

# 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

黄远斌, 张淑红, 杨广珠, 吴清平\*, 张菊梅, 吴诗, 古其会, 叶青华, 张友雄, 韦献虎  
(广东省科学院微生物研究所, 广东省微生物安全与健康重点实验室, 华南应用微生物国家重点实验室, 农业农村部, 广东广州 510070)

**摘要:** 探究一株新现食源性多重耐药非典型肠致病大肠杆菌 (aEPEC) 表型、生化及遗传特征。从市售食品中分离到一株产 ESBL 且携带质粒介导多粘菌耐药基因 *mcr-1* 的 aEPEC 菌株 E2892A1, 利用 API 20E 对其生化特征进行了分析, 采用微量肉汤稀释法测定了常见抗生素 MICs, 通过基因组测序分析了遗传特征 (耐药基因、质粒类型、毒力基因), 并基于 cgSNP 对其遗传进化关系进行了探究。结果表明, 该菌株对多种常用抗生素如头孢他定, 头孢曲松, 四环素、氨苄西林等耐药, 且属于 ESBL 菌株。测序结果显示, 该菌株为 aEPEC, 其携带 17 种耐药基因和 EPEC 特征毒力基因 *eae*, 具有 4 种复制子类型。这是国内外首次发现多种耐药基因 (特别是 CTX-123 和 *mcr-1*) 共存于同一株多重耐药 aEPEC ST752 菌株中。接合实验证实 *mcr-1* 基因可水平传播至大肠杆菌 C600。这类菌株存在于食品中对人体健康构成了重要威胁, 需特别关注其扩散情况。该研究为食品中高毒力多重耐药菌风险监测提供了重要基础数据, 可为畜牧养殖中抗生素合理使用和食源性疾病用药方案制定提供数据参考。

**关键词:** 非典型肠致病大肠杆菌; *mcr-1* 基因; ESBL; 生化特征; 遗传特征

文章编号: 1673-9078(2024)06-268-278

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.6.0692

## Characteristics of an Emerging Food-borne Multidrug-resistant Atypical Enteropathogenic *Escherichia coli* Strain

HUANG Yuanbin, ZHANG Shuhong, YANG Guangzhu, WU Qingping\*, ZHANG Jumei, WU Shi, GU Qihui,  
YE Qinghua, ZHANG Youxiong, WEI Xianhu

(Guangdong Provincial Key Laboratory of Microbial Safety and Health, State Key Laboratory of Applied Microbiology Southern China, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Institute of Microbiology, Guangdong Academy of Sciences, Guangzhou 510070, China)

**Abstract:** The phenotypic, biochemical, and genetic characteristics of an emerging food-borne multidrug-resistant strain were investigated.

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 Yuanbin, ZHANG Shuhong, YANG Guangzhu, et al. Characteristics of an emerging food-borne multidrug-resistant atypical enteropathogenic *Escherichia coli* strain [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(6): 268-278.

收稿日期: 2023-06-08

基金项目: 国家自然科学基金项目 (32072325); 广东省基础与应用基础研究基金 (2023A1515011848); 广东省科学院创新发展专项 (2020GDASYL-20200103024)

作者简介: 黄远斌 (1993-), 男, 学士, 研究实习员, 研究方向: 食品微生物安全, E-mail: yuanbinh@163.com; 共同第一作者: 张淑红 (1978-), 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 食品微生物安全, E-mail: zhangshh2001@163.com

通讯作者: 吴清平 (1962-), 男, 博士, 研究员, 中国工程院院士, 研究方向: 食品微生物安全, E-mail: wuqp203@163.com

atypical enteropathogenic *Escherichia coli* (aEPEC) strain were explored. An extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL)-producing atypical aEPEC strain, E2892A1, carrying the plasmid-mediated colistin resistance gene *mcr-1* was isolated from retail food. The biochemical characteristics were analyzed using the Analytical Profile Index 20E test. The minimal inhibitory concentrations of antibiotics were determined using the microbroth dilution method. Further, the genetic characteristics (antibiotic resistance genes, plasmid replicon types, and virulence genes) were analyzed using whole-genome sequencing (WGS), and the genetic evolutionary relationship was constructed based on core genome single nucleotide polymorphism cluster analysis. The results indicated that the aEPEC E2892A1 strain had a high prevalence of resistance to ceftazidime, ceftriaxone, tetracycline, ampicillin, and other commonly used antibiotics and was an ESBL-producing strain. WGS results showed that the strain was an aEPEC and carried 17 antibiotic-resistance genes, the virulence gene *eae*, and four plasmid replicon subtypes. This is the first report of multiple resistance genes (especially CTX-123 and *mcr-1*) co-existing in the same ESBL-producing aEPEC ST752 strain. Conjugation experiments confirmed that the *mcr-1* gene could be transmitted horizontally to *E. coli* C600. The presence of such a strain in food poses a potential health threat to humans. Thus, continuous attention to its spread is essential. This study provides important basic data for monitoring the risk of highly virulent multidrug-resistant bacteria in food, which can aid the rational use of antibiotics and the formulation of clinical protocols for the treatment of food-borne diseases.

**Key words:** atypical enteropathogenic *Escherichia coli*; *mcr-1*; extended-spectrum beta-lactamase; biochemical characteristics; genetic characteristics

大肠埃希氏菌 (*Escherichia coli*, *E. coli*), 也称大肠杆菌, 是人和动物肠道中的常居菌, 也是食品和饮用水中重要的粪便污染指示菌, 广泛存在于食品、水、畜牧养殖、医院等环境。尽管大多数菌株是无害的, 部分菌株可携带各种毒力因子, 引起人严重腹泻感染甚至死亡, 这部分菌株被称为致泻大肠杆菌, 包括肠致病大肠杆菌 (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<sup>[1-3]</sup>。当前全球范围内, 致泻大肠杆菌仍是导致腹泻感染的重要因素, 在发展中国家疾病病原监测中占突出位置<sup>[4,5]</sup>。EPEC 是婴幼儿和成人腹泻的主要病原菌, 在我国部分省份哨点医院季节腹泻病原中居首位<sup>[6]</sup>。EPEC 具有特征性粘附脱落 (Locus of Enterocyte Effacement, LEE) 毒力岛 (包含 *eae*、*tir*、*espAB* 等基因), 可分为典型 tEPEC 和非典型 aEPEC 两类, 典型菌株携带紧密黏附素编码基因 *eae* 和束状菌毛编码基因 *bfpA*, 非典型菌株仅携带紧密黏附素编码基因 *eae*。EPEC 主要侵染十二指肠、空肠和回肠, 导致刷状缘破坏、绒毛萎缩、上皮细胞排列紊乱和功能受损, 引起严重腹泻<sup>[7]</sup>。此外, 部分大肠杆菌菌株还同时携带多重耐药基因, 对多种类型的抗生

