

调查研究

四川自贡地区山羊、养殖环境及生羊肉中产志贺毒素大肠埃希菌
基因组特征及传播风险分析张玲¹, 张培华², 王倩¹, 刘桂丹¹, 杨吉¹, 邓建平¹, 熊衍文², 张正东¹, 杨茜²

(1. 四川省自贡市疾病预防控制中心, 四川 自贡 643000; 2. 中国疾病预防控制中心传染病预防控制所, 北京 102206)

摘要:目的 了解四川省自贡地区山羊、养殖场环境及市售生羊肉携带产志贺毒素大肠埃希菌(STEC)情况和菌株分子特征,为 STEC 感染的风险评估、溯源调查及科学防控策略制定提供数据支持。方法 2024 年 5 月至 7 月,采集自贡市四区两县养殖场山羊粪便、养殖场环境污水、市售生羊肉样品进行 STEC 分离培养,对分离菌株进行全基因组测序,基于菌株全基因组序列进行多位点序列分型(MLST)、血清分型、志贺毒素分型、耐药基因分析以及核心基因组单核苷酸多态性(cgSNP)系统进化分析。结果 共采集样品 466 份,分离 STEC 菌株 74 株,其中山羊粪便 67 株(67/431, 15.55%),环境污水 4 株(4/6, 66.67%),生羊肉 3 株(3/29, 10.34%)。74 株 STEC 菌株可分为 20 种血清型、21 种 MLST 型和 5 种志贺毒素亚型。64 株(64/74, 86.49%)分离株携带 5 种以上的耐药基因。cgSNP 系统进化分析显示,血清型 O38:H26、O12:H25 的菌株在自贡不同地区山羊中持续存在,并与环境及生羊肉中的菌株具有高度遗传相关性。结论 自贡地区山羊 STEC 携带率高,菌株分子特征呈现多样性,存在山羊排菌污染环境及市售生羊肉的潜在传播途径,应关注其造成人感染的潜在风险。

关键词:产志贺毒素大肠埃希菌;全基因组测序;分子特征;生羊肉;食源性致病菌

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2025)08-0756-07

DOI:10.13590/j.cjfh.2025.08.010

Whole genome sequencing based characteristics and transmission risk analysis of Shiga toxin
producing *Escherichia coli* from goats, breeding environment and raw mutton in Zigong, SichuanZHANG Ling¹, ZHANG Peihua², WANG Qian¹, LIU Guidan¹, YANG Ji¹, DENG Jianping¹,
XIONG Yanwen², ZHANG Zhengdong¹, YANG Xi²(1. Zigong Center for Disease Control and Prevention, Sichuan Zigong 643000, China; 2. National
Institute for Communicable Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and
Prevention, Beijing 102206, China)

Abstract: Objective To investigate the prevalence and molecular characteristics of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) in goat's feces, breeding environments, and retail raw mutton in Zigong, Sichuan Province, and to provide support for risk assessment, traceability investigation, and scientific prevention and control strategies for STEC infections. **Methods** Samples of goat feces, farm environment sewage, and retail raw mutton were collected from four districts and two counties in Zigong for STEC isolation. Whole genome sequencing was performed, and multilocus sequence typing (MLST), serotyping, Shiga toxin subtyping, antibiotic resistance genes were analyzed, and core genome single nucleotide polymorphism (cgSNP) phylogenetic analysis were conducted based on the whole genome sequences. **Results** From May to July 2024, a total of 466 samples were collected, and 74 STEC strains were isolated, including 67 from goat feces (67/431, 15.55%), 4 from environmental sewage (4/6, 66.67%), and 3 from raw mutton (3/29, 10.34%). The 74 STEC strains were classified into 20 different serotypes, 21 MLST types, and 5 Shiga toxin subtypes. Sixty-four (64/74, 86.49%) strains carried more than 5 antibiotic resistance genes. cgSNP phylogenetic analysis revealed that strains of serotypes O38:H26 and O12:H25 persisted in goats across different regions of Zigong and showed high genetic relatedness.

