

DOI: 10. 12138/j. issn. 1671-9638. 20222048

· 论 著 ·

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

李 春¹, 孟昭倩², 王 利³, 郭 辉⁴, 栗薇薇¹

- (1. 安徽省疾病预防控制中心微生物检验室 安徽省医疗卫生重点专科病原微生物分子生物学实验室, 安徽 合肥 230601;
2. 阜阳市疾病预防控制中心检验科, 安徽 阜阳 236030; 3. 马鞍山市疾病预防控制中心检验科, 安徽 马鞍山 243011;
4. 蚌埠市疾病预防控制中心检验科, 安徽 蚌埠 233000)

[摘要] 目的 了解安徽地区临床分离致泻性大肠埃希菌(DEC)的耐药状况、基因同源性及主要基因型。方法 采用微量肉汤稀释法进行药物敏感性试验,采用多位点序列分型(MLST)和脉冲场凝胶电泳(PFGE)分型进行基因型检测和同源性分析。结果 268株DEC中,57.1%为多重耐药菌,其中肠聚集性大肠埃希菌(EAEC)118株,肠毒素性大肠埃希菌(ETEC)98株,肠致病性大肠埃希菌(EPEC)47株,3种病理类型菌株对常用抗菌药物的耐药率分别为:氨苄西林83.9%、73.5%、78.7%,萘啶酸65.3%、75.5%、34.0%,头孢唑林53.4%、35.7%、34.0%,四环素61.0%、31.6%、74.5%,复方磺胺甲噁唑63.6%、23.5%、46.8%,氨苄西林/舒巴坦28.0%、9.2%、29.8%,庆大霉素34.7%、7.1%、34.0%,氯霉素22.9%、5.1%、21.3%,环丙沙星18.6%、4.1%、14.9%;2株EAEC和1株ETEC对亚胺培南耐药。55株EAEC分为35个ST型,优势基因型是ST10(14.5%);55株ETEC分为14个ST型,优势基因型是ST48(32.7%)和ST218(16.4%);15株EPEC分为12个ST型,优势基因型是ST28(13.3%)、ST517(13.3%)和ST2088(13.3%)。微进化树分析结果显示:55株ETEC中,马鞍山市分别有5、3、2、2株菌100%同源,合肥市有5株菌100%同源;55株EAEC中,阜阳市、滁州市各有2株菌100%同源;15株EPEC中,有2组2株菌100%同源,分离自马鞍山市。50株EAEC PFGE同源性聚类分析结果为:100%同源有2株,分离自蚌埠市,其余菌株同源性均在90%以下;21株EPEC的基因同源性均在75%以下;30株ETEC、3株肠侵袭性大肠埃希菌(EIEC)和5株ETEC+aEAEC的基因同源性达97.6%、93.6%各2株,其余菌株同源性都在90%以下。结论 本研究发现安徽省临床分离的DEC耐药情况较严重,其中EAEC的耐药率高于EPEC和ETEC,ETEC的耐药率在各致病型中最低。分子分型检测发现本地区临床分离的DEC基因型较分散,在各致病型中,ETEC的基因型相对集中。微进化树分析提示ETEC存在地区同源性感染。在分子分型技术上,MLST能区分出优势基因型和聚集性,优于PFGE分型。

[关键词] 致泻性大肠埃希菌; 多重耐药; 基因型; 同源性

[中图分类号] R378.2⁺1

The main prevalent genotypes and homology of clinically isolated diarrheagenic *Escherichia coli* in Anhui Province

LI Chun¹, MENG Zhao-qian², WANG Li³, GUO Hui⁴, LI Wei-wei¹ (1. Microbiological Laboratory, Anhui Provincial Center for Disease Control and Prevention, Laboratory of Pathogenic Microbiology Molecular Biology of Key Medical and Health Specialty of Anhui Province, Hefei 230601, China; 2. Department of Laboratory Medicine, Fuyang Center for Disease Control and Prevention, Fuyang 236030, China; 3. Department of Laboratory Medicine, Ma'anshan Center for Disease Control and Prevention, Ma'anshan 243011, China; 4. Department of Laboratory Medicine, Bengbu Center for Disease Control and Prevention, Bengbu 233000, China)

[收稿日期] 2021-10-25

[基金项目] 国家科技重大专项(2018ZX10713003-002-005)

