

王莹,卢葛锦,祝令伟,等.猪源致泻大肠埃希菌系统进化分群及致病型检测[J].江苏农业科学,2022,50(23):159-164.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.23.024

猪源致泻大肠埃希菌系统进化分群及致病型检测

王莹,卢葛锦,祝令伟,关佳瑶,纪雪,孙洋,郭学军

(中国农业科学院长春兽医研究所/吉林省人兽共患病预防与控制重点实验室,吉林长春 130122)

摘要:为明确长春地区某规模化猪场大肠埃希菌系统进化分群、毒力基因和致病型分布以及耐药情况。采用 PCR 对分离自哺乳仔猪、妊娠母猪、哺乳母猪和断奶仔猪粪便的 129 株大肠埃希菌进行系统进化分群的检测;采用多重荧光实时定量聚合酶链式反应检测菌株毒力基因,鉴定致泻大肠埃希菌(DEC)的致病型;并检测 17 种抗生素耐药情况。结果显示 B1 群为优势群(51.94%,67/129)。共检出 DEC 47 株,分离率为 36.43%,其中肠道聚集性大肠埃希菌(EAEC)38 株(29.46%,38/129),均携带 *astA* 基因,其中 25 株属于 B1 群,13 株属于 A 群;肠道致病性大肠埃希菌(EPEC)6 株(4.65%,6/129),均携带 *escV* 基因,其中 5 株属于 B1 群,1 株属于 B2 群;产肠毒素大肠埃希菌(ETEC)1 株(0.78%,1/129),携带 *stx* 基因,属于 A 群;肠道出血性大肠埃希菌(EHEC)1 株(0.78%,1/129),携带 *stx2* 基因,属于 B1 群;EAEC-EPEC 检测出 1 株(0.78%,1/129),毒力基因型为 *astA-escV*,属于 B1 群;此次分离到的 DEC 未发现 EIEC 和 DAEC 这 2 种类型。经检测发现 DEC 的毒力基因主要为 *astA* 基因,以 EAEC 型为主,在断奶仔猪来源检测出 1 株 EAEC-EPEC 杂交型菌株,并且断奶仔猪中 DEC 分离率最高,应作为防控的重点。

关键词:猪源;致泻大肠埃希菌;系统进化分群;毒力基因;致病型;耐药性

中图分类号:S852.61 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2022)23-0159-05

大肠埃希菌是人与动物的肠道共栖菌,不仅包括共生菌株,还包括可引起人畜疾病的致病性菌株,具有显著的多功能性,能够在人类和动物中引起疾病^[1],也被叫做致泻大肠埃希菌(diarrheogenic *Escherichia coli*,简称 DEC),DEC 的致病性是其携带的毒力因子所致,这些毒力因子可破坏宿主的防御系统,并在受感染的人和动物中引起腹泻和局部组织感染,严重时甚至引起新生儿的脑膜炎和败血症等严重疾病,是临床感染性疾病的重要食源性致病菌之一^[2],全世界每年因大肠埃希菌病死亡的人数大约有 200 万人。DEC 根据其携带的毒力基因、引起感染的部位以及引起疾病的原因,可将 DEC 分为 6 类:肠产毒素型大肠埃希菌(enterotoxigenic *Escherichia coli*,简称 ETEC)、肠致病型大肠埃希菌(enteropathogenic *Escherichia coli*,简称 EPEC)、肠侵袭型大肠埃希菌(enteroinvasive *Escherichia coli*,简称

EIEC)、肠集聚型大肠埃希菌(enteroaggregative *Escherichia coli*,简称 EAEC)、肠出血型大肠埃希菌(enterohemorrhagic *Escherichia coli*,简称 EHEC)和弥散黏附型大肠埃希菌(diffusely adherent *Escherichia coli*,DAEC)^[3]。为了解长春某规模化养猪场中 DEC 的污染情况,本研究对从猪场分离的大肠埃希菌进行系统进化分群和毒力基因检测以及致病型鉴定,并检测了菌株耐药情况,为从猪肉生产源头对 DEC 污染的防控提供技术依据。

