

风险监测

成都周边某奶牛养殖场及市售生鲜牛肉中产志贺毒素大肠埃希菌
监测与分析

吕虹,雷高鹏,刘丽,肖桃,杨小蓉

(四川省疾病预防控制中心,四川成都 610041)

摘要:目的 通过连续3年监测成都周边某奶牛养殖场犊牛和成年牛粪便、饲养环境及菜市场 and 超市生鲜牛肉中的产志贺毒素大肠埃希菌(STEC),了解本地区牛及牛肉中 STEC 菌株的携带及菌株特征情况,为评估该地区 STEC 污染状况、感染风险及防控策略提供科学依据。方法 采用荧光定量 PCR 法分离鉴定 STEC,采用微量肉汤稀释法进行药敏试验。分离株全基因组测序后在 Enterobase 数据库上获得 MLST 型别、菌株类型、血清型、毒力基因信息,使用 Abricate 软件比对得到 *stx* 亚型信息。用 BioNumerics 7.6 软件进行 cgMLST 聚类分析。结果 2019—2021 年共采集奶牛养殖场牛粪和环境样品 247 份,25 份检出 STEC,检出率 10.12%;采集生鲜牛肉 294 份,32 份检出 STEC,检出率 10.88%;共分离到 57 株 STEC。检出 STEC 菌株对氨苄西林耐药率最高,达 42.11%(24/57),其次为头孢噻肟和头孢唑啉(均占比 38.60%,22/57)。多重耐药株占 35.09%(20/57)。57 株 STEC 共分离出 30 种血清型,其中可引起暴发的血清型有:O26:H11、O103:H25、O145:H12。通过毒力基因分析发现具有致病风险的亚型有:*stx2a*、*stx2c*、*stx2d*、*stx2e*、*stx2g* 以及 *stx2k*;及与疾病的严重程度密切相关 *eae*-STEC 及 STEC/ETEC 杂合株。结论 2019—2021 年奶牛养殖场牛粪便 and 菜市场生鲜牛肉中 STEC 的污染持续存在。犊牛粪便检出率(21.43%)高于成年牛粪便检出率(0.91%)。菜市场生鲜牛肉 STEC 检出率高于超市。牛粪便中分离菌株比牛肉中分离菌株耐药情况严重。部分分离菌株因携带强毒力基因或其他致病相关基因而具有更强致病性。

关键词:产志贺毒素大肠埃希菌;耐药;血清型;毒力基因

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2023)12-1727-07

DOI:10.13590/j.cjfh.2023.12.006

**Monitoring and analysis of STEC in cow manure from a dairy farm and retail fresh beef around
Chengdu City**

LYU Hong, LEI Gaopeng, LIU Li, XIAO Tao, YANG Xiaorong

(Sichuan Center for Disease Control and Prevention, Sichuan Chengdu 610041, China)

Abstract: Objective To understand the carrying status and strain characteristics of STEC strains in cattle and beef in the local area, provide scientific basis for evaluating the STEC pollution status, infection risk, prevention and control strategies in the region, the Shiga toxin producing *Escherichia coli* (STEC) in the feces of calves and adult cows and feeding environment in a dairy farm around Chengdu, as well as fresh beef from vegetable markets and supermarkets for three years were continuously monitored. **Methods** STEC using fluorescence quantitative PCR method was identified, and drug sensitivity testing using micro broth dilution method was conducted. After sequencing the entire genome of the isolated strain, the MLST type, strain type, serotyping, and virulence gene information were obtained on the Enterobase database. The *stx* subtype information was compared using the Abricate software. Perform cgMLST clustering analysis was used by BioNumerics 7.6 software. **Results** From 2019 to 2021, a total of 247 cow manure and environmental samples were collected from dairy farms, and 25 STEC strains were isolated, with a detection rate of 10.12%. 294 fresh beef samples were collected and 32 STECs were isolated, with a detection rate of 10.88%. A total of 57 STEC strains were isolated. The STEC strain had the highest resistance rate to ampicillin, reaching 42.11%(24/57), followed by cefotaxime and cefazolin at 38.60%(22/57). Multiple resistant strains accounted for 35.09%(20/57). A total of 30 serotypes were

收稿日期:2023-02-20

基金项目:四川省科技厅2022年度重大科技专项(2022ZDZX0017)

