

## 一株分离自美国龙虾的麦氏弧菌的鉴定及其低温状态下细胞脂肪酸的变化

李正义<sup>1</sup>, 贾俊涛<sup>1\*</sup>, 曹际娟<sup>2</sup>, 陈吉祥<sup>3</sup>, 徐琴<sup>1</sup>, 姜英辉<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 山东出入境检验检疫局检验检疫技术中心, 青岛 266002

<sup>2</sup> 辽宁出入境检验检疫局检验检疫技术中心, 大连 116001

<sup>3</sup> 兰州理工大学石油化工学院, 兰州 730050

**摘要:** 【目的】对从美国龙虾 (*Homarus americanus*) 中分离的菌株 F5-1 进行种属鉴定并分析其低温状态下脂肪酸组成变化。【方法】通过 VITEK 2 Compact 全自动微生物鉴定仪分析菌株的生理生化特征和进行药敏试验; 16S rRNA 基因序列同源性分析确定该菌株的系统发育学地位; 通过气相色谱和质谱联用法 (GC-MS) 分析菌株的全细胞脂肪酸。【结果】菌株 F5-1 为革兰氏阴性菌, 对弧菌抑制剂 O/129 敏感, 对青霉素有耐药性; 生理生化特征与麦氏弧菌 (*Vibrio metschnikovii*) 的相似性为 96%, 16S rRNA 序列与麦氏弧菌 (GenBank No. HQ658055) 的相似性为 99%; 菌株的主要脂肪酸组成为 C12:0、C14:0、C16:0 和 C16:1 (n-7), 不饱和脂肪酸 (棕榈油酸) 相对含量达 34%, 低温培养状态下, 不饱和脂肪酸 (棕榈油酸) 相对含量增加至 40%。【结论】将美国龙虾中分离的菌株 F5-1 鉴定为麦氏弧菌, 该菌对多种药物敏感, 菌细胞脂肪酸组成与来源于俄罗斯海参威某饮用水水库中分离的麦氏弧菌有较大差异。

**关键词:** 麦氏弧菌, 鉴定, 脂肪酸, 气相色谱-质谱联用法

**中图分类号:** Q941      **文献标识码:** A      **文章编号:** 0001-6209 (2013) 06-0628-07

麦氏弧菌 (*Vibrio metschnikovii*) 是国际公认的 11 种致病性弧菌之一, 也是引起感染性腹泻的致病菌<sup>[1]</sup>, 主要能引起人类的创伤性感染和败血症<sup>[2]</sup>。麦氏弧菌因与霍乱弧菌培养特征相同, 在 pH10 及 40℃ 能生长, 且在检测霍乱弧菌的血清学实验中呈现阳性, 容易误诊为霍乱弧菌<sup>[3]</sup>。此外, 麦氏弧菌氧化酶阴性, 在常规检验中易误认为肠杆菌科细菌而漏检。目前发展的 VITEK 等多种商品化的生化鉴定系统针对麦氏弧菌的鉴定也存在偏差。因此,

为了避免血清分型和生化实验等不确切和矛盾的结果, 有必要建立快速有效的准确鉴定方法。

细菌生理生化特征和核糖体小亚基 RNA 的基因序列信息是常规菌种鉴定的重要标准。此外, 细菌的细胞结构中普遍含有的脂肪酸成分具有高度的同源性, 各种细菌具有其特征性的细胞脂肪酸指纹图谱<sup>[5]</sup>, 将脂肪酸的提取与灵敏的气相色谱法相结合, 是一种适用于细菌的快速、稳定鉴定方法<sup>[7]</sup>。脂肪酸是细菌细胞中一种稳定而富有的化学组分,

基金项目: 国家质检总局科研项目 (2009IK176, 2012IK305)

\* 通信作者。Tel: +86-532-80885610; E-mail: jiajt@tom.com

作者简介: 李正义 (1981 -), 男, 山东泰安人, 博士, 从事微生物检测研究。E-mail: zhyli@yahoo.com.cn

收稿日期: 2012-08-13; 修回日期: 2013-02-17

和细菌的遗传变异、毒力、耐药性等有着极为密切的关系,是一较稳定的分类学特征<sup>[4]</sup>。1963年,美国科学家 Abel 首先将气相色谱用于分析肠杆菌科全细胞脂肪酸成分,比较六种肠杆菌(大肠杆菌、粘质沙雷氏菌、普通变形杆菌、弗氏埃希氏菌、阴沟肠杆菌和产气克雷伯氏菌)的全细胞脂肪酸组分,主要脂肪酸种类相同,但相对含量差异较大<sup>[6]</sup>。

