

朱子琦,魏斌,但佳明,等.犬源大肠埃希菌系统进化分群及相关毒力基因检测[J].江西农业大学学报,2020,42(3):506-512.



犬源大肠埃希菌系统进化分群及相关毒力基因检测

朱子琦¹,魏斌^{2*},但佳明¹,龙佳丽¹,蒋绍齐¹,黄晓山¹,刘海峰¹,
周紫峒¹,马晓平¹,彭广能¹,王玉飞^{3*},黄克和⁴,钟志军^{1*}

(1.四川农业大学 动物医学院/动物疫病与人类健康四川省重点实验室,四川 成都 611130;2.山西省清徐县动物疾病预防控制中心,山西 清徐 030440;3.中国人民解放军总医院 第三医学中心检验科,北京 100039;4.南京农业大学 动物医学院,江苏 南京 210095)

摘要:【目的】探究腹泻犬源大肠埃希菌系统进化分群以及17种毒力因子的分布情况。【方法】采用PCR对成都地区分离的30株腹泻犬源大肠埃希菌进行菌株系统进化分群鉴定,同时对17种毒力基因进行检测。【结果】系统进化分群结果显示,30株分离株中A群系占53.33%(16/30),B1群系占23.33%(7/30),D群系占23.33%(7/30),未检出B2群系。17种毒力基因中*fimC*检出率最高(96.67%,29/30);其次为*stxA*(66.67%,20/30)、*ompT*(46.67%,14/30)、*iss*(16.67%,5/30)、*fyuA*(16.67%,5/30)、*Irp2*(16.67%,5/30)、*iroN*(13.33%,4/30);未检出毒力基因*papA*、*tsh*、*hlyF*、*hlyA*、*cvaC*、*astA*、*estA*、*estB*、*eaeA*和*elt*。【结论】成都地区分离的30株腹泻犬源大肠埃希菌系统进化分群多样,毒力基因检出率高且复杂。

关键词:大肠埃希菌;系统进化分群;毒力基因;犬源

中图分类号:S852.61 文献标志码:A 文章编号:1000-2286(2020)03-0506-07

Phylogenetic Clustering and Virulence Gene Detection of *Escherichia coli* Isolates from Canine

ZHU Zi-qi¹, WEI Bin^{2*}, DAN Jia-ming¹, LONG Jia-li¹, JIANG Shao-qi¹,
HUANG Xiao-shan¹, LIU Hai-feng¹, ZHOU Zi-yao¹, MA Xiao-ping¹,
PENG Guang-neng¹, WANG Yu-fei^{3*}, HUANG Ke-he⁴, ZHONG Zhi-jun^{1*}

(1. Key Laboratory of Animal Disease and Human Health of Sichuan Province, Sichuan Agricultural University, College of Veterinary Medicine, Chengdu 611130, China; 2. Animal Disease Prevention and Control Center of Qingxu County, Shanxi Province 030440, China; 3. The Third Medical Center, General Hospital of the

收稿日期:2019-11-17 修回日期:2020-01-20

基金项目:国家重点研发计划项目(2018YFD0500900,2016YFD0501009)、成都大熊猫繁育研究基金会项目(CPF2017-05, CPF2015-4)和四川农业大学本科生科研兴趣培养项目(2019217,2019218)

Project supported by the National Key Research and Development Program of China (2018YFD0500900, 2016YFD0501009), Chengdu Giant Panda Breeding Research Foundation (CPF2017-05, CPF2015-4) and Sichuan Agricultural University Undergraduate Research Interest Cultivation Project (2019217, 2019218)

作者简介:朱子琦, orcid.org/0000-0002-0980-4086, 595499334@qq.com; *共同第一作者; *通信作者:钟志军,教授,博士,主要从事兽医临床病理学与分子诊断学研究, orcid.org/0000-0001-8609-448X, zhongzhijun488@126.com; 王玉飞,副主任医师,博士,主要从事医学检验学研究, orcid.org/0000-0002-6450-326X, yufeiwang21@yahoo.com。