作者简介:吕虹 女 副主任技师 研究方向为微生物检验 E-mail:85556481@qq.com

通信作者:杨小蓉 女 主任检验师 研究方向为卫生检验 E-mail:740793458@qq.com

isolated from 57 STEC strains, among which the serotypes that can cause outbreaks include O26:H11, O103:H25, and O145:H12. Through virulence gene analysis, it was found that subtypes with pathogenic risk included *stx2a*, *stx2c*, *stx2d*, *stx2e*, *stx2g*, *stx2k*, as well as *eae*-STEC and STEC/EPEC heterozygous strains. **Conclusion** The pollution of STEC in cow manure from dairy farms and fresh beef from vegetable markets continued to exist from 2019 to 2021. The detection rate of calf feces was 21.43%, which was higher than that of adult cow feces by 0.91%. The STEC detection rate of fresh beef in vegetable markets is significantly higher than that in supermarkets. The drug resistance of strains isolated from cow manure is more severe than that of strains isolated from beef. Some isolated strains have stronger pathogenicity due to carrying strong virulence genes or other pathogenic related genes.

Key words: Shiga toxin producing *Escherichia coli*; drug resistance; serotype; virulence gene

产志贺毒素大肠埃希菌(Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, STEC)是一种能引起食源性疾病的重要病原菌,可引起人类腹泻、出血性结肠炎(Hemorrhagic colitis, HC)、血小板减少性紫癜及溶血性尿毒综合征(Hemolytic uremic syndrome, HUS)等^[1]。除了 O157 型 STEC,其他非 O157 型 STEC 也可引起严重的食源性疾病^[2]。STEC 曾在世界各地引起暴发,目前至少 30 个国家报道过 STEC 能引发人类感染^[3]。牛羊等反刍动物是 STEC 的天然宿主,带菌动物通常无明显疾病表现,但可持续通过粪便向外界排出 STEC,该菌在排出的动物粪便中长期存活并保持较高的感染性^[4]。STEC 主要通过粪-口途径传播,人主要通过食用携带 STEC 动物粪便污染的蔬菜瓜果、奶及奶制品、肉类等而感染^[5]。

我国是世界上最大的抗生素生产国和消费国之一,抗生素被广泛用于临床治疗并作为饲料添加剂应用于畜牧业。随着抗生素在医疗和畜牧业中的滥用,细菌耐药问题日渐严重,使用抗生素是治疗感染性腹泻的一种常用方法,但针对 STEC 感染患者,某些抗生素的使用可诱导 *stx* 的表达,使毒素增加,从而增加 STEC 感染者发生 HUS 的风险^[6],所以有必要了解 STEC 的耐药现况,为临床指导用药提供数据参考。STEC 的致病性与其产生的毒力因子有关,其最关键的毒力因子是由 *stx* 基因编码的志贺毒素(Shiga toxin, Stx),该基因是 STEC 鉴定及毒力分型的重要靶点。*stx* 亚型与疾病严重程度密切相关,因此对 STEC 型别及亚型的鉴别对风险评估及症状预测有重要的临床及公共卫生学意义。

目前四川关于 STEC 的监测情况及菌株特征报道较少,为了解四川地区牛源粪便及生鲜牛肉 STEC 菌株的携带情况、耐药情况、菌株特征及不同来源菌株间聚集性,本研究连续 3 年对成都周边某牧场 0~2 岁犊牛和成年牛粪便样品、成都周边菜市场及超市生鲜牛肉样品进行采集和检测。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品来源及采集

222 份牛粪便和 25 份牛场环境样品采自成都周边某奶牛养殖牧场,294 份生鲜牛肉采自成都周边各大菜市场及超市。

成年牛粪便:使用一次性 PE 长手套从牛的肛门插入,在直肠内掏取≥10 g 粪便样品于无菌大便杯中;犊牛粪便:使用一次性大便杯采样勺,挖取新鲜粪便中间部分样品≥10 g 于无菌大便杯中;环境样品:使用一次性涂抹棒涂抹饲料桶和饮水槽,涂抹面积为 5 cm×5 cm,置于无菌采样袋中;牛肉样品:称取≥200 g 置于无菌采样袋中。对所有样品分组编号,置于盛有冰块的保温箱内立即运回实验室进行检测。

1.1.2 主要仪器与试剂

ABI 7500 实时荧光定量 PCR 仪(美国 ABI), VITEK 2 自动细菌生化鉴定仪(法国梅里埃),药敏自动加样机(美国赛默飞)。

CH-ECC 培养基、CHROMagar STEC 显色培养基均购自法国科玛嘉,EC 肉汤、肉膏蛋白胨(LB)液体培养基、麦康凯琼脂培养基(北京陆桥),引物及探针由北京擎科生物有限公司合成,革兰阴性需氧菌药敏检测板(上海星佰生物技术有限公司)。

