

禽致病性大肠杆菌 IMT5155 疑似毒力基因在人源及动物源大肠杆菌中的分布

王少辉, 戴建君, 陆承平*

南京农业大学农业部动物疫病诊断与免疫国家重点开放实验室, 南京 210095

摘要: 【目的】检测禽致病性大肠杆菌 IMT5155 自分泌黏附素基因等具有代表性的疑似毒力基因在不同来源大肠杆菌中的分布, 为进一步研究其致病机理提供依据。【方法】采用 PCR 和 Dot blot 检测疑似毒力基因在不同地区 (101 株大肠杆菌中国分离株和 121 株大肠杆菌德国分离株)、不同来源 (人源、禽源及猪源) 大肠杆菌中的分布, 并分析其和 12 种大肠杆菌系统进化分群的关系。【结果】自分泌黏附素基因 B11 等 11 个疑似毒力基因在禽致病性大肠杆菌中分布率较高, 阳性率分别为: A1 36.4% (32/88)、A8 53.4% (47/88)、A10 63.6% (56/88)、B11 37.5% (33/88)、F3 59.1% (52/88) 等, 且疑似毒力基因主要存在于大肠杆菌 B2 进化群中。值得注意的是, D1、E9 和 F11 基因片段在新生儿脑膜炎大肠杆菌中有较高的分布率, 分别为 60% (6/10)、80% (8/10) 和 90% (9/10), 而在新生儿脑膜炎大肠杆菌中未检测到 B11 基因。【结论】自分泌黏附素 B11 等疑似毒力基因与禽致病性大肠杆菌关系密切, 但疑似毒力基因 D1、E9 和 F11 与新生儿脑膜炎大肠杆菌密切相关, 提示禽致病性大肠杆菌可能是新生儿脑膜炎大肠杆菌的毒力基因储库。

关键词: 禽致病性大肠杆菌, 疑似毒力基因, 分布

中图分类号: **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2011)07-0972-07

禽致病性大肠杆菌 (Avian pathogenic *Escherichia coli* APEC) 可导致鸡、火鸡及其他禽类的肠道外疾病, 如心包炎、肝周炎等, 甚至引起败血症而急性死亡^[1-2]。APEC 不仅危害禽体健康, 同时影响了产蛋量和肉用禽的上市时间, 并增加了饲养成本, 对养禽业造成的损失不容忽视, 对食品安全构成极大威胁。

APEC 属于肠道外致病菌, 自然条件下的发病机理目前尚未完全清楚, 与其它致病性大肠杆菌一样, APEC 已知的毒力因子只能用来解释部分感染机理, 因此需要寻找新的毒力因子, 进一步阐述大肠

杆菌的致病机理。

禽致病性大肠杆菌 IMT5155 分离于德国, 血清型为 O2:K1:H5, 该菌引起鸡急性败血症, 经大肠杆菌系统进化群分析, 该菌属于大肠杆菌 B2 进化群。动物试验表明, IMT5155 对禽类具有高度致病性, 是禽致病性大肠杆菌的代表株^[3-6]。前期试验通过对禽致病性大肠杆菌 IMT5155 与人尿源性大肠杆菌 CFT073^[7] 进行抑制性差减杂交 (Suppression subtractive hybridization, SSH) 获得了 28 个禽致病性大肠杆菌 IMT5155 的疑似毒力基因片段, 并针对自分泌黏附素基因 B11 进行了深入研究, 将其命名