[作者简介] 李春(1978-),男(汉族),皖长丰人,副主任技师,主要从事微生物检验与分子诊断学研究。

[通信作者] 栗薇薇 E-mail:liww 8653@hotmail.com

[Abstract] Objective To investigate antimicrobial resistance, gene homology and main genotypes of clinically isolated diarrheagenic *Escherichia coli* (DEC) in Anhui Province. **Methods** Antimicrobial susceptibility testing was performed with microbroth dilution method, genotyping detection and homology analysis was conducted with multi-locus sequence typing (MLST) and pulsed-field gel electrophoresis (PFGE). **Results** Among 268 strains of DEC, 57.1% were multidrug-resistant organisms, including 118 strains of enteroaggregative *Escherichia coli* (EAEC), 98 strains of enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) and 47 strains of enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC), resistance rates of 3 types of pathological strains to commonly used antimicrobial agents were as follows: ampicillin 83.9%, 73.5%, 78.7%, nalidixic acid 65.3%, 75.5%, 34.0%, cefazolin 53.4%, 35.7%, 34.0%, tetracycline 61.0%, 31.6%, 74.5%, compound sulfamethoxazole 63.6%, 23.5%, 46.8%, ampicillin/sulbactam 28.0%, 9.2%, 29.8%, gentamicin 34.7%, 7.1%, 34.0%, chloramphenicol 22.9%, 5.1%, 21.3%, ciprofloxacin 18.6%, 4.1%, 14.9%; two EAEC strains and 1 ETEC strain were resistant to imipenem, 55 EAEC strains were divided into 35 ST, the dominant genotype was ST10 (14.5%); 55 ETEC strains were divided into 14 ST, the dominant genotypes were ST48 (32.7%) and ST218 (16.4%); 15 EPEC strains were divided into 12 ST, the dominating genotypes were ST28 (13.3%), ST517 (13.3%) and ST2088 (13.3%). Minimum-evolution (ME) tree analysis showed that among 55 ETEC strains, 5, 3, 2 and 2 strains isolated from Ma'anshan City were 100% homologous respectively, 5 strains isolated from Hefei City were 100% homologous; among 55 EAEC strains, 2 strains isolated from Fuyang City and 2 strains isolated from Chuzhou City were 100% homologous respectively; among 15 EPEC strains isolated from Ma'anshan City, 2 strains in 2 groups were 100% homologous. PFGE homology cluster analysis results of 50 EAEC strains were as follows: 2 strains isolated from Bengbu City were 100% homologous, homology of the other strains was less than 90%; gene homology of 21 EPEC strains were all less than 75%; homology of 30 ETEC strains, 3 enteroinvasive *Escherichia coli* (EIEC) strains, and 5 ETEC + aEAEC strains reached 97.6% with 2 strains and 93.6% with 2 strains respectively, and the homology of the remaining strains was below 90%. **Conclusion** Antimicrobial resistance of clinically isolated DEC in Anhui Province is serious, resistance rate of EAEC is higher than that of EPEC and ETEC, resistance rate of ETEC is the lowest among the pathogenic types. Molecular typing detection found that the genotypes of clinically isolated DEC in this area are relatively scattered, among the pathogenic types, genotype of ETEC is relatively concentrated. ME tree analysis suggests that ETEC may have a regional homologous infection. In molecular typing technology, MLST can distinguish dominant genotype and aggregation, which is better than PFGE typing.

[Key words] diarrheagenic *Escherichia coli*; multidrug resistance; genotype; homology

致泻性大肠埃希菌(diarrheagenic *Escherichia coli*, DEC)仍是当前发展中国家引起急性胃肠炎的主要病原体之一,主要通过污染的食品或饮用水进行传播。可分为 6 种病理类型:肠致病性大肠埃希菌(EPEC)、肠侵袭性大肠埃希菌(EIEC)、肠聚集性大肠埃希菌(EAEC)、弥散黏附性大肠埃希菌(DAEC)、肠出血大肠埃希菌(EHEC)和肠毒素性大肠埃希菌(ETEC)。除 DAEC 无特异的毒力基因鉴定外,其余 5 种病理类型都可通过特异性毒力基因进行鉴定分型^[1-2]。

DEC 在夏秋季节常引起一些散发病例,偶尔也会发生一些聚集性病例。基因溯源在流行病学和疾病预防控制中非常重要,其中多位点序列分型(multilocus sequence typing, MLST)和脉冲场凝胶电泳(pulsed-field gel electrophoresis, PFGE)分型是较常用的基因溯源方法。PFGE 分型选用适当的限制性内切酶在胶块中对整个细菌染色体进行酶

切,360°电泳分离,最后根据分离的条带数和大小进行基因溯源^[3]。MLST 是对保守基因测序分型,分辨率高,数据重复性好,常用于细菌基因分型和进化研究^[2, 4-6]。

本研究主要对安徽省连续 2 年临床分离的 DEC 分别用 PFGE 分型和 MLST 进行基因同源性分析,了解该地区 DEC 各致病型主要流行的基因型及同源性,并比对两种分型方法的优缺点。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株来源 2018—2019 年安徽省 9 个地市哨点医院采集的腹泻患者粪便标本分离的 DEC。

1.1.2 主要仪器和试剂 聚合酶链反应(PCR)仪(PTC-200)购自美国 MJ 公司,凝胶成像仪 Gel-DocXR 购自美国 Bio-Rad 公司, CHEF-Mapper 型脉

冲场凝胶电泳仪购自美国 Bio-Rad 公司。GoTaq Green Master Mix (Lot: M7122) 购于 Promega 公司, *Xba* I 限制性内切酶购于 TaKaRa 公司。

1.2 方法

1.2.1 药敏试验

采用微量肉汤稀释法进行药敏试验, 试验方法及药物的选择参照美国临床实验室标准化协会 (CLSI)—2019^[7] 标准。挑取新鲜纯菌落 3~5 个, 用无菌水配制成 0.5 麦氏单位的菌悬液, 吸取 60 μ L 加入 12 mL 肉汤管中充分混匀。向 96 孔药敏板中每孔加入 100 μ L (约 5×10^5 CFU/mL) 的肉汤菌悬液, 置湿盒中 36 $^{\circ}$ C 培养 20 h^[8]。质控菌株: 大肠埃希菌 ATCC 25922 和金黄色葡萄球菌 ATCC 25923。