素产生耐药, 给临床腹泻治疗带来巨大挑战。由于抗生素广泛和不合理使用, 大肠杆菌的耐药性逐年上升。近期的文献资料显示, 临床、动物源和食源性大肠杆菌不仅对农业和临床常用药物如四环素类、氨基糖苷类和大环内酯类等耐药, 而且对  $\beta$ -内酰胺类抗菌药物耐药 (三代头孢) 和喹诺酮类药物呈现耐药<sup>[8-11]</sup>。食品中耐药菌调查发现, 产超广谱  $\beta$ -内酰胺酶类耐药 (ESBL) 大肠杆菌的检出率为 10.1%~71.9%, 部分菌株对多种抗生素如头孢噻肟、氨苄西林、四环素等同时耐药<sup>[12-14]</sup>。ESBL 多重耐药菌株的出现, 进一步限制了抗生素的选择, 细菌耐药已成为 21 世纪全球性重要公共卫生问题。大肠杆菌基因组属于开放型基因组, 具有捕获多种毒力基因和耐药基因的能力, 可通过质粒、转座子和结合子等广泛传播耐药基因, 因此常被列为耐药行动计划的重要监测目标<sup>[15]</sup>。考虑到食品中多重耐药致泻大肠杆菌可能通过食物直接进入人体消化道, 给人体健康造成严重危害, 持续开展食品中多重耐药菌监测和流行特征分析非常必要, 这对于保证食品安全和人类健康具有重要意义。本研究在对市售食品致病菌污染监测中, 发现一株同时对多粘菌素且产 ESBL 的非典型肠致病大肠杆菌 aEPEC 菌株 (E2892A1), 对其生理生化和基因组特征进行了解析, 旨在为食品耐药致病菌流行监测和临床指导用药提供理论依据和参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂耗材

Luria-Bertani (LB) 培养基、LB 肉汤、Mueller-Hinton (MH) 培养基、麦康凯琼脂平板、大肠杆菌显色板、营养琼脂平板 (NA)、购自广东环凯微生物科技有限公司; Mabio 细菌基因组 DNA 提取试剂盒, 购自广州迈宝生物科技有限公司; NEXTflex rapid DNA-Seq plus kit 文库构建试剂盒, 购自广州致邦生物科技有限公司; 文库质控试剂盒 1×Qubit, 浙江思博锐生物有限公司; NextSeq 550 Reagent Kit v2.5 (300-cycle), 120 G 芯片, 购自美国 Illumina 公司; 2×DreamTaq PCR Mix, 购自广州昂科生物科技有限公司; 抗生素, 购自广州翔博生物科技有限公司; 药敏板, 购自千禧生物有限公司; API20E 生化鉴定条, 购自法国生物梅里埃公司; DL2000 DNA Marker, 购自上海生工生物有限公司。

### 1.2 主要仪器设备

ES-215 全自动灭菌锅, 日本 Tomy Digital Biology 公司; 台式离心机, 德国 Siana 公司; 超纯水生成器, 美国 Milipore 公司; T500 电子天平, 美国 G&G 公司; WB-502S 恒温水浴锅, 广东环凯微生物科技有限公司; ImageQuant 350 凝胶成像仪, 美国 GE Healthcare 公司; Bio Spec-nano spectrophotometer 微量核酸测定仪, 日本岛津公司; DHP-9162 型电热恒温培养箱, 上海一恒科技有限公司; Bio-Rad PTC-200 热循环仪, 美国 Bio-Rad 公司; Agilent 2100 生物分析仪, 美国 Agilent Technologies; Qubit 3.0 浓度测定仪器, 赛默飞世尔科技公司; Illumina NextSeq 550 测序仪, 美国 Illumina 公司; DYY-6C 电泳仪, 北京六一仪器厂。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 菌株来源及生化特征

大肠杆菌 E2892A1 分离自中国杭州市的超市鸡肉样品。参照《食品安全国家标准 食品卫生微生物学检验 致泻大肠埃希氏菌检验》GB/T 4789.6-2003 检测方法 (略改动) 分离获得。将菌株接种大肠杆菌显色板并在 NA 板纯化后, 用生物梅里埃 API 20E 鉴定系统对其生化特征进行鉴定。

#### 1.3.2 毒力基因鉴定

将菌株在 LB 肉汤中复苏培养 18 h, 取 1 mL 增

菌液, 用 DNA 提取试剂盒提取细菌 DNA。参考文献中<sup>[16]</sup>的引物进行致泻大肠杆菌毒力基因 *eae* 分子鉴定, 引物序列见表 1, 由华大基因合成。PCR 扩增反应体系 25  $\mu$ L, 包括包括 2×DreamTaq PCR Mix 12.5  $\mu$ L, 10  $\mu$ mol/L 上、下游引物各 1.0  $\mu$ L, 灭菌 ddH<sub>2</sub>O 8.5  $\mu$ L, DNA 模板 2.0  $\mu$ L。PCR 扩增条件: 95  $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 95  $^{\circ}$ C 变性 30 s, 58  $^{\circ}$ C 退火 45 s, 72  $^{\circ}$ C 延伸 60 s, 进行 30 个循环, 最后 72  $^{\circ}$ C 延伸 10 min。取 6~8  $\mu$ L PCR 产物于 1.5% 琼脂糖凝胶电泳分离 (120 V, 25 min)。

表 1 大肠杆菌 E2892A1 毒力基因和耐药基因检测引物

Table 1 The primers used for detection of virulence gene and antibiotic resistance genes

目的基因	引物名称	引物序列 (5'~3')	扩增片段(bp)
<i>eae</i>	<i>eae</i> -F	GACCCGGCACAAGCATAAGC	384
	<i>eae</i> -R	CCACCTGCAGCAACAACAGG	
<i>mcr-1</i>	<i>mcr-1</i> -F	AGTCCGTTTGTCTTGTGGC	320
	<i>mcr-1</i> -R	AGATCCTTGGTCTCGGCTTG	
CTX-M-123	CTX-M-123-F	GAAAAGTGAAAGCGAACCGA	439
	CTX-M-123-R	CGACGTCGGTAAGCCG	

#### 1.3.3 耐药表型测定

将大肠杆菌 E2892A1 在 LB 肉汤中 37  $^{\circ}$ C 复苏 18 h, 划线接种 MH 培养基, 37  $^{\circ}$ C 复苏 24 h, 挑取 1~2 个单菌落, 用无菌生理盐水稀释, 调整至 0.5 麦氏浊度, 继续稀释至  $1.0 \times 10^5$  CFU/mL。根据美国临床实验室标准化委员会 (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI, 2018) 标准<sup>[17]</sup>, 采用微量肉汤稀释法测定 10 种常用抗生素对大肠杆菌 E2892A1 菌株的最小抑菌浓度 (Minimal Inhibitory Concentration, MIC), 每组平行操作 3 次。所用抗生素包括: 氨苄西林 (AMP)、阿莫西林/克拉维酸钾 (AMC)、头孢曲松 (CRO)、硫酸多粘菌素 E (COL)、复方新诺明 (SXT)、四环素 (TE)、萘啶酮酸 (NA)、环丙沙星 (CIP)、卡那霉素 (K)、氟苯尼考 (FFC)。以 *E. coli* ATCC25922 为质控菌株, 根据 CLSI (2018) 标准的药敏折点判定菌株耐药情况。

ESBL 表型测定: 利用双纸片法测定 E2892A1 菌株产  $\beta$ -内酰胺酶情况。以头孢他啶 (30  $\mu$ g)、头孢他啶/克拉维酸 (CAZ/CAL, 30  $\mu$ g/10  $\mu$ g) 和头孢噻肟 (30  $\mu$ g)、头孢噻肟/克拉维酸 (CTX/CTL, 30  $\mu$ g/10  $\mu$ g) 为测试纸片, 将菌液涂布 MH 平板, 放置双纸片, 置 37  $^{\circ}$ C 培养箱培养 18~24 h, 测量抑



