

大腸菌の型別法とワンヘルスアプローチへの応用

Escherichia coli typing methods and their application to One Health approaches

井口 純
Atsushi Iguchi

宮崎大学農学部農学部門動植物資源生命科学領域 教授
Unit of Animal and Plant Biosciences, Faculty of Agriculture, University of Miyazaki (Professor)

KEYWORD ▶ 大腸菌 型別法 分子疫学

受理日:2026年2月9日

はじめに

01

大腸菌(学名:*Escherichia coli*)は温血動物の消化管に常在する腸内細菌科の一種であり、ヒトの腸内では総細菌数の約0.1%(概ね0.01~1%の範囲)を占めている¹⁾。その多くは非病原性であるが、一部の株は病原性に関わる遺伝子を外部から獲得することによって病原大腸菌となり、ヒトや動物に対して腸管内あるいは腸管外で感染症を引き起こす。また、明確な病原因子を持たない大腸菌が日和見感染を引き起こす場合もある。このような大腸菌感染症の予防策や治療法を検討するためには、流行している系統やクローンを特定し、その病原性、発症メカニズム、有効な抗菌薬の種類を理解するとともに、その分布や感染経路を明らかにすることが重要である。本稿では、大腸菌のワンヘルスアプローチに用いられてきた代表的な型別法を概説し、疫学研究における役割とそこから得られた知見の一部を紹介する。

大腸菌の基本的な型別法

02

大腸菌はグラム陰性・通性嫌気性の桿菌であり、運動性を有する株と有しない株が存在する。生物分類学的には、*Bacteria* ドメイン、*Pseudomonadota* 門、*Gammaproteobacteria* 綱、*Enterobacterales* 目、*Enterobacteriaceae* 科(腸内細菌科)、*Escherichia* 属に分類される。原核生物の学名データベース(List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature:LPSN)によると、現在、*Escherichia* 属には表1に示す7種が認められている。近年、*E. albertii* や *E. fergusonii* による食中毒事例が散発しており、大腸菌以外の一部菌種についても公衆衛生上の注意が必要となっている^{2, 3)}。これらについては本稿では詳述しないため、関心のある読者は既報の論文や総説を参照されたい。

本章では、これまで疫学調査や研究現場で広く用いられてき

表1 *Escherichia* 属に含まれる7種

種名	提案年	備考
<i>E. coli</i>	1895	代表種、1919年に <i>E. coli</i> として再命名、K-12:代表的な実験用大腸菌の系統株
<i>E. hermannii</i>	1982	黄色色素を産生
<i>E. fergusonii</i>	1985	生化学性状が <i>E. coli</i> と極めて類似、一部が易熱性エンテロトキシンを産生、ヒト下痢症に関与
<i>E. albertii</i>	2003	生化学性状が <i>E. coli</i> と類似、多くがLEEを保有し一部がStx2fを産生、ヒト下痢症に関与
<i>E. marmotae</i>	2015	旧系統名・cryptic clade VIに相当
<i>E. ruysiae</i>	2021	生化学性状が <i>E. coli</i> と極めて類似、旧系統名・cryptic clade III/IVに相当
<i>E. whittamii</i>	2021	生化学性状が <i>E. coli</i> と極めて類似、旧系統名・cryptic clade IIIに相当

た代表的な4種類の型別法について、それぞれの分類原理と疫学的意義を概説する。

2-1. 病型 (pathotype)

大腸菌が保有・発現する病原因子や、それによって引き起こされる病態の違いに基づく分類が病型である。大きく下痢原性大腸菌 (diarrheagenic *E. coli*:DEC) と腸管外病原性大腸菌 (extraintestinal pathogenic *E. coli*:ExPEC) の2つに大別される。

DECでは主要な6種類の病型が知られており、それぞれについて発症メカニズムや関与する主要遺伝子が明らかにされている(表2)⁴⁾。近年では、判定の整合性と迅速性の高さから、病原因子をコードするマーカー遺伝子の保有状況が病型判定の根拠として用いられている。例えば、感染症法において三類感染症に分類される腸管出血性大腸菌感染症の届出基準では、分離株における「毒素産生の確認」または「毒素遺伝子の検出」が判断要件とされている。

