

## 研究报告

基于全基因组测序技术的食品分离致泻大肠埃希菌的  
分子特征及耐药性研究

陈雯杰, 於颖, 方沁昕, 顾其芳, 朱彦祺, 毕菁, 张红芝

(上海市疾病预防控制中心, 上海 200336)

**摘要:** **目的** 了解上海市肉品和水产品中分离致泻大肠埃希菌(DEC)的生物学特征及耐药性,为防控由该菌引起的食源性疾病提供科学依据。**方法** 对食品分离 DEC 菌株进行全基因组测序及药物敏感性试验,利用 BioNumerics 软件对全基因组测序数据进行拼接,利用拼接序列开展多位点序列分型、毒力基因和耐药基因分析。**结果** 本研究中 56 株 DEC 菌株中肠道聚集性大肠埃希菌(EAEC)占比最高,达 73.2%,且以 *astA* 基因为主(90.2%)。56 株 DEC 分为 37 个 ST 型,显示高度多样性。DEC 菌株对喹诺酮类抗生素耐药性较高(64.3%),其次是对氨基糖苷类、 $\beta$ -内酰胺类抗生素和四环素类抗生素耐药,且多重耐药性菌株占 48.2%,耐药基因相应的以喹诺酮类、氨基糖苷类、 $\beta$ -内酰胺类抗生素耐药基因为主,且大多数对抗生素耐药的菌株均携带其相应的耐药基因。**结论** EAEC 是上海市食品中分离 DEC 菌株的主要型别,对喹诺酮类、 $\beta$ -内酰胺类、氨基糖苷类抗生素的耐药率较高,且携带相应的耐药基因,全基因组测序技术可应用于 DEC 的分子生物学监测中,为疾病预防控制提供科学依据。

**关键词:** 致泻大肠埃希菌; 聚集性大肠埃希菌; 肠道致病性大肠埃希菌; 抗生素耐药; 耐药基因

**中图分类号:** R155 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-8456(2023)11-1559-06

**DOI:** 10.13590/j.cjfh.2023.11.002

**Molecular characteristics and antibiotic resistance of *Escherichia coli* from foods based on whole genome sequencing**

CHEN Wenjie, YU Ying, FANG Zhixin, GU Qifang, ZHU Yanqi, BI Jing, ZHANG Hongzhi

(Shanghai Municipal Center for Disease Control &amp; Prevention, Shanghai 200336, China)

**Abstract: Objective** This study aimed to analyze the molecular characteristics and antibiotic resistance of diarrheagenic *Escherichia coli* (DEC) from meat and aquatic products in Shanghai City. **Methods** The DEC isolates were characterized by applying antibiotic tests and whole genome sequencing (WGS). The BioNumerics software was used to analyze and assemble WGS data. Then, multilocus sequence typing sequencing, virulence profiles, and antibiotic-resistant genes were analyzed adopting assembled genome sequences. The antimicrobial susceptibility was investigated. **Results** In this study, most DEC isolates were EAEC (73.2%), and most of the EAEC isolates carried only the *astA* gene (90.2%). All 56 DEC isolates have been typed as 37 STs. The resistance rate to NAL was higher (64.3%), followed by aminoglycoside, beta-lactam, and tetracycline. The multi-drug resistant DEC isolates were 48.2% resistant; furthermore, the resistance genes were detected in these DEC isolates. **Conclusion** EAEC isolates are dominant DEC isolates from foods in Shanghai City. Furthermore, these DEC isolates exhibited a higher resistance rate, compared with the corresponding resistance genes. These results suggest that molecular surveillance should be enhanced. Moreover, fundamental data can be obtained by employing the WGS for tracing DEC isolates and analyzing pathogenicity.

**Key words:** Diarrheagenic *E. coli*; enteroaggregative *E. coli*; enteropathogenic *E. coli*; antibiotic resistance; resistant genes

收稿日期:2022-06-28

基金项目:上海市公共卫生体系建设三年行动计划(GWV-2)

作者简介:陈雯杰 女 主管技师 研究方向为食源性病原菌检测  
与食品安全 E-mail:chenwenjie@scdc.sh.cn

通信作者:张红芝 女 主任技师 研究方向为食源性病原菌溯源  
与耐药 E-mail:zhanghongzhi@scdc.sh.cn

致泻大肠埃希氏菌(Diarrheagenic *Escherichia coli*, DEC)是我国食源性疾病主要病原体之一,是一类引起人体腹泻为主的大肠埃希菌,可通过污染食物引起人类发病<sup>[1]</sup>,严重时可导致严重并发症<sup>[2]</sup>。由于 DEC 具有多样化的储存和传播途径,其污染的

食品也各式各样,包括畜、禽、乳、果、蔬等制品<sup>[3]</sup>。我国食源性疾病暴发监测显示:2020—2021年期间全国共报告由DEC引起的食源性疾病暴发事件100余起,发病人数2000余人,其中肉类食品是引起的疾病暴发的主要因素。