菌圈大小,当每组中克拉维酸加与不加抑菌圈直径相差 $\geq 5$  mm时,判为ESBLs阳性。

耐药基因PCR检测:参考文献方法<sup>[18]</sup>和本研究设计的耐药基因引物,对CTX-M和*mcr-1*基因进行PCR鉴定,引物序列如表1所示,PCR扩增体系和程序如前。

### 1.3.4 接合试验

以大肠杆菌E2892A1为供体菌,链霉素抗性大肠杆菌*E. coli* C600为受体菌进行接合试验。取供体菌和受体菌1:3体积的菌液于5 mL LB肉汤中,37 °C培养8 h。吸取混合培养菌液均匀涂布于添加多粘菌素E(2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )和链霉素(2 000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )的双抗麦康凯琼脂平板,37 °C培养18~24 h。从双抗平板上挑取疑似接合子,参照1.3.2方法PCR扩增*mcr-1*基因,同时采用微量肉汤稀释法检测接合子对多粘菌素E和其他抗生素的敏感性。

### 1.3.5 肠致病大肠杆菌E2892A1全基因组测序

#### (1) 基因组DNA提取及文库构建

将大肠杆菌E2892A1在LB肉汤中37 °C复苏18 h,吸取1 mL菌液,11 000 g离心10 min收集菌

体。利用基因组提取试剂盒提取DNA。采用微量核酸测定仪测定DNA浓度,当 $\text{OD}_{280}/\text{OD}_{260}$ 比值为1.8~2.0,符合文库构建要求。取100 ng大肠杆菌E2892A1菌株DNA,按NEXTflex rapid DNA-Seq plus kit试剂盒说明书进行DNA片段化、末端修复、接头连接和纯化,用Agilent 2100生物分析仪检测文库质量,并且通过Qubit 3.0检测文库浓度,合格文库通过Illumina NextSeq 550测序仪进行基因组测序。

#### (2) 基因组组装及序列比对分析

对于通过NextSeq550测序平台获得的二代测序数据,使用cutadapt(v1.9.1)去除接头序列及低质量序列等,得到后续分析使用的二代测序clean data,使用SPAdes software(SPAdes v3.6.218) SPAdes v3.6.2软件进行组装,获得二代测序基因组序列。采用本地程序Staramr(0.7.2)将菌株基因组序列与Resfinder、Plasmidfinder和MLST数据库进行Blast比对。操作命令为“staramr search-out/fna/E2892A1.fna”(输出文件夹out)。最后在输出文件“result.xlsx”获得比对结果。

表2 参考菌株来源及基础信息

Table 2 Information of reference strains retrieved from NCBI database

菌株	地点	寄主	样品	ST型	质粒复制子类型
GCF_004368015.1	South Korea	/	chicken	10	Incl2
GCF_001660565.1	Switzerland	/	poultry meat	7060	N/A
GCF_001679985.1	USA	/	swine cecum	7051	Incl2(Delta)
GCF_001682305.2	Malaysia	Homo sapiens	urine	744	N/A
GCF_001693635.1	Netherlands: Leiden	Homo sapiens	feces	359	IncX4
GCF_001735705.1	USA: Illinois	swine	cecum	—	Incl2
GCF_001886535.1	Germany	Homo sapiens	clinical	617	Incl2
GCF_001886555.1	USA	Homo sapiens	clinical	617	Incl2
GCF_001886575.1	USA	Homo sapiens	clinical	617	Incl2
GCF_001886755.1	USA	Homo sapiens	clinical	617	Incl2
GCF_001936315.1*	China: Beijing	Homo sapiens	feces	189	IncHI2
GCF_001969285.4	China: Sichuan, Chengdu	/	Sewage	48	IncHI2
GCF_002142675.1	China: Jining	Homo sapiens	blood	405	Incl2
GCF_002142695.1	Taiwan: Tainan	Homo sapiens	urine	617	Incl2(Delta)
GCF_002142715.1	China: Hefei	Homo sapiens	blood	131	IncHI2
GCF_002165095.2	China: Sichuan	Homo sapiens		156	N/A
GCF_002214205.1	USA: New York	Homo sapiens	urine	1485	IncHI2
GCF_002278115.2	Egypt	missing	raw milk cheese	69	IncHI2
GCF_002357875.1	Japan	Bos taurus	/	457	Incl2
GCF_002357895.1	Japan	Bos taurus	/	457	Incl2
GCF_002357915.1	Japan	Sus scrofa	/	117	Incl2

续表 2

菌株	地点	寄主	样品	ST 型	质粒复制子类型
GCF_002811555.3	China: Sichuan, Chengdu	/	Sewage	410	IncHI2
GCF_002846135.1	Qatar	Homo sapiens	Respiratory secretions	95	IncHI2
GCF_002853655.1*	China	/	clinical patient	301	IncI2
GCF_002853715.1	China	/	clinical patient	117	IncI2(Delta)
GCF_002853805.1	China	/	clinical patient	88	IncI2
GCF_002853965.1*	China	/	clinical patient	—	IncI2
GCF_002854065.1	China	/	clinical patient	2064	IncI2
GCF_002855325.1*	China	/	clinical patient	793	IncP1
GCF_002855415.1*	China	/	clinical patient	301	IncX4
GCF_002860105.1	China: Shenzhen	Homo sapiens	Rectal Swab	167	IncX4
GCF_002953435.1	China: Shenzhen	Homo sapiens	faecal sample	95	IncHI2
GCF_002996665.1	China: Shanghai	/	cow dung	278	IncX4
GCF_003030025.1	Denmark	/	poultry	7786	IncX4
GCF_003111785.1	China: Shandong	Homo sapiens	feces	8739	IncI2(Delta)
GCF_003204955.1	USA	Homo sapiens	Rectal swab	457	IncFIB(AP001918)
GCF_003231115.1	China: Shenzhen	Homo sapiens	fecal sample	3288	IncFIB(K)
GCF_003308955.1	USA	unknown	unknown	11	IncI2
GCF_003308975.1	USA	unknown	unknown	69	IncI2
GCF_003402955.1	China: Chongqing	pig	feces	88	IncI2
GCF_003443815.1	China	/	Broiler chicken farm	—	IncI2
GCF_003667385.1	China: Chengdu	egret	Bird (Egret) feces BE2	1684	IncP1
GCF_003667405.1	China: Chengdu	/	Jin River water W2	162	N/A
GCF_003667425.1	China: Chengdu	/	Jin River water W5	744	IncHI2
GCF_003691425.1	China: Sichuan	/	pig feces	206	IncFIA(HI1)
GCF_003711005.1	China: JiangSu	/	goose anus swab	48	N/A
GCF_003856995.1	Saudi Arabia: Riyadh	Homo sapiens	urine	131	IncHI2
GCF_003966445.1	Japan	Bos taurus	/	16	IncI2
GCF_003966465.1	Japan	Bos taurus	/	21	IncI2
GCF_003991155.1	Viet Nam: Ho Chi Minh city	Homo sapiens	blood	457	IncI2
GCF_004006545.1	China: Zhejiang	/	feces	206	IncHI2
GCF_004006575.1	China: Zhejiang	/	chicken	2705	IncHI2
GCF_004114395.1	Bangladesh: Dhaka	Homo sapiens	rectal swab	648	IncHI2
GCF_004135775.1	Thailand: Chiang Mai	Homosapiens	urine	448	IncI2
GCF_004135815.1	Thailand: Chiang Mai	Homosapiens	stool	448	IncI2
GCF_004135855.1	South Korea	/	chicken meat	93	IncI2
GCF_004328685.1	China: Henan	pig	/	1114	p0111
GCF_004526255.1	Tanzania	Homo sapiens	/	46	IncX4
GCF_004924275.1	China: Jiangxi	pig	feces	515	IncX4
GCF_004924355.1	China: Guangxi	pig	feces	1196	IncHI2
GCF_005156265.1	Japan: Tokyo	Homosapiens	/	167	IncHI2
GCF_900174635.1	France	Homo sapiens	clinical isolate	1288	IncX4