基金项目: 2008-2009 年度中德农业科技合作项目 - 10

* 通信作者。Tel/Fax: +86-25-84396517; E-mail: luyp@njau.edu.cn

作者简介: 王少辉 (1983-), 男, 河南洛阳人, 博士, 从事兽医微生物与免疫学研究, E-mail: shwang0827@126.com

收稿日期: 2011-02-14; 修回日期: 2010-03-22

为 *aatA*^[8]。本试验通过比对分析,选择了编码自分泌黏附素、唾液酸酶及唾液酸合成相关蛋白、DNA 转移蛋白、EntS/YbdA 转运系统相关蛋白和糖基转移酶等具有代表性的疑似毒力基因,进一步研究这些基因在不同地区(中国和德国)和不同来源(人源、禽源及猪源)大肠杆菌中的分布,为进一步研究大肠杆菌的致病机理提供基础。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌株:禽致病性大肠杆菌(Avian pathogenic *Escherichia coli*, APEC) IMT5155、尿源性大肠杆菌(Uropathogenic *Escherichia coli*, UPEC) CFT073 及非致病大肠杆菌(Non-pathogenic *Escherichia coli*, NPEC) MG1655 由德国柏林自由大学惠赠。用于疑似毒力基因检测的大肠杆菌包括 101 株大肠杆菌中国分离株(其中禽源 88 株、猪源 5 株、人源 8 株)以及 121 株大肠杆菌德国分离株(其中 APEC 35 株、UPEC 66 株、新生儿脑膜炎大肠杆菌(Neonatal meningitis *E. coli*, NMEC) 10 株、禽非致病性大肠杆菌 10 株)^[9-11] 分别由南京农业大学动物医学院和

德国柏林自由大学微生物研究所保存。

1.1.2 主要试剂和仪器:胰蛋白胨(Tryptone)、酵母抽提物(Yeast extract)为 OXOID 公司产品;PCR Master Mix 购自天根(TIANGEN)生物科技公司;DNA Marker 购自大连宝(Takara)生物工程公司。Biomertra PCR 仪:购自 Whatman 公司;凝胶成像分析系统:购自 Bio-Rad 公司。

1.2 大肠杆菌系统进化群分析

大肠杆菌系统进化群分析参照 Clermont 等^[12]的方法,根据 *chuA*, *yjaA* 基因和 DNA 片段 TspE4. C2 序列设计并合成 3 对引物(表 1),由上海英骏生物工程有限公司合成。采用三重 PCR 方法对 101 株大肠杆菌中国分离株进行系统进化分群。在灭菌 PCR 管中依次加入:2 × PCR Master Mix 12.5 μL, 3 对引物各取 0.8 μL, 模板 2.0 μL, 最后加灭菌超纯水至 25 μL。PCR 反应参数为:95℃ 4 min; 95℃ 30 s, 59℃ 30 s, 72℃ 30 s, 30 个循环; 72℃ 10 min。取 PCR 扩增产物 5 μL 进行 1.0% 琼脂糖凝胶电泳,以 100 bp DNA Ladder Marker 为参照,放置紫外灯下观察扩增片断大小,并根据结果对大肠杆菌进化群分型,具体判定方法参考 Clermont 等^[12]的标准。

表 1 大肠杆菌系统进化群鉴定引物

Table 1 The primers used for identification of phylogenetic groups of *E. coli*

Gene	Primers	Sequence (5'→3')	Annealing Temperature/°C	Product Size/bp
<i>chuA</i>	ChuA. 1	GACGAACCAACGGTCAGGAT	59	279
	ChuA. 2	TGCCGCCAGTACCAAAGACA		
<i>yjaA</i>	YjaA. 1	TGAAGTGTTCAGGAGACGCTG	59	211
	YjaA. 2	ATGGAGAATGCGTTCCTCAAC		
TspE4. C2	TspE4C2. 1	GAGTAATGTCTGGGGCATTCA	59	152
	TspE4C2. 2	CGCGCCAACAAAGTATTACC		

1.3 PCR 检测疑似毒力基因在大肠杆菌中国分离株中的分布

对禽致病性大肠杆菌 IMT5155 疑似毒力基因片段进行比对分析,选择了编码自分泌黏附素、唾液酸酶及唾液酸合成相关蛋白、DNA 转移蛋白、EntS/YbdA 转运系统相关蛋白和糖基转移酶等^[8, 11, 13-20] 12 个具有代表性的疑似毒力基因设计引物(表 2),采用 PCR 检测这些疑似毒力基因在 101 株大肠杆菌中国分离株中的分布。PCR 反应体系如下: 2 × PCR Master Mix 12.5 μL, Primer up、down 各取 0.8 μL, 模板(细菌培养物) 2.0 μL, 最后加灭菌超纯水至 25 μL。PCR 反应参数为:95℃ 5 min; 95℃

