

# 食品中小肠结肠炎耶尔森氏菌分离鉴定方法 研究进展

章志超<sup>1</sup>, 龙慧<sup>2</sup>, 吴鑫<sup>1\*</sup>, 刘德<sup>1</sup>

(1. 江西省食品检验检测研究院, 南昌 330001; 2. 南昌市疾病预防控制中心, 南昌 330038)

**摘要:** 小肠结肠炎耶尔森氏菌是一种具有嗜冷特性的食源性致病菌, 广泛存在于食品中, 对人们健康构成较大威胁。建立高效的分离鉴定技术对该菌进行监控是相关食品安全的重要保障。本文对小肠结肠炎耶尔森氏菌的分离过程, 包括分离前增菌、分离前碱处理和平板分离, 以及传统生化和血清型鉴定、分子生物学鉴定、免疫学鉴定和谱学鉴定方法等方面的研究进展进行了阐述。小肠结肠炎耶尔森氏菌的深入检测研究不仅有赖于现有分离鉴定方法的不断优化, 还需要开发更多新型检测技术应用于菌株溯源分析、流行病学和耐药性等方面的研究, 以期为该类菌株资源数据库的建立和整理, 预防相关耶尔森氏菌疾病的爆发提供良好的保障。

**关键词:** 小肠结肠炎耶尔森氏菌; 分离; 鉴定

## Advances on methods for isolation and identification of *Yersinia enterocolitica* in food

ZHANG Zhi-Chao<sup>1</sup>, LONG Hui<sup>2</sup>, WU Xin<sup>1\*</sup>, LIU De<sup>1</sup>

(1. Jiangxi Food Inspection Testing Institute, Nanchang 330001, China; 2. Nanchang Center for Disease Control and Prevention, Nanchang 330038, China)

**ABSTRACT:** *Yersinia enterocolitica* is a food-borne pathogen with psychrophilic properties. It is widely present in food and poses a greater threat to people's health. Therefore, the establishment of efficient isolation and identification technology to monitor the bacteria is an important guarantee for related food safety. This paper reviewed the isolation process of *Yersinia enterocolitica*, including pre-enrichment, pre-alkali treatment and plate separation, as well as the traditional biochemical and serotype identification, molecular biological identification, immunological identification and spectral identification methods. The further detection of *Yersinia enterocolitica* not only depends on the optimization of the existing isolation and identification methods, but also requires the development of more new detection techniques for the analysis of bacterial strain traceability, epidemiology and drug resistance, so as to provide a good guarantee for the establishment and collation of the resource database of this strain and the prevention of the outbreak of related yersinia disease.

**KEY WORDS:** *Yersinia enterocolitica*; isolation; identification

\*通讯作者: 吴鑫, 硕士, 副主任技师, 主要研究方向为食品卫生检验。E-mail: jxyjwx@163.com

\*Corresponding author: WU Xin, Master, Associate Chief Technician, Jiangxi Food Inspection Testing Institute Nanchang 330001, China. E-mail: jxyjwx@163.com

## 1 引言

小肠结肠炎耶尔森氏菌(*Yersinia enterocolitica*)属于肠杆菌科,是重要的食源性致病菌之一,可引起胃肠炎、小肠结肠炎等,甚至败血症等疾病<sup>[1]</sup>。在欧洲,耶尔森氏菌病已继沙门菌病和弯曲菌病之后,排在第 3 位的常见肠道疾病<sup>[2,3]</sup>,已成为流行最广泛的传染疾病之一<sup>[1,2]</sup>。*Yersinia enterocolitica* 主要通过污染食品或水源,经粪-口途径传播,进而给人们造成危害。猪是耶尔森氏菌属的主要载体,猪肉产品则是 *Yersinia enterocolitica* 感染人的最重要传播源之一<sup>[4]</sup>。据报道,牛肉、乳及其制品、水产品、禽肉、水果和蔬菜等食品以及水源中也常检出 *Yersinia enterocolitica*<sup>[2,5-9]</sup>。由于该菌具有嗜冷性,低污染水平的预包装猪肉产品 6 °C 贮藏 12 d 后,致病性 *Yersinia enterocolitica* 含量仍可达到 10<sup>4</sup> CFU/g<sup>[10]</sup>,甚至在反复冻融环境下仍然可较好生长<sup>[11]</sup>。这对冷链储运条件下的食品安全问题带来了巨大挑战。

食源性 *Yersinia enterocolitica* 的检测技术主要围绕着检测的准确性和高效性,排除杂菌干扰,菌株种属、生化血清型的鉴定,致病性与非致病性菌株的区分等问题进行研究。传统平板分离和生化鉴定、免疫学和分子生物学检测方法为该菌分离鉴定的主要手段。同时正常食品样品中的致病微生物含量往往较低,且存在较多杂菌的干扰,难以直接分离到目标菌,因此对该类微生物无论采用传统方法、分子生物学等方法进行分离鉴定前,常需要通过增菌培养、碱处理等方法处理。因此本文主要根据对食品中 *Yersinia enterocolitica* 的分离鉴定检测流程,结合该菌的生物学特点,从菌株的增菌培养、增菌后碱处理、选择性分离、传统生化和血清型鉴定、分子生物学鉴定、免疫学和谱学鉴定方法等方面的研究进展进行了综述。这为食品中小肠结肠炎耶尔森氏菌筛选及其检测方法的开发和改进提供思路,以期更好地保障相关的食品安全。