根据DEC的流行病学特征、发病机制及临床特征等,可分为肠致病性大肠埃希菌(*Enteropathogenic E. coli*, EPEC)、肠产毒性大肠埃希菌(*Enterotoxigenic E. coli*, ETEC)、肠侵袭性大肠埃希菌(*Enteroinvasive E. coli*, EIEC)、肠出血性大肠埃希菌(*Enterohemorrhagic E. coli*, EHEC)和肠聚集性大肠埃希菌(*Enteraggative E. coli*, EAEC)以及弥散黏附性大肠埃希菌(*Diffuse adherent E. coli*, DAEC)<sup>[4]</sup>,由于不同的地区、不同的食品类型及季节流行特征因素,DEC的主要流行型别差异较大。基于此,本研究拟利用全基因组测序技术对上海市2019—2021年监测的肉制品和水产品中分离的DEC菌株进行分子生物学分析,将全基因组测序技术应用于食品安全风险监测中,利用生物信息学对全基因组测序数据进行多位点序列分型(Multi locus sequence typing, MLST)、毒力基因及耐药基因的分析,为进行DEC的风险评估和疾病预防提供科学数据。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌株来源

根据《国家食品污染物和有害风险监测工作手册》<sup>[5-7]</sup>,2019—2021年期间采集上海市羊肉、牛肉、猪肉、鸡肉、鸭肉、鹅肉、鸽肉及其制品、水产品,检测DEC方法依据《食品安全国家标准 食品微生物学检验 致泻大肠埃希氏菌检验》(GB4789.6—2016)<sup>[8]</sup>。标准菌株(*E. coli* ATCC 25922)由本实验室保存。

### 1.2 主要仪器与试剂

Illumina Hisexen PE150 测序仪(美国 Illumina 公司)。

细菌全基因组提取试剂盒(TaKaRa, 宝生物工程(中国)有限公司)。药敏板:共15种抗生素:四环素(Tetracycline, TET)、环丙沙星(Ciprofloxacin, CIP)、庆大霉素(Gentamicin, GEN)、氨苄西林/舒巴坦(Ampicillin/sulbactam, AMS)、头孢噻肟(Cefotaxime, CTX)、头孢他啶(Ceftazidime, CAZ)、头孢吡肟(Cefepime, FEP)、头孢曲松(Ceftriaxone, CRO)、亚胺培南(Imipenem, IMP)、左氧氟沙星(Levofloxacin, LEV)、复方新诺明(Sulfamethoxazole/Trimethoprim, SXT)、阿米卡星(AMK)、多黏菌素E(Colistin sulphate, CT)、多黏菌素B(Polymyxin B, PB)、萘啶酸(Nalidixic acid, NAL)(珠海美华医疗科技有限

公司)。

### 1.3 药敏实验

采用微量肉汤稀释法进行药敏实验,采用革兰氏阴性药敏板检测,依据说明书的检测原理及操作步骤完成:每种抗生素都设有一系列梯度稀释的浓度,通过加入待检DEC肉汤培养液稀释的菌悬液,经18~20h孵育后,用肉眼对药敏板条进行判读,分析其最低抑菌浓度值,并参考美国临床实验室标准化委员会的标准获得相应敏感(S)、中介(I)和耐药(R)结果。共检测15种抗生素,分别是四环素(2~8 μg/mL)、环丙沙星(0.5~2 μg/mL)、复方新诺明(0.5/9.5~2/38 μg/mL)、庆大霉素(2~8 μg/mL)、氨苄西林/舒巴坦(4/2~16/8 μg/mL)、头孢噻肟(1~32 μg/mL)、头孢他啶(1~16 μg/mL)、头孢吡肟(2~16 μg/mL)、头孢曲松(4~16 μg/mL)、亚胺培南(1~8 μg/mL)、左氧氟沙星(1~8 μg/mL)、复方新诺明(0.5/9.5~2/38 μg/mL)、阿米卡星(8~32 μg/mL)、多黏菌素E(0.5~2 μg/mL)、多黏菌素B(0.5~2 μg/mL)、萘啶酸(0.12~128 μg/mL)。

### 1.4 全基因组测序

取适量新鲜菌液,用细菌全基因组提取试剂盒提取DNA。全基因组测序由生工生物工程公司完成,采用Illumina Hisexen PE150测序仪进行全基因组分析。测序程序:先将样本DNA随机打断,构建350bp小片段文库,然后分别进行平行测序,最终获数据量Clean data 100×。数据处理:测序获得原始数据,进行质控,将合格的数据Clean data导入BioNumerics 7.6软件进行序列拼接。

### 1.5 MLST分析

MLST分型参考大肠杆菌分型的管家基因,*adh*、*fumC*、*gyrB*、*icd*、*mdh*、*purA*和*recA*<sup>[9]</sup>,利用BioNumerics软件,从上述拼接好的序列中提取相应的管家基因,然后应用BN软件的功能模块分配ST型。

