

# 青腐乳生产菌总状毛霉的鉴定及致病性研究

吴彩梅<sup>1,2</sup>, 王 静<sup>2,\*</sup>, 孙伟伟<sup>3</sup>, 曹维强<sup>4</sup>, 吴秀群<sup>1</sup>

(1. 四川农业大学动物营养研究所, 四川 雅安 625014

2. 中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所, 北京 100081

3. 滨州学院自动化系, 山东 滨州 256600 4. 惠州出入境检验检疫局, 广东 惠州 516001)

**摘 要:** 本研究对腐乳生产厂家提供的生产菌进行了鉴定, 确定为总状毛霉。并对该菌进行了致病性研究。将不同浓度的总状毛霉孢子经小鼠腹腔注射, 观察 30d 内动物出现的中毒症状、死亡和体重变化, 对实验中死亡和定期处死的小鼠解剖, 测定脑、肝、脾、肾、肺、心等组织中的生存菌数, 同时作病理组织学检查。结果表明, 该菌对小鼠造成的主要损害为肝脏坏死性病变, 随染孢子量增加, 小鼠各脏器中检出的活菌数增多, 其中  $5 \times 10^6$  (个/只) 及其以上剂量组所有脏器可同时检出活孢子, 且有正剂量反应关系。但致病性与染孢子量不呈正剂量反应关系。

**关键词:** 青腐乳; 总状毛霉; 鉴定; 致病性

Identification and Pathogenicity Study on Gray Sufu Producing Mucor *M. racemosus* with Mice Experiment

WU Cai-mei<sup>1,2</sup>, WANG Jing<sup>2,\*</sup>, SUN Wei-wei<sup>3</sup>, CAO Wei-qiang<sup>4</sup>, WU Xiu-qun<sup>1</sup>

(1. Animal Nutrition Institute, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China

2. Institute of Quality Standards and Testing Technology for Agri-Products, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China 3. Automation Department, Binzhou University, Binzhou 256600, China

4. Huizhou Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Huizhou 516001, China)

**Abstract:** At first, gray sufu producing mucor supplied by sufu manufacturer in Harbin was identified in the study. The producing mucor was identified for *M. racemosus* in the end. The second, the pathogenicity of *M. racemosus* was also studied. The pathogenicity experiments of *M. racemosus* were completed by injecting the suspension of different levels of spores in celiac of mice, observing poisoning symptom, death condition and the weight changes of mice within 30 d, meanwhile, the mice which had died and was executed were anatomized. The viscera including brain, liver, spleen, kidney, lung, heart were collected to examine pathological changes by HE dye and the counts of survival *M. racemosus*. The result indicated that the mucor can result in heart, brain, liver, kidney, spleen and lung making pathological changes, especially liver. *M. racemosus* can mainly result in the putrescence focus of liver of mice. The counts of survival *M. racemosus* in viscera would increase with increase of injected the counts of *M. racemosus* spore. In the  $5 \times 10^6$  and  $5 \times 10^7$  dosage groups, living spore can be observed in all viscera at the same time. And there was positive relationship between living spore and dosage. But, there was not positive relationship between pathogenicity and dosage.

**Key words** gray sufu; *M. racemosus*; identification; pathogenicity

中图分类号: TS207.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2008)03-0340-06

腐乳是中国传统的大豆发酵食品, 它具有独特的风味、质地以及相当高的含量的植物蛋白质, 不含胆固醇。青方腐乳是腐乳中最具有特色的种类, 其 VC 含量居食品之首, 对老年痴呆症有很好的预防作用。腐乳在东南亚家庭中常作为开食和佐餐调味品, 在欧美则被称为中国干酪<sup>[1]</sup>。但我国腐乳生产行业以手工劳动为

主, 机械化自动化程度低, 并且随着生物技术的发展, 转基因发酵食品陆续出现, 腐乳的安全性无法得到保证。另外, 由于东西方差异较大, 在西方, 安全性研究主要集中在发酵乳品、香肠等食品上, 而东方, 对传统发酵食品, 如腐乳、豆豉等的研究不完全, 安全性的评价也比较缺乏。食品工业用菌种的安全性是评