## 2 分离前增菌方法

*Yersinia enterocolitica* 采用的前增菌培养基多为非(弱)选择性的液体培养基,主要包括:磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)、加入胆盐、山梨醇或甘露醇改良的磷酸盐缓冲液(phosphate saline buffered, PSB)、胰蛋白胨大豆肉汤等<sup>[7,9-12]</sup>。

由于 *Yersinia enterocolitica* 具有嗜冷特性,较低的培养温度被认为更有利于其生长,因此常采用 PSB 冷增菌方法,如 4 °C,增菌 1~3 周或 10 °C,增菌 10 天等<sup>[1,9]</sup>。然而,冷增菌耗时长,制约了该方法的应用,而且越来越多的研究表明冷增菌并不是提高食源性 *Yersinia enterocolitica* 检出率的最优选择<sup>[1,3,9,13]</sup>。过长时间的冷增菌也可能导致一

些嗜冷菌,如蜂房哈夫尼菌等的复苏增殖,从而干扰目标菌的检出<sup>[14]</sup>。新修订的国际标准 ISO 10273:2017 采用 PSB 增菌培养条件为:25 °C,44 h±4 h,删除了 25 °C 条件下 PSB 静置培养 5 d 的方法<sup>[15]</sup>。相关研究报道也佐证了 ISO10273 这一改动的必要性<sup>[9,13]</sup>。我国食品安全标准 GB 4789.8-2016 采用的增菌培养条件与之类似,但使用的 PSB 培养基不含酪蛋白酶消化物<sup>[12]</sup>。胡惠娟等<sup>[6]</sup>指出:冷增菌适合 *Yersinia enterocolitica* 污染程度低的样品;但部分阳性菌在 26 °C 条件下则具有生长优势,2 种方法可配合使用。

为了提高目标菌的分离率,并缩短培养时间,一些选择性更强的增菌液或二次增菌方式也常被采用。*Yersinia enterocolitica* 选择性更强的增菌培养基主要包括:改良 Rappaport 肉汤(modified Rappaport broth, MRB)、氯苯酚-替卡西林-氯酸钾(irgagan-ticarcillin-potassium chlorate, ITC)肉汤、草酸-山梨醇-胆汁(bile oxalate sorbose, BOS)肉汤和改良亚硒酸盐培养基等<sup>[1,13,15-17]</sup>。选择性增菌多采用 22~25 °C,培养 2~3 d<sup>[13,15-17]</sup>。不同的选择性增菌肉汤各有特点,其中 BOS 肉汤适于生化血清型 1B/O:8 的 *Yersinia enterocolitica* 菌株的培养<sup>[16,18]</sup>;ITC 肉汤为国际标准 ISO 10273:2017 采用,更适合于生化血清型 4/O:3 的致病性菌株筛选<sup>[5,19]</sup>。单一的选择性增菌可能加大漏检等风险,而且对于不同的食品样品,不同增菌液的检出效果也有差异。Hallanvuo 等<sup>[20]</sup>为评价 ISO 10273:2017 应用效果,在检测鲜奶和肉馅时,使用 PSB 增菌目标菌的检出灵敏度更高,而检测生菜时,使用 ITC 肉汤检测效果会更好。因此这些选择性更强的增菌液多不单独用于检测,一般作为二次再增菌或与 PSB 培养基等非(弱)选择性的肉汤配合使用。

## 3 分离前碱处理方法

*Yersinia enterocolitica* 具有较强的碱耐受能力,在增菌后使用 0.25%或 0.5% KOH 溶液处理 10~30 s 后能够提高检出率<sup>[12,20,21]</sup>。Aulisio 等<sup>[22]</sup>在检测自然污染和人工污染的食品样品时,当使用碱处理后,耶尔森氏菌属的检出率提高了 4 倍。该方法常和一些弱选择性增菌液配合使用,主要是为了去除碱不耐受杂菌,提高选择性平板分离率。然而,该筛选方法并不具备良好的选择性,经处理后部分目标菌的数量也会减少或受损。根据实际检测经验,当样品中 *Yersinia enterocolitica* 污染量很低时,考虑到 PSB 等常用增菌液的营养并不够丰富,目标菌的增殖非常有限,碱处理可能导致假阴性结果。食品中该菌检验过程中,虽然国标仍考虑分离前进行碱处理为主,但一些权威的国际标准则认为碱处理和不做碱处理的样品均进行后续的分离检测,能更好保证结果的准确性<sup>[15]</sup>。

