

养殖泥螺体内细菌菌群组成及分析*

王国良 金 珊 於 宏 王一农 钱云霞

(宁波大学海洋与水产系 宁波 315211)

摘要: 养殖泥螺样品体内需氧平板菌落数为 $7.3 \times 10^5 \sim 2.8 \times 10^6$ 个/g。从泥螺体内共分离获得 217 株细菌, 88.5% 是革兰氏阴性杆菌。优势菌属是肠杆菌科 (*Enterobacteriaceae*) 61 株、气单胞菌属 (*Aeromonas*) 58 株、弧菌属 (*Vibrio*) 27 株和假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 21 株。结果表明, 每批泥螺样品的细菌总数均超出卫生标准 1~2 个数量级, 7 月和 9 月样品的大肠菌群数超出了规定的指标, 应重视泥螺收捕后的消毒处理环节。泥螺体内细菌菌群由 10 个菌属组成, 涂泥中占优势的芽孢杆菌属细菌在泥螺体内却是少量的, 反映泥螺对体内微生物组成与数量有一定调节控制作用。

关键词: 泥螺, 菌群组成, 食品卫生

中图分类号: S944.3 文献标识码: A 文章编号: 0253-2654 (2002) 06-0009-03

MICROFLORA ANALYSIS IN THE *BULLACTA EXARATA*

WANG Guo-Liang JIN Shan YU Hong WANG Yi-Nong QIAN Yun-Xia

(Department of Oceanography and Fisheries, Ningbo University, Ningbo 315211)

Abstract: Total aerobic plate counts for bacterial colonies in the *Bullacta exarata* ranged from 7.3×10^5 to 2.8×10^6 cells per gram. 217 strains of bacteria were isolated from the *Bullacta exarata* and 88.5% of them were Gram-negative rod. The predominant genera were composed of *Enterobacteriaceae* (61 strains), *Aeromonas* (58), *Vibrio* (27), *Pseudomonas* (21). The results indicate that total bacteria numbers exceeds state standard by 1~2 quantity level in every samples. The coliform bacteria numbers exceeds health standard in sample of seven and nine month. It should be brought to attention. The microflora were composed of ten genus, predominant *Bacillus* of rearing shoal were few in the *Bullacta exarata* that may play a special role for regulating and controlling the microbial community.

Key words: *Bullacta exarata*, Microflora, Food health

泥螺 (*Bullacta exarata*) 隶属腹足纲软体动物, 其肉质鲜嫩、营养丰富, 是浙江沿海重要的滩涂养殖品种。由于养殖生产的自身污染和陆源性污染, 人们对养殖泥螺的卫生状况以及食用的安全性问题疑虑重重。我们通过对养殖泥螺体内细菌菌群的组成

* 浙江省科委资助项目 (No. 991102071)

收稿日期: 2001-09-05, 修回日期: 2001-10-30

及分析研究, 不仅可从食品微生物学和流行病学角度去了解泥螺的食品卫生状况, 而且可为养殖泥螺暴发性死亡的防治研究提供参考。国内外有关贝类养殖环境及体内细菌菌群组成的调查已有一些报道^[1~3]。但未见有关泥螺的微生物学分析报道。

1 材料与方法

1.1 样品采集

泥螺样品分别于 2000 年 3 月 21 日、5 月 17 日、7 月 17 日、9 月 20 日和 11 月 26 日来自浙江省慈溪市三北镇泥螺养殖场。

1.2 样品处理和匀质样品的制备

每次样品随机抽取泥螺 50 粒, 先经无菌生理盐水反复漂洗后, 以无菌操作剥去外壳, 称取 20g 肉质置于研钵中, 用剪刀剪碎后研磨制成匀质样品。加一定量的无菌生理盐水制成 10^{-1} 稀释液, 再用 10 倍递增法进一步制成 10^{-2} 、 10^{-3} 和 10^{-4} 等稀释度的稀释液, 供分析用。

1.3 细菌总数测定

采用需氧平板菌落计数法。取 1mL 各稀释度的稀释液于无菌平皿内, 倾注营养琼脂混匀, 置 28℃ 恒温培养箱中培养。48h 后取不同稀释度的双列平板计算细菌菌落数。

1.4 大肠菌群数检测

大肠菌群 MPN (最近似值) 指数, 按文献 [4] 的方法进行。

1.5 细菌的分离和鉴定

各批样品以涂布法从营养琼脂平板上随机挑选 40~50 个菌落, 划线分纯后, 作细菌鉴定用。革兰氏阴性细菌按文献 [1] 提供的图式进行, 革兰氏阳性细菌按文献 [5] 的方法进行鉴定。

2 结果与讨论

2.1 细菌总数

养殖泥螺体内需氧平板菌落数为 $7.3 \times 10^5 \sim 2.8 \times 10^6$ 个/g (表 1)。根据 1982 年 6 月中华人民共和国食品卫生国家标准^[6], 鱼类细菌总数应不超过 10,000 个/g, 由于贝壳类水产品细菌总数还未见有国家标准, 故以鱼类的标准作参照。测定结果显示, 各批样品均超出卫生标准 1~2 个数量级, 样品的清洁度应视为不合格。泥螺体内细菌总数较高也反映其养殖环境污染较重, 应引起重视。从各批样品的细菌总数变化看, 它们与季节变化没有明显关系, 这与郑国兴有关青蛤体内细菌总数的报道相一致^[3]。