低温生态环境在自然界中以及人为低温环境如水产品加工、储存、运输环节广泛存在。弧菌作为已经发现的适冷微生物,其在低温状态下的性质研究主要集中在膜结构上及膜中不饱和脂肪酸的含量<sup>[8-10]</sup>。本文采用 VITEK 快速鉴定系统结合 16S rRNA 基因序列分析对分离自美国龙虾的一株麦氏弧菌的进行快速鉴定,并通过药敏试验测试各类药物对该菌的抑制作用,为病原菌防治提供理论依据,利用气质联用技术分析麦氏弧菌分离株在低温培养条件下脂肪酸组成的变化情况,为进一步研究麦氏弧菌适应低温条件的脂肪酸代谢调控奠定基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 主要试剂和仪器

菌株 F5-1 分离自进口美国的美国龙虾 (*Homarus americanus*) 腹部。Difco™ TCBS 琼脂 (Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose Agar) 培养基购自碧迪医疗器械(上海)有限公司,碱性蛋白胨水和胰酶大豆琼脂 (Tryptic Soy Agar, TSA) 购自北京陆桥技术责任有限公司。

法国生物梅里埃公司全自动微生物鉴定仪, VITEK 2 Compact 革兰氏阴性菌鉴定卡和革兰氏阴性杆菌药敏卡;细菌基因组 DNA 提取试剂盒和 Taq DNA 聚合酶购自天根生化科技北京有限公司;PCR 引物由宝生物工程(大连)有限公司合成;BIO-PROFILE 凝胶成像系统, Eppendorf AG PCR 仪;脂肪酸甲酯混合物标样 (MIDI 公司提供) 包括 4-24 碳共 47 种脂肪酸甲酯, Agilent 5975C 系列气相色谱/质谱联用系统(与安捷伦 7890A 气相色谱仪联用), 色谱柱: 瓦里安石英毛细管色谱柱 (100 m × 250 μm × 0.2 μm)。

### 1.2 形态观察及生理生化实验

无菌操作取美国龙虾腹部 25 g, 置于装有 225 mL 碱性蛋白胨水的无菌均质杯中, 36℃ 恒温培养

18 h, 划线接种于 TCBS 琼脂平板, 36℃ 培养 24 h, 观察菌落形态。使用全自动微生物鉴定仪和革兰氏阴性菌鉴定卡进行鉴定。

### 1.3 16S rRNA 基因序列测定和分析

**1.3.1 DNA 的制备:** 纯化的菌株在 TCBS 平板上 36℃ 培养 24 h, 采用细菌基因组 DNA 提取试剂盒说明书提取基因组 DNA。

**1.3.2 16S rRNA 基因的扩增及测序:** 采用细菌 16S rRNA 基因通用引物 27f (5'-AGAGTTTGATCM TGGCTCAG-3') 和 1541r (5'-AAGGAGGTGATCCAG CC-3')。PCR 热循环条件为: 95℃ 5 min; 94℃ 30 s, 53℃ 30 s, 72℃ 1.5 min, 30 个循环; 72℃ 10 min。PCR 扩增产物测序在宝生物工程(大连)有限公司完成。

**1.3.3 系统发育分析:** 菌株 F5-1 的 16S rRNA 基因序列用 BLAST 程序在 GenBank 中搜索相似的序列。将相关序列用 clustalx (version 2.1) 进行多序列匹配排列 (Multiple Alignments), Phyip (version 3.65) 分析, 采用 Neighbor-joining 法构建系统发育树, Bootstrap 分析评估树的稳定性。

### 1.4 药敏实验

菌株 F5-1 用全自动微生物鉴定仪和革兰氏阴性杆菌药敏卡进行对常用抗菌类药物的敏感性测定: 0.45% 生理盐水稀释到标准浓度, 完成孵育周期后, 确定最低抑菌浓度 (MIC, Minimum Inhibitory Concentration)。