收稿日期:2025-03-21

基金项目:国家自然科学基金(82402631);中国疾病预防控制中心青年基金(2023A106)

作者简介:张玲 女 副主任医师 研究方向为传染性疾病预防 E-mail: 641295909@qq.com

通信作者:杨茜 女 助理研究员 研究方向为致泻性大肠埃希菌分子流行病学 E-mail: yangxi@icdc.cn

with strains from the environment and raw mutton. **Conclusion** The high carriage rate of STEC in goats in Zigong, along with the diverse molecular characteristics of the strains, indicates potential transmission pathways through environmental contamination and raw mutton. The potential risk of human infection should be closely monitored.

Key words: Shiga toxin-producing *Escherichia coli*; whole genome sequencing; molecular characteristics; raw mutton; foodborne pathogens

产志贺毒素大肠埃希菌(Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, STEC)是一类重要的动物源性食源性病原菌,可引起人类水样腹泻、出血性肠炎甚至高致死率的溶血性尿毒综合征等疾病^[1]。尽管牛被认为是 STEC 最重要的宿主,但在一些国家或地区,羊也成为 STEC 重要宿主和传播源^[2]。人可通过直接接触带菌动物排泄物或食用被污染的水和食物而感染。在屠宰、加工及生肉处理过程中,STEC 的传播风险尤为突出^[3]。由于缺乏系统监测,STEC 散发感染或暴发病例往往难以溯源,传染源和传播途径不明确,为 STEC 的精准防控带来了巨大挑战。

志贺毒素(Shiga toxin, Stx)是 STEC 最重要的毒力因子,可分为 Stx1 和 Stx2 两种型别,其中 Stx1 可分为 Stx1a、Stx1c 和 Stx1d 3 种亚型,Stx2 目前已报道 Stx2a~Stx2o 15 种亚型^[4]。STEC 菌株携带的志贺毒素型别/亚型与其流行特征、所致疾病的严重程度及主要宿主动物密切相关^[5]。Stx2k 亚型是 2020 年报道的志贺毒素亚型,携带新志贺毒素亚型 Stx2k 的 STEC 菌株迄今仅在我国被报道,分离自不同地区动物、食品及腹泻患者,通过在山东省兰陵地区开展连续监测发现该菌株在山羊中呈现高流行率,其他地区因缺乏主动监测,流行率尚未明确,凸显了 STEC 菌型的区域性流行特征及其潜在公共卫生风险^[6]。

自贡地区作为我国重要的畜牧业基地,羊养殖规模较大,但关于该地区 STEC 的流行情况、分子特征及潜在传播风险的研究尚不充分。因此,对自贡地区山羊、养殖场环境及市售生肉中 STEC 的分布和分子特征进行系统研究,不仅有助于了解本地 STEC 的流行规律,还可为评估其通过食品链传播的风险提供科学依据。本研究通过对自贡市所辖四区两县的羊粪便、养殖场环境污水及市售生羊肉进行采样,了解 STEC 流行情况,并基于全基因组序列分析阐明 STEC 分离株的分子特征其潜在的传播机制。

1 材料与方法

1.1 样品采集

样品采集分阶段实施,2024 年 5 月完成两个区

县的羊肉样品采集,6 月完成两个区县的粪便样品采集,7 月全面开展自贡市所辖 6 个区县的样品采集工作,包括羊肉、羊粪便及环境样品。采集农贸市场羊肉样品时,根据当地农贸市场出售生羊肉摊位的数量,每个摊位采集 1~2 份。采集养殖场样品时,根据养殖规模、羊圈数量,确定羊粪便采样数量,每个羊圈采样数约为羊数量的一半。环境污水样品选择在有流动水的养殖场采集。

共采集市售生羊肉 29 份。其中 2024 年 5 月在自贡市 2 个区县农贸市场采集生羊肉样品 3 份(具体为自流井区 2 份、富顺县 1 份),7 月间在 6 个区县的农贸市场共采集羊肉样品 26 份(包括大安区 4 份、贡井区 13 份、沿滩区 2 份、自流井区 2 份、富顺县 3 份、荣县 2 份)。共采集羊粪便样品 431 份,养殖场环境污水样品 6 份。其中 2024 年 6 月采集羊粪便数量合计 28 份(包括富顺县 16 份、荣县 12 份)。7 月间大安区、贡井区、沿滩区、自流井区、富顺县和荣县开展羊粪便及养殖场环境样品采集,除贡井区采集 2 个养殖场外,剩余地区均各采集一个养殖场,7 月采集羊粪便数量合计 403 份,养殖场环境污水 6 份。具体采样数量见表 2。

