

嗜水气单胞菌的研究进展

姜艳丽¹, 李丽丽²

(1. 东北林业大学 生命科学学院, 黑龙江 哈尔滨 150040; 2. 黑龙江省林业科学研究所, 黑龙江 哈尔滨 150081)

摘要:为有效预防嗜水气单胞菌引起传染病的发生, 以减少对人畜的损害, 通过回顾嗜水气单胞菌的分类地位(嗜温性和运动性的气单胞菌属的模式菌)、生物学性质, 对其主要毒力因子(外毒素及胞外蛋白酶)和鉴定技术(生化鉴定、免疫血清技术和分子生物学技术)的研究成果进行了综述。

关键词:嗜水气单胞菌; 毒力因子; 鉴定技术; 研究

中图分类号:S942.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2015)02-0142-05 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2015.02.0142

嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)是一种较常见的条件致病菌, 在水环境中广泛存在, 可以感染鲤鱼、银鲫、草鱼、青鱼、罗非鱼和中华鳖等, 能够引起大规模的急性传染病^[1]。除此之外, 还可以感染鸟类、爬行类和两栖类^[2], 有资料证实可以感染人类, 导致食物中毒、腹泻和败血症, 是一种严重的“人-兽-鱼”共患病^[3-5]。该菌不仅能给养殖业带来巨大的经济损失, 对人类的健康也有一定程度的损害, 所以学者非常关注这方面, 对此也有大量的研究, 并取得了一定的成果。本文对嗜水气单胞菌的部分研究现状进行了简单的回顾和总结。

1 嗜水气单胞菌的分类

嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)属于弧菌的气单胞菌属。气单胞菌属的细菌根据生物学类型不同和有无运动性分为两大类: 一类是嗜冷性、非运动的气单胞菌, 另一类是嗜温性、运动的气单胞菌^[6]。嗜水气单胞菌属于气单胞菌属的第二类, 在该属中有重要地位, 被称为气单胞菌属的模式菌^[7-8]。

2 生物学特性

2.1 形态与特性

在显微镜下观察嗜水气单胞菌形态为: 两端钝圆, 直或稍弯曲, 短杆状, 单个或两个成对排列, 大小为 $0.3 \sim 1.0 \mu\text{m} \times 1.0 \sim 3.5 \mu\text{m}$, 无荚膜和芽孢^[6]。革兰氏染色为阴性, 在液体培养基中可见

极端单鞭毛, 运动。生长的最适 pH 5.5~9.0, 最适生长温度为 $25 \sim 30^\circ\text{C}$ ^[9-10], 在有氧和无氧条件下, 均可使液体培养基变浑浊。

2.2 菌落形态与特性

在普通营养琼脂中 $28 \sim 30^\circ\text{C}$ 长势良好, 培养 24 h 后菌落呈圆形、稍凸、表面光滑、边缘整齐、略湿润、半透明、无色或微黄色。菌落大小与培养时间和培养温度相关联, 当温度适宜、培养时间适当时, 单个菌落的平均直径可达 $2 \sim 3 \text{ mm}$, 当条件不适宜时, 小的菌落仅如针尖大小。多数菌株几乎不产色素, 但大多数具有溶血性, 并且在血脂平板上生长旺盛, 也会形成清晰的 β 溶血环, CAMP 试验在有氧和无氧条件下均为阳性^[11-12]。

3 致病性

3.1 流行病

嗜水气单胞菌不仅具有广泛的分布, 同时对多种动物有致病性, 可引起这些动物败血症、局部皮肤溃烂或内脏器官出血等症状^[13]。同时, 也能感染人类, 一旦感染, 可引起急性肠胃炎、胆膜炎和肺炎等^[14], 现已被国外列为腹泻病原菌的常规检测范围^[15]。

3.2 毒力因子

嗜水气单胞菌产生的毒力因子主要包括外毒素、胞外蛋白酶和粘附因子等。这些毒力因子都有复杂的结构, 并有自己独特的致病机理, 当然, 在它们发挥致病作用时, 不是某一种毒力因子独自发挥作用。Yu 等^[16]结合基因插入和基因敲除等手段, 对嗜水气单胞菌不同毒力因子的致病性的发挥作用进行了比较, 指出了毒力因子间是相互协作, 在体内发挥致病性作用。现介绍几种主要的毒力因子。