1.2.2 MLST

随机对 2018 年临床分离的 DEC 进行基因测序分型。根据 *E. coli* 数据库提供的大肠埃希菌 MLST 方案, 参考数据库和文献合成引物^[8], 配制 50 μ L PCR 扩增体系: GoTaq Green Master Mix 2 μ L, 10 μ mol/L 的上下游引物各 2 μ L, 无 RNA 酶水 19 μ L, DNA 模板 2 μ L。PCR 扩增条件参照文献^[9]。收集 PCR 产物, 纯化后进行测序^[2]。将基因序列导入 *E. coli* MLST 数据库中获得相应的 ST 型, 将 7 对管家基因序列按 (*adk-fumC-gyrB-icd-mdh-purA-recA*) 顺序连接后, 用 MEGA v6.0 构建微进化树 [minimum-evolution (ME) tree]^[4,10]。

1.2.3 PFGE 分型

对 2019 年临床分离的 DEC 进行 PFGE 分型。①首先制备 1% SeaKem Gold plug: 调制 4.0~4.5 麦氏单位的菌悬液, 吸取 400 μ L 菌悬液至 EP 管中, 每管中加入 400 μ L SeaKem Gold, 充分混匀后加入 plug 模具中, 室温凝固 30 min; 细菌裂解, 将制备好的 1% SeaKem Gold plug 加入 CLB 裂解液中 54 $^{\circ}$ C 温育 2 h; ②Plug 清洗: 用无菌超纯水洗 2 次, TE 缓冲液洗 4 次; ③DNA 酶切: 取出 plug, 切成约 2.0 mm 宽的小胶条, 加入 200 μ L *Xba* I 酶切液, 37 $^{\circ}$ C 水浴 2 h; ④酶切片段电泳: 将酶切后的小胶条粘贴在梳齿上, 倒入 1% SKG, 待胶块凝固后电泳^[3]。Bionumerics 6.6 软件分析。

2 结果

2.1 检出菌株情况

2018—2019 年, 全省 9 个地市哨点医院共采集 1 920 例腹泻患者粪便, 分离 DEC 268 株。病理类型为: EAEC 118 株 (44.0%), 其中非典型 EAEC (aEAEC) 80 株 (29.9%), 典型 EAEC (tE-

AEC) 38 株 (14.2%); ETEC 98 株 (36.6%), 其中 ETEC 92 株 (34.3%), ETEC + aEAEC 6 株 (2.2%); EPEC 47 株 (17.5%), 其中非典型 EPEC (aEPEC) 45 株 (16.8%), 典型 EPEC (tEPEC) 2 株 (0.7%); EIEC 5 株 (1.9%)。病原菌来源地分布: 马鞍山市 78 株 (29.1%), 阜阳市 62 株 (23.1%), 合肥市 50 株 (18.7%), 蚌埠市 27 株 (10.1%), 淮南市 18 株 (6.7%), 亳州市 16 株 (6.0%), 池州市 7 株 (2.6%), 滁州市 6 株 (2.2%), 芜湖市 4 株 (1.5%)。

2.2 药敏结果

268 株 DEC 中, 57.1% 的菌株为多重耐药菌, 对氨苄西林、氨苄西林/舒巴坦、头孢唑林、庆大霉素、四环素、氯霉素、萘啶酸、环丙沙星和复方磺胺甲噁唑的耐药率分别为 78.7%、21.3%、43.7%、24.6%、52.6%、16.0%、63.4%、13.4%、54.9%。2 株 EAEC 和 1 株 ETEC 对亚胺培南耐药。见表 1。

2.3 MLST 结果

随机对 2018 年临床分离的 127 株 DEC 进行 MLST, 共获得 60 个 ST 型, 其中 EAEC 和 ETEC 少数菌株存在 ST48 和 ST394 型交叉。55 株 EAEC 分为 35 个 ST 型, 优势基因型是 ST10 (14.5%); 55 株 ETEC 分为 14 个 ST 型, 优势基因型是 ST48 (32.7%) 和 ST218 (16.4%); 15 株 EPEC 分为 12 个 ST 型, 优势基因型是 ST28、ST517 和 ST2088, 各占 13.3%; 2 株 EIEC 分为 ST6 和 ST99。见表 2。15 株 EPEC 微进化树分析有 2 组 100% 同源, 其中 1 组 4 株 (2 株分离自马鞍山市, 1 株分离自合肥市, 1 株分离自芜湖市), 另 1 组 2 株菌分离自马鞍山市, 见图 1。55 株 ETEC 微进化树分析有 5 组 100% 同源, 其中 1 组 5 株菌分离自马鞍山市, 另有 2 组 2 株菌均分离自马鞍山市, 还有 1 组 9 株菌 (5 株分离自合肥市, 3 株分离自马鞍山, 1 株分离自阜阳市), 见图 2。55 株 EAEC 微进化树分析有 4 组 100% 同源, 其中 1 组 3 株 (2 株分离自阜阳市, 1 株分离自合肥市), 1 组 2 株分离自滁州市, 其余 2 组 2 株菌均分离自不同地方, 见图 3。

2.4 PFGE 分型结果

2019 年临床分离的 109 株 DEC 基因同源性聚类分析结果显示, 50 株 EAEC (tEAEC 18 株, aEAEC 32 株) 中有 2 株 100% 同源, 分离自蚌埠市, 其余菌株同源性均在 90% 以下, 见图 4; 21 株 EPEC 同源性均在 75% 以下, 见图 5。30 株 ETEC、3 株 EIEC 和 5 株 ETEC + aEAEC 中, 同源性达 97.6%、93.6% 各 2 株, 其余菌株同源性均在 90% 以下, 见图 6。

表 1 四种致病型 DEC 对 13 种抗菌药物的药敏结果[株(%)]