1.2 主要仪器与试剂

BAGMIXER 均质器(法国 Interscience);SW22 恒温摇床(德国优莱博);WS-01 恒温恒湿生化培养箱(黄石恒丰);SensoQuest Labcycler PCR 仪(德国 Senso);Gel Doc XR + System 凝胶成像系统(美国 Bio-Rad)。EC 肉汤、麦康凯琼脂和 LB 固体培养基(北京陆桥生物技术公司);科马嘉 ECC 培养基及科马嘉 STEC 培养基(法国科马嘉公司);Premix Taq™(大连 TaKaRa 公司);细菌基因组提取试剂盒(美国 Promega 公司);PCR 引物及探针由生工生物工程(上海)有限公司合成。

1.3 样品增菌、菌株分离培养

对于粪便样品,取约 0.5 g 左右的新鲜粪便于 10 mL EC 肉汤中;对于肉类样品,在无菌条件下取 25 g 肉放入装有 225 mL EC 肉汤的均质袋中以 8 000 r/min 均质 1~2 min 制成 1:10 的样品匀液;对于污水样品,吸取 10 mL 污水样品接种到 90 mL 的 EC 肉汤中。STEC 分离鉴定参考实验室前期建立的分离方法,略有改动^[7]。样品经 37 ℃摇床过夜培

养,吸取 1 mL 增菌液以 12 000 r/min 离心半径为 8.6 cm,离心 10 min,弃上清液,加入 500 μ L 无菌水重悬沉淀,金属浴 100 $^{\circ}$ C 10 min,然后 12 000 r/min 离心半径为 8.6 cm,离心 5 min,取上清液即为 PCR 反应的 DNA 模板,PCR 检测引物及反应条件见表 1^[8]。对于 *stx1* 和/或 *stx2* 阳性的增菌液分别接种于 MAC 培养基和科马嘉 ECC 培养基,37 $^{\circ}$ C 过夜培养,在

MAC 培养基上挑取 10 个粉色菌落,在 ECC 上挑取 10 个蓝色菌落,进行菌落 PCR 检测。对 *stx1* 和/或 *stx2* 基因阳性菌株进行纯化并进行生化鉴定。对于每个 STEC 分离阳性的样品,若经鉴定阳性样品中分离的阳性菌株均携带同种志贺毒素型别,且菌落在 MAC 培养基上呈现相同颜色,则只选择 1 株菌株用于后续分析。

表 1 PCR 引物序列
Table 1 Conventional PCR primers

基因	引物序列 (5'-3')	产物长度/bp	退火温度/ $^{\circ}$ C
<i>stx1</i>	stx1F: AAATCGCCATTTCGTTGACTACTTCT	370	58
	stx1R: TGCCATTCTGCGCAACTCGCGATGCA		
<i>stx2</i>	stx2F: CAGTCGTCACCTCACTGGTTTCATCA	283	58
	stx2R: GGATATTCTCCCACTCTGACACC		

1.4 细菌全基因组提取及全基因组测序

根据 Promega 细菌基因组提取试剂盒 Wizard® Genomic DNA Purification Kit 说明提取细菌全基因组 DNA,基因组测序和初步组装由上海美吉生物医药科技有限公司完成。使用 Illumina PE150 平台进行测序,通过删除接头及碱基质量较低的 reads 对测得的原始数据进行质控后得到 clean data,使用 FastQC v0.12.1 对 clean data 进行质检,使用 SPAdes^[9] 和 ABySS^[10] 软件进行组装。

1.5 细菌基因分析

使用 Enterobase 中的埃希菌属数据库(<https://enterobase.warwick.ac.uk/species/index/ecoli>)参考埃希菌属 7 个管家基因 *adk*、*fumC*、*gyrB*、*icd*、*mdh*、*purA* 和 *recA* 对得到细菌基因组拼接序列进行多位点序列分型 (Multi-locus sequence typing, MLST); 使用 ABRicate(version 0.8.10)(<https://github.com/tseemann/abricate>)构建大肠埃希菌 O 抗原和 H 抗原、*stx* 基因亚型的本地数据库,通过比对拼接序列分析菌株血清型和志贺毒素亚型^[11]; 通过 Abricate 软件内置的耐药基因数据库 CARD (<https://card.mcmaster.ca/>),得到菌株耐药基因信息。使用 Snippy(version 4.6.0) (<https://github.com/tseemann/snippy>) 进行全基因组单核苷酸位点多态性分析,使用 snp-dists (V0.7.0)(<https://github.com/tseemann/snp-dists>)计算菌株之间两两 SNP 距离,使用 Chiplot(<https://www.chiplot.online/>)对系统发育进化树进行可视化^[12]。

