

## 研究报告

## 肉制品中致泻大肠埃希菌的分子特征分析

姬庆龙,赵贵明,杨海荣,王婷,赵勇胜,赵晓美,陈颖  
(中国检验检疫科学研究院,北京 100176)

**摘要:**目的 了解国内肉制品中致泻大肠埃希菌(DEC)的流行特征。方法 运用全基因组测序技术对86株DEC进行分子特征分析,明确优势病理类型、序列型和血清型。通过全基因组单核苷酸多态性分析,确定我国肉制品来源DEC菌株之间的系统发育关系。结果 肉制品中致泻大肠埃希菌的病理类型以EAEC为主,86株DEC可分为8种毒力基因型,包括48个ST型(包括6个新ST型)和55个O:H血清型;ST11和CC10为优势序列型和克隆复合体,O157、O15和O6为优势血清群。DEC菌株间表现为高度的遗传异质性,相同病理类型的同源性较低,处在不同的进化分支上。结论 DEC的病理类型与ST型及血清型间未见对应关系,通过对ST型及血清型的监测不能直接对病理类型进行判断,但数量最多的ST型及血清型揭示了DEC的主要危害特征与防控点。可根据全基因组测序结果补充和优化DEC的判定方法,为今后DEC的溯源及流行病学调查提供数据支撑。

**关键词:**致泻大肠埃希菌;毒力基因;多位点序列分型;血清型

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2023)09-1272-08

DOI:10.13590/j.cjfh.2023.09.004

**Molecular characterization of *Diarrheagenic Escherichia coli* in meat products**

Ji Qinglong, ZHAO Guiming, YANG Hairong, WANG Ping, ZHAO Yongsheng,  
ZHAO Xiaomei, CHEN Ying

(Chinese Academy of Inspection and Quarantine, Beijing 100176, China)

**Abstract: Objective** This study aimed to understand the epidemic characteristics of *Diarrheagenic Escherichia coli* (DEC) in domestic meat products. **Methods** The molecular characteristics of 86 strains of DEC were analyzed by whole genome sequencing technology, and the dominant pathological types, STs, and serotypes were identified. The phylogenetic relationship between DEC strains derived from meat products in China was determined through whole genome single nucleotide polymorphism. **Results** The results showed that the pathological types of DEC in meat products were mainly EAEC. Eighty-six DEC strains were divided into eight virulence genotypes, including 48 ST types (including six new ST types), and 55 O:H serotypes. ST11 and CC10 were the predominant ST and clonal complex, respectively. O157, O15, and O6 were the predominant serogroups. DEC strains exhibited high genetic heterogeneity, the same pathological type had low homology, and they were in different evolutionary branches. **Conclusion** There is no correspondence between DEC pathological types and ST types and serotypes. The pathological types cannot be directly judged by monitoring ST types and serotypes, but the most numerous ST types and serotypes reveal the main hazard characteristics and prevention of DEC. The determination method of DEC can be supplemented and optimized according to the results of whole genome sequencing, which can provide data support for the traceability and epidemiological investigation of DEC in the future.

**Key words:** *Diarrheagenic Escherichia coli*; virulence gene; MLST; serotypes

大肠埃希菌是食品、水源和环境中的常见兼性

厌氧细菌,通常对宿主无害,但携带志贺毒素、肠毒素等特殊毒力因子的大肠埃希菌可引起食物中毒,临床表现为出血性腹泻或结肠炎。导致患者腹泻的这类菌株称为致泻大肠埃希菌(*Diarrheagenic Escherichia coli*, DEC),根据其致病作用分为肠致病性大肠埃希菌(*Enteropathogenic E. coli*, EPEC)、肠侵袭性大肠埃希菌(*Enteroinvasive E. coli*, EIEC)、产肠毒素大肠埃希菌(*Enterotoxigenic E. coli*,

收稿日期:2022-09-20

基金项目:中国检验检疫科学研究院基本科研业务费项目  
(2020JK011)

作者简介:姬庆龙 男 助理研究员 研究方向为食源性致病菌快速检测与鉴定 E-mail:jql81070305@aliyun.com

通信作者:陈颖 女 研究员 研究方向为食品质量与安全  
E-mail:chenyingcaiq@163.com

EPEC)、肠出血性大肠埃希菌(Enterohemorrhagic *E. coli*, EHEC)又称产志贺毒素大肠埃希菌(Shiga toxin-producing *E. coli*, STEC)、肠集聚性大肠埃希菌(Enteroaggregative *E. coli*, EAEC)和弥散黏附性大肠埃希菌(Diffusely adherent *E. coli*, DAEC)<sup>[1]</sup>。食用了被 DEC 污染的食物可导致食源性疾病的发生,中国卫生健康统计年鉴中显示,2020年由 DEC 引起的食物中毒事件和人数占全国食物中毒总数的 0.8%(58/7 066)和 4.1%(1 520/37 427),也是近年主要的致病因素之一<sup>[2]</sup>。2021年颁布和实施的《食品安全国家标准 预包装食品中致病菌限量》GB 29921—2021中对 DEC 提出了限量要求,但目前标准中只规定了食品中 EPEC、EIEC、EPEC、EHEC 和 EAEC 的检测方法和评判原则,缺乏 DAEC 的检测方法<sup>[3-4]</sup>。