Chinese People's Liberation Army, Beijing 100039, China; 4. College of Veterinary Medicine, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: [Objective] To investigate the distribution of phylogenetic clustering and virulence gene in *Escherichia coli* from diarrhea dogs in Chengdu. [Method] PCR method was used to identify the phylogenetic clustering of 30 strains isolated from diarrhea dogs from Chendu and the distribution of 17 virulence genes. [Result] Phylogenetic clustering results showed that the 30 strains isolated from diarrhea dogs, belong to group A (53.33%, 16/30), group B1 (23.33% 7/30) and group D (23.33% 7/30). Group B2 was not detected. Among the 17 virulence genes, *fimC* had the highest detection rate (96.67%, 29/30), followed by *sitA* (66.67%, 20/30), *ompT* (46.67%, 14/30), *iss* (16.67%, 5/30), *fyuA* (16.67%, 5/30), *Irp2* (16.67%, 5/30), *iroN* (13.33%, 4/30). *papA*, *tsh*, *hlyF*, *hlyA*, *cvaC*, *astA*, *eatA*, *estB*, *eaeA* and *elt* were not detected. [Conclusion] The 30 strains isolated from diarrhea dogs from Chengdu showed high diversity in phylogenetic clustering and high detection rate of virulence genes.

Keywords: *Escherichia coli*; phylogenetic clustering; virulence gene; canine origin

【研究意义】大肠埃希菌是一种在人和动物体内的正常寄生的革兰氏阴性菌,属于条件性致病菌。致病性大肠埃希菌可引起以腹泻和败血症等为主要症状的初生幼犬急性肠道疾病;大肠埃希菌可引起成年犬、猫的肾盂肾炎,尿道炎也有报道^[1]。犬类作为伴侣动物,长期与人类接触,因此容易出现大肠埃希菌的水平传播。对犬源大肠埃希菌进行深入研究,可以为人兽共患病的预防提供依据。【前人研究进展】大肠埃希菌系统进化分群根据其致病力、耐药性及毒力因子分布差异等可分为A、B1、B2和D群系。A和B1群系主要为共生型大肠埃希菌,B2和D群系为包含较多毒力因子且与致病性相关的大肠埃希菌^[2]。大肠埃希菌的毒力基因与其致病性有着密切联系,其中铁摄取类(*sitA*、*irp2*、*fyuA*、*iroN*)、黏附素类(*eaeA*、*fimC*、*papA*、*tsh*)、毒素类(*hlyF*、*hlyA*、*elt*、*eatA*、*estB*、*astA*)和保护素类(*iss*、*ompT*、*cvaC*)是犬类大肠埃希菌的主要致病因子,在其侵袭宿主组织并引起病变过程中扮演着重要角色。文娟等^[15]研究发现*fimC*、*sitA*和*ompT*基因在临床健康分离株和腹泻分离株的检出率均超过40%。菌株主要分布于A组(35.40%, 59/156);其次D组(29.49%, 46/156)和B1组(20.51%, 32/156);B2组菌株分布最少(12.18%, 19/15),B2和D2组肠杆菌占总分离数的41.67(65/15)。【本研究切入点】对毒力基因的研究有助于对大肠埃希菌的致病性研究提供依据;本试验对前期实验室从成都市分离的30株腹泻犬源大肠埃希菌系统进化分群以及毒力基因进行检测。【拟解决的关键问题】本研究的研究结果为犬源大肠杆菌病的致病机理和防控提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

30株大肠埃希菌为本实验室于2016年在成都地区分离于腹泻犬的大肠埃希菌^[3]。

2×Taq PCR MasterMix、DL2000 DNA Marker及细菌基因组DNA提取试剂盒购于天根生物试剂有限公司。

1.2 方法

1.2.1 细菌DNA的提取 采用天根公司细菌基因组DNA提取试剂盒进行提取。

1.2.2 细菌系统进化分群以及毒力基因引物序列 参考文献[4-12]设计引物,引物序列见表1。引物由上海英俊技术生物有限公司合成。PCR反应条件参考文献[4-12]进行。

1.2.3 大肠埃希菌系统进化分群鉴定 参考 Clermont 等^[12]建立的方法,采用PCR扩增 *chuA*、*yjaA* 和 *TspE4.C2* 基因,根据扩增结果将大肠埃希菌分为A群系(*chuA*和*TspE4.C2*基因扩增结果均为阴性)、B1群系(*chuA*扩增结果为阴性而*TspE4.C2*阳性)、B2群系(*chuA*和*yjaA*扩增结果均是阳性)和D群系(*chuA*阳性而*yjaA*阴性)。