30 s, 56℃ 30 s, 72℃ 30-50 s, 30 个循环; 72℃ 10 min。1.0% 琼脂糖凝胶上电泳各样品 5 μL, 紫外灯下拍照,记录 PCR 结果。

1.4 Dot blot 检测疑似毒力基因在大肠杆菌德国分离株中的分布

根据 D1, E9, B11 和 F11 4 个疑似毒力基因片段的序列,设计引物(表 3),PCR 扩增出目的片段,然后采用地高辛探针标记 PCR 回收产物,标记好的探针置于 -20℃ 保存备用。将待检菌株的 DNA 转移和固定到带正电荷的尼龙膜上,然后和标记好的探针进行杂交并采用胶片曝光,冲洗胶片,观察结果。

表 2 疑似毒力基因的检测引物

Table 2 Primers used for the distribution of putative virulence genes

Gene fragment	Primers name	Primers sequence (5'→3')	Annealing Temperature/°C	Predicted encoded protein
A1	A1up	TTTTATGGCTGGAGACCGC	53	endo- α -sialidase
	A1down	CACATCCTGGGTATTTTGCG		
A8	A8up	ATAGCGAAAGGACTTAGCCCA	52	DNA transfer protein
	A8down	GCCGAGGTACAATCGAGCTAT		
A10	A10up	CTCTGGACATTCAGCGATTTC	52	Unknown
	A10down	GGGAGTTTACCCAGGAGTTC		
B5	B5up	AGCTATTTTCATTTATTGCG	50	Unknown
	B5down	CCGAGGTACTGTGTGAATGA		
B11 (<i>aatA</i>)	B11up	GCCGAGGTACTCTTATACTTTCT	51	autotransporter adhesin
	B11down	CCGTCAGTAGTTTGCTTATTGTC		
D3	D3up	TAGTTGTTAGTGATTGGAAAA	49	polysialic acid biosynthesis protein
	D3down	TCATTTAACAATCTCCGCTA		
E6	E6up	ACATTTTTTACGCCACTTTG	53	restriction modification system DNA specificity domain
	E6down	TGATTTTTGTCGATCCTGAA		
F3	F3up	ATCGTTCAGTTTATCCTCCC	50	Unknown
	F3down	GAGTACTCGGTGTCTTTGA		
F7	F7up	CTGGGTCTGAATGAGGCGA	50	EntS/YbdA MFS transporter
	F7down	CAATAGCCAACATACCAACG		
G12	G12up	GAGCAGTAATGTCATTCCC	50	phosphoglycerate dehydrogenase
	G12down	TCTGTTGCAGAAATGACCAT		
H7	H7up	GTTATTGCTTCTGGGATGTT	48	Glycosyltransferases
	H7down	CCGAGGTACAGCTTTAAAAAC		

表 3 扩增探针用引物

Table 3 The primers used in Dot blot

Gene fragment	Primers	Sequence (5'→3')	Annealing Temperature/°C	Product size/bp
D1	D1-F	CTTTTTGTCGTTAATCGAGGC	60	151
	D1-R	TAACACTAATTGCCTGACGGG		
E9	E9-F	CAGGTTGCCATTGCAAC	60	165
	E9-R	TACATGCTTGATGTCAGTCG		
B11 (<i>aatA</i>)	B11-F	TTCCGCCATGAATGTTGAG	60	153
	B11-R	TGGCGTATTAATTCTTGCTGC		
F11	F11-F	CAAAATGTGCTGCTATTTGGC	60	198
	F11-R	ATTCGATACAGGTTGAGCATG		

