DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20250423001
引用格式: 孙婷婷, 刁文丽, 杨新智, 等. 辽宁省肉类食品中小肠结肠炎耶尔森菌分子分型及耐药分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(3): 185–192.
SUN TT, DIAO WL, YANG XZ, *et al*. Molecular typing and drug resistance analysis of *Yersinia enterocolitis* in meat from Liaoning Province [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(3): 185–192. (in Chinese with English abstract).

辽宁省肉类食品中小肠结肠炎耶尔森菌分子分型及耐药分析

孙婷婷[1], 刁文丽[1], 杨新智[2], 费 飞[3], 张震洋[4], 郭思薇[4], 齐宝莹[4], 周雨潇[4], 梁田竺[4], 李 梦[4], 李 雪[1*]

(1. 辽宁省疾病预防控制中心, 沈阳 110172; 2. 丹东市疾病预防控制中心, 丹东 118000; 3. 葫芦岛市疾病预防控制中心, 葫芦岛 125000; 4. 辽宁大学生命科学院, 沈阳 110036)

摘 要: 目的 分析辽宁省肉类食物中小肠结肠炎耶尔森菌病原学特征。**方法** 对从肉类食品中分离的小肠结肠炎耶尔森菌进行病原生物学分析、多位点序列分型(multilocus sequence typing, MLST)试验及耐药性检测分析。**结果** 2024 年从肉类食品中共检出 40 株, 血清型鉴定出 O:8、O:3、O:5 3 种, 以 O:8 型为主; 生物型为 1A 型和 3 型; 毒力基因检测可分为 4 种型别, 主要型别为 I 型携带 *foxA*; 脉冲场凝胶电泳(pluse field gel eletrophoresis, PFGE)分为 10 组为 A~J, A 组占比高; MLST 共分为 26 个型别, 其中有 10 个新型, STN16 和 STN11 位于核心位置向四周发散; 药物敏感试验对萘啶酸耐药率最高, 其次为链霉素, 再次为环丙沙星和氨苄西林耐药。**结论** 2024 年辽宁省肉类食品中分离的小肠结肠炎耶尔森菌血清型为 3 种, 生物型非常集中, 毒力基因以 I 型为主, 序列分型(sequence type, ST)基因型呈多样性发散分布, 多重抗生素耐药模式, 应重点加强对猪、牛、鸡等肉类食品的监管。

关键词: 小肠结肠炎耶尔森氏菌; 血清型; 多位点序列分型

Molecular typing and drug resistance analysis of *Yersinia enterocolitis* in meat from Liaoning Province

SUN Ting-Ting[1], DIAO Wen-Li[1], YANG Xin-Zhi[2], FEI Fei[3], ZHANG Zhen-Yang[4], GUO Si-Wei[4], QI Bao-Ying[4], ZHOU Yu-Xiao[4], LIANG Tian-Zhu[4], LI Meng[4], LI Xue[1*]

(1. *Liaoning Provincial Center for Disease Control and Prevention*, *Shenyang* 110172, *China*; 2. *Dandong Center for Disease Control and Prevention*, *Dandong* 118000, *China*; 3. *Huludao Center for Disease Control and Prevention*, *Huludao* 125000, *China*; 4. *College of Life Sciences*, *Liaoning University*, *Shenyang* 110036, *China*)

ABSTRACT: Objective To analyse the etiological characteristics of *Yersinia enterocolitis* isolated from meat in Liaoning Province. **Methods** Pathogenic biological analysis, multilocus sequence typing (MLST) test and drug

收稿日期: 2025-04-23
基金项目: 辽宁省自然科学基金项目(2023-MS-064); 辽宁省食源性疾病预测预警分析模型建立及人群疾病负担等相关食品安全关键技术研究项目(2024JH2/102500073)
第一作者: 孙婷婷(1985—), 女, 副主任技师, 主要研究方向为食源性致病菌。E-mail: 625189086@qq.com
***通信作者:** 李雪(1983—), 女, 主任技师, 主要研究方向为食源性致病菌。E-mail: 812626707@qq.com

resistance detection analysis were conducted on *Yersinia enterocolitica* isolated from meat products. **Results** A total of 40 strains of *Yersinia enterocolitica* were detected from meat in 2024. Serotypes were O:8, O:3 and O:5, mainly O:8. The biological types were type 1A and type 3. Virulence gene detection could be divided into 4 types, the main type was type I carrying *foxA*. The 40 *Yersinia enterocolitica* isolates were divided into 10 groups of pluse field gel eletrophoresis (PFGE) dominant band types A-J. Group A had a higher proportion. MLST was divided into 26 types, among which there were 10 new types. STN16 and STN11 were located in the core and diverged to the periphery. Nalidixic acid resistance rate was the highest in drug sensitivity test, followed by streptomycin, ciprofloxacin and ampicillin resistance. **Conclusion** There are 3 serotypes of *Yersinia enterocolitis* isolated from meat in Liaoning Province in 2024, and the biotypes are very concentrated. The virulence genes are mainly type I, and the sequence type (ST) genotypes show diversified and divergent distribution and multiple antibiotic resistance mode. The supervision of pig, cow, chicken and other meat foods should be strengthened.

KEY WORDS: *Yersinia enterocolitic*; serotype; multilocus sequence typing

0 引 言

小肠结肠炎耶尔森菌(*Yersinia enterocolitica*, YE)在大自然界中广泛分布, 可在多种动物宿主体内存在, 家畜是主要携带者, 猪是 YE 的重要贮存宿主, 可通过粪口途径传播[1], 是主要的传染源。YE 具有嗜冷性, 在低温环境中生长、繁殖, 产生的耐热肠毒素不仅耐高温且在低温条件下保持数月的活性, 尤其是冷冻食品也被检出, 其导致的疾病也被称为“冰箱病”。YE 是重要的食源性致病菌, 可引发以腹泻为主的胃肠炎和肠道外的感染等疾病, 还引起一些较严重的慢性迁延型疾病比如反应性关节炎、结节性红斑等。