收稿日期: 2006-12-12

作者简介: 吴彩梅(1979-), 女, 硕士, 研究方向为食品安全。E-mail: zhuomuniao278@163.com

\* 通讯作者: 王静(1963-), 女, 教授, 博士, 研究方向为食品安全。E-mail: w\_jing2001@126.com

价发酵食品安全性的主要方面<sup>[2-6]</sup>。我国青方腐乳企业存在的主要问题是生产菌种的使用情况基本不清楚,菌种的使用放任自流,菌种的管理和安全性评价等方面还存在大片空白,这就造成了青方腐乳在食用安全方面存在着极大的隐患。因此本实验对厂家提供的生产菌进行了鉴定及致病性研究。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

实验菌种 哈尔滨市某腐乳有限公司; 60 只体重为 16~22g, 鼠龄为 5~6 周的雄性昆明种小鼠 哈尔滨肿瘤医院。

土豆培养基(PDA): 土豆汁 1000ml, 葡萄糖 20g, 琼脂 20g, 自然 pH。土豆汁的制备: 取 200g 去皮土豆, 切成小块, 置于 1000ml 自来水中煮, 煮沸 0.5h 后以纱布过滤, 用自来水补至 1000ml。

### 1.2 试 剂

乳酸(分析纯) 上海申夏生物化工有限公司; 葡萄糖(分析纯)、琼脂 上海山浦化工有限公司; 多聚甲醛(分析纯) 天津市化学试剂研究所。

### 1.3 仪 器

CX21、XSZ-H(CDIC)、生物显微镜 OLYMPAS 公司; 霉菌培养箱 MJ-II 上海一恒科技有限公司; 高速台式离心机 TGL-16G 上海安亭科学仪器厂; 超型自动压力蒸汽灭菌器 8037-SGS 长春百奥生物仪器有限公司。

### 1.4 方 法

#### 1.4.1 生产菌的鉴定方法

##### 1.4.1.1 菌种的纯化

称取干菌种 0.5g, 放入盛有 4.5ml 无菌水的试管中, 用漩涡混匀器混匀 1~2min, 浸泡数分钟后再振摇 1~2min, 使干菌种粉与水充分混合, 将菌分散开。用自动吸样枪从试管中吸取 0.5ml 混浊液注入盛有 4.5ml 无菌水的试管中, 以此类推, 制成  $10^{-2}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$ g/ml 各种稀释度的菌种溶液。用自动吸样枪分别从  $10^{-4}$  和  $10^{-5}$  稀释度的试管中吸取 1ml 放入无菌培养皿中, 再注入 45~50℃ 适量的 PDA 培养基, 摇匀、静置, 使其凝固后把平板倒置于 28℃ 霉菌培养箱中培养, 培养 12~18h 后, 用小刀把平板上的单个菌落挖出, 置于另一空白 PDA 平板上, 继续培养。

待菌落在平板上生长进入旺盛期时, 用无菌接种环挑取少量孢子作平板划线, 经 2~3 次平板划线后该菌已经得到初步纯化。从培养十几小时的划线平板上选取单菌落, 用小刀将其挖出并移植于空白 PDA 平板上, 继续培养。待该菌落生长处于旺盛期时, 用接种环挑取

适量气生菌丝放入盛有 100ml 无菌水并带有玻璃珠的三角瓶内, 振摇 2min, 制成均匀的孢子液, 采用以上提到的梯度稀释的方法, 进行 10 倍递增稀释, 制成  $10^{-2}$ ~ $10^{-5}$  稀释度的孢子液, 用无菌吸管分别吸取 1ml 各稀释度的孢子液注入无菌培养皿中, 再倾注 50℃ 左右的适量 PDA 培养基, 摇匀, 静置, 凝固后倒置于 28℃ 下培养。选取长有 2~4 个单菌落的平板, 该平板上的单菌落就是该菌的纯培养。

##### 1.4.1.2 菌种的鉴定

###### (1) 平板培养基上菌落特征的鉴定

用肉眼及放大镜观察下列各项: ①生长速率; ②菌落颜色及变化; ③菌落背面的颜色及其变化; ④培养基颜色及其变化; ⑤表面结构; ⑥气味。

###### (2) 霉菌载玻片培养基上的形态鉴定

用低倍镜或中倍显微镜检查下面各项: ①基内菌丝的特点: 颜色, 是否分节, (如有) 特殊构造的特点; ②发生子实结构阶段; ③成熟子实器官的特性及排列; ④成熟的子实器官或子实体的颜色、大小和形状<sup>[7]</sup>。