1 材料与方法

1.1 菌株

129 株大肠埃希菌于 2020 年分离自哺乳仔猪、妊娠母猪、哺乳母猪和断奶仔猪粪便,其中妊娠母猪粪便分离获得 36 株大肠埃希菌,哺乳母猪分离获得 42 株大肠埃希菌,哺乳仔猪粪便分离获得 30 株大肠埃希菌,断奶仔猪粪便分离获得 21 株大肠埃希菌。

1.2 试剂

脑心液体培养基,购自青岛海博生物技术有限公司;琼脂糖,购自美国 Genview 公司;DNA 分子量标准 DL2 000,购自美国 TaKaRa 公司;细菌鉴定卡、ID 肉汤、AST 肉汤和 AST 指示剂,购自美国 BD 公

收稿日期:2022-03-03

基金项目:国家重点研发计划(编号:2016YFD0501305)。

作者简介:王莹(1995—),女,吉林洮南人,硕士研究生,主要从事人兽共患病原细菌致病机制和分子流行病学研究。E-mail:1367290159@qq.com。

通信作者:郭学军,博士,研究员,主要从事细菌耐药性基因水平传递和分子流行病学研究。E-mail:xuejung@yahoo.com。

司;6 种致泄大肠埃希菌(DEC)核酸检测试剂盒,购自北京美正生物科技有限公司;引物均由吉林库美生物科技公司合成。

1.3 模板的制备

将冻存管中的菌液接种于脑心固体培养基上,置于 37 ℃ 恒温培养箱中倒置培养 16 h,挑取至少 10 个单菌落,加入 100 μL 无菌去离子水,混匀,采用煮沸法提取 129 株待检大肠埃希菌的基因组 DNA 作为 PCR 扩增模板。

1.4 系统进化分群检测

参考 Clermont 等建立的方法^[4]合成引物,通过多重 PCR,检测大肠埃希菌分离株系统进化分群。根据扩增结果将大肠埃希菌分为 A 群系(*chuA* 基因和 *TspE4. C2* 基因 PCR 扩增结果均为阴性)、B1 群系(*chuA* 基因 PCR 扩增结果为阴性而 *TspE4. C2* 基因 PCR 扩增结果为阳性)、B2 群系(*chuA* 基因和 *yjaA* 基因 PCR 扩增结果均为阳性)、D 群系(*chuA* 基因 PCR 扩增结果为阳性而 *yjaA* 基因 PCR 扩增结果为阴性)。

表 1 试验所需引物		
基因	序列(5'→3')	片段大小(bp)
<i>chuA</i>	F:GACGAACCAACGGTCAGGAT	279
	R:TGCCGCCAGTACCAAAGACA	
<i>yjaA</i>	F:TGAAGTGTCAAGGAGACGCTG	211
	R:ATGGAGAATGCGTTCTCTCAAC	
<i>tspE4. C2</i>	F:GAGTAATGTGGGGCATTCA	152
	R:CGCGCCAACAAAGTATTACG	

1.5 毒力基因与致病型检测

采用多重荧光实时定量 PCR 技术检测 14 种毒力基因,包括 *aggR*、*stx1*、*lt*、*ipaH*、*eae*、*bfpB*、*stp*、*afaD*、

astA、*pic*、*escV*、*stx2*、*sth* 和 *invE*,根据试剂盒说明书,设定 PCR 扩增条件,检测毒力基因的携带情况,判读 DEC 的致病型。

1.6 耐药性检测

将分离的菌株接种于脑心固体培养基上,置于 37 ℃ 恒温培养箱中倒置培养 16 h。先将 ID 肉汤放置于 Phoenix SpecTM 比浊仪内调零,使用无菌棉签刮取平板划线 4 区中单菌落于 ID 肉汤中,将菌液调为麦氏比浊度 0.5 ~ 0.6 范围内,将 46 μL AST 指示剂垂直滴入 AST 肉汤,上下颠倒,缓慢混匀加入调好麦氏比浊度的 ID 肉汤 25 μL,再次上下缓慢颠倒混匀,分别将 ID 肉汤和 ASD 肉汤缓缓倒入鉴定卡内,把鉴定卡放置于全自动微生物药敏系统内对菌株进行敏感性检测,根据全自动微生物药敏系统检测出的结果对菌株的敏感性及是否为产 ESBLs 菌株进行判断。

