色皱纹纸包装儿科物品(如小儿腰椎穿刺包、小儿骨穿包等)。由于使用不同色系的皱纹纸对不同种类、性质的无菌物品进行包装,实行了分类管理,从而方便工作人员区分各类无菌物品,在取用无菌物品时可以更加方便、快捷,且减少了接触无菌物品的次数,降低污染概率<sup>[2]</sup>。

## 5 医用纸塑包装袋的色系管理

一次性吸痰管、导尿管在临床使用过程中由于其材质较硬,会给患者造成疼痛感,并且使用成本较高,增加患者的经济负担。从“一切为了患者”的服务理念出发,本院使用的为可反复使用的橡胶类吸痰管、导尿管,但两类橡胶管在外观上很相似,在发放工作中易混淆。为了避免疏忽给临床工作带来的不便,我们引进了不同厂家的两种不同颜色的医用纸塑包装袋,用于工作中:采用绿色系列的医用纸塑包装袋包装不同型号的导尿管;采用蓝色系列的医用纸塑包装袋包装不同型号的吸痰管。通过色系管理,降低了发放中的误差率,方便了临床的工作,受到临床科室好评。

## 6 清洗筐的色系管理

消毒供应中心有来自手术室的各种不同专科的

手术器械,在清洗过程中如不加以区分则很容易混淆,给工作带来不便。在清洗筐上悬挂不同颜色的标识卡可减少工作环节中反复识别与确认的工作,并可根据不同专科医疗器械的清洗要求进行不同的清洗环节。例如选择色彩鲜明的红色标识卡用于各类腔镜器械,提示工作人员其需要精心的清洗流程;选择亮丽的黄色标识卡用于精密及锐利的器械,提示工作人员小心操作;选择黑色标识卡用于特殊传染病患者使用过的器械,警示工作人员应特别对待此类器械等,我们一共选用某公司 20 种不同颜色的标识卡用于各类清洗筐的标识,提高了清洗质量,延长了器械使用寿命,为医院节约了成本。

## 7 色系管理的优点

根据工作实践,总结色系管理的优点如下。(1)简单、直接:通过肉眼可以直接进行辨别,减少了工作量和工作时间;(2)方便管理工作:通过颜色的区别,可以直观地判断工作方式的正确与否,不需要语言的提示就可起到管理的作用;(3)提高了无菌物品的质量:通过色系管理,可以减少对无菌物品触摸的次数,减少了无菌物品污染的机会;(4)美化工作环境,调动了工作人员的积极性:丰富的颜色不仅在外观上美观,还调节了消毒供应中心简单、枯燥的工作氛围,使工作人员身心愉快地投入到工作中,有利于工作人员的身心健康。

## [参考文献]

- [1] 中华护理学会. 消毒供应中心管理指南[M]. 北京:科学技术文献出版社,2006:2-3.
- [2] 邢迪,王小军,张凤珠. 医用皱纹纸包装无菌物品效果的探讨[J]. 解放军护理杂志,2003,20(12):23-24.

(上接第 367 页)

- [12] Lau S K, Woo P C, Fan R Y, et al. Seasonal and tissue distribution of *Laribacter hongkongensis*, a novel bacterium associated with gastroenteritis, in retail freshwater fish in Hong Kong [J]. International Journal of Food Microbiology, 2007, 113(1): 62-66.
- [13] Woo P C, Lau S K, Teng J L, et al. Association of *Laribacter hongkongensis* in community-acquired gastroenteritis with travel and eating fish: a multicentre case-control study [J]. Lancet, 2004, 363(9425):1941-1947.
- [14] Lau S K, Woo P C, Hui W T, et al. Use of cefoperazone MacConkey agar for selective isolation of *Laribacter hongkon-*

*ensis* [J]. J Clin Microbiol, 2003, 41(10):4839-4841.

- [15] 倪晓平,孙建荣,项海青,等. 香港海鸥形菌检验技术的建立与应用 [J]. 中国卫生检验杂志,2007,17(12):2162-2164.
- [16] Olsen G J, Woese C R. Ribosomal RNA: a key to phylogeny [J]. FASEB J, 1993, 7(1):113-123.
- [17] Olsen G J, Overbeek R, Larsen N, et al. The ribosomal database project [J]. Nucleic Acids Res, 1992, 20 Suppl:2199-2200.
- [18] Farmer J J 3rd, Gangarosa R E, Gangarosa E J, et al. Does *Laribacter hongkongensis* cause diarrhoea, or does diarrhoea "cause" *L. hongkongensis* [J]. Lancet, 2004, 363(9425):1923-1924.