注: \* 表示参考菌株为非典型肠致病大肠杆菌 aEPEC。

### (3) cgSNP 聚类及 *mcr-1* 基因环境分析

为进一步探究 *mcr-1* 阳性菌株的遗传特征, 采用核心基因组 cgSNP 对 E2892A1 和 63 株 NCBI 数据中的 *mcr-1* 阳性大肠杆菌菌株进行系统发育分析 (表 2)。以菌株 *E. coli* K12 (GCA\_000005845.2) 菌株基因组为参考, 使用 Snippy v4.6.0 (<https://github.com/tseemann/snippy>) 调用 cgSNPs, 通过 Gubbins v3.2.1 对重组进行筛选, 并利用 Fasttree v2.1.11 和默认参数的最大似然模型进行系统发育计算, 构建系统发育树。另外, 参考文献中描述的方法<sup>[19]</sup>对 *mcr-1* 基因环境和遗传背景进行分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 菌株生化特征

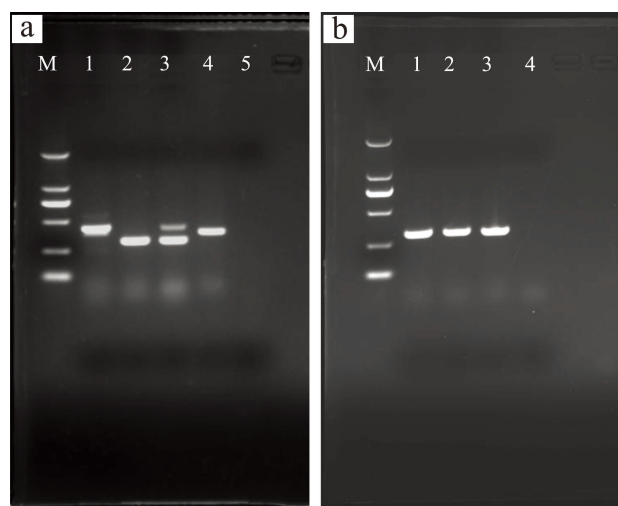


图 1 耐药基因和毒力基因 PCR 检测

Fig.1 Detection of drug resistance gene and virulence gene by PCR

注: (a) M: Marker DL2000; Line 1~5: CTX-M-123、*mcr-1*、CTX-M-123+*mcr-1*、*eae*、阴性对照。(b) M: Marker DL2000; Line 1~4: E2892A1 (*mcr-1*+), 接合子 J2892A1 (*mcr-1*+), 阳性对照、阴性对照。

非典型肠致病大肠杆菌 2892A1 在大肠杆菌显色培养基上呈圆形、光滑、边缘整齐、直径 1.5 mm 左右蓝绿色菌落。其生化特征如下: ONPG 试验 (+), 精氨酸双水解酶 (-), 赖氨酸脱羧酶 (+), 鸟氨酸脱羧酶 (+), 柠檬酸盐 (-), 产生硫化氢 (-), 尿素酶 (-), 苯丙氨酸脱氨酶 (-), 吲哚试验 (+), VP 试验 (-), 不能液化明胶, 发酵葡萄糖、甘露醇、山梨醇、鼠李糖、蔗糖、蜜二糖、阿拉伯糖, 不发酵肌醇和苦杏仁苷。API20E 鉴定为大肠杆菌 (代

码 5144572), 符合率 99.5%。毒力基因 *eae* PCR 鉴定结果证实菌株 E2892A1 为致泻大肠杆菌中的非典型肠致病大肠杆菌 aEPEC (图 1)。

### 2.2 药敏表型和耐药基因检测结果

非典型肠致病大肠杆菌 E2892A1 对 10 种常见抗生素的耐药情况如表 3 所示。E2892A1 菌株对青霉素类抗生素 (阿莫西林 / 克拉维酸、氨苄西林、头孢曲松)、多粘菌素类 (多粘菌素 E)、氨基糖苷类抗生素 (卡那霉素)、氯霉素类抗生素 (氟苯尼考)、喹诺酮类抗生素 (萘啶酮、环丙沙星)、四环素类抗生素 (四环素)、磺胺类抗生素 (复方新诺明) 等抗生素均表现耐药, 属于多重耐药菌。这 10 种抗生素对 E2892A1 的最小抑菌质量浓度分别为: 氨苄西林 (>128  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )、阿莫西林 / 克拉维酸钾 (>128/64  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )、头孢曲松 (>64  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )、多粘菌素 E (4  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )、复方新诺明 (>16/304  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )、四环素 (64  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )、萘啶酮酸 (>128  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )、环丙沙星 (8  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )、卡那霉素 (128  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )、氟苯尼考 (>128  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )。双纸片测试结果证实, E2892A1 为 ESBL 阳性菌 (图 2)。耐药基因 PCR 检测结果证实菌株携带 CTX-M 和 *mcr-1* 基因 (图 1)。通过接合实验获得 1 株结合子, MIC 测定结果显示, 接合子对多粘菌素 E 耐药 (MIC=8  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), 对氨苄西林 (16  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )、阿莫西林 / 克拉维酸钾 (2/1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )、头孢曲松 ( $\leq 0.5$   $\mu\text{g}/\text{mL}$ )、复方新诺明 ( $\leq 0.25/4.75$   $\mu\text{g}/\text{mL}$ )、四环素 ( $\leq 1$   $\mu\text{g}/\text{mL}$ )、萘啶酮酸 (4  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )、环丙沙星 ( $\leq 0.5$   $\mu\text{g}/\text{mL}$ )、卡那霉素 (4  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 和氟苯尼考 (2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 等敏感 (表 3)。

菌株对四环素、氨苄西林、复方新诺明具有较高耐药性, 这与国内外其他学者的报道一致<sup>[20-23]</sup>, 高耐药性可能与畜牧养殖业长期使用这些抗生素相关。氯霉素和喹诺酮类是养殖业常用抗生素, 目前已被我国禁用于饲料添加, 然而从现有文献报道看, 氯霉素和喹诺酮类抗生素耐药影响依然存在<sup>[22,24]</sup>, 我国微生物耐药形势仍十分严峻。