国际上通过聚合酶链式反应(Polymerase chain reaction, PCR)的检测方法,根据是否携带特征毒力基因,将 DEC 分成不同的病理类型。DEC 的致病能力存在显著差异,通常 EHEC 对人的致病能力最强,EPEC、EIEC 和 ETEC 次之,EAEC 和 DAEC 相对较弱<sup>[5]</sup>。相同病理类型菌株又因为携带毒力基因的种类、数量及亚型不同导致对宿主受体的黏附力、细胞毒性、致病性等存在很大差异<sup>[6-8]</sup>,因此 DEC 在检测分离后通常还需进一步的分型确认。EHEC 可产生两种志贺毒素 Stx1 和 Stx2,研究表明只产生 Stx2 的 EHEC 菌株比只产生 Stx1 或同时产生 Stx1 和 Stx2 两种毒素的菌株毒力更强;而 *stx1* 和 *stx2* 基因又可以分为多个亚型,其中 *stx2a*、*stx2c* 和 *stx2d* 亚型引起溶血性尿毒综合征(Haemolytic uremic syndrome, HUS)等严重疾病的概率比其他志贺毒素亚型的要高<sup>[9-10]</sup>。目前对 DEC 的不同病理类型的分子特征相关信息缺乏系统性研究,有必要综合分析归纳 DEC 病理类型、ST 型、血清型之间的关联性。

本研究运用全基因组测序技术对 86 株分离于肉制品的 DEC 进行分子特征分析,通过毒力基因注释,判定其序列亚型和菌株的病理类型,并进行多位点序列分型(Multi-locus sequence typing, MLST)和血清型分析,明确优势病理类型、ST 型和血清型。通过全基因组单核苷酸多态性分析(Whole genome single nucleotide polymorphism, wgSNP),揭示我国食源性 DEC 的遗传多样性及进化关系,为食源性疾病的防控与突发事件溯源提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌株及来源

2004 年以来,从北京、天津、河北、吉林、辽宁等

地肉制品中分离致泻大肠埃希菌 86 株,以北京分离株(48.84%, 42/86)为主,其次为吉林(19.77%, 17/86)和辽宁(11.63%, 10/86)分离株,其他省份分离株均在 6 株以下。菌株以冻干粉菌种管的形式保存于中国检验检疫科学研究院微生物菌种保藏管理中心(Inspection Quarantine Culture Collection, IQCC)。

### 1.2 主要仪器与试剂

NanoDrop ONE 微量分光光度计、台式离心机购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司;电泳仪购自北京六一仪器厂;Versa Doc 凝胶成像系统购自美国 BIO-RAD 公司;微量移液枪购自德国 Eppendorf 公司。

胰酪胨大豆肉汤(Trypticase soy broth, TSB)培养基、胰酪胨大豆琼脂(Trypticase soy agar, TSA)培养基购自英国 OXOID 公司;DNA 提取试剂盒购自天根生化科技(北京)有限公司;琼脂糖购自北京擎科新业生物技术有限公司;Gel-red 购自美国 Biotium 公司。所有耗材试剂均在有效期内使用。

### 1.3 全基因组测序及注释

全基因组测序由武汉华大基因技术服务有限公司高通量实验室完成,采用 BGISEQ500 平台进行细菌基因组 *de novo* 测序。先将样本 DNA 随机打断,构建 350 bp 小片段文库,分别进行平行测序。测序获得原始数据,进行质控,利用 Spades (v3.13.0)软件对质控后的 Clean data 进行拼接与组装。参考病原菌毒力因子数据库(Virulence Factors Database, VFDB, <http://www.mgc.ac.cn/VFs/>)使用 BioNumerics 7.0 软件对序列进行注释(E-Value: 1e-10, identity>80%)。从 GenBank 中下载志贺毒素基因各亚型序列(*stx1a*、*stx1c*、*stx1d*、*stx2a*~*stx2k*)作为参考进行志贺毒素亚型判定<sup>[11-13]</sup>。

### 1.4 DEC 病理类型的判定

参照 GB 4789.6—2016《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》<sup>[3]</sup>和 BARLETTA 等<sup>[14]</sup>研究中 DEC 病理类型判定的 15 种毒力基因 *escV*、*eae*、*bfpB*、*stx1*、*stx2*、*lt*、*stx*、*stxH*、*invE*、*ipaH*、*aggR*、*pic*、*astA*、*afaC*、*afaD*, 使用 Python 从拼接好的序列中提取相应毒力基因,根据毒力基因的组合方式最终判定 DEC 的病理类型。其中含有 *bfpB* 基因的被称作典型 EPEC (typical EPEC, tEPEC),含有 *aggR* 基因的称为典型 EAEC (tEAEC),其余则为非典型 EPEC (atypical EPEC, aEPEC) 和非典型 EAEC (aEAEC)。

### 1.5 MLST 分析

参照 PubMLST 下载的大肠埃希菌分型的管家

基因 *adk*、*fumC*、*gyrB*、*icd*、*mdh*、*purA*、*recA*，使用 BioNumerics 7.0 软件从拼接好的 DEC 序列中提取相应的管家基因，对每个基因进行分型，并给出每个基因组的 ST 型。无法获得 ST 分型的菌株，将 reads 上传至 Enterobase 网站 (<https://enterobase.warwick.ac.uk/species/ecoli/>)，获得新的等位基因号和 ST 型别。

