



新疆羊肉源非典型肠致病性大肠杆菌 ZX185 的基因组特征与传播风险

陈英¹, 杜冬冬^{2*}, 彭叶龙⁴, 柳旭伟¹, 宁程程¹, 伍晔晖¹, 张国武^{3*}

(1. 新疆农业职业技术大学 动物科技学院, 昌吉 831100; 2. 新疆农垦科学院分析测试中心, 石河子 832000; 3. 新疆医科大学第一附属医院, 中亚高发病因与防治国家重点实验室, 乌鲁木齐 830054; 4. 新疆维吾尔自治区动物疫病预防控制中心, 乌鲁木齐 830000)

摘要: 系统分析源自新疆羊肉源非典型肠致病性大肠杆菌 ZX185(aEPEC ZX185)的致病性与耐药特征, 评估其食源性传播风险。本研究采用微量肉汤稀释法测定抗生素敏感性, 利用 Illumina HiSeq 平台进行全基因组测序, 并结合生物信息学分析其基因组特性。采用核心基因组单核苷酸多态性(cgSNP)分析构建系统发育树, 并结合比较基因组学分析毒力基因差异。结果表明, 菌株 ZX185 的血清型为 O85:H4, 序列型为 ST642。尽管其对 28 种抗生素均呈表型敏感, 但其基因组中仍携带 43 个耐药基因及 IncFIB 型质粒复制子, 表明其具备多重耐药潜力。此外, 该菌株携带 91 个毒力基因(包括黏附因子、III/VI 型分泌系统效应蛋白等), 并在 pH≥3.5 的模拟胃液处理 3 h 后存活率仍高于 11%, 表现出显著的胃酸耐受性, 表明其具有较强的肠道定植与致病潜力。cgSNP 的系统发育分析表明, aEPEC ZX185 与人源美国菌株 MOD1-EC6173(O85:H4, ST642)遗传关系密切(仅 26 个 SNPs 差异), 但 ZX185 菌株携带了 35 个 MOD1-EC6173 菌株所不具备的毒力基因, 主要涉及黏附、T3SS/T6SS 及毒素合成等相关功能。综上, 新疆羊肉源 aEPEC ZX185 菌株虽表型敏感, 但兼具多重耐药基因与强毒力特征, 且与人源菌株高度同源, 存在潜在跨宿主传播风险。本研究为 aEPEC 的致病机制解析、耐药性演化追踪及食源性防控提供了重要分子依据。

关键词: 非典型肠致病性大肠杆菌; 基因组; 毒力基因; 耐药性; 胃酸耐受性

中图分类号: S852.61

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2026)03-1673-10

Genomic Characteristics and Transmission Risks of Xinjiang Sheep Meat-derived Atypical Enteropathogenic *Escherichia coli* Strain ZX185

CHEN Ying¹, DU Dongdong^{2*}, PENG Yelong⁴, LIU Xuwei¹, NING Chengcheng¹,
WU Yehui¹, ZHANG Guowu^{3*}

(1. College of Animal Science and Technology, Xinjiang Agricultural Vocational and Technical University, Changji 831100, China; 2. Analysis and Testing Center, Xinjiang Academy of Agriculture and Reclamation Science, Shihezi 832000, China; 3. State Key Laboratory of Pathogenesis, Prevention and Treatment of High Incidence Diseases in Central Asia, The First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, China; 4. Animal Diseases Control and Prevention Centre of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi 830000, China)

Abstract: The study characterizes the pathogenicity and antimicrobial resistance profile of atypical

收稿日期: 2025-07-11

基金项目: 新疆农垦科学院青年基金(2025YJQN13); 新疆农业职业技术大学研究项目(XJNZYKJ202314); 新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(2023D01B43)

作者简介: 陈英, 主要从事分子生物学研究, E-mail: 1826724554@qq.com

* 通信作者: 杜冬冬, 主要从事食品微生物安全分析研究, E-mail: 1642237366@qq.com; 张国武, 主要从事人兽共患病致病机制与防控, E-mail: 934961964@qq.com

enteropathogenic *Escherichia coli* (aEPEC) strain ZX185 isolated from sheep meat in Xinjiang, and evaluates its potential for foodborne transmission. Antimicrobial susceptibility was determined using the microbroth dilution method, and whole-genome sequencing was performed on the Illumina HiSeq platform. Bioinformatics analyses were conducted to investigate genomic features, including virulence and resistance determinants. A phylogenetic tree was constructed using core-genome single nucleotide polymorphisms (cgSNPs) to compare virulence gene content across closely related strains. The results indicated that strain ZX185 belongs to serotype O85:H4 and sequence type ST642. Although it was phenotypically susceptible to all 28 tested antibiotics, its genome harbored 43 antimicrobial resistance genes and an IncFIB plasmid replicon, suggesting potential for multidrug resistance. Additionally, this strain carries 91 virulence genes (including adhesion factors, type III/V secretion system effector proteins, etc.) and exhibits notable acid tolerance, with a survival rate exceeding 11% after 3 hours of treatment in simulated gastric fluid at $\text{pH} \geq 3.5$, indicating a strong potential for intestinal colonization and pathogenicity. Although cgSNP-based phylogenetic analysis indicated a close genetic relationship (26 SNPs apart) between strain ZX185 and the human-source U. S. strain MOD1-EC6173 (O85:H4, ST642), ZX185 carries 35 additional virulence genes missing in MOD1-EC6173, predominantly associated with adhesion, T3SS/T6SS, and toxin synthesis. These findings indicate that although this sheep-derived aEPEC strain ZX185 shows phenotypic susceptibility, it possesses multidrug resistance genes and strong virulence traits, and exhibits high genomic similarity to a human-derived strain, indicating potential cross-host transmission risk. This study provides critical molecular insights into the pathogenesis of aEPEC, the evolution of antimicrobial resistance, and the foodborne transmission risk, supporting improved surveillance and control strategies.