多粘菌素通常被认为是治疗多重耐药肠杆菌科细菌感染的最后选择, 然而近年来随着多粘菌素在畜牧养殖业的长期使用, 多粘菌素耐药率不断上升<sup>[25]</sup>。2015 年 Liu 等<sup>[26]</sup>在动物源大肠杆菌中首次报道了质粒介导的多粘菌素耐药基因 *mcr-1*, 引起了全球的广泛关注。Mcr 基因可导致菌株多粘菌素 E 耐药, 并通过各种接合质粒迅速传播扩散。这类菌株



的出现进一步限制了抗生素的选择和使用，给全球公共卫生安全构成了新威胁。因此，世界各国都加强了耐多粘菌素菌株监测。2017年，我国农业部禁止在养殖场使用黏菌素作为饲料添加剂，旨在减少黏菌素耐药产生，但鉴于目前 *mcr-1* 菌株流行现状，持续监测和防控质粒介导多粘菌素耐药菌传播扩散非常必要。

表 3 非典型肠致病大肠杆菌E2892A1菌株药敏检测结果

Table 3 Antibiotic resistance of atypical enteropathogenic *E. coli* E2892A1 (μg/mL)

抗生素种类	抗生素	耐药折点	最小抑菌、质量浓度 MIC	接合子耐药情况 MIC
β-内酰胺酶类	氨苄西林	≥32	>128	16
	阿莫西林 / 克拉维酸钾	≥32/16	>128/64	2/1
	头孢曲松	≥4	>64	≤0.5
多粘菌素类	多粘菌素 E	≥4	4	8
磺胺类	复方新诺明	≥4/76	>16/304	≤0.25/4.75
四环素类	四环素	≥16	64	≤1
喹诺酮类	萘啶酮酸	≥32	>128	4
	环丙沙星	≥4	8	≤0.5
氨基糖苷类	卡那霉素	≥64	128	4
氟喹诺酮类	氟苯尼考	≥16	>128	2

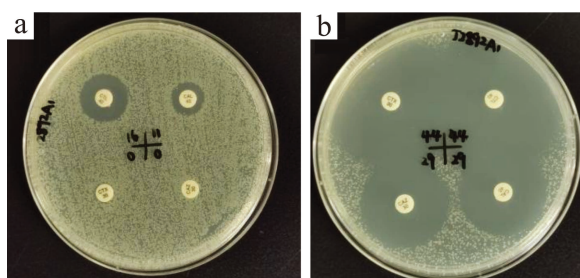


图 2 ESBL 双纸片法鉴定结果

Fig.2 ESBL identification results using double disks

注：a：E2892A1 ESBL 表型测定 (+)，头孢他啶 + 克拉维酸和头孢噻肟 + 克拉维酸双纸片；b：接合子 J2892A1 ESBL 表型测定 (-)，头孢他啶 + 克拉维酸和头孢噻肟 + 克拉维酸双纸片。

### 2.3 肠致病大肠杆菌E2892A1基因组基本特征

二代测序结果显示（表 4 和图 3），非典型肠致病大肠杆菌 E2892A1 基因组大小 5 231 388 bp，GC 含量 50.24%，基因组通过注释后共有 5 084 个基因，4 998 个编码蛋白序列，72 个 tRNA 和 13 个 rRNA 基因。血清型 ON：H40，MLST 多位点序列分型为

ST752，位点分别为：*adk* (10)、*fumC* (11)、*gyrB* (4)、*icd* (8)、*mdh* (8)、*purA* (8)、*recA* (49)。质粒预测结果提示，E2892A1 菌株含有 4 种类型质粒复制子：*IncFIB* (AP001918)、*IncHI2*、*IncHI2A*、*IncI2* 和 *IncN*。耐药基因数据库比对结果表明，该菌株同时携带 17 种耐药基因，包括 β-内酰胺类耐药基因 (*bla*CTX-M-123、*bla*OXA-1)，多粘菌素耐药基因 (*mcr-1.1*)，氨基糖苷类耐药基因 [*aac*(3')-IV、*aac*(3')-IV、*aph*(3'')-Ib、*aph*(4')-Ia、*aph*(6')-Id、*mph*(A)]，喹诺酮类耐药基因 *aac*(6')-Ib-cr，氟喹诺酮类耐药基因 (*floR*、*catB3*)、磺胺类耐药基因 (*sul1*、*sul2*)、四环素类耐药基因 *tetA*，利福平类耐药基因 *ARR-3* 和二氨基嘧啶类抗生素基因 *dfiA12* 等。这与其他文献报道 *tetA*、*floR*、*sul* 具有较高流行率结果类似<sup>[20,27]</sup>，表明这些抗生素基因是畜禽养殖中的优势耐药基因。

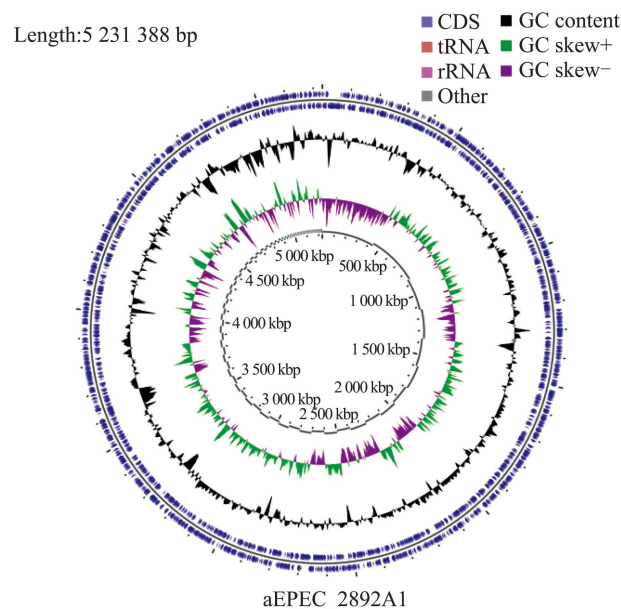


图 3 非典型肠致病大肠杆菌 E2892A1 基因组图谱

Fig.3 The draft genome of aEPEC E2892A1

根据 Contigs 序列比对结果提示，多粘菌素耐药基因 *mcr-1* 基因位于 *IncI2* 类型质粒上。目前 *mcr-1* 基因被发现存在于各种类型的质粒上（包括 *IncHI2*、*IncI2* 和 *IncX4* 等），并通过这些质粒在不同细菌间中迅速传播扩散<sup>[28-31]</sup>。*IncI2* 质粒是全球流行的重要质粒类型，携带 *mcr-1* 基因的 *IncI2* 质粒已在不同国家地区的食品和动物源大肠杆菌中报道，具有较强的水平传播能力<sup>[30,32]</sup>。本研究结果也表明，E2892A1 可通过接合试验将 *mcr-1* 转移至大肠杆菌 *E. coli* C600。接合子对多粘菌素 E 耐药，PCR 检测结果证实 *mcr-1* 基因转移成功。与受体菌相比，接合子

仅对多黏菌素表现耐药，药物 MIC 值稍高于供体菌，对头孢曲松、四环素、复方新诺明、环丙沙星、氟苯尼考等抗生素敏感，推测对应的耐药基因与 *mcr-1* 基因可能不在同一个质粒，未同时转移至受体菌。