### 1.6 毒力基因、耐药基因分析

经BioNumerics软件拼接后的序列,通过序列比对分析获得毒力基因和耐药基因谱。参考官网:Virulence Factor Database(VFDB)(MOH Key Laboratory of Systems Biology of Pathogen, Institute of Pathogen Biology, Beijing, China)(<http://www.mgc.ac.cn>)和CARD(<https://card.mcmaster.ca/>)。

## 2 结果

### 2.1 DEC菌株来源特点

本研究中收集的DEC主要来自禽肉(37.5%, 21/56),水产品(28.6%, 16/56),其次是羊肉(17.9%, 10/56)、猪肉(14.3%, 8/56)和牛肉

(1.8%, 1/56)。禽肉包括鸡肉(19.6%, 11/56)、鸭肉(5.4%, 3/56)、鸽肉(9.0%, 5/56)和鹅肉(3.6%, 2/56)(表 1)。这些肉和肉制品包括新鲜冷却、冷冻和熟制 3 种储存状态,由于数量的限制,不同样品以及不同的储存状态的样品之间差异均无统计学意义。

表 1 56 株 DEC 菌株分离自食品种类及比例

Table 1 The food source and proportion of 56 DEC isolates

样品种类/数量	样品储存状态	DEC 菌株占比/%	
猪肉/8	冷却	14.3(8/56)	
牛肉/1	熟制	1.8(1/56)	
羊肉/10	冷却	12.5(7/56)	
	鲜	5.4(3/56)	
水产品/16	冷却	14.3(8/56)	
	鲜	14.3(8/56)	
禽肉/21	鸡肉/11	鲜	10.7(6/56)
		冻	5.4(3/56)
	鸭肉/3	冷却	1.8(1/56)
		冻	3.57(2/56)
	鸽肉/5	鲜	1.8(1/56)
		冻	1.8(1/56)
	鹅肉/2	冷却	1.8(1/56)
		鲜	5.4(3/56)
	鲜	3.6(2/56)	

2.2 全基因组测序结果

本研究对 56 株 DEC 菌株全基因组测序的原始数据经过分析,满足以下条件:平均测序读长为 200~300 bp,原始数据量≥1.5 G,且 Q20 高质量数据量平均为 1.2 G(Clean data≥1 G);基因组整体覆盖深度≥100 X;剪辑数据质量 Q20≥95%,Q30≥85%,SCAFFOLD 数量<100 个,Contig 数量<200 个,单碱基错误率低于十万分之一。

2.3 DEC 菌株型别特点

根据其携带的毒力基因特点,56 株 DEC 菌株共分为 3 种,其中 EAEC 菌株 41 株(73.2%),其中 37 株携带 *astA* 基因,4 株携带 *pic* 基因;EPEC 菌株 14 株(25%),携带 *escV/aeae* 基因,EHEC 菌株 1 株,携带 *stx2* 基因。其中来自猪肉、鸡肉、鸽肉、羊肉和水产品的 DEC 分别为 EAEC 和 EPEC 型,分离自鸭肉和牛肉的 DEC 均为 EAEC 型。分离自鹅肉的两株 DEC 分别为 EAEC 和 EHEC 型。分离自熟食(牛肉)的 DEC 为携带 *astA* 的 EAEC 型(表 2)。

表 2 56 株 DEC 菌株中携带毒力基因及型别特点

Table 2 Virulence genes and characteristics of 56 DEC isolates

样品种类/数量	EAEC ( <i>astA</i> )/数量	EAEC ( <i>pic</i> )/数量	EPEC( <i>escV/aeae</i> )/数量	EHEC( <i>stx2</i> )/数量
猪肉/8	2	ND	6	ND
鸡肉/11	9	1	1	ND
鸭肉/3	3	ND	ND	ND
鸽肉/5	3	1	1	ND
鹅肉/2	1	ND	ND	1
牛肉/1	1	ND	ND	ND
羊肉/10	6	1	3	ND
水产品/16	12	1	3	ND
合计	37	4	14	1

注:ND 表示没有检出

2.4 56 株 DEC 菌株 ST 型

图 1 显示 56 株 DEC 的 ST 型呈高度多样性。其中 51 株 DEC 可以分型,共分为 37 个型。ST642 和 ST5415 来自猪肉和羊肉分离株;ST224 来自鸭肉和水产品分离株;ST162 来自鹅肉和鸡肉分离株;ST58 来自猪肉和水产品分离株;不能分型的 5 株菌