Keywords: atypical enteropathogenic *Escherichia coli*; genome; virulence genes; antimicrobial resistance; gastric acid tolerance

*** Corresponding authors:** DU Dongdong, E-mail: 1642237366@qq.com; ZHANG Guowu, E-mail: 934961964@qq.com

大肠杆菌(*Escherichia coli*, *E. coli*)是肠道和环境中常见微生物,其中大多数为非致病性共生菌。然而,部分菌株因携带多种致病性的毒力因子,可引起严重腹泻疾病甚至死亡^[1]。根据流行病学特征、临床表现、主要毒力基因和血清型等差异可分为5类致泻性大肠杆菌:肠致病性大肠杆菌(enteropathogenic *E. coli*, EPEC)、肠产毒性大肠杆菌(enterotoxigenic *E. coli*, ETEC)、肠侵袭性大肠杆菌(enteroinvasive *E. coli*, EIEC)、产志贺毒素大肠杆菌(Shiga toxin-producing *E. coli*, STEC)和肠集聚性大肠杆菌(enteroaggregative *E. coli*, EAEC)等^[2-3]。其中EPEC为最早发现与腹泻相关的大肠杆菌,是引起婴幼儿中度至重度腹泻病原菌^[4-5],该菌也是导致季节性腹泻疾病暴发的重要病原体之一^[6-7]。EPEC分为典型(tEPEC)和非典型(aEPEC)两类:tEPEC携带 *eae* 和 *bfpA* 基因,aEPEC 仅携带

eae 基因。aEPEC 不仅与儿童腹泻密切相关,且广泛存在于畜禽等动物中,发病率已超过 tEPEC,显著增加人畜共患和食源传播风险^[8-9]。EPEC 引起病理性的特征表现为在肠上皮细胞中诱导形成黏附/消除损伤(attaching and effacing, A/E)病变,并伴随着微绒毛萎缩、上皮细胞排列紊乱以及细胞功能受损,从而影响肠道吸收和屏障功能,导致严重腹泻,甚至危及生命^[10-11]。

近年来,抗生素的广泛使用加速了大肠杆菌的进化,多重耐药菌株日益普遍。更为严峻的是大肠杆菌还可通过接合型菌毛介导传递耐药质粒,导致耐药基因簇在微生物群落中迅速扩散并出现泛耐药性进化倾向^[12-13]。作为重要的致泻性病原,EPEC 不仅具有较强的致病性,其耐药性问题也日趋严峻,给临床治疗和公共卫生防控带来巨大挑战^[14-15]。尽管已在多种食品中检出多重耐药 EPEC^[16],但现

有研究多集中于 *eEPEC* 的特征分析,对食源性 *aEPEC* 系统基因组学研究仍相对匮乏。尤为重要的是,尽管新疆地区是我国重要的畜牧业生产基地,羊肉作为主要消费肉类之一,其携带的 *aEPEC* 基因组特征与食源性传播风险却尚未见系统报道。因此,本研究选取一株从新疆市售羊肉中分离的 *aEPEC* 菌株 ZX185,结合胃酸耐受试验、表型耐药检测与高通量基因组分析,系统解析其血清型、多位点序列分型(ST 型)、毒力因子组成、耐药基因组、质粒携带特征及胃酸耐受能力,为理解 *aEPEC* 在食品链中的适应性演化与耐药传播机制提供实证依据,填补食源性 *aEPEC* 在遗传特征、耐药演化及区域流行病学数据方面的空白,为后续区域性监测与食源性风险评估奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 菌株

按照 GB 4789.6—2016 在新疆某地区农贸市场市售羊肉样品中分离肠致病性大肠杆菌 ZX185 菌株,通过 VITEK-2Compac 全自动微生物鉴定仪和 5 种致泻大肠杆菌核酸多重 PCR 检测试剂盒(A211L)鉴定后,由新疆农垦科学院分析测试中心微生物室保存。

1.2 主要试剂和仪器

肠道菌增菌肉汤、麦康凯琼脂(MAC)、伊红美蓝(EMB)、琼三糖铁琼脂(TSI)、营养琼脂、营养肉汤均购自北京陆桥有限公司;细菌基因组 DNA 快速提取试剂盒购自北京博迈德生物技术有限公司;细菌药物 MIC 测试(革兰阴性菌 D-1、D-2)购自珠海美华医疗科技有限公司;5 种致泻大肠埃希氏菌核酸多重 PCR 检测试剂盒(A211L)购自北京卓诚惠生生物科技有限公司;核酸蛋白测定仪购自美国 BIO-RAD;台式高速冷冻离心机购自 Sigma 公司。

1.3 方法

1.3.1 药敏试验 根据《国家食品污染物和有害因素风险监测工作手册》致泻大肠埃希氏菌进行药敏试验,挑取活化两次后的单菌落,在无菌生理盐水充分混匀,调整菌悬液浓度至 0.5 麦氏单位(浓度约为 1.5×10^8 CFU·mL⁻¹)。将菌悬液按 1:200 稀释于无菌肉汤中混匀(浓度约为 5×10^5 CFU·mL⁻¹)后加 100 μ L 至 96 孔药敏板,并加入 100 μ L CAMHB 无菌肉汤作空白对照。将接种后的 96 孔药敏板加盖,置于湿盒中,36 $^{\circ}$ C $\pm$ 1 $^{\circ}$ C 培养

18 h $\pm$ 2 h 后参照 CLSI 标准^[17]判读结果。

1.3.2 胃酸胁迫试验 参照朱雅慧等^[18]方法配制人工胃液(含 8.3 g·L⁻¹ 蛋白胨、3.5 g·L⁻¹ 无水葡萄糖、2.05 g·L⁻¹ NaCl、0.6 g·L⁻¹ KH₂PO₄、0.11 g·L⁻¹ CaCl₂、0.37 g·L⁻¹ KCl),使用 1 mol·L⁻¹ HCl 分别调节 pH 至 1.5、2.5 和 3.5,过滤除菌(0.22 μ m)后于 4 $^{\circ}$ C 保存。临用前,将溶液预热至 37 $^{\circ}$ C 并加入胃蛋白酶至终浓度 10 g·L⁻¹。将 ZX185 菌株在 LB 肉汤中 37 $^{\circ}$ C 振荡培养(180 r·min⁻¹)16 h 后,以 1:9 的比例接种于上述预热人工胃液中。混合物于 37 $^{\circ}$ C 水浴培养,分别于 0、1、2 和 3 h 取样。取样后进行平板计数^[19],整个试验独立重复两次($n=2$)。