1.1.3 参考菌株

本文涉及的参考菌株有:产志贺毒素大肠埃希菌 O157:H7(ATCC 43895),经 PCR 检测 *stx1/stx2* 基因为阳性。药敏质控菌株 ATCC 25922。均保存于本实验室。

1.2 方法

1.2.1 STEC 菌株分离鉴定

接种环取一环动物粪便样品(约 0.5 g)接种至 10 mL EC 肉汤中;肉制品搅碎充分混匀后称取 25 g 放入 225 mL EC 肉汤均质袋中,在 37 °C 恒温培养箱中培养 16~24 h。煮沸法提取细菌 DNA,检测 STEC 特异性基因 *stx(stx1, stx2)*,进行荧光 PCR 初筛。

PCR 引物、反应体系、反应条件参考文献[7]的方法。对 *stx1* 或(和)*stx2* 阳性的肉汤培养液,划线接种于麦康凯琼脂、CH-ECC 和 STEC 显色培养基,37 °C 恒温培养 18~24 h。根据菌落的大小、颜色和生长形态分别从 3 种平板上各挑取 10 个特征性可疑菌落,接种于 LB 中,37 °C 培养 18~24 h,按初筛方法鉴定分离菌株是否含 *stx1* 或 *stx2* 基因,单菌落鉴定为阳性的,即为 STEC 分离菌株。

1.2.2 药敏试验

按照革兰阴性药敏检测板说明书进行操作。培养完毕得到最小抑菌浓度(Minimal inhibitory concentration, MIC)值,再根据美国临床和实验室标准协会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)提供标准进行判读。药敏试验涉及的 15 种抗生素分别为氨苄西林(Ampicillin, AMP)、头孢他啶(Ceftazidime, CAZ)、氨苄西林/舒巴坦(Ampicillin/Sulbactam, AMS)、亚胺培南(Imipenem, IPM)、四环素 Tetracycline, TET)、萘啶酸(Nalidixic acid, NAL)、头孢西丁(Cefoxitin, CFX)、氯霉素(Chloramphenicol, CHL)、头孢噻肟(Cefotaxime, CTX)、头孢唑啉(Cefazolin, CFZ)、庆大霉素(Gentamicin, GEN)、复方磺胺(Trimethoprim/Sulfamethoxazole, SXT)、阿奇霉素(Azithromycin, AZM)、环丙沙星(Ciprofloxacin, CIP)。

1.2.3 菌株特征及 MLST 分型

将分离菌株送至四川金域医学检验有限公司进行全基因组测序。用全基因组序列在 Enterobase 数据库上获得 STEC 分离株细菌多位点序列分型(Multilocus sequence typing, MLST)型别、菌株类型、血清型、毒力基因信息。使用 Abricate(v0.8.10)(<https://github.com/tseemann/abricane>)软件构建志贺毒素分型数据库,其中包括 *stx1* 的 3 种亚型(*stx1a*、*stx1c* 和 *stx1d*)、*stx2* 的 14 种亚型(*stx2a*~*stx2m* 和 *stx2o*),通过比对菌株序列得到 *stx* 亚型信息。用 BioNumerics 7.6 软件进行细菌核心基因组多位点序列分型(cgMLST)聚类分析。

1.3 统计学分析

使用 *t* 检验分析不同来源间检出率的差异,以 $P < 0.01$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 STEC 分离鉴定结果

2019—2021 年连续 3 年在奶牛养殖场和生鲜牛肉中均检出 STEC,分离情况见表 1。其中犊牛粪便 112 份,24 份检出 STEC,检出率 21.43%;成年牛粪

便 110 份,1 份检出 STEC,检出率 0.91%,犊牛粪便检出率(21.43%)高于成年牛粪便检出率(0.91%)($t = 5.336, P < 0.001$)。菜市场里采集生鲜牛肉 234 份,32 份检出 STEC,检出率 13.68%;超市里采集生鲜牛肉 60 份,未检出 STEC。共分离到 57 株 STEC。

表 1 样品来源及 STEC 检出分离情况

时间/年	牛肉样品份数		养殖场样品份数		
	(检出阳性份数)		(检出阳性份数)		
	超市	菜市场	犊牛粪便	成年牛粪便	环境
2019	22(0)	18(3)	40(1)	80(0)	12(0)
2020	25(0)	134(20)	30(13)	10(0)	5(0)
2021	13(0)	82(9)	42(10)	20(1)	8(0)
合计	60(0)	234(32)	112(24)	110(1)	25(0)