2 结果与分析

2.1 大肠埃希菌系统进化分群结果

根据大肠埃希菌系统进化分群鉴定,30株犬源大肠埃希菌分为3种类型,A群系占53.33%(16/30,菌

株编号 1、2、6、7、9、10、11、13、18、25、27、34、36、39、40 和 41);B1 群系占 23.33%(7/30,菌株编号 3、4、5、8、21、23 和 38);D 群系占 23.33%(7/30,菌株编号 14、28、29、31、32、33 和 37);未检出 B2 群系。

表 1 细菌系统进化分群与毒力基因引物序列

Tab.1 Primers used for phylogenetic clustering and virulence gene application in this study

基因 Gene		序列(5'—3') Sequence(5'—3')	产物/bp Product
细菌系统进化分群基因 Bacterial phylogenetic genes	<i>chuA</i> (7150945) ^[12]	P1:GACGAACCAACGGTCAGGAT P2:TGCCGCCAGTACCAAAGACA	279
	<i>yjaA</i> (948515) ^[12]	P1:TGAAGTGTCTCAGGAGACGCTG P2:ATGGAGAATGCGTTCTCCTCAAC	211
	<i>TspE4.C2</i> (CP023165.1) ^[12]	P1:GAGTAATGTCTGGGGCATTCA P2:CGCGCCAACAAAGTATTACG	152
	<i>eaeA</i> (AHB39871.1) ^[5]	P1:GGAACGGCAGAGGTTAATCTGCAG P2:GGCGCTCATCATAGTCTTTTC	346
	<i>fimC</i> (QBQ68960.1) ^[5]	P1:GGAAATAACATTCTGCTTGC P2:TTTGTTGCATCAAGAATACG	288
	<i>papA</i> (AAL67417.1) ^[6]	P1:GGAACGAACGCAGAAACG P2:CGCAATGGGCGAATACTT	297
	<i>tsh</i> (AAA24698.1) ^[6]	P1:GGGAAATGACCTGAATGCTGG P2:CCGCTCATCAGTCAGTACCAC	420
	<i>hlyF</i> (QBQ68845.1) ^[7]	P1:GGCGATTTAGGCATTCCGATACTC P2:ACGGGGTCTGCTAGTTAAGGAG	599
	<i>hlyA</i> (AWU48081.1) ^[7]	P1:CACACGGAGCTTATAATATTCTGTCA P2:AATGTTATCCCATTGACATCATTTGACT	321
	<i>sitA</i> (QBQ68960.1) ^[8]	P1:AGGGGGCACAACCTGATTCTCG P2:TACCGGGCCGTTTCTGTGC	608
	<i>iss</i> (AAD41540.1) ^[9]	P1:CAGCAACCCGAACCACTTGATG P2:AGCATTGCCAGAGCGGCAGAA	323
	<i>ompT</i> (QBQ68846.1) ^[9]	P1:ATCTAGCCGAAGAAGGAGGC P2:CCCGGCTCATAGTGTTCATC	559
	<i>cvaC</i> (QBQ68873.1) ^[9]	P1:ATCCGATAAGATAAAAAAGGAGAT P2:TAGACAATCCACCAAGAAGAAATA	410
	<i>elt</i> (NP_793040) ^[10]	P1:GGCGTTACTATCCTCTCTAT P2:TGGTCTCGGTCAGATATGT	272
毒力基因 Virulence gene	<i>estA</i> (14576836) ^[10]	P1:CAACTGAATCACTTGACTCTT P2:TTAATAACATCCAGCACAGG	158
	<i>estB</i> (QFU35666.1) ^[11]	P1:TGCCTATGCATCTACACAAT P2:CTCCAGCAGTACCATCTCTA	113
	<i>astA</i> (VWQ02710.1) ^[11]	P1:TGCCATCAACACAGTATATCCG P2:ACGGCTTGTAGTCCTTCCAT	102
	<i>Irp2</i> (ASS36195.1) ^[4]	P1:AAGGATTCGCTGTTACCGGAC P2:TCGTCTGGGCAGCGTTTCTTCT	267
	<i>fyuA</i> (AAP70282.1) ^[4]	P1:GCTTTATCCTCTGGCCTT P2:GGCATATTGACGATTAAC	947
	<i>iroN</i> (QFN51212.1) ^[4]	P1:AAGTCAAAGCAGGGGTGCCCCG P2:GACGCCGACATTAAGACGCAG	667