2 结果

2.1 大肠杆菌系统进化群分析

采用 Clermont 等^[12]建立的大肠杆菌系统进化分群方法,对 101 株大肠杆菌中国分离株进行分群鉴定。PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳可观察到 279

bp、211 bp 和/或 152 bp 的 *chuA*、*yiaA* 基因和 DNA 片段 TspE4. C2 特异的电泳条带(图 1)。根据 PCR 条带进行比较分析,确定菌株的系统进化分群。结果表明,大肠杆菌中国分离株属于系统进化群 A 群的菌株最多,占 54.5% (55/101); B2 群次之,占 23.8% (24/101); B1 群和 D 群依次减少,分别占 11.9% 和 9.9% (表 4)。

表 4 大肠杆菌中国分离株的系统进化群分析

Table 4 Phylogenetic groups analysis of the *E. coli* strains isolated from China

Group of <i>E. coli</i>	A	B1	B2	D
Percent	55/101 (54.5%)	12/101 (11.9%)	24/101 (23.8%)	10/101 (9.9%)

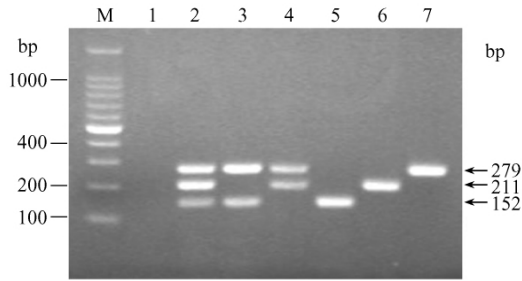


图 1 大肠杆菌系统进化群分析的三重 PCR

Fig. 1 Triplex PCR profiles specific for phylogenetic groups of *E. coli*. Lane M: 100bp DNA Ladder Marker; Lane 1, 6: group A; Lane 2, 4: group B2; Lane 3, 7: group D; Lane 5: group B1.

2.2 疑似毒力基因在大肠杆菌中国分离株中的分布

对自分泌黏附素基因 B11 等 11 个疑似毒力基

表 5 禽致病性大肠杆菌 IMT5155 疑似毒力基因在大肠杆菌中国分离株中的分布

Table 5 Distribution of APEC IMT5155 putative virulence genes in *E. coli* strains isolated from China

Source	A1	A8	A10	B5	B11	D3	E6	F3	F7	G12	H7
Human	1/8	0/8	0/8	0/8	0/8	1/8	4/8	1/8	1/8	1/8	0/8
Pig	0/5	2/5	3/5	0/5	2/5	0/5	1/5	3/5	0/5	0/5	0/5
Poultry	32/88	47/88	56/88	2/88	33/88	8/88	13/88	52/88	7/88	6/88	6/88

2.3 疑似毒力基因分布与大肠杆菌进化群的关系

结合疑似毒力基因的分布和大肠杆菌系统进化分群,分析两者之间的联系。结果表明,每个疑似毒力基因在大肠杆菌进化群中分布不尽相同(表 6),

表 6 禽致病性大肠杆菌 IMT5155 疑似毒力基因分布和大肠杆菌系统进化群的关系

Table 6 The association of distribution of the APEC IMT5155 putative virulence genes and *E. coli* Phylogenetic groups

<i>E. coli</i> group	Sum	A1	A8	A10	B5	B11	D3	E6	F3	F7	G12	H7
A	55	14	36	41	1	12	0	7	36	0	0	0
B1	12	4	4	4	1	4	2	2	4	2	1	1
B2	24	11	7	11	0	13	7	8	14	6	6	5
D	10	4	2	3	0	6	0	1	2	0	0	0

2.4 疑似毒力基因在大肠杆菌德国分离株中的分布

Dot blot 检测结果表明, D1、E9 和 F11 疑似毒力基因在新生儿脑膜炎大肠杆菌中分布率分别为 60% (6/10)、80% (8/10) 和 90% (9/10), 显著高于其在禽致病性大肠杆菌和尿源性大肠杆菌中的分布。而自分泌黏附素基因 B11 则主要分布于禽致病性大肠杆菌, 其分布率为 40% (14/35), 而在新生儿脑膜炎大肠杆菌中未检测到 B11 基因(见表 7 和图 2)。