CTX-M-123 是 2013 年首次发现的一种新型超广谱  $\beta$ -内酰胺酶类耐药基因 CTX 亚型，由 CTX-M-14 和 CTX-M-15 部分序列杂合形成<sup>[33]</sup>，可导致菌株对三代头孢如头孢曲松、头孢噻肟、头孢他定以及其他青霉素类药物氨苄西林、阿莫西林等高度耐药。CTX-M-123 在禽源大肠杆菌中已有报道，但分属于不同样品来源的菌株和 ST 型<sup>[34,35]</sup>。据文献调研，这是国内外首次在非典型致泻大肠杆菌 aEPEC 中同时检出 CTX-M-123、*mcr-1*、*aac(6')-Ib-cr* 和其他多种耐药基因。pubMLST 数据库检索结

果发现，ST752 是全球禽类大肠杆菌中主要流行 ST 型，这也是首次报道 *mcr-1*、CTX-M-123 等 17 种耐药基因共存与同一株 ST752 致病大肠杆菌中。

毒力因子 VFDB 数据库比对结果表明，E2892A1 菌株除携带 aEPEC 标识性毒力基因 *eae* 外，还携带其他多种毒力基因。E2892A1 基因组中存在 LEE 毒力岛，LEE 毒力岛上含有编码粘附和脱落损伤的基因如紧密素基因 *eae* 和紧密素受体 *tir* 基因，以及分泌型蛋白基因 (*espA* 和 *espB*)，这些基因介导 aEPEC 在肠细胞粘附和脱落损伤，引起肠上皮细胞骨架和形态改变。此外，该菌株还携带肠毒素 *astA* 基因，可产生热稳定肠毒素，引起食源性腹泻。这些结果提示该菌株具有较强的致病潜力，属于高毒力多重耐药致病菌，对人体健康具有重要威胁。

表 4 肠致病大肠杆菌 E2892A1 菌株基因组测序及比对结果

Table 4 Genome characteristics of atypical enteropathogenic *E. coli* E2892A1

菌株	基因组大小/(bp)	基因型 (MLST)	血清型	质粒复制子类型	耐药基因	毒力基因
E2892A1	5 231 388	ST752	ON:H40	IncFIB(AP001918)、IncHI2、IncHI2A、IncI2(Delta)、IncN	<i>aac(3')-IV</i> 、 <i>aac(6')-Ib-cr</i> 、 <i>aph(3'')</i> - <i>Ib</i> 、 <i>aph(4')-Ia</i> 、 <i>aph(6')-Id</i> 、 <i>ARR-3</i> 、 <i>blaCTX-M-123</i> 、 <i>blaOXA-1</i> 、 <i>catB3</i> 、 <i>dfrA12</i> 、 <i>floR</i> 、 <i>mcr-1.1</i> 、 <i>mdf(A)</i> 、 <i>mph(A)</i> 、 <i>sul1</i> 、 <i>sul2</i> 、 <i>tet(A)</i>	<i>eae</i> 、 <i>espA</i> 、 <i>espB</i> 、 <i>tir</i> 、 <i>astA</i>

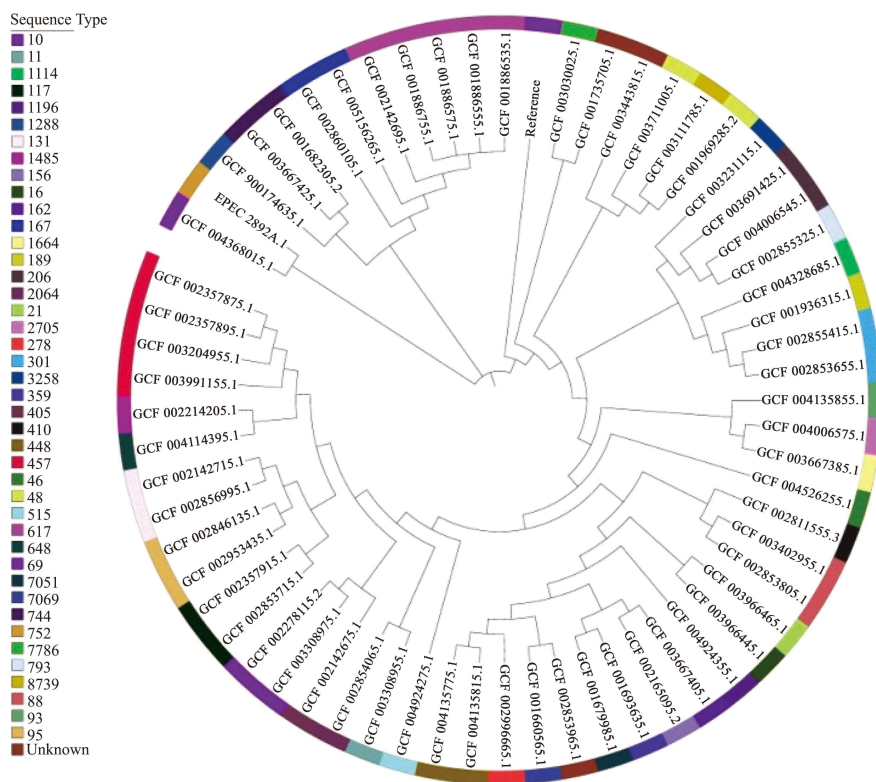


图 4 *mcr-1* 阳性菌株 cgSNP 聚类分析

Fig.4 Cluster analysis of cgSNP of *mcr-1*-positive *E. coli* strains

注：不同颜色代表不同 ST 型。



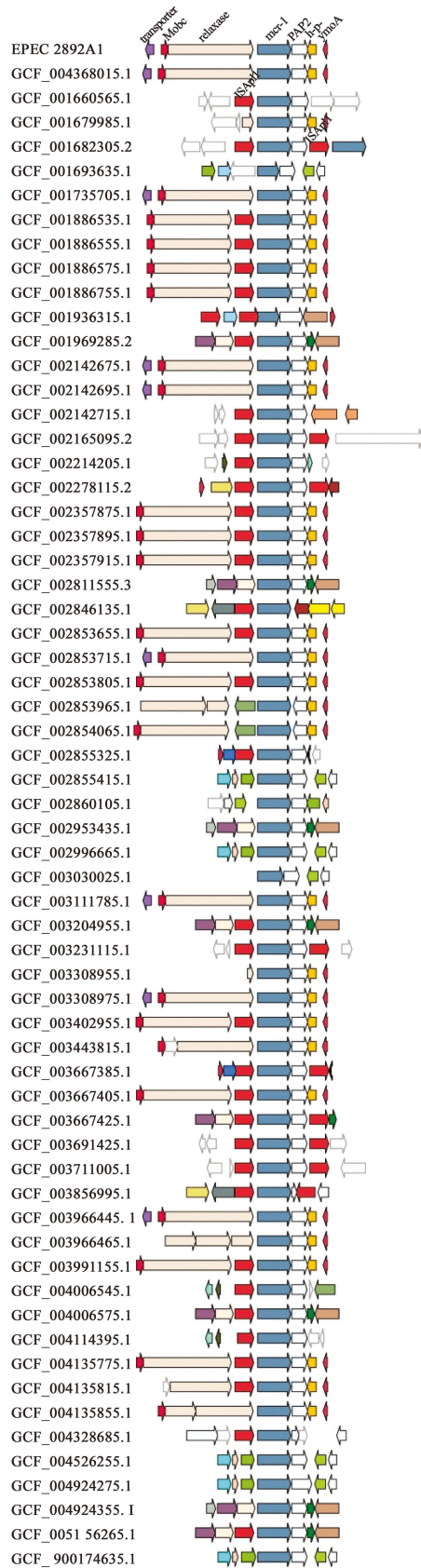


图 5 *mcr-1* 阳性大肠杆菌菌株基因环境比较

Fig.5 Comparative analysis of gene environment of *mcr-1*-positive *E. coli* strains