1.3.3 全基因组测序和基因组特征分析 将活化后的 ZX185 菌株挑取单克隆,接种到营养肉汤中 37 $^{\circ}$ C 振荡培养 16 h,按照试剂盒说明书提取基因组 DNA,并通过琼脂糖电泳和核酸蛋白测定仪检测,确保提取基因组的质量和浓度。提取的 DNA 由生工生物工程(上海)股份有限公司 Illumina HiSeq 高通量测序平台进行全基因组测序和拼接组装。开放阅读框(open reading frame, ORF)采用 Glimmer 软件预测。对组装结果进行基因元件通过 Prokka 预测并使用 CG View 在线工具绘制基因组图谱。通过 Serotype Finder (<https://cge.food.dtu.dk/services/SerotypeFinder/>)预测 ZX185 血清型,通过 Pasteur MLST 数据库 (https://bigsdb.pasteur.fr/cgi-bin/bigsdb/bigsdb.pl?db=pubmlst_ecoli_seqdef&page=sequenceQuery)确定 ZX185 菌株的 7 个管家基因(*adk*、*fumC*、*gyrB*、*icd*、*mdh*、*purA*、*recA*)的等位基因号、ST 型别。

1.3.4 毒力基因和耐药基因分析 使用 ABRicate 软件以 CARD 数据库 (<https://card.mcmaster.ca/download>)对 ZX185 菌株的全基因组序列进行抗生素抗性的相关基因注释分析。利用 VFDB 数据库 (<https://www.mgc.ac.cn/VFs/download.htm>)对 ZX185 菌株的致病性的相关基因注释分析。

1.3.5 遗传进化分析 通过 cgSNP 分析 ZX185 菌株与来自 NCBI 数据库的 43 株肠致病性大肠杆菌菌株的系统发育关系(OSID 材料附表 1)。以 ZX185 菌株的基因组作为参考,利用 Snippy 工具调用 cgSNPs,并采用 Gubbins v3.2.1 软件筛选重组区域。基于 Fasttree v2.1.11 软件及其默认参数的最大似然模型构建了系统发育树。

1.3.6 不同分离源肠致病大肠杆菌基因组比对分

析 采用 Mauve 软件对 ZX185 菌株与其在同一进化树分支上的菌株 MOD1-EC6173 进行基因组共线性分析和序列比对,并利用 VFDB 数据库对两株菌携带的毒力基因注释后,进一步比较种类和数量。

2 结 果

2.1 ZX185 的耐药表型

通过微量肉汤稀释法测定,肠致病性大肠杆菌

ZX185 对临床常用 11 大类 28 种抗生素 MIC 值均未超过 CLSI 规定的敏感阈值,表现为敏感(表 1)。特别是该菌株对碳青霉烯类(如亚胺培南)、头孢菌素类、 β -内酰胺酶抑制剂复合制剂、氨基糖苷类、四环素类、喹诺酮类及叶酸途径抑制剂表现出高度敏感,所有这些抗生素都能在最低稀释浓度下完全抑制 ZX185 的生长。

表 1 肠致病大肠杆菌 ZX185 菌株药敏检测结果

Table 1 Antibiotic resistance of enteropathogenic *E. coli* ZX185

抗生素类别 Antibiotic classification	抗生素 Antibiotic	耐药折点/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$ Breakpoint			最小抑菌浓度 MIC/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$
		S	I	R	
青霉素类 Penicillins	氨苄西林	≤ 8	16	≥ 32	2
β -内酰胺/ β -内酰胺抑制剂复合物 β -lactam/ β -lactamase inhibitor combinations	氨苄西林/舒巴坦	$\leq 8/4$	16/8	$\geq 32/16$	1/0.5
	头孢他啶/阿维巴坦	$\leq 8/4$	—	$\geq 16/4$	$< 0.25/4$
	头孢他啶/克拉维酸	$\leq 4/4$	8/4	$\geq 16/4$	$< 0.25/4$
	头孢噻肟/克拉维酸	$\leq 0.25/4$	2/4	$\geq 4/4$	$< 0.125/4$
	阿莫西林/克拉维酸	$\leq 8/4$	16/8	$\geq 32/16$	2/1
头孢类 Cephalosporins	头孢唑啉	≤ 2	4	≥ 8	< 1
	头孢噻肟	≤ 1	2	≥ 4	< 0.25
	头孢西丁	≤ 8	16	≥ 32	2
	头孢他啶	≤ 4	8	≥ 16	< 0.5
	头孢呋辛	≤ 8	16	≥ 32	2
	头孢吡肟	≤ 2	8	≥ 16	< 1
	头孢噻唑	≤ 2	4	≥ 8	< 1
	亚胺培南	≤ 1	2	≥ 4	< 0.25
碳青霉烯类 Carbapenems	厄他培南	≤ 0.5	1	≥ 2	< 0.25
	美罗培南	≤ 1	2	≥ 4	< 0.125
	庆大霉素	≤ 4	8	≥ 16	< 1
氨基糖苷类 Aminoglycosides	阿米卡星	≤ 16	32	≥ 64	< 2
	多黏菌素 E	—	≤ 2	≥ 4	0.12
乳菌肽脂肽类 Lactobacillus peptides and lipopeptides	多黏菌素 B	—	≤ 2	≥ 4	0.12
	阿奇霉素	≤ 16	—	≥ 32	2
大环内酯类 Macrolides	四环素	≤ 4	8	≥ 16	< 1
四环素类 Tetracyclines	替加环素	≤ 2	4	≥ 8	< 0.25
	萘啶酸	≤ 16	—	≥ 32	2
喹诺酮类和氟喹诺酮类 Quinolones & Fluoroquinolones	环丙沙星	≤ 0.25	0.5	≥ 1	< 0.016
	氯霉素	≤ 8	16	≥ 32	4
氯霉素类 Chloramphenicols	氟苯尼考	≤ 4	8	≥ 16	2
	复方磺胺	$\leq 2/38$	—	$\geq 4/76$	$< 0.25/4.75$
叶酸途径抑制剂 Folic acid antagonists					