2.2 犬源大肠埃希菌中毒力基因的PCR扩增结果

17种毒力基因中*fimC*检出率最高为96.67%(29/30);其次为*sitA* 66.67%(20/30);*ompT*为46.67%(14/30);*fyuA*为16.67%(5/30);*iss*为16.67%(5/30);*Irp2*为16.67%(5/30);*iroN*为13.33%(4/30);未检出毒力基因*papA*、*tsh*、*hlyF*、*hlyA*、*cvaC*、*astA*、*estA*、*estB*、*eaeA*、*elt*。PCR扩增结果见图1-7。

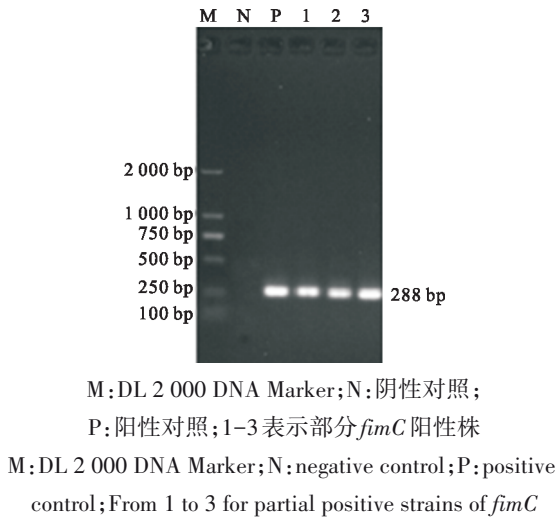


图1 部分*fimC* PCR产物电泳结果

Fig.1 Agarose gel electrophoresis results for PCR products of *fimC*

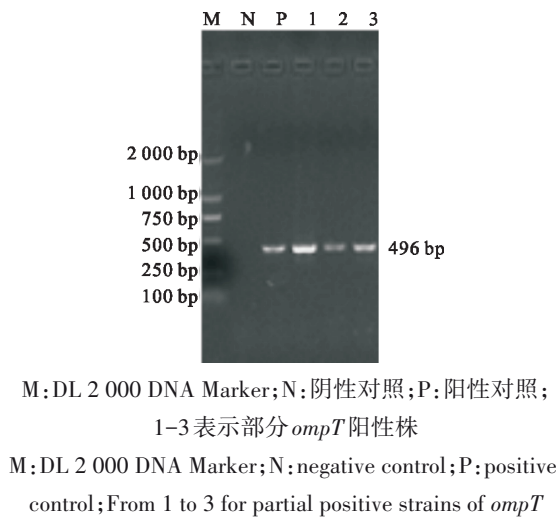


图2 部分*ompT* PCR产物的电泳结果

Fig.2 Agarose gel electrophoresis results for PCR products of the *ompT*

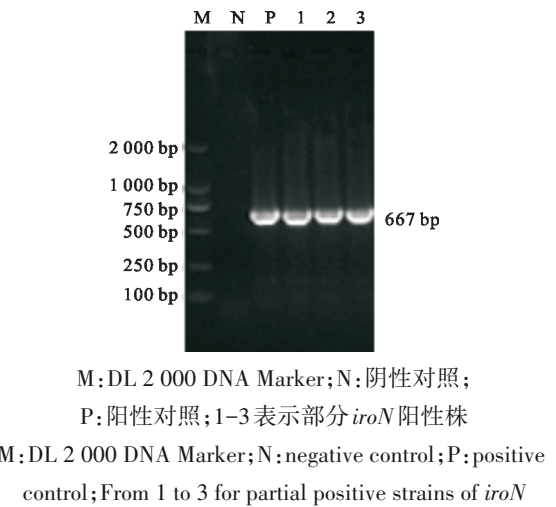


图3 部分*iroN* PCR产物的电泳结果

Fig.3 Agarose gel electrophoresis results for PCR products of the *iroN*

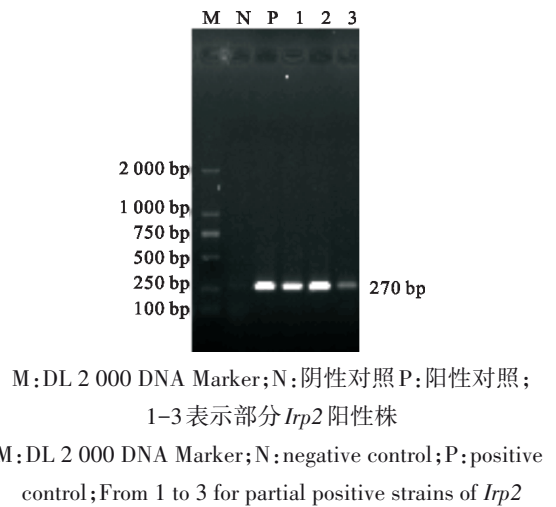


图4 部分*Irp2* PCR产物的电泳结果

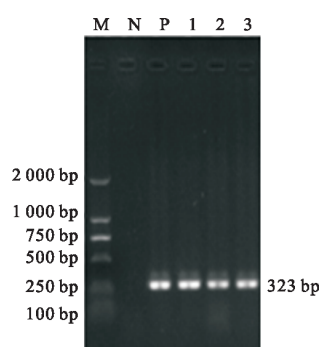
Fig.4 Agarose gel electrophoresis results for PCR products of the *Irp2*

2.3 大肠埃希菌17种毒力基因携带情况