2 结果

2.1 STEC 菌株分离结果

本研究共检出 STEC 菌株 74 株,其中生羊肉 3 株(3/29, 10.34%),养殖场环境 4 株(4/6, 66.67%),羊粪便 67 株(67/431, 15.55%)。

5 月采集 2 个区县农贸市场 3 份生羊肉样品,

检出 1 株 STEC。6 月采集 2 个区县养殖场 28 份羊粪便,检出 9 株 STEC。7 月采集 6 个区县养殖场 403 份羊粪便,检出 58 株 STEC,在 6 份环境污水样本中检出 4 株 STEC 菌株,采集 6 个区县 26 份羊肉样品,检出 2 株 STEC。各区县的养殖场检出率差异较大,贡井区养殖场羊粪中检出率最高可达 50.00%,而沿滩区羊粪中未检出 STEC。对农贸市场的调查显示,富顺县、荣县、大安区、沿滩区采集的生羊肉样品均未检出 STEC,羊肉来源 STEC 仅在贡井区及自流井区检出。养殖场样和农贸市场品采集和菌株检出数量见表 2。

2.2 血清型、MLST 及志贺毒素亚型分析结果

本研究中 74 株 STEC 菌株可分为 20 种不同血清型(表 3),主要血清型为 O12:H25(15/74, 20.27%),其次为 O21:H25(14/74, 18.92%)及 O38:H26(12/74, 16.22%),血清型为 O110:H9 和 O137:H7 的菌株各有 6 株,O174:H8 有 4 株,O176:H4、O43:H2 和 O133:H25 各有 2 株菌,剩余 11 种血清型分别有 1 株菌与之对应。MLST 结果显示,74 株菌共分为 21 种序列型(表 3),ST10 为主要型别(18/74, 24.32%)。74 株菌包含 5 种不同亚型,*stx1c*(31/74, 41.89%)和 *stx1a*(17/74, 22.97%)是主要亚型,还包括 *stx2b*(3/74, 4.05%)、*stx2g*(3/74, 4.05%)、*stx2k*(3/74, 4.05%),及两种亚型组合:*stx1a+stx2g*(12/74, 16.22%)、*stx1c+stx2b*(5/74, 6.76%)。

血清型 O38:H26、序列型 ST10、携带 *stx1c* 是羊粪便、市售生羊肉、养殖场环境污水来源的菌株所共有的特征,血清型 O12:H25、序列型 ST11948、携带 *stx1a+stx2g* 的菌株在羊粪和养殖场环境污水中共同检出,血清型 O146:H21 序列型为 ST442、血清型 O176:H4 序列型为 ST4441、携带 *stx1c* 的菌株仅分离自生羊肉,血清型 O22:H4、序列型为 ST4145、携带 *stx1c* 的菌株仅分离自养殖场环境。

表2 羊粪、养殖场环境样品及市售生羊肉采集及STEC分离信息

Table 2 Collection of goat fecal, farm and retail raw mutton environment samples and STEC isolation information						
地点	采样场所(样品种类)	5月	6月	7月	合计	检出率/%
		检出数量(株)/ 采样数量(份)	检出数量(株)/ 采样数量(份)	检出数量(株)/ 采样数量(份)	检出数量(株)/ 采样数量(份)	
富顺县	养殖场(羊粪便)	—	7/16	5/92	12/108	11.11
	农贸市场(羊肉)	0/1	—	0/3	0/4	0.00
荣县	养殖场(羊粪便)	—	2/12	9/73	11/85	12.94
	农贸市场(羊肉)	—	—	0/2	0/2	0.00
大安区	养殖场(羊粪便)	—	—	1/56	1/56	1.79
	农贸市场(羊肉)	—	—	0/4	0/4	0.00
贡井区	养殖场A(羊粪便)	—	—	37/74	37/74	50.00
	养殖场B(环境污水)	—	—	4/6	4/6	66.67
	农贸市场(羊肉)	—	—	2/13	2/13	15.38
沿滩区	养殖场(羊粪便)	—	—	0/72	0/72	0.00
	农贸市场(羊肉)	—	—	0/2	0/2	0.00
自流井区	养殖场(羊粪便)	—	—	6/36	6/36	16.67
	农贸市场(羊肉)	1/2	—	0/2	1/4	25.00
合计		1/3	9/28	64/435	74/466	15.88