2 结果与分析

2.1 大肠埃希菌系统进化分群结果

对 129 株大肠埃希菌分离株系统进化分群分析结果见表 2,A 群占 43.41%,B1 群占 51.49%,B2 群占 0.78%,D 群占 3.86%,B1 群为优势群。妊娠母猪分离的 36 株大肠埃希菌中 A 群和 B1 群为优势群,3 株大肠埃希菌为 D 群,未检出 B2 群;哺乳母猪分离的 42 株大肠埃希菌中 A 群和 B1 群为优势群,1 株大肠埃希菌为 B2 群,1 株大肠埃希菌为 D 群;哺乳仔猪分离的 30 株大肠埃希菌中 A 群和 B1 群为优势群,1 株大肠埃希菌为 B2 群,1 株大肠埃希菌为 D 群;断奶仔猪分离的 21 株大肠埃希菌中 A 群和 B1 群为优势群,未检出 B2 群和 D 群。

表 2 系统进化分群结果										
群系类型	妊娠母猪		哺乳母猪		哺乳仔猪		断奶仔猪		合计	
	检出率(%)	检出株数	检出率(%)	检出株数	检出率(%)	检出株数	检出率(%)	检出株数	检出率(%)	检出株数
A	44.44	(16/36)	45.24	(19/42)	46.67	(14/30)	33.33	(7/21)	43.41	(56/129)
B1	47.22	(17/36)	52.38	(22/42)	46.67	(14/30)	66.67	(14/21)	51.94	(67/129)
B2	0.00	(0/36)	0.00	(0/42)	3.33	(1/30)	0.00	(0/21)	0.78	(1/129)
D	8.33	(3/36)	2.38	(1/42)	3.33	(1/30)	0.00	(0/21)	3.86	(5/129)

2.2 大肠埃希菌 14 种毒力基因携带情况

14 种毒力基因中 *astA* 检出率最高,为 30.23%;其次是 *escV*,为 5.43%,*stp* 和 *stx2* 均为 0.78%;未检出毒力基因 *bfpB*、*eae*、*aggR*、*stx1*、*lt*、*ipaH*、*afaD*、*pic*、*sth* 和 *invE*。129 株大肠埃希菌主要为 5 种毒力基因组合形式:*astA* (占 29.46%)、*escV*

(占 4.65%)、*stp* (占 0.78%)、*stx2* (占 0.78%)、*astA - escV* (占 0.78%)。

2.3 不同种群大肠埃希菌毒力基因的携带情况

不同种群大肠埃希菌所携带的毒力基因存在差异,结果如表 3 所示。根据毒力基因携带情况进行分析,*astA* 基因在 A 群、B1 群中检出率最高,*escV*

基因在 B1、B2 群检出率最高,*stp* 基因在仅 A 群中检出,*stx2* 基因仅在 B1 群检出。根据不同群系携带毒力基因的情况进行分析,B1 群含有检出的 3 种毒力基因,A 群含有检出的 2 种毒力基因,B2 群含有检出的 1 种毒力基因,D 群未检出任何毒力基因。

表 3 不同种群大肠埃希菌毒力基因携带情况

毒力基因	不同种群毒力基因携带菌株							
	A		B1		B2		D	
	检出率(%)	检出株数	检出率(%)	检出株数	检出率(%)	检出株数	检出率(%)	检出株数
<i>astA</i>	23.21	(13/56)	38.81	(26/67)	0.00	(0/1)	0.00	(0/5)
<i>escV</i>	0.00	(0/56)	8.96	(6/67)	100.00	(1/1)	0.00	(0/5)
<i>stp</i>	1.79	(1/56)	0.00	(0/67)	0.00	(0/1)	0.00	(0/5)
<i>stx2</i>	0.00	(0/56)	1.49	(1/67)	0.00	(0/1)	0.00	(0/5)

2.4 大肠埃希菌致病型分析

根据毒力基因的检出情况可以将大肠埃希菌分离株归入不同的致病型,本研究将分离自不同生长周期的大肠埃希菌致病型分布进行归纳,结果如表 4 所示。妊娠母猪分离的 36 株大肠埃希菌中 DEC 占 22.22%,其中 EAEC 检出 7 株,占 19.44%,毒力基因型均为 *astA*;EHEC 检出 1 株,占 2.78%,毒力基因型为 *stx2*。哺乳母猪分离的 42 株大肠埃希菌中 DEC 占 38.10%,均为 EAEC,毒力基因型均