Table 1 Antimicrobial susceptibility testing results of 4 types of pathogenic DEC to 13 kinds of antimicrobial agents (No. of isolates[%])

抗菌药物	EAEC(n = 118)		ETEC(n = 98)		EPEC(n = 47)		EIEC(n = 5)		合计(n = 268)	
	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S
氨苄西林	99(83.9)	18(15.3)	72(73.5)	23(23.5)	37(78.7)	10(21.3)	3(60.0)	2(40.0)	211(78.7)	53(19.8)
氨苄西林/舒巴坦	33(28.0)	38(32.2)	9(9.2)	53(54.1)	14(29.8)	19(40.4)	1(20.0)	3(60.0)	57(21.3)	113(42.2)
头孢唑林	63(53.4)	35(29.7)	35(35.7)	39(39.8)	16(34.0)	16(34.0)	3(60.0)	2(40.0)	117(43.7)	92(34.3)
头孢噻肟	48(40.7)	68(57.6)	27(27.6)	69(70.4)	9(19.1)	36(76.6)	3(60.0)	2(40.0)	87(32.5)	175(65.3)
头孢他啶	18(15.2)	94(79.7)	6(6.1)	89(90.8)	2(4.3)	41(87.2)	1(20.0)	4(80.0)	27(10.1)	228(85.1)
头孢西丁	14(11.9)	100(84.7)	5(5.1)	92(93.9)	4(8.5)	41(87.2)	1(20.0)	4(80.0)	24(9.0)	237(88.4)
亚胺培南	2(1.7)	114(96.6)	1(1.0)	97(99.0)	0(0.0)	46(97.9)	0(0.0)	5(100.0)	3(1.1)	262(97.8)
庆大霉素	41(34.7)	72(61.0)	7(7.1)	86(87.8)	16(34.0)	30(63.8)	2(40.0)	3(60.0)	66(24.6)	191(71.3)
四环素	72(61.0)	45(38.1)	31(31.6)	66(67.3)	35(74.5)	11(23.4)	3(60.0)	2(40.0)	141(52.6)	124(46.3)
氯霉素	27(22.9)	79(66.9)	5(5.1)	87(88.8)	10(21.3)	36(76.6)	1(20.0)	3(60.0)	43(16.0)	205(76.5)
萘啶酸	77(65.3)	41(34.7)	74(75.5)	24(24.5)	16(34.0)	31(66.0)	3(60.0)	2(40.0)	170(63.4)	98(36.6)
环丙沙星	22(18.6)	90(76.3)	4(4.1)	91(92.9)	7(14.9)	40(85.1)	3(60.0)	2(40.0)	36(13.4)	223(83.2)
复方磺胺甲噁唑	75(63.6)	43(36.4)	23(23.5)	75(76.5)	22(46.8)	25(53.2)	3(60.0)	2(40.0)	123(54.9)	145(54.1)

注:R 为耐药,S 为敏感;中介结果未列出。

表 2 主要致病型 DEC 的 MLST 结果

Table 2 MLST results of main pathogenic DEC

ST 型	菌株数	比率(%)
EAEC(n = 55)		
ST10	8	14.5
ST34	3	5.5
ETEC(n = 55)		
ST48	18	32.7
ST218	9	16.4
ST1491	7	12.7
EPEC(n = 15)		
ST28	2	13.3
ST517	2	13.3
ST2088	2	13.3