1.6 血清型分析

利用 SerotypeFinder 2.0 软件<sup>[15]</sup>，从 DEC 序列中提取 O 抗原基因 (*wzx*、*wzy*、*wzm* 和 *wzt*) 和用于 H 抗原分型的鞭毛蛋白基因 (*fliC*、*flkA*、*fliA*、*flmA* 和 *flnA*)，通过计算给出每个基因组的血清型。

1.7 全基因组单核苷酸多态性分析

利用 kSNP3 软件对 DEC 的全基因组序列进行 wgSNP 分析，建立进化树，同时利用在线网站 iTOL (<http://itol.embl.de/>) 修饰进化树。

2 结果

2.1 病理类型及毒力基因检测

参照 DEC 检验标准 GB 4789.6—2016 和全基因组测序结果，86 株 DEC 中，*ipaH* 基因阳性 41 株，包括 3 种亚型，与标准序列一致的 *ipaH* 基因阳性 2 株；*astA* 基因阳性 37 株；*escV/aeae* 基因阳性 21 株，其

中 *aeae* 基因有 3 种亚型，与标准序列一致的 *aeae* 基因阳性 11 株；*stx1* 基因阳性 15 株，全部为 *stx1a* 亚型；*stx2* 基因阳性 12 株，包括 *stx2a* 和 *stx2c* 两种亚型；*pic*、*afaC* 基因阳性菌株各 5 株；*bfpB*、*sth* 基因阳性菌株各 2 株；*lt*、*stp*、*aggR* 基因阳性菌株各 1 株；未检出 *invE* 和 *afaD* 基因。病理类型以 EAEC (48.84%，42/86) 为主，其次为 EHEC (20.93%，18/86)、EPEC (16.28%，14/86)、DAEC (5.81%，5/86)，ETEC 和标准 EIEC 最少 (各占 2.33%，2/86)。

毒力基因检测结果显示，部分 DEC 菌株含有多种病理类型的特征毒力基因，根据毒力基因的组合方式最终判定，86 株 DEC 可分为 EAEC、EHEC、EHEC-EAEC、EPEC、EPEC-EAEC、ETEC-EAEC、EIEC 和 DAEC 共 8 种毒力基因型，不同类型致泻大肠埃希菌根据其携带的毒力基因可分为 16 个亚型，毒力基因分布情况见表 1。

2.2 MLST分型结果

86 株 DEC 分离株可分为 48 个 ST 型和 19 个克隆复合体 (Clone complexes, CC)，ST13183~ST13187 和 ST13189 为本研究发现的 6 种新 ST 型。其中 ST11 和 CC10 (各占 11.63%，10/86) 为优势序列型和克隆复合体，其次为 ST13187 (6.98%，6/86)，ST641 (CC86) 和 ST13185 (CC446) (各占 5.81%，

表1 不同类型致泻大肠埃希菌的毒力基因分布

Table 1 The distribution of virulence genes in different diarrheogenic *Escherichia coli*

菌株类型	数量	毒力基因检测 <sup>a</sup>											
		<i>escV/aeae</i>	<i>bfpB</i>	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>lt</i>	<i>stp</i>	<i>sth</i>	<i>astA</i>	<i>aggR</i>	<i>pic</i>	<i>ipaH<sup>b</sup></i>	<i>afaC</i>
aEAEC	12								+				
	3										+		
aEAEC-EIEC*	7								+			+	
	2										+	+	
tEAEC-EIEC*	1								+	+		+	
EHEC	6			+	+								
	5			+									
EHEC-aEAEC	3	+		+	+				+				
	2	+			+				+				
	1	+		+					+				
EHEC-aEAEC-EIEC*	1	+			+				+			+	
aEPEC	4	+											
tEPEC	1	+	+										
aEPEC-aEAEC	6	+							+				
aEPEC-EIEC*	1	+										+	
tEPEC-aEAEC-EIEC*	1	+	+						+			+	
aEPEC-aEAEC-EIEC*	1	+							+			+	
ETEC-aEAEC	1					+	+	+	+				
	1							+	+				
EIEC	2											+	
DAEC-EIEC*	5											+	+
EIEC*	20											+	
总数	86	21	2	15	12	1	1	2	37	1	5	41	5
占比/%		24.42	2.33	17.44	13.95	1.16	1.16	2.33	43.02	1.16	5.81	47.67	5.81

注：a“+”表示相应的基因检测结果为阳性；b“*ipaH*”为质粒侵袭抗原基因，是一类家族基因包含多种亚型，标准型标记为 EIEC，其余亚型标记为 EIEC\*。

5/86), ST73 (4.65%, 4/86), ST793 (CC206) 和 ST1434 (各占 3.49%, 3/86), 其余型别菌株数均小于 3 株, 详情见图 1。ST11、CC10、ST641(CC86) 和 ST73 等优势序列型在不同省份中均有发现, 呈散发分布。其中 EIEC\*、EAEC 和 EPEC 的多样性最高, 分别有 30、24 和 9 个 ST 型, 每个 ST 型分别包含 1~5 个菌株; EHEC 包含 3 个 ST 型, 其中 ST11 (38.89%, 7/18) 为主要序列型。而 ETEC、EIEC 和 DAEC 分布较少, 只包含 1~2 个 ST 型。ST 型与病理类型间未见明显对应关系, 如 ST11 可对应 EHEC 和 EPEC 两种病理类型。