### 1.5 脂肪酸分析

**1.5.1 前处理试剂配制:** 菌株 F5-1 在 TSA 琼脂培养基上 28℃ 培养 24 h, (4℃ - 6℃) 培养 48h。具体菌体脂肪酸提取方法同文献 [11]。

**1.5.2 脂肪酸样品的气质分析:** (1) 气相色谱分析: 二阶程序升高柱温, 170℃ 起始, 经 5℃/min 升至 260℃, 而后经 40℃/min 升至 310℃, 维持 1.5 min; 汽化室温度 250℃; 检测器温度 300℃; 载气为 H<sub>2</sub> (2 mL/min), 尾吹气为 N<sub>2</sub> (30 mL/min), 柱前压 10.00 psi (1 psi = 6.895 kPa); 进样量 1 μL, 分流比为 100:1。在上述气相色谱条件下, 平行分析脂肪酸甲酯混合物标样和分离株 F5-1 脂肪酸样品。(2) 质谱条件: 离子源 EI, 离子源温度 230℃, 四级杆温度 150℃, 电子能量 70 eV, 传输线温度 280℃, 采集模式全扫描。

## 2 结果

### 2.1 形态和生理生化特征

菌株 F5-1 在 TCBS 琼脂培养基上形成的菌落表面光滑,黄色,圆形,直径 3 mm 左右。菌细胞革

兰氏染色阴性,杆状,大小为  $1.0 \mu\text{m} \times 2.0 \mu\text{m}$ 。菌株 F5-1 对弧菌抑制剂 O/129 敏感,具有弧菌属的典型特征。采用 VITEK 2 Compact 革兰氏阴性菌鉴定卡鉴定该菌株,结果显示该菌株的生理生化特征与麦氏弧菌相似性为 96% (表 1),处于鉴定卡置信水平极好范围内(96% - 99%)。

表 1. 分离菌株 F5-1 的生理生化特征

Table 1. Physiological and biochemical characteristics of isolated strain F5-1

Characteristic	F5-1	Characteristic	F5-1
Ala-Phe-Pro-arylamidase	+	Saccharose /sucrose	+
Adonitol	-	D-tagatose	-
L-pyrrolydonyl-arylamidase	-	D-trehalose	+
L-arabitol	-	Citrate (sodium)	-
D-cellobiose	-	Malonate	-
Beta-galactosidase	+	5-keto-D-gluconate	-
H <sub>2</sub> S production	-	L-lactate alkalinisatio	-
beta-n-acetyl-glucosaminidase	+	Alpha-glucosidase	+
Glutamyl Arylamidase pNA	-	Succinate alkalisation	+
D-glucose	+	beta-n-acetyl-galactosaminidase	-
Gamma-glutamyl-transferase	-	Alpha-galactosidase	+
Fermentation /glucose	-	Phosphatase	-
Beta-glucosidase	+	Glycine arylamidase	-
D-maltose	+	Ornithine decarboxylase	-
D-mannitol	+	Lysine decarboxylase	-
D-mannose	+	Decarboxylase base	-
Beta-xylosidase	-	L-histidine assimilation	-
Beta-alanine arylamidase pNA	-	Courmarate	-
L-proline arylamidase	+	Beta-glucuronidase	-
Lipase	-	O/129resistance (comp. vibrio.)	-
Palatinose	-	Glu-Gly-Arg-arylamidase	+
Tyrosine Arylamidase	+	L-malate assimilation	-
Urease	-	Ellman	+
D-sorbitol	+	L-lactate assimilation	-

+ : positive ; - : negative.

### 2.2 16S rRNA 基因系统发育分析

菌株 F5-1 的 16S rRNA 部分序列长 1442 bp, GenBank 登录号为 JX409930。将菌株 F5-1 16S rRNA 序列进行比对分析,图 1 显示了基于 16S rRNA 序列相似性而构建的系统发育树。菌株 F5-1 与检验检疫主要致病性弧菌霍乱弧菌 (*Vibrio cholerae*)、创伤弧菌 (*Vibrio vulnificus*) 16S rRNA 序列 (GenBank No. AE003852、AB6819031) 相似性分别为 93% 和 96%,其与 *V. metschnikovii* SU1 16S rRNA 序列 (GenBank No. HQ658055) 的相似性最高,为 99%。综合菌株 F5-1 菌株的形态特征、VITEK 鉴定卡测定的生理生化特征和 16S rRNA 序列特征,鉴定 F5-1 菌株为麦氏弧菌,命名为麦氏弧菌 F5-1。