注:—表示未采样

表3 羊粪便、养殖场环境、市售生羊肉来源74株STEC菌株MLST型别、血清型及志贺毒素亚型分布

Table 3 Distribution of MLST, serotypes, and Shiga toxin subtypes of 74 STEC strains isolated from sheep feces, farm environments, and retail raw mutton								
MLST	志贺毒素亚型							总计
	<i>stx1c</i>	<i>stx1a</i>	<i>stx1a+stx2g</i>	<i>stx1c+stx2b</i>	<i>stx2b</i>	<i>stx2g</i>	<i>stx2k</i>	
ST10	O38:H26(12) ^{abc} O110:H9(6)	—	—	—	—	—	—	18
ST11948	—	—	O12:H25(12) ^c	—	—	O12:H25(3)	—	15
ST155	O21:H25(1)	O21:H25(10)	—	—	—	—	—	11
ST15254	O137:H7(6)	—	—	—	—	—	—	6
ST13	—	—	—	O174:H8(4)	—	—	—	4
ST971	—	O21:H25(3)	—	—	—	—	—	3
ST10326	—	—	—	—	—	—	O133:H25(2)	2
ST937	—	—	—	—	O43:H2(2)	—	—	2
ST57	—	—	—	O176:H4(1)	—	—	—	1
ST16	—	O111:H8(1)	—	—	—	—	—	1
ST11386	O171:H25(1)	—	—	—	—	—	—	1
ST718	—	O168:H8(1)	—	—	—	—	—	1
ST442	O146:H21(1) ^b	—	—	—	—	—	—	1
ST40	OX18:H21(1)	—	—	—	—	—	—	1
ST10648	—	—	—	—	ONT:H19(1)	—	—	1
ST43	—	O6:H10(1)	—	—	—	—	—	1
ST101	—	O55:H12(1)	—	—	—	—	—	1
ST1817	O104:H7(1)	—	—	—	—	—	—	1
ST17222	—	—	—	—	—	—	OgN8:H32(1)	1
ST4145	O22:H4(1) ^c	—	—	—	—	—	—	1
ST4441	O176:H4(1) ^b	—	—	—	—	—	—	1
总计	31	17	12	5	3	3	3	74

注:“括号内为对应菌株数量(余同);^b包含生羊肉样本分离菌株;^c包含环境样本分离菌株

2.3 耐药基因

从74株STEC菌株基因组中比对到9类31种耐药基因,其中86.49%的菌株携带5种以上的耐药基因。检出氨基糖苷类耐药基因9种,以 $arr-2$ (31/74,41.89%)为主。 β -内酰胺类耐药基因6种,以 bla_{OXA-10} (26/74,35.14%)为主。氯霉素类耐药基因4种,以 $floR$ (34/74,45.95%)为主。四环素类耐药基因3种, $tetA$ (35/74,47.30%)为主。磺胺类耐药基因3种,以 $sul2$ (17/74,22.97%)为主。甲氧苄啶类2种,主要是 $dfpA14$ (31/74,41.89%)。大环内

酯类2种,主要是 $mphA$ (19/74,25.68%)。喹诺酮类耐药基因和林可酰胺类各1种,分别是 $qnrS1$ (41/74,55.41%)、 $linG$ (4/74,5.41%)。值得注意的是,菌株编号STEC1808、STEC1809和STEC1810三株菌同时携带14个6种以上耐药基因,并且均同时携带碳青霉烯类耐药基因 bla_{OXA-10} ,这3株菌均分离自同一个养殖场的羊粪。

