

论著

食源性产志贺毒素大肠杆菌的分离及菌株特征分析

白向宁¹, 王红², 赵爱兰¹, 张正东², 李群², 熊衍文¹

(1. 中国疾病预防控制中心传染病预防控制所 传染病预防控制国家重点实验室, 北京 102206;

2. 四川省自贡市疾病预防控制中心, 四川 自贡 643000)

摘要:目的 了解不同食品中产志贺毒素大肠杆菌的流行情况、菌株特征及潜在致病性。方法 对我国不同地区采集的355份食品样品进行产志贺毒素大肠杆菌分离鉴定,对菌株进行 *stx1/stx2* 基因分型、*eae* 等毒力基因检测,并对菌株进行多位点序列分型(MLST)分析。结果 355份样品中44份 *stx2* 基因阳性,共分离出11株非O157产志贺毒素大肠杆菌,其中3株携带 *stx2a* 亚型,3株携带 *stx2e* 亚型,1株携带 *stx2b* 亚型,4株不能分型;5株携带 *ehxA*、*saa* 毒力基因,2株携带 *subA* 基因,1株携带 *katP* 基因;MLST将11株菌分为7个不同的ST型,存在与溶血性尿毒综合征患者肠出血性大肠杆菌分离株(HUS-associated enterohemorrhagic *E. coli*, HUSEC)及主要流行血清群产志贺毒素大肠杆菌亲缘关系较近的ST型别。结论 我国食品中存在一定程度的非O157产志贺毒素大肠杆菌污染,部分菌株具有潜在致病性,应加强对食品中STEC的监测。

关键词: 产志贺毒素大肠杆菌; 食品; 毒力基因; 多位点序列分型; 食品安全; 食源性致病菌; 大肠杆菌; 分型

中图分类号: R155; Q939.1 文献标志码: A 文章编号: 1004-8456(2014)04-0312-06

DOI: 10.13590/j.cjfh.2014.04.002

Isolation and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates in foods

BAI Xiang-ning, WANG Hong, ZHAO Ai-lan, ZHANG Zheng-dong, LI Qun, XIONG Yan-wen

(State Key Laboratory for Infectious Disease Prevention and Control, National Institute for Communicable Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 102206, China)

Abstract: Objective To investigate the prevalence, molecular characteristics and potential pathogenicity of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) isolates in foods. **Methods** Shiga toxin-producing *Escherichia coli* were isolated from 355 different foods samples. The *stx1/stx2* subtypes and virulent genes were detected by PCR. A multilocus sequence typing (MLST) scheme provided by *E. coli* MLST database was performed. **Results** Eleven non-O157 STEC strains were isolated from 355 foods samples with 3 isolates harboring *stx2a*, 3 harboring *stx2e*, 1 harboring *stx2b* and 4 untypable for *stx2*, *ehxA* and *saa* genes were detected in 5 isolates, 2 isolates were positive for *subA* gene and 1 isolate was positive for *katP* gene. The 11 isolates belonged to 7 different STs with 1 new allele type and 1 new ST identified. The phylogenetic analysis showed that the STEC isolates from foods had the relatively close genetic relationships with HUSEC or main serogroups STEC strains. **Conclusion** STEC exist in different foods which showed molecular diversity and had the potential to cause human diseases. Thus the detection and surveillance of STEC in foods should be enhanced to prevent the prevalence and outbreak of relative foodborne diseases.

Key words: Shiga toxin-producing *Escherichia coli*; food; virulent gene; MLST; food safety; foodborne pathogen; *Escherichia coli*; typing

产志贺毒素大肠杆菌(Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, STEC)是一类重要的食源性致病菌,可引起人类水样腹泻、出血性肠炎及溶血性尿毒综合征等疾病^[1]。目前发现400多种血清型的STEC

菌株可引起人类疾病,其中以O157:H7血清型为主。STEC的致病机制主要是前噬菌体编码的志贺毒素(Shiga toxin, Stx)。此外,染色体上LEE毒力岛编码的紧密粘附素、60 MDa致病性大质粒编码的肠溶血素、LEE岛以外其他粘附相关基因如 *toxB*、*efa1*、*saa*、*paa*等,以及其他毒力相关因子如热稳定毒素(EAST1)、亚麻酶细胞毒素、过氧化物酶(KatP)等也与STEC致病性相关^[2]。