2.2 耐药结果

本研究中耐药菌株占 43.86%(25/57),其中 76.00%(19/25)来自牛粪便,24.00%(6/25)来自牛肉,抗 3 类及以上抗生素的多重耐药株占 35.09%(20/57)。57 株 STEC 分离株对临床常用药氨苄西林耐药率最高,为 42.11%(24/57),其次为头孢噻肟和头孢唑啉(三代头孢),均为 38.60%(22/57),对四环素耐药率 36.84%(21/57),对氯霉素耐药率 29.82%(17/57),萘啶酸耐药率 26.32%(15/57),庆大霉素耐药率 21.05%(12/57),复方磺胺耐药率 15.79%(9/57),环丙沙星耐药率 8.77%(5/57),阿奇霉素耐药率 3.51%(2/57),对头孢西丁、头孢他啶、亚胺培南、多黏菌素抗生素全敏感。牛粪便分离株中耐药株占 76.00%(19/25),多重耐药株占 52.00%(13/25),其中 2019 年分离株对 15 种抗生素均敏感;2020 年分离株中耐药株占 61.54%(8/13),多重耐药株占 23.08%(3/13);2021 年分离株均为耐药菌株(100.00%,11/11),且多重耐药株占 90.91%(10/11)。牛肉分离株中有 6 株耐药菌,耐药率为 18.75%(6/32),其中 2020 年 2 株、2021 年 4 株,多重耐药株占 66.67%(4/6),其余均敏感。

2.3 菌株特征

STEC 分离株血清型、*stx* 亚型、其他毒力基因、菌株类型、ST 型别、耐药表型见表 2。共分离出 30 种血清型,包含 1 株 O26:H11、1 株 O103:H25、9 株 O145:H12、5 株 O5:HNT、1 株 O21:H25、1 株 O112:H8;分离出 6 种 *stx* 亚型,包含 17 株 *stx2a*-STEC、2 株 *stx2c*-STEC、1 株 *stx2c+eae*-STEC、7 株 *stx2d*-STEC、2 株 *stx2e*-STEC、6 株 *stx2g*-STEC、2 株 *stx2k*-STEC;分离出 8 株 *eae*-STEC;分离出 9 株肠毒性大肠埃希杆菌(ETEC)/STEC 杂合型菌株,包含 5 株 *stx2a+stx2g*-ETEC/STEC、1 株 *stx2g*-ETEC/STEC。

表2 菌株特征信息
Table 2 Characteristics of strains

血清型	菌株数/株	菌株来源	stx亚型及其他毒力基因	菌株类型	ST型别	耐药表型
O26:H11	1	牛肉	<i>stx1a+eae</i>	STEC	21	AMP+AMS+CFZ+CTX+TET
O103:H25	1	牛肉	<i>stx1a</i>	STEC	343	敏感
O145:H12	9	牛粪便	<i>stx1a</i>	STEC	101	AMP+AMS+CFZ+CTX+CHL+CIP+GEN+NAL+TET+SXT
O5	2	牛肉	<i>stx1a+eae</i>	STEC	342	AMP+AZM+CFZ+CTX+CHL+CIP+GEN+NAL+TET+SXT
O5	3	牛粪便	<i>stx1a+eae</i>	STEC	342	AMP+CFZ+CTX+CHL+CIP+ NAL+TET
O21:H25	1	牛肉	<i>stx2a</i>	STEC	971	敏感
O112:H8	1	牛肉	<i>stx2a+pic</i>	STEC	13934	敏感
O132:H18	5	牛粪便	<i>stx2a</i>	STEC	6118	AMP+AMS+CFZ+CTX+SXT
O113:H21	1	牛肉	<i>stx2d</i>	STEC	223	敏感
O171:H21	1	牛肉	<i>stx1a</i>	STEC	56	敏感
O74:H8	2	牛肉	<i>stx1a+stx2d</i>	STEC	906	敏感
O55:H12	2	牛粪便	<i>stx1a</i>	STEC	101	AMP+CFZ+CTX+ TET
O178:H19	2	牛肉	<i>stx1a+stx2a</i>	STEC	443	敏感
O178:H28	1	牛肉	<i>stx2d</i>	STEC	13932	敏感
O116:H28	5	牛粪便	<i>stx2a+stx2g+st1a</i>	ETEC/STEC	12336	敏感
O116:H25	2	牛肉	<i>stx1a</i>	STEC	58	敏感
O70:H31	2	牛肉	<i>stx1a+stx2d</i>	STEC	101	敏感
O100:H25	2	牛肉	<i>stx2e</i>	STEC	683	AMP+CHL+TET+SXT
O10:H12	2	牛肉	<i>stx2k</i>	STEC	9448	敏感
O185:H16	1	牛肉	<i>stx2a</i>	STEC	2280	敏感
O185:H7	1	牛肉	<i>stx2c</i>	STEC	2387	敏感
O2:H25	1	牛肉	<i>stx2g+st1a</i>	ETEC/STEC	2715	敏感
O177:H25	1	牛肉	<i>stx2c+eae</i>	STEC	659	敏感
O168:H8	1	牛肉	<i>stx2d</i>	STEC	718	NAL+TET
O3:H12	1	牛粪便	<i>stx1a+st1a</i>	ETEC/STEC	329	敏感
O109:H21	1	牛肉	<i>stx2a+stx2b</i>	STEC	40	敏感
O136:H12	1	牛肉	<i>stx1c+st1a、lt</i>	ETEC/STEC	329	敏感
O8:H19	1	牛肉	<i>stx2a</i>	STEC	162	敏感
O81:H31	1	牛肉	<i>stx1a</i>	STEC	101	敏感
O156:H25	1	牛肉	<i>stx1a+eae</i>	STEC	300	敏感
OgN12:H32*	1	牛肉	<i>stx1a+st1a</i>	ETEC/STEC	10	敏感