2.2 大肠菌群数

养殖泥螺体内大肠菌群数的检测结果见表 1。按欧共体理事会有关活双壳贝类生产

表 1 养殖泥螺体内的细菌总数和大肠菌群数 和投放市场的卫生条件的规定^[7],

采样日期 (年、月、日)	泥螺壳高 (mm)	泥螺壳宽 (mm)	细菌总数 ($\times 10^5$ 个/g)	大肠菌群数 (个/100g)	供人类食用的活双壳贝类, 每 100g 贝肉的大肠菌群数应少于 300 个。2000 年 3 月、5 月和 11 月 3 次泥螺样品中, 每 100g 泥螺肉质 的大肠菌群数均小于 300 个, 符合 供人类食用的卫生标准。然而, 7
2000.03.21	11.9~15.6	8.3~14.3	7.60	<300	
2000.05.17	14.5~18.0	10.0~13.3	28.0	<300	
2000.07.17	14.6~19.6	10.3~13.6	7.30	950	
2000.09.20	11.5~15.3	9.3~11.8	19.4	450	
2000.11.26	10.0~14.4	8.0~10.8	26.0	<300	

月和9月样品的数值均超出了规定的标准，每年的6月至9月是养殖泥螺收捕的主要时间，可见收捕期间的泥螺卫生状况难以乐观，又逢夏季高温有利于病菌的生长繁殖。因此，要重视泥螺收捕后的消毒处理环节，以保证人们食用的安全和卫生健康。

2.3 养殖泥螺体内细菌的菌群组成

从5批泥螺样品中共分离获得217株细菌。经鉴定，养殖泥螺体内的细菌绝大多数是革兰氏阴性杆菌，占总菌株的88.5%。优势菌属为肠杆菌科(*Enterobacteriaceae*)61株、气单胞菌属(*Aeromonas*)58株、弧菌属(*Vibrio*)27株、假单胞菌属(*Pseudomonas*)21株，其次有不动杆菌属(*Acinetobacter*)11株、莫拉氏菌属(*Moraxella*)9株、葡萄球菌属(*Staphylococcus*)8株、芽孢杆菌属(*Bacillus*)8株、棒状杆菌属(*Corynebacterium*)7株、微球菌属(*Micrococcus*)2株，另有5株细菌在传代中失去生长能力，表2列出了2000年中不同时间养殖泥螺体内细菌的菌群组成及变化情况。肠杆菌科细菌主要出现在7月和9月，与这两个月份大肠菌群数检出率较高相一致，提示这期间食用未经消毒处理的泥螺，容易感染传染性疾病。5月弧菌属细菌检出率较高，养殖泥螺暴发性死亡的发生也主要集中在该月份，弧菌与泥螺死亡是否有关，尚待进一步研究。

表2 养殖泥螺体内细菌的菌群组成

菌群组成	3月21日		5月17日		7月17日		9月20日		11月26日	
	菌株数	(%)	菌株数	(%)	菌株数	(%)	菌株数	(%)	菌株数	(%)
肠杆菌科	3	8.1	4	9.8	25	54.3	22	50.0	7	14.3
弧菌属	2	5.4	18	43.9	4	8.7	1	2.3	2	4.1
气单胞菌属	13	35.2	2	4.9	1	2.2	10	22.7	32	65.3
假单胞菌属			13	31.7	6	13.0	2	4.5		
不动杆菌属	2	5.4	1	2.4	2	4.4	1	2.3	5	10.2
莫拉氏菌属	5	13.5			3	6.5	1	2.3		
葡萄球菌属	5	13.5	1	2.4			2	4.5		
微球菌属									2	4.1
芽孢杆菌属	4	10.8	2	4.9	1	2.2			1	2.0
棒状杆菌属	1	2.7			4	8.7	2	4.5		
不生长	2	5.4					3	6.8		
总计	37	100.0	41	100.0	46	100.0	44	100.0	49	100.0

表2中的菌群组成显示，泥螺体内的菌群种类繁多，组成广泛，它们来源于吞食的底栖藻类和涂泥，因此与泥螺养殖滩涂中的细菌菌群组成具有一定关系(已另文发表)。然而，涂泥中占优势的芽孢杆菌属细菌在泥螺体内却是少量的，泥螺选择性摄取藻类可能导致芽孢杆菌减少，因为藻类表面极少有这一类群的细菌，也与需氧培养方法未能检出厌氧细菌和微嗜氧细菌有关。通过菌群组成分析，也反映泥螺体内既有生理活性较强的菌群，又有一定的调节控制体内微生物的作用。

参 考 文 献

- [1] 杉田治男, 店秀男, 小二夫ら. 日本水产学会志, 1981, 47(5): 655~661.
- [2] 宋庆云, 罗挽涛, 王文兴, 等. 黄渤海海洋, 1997, 15(3): 26~30.
- [3] 郑国兴, 周凯, 于业绍, 等. 上海水产大学学报, 1999, 8(2): 131~136.
- [4] 甄宏太译. 细菌学分析手册. 北京: 轻工业出版社, 1986.1~41, 472~495.
- [5] 中国科学院微生物研究所细菌分类组. 一般细菌常用鉴定方法. 北京: 科学出版社, 1978.1~90.
- [6] 郁都福, 杨均培. 卫生微生物学. 北京: 人民卫生出版社, 1984.62~72.
- [7] 欧共体理事会. 国外水产品质量控制法规选编. 中华人民共和国农业部渔业局, 国家水产品质量监督中心, 1991, 110~122.