2.2 ZX185 菌株的胃酸耐受阈值特征

ZX185 菌株在人工胃液中的存活表现出显著的 pH 依赖性(图 1):在强酸性环境(pH 1.5)中,细菌浓度呈指数级下降,3 h 后存活率仅存 0.000 35%(从初始 6×10^8 CFU $\cdot$ mL $^{-1}$ 降至 2.13×10^3 CFU $\cdot$ mL $^{-1}$);在中度酸性环境(pH 2.5)中,细菌部分失活但持续衰减,3 h 后存活率为 0.55%(3.33×10^6 CFU $\cdot$ mL $^{-1}$);而在弱酸性环境(pH 3.5)中,细菌浓度保持稳定,3 h 后存活率达 11.05%(6.63×10^7 CFU $\cdot$ mL $^{-1}$),无显著下降趋势($P > 0.05$)。这些结果表明,ZX185 在 $\text{pH} \leq 2.5$ 时被显著抑制,但在模拟进食后胃环境($\text{pH} \geq 3.5$)中可能通过适应性机制维持存活,提示食物缓冲作用可增强其胃通过能力。

2.3 基因组序列特征分析

测序结果显示(表 2),ZX185 基因组大小为 4 940 597 bp(GC 含量 51.51%),编码 4 664 个基因,包含 84 个 tRNA、1 个 tmRNA、11 个 rRNA 和 2 个重复区域。其血清型为 O85:H4,MLST 为 ST 642。质粒预测结果显示,ZX185 具有一种质粒复制子:IncFIB(AP001918)。ZX185 基因组的圈图如图 2 所示,最内圈为基因组序列位置坐标,向外依次为 GC skew 值分布、编码基因的正链及反链 CDS、tRNA、tmRNA、rRNA 和重复区域,以及基因组 GC 含量等组成。

2.4 ZX185 耐药和毒力基因分析

通过 CARD 数据库分析耐药基因的结果显示,ZX185 菌株基因组中共检出 43 个耐药基因,主要涉及抗生素外排泵、抗生素失活、靶点修饰及细胞膜通透性降低四类耐药机制(OSID 材料附表 2)。其

中,外排泵相关基因占主导,达 34 个,占比 79%。尤为引人关注的是,编码 RND 家族外排泵的 *gadX* 基因不仅介导多种抗生素的主动外排,还可能通过调节膜通透性和应激反应,增强细菌的多重耐药性。此外,ABC 转运蛋白家族成员 *msbA* 和 *YojI* 在脂多糖转运与细胞膜稳定中发挥关键作用,其过表达可显著降低细菌对多粘菌素等阳离子抗菌肽的敏感性,提示其在耐药性形成、尤其是对重要临床药物敏感性下降中具有潜在风险。

在 ZX185 菌株的毒力基因分析中(OSID 材料附表 3),共鉴定出 91 个毒力因子。其中,分泌系统相关基因包括 21 个 III 型分泌系统(TTSS)效应蛋白编码基因和 16 个 VI 型分泌系统(T6SS)相关基因,表明该菌株具有较强的宿主互作与竞争能力。值得注意的是,TTSS 中非 LEE 区域编码的效应因子达 9 个,显著多于 LEE 区域的 5 个,提示其毒力调控可能主要依赖非经典毒力岛途径。此外,*eae* 基因的存在与 *bfpA* 基因的缺失共同表明,该菌株属于 aEPEC。菌株还携带 27 个黏附相关基因,涵盖 I 型菌毛、CFA/I、ECP、ELF、HCP、Intimin 和 EaeH 等多种黏附结构。其中,由 *eae* 编码的 Intimin 和 CFA/I 菌毛在肠道定植及持续感染中发挥关键作用,可能显著增强其致病性。同时,检测到 5 个自主转运蛋白基因和 2 个侵袭相关因子,进一步支持其具备突破宿主屏障的能力。尽管定殖、免疫逃逸、毒素产生及抗吞噬等功能类别的毒力因子各仅 1 个,但在特定条件下仍可能协同参与致病过程。

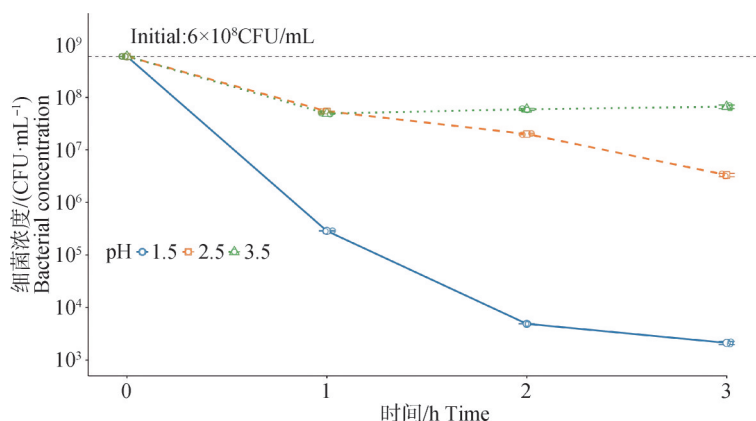


图1 EPEC ZX185在不同pH模拟胃液中的存活动力学

Fig. 1 Survival kinetics of EPEC ZX185 in simulated gastric fluid under different pH conditions

表2 肠致病大肠杆菌 ZX185 基因组特征

Table 2 Genome characteristics of enteropathogenic *E. coli* ZX185

类别 Class	数量 Number
大小 Size (base)	4 940 597
GC 含量/% G+C content	51.51
蛋白编码基因 Protein coding genes	4 664
tRNA	84
rRNA	11
tmRNA	1
重复区域 Repeat region	2
血清型 Serotype	O85:H4
MLST(ST)	ST642
质粒 Plasmids	IncFIB