注：*：此分析结果来自于数据库 ecoh 的比对，为一种新 O 基因型 STEC^[8]

2.4 聚类结果及分析

按照全基因组测序 cgMLST 的聚类，牛粪便分离株可看到有 4 个明显的聚类，和耐药情况分布一致，从 MLST 型别看，2019 年为 ST329，2020 年为 ST101、ST12336、ST6118，2021 年为 ST101、ST342。而牛肉分离株型别之间分布相对比较分散，菌株之间无明显聚类。ST101、ST342、ST329 型别中同时存在牛肉和牛粪便来源菌株，其 cgMLST 聚类相似值分别为 96.9、99.9、96.8。57 株分离株采样信息、耐药情况、MLST 分型及 cgMLST 聚类情况见图 1。

3 讨论

本研究中菜市场鲜牛肉 STEC 检出率明显高于超市，究其原因可能是菜市场鲜牛肉从屠宰加工厂直接送达，污染程度高，而超市中牛肉会经过冰冻或加工处理（比如酸处理）会对 STEC 有一定损伤及灭活作用。我国目前并无专门针对 STEC 的检测标准，采样方式和检测方法的不同可能会造成 STEC 的检出率不同，据报道不同国家肉制品污染程度各不相同（4%~72%）^[9]，牛粪便中携带 STEC 数量也各

不相同（0.2%~74%）^[10]，本研究中牛肉样品检出率为 10.88%，牛粪便样检出率为 11.26%，与薛涛等^[11]在江苏部分地区牛场采集的牛粪便中 STEC 的检出率接近（11.1%）。STEC 在犊牛粪便中检出率明显高于成年牛，这和 COBBOLD 和 DESMARCHELIER^[12]研究结果一致，可能跟犊牛免疫系统不完善，比成年牛抵抗力低、腹泻率较高有关，STEC 对犊牛的影响也较成年牛更为严重^[13]。

本次监测分离株对临床常规用药均有不同程度耐药，耐药情况和黄飞飞等^[14]、吴少鹏等^[15]研究结果相近，但山东省监测结果显示对复方磺胺耐药菌株最多^[16]。地区之间耐药情况的差异可能和饲养情况、常规和治疗使用抗生素情况有关，但监测数据显示 AMP、TET 和 NAL 的耐药率均较高^[15]。本次监测对 β-内酰胺类药物（AMP、AMS、CTX、CFZ）耐药率较高，但对同为 β-内酰胺类的二代头孢（CFX）、三代头孢（CAZ）敏感，可能和兽医治疗用药的习惯有关。牛粪便分离株中耐药菌株占 76.00%（19/25），提示牛粪便分离株耐药情况严重，可能和日常疫病防控、饲养添加抗生素有关，应加强屠宰