YE 具有较多的血清型和生物型, 其致病性也与生物型和血清型有一定的相关性[2], 根据文献报道可以发现不同国家和地区之间的生物型和血清型存在差异性。通常认为生物型 1A 菌株无致病性, 但近年来却发现少数 1A 型菌株也携带有毒力基因 *ail*, 从而具有致病性, 因此有必要开展表型和分子特征的研究。多位点序列分析(multilocus sequence typing, MLST)具有较高的分离率, 通过数据库可以得到进化和亲缘关系, 为日后关于食源性疾病方面的研究与调查提供依据, 为基层实验室提供分析能力[3]。食源性致病菌的检测技术大部分包括准确性、时间成本、生化分型、血清分型、毒力基因携带等的鉴定, 进行区分致病性和非致病性菌株之间的是否有关联性研究。

本研究对 2024 年辽宁省肉类食品中分离的 80 株 YE 进行血清型、生物型、MLST、抗菌药物敏感试验以及脉冲场凝胶电泳分子分型试验等研究, 以了解辽宁省肉类食品中 YE 的相关病原学特征, 为日后防控提供依据。

1 材料与方法

1.1 样品来源

依照《辽宁省食品中小肠结肠炎耶尔森菌研究工作方案》[4]进行采样要求。2024 年采集辽宁省 14 个市的农贸市场样品共 972 份, 其中猪肉 324 份, 牛肉 324 份, 鸡肉 324 份。

1.2 标准菌株

标准菌株为 CMCC(B)52204, 来自于国家菌种保藏中心。

1.3 试剂与仪器

尿素培养基、改良 Y 培养基、CIN-1 平板、改良磷酸盐缓冲液(北京陆桥生物有限公司); YE 诊断血清(日本生研公司); 限制性内切酶 Not I 和 Xba I(日本 TaKaRa 公司); Tris-硼酸-乙二胺四乙酸(Tris-borate-ethylene diamine tetraacetic, TBE)缓冲液(美国 Promega 生物公司); DNA 提取试剂盒(德国 Qiagen 公司); 革兰氏阴性药敏板[星佰生物有限(上海)公司]; 革兰氏阴性细菌鉴定卡 VITEK 2(法国梅里埃公司); 所有引物(美国赛默飞世尔科技公司)。

HHB11-22 恒温培养箱(中国海河有限公司); GelDocXR+凝胶成像系统、S1000 聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)仪(美国伯乐生物公司); VITEK2 全自动微生物生化鉴定仪(法国梅里埃生物有限公司); CKX41 倒置显微镜(日本奥林巴斯公司)。

1.4 方 法

1.4.1 菌株分离和鉴定

按照 GB/T 4789.8—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 小肠结肠炎耶尔森氏菌检验》进行样品中 YE 分离鉴定。菌株分离: 直接把采集的肉制品放入改良磷酸盐缓冲液进行增菌放置于 4 ℃培养 21 d。把增菌液直接接种到 CIN-1 琼脂平板和改良 Y 琼脂平板, 放置于 26 ℃培养 48 h, 典型菌落在 CIN-1 上为深红色中心, 周围具有无色透明圈(红色牛眼状菌落), 菌落大小为 1~2 mm, 在改良 Y 琼脂平板上为无色透明、不黏稠的菌落。挑取可疑菌落 3 个以上, 接种到改良的克氏双糖铁琼脂培养基上, 26 ℃培养 24 h, 对斜面和底部都变黄但不产气的培养物再做进一步的生化鉴定。使用 VITEK2 全自动微生物生化鉴定仪

进行生化鉴定。挑取可疑菌落接种到尿素培养基上, 26 ℃培养 4 h, 将尿素酶试验阳性菌落分别接种于两管半固体培养基中, 于 26 ℃和 36 ℃培养 24 h。把 26 ℃有动力而 36 ℃无动力的可疑菌可以划线接种到营养琼脂平板上, 经过纯化的菌落进行革兰染色镜检(YE 呈革兰阴性球杆菌), 用 VITEK2 全自动微生物生化鉴定仪进行鉴定。

1.4.2　生物型分型

根据生化反应不同, 可将其分为生物 1A、1B、2、3、4、5 共 6 个生物型。

1.4.3　血清型鉴定

生化反应符合 YE 的菌株特征后再进行血清分型, 用玻片凝集试验进行鉴定, 并设盐水对照试验, 以检查有无凝集现象。

1.4.4　毒力基因

采用普通多重 PCR 方法, 对 YE 分离株进行 7 个毒力基因的 PCR 检测。依据《2024 年国家食品污染物和有害因素风险监测工作手册》[5]中的扩增引物序列见表 1, PCR 引物由美国赛默飞世尔科技公司合成。*foxA* 种属保守基因, 染色体源毒力基因包括 *ail* 黏附侵袭位点基因、*ystA* 小肠结肠炎耶尔森菌耐药性肠毒素 A 基因和 *ystB* 主要为生物 1A 型小肠结肠炎耶尔森菌携带的, 质粒(pYV)源毒力基因包括 *yadA* 粘附素、*virF* 基因调节 yop 的转录活化因子和 O:3 血清型有 O 抗原特异性基因 *rfbC* 条带扩增。

1.4.5　脉冲场凝胶电泳分子分型和聚类分析

按照小肠结肠炎耶尔森氏菌检验脉冲场凝胶电泳(pluse field gel eletrophoresis, PFGE)操作标准进行分型研究。应用 BioNumerics 8.0 软件对 PFGE 图谱进行聚类分析。

1.4.6　MLST 分子分型和聚类分析

Pubmlst 上的 MLST 公布的分型方法, 包括 7 个管家基因, 分别是 *adk*、*argA*、*aroA*、*glnA*、*thrA*、*tmk*、*trpE* 可以作为目的基因进行比对和分析。对 YE 菌株进行管家基因 PCR 的扩增, DNA 纯化产物由沈阳鑫脉生物公司进行测序。将测序结果提交到 Pubmlst 数据库中, 进行比对测序基因的等位基因号得到测序株的序列分型(sequence type, ST), 并将 ST 型字符型数据导入 BioNumerics 8.0 软件, 应用 goeBURST distance 聚类分析生成最小生成树图。应用 SPSS 13.0 软件, 非加权组平均法(unweighted pair-group method with arithmetic mean, UPGMA)聚类法进行聚类分析[6]。MLST 分子分型 PCR 扩增引物和测序引物序列按照国家食品安全风险评估中心的《食品中小肠结肠炎耶尔森菌血清型、生物型特征研究工作方案》[5], 由美国赛默飞世尔科技公司合成。