为 *astA*。哺乳仔猪分离的 30 株大肠埃希菌中 DEC 占 33.33%,其中 EAEC 检出 7 株,占 23.33%,毒力基因型均为 *astA*;EPEC 鉴定出 3 株,占 10.00%,毒力基因型为 *escV*。断奶仔猪分离的 21 株大肠埃希菌中 DEC 占 61.90%,其中 EAEC 检出 8 株,占 38.10%,毒力基因型均为 *astA*;ETEC 鉴定出 1 株,占 4.76%,毒力基因型为 *stp*;EPEC 鉴定出 3 株,占 14.29%,毒力基因型为 *escv*;EAEC-EPEC 鉴定出 1 株,占 4.76%,毒力基因型为 *astA-escV*。

表 4 猪源 DEC 毒力基因检出及致病型分布

致病型	毒力基因	妊娠母猪		哺乳母猪		哺乳仔猪		断奶仔猪		合计	
		致病型(%)	检出株数	致病型(%)	检出株数	致病型(%)	检出株数	致病型(%)	检出株数	致病型(%)	检出株数
EAEC	<i>astA</i>	19.44	(7/36)	38.10	(16/42)	23.33	(7/30)	38.10	(8/21)	29.46	(38/129)
ETEC	<i>stp</i>	0.00	(0/36)	0.00	(0/42)	0.00	(0/30)	4.76	(1/21)	0.78	(1/129)
EHEC	<i>stx2</i>	2.78	(1/36)	0.00	(0/42)	0.00	(0/30)	0.00	(0/21)	0.78	(1/129)
EPEC	<i>escV</i>	0.00	(0/36)	0.00	(0/42)	10.00	(3/30)	14.29	(3/21)	4.65	(6/129)
EAEC-EPEC	<i>astA-escV</i>	0.00	(0/36)	0.00	(0/42)	0.00	(0/30)	4.76	(1/21)	0.78	(1/129)
合计		22.22	(8/36)	38.10	(16/42)	33.33	(10/30)	61.90	(13/21)	36.43	(47/129)

2.5 耐药结果

2.5.1 大肠埃希菌对 17 种抗生素耐药表型结果
129 株大肠埃希菌中检出产 ESBLs 菌株 25 株,检出率为 19.38%。由表 5 可知,不同来源的大肠埃希菌对 16 种抗生素耐药表型基本相同,均对氨苄西林、哌拉西林、氯霉素和四环素耐药率较高,对阿米卡星和黏菌素耐药率较低,对亚胺培南、美洛培南和头孢他啶无耐药。耐药性检测的抗生素有六大类,包括氨基糖苷类、β-内酰胺类、酰胺醇类、氟喹诺酮类、多黏菌素类和四环素类,根据多重耐药菌的定义,对 3 类及 3 类以上抗生素耐药的细菌为多重耐药菌,在 129 株大肠埃希菌中检出多重耐药菌 83 株。

2.5.2 DEC 对 17 种抗生素耐药表型结果
分离自妊娠母猪的 8 株 DEC 中有 4 株多重耐药菌,占 50.00%;分离自哺乳母猪的 16 株 DEC 中有 9 株多重耐药菌,占 56.25%;分离自哺乳仔猪的 10 株 DEC 中有 6 株多重耐药菌,占 60.00%;分离自断奶仔猪的 13 株 DEC 中有 11 株多重耐药菌,占 84.62%;47 株 DEC 菌株中检出产 ESBLs 菌株 3 株,均为 EAEC 型。