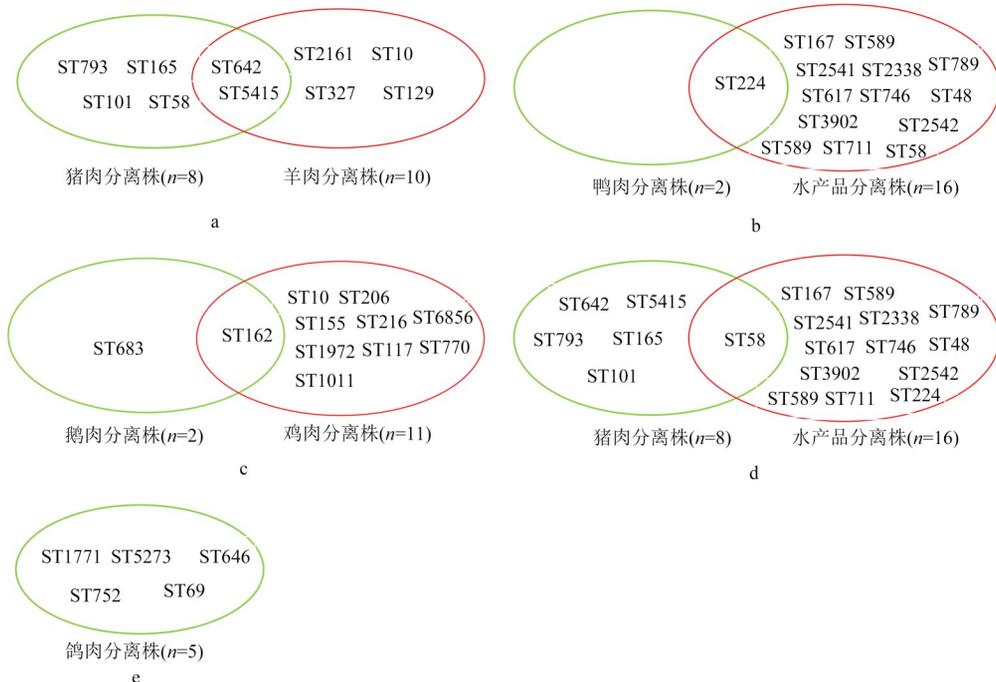


图 1 56 株 DEC 菌株 ST 型

Figure 1 STs of 56 DEC isolates

分别来自鸭肉(1株)、牛肉(1株)、羊肉(2株)和鱼(1株)分离株。

2.5 56株DEC的耐药性及耐药基因特点

图2显示56株DEC对萘啶酸、四环素、复方新诺明、环丙沙星和左氧氟沙星的耐药率最高(64.3%、48.2%、48.2%、42.9%、41.1%),对庆大霉素(28.6%)、头孢噻肟(23.2%)、头孢曲松(23.2%)、氨苄西林/舒巴坦(17.9%)也显示较高的耐药性。对阿米卡星(7.1%)、头孢他啶(5.4%)、头孢吡肟(5.4%)、多黏菌素E(3.6%)和多黏菌素B(1.8%)显示较低的耐药性。所有DEC对亚胺培南均显示敏感性。

耐药基因分析显示56株DEC携带的耐药基因种类较多,共对10种抗生素产生耐药性的79种耐药基因,其中对β-内酰胺类和氨基糖苷类抗生素产生抗性的耐药基因种类最多,分别为26种和18种。见表3。

根据耐药机制,对β内酰胺类抗生素耐药基因主要包括两大类,一类是产超广谱β内酰胺酶

(ESBLs)基因 *bla*<sub>TEM</sub>(19种)、*bla*<sub>OXA</sub>(2种)、*bla*<sub>CTX-M</sub>(1种)、*bla*<sub>LEN</sub>(2种)、*bla*<sub>SFO</sub>(1种)、*bla*<sub>DHA</sub>(1种)。氨基糖苷类耐药基因主要包括五类,分别为氨基糖苷类核苷转移酶基因(7种)、磷酸转移酶基因(5种)、氨基糖苷乙酰转移酶基因(3种)、核苷酸转移酶基因(2种)和16S rRNA甲基化酶基因(1种)。其次为大环内酯类耐药基因(4种)、磺胺类耐药基因(3种)、四环素类耐药基因(4种)、甲氧苄啶类耐药基因(6种)、氯霉素类耐药基因(6种)、喹诺酮类耐药基因(7种)、多黏菌素类耐药基因(2种)、磷霉素类耐药基因(1种)、利福平类耐药基因(2种),且41株(73.2%)DEC携带3种及以上抗生素的耐药基因。

