

非O-I群弧菌的繁殖生态学研究

王经邦 程孟珊 范哲燕 高金莲

(安徽省芜湖地区卫生防疫站)

洪雨文

(安徽师范大学生物系)

洪黎民

(上海复旦大学生物系)

摘要

作者等于1964—1966年和1978—1984年，应用水中弧菌的常规试验分离鉴定法，对非O-I群弧菌在芜湖地区自然水系中的分布进行了调查。结果看到，非O-I群弧菌在河流、湖泊和沟塘中广泛存在。同时发现在捕获黑斑泥鳅231条中检出有9条胆囊里生存有大量非O-I群弧菌（自然阳性率为3.9%，可信限为1—6%），泥鳅胆囊里生存的非O-I群弧菌数平均为149,500 (63,000—236,000) /毫升胆汁。

相继，作者等将非O-I群弧菌加入缸水中（每毫升缸水中含弧菌约100个）喂养泥鳅，进行了实验感染试验。在喂养的鱼种中有黑斑泥鳅和鲫鱼，在自然气温25.5—29℃下，饲养3—4周。然后，采用无菌术解剖鱼类摘取胆囊，收集胆汁用生理盐水稀释后进行弧菌培养和鉴定计数。结果，在喂养试验的黑斑泥鳅91条中，检出有23条胆囊里生存有大量非O-I群弧菌（喂养试验阳性率为25.2%，可信限为16—34%），泥鳅胆囊里生存的弧菌数平均为146,000 (73,000—219,000) /毫升胆汁。可看出，泥鳅胆囊里生存的弧菌数比喂养时加入缸水中的弧菌数高700—2000倍。但鲫鱼胆囊里未检出弧菌。由此看来，非O-I群弧菌的繁殖生态学与水生动物有关，黑斑泥鳅可能是其中之一。

作者等倾向相信非O-I群弧菌侵入泥鳅体内进入胆囊栖居繁殖，黑斑泥鳅有成为弧菌属菌群贮菌寄主和弧菌性腹泻传染源的可能性。

在腹泻患者中，由非O-I群霍乱弧菌(Non-O-Group I *Vibrio cholerae*, 简称，非O-I群弧菌)引起的病例，在世界各地已有不少报道。但至今对非O-I群弧菌繁殖生态学的研究尚不甚多。

我们于1964—1966年和1978—1984年先后对非O-I群弧菌的自然分布和繁殖生态学进行了研究。结果看到非O-I群弧菌在自然水系中广泛存在，并发现非O-I群弧菌的繁殖生态与黑斑泥鳅有关。现将结果简述如下：

一、材料与方法

1. 非O-I群弧菌在芜湖地区自然水系中的分布及菌株的分离和鉴定

调查的水系有长江干线繁昌至当涂段，长江支流有青弋江和水阳江；河流有漳河、姑溪河和郎川河；湖泊有石臼湖、丹阳湖和南漪湖以及各县的主要沟塘等。菌株分离，系采用蛋

白胨水培养基增菌琼脂平皿分离法。菌种鉴定，系根据岗查洛夫〔法〕、克拉西里尼科夫、Conn (1957)、Collins (1969) 及Bergery's细菌分类手册 (1974) 等介绍的方法进行鉴定。

2. 非O-I群弧菌在水中生存情况的实验研究

选取含有非O-I群弧菌的自然沟塘水，放于实验缸中（与自然水源有可能被污染的因素相隔离）。然后每天取缸水应用涂布接种计数法或滤纸沾取粘贴接种法，直接（不增菌）接种TCBS琼脂 (Nakanishi's medium) 和胶铁粒子琼脂（弧菌鉴别）培养基，于37℃下，培养18—24小时，计算非O-I群弧菌的菌落数（非O-I群弧菌在TCBS琼脂上，菌落较大呈黄色，其他杂菌大部被抑制或菌落很小呈灰白色；非O-I群弧菌在胶铁粒子琼脂上菌落扁平、透明或半透明，菌落中心有一个褐红色核芯，很容易识别）。

3. 非O-I群弧菌在泥浆中生存情况的实验研究

选取含有非O-I群弧菌沟塘的底部泥浆20—30公斤。放于实验缸中（与自然水源相隔离）。然后，每天取泥浆25—30克，混于50倍的生理盐水中，待泥土下沉后汲取上层清液，应用涂布或滤纸沾取法，直接（不增菌）接种TCBS琼脂或胶铁粒子琼脂，检测非O-I群弧菌数。