STEC主要通过粪-口途径传播,牛、羊、猪等是STEC的主要储存宿主,食用被污染的食品尤其是

收稿日期: 2014-04-27

基金项目: 国家自然科学基金(81371762)

作者简介: 白向宁 女 博士生 研究方向为致泻性大肠杆菌致病机制及分子流行病学 E-mail: baixiangning@icdc.cn

通讯作者: 熊衍文 男 研究员 研究方向为致泻性大肠杆菌致病机制及分子流行病学 E-mail: xiongyanwen@icdc.cn

动物性食品(肉类)是人感染 STEC 的重要途径。研究表明^[3-4],世界许多国家的生肉、肉制品及乳类均有不同程度的 STEC 污染。本研究分别采集了北京市、四川省自贡市农贸市场及超市的生肉(猪、牛、羊、鸡、鸭、兔肉)、熟肉、卤肉、海产品、酸奶,对其进行 STEC 检测分离并对菌株特征进行分析,旨在初步了解我国食品中 STEC 流行情况及菌株特征,为有针对性地预防控制通过食用被污染的食物引起相关疾病的流行与暴发提供依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 样品来源和标准菌株

样品来源:355 份不同种类食品样品于 2013 年 4、5、11、12 月分别采集自四川省自贡市和北京市不同农贸市场及超市。样品具体信息见表 1。

表 1 样品信息表

Table 1 Information of samples

食品种类	样品数(北京/四川自贡)
生牛肉	40(15/25)
生羊肉	12(12/0)
生猪肉	77(77/0)
生鸡肉	14(14/0)
熟肉	112(0/112)
海产品	19(19/0)
酸奶	13(13/0)
其他	68(0/68)
合计	355(150/205)

标准菌株:大肠杆菌 O157:H7 EDL933(ATCC 43895)作为 STEC 阳性对照菌株,由本室保存。

1.1.2 主要仪器与试剂

PCR 仪(德国 Senso),凝胶成像系统(美国 Bio-Rad);CHROMagar™ ECC、CHROMagar™ STEC 培养基均购自法国 CHROMagar,细菌基因组提取试剂盒、2 × Taq MasterMix 均购自北京康为世纪公司,API 20E 生化试剂条(法国 bioMérieux);PCR 引物由生工生物工程(上海)有限公司合成,PCR 产物纯化及测序由北京天一辉远生物科技有限公司完成。

1.2 方 法

1.2.1 STEC 菌株分离

参照美国农业部提出的肉类食品中非 O157 STEC 菌株分离鉴定方法^[5],对肉类、海产品、酸奶共 355 份食品样品进行 STEC 分离鉴定,详细步骤如下。

增菌:称取 25 g 不同食品样品接入到 225 ml 改良胰酶大豆肉汤中,37 °C 振荡培养 18 ~ 24 h。取 1.5 ml 增菌液于 1.5 ml 离心管,8 000 r/min 离心 3 min 集菌,弃上清后用 150 μl Lysis buffer (100 mmol/L NaCl;10 mmol/L Tris-HCl,pH = 8.3;

1 mmol/L EDTA,pH = 9.0;1% Triton X-100)悬菌,振荡使沉淀充分混匀,水煮 10 min,12 000 r/min 离心 10 min,上清即为样品核酸。

stx1/stx2 基因初筛:采用 *stx1/stx2* 双重 PCR 方法对标本增菌液制备的核酸进行 *stx1/stx2* 基因初筛,*stx1/stx2* 双重 PCR 引物序列见表 2。将 *stx1/stx2* 基因筛查阳性标本分别涂于 CHROMagar™ ECC 及 CHROMagar™ STEC 选择性平板上,37 °C 培养 18 ~ 24 h。

分离鉴定:CHROMagar™ ECC 及 CHROMagar™ STEC 选择性平板上分别随机挑取 10 个可疑大肠杆菌样菌落,进行 *stx1/stx2* 单菌落 PCR 鉴定,阳性菌落接种 LB 培养基后,用 API 20E 生化鉴定条进行生化鉴定,鉴定为大肠杆菌的菌株,PCR 扩增 O157 抗原翻转酶基因 *rfbE*_{O157}(引物见表 2),并结合 O157 血清凝集试验,判断菌株是否为 O157 血清群。