3 讨论与结论

大肠埃希菌病在养殖业常见且多发,在养猪场可引起猪肠道相关的传染性疾病,如仔猪黄白痢和水肿病,具有高发病率和低治愈率的特点,所以死

表 5 不同来源大肠埃希菌对 17 种抗菌药物敏感性结果

类型	抗菌药物	妊娠母猪		哺乳母猪		哺乳仔猪		断奶仔猪		合计	
		敏感性 (%)	检出 株数	敏感性 (%)	检出 株数	敏感性 (%)	检出 株数	敏感性 (%)	检出 株数	敏感性 (%)	检出 株数
氨基糖苷类	阿米卡星	0.00	(0/36)	0.00	(0/42)	0.00	(0/30)	4.76	(1/21)	0.78	(1/129)
	庆大霉素	13.89	(5/36)	11.90	(5/42)	40.00	(12/30)	38.10	(8/21)	23.26	(30/129)
β-内酰胺类	亚胺培南	0.00	(0/36)	0.00	(0/42)	0.00	(0/30)	0.00	(0/21)	0.00	(0/129)
	美洛培南	0.00	(0/36)	0.00	(0/42)	0.00	(0/30)	0.00	(0/21)	0.00	(0/129)
	头孢唑林	22.22	(8/36)	19.05	(8/42)	36.67	(11/30)	19.05	(4/21)	24.03	(31/129)
	头孢他啶	0.00	(0/36)	0.00	(0/42)	0.00	(0/30)	0.00	(0/21)	0.00	(0/129)
	头孢噻肟	13.89	(5/36)	14.29	(6/42)	36.67	(11/30)	9.52	(2/21)	18.60	(24/129)
	头孢吡肟	13.89	(5/36)	14.29	(6/42)	33.33	(10/30)	9.52	(2/21)	17.83	(23/129)
	氨曲南	11.11	(4/36)	11.90	(5/42)	30.00	(9/30)	4.76	(1/21)	14.73	(19/129)
	氨苄西林	69.44	(25/36)	54.76	(23/42)	76.67	(23/30)	71.43	(15/21)	66.67	(86/129)
	哌拉西林	69.44	(25/36)	52.38	(22/42)	63.33	(19/30)	52.38	(11/21)	59.69	(77/129)
酰胺醇类	氯霉素	50.00	(18/36)	57.14	(24/42)	76.67	(23/30)	95.24	(20/21)	65.89	(85/129)
氟喹诺酮类	环丙沙星	27.78	(10/36)	33.33	(14/42)	53.33	(16/30)	23.81	(5/21)	34.88	(45/129)
	左氧氟沙星	27.78	(10/36)	33.33	(14/42)	40.00	(12/30)	9.52	(2/21)	29.46	(38/129)
	莫西沙星	27.78	(10/36)	33.33	(14/42)	40.00	(12/30)	9.52	(2/21)	29.46	(38/129)
多黏菌素类	黏菌素	0.00	(0/36)	0.00	(0/42)	10.00	(3/30)	19.05	(4/21)	5.43	(7/129)
四环素类	四环素	80.56	(29/36)	85.71	(36/42)	93.33	(28/30)	95.24	(20/21)	87.60	(113/129)

亡率较高,大肠埃希菌病是导致养猪场遭受巨大经济损失的重要原因之一^[5]。猪肉在我国居民饮食结构中一直占据主要地位,在肉类产品消费中的比重高达 60% 以上,也是 DEC 污染的高危肉产品,对 DEC 进行合理的监控,能减少 DEC 通过食物链传播给人类,也对保障食品卫生安全有重大意义^[6]。

本试验对 129 株猪源大肠埃希菌进行系统进化分群研究,结果显示 129 株菌株分别属于 A 群(43.41%,56/129),B1 群(51.94%,67/129),B2 群(0.78%,1/129),D 群(3.86%,5/129),其中优势群为 B1 群。有研究表明,大肠埃希菌的致病力与系统进化分群相关^[7],群 A 和 B1 为条件致病群,因毒力较弱直接引起宿主患病的概率较低,但在宿主免疫力降低时则会发挥致病性,群 B2 和 D 为可携带较多毒力因子且与致病性紧密相关的致病群^[8],引起肠道感染的大都为 A、B1 和 D 群,引起肠外感染的分布于 B2 和 D 群,本试验分离的大肠埃希菌条件致病群所占比例最大(95.35%,123/129),这与韩一嘯等报道的吉林省长春市猪源大肠埃希氏菌系统进化分群检测结果^[9]一致,本试验中,检测出的大部分毒力基因均在 A 和 B1 群,有研究表明,虽然大多数共生大肠埃希菌来自 A 和 B1 群,但致泻性大肠埃希菌变异主要发生在 A、B1 和 D 群中,