4. 鱼类体内非O-I群弧菌的检测

从沟塘或实验缸中捞取鱼类，应用无菌术剖腹摘取胆囊吸取胆汁，用生理盐水稀释100—500倍。再应用涂布或滤纸沾取法，直接接种肉汤营养琼脂和胶铁粒子琼脂，检测非O-I群弧菌的菌落数。

5. 实验鱼类

黑斑泥鳅 (*Misgurnus anguillicaudatus*)，系采自芜湖沿江，体长11—15厘米，体重8—10克；鲫鱼 (*Carassius auratus*)，芜湖地区产，体长11—13厘米，体重100—150克。以上鱼类事先饲养于实验室内，经检查不带弧菌（包括凝集或不凝集弧菌）者，用于非O-I群弧菌喂养感染试验。

6. 放养鱼类的实验用水

主要用塘水，水质的理化性质：氯化物含量一般在25.5—28.5毫克/升，pH值7.6—7.8，余氯阴性。细菌总数约在5,900—181,000/毫升，大肠菌类约在2,100—8,800/升。事先检查不含弧菌者用于实验。

二、结 果

1. 非O-I群弧菌在水系中的分布调查

我们对芜湖地区各种水系作了非O-I群弧菌的分布调查，结果看到非O-I群弧菌在各种水系中广泛存在（在塘水中的含菌量要高于其他水）。

2. 非O-I群弧菌水源菌株与患者菌株生物学特性的鉴定和比较

我们对水系中分离的非O-I群弧菌247株和从患者粪便分离的非O-I群弧菌37株，作了生物学特性的鉴定和比较，见表1。可见两组菌株的生物学特性无显著性区别。

3. 非O-I群弧菌在水系中不同时期的检出率

我们对水系中非O-I群弧菌不同时期的检出率作了统计。结果见表2。可见非O-I群弧

表 1 非O-I群弧菌从患者和水源分离菌株的生物化学特性

table 1 identifications of biochemical characteristics on the Non-O-Group I V.
cholerae strains in which isolations from river system and patients

试 验	菌株数与结果	
	患者37株	水源247株
革兰氏阴性	37	247
运 动	37	247
极生鞭毛1根	37	247
氧化 酶	37	247
精氨酸双水解酶	0	0
赖氨酸脱羧酶	37	247
鸟氨酸脱羧酶	37	247
枸橼酸盐利用	37	247
葡萄糖产气	0	0
V-p反应22℃	21/16	159/88
V-p反应37℃	24/13	158/89
硝酸盐还原	37	247
靛基质	37	247
糖类产酸:		
阿拉伯胶糖	1/36	9/238
肌 醇	0	0
甘 露 醇	9/28	58/189
蔗 糖	34/3	228/19
七叶灵水解	0	0
明胶液化	37	247
43℃生长	37	247
氯化钠生长:		
0 %	37	247
3 %	37	247
6 %	1/36	4/243
8 %	0	0
10%	0	0
TCBS琼脂生长	37	247
弧菌O-I群抗血清凝集	0	0

注: 数字, 表示阳性或生长菌株数; 0, 表示全部阴性或不生长株数; 分号上数字, 表示阳性株数,
分号下数字, 表示阴性株数。

菌于水系中, 每年4月中、下旬便可检出。于6月至8月间检出率最高, 到9月以后检出率逐渐下降, 在12月至次年3月以前, 水系中不易检出弧菌。

4. 非O-I群弧菌在水中生存繁殖的实验观察

我们选取含有非O-I群弧菌的沟塘水5处, 各取20,000—30,000毫升, 分别放于实验缸中。然后, 每天分别吸取水样各2份, 应用涂布计数和滤纸沾取粘贴胶铁粒子琼脂鉴别培养计数法, 检测1次非O-I群弧菌在缸水中的生存情况。结果见表3。可见非O-I群弧菌在缸水中逐日减少直至消失, 未见有繁殖现象。

表 2 非O-I群弧菌在芜湖地区水系中不同时期的检测结果

table 2 detection of the Non-O-Group I V. cholerae from river system of Wuhu area
in different periods of annual examination