## 4 平板分离方法

*Yersinia enterocolitica* 主要依赖于固体选择性培养基,

进行平板分离。这些培养基为麦康凯(MacConkey, MAC)琼脂、沙门氏菌-志贺氏菌(含脱氧胆盐氯化钠)(*Salmonella Shigella doxocholate elcium chloride*, SSDC)琼脂、改良Y琼脂、头孢磺啉-氯苯酚-新生霉素(cefsulodin-irgasan-novobiocin, CIN)琼脂、CIN-1琼脂和显色培养基等<sup>[12,13,19]</sup>。MAC琼脂和SSDC琼脂为国内外不同标准检测方法所采用<sup>[16]</sup>,但选择性不强,当样品中菌群结构较复杂时,目标菌的选择区分度不够<sup>[19]</sup>;小肠结肠炎耶尔森氏菌在改良Y培养基上呈无色透明,不粘稠菌落,为我国食品安全标准GB 4789.8采用<sup>[12]</sup>。

CIN琼脂是分离*Yersinia enterocolitica*最好的选择性培养基之一<sup>[23]</sup>。研究表明,采用CIN平板直接培养法检测一些肉制品的检测中的小肠结肠炎耶尔森氏菌,其检出率不比增菌后再检测的方法低,还能够定量并缩短检测时间<sup>[21,24]</sup>。该培养基主要通过添加头孢菌素、新生霉素、二氯苯氧氯酚、去氧胆酸钠和结晶紫等选择性抑菌成分来实现分离目标菌的目的。检测时多采用26~30℃培养,因为培养温度过高容易造成质粒丢失及杂菌的生长<sup>[17]</sup>。目标菌在CIN平板上的菌落特征为:菌落较小(≤1mm)、光滑,深红色中心,周围具有无色透明圈(红色牛眼状菌落)<sup>[12,15]</sup>。由于*Yersinia enterocolitica*能够发酵培养基中甘露醇等,形成红色牛眼状的特殊菌落形态,CIN培养基较SSDC等培养基能够更好地分辨目标菌<sup>[23]</sup>。虽然CIN培养基的使用比较广泛,但该培养基仍有较多不足:(1)肠杆菌科的微生物,如柠檬酸杆菌属、气单胞菌属和克雷伯氏菌属等的菌种,能够在该培养基上生长,且菌落特征与目标菌相似,可能导致误判;(2)在杂菌干扰严重情况下,一些阳性菌可能表现为菌落较小,深红色牛眼特征消失等假阴性特征;(3)该培养基可能会抑制生化血清型3/O:3菌株生长;(4)该培养基不能区分致病株和非致病株<sup>[3,13,15,23]</sup>。Tan等<sup>[25]</sup>通过添加L-精氨酸、柠檬酸铁铵、硫代硫酸钠和DL-苯基苯胺酸等成分,改良了CIN培养基配方,能够有效地减少菌落形态类似的杂菌的干扰。我国在检测食品中的*Yersinia enterocolitica*时,采用的CIN-1培养基使用二苯醚代替CIN培养基中的二氯苯氧氯酚成分,具有类似的选择性<sup>[12]</sup>。

为了提高致病性*Yersinia enterocolitica*的分离率,一些显色培养基,如科玛嘉耶尔森菌显色培养基(chromagar *Yersinia*, CAY)、耶尔森菌显色培养基(*Yersinia chromogenic medium/agar*, YeCM/YECA)等培养基逐渐得到开发和应用<sup>[26-28]</sup>。*Yersinia enterocolitica*致病株在显色平板上表现为典型的颜色或菌落特征,以区别于非致病株和其它耶尔森氏菌。Fondrevez等<sup>[29]</sup>将猪扁桃体样品经ITC肉汤增菌后,从CIN平板上分离得到的*Yersinia enterocolitica*再接种到YeCM显色平板,可使筛选致病菌株的准确率达到97%,相对于传统的生化鉴定方法更加简便、省时。

## 5 传统的生化和血清型鉴定方法

耶尔森氏菌的基本生化反应特征为:过氧化氢酶阳性、氧化酶阴性、尿素酶阳性,发酵葡萄糖,大多数菌株不发酵乳糖等。通过以下生化反应:靛基质、V-P试验、柠檬酸盐、L-鸟氨酸、蔗糖、纤维二糖、L-鼠李糖、蜜二糖和山梨醇,可以进一步鉴别耶尔森氏菌属菌株的生化特征差异<sup>[19]</sup>。国标GB 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测定》中列出了*Yersinia enterocolitica*及其他5种耶尔森氏菌的主要生化反应特征,用于属内鉴定区别<sup>[12]</sup>。ISO10273:2017等国际标准通过类似的生化反应鉴定*Yersinia enterocolitica*,同时较国标还强调了致病性*Yersinia enterocolitica*的生化特征:例如尿素酶反应阳性、七叶苷和吡嗪酰胺酶反应阴性、且存在毒力质粒(pYV)和一些致病性*Yersinia enterocolitica*的山梨醇反应可能为阴性反应等<sup>[15]</sup>。目前基于传统生化鉴定原理开发的*Yersinia enterocolitica*商品化检验产品,如API 20E和VITEK鉴定系统等,集成了更全面的生化反应,较传统生化试剂应用更为便捷<sup>[3]</sup>。但该类商品化产品的鉴定结果受其自身菌株数据库的限制,不能保证在种水平上进行准确鉴定,例如运用API 20E试剂不能区分蔗糖反应阴性的*Yersinia enterocolitica*和克氏耶尔森氏菌<sup>[30]</sup>。