1.2.2 毒力因子检测

1.2.2.1 志贺毒素基因亚型分析

采用 Scheutz 等提出的针对不同 *stx* 亚型特异核酸序列的 PCR 分型方法对 STEC 分离株 *stx* 亚型进行检测,引物及条件参照文献[6]。

1.2.2.2 粘附基因及其他相关毒力基因检测

PCR 检测紧密粘附素基因 *eae*,肠溶血素基因 *exhA*,其他粘附相关基因 *toxB*、*efa1*、*saa*、*paa*,毒力相关基因 *astA*、*subA*、*katP*。引物及退火温度见表 2。

表 2 *stx₁/stx₂* 及其他相关毒力基因检测的 PCR 引物

Table 2 PCR primers for *stx₁/stx₂* and other relative virulent genes

基因	引物序列(5'-3')	产物大小/bp	退火温度/°C
<i>stx1</i>	AAATCGCCATTTCGTTGACTACTTCT TGCCATTCTGGCAACTCGCGATGCA	370	58
<i>stx2</i>	CAGTCGTCACTCACTGGTTTCATCA GGATATTCCTCCCCTGTGACACC	283	58
<i>eae</i>	TCAATGCAGTTCGGTTATCAGTT GTAAAGTCCGTTACCCCAACCTG	482	57
<i>rfbE</i> _{O157}	AATTGAAGATTCGCGTGAAGCCTTTG GAGTACATTGGCATCGTGTGGACAG	507	55
<i>efa1</i>	GAGACTGCCAGAGAAG GGTATTGTTGCATGTTTCAG	479	51
<i>saa</i>	CGTGATGAACAGGCTATTGC ATGGACATGCCTGTGGCAAC	119	52
<i>toxB</i>	ATACCTACCTGCTCTGGATTGA TTCTTACCTGATCTGATGCAGC	602	55
<i>ehxA</i>	GGTGCAGCAGAAAAAGTTGTAG TCTCGCTGATAGTGTGGTA	1 551	57
<i>astA</i>	CCATCAACACAGTATATCCGA GGTCGGGAGTGACGGCTTTGT	111	55
<i>subA</i>	TATGGCTTCCCTCATTGCC TATAGCTGTGCTTCTGACG	556	60
<i>katP</i>	CTTCTGTCTGATCTTCTGCG AACTTATTCTCGCATCATCC	2 125	56
<i>paa</i>	ATGAGAAACATAATGGCAGG TCTGTCAGGTCTCAATAC	350	60

1.2.3 多位点序列分型(MLST)分析

用细菌基因组提取试剂盒提取菌株总核酸,采用 *E. coli* MLST 数据库^[7]提供的大肠杆菌 MLST 分型方案,选择7个管家基因 *adh*、*fumC*、*gyrB*、*icd*、*mdh*、*purA*、*recA*,对菌株进行 MLST 分型分析。PCR 引物序列、反应体系、扩增条件及产物大小见参考文献^[8]。PCR 产物经纯化后,进行双向测序。

1.2.4 MLST 序列分析

用 SeqMan II 软件并结合菌株等位基因的正反向序列图谱对等位基因序列进行拼接和校正,将校正后的序列在 *E. coli* MLST 数据库中进行对比,受试菌株序列与库中菌株序列相似性为 100% 时,认为等位基因序列号相同。7 个管家基因序列号的组合即为该菌的 ST 型(sequence type, ST)。对于未能完全匹配的序列,重复 3 次确认无误后,将该序列提交到数据库,审核后获得新的等位基因序列号和相应的 ST 型别号。当菌株出现新的等位基因型或等位基因出现新的组合时即出现新的 ST 型。

用 BioNumerics V4.0 软件,对食品 STEC 分离株与 HUSEC 及 *E. coli* MLST 数据库中所有人源的流行血清群 O26、O103、O111、O121、O145、O157 STEC 菌株的不同 ST 型别构建最小生成树,分析菌株之间的亲缘关系^[9]。

2 结果

2.1 食品中 STEC 菌株分离情况

本研究共采集 355 份肉类及其制品、海产品、酸奶标本。其中 40 份生牛肉中有 20 份(占 50%)为 *stx2* 基因阳性,从中分离出 5 株携带 *stx2* 的 STEC 菌株,其中 2 株来自四川自贡生牛肉标本,3 株分离自北京市某超市生牛肉样品;12 份采集自北京市的生羊肉样品中有 10 份 *stx2* 基因阳性,从其中 3 份分离出 STEC 菌株;77 份采集自北京市的生猪肉样品中 9 份 *stx2* 基