时 间	自然气温 (℃)	检测份数	检出弧菌份数	检出率 (%)	检出率可信限 (95%)
1 月	3.3±0.9	50	0	0	0—0
2 月	5.1±0.5	70	0	0	0—0
3 月	9.6±2.4	55	0	0	0—0
4 月	16.1±2.3	67	13	19.40	10—29
5 月	22.0±2.3	71	25	35.21	24—46
6 月	23.5±0.5	43	19	44.19	29—59
7 月	27.5±3.4	55	30	54.55	41—68
8 月	28.7±2.4	65	29	44.62	33—57
9 月	24.7±1.9	60	21	35.00	23—47
10 月	17.7±2.7	59	9	15.25	6—24
11 月	11.0±3.3	61	3	4.92	0—10
12 月	5.3±3.2	47	0	0	0—0

表 3 非O-I群弧菌在缸水中生存繁殖的实验计数检测

table 3 the survival and growth of Non-O-Group I V. cholerae in
the vat water by identification and counting method

观 察 天 数	检测份数	缸水中检出弧菌数/毫升	
		弧菌平均数 ($\bar{x} \pm x\sigma_n - 1$)	
1	10	25(20—30)	
2	8	19(12—26)	
3	10	16(8—24)	
4	10	12(10—14)	
5	10	11(10—13)	
6	10	10(9—12)	
7	9	9(8—11)	
8	10	9(8—10)	
9	10	5(3—8)	
10	10	4(2—7)	
11	10	4(2—5)	
12	10	2(1—4)	
13	8	1(0—1)	
14	10	0(0—0)	

5. 非O-I群弧菌在泥层中生存繁殖的实验观察

我们取含有非O-I群弧菌的塘底泥浆5缸，每天分别取泥浆各2份，检测1次非O-I群弧菌的生长情况，结果见表4。看到非O-I群弧菌在实验缸的泥层中逐日减少直至消失，也未见有繁殖现象。

6. 非O-I群弧菌在鱼类体内生存的检测

我们取沟塘水中捞获的鱼类，以无菌术剖摘胆囊吸取胆汁，应用直接涂布法作了非O-I群弧菌的计数检测。结果看到在黑斑泥鳅的胆囊中生存有大量非O-I群弧菌。其他鱼种的胆囊中未检出弧菌，亦未检出其他细菌。见表5。

表 4 非O-I群弧菌在缸底泥浆中生存繁殖的实验计数检测

table 4 the Survival and Growth of Non-O-Group I V. cholerae in the vat mud by determinative and counting method

观察天数	检测份数	泥层中检出弧菌数/克
		弧菌平均数($x \pm x_{\bar{a}} n - 1$)
1	10	21(19—23)
2	9	21(18—23)
3	9	18(15—22)
4	10	14(9—19)
5	10	11(9—13)
6	13	9(7—11)
7	9	8(6—10)
8	8	7(6—9)
9	10	5(3—7)
10	8	4(2—5)
11	10	3(2—4)
12	10	3(1—4)
13	10	2(1—3)
14	10	1(1—2)
15	8	1(0—1)
16	10	0(0—0)

我们将 7 条带菌泥鳅胆囊中生存的非O-I 群弧菌数作了统计。结果看到泥鳅胆囊中生存的弧菌数平均为 149,500/毫升胆囊胆汁。见表 6。初步认为非O-I 群弧菌在黑斑泥鳅体内有生存繁殖的可能性。

表 5 非O-I群弧菌在鱼体胆囊中的解剖检测

table 5 survival of Non-O-Group I V. cholerae in gallbladders of fishes by determinative and dissecting method

鱼类名称	检测条数	胆囊带菌条数	带菌率(%)
黑斑泥鳅 <i>Misgurnus anguillicaudatus</i>	231	9	3.90
白 鳉 <i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	190	0	—
青 鱼 <i>Mylopharyngodon piceus</i>	93	0	—
草 鱼 <i>Ctenopharyngodon idellus</i>	101	0	—
鳙 鱼 <i>Aristichthys nobilis</i>	53	0	—
鲤 鱼 <i>Cyprinus carpio</i>	150	0	—
鲫 鱼 <i>Carassius auratus</i>	240	0	—
鲂 鱼 <i>Megalobrama terminalis</i>	26	0	—
黄 鲢 鱼 <i>Pseudobagrus fulvidraco</i>	37	0	—
乌 鱼 <i>Ophicephalus argus</i>	19	0	—
沙 鳅 <i>Odontobutis obscura</i>	37	0	—