*Yersinia enterocolitica*具有遗传多样性,根据生化反应或O血清因子特点可分为多个生化型和血清型。Wauters等<sup>[31]</sup>总结了该菌生化型的主要鉴定反应为:脂肪酶、七叶苷、水杨苷、木糖、海藻糖、靛基质、硝酸盐还原、DNA酶、脯氨酸胺酶、β-D-葡萄糖苷酶和吡嗪酰胺酶反应等。基于上述反应的不同特征,*Yersinia enterocolitica*可分为6种生化型:1A、1B、2、3、4、5,其中生化型1A为潜在致病型,其它生化型均有致病性<sup>[31]</sup>。Tennant等<sup>[32]</sup>在研究中发现生化型为1A的*Yersinia enterocolitica*同样具有致病性。菌株1A/O:5,1A/O:6,30就常与肠道疾病有关<sup>[33]</sup>。目前,已发现的*Yersinia enterocolitica*血清型有70多种<sup>[25]</sup>,常见的血清型鉴定为:O:3、O:9、O:8、和O:5,27等<sup>[4,33,34]</sup>。传统血清型的鉴定是根据菌株脂多糖表面O抗原因子的不同,进行血清凝集试验获得,商品化的诊断血清套装已被使用广泛。在检验过程中,*Yersinia enterocolitica*与肠杆菌科的沙门菌、摩根氏菌等可能存在交叉反应情况,容易造成假阳性<sup>[16]</sup>。由于同种血清型菌株的致病性也有强弱之分,因此*Yersinia enterocolitica*的生化/血清型对了解该菌的生物病原特征具有重要作用<sup>[35]</sup>。

## 6 分子生物学鉴定方法

传统的*Yersinia enterocolitica*分离鉴定方法虽然被国内外众多检测方法标准所采用,且为获得目标菌株的主要途径,但需要较长时间的培养过程和繁琐的确认试验,因

此研究中也常常采用较为快速的分子生物学检测手段进行种属和病原学鉴定。近年来,分子生物学技术发展迅速,具体检测技术多种多样,相关应用情况总结如表 1。

分子生物学技术在检验食品中的 *Yersinia enterocolitica* 具有广泛应用。为了避免死亡目标菌的干扰,一般通过短暂的前增菌后,提取细菌基因组 DNA,采用普通聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)、巢式 PCR、多重 PCR、荧光 PCR、环介导等温扩增(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)、滚环扩增(rolling circle amplification, RCA)或基因芯片等方法对目标基因进行检测<sup>[1,5,34,36-41,43,44]</sup>。根据相关文献报道,除了细菌鉴定常用的 16S rRNA 基因,特异性更强的 *ompF* 基因、*foxA* 基因、*hreP* 基因、*ymoA* 基因、*tufA* 基因和 O 抗原基因簇等常作为 *Yersinia enterocolitica* 种属鉴定的目的基因<sup>[5,33,41,43,44]</sup>。此外多位点序列分析(multilocus sequences analysis, MLSA)和多位点序列分型(multilocus sequence typing, MLST)等方法,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和 *Yersinia enterocolitica* 血清型的鉴定,并表现出更好的种间区分效果<sup>[41,42]</sup>。

致病性 *Yersinia enterocolitica* 含有 *ail*、*ystA*、*ystB*、*yadA* 和 *virF* 等多个毒力基因,可以通过对毒力基因的检测来鉴定对应菌株是否具有致病潜力<sup>[33,45-47]</sup>。检测位于染色体上的黏附侵袭位点基因 *ail* 的方法广泛应用于鉴定食品中的 *Yersinia enterocolitica* 是否具有致病性,并被 ISO/TS 18867:2015 等标准所采用<sup>[48]</sup>,但需要注意的是少数生化型 1A 的非致病株也可能含有该基因<sup>[47]</sup>。*ystA* 和 *ystB* 是 *Yersinia enterocolitica* 的 2 个肠毒素基因,Peruzy 等<sup>[34]</sup>认为利用 *ystA* 基因鉴定 *Yersinia enterocolitica* 的准确率能够达到 99%。*ystB* 基因往往与其它毒力基因不共存,多发现于生化型 1A 的菌株中;*yadA* 和 *virF* 基因位于质粒上,在菌株保存或培养过程中由于质粒容易丢失而不易被检出<sup>[17]</sup>。考虑上述因素,研究中常常对多个毒力基因同时监测,以便更准确、全面评估相关菌株的致病性。