### 2.3 血清型分析结果

86 株 DEC 分离株中, 有 4 株无 O 抗原基因, 其余 82 株 DEC 可分为 39 个 O 血清群, 共计 55 种 O:H 血清型。发现 4 种国际上重点关注的血清型, 包括 10 株 O157:H7 血清型和 3 株“top six”血清群 (O26、O111 和 O121)。其中 O157 (13.95%, 12/86) 为优势血清群, 其次为 O15 (11.63%, 10/86)、O6 (8.14%, 7/86)、O130 (6.98%, 6/86)、O91 (5.81%, 5/86)、O8 和 O115 (各占 3.49%, 3/86), 其余 O 血清群菌株数均小于 3 株, 详情见图 1。O157、O15、O6 和 O8 等优势血清群分布在我国多个省份, 表明我国地域间 DEC 血清型种类无明显差异。其中 EIEC\*、EAEC 和 EPEC 的多样性最高, 分别有 35、28 和 9 种血清型, 每个血清型分别包含 1~4 个菌株; EHEC 包含 3 种血清型, O157:H7 占比最高 (38.89%, 7/18); ETEC、EIEC 和 DAEC 分别包含 2 种血清型。血清型与病理类型间也无明显对应关系, 相同血清型的 DEC 可分成不同的病理类型。

### 2.4 wgSNP 分析结果

如图 1 所示, 86 株 DEC 菌株间表现为较高度的遗传异质性, 相同病理类型的序列同源性较低, 处在不同的进化分支上。致病力相对最强的 EHEC 处于 3 支不同的进化分支上: 其中 O91:H49 (ST13185) 菌株间同源性最高, 可能来源于同一批污染物; O130:H11 (ST13187) 可分为两个聚簇群, 该型别可能在当地已发生传播, 菌株序列已出现变异; O157:H7 (ST11) 分布于我国多个省份, 携带多种病理类型的特征毒力基因, 有较高的遗传多样性。优势型 CC10 (ST10、ST43、ST48、ST2207 和 ST13186) 是进化速度最快的克隆复合体, 同型别之间遗传差异较大, 预示 CC10 对环境的适应能力最强。

## 3 讨论

为了解国内肉制品中 DEC 的流行特征, 研究病理类型与 ST 型和血清型的对应关系, 分析其潜在

的食品安全问题, 本研究对从肉制品中分离的 86 株 DEC 进行全基因组测序并进行分析。研究表明, wgSNP 对 DEC 的分型能力最强, 血清型方法次之, MLST 分型方法相对较弱。肉制品中的 DEC 呈高度多态性, 86 株 DEC 可分为 8 种毒力基因型, 48 个 ST 型 (包括 6 个新 ST 型) 和 55 个 O:H 血清型。病理类型以 EAEC 为主, 与张巍巍等<sup>[16]</sup>、付宇等<sup>[17]</sup>报道的情况吻合。ST11 和 CC10 占比最高, 优势 O 血清群是 O157、O15 和 O6, 不同地域间的优势 DEC 型别无显著差异, 与王燕等<sup>[18]</sup>、余晓丰等<sup>[19]</sup>报道基本一致。EAEC 和 EIEC\* 的菌株数量虽多, 但遗传多样性相对丰富, 分布在多种 ST 型和血清型中; 而 EHEC 是致病能力最强的病理类型, 其中 O157:H7 是国际上最早发现的 DEC 菌株, 常有针对性的分离识别与重点监测, 导致 O157:H7 (ST11) 在单个型别数量占优。本研究中 O157:H7 (ST11) 包括 *stx1a* (5.56%, 1/18)、*stx1a-stx2a* (16.67%, 3/18)、*stx2a* (5.56%, 1/18) 和 *stx2c* (11.11%, 2/18) 4 种亚型, O91:H49 (ST13185) 全部为 *stx1a* 亚型 (27.78%, 5/18); O130:H11 (ST13187) 全部为 *stx1a-stx2a* 亚型 (33.33%, 6/18); 根据携带的毒力基因和志贺毒素亚型种类, O157:H7 (ST11) 的致病力最强, O130:H11 (ST13187) 次之, O91:H49 (ST13185) 相对较弱, 与文献报道的临床结果一致<sup>[20-25]</sup>。本研究中收集的 DEC 表现为较高度的遗传异质性, 相同病理类型的序列同源性较低, 处在不同的进化分支上。病理类型与 ST 型及血清型间未见明显对应关系, 对 ST 型及血清型的监测不能直接对病理类型进行判断, 但数量最多的 ST 型及血清型揭示了 DEC 的主要危害特征与防控点。定期对优势型别进行跟踪研究, 不仅可以对其流行状况进行评估, 也可结合临床数据阐释 DEC 的致病机制。

传统 PCR 检测方法根据目的基因设计特异性引物, 检测范围无法覆盖新亚型。而全基因组测序技术可对全部序列进行注释, 可针对新亚型的序列对原有方法进行补充和优化。依据 DEC 检验标准 GB 4789.6—2016, 在判定 EPEC 或 EHEC 时, 蛋白分泌物调节基因 *escV* 与紧密素基因 *eae* 等效。本研究发现, 22 株 *escV* 基因阳性菌株中检测出 3 种 *eae* 基因 (VF\_id: VFG000803、VFG033065、VFG033057), 其中 VFG000803 为标准中的 *eae* 基因序列, 其余亚型的基因同源性在 78.6%~82.9% 之间。表明 *escV* 基因与 *eae* 基因虽然等效, 但 *escV* 基因序列更保守, 更适合当作检测 EPEC 或 EHEC 的靶基因; 而 *eae* 基因含有多种亚型, 更适合用于分型溯源研究<sup>[26-27]</sup>。