2.4 全基因组系统进化分析

将本研究中分离的74株STEC构建基于全基因组单核苷酸多态性的系统进化树,分析结果显示



菌株按照血清型或 MLST 型聚类,形成多个簇。进一步分析存在不同来源、不同分离时间的菌株的聚类,即图中标注的 5 个簇 cluster 1~cluster 5,在 cluster 1 中,血清型为 O137:H7 的菌株聚类到一簇,这些菌株在 6 月和 7 月分离自富顺县的羊粪便,菌株间 SNP 差异<28。在 cluster 2 中,血清型为 O12:H25 的菌株聚类到一簇,这些菌株分离自富顺县和贡井区两地,且贡井区菌株来源包括环境污水和羊粪便,环境污水来源菌株 STEC1878 与同簇羊粪便来源菌株 SNP 差异<18。在 cluster 3 中,贡井区羊粪便来源的菌株与农贸市场生羊肉来源菌株聚在一簇,SNP 差异为 167,血清型均为 O176:H4。在 cluster 4 中,血清型为 O38:H26 的菌株聚类到一簇,这些菌株分离自荣县的羊粪便、自流井区的环境污水和贡井区的羊肉,且样品采集时间分布于 5—7 月,羊肉来源菌株 STEC1885 与养殖场环境来源菌株 STEC1880 的 SNP 差异为 98,与同簇羊粪便来源菌株 SNP 差异<116,养殖场环境来源菌株 STEC1880 与同簇羊粪便来源菌株 SNP 差异<37。

STEC 在羊粪便、养殖场环境及市售生肉中的分离结果表明,在自贡地区,羊群也是 STEC 的重要宿主,而养殖场环境可能是 STEC 传播的关键环节。许多国家的羊、生羊肉中均有检出,其流行情况随地区动物饲养条件、屠宰方式、运输方式及采样方