收稿日期: 2014-12-18

基金项目: 中央高校基本科研业务费资助项目(DL13EA06-3)

第一作者简介: 姜艳丽(1988-), 女, 黑龙江省齐齐哈尔市人, 在读硕士, 从事微生物研究。E-mail: dayanjing0623@163.com。

3.2.1 外毒素 嗜水气单胞菌中的外毒素是最主要的毒力因子,很多报道已证实,该毒素与鱼的出血病、肠炎病以及人的腹泻等有很大的关系。外毒素的致病机理主要是攻击宿主的红细胞,导致全身充血,或结合于肠上皮细胞上,导致肠上皮细胞分泌发生异常,肠液增多,最终发生严重腹泻。

现已确定的外毒素有多种,其中研究较多的有气溶素、溶血素、溶血毒素和细胞毒性肠毒素等^[17]。在国内,涂小林^[18]通过盐析、层析及凝胶过滤这种传统的蛋白分离方法,从嗜水气单胞菌的培养液中分离纯化得到一种外毒素,通过试验证实该外毒素具有溶血性、肠毒性、细胞毒性,因此,这种外毒素以 3 个毒性的英文首字母而被命名为 HEC 毒素。国际上,对于从嗜水气单胞菌中提取的具有这 3 种毒性的外毒素在名称上并不统一,Asao 将外毒素命名为溶血素,Rose 将其命名为细胞毒性肠毒素,而现在又逐渐被公认为气溶素。虽然不同基因型的嗜水气单胞菌产生的外毒素在名称上不同,然而在结构和功能上极为相似:单一多肽蛋白分子,大小约为 52.5 kDa,相同的生物活性(溶血性、肠毒素和细胞毒素),所以说外毒素属于同一基因家族^[19]。

但是,Rose 认为不同的外毒素表达的氨基酸可能存在不同,因此对各毒素的氨基酸做了比较,发现不同的外毒素在毒性和致病性上的确存在相似性,然而,它们的氨基酸序列却有明显的差异。除此之外,国际上对细胞毒性肠毒素是不是气溶素也存在争议。Alberto^[20]在基因水平上对 *A. hydrophila* SSU 株的细胞毒性肠毒素与气溶素做了比较,发现同源性可达 73%~96%,该试验结果表明,两者在基因水平上有较高的相似度,对于存在的较小差异,分析可能是菌株种间的差异导致毒素基因略有差异。丁磊^[21]等对 HEC 毒素作用于鲤鱼内皮细胞的毒性进行了研究,证实了该毒素产生的病症与气溶素和细胞毒性肠毒素的极其相似。因此,外毒素被越来越多的人认为是属于同一类基因家族。

3.2.2 胞外蛋白酶 嗜水气单胞菌的胞外蛋白酶也是主要的毒力因子,它主要使宿主的免疫系统遭到破坏,进而在宿主体内繁殖,当其直接作用于组织器官时,可引起组织充血或坏死。不同试验证实:胞外蛋白酶的直接致病性不是所有嗜水气单胞菌都有^[22-24],对于不具有直接致病性的胞

外蛋白酶,是通过协助或活化其它毒力因子达到致病性的作用^[25-26]。其中对于存在该菌培养液中的胞外蛋白酶被广泛认识,并得到较多研究的有两种,一种金属蛋白酶,另一种丝氨酸蛋白酶。李焕荣等^[27]抽提了培养嗜水气单胞菌的上清液中产生的 ECPase,并发现所提取的 ECPase54 为一种热稳定的金属蛋白酶。试验证实:当给实验小鼠腹腔注射该毒素时,小鼠发病致死,说明 ECPase54 是一种直接致死因子;然而 Leung 等^[28]从嗜水气单胞菌中提取到的 ECPase68,属于一种热不稳定的丝氨酸蛋白酶,并证实该蛋白酶无直接致病性。

3.2.3 粘附因子 存在于嗜水气单胞菌中的粘附因子主要包括菌毛、外膜蛋白和 S 层蛋白。这些粘附因子主要是将病原菌定植在合适的寄主体表上或组织中,并能在定植处繁殖,产生大量的毒素,导致寄主发病。