1.4.7　药物敏感试验

依据革兰阴性需氧菌药敏检测板, 使用说明书由星佰生物技术有限(上海)公司提供, 采用人工判读结果, 用大肠埃希菌 ATCC25922 做为质控菌株由辽宁省疾病预防控制中心实验室提供。依据美国临床实验室标准化协会 CLSI M100-S32 推荐标准进行判断。采用琼脂稀释法, 选择 16 种抗菌药物分别是氨苄西林(ampicillin, AMP)、氨苄西林/舒巴坦(ampicillin and sulbactam, AMS)、四环素(tetracycline, TET)、美罗培南(meropenem, MEM)、多粘菌素(polymyxin, ECT)、厄他培南(ertapenem, ETP)、头孢他啶/阿维巴坦(ceftazidime-avibactam, CZA)、替加环素(tigecycline, TIG)、头孢噻肟(cefotaxime, CTX)、头孢他啶(ceftazidime, CAZ)、环丙沙星(ciprofloxacin, CIP)、氯霉素(chloramphenicol, CHL)、萘啶酸(nalidixic acid, NAL)、链霉素(streptomycin, STR)、复方新诺明(selectrin, SXT)、阿米卡星(amikacin, AMK)。

1.5　数据处理

用 SPSS 13.0 软件进行数据的统计分析, 用 UPGMA 聚类法中$\sum^2$<5 的分型分析, 使用 Hunter 和 Gaston 的方法进行分辨力(definition, DI)的分辨力分型方法。所有试验至少重复 3 次。

2　结果与分析

2.1　菌株分离检出情况

2024 年共采集肉类样品 972 份, 共鉴定出 40 株 YE, 分离率为 4.12%。其中 30 株来自猪肉, 5 株来自牛肉, 5 株来自鸡肉, 见表 2。

表 1　毒力基因引物序列

Table 1　Sequence of virulence gene primers

目的基因	引物序列(5′-3′)	片段长度/bp	参考文献
foxA	F-CTTGATGGGCTGCGCTT R-TTCGCGCTGATGGTCAT	315	[5]
ail	F-AACTGGGGAGTAATAGGTTC R-AATTGCACCCCTGCTCC	248	[6]
ystA	F-CAAGAAACAGTTTCAGGGC R-GCAACATACCTCACAACACC	112	[7]
ystB	F-GTACATTAGGCCAAGAGA R-GCAACATACCTCACAACACC	146	[8]
yadA	F-CTTCAGATACTGGTGTCG R-ATGCCTGACTAGAGCGAT	849 759*	[9]
virF	F-GGCAGAACAGCAGTCAGA R-GGTGAGCATAGAGAATACG	561	[10]
rfbC	ACAGATTTTTTAATCGCATCTGG R-GAATTCCATCAAAACCACC	415	[4]

注: *表示致病性 YE 血清型 O:8 扩增产物片段大小。

表 2 YE 分离株的标本来源情况

Table 2 Specimen source of YE isolates

样品	样品量/份	分离数/份	分离率/%
猪	324	30	9.26
牛	324	5	1.54
鸡	324	5	1.54
合计	972	40	4.12

2.2 生物分型、血清学分型及毒力基因携带情况

2024 年 40 株 YE 鉴定为 3 个血清型、2 个生物型、4 个毒力基因型。血清型为 O:3 的 4 株 YE 分离株全部携带 *rfbC* 基因。根据毒力基因携带情况, 32 株生物 1A 型分离株是非致病菌, 8 株生物 3 型分离株均是致病菌。致病菌株 8 株占 20% (8/40), 非致病菌菌株 32 株占 80% (32/40)。YE 的毒力基因存在 4 种型别, 以 *foxA*+型为主, 具体分型情况见表 3。

2.3 PFGE 分型结果

本研究对 2024 年 40 株 YE 分离株进行了 PFGE 分型试验, PFGE 的 DI 为 0.957。根据 TENOVE 等[6]提出的有关菌株同源性的判别标准, 折换成按相似度大于 80%为相近菌株, 进行分型, 亲缘关系近的分成一组, 小于 80%的则为亲缘关系远。40 株 YE 分离株 sy41~80 代表沈阳 YE 分离株 1~40 株, 可分成 25 个型, 共 10 组其中有 4 组优势带型, 主要分子型为 A~J 组, 优势组为 A 组。A 组有 5 株、B 组 4 株、C 组 4 株、D 组 3 株、E 组 2 株、F 组 2 株、G 组 2 株、H 组 2 株、I 组 2 株、J 组 2 株。A 组中 ST945 (O:8, I)与其他 4 株致病菌(O:5, III)亲缘关系近。血清型主要为 3 种, 血清型是 O:8、O:3、O:5, 其中致病菌株有 8 株, 生物型分为两种 1A 型和 3 型, 其中 1A 为主要生物型别。毒力基因型别为 4 种, 其中 I 型为主要毒力基因型别。菌株分型来源、ST 分型、血清型、毒力基因、分组情况见图 1。

表 3 40 株 YE 分离株分型结果

Table 3 Typing results of 40 YE isolates

血清型	生物型	毒力基因型	*ail*	*ystA*	*ystB*	*yadA*	*virF*	*rfbC*	*foxA*
O:8 (32)	1A 型(32)	IV (6)	-	-	+	-	-	-	+
		I (26)	-	-	-	-	-	-	+
O:3 (4)	3 型(4)	II (4)	+	+	-	+	+	+	+
O:5 (4)	3 型(4)	III (4)	+	+	-	-	+	-	+