因阳性(占 11.7%),从中分离出 2 株 STEC;112 份来源于四川省自贡市的熟肉标本中 5 份 *stx2* 基因阳性,并分离出 1 株携带 *stx2* 的 STEC 菌株;来源于北京市的生鸡肉、海产品(鱼、虾、贝类)、酸奶,来源于四川自贡的 5 份兔肉及 63 份卤肉中均未检测出 *stx1/stx2* 基因。不同食品样品中 STEC 分离情况详见表 3。

表 3 不同品种食品样品中 STEC 分离情况

Table 3 Prevalence of STEC in different foods samples

食品种类	样品数	<i>stx1/stx2</i> 基因阳性率/%	STEC 菌株 分离率/%
生牛肉	40	50.0(20/40)	12.5(5/40)
生羊肉	12	83.3(10/12)	25.0(3/12)
生猪肉	77	11.7(9/77)	2.6(2/77)
生鸡肉	14	0.0(0/14)	0.0(0/14)
熟肉	112	4.5(5/112)	0.9(1/112)
海产品	19	0.0(0/19)	0.0(0/19)
酸奶	13	0.0(0/13)	0.0(0/13)
其他	68	0.0(0/68)	0.0(0/68)
合计	355	12.4(44/355)	3.1(11/355)

注:“其他”包括兔肉 5 份、卤肉 63 份

PCR 检测 11 株 STEC 菌株 O157 抗原特异基因 *rfbE*_{O157} 均为阴性,并与 O157 抗血清均不凝集,说明这 11 株菌均为非 O157 STEC。

2.2 毒力基因检测结果

stx1/stx2 基因检测结果表明,11 株 STEC 分离株均仅携带 *stx2* 基因(见图 1)。*stx2* 亚型分析显示,生牛肉的 5 株 STEC 分离株中 3 株携带 *stx2a* 亚型,1 株携带 *stx2b* 亚型,1 株不能分型;2 株生猪肉及 1 株熟肉(熟猪肉)STEC 分离株均为 *stx2e* 亚型;3 株生羊肉 STEC 分离株的 *stx2* 亚型均不能分型。

毒力基因检测结果显示,1 株生牛肉及 1 株熟肉 STEC 分离株(13ZGFST01、13ZGFST02)的 *ehxA*、*saa* 基因阳性,1 株生牛肉 STEC 分离株(13ZGFST03)同时携带 *ehxA*、*saa*、*katP* 基因,2 株生牛肉 STEC 分离株(BJCP13-42、BJCP13-43)同时携带 *ehxA*、*saa*、*subA* 基因,其余菌株的毒力基因呈阴性,菌株毒力基因检测结果详见表 4。

表 4 STEC 分离株毒力基因检测结果

Table 4 Virulent genes profiles of STEC isolates in this study

菌株编号	来源	<i>stx2</i> 亚型	<i>eae</i>	<i>ehxA</i>	<i>efa1</i>	<i>saa</i>	<i>toxB</i>	<i>katP</i>	<i>subA</i>	<i>astA</i>	<i>paa</i>	ST 型
13ZGFST01*	生牛肉	<i>stx2a</i>	-	+	-	+	-	-	-	-	-	1611
13ZGFST02*	熟猪肉	<i>stx2e</i>	-	+	-	+	-	-	-	-	-	206
13ZGFST03*	生牛肉	<i>stx2b</i>	-	+	-	+	-	+	-	-	-	4145**
BJCP13-34	生羊肉	NT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	23
BJCP13-35	生羊肉	NT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	23
BJCP13-38	生羊肉	NT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	23
BJCP13-42	生牛肉	<i>stx2a</i>	-	+	-	+	-	-	+	-	-	26
BJCP13-43	生牛肉	<i>stx2a</i>	-	+	-	+	-	-	+	-	-	26
BJCP14-38	生牛肉	NT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1611
BJCP1414-1	生猪肉	<i>stx2e</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	641
BJCP1414-2	生猪肉	<i>stx2e</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	361

