

A REVIEW ON ISOLATION AND IDENTIFICATION METHODS FOR EMERGING ENTEROPATHOGEN *Escherichia albertii*

Nguyen Thi Thu Huong

TNU – University of Agriculture and Forestry

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 25/5/2023 Revised: 25/7/2023 Published: 28/7/2023	<i>Escherichia albertii</i> is an emerging enteropathogen causing diarrhea in humans and transmission through contaminated food and water. It is closely related to <i>E. coli</i> and frequently misidentified as <i>E. coli</i> due to similarities in genomic and phenotypic features. The misidentification to not only <i>E. coli</i> but also other <i>Enterobacteriaceae</i> may cause an underestimation of the species' epidemiological importance. Many approaches for isolation and classification have been proposed for <i>E. albertii</i> but have not been standardized yet. Utilization of the inability to ferment rhamnose and xylose and PCR amplification of specific <i>E. albertii</i> genes would be useful for an accurate identification. Development of such simple and quick identification methods that are applicable in general diagnostic laboratories, is required to better epidemiological control of this emerging elusive enteropathogen.
KEYWORDS <i>Escherichia albertii</i> Diarrhea Bacterial isolation Bacterial identification Specific gene	

TỔNG QUAN VỀ CÁC PHƯƠNG PHÁP PHÂN LẬP, ĐỊNH DANH VI KHUẨN GÂY BỆNH ĐƯỜNG RUỘT MỚI NỔI *Escherichia albertii*

Nguyễn Thị Thu Hương

Trường Đại học Sư phạm – ĐH Thái Nguyên

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 25/5/2023 Ngày hoàn thiện: 25/7/2023 Ngày đăng: 28/7/2023	<i>Escherichia albertii</i> là vi khuẩn gây tiêu chảy mới nổi, lây truyền qua thực phẩm và nước uống bị nhiễm khuẩn. Vi khuẩn này có quan hệ thân thuộc và thường bị định danh nhầm là <i>E. coli</i> do sự giống nhau về các đặc điểm hoá sinh và di truyền. Do chưa có một quy trình phân lập và định danh được tiêu chuẩn hoá nên tầm quan trọng dịch tễ của <i>E. albertii</i> có thể bị đánh giá thấp do phân loại nhầm, không những với <i>E. coli</i> mà còn các <i>Enterobacteriaceae</i> khác. Khai thác các kiểu hình như không có khả năng lên men rhamnose, xylose và các xét nghiệm PCR xác định gene đặc hiệu của <i>E. albertii</i> có thể xác định chính xác mầm bệnh này. Tuy nhiên, phát triển các công cụ chẩn đoán đơn giản và hiệu quả để có thể sử dụng rộng rãi cho các phòng thí nghiệm thông thường là cần thiết để có thể hỗ trợ kiểm soát dịch tễ tốt hơn đối với vi khuẩn mới nổi khó định danh này.
TỪ KHÓA <i>Escherichia albertii</i> Tiêu chảy Phân lập vi khuẩn Định danh vi khuẩn Gene đặc hiệu	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.8019>

Email: nguyenthithuhoangcb@tuaf.edu.vn

1. Giới thiệu chung

Escherichia albertii thuộc họ *Enterobacteriaceae*, là vi khuẩn Gram âm, hình que, không di động, không sinh bào tử, kỵ khí không bắt buộc. *E. albertii* lần đầu tiên được báo cáo và định loại là *Hafnia alvei* từ các bệnh nhân là trẻ em bị tiêu chảy ở Bangladesh và sau đó được phân loại lại thành một loài mới vào năm 2003 [1]. Nhiễm trùng *E. albertii* chủ yếu biểu hiện dưới dạng đau bụng, tiêu chảy và sốt, với hầu hết các trường hợp tự khỏi mà không có biến chứng [2]. Nhưng cũng có trường hợp báo cáo *E. albertii* gây nhiễm trùng máu [3]. Các gene quy định độc tố làm vỡ tế bào như Cdt, ức chế tổng hợp protein như Shiga và một số gene khác tạo nên độc lực gây ra các biểu hiện lâm sàng [2], [4]. Điều tra từ một số vụ ngộ độc tập thể và các trường hợp mắc đơn lẻ cho thấy *E. albertii* lây truyền qua nước và thực phẩm bị ô nhiễm như salad, thịt gà và đồ ăn trưa đóng hộp [4]-[8]. Số trường hợp nhiễm khuẩn cũng như tầm quan trọng dịch tễ của vi khuẩn này có thể bị đánh giá thấp do phân loại nhầm với các loài trong *Enterobacteriaceae* [9]. Bài viết này sẽ tổng hợp và đánh giá những tiến bộ gần đây trong phương pháp phân lập và định danh vi khuẩn gây bệnh đường ruột mới nổi *E. albertii*.

2. Đặc điểm hoá sinh và gene đặc hiệu của *E. albertii*

Các đặc điểm hoá sinh ban đầu để định danh *E. albertii* là không có khả năng sản xuất indole từ tryptophan hoặc lên men đường lactose, xylose và rhamnose [1], [9]-[12]. Những kiểu hình này là do không có enzyme xúc tác, chẳng hạn như các enzyme được mã hóa bởi operon *rhaMDABSRT* (sử dụng rhamnose) và *xylBAFGHR* (sử dụng xylose) [13]. *E. albertii* cũng âm tính với oxidase, thử nghiệm Voges-Proskauer và sản xuất hydro sulfide, đồng thời cũng không thể thúc đẩy quá trình khử amin oxy hóa của L-tryptophan hoặc thủy phân urê [9].

Một phân loại ba nhóm sinh học đã được đề xuất cho *E. albertii* gồm nhóm 1 (âm tính với indole/ dương tính với lysine), nhóm 2 (dương tính với indole/ âm tính với lysine) và nhóm 3 (dương tính với indole/ lysine-dương tính) [14]. Do đó, các chủng *Enterobacteriaceae* không di động, âm tính với sản xuất hydro sunfua, không lên men xylose, hoạt tính β -glucuronidase âm và lysine decarboxylase âm tính, nên được phân tích thêm bằng xét nghiệm PCR đặc hiệu cho *E. albertii*.

Hầu hết các chủng *E. albertii* không sử dụng một số loại đường như adonitol, cellobiose, 2-ketogluconate, myoinositol, melibiose xylose và xylitol nhưng khả năng khai thác để phân biệt *E. albertii* với các loài trong họ *Enterobacteriaceae* bị hạn chế do giá thành cao [11], [15]-[18]. *E. albertii* cũng âm tính với chitinase, oxidase, hydroxyproline deaminase, tripeptidase và proline deaminase [1], [