注: -代表阴性结果, +代表阳性结果; 括号内数据为菌株数。

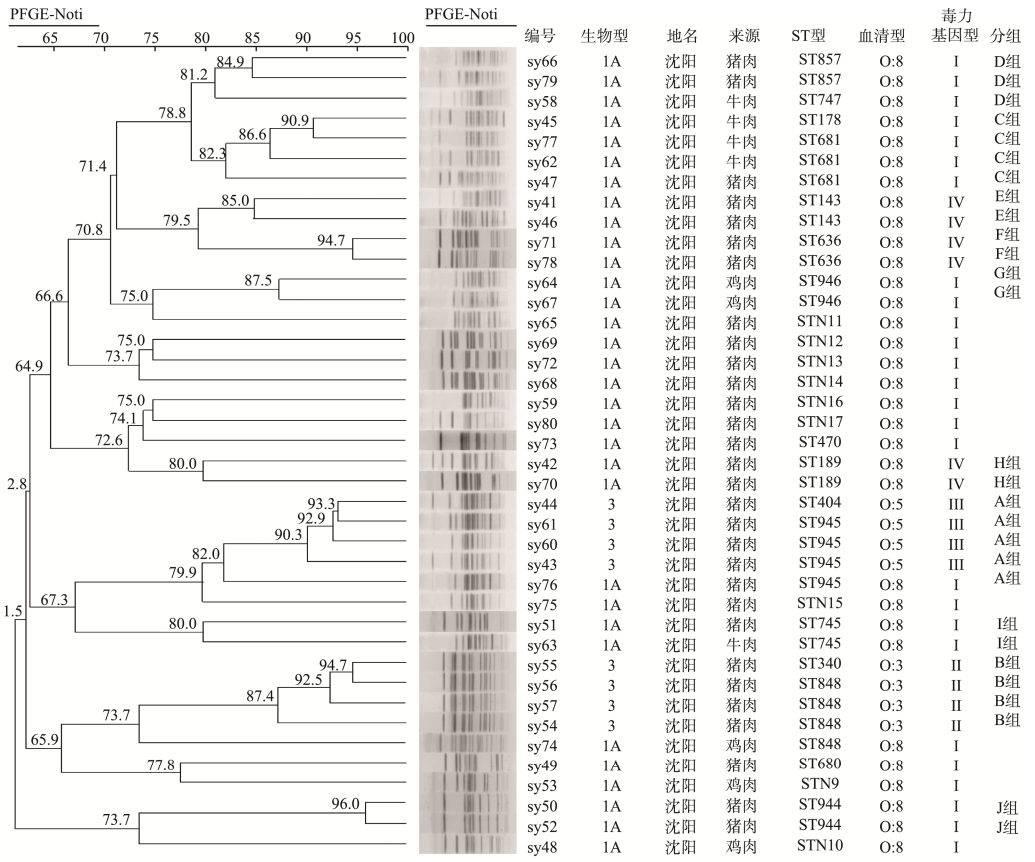


图 1 2024 年 40 株 YE 分离株 PFGE 分型聚类图

Fig.1 Cluste map of PFGE typing of 40 YE isolates in 2024

2.4　MLST 序列聚类分析结果

按 UPGMA 聚类法中$\sum^2<5$[7], ST 型可聚类分为 15 组, 相同 ST 型相似度高, MLST 的 DI 为 0.951, 见图 2。其中菌株数最多的 3 个 ST 型分别为 ST681 (3 株)、ST945 (4 株)、ST848 (4 株)。Num 菌株编号 34~73 对应辽宁省内分离株 sy1~40 号, 1~33 对应江苏省分离株 1~33。相同的 ST 型被分配到了一组, 距离小于 5 的时候表示亲缘关系近, 大于 5 则表示亲缘关系远。

2.5　MLST 序列聚类生成树

应用 phyloviz 软件, goeBURST distance 聚类分析生成最小生成树图。将测得的基因序列中的管家基因序列在 MLST 数据库针对 7 种管家基因进行比对, 得到对应的等位基因编码。2024 年分离的 40 株 YE 菌株中经比对后共 26 个型别, 10 个新型, 见图 3。与江苏省中从人源分离出的 YE 菌株进行 ST 型[7]比对发现, 普通 ST 型 16 种(30 株), 与江苏省中从人源分离出的相同 ST 型别为 3 种分别是 ST178 型(1 株)、ST404 型(1 株)、ST340 型(1 株), 新发现型 10 种(10 株), ST 型一共为 26 种。STN16 和 STN11 位于分布图中的核心位置, 并向四周发散。MLST 型别是 ST681、ST945、ST848。ST 型与毒力基因之间的关系, 毒力基因 I 型中含有 20 种 ST 型, 毒力基因 II 型含有 2 种 ST 型, 毒力基因 III 型含有 2 种 ST 型, 毒力基因 IV 含有 3 种 ST 型。其中 1 种 ST 型在毒力基因 I 型和 II 型中都有出现, MLST 最小生成树图及聚类结果, 见图 3。MLST 分子分型主要占比的分析情况, 见表 4。