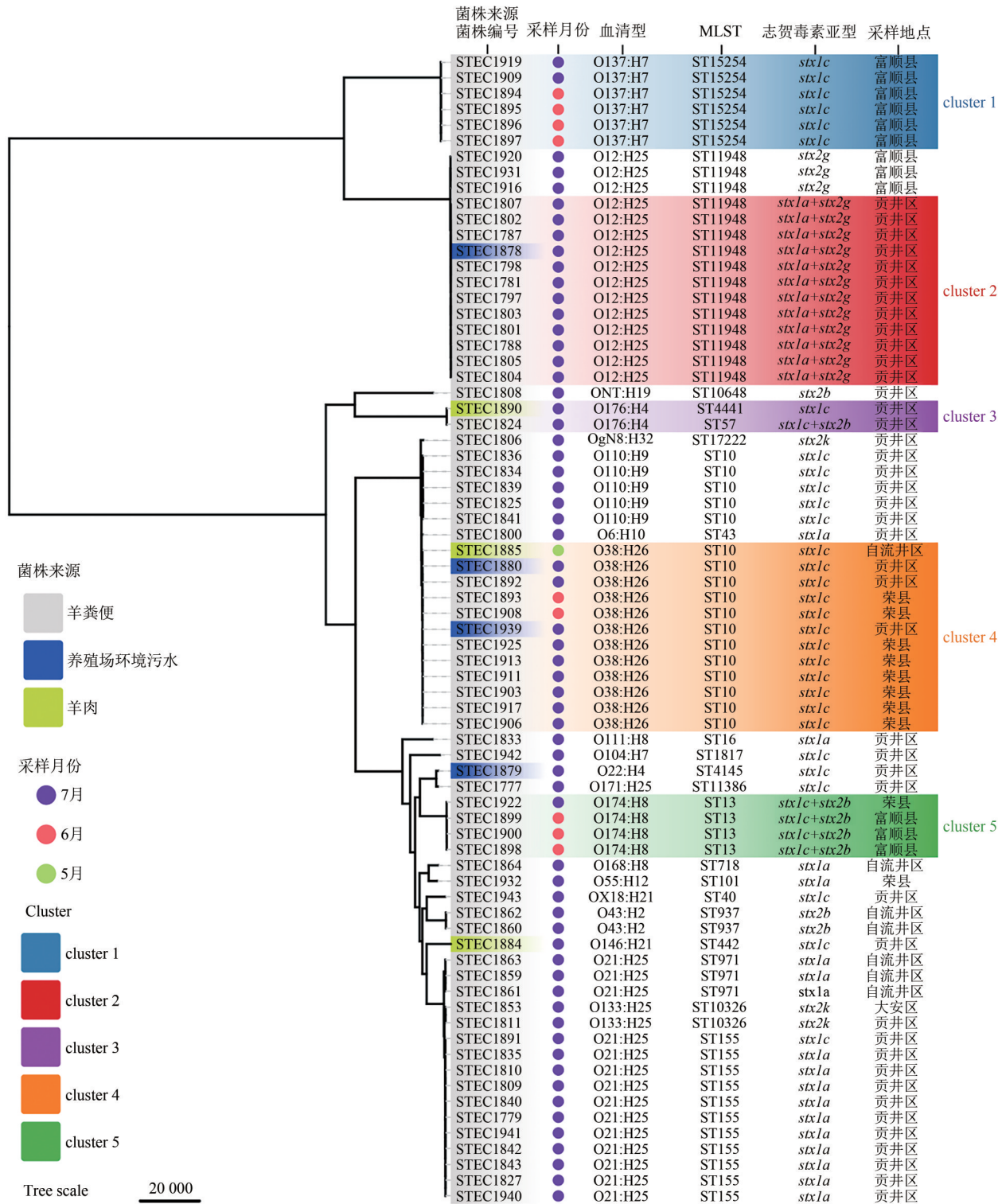


图2 74株STEC菌株系统进化树

Figure 2 Phylogenetic analysis of 74 STEC strains

式等不同而存在差异,我国不同地区调查显示羊中 STEC 菌株分离率为 10.4%~15.47%^[6,14-15],在南非可高达 80.2%^[16]。值得注意的是,本研究中养殖场环境污水的检出率高达 66.67%,提示环境污水可能是 STEC 在养殖场内传播的重要媒介,但由于存在流动污水的养殖场较少,因此环境污水的采样点存在一定局限性。此外,自贡不同区县的检出率差异较大,这可能与养殖场的卫生管理水平、饲养密度及环境条件有关,此外样品采集数量是根据养殖规模及羊圈数量的估计值,也可能也会对不同地区养殖场检出结果产生影响。

血清型和 MLST 型的多样性反映了 STEC 在自贡地区的广泛分布和遗传多样性。志贺毒素亚型分析显示,目前仅存在于我国分离菌株中的 *stx2k*

新亚型也有检出,值得注意的是,最初报道 *stx2k* 新亚型在四川地区腹泻患者中检出^[17],在此后的研究中我国多地羊来源 STEC 菌株均检出携带 *stx2k* 亚型^[18-20],本研究分离的两种不同分子特征 *stx2k* 亚型菌株与四川腹泻患者来源菌株均具有不同血清型,但与山东地区羊来源菌株具有相同血清型及 MLST 型,提示 *stx2k* 亚型的菌株感染人潜力可能不同。

全基因组单核苷酸多态性的系统进化分析提示,可能存在同一地区内山羊通过粪便排菌污染了环境的传播链,以及跨地区的养殖场山羊粪便到农贸市场售卖的生羊肉的传播链。血清型为 O38:H26、MLST 序列型为 ST10、携带 *stx1c* 的菌株串联起了 3 个不同地区的 3 种不同样品,且样品的采集时间存在跨度,表明这种类型菌株可能在时间和空间上持续存在并发生了传播。

综上所述,本研究揭示了自贡地区 STEC 的流行特征及其潜在的传播链,为制定针对性的防控措施提供了科学依据,也为 STEC 的传播路径提供了重要线索,建议在高风险区域加强养殖场卫生管理和环境监测,加强对养殖场到市场全链条的卫生监管,以阻断可能出现的 STEC 的传播。