### 2.3 药敏实验

麦氏弧菌 F5-1 对青霉素有耐药性,对氨舒钠、

哌拉西林/他左巴坦和头孢唑啉中度敏感,对头孢替坦、头孢他定、头孢曲松、头孢吡肟、亚安培南、阿米卡星、庆大霉素、妥布霉素、环丙沙星、左氧氟沙星、呋喃妥因和磺胺甲恶唑/甲氧苄啶敏感(表 2)。

### 2.4 麦氏弧菌分离株脂肪酸组分分析

麦氏弧菌 F5-1 脂肪酸主要是 C12:0, C14:0, C16:0, C16:1 (n-7), 不饱和脂肪酸为棕榈油酸,含量为 34.2%,不含有 2 个以上双键的不饱和脂肪酸,耐冷冻性较差。表 3 显示了同一种细菌不同来源、不同状态下主要脂肪酸的组成存在着多态性<sup>[12]</sup>。麦氏弧菌 F5-1 在低温条件下(4℃ - 6℃)培养 48 h 后,主要脂肪酸组成不变,但含量发生变化,不饱和脂肪酸含量从 34.2% 增加到 40%。来源于俄罗斯海参崴某饮用水库中麦氏弧菌分离株 KMM3384 和来源于巴斯德研究所的麦氏弧菌标准

菌株 CIP 69.14<sup>[8]</sup>, 培养条件和 F5-1 相同, 主要脂肪酸组成为 C14:0, C16:0, C16:1 (n-7) 和 C18:1 (n-

7), 不饱和脂肪酸 (棕榈油酸和油酸) 的含量分别为 61.6% 和 61.2%, 高于菌株 F5-1。

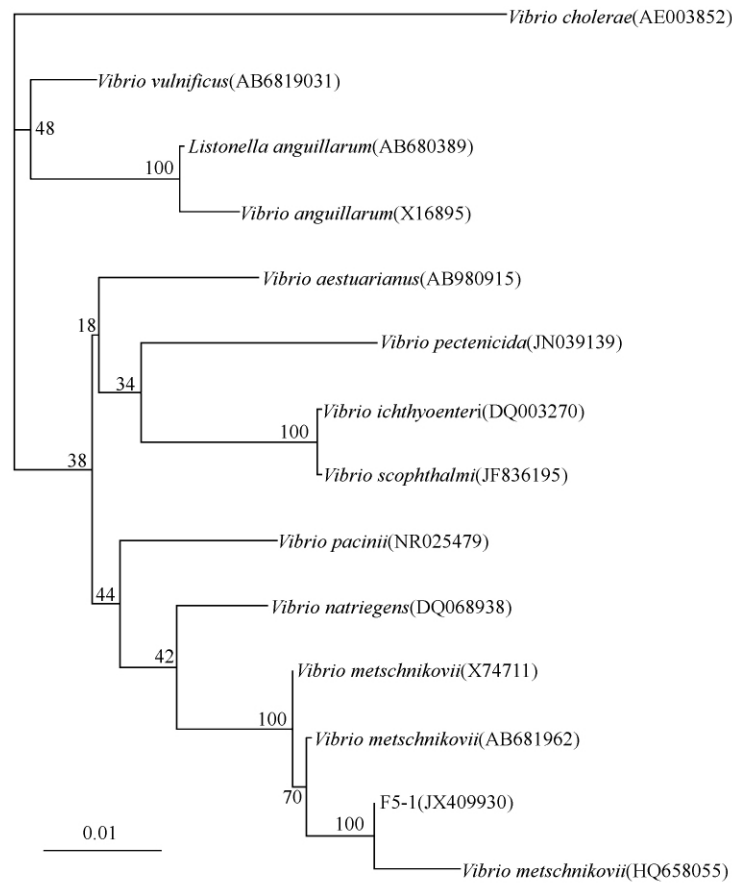


图 1. 基于 16S rRNA 基因序列构建的菌株 F5-1 的系统发育树

Figure 1. Neighbour-joining tree showing the phylogenetic relationships based on 16S rRNA gene sequences of isolated strain F5-1. The number at each branch points is the percentage supported by bootstrap. Bar, 1% sequence divergence.