7. 非O-I 群弧菌喂养感染泥鳅的实验观察

我们选取黑斑泥鳅和鲫鱼(对照鱼种)各数十条, 分别放养于实验缸中, 各加塘水 20,000—30,000 毫升。另取非O-I 群弧菌培养物用生理盐水制成菌体悬液(原液含活弧菌数为 1 亿/毫升)。在喂养前将菌体悬液再用生理盐水或塘水稀释 100 倍。然后, 按缸中水量每万毫升中

表 6 黑斑泥鳅胆囊中的非O-I群弧菌计数

table 6 number of Non-O-Group I *V. cholerae* in gallbladder
of loaches by counting method

标本编号	非O-I群弧菌数/毫升、胆囊胆汁
1	117,500
2	123,000
3	191,000
4	253,000
5	301,000
6	113,000
7	133,000
8	119,000
9	295,000
弧菌平均数 ($\bar{x} \pm x\sigma n - 1$)	1,495,000 (63,000 - 236,000)

加入稀释菌液 1 毫升（使缸水含弧菌数约100/毫升）进行喂养试验。在室温25.5—29℃下饲养3—4周（每周换水1—2次），于第五周进行解剖观察，检测鱼类体内生存的非O-I群弧菌数。结果，从黑斑泥鳅91条中检出23条胆囊里生存有大量非O-I群弧菌，其喂养感染带菌率（25.27%）明显地高于自然带菌率（表5，3.9%）。经统计分析（ $t = 4.518, p < 0.01$ ）有显著性差异。鲫鱼体内未检出弧菌。见表7。

我们将23条带菌泥鳅胆囊里生存的非O-I群弧菌数作了统计。结果见表8。可见黑斑泥鳅喂养感染胆囊里生存的弧菌数(弧菌/毫升胆囊胆汁)比喂养时加入缸水中的弧菌数(100/毫升缸水)，要高700—2,000倍，平均为1,460倍；我们并将其不同性别胆囊里生存的非O-I群弧菌数作了分组统计。结果可见，泥鳅雄、雌两组胆囊里生存的弧菌数（ $t = 0.728, p > 0.05$ ），并无显著性差异。

另外，我们对黑斑泥鳅喂养感染胆囊里生存的弧菌数（表8）与自然感染胆囊里生存的弧菌数作了分析。结果（ $t = 1.238, p > 0.05$ ），亦无显著性差异。

表 7 非O-I群弧菌喂养鱼类的实验观察

table 7 the observations of feeding test on the crucian carp and loaches
with Non-O-Group I *V. cholerae*

鱼 种	解剖条数	胆囊带菌条数	带菌率 (%)	带菌率的可信限 (95%)
黑 斑 泥 鳅	91	23	25.27	16—34%
鲫 鱼	75	0	0	0—0 %

8. 非O-I群弧菌与泥鳅在水体中生存联系的实验观察

我们将饲养黑斑泥鳅和鲫鱼（对照鱼种）的实验缸，放置于恒温室内（用空调器控制室温），每3—4周更换一次温度，观察了非O-I群弧菌在放养黑斑泥鳅的缸水中，于不同温度下的生存情况。结果看到非O-I群弧菌在放养泥鳅的缸水中，于15—20℃下能持续生存而不消失，在25—30℃时，出现的弧菌数量多，温度低于10℃以下时水中检不出弧菌，温度再次

表 8 黑斑泥鳅喂养试验胆囊中生存的非O-I群弧菌数
 table 8 number of Non-O-Group I *V. cholerae* in gallbladder of loaches by feeding test

鱼 种	性 别	胆 囊 带菌条数	弧菌数/毫升胆囊胆汁
			弧菌平均数 ($\bar{x} \pm x\sigma n - 1$)
黑斑泥鳅	♂	14	140,000 (63,000—217,000)
	♀	9	155,000 (87,000—242,000)
总 计	♂ ♀	23	146,000 (73,000—219,000)