菌毛作为一种重要的粘附因子在嗜水气单胞菌的致病性方面有重要作用,主要是使细菌粘附在红细胞表面、消化道和肠道内。根据菌毛的不同存在形态分为 W 菌毛和 R 菌毛,前者在形态上呈螺旋形,分子量较大,量少,参与细菌的粘附,对人和兔的红细胞有凝集作用^[29];后者在形态上为直形,分子量较小,量多,无粘附作用,只与细菌的自凝作用有关^[30]。

外膜蛋白(OMP)作为革兰氏阴性菌外膜的主要成分得到研究者重视,除此之外,嗜水气单胞菌的外膜蛋白的粘附性和免疫原性,使它成为了研究的热点内容。2011 年刘明智等^[31]研究发现试验菌的外膜蛋白 W 基因具有免疫原性,2005 年 Xu^[32]等在不同试验菌株间的 OMP 之间存在免疫原性的交叉反应。因此,外膜蛋白的这种良好的免疫原性是嗜水气单胞菌的亚单位疫苗制备的一个有利条件,也为致病性气单胞菌的免疫防治方面提供了一种可能。

S 层蛋白是包括天冬氨酸在内的 16 种氨基酸组成的蛋白亚单位,位于菌体最外层,在其表面形成一层晶状排列的结构,对菌体起抗吞噬、抗补体、免疫的作用。S 层蛋白在不同菌株的分布上有其特别之处,它不是普遍存在的,或在菌体内含量差别较大。董传甫^[33]利用甘氨酸处理菌液,并结合超速离心的方法对 19 株嗜水气单胞菌的 S 层蛋白进行纯化,仅有一株可以得到高纯度的 S 层蛋白。此外,凌红丽^[34]证实,对于仅含 S 蛋白

毒力因子的嗜水气单胞菌对实验小鼠无致病性,这说明S蛋白的细胞毒性较小。

4 检测技术

4.1 生化鉴定

在细菌的鉴定前,首先进行细菌的分离,选择合适的鉴别培养基,根据鉴别培养基中某一种或某一类细菌在培养基上的菌落特点,再进一步做生化鉴定。由于菌株间的表现型、血清型、分离地和寄主体的差异,选用的生化指标也不完全相同。马子行^[35]等提出了9项关键指标,若符合这9项生化结果就可以判定为嗜水气单胞菌。董传甫^[34]把生化鉴定的指标降到了4项,即七叶苷(+)、阿拉伯糖(+)、氧化酶(+)、葡萄糖产气(+),只需要满足这4项生化指标就可以判定嗜水气单胞菌。此外,针对致病性嗜水气单胞菌的检测均参照国家制定的标准^[36];除根据生化鉴定的结果判定为嗜水气单胞菌之外,还需脱脂奶平板、DOT-ELISA做病原菌致病性的鉴定。但是,由于某些菌株的生化反应结果与标准的模式菌株不完全相同,因此需要做大量的生化指标或结合其它鉴定方法联合使用,这样鉴定结果才能更可靠和准确。

4.2 免疫血清技术

4.2.1 葡萄球菌A蛋白协同凝集反应(SPA-CoA) SPA-CoA是利用位于金葡萄球菌细胞壁上抗原的主要成分——A蛋白(SPA)所具有的非特异性结合IgG的Fc片段的功能,实现检测的一门技术。在两者结合后,Fc片段结构不会发生改变,即决定其抗体活性和特异性功能的Fab片段依然位于金葡萄球菌的最外侧,当两者的结合产物与特异性抗原相遇时,发生特异性结合,呈现出肉眼可见的凝集现象。李学勤^[37]使用SPA协同凝集技术对嗜水气单胞菌进行检测,通过该菌免疫家兔制备的血清与标准菌株Cowan I的SPA菌稳定液混合,制备成标记SPA菌诊断液,可以加快检测到淡水鱼类的嗜水气单胞的速度,其灵敏性是玻片凝集反应的25~50倍,且不与其它鱼类致病菌发生交叉反应,因此,该技术可以得到广泛的应用。

4.2.2 免疫荧光技术 免疫荧光技术是在已知的抗原或抗体标记上特殊的荧光物质,利用两者特异性结合的原理,实现对未知的抗体或抗原作定位、定性或定量分析的一门技术^[38]。该技术需使用荧光显微镜,只有荧光素受到激光的照射,待