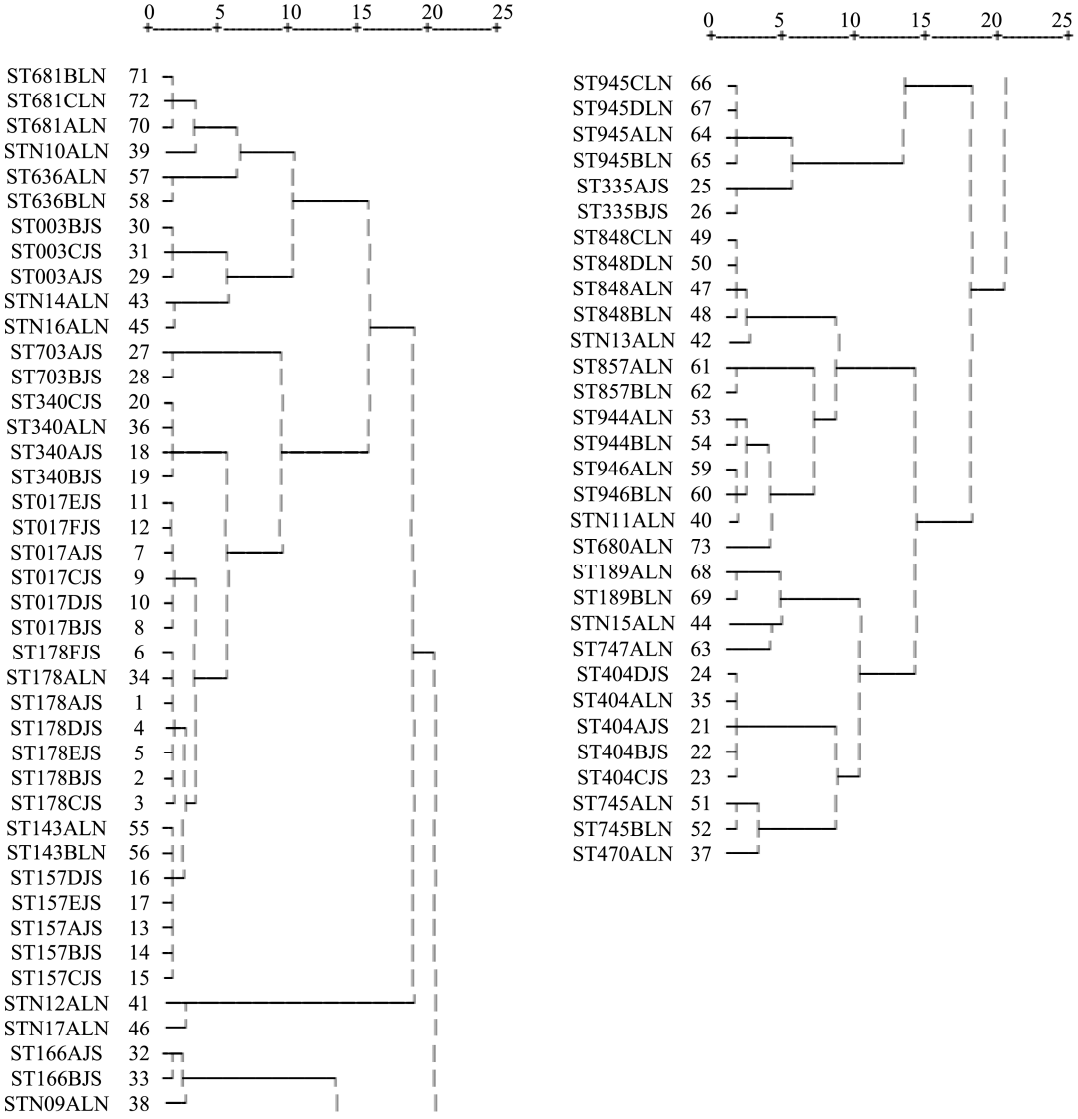
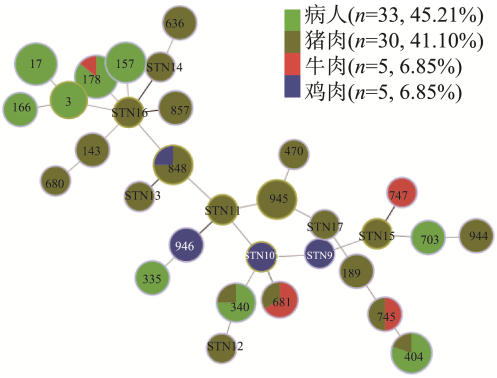


图 2　YE 的 MLST 分子型聚类图

Fig.2　Cluste map of MLST molecular type of YE



注: *n* 代表样本数量分别是病人、猪肉、牛肉、鸡肉; %是样本占总体的百分比。

图 3 73 株 YE 分离株 MLST 分型最小生成树图

Fig.3 Minimum spanning tree of MLST typing of 73 YE isolates

2.6 药物敏感试验结果

对分离的 40 株 YE 进行 16 种抗生素药物敏感试验检测,15 种抗生素有敏感性, 9 种抗生素产生了耐药性, ECT 全部中介耐药, 其中 11 株至少对一种抗菌药物耐药, 其中耐药 2 种抗生素的 AMP-CIP 耐药谱有 7 株和 AMP-CAZ 耐药谱有 4 株; 耐药 3 种抗生素的菌株有 4 株, 其耐药谱为 AMP-CTX-CIP; 耐药 5 种抗生素的 AMP-CTX-CAZ-NAL-STR 耐药谱有 8 株和 AMP-CTX-CAZ-CIP-STR 耐药谱有 6 株。对 AMP 耐药率为 72.5%, 三代头孢、TIG、AMK、CHL 均为 100.0%敏感, 耐药性分析显示 YE 对 NAL 耐药率最高, 其次为 STR, 再次为 CIP 和 AMP 耐药, 见表 5。

表 4 毒力基因型和 ST 型

Table 4 Virulence genotypes and ST types

毒力基因型	40 株菌 ST 型
I	ST857 (2 株)、ST747 (1 株)、ST178 (1 株)、ST681 (3 株)、ST946 (2 株)、STN11 (1 株)、STN12 (1 株)、STN13 (1 株)、STN14 (1 株)、STN16 (1 株)、STN17 (1 株)、STN945 (1 株)、ST470 (1 株)、STN15 (1 株)、ST745 (2 株)、ST848 (1 株)、ST680 (1 株)、STN9 (1 株)、ST944 (2 株)、STN10 (1 株)
II	ST848 (3 株)、ST340 (1 株)
III	ST945 (3 株)、ST404 (1 株)
IV	ST143 (2 株)、ST636 (2 株)、ST189 (2 株)