表 2. 药敏试验结果

Table 2. Results of drug-sensitivity tests

Drug	MIC / (μg/mL)	Interpretation
Ampicillin	≥32	R
Ampicillin/Sulbactam	16	I
Piperacillin/Tazobactam	32	I
Cefazolin	16	I
Cefotetan	16	S
Ceftazidime	≤1	S
Ceftriaxone	≤1	S
Cefepime	4	S
Imipenem	2	S
Amikacin	≤2	S
Gentamicin	≤1	S
Tobramycin	≤1	S
Ciprofloxacin	1	S
Levofloxacin	1	S
Nitrofurantoin	≤16	S
Trimethoprim/Sulfamethoxazole	40	S

S: susceptible; I: intermediate; R: resistance.

表 3. 不同来源麦氏弧菌的主要脂肪酸组成

Table 3. Comparison of fatty acid composition (relative proportion, %) of *V. metschnikovii* isolated from different resources

Fatty acid	F5-1	F5-1 (4-6°C)	KMM 3384 <sup>[8]</sup>	CIP 69.14 <sup>T [8]</sup>
C12:0	41.4	41.9	1.8	3.5
C14:0	17.4	10.8	4	5
C16:0	7.0	7.3	24.8	24
C16:1 (n-7)	34.2	40.0	33	34.7
C18:1 (n-7)	0	0	28.6	26.5

F5-1: *V. metschnikovii* isolated from *Homarus americanus*, grown on TSA plates at 28°C for 24h; F5-1 (4-6°C): *V. metschnikovii* isolated from *Homarus americanus*, grown on TSA plates at 4-6°C for 48h; KMM 3384<sup>[8]</sup>: *V. metschnikovii* isolated from a drinking water reservoir, grown on TSA plates at 28°C for 24h; CIP 69.14<sup>T [8]</sup>: *V. metschnikovii* obtained from the collection of bacterial strains of the Pasteur Institute, grown on TSA plates at 28°C for 24 h.

### 3 讨论

麦氏弧菌 (*V. metschnikovii*), 又称麦奇尼科夫弧菌, 主要分布于水环境、水产品、人类血液、尿液等, 引起人类伤口感染和败血症。它能与霍乱弧菌 O139 诊断血清发生凝集, 需要补做生化反应进一步判断; 常规生化检验中, 由于致病性弧菌大多氧化酶阳性, 而麦氏弧菌氧化酶试验阴性易混入肠杆菌科或者误认为非致病菌造成漏检; 生化鉴定系统以数值分类鉴定为核心, 不少鉴定系统由于数学模型设计有缺陷, 致使该鉴定系统鉴定结果错误率升高。16S rRNA 基因的高保守性使其作为标记基因广泛应用于细菌分类学和细菌的分子流行病学研究中<sup>[13]</sup>。然而, 16S rRNA 基因也表现出了不容忽视的缺点: 高保守性使其不能很好的区分属内不同的物种<sup>[14]</sup>。本文综合形态观察、生理生化特征、16S rRNA 基因序列测定及系统发育树分析, 鉴定从进口美国龙虾分离的弧菌为麦氏弧菌, 该菌容易污染冬春季的饮用水源, 造成在人群中的传播。药敏实验结果显示, 该菌只对青霉素有耐药性, 采用庆大霉素、头孢类抗生素等进行给药预防和控制。

不饱和脂肪酸在保持生物膜的流动性中发挥重要作用, 其在生物膜中的含量与机体对低温逆境的抗性有极强的相关性。不饱和脂肪酸含量的增加, 会引起脂类溶点的降低, 从而使膜中脂类处于液态, 具有流动性, 本研究中麦氏弧菌在低温状态下, 不饱和脂肪酸含量增加, 这对其在低温下的生存非常重要<sup>[15]</sup>。Broadbent 等对乳酸乳球菌进行了冷休克 (10℃, 2h) 处理, 发现细胞膜成分发生变化, 不饱和脂肪酸含量增加, 致使饱和膜脂/不饱和脂肪酸比值降低, 增加了抗冻能力<sup>[16]</sup>。Ashley 等研究创伤弧菌在低温 (5℃, 4h) 处理条件下主要脂肪酸的变化时, 也发现细胞膜中不饱和脂肪酸的含量增加, 说明保持膜流动性和活跃的脂肪酸代谢是弧菌对于低温的重要生理信号反应<sup>[9]</sup>。据文献报道, 同一种微生物来源不同其脂肪酸组成存在差异<sup>[17]</sup>。本文从进口美国龙虾分离的麦氏弧菌在 28℃ 培养, 不饱和