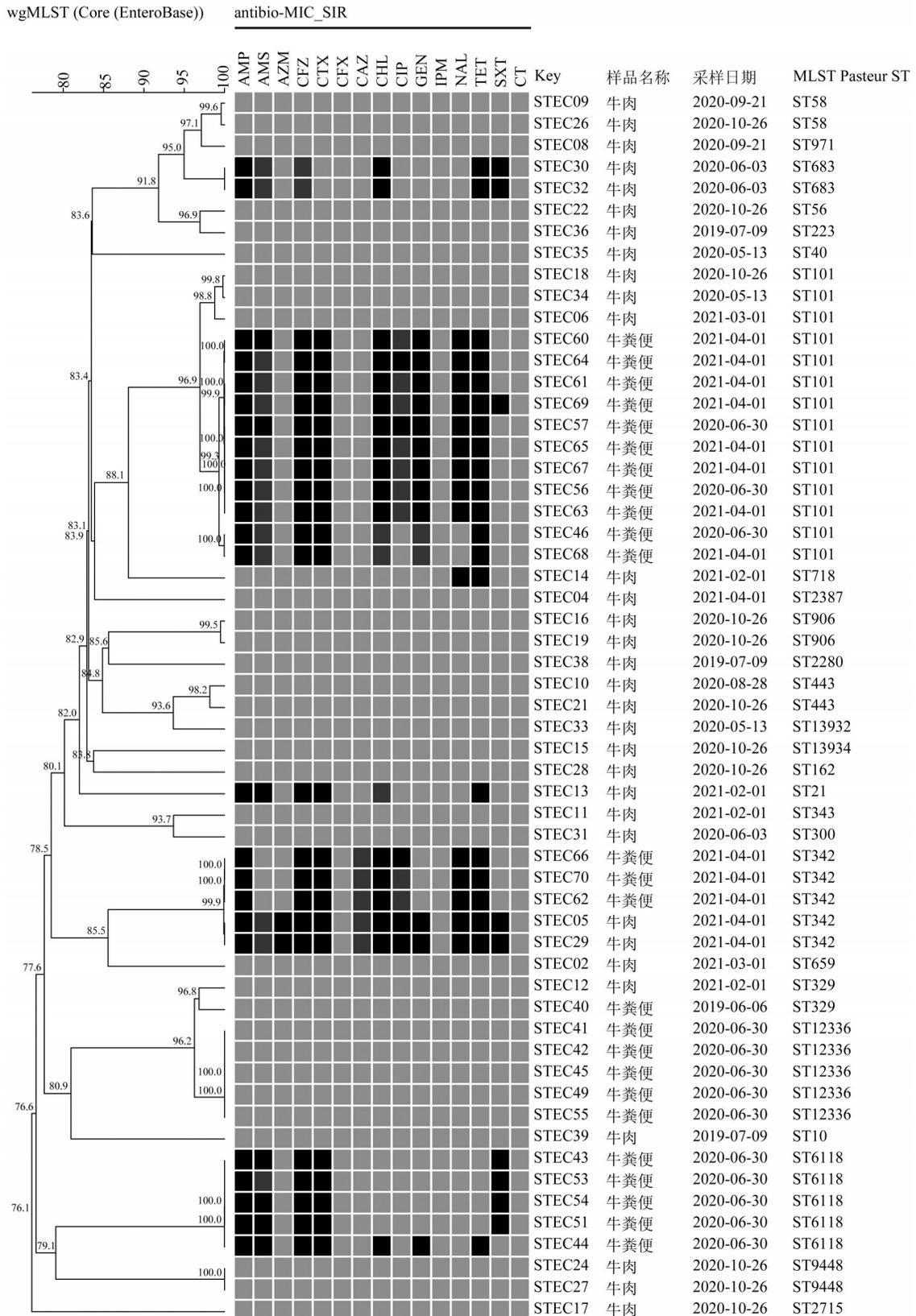


图1 57株分离株耐药情况、分型及cgMLST聚类图

Figure 1 Drug resistance, typing and cgMLST cluster map of 57 isolates

加工环节的监管,尽量避免牛粪便对牛肉污染的情况发生。牛粪便和牛肉分离株的耐药结果均显示耐药情况随年份日益加重,提示应控制给牲畜使用的抗生素药量。

从57株分离株的耐药情况、MLST分型及cgMLST聚类情况分析看,同一cgMLST型别具有相同ST、血清型、耐药表型,而同一ST型别可包含不同的血清型、耐药表型、菌株来源。同一血清型因

来源不同可具有不同的耐药表型。牛粪便分离株有明显聚集,而牛肉分离株相对比较分散,可能因为牛粪便的采集相对集中,均来自于一个养殖场,而牛肉的采集地点和供货来源都比较分散。

STEC血清型目前已报道有470多种,超过200种血清型的STEC可引起人类疾病^[17],其中O157:H7是致病力最强也是STEC中最常见血清型,但近年来非O157血清型引起的病例逐年增多,甚至在有些国家已超过O157引起的病例。引起暴发的主要血清型包括:O26:H11、O45、O103:H25、O104:H4、O111:H8、O121、O145:NM^[18],本研究从牛肉和牛粪便中分离出其中3种,分别为O26:H11、O103:H25、O145:H12,还分离出可引起人严重腹泻的血清型^[17]O5:HNT、O21:H25、O112:H8。该结果提示成都地区存在有致病风险的STEC,应加强监测管理。