一方、ExPECはその臨床像に基づき、尿路病原性大腸菌 (uropathogenic *E. coli*:UPEC) や新生児髄膜炎大腸菌 (neonatal meningitis *E. coli*:NMEC) などに区別される。ExPECでは、線毛などの接着因子、鉄獲得系、莢膜などの腸管外環境への適応因子が複合的に病原性に関与し、これらを併せ持つ特定系統の存在も知られている(表3)。DECのように発症を決定づける単一の決定因子は存在せず、これらの関連遺伝子は常在菌からも高頻度に検出される。そのため、ExPECは基本的に日和見細菌としての性格を有しており、常在菌との明確な区別は困難であると考えられている。

病型は、臨床診断および感染症法上の判断に直結する点で重要である。

2-2. 血清型 (serotype)

菌体表面に発現する抗原構造の免疫学的差異に基づく分類が血清型である。表4に示すように、LPSのO抗原糖鎖(O抗原)、鞭毛を構成するフラジエリン(H抗原)、莢膜(K抗原)、線毛(F抗原)

表2 下痢原性大腸菌の主要な病型とマーカー遺伝子

病型	主なマーカー遺伝子	特徴
腸管毒素原性大腸菌 ETEC (enterotoxigenic <i>E. coli</i>)	<i>elt</i> (易熱性腸管毒), <i>est</i> (耐熱性腸管毒)	コレラ様症状
腸管病原性大腸菌 EPEC (enteropathogenic <i>E. coli</i>)	<i>eae</i> (インチミン;LEEのマーカー遺伝子)	A/E病変形成
腸管出血性大腸菌 EHEC (enterohemorrhagic <i>E. coli</i>)	<i>stx1</i> (志賀毒素1型), <i>stx2</i> (志賀毒素2型)	出血性腸炎、HUS
腸管凝集性大腸菌 EAEC (enteroaggregative <i>E. coli</i>)	<i>aggR</i> (付着線毛等の発現調節因子)	凝集性付着
腸管組織侵入性大腸菌 EIEC (enteroinvasive <i>E. coli</i>)	<i>ipaH</i> (侵入因子)	赤痢様症状
分散接着性大腸菌 DAEC (diffusely adherent <i>E. coli</i>)	<i>afaE</i> , <i>draE</i> (いずれも非線毛性付着因子)	分散性付着

表3 腸管外病原性大腸菌に見られる病原因子

機能	役割	代表的な遺伝子
付着因子	宿主組織への定着	<i>fimH</i> (I型線毛), <i>pap</i> (P線毛), <i>sfa</i> (S線毛), <i>afa</i> (非線毛付着因子)
鉄獲得因子	宿主内生存 (シデロフォア*)	<i>ent</i> (enterobactin), <i>iuc/iut</i> (aerobactin), <i>iro</i> (salmochelin), <i>ybt/fyuA</i> (yersiniabactin)
毒素因子	組織障害・侵入	<i>hlyA</i> (α -ヘモリジン), <i>cnf1</i> (細胞毒素), <i>sat</i> (セリンプロテアーゼ), <i>ibe</i> (侵入因子)
抵抗因子	免疫等回避	<i>kps</i> (莢膜), <i>neu</i> (K1莢膜), <i>ompA</i> (外膜タンパク、付着や抵抗性に関与), <i>ompT</i> (外膜タンパク、血清抵抗性に関与), <i>iss</i> (外膜タンパク、血清抵抗性に関与)

*鉄(Fe³⁺)を獲得するために分泌される低分子化合物で、生育に必要なFe³⁺と強力に結合(キレート)

表4 大腸菌の菌体表面抗原の種類と特徴

抗原名	抗原本体	分類名	種類*	コード遺伝子
O抗原	外膜上に発現したLPSのO抗原糖鎖部分	O血清群	O1~O188	多数の遺伝子が関与(<i>rfb</i> は遺伝子座の名称)
H抗原	鞭毛繊維を構成するフラジエリン(タンパク質)	H型	H1~H56	<i>fliC</i>
K抗原	菌体を覆う莢膜多糖	-	K1~(100種類程度)**	<i>kps</i> など
F抗原	線毛	-	F1~F41**	多くがchaperone-ushe型