###### (3) 制片标本鉴定

采用乳酸石炭酸棉蓝染色法观察: ①子实器官的详细构造; ②孢子颜色、形状、分隔、表面、大小。

###### (4) 生理生化试验鉴定

目前霉菌鉴定以形态为主要依据, 但对少数形态十分相似而难于区分的种, 也会使用简单的生理试验加以区分, 如温度试验等。

### 1.4.2 菌种致病性研究方法

#### 1.4.2.1 孢子悬液制备

将获得的纯菌种转种于 PDA 斜面, 于 28℃ 培养 7d 后, 用 0.85% 的生理盐水制成孢子悬液, 1000r/min 离心 3min 去除菌丝, 上清液转于另一试管中混匀进行孢子计数, 按原液、10、100、1000、10000 倍依次稀释制成 5 个浓度的孢子悬液备用, 以生理盐水作对照。取不同浓度的孢子悬液各 0.1ml 于灭菌平皿中, 同时将 PDA 培养基倾注于平皿, 于 28℃ 培养进行活孢子计数<sup>[8]</sup>。

#### 1.4.2.2 实验动物的饲养及处理

将 60 只昆明种雄性小鼠按体重随机分成 5 个试验组, 一个对照组。饲养驯化 3d 适应环境后, 经腹腔一次注入孢子悬液, 每只注射 0.5ml, (原液孢子浓度为  $1.0 \times 10^8$  个/ml) 动物分组及染菌剂量见表 1。染菌开始日动物体重范围为 18~22g, 染菌后动物自由进食、饮水。

#### 1.4.2.3 观察指标

动物染菌后持续观察 3、5h 后观察 1 次, 以后每天观察 1~2 次。记录实验期间动物的一般状态、体重增长情况、出现的中毒反应及死亡情况。对濒临死亡

表1 实验动物分组及染菌情况  
Table 1 Grouping of animals for experiments and contaminated mucor

菌种	各组动物数	剂量		
		稀释水平 (g/ml)	注入量 (ml/只)	孢子量 (个/只)
生理盐水对照	10	—	0.5	0
	10	原液	0.5	$5 \times 10^7$
	10	$10^{-1}$	0.5	$5 \times 10^6$
	10	$10^{-2}$	0.5	$5 \times 10^5$
	10	$10^{-3}$	0.5	$5 \times 10^4$
试验组	10	$10^{-4}$	0.5	$5 \times 10^3$

的小鼠颈椎脱臼处死后,检查各脏器是否有肉眼可见的异常,同时摘取脑、肝、脾、肾、心、肺和解剖时发现异常的脏器,置10%福尔马林溶液固定备用。

#### 1.4.2.4 病理组织学检查

实验期间死亡和实验终处死小鼠的脑、肝、脾、心、肺、肾,经福尔马林或多聚甲醛溶液固定、石蜡包埋、切片、常规HE染色后进行病理组织学检查。此外,对大体解剖时确认为异常的其他脏器,进行同样的病理组织学检查。观察各脏器组织中有无宽大的菌丝和组织病变。如果小鼠在实验期间死亡较少,则分别在接种后的7、14、21和28d随机处死小鼠,每组一只,解剖取各个组织做病理切片。

#### 1.4.2.5 生存菌数测定

将实验期间死亡小鼠与接种后7、14、21和28d随机处死的小鼠解剖,取各小鼠的脑、肝、心、肺、肾、脾等脏器各少许,用剪子剪碎,分别置于2个PDA平行皿中,用L棒均匀涂开,置28℃温箱中培养,计算培养后生长的菌落数。

## 2 结果与分析

### 2.1 菌种鉴定结果

#### 2.1.1 菌株在PDA培养基上的菌落特征

于28℃培养,24h前菌落菌丝体较疏松,呈白色棉絮状直立并蔓延,出现极个别嫩孢子囊。如图1a所示。30h至48h菌丛高度可达15mm以上,菌丝体变得紧密整齐,菌丝白色,有较明显的黑点状孢子囊出现。60h至72h菌丝渐变成灰色,不再伸展或蔓延、菌落中心开始有所萎缩或凹陷,此时有大量黑点状孢子囊出现。在37℃下,生长受到抑制,48h菌落高度只达到5~6mm,且菌丝体疏松。