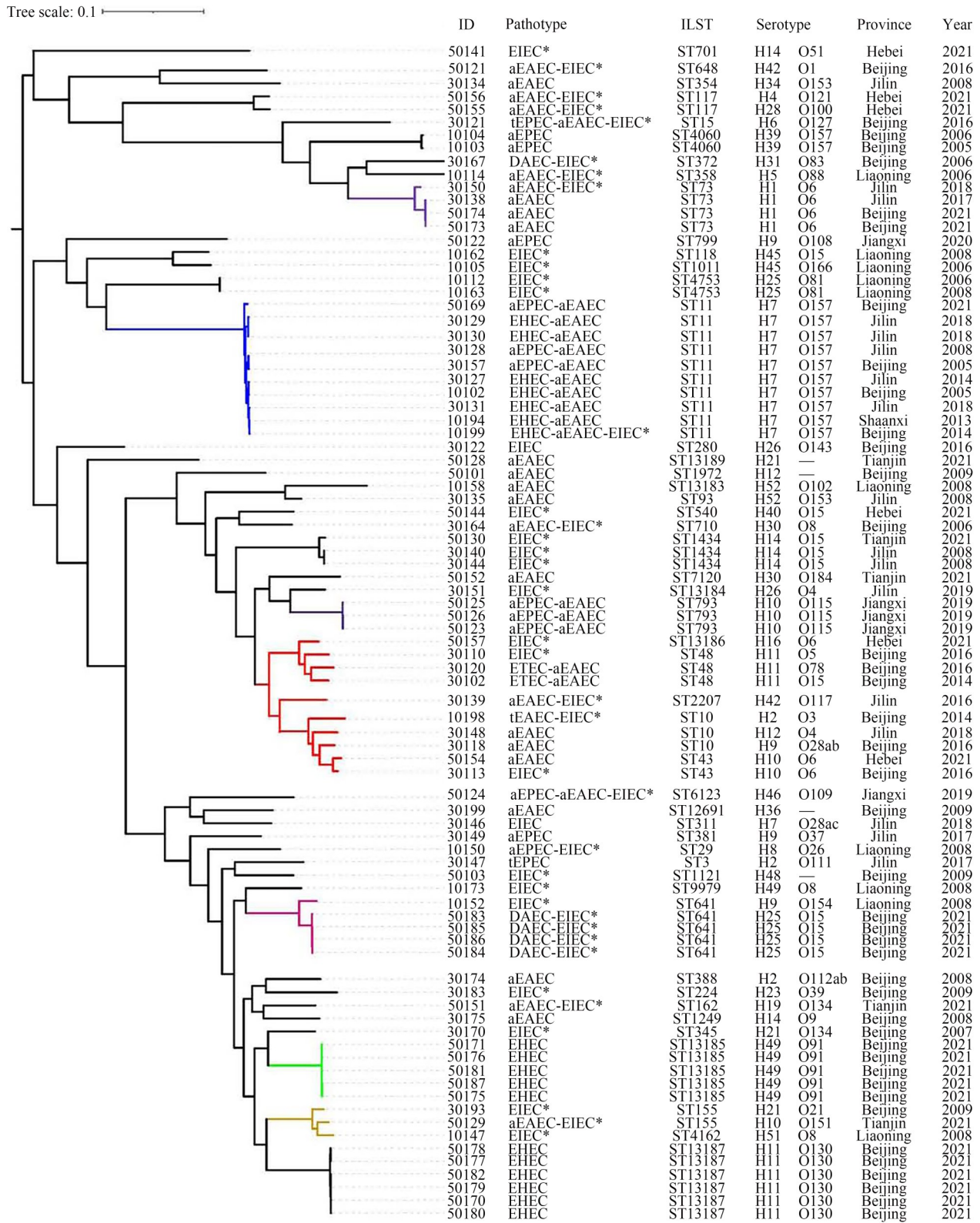


图1 86株致泻大肠埃希菌的全基因组单核苷酸多态性分析图

Figure 1 The phylogenetic tree of 86 DEC strains based on wgSNP

本研究的41株 *ipaH* 基因可注释分成3种亚型 (VF\_id: VFG020147、VFG012870、VFG012837), 其中 VFG020147 为标准中的 *ipaH* 基因序列, 其余亚型基因同源性仅在30%左右。*ipaH* 家族是Ⅲ型分泌系统(T3SS)分泌的效应蛋白, 家族成员在蛋白结构和功能上高度相似且与致病性密切相关<sup>[28-31]</sup>。因

此将与标准 *ipaH* 基因同源性不高的其他亚型标记为 EIEC\*。根据标准判定 EIEC 时, 质粒侵袭调节基因 *invE* 应该与质粒侵袭抗原基因 *ipaH* 等效, 但本研究收集的 *ipaH* 基因阳性菌株中均无 *invE* 基因。赵琳娜等<sup>[32]</sup>在研制 EIEC 标准物质时也未检测到标准中的 *invE* 基因序列, 但通过 *invE* 上下游引