检组织或细胞才会发出荧光,通过荧光的位置,实现对抗原或抗体的定位^[39]。另外,也可以通过视野中观察到荧光的数量对样本进行定量分析。因此,该技术具备诊断速度快,定位精准,特异性强等优点,逐渐成为了病毒和细菌的检测方法。

高汉娇^[40]用直接免疫抗体(FAT)在有明显发病的鱼体中检测到嗜水气单胞菌,并与传统的病菌的分离和鉴定相比,检出速度明显更快。白雪梅^[41]对发病的林蛙体内是否含有嗜水气单胞菌的检测试验中应用间接荧光技术(IFAT),在试验过程中对特异性的一抗和有荧光素标记的二抗的免疫条件进行了优化,通过最佳条件的组合,最终确定的试验条件可以清晰地荧光显微镜下观察到较强荧光的病原菌。IFAT技术也可应用在人工混合感染的试验中,吴淑勤^[42]对鳗鲡进行迟缓德华式菌和嗜水气单胞菌这两种菌的混合感染试验,在感染一定时间后,对试验样本进行检测,结果表明,IFAT可成功检测到早期无发病症状鱼体内已存在病原菌的结论。李卫军^[43]的IFAT在对鲢鱼体内的嗜水气单胞菌做检测试验中应用时,不仅成功地检测到该细菌,还证实了不与常见的鱼类病原菌之间产生交叉感染,具备特异性强的优点。

4.2.3 酶联免疫试验 酶联免疫试验(ELISA)是利用抗原和抗体之间专一性结合的原理,对样本进行检测的免疫学技术;由于结合于固体载体物上的抗原仍具有免疫活性,可与酶标记的抗体发生特异性结合,配合底物溶液呈现颜色反应,利用呈色之深浅进行定量分析。该技术不仅广泛应用于检测动物和植物病毒,近几年来也被应用在细菌病原菌检测中,并取得了一定的结果^[44]。

Shunji K^[45]应用ELISA对引起人腹泻型痢疾的致病菌——嗜水气单胞菌进行检测,在短时间内就可得出诊断结论。钱冬等^[46]用ELISA对人工感染嗜水气单胞菌的试验鱼进行检测,整个过程用时短,检出率高达85%。随后有学者不断对ELISA进行创新,发展了斑点酶联免疫吸附试验(DOT-ELISA)、生物素-亲和素酶联免疫吸附试验(BA-ELISA)。DOT-ELISA与传统的ELISA相比,是将固相载体反应板更换成醋酸纤维素膜,通过不溶性供体氢显色。陈怀青等^[47]通过纯化的HEC毒素,应用DOT-ELISA检测嗜水气单胞菌HEC毒素,可检出HEC毒素最低含量为 $3.7 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。刘颖^[48]应用DOT-ELISA技术实现了对细菌性全菌进行检测,并通过这种

成分复杂的抗血清抗体进行处理, DOT-ELISA 技术对实验鱼的阳性检出率可达 93%。胡大雁^[49]采用活化生物素标记兔 IgG 的双抗体夹心 BA-ELISA 检测致病性嗜水气单胞菌免疫制备的兔血清时,发现该方法是间接 ELISA 敏感的 16 倍。

4.3 分子生物学技术

随着分子生物学的发展,分子生物学技术广泛用于动、植物病原菌和病毒的相关检测方面,并体现了特异性强,灵敏度高,用时短,检测量大等优点。

关于嗜水气单胞菌的第一次分子生物学方面的应用是 Pollard 提出的,他是利用 PCR 技术,成功扩增出嗜水气单胞菌的一段气溶素基因,片段大小为 290 bp,后来该技术在临床检验中得到了广泛的应用^[50]。随着分子生物学的发展,研究者根据不同的实验目的设计引物,使该技术在嗜水气单胞菌的检测方面有了较大的发展。