本研究中食品分离DEC菌株的多重耐药率高达48.2%(27/56),最多是5重,其次是4重和3重,且检测到其对应的耐药基因(表4)。

3 讨论与结论

本研究显示2019—2021年上海市肉及肉制品、水产品中分离的DEC以EAEC为主要的型别,

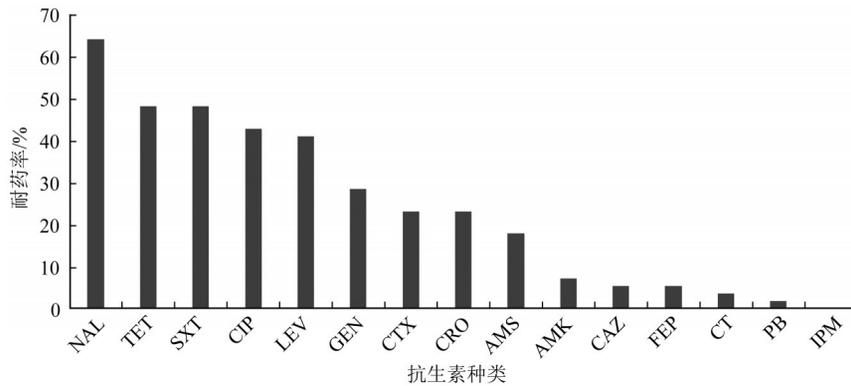


图2 56株DEC的耐药性

Figure 2 The resistance of 56 DEC isolates

表3 56株DEC携带耐药基因特点

Table 3 The resistance genes of 56 DEC isolates

抗生素/耐药基因数量	耐药基因种类
Beta-lactam/26	产超广谱β内酰胺酶基因: <i>bla</i> <sub>TEM-214</sub> 、 <i>bla</i> <sub>TEM-209</sub> 、 <i>bla</i> <sub>TEM-206</sub> 、 <i>bla</i> <sub>TEM-141</sub> 、 <i>bla</i> <sub>TEM-1B</sub> 、 <i>bla</i> <sub>TEM-234</sub> 、 <i>bla</i> <sub>TEM-23</sub> 、 <i>bla</i> <sub>TEM-22</sub> 、 <i>bla</i> <sub>TEM-217</sub> 、 <i>bla</i> <sub>TEM-207</sub> 、 <i>bla</i> <sub>TEM-198</sub> 、 <i>bla</i> <sub>TEM-186</sub> 、 <i>bla</i> <sub>TEM-176</sub> 、 <i>bla</i> <sub>TEM-148</sub> 、 <i>bla</i> <sub>TEM-126</sub> 、 <i>bla</i> <sub>TEM-10</sub> 、 <i>bla</i> <sub>TEM-70</sub> 、 <i>bla</i> <sub>TEM-30</sub> 、 <i>bla</i> <sub>TEM-1C</sub> 、 <i>bla</i> <sub>OXA-4</sub> 、 <i>bla</i> <sub>OXA-10</sub> ; <i>bla</i> <sub>CTX-M-55</sub> 、 <i>bla</i> <sub>CTX-M-65</sub> ; <i>bla</i> <sub>LEN19</sub> 、 <i>bla</i> <sub>LEN16</sub> ; <i>bla</i> <sub>SFO-1</sub> ; <i>bla</i> <sub>DHA1</sub> ; AmpC酶基因: <i>bla</i> <sub>ACT-9</sub> ; <i>bla</i> <sub>CMY-2</sub> 氨基糖苷类核苷转移酶基因: <i>aadA1</i> 、 <i>aadA2</i> 、 <i>aadA5</i> 、 <i>aadA2</i> 、 <i>aadA24</i> 、 <i>aadA22</i> 、 <i>aadA16</i> 磷酸转移酶基因: <i>aph(6)-IId</i> 、 <i>aph(3'')-Ib</i> 、 <i>aph(3')-IIa</i> 、 <i>aph(3')-Ia</i> 、 <i>aph(4)-Ia</i> 氨基糖苷乙酰转移酶基因: <i>aac(3)-IId</i> 、 <i>aac(3)-IV</i> 、 <i>aac(6')-Ib-cr</i> ; 核苷酸转移酶基因: <i>ant(2'')-Ia</i> 、 <i>ant(3'')-Ia</i> 16S rRNA甲基化酶基因: <i>rmtB</i>
Aminoglycoside/18	<i>mdf(A)</i> 、 <i>mph(A)</i> 、 <i>lnu(F)</i> 、 <i>msr(E)</i> <i>sul1</i> 、 <i>sul2</i> 、 <i>sul3</i> <i>tet(A)</i> 、 <i>tet(M)</i> 、 <i>tet(D)</i> 、 <i>tet(B)</i> <i>dfpA1</i> 、 <i>dfpA17</i> 、 <i>dfpA12</i> 、 <i>dfpA14</i> 、 <i>dfpA5</i> 、 <i>dfpA27</i> 、 <i>cmlA1</i> 、 <i>floR</i> 、 <i>cfr</i> 、 <i>catB3</i> 、 <i>catA1</i> 、 <i>catA2</i> <i>qnrS1</i> 、 <i>oqxB</i> 、 <i>qnrS2</i> 、 <i>oqxA</i> 、 <i>qepA1</i> 、 <i>qnrB6</i> 、 <i>aac(6')-Ib-cr</i> <i>mcr-1.1</i> 、 <i>mcr-9</i> <i>fosA3</i> <i>ARR-2</i> 、 <i>ARR-3</i>
Macrolide/4	
Sulphonamide/3	
Tetracycline/4	
Trimethoprim/6	
Phenicol/6	
Quinolone/7	
Colistin/2	
Fosfomycin/1	
Rifampicin/2	