相关的毒力因子可以通过水平转移进入其他谱系,从而将受体菌株转化为潜在病原体^[7],试验结果表明,分离自哺乳仔猪的大肠埃希菌,系统进化分群更为复杂,应引起注意。

致泻大肠埃希菌的致病性是由它所携带的毒力因子所导致的,本试验纳入的分离菌株共检测到 4 种致病力相关的毒力基因,其中编码集聚热稳定性毒素 A 的基因 *astA* 与多次食源性 EAEC 暴发相关,在此次检测中分离率最高^[10];编码猪源热稳定性肠毒素基因 *stx* 介导大肠埃希菌小肠定植及黏膜黏附过程,导致肠细胞电解质和水转运严重功能障碍,与 ETEC 的典型感染症状有关,仅断奶仔猪源中的 1 株大肠埃希菌检测到 *stx* 基因^[11];表达志贺毒素基因 II (*stx2e*) 的 *E. coli* 被称为 EHEC,是导致仔猪水肿病的病原菌,也是重要的食源性人畜共患病原,可通过污染饮食引发大规模食源性食物中毒,本研究妊娠母猪源分离菌有携带 *stx2* 的菌株检出^[12-13];EPEC 为携带有蛋白分泌物调节基因 *escV* 的大肠埃希菌,可附着于肠绒毛顶端上皮细胞,并引起病变,缺乏 *stx* 和 *eae* 基因的 *escV* 阳性菌株被归类为非典型 EPEC,常经由生猪等动物制品传播,导致人类感染^[1,14-16],本研究在仔猪来源的菌株中检测到 *escV*,并且在断奶仔猪来源的菌株中检测到 1

株同时携带 *astA-escV* 基因,为 EAEC-EPEC 杂交型菌株。对毒力因子的检测结果提示肉类来源致病菌造成人类感染的潜在风险,应加以重视。

本试验中养猪场 DEC 的阳性检出率为 36.43%,略高于上海市和海南省规模化养猪场 DEC 阳性检出率(24.2%和 21.28%)^[17-18],表明该养猪场应重视养殖场内环境卫生,即时合理地处理排泄物,同时强化猪场消毒的频次和方法,切断 DEC 的传播途径,降低 DEC 的检出率。本试验发现,断奶仔猪时期 DEC 污染率高于哺乳仔猪时期,与 Wu 等研究报道的断奶仔猪的粪便中大肠菌群紊乱可能反映了对各种肠道疾病敏感性增加的结论^[19]相一致,由于断奶仔猪的肠壁结构不健全,生理功能也不完全,而断奶后母源抗体被切断,同时仔猪无法适应饮食结构的改变,导致免疫力降低,更易感染致病菌,提示应更加关注断奶仔猪养殖过程中 DEC 的感染。另外从仔猪和母猪来源分离出的 DEC 存在差异,仔猪中 DEC 阳性菌株的比例略高于母猪,而且仔猪中出现的毒力基因的多样性也高于母猪中检测到的毒力基因,与 Bok 等研究报道的结果^[20]一致,研究结果表明,来自仔猪的菌株,构成了一个相当大的毒力基因库,可能增加肠外感染的潜在风险,并随着宿主生物的进化,共生大肠杆菌的遗传结构发生了一些变化^[21]。

DEC 可引起猪肠道传染性疾病,严重时可导致死亡,因此了解养殖场分离的大肠埃希菌的耐药情况尤为重要。本试验中分离自断奶仔猪的 13 株 DEC 中有 11 株多重耐药菌,占 84.62%,其他 3 种来源的 DEC 中多重耐药菌也超过 50%,DEC 多重耐药情况严重,不同来源大肠埃希菌对 17 种抗生素耐药表型情况基本相同,提示一些固有型耐药抗生素不建议作为治疗药物,本结果中亚胺培南和美罗培南耐药率较低,与朱德永等的报道^[22]一致,碳青霉烯类、酶抑制剂复合抗菌药物是治疗大肠埃希菌病最有效的抗生素。本结果还显示黏菌素耐药性较低,但因 2017 年黏菌素禁用政策的发布和其药物毒性较大,并不是作为治疗药物的最佳选择。根据药敏结果提示在治疗 DEC 时抗菌药物的选择应以药敏试验为科学依据,不应盲目用药,采取合理的针对性治疗药物,防止超级耐药菌出现。