#### 2.1.2 菌株个体形态特征

##### 2.1.2.1 菌丝

白色,无匍匐枝及假根,营养菌丝能渗入琼脂培养基内1.5~2.0mm处。菌丝潜生长时能形成少量的芽生孢子

子,如图1b所示,多数呈卵形、圆形,大小为 $(4.8 \sim 28.8) \times (9.6 \sim 28.8) \mu\text{m}$ ,圆形直径 $9.6 \sim 55.2 \mu\text{m}$ 。气生菌丝广泛蔓延伸展,衰老时形成一些厚膜孢子,如图1c所示,多数呈卵圆形,柠檬形等色深,大小为 $(17.4 \sim 22.7) \times (27.9 \sim 38.4) \mu\text{m}$ ,气生菌丝直径约为 $12 \sim 21.6 \mu\text{m}$ ,粗者达 $28.8 \mu\text{m}$ 。

##### 2.1.2.2 孢囊梗

孢囊梗直接由气生菌丝生出,单生,如图1d所示。孢囊梗较少分枝,分枝常出现在近顶端处呈单轴式,各分枝顶端均生孢子囊。孢子梗无横隔膜,色泽同气生菌丝,直径为 $7.2 \sim 24 \mu\text{m}$ ,粗者达 $33.6 \mu\text{m}$ 。

##### 2.1.2.3 孢子囊

孢子囊呈球形或洋梨形,成熟后可见表面有针刺状突出。孢子囊直径一般为 $48 \sim 100.8 \mu\text{m}$ ,大者达 $112.8 \mu\text{m}$ ,在成熟过程中孢子囊色泽加深,囊壁变粗糙,最后囊壁破裂释放出孢囊孢子,孢子囊形态及其成熟过程见图1e、1f、1g。

##### 2.1.2.4 囊轴

囊轴近球形或卵形,未见明显囊领,无囊托,表面光滑,个体大小差异悬殊,一般直径为 $43.2 \sim 76.8 \mu\text{m}$ ,大者可达 $90 \mu\text{m}$ 如图1h所示。

##### 2.1.2.5 孢子囊孢子

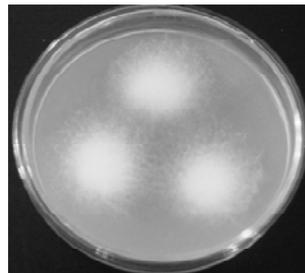
孢囊孢子呈短卵形和球形,表面光滑,大小为 $7.2 \sim 9.6 \mu\text{m}$ ,大者可达 $16.8 \mu\text{m}$ 如图1i所示。孢囊孢子萌发时膨大,呈典型的单极萌发,如图1j所示。

根据魏景超<sup>[9]</sup>《真菌鉴定手册》和中国科学院微生物研究所<sup>[10]</sup>编制的《常见与常用真菌》及其他文献,由以上特点可鉴定该菌为接合菌亚门接合菌纲毛霉目毛霉科毛霉属总状枝毛霉组中的总状毛霉(*M. racemosus*)。