物 PCR 扩增测序,发现病毒因子转录激活因子基因 *virB* 与 *invE* 基因序列是同族基因的不同亚型。本研究中标注为 EIEC\* 的菌株均可检出 *virB* 基因(序列同源性 40.4%~63.5%),且主要血清群为 DEC 中常见的 O6、O8 和 O15 血清群等,因此将 EIEC 全部归类至 DEC,但是否可直接等同于 EIEC,还需要进一步的研究与临床数据支撑。在判定 DAEC 时,非菌毛黏附素亚单位 D 基因 *afaD* 和锚定蛋白基因 *afaC* 序列相对保守,常单独作为检测 DAEC 的靶基因<sup>[33-36]</sup>。阳波等<sup>[37]</sup>研究发现,我国腹泻标本中 *afaC* 与 *afaD* 基因在 DAEC 菌株中的携带情况完全一致,但本研究发现的 5 株从肉制品中分离的 DAEC 皆为 *afaC* 基因单独阳性。这可能是国内首次在肉制品中分离出 DAEC,鉴于目前检测的标本数量有限,不能排除存在 *afaD* 基因单独阳性株的情况。

综上所述,本研究通过全基因组测序技术,对肉制品中分离的 DEC 进行毒力基因检测和分子特征分析,不仅可掌握肉制品中 DEC 的分布情况,明确优势型别,还根据全基因组测序结果对 DEC 的判定方法进行补充和优化,为今后开展 DEC 分子流行病学监测和食源性疾病的防控提供数据基础。

## 参考文献

- [1] BRENNER D J, KRIEG N R, STALEY J T. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* [M]. Boston, MA: Springer US, 2005.
- [2] 中国卫生健康统计年鉴委员会. 12-1-1 各类致病因素食源性疾病暴发报告情况[R]. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2021: 311.  
China Health Statistical Yearbook Committee, 12-1-1 Reports of foodborne disease outbreaks caused by various pathogenic factors [R]. Beijing: China Union Medical University Press, 2021: 311.
- [3] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 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: GB 4789.6—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.  
National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China, China Food and Drug Administration. National Food Safety Standard Food microbiology test, Microbiological examination of food-Examination of diarrheogenic *Escherichia coli*: GB 4789.6—2016[S]. Beijing: China Standard Press, 2017.
- [4] 中华人民共和国国家卫生健康委员会, 国家市场监督管理总局. 食品安全国家标准 预包装食品中致病菌限量: GB 29921—2021[S]. 北京: 中国标准出版社, 2021.  
National Health Commission of the People's Republic of China, State Administration for Market Regulation. National Food Safety Standard Limit of Pathogen in in Prepackaged Foods: GB 29921—2021[S]. Beijing: China Standard Press, 2021.
- [5] FENG P, WEAGANT S D, JINNEMAN K. BAM Chapter 4A: Diarrheogenic *Escherichia coli* [M]. U. S. Food and Drug Administration, 2020.
- [6] 江南, 张萍, 吴建军, 等. 2016—2019 年北京市通州区食源性疾病预防监测中致泻性大肠埃希菌流行特征分析[J]. 实用预防医学, 2022, 29(1): 62-65.  
JIANG N, ZHANG P, WU J J, et al. Epidemic characteristics of diarrhoeagenic *Escherichia coli* in foodborne disease surveillance in Tongzhou District of Beijing, 2016-2019 [J]. Practical Preventive Medicine, 2022, 29(1): 62-65.
- [7] 周鹏, 安戈, 李羿, 等. 2020 年郑州某哨点医院儿童致泻性大肠埃希菌流行特征及分子分型分析[J]. 实用预防医学, 2022, 29(3): 261-264.  
ZHOU P, AN G, LI Y, et al. Epidemic characteristics and molecular typing of diarrheagenic *Escherichia coli* from children in a sentinel hospital in Zhengzhou, 2020 [J]. Practical Preventive Medicine, 2022, 29(3): 261-264.
- [8] 李春, 孟昭倩, 王利, 等. 安徽省临床分离致泻性大肠埃希菌主要流行基因型及同源性分析[J]. 中国感染控制杂志, 2022, 21(2): 111-120.  
LI C, MENG Z Q, WANG L, et al. The main prevalent genotypes and homology of clinically isolated diarrheagenic *Escherichia coli* in Anhui Province [J]. Chinese Journal of Infection Control, 2022, 21(2): 111-120.
- [9] KIMATA K, LEE K, WATAHIKI M, et al. Global distribution of epidemic-related Shiga toxin 2 encoding phages among enteroaggregative *Escherichia coli*[J]. Scientific Reports, 2020, 10: 11738.
- [10] 郑冬冬, 毕旺来, 王宏勋, 等. 武汉肉类食品中大肠杆菌 O157:H7 分离株 stx 亚型和毒力特征分析[J]. 食品科学, 2014, 35(8): 94-98.  
ZHENG D D, BI W L, WANG H X, et al. Stx genotypes and virulence characteristics of *E. coli* O157: H7 strains isolated from meat products commercialized in Wuhan [J]. Food Science, 2014, 35(8): 94-98.
- [11] HUGHES A C, ZHANG Y Z, BAI X N, et al. Structural and functional characterization of Stx2k, a new subtype of shiga toxin 2. *Microorganisms*, 2019, 8(1): 4.
- [12] BAI X N, FU S S, ZHANG J, et al. Identification and pathogenomic analysis of an *Escherichia coli* strain producing a novel Shiga toxin 2 subtype [J]. Scientific Reports, 2018, 8: 6756.
- [13] YANG X, BAI X N, ZHANG J, et al. *Escherichia coli* strains producing a novel Shiga toxin 2 subtype circulate in China [J]. International Journal of Medical Microbiology: IJMM, 2020, 310(1): 151377.
- [14] BARLETTA F, OCHOA T J, CLEARY T G. Multiplex real-time PCR (MRT-PCR) for diarrheagenic [J]. *Methods in Molecular Biology* (Clifton, N J), 2013, 943: 307-314.
- [15] JOENSEN K G, TETZSCHNER A M M, IGUCHI A, et al. Rapid and easy in silico serotyping of *Escherichia coli* isolates by use of whole-genome sequencing data. *Journal of Clinical Microbiology*, 2015, 53(8): 2410-2426.
- [16] 张巍巍, 冯宝立, 王丽丽. 密云区致泻大肠埃希菌耐药性及