## 7 免疫学鉴定方法

基于免疫学的鉴定方法同样具有较高的灵敏度和特异性,已广泛应用于各类微生物检测。磁分离法能够在复杂的杂菌干扰情况下,特异性地结合目标菌,从而实现分离目标菌的目的。该方法已应用于检验肉类等食品中的 *Yersinia enterocolitica*<sup>[1]</sup>。免疫学方法还能实现对 *Yersinia enterocolitica* 生化或血清型进行鉴定, Luciani 等<sup>[33]</sup>以标准 ISO 10273:2003 为参比方法,利用酶联免疫技术(enzyme-linked immunosorbent Assay, ELISA)快速检测食品中 O: 8 血清型 *Yersinia enterocolitica*,方法的相对准确度、灵敏度和特异性均与参比方法 100%吻合。正因为上述优点,该类鉴定方法被用于其它技术相结合,开发出诸如胶体金免疫层析方法等便捷、灵敏的检测方法,并越来越多地应用于现场微生物快速检测。一些标准已将胶体金免疫层析法作为小肠结肠炎耶尔森氏菌快速初筛的方法之一<sup>[48]</sup>。

## 8 谱学鉴定方法

傅里叶变换红外光谱(Fourier transform infrared spectroscopy, FT-IR)技术和基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF-MS)技术在 *Yersinia enterocolitica* 的鉴定方面也有应用。FT-IR 技术主要是基于对菌株的总化学成分分析进行菌株鉴定。Kuhm 等<sup>[49]</sup>通过 FT-IR 结合人工神经网络分析技术鉴定致病性 *Yersinia enterocolitica* 的准确度达到 98.5%,优于 API 20E 鉴定方法。MALDI-TOF-MS 技术则是通过对菌株的特异蛋白图谱分析实现菌株在种水平,甚至生化型的鉴定,检测耗时少于 5 min<sup>[32]</sup>。然而,这些技术的鉴定准确性受限于数据库的建设水平,因此应结合必要的确认试验以确保鉴定的准确性<sup>[50]</sup>。

表 1 分子生物学方法鉴定食品中 *Yersinia enterocolitica* 的应用举例

Table 1 Examples of the application of immunological or molecular biological methods to identify *Yersinia enterocolitica* in food

研究方法	研究对象	目标基因	鉴定菌株	参考文献
普通 PCR	猪肉	<i>ail</i> 、 <i>foxA</i>	种水平	[36]
多重 PCR	肉制品	<i>tufA</i> 、 <i>rfbC</i>	血清型 O:3	[37]
荧光 PCR	猪扁桃腺等	<i>yadA</i> 、 <i>virF</i> 、 <i>inv</i> 、 <i>ystA</i> 、 <i>ystB</i> 、 <i>myfA</i> 、 <i>hreP</i> 和 <i>ymoA</i>	致病性菌株	[34]
巢式 PCR	肉制品	<i>yadA</i>	致病性菌株	[1]
LAMP	鸡肉	<i>ail</i>	种水平	[38]
RCA	各类食品	16S rRNA 基因	种水平	[39]
基因芯片技术	巴氏灭菌乳	<i>virF</i> 、 <i>ail</i> 、 <i>yst</i> 和 <i>blaA</i>	种水平	[40]
MLSA	生菜、乳品等	<i>glnA</i> 、 <i>gyrB</i> 、 <i>HSP60</i> 和 <i>recA</i>	生化型 1A	[41]
MLST	出口食品	<i>aarF</i> 、 <i>dfp</i> 、 <i>galR</i> 、 <i>glnS</i> 、 <i>hemA</i> 、 <i>speA</i> 和 <i>rfaE</i>	种水平	[42]

## 9 总结与展望

较多杂菌干扰是分离食品中 *Yersinia enterocolitica* 的主要难点之一。常用的冷增菌方式往往不能够满足检验时效的要求,尤其在食源性疾病爆发的时候。越来越多的标准方法删除了该增菌方式,采用 26 °C 或 30 °C 增菌 2~3 d 和分子免疫学方法相结合进行检测<sup>[12,15,48]</sup>。同时,遗传多样性是该菌的重要特点,因此一些国际标准具有明确的菌株的生化 and 血清型鉴定方法,侧重于菌株的病原性检测。这一点是我国食品安全标准方法所欠缺的。基于上述检测难点, *Yersinia enterocolitica* 的高效、准确检测研究需要不断优化分离鉴定方法,例如新型显色或者荧光培养基、生物传感器技术、流式细胞技术和核酸测序技术等均有较大开发潜力。同时基于上述技术开发的现场快速检测方法同样是时代发展的需要。此外,借助高通量测序等分子生物学手段对不同来源的菌株分子分型,进行溯源分析,做好该类菌株资源数据库的建立和整理工作也十分有必要。这些工作能够为相关的食品安全风险监测与溯源,预防耶尔森疾病的爆发提供良好的保证。