*欠番(O血清群の場合は亜型)を含む

**K88莢膜抗原型はF4線毛抗原型、K99莢膜抗原はF5線毛抗原型に再分類されたが、旧名称が定着していたため、現在でもK88やK99(いずれも線毛)が使用されている

などが標的となり、免疫血清との凝集反応によって判定される。大腸菌では、特にO血清群(O-serogroup)とH型(H-type)の組み合わせを血清型(serotype)と呼んでいる。血清型別の基盤となるスキームは1977年にØrskovらによって報告され(O1~O164)、流行調査や集団感染事例の解析指標として用いられてきた⁵⁾。現在、大腸菌の血清型はデンマーク国立血清学研究所によって管理されており、O1~O188のO血清群とH1~H56のH型が定義されている。

DECでは血清型と病型の間に関係が認められる。例えば、腸管出血性大腸菌(enterohemorrhagic *E. coli*:EHEC)ではO157、O26、O111、O103、O121、O145などがスクリーニングの対象として用いられている。また、腸管病原性大腸菌(enteropathogenic *E. coli*:EPEC)では、O55、O86、O111、O119、O127などの特定O血清群が病型の代理指標として用いられた時期もあった。しかし、これらのO血清群であってもDECに該当しない(マーカーとなる病原遺伝子を保有しない)株や、逆に他のO血清群であってもDECに該当する株が存在する。したがって、血清型の情報はあくまでも補助的な指標であり、DECの確定には病型の確認が必須である。

血清型は、集団感染の初動対応やスクリーニング指標、それぞれの病型における流行型指標として有用である。

2-3. 系統群(phylogroup)

大腸菌の進化的系統を大まかに区分した分類が系統群である。1990年、Herzerらは多座位酵素電気泳動法(multilocus enzyme electrophoresis:MLEE)を用いて、大腸菌集団内に系統群構造が存在することを報告した⁶⁾。その後、Clermontらはゲノム情報を基に体系的な群別を行い、2013年には7系統に分類可能な4遺伝子(*chuA*、*yjaA*、*TspE4.C2*、*arpA*)の有無に基づくPCR法を提案した⁷⁾。現在では、少なくとも8種類の系統群(A、B1、B2、C、D、E、F、G)が認められている⁸⁾。一般に、A系統はヒト常在菌、B1系統は家畜や野生動物由来株、B2系統はExPECに関連すると報告されている。

系統群は、宿主適応や進化的背景を俯瞰するための指標となる。

2-4. 配列型(sequence type)

遺伝子上に蓄積された一塩基多型(single nucleotide polymorphism:SNP)に基づく分類が配列型である。保存性の高い複数の遺伝子(いわゆるハウスキーピング遺伝子)を選択し、それぞれのアレル(同一遺伝子に存在するSNPレベルでのバリエーション)に通し番号(sequence type:ST)を付してカタログ化した手法がMLST(multilocus sequence typing)である。このカタログを継続的に更新・管理し、誰もが参照可能なデータベースとして公開することで、グローバルに共有可能な分子疫学手法となる。また、アレルの相違に基づく配列比較によって株間の近縁度を評価できる点も、本手法の特徴である。MLSTは1998年に髄膜炎菌(*Neisseria meningitidis*)で提案され、その高い分類能と汎用性からさまざまな病原菌へと普及した⁹⁾。大腸菌においても複数のMLSTスキームが提案されてきたが、現在ではAchtmanらが提案した7遺伝子(*adk*、*fumC*、*gyrB*、*icd*、*mdh*、*purA*、*recA*)それぞれの内部領域(計3,423 bp)を標的とする手法が広く用いられている。

配列型は、国際的な分子疫学解析において中核的な役割を果たしている。

ゲノム時代の包括的細分類

03

2007年に次世代シーケンサーが登場して以降、ゲノム配列決定に要するコストおよび時間は飛躍的に改善し、細菌の全ゲノム配列の取得は比較的容易となった。さらに、カテゴリごとに整理された遺伝子セットとゲノム配列との相同性検索を行うことで、ゲノム中に含まれる標的遺伝子の有無やSNPに基づく型別が可能となっている。このようなゲノム情報に基づく解析は「*in silico*(インシリコ)タイピング」と総称される。全ゲノム解析の最大の利点は、従来独立して行われてきた複数の型別法を、単一データから包括的かつ高解像度に評価できる点にある。