表 5 YE 药物敏感试验结果

Table 5 Drug susceptibility test results of YE

抗生素种类	抗生素名称	耐药率/%	中介率/%	敏感率/%
青霉素类	AMP	72.5 (29)	20.0 (8)	7.5 (3)
	AMS	0 (0)	7.5 (3)	92.5 (37)
头孢菌素类	CZA	0 (0)	0 (0)	100.0 (40)
	CTX	45.0 (18)	0 (0)	55.0 (22)
	CAZ	50.0 (20)	0 (0)	50.0 (20)
碳青霉烯类	ETP	2.5 (1)	0 (0)	97.5 (39)
	MEM	2.5 (1)	0 (0)	97.5 (39)
四环素类	TET	0 (0)	5.0 (2)	95.0 (38)
	TIG	0 (0)	0 (0)	100.0 (40)
喹诺酮类	NAL	92.5 (37)	2.5 (1)	5.0 (2)
磺胺类	SXT	10.0 (4)	5.0 (2)	85.0 (34)
氨基糖苷类	STR	80.0 (32)	0 (0)	20.0 (8)
	AMK	0 (0)	0 (0)	100.0 (40)
氯霉素类	CHL	0 (0)	0 (0)	100.0 (40)
人工合成的抗菌药物	CIP	75.0 (30)	7.5 (3)	17.5 (7)
其他	ECT	0 (0)	100.0 (40)	0 (0)

注: 括号内数字代表菌株数量。

3 讨论与结论

本研究通过对近年采集的辽宁省沈阳市等地不同生肉来源的 YE 样本进行了病原学特征分析及分子分型研究, 并在遗传层面上分析了其耐药性及致病性的相关因素。结果显示这些地区生肉样品中, YE 的毒力基因存在 4 种型别, 以 *foxA*+型为主; YE 的 PFGE 分子分型分析, 沈阳市地区的 YE 分离株可以分为 10 组, A~J 组, 优势组为 A 组; 同一

聚类簇的ST型别, 呈现多样化, ST型与毒力基因之间的关系, 需要进一步研究; 其整体的耐药水平较低, 三代头孢、TIG、AMK、CHL 均为 100.0%敏感, 提示能有效抑制 YE, 应对其耐药特征继续进行监测。

本研究显示, 从辽宁省肉类食品中可以分离出的 YE 致病菌, 其检出率为 4.12%, 其主要分离率较高的肉类源主要是猪肉, 高于江苏省 2016—2019 年不同来源肉类食品中 YE 的分离率[8], 低于 2021—2022 年济宁市禽肉中 YE 的 4.3%分离率[9], 高于 2020—2023 年辽宁省 YE 的 2.2%分离率[11]。从结果表明, 辽宁省 YE 流行强度有一定幅度的上升, 应加强相关疾病防控的力度。

2024 年辽宁省 YE 的主要毒力基因型为 I 型、主要血清型 O:8、主要生物型为 1A 型, YE 可分为 6 种生物分型: 1A、1B、2、3、4、5, 其中生物分型 1A 为潜在致病型, 其他生物分型均有致病性。辽宁省 2024 年主要流行两种生物分型 1A 型和 3 型, 主要血清型是 O:8、O:3、O:5。与参考文献中常见的血清型鉴定为 O:3、O:9、O:8、和 O:5,27 等[12–14]相吻合。因此了解 YE 的生物分型及血清型对了解该菌的生物学特征具有重要作用[14]。其中毒力基因型 II 型携带的毒力基因种类最多达到 6 种。目前发现 YE 的所有菌株都携带 *foxA* 基因; 典型的致病性菌株的毒力基因分布主要为 *ail*+、*ystA*+、*yadA*+、*virF*+、*ystB*- 5 种; 传统意义上大多数的致病性的菌株是不携带 *ystB* 基因的, 但是有很少一部分生物 1A 型的非致病性菌株是可以携带 *ystB* 基因的; 大多少非致病性的菌株都是不携带 *ail*、*ystA*、*yadA*、*virF* 这些基因地, 有一部分生物型别是 1A 的非致病性菌株只携带这两种毒力基因分别是 *ail* 和 *ystB* 基因。

辽宁省 YE 的 PFGE 分子分型分析, 沈阳市地区的 YE 分离株可以分为 10 组, A~J 组, 优势组为 A 组。血清型主要为 3 种, 其中致病菌株有 8 株, 生物型分为两种, 其中 1A 为主要生物型别。毒力基因型别为 4 种, 其中 I 型为主要毒力基因型别。A 组中 ST945 (O:8, I)与其他 4 株致病菌(O:5, III)亲缘关系近, 这株菌应该进一步研究, 引起重视。相同血清型之间的分子分型之间的相似度很高, ST 型相同的菌株分子分型的相似度也高, 相同的 ST 型菌株大多都被分成为一组, 提示两者之间分子分型具有一致性。

辽宁省 YE 的 ST 分型呈现多样化, 主要 MLST 型别是 ST681、ST945、ST848。ST 型与毒力基因之间的关系, 毒力基因 I 型中含有 20 种 ST 型, 毒力基因 II 型含有 2 种 ST 型, 毒力基因 III 型含有 2 种 ST 型, 毒力基因 IV 含有 3 种 ST 型。其中 1 种 ST 型在毒力基因 I 型和 II 型中都有出现。YE 的 7 个管家基因存在较高的变异度, ST 型别之间呈分散分布, STN16 和 STN11 位于核心位置向四周发散。食品源 ST848 克隆株与人源克隆株 ST157、ST178、ST3、ST17、ST166 来自相同的克隆复合体, 新型 STN16 位于克隆复合体的核心, 这些菌株可能是由 STN16 进化而来的, ST848 克隆株为优势 STs, 应引起重视, 可为后续探讨做基础研究分析。食品源 ST143 克隆株与人源克隆株 ST157 聚类结果$\sum^2$<5, 相似度高亲缘关系近, 食品源 ST143 克隆株具有引起食源性疾病风险, 应引起高度重视。