徐景峨等^[51]、陆英杰等^[52]和周毅等^[53]利用 16SrRNA 的细菌通用引物和传统的 PCR 技术,对发病症状的大鲵、草鱼和金鱼进行致病菌的检测,通过与 16SrRNA 序列比较分析,成功地鉴定了致病菌,建立了不同的鱼类嗜水气单胞菌的检测方法。刘加波^[54]根据 16SrRNA 基因序列为特异性引物,应用传统的 PCR 技术,从患典型败血症的鲤鱼体内分离得到一株嗜水气单胞菌,并结合脱脂平板的溶蛋白圈试验,建立了一种致病性的嗜水气单胞菌的鉴定方法。李绍戊^[55]根据 16SrDNA 和气溶素基因(Aer)的保守序列设计两对常规 PCR 引物,将 PCP 这种分子生物学技术应用在检测东北地区的 21 株嗜水气单胞菌的实验中,其检出结果与传统的生化鉴定结果相符程度高达 90.48%,其中被检菌株的带毒率达 52.3%。试验结果说明了,对嗜水气单胞菌的某毒素的保守序列进行检测,也可以实现对该菌有无致病性的鉴定。孟双^[56]等基于 TaqMan 探针的实时荧光 PCR 的基础上,根据嗜水气单胞菌的不同基因设计了 3 对特异性引物,应用所建立的三重 PCR 方法可实现对嗜水气单胞菌的快速检测,并且与传统的 PCR 相比具有更高的灵敏性。程天印等^[57]基于气溶素基因设计了一套引物,采用环介导恒温基因扩增法(Lamp)对嗜水气单胞菌进行检测,通过对 Lamp 扩增温度和时间条件的优化,检出的嗜水气单胞菌最低菌液浓度在 $1.4 \sim 14$ 个 $\cdot \mu\text{L}^{-1}$,在特异性试验中证实,不与温和气单

胞菌、豚式气单胞菌等病原菌发生交叉扩增的现象。因此,该技术可适用于无 RCR 仪的实验室,且灵敏度和特异性较强,具有良好的应用前景。

参考文献:

- [1] 张海滨,杨桂芳. 12 种中草药对嗜水气单胞菌杀伤能力的研究[J]. 水产科学, 2006, 25(1): 16-18.
- [2] 何爱华,张曦,陶琳丽,等. 6 种中草药对 4 种淡水鱼致病菌体外抑菌作用的研究[J]. 南方水产科学, 2011, 7(2): 73-76.
- [3] 张玉芬,亢喜刚,张文丽,等. 口斋水气单胞菌疫苗免疫效果研究[J]. 水产科学, 2010, 29(11): 657-660.
- [4] 蔡完其,孙佩芳. 罗非鱼温和气单胞菌的病原研究和药敏试验[J]. 中国水产科学, 2002, 9(3): 243-246.
- [5] 肖根辉,王萍,刘明超,等. 中华鳖致病性嗜水气单胞菌分离鉴定与药敏试验[J]. 经济动物学报, 2011(1): 56-60.
- [6] 姚伦. 团头鲂暴发性败血症病原和免疫防治研究[D]. 南昌:南昌大学, 2008.
- [7] 吴会民,林文辉,石存斌. 致病性嗜水气单胞菌概述[J]. 河北渔业, 2007(3): 7-11.
- [8] Colwell R, Macdonell M T, De Ley J. Proposal to recognize the family Aeromonadaceae fam [J]. International Journal of Systemic Bacteriology, 1986, 34: 473-477.
- [9] 单晓枫,郭伟生,陈畅,等. 嗜水气单胞菌检测技术研究进展[J]. 动物医学进展, 2010, 31(5): 90-93.
- [10] 吴倩,闫芳,刘风波. 嗜水气单胞菌的研究进展[J]. 畜牧业, 2010(2): 28-31.
- [11] 夏春,马志宏,陈惠英. 聚合酶链式反应(PCR)法检测产 β -溶血素嗜水气单胞菌[J]. 水生生物学报, 1999, 23(5): 123-125.
- [12] Figura N, Guglielmetti P. Differentiation of motile and in-sophylic Aeromonas strains into species by testing for a CAMP-like factor [J]. Journal of Clinical Microbiology, 1987, 25(7): 1341-1342.
- [13] 陈翠珍,张晓君,房海,等. 鱼气单胞菌感染症状及其病原的检测与分析[J]. 华北农学报, 2000, 15(S): 178-184.
- [14] Hsiu-tsum K, Yhu-cherim H, Tzou-yien L. Fatal bacteremic pneumonia caused by Aeromonas hydrophila in a previously healthy child [J]. Journal of Microbiology Immunology and Infection, 2003, 36: 209-211.
- [15] 张玉芬,亢喜刚,张秀君. 嗜水气单胞菌的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(26): 12389-12390.
- [16] Yu H B, Zhang Y L, Lau Y L, et al. Identification and characterization of putative virulence genes and gene clusters in Aeromonas hydrophila PPD134/91 [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(8): 4469-4477.
- [17] 葛晨霞,李月红,张培军,等. 致病性嗜水气单胞菌气溶素基因 PCR 检测方法的建立[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(34): 19509-19510.
- [18] 涂小林,陆承平. 嗜水气单胞菌毒素的提纯及其特性分析[J]. 微生物学报, 1992(6): 432-438.
- [19] 张波. 青鱼肠道出血病病原菌的分离鉴定与疫苗的初步研究[D]. 武汉:华中农业大学, 2011.
- [20] Alberto casn, Juan angutta, Carnen hernanz, et al. Identification of Aeromonas hydrophila hybridization group 1 by PCR assays [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1996, 62: 1167-1170.
- [21] 丁磊,吴康,蔡春芳,等. 嗜水气单胞菌 HEC 毒素对鲤内皮