由表2可知,30株分离株共有11种毒力基因组合形式,其中主要为4种组合形式:*fimC*(占16.67%,菌株编号为1、2、6、9、11)、*fimC*+*sitA*(占16.67%,菌株编号为5、10、23、25、28)、*fimC*+*ompT*(占16.67%,菌株编号为13、32、33、38、41)、*fimC*+*sitA*+*iss*+*ompT*(占16.67%,菌株编号为14、31、36、37、39)。

2.4 不同种群大肠埃希菌毒力基因的携带情况

由表3可知,不同种群大肠埃希菌所携带的毒力基因存在差异,根据毒力基因携带情况进行分析,*fimC*、*sitA*在3种分型中均占50%以上,其中毒力基因*fimC*在3种分型中菌占最高比例;*Irp2*、*fyuA*、*iroN*携带率均在50%以下。根据不同群系携带毒力基因的情况进行分析,A、B1群系含有检出的所有毒力基因,D群系不携带*Irp2*、*fyuA*、*iroN*。

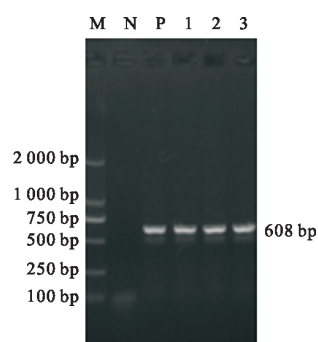


M: DL 2 000 DNA Marker; N: 阴性对照; P: 阳性对照;
1-3 表示部分 *iss* 阳性株

M: DL 2 000 DNA Marker; N: negative control; P: positive control; From 1 to 3 for partial positive strains of *iss*

图 5 部分 *iss* PCR 产物的电泳结果

Fig.5 Agarose gel electrophoresis results for PCR products of the *iss*



M: DL 2 000 DNA Marker; N: 阴性对照; P: 阳性对照;
1-3 表示部分 *sitA* 阳性株

M: DL 2 000 DNA Marker; N: negative control; P: positive control; From 1 to 3 for partial positive strains of *sitA*

图 6 部分 *sitA* PCR 产物的电泳结果

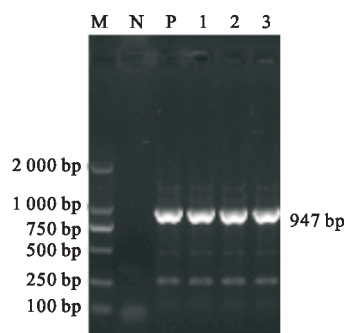
Fig.6 Agarose gel electrophoresis results for PCR products of the *sitA*