耐药性分析显示 YE 对 NAL 耐药率最高, 其次为 STR, 再次为 CIP 和 AMP 耐药。主要对 *β*-内酰胺类和喹诺酮类抗生素比较容易产生耐药性, 这与参考文献[15]相符, 可能的原因是 YE 能够产生 *β*-内酰胺酶, 能水解青霉素类的药物。本研究中 40 株 YE 进行药敏试验, 发现其对 AMS 均敏感, 显示其舒巴坦是可以抑制 *β*-内酰胺酶活性的。本研究中与王闻卿等[16]研究中对耐药分析中的三代头孢和氟喹诺酮均敏感的结果有不同。对 AMP 耐药率为 72.5%, 与傅祎欣等[17]的福建省生肉中 YE 的耐药结果相近。略低于我国猪肉生产链中 YE 的耐药率 77.5%[10]。本研究中, YE 对两种以上抗生素耐药有 29 株, 其耐药率均较高, 应重点关注 YE 的抗生素情况, 加强养殖业对抗生素使用的添加进行严格管控, 防止出现超级耐药菌, 影响养殖业的源头。本研究中三代头孢、TIG、AMK、CHL 均为 100%敏感, 提示能有效抑制 YE。从研究显示, 辽宁省地区的肉制品中分离的 YE 的整体耐药水平较低, 耐药性未出现广泛的增长趋势, 但是仍需持久的监测其耐药性。本研究中 YE 耐药谱的实验结果, 可以为 YE 感染的临床用药情况提供数据参考。

MLST 通过管家基因来进行种属之间的进化关系[18]。它是一种在基因水平上进行的分型方法, 通过研究大量具有代表性的菌株进行分子进化的研究, 并且可以通过互联网留痕, 进行溯源分析, 同时适用于流行病学和分子进化的研究[19–20]。基于上述快速检测方法也是时代发展的需要。国际标准认为病原菌的病原性检测是基础检测项目, 但是我国食品安全标准还没达到国际水平, 所以高通量的测序等便捷、快速的分子生物学方法对不同致病菌的菌株溯源分析是十分必要地。

本研究分析了辽宁省肉类食品中 YE 的分布情况、生化分型、血清分型、毒力情况、耐药情况, 辽宁省 YE 血清型为 3 种, 生物型非常集中, 毒力基因主要以 I 型为主, ST 分型呈现多样性发散分布, 可以作为辽宁省食源性疾病检测的依据, 为日后建立食源性疾病的预警做基础。此外多位点序列分析方法, 通过测序分析菌株的多个管家基因也可以实现对耶尔森氏菌种水平的鉴定, 并表现出更好的种间区分效果[21–23]。抗生素耐药性问题日益严重, 对全球的公共卫生安全造成了严重的威胁, 说明抗生素在细菌中的充分累积是其发挥抗菌活性的先决条件, 与多种病原菌的抗生素的耐药性息息相关[24–27]。掌握致病菌的耐药性, 可以为日后有针对性的用药建立有效机制[28–30]。辽宁省日后需要不断地加强食品中的 YE 检测, 获得更多的菌株, 并进行大量的整理, 为预防相关性疾病的爆发提供良好的保障, 为辽宁省日后追踪、溯源、验证提供有效的分型工具。

参考文献

[1] ODYNIEC M, BANCEIZ-KISIELl A. Assessment of the role of free-living and farmed fallow deer as a potential source of human infection with multiple-drug-resistant strains of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberulosis* [J]. Pathogens, 2022, 11(11): 1266.

[2] BANCERZ KA, SZCZERBA TA, PLATT SA, *et al*. A study of single nucleotide polymorphism in the ystB gene of *Yersinia enterocolitica* strains isolated from various wild animal species [J]. Annals of Agricultural and Environmental Medicine, 2017, 24(1): 56–61.

[3] HASSANZADE P, GHASEMZADEH-LIMOSE E, NOURII-GHARAJALAR S, *et al*. Molecular detection, biotyping and serotyping of *Yersinia enterocolitica* isolated from chicken livers in Tabriz [J]. Comparative Immunology Microbiology and Infectious Diseases, 2022, 83: 1011777.

[4] 李雪. 辽宁省食品中小肠结肠炎耶尔森菌研究工作方案[M]. 沈阳: 辽宁科技出版社, 2003.
LI X. Research work plan on *Yersinia enterocolitica* in food and small intestine of Liaoning Province [M]. Shenyang: Liaoning Science and Technology Publishing House, 2003.

[5] 国家食品安全风险评估中心. 2019 年国家食品污染和有害因素风险监测工作手册[Z]. 北京: 国家食品安全风险评估中心, 2018.
National Center for Food Safety Risk Assessment. 2019 national food contamination and harmful factors risk monitoring work manual [Z]. Beijing: National Center for Food Safety Risk Assessment, 2018.

[6] TENOVE FC, ARBEIT RD, GOENING RV, *et al*. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gelelectrophoresis: Criteria for bacterial strain typing [J]. Journal of Clinical Microbiology, 1995, 18: 426–439.

[7] 穆玉姣, 张白帆, 潘静静, 等. 河南省小肠结肠炎耶尔森菌病原学特征和分子分型研究[J]. 中华微生物学和免疫学, 2019, 39(3): 180–184.
MU YJ, ZHANG BF, PAN JJ, *et al*. Etiological characteristics and molecular typing of *Yersinia enterocolitica* in Henan Province [J]. Chinese Journal of Microbiology and Immunology, 2019, 39(3): 180–184.

[8] 周璐, 段然, 祝雯雯, 等. 江苏省 2016—2019 年不同来源小肠结肠炎耶尔森菌血清、生物型分布及分子特征分析[J]. 南京医科大学学报, 2022, 42(5): 740–745.
ZHOU L, DUAN R, ZHU WW, *et al*. Analysis serum,biotype distribution and molecular characteristics of *Yersinia enterocolitic* from different hosts in Jiangsu Province, 2016—2019 [J]. Journal of Nanjing Medical University, 2022, 42(5): 740–745.

[9] 孔政, 丁一, 杜照中, 等. 基于 2021—2022 年济宁市禽肉中小肠结肠炎耶尔森氏菌检出情况及全基因组的测序分析[J]. 中国口岸科学技术, 2023, 5(5): 85–90.
KONG Z, DING Y, DU ZZ, *et al*. Detection status of *Yersinia enterocolitica* and whole genome sequencing analysis in poultry meat in Jining City from 2021 to 2022 [J]. China Port Science and Technology, 2023, 5(5): 85–90.