本研究发现分离株中具有致病风险的亚型有 $stx2a$ 、 $stx2c$ 、 $stx2d$ 、 $stx2e$ 、 $stx2g$ 、 $stx2k$,以及与疾病的严重程度密切相关的 eae -STEC及STEC/EPEC杂合株。 stx 亚型与毒性强弱有关,可作为STEC致病性强弱的风险标志。 $stx1$ 和 $stx2$ 均能引起人类疾病,但 $stx2$ 毒力及致病性更强,其中 $stx2a$ 、 $stx2c$ 、 $stx2d$ 亚型对人致病性更强,与HC和HUS等有强相关性^[19],尤其是 $stx2a$,常常造成更严重的临床症状和更高的死亡率^[20]。而 $stx2e$ 是猪源分离株中最常见的亚型,人感染中很少是由 $stx2e$ 引起,但近年来国际上也出现了 $stx2e$ 亚型引起的人类疾病,甚至是HUS病例的报道^[21]。 $stx2k$ 为杨茜^[7]在2020最新报道的一种新亚型,其广泛存在于包括人、动物和生肉等多种来源,同样可引起人类疾病。含 $stx2g$ 的STEC/EPEC杂合菌株也有报道可引起患者腹泻、腹痛、发烧^[20]。不同亚型的 stx 在基因序列、致病风险和宿主特异性等方面存在显著差异,所以监测 stx 亚型显得非常有必要。 eae 基因是STEC菌株的另一重要毒力因子,大多数临床STEC菌株均携带 eae 基因,菌株是否携带 eae 基因与疾病的严重程度密切相关,有报道提出其与发生HC或HUS有显著相关性^[22], eae 可作为一种有效的分子标志,结合血清型和其他毒力基因,用于疾病严重程度的预测^[7]。STEC/EPEC杂合株同时含有 stx 和质粒编码的热稳定毒素($stx1a$),与腹泻和HUS也有相关性^[20],由于介导志贺毒素Stx噬菌体作为可移动遗传元件参与基因水平转移, stx 基因可在不同菌株间传播,因此会出现新变种和杂合型致病株,杂合株因获得了更多毒力因子使其致病力增强,对人类健康造成更大威胁,值得重视。

参考文献

- [1] MURRAY K F, PATTERSON K. *Escherichia coli* O157: H7-induced hemolytic-uremic syndrome: Histopathologic changes in the colon over time [J]. *Pediatric and Developmental Pathology*, 2000, 3(3): 232-239.
- [2] BARANZONI G M, FRATAMICO P M, RUBIO F, et al. Detection and isolation of shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) O104 from sprouts [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2014, 173: 99-104.
- [3] 吴瑶瑶. 江苏某地区部分牛场产志贺毒素大肠杆菌的流行病学调查及其遗传相关性分析[D]. 扬州: 扬州大学, 2014.
WU Y Y. Epidemiological investigation and genetic correlation analysis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in some cattle farms in Jiangsu Province [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2014.
- [4] WANG G, ZHAO T, DOYLE M P. Fate of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7 in bovine feces [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1996, 62(7): 2567-2570.
- [5] 胡颖, 崔生辉, 白莉, 等. 食用农产品中产志贺毒素大肠埃希菌污染与家庭厨房食品安全现状分析及防控措施[J]. *中国食品卫生杂志*, 2020, 32(2): 216-222.
HU Y, CUI S H, BAI L, et al. Food safety analysis and management of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in edible agricultural products and kitchen [J]. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 2020, 32(2): 216-222.
- [6] NITSCHKE M, SAYK F, HÄRTEL C, et al. Association between azithromycin therapy and duration of bacterial shedding among patients with shiga toxin-producing enteroaggregative *Escherichia coli* O104: H4 [J]. *JAMA*, 2012, 307(10): 1046.
- [7] 杨茜. 产志贺毒素2k新亚型大肠埃希菌的鉴定及其分子特征分析[D]. 北京: 中国疾病预防控制中心, 2020.
YANG Q. Identification and molecular characteristics analysis of a new subtype of *Escherichia coli* producing Shiga toxin 2k [D]. Beijing: Chinese Center for Disease Control and Prevention, 2020.
- [8] IGUCHI A, IYODA S, SETO K, et al. Six novel O genotypes from shiga toxin-producing *Escherichia coli* [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 765.
- [9] MATHUSA E C, CHEN Y H, ENACHE E, et al. Non-O157 shiga toxin-producing in foods [J]. *Journal of Food Protection*, 2010, 73(9): 1721-1736.
- [10] GALARCE N, ESCOBAR B, SÁNCHEZ F, et al. Virulence genes, shiga toxin subtypes, serogroups, and clonal relationship of shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from livestock and companion animals [J]. *Animals*, 2019, 9(10): 733.
- [11] 薛涛, 顾丛丛, 高崧, 等. 江苏某奶牛场健康奶牛体内产志贺毒素大肠杆菌的分离鉴定及其对小鼠致病性的研究[J]. *畜牧兽医学报*, 2011, 42(6): 830-837.
XUE T, GU C C, GAO S, et al. Identification of shiga toxin-producing *Escherichia coli* from healthy cattle in one farm of Jiangsu Province and their pathogenicity on mice [J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2011, 42(6): 830-837.
- [12] COBBOLD R, DESMARCHÉLIER P. A longitudinal study of Shiga-toxigenic *Escherichia coli* (STEC) prevalence in three Australian dairy herds [J]. *Veterinary Microbiology*, 2000, 71