3 讨 论

本试验对 30 株腹泻犬源大肠埃希菌进行系统进化分群研究,结果显示 30 株分离株分别属于 A (53.33%)、B1 (23.33%)、D (23.33%) 群系,其中优势群系为 A 群系,这与周陆红等^[13]研究结果一致。A 与 B1 群系属于宿主依赖性致病毒力较弱不易直接引起宿主患病,但当宿主的免疫力降低时则会引起感染。同时 A 与 B1 群系属于肠致病型,这与本试验菌株是腹泻犬源大肠埃希菌相符合。提示要注意大肠埃希菌 A 与 B1 群系在临床中对犬致病的影响。

大肠埃希菌是引起犬肠道疾病的主要病原,其致病性主要与菌毛、毒素、抗血清活性因子、侵袭性

酶、铁摄取系统以及生物膜形成的相关蛋白有关,它们能帮助细菌定植,形成生物膜,捕获铁等基本营养物质,进而造成动物肠道上皮损伤,增强大肠杆菌引起全身感染的能力。大肠杆菌产生特定的毒力因子是决定其致病性的关键因素^[4]。本试验中 *fimC* (96.67%)、*sitA* (66.67%)、*ompT* (46.67%) 毒力基因检出率比较高,表明这些毒力因子与大肠埃希菌引起腹泻的致病性有关。黏附素 (*fimC*) 是肠产毒素型大肠杆菌 (ETEC) 的主要毒力因子,初生幼畜被 ETEC 感染后常因剧烈水样腹泻所致脱水而死亡。黏附素具有帮助 ETEC 黏附于宿主小肠上皮细胞的能力,进而使其在肠内定居、繁殖和产生毒素,发挥致病作用^[14]。本研究中黏附素类 (*fimC*) 的检出率高于文娟^[15]的研究结果,可能是本次试验的菌株全与腹泻犬源相关。细菌的存活需要铁元素,铁转运类基因 (*sitA*) 是细菌运载铁离子的重要基因,本试验中铁转运类基因 (*sitA*) 高于文娟^[15]的研究结果,推测 *sitA* 在大肠杆菌致病过程中发挥着重要的作用。保护素类毒力基因 (*ompT*、*iss*) 赋予细菌摄取铁和抗血清的作用,编码与组织侵袭相关的毒力因子,与铁的摄取与调节有直接或间接的关系^[16]。本试验中保护素类 (*ompT*、*iss*) 的检出率与纪雪等^[17]的研究结果相一致,高于文娟^[15]的研究结果。铁摄取类基因 (*iroN*、*fyuA*、*Irp2*) 是细菌毒力岛 (HPI) 的重要毒力基因,常作为检测 HPI 是否存在的指示基因^[18]。HPI 也是大肠杆菌重要的毒力因子,HPI 的检出率越高,菌株的致病率也明显越高^[19]。本试验中检出毒力基因 *fyuA* (16.67%)、*Irp2* (16.67%)、*iroN* (13.33%), 结果与纪雪等^[17]的研究基本一致,略低于文娟^[15]的研究结果。此外,笔者进一步分析了毒力基因组合的组合形式,发现本次分离的大肠埃希菌毒力基因组合以 *fimC* (16.67%)、*fimC*+*sitA* (16.67%)、*fimC*+*ompT* (16.67%)、*fimC*+*sitA*+*iss*+



M: DL 2 000 DNA Marker; N: 阴性对照; P: 阳性对照;
1-3 表示部分 *fyuA* 阳性株

M: DL 2 000 DNA Marker; N: negative control; P: positive control;
From 1 to 3 for partial positive strains of *fyuA*

图 7 部分 *fyuA* PCR 产物的电泳结果

Fig.7 Agarose gel electrophoresis results for PCR products of the *fyuA*

表 2 30 株大肠埃希菌毒力基因检测结果
Tab.2 Test results of 30 *Escherichia coli* virulence gene

毒力基因 Virulence gene	菌株编号 Strain number	阳性率/% Positive rate
<i>fimC</i>	1,2,6,9,11	16.67
<i>sitA+ompT</i>	18	3.33
<i>fimC+sitA</i>	5,10,23,25,28	16.67
<i>fimC+ ompT</i>	13,32,33,38,41	16.67
<i>fimC+fyuA+ sitA</i>	7	3.33
<i>fimC+sitA+ompT</i>	29	3.33
<i>fimC+Irp2+hlyA</i>	34	3.33
<i>fimC+iroN+sitA+iss</i>	21	3.33
<i>fimC+fyuA+Irp2+sitA</i>	3,4	6.67
<i>fimC+sitA+iss+ompT</i>	14,31,36,37,39	16.67
<i>fimC+iroN+sitA+iss+ompT</i>	27	3.33
<i>fimC+fyuA+Irp2+sitA+ iroN</i>	8	3.33
<i>fimC+fyuA+Irp2+iroN+hlyA+sitA+iss</i>	40	3.33