前述した4種類の型別法についても、それぞれの標的遺伝子情報がデータベース化されており、コマンドラインベースの

表5 大腸菌の型別に使われる代表的なWebベースツール

型別	ツール・データベース名	目的	URL
病型	VirulenceFinder	病原性関連遺伝子の検出	https://cge.food.dtu.dk/services/VirulenceFinder/
血清型	SerotypeFinder	血清型(O:H)の推定	https://cge.food.dtu.dk/services/SerotypeFinder/
系統群	ClermonTyping	系統群や種の決定	http://clermontyping.iame-research.center/
配列型	Enterobase	進化系統の比較	https://enterobase.warwick.ac.uk/

解析環境やWebベースのツールを利用することで、迅速に型別結果を得ることができる。代表的なWebツールを表5に示す。VirulenceFinderでは、DECおよびExPECに関連する病原性関連遺伝子が整理されており、対象株がどのような遺伝子レパートリーを保有しているかを評価することができる¹⁰⁾。SerotypeFinderでは、O抗原およびH抗原をコードするマーカー遺伝子(それぞれwzx/wzy/wzm/wzt遺伝子およびfliC遺伝子)が記載されており、血清型の推定が可能である¹¹⁾。ClermonTypingでは、大腸菌内の基本7系統(A~F)といくつかの大腸菌近縁系統(cryptic clade)などを判定することができる¹²⁾。さらにEnterobaseでは、従来の7遺伝子に基づくMLSTに加え(2025年12月現在、18,410種類のSTが登録)、全ゲノム配列を用いたcore genome MLST(cgMLST:対象遺伝子数2,523)やwhole genome MLST(wgMLST)といった、極めて解像度の高い解析手法が提供されている¹³⁾。

細分類されるEHECと臨床症状の関係

04

本章では、ヒト・動物・食品環境を横断して監視されているEHECを例に、型別情報が本菌の理解にどのように貢献しているかを示す。志賀毒素(Shiga toxin:Stx)を産生する大腸菌はEHECと称され、食品を介した集団感染事例が毎年報告されている。主な臨床症状は下痢、腹痛、血便であり、重症例では急性腎不全などを伴う溶血性尿毒症症候群(hemolytic uremic syndrome:HUS)を続発することがある。StxはStx1とStx2に大別され、両者のアミノ酸配列の相同性は約60%である。EHECは、Stx1またはStx2のいずれか一方、あるいは両方を産生する。

感染症法において、EHEC感染症は無症状保菌者を含むすべての感染者が届出の対象となっている。国内では年間約3,000~4,000件の届出があり、地方衛生研究所および国立感染症研究所において分離株の多くが詳細に型別されている。その結果は、国立健康危機管理研究機構・国立感染症研究所が発行する「病原微生物検出情報(IASR)」に毎年公表されている。日本のように広域かつ体系的にEHEC分離株の特徴を解析・公開している国は他に例がなく、貴重な疫学研究基盤となっている。直近3年間(2022~2024年、n=5,344)のデータを基にまとめると、ヒト感染者由来EHECのO血清群はO157が全体の約6割を占め、次いでO26、O103、O111が続く(図1)。O血清群上位10群のうち、O157、O26、O103、O111、O121、O145では有症者率が49~89%、血便発症率が17~53%と高いのに対し、O91、O115、O146、O8では有症者率が5~21%、血便発症率が0~2%にとどまり、O血清群間で病原性に大きな差が認められる(図2)。EHECの高病原性には、腸管上皮細胞への密着および病変形成に関与するIII型分泌系が重要であり、O157を含む前者のO血清群株はいずれもIII型分泌系をコードする

LEE(locus of enterocyte effacement)と呼ばれる遺伝子群(マーカー遺伝子はeae)を保有している。一方、後者のO血清群株はLEEを保有していない。このような背景から、EHECのO血清群情報は病原性の強弱を推定する指標の一つとして利用可能である。