- (1-2): 125-137.
- [13] 吾买尔江·牙合甫, 买占海, 韩俊成, 等. 新疆不同区域犊牛粪源大肠杆菌非O157致病性STEC的分离及耐药性分析[J]. 中国草食动物科学, 2020, 40(6): 46-50.
- OMARJA YAKUP, MAI Z H, HAN J C, et al. Isolation and identification of non-O157 pathogenic STEC from fecal *Escherichia coli* from calves in different regions of Xinjiang province [J]. China Herbivore Science, 2020, 40(6): 46-50.
- [14] 黄飞飞, 王波, 张宁, 等. 苏州市某奶牛养殖场及市售生畜肉产志贺毒素大肠埃希菌分子流行病学分析[J]. 预防医学, 2022, 34(10): 1031-1037.
- HUANG F F, WANG B, ZHANG N, et al. Molecular characteristics of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in a dairy farm and market-sold raw livestock meats in Suzhou City [J]. Preventive Medicine, 2022, 34(10): 1031-1037.
- [15] 吴少鹏, 王国华, 赵效南, 等. 山东省某地区奶牛源大肠埃希菌的血清型、耐药特性及分子特性[J]. 微生物学报, 2020, 60(3): 486-498.
- WU S P, WANG G H, ZHAO X N, et al. Serotyping, drug resistance and molecular characteristics of *Escherichia coli* from dairy cows in a region of Shandong Province [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2020, 60(3): 486-498.
- [16] 胡彬, 寇增强, 邵纯纯, 等. 山东省动物粪便中非O157产志贺毒素大肠埃希菌菌株特征及耐药性分析[J]. 中华预防医学杂志, 2018, 52(3): 271-276.
- HU B, KOU Z Q, SHAO C C, et al. Characteristics and drug resistance of non-O157 Shiga toxin-producing *E. coli* in animal feces, from Shandong province [J]. Chinese Journal of Preventive Medicine, 2018, 52(3): 271-276.
- [17] COOMBES B K, WICKHAM M E, MASCARENHAS M, et al. Molecular analysis as an aid to assess the public health risk of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2008, 74(7): 2153-2160.
- [18] VALILIS E, RAMSEY A, SIDIQ S, et al. Non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli*—A poorly appreciated enteric pathogen: Systematic review [J]. International Journal of Infectious Diseases, 2018, 76: 82-87.
- [19] FRIEDRICH A W, BIELASZEWSKA M, ZHANG W L, et al. *Escherichia coli* harboring shiga toxin 2 gene variants: Frequency and association with clinical symptoms [J]. The Journal of Infectious Diseases, 2002, 185(1): 74-84.
- [20] BAI X N, ZHANG J, AMBIKAN A, et al. Molecular characterization and comparative genomics of clinical hybrid Shiga toxin-producing and enterotoxigenic *Escherichia coli* (STEC/ETEC) strains in Sweden [J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): 5619.
- [21] FASEL D, MELLMANN A, CERNELA N, et al. Hemolytic uremic syndrome in a 65-year-old male linked to a very unusual type of *stx_{2c}* - and *eae*-harboring O157: H49 shiga toxin-producing *Escherichia coli* [J]. Journal of Clinical Microbiology, 2014, 52(4): 1301-1303.
- [22] DE RAUW K, BUYL R, JACQUINET S, et al. Risk determinants for the development of typical haemolytic uremic syndrome in Belgium and proposition of a new virulence typing algorithm for Shiga toxin-producing *Escherichia coli* [J]. Epidemiology and Infection, 2018, 147: e6.