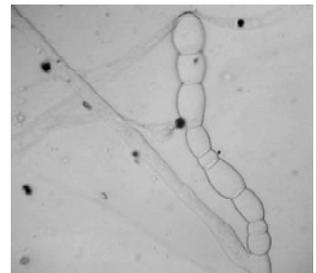
## 2.2 致病性研究结果

### 2.2.1 一般症状及死亡情况

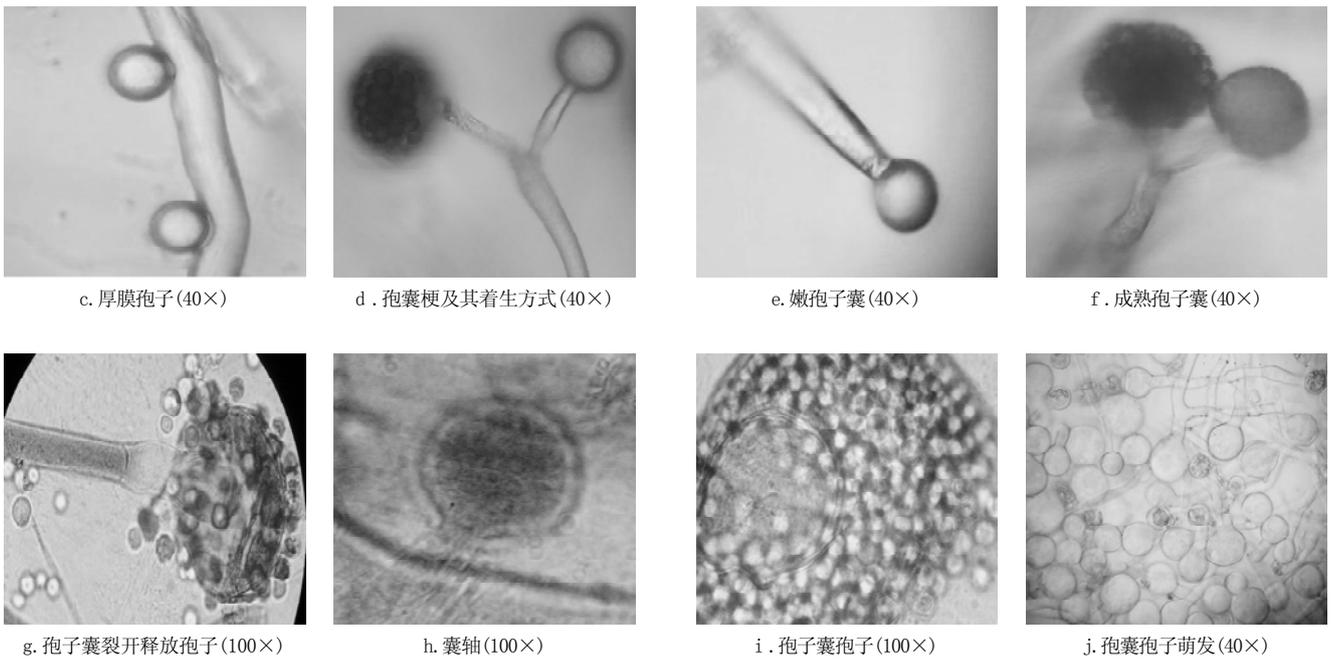
小鼠在染菌3~5h后可以正常进食和饮水。 $5 \times 10^6$ 及 $5 \times 10^4$ 组在染菌后第3d各有一只小鼠出现精神萎靡不振,不能自主饮水,进食,头部震颤,最终死亡。(由于没有及时处理没做病理检查)。 $5 \times 10^3$ 剂量组在染



a. PDA培养基上的菌落形态



b. 菌丝潜生长时产生的芽生孢子  
(40×)



g. h. i 为乳酸碳酸棉蓝染色, 其他为载片培养。

图1 毛霉的菌落形态及特征结构图

Fig.1 Pictures of mycelial and characteristic configuration of mucor

菌后第6d发现一只小鼠精神不振,几乎不能行走,不能自主进食饮水,处死,解剖可见脑血管充盈扩张。 $5 \times 10^4$ 剂量组在染菌后第9d发现一只小鼠行动不便,脑部震颤,不能自主进食饮水,处死。解剖发现体内有淤血。在实验结束前未发现该菌有死亡现象。

### 2.2.2 总状毛霉菌孢子对小鼠体重的影响

菌种孢子对小鼠体重的影响如图2所示。用SPSS 13.0软件处理图中试验数据, $5 \times 10^6$ 、 $5 \times 10^7$ 剂量组小鼠体重与对照组相比差异有显著性( $p < 0.05$ )因此可以推断该菌高剂量组孢子可导致小鼠体重下降。

### 2.2.3 脏器活菌数

对实验中濒临死亡和定期处死的小鼠心、脑、肝、脾、肾、肺6个脏器进行生存活菌数测定,测定结果用SPSS13.0统计软件处理,结果见表2,在染菌7d时,总状毛霉菌各剂量组均有脏器检出活菌。染菌14d各剂量组检出活菌数的脏器减少,菌落数也减少。染菌21d只有个别脏器能检出活菌。染菌28~35d几乎不能检出活菌。由表2可见随染孢子量增加,小鼠各脏器中检出的活菌数增多,其中 $5 \times 10^6$ 及其以上剂量组所有脏器可同时检出活孢子,且有正剂量反应关系。