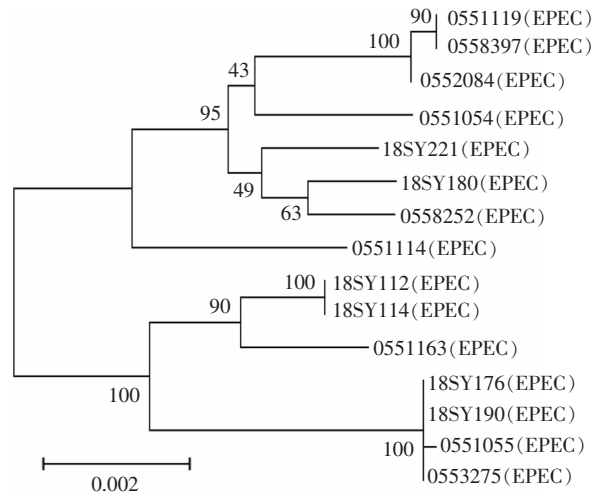
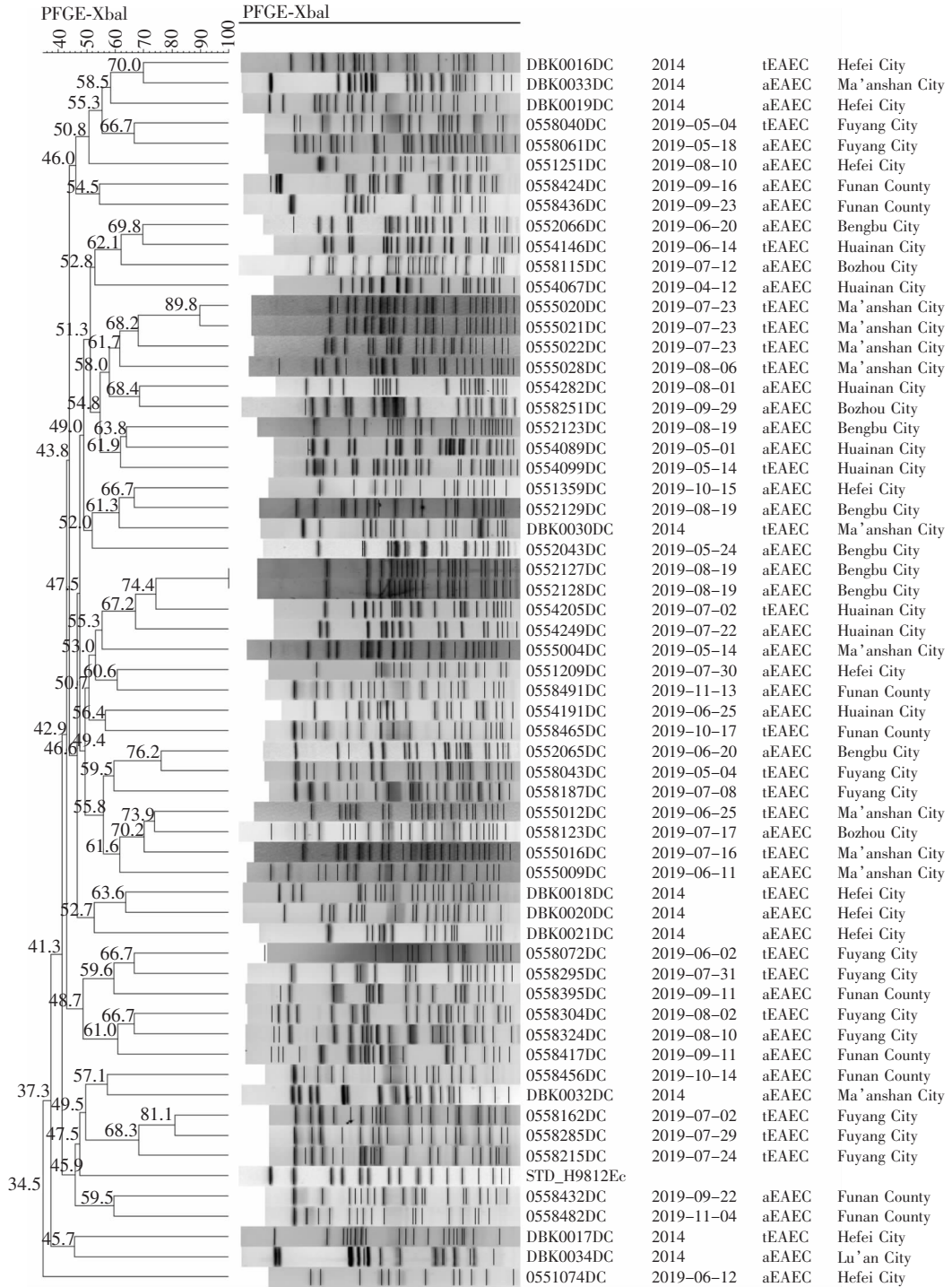


图 1 15 株 EPEC 微进化树图 (MEGA v6.0)

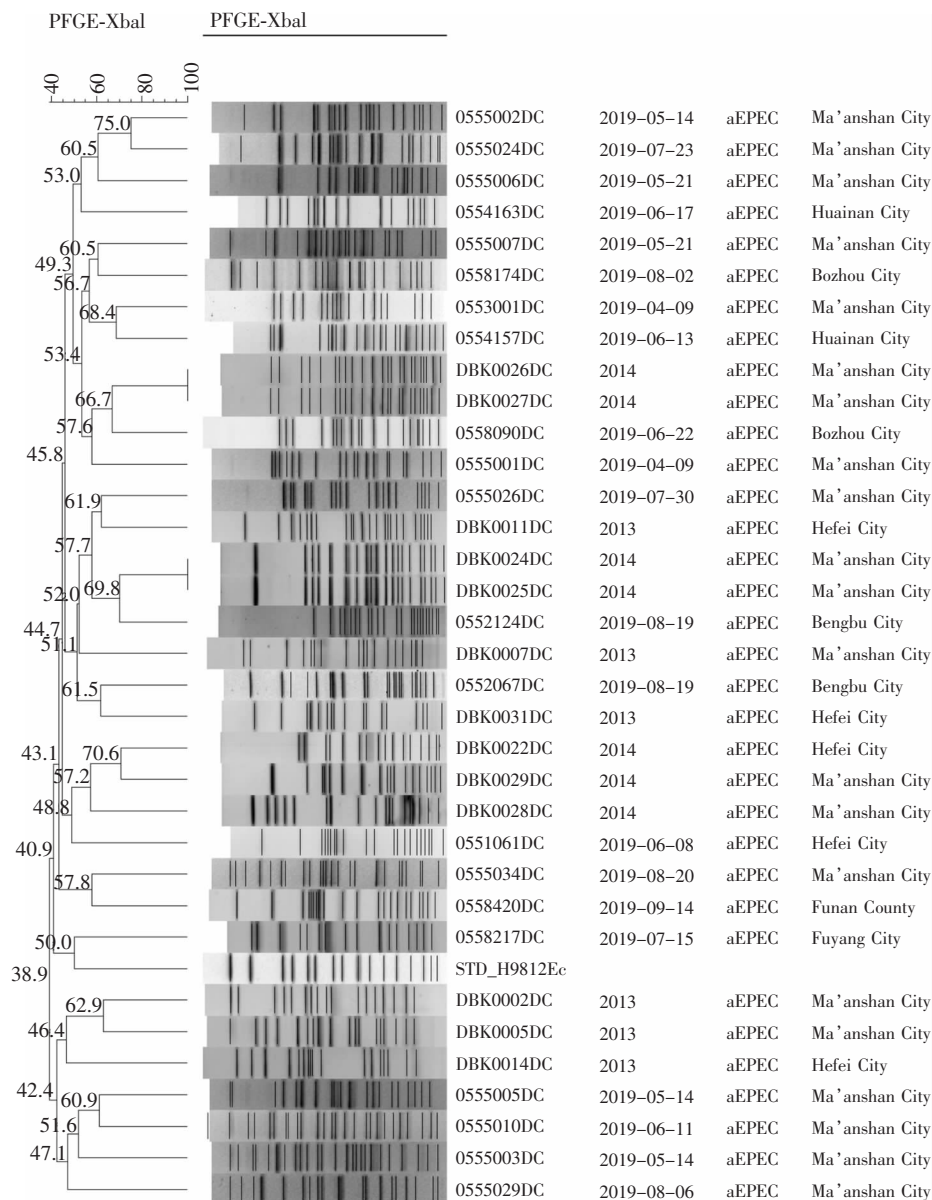
Figure 1 Minimum-evolution tree of 15 EPEC strains (MEGA v6.0)