2.5 遗传进化分析

cgSNP 聚类分析结果(图3)显示,43株肠致病性大肠杆菌被划分为多个主要簇群。其中,绝大多数分离自中国的菌株聚集于同一大簇,显示出较高的遗传进化关系。然而,M44、M45和ZX185三株来源于中国地区的菌株并未归入该簇,而是与多个国外来源的菌株构成另一大簇。系统发育分析进一步表明,ST642型菌株在进化树上聚类于同一分支,表现出较高的基因组保守性。这一结果提示,该谱系菌株可能起源于共同祖先,或者在相似的选择压力下通过趋同进化形成了特定的遗传标记。全基因组水平的 SNP 分析显示,ZX185 菌株与一株美国人源 ST642 型菌株(MOD1-EC6173)之间的 SNPs 数量仅为 26 个,表明两者遗传进化关系较近。

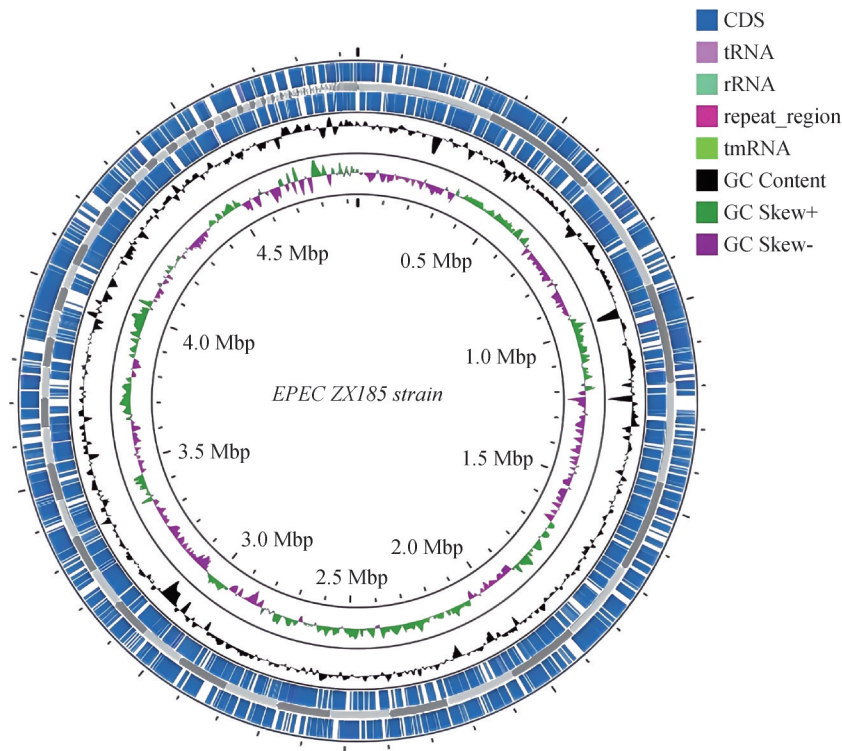


图2 EPEC ZX185 菌株基因组圈图

Fig. 2 The draft genome of EPEC ZX185

2.6 相似性与差异性分析

全基因组共线性分析结果显示,MOD1-EC6173 与 ZX185 两株菌的部分基因组区域保持保守,但在其他区域存在显著的重排或变异,尤其是在中间区域,它们的基因组结构上可能存在某些差异(图4)。表明 ZX185 与 MOD1-EC6173 菌株在血清型(O85:H4)和 ST 型(ST642)上完全一致,但由于两者来源于不同的环境(人类与羊肉),其基因组

结构存在一定差异。

进一步对菌株 ZX185 与 MOD1-EC6173 的毒力基因进行比对分析发现,ZX185 携带了 35 个在 MOD1-EC6173 中缺失的独特毒力因子(图5):介导黏附的基因,包括 *cfaA*、*ecpA*、*ecpB*、*ecpR*、*elfA*、*elfD*、*hcpA*,以及多个 I 型菌毛相关基因(如 *fimA*、*fimC* 等)。此外,还含有 LEE 区域编码的 III 型分泌系统(TTSS)效应蛋白基因(如 *map*、*sepZ*),以

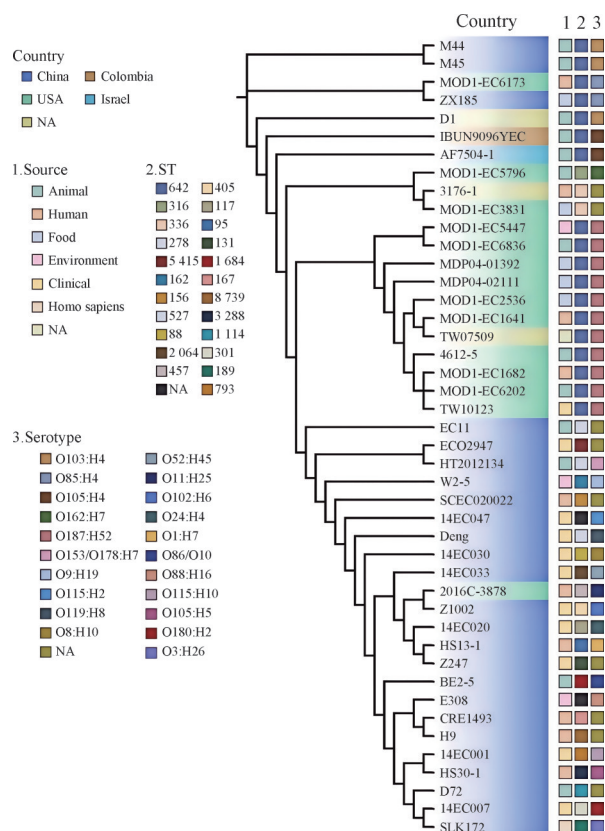


图3 cgSNP聚类进化关系分析

Fig. 3 Cluster analysis of cgSNP of enteropathogenic *E. coli* strains

及非LEE编码的效应蛋白基因(如 *nleB2-1*、*nleF*)。与分泌系统相关的毒力基因亦较为丰富,涵盖 ACET6SS 和 TTSS 多个关键组分。这些特征表