### 2.2.4 病理组织学改变

实验中对死亡小鼠和定期处死的小鼠心、脑、肝、脾、肾、肺6个脏器进行HE染色做病理切片,经病理组织观察,总状毛霉菌各剂量组中脏器的病理组

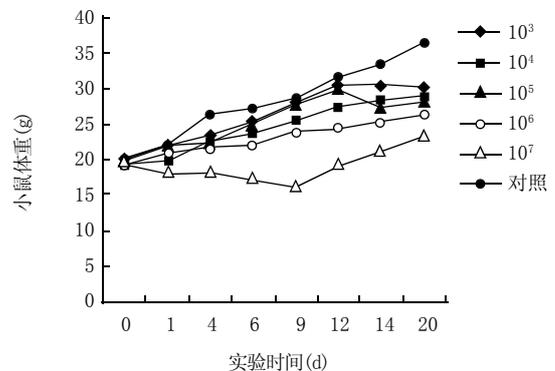


图2 总状毛霉菌孢子对小鼠体重的影响

Fig.2 Effects of *M.racemosus* spore on weight of mice

织学改变如表3。

该菌各剂量组肝脏病理改变如图3~6所示。

## 3 讨论

### 3.1 总状毛霉鉴定结果分析

总状毛霉在台湾和四川常用于发酵腐乳、豆豉,能分泌大量的蛋白酶。但是总状毛霉是感染人和动物的主要毛霉菌之一,自2002年至今已经发现多例由于感染总状毛霉而引发的原发性皮肤毛霉菌病及全身播散性感染<sup>[11-12]</sup>,况且本实验采集到的菌种管理不规范,菌种来源不清楚,菌种贮存及产品生产环境不佳,因此该生产菌更具有致病性的安全隐患,对该菌进行安全性评价

表2 各脏器生存菌数( $\bar{x} \pm SD$ )  
Table 2 Counts of survival *M.racemosus* of viscera( $\bar{x} \pm SD$ )

剂量组别(个/只)	心	脑	肝	肾	脾	肺
$5 \times 10^3$	$0.3 \pm 0.46$	$0.35 \pm 0.53$	$1.18 \pm 1.32$	$0.48 \pm 0.93$	—	$0.53 \pm 0.98$
$5 \times 10^4$	—	$0.47 \pm 0.59$	$1.2 \pm 1.96$	—	$0.68 \pm 0.79$	$0.85 \pm 0.98$
$5 \times 10^5$	$0.35 \pm 0.48$	—	$2.6 \pm 2.61$	—	$1.1 \pm 1.35$	$0.9 \pm 1.06$
$5 \times 10^6$	$0.5 \pm 0.68$	$1.23 \pm 1.60$	$2.8 \pm 1.8$	$1.58 \pm 1.55$	$1.38 \pm 1.33$	$1.28 \pm 1.19$
$5 \times 10^7$	$1.53 \pm 2.08$	$1.35 \pm 1.82$	$3.08 \pm 4.38$	$2.2 \pm 2.74$	$2.6 \pm 2.59$	$1.45 \pm 1.47$

注：“—”表示阴性。

表3 不同剂量组脏器病理组织学改变  
Table 3 Pathological changes of different dosage of contaminated mucor

部位	剂量				
	$10^3$	$10^4$	$10^5$	$10^6$	$10^7$
心	7d和14d心肌嗜酸性变, 间隙增宽	21d时心肌嗜酸性变	—	—	—
肝	7d肝细胞水肿, 血管扩张, 局部片状凝固性坏死; 28d肝细胞肿胀、疏松状	7d肝小坏死灶; 14d肝病灶、变性明显; 21d肝变性; 28d肝坏死灶	7d肝细胞肿胀、坏死灶; 14d肝变性; 28d肝坏死灶, 怀疑有真菌菌丝	7d肝多抗原细胞; 21d肝脂肪变性; 28d肝肉芽肿	7d肝小病灶
脑	7d脑神经元改变, 14d脑神经毡疏松, 神经元变性明显	14d神经元变性; 21d神经元明显变性	—	—	—
肾	只有7d时发现淤血	14d发现淤血现象	—	—	—
肺	7d淤血水肿液少量, 局部组织萎陷; 14d肺灶状出血	7d肺灶状出血; 28d肺充血、炎细胞浸润	7d肺出血、水肿、淤血、中性粒细胞浸润; 28d肺出血	7d肺中性粒细胞浸润; 28d肺出血	—
脾	—	7d和21d发现淤血现象	7d脾多抗原细胞、淤血; 14d淤血	—	7d脾多抗原细胞