### 参考文献

- [1] Estrada CSML, Velázquez LDC, Favier GI, *et al.* Detection of *Yersinia* spp. in meat products by enrichment culture, immunomagnetic separation and nested PCR [J]. Food Microbiol, 2012, 30(1): 157–163.
- [2] Liang J, Duan R, Xia S, *et al.* Ecology and geographic distribution of *Yersinia enterocolitica* among livestock and wildlife in China [J]. Vet Microbiol, 2015, 178(1–2): 125–131.
- [3] Tan LK, Ooi PT, Thong KL. Prevalence of *Yersinia enterocolitica* from food and pigs in selected states of Malaysia [J]. Food Control, 2014, 35(1): 94–100.
- [4] 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.
- [5] Verbikova V, Borilova G, Babak V, *et al.* Prevalence, characterization and antimicrobial susceptibility of *Yersinia enterocolitica* and other *Yersinia* species found in fruits and vegetables from the European Union [J]. Food Control, 2018, 85: 161–167.
- [6] 胡惠娟, 吴清平, 张菊梅, 等. 食品中小肠结肠炎耶尔森氏菌污染调查和 ERIC-PCR 分型研究[J]. 现代食品科技, 2014, (6): 294–300.  
Hu HJ, Wu QP, Zhang JM, *et al.* The contamination investigation and ERIC-PCR Typing of *Yersinia enterocolitica* in foods [J]. Mod Food Sci Technol, 2014, (6): 294–300.
- [7] Bonardi S, Paris A, Bassi L, *et al.* Detection, semiquantitative enumeration, and antimicrobial susceptibility of *Yersinia enterocolitica* in pork and chicken meats in Italy [J]. J Food Prot, 2010, 73(10): 1785–1792.
- [8] 赵静, 王利, 邱翔, 等. 江黄鲤鱼小肠结肠炎耶尔森氏菌的主要生物学特性研究[J]. 西南民族大学学报(自然科学版), 2013, 39(1): 12–16.  
Zhao J, Wang L, Qiu X, *et al.* The main biological characteristics of *Yersinia enterocolitica* from *Pelteobagrus fulvidraco* [J]. J Southwest Univ Nat (Nat Sci Ed), 2013, 39(1): 12–16.
- [9] Bonardi S, Guern ASL, Savin C, *et al.* Detection, virulence and antimicrobial resistance of *Yersinia enterocolitica* in bulk tank milk in Italy [J]. Int Dairy J, 2018, 84: 46–53.
- [10] Fredrikssonahomaa M. Isolation of enteropathogenic *Yersinia* from non-human sources [J]. Adv Exp Med Biol, 2012, 954: 97–105.
- [11] GB/T 4789.8-2003 食品卫生微生物学检验 小肠结肠炎耶尔森氏菌检验[S].  
GB/T 4789.8-2003 Food hygiene microbiological test-*Yersinia enterocolitica* test [S].
- [12] GB 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测定[S].  
GB 4789.8-2016 National food safety standard-Food microbiology test-*Yersinia enterocolitica* [S].
- [13] Van DI, Berkvens D, Botteldoorn N, *et al.* Evaluation of the ISO 10273: 2003 method for the isolation of human pathogenic *Yersinia enterocolitica* from pig carcasses and minced meat [J]. Food Microbiol, 2013, 36(2): 170–175.
- [14] Fukushima H, Gomyoda M. Inhibition of *Yersinia enterocolitica* serotype O:3 by natural microflora of pork [J]. Appl Environ Microbiol, 1986, 51(5): 990–994.
- [15] ISO 10273: 2017. Microbiology of food and animal feeding stuffs—horizontal method for the detection of presumptive pathogenic *Yersinia enterocolitica* [S].
- [16] Petsios S, Fredriksson AM, Sakkas H, *et al.* Conventional and molecular methods used in the detection and subtyping of *Yersinia enterocolitica* in food [J]. Int J Food Microbiol, 2016, 237: 55–72.
- [17] SN/T 0174-2011 出口食品小肠结肠炎耶尔森氏菌检验方法[S].  
SN/T 0174-2011 Method for the detection of *Yersinia enterocolitica* in export foods [S].
- [18] Martínez PO, Fredrikssonahomaa M, Pallotti A, *et al.* Variation in the prevalence of enteropathogenic *Yersinia* in slaughter pigs from Belgium, Italy, and Spain [J]. Foodborne Pathog Dis, 2011, 8(3): 445–450.
- [19] EFSA. Monitoring and identification of human enteropathogenic *Yersinia* spp.—scientific opinion of the panel on biological hazards [J]. EFSA J, 2007, 5(12): 1–30.
- [20] Hallanvuo S, Herranen M, Jaakkonen A, *et al.* Validation of EN ISO method 10273-detection of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in foods [J]. Int J Food Microbiol, 2019, 288: 66–74.
- [21] Bonardi S, Alpigiani I, Pongolini S, *et al.* Detection, enumeration and characterization of *Yersinia enterocolitica* 4/O:3 in pig tonsils at slaughter in northern Italy [J]. Int J Food Microbiol, 2014, 177: 9–15.
- [22] Aulisio CCG, Mehlman JJ, Sanders AC. Alkali method for rapid recovery