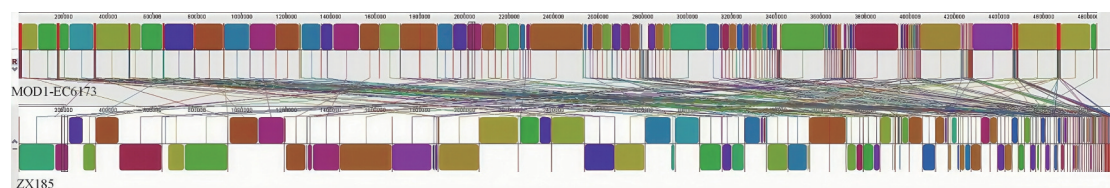


图4 全基因组共线性分析

Fig. 4 Whole genome alignment analysis

在毒力方面,ZX185携带91个毒力基因,构成复杂的毒力基因谱,提示该菌株具有典型的aEPEC致病潜能。其中,黏附定植相关基因及分泌系统相关基因高度富集,为其在肠道的侵袭与定植提供分子基础^[31-33]。特别是,该菌株具备完整的Ⅲ型分泌系统(T3SS)效应器基因,包括 *espB*、*map* 和 *tir* 等,这些基因是aEPEC介导A/E病变的核心,可将效应蛋白直接注入宿主细胞,干扰细胞信号通路,破坏肠道屏障功能^[34]。此外,ZX185还携带多个VI型

明,ZX185具备更强的宿主定植能力与致病潜力。

3 讨论

肠致病性大肠杆菌是引起人类(尤其是儿童)腹泻和死亡的主要病原体之一^[20]。该菌具有广泛的宿主适应性和较强的环境抗逆能力,具备跨宿主传播潜力,显著增加了食源性疾病暴发的风险^[21-22]。近年来,EPEC的抗药性问题日益突出,已成为公共卫生的关注焦点^[23-24]。本研究从新疆羊肉样品中分离获得一株aEPEC ZX185,通过整合药敏试验、胃酸耐受性评估及全基因组测序分析,系统解析了其耐药特征、毒力潜力及遗传背景,为评估其公共卫生风险提供重要依据。

尽管药敏试验表明ZX185对11类28种抗生素均敏感,但在基因组中却检测到多达43个耐药相关基因,涉及外排泵、抗生素失活、靶点修饰及膜通透性降低等多种耐药机制。这种“表型敏感-基因型预适应”的现象在既往报道的EPEC菌株中已有发现^[25],提示尽管临床检测显示药物敏感性,但其基因组仍可能携带丰富的耐药遗传元件。值得注意的是,沉默的耐药基因可在低浓度抗生素、肠道炎症或多种耐药菌的刺激下,通过调控子响应或质粒接合转移等机制被迅速激活^[26-30]。因此,ZX185一旦接触亚抑制浓度抗生素(如养殖或食品加工环节中残留的抗菌剂),可能通过基因表达上调或水平转移演变为耐药菌株。

分泌系统(T6SS)相关基因,如 *aec*、*hcp*、*vgrG* 及 PAAR 重复蛋白编码基因。T6SS作为一种分子“注射器”,不仅参与细菌间的竞争增强其定植优势,还可直接损伤真核细胞膜,促进侵袭与免疫逃逸,进一步提升其致病潜力^[35]。

为进一步评估其在人体消化道中的存活能力,本研究开展了胃酸耐受性试验。结果显示,在强酸环境(pH=1.5)下迅速失活,但在模拟进食后胃内环境(pH≥3.5)中表现出较强稳定性,3 h后存活率

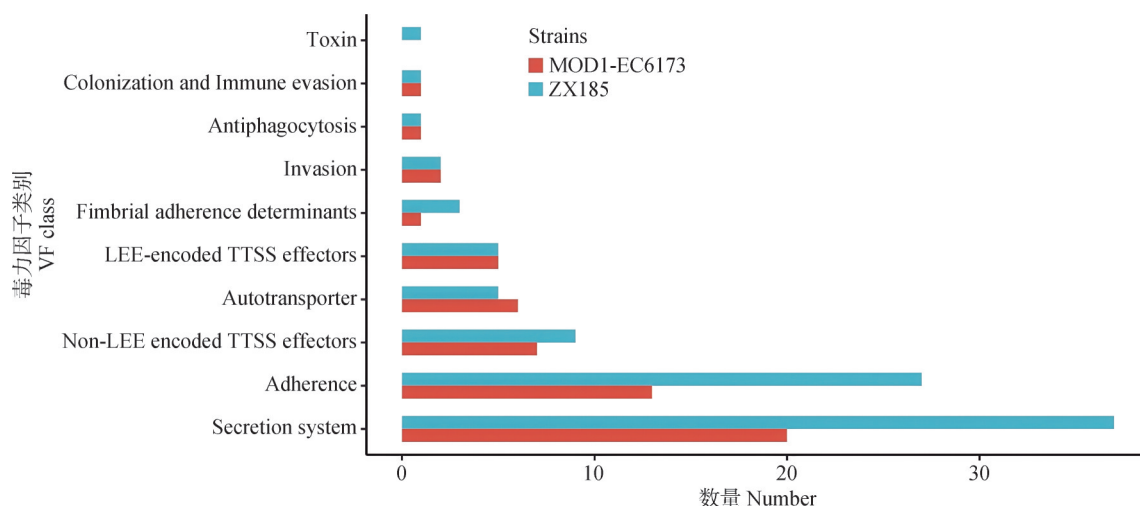


图5 ZX185与MOD1-EC6173菌株携带毒力因子比较分析

Fig. 5 Comparative analysis of virulence factors carried by ZX185 and MOD1-EC6173 strains

仍达11.05%。这种pH依赖的生存特性表明,食物基质提供的缓冲作用可有效保护菌株穿越胃部酸性屏障,显著提高其抵达小肠并成功定植的可能性。结合这些特征,羊肉等动物源性食品可能不仅是ZX185的传播载体,还为其提供了“保护性微环境”,增加了感染风险。