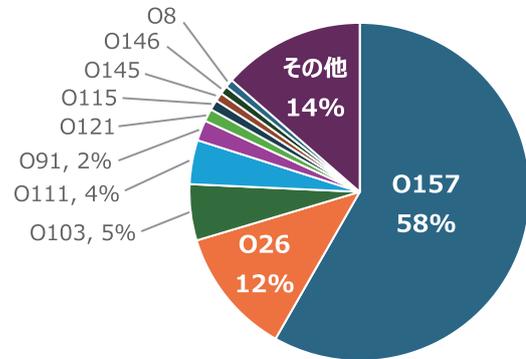


図1 国内ヒト感染者由来EHECのO血清群分布(2022~2024, n=5,344)

国立健康危機管理研究機構 感染症情報提供サイト内
腸管出血大腸菌検出例の血清型別臨床症状
(2022~2024)を基に作成

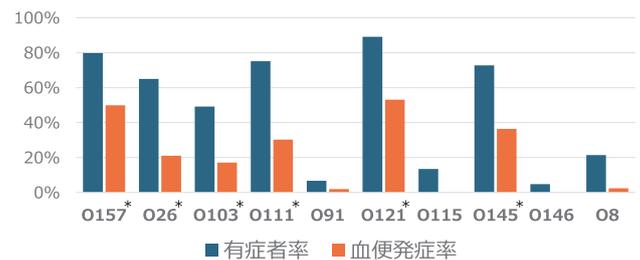


図2 O血清群別での臨床症状の違い(2022~2024)

国立健康危機管理研究機構 感染症情報提供サイト内
腸管出血大腸菌検出例の血清型別臨床症状
(2022~2024)を基に作成。*LEE保有O血清群

EHEC O157(n=3,112)に注目して、細分類と臨床症状との関連についても検討した。Stx遺伝子(stx1とstx2)の保有パターンは、stx1単独陽性株が2.5%、stx2単独陽性株が42%、stx1/stx2両陽性株が55.5%であった。血便発症率はそれぞれ43%、45%、54%と有意差は認められなかったが、HUS発症率はstx2単独陽性株(2.22%)がstx1/stx2両陽性株(0.58%)に比べて有意に高かった(図3)。H型別では、運動性を有するH7が89%、運動性を欠くH-(マイナス)が11%を占めた。H7株における血便およびHUSの発症率(それぞれ53%と1.57%)は、H-株(それぞれ37%と0%)よりも有意に高かった(図3)。鞭毛による運動性は、腸管内の粘液層を通過して上皮細胞へ到達する過程に重要であると考えられており、EHEC O157感染症の重症化にも影響を及ぼしている可能性が示された。

EHEC O157は系統群Eで配列型ST11に分類されるが、全ゲノム配列に基づくSNP解析により、さらにクレード1からクレード9までの進化系統群に細分化される¹⁴⁾。クレード間で病原性に差が認められ、HUS患者由来株はクレード6またはクレード8に属することが多い¹⁵⁾。また、クレード8は他のクレードと比較してStx2の産生量が多いことが報告されている¹⁶⁾。一方、クレード7は無症状保菌者由来株に多いことも知られている¹⁵⁾。

EHECの主要な保菌宿主は家畜牛である。調査方法や時期によって差はあるものの、Stx遺伝子を標的としたPCR法を用いた調査では、30~70%程度の飼養牛からEHECが検出される。一方、O157に限定した場合、その検出率は数%~10%程度に低下する¹⁷⁾。すなわち、ウシはO157以外の多様なO血清群に属するEHECを高い割合で保菌している。ウシ由来EHECの主要なO血清群としてはO113、O116、O130、O174などが知られている。いずれもLEE陰性でヒトからは毎年数株程度しか分離されず、その多くは無症状保菌者由来であることから、ヒトに対する病原性は比較的低いと考えられている。