养猪场环境是人畜共患病原菌的生存与繁殖的天然储存库,DEC 可能通过粪便排出,造成环境、水和食物的污染来进行传播,另外可能在屠宰过程

中错误的运输方式和不当的储存条件也会增加 DEC 污染的风险。在猪肉生产中,尤其是在养殖阶段,仔猪特别是断奶仔猪是猪场 DEC 防控的关键点,分阶段管理、提高饲养水平、及时并合理处理粪便从源头切断传播途径,对于保障居民食品卫生安全和防控食源性疾病流行有重大意义。

参考文献:

- [1] Martins R P, da Silva M C, Dutra V, et al. Preliminary virulence genotyping and phylogeny of *Escherichia coli* from the gut of pigs at slaughtering stage in Brazil[J]. Meat Science, 2013, 93(3): 437-440.
- [2] 于吉隆,康润敏,谢 晶,等. 仔猪腹泻性大肠杆菌多黏菌素耐药基因 *mcr-1* 筛查及其多重耐药基因检测[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2020(11): 86-91.
- [3] 高 艳,张士尧,张 淑,等. 北京市朝阳区腹泻患者致泻性大肠埃希菌流行特征及毒力基因携带情况分析[J]. 疾病监测, 2019, 34(4): 322-326.
- [4] Clermont O, Bonacorsi S, Bingen E. Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2000, 66(10): 4555-4558.
- [5] 董庆利. 食源性致病微生物研究新动态[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(24): 9273-9274.
- [6] 马金晶,李凤琴,白 瑶,等. 养猪场源致泻大肠埃希菌毒力基因和致病型研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2021, 33(2): 127-131.
- [7] Johnson J R, Kuskowski M A, O'Bryan T T, et al. Epidemiological correlates of virulence genotype and phylogenetic background among *Escherichia coli* blood isolates from adults with diverse - source bacteremia[J]. The Journal of Infectious Diseases, 2002, 185(10): 1439-1447.
- [8] 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.
- [9] 韩一啸,周 伟,梁 冰,等. 猪粪便中耐黏菌素大肠埃希菌的分离与鉴定[J]. 中国兽医学报, 2018, 38(3): 481-485.
- [10] Vega - Manriquez X D, Ubierco - López A, Verdugo - Rodríguez A, et al. Pet dogs potential transmitters of pathogenic *Escherichia coli* with resistance to antimicrobials [J]. Archives of Microbiology, 2020, 202(5): 1173-1179.
- [11] Kennedy D J, Greenberg R N, Dunn J A, et al. Effects of *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin *Stb* on intestines of mice, rats, rabbits, and piglets [J]. Infection and Immunity, 1984, 46(3): 639-643.
- [12] Rivera F P, Sotelo E, Morales I, et al. Short communication: detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) in healthy cattle and pigs in Lima, Peru[J]. Journal of Dairy Science, 2012, 95(3): 1166-1169.
- [13] Kuhnert P, Boerlin P, Frey J. Target genes for virulence assessment of *Escherichia coli* isolates from water, food and the environment [J]. FEMS Microbiology Reviews, 2000, 24(1): 107-117.

路 阳,杨化龙,陈 宇,等. 基于 TSDPSO-SVM 的水稻稻瘟病图像识别[J]. 江苏农业科学,2022,50(23):164-170.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.23.025

基于 TSDPSO-SVM 的水稻稻瘟病图像识别

路 阳¹,杨化龙^{1,4},陈 宇³,杜娇娇¹,管 闯²

(1. 黑龙江八一农垦大学信息与电气工程学院,黑龙江大庆 163319;

2. 东北石油大学黑龙江省网络与智能控制重点实验室,黑龙江大庆 163318;

3. 南京优玛软件科技有限公司,江苏南京 210000; 4. 黑龙江省鸡西市公安局,黑龙江鸡西 158100)