基于cgSNP的系统发育分析显示,ZX185与一株分离自美国的人源ST642/O85:H4菌株MOD1-EC6173亲缘关系极近(仅26个SNP差异),但与本研究纳入的大部分中国来源EPEC菌株存在明显遗传差异,提示ZX185所属的ST642谱系可能具有跨地域传播的潜力。尤为重要的是,尽管ZX185与MOD1-EC6173血清型和ST型一致且亲缘关系紧密,但两者在基因组结构与毒力因子的组成上却呈现出显著差异。ZX185携带了多种MOD1-EC6173缺失的毒力基因,表现出更为丰富多样的毒力基因谱。结合其良好胃酸耐受性,与国际流行人源菌株的高度遗传相似性,提示该菌株可能通过污染的动物源性食品传播,并借助食物缓冲作用定植于人体,具有潜在的感染风险。

综上所述,本研究发现aEPEC ZX185菌株虽表现为广谱抗生素敏感型,但其基因组携带大量耐药基因,并具备复杂的毒力基因谱。该菌株表现出显著的pH依赖性胃酸耐受能力,凸显其在食物链传播中的潜在风险。其与美国人源同血清型菌株高度遗传相似,且毒力基因组成更为丰富,提示其可能通过食物链传播并引发感染。因此,亟需加强对羊肉从养殖、屠宰到流通全环节的微生物监测,重

点关注aEPEC的携带状况,严格落实动物源性食品的卫生管理规范,防范致病菌株通过食物链进入人群。

4 结论

本研究自新疆羊肉中分离得到一株非典型肠致病性大肠杆菌ZX185(O85:H4血清型,ST642序列型)。该菌株对28种抗生素表现表型敏感,但基因组携带43个耐药基因及IncFIB质粒复制子,具有多重耐药潜力;同时鉴定出91个毒力基因,涵盖黏附、分泌系统及毒素等关键毒力因子。该菌株兼具多重耐药基因与强毒力特征,且与人源菌株MOD1-EC6173(O85:H4,ST642)高度同源,存在潜在跨宿主传播风险。

参考文献(References):

- [1] 胡子喆. 猪肉供应链耐药大肠杆菌的流行分布规律及其耐药传播特性的研究[D]. 武汉:华中农业大学, 2023.
HU Z Z. Study on prevalence distribution and transmission characteristics of resistant *Escherichia coli* in pork supply nodes [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2023.
- [2] 陈雯杰, 於颖, 方泓昕, 等. 基于全基因组测序技术的食品分离致泻大肠埃希菌的分子特征及耐药性研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2023, 35(11): 1559-1564.
CHEN W J, YU Y, FANG Z X, et al. Molecular characteristics and antibiotic resistance of *Escherichia coli* from foods based on whole genome sequencing

- [J]. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 2023, 35(11): 1559-1564.
- [3] PAKBIN B, BRÜCK W M, ROSSEN J W A. Virulence factors of enteric pathogenic *Escherichia coli*: A review[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(18): 9922.
- [4] 黄远斌, 张淑红, 杨广珠, 等. 一株新现食源性多重耐药非典型肠致病大肠杆菌特征分析[J]. 现代食品科技, 2024, 40(6): 268-278.
- HUANG Y B, ZHANG S H, YANG G Z, et al. Characteristics of an emerging food-borne multidrug-resistant atypical enteropathogenic *Escherichia coli*[J]. *Modern Food Science & Technology*, 2024, 40(6): 268-278.
- [5] BAKER K K, LEVINE M M, KOTLOFF K L, et al. Sanitation and hygiene-specific risk factors for moderate-to-severe diarrhea in young children in the global enteric multicenter study, 2007-2011: Case-control study[J]. *PLoS Med*, 2016, 13(5): e1002010.
- [6] 余 玮, 彭 谦, 孙 攀, 等. 上海市嘉定区腹泻病例肠致病性大肠埃希菌检测及药敏结果分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2022, 32(10): 1208-1213.
- YU W, PENG Q, SUN P, et al. Detection of enteropathogenic *Escherichia coli* in diarrhea cases in Jiading District, Shanghai and analysis of drug sensitivity[J]. *Chinese Journal of Health Laboratory Technology*, 2022, 32(10): 1208-1213.
- [7] 李红霞, 皮海轮, 张文增, 等. 2015年~2019年顺义区感染性腹泻监测病例细菌性病原谱监测结果分析[J]. 医学信息, 2021, 34(10): 145-148.
- LI H X, PI H L, ZHANG W Z, et al. Analysis of the surveillance results of bacterial pathogen spectrum of infectious diarrhea surveillance cases in Shunyi District from 2015 to 2019[J]. *Journal of Medical Information*, 2021, 34(10): 145-148.
- [8] ADORJÁN A, THUMA Á, KÖNYVES L, et al. First isolation of atypical enteropathogenic *Escherichia coli* from geese (*Anser anser domestica*) and first description of atypical EPEC from turkeys and pigeons in Hungary[J]. *BMC Vet Res*, 2021, 17(1): 263.
- [9] 李俊霖, 胡家萌, 汪 璐, 等. 鸭源肠致病性大肠杆菌的耐药特征及全基因组学分析[J]. 中国人兽共患病学报, 2024, 40(8): 701-707.
- LI J L, HU J M, WANG L, et al. Antimicrobial resistance analysis and genomic characteristics of enteropathogenic *Escherichia coli* derived from ducks[J]. *Chinese Journal of Zoonoses*, 2024, 40(8): 701-707. (in Chinese)
- [10] LEE W, HA J, CHOI J, et al. Genetic and virulence characteristics of hybrid Shiga toxin-producing and atypical enteropathogenic *Escherichia coli* strains isolated in South Korea[J]. *Front Microbiol*, 2024, 15: 1398262.
- [11] 王玉波, 徐倩倩, 郭时金, 等. 肠致病性大肠杆菌改变肠道上皮细胞极性的研究进展[J]. 中国人兽共患病学报, 2019, 35(4): 350-354.
- WANG Y B, XU Q Q, GUO S J, et al. Review on the polarity disruption of intestinal epithelial cells by enteropathogenic *Escherichia coli*[J]. *Chinese Journal of Zoonoses*, 2019, 35(4): 350-354. (in Chinese)
- [12] 常 凌, 宋泽和, 范志勇, 等. 质粒介导的细菌抗药基因水平转移及应对策略[J]. 中国预防兽医学报, 2021, 43(3): 339-345.
- CHANG L, SONG Z H, FAN Z Y, et al. Plasmid mediated horizontal transfer of antibiotic resistant genes in bacteria and response strategies[J]. *Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine*, 2021, 43(3): 339-345. (in Chinese)
- [13] LEE J B, KIM S K, YOON J W. Pathophysiology of enteropathogenic *Escherichia coli* during a host infection[J]. *J Vet Sci*, 2022, 23(2): e28.
- [14] KHAIRY R M M, FATHY Z A, MAHROUS D M, et al. Prevalence, phylogeny, and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* pathotypes isolated from children less than 5 years old with community acquired- diarrhea in Upper Egypt [J]. *BMC Infect Dis*, 2020, 20(1): 908.
- [15] BOXALL M D, DAY M R, GREIG D R, et al. Antimicrobial resistance profiles of diarrhoeagenic *Escherichia coli* isolated from travellers returning to the UK, 2015-2017 [J]. *J Med Microbiol*, 2020, 69(7): 932-943.
- [16] 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.
- [17] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). M100-performance standards for antimicrobial susceptibility testing twenty-second informational supplement[M]. Wayne: CLSI, 2022: 34-47.
- [18] 朱雅慧, 王佳莹, 朱洪日, 等. 单增李斯特菌在模拟人体胃环境中的耐受性[J]. 中国食品学报, 2018, 18(12): 39-45.