升高时，缸水中不久便又出现弧菌；塘水对照缸和放养鲫鱼缸水中弧菌的存活时间一般为1—2周，弧菌消失后更换温度也不再出现。见表9。

表 9 非O-I群弧菌在不同温度不同鱼种的缸水中持续出现时间和弧菌数的比较观察
 table 9 comparison of persistent occurrence and number of Non-O-Group I *V. cholerae* in artificially polluted water in which different species of fishes and the various temperature

温 度 (℃)	时 间 (周数)	(缸号) 每周检出弧菌平均数 (各次检出弧菌极差数)		
		(1) 塘水对照	(2) 缸水放养鲫鱼	(3) 缸水放养泥鳅
15	1	13(4—20)	11(5—19)	9(1—11)
↓	2	0(0—2)	0	7(2—9)
20	3	0	0	19(2—60)
25	4	0	0	25(3—62)
↓	5	0	0	9(2—50)
32	6	0	0	43(9—100)
	7	0	0	47(6—76)
30	8	0	0	144(45—306)
↓	9	0	0	143(52—272)
27	10	0	0	79(19—200)
	11	0	0	167(40—300)
25	12	0	0	126(59—210)
↓	13	0	0	90(32—142)
15	14	0	0	54(14—192)
	15	0	0	19(1—98)
10	16	0	0	10(3—21)
↓	17	0	0	2(0—3)
4	18	0	0	1(0—2)
	19	0	0	0(0—0)
5	20	0	0	0(0—0)
↓	21	0	0	0(0—0)
15	22	0	0	1(0—3)
25	23	0	0	3(2—7)
↓	24	0	0	37(12—49)
30	25	0	0	35(9—58)

9. 非O-I群弧菌在泥鳅体内栖居繁殖的周期性实验观察

我们选取黑斑泥鳅和鲫鱼，各50—100条，分别放养于实验缸中，各加塘水20,000—30,000毫升，另取非O-I群弧菌的菌体悬液按缸中水量加入弧菌100—1,000/毫升(10^2 — 10^3 /毫升)，在自然室温下进行周期性观察，每周取水样1—2次，应用常规培养琼脂平皿分离法，进行一次非O-I群弧菌的存活检测。每周末换水一次，观察非O-I群弧菌在缸水中存活的周期性。结果看到非O-I群弧菌在放养黑斑泥鳅的缸水中自4月中、下旬至10月上、中旬能持续存活6—7个月，在11月至次年3月以前，水中检不出弧菌，到次年4月中、下旬非O-I群弧菌便又出现于放养泥鳅的缸水中；非O-I群弧菌在塘水对照和放养鲫鱼的缸水中存活时间为1—2周，一般在换水1—2次后，缸水中不再检出弧菌，到次年气温升高时弧菌也不再出现。见表10。初步认为非O-I群弧菌在水体中的繁殖生态与水生动物有关，黑斑泥鳅可能是非O-I群弧菌能够栖居繁殖和周期性生存的生物之一。

表 10 黑斑泥鳅携带非O-I群弧菌的周期性实验观察

table 10 experimental observations of survival cycle on the loaches with Non-O-Group I V. cholerae

年度	月份	沟塘与实验缸			
		野外沟塘对照	缸水对照	缸水放养鲫鱼	缸水放养泥鳅
本 年 度	4	+	+	+	+
	5	+	-	-	+
	6	+	-	-	+
	7	+	-	-	+
	8	+	+	-	+
	9	+	-	-	-
	10	+	-	-	+
	11	-	-	-	-
	12	-	-	-	-
	1	-	-	-	-
	2	-	-	-	-
	3	-	-	-	-
次 年 度	4	+	-	-	+
	5	+	-	-	+
	6	+	-	-	+
	7	+	-	-	+
	8	+	-	-	+
	9	+	-	-	+
	10	+	-	-	+
	11	-	-	-	-

三、讨论

1. 非O-I群弧菌在Shimada和Smith所建立的两个血清学分类系统中均不被O-I群抗血清所凝集，故称非O-I群弧菌或不凝集弧菌（NAG, Non-Agglutinable）。Buchanan等（1974）称它为非霍乱弧菌（NCV, Non-Cholera vibrios）。Hughes（1978）和Spira等