[10] 吴艺影, 曲道峰, 韩剑众. 猪肉生产链细菌耐药性及其耐药基因调查研究[J]. 中国畜牧杂志, 2015, 51(6): 78–83.
WU YY, QU DF, HAN JZ. Investigation on antibiotic resistance and resistance genes in bacteria isolated from pork chain [J]. Chinese Journal of Animal Science, 2015, 51(6): 78–83.

[11] 李雪, 孙婷婷, 魏彤竹, 等. 2020—2023 年辽宁省小肠结肠炎耶尔森菌表型分布和分子特征研究[J]. 中国人兽共患病学报, 2024, 40(2): 97–103.
LI X, SUN TT, WEI TZ, *et al*. Phenotypic distribution and molecular characteristics of *Yersinia enterocolitica* in Liaoning Province from 2020—2023 [J]. Chinese Journal of Zoonoses, 2024, 40(2): 97–103.

[12] ZIXIN P, MINGYUAN Z, MENGHAN L, *et al*. Prevalence, antimicrobial resistance and phylogenetic characterization of *Yersinia enterocolitica* in retail poultry meat and swine feces in parts of China [J]. Food Control, 2018, 93: 121–128.

[13] LUCIANI M, SCHIRONE M, PORTANTII O, *et al*. Development of a rapid method for the detection of *Yersinia enterocolitica* serotype O:8 from food [J]. Food Microbiology, 2018, 73: 85–92.

[14] PERUZY MF, MURU N, PERUGINI AG, *et al*. Evaluation of virulence genes in *Yersinia enterocolitica* strains using SYBR green real-time PCR [J]. Food Microbiology, 2017, 65: 231–235.

[15] PLATT-SAMORAJ A. Toxigenic properties of *Yersinia enterocolitica* biotype 1A [J]. Toxins (Basel), 2022, 14(2): 118.

[16] 王闻卿, 崔琪奇, 王筱, 等. 上海市浦东新区食源性小肠结肠炎耶尔森菌耐药及分子流行病学特征[J]. 中华流行病学杂志, 2019, 40(3): 354–359.
WANG WQ, CUI QQ, WANG X, *et al*. Antimicrobial resistance and molecular epidemiology of foodborne *Yersinia enterocolitica* in Pudong New District, Shanghai [J]. Chinese Journal of Epidemiology, 2019, 40(3): 354–359.

[17] 傅祎欣, 洪锦春, 叶海梅, 等. 2019—2020 年福建省生肉中小肠结肠炎耶尔森菌污染状况及耐药分析[J]. 中国预防医学杂志, 2021, 22(3): 193–196.
FU YX, HONG JC, YE HM, *et al*. Prevalence and antibiotic resistance profile of *Yersinia enterocolitica* in row meat in Fujian Province from 2019 to 2020 [J]. Chinese Preventive Medicine, 2021, 22(3): 193–196.

[18] DARBY EM, TRAMPARI E, SIASAT P, *et al*. Molecular mechanisms of antibiotic resistance revisited [J]. Nature Reviews Microbiology, 2023, 21: 280–295.

[19] 谢爱蓉, 李毅, 楼辉煌, 等. 温州市食源性小肠结肠炎耶尔森氏菌毒力基因分布及遗传多样性研究[J]. 中国人兽共患病学报, 2024, 40(1): 40–45.
XIE AIR, LI Y, LOU HH, *et al*. Virulence determinants and genetic diversity of foodborne *Yersinia enterocolitica* isolated from Wenzhou [J]. Chinese Journal of Zoonoses, 2024, 40(1): 40–45.

[20] YUE Y, SHEN M, LIU X, *et al*. Whole-genome sequencing-based prediction and analysis of antimicrobial resistance in *Yersinia enterocolitica* from Ningxia, China [J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 936425.

[21] 邹丹阳, 田晓雅, 夏万鹏, 等. CpxRA 双组分系统对小肠结肠炎耶尔森菌环境耐受性和抗生素耐药性的影响[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(9): 29–36.
ZOU DY, TIAN XY, XIA WP, *et al*. Role of CpxRA in environmental stress tolerance and antibiotic resistance in *Yersinia enterocolitica* [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2024, 15(9): 29–36.

[22] BARI ML, HOSSAIN MA, ISSHIKI K, *et al*. Behavior of *Yersinia enterocolitica* in foods [J]. Journal of Pathology, 2011, 13(1): 65.

[23] FABREGA A, VILA J. *Yersinia enterocolitica*: Pathogenesis, virulence and antimicrobial resistance [J]. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 2012, 30(1): 24–32.

[24] PERDIKOGIANNI C, GALANAKIS E, MICHALAKIS M, *et al*. *Yesinia enterocolitica* infection mimicking surgical conditions [J]. Pediatric Surgery International, 2006, 22(7): 589–592.

[25] 汤雨晴, 叶倩, 郑维义. 抗生素类药物的研究现状和进展[J]. 国外医药(抗生素分册), 2019, 40(4): 295–301.
TANG YQ, YE Q, ZHENG WY. Research status and development of antibiotics [J]. World Notes on Antibiotics, 2019, 40(4): 295–301.

[26] GUO H, ZHAO T, HUANG C, *et al*. The role of the two-component system PhoP/PhoQ in intrinsic resistance of *Yersinia enterocolitica* to polyinyxin [J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 758571.

[27] CHLEBICZ A, SLIZEWSKA K. *Campylobacteriosis*, *Salmonellosis*, *Yersiniosis*, and *Listeriosis* as zoonotic food borne diseases: A review [J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2018, 15(5): 863.

[28] BOTTONE EJ. *Yersinia enterrocolitica*: The charisma continues [J]. Clinical Microbiology Reviews, 1997, 10(2): 257–276.

[29] FREDRIKSSON-AHOMAA M. Isolation of enteropathogenic *Yersinia* from non-human sources [J]. Advances in Experimental Medicine and Biology, 2012, 954: 97–105.

[30] DUAN R, LIANG JR, SHI JX, *et al*. Homology analysis of pathogenic *Yersinia* species *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis*, and *Yersinia pestis* based on multi locus sequence typing [J]. Journal of Clinical Microbiology, 2014, 52(4): 20–29.

(责任编辑: 安香玉 韩晓红)