注：“—”表示未发现病理改变。

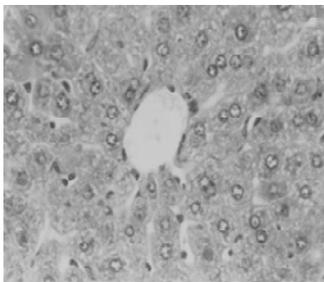


图3 对照组肝  
Fig.3 Comparison group of liver

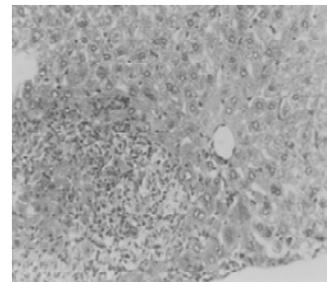


图5  $10^5$ 肝坏死灶  
Fig.5 Putrescence focus of liver

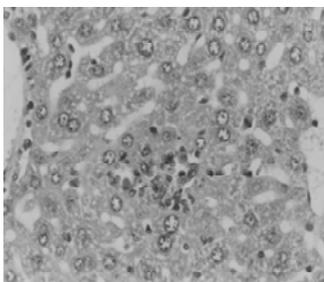


图4  $10^6$ 肝肉芽肿  
Fig.4 Turgescence of liver acestoma

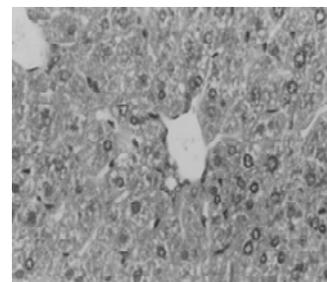


图6  $10^3$ 肝细胞肿胀疏松状  
Fig.6 Turgescence and loose state of liver cells

是保证消费者的健康和生命安全的必要措施。

### 3.2 染色方法的选择依据

病灶组织内一般无孢子, 菌丝在HE染色切片中容

易被苏木素着色, 因此明显可见。PAS反应效果反而不好, 银染色也较其他真菌染色淡<sup>[13]</sup>。因此, 本实验选用HE染色, 方法简单易操作, 结果可靠。

### 3.3 给药途径的选择依据

王露霞<sup>[14]</sup>对冻土毛霉的黄色变种的致病性研究中,采用三种给药途径分别为睾丸、腹腔、静脉注射,结果腹腔组较睾丸、静脉组感染严重,且累及脏器多。从病变位于器官表面考虑,感染是病原真菌直接侵犯器官表面,因而腹腔组感染范围较大。睾丸组其温度低于腹腔适合毛霉菌生长,但局限于侵犯局部组织,很少侵犯原处脏器。静脉组孢子悬液进入血液循环后很快被稀释,或者是处于散在的分布状态,很难引起器官的改变。综合以上分析本实验采用腹腔注射的方式为给药途径。

### 3.4 侵犯脏器和组织病理学变化

本实验结果显示,总状毛霉菌心脏的主要病理改变是嗜酸性变,说明小鼠在感染真菌孢子后,导致心肌炎发生。其原因是真菌孢子侵犯心肌,对心肌内小血管造成损伤,同时免疫机制产生的心肌损伤,造成心肌细胞的溶解,间质水肿,单核细胞浸润。

脑组织只有 $10^3$ 、 $10^4$ 两个剂量组发现病理改变,随着时间的增长神经元变性程度逐渐增加。

该菌的不同剂量组肝脏均有不同程度的病理改变。分别为肝细胞变性、水肿、肝脂肪变性、肉芽肿和肝坏死,且 $10^5$ 剂量组疑有真菌菌丝。其中肉芽肿是真菌病中比较常见的一种病变,分为化脓性肉芽肿、结核结节样肉芽肿、结节病样肉芽肿、异物性肉芽肿,其中异物性肉芽肿比较常见,由许多异物型巨细胞构成,有时中心部可发生坏死,可见于许多真菌病。毛霉菌可引起异物性肉芽肿性病变,其间并有多少不等的中性和嗜酸粒细胞浸润,间质纤维组织增生,毛细血管壁增厚。坏死性病变更多见于机会性感染,毛霉菌侵袭性很强,常侵袭血管引起血道散播,导致组织坏死。本实验中肝脏发生的病理改变基本具备毛霉病的特点,因此可以推断出,S菌对肝脏可造成严重的损害。