- 细胞的毒性[J]. 中国水产科学, 2002(2): 117-119, 197.
- [22] Leung K Y, Tn5-induced protease deficient strains of *Aeromonas hydrophila* with reduced virulence for fish[J]. *Infection and Immunity*, 1988, 9: 2639-2644.
- [23] 储卫华, 陆承平. 嗜水气单胞菌胞外蛋白酶对鲫鱼的致病性[J]. 南京农业大学学报, 2000, 23(2): 80-84.
- [24] 李绍戊, 卢彤岩. 嗜水气单胞菌毒力因子研究进展[J]. 水产学杂志, 2013(5): 61-64.
- [25] Cascon A, Yugueros J, Temprano A, et al. A major secreted elastase is essential for pathogenicity of *Aeromonas hydrophila* [J]. *American Society for Microbiology*, 2000, 68(6): 3233-3241.
- [26] 张运强, 李庆乐. 嗜水气单胞菌的致病性及其防治方法[J]. 广西农业科学, 2007, 38(5): 465-568.
- [27] 李焕荣, 陈怀青, 陆承平. 嗜水气单胞菌胞外蛋白酶 ECPa-sa54 的纯化及特性分析[J]. 南京农业大学学报, 2002, 19(3): 88-94.
- [28] Leung K Y, Stevenson R M W. Characteristics and distribution of ECPases from *Aeromonas hydrophila* [J]. *General Microbiology*, 1988, 134: 151-160.
- [29] 邱德全, 何建国, 钟英长. 嗜水气单胞菌的致病性和免疫性研究[J]. 中山大学学报论丛, 1996(S1): 98-108.
- [30] 蒋启欢, 叶应旺, 胡王, 等. 嗜水气单胞菌毒力因子及病害控制研究进展[J]. 现代农业科学, 2012(3): 324-327.
- [31] 刘明智, 叶星, 田园园, 等. 嗜水气单胞菌外膜蛋白 W 基因的表达及其免疫原性分析[J]. 微生物学通报, 2011, 38(3): 437-445.
- [32] Xu C X, Wang S Y, Zhang Z X, et al. Immunogenic cross-reaction among outer membrane proteins of Gram-negative bacteria [J]. *International Immunopharmacology*, 2005, 5: 1151-1163.
- [33] 董传甫, 林天龙. 嗜水气单胞菌研究进展(综述)[J]. 福建农业学报, 2003(4): 243-248.
- [34] 凌红丽, 陆承平, 陈怀青, 等. 6 株嗜水气单胞菌的毒力因子及其对小鼠的致死性[J]. 中国兽医学报, 1999, 19(3): 255-257.
- [35] 马子行, 余传霖. 气单胞菌属的分类与鉴定[J]. 国外医学微生物学分册, 1992(15): 25-28.
- [36] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB/T186522002 致病性嗜水气单胞菌检验方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2002.
- [37] 李学勤, 王振英, 马家好, 等. 淡水鱼类主要细菌性传染病快速诊断的研究 ISPA-CoA 检测 6 株运动型气单胞菌[J]. 中国兽医学报, 1997, 17(1): 33-35.
- [38] 沈福晓, 程安春, 汪铭书. 免疫荧光技术在畜禽传染病研究和诊断中的应用[J]. 中国家禽, 2009(1): 30-34.
- [39] 王利. 鱼类嗜水气单胞菌的几种检测方法[J]. 中国兽药杂志, 2002(8): 39-40, 38.
- [40] 高汉娇. 水库暴发性鱼病及其防治技术研究 2: 直接荧光抗体法对白鲢病原菌的鉴定[J]. 水利渔业, 1995(2): 11-13.
- [41] 白雪梅, 李太元, 杨兴, 等. 应用间接荧光抗体技术检测林蛙嗜水气单胞菌[J]. 水产科学, 2010(10): 613-615.
- [42] 吴淑勤, 谢军. 鳗鲡混合感染嗜水气单胞菌和迟缓爱德华氏菌的快速诊断[J]. 鱼类病害研究, 1993(3): 40-42.