摘要:针对水稻稻瘟病诊断中存在的问题,基于改进的粒子群优化支持向量机模型提出水稻稻瘟病的图像快速识别新方法。首先,采用基于超绿特征的最大类间方差法分割病害图像病斑,利用主成分分析快速得到病斑颜色和形状特征的主分量,构建水稻病害图像特征数据库。其次,提出牵引切换延迟粒子群优化算法优化支持向量机模型的识别方法。通过延迟信息的选择策略和牵引操作,使粒子跳出局部最优,更快收敛到全局最优。选取最优化算法性能测试函数 Ackley 函数、Rosenbrock 函数和 Sphere 函数评估算法性能。仿真结果表明牵引切换延迟粒子群优化算法的寻优能力优于传统的粒子群优化算法且收敛速度最快。最后,分别利用牵引切换延迟粒子群,切换延迟粒子群,传统的粒子群优化支持向量机模型进行水稻稻瘟病图像识别。通过十重交叉验证,牵引切换延迟粒子群优化的支持向量机平均识别率达到 96.0%,比其他 3 种传统优化算法提高 10% 以上,且召回率指标达到 97.5%,训练时间仅为 73.6 s。结果表明,该方法有利于提升水稻稻瘟病的识别准确率。

关键词:稻瘟病;图像识别;牵引交换延迟粒子群优化算法;支持向量机;最大类间方差法

中图分类号:TP391.41 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2022)23-0164-07

稻瘟病是一种主要危害叶片、茎秆、穗部的水

稻全球性重要疾病^[1]。稻瘟病会在水稻整个生育周期内造成极大的危害,与纹枯病、白叶枯病并列为世界水稻三大病害^[2]。由于近几年持续性的高温、强降雨导致水稻产区暴发局部大面积的稻瘟病时常出现^[3]。目前稻瘟病检测的方法相对落后,主要通过植保专家根据当地预报及时到田间检查症状^[4-5]。然而我国水稻种植面积大,采用传统的检测方法不仅工作量十分巨大,且需要投入大量的人力物力,费时费力^[6-7]。在这种情况下,研发一种高

收稿日期:2022-01-05

基金项目:国家自然科学基金(编号:61873058、U21A2019);黑龙江省自然科学基金联合引导项目(编号:LH2020F042);黑龙江省博士后科研启动金(编号:LBH-Q17134)。

作者简介:路 阳(1976—),男,黑龙江双城人,博士,教授,硕士生导师,主要从事复杂系统智能故障诊断及模式识别技术研究。
E-mail:luyanga@sina.com。

通信作者:陈 宇,硕士,主要从事机器学习与图像处理研究。
E-mail:854744817@qq.com。

[14]Donnenberg M S, Whittam T S. Pathogenesis and evolution of virulence in enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli* [J]. Journal of Clinical Investigation, 2001, 107(5): 539-548.

[15]Fratamico P M, Bhagwat A A, Injaian L, et al. Characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from swine feces[J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2008, 5(6): 827-838.

[16]张 新,田 伟,吕 冰,等. 北京地区 2014—2020 年感染性腹泻中致泻性大肠埃希菌流行特征及产超广谱 β -内酰胺酶耐药表型监测分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2021, 31(22): 2768-2772.

[17]孙泉云,张维谊,夏炉明,等. 上海地区规模猪场环境中主要致病菌的检测[J]. 畜禽业, 2016(10): 54-55.

[18]严克霞,刘建杰,索绪峰,等. 海南规模化猪场主要致病菌的分

离鉴定及药敏试验[J]. 畜牧与兽医, 2013, 45(8): 117-118.

[19]Wu X Y, Chapman T, Trott D J, et al. Comparative analysis of virulence genes, genetic diversity, and phylogeny of commensal and enterotoxigenic *Escherichia coli* isolates from weaned pigs [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(1): 83-91.

[20]Bok E, Kozańska A, Mazurek - Popczyk J, et al. Extended phylogeny and extraintestinal virulence potential of commensal *Escherichia coli* from piglets and sows [J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2020, 17(1): 366.

[21]Bok E, Mazurek J, Puszc P, et al. Age as a factor influencing diversity of commensal *E. coli* microflora in pigs [J]. Polish Journal of Microbiology, 2013, 62(2): 165-171.

[22]朱德永,袁 雕,何 祥,等. 2009—2017 年大肠埃希菌临床分布及耐药性分析[J]. 微生物学免疫学进展, 2019, 47(4): 48-53.