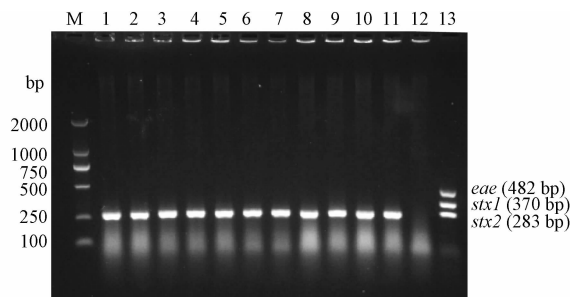
注:*为分离自四川省自贡市食品样品中的 STEC 菌株,其余菌株分离自北京市的食品样品;**为本研究中的新序列型;NT 为不能分型(使用已知 PCR 分型引物检测均为阴性)

2.3 MLST 分析

MLST 将 11 株非 O157 STEC 分离株分成 7 个不同的 ST 型(见表 4),其中 13ZGFST03 出现新的等位基因型 *fumC* 538,属于新的序列型 ST4145。3 株生羊肉分离株均为 ST23 型;5 株生牛肉分离株为 3 种 ST 型,即 ST26、ST1611 和 ST4145,且北京市和自贡市生牛肉分离株存在相同的 ST 型(ST1611);3 株猪肉分离株分别为 3 种不同的 ST 型。

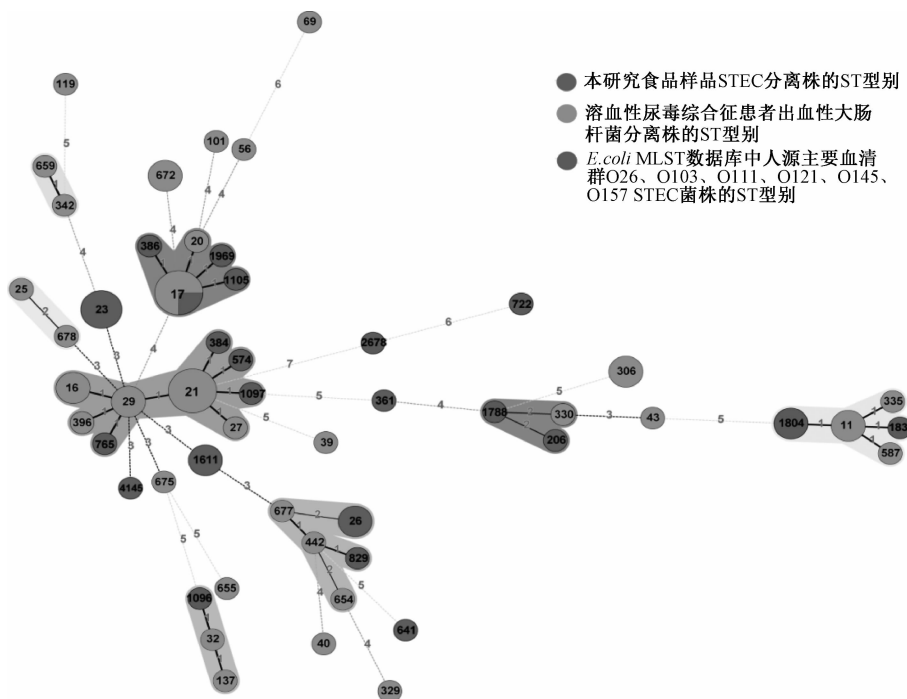
采用 BioNumerics 软件对 11 株食品 STEC 分离株与国际上 HUSEC 菌株、欧美国家人源主要流行血清群 O26、O103、O111、O121、O145、O157 STEC 菌株的不同 ST 型别构建最小生成树(见图 1)。由图 2 可见,菌株 13ZGFST02 的 ST206 型别与流行血清群 STEC 菌株的 ST1788 型别形成一个克隆群、ST26 型与 HUSEC 的 ST677 型别形成一个克隆群(具有 5 个或以上相同的等位基因序列型的集合),仅有

2 个等位基因的差异,具有较近的亲缘关系。其余菌株的 ST 型存在 3 个或 3 个以上等位基因的差异,亲缘关系较远。



注:M 为 DL2000 DNA Marker;1~11 为本研究分离的 11 株 STEC 菌株 PCR 结果;12 为阴性对照;13 为阳性对照菌株 EDL 933

图 1 STEC 分离株 *stx1*、*stx2* 及 *eae* 基因 PCR 检测结果
Figure 1 Amplification products of *stx1*、*stx2* and *eae* genes of STEC isolates