表 3 不同种群大肠埃希菌毒力基因携带情况
Tab.3 Distribution of virulence factors in phylogenetic groups from *Escherichia coli* isolates

毒力基因 Virulence gene	不同种群毒力基因携带菌株(检出率/%) Different strains carrying virulence genes(The detection rate)		
	A(n=16)	B1(n=7)	D(n=7)
<i>fimC</i>	15(93.75)	7(100)	7(100)
<i>sitA</i>	9(56.25)	6(85.71)	5(71.43)
<i>ompT</i>	7(43.75)	1(14.29)	6(85.71)
<i>Irp2</i>	2(12.5)	3(42.86)	0
<i>fyuA</i>	2(12.5)	3(42.86)	0
<i>iroN</i>	1(6.25)	3(42.86)	0
<i>iss</i>	2(12.5)	1(14.29)	2(28.57)

ompT(16.67%)4 种组合形式为主。蒋春阳等^[19]研究中也检出*fimC*(18.2%),与本研究一致,但其研究表明毒力基因以 *hlyA* 和 *sfa* 为主,这种差异可能与其样品为患子宫蓄脓症犬的子宫内容物有关。国外研究结果也证实菌株的致病性与毒力基因组合方式有关^[20],故本次分离株的致病性差异需要进一步研究。本试验对 30 株分离于成都地区腹泻犬源大肠埃希菌的毒力基因及种群分型进行了系统研究,为进一步研究犬源大肠埃希菌毒力基因与致病性提供参考。

参考文献:

[1] 张美君,廖晓萍,王秀梅,等. 宠物源大肠杆菌的血清型和毒力基因及耐药性调查[J]. 中国预防兽医学报,2011,33(8):601-605.
Zhang M J, Liao X P, Wang X M, et al. Prevalence of serotypes, virulence genes and antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* isolated from pets [J]. Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine, 2011, 33(8): 601-605.

[2] Koczura R, Mokracka J, Barczak A, et al. Association between the presence of class 1 integrons, virulence genes, and phylogenetic groups of *Escherichia coli* isolates from river water[J]. Microbial Ecology, 2013, 65(1): 84-90.

[3] 魏斌,欧红萍,严光文,等. 腹泻犬源大肠埃希菌耐药性以及整合子-基因盒检测研究[J]. 华南农业大学学报,2018,39(3):6-12.