- 耐药基因研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(2): 751-756.
- ZHANG W W, FENG B L, WANG L L. Drug resistance and drug resistance genes of diarrheal *Escherichia coli* in Miyun district[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(2): 751-756.
- [17] 付宇, 吴晓敏, 赵婧, 等. 佳木斯市食品中致泻性大肠埃希菌的耐药性与同源性研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2021, 33(3): 303-307.
- FU Y, WU X M, ZHAO J, et al. Research on drug resistance and homology of diarrheagenic *Escherichia coli* from food in Jiamusi[J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2021, 33(3): 303-307.
- [18] 王燕, 江晓, 叶艳华, 等. 南京市食源性致泻大肠埃希菌多位点序列分型及耐药基因分析[J]. 现代预防医学, 2020, 47(15): 2810-2813, 2823.
- WANG Y, JIANG X, YE Y H, et al. Sequence type and resistance genes of *Escherichia coli* diarrhea isolates from foodborne disease surveillance, Nanjing[J]. Modern Preventive Medicine, 2020, 47(15): 2810-2813, 2823.
- [19] 余晓丰, 杨勇, 占利, 等. 食源性致泻大肠杆菌血清型及毒力基因的研究[J]. 食品工业科技, 2017, 38(9): 124-127.
- YU X F, YANG Y, ZHAN L, et al. Study on serotypes and virulence genes of foodborne diarrheagenic *Escherichia coli*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 38(9): 124-127.
- [20] SÁNCHEZ F, FUENZALIDA V, RAMOS R, et al. Genomic features and antimicrobial resistance patterns of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from food in Chile[J]. Zoonoses and Public Health, 2021, 68(3): 226-238.
- [21] BRUSA V, RESTOVICH V, GALLI L, et al. Isolation and characterization of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from beef carcasses, cuts and trimmings of abattoirs in Argentina[J]. PLoS One, 2017, 12(8): e0183248.
- [22] SHEN J L, ZHI S, GUO D H, et al. Prevalence, antimicrobial resistance, and whole genome sequencing analysis of shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) from imported foods in China during 2015-2021[J]. Toxins, 2022, 14(2): 68.
- [23] FERNÁNDEZ D, KRÜGER A, POLIFRONI R, et al. Characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O130: H11 and O178: H19 isolated from dairy cows[J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2013, 3: 9.
- [24] FENG P C H, DELANNOY S, LACHER D W, et al. Shiga toxin-producing serogroup O91 *Escherichia coli* strains isolated from food and environmental samples [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2017, 83(18): e01231-e01217.
- [25] PAVEZ-MUÑOZ E, GONZÁLEZ C, FERNÁNDEZ-SANHUEZA B, et al. Antimicrobial usage factors and resistance profiles of shiga toxin-producing *Escherichia coli* in backyard production systems from central Chile[J]. Frontiers in Veterinary Science, 2021, 7: 595149.
- [26] 李曲文, 陈爱平, 郑恩惠, 等. 福建省非典型肠致病性大肠杆菌紧密黏附素基因分型分析[J]. 预防医学论坛, 2014, 20(3): 183-185, 188.
- LI Q W, CHEN A P, ZHENG E H, et al. Analysis on the tight adhesion genotyping of atypical intestinal pathogenic *Escherichia coli*, Fujian Province[J]. Preventive Medicine Tribune, 2014, 20(3): 183-185.
- [27] 张雪寒, 汪伟, 何孔旺, 等. 通用引物检测志贺毒素和紧密黏附素多个基因亚型[J]. 中国人兽共患病学报, 2014, 30(6): 607-611, 617.
- ZHANG X H, WANG W, HE K W, et al. Universal primers detection of Shiga toxin and intimin variants[J]. Chinese Journal of Zoonoses, 2014, 30(6): 607-611.
- [28] 王晓林. 志贺氏菌通过 IpaH4.5 靶向 Rab31 逃逸溶酶体降解机制研究[D]. 青岛: 青岛大学, 2021.
- WANG X L. Mechanism of *Shigella* escaping lysosomal degradation by targeting Rab31 with IpaH4.5 [D]. Qingdao: Qingdao University, 2021.
- [29] 郑子瑞. 福氏志贺氏菌 T3SS 效应分子 IpaH4.5 干扰宿主先天性免疫的研究[D]. 长春: 吉林大学, 2012.
- ZHENG Z R. Interference of the host innate immunity by *Shigella flexneri* T3SS effector IpaH4.5 [D]. Changchun: Jilin University, 2012.
- [30] van den BELD M J C, REUBSAET F A G. Differentiation between *Shigella*, enteroinvasive *Escherichia coli* (EIEC) and noninvasive *Escherichia coli* [J]. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 2012, 31(6): 899-904.
- [31] DHAKAL R, WANG Q N, LAN R T, et al. Novel multiplex PCR assay for identification and subtyping of enteroinvasive *Escherichia coli* and differentiation from *Shigella* based on target genes selected by comparative genomics[J]. Journal of Medical Microbiology, 2018, 67(9): 1257-1264.
- [32] 赵琳娜, 王学硕, 刘娜, 等. 食品检测用肠道侵袭性大肠埃希菌标准物质的研制[J]. 中国食品卫生杂志, 2021, 33(6): 807-814.
- ZHAO L N, WANG X S, LIU N, et al. Preparation of enteroinvasive *Escherichia coli* reference materials for food analysis[J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2021, 33(6): 807-814.
- [33] PATZI-VARGAS S, ZAIDI M B, PEREZ-MARTINEZ I, et al. Diarrheagenic *Escherichia coli* carrying supplementary virulence genes are an important cause of moderate to severe diarrhoeal disease in Mexico[J]. PLoS Neglected Tropical Diseases, 2015, 9(3): e0003510.
- [34] 张网. 中国部分地区腹泻患者和健康人群弥散粘附性大肠埃希菌的分离和特征分析[D]. 北京: 中国疾病预防控制中心, 2016.
- ZHANG W. Isolation and characterization of diffusely adherent *Escherichia coli* isolated from the diarrheal patients and healthy carriers in China [D]. Beijing: Chinese Center for Disease Control and Prevention, 2016.
- [35] JAVADI K, MOHEBI S, MOTAMEDIFAR M, et al. Characterization and antibiotic resistance pattern of diffusely adherent *Escherichia coli* (DAEC), isolated from paediatric diarrhoea in Shiraz,