注:每个圆圈中的数据代表一种 ST 型,圆圈大小代表菌株数的多少,圆圈周围的阴影区域表示区域内的 ST 型属于同一克隆群(clone complex,CC)。圆圈之间的粗、细实线分别表示 ST 型相差一个或两个等位基因,虚线表示 ST 型之间存在 3 个或以上等位基因差异。圆圈内不同的颜色表示不同 STEC 宿主来源

图 2 食品 STEC 分离株与 HUSEC 及人源流行血清型 STEC 菌株的 ST 型最小生成树

Figure 2 Minimum spanning tree of STs in this study,STs from the HUSEC collection and other human STEC of main serotypes

3 讨论

STEC 在许多国家的不同肉类食品中均检测到,其流行情况随地区、食品类型、采样方式、食品处理及加工方式、动物饲养条件等不同而存在差异。不同国家报道的肉类食品中 STEC 的分离率从 4% 到 72% 不等^[4,10]。牛肉作为西方发达国家最常食用的肉类之

一,是 STEC 重要的感染源,1982 年美国报道的全球首起 STEC O157:H7 感染暴发就与食用未加热熟透的牛肉汉堡有关。本次研究从 40 份生牛肉样品中分离出 5 株 STEC 菌株(占 12.5%);而 83.3%(10/12)的生羊肉样品检测出 *stx2* 基因,STEC 菌株分离率为 25%,11.7% 的生猪肉样品 *stx2* 基因呈阳性,STEC 分离率为 2.6%,说明我国市场上肉类在屠宰过程中也

存在不同程度的 STEC 污染。此外,从熟猪肉样品中分离到 1 株 STEC 菌株,说明熟肉也可能因加工处理不当而污染 STEC,应严格控制食品处理加工过程中的卫生安全问题。

血清型检测分析发现本研究分离的 11 株菌均属于非 O157 STEC,与本课题组之前对我国牦牛、健康猪携带 STEC 的血清型调查结果一致^[10-12]。O157:H7 是 STEC 中主要的血清型,据估计,美国每年大约有超过 75 000 例的 STEC O157:H7 感染,平均 17 次的暴发^[13]。但近年来发达国家的监测数据显示,非 O157 STEC 感染的病例数超过了 STEC O157,特别是 2011 年德国暴发 STEC O104:H4 疫情,波及欧美地区的 16 个国家,导致 4 000 余人发病,其中 50 余人死亡,已引起全球的高度重视^[14]。虽然我国 1999 年出现了 EHEC O157 的大规模暴发,并且自 2000 年持续开展 EHEC O157:H7 的主动监测以来,持续存在 EHEC O157:H7 的散发感染^[15],但我国至今尚无非 O157 STEC 大规模暴发的报道。这种非 O157 STEC 在我国动物、食品中的高流行,而人群中低发病率的原因,考虑与 O157 STEC 目前国际上尚无统一有效的分离方法,并且我国目前尚未系统开展食品中非 O157 STEC 监测检验工作,缺乏本底数据有关。

志贺毒素是 STEC 的主要致病物质,通过与 Gb3 受体结合,干扰细胞蛋白质的合成,导致细胞损伤和死亡。Stx 包括免疫反应不交叉的两类毒素 Stx1 和 Stx2,分别由 *stx1* 和 *stx2* 基因编码。研究表明我国不同动物中携带不同 *stx* 基因型的 STEC 菌株^[11-12],而本研究中 11 株食品 STEC 分离株都仅携带 *stx2* 基因,提示食品中可能以携带 *stx2* 基因型的 STEC 为主,可能与我国 STEC O157:H7 分离株的以 *stx2* 为主的情况类似^[16]。但国内也有报道从食品(牛肉)中分离到携带 *stx1* 基因的菌株^[17],说明携带 *stx1* 的 STEC 菌株在我国食品中也存在。志贺毒素基因 *stx1/stx2* 存在不同亚型^[6],如 *stx1a*、*stx1c*、*stx1d*、*stx2a*、*stx2c*、*stx2d*、*stx2e*、*stx2f*、*stx2g*,不同的亚型除与宿主有关外,其对人的致病性也有所差异,如 *stx2a* 亚型与 HC、HUS 等疾病密切相关^[18]。本课题组分离的 11 株 STEC 中检测出 *stx2a*、*stx2b*、*stx2e* 亚型基因,一方面说明食品中 STEC 分离株存在较大差异性,另一方面也提示某些食品 STEC 分离株可能具有较高的致病性。此外,有 5 株 STEC 分离株同时携带溶血素基因 *ehxA* 及粘附基因 *saa*,菌株 13ZGFST03 同时携带 *katP* 基因,菌株 BJCP13-42、BJCP13-43 同时携带 *subA* 基因,提示这 5 株 STEC 分离株具有潜在的致病性。MLST 分析显示 11 株 STEC 菌株分为 7 个 ST 型,其中存在一个新的 ST 型(ST4145),说明我国食