- of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* from foods [J]. Appl Environ Microbiol, 1980, 39(1): 135–140.
- [23] Fredriksson-Ahomaa M, Joutsen S, Laukkanen-Ninios R. Identification of *Yersinia* at the species and subspecies levels is challenging [J]. Curr Clin Microbiol R, 2018, 5(2): 135–142.
- [24] Van-Damme I, Habib I, De-Zutter L. *Yersinia enterocolitica* in slaughter pig tonsils: Enumeration and detection by enrichment versus direct plating culture [J]. Food Microbiol, 2010, 27(1): 158–161.
- [25] Tan LK, Ooi PT, Carniel E, et al. Evaluation of a modified cefsulodin-irgasan-novobiocin agar for isolation of *Yersinia* spp. [J]. PLoS One, 2014, 9(8): e106329.
- [26] Renaud N, Lecci L, Courcol RJ, et al. CHROMagar *Yersinia*, a new chromogenic agar for screening of potentially pathogenic *Yersinia enterocolitica* isolates in stools [J]. J Clin Microbiol, 2013, 51(4): 1184–1187.
- [27] Denis M, Houard E, Labbé A, et al. A selective chromogenic plate, YECA, for the detection of pathogenic *Yersinia enterocolitica*: Specificity, sensitivity, and capacity to detect pathogenic *Y. enterocolitica* from pig tonsils [J]. J Pathogen, 2011, 2011: 1–8.
- [28] Weagant SD. A new chromogenic agar medium for detection of potentially virulent *Yersinia enterocolitica* [J]. J Microbiol Methods, 2008, 72(2): 185–190.
- [29] Fondrevez M, Labbé A, Houard E, et al. A simplified method for detecting pathogenic *Yersinia enterocolitica* in slaughtered pig tonsils [J]. J Microbiol Methods, 2010, 83(2): 244–249.
- [30] Joutsen S, Laukkanen-Ninios R, Henttonen H, et al. *Yersinia* spp. in wild rodents and shrews in Finland [J]. Vector Borne Zoonot Dis, 2017, 17(5): 303–311.
- [31] Wauters G, Kandolo K, Janssens M. Revised biogrouping scheme of *Yersinia enterocolitica* [J]. Contrib Microbiol Immunol, 1987, 9(9): 14–21.
- [32] Tennant SM, Grant TH, Robins-Browne RM. Pathogenicity of *Yersinia enterocolitica* biotype 1A [J]. FEMS Immunol Med Microbiol, 2003, 38(2): 127–137.
- [33] Luciani M, Schirone M, Portanti O, et al. Development of a rapid method for the detection of *Yersinia enterocolitica* serotype O:8 from food [J]. Food Microbiol, 2018, 73: 85–92.
- [34] Peruzzy MF, Murru N, Perugini AG, et al. Evaluation of virulence genes in *Yersinia enterocolitica* strains using SYBR green real-time PCR [J]. Food Microbiol, 2017, 65: 231–235.
- [35] 吴清平, 胡惠娟, 张菊梅. 食源性小肠结肠炎耶尔森氏菌生物学特性和分子分型研究进展[J]. 食品科学技术学报, 2014, 32(4): 1–7.
- Wu QP, Hu HJ, Zhang JM. Advances in biological characteristics and molecular typing of *Yersinia enterocolitica* foodborne [J]. J Food Sci Technol, 2014, 32(4): 1–7.
- [36] 肖玉春, 李可维, 梁俊容, 等. 聚合酶链反应法和分离培养法筛选小肠结肠炎耶尔森菌方法的比较研究[J]. 疾病监测, 2013, 28(6): 456–458.
- Xiao YC, Li KW, Liang JR, et al. A comparative study of methods for screening *Yersinia enterocolitica* by polymerase chain reaction and isolation culture [J]. Dis Surveill, 2013, 28(6): 456–458.
- [37] Rusak LA, De-Castro LPR, Freitag IG, et al. Rapid detection of *Yersinia enterocolitica* serotype O:3 using a duplex PCR assay [J]. J Microbiol Methods, 2018, 154: 107–111.
- [38] 张蕴哲, 杨倩, 马晓燕, 等. RF-LAMP 技术检测鸡肉中小肠结肠炎耶尔森氏菌[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(4): 133–138.
- Zhang YZ, Yang Q, Ma XY, et al. RF-LAMP technique for detection of *Yersinia enterocolitica* in chicken [J]. Food Res Dev, 2018, 39(4): 133–138.
- [39] 姜英辉, 张健, 雷质文, 等. 小肠结肠炎耶尔森氏菌滚环扩增检测方法的建立[J]. 食品研究与开发, 2013, 34(22): 61–63.
- Jiang YH, Zhang J, Lei ZW, et al. Establishment of rolling ring amplification detection method for *Yersinia enterocolitica* [J]. Food Res Dev, 2013, 34(22): 61–63.
- [40] Myers KM, Gaba J, Al-Khaldi SF. Molecular identification of *Yersinia enterocolitica* isolated from pasteurized whole milk using DNA microarray chip hybridization [J]. Molec Cell Probes, 2006, 20(2): 71–80.
- [41] Murros A, Sade E, Johansson P, et al. Characterization of European *Yersinia enterocolitica* 1A strains using restriction fragment length polymorphism and multilocus sequence analysis [J]. Lett Appl Microbiol, 2016, 63(4): 282–288.
- [42] SN/T 4525.10-2016 出口食品中致病菌的分子分型 MLST 方法 第 10 部分: 小肠结肠炎耶尔森氏菌[S].
- SN/T 4525.10-2016 Molecular typing of pathogenic bacteria in food for export Part 10: *Yersinia enterocolitica* [S].
- [43] 郑东宇, 沈赟, 秦思, 等. 环介导恒温扩增检测小肠结肠炎耶尔森菌[J]. 江苏预防医学, 2017, 28(2): 133–136.
- Zheng DY, Shen Y, Qin S, et al. Detection of *Yersinia enterocolitica* by loop-mediated isothermal amplification [J]. Jiangsu Prev Med, 2017, 28(2): 133–136.
- [44] 冯育芳, 邢进, 岳秉飞, 等. 小肠结肠炎耶尔森氏菌、假结核耶尔森氏菌、志贺氏菌和空肠弯曲菌多重 PCR 方法的建立[J]. 实验动物科学, 2016, 33(1): 1–6.
- Feng YF, Xing J, Yue BF, et al. Establishment of multiplex PCR methods for *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Shigella* and *Campylobacter jejuni* [J]. Lab Anim Sci, 2016, 33(1): 1–6.
- [45] Garzetti D, Susen R, Fruth A, et al. A molecular scheme for *Yersinia enterocolitica* patho-serotyping derived from genome-wide analysis [J]. Int J Med Microbiol, 2014, 304(3–4): 275–283.
- [46] ISO/TS 18867: 2015. Microbiology of the food chain—Polymerase chain reaction (PCR) for the detection of food-borne pathogens—Detection of pathogenic *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* [S].
- [47] Sihvonen LM, Hallanvuori S, Haukka K, et al. The ail gene is present in some *Yersinia enterocolitica* biotype 1A strains [J]. Foodborne Pathog Dis, 2011, 8(3): 455–457.