(1979) 分别研究了非O-I群弧菌的生物型、致病性以及所致之疾病的临床症状等。美国疾病控制中心 (Center for Disease Control, 1979) 报道了非O-I群弧菌在佛罗里达州的感染情况。世界卫生组织科学工作组 (WHO Scientific Working Group, 1980) 提到：非O-I群弧菌在欧洲和美国广泛分布于自然界，在德意志联邦共和国、英国和美国所进行的生态学研究，看到该类弧菌在水中于温暖季节较多。一般认为这类弧菌是水生菌。本文报道，非O-I群弧菌在芜湖地区水系中广泛存生，但在一般水体中经实验观察并未看到有繁殖现象，而发现在黑斑泥鳅体内（胆囊和肠腔）存在有大量非O-I群弧菌。故认为非O-I群弧菌的繁殖生态与水生动物有关，黑斑泥鳅可能是非O-I群弧菌能够栖居繁殖的生物之一。

2. 关于非O-I群弧菌与黑斑泥鳅生存联系的关系问题，根据文献所述，一种生物生活于另一种生物体内（或体表），从中摄取养料进行生存繁殖的关系，可称为寄生与寄主的关系。由此可见非O-I群弧菌与黑斑泥鳅的生态关系符合上述定义。

3. 泥鳅的分布与研究意义，黑斑泥鳅又称鳗尾泥鳅，属于鳅科 (Cobitidae)，鳅亚科 (Cobitini)，泥鳅属 (*Misgurnus*)。是一群广泛分布于欧、亚两洲的底栖鱼类。在我国北方称摩呵泥鳅 (*M. mohoit*), 在南方称细鳞泥鳅 (*M. mizolepis*) 实属一种；另有一类杂色泥鳅 (*Barhatula varegata*)，又名长须泥鳅广泛分布于亚洲高原。其东方泥鳅 (*B. orientalis*) 分布于新疆各地，小鳔泥鳅 (*B. microphysa*) 分布于布伦卡，斯氏泥鳅 (*B. Strachii*) 分布于乌鲁木齐。由此可见研究泥鳅能否作为弧菌属菌群的生态寄主是具有普遍意义的。对研究弧菌性腹泻的流行病学具有一定价值。

据文献记述，至今不但对非O-I群弧菌的繁殖生态学不甚了解，而且对O-I群弧菌（霍乱弧菌的古典生物型和*Eltor*生物型）的繁殖生态学也不清楚。Carpenter (1979) 和Levine (1980) 等提到，“至今只知人是霍乱弧菌 (*Vibrio cholerae* and *V. eltor*) 的自然寄主及患者”。世界卫生组织科学工作组 (1980) 提出，“人是霍乱的主要传染源。然而，霍乱弧菌能否感染其他贮菌寄主，以延长其弧菌生存周期的可能性”。由此可见，近年来对弧菌属菌群生态学的研究已引起国内外自然科学工作者的广泛关注。

4. 关于非O-I群弧菌在泥鳅体内生存繁殖的因素问题，泥鳅肠道呈直管状，能行肠呼吸可能为弧菌的生存繁殖提供良好的需氧环境，泥鳅胆囊紧接肠壁，胆管粗短，可能便于弧菌侵入。我们看到当黑斑泥鳅胆囊里带有大量非O-I群弧菌时，其肠腔里一般也同样生存有大量非O-I群弧菌，为了解泥鳅肠腔微生物区系与非O-I群弧菌的生存关系，我们对泥鳅的肠道菌群作了分离和鉴定，结果发现在泥鳅肠腔里存在一种常态性的产碱假单胞菌新变种 (*Pseudomonas alcaligenes* var *anguillicaudatogenesis*)，该菌不利用糖类，与弧菌没有食物网的竞争。在混和培养试验中该菌对非O-I群弧菌不产生拮抗作用。由此得知非O-I群弧菌与该种产碱假单胞菌在泥鳅肠腔内能够共栖 (commensalism)。故认为上述条件可能是非O-I群弧菌在泥鳅体内能够栖居繁殖的一些因素。

参考文献

- 王经邦等 1980 副溶血性弧菌鉴别培养基——胶铁粒子琼脂的制备与鉴别效果。微生物学通报 7 (4):165—168。
 ————— 1982 产碱假单胞菌一个新变种。微生物学通报 4 (6): 266—269。
 武汉大学生物系微生物学教研室等 1979 微生物学，第一版。人民教育出版社。第206, 212页。
 N. 岗查洛夫著 (徐浩泽) 1973 异养细菌鉴定的检索方法。科学出版社, 第7—14页。