品中 STEC 菌株具有遗传多样性,并且菌株具有一定的地域特点。通过与致病株 HUSEC 及人源主要流行血清群 STEC 菌株 MLST 分析发现,本次食品 STEC 分离株中存在与致病株及流行株亲缘关系相对较近的菌株,结合菌株携带的毒力基因,推测其对人类具有一定的致病潜力。因此,我国应加强不同食品中不同血清型 STEC 监测,发展 STEC 菌株甄别的分子标志,严格监督食品加工、生产、包装、储存过程中卫生安全问题,预防通过摄入被污染的食品引起 STEC 食源性疾病的暴发及散发流行。

参考文献

- [1] Etcheverría A I, Padola N L. Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: factors involved in virulence and cattle colonization [J]. *Virulence*, 2013, 4(5): 366-372.
- [2] Croxen M A, Finlay B B. Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2010, 8(1): 26-38.
- [3] Farrokh C, Jordan K, Auvray F, et al. Review of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and their significance in dairy production [J]. *Int J Food Microbiol*, 2013, 162(2): 190-212.
- [4] Mathusa E C, CHEN Y, Enache E, et al. Non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in foods [J]. *J Food Prot*, 2010, 73(9): 1721-1736.
- [5] USDA. Detection and isolation of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) from meat products and carcass and environmental sponges [Z]. USDA, 2013: 1-15.
- [6] Scheutz F, Teel L D, Beutin L, et al. Multicenter evaluation of a sequence-based protocol for subtyping Shiga toxins and standardizing Stx nomenclature [J]. *J Clin Microbiol*, 2012, 50(9): 2951-2963.
- [7] UCC. *E. coli* MLST databases [DB/OL]. [2014-04-27]. <http://mlst.ucc.ie/mlst/dbs/Ecoli>.
- [8] 白向宁,赵爱兰,夏胜利,等.非 O157 产志贺毒素大肠杆菌分离株的多位点序列分型研究 [J]. *中国人兽共患病学报*, 2012, 28(6): 544-548, 560.
- [9] 孙晖,白向宁,赵爱兰,等.牦牛携带的产志贺毒素大肠杆菌分离株的多位点序列分型研究 [J]. *中国人兽共患病学报*, 2013, 29(12): 1137-1142.
- [10] Momtaz H, Safarpour D F, et al. Incidence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* serogroups in ruminant's meat [J]. *Meat Sci*, 2013, 95(2): 381-388.
- [11] BAI X N, ZHAO A L, LAN R T, et al. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in yaks (*Bos grunniens*) from the Qinghai-Tibetan Plateau, China [J]. *PLoS One*, 2013, 8(6): e65537.
- [12] MENG Q, BAI X N, ZHAO A L, et al. Characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from healthy pigs in China [J]. *BMC Microbiol*, 2014, 14(1): 5.
- [13] Lim J Y, Yoon J, Hovde C J. A brief overview of *Escherichia coli* O157:H7 and its plasmid O157 [J]. *Microbiol Biotechnol*, 2010, 20(1): 5-14.
- [14] Frank C, Werber D, Cramer J P, et al. Epidemic profile of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 outbreak in Germany [J]. *N Engl J Med*, 2011, 365(19): 1771-1780.

- [15] XIONG Y W, WANG P, LAN R T, et al. A novel *Escherichia coli* O157: H7 clone causing a major hemolytic uremic syndrome outbreak in China [J]. *PLoS One*, 2012, 7(4): e36144.
- [16] MENG Q, XIONG Y W, LAN R T, et al. SNP genotyping of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7 isolates from China and genomic identity of the 1999 Xuzhou outbreak [J]. *Infect Genet Evol*, 2013, 16: 275-281.