参考文献

- [1] FREEDMAN S. B., VAN DE KAR N., TARR P. I. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and the Hemolytic Uremic Syndrome [J]. New England Journal of Medicine, 2023, 389: 1402-1414.
- [2] KIM J. S., LEE M. S., KIM J. H. Recent updates on outbreaks of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and its potential reservoirs [J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2020, 10: 273.
- [3] RAY R., SINGH P. Prevalence and implications of Shiga toxin-producing *E. coli* in farm and wild ruminants [J]. Pathogens, 2022, 11: 1332.
- [4] WANG X. A Comprehensive review on Shiga toxin subtypes and their niche-related distribution characteristics in Shiga-toxin-producing *E. coli* and other bacterial hosts [J]. Microorganisms, 2024, 12(4): 687.
- [5] MATUSSEK A. Genome-wide association study of hemolytic uremic syndrome causing Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from Sweden, 1994—2018 [J]. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 2023, 42(6): 771-779.
- [6] YANG X. High prevalence and persistence of *Escherichia coli* strains producing Shiga toxin subtype 2k in goat herds [J]. Microbiology Spectrum, 2022, 10(4): e0157122.
- [7] BAI X. Molecular and phylogenetic characterization of Non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains in China [J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2016, 6: 143.
- [8] FAN R. High prevalence of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in beef cattle detected by combining four selective agars [J]. BMC Microbiology, 2019, 19(1): 213.
- [9] BANKEVICH A. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing [J]. Journal of Computational Biology, 2012, 19(5): 455-477.
- [10] SIMPSON J. T. ABySS: a parallel assembler for short read sequence data [J]. Genome Research, 2009, 19(6): 1117-1123.
- [11] SUI X. Characteristics of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* circulating in asymptomatic food handlers [J]. Toxins (Basel), 2023, 15(11): 640.
- [12] XIE J. Tree visualization by one table (tvBOT): a web application for visualizing, modifying and annotating phylogenetic trees [J]. Nucleic Acids Research, 2023, 51(W1): W587-W592.
- [13] CAPRIOLI A., SCAVIA G., MORABITO S. Public health microbiology of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* [J]. Microbiology Spectrum, 2014, 2(6): 10.1128.
- [14] 张萌萌. 新疆牛、羊和骆驼源非 O157 产志贺毒素大肠埃希菌的分子生物学特性分析 [D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2022.
- [15] ZHANG M. M. Molecular biological characterization of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from cattle, sheep and camels in Xinjiang [D]. Urumqi: Xinjiang Agricultural University, 2022.
- [15] 胡夏佩, 王惠, 孔学维, 等. 反刍动物产志贺毒素大肠杆菌的分离鉴定和致病潜力分析 [J]. 微生物学报, 2021, 61(8): 2495-2505.
- [16] HU X. P., WANG H., KONG X. W. et al. Isolation, identification and pathogenic potential analysis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from ruminants [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2021, 61(8): 2495-2505.
- [16] MALAHLELA M. N. Occurrence, serotypes and virulence characteristics of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* isolates from goats on communal rangeland in South Africa [J]. Toxins (Basel), 2022, 14(5): 353.
- [17] YANG X. *Escherichia coli* strains producing a novel Shiga toxin 2 subtype circulate in China [J]. International Journal of Medical Microbiology, 2020, 310(1), 151377.
- [18] HAN Y. Genetic and phylogenetic characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and enteropathogenic *E. coli* from livestock in Jiangsu by using whole-genome sequencing [J]. Journal of Applied Microbiology, 2022, 132(5): 3925-3936.
- [19] 王鹏, 周乐乐, 王均竹, 等. 北京某区羊粪中产志贺毒素 2k、2l 新亚型大肠埃希菌的检出及病原特征分析 [J]. 中国人兽共患病学报, 2024, 40(12): 1146-1151.
- [19] WANG P., ZHOU L. L., WANG J. Z. et al. Detection and pathogenic characteristics of two new *Escherichia coli* subtypes producing Shiga toxin 2k and 2l in sheep feces in a district of Beijing [J]. Chinese Journal of Zoonoses, 2024, 40(12): 1146-1151.
- [20] 姜德水, 杨茜, 焦红波, 等. 山东省兰陵县羊粪中产志贺毒素 2k 新亚型大肠埃希菌的检出及其分子特征分析 [J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2020, 40(5): 350-354.
- [20] JIANG D. S., YANG X., JIAO H. B., et al. Identification and characterization of *Escherichia coli* strains producing a novel Shiga toxin 2k subtype in goat feces in Lanling county, Shandong province [J]. Chinese Journal of Microbiology and Immunology, 2020, 40(5): 350-354.