脂肪酸相对含量大约为 34%, 组成为棕榈油酸, 与来源于俄罗斯海参威某饮用水水库中分离的麦氏弧菌 KMM3384<sup>[8]</sup> 和来源于巴斯德研究所的麦氏弧菌标准菌株 CIP 69.14 的脂肪酸组成差别较大, 说明麦氏弧菌的脂肪酸组成与地域关系紧密。

### 参考文献

- [1] 闻玉梅. 现代医学微生物学. 上海: 复旦大学出版社, 2002.
- [2] Linde HJ, Kobuch R, Jayasinghe S, Reischl U, Lehn N, Kaulfuss S, Beutin L. *Vibrio metschnikovii*, a Rare Cause of Wound Infection. *Journal of Clinical Microbiology*, 2004; 42(10): 4909-4911.
- [3] 高守一, 魏承毓. 霍乱防治手册. 第五版. 北京: 中华人民共和国卫生部疾病控制司, 1999.
- [4] Merry SR, Vaughn SC, Richard EL, Larry F, Terence LM. Rapid phenotypic change and diversification of a soil bacterium during 1000 generations of experimental evolution. *Microbiology*, 2001, 147: 995-1006.
- [5] Wang Q, Lan J, Zhu Y, Xiao R, Ge C, Lin Y, Chen L, Liu B. Fingerprint analysis on methyl fatty acid and its applications in microbial study. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2007, 22(2): 212-218. (in Chinese)
- 王秋红, 蓝江林, 朱育菁, 肖荣凤, 葛慈斌, 林营志, 陈亮, 刘波. 脂肪酸甲酯谱图分析方法及其在微生物学领域的应用. *福建农业学报*, 2007, 22(2): 212-218.
- [6] Abel K, Schmertzling H, Peterson JI. Classification of microorganisms by analysis of chemical composition. *Journal of Bacteriology*, 1963, 85: 1039-1044.
- [7] Welch DF. Applications of cellular fatty acid analysis. *Clinical Microbiology Reviews*, 1991, 4: 422-438.
- [8] Ivanova EP, Zhukova NV, Gorshkova NM, Chaikina EL. Characterization of *Aeromonas* and *Vibrio* species isolated from a rinking water reservoir. *Journal of Applied Microbiology*, 2001, 90, 919-927.
- [9] Day AP, Oliver JD. Changes in membrane fatty acid composition during entry of *Vibrio vulnificus* into the viable but nonculturable state. *The Journal of Microbiology*,