注:2019 年安徽地区分离的 50 株 EAEC 与数据库中 2014 年已上传的 10 株 EAEC 聚类分析; Fuyang City 为阜阳市, Funan County 为阜南县, Hefei City 为合肥市, Bengbu City 为蚌埠市, Ma'anshan City 为马鞍山市, Huainan City 为淮南市, Bozhou City 为亳州市, Lu'an City 为六安市。

图 4 60 株 EAEC 的 PFGE 同源性聚类图

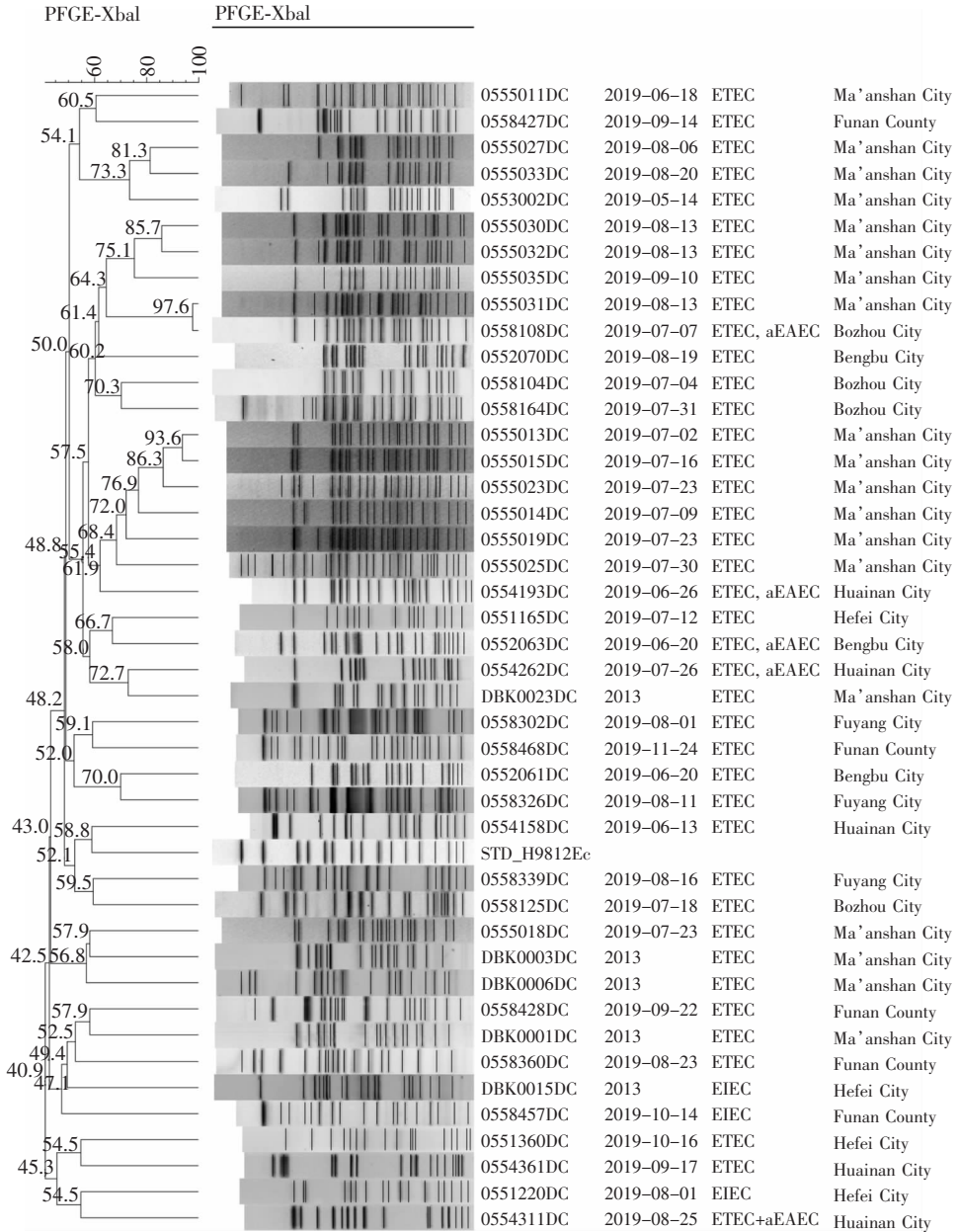
Figure 4 PFGE homology clustering diagram of 60 EAEC strains