表4 56株DEC多重耐药表型及耐药机制  
Table 4 Distribution of multi-antibiotics and antibiotic resistant mechanism

多重耐药类型	耐药表型	耐药机制
5重	AMS(CTX, CAZ, CRO)-GEN-TET-SXT-CIP(LEV, NAL)	Beta-lactam、Aminoglycoside、Trimethoprim、Tetracycline、Quinolone
4重	AMS(CTX, CAZ, CRO)-TET-SXT-CIP(LEV, NAL)	Beta-lactam、Quinolone、Tetracycline、Trimethoprim
4重	AMS(CTX, CAZ, CRO)-CIP(LEV, NAL)-TET-GEN	Beta-lactam、Quinolone、Tetracycline、Aminoglycoside
4重	CIP(LEV, NAL)-GEN-SXT-TET	Quinolone、Aminoglycoside、Trimethoprim、Tetracycline
3重	CIP(LEV, NAL)-TET-SXT	Tetracycline、Trimethoprim、Quinolone
3重	AMS(CTX, CAZ, CRO)-CIP(LEV, NAL)-GEN	Beta-lactam、Quinolone、Aminoglycoside
3重	AMS(CTX, CAZ, CRO)-CIP(LEV, NAL)-GEN	Beta-lactam、Quinolone、Aminoglycoside
3重	AMS(CTX, CAZ, CRO)-CIP(LEV, NAL)-SXT	Beta-lactam、Quinolone、Trimethoprim
3重	AMS(CTX, CAZ, CRO)-CIP(LEV, NAL)-TET	Beta-lactam、Quinolone、Tetracycline

构成比高达 73.2% (41/56), 其次是 EPEC (25%) 和 EHEC (1.78%) 型, 这与同时期的全国及其他省份的食源性病原菌监测结果一致, 2020 年全国食源性疾病监测结果显示引起食源性疾病的 DEC 中 EAEC 占比最高 (52.65%), 其次是 EPEC (25.15%)、ETEC (18.37%)、EHEC 和 EIEC 占比最低, 分别占 2.54% 和 1.38%。相似的监测结果在河南省、江苏省食源性疾病监测中已报道<sup>[10-11]</sup>。在 EAEC 菌株中 *astA* 基因为优势基因 (90.2%), 其次是 *pic* 基因 (9.8%), 均不携带 *aggR* 基因。目前 EAEC 引起的腹泻疾病的致病机制仍存在争议, 有研究报道 EAEC 在某些地区流行<sup>[12]</sup>, 但是病例和无症状者中 EAEC 分离率没有显著差异<sup>[13-14]</sup>; 还有研究显示 EAEC 与儿童的腹泻有关<sup>[15]</sup>, 这些研究结果提示人群和地区差异可能是导致 EAEC 致病差异的因素。EPEC 是仅次于 EAEC 的主要的引起腹泻疾病的 DEC 型菌株, 本研究中 14 株 EPEC 来自水产品、禽肉、羊肉和猪肉。1 株 EHEC 来自鹅肉, 其致病能力非常强, 被感染者容易形成出血性结肠炎或血性腹泻, 严重者可进一步发展为溶血性尿毒综合征, 危及生命。这些结果提示应加强食品安全风险监测, 防止食源性疾病的发生。

大肠埃希氏菌对喹诺酮类抗生素较高的耐药性在我国较为突出。本研究中, 56 株 DEC 对喹诺酮类抗生素 (萘啶酸、环丙沙星和左氧氟沙星) 均显示较高的耐药性, 耐药率分别为 64.3%、42.9% 和 41.1%, 这与江苏省报道的食源性疾病 DEC 对这三种抗生素的耐药率基本一致<sup>[16]</sup>, 但是低于吉林省食源性疾病监测中 DEC 对这三种抗生素的耐药率<sup>[17]</sup>, 提示不同来源的食源性 DEC 分离株对抗生素的耐药性存在差异, 这与抗生素的滥用或过量使用有关。对喹诺酮类抗生素耐药的 DEC 菌株携带 7 种喹诺酮耐药基因, 分别为 *qnrS1*、*oqxB*、*qnrS2*、*oqxA*、*qepA1*、*qnrB6* 和 *aac(6')-Ib-cr*。本研究中 DEC 对头孢类抗生素头孢噻肟和头孢曲松的耐药率均为 23.21%、23.21%, 但对头孢他啶和头孢吡肟的耐