するが、当クローンはO25bを発現することからO25b-ST131と呼ばれることもある。さらに、ST131はI型線毛をコードする*fimH*遺伝子のアレル型(H22、H30、H35など)に基づいて細分類されており、当クローンは*fimH30*(H30)に属することが明らかとなっている¹⁸⁾。ゲノム情報に基づく進化解析から、薬剤感受性のH30クローンを祖先として、フルオロキノロン耐性を獲得したサブクローンH30-Rが出現し、さらにESBL遺伝子*bla*_{CTX-M-15}を保有するプラスミドを獲得したH30-Rxへと派生したと考えられている¹⁹⁾。

ExPEC O25-ST131による腸管外感染症は、健常者の消化管内に常在する本菌が内因性感染を起こすことで発症すると考えられている。国内外の調査において、ESBL産生ExPEC O25-ST131は健常者の便から数%の頻度で検出されており、一部の健常者の消化管内に持続的に定着していることが示唆されている²⁰⁾。さらに、34世帯を対象としたST131保菌者の前向きコホート研究では、一部の保菌者から高菌量のST131が継続して検出され、研究期間中に世帯内の他者に伝播することが確認された²¹⁾。このことから、無症状のST131持続保有者が、市中における本菌の潜在的リザーバーになっていると示唆された。

ExPEC O25-ST131 05

本章では、世界規模で拡散し、薬剤耐性の観点から深刻な問題となっているExPEC O25-ST131を取り上げる。当クローンは主に尿路感染症や敗血症患者から分離され、その一部は基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ(extended-spectrum β-lactamase:ESBL)を産生することにより、第3世代セフェム系抗菌薬などに耐性を示す。このExPECは血清型O25:H4、系統群B2、配列型ST131に分類される。O25にはO抗原合成遺伝子群の一部組換えによって糖鎖構造の異なるO25aとO25bが存在

おわりに 06

病原大腸菌の感染リスク評価や対策の立案には、保菌宿主や環境中において病原大腸菌がどのように維持され、いかなる経路を介してヒトへと伝播して感染するのかを、ワンヘルスの視点から理解することが不可欠である。全ゲノム解析によって得られる高精度な系統情報に、分離源、分離時期、宿主情報などの疫学データを統合することで、病原大腸菌の出現および拡散のメカ



図3 EHEC O157におけるそれぞれの型での血便/HUS発症率(2022~2024, n=3,112, *P<0.05)
国立健康危機管理研究機構 感染症情報提供サイト内 腸管出血大腸菌検出例の血清型別臨床症状(2022~2024)を基に作成。

ニズムが、より立体的に理解できると期待される。ただし、異なる研究で分離された菌株は分離地や分離源もさまざま、何かしらの(場合によっては非常に強い)バイアスを持つことが予想される。したがって、公共DNAデータベースに登録されたゲノム情報を利用する際には、それらが分離された背景や手法を十分に精査した上での解析や考察が必要であると考えられる。一方、従来法による病型や血清型の型別は、比較的短時間で結果が得られ、多くの研究機関で判定可能であることに加え、分離株の特徴や疫学的意義を直感的に理解・共有しやすい利点を有する。そのため、今後も集団感染事例の早期探知や分離株の傾向把握を目的としたスクリーニング手法として、実用的な役割を果たすと考えられる。解析技術がいかに高度化しても、その出発点となる菌株が分離されなければ、詳細な解析を行うことはできない。したがって、検体から目的とする大腸菌を効率よく分離するための選択培地や濃縮技術は、今後も疫学研究の基盤として重要である。分離株とそれに付随する情報を継続的に収集・蓄積していく体制を構築するためには、検査現場と研究現場が密接に連携することが求められる。