因进行 PCR 检测, 阳性对照 IMT5155 均扩增出与预期片段大小一致的片段, 而在 CFT073 和 MG1655 中无目的条带(图略), PCR 统计结果见表 5。结果表明, 疑似毒力基因在大肠杆菌中国分离株中广泛分布, 但是在禽致病性大肠杆菌中分布率较高, 如自分泌黏附素基因 B11 的阳性率为 37.5% (33/88)、A1 36.4% (32/88)、A8 53.4% (47/88)、A10 63.6% (56/88)、F3 59.1% (52/88) 等。另外, 疑似毒力基因阳性菌株主要为禽致病性大肠杆菌, 其分别占疑似毒力基因阳性菌株的 97% (A1)、96% (A8)、95% (A10)、100% (B5)、94.3% (B11)、88.9% (D3)、72.2% (E6)、93% (F3)、87.5% (F7)、85.7% (G12) 和 100% (H7)。

但所有疑似毒力基因在大肠杆菌 B2 进化群中的分布率高于其他系统进化群, 如自分泌黏附素基因 B11 以及唾液酸酶基因 A1 占大肠杆菌 B2 进化群菌株的比例分别为 54.2% 和 45.8%。

表 7 禽致病性大肠杆菌 IMT5155 疑似毒力基因在大肠杆菌德国分离株中的分布

Table 7 Distribution of APEC IMT5155 putative virulence genes in *E. coli* strains isolated from Germany

Fragment	APEC	UPEC	NMEC	NPEC (chicken)
D1	5/35	12/66	6/10*	1/10
E9	30/35	24/66	8/10*	1/10
B11	14/35*	3/66	0/10	3/10*
F11	19/35	30/66	9/10*	2/10

* The data were obviously higher than the others ($P < 0.01$, χ^2 -test).

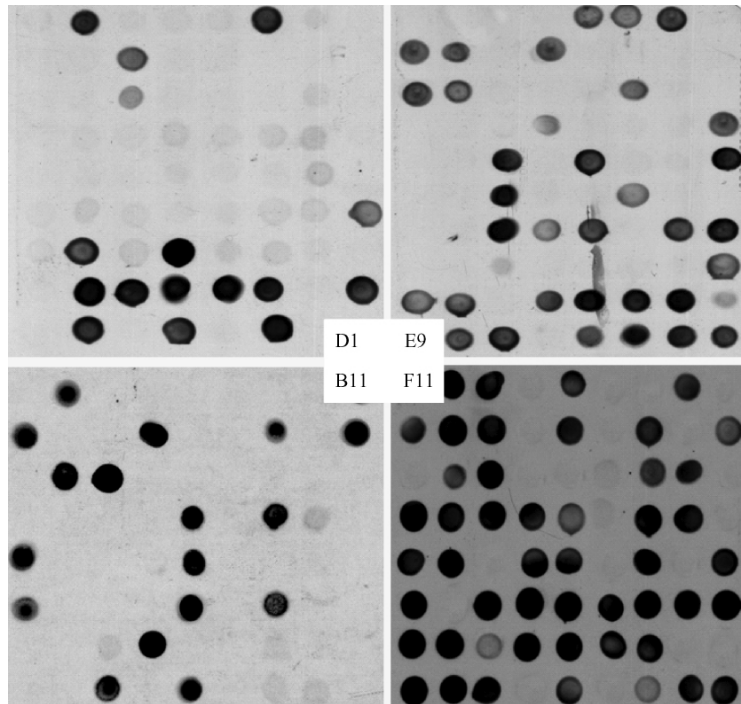


图2 斑点杂交分析 IMT5155 疑似毒力基因的分布

Fig. 2 Dot-blot hybridization analysis for distribution of the IMT5155 putative virulence genes.