- Wei B, Ou H P, Yan G W, et al. Antimicrobial resistance and integron-gene cassette detection of *Escherichia coli* isolates from diarrhea dogs[J]. Journal of South China Agricultural University, 2018, 39(3): 6-12.
- [4] 于学辉. 鸭致病性 *E. coli* 外膜蛋白及相关毒力基因和新血清型发现及病原特性研究[D]. 成都: 四川农业大学, 2008.
- Yu X H. Investigation of outer membranes and virulence genes of pathogenic *E. coli* and a novel serotype isolated from infected ducks[D]. Chengdu: Sichuan Agricultural University, 2008.
- [5] Johnson T J, Siek K E, Johnson S J, et al. DNA Sequence of a ColV plasmid and prevalence of selected plasmid-encoded virulence genes among avian *Escherichia coli* strains[J]. Journal of Bacteriology, 2006, 188(2): 745-758.
- [6] Beutin L, Kaulfuss S, Herold S, et al. Genetic analysis of enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli* serogroup O103 strains by molecular typing of virulence and housekeeping genes and pulsed-field gel electrophoresis[J]. Journal of Clinical Microbiology, 2005, 43(4): 1552-1563.
- [7] Jeong Y W, Kim T E, Kim J H, et al. Pathotyping avian pathogenic *Escherichia coli* strains in Korea[J]. Journal of Veterinary Science, 2012, 13(2): 145-152.
- [8] Johnson T J, Giddings C W, Horne S M, et al. Location of increased serum survival gene and selected virulence traits on a conjugative R plasmid in an avian *Escherichia coli* isolate[J]. Avian Diseases, 2002, 46(2): 342-352.
- [9] 张金宝, 李晓娜, 王桂琴. 大肠埃希菌毒力基因研究进展[J]. 动物医学进展, 2014, 35(8): 70-74.
- Zhang J B, Li X N, Wang G Q. Advance in virulence genes of *Escherichia coli* [J]. Progress in Veterinary Medicine, 2014, 35(8): 70-74.
- [10] Boerlin P, Travis R, Gyles C L, et al. Antimicrobial resistance and virulence genes of *Escherichia coli* isolates from swine in Ontario[J]. Applied & Environmental Microbiology, 2005, 71(11): 6753-6761.
- [11] Agarwal J, Srivastava S, Singh M. Pathogenomics of uropathogenic *Escherichia coli* [J]. Indian Journal of Medical Microbiology, 2012, 30(2): 141-149.
- [12] Clermont O, Bonacorsi S, Bingen E. Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group[J]. Appl Environ Microbiol, 2000, 66(10): 4555-4558.
- [13] 周陆红, 张鹏飞, 张杰, 等. 屠宰猪中大肠杆菌毒力基因检测及耐药性分析[J]. 食品科学, 2019, 40(2): 264-268.
- Zhou L H, Zhang P F, Zhang J, et al. Virulence genes and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from slaughtered pigs[J]. Chinese Food Science, 2019, 40(2): 264-268.
- [14] 费文涛, 张晨飞, 张配配, 等. 产肠毒素大肠杆菌主要毒力因子介绍[J]. 国外畜牧学(猪与禽), 2018, 38(12): 16-17.
- Fei W T, Zhang C F, Zhang P P, et al. Introduction to the main virulence factors of enterotoxigenic *E. coli* [J]. Animal Science Abroad-Pigs and Poultry, 2018, 38(12): 16-17.
- [15] 文娟. 成都地区犬源大肠杆菌毒力相关基因、耐药性及系统进化组的研究[D]. 成都: 西南民族大学, 2016.
- Wen J. Study on virulence genes, drug resistance and phylogenetic groups of canine *Escherichia coli* in Chengdu area [D]. Chengdu: Southwest Minzu University, 2016.
- [16] 王绍红, 柴荣, 李政志, 等. 狐源大肠杆菌毒力基因的检测[J]. 野生动物学报, 2018, 39(4): 933-937.
- Wang S H, Chai R, Li Z Z, et al. Detection of virulence genes in *Escherichia coli* isolated from fox [J]. Chinese Journal of Wildlife, 2018, 39(4): 933-937.
- [17] 纪雪, 王嵘, 孙洋, 等. 犬源大肠杆菌耐药与毒力的分子特征[J]. 中国兽医学报, 2014, 34(4): 578-582.
- Ji X, Wang R, Sun Y, et al. Molecular characterization of pathogenetic *Escherichia coli* isolated from dogs [J]. Chinese Journal of Veterinary Science, 2014, 34(4): 578-582.
- [18] 蒋月, 盛鹏飞. 鸡源大肠杆菌中 HPI 和 LEE 毒力岛相关基因的检测[J]. 中国家禽, 2014, 36(21): 54-56.
- Jiang Y, Sheng P F. Detection of HPI and LEE virulence island related genes in chicken *E. coli* [J]. China Poultry, 2014, 36(21): 54-56.
- [19] 蒋春阳, 钱存忠, 侯加法. 致犬子宫蓄脓症大肠杆菌的毒力基因检测及其与毒力和耐药性的关系[J]. 畜牧与兽医, 2014, 46(3): 99-103.
- Jiang C Y, Qian C Z, Hou J F. Detection of virulence genes of *Escherichia coli* causing canine uterine pyogenic disease relationship between virulence and drug resistance [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2014, 46(3): 99-103.
- [20] Gayeon W, Bomi M, Ingyeong O, et al. Profiles of virulence-associated genes of avian pathogenic *Escherichia coli* isolates from chickens with colibacillosis[J]. The Journal of Poultry Science, 2009, 46(3): 260-266.