- ZHU Y H, WANG J Y, ZHU H R, et al. Tolerance of *Listeria monocytogens* to the simulating human stomach [J]. *Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine*, 2018, 18(12):39-45. (in Chinese)
- [19] GB/T 4789.2-2022 食品卫生微生物学检验-菌落总数测定[S].
GB/T 4789.2-2022 microbiological examination of food hygiene-Aerobic plate count [S]. (in Chinese)
- [20] 巴鹏斌, 赵爱兰, 白向宁, 等. 肠致病性大肠埃希菌分离株血清型多样性分析[J]. *中国卫生检验杂志*, 2017, 27(2):153-156.
BA P B, ZHAO A L, BAI X L, et al. Analysis of serological diversity of enteropathogenic *Escherichia coli* [J]. *Chinese Journal of Health Laboratory Technology*, 2017, 27(2):153-156. (in Chinese)
- [21] BUSKIRK A D, NDUNGO E, SHIMANOVICH A A, et al. Mucosal immune profiles associated with diarrheal disease severity in Shigella- and enteropathogenic *Escherichia coli*-infected children enrolled in the global enteric multicenter study [J]. *mBio*, 2022, 13(4):e0053822
- [22] HARISHANKAR A, VISWANATHAN V K. Attaching and effacing pathogens modulate host mitochondrial structure and function [J]. *Int Rev Cell Mol Biol*, 2023, 377:65-86.
- [23] YAMANI L Z, ELHADI N. Virulence characteristics, antibiotic resistance patterns and molecular typing of enteropathogenic producing *Escherichia coli* (EPEC) isolates in eastern province of Saudi Arabia: 2013-2014 [J]. *Infect Drug Resist*, 2022, 15:6763-6772.
- [24] JOMEHZADEH N, AHMADI K, JAVAHERIZADEH H, et al. The first evaluation relationship of integron genes and the multidrug-resistance in class A ESBLs genes in enteropathogenic *Escherichia coli* strains isolated from children with diarrhea in Southwestern Iran [J]. *Mol Biol Rep*, 2020, 48(1):307-313.
- [25] HUANG Y, SHAN X F, DENG H J, et al. Epidemiology, antimicrobial resistance and β -lactamase genotypic features of enteropathogenic *Escherichia coli* isolated from children with diarrhea in Southern China [J]. *Jpn J Infect Dis*, 2015, 68(3):239-243.
- [26] DING M L, YE Z, LIU L, et al. Subinhibitory antibiotic concentrations promote the horizontal transfer of plasmid-borne resistance genes from *Klebsiellae pneumoniae* to *Escherichia coli* [J]. *Front Microbiol*, 2022, 13:1017092.
- [27] CHETRI S, DAS B J, BHOWMIK D, et al. Transcriptional response of mar, sox and rob regulon against concentration gradient carbapenem stress within *Escherichia coli* isolated from hospital acquired infection [J]. *BMC Res Notes*, 2020, 13(1):168.
- [28] YU Z G, WANG Y, LU J, et al. Nonnutritive sweeteners can promote the dissemination of antibiotic resistance through conjugative gene transfer [J]. *ISME J*, 2021, 15(7):2117-2130.
- [29] QIN K K, ZHANG Y R, ZHANG X Y, et al. Pyraclostrobin induces multi-antibiotic resistance in *Escherichia coli* via quorum sensing: A new perspective [J]. *J Hazard Mater*, 2025, 495:139006.
- [30] SILVA K P T, KHARE A. Antibiotic resistance mediated by gene amplifications [J]. *Npj Antimicrob Resist*, 2024, 2(1):35.
- [31] HAZEN T H, DONNENBERG M S, PANCHALINGAM S, et al. Genomic diversity of EPEC associated with clinical presentations of differing severity [J]. *Nat Microbiol*, 2016, 1(2):15014.
- [32] LEE W, SUNG S, HA J, et al. Molecular and genomic analysis of the virulence factors and potential transmission of hybrid enteropathogenic and enterotoxigenic *Escherichia coli* (EPEC/ETEC) strains isolated in South Korea. [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(16):12729.
- [33] VALIATTI T B, SANTOS F F, SANTOS A C M, et al. Genetic and virulence characteristics of a hybrid atypical enteropathogenic and uropathogenic *Escherichia coli* (aEPEC/UPEC) strain. [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2020, 10:492.
- [34] BABA H, KANAMORI H, KUDO H, et al. Genomic analysis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from patients and asymptomatic food handlers in Japan [J]. *PLoS One*, 2019, 14(11):e0225340.
- [35] LU W J, LU H, HUO X Y, et al. EvfG is a multi-function protein located in the type VI secretion system for ExPEC [J]. *Microbiol Res*, 2024, 283:127647.

(编辑 白永平)