3 讨论

前期试验研究通过对禽致病性大肠杆菌 IMT5155 和尿源性大肠杆菌 CFT073 进行抑制性差减杂交^[8,21],获得了 28 个 IMT5155 疑似毒力基因片段。因此本试验选择了自分泌黏附素基因等具有代表性的疑似毒力基因,通过 PCR 和 Dot blot 两种方法对其在大肠杆菌中的分布进行研究,为进一步阐述其致病机理提供依据。PCR 及 Dot blot 检测结果表明,自分泌黏附素 B11 等疑似毒力基因存在于禽致病性大肠杆菌 IMT5155,而在人尿源性大肠杆菌 CFT073 及非致病大肠杆菌 MG1655 中阴性,进一步验证抑制性差减杂交方法的可靠性。

通过对大肠杆菌中国分离株和德国分离株的 PCR 和 Dot blot 检测,发现大部分疑似毒力基因在中国和德国及不同致病性大肠杆菌中广泛分布,相关报道也已阐述不同致病性大肠杆菌拥有共同的毒力基因^[22-25]。

值得注意的是,D1、E9 和 F11 疑似毒力基因在新生儿脑膜炎大肠杆菌中分布率显著高于禽致病性大肠杆菌和猪源大肠杆菌,提示这些基因在新生儿脑膜炎的致病过程中可能起作用,且其有可能作为

新生儿脑膜炎大肠杆菌的毒力基因储库。与此类似的还有脑膜炎侵袭素基因 *ibeA*,其在新生儿脑膜炎大肠杆菌和禽致病性大肠杆菌中都有分布。作者通过 Red 同源重组系统构建了侵袭素基因 *ibeA* 缺失株,并研究了该基因的致病机理^[25]。本试验结果从另外一方面证明,禽致病性大肠杆菌可作为新生儿脑膜炎大肠杆菌的毒力基因储库,其具有重要公共卫生意义,因此应加强对禽致病性大肠杆菌的研究和防治。

PCR 检测结果表明,自分泌黏附素 B11 等疑似毒力基因在不同致病性大肠杆菌中广泛分布,但在禽致病性大肠杆菌中的分布率显著高于其他致病性大肠杆菌,说明这些基因主要分布于禽致病性大肠杆菌。另一方面,疑似毒力基因阳性菌株主要是禽致病性大肠杆菌,这个结果提示,这些毒力基因有可能为禽致病性大肠杆菌所特有。比对分析发现,B11、A1、A8、A10 和 F3 疑似毒力基因分别编码自分泌黏附素、唾液酸酶及唾液酸合成相关蛋白和 DNA 转移蛋白,已知它们与大肠杆菌的致病性密切相关,因此推断其在其他大肠杆菌的致病过程中发挥作用。

自分泌黏附素基因 B11 在中国和德国大肠杆菌分离株中的分布结果表明,B11 主要分布于禽致病性大肠杆菌中,其分布率明显高于猪源大肠杆菌

和人源大肠杆菌。经测序分析发现该基因两端编码转移酶,其可能导致 B11 基因在不同菌株之间发生水平转移,因此它在非致病性大肠杆菌中也有检出。作者通过一系列试验验证该毒力基因的黏附功能,证实了自分泌黏附素基因 B11 在禽致病性大肠杆菌的致病过程中发挥重要的作用^[8],而其他疑似毒力基因的作用机制有待进一步研究。

系统进化群分析结果表明,大肠杆菌中国分离株的进化群比例依次为:A > B2 > B1 > D,与国外报道的肠道外大肠杆菌菌株的进化群分布基本一致^[11]。对大肠杆菌系统进化群及疑似毒力基因的分布综合分析发现,尽管疑似毒力基因在各个大肠杆菌进化群中都有分布,但大部分疑似毒力基因在大肠杆菌 B2 进化群中的分布率较高,证实了以前致病性大肠杆菌主要属于大肠杆菌进化群 B2 群的推断^[2, 10, 26]。