参考文献

1. R. Sender, S. Fuchs, and R. Milo. Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body. *PLoS Biology*. 2016, 14, 8, e1002533.
2. G. Huys, M. Cnockaert, J. M. Janda and J. Swing. *Escherichia albertii* sp. nov., a diarrhoeagenic species isolated from stool specimens of Bangladeshi children. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2003, 53, 3, 807-810.
3. M. Okuno, N. Tsuru, S. Yoshino, et al. Isolation and genomic characterization of a heat-labile enterotoxin 1-producing *Escherichia fergusonii* strain from a human. *Microbiology Spectrum*. 2023, 11, 4, e00491-23.
4. J. B. Kaper, J. P. Nataro and H. L. T. Mobley . Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*. 2004, 2, 2, 123-140.
5. I. Ørskov, F. Ørskov, B. Jann, and K. Jann. Serology, Chemistry, and Genetics of O and K Antigens of *Escherichia coli*. *Bacteriological Reviews*. 1977, 41, 3, 667-710.
6. P. J. Herzer, S. Inouye, M. Inouye, et al. Phylogenetic distribution of branched RNA-linked multicopy single-stranded DNA among natural isolates of *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 1990, 172,11, 6175-6181.
7. O. Clermont, J. K. Christenson, E. Denamur, et al. The Clermont *Escherichia coli* phylo-typing method revisited: improvement of specificity and detection of new phylo-groups. *Environ. Microbiol.* 2013, 5, 1, 58-65.
8. O. Clermont, O. V. A. Dixit, B. Vangchhia, et al. Characterization and rapid identification of phylogroup G in *Escherichia coli*, a lineage with high virulence and antibiotic resistance potential. *Environ. Microbiol.* 2019, 21, 8, 3107-3117.
9. M.C.J. Maiden, J. A. Bygraves, E. Feil, et al. Multilocus sequence typing: a portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1998, 95, 6, 3140-3145.
10. K. G. Joensen, F. Scheutz, O. Lund, et al. Real-time whole-genome sequencing for routine typing, surveillance, and outbreak detection of verotoxigenic *Escherichia coli*. *J. Clin. Microbiol.* 2014, 52, 5, 1501-1510.
11. K. G. Joensen, A. M. M. Tetzschner, A. Iguchi, et al. Rapid and easy in silico serotyping of *Escherichia coli* isolates by use of whole-genome sequencing data. *J. Clin. Microbiol.* 2015, 53, 8, 2410-2426.
12. J. Beghain, A. Bridier-Nahmias, H. Le Nagard, et al. ClermonTyping: an easy-to-use and accurate in silico method for *Escherichia coli* strain phylotyping. *Microbial Genomics*. 2018, 4, 7, e000192.
13. Z. Zhou, N. F. Alikhan NF, K. Mohamed, et al. The EnteroBase user's guide, with case studies on *Salmonella* transmissions, *Yersinia pestis* phylogeny, and *Escherichia coli* core genomic diversity. *Genome Research*. 2020, 30,1, 138-152.
14. S. D. Manning, A. S. Motiwala, A. C. Springman, et al. Variation in virulence among clades of *Escherichia coli* O157:H7 associated with disease outbreaks. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. 2008, 105, 12, 4868-4873.
15. S. Iyoda, S. D. Manning, K. Seto, et al. Phylogenetic clades 6 and 8 of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 with particular stx subtypes are more frequently found in isolates from hemolytic uremic syndrome patients than from asymptomatic carriers. *Open Forum Infect. Dis.* 2014, 1, 2, ofu061.
16. M. Neupane, G. S. Abu-Ali, A. Mitra, et al. Shiga toxin 2 overexpression in *Escherichia coli* O157:H7 strains associated with severe human disease. *Microbial Pathogenesis*. 2011, 51, 6, 466-470.
17. W. A. Ferens, C.J. Hovde. *Escherichia coli* O157:H7: animal reservoir and sources of human infection. *Foodborne Pathogens and Disease*. 2011, 8, 4, 465-487.
18. L. B. Price, J. R. Johnson, M. Aziz, et al. The epidemic of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* ST131 is driven by a single highly pathogenic subclone, H30-Rx. *mBio*. 2013, 4, 6, e00377-13.
19. N. K. Petty, L. Louie, M. J. Ellington, et al. Global dissemination of a multidrug resistant *Escherichia coli* clone. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2014, 111,15, 5694-5699.
20. P. C. Wu, J. L. Wang, P. R. Hsueh, et al. Prevalence and risk factors for carriage of extended-spectrum β -lactamase-producing or ST131 *Escherichia coli* among asymptomatic adults in community settings in Southern Taiwan. *Infection and Drug Resistance*, 2019, 3, 12, 1063-1071.
21. R. L. Perez, H. Chung The, K. Vignesvaran, et al. Transmission dynamics of *Escherichia coli* sequence type 131 in households - a one health prospective cohort study. *Nature Communications*. 2025, 16, 1, 8455.