- [17] 李睿, 戴诗皎, 戴锴, 等. 食品中非 O157 大肠杆菌志贺毒素基因序列分析. *食品科学*, 2010, 21(3): 236-238.
- [18] Orth D, Grif K, Khan A B, et al. The Shiga toxin genotype rather than the amount of Shiga toxin or the cytotoxicity of Shiga toxin in vitro correlates with the appearance of the hemolytic uremic syndrome [J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2007, 59(3): 235-242.

论著

2011—2013 年广州市海珠区不同来源副溶血性弧菌分离株血清分型及耐药性研究

吴琪¹, 伦嘉欣², 许少洪¹, 李映霞¹, 黄芳¹, 曾雅¹

(1. 广州市海珠区疾病预防控制中心, 广东 广州 510288; 2. 广东医学院公卫学院, 广东 东莞 523808)

摘要:目的 了解近年来广州市海珠区副溶血性弧菌食物中毒分离株、散发腹泻病人监测分离株、外环境分离株的血清分型及耐药现状。方法 2011—2013 年 61 株副溶血性弧菌, 包括 17 株食物中毒菌株、27 株散发腹泻病人菌株、17 株外环境监测菌株, 对其进行生化鉴定、血清分型及药敏试验。结果 17 株食物中毒分离菌株, 共分 6 个血清型, O3: K6 共 12 株 (70.6%); 27 株散发腹泻病人分离菌株, 共分 10 个血清型, O3: K6 共 17 株 (63.0%); 17 株外环境分离菌株, 共分 11 个血清型, 其血清型分布分散。61 株菌株出现两重耐药 3 株, 三重耐药 1 株。结论 广州市海珠区食物中毒、腹泻病人中主要流行的血清型是 O3: K6, 不同来源的分离株存在不同程度的抗生素耐药。

关键词: 副溶血性弧菌; 血清分型; 耐药; 食源性致病菌; 分型; 药敏试验

中图分类号: R155; R378 文献标志码: A 文章编号: 1004-8456(2014)04-0317-04

DOI: 10.13590/j.cjfh.2014.04.003

Analysis of serotype and antibiotics resistance in *Vibrio parahaemolyticus* from different sources in Haizhu District of Guangzhou during 2011-2013

WU Qi, LUN Jia-xin, XU Shao-hong, LI Ying-xia, HUANG Fang, ZENG Ya

(Haizhu Center for Disease Control and Prevention, Guangdong Guangzhou 510288, China)

Abstract: Objective To study the current status of serotype and drug resistance in *Vibrio parahaemolyticus* in food poisoning, diarrhea patients and the environment in Haizhu district of Guangzhou. **Methods** 17 strains from food poisoning, 27 strains from sporadic diarrhea patients and 17 strains from the environment were identified with biochemical and serotyping tests. Antibiotic resistance test of the isolates was further performed. **Results** Seventeen strains from food poisoning could be divided into 6 serotypes, and the prevalent serotype was O3: K6 (12/17, 70.6%). Twenty-seven strains from diarrhea patients could be divided into 10 serotypes, and the prevalent serotype was O3: K6 (17/27, 63.0%). Seventeen strains from the environment could be divided into 11 serotypes, but the serotypes were scattered. In addition, there were three dual-resistant strains, and one triple-resistant strain in those 61 strains. **Conclusion** The strains were on different levels of antibiotic resistance, and the prevalent serotype was O3: K6 in Haizhu district of Guangzhou.

Key words: *Vibrio parahaemolyticus*; serotype; antibiotics resistance; foodborne pathogen; typing; drug sensitivity test

副溶血性弧菌 (*Vibrio parahaemolyticus*, VP) 是

革兰氏阴性嗜盐细菌, 属于弧菌科弧菌属。1996 年后在世界范围内出现了 O3: K6 新血清型的流行, 形成了所谓的 O3: K6 大流行克隆, 并以其高感染力和蔓延能力受到世界各国的关注。该菌首先在印度加尔各答、中国台湾、日本等地流行, 随后蔓延到世界多数沿海国家包括美国、智利等。我国食源性疾

收稿日期: 2014-05-28

基金项目: 广州市海珠区 2013 年医疗卫生指导性科技计划项目 (海科信 [2013] 37 号-3)

作者简介: 吴琪 女 检验技师 研究方向为微生物检验

E-mail: earhill@163.com