- H.A.克拉西里尼科夫(钮家淇译) 1958 细菌和放线菌的鉴定。科学出版社, 第613—637页。
- Burrows 1979 Textbook of Microbiology, 21th ed. 564—565,
- Buchanan, R.F. et al. 1974 Bergey's manual of determinative Bacteriology, 8th ed. 340—341.
- Conn, H.J. 1957 Manual of Microbiological Methods. London McGraw-Hill.
- Collins, C.H. 1969 Microbiological Methods 2nd edn London Butler Worths.
- Center for Disease Control 1979 non-O:I Vibrio cholerae infections—Florida, Morbid Mortal Weekly Rep. 38:571—577.
- Carpenter, C.C.J. 1979 New Eng. J. Med. 30 (1): 34—40.
- Hughes, J.M. et al., 1978 non-Cholerae vibrio infections in the United States, Clinical, epidemiologic and laboratory feature. Ann. Intern. Med. 86:602—606.
- Kobayashi, T. et al., 1963 A new selective isolation medium for the vibrio group, on a modified Nakaniishi's medium (TCBS agar medium). Japanese Journal of Bacteriology (Tokyo) 18:387—392.
- Levine, M.M. 1980 New Eng. J. Med. 302 (2): 345—347.
- Rheinheimer, G. 1974 Aquatic Microbiology. (Translated from German by Anna May-Harting). John Wiley and Sons, Ltd.
- Spira, W.M. et al., 1979 Biotype clusters formed on the basis of virulence character in Non-O-Group I vibrio cholerae, Proc. 14th Joint cholera Res. Conf. U.S.-Japan Coop. Med. Sci. Prog., 440—457.
- WHO Scientific Working Group 1980 Cholera and other vibrio-associated diarrhoeas. Bull. of WHO 58 (3):360—361.

A PRELIMINARY STUDY ON THE DISTRIBUTION AND BREEDING ECOLOGY OF NON-O-GROUP I VIBRIO CHOLERAES IN THE RIVER SYSTEM OF WUHU AREA, ANHUI PROVINCE

Wang Qingbang Cheng Mengshan Fan Zheyuan

Gao Qinjian

(Sanitary and Anti-epidemic Station of Wuhu District Anhui province, Wuhu)

Hong Yuwen

(Department of Biology, Anhui Normal University, Wuhu)

Hong Limin

(Department of Biology, Fudan University, Shanghai)

The study on the natural distribution and reproducing ecology of Non-O-Group I *V. cholerae* in water of Wuhu area was carried out from 1964 to 1966 and from 1978 to 1984. The determinative and isolation of vibrios in water by routine tests. Results obtained show that the Non-O-Group I *V. cholerae* are widely present in river, lakes and pools. And discover at the same time, in gallbladders of 9 from 231 loaches caught, there was large number of Non-O-

Group I *V. cholerae* (3.9% natural positive and confidence limit 1—6%). The number of vibrios per gallbladders content ranges from 63,000 to 236,000 with 149,500 being average.

And then experimental study on feeding test for loaches with Non-O-Group I *V. cholerae* added in water (about 100/ml) was made. The fishes being fed include loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) and crucian carps (*Carassius auratus*). The feed test was carried out under atmospheric temperature from 25.5°C to 29°C for 3 to 4 weeks. The fishes were autopsied and the gallbladders were taken out by aseptic precaution. Collect the bile from gallbladders and diluted with normal saline, and made culture for identification and counting of bacteria. The results were briefly noted as follows: In gallbladder of 23 from 91 loaches caught, there was large number of Non-O-Group I *V. cholerae* (25.27% feeding test positive and confidence limit 16—34%), the number of vibrios per gallbladder (ml, bile) content ranges from 73,000 to 219,000 with 146,000 being average. This value is approximately 700 to 2,000 fold more than that of vibrios per ml vat water at beginning of feeding, but in the feeding crucian carps, the vibrio was not found in their gallbladders. So the reproducing ecology of Non-O-Group I *V. cholerae* can be considered to be related to aquatic animals, and possibly loach is among them.

It is the authors' inclination that loaches could be possible reservoirs for Non-O-Group I *V. cholerae* and might play the role of infection source of vibrio-associated diarrhoea. Vibrios enter the body of loach first and then enter its gallbladder where they reproduce as if loach and vibrio are commensals with each other.