肾脏组织虽然大多数真菌培养阳性,但是在试验期间只有 $10^3$ 、 $10^4$ 剂量组有淤血现象,其他剂量组无病理改变脾脏组织亦大多数真菌培养阳性,但病理改变较少,只有 $10^4$ 、 $10^5$ 剂量组发现淤血并出现抗原细胞。

肺组织病理改变为肺出血、中性粒细胞浸润和炎细胞浸润,严重时发现肺组织萎陷。中性粒细胞是急性炎症,化脓性炎症早期最常见的细胞。有这些炎细胞浸润说明该菌可导致小鼠发生肺炎。

## 4 结 论

4.1 经鉴定该腐乳公司提供的生产菌为接合菌亚门接合菌纲毛霉目毛霉科毛霉属总状枝毛霉组中的总状毛霉(*M. racemosus*)。

4.2 该菌实验期间只有 $10^3$ 、 $10^4$ 、 $10^6$ 三个剂量组出现了小鼠死亡现象,死亡率较低,但是对死亡和定期处死的小鼠的组织真菌培养多数为阳性。

4.3  $10^6$ 、 $10^7$ 剂量组孢子对小鼠体重的影响与对照组相比有显著性差异;病理检查发现该菌可以导致心、脑、肝、肾、脾、肺发生病变,对肝脏的损害尤其严重。

4.4 本实验只怀疑有真菌菌丝存在而没有发现大量的真菌菌丝生长,可能与该菌生长要求的温度有关,该菌属于非高温真菌,温度的限制比较明显, $37\text{ }^\circ\text{C}$ 生长受到抑制;因此推断,该菌对小鼠具有一定的致病性,且主要损害器官为肝脏。

### 参考文献:

- [1] HAN B Z, FRANS M R, NOUT M J R. A Chinese fermented soybean food[J]. International Journal of Food Microbiology, 2001, 65: 1-10.
- [2] REHBERGER T G, WILSON L A, GLATZ B A. Microbiological quality of commercial tofu[J]. Journal of Food Protection, 1984, 47(3): 177-181.
- [3] SHI X R, FUNG D. Y C. Control of food-borne pathogens during sufu fermentation and aging[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2000, 20: 265-291.
- [4] HAN B Z, RIJKELT R B, FRANS M R, et al. Microbiological safety and quality of commercial sufu—a Chinese fermented soybean food[J]. Food Control, 2001(12): 541-547.
- [5] HAN B Z, THANH N V, KUIJPERS A M, et al. Mucoraceous moulds involved in the commercial fermentation of sufu[J]. Peptide Antonie Van Leeuwenhoek, 2004, 85: 253-257.
- [6] 李玉伟. 食品工业用菌的安全性研究[J]. 国外医学: 卫生学分册, 2004, 31(6): 373-378.
- [7] 吴雪梅. 小曲中霉菌的分离纯化鉴定[J]. 酿酒科技, 2004(6): 33-35.
- [8] 李风琴, 计融, 李玉伟, 等. 食品工业用菌的病原性研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2002, 14(4): 3-7.
- [9] 魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海: 上海科技出版社, 1979: 100-300.
- [10] 中国科学院微生物研究所. 常见与常用真菌[M]. 北京: 科学出版社, 1973: 50-200.
- [11] 李庆珍, 周正, 李军, 等. 肺毛霉菌病一例[J]. 临床肺科杂志, 2004, 9(2): 115.
- [12] 谭绍芳, 张俊波. 总状毛霉菌引起全身播散性感染1例[J]. 中华当代医学, 2004, 2(3): 88.
- [13] 宋继谔. 病理学[M]. 北京: 科学出版社, 1999: 66-300.
- [14] 王露霞, 赖晃文, 徐德兴, 等. 冻土毛霉黄色变种对小白鼠的致病性研究[J]. 中国人兽共患病杂志, 2000, 16(5): 72-73.