注:2019年安徽地区分离的21株EPEC与数据库中2013—2014年已上传的13株EPEC聚类分析;Fuyang City为阜阳市,Funan County为阜南县,Hefei City为合肥市,Bengbu City为蚌埠市,Ma'anshan City为马鞍山市,Huainan City为淮南市,Bozhou City为亳州市。

图5 34株EPEC的PFGE同源聚类图

Figure 5 PFGE homology clustering diagram of 34 EPEC strains



注:2019年安徽地区分离的30株ETEC、3株EIEC、5株ETEC+aEAEC与数据库中2013年上传的4株ETEC和1株EIEC聚类分析;Fuyang City为阜阳市,Funan County为阜南县,Hefei City为合肥市,Bengbu City为蚌埠市,Ma'anshan City为马鞍山市,Huainan City为淮南市,Bozhou City为亳州市。

图 6 43 株 ETEC 和 EIEC 的 PFGE 同源性聚类图

Figure 6 PFGE homology clustering diagram of 43 ETEC and EIEC strains

3 讨论

本研究资料显示,安徽地区流行的 DEC 存在 4 种优势毒株,其中以 EAEC 为主,占 44.0%,其次是 ETEC(36.6%)、EPEC(17.5%)和 EIEC(1.9%),从未从患者粪便中检测出 EHEC,提示本地区流行的 DEC 主要是 EAEC、ETEC 和 EPEC,与张子科等^[11]统计的结果基本相吻合。

药敏试验结果显示,临床分离的 DEC 毒株多重耐药菌检出率高达 57.1%,对氨苄西林、萘啶酸和头孢唑林的耐药率较高,耐药情况较严重,较之前的药敏监测结果略有升高^[12],与相关研究^[13-14]报道的结果近似,提示我国多省份 DEC 的耐药情况较严重。本研究发现 EAEC 对头孢唑林和头孢他啶的耐药率分别为 53.4%、15.2%,明显高于 ETEC 的 35.7%、6.1%,以及 EPEC 的 34.0%、4.3%。EPEC 对萘啶酸和头孢噻肟的耐药率分别为 34.0%、19.1%,明显

低于 EAEC 的 65.3%、40.7%，以及 ETEC 的 75.5%、27.6%。ETEC 对四环素、复方磺胺甲噁唑、氨苄西林/舒巴坦、庆大霉素、氯霉素和环丙沙星的耐药率分别为 31.6%、23.5%、9.2%、7.1%、5.1%、4.1%，明显低于 EAEC 和 EPEC 对上述抗菌药物的耐药率。提示尽管本地区流行 DEC 的耐药情况较重，但不同菌株型的耐药情况存在差异，EAEC 对大部分抗菌药物的耐药率高于 EPEC 和 ETEC，EAEC 耐药状况较重，ETEC 耐药状况较轻。

2019 年复旦大学附属华山医院的监测数据^[15]显示，耐碳青霉烯类肠杆菌目细菌(CRE)检出率为 20.4%，肺炎克雷伯菌中耐碳青霉烯类菌株检出率为 42.9%，临床耐药菌株尤其是 CRE 呈增长趋势。但 DEC 中近年才检出 CRE，本研究在 2013—2018 年的监测数据中均未发现耐碳青霉烯类 DEC，仅 2019 年发现 2 株 EAEC 和 1 株 ETEC 对亚胺培南耐药，后续将对其耐药机制和传播机制进行研究。

MLST 结果显示，127 株 DEC 共检出 60 个 ST 型，呈高度多态性。其中 55 株 EAEC 分为 35 个 ST 型，以 ST10(14.5%)和 ST34(5.5%)略占优势，与 Okeke 等^[16]报道 Nigeria 临床分离的 126 株 EAEC 多达 96 种 ST 型的多态性分布相近。微进化树分析显示，有少数菌株呈 100%同源，但空间分布广泛，提示无聚集性感染。50 株 EAEC 的 PFGE 同源性聚类分析仅有 2 株出现 100%同源性，分离自蚌埠市，其余菌株的同源性均小于 90%。同样提示 EAEC 高度多态性分布，无聚集性感染。Li 等^[5]报道深圳地区分离的 ETEC 基因型较分散，ST218 为相对优势基因型，本研究中 55 株 ETEC 分为 14 个 ST 型，优势基因型是 ST48(32.7%)、ST218(16.4%)和 ST1491(12.7%)，说明本地区临床分离的 ETEC 基因型较集中，ST48 为主要优势基因型，提示不同地区 ETEC 基因型存在差异性。55 株 ETEC 微进化树分析发现有 5 组 100%同源，其中有多株菌分离自马鞍山市，提示存在地区聚集性感染的可能性，但流行病学调查未发现暴发或聚集性病例。研究发现同源性感染存在时间差异，因此未出现聚集性病例，可能与菌株的克隆传播有关。30 株 ETEC PFGE 同源性聚类分析发现，同源性达 97.6%、93.6%各 2 株，其余菌株同源性在 90%以下。15 株 EPEC 分为 12 个 ST 型，呈多态性分布，其中以 ST28(13.3%)、ST517(13.3%)和 ST2088(13.3%)略占优势。15 株 EPEC 微进化树分析显示，少数菌株呈 100%同源性，空间分布广泛，提示