注：相同颜色大小的箭头代表相同的基因排列。

## 2.4 进化分析

cgSNP 聚类分析结果显示，除标准参考菌株 *E. coli* K12（非 *mcr-1* 菌株）外，来自不同国家和食品来源的 *mcr-1* 阳性菌株主要划归成两大簇，这些菌株携带不同质粒且属于不同的 ST 型。在第二簇，E2892A1 与韩国鸡肉样品分离菌株 GCF\_4368015.1 亲缘关系较近（图 4），但分属于不同 ST 型（ST752 和 ST10）和致病型，这些结果提示携带 *mcr-1* 基因的 IncI2 质粒可在不同国家和地区大肠杆菌中水平传播。在国际上，ST752 型大肠杆菌为鸡源中的重要流行株，携带 *mcr-1* 基因的 ST752 型菌株可能出现跨地区传播，对养殖业和食品安全造成危害，应特别关注。

## 2.5 基因环境分析

将 E2892A1 与 NCBI 数据库中 *mcr-1* 阳性大肠杆菌菌株进行基因环境分析，发现 *mcr-1* 基因上下游结构多样（图 5）。Contigs 序列比对显示，在大部分菌株中，位于相同质粒上的 *mcr-1* 基因环境相似。携带 *mcr-1*/IncI2 质粒的菌株呈现两类优势结构图谱，一类包括菌株（E2892A1、GCF\_004368015.1、GCF\_001735705.1、GCF\_002142675.1、GCF\_002142695.1、GCF\_002853715.1、GCF\_003111785.1、GCF\_003308975.1、GCF\_003966445.1 和 GCF\_004135855.1；-*mcr-1-pap2*-），另一类包括菌株（GCF\_001886535.1、GCF\_001886555.1、GCF\_001886575.1、GCF\_002853655.1、GCF\_002357875.1、GCF\_002357895.1、GCF\_002357915.1、GCF\_003402955.1、GCF\_003991155.1、GCF\_004135775.1 和 GCF\_004135815.1；-*ISAp11-mcr-1-pap2*-）。

携带 IncX4 质粒的菌株（GCF\_004526255.1、GCF\_004924275.1、GCF\_900174635.1、GCF\_002996665.1 和 GCF\_002855415.1；-*mcr-1-pap2*-），以及携带 IncHI2 质粒的菌株（GCF\_004924355.1、GCF\_005156265.1、GCF\_004006575.1、GCF\_002953435.1 和 GCF\_002811555.3；-*mcr-1-pap2*-），也具有相同或相似的基因图谱，这些基因结构为优势图谱类型。除优势图谱外，携带 IncX4 质粒的菌株（GCF\_002854065.1、GCF\_002860105.1 和 GCF\_003030025.1）和 IncHI2 质粒菌株

(GCF\_002214205.1、GCF\_002278115.2 和 GCF\_002846135.1) 还存在其他基因排列结构。这些结果提示 *mcr-1* 基因环境在不同国家地区菌株间有一定差异,可能存在缓慢进化的情况。插入序列 *ISAp11* 通常位于 *mcr-1* 基因的上游或下游,有利于 *mcr-1* 基因水平转移,然而,在部分菌株中 *ISAp11* 元件出现缺失(仅存在 *-mcr-1-pap2-*)。本研究菌株 E2892A1 的 *mcr-1* 基因上下游也未发现插入序列 *ISAp11*,与韩国菌株 GCF\_4368015.1 基因环境相同,这些结果表明 PAP2 蛋白在 *mcr-1* 水平转移过程中发挥着重要作用<sup>[36]</sup>。

### 3 结论

为积极应对微生物耐药带来的挑战,国家卫生健康委等 13 部门制定了《遏制微生物耐药国家行动计划(2022~2025 年)》,加强对动物源性食品、临床多重耐药菌追踪和监测,减少其扩散风险。世界卫生组织(WHO, 2015)也宣布实施全球耐药行动计划,加强耐药菌监测和管理。无论在发达国家还是发展中国家,及时准确地报告耐药菌流行状况对于有效控制其传播扩散,建立针对性感染治疗方案至关重要。本研究团队从市售食品中监测到一株耐多种抗生素的大肠杆菌 E2892A1,该菌株同时携带质粒介导的多粘菌素耐药基因 *mcr-1*,超广谱  $\beta$ -内酰胺酶类耐药基因 CTX-M-123 以及其他多种抗生素抗性基因,导致菌株对畜牧和临床常用抗生素如氨基苄西林、阿莫西林/克拉维酸钾、头孢曲松、多粘菌素 E、复方新诺明、四环素、环丙沙星、卡那霉素、氟苯尼考等高度耐药。该菌株还同时携带致泻大肠杆菌特有毒力基因 *eae* 基因以及 LEE 毒力岛基因和肠毒素基因,属于非典型肠致病大肠杆菌 aEPEC,具有较高的致病潜力。这是国际上首次发现 *mcr-1*、CTX-M-123 和其他耐药基因共存于同一株非典型致泻大肠杆菌中,属于新现的多重耐药致病菌,这类 ESBL-*mcr-1* 多重耐药菌株有可能通过食物链传播至人体消化道和环境中,对人类健康造成危害,应给予高度重视。本研究的不足在于未进行三代测序,无法充分展示耐药基因在质粒上分布状况,然而本文的研究结果仍可为食品中高毒力多重耐药菌监测提供重要预警信息,为风险评估提供基础数据。此外,该菌株还可作为筛选新型抗菌药物的参考菌株,为新型靶向药物开发以及致病大肠杆菌腹泻治疗新策略的制定提供支持。