- [48] 中华预防医学会. 耶尔森菌诊断(T/CPMA 005-2019)[J]. 流行病学杂志, 2019, 40(9): 1035-1043.  
Chinese Preventive Medicine Association. *Yersinia* diagnosis (T/CPMA 005-2019) [J]. *Chin J Epidemiol*, 2019, 40(9): 1035-1043.
- [49] Kuhm AE, Suter D, Felleisen R, *et al.* Identification of *Yersinia enterocolitica* at the species and subspecies levels by fourier transform infrared spectroscopy [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2009, 75(18): 5809-5813.
- [50] Stephan R, Cernela N, Ziegler D, *et al.* Rapid species specific identification and subtyping of *Yersinia enterocolitica* by MALDI-TOF mass spectrometry [J]. *J Microbiol Methods*, 2011, 87(2): 150-153.

(责任编辑: 韩晓红)

### 作者简介



章志超, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。

E-mail: zhgio2008@126.com



吴鑫, 硕士, 副主任技师, 主要研究方向为食品卫生检验。

E-mail: jxyjwx@163.com

## “茶学研究”专题征稿函

茶叶源于中国, 与咖啡、可可并称为世界三大饮料。茶叶可鲜食, 也可以加工精制备用, 具有降压、提神等多种保健功能, 且含有多种有机化学成分和无机矿物元素。国内外对茶叶市场需求稳定增长, 我国的茶产业增长潜力巨大, 茶已成为社会生活中不可缺少的健康饮品和精神饮品。

鉴于此, 本刊特别策划了“茶学研究”专题, 由肖文军教授担任专题主编主要围绕茶叶的贮藏保鲜、精深加工、品质评价、生物化学和功能性成分、香气成分分析、污染物分析检测、茶树生长代谢、茶叶资源的质量标准化等方面展开论述和研究, 综述及研究论文均可。

鉴于您在该领域丰富的研究经历和突出的学术造诣, 本刊主编吴永宁研究员、专题主编肖文军教授及编辑部全体成员特别邀请您为本专题撰写稿件, 综述、研究论文、研究简报均可, 以期进一步提升该专题的学术质量和影响力。

本专题计划在 2020 年 6 月出版, 请在 2020 年 4 月 15 日前通过网站或 E-mail 投稿。我们将快速处理并经审稿合格后优先发表。

希望您能够通过各种途径宣传此专题, 并积极为本专题推荐稿件和约稿对象。

同时, 希望您能够推荐该领域的相关专家并提供电话和 E-mail。

感谢您的参与和支持!

投稿方式:

网站: [www.chinafoodj.com](http://www.chinafoodj.com)(注明茶学研究专题)

E-mail: [jfoodsq@126.com](mailto:jfoodsq@126.com)(注明茶学研究专题)

《食品安全质量检测学报》编辑部