- 2004, 42(2):69-73.
- [10] Carballeira NM, Sostre A, Stefanov K, Popov S, Kujumgiev A, Dimitrova-Konaklieva S, Tosteson CG, Tosteson TR. The fatty acid composition of a *Vibrio alginolyticus* associated with the alga *Cladophora coelothrix*—Identification of the novel 9-methyl-10-hexadecenoic acid. *Lipid*, 1997, 32(12):1271-1275.
- [11] Sasser M, Kunitzky C, Jackoway G, Ezzell JW, Teska JD, Harper B, Parker S. Identification of *Bacillus anthracis* from culture using gas chromatographic analysis of fatty acid methyl esters. *Journal of AOAC International*, 2005, 88(1):178-181.
- [12] Wang Q, Chen L, Lin Y, Zhu Y, Lan J, Yang S, Liu B. Polymorphism of fatty acid of *Ralstonia solanacearum* in Fujian province. *Scientia Agricultura Sinica*, 2007, 40(8):1675-1687. (in Chinese)
- 王秋红,陈亮,林营志,朱育菁,蓝江林,杨淑佳,刘波.福建省青枯雷尔氏菌脂肪酸多态性研究.中国农业科学,2007,40(8):1675-1687.
- [13] Cai HY, Archambault M, Gyles CL, Prescott JF. Molecular genetic methods in the veterinary clinical bacteriology laboratory: current usage and future applications. *Animal Health Research Reviews*, 2003, 4(2):73-93.
- [14] Yang L, Zhi X, Li W. Phylogenetic analysis of *Nocardiopsis* species based on 16S rRNA, *gyrB*, *sod* and *rpoB* sequences. *Acta Microbiologica Sinica*, 2007, 47(6):951-955. (in Chinese)
- 杨玲玲,职晓阳,李文均.拟诺卡氏菌 16S rRNA, *gyrB*, *sod* 和 *rpoB* 基因的系统发育分析.微生物学报,2007,47(6):951-955.
- [15] Chen X, Zhang Y, Gao P. Progress in cold-adapted microorganisms and their cold-adapted mechanism. *Journal of Chinese Biotechnology*, 2003, 23(2):86-90. (in Chinese)
- 陈秀兰,张玉忠,高培基.适冷微生物及其适冷机制研究进展.中国生物工程杂志,2003,23(2):86-90.
- [16] Broadbent JR, Lin C. Effect of heat shock or cold shock treatment on the resistance of *Lactococcus lactis* to freezing and lyophilization. *Cryobiology*, 1999, 39:88-102.
- [17] Zhu Y, Su S, Huang S, Wang Q, Liu B. Effect of cultural condition on fatty acid composition of *Ralstonia solanacearum*. *Microbiology China*, 2009, 36(8):1158-1165. (in Chinese)
- 朱育菁,苏明星,黄素芳,王秋红,刘波.培养条件对青枯雷尔氏菌脂肪酸组成的影响.微生物学通报,2009,36(8):1158-1165.

# Identification of *Vibrio metschnikovii* from *Homarus americanus* and its changes in membrane fatty acid composition in response to low temperature

Zhengyi Li<sup>1</sup>, Juntao Jia<sup>1\*</sup>, Jijuan Cao<sup>2</sup>, Jixiang Chen<sup>3</sup>, Qin Xu<sup>1</sup>, Yinghui Jiang<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Technical Center for Inspection & Quarantine of Shangdong Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Qingdao 266002, China

<sup>2</sup> Technical Center for Inspection & Quarantine of Liaoning Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Dalian 116001, China

<sup>3</sup> College of Petrochemical Technology, Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730050, China

**Abstract:** [Objective] Bacterial strain F5-1 isolated from the *Homarus americanus* was characterized and its changes in membrane fatty acid composition in response to low temperature were also studied. [Methods] The physiological and biochemical characteristics were carried out by using VITEK 2 compact automated microbiology system. The 16S rRNA gene was sequenced and subjected to phylogenetic analysis. Fatty acids were detected by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). [Results] Strain F5-1 was Gram-negative and susceptible to the vibriostatic agent O/129. Strain F5-1 was resistant to Penicillin. The isolated strain exhibited the highest levels of 99% probability to *Vibrio metschnikovii* based on the conventional physiological test. The sequence analysis of 16S rRNA gene of F5-1 isolation and comparison with that of other related vibrios showed that F5-1 was very close to *V. metschnikovii* (GenBank No. HQ658055). The similarity was 99%. The major fatty acids were C12:0, C14:0, C16:0 and C16:1 (n-7). Palmitoleic acid was the dominant unsaturated fatty acids. The major change in fatty acid composition occurred in response to low temperature, with an increase in palmitoleic acid from 34% to 40%. [Conclusion] Bacterial strain F5-1 isolated from *Homarus americanus* was identified as *V. metschnikovii* and was sensitive to multiple drugs. The fatty acid composition of F5-1 was different from *V. metschnikovii* isolated from a drinking water reservoir near Vladivostok City in the Russia Far East. Results of this study indicated that environmental conditions allowed modulation of the fatty acid composition of *V. metschnikovii*.

**Keywords:** *Vibrio metschnikovii*, identification, fatty acid, Gas Chromatography-Mass Spectrometry

(本文责编:王晋芳)

---

Supported by the Science Foundation of General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of China (2009IK176, 2012IK305)

\* Corresponding author. Tel: +86-532-80885610; E-mail: jiajt@tom.com

Received: 13 August 2012/Revised: 17 February 2013