致谢 感谢德国柏林自由大学 Lothar H. Wieler 教授及 Christa Ewers 在本试验中提供的帮助。

参考文献

- [1] 陆承平. 兽医微生物学. 第四版. 北京, 中国农业出版社, 2007: 99-107.
- [2] Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Review Microbiology*, 2004, 2 (2): 123-140.
- [3] Li G, Laternus C, Ewers C, Wieler LH. Identification of genes required for avian *Escherichia coli* septicemia by signature-tagged mutagenesis. *Infection and Immunity*, 2005, 73 (5): 2818-2827.
- [4] Antao E M, Glodde S, Li G, Sharifi R, Homeier T, Laternus C, Diehl I, Bethe A, Philipp H C, Preisinger R, Wieler L H, Ewers C. The chicken as a natural model for extraintestinal infections caused by avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). *Microbial Pathogenesis*, 2008, 45 (5-6): 361-369.
- [5] Antao EM, Ewers C, Gurlebeck D, Preisinger R, Homeier T, Li G, Wieler LH. Signature-tagged mutagenesis in a chicken infection model leads to the identification of a novel avian pathogenic *Escherichia coli* fimbrial adhesin. *PLoS One*, 2009, 4 (11): e7796.
- [6] Ewers C, Janssen T, Kiessling S, Philipp H C, Wieler L H. Rapid detection of virulence-associated genes in avian pathogenic *Escherichia coli* by multiplex polymerase chain reaction. *Avian Disease*, 2005, 49 (2): 269-273.
- [7] Welch RA, Burland V, Plunkett G, Redford P, Roesch P, Rasko D, Buckles EL, Liou S R, Boutin A, Hackett J, Stroud D, Mayhew GF, Rose DJ, Zhou S, Schwartz DC, Perna NT, Mobley HL, Donnenberg MS, Blattner FR. Extensive mosaic structure revealed by the complete genome sequence of uropathogenic *Escherichia coli*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002, 99 (26): 17020-17024.
- [8] Dai J, Wang S, Guerlebeck D, Laternus C, Guenther S, Shi Z, Lu C, Ewers C. Suppression subtractive hybridization identifies an autotransporter adhesin gene of *E. coli* IMT5155 specifically associated with avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). *BioMed Central Microbiology*, 2010, 10: 236.
- [9] Ewers C, Janssen T, Kiessling S, Philipp HC, Wieler LH. Molecular epidemiology of avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) isolated from colisepticemia in poultry. *Veterinary Microbiology*, 2004, 104 (1-2): 91-101.
- [10] Ewers C, Janssen T, Wieler LH. [Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC)]. *Berliner und Munchener tierarztliche Wochenschrift*, 2003, 116 (9-10): 381-395.
- [11] Ewers C, Li G, Wilking H, Kiessling S, Alt K, Antao EM, Laternus C, Diehl I, Glodde S, Homeier T, Bohnke U, Steinruck H, Philipp HC, Wieler LH. Avian pathogenic, uropathogenic, and newborn meningitis-causing *Escherichia coli*: how closely related are they? *International Journal of Medical Microbiology*, 2007, 297 (3): 163-176.
- [12] Clermont O, Bonacorsi S, Bingen E. Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66 (10): 4555-4558.
- [13] Ginns C A, Benham ML, Adams LM, Whithear KG, Bettelheim KA, Crabb BS, Browning GF. Colonization of the respiratory tract by a virulent strain of avian *Escherichia coli* requires carriage of a conjugative plasmid. *Infection and Immunity*, 2000, 68 (3): 1535-1541.
- [14] Smith HW, Huggins MB. The association of the O18, K1 and H7 antigens and the Co1V plasmid of a strain of *Escherichia coli* with its virulence and immunogenicity. *Journal of General Microbiology*, 1980, 121 (2): 387-400.
- [15] Christie PJ, Vogel JP. Bacterial type IV secretion: conjugation systems adapted to deliver effector molecules to host cells. *Trends in Microbiology*, 2000, 8 (8): 354-360.
- [16] Weiserova M, Ryu J. Characterization of a restriction modification system from the commensal *Escherichia coli* strain A0 34/86 (O83:K24:H31). *BioMed Central Microbiology*, 2008, 8: 106.
- [17] Itzhak Ofek, Nathan Sharon, Abraham S N. Bacterial Adhesion. *Prokaryotes*, 2006, 2: 16-31.
- [18] Skyberg JA, Johnson TJ, Johnson JR, Clabots C, Logue CM, Nolan LK. Acquisition of avian pathogenic *Escherichia coli* plasmids by a commensal *E. coli* isolate