### 参考文献

- [1] PAKBIN B, BRUCK W M, ROSSEN J W A. Virulence factors of enteric pathogenic *Escherichia coli*: a review [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(18): 9922.
- [2] 陈爱平,吴旭辰,熊美琴,等.实时荧光PCR检测肠致泻性大肠杆菌在腹泻人群中的分布[J].海峡预防医学杂志, 2012,18(2):1-3.
- [3] 李文锦.1990-2019年中国致病性大肠杆菌引起腹泻的死亡率及其变化趋势分析[J].中国实用医药,2021, 16(28):184-186.
- [4] ALIZADE H, HOSSEINI TESHNIZI S, AZAD M, et al. An overview of diarrheagenic *Escherichia coli* in Iran: a systematic review and meta-analysis [J]. Journal of Research in Medical Sciences, 2019, 24: 23.
- [5] ZENEBE T, MITIKU M, ALEM Y. Prevalence of *Escherichia coli* in under-five children with diarrhea in Ethiopia: a systematic review and meta-analysis [J]. International Journal of Microbiology, 2020, 2020: 8844294.
- [6] 李红霞,皮海轮,张文增,等.2015-2019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.
- [7] LEE J B, KIM S K, YOON J W. Pathophysiology of enteropathogenic *Escherichia coli* during a host infection [J]. Journal of Veterinary Science, 2022, 23(2): 28.
- [8] GARCIA V, GARCIA-MENINO I, GOMEZ V, et al. Mobile colistin resistance (MCR), extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) and multidrug resistance monitoring in *Escherichia coli* (commensal and pathogenic) in pig farming: need of harmonized guidelines and clinical breakpoints [J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 1042612.
- [9] 高艳,张淑,顾琳,等.2014-2019年北京市朝阳区门诊腹泻患者致泻性大肠埃希菌耐药特征研究[J].首都公共卫生, 2022,16(1):55-58.
- [10] 吴萱,杨璐,刘艳超,等.北京市售鸡肉和猪肉中大肠杆菌污染情况及耐药特征分析[J].中国食品卫生杂志, 2022, 34(2):211-216.
- [11] 包名家,吴晓敏,付宇,等.牛奶中致泻性大肠杆菌耐药性及ESBLs和AmpC酶基因型研究[J].中国食品卫生杂志,2021,31(15):1797-1800.
- [12] SRICHUMPORN W, CHAISOWWONG W, INTANON M, et al. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* from pork in Muang district, Chiang Mai Province, Thailand [J]. Veterinary World, 2022, 15: 2903-2909.
- [13] KAESBOHRER A, BAKRAN-LEBL K, IRRGANG A, et al. Diversity in prevalence and characteristics of ESBL/pAmpC producing *E. coli* in food in Germany [J]. Veterinary World, 2019, 233: 52-60.
- [14] HUANG S D, TIAN P, KOU X M, et al. The prevalence and

- characteristics of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase *Escherichia coli* in raw milk and dairy farms in Northern Xinjiang, China [J]. International Journal of Food Microbiology, 2022, 381: 109908.
- [15] World Health Organization, Guidelines for the Ten Threats to Global Health in 2019, Geneva. [EB/OL]. <https://www.who.int/news-room/spotlight/ten-threats-to-global-health-in-2019>.
- [16] PATON A W, PATON J C. Detection and characterization of shiga toxin-producing *Escherichia coli* by using multiplex PCR assays for *stx1*, *stx2*, *eaeA*, enterohemorrhagic *E. coli hlyA*, *rfbO111*, and *rfbO157* [J]. Journal of Clinical Microbiology, 1998, 36(2): 598-602.
- [17] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) M100-S28, Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-eighth Informational Supplement [S]. USA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018.
- [18] REBELO A R, BORTOLAIA V, KJELDGAARD J S, et al. Multiplex PCR for detection of plasmid-mediated colistin resistance determinants, *mcr-1*, *mcr-2*, *mcr-3*, *mcr-4* and *mcr-5* for surveillance purposes [J]. Eurosurveillance, 2018, 23: 00672.
- [19] LI X Y, CHEN L F, CHEN Y P. Gcluster: a simple-to-use tool for visualizing and comparing genome contexts for numerous genomes [J]. Bioinformatics, 2020, 36(12): 3871-3873.
- [20] 唐雪林, 佟盼盼, 张萌萌, 等. 乌鲁木齐市售畜禽肉源大肠杆菌的耐药性分析 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2021, 49(10): 15-23.
- [21] BANTAWA K, SAH S N, SUBBA LIMBU D, et al. Antibiotic resistance patterns of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella* and *Vibrio* isolated from chicken, pork, buffalo and goat meat in eastern Nepal [J]. BMC Research Notes, 2019, 12(1): 766.
- [22] 操义恒, 吴桐忠, 王子杰, 等. 犊牛肺炎大肠杆菌的分离鉴定, 耐药性及致病力检测 [J]. 中国预防兽医学报, 2023, 45(1): 100-104.
- [23] 石润佳, 韩荣伟, 王军, 等. 华北地区乳房炎奶样中大肠杆菌的耐药性研究 [J]. 现代食品科技, 2019, 35(5): 274-280.
- [24] 袁敬知, 杨莉瑶, 陈思宇, 等. 活禽产业链中大肠杆菌耐药性及耐药基因调查 [J]. 中国畜牧兽医, 2021, 48(7): 2661-2670.
- [25] 刘丽, 张玉霞, 赵雯霞, 等. 鸡源大肠埃希氏菌 *mcr-1* 基因携带及分析 [J]. 中国食品卫生杂志, 2022, 34(6): 1141-1146.
- [26] LIU Y Y, WANG Y, WALSH T R, et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism *mcr-1* in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study [J]. The Lancet Infectious Diseases, 2016, 16: 161-168.
- [27] 刘艳红, 吕淑霞, 李颖, 等. 大肠杆菌耐药性及氟苯尼考耐药基因 *floR* 的研究 [J]. 中国畜牧杂志, 2017, 53(1): 115-118.
- [28] MIGURA-GARCIA L, GONZALEZ-LOPEZ J J, MARTINEZ-URTAZA J, et al. *mcr*-colistin resistance genes mobilized by IncX4, IncHI2, and IncI2 plasmids in *Escherichia coli* of pigs and white stork in Spain [J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 10: 3072.
- [29] SADEK M, ORTIZ DE LA ROSA J M, ABDELFAH M M, et al. Genomic features of *mcr-1* and extended-spectrum  $\beta$ -Lactamase-producing Enterobacterales from retail raw chicken in Egypt [J]. Microorganisms, 2021, 9(1): 195.
- [30] CHENG P, YANG Y, CAO S, et al. Prevalence and characteristic of swine-origin *mcr-1*-positive *Escherichia coli* in northeastern China [J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 712707.
- [31] VINES J, CUSCO A, NAPP S, et al. Transmission of similar *mcr-1* carrying plasmids among different *Escherichia coli* lineages isolated from livestock and the farmer [J]. Antibiotics (Basel), 2021, 10(3): 313.
- [32] SADEK M, POIREL L, NORDMANN P, et al. Draft genome sequence of an *mcr-1*/IncI2-carrying multidrug-resistant *Escherichia coli* B1:ST101 isolated from meat and meat products in Egypt [J]. Journal of Global Antimicrobial Resistance, 2020, 20: 41-42.
- [33] HE D, PARTIDGE S R, SHEN J, et al. CTX-M-123, a novel hybrid of the CTX-M-1 and CTX-M-9 group  $\beta$ -lactamases recovered from *Escherichia coli* isolates in China [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2013, 57(8): 4068-4071.
- [34] CHEN J W, CHEN S, JIANG Y, et al. Fecal carriage and genetic characterization of CTX-M-1/9/1-producing *Escherichia coli* from healthy humans in Hangzhou, China [J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 616687.
- [35] LIU X, THUNGRAT K, BOOTHE D M. Occurrence of OXA-48 carbapenemase and other  $\beta$ -Lactamase genes in ESBL-producing multidrug resistant *Escherichia coli* from dogs and cats in the United States, 2009-2013 [J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 1057.
- [36] CHOI Y, LEE J Y, LIM S K, et al. Intact pap2 downstream of *mcr-1* appears to be required for colistin resistance [J]. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, 2020, 97(1): 114997.