- southern Iran[J]. *New Microbes and New Infections*, 2020, 38: 100780.
- [36] GARRINE M, MATAMBISSO G, NOBELA N, et al. Low frequency of enterohemorrhagic, enteroinvasive and diffusely adherent *Escherichia coli* in children under 5 years in rural Mozambique: A case-control study[J]. *BMC Infectious Diseases*, 2020, 20(1): 659.
- [37] 阳波, 张网, 郭秋生, 等. 弥散黏附性大肠埃希菌多重PCR检测方法的建立及其在感染性腹泻患者中的流行情况[J]. *疾病监测*, 2017, 32(5): 423-427.
- YANG B, ZHANG W, GUO Q S, et al. Establishment of multiplex polymerase chain reaction assay for detection of diffuse adherent *Escherichia coli* in diarrhea patients[J]. *Disease Surveillance*, 2017, 32(5): 423-427.

(上接第 1264 页)

- 刘 弘(上海市疾病预防控制中心)  
 刘长青(河北省疾病预防控制中心)  
 刘成伟(江西省疾病预防控制中心)  
 刘兆平(国家食品安全风险评估中心)  
 刘守钦(济南市疾病预防控制中心)  
 刘烈刚(华中科技大学公共卫生学院)  
 刘爱东(国家食品安全风险评估中心)  
 孙长颢(哈尔滨医科大学)  
 李 宁(国家食品安全风险评估中心)  
 李 黎(中华预防医学会)  
 李凤琴(国家食品安全风险评估中心)  
 李业鹏(国家食品安全风险评估中心)  
 李国梁(陕西科技大学食品与生物工程学院)  
 李静娜(武汉市疾病预防控制中心)  
 杨 方(福州海关技术中心)  
 杨 钧(青海省卫生健康委员会卫生监督所)  
 杨大进(国家食品安全风险评估中心)  
 杨小蓉(四川省疾病预防控制中心)  
 杨杏芬(南方医科大学公共卫生学院)  
 肖 荣(首都医科大学公共卫生学院)  
 吴永宁(国家食品安全风险评估中心)  
 何更生(复旦大学公共卫生学院)  
 何来英(国家食品安全风险评估中心)  
 何洁仪(广州市疾病预防控制中心)
- 姜毓君(东北农业大学食品学院)  
 聂俊雄(常德市疾病预防控制中心)  
 贾旭东(国家食品安全风险评估中心)  
 徐 娇(国家卫生健康委员会食品标准与监测评估司)  
 徐海滨(国家食品安全风险评估中心)  
 高志贤(军事科学院军事医学研究院)  
 郭云昌(国家食品安全风险评估中心)  
 郭丽霞(国家食品安全风险评估中心)  
 唐振柱(广西壮族自治区疾病预防控制中心)  
 黄 薇(深圳市疾病预防控制中心)  
 黄锁义(右江民族医学院药学院)  
 常凤启(河北省疾病预防控制中心)  
 崔生辉(中国食品药品检定研究院)  
 章 宇(浙江大学生物工程与食品学院)  
 章荣华(浙江省疾病预防控制中心)  
 梁进军(湖南省疾病预防控制中心)  
 程树军(广州海关技术中心)  
 傅武胜(福建省疾病预防控制中心)  
 谢剑炜(军事科学院军事医学研究院)  
 赖卫华(南昌大学食品学院)  
 裴晓方(四川大学华西公共卫生学院)  
 廖兴广(河南省疾病预防控制中心)  
 熊丽蓓(上海市疾病预防控制中心)  
 樊永祥(国家食品安全风险评估中心)