药率较低, 均为 5.36%, 均低于食源性疾病患者分离的 DEC 的耐药率, 说明使用三代头孢可有效治疗 DEC 引起的食源性疾病。但是本研究中 56 株 DEC 携带的  $\beta$ -内酰胺类抗生素耐药基因种类及数量最多, 26 种耐药基因主要属于两大类: *ESBLs* 基因 (19 种) 和 *AmpC* 酶基因 (7 种), 且 *ESBLs* 中以 TEM 为主, 这与我国其他地区的监测结果并不相同, 北京、广州和杭州的分析结果显示以 CTX-M 为主<sup>[18]</sup>, 而欧洲和北美地区 *ESBLs* 以 TEM 为主<sup>[19]</sup>。56 株 DEC 并不携带碳青霉烯酶基因, 与其耐药表型一致, 对亚胺培南敏感一致, 这些研究结果提示碳青霉烯类抗生素仍是抵抗 DEC 的“有力武器”。4 株 DEC 菌株分别携带 2 个多黏菌素的耐药基因, 其中 3 个 *mcr1.1* 基因和 1 个 *mcr9* 基因, 其中 2 株均显示对多黏菌素 B 和多黏菌素 E 的耐药性, 2 株耐药性显示中介。*mcr1.1* 是 *mcr1* 的亚种<sup>[20]</sup>, 目前已经报道 *mcr1* 的亚种达 10 余种, PERRY 等<sup>[21]</sup> 研究证实质粒水平转移已经成为 *mcr* 基因的主要传播途径。提示加强耐药表型和耐药基因的监测, 掌握耐药性的变化趋势及耐药机制, 为控制耐药性提供依据。

本研究中 48.2% 的 DEC 显示多重耐药性, 与广东报道的 43.8% 的多重耐药性<sup>[22]</sup> 一致。且本研究结果显示 DEC 的耐药表型与其携带的耐药基因虽然不是完全一致, 但是在一定程度上, 耐药基因可以展示其耐药性, 多重耐药性 DEC 菌株均携带其相应的耐药基因, 携带耐药基因少的 DEC 菌株均不显示耐药性。这些结果显示 DEC 菌株的耐药基因在一定程度上可以显示其耐药性的变化趋势, 提示 WGS 可以用于食品中 DEC 的监测中。全基因组测序技术能够快速、准确、高通量鉴定 DEC 的毒力基因、耐药基因及分子分型, 对 DEC 进行分子特征分析, 将其应用于食品安全风险监测中, 为评估食品中 DEC 潜在危害提供重要的数据支撑。

参考文献

[1] RAMYA RAGHAVAN P, ROY S, THAMIZHMANI R, et al. Diarrheagenic *Escherichia coli* infections among the children of