- [43] 李卫军. 应用间接荧光抗体法检测鱼类嗜水气单胞菌的试验研究[J]. 中国动物检疫, 1998(4): 5-6.
- [44] 刘颖. 应用 DOT-ELISA 技术快速检测鱼类细菌性病原的研究[J]. 内陆水产, 1998(1): 6-7.
- [45] Shunji K, Akane K, Tsutomu A, et al. Enzyme-linked immunosorbent assay for *Aeromonas hydrophila* hemolysins[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 1987, 41(2): 147-151.
- [46] 钱冬, 陈月英. 应用酶联免疫吸附实验检测暴发病病原-嗜水气单胞菌的研究[J]. 水产养殖, 1993(4): 14-17.
- [47] 陈怀青, 陆承平, 陈琼, 等. 用点酶法检测鱼类致病性嗜水气单胞菌 HEC 毒素[J]. 动物检疫, 1993, 10(4): 7-9.
- [48] 刘颖. 应用 DOT-ELISA 技术快速检测鱼类细菌性病原的研究[J]. 内陆水产, 1998(1): 6-7.
- [49] 胡大雁, 钱冬, 刘问, 等. 嗜水气单胞菌 BA-ELISA 的建立及其在病原检测中的应用[J]. 华中农业大学学报, 2008(1): 80-85.
- [50] Pollard D R, Johnson W M, Lior H, et al. Detection of the Aerolysin Gene in *Aeromonas hydrophila* by the Polymerase Chain Reaction [J]. *J Clin Microbiol*, 1990, 28(11): 2477-2481.
- [51] 徐景峨, 余波, 文正常, 等. 大鲵致病性嗜水气单胞菌的分离鉴定与药敏试验[J]. 畜牧与兽医, 2010(3): 56-58.
- [52] 陆英杰, 杜玉东, 王志彪, 等. 疑似草鱼嗜水气单胞菌的分离鉴定及药敏试验[J]. 中国畜牧兽医, 2013(7): 62-65.
- [53] 周毅, 张培培, 徐晖, 等. 金鱼嗜水气单胞菌的分离鉴定及药敏试验[J]. 水产科学, 2014(6): 379-384.
- [54] 刘加波, 谢芝勋, 邓显文, 等. 罗非鱼嗜水气单胞菌的分离鉴定[J]. 水利渔业, 2006, 26(4): 100-103.
- [55] 李绍戊, 王荻, 刘红柏, 等. 东北三省致病性嗜水气单胞菌快速检测[J]. 江西农业大学学报, 2010(3): 585-589.
- [56] 孟双, 白雪梅, 王艳, 等. 嗜水气单胞菌实时荧光三重 Taq-Man PCR 快速检测体系的建立[J]. 中国人兽共患病学报, 2012(3): 217-222.
- [57] 程天印, 刘洵, 常小斌. 嗜水气单胞菌 Lamp 检测方法的建立及应用[J]. 中国兽医科学, 2007(12): 1013-1016.

Research Progress on *Aeromonas hydrophila*

JIANG Yan-li¹, LI Li-li²

(1. College of Life Science, Northeast Forestry University, Harbin, Heilongjiang 150040;
2. Institute of Forestry Science of Heilongjiang Province, Harbin, Heilongjiang 150081)

Abstract: In order to prevent the infectious diseases caused by *Aeromonas hydrophila*, and reduce the damage to human and animals, the taxonomic status and biological character of *Aeromonas hydrophila* were reviewed, the research of virulence factor(exotoxin and extracellular protease) and identification of *Aeromonas hydrophila* were summarized, including biochemical identification, immune serum and molecular biology techniques.

Keywords: *Aeromonas hydrophila*; virulence factor; identification; research