- enhances its abilities to kill chicken embryos , grow in human urine , and colonize the murine kidney. *Infection and Immunity* , 2006 74(11) : 6287-6292.
- [19] Henderson IR , Cappello R , Nataro JP. Autotransporter proteins , evolution and redefining protein secretion. *Trends in Microbiology* , 2000 8(12) : 529-532.
- [20] Amabile de Campos T , Stehling EG , Ferreira A , Pestana de Castro AF , Brocchi M , Dias da Silveira W. Adhesion properties , fimbrial expression and PCR detection of adhesin-related genes of avian *Escherichia coli* strains. *Veterinary Microbiology* , 2005 106(3-4) : 275-285.
- [21] Diatchenko L , Lau YF , Campbell AP , Chenchik A , Moqadam F , Huang B , Lukyanov S , Lukyanov K , Gurskaya N , Sverdlov ED , Siebert PD. Suppression subtractive hybridization: a method for generating differentially regulated or tissue-specific cDNA probes and libraries. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* , 1996 93(12) : 6025-6030.
- [22] Dobrindt U. (Patho-) Genomics of *Escherichia coli*. *International Journal of Medical Microbiology* , 2005 295(6-7) : 357-371.
- [23] Nataro JP , Kaper JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews* , 1998 11(1) : 142-201.
- [24] Oelschlaeger TA , Dobrindt U , Hacker J. Virulence factors of uropathogens. *Current Opinion in Urology* , 2002 12(1) : 33-38.
- [25] Wang S , Niu C , Shi Z , Xia Y , Yaqoob M , Dai J , Lu C. Effects of *ibeA* deletion on virulence and biofilm formation of avian pathogenic *Escherichia coli*. *Infection and Immunity* , 2011 79(1) : 279-287.
- [26] Rodriguez-Siek KE , Giddings CW , Doetkott C , Johnson TJ , Nolan LK. Characterizing the APEC pathotype. *Veterinary Research* , 2005 36(2) : 241-256.

Distribution of putative virulence genes of Avian pathogenic *Escherichia coli* IMT5155 in *E. coli* strains isolated from human and animal

Shaohui Wang , Jianjun Dai , Chengping Lu *

Key Laboratory of Animal Disease Diagnostics and Immunology of the Ministry of Agriculture , Nanjing Agricultural University , Nanjing 210095 , China

Abstract: [Objective] We investigated the distribution of autotransporter adhesin gene B11 and other putative virulence genes of APEC IMT5155 , which contributed to study the pathogenic mechanism of Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). [Methods] PCR and Dot blot were used to detect the distribution of putative virulence genes in *E. coli* strains isolated from different country (101 Chinese strains and 121 German strains) , which were from different sources (human , avian and pig). The association of *E. coli* phylogenetic group and distribution of putative virulence genes was also analyzed. [Results] The putative virulence genes were most prevalent among APEC isolates , 36.4% (32/88) of APEC isolates harboring A1 , 53.4% (47/88) for A8 , 63.6% (56/88) for A10 , 37.5% (33/88) for B11 , 59.1% (52/88) for F3. The isolates positive for putative virulence genes were linked to *E. coli* phylogenetic group B2. Among Neonatal meningitis *E. coli* isolates , 60% , 80% and 80% were positive for putative virulence genes D1 , E9 and F11 , respectively. However , all the Neonatal meningitis *E. coli* strains were negative for B11. [Conclusion] Autotransporter adhesin gene B11 and other putative virulence genes were associated to APEC. However , putative virulence genes D1 , E9 and F11 were associated to Neonatal meningitis *E. coli* , which indicated that APEC might be a virulence gene reservoir for Neonatal meningitis *E. coli*. **Keywords:** Avian pathogenic *Escherichia coli* , putative virulent genes , distribution

(本文责编: 张晓丽)

Supported by the Sino-Germany Cooperation on Agricultural Science and Technology(2008 - 2009)

* Corresponding author. Tel/Fax: +86-25-84396517; E-mail: lucp@njau.edu.cn

Received: 14 February 2011 / Revised: 22 March 2011