- Andaman Islands with special reference to pathotype distribution and clinical profile [J]. *Journal of Epidemiology and Global Health*, 2017, 7(4): 305-308.
- [ 2 ] ORI E L, TAKAGI E H, ANDRADE T S, et al. Diarrhoeagenic *Escherichia coli* and *Escherichia albertii* in Brazil: Pathotypes and serotypes over a 6-year period of surveillance [J]. *Epidemiology and Infection*, 2018, 147: e10.
- [ 3 ] 黄昭鸿. 产志贺毒素大肠埃希氏菌标志性毒力基因 stx 快速检测与分型法的建立 [D]. 南昌: 江西师范大学, 2020.  
HUANG Z H. Establishment of the detection and typing method for signature virulence gene stx from shiga toxin-producing *Escherichia coli* [D]. Nanchang: Jiangxi Normal University, 2020.
- [ 4 ] MIRI S T, DASHTI A, MOSTAAN S, et al. Identification of different *Escherichia coli* pathotypes in north and north-west provinces of Iran [J]. *Iranian Journal of Microbiology*, 2017, 9(1): 33-37.
- [ 5 ] 国家食品安全风险评估中心. 国家食品污染物和有害因素风险监测工作手册 [Z]. 2019.  
China National Center for Food Safety Risk Assessment. National Risk Monitoring Handbook for Food Contaminants and Harmful Factors [Z]. 2019.
- [ 6 ] 国家食品安全风险评估中心. 国家食品污染物和有害因素风险监测工作手册 [Z]. 2020.  
China National Center for Food Safety Risk Assessment. National Risk Monitoring Handbook for Food Contaminants and Harmful Factors [Z]. 2020.
- [ 7 ] 国家食品安全风险评估中心. 国家食品污染物和有害因素风险监测工作手册 [Z]. 2021.  
China National Center for Food Safety Risk Assessment. National Risk Monitoring Handbook for Food Contaminants and Harmful Factors [Z]. 2021.
- [ 8 ] 中华人民共和国国家标准. 食品微生物学检验 致泻大肠埃希氏菌检验: GB 4789.6—2016 [S]. 2016.  
National standards for food safety. Food Microbiology testing. Enteric *Escherichia coli* testing. GB 4789.6—2016. 2016.
- [ 9 ] CHEN Y, CHEN X, ZHENG S, et al. Serotypes, genotypes and antimicrobial resistance patterns of human diarrhoeagenic *Escherichia coli* isolates circulating in southeastern China [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2014, 20(1): 52-58.
- [ 10 ] 邱正勇, 张濛, 吴玲玲, 等. 2015—2017年河南省食源性致泻大肠埃希菌监测情况分析 [J]. *中国食品卫生杂志*, 2019, 31(5): 445-448.  
QIU Z Y, ZHANG M, WU L L, et al. Surveillance of diarrhoeagenic *Escherichia coli* in foodborne diseases in Henan, 2015-2017 [J]. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 2019, 31(5): 445-448.
- [ 11 ] 秦思, 沈赟, 马恺, 等. 2018—2019年江苏省食源性致泻大肠埃希菌流行特征及耐药性分析 [J]. *现代预防医学*, 2020, 47(21): 3884-3888.  
QIN S, SHEN Y, MA K, et al. Epidemiological characteristics and drug resistance of diarrheal *Escherichia coli* in foodborne diseases in Jiangsu, 2018-2019 [J]. *Modern Preventive Medicine*, 2020, 47(21): 3884-3888.
- [ 12 ] OKEKE I N, LAMIKANRA A, STEINRÜCK H, et al. Characterization of *Escherichia coli* strains from cases of childhood diarrhea in provincial southwestern Nigeria [J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2000, 38(1): 7-12.
- [ 13 ] BONKOUNGOU I J O, LIENEMANN T, MARTIKAINEN O, et al. Diarrhoeagenic *Escherichia coli* detected by 16-plex PCR in children with and without diarrhoea in Burkina Faso [J]. *Clinical Microbiology and Infection*, 2012, 18(9): 901-906.
- [ 14 ] HIEN B T T, SCHEUTZ F, CAM P D, et al. Diarrhoeagenic *Escherichia coli* and *Shigella* strains isolated from children in a hospital case-control study in Hanoi, Vietnam [J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2008, 46(3): 996-1004.
- [ 15 ] MORENO A C R, FILHO A F, GOMES T D A T, et al. Etiology of childhood diarrhea in the northeast of Brazil: Significant emergent diarrheal pathogens [J]. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 2010, 66(1): 50-57.
- [ 16 ] 秦思, 沈赟, 周翌婧, 等. 2016年江苏省食源性致泻大肠埃希氏菌毒力基因分布与耐药性特征. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(6): 2019-2024.  
QIN S, SHEN Y, ZHOU Y J, et al. Virulence genotype distribution and drug resistance characterization of diarrhoeagenic *Escherichia coli* from children with foodborne diseases in Jiangsu Province in 2016 [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2020, 11(6): 2019-2024.
- [ 17 ] 石奔, 赵薇, 孙景昱, 等. 吉林省致泻大肠埃希氏菌分子分型与耐药性研究 [J]. *中国实验诊断学*, 2020, 24(10): 1697-1702.  
SHI B, ZHAO W, SUN J Y, et al. Molecular typing and drug resistance of diarrhoeagenic *Escherichia coli* in Jilin Province [J]. *Chinese Journal of Laboratory Diagnosis*, 2020, 24(10): 1697-1702.
- [ 18 ] 孔海深. 致泻大肠埃希菌的分子分型和流行病学研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2011.  
KONG H S. Molecular detection and characterization of diarrhoeagenic *Escherichia coli* strains isolated from acute diarrheal cases [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2011.
- [ 19 ] 张苗. 淄博市食源性致泻性大肠埃希菌基因分型、溯源研究及耐药性分析 [D]. 青岛: 青岛大学, 2018.  
ZHANG M. Genotyping, traceability and drug resistance study of diarrhoeagenic *Escherichia coli* as foodborne diseases in Zibo [D]. Qingdao: Qingdao University, 2018.
- [ 20 ] CARFORA V, ALBA P, LEEKITCHAROENPHON P, et al. Colistin resistance mediated by mcr-1 in ESBL-producing, multidrug resistant *Salmonella infantis* in broiler chicken industry, Italy (2016—2017) [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 1880.
- [ 21 ] PERRY J D. A decade of development of chromogenic culture media for clinical microbiology in an era of molecular diagnostics [J]. *Clinical Microbiology Reviews*, 2017, 30(2): 449-479.
- [ 22 ] 石挺丽, 黄建华, 李秀芬, 等. 2014—2015年广州地区腹泻患儿和健康儿童致泻性大肠埃希菌流行特征及耐药分析 [J]. *中华疾病控制杂志*, 2016, 20(4): 329-332.  
SHI T L, HUANG J H, LI X F, et al. Epidemiological characterization and antimicrobial resistance of diarrhea *Escherichia coli* from acute diarrheal and healthy children in Guangzhou City, 2014-2015 [J]. *Chinese Journal of Disease Control & Prevention*, 2016, 20(4): 329-332.