无聚集性病例出现。21 株 EPEC PFGE 同源性聚类分析显示同源性均在 75%以下。

PFGE 和 MLST 同为两种分子分型方法，两者各有优缺点，可以互为补充用于致病菌的分型和基因溯源分析。从本研究分型结果看，两者作用相同，均可用于分析致病菌的同源性，并且两种分型方法获得的结果也近似。但 MLST 是通过基因测序，其准确度要高于 PFGE 法，在本研究中 MLST 法对 ETEC 同源性的判断要比 PFGE 法更精准。但 PFGE 法的优势是普及程度高，可用于大范围多样本的分析判断。

利益冲突：所有作者均声明不存在利益冲突。

[参 考 文 献]

- [1] Croxen MA, Law RJ, Scholz R, et al. Recent advances in understanding enteric pathogenic *Escherichia coli* [J]. Clin Microbiol Rev, 2013, 26(4): 822–880.
- [2] Yu F, Chen X, Zheng SF, et al. Prevalence and genetic diversity of human diarrheagenic *Escherichia coli* isolates by multi-locus sequence typing[J]. Int J Infect Dis, 2018, 67: 7–13.
- [3] Zhang SX, Zhou YM, Tian LG, et al. Antibiotic resistance and molecular characterization of diarrheagenic *Escherichia coli* and non-typhoidal *Salmonella* strains isolated from infections in Southwest China[J]. 2018, 7(1): 53.
- [4] Bagus Wasito E, Shigemura K, Osawa KY, et al. Antibiotic susceptibilities and genetic characteristics of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* isolates from stools of pediatric diarrhea patients in Surabaya, Indonesia[J]. Jpn J Infect Dis, 2017, 70(4): 378–382.
- [5] Li YH, Luo Q, Shi XL, et al. Phenotypic and genotypic characterization of clinical enterotoxigenic *Escherichia coli* isolates from Shenzhen, China[J]. Foodborne Pathog Dis, 2017, 14(6): 333–340.
- [6] Garcia-Meniño I, García V, Mora A, et al. Swine enteric colibacillosis in Spain: pathogenic potential of mcr-1 ST10 and ST131 *E. coli* isolates[J]. Front Microbiol, 2018, 9: 2659.
- [7] Huang Z, Pan HJ, Zhang PP, et al. Prevalence and antimicrobial resistance patterns of diarrheagenic *Escherichia coli* in Shanghai, China[J]. Pediatr Infect Dis J, 2016, 35(8): 835–839.
- [8] 李春, 俞俊岭. 安徽地区腹泻患者感染肠致病大肠埃希氏菌的耐药特征[J]. 中国人兽共患病学报, 2019, 35(8): 732–737.
- Li C, Yu JL. Resistance characteristics of enteropathogenic *Escherichia coli* isolated from feces of diarrhea patients in Anhui, China[J]. Chinese Journal of Zoonoses, 2019, 35(8): 732–737.

- [9] 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.
Bai XN, Zhao AL, Xia SL, et al. Multilocus sequence typing of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates [J]. Chinese Journal of Zoonoses, 2012, 28(6): 544-548, 560.
- [10] 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.
- [11] 张子科, 赖圣杰, 余建兴, 等. 我国 2012—2015 年门诊腹泻患者中致泻性大肠埃希菌流行特征分析[J]. 中华流行病学杂志, 2017, 38(4): 419-423.
Zhang ZK, Lai SJ, Yu JX, et al. Epidemiological characteristics of diarrheagenic *Escherichia coli* among diarrhea outpatients in China, 2012-2015[J]. Chinese Journal of Epidemiology, 2017, 38(4): 419-423.
- [12] 李春, 陈国平, 孟昭倩, 等. 2015—2019 年安徽省致泻性大肠埃希菌分型及耐药性分析[J]. 中华疾病控制杂志, 2020, 24(10): 1154-1159.
Li C, Chen GP, Meng ZQ, et al. Typing and antimicrobial resistance analysis of diarrheogenic *Escherichia coli* in Anhui Province from 2015 to 2019[J]. Chinese Journal of Disease Control & Prevention, 2020, 24(10): 1154-1159.
- [13] 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 TL, Huang JH, Li XF, 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.
- [14] 杨杰, 李文, 冀国强, 等. 顺义区 2018 年腹泻病例粪便中致泻大肠埃希氏菌耐药监测结果分析[J]. 安徽预防医学杂志, 2020, 26(5): 386-389.
Yang J, Li W, Ji GQ, et al. Analysis of drug resistance of diarrheal *Escherichia coli* in stool of diarrhea cases in Shunyi Diarrheal in 2018[J]. Anhui Journal of Preventive Medicine, 2020, 26(5): 386-389.
- [15] 韩仁如, 郑永贵, 杨洋, 等. 2019 年复旦大学附属华山医院细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志[J], 2020, 20(5): 457-464.
Han RR, Zheng YG, Yang Y, et al. Surveillance of antimicrobial resistance among bacterial strains isolated from Huashan Hospital, Fudan University in 2019[J]. Chinese Journal of Infection and Chemotherapy, 2020, 20(5): 457-464.
- [16] Okeke IN, Wallace-Gadsden F, Simons HR, et al. Multi-locus sequence typing of enteroaggregative *Escherichia coli* isolates from Nigerian children uncovers multiple lineages[J]. PLoS One, 2010, 5(11): e14093.

(本文编辑:文细毛)

本文引用格式: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. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20222048.

Cite this article as: LI Chun, MENG Zhao-qian, WANG Li, et al. The main prevalent genotypes and homology of clinically isolated diarrheagenic *Escherichia coli* in Anhui Province [J]. Chin J Infect Control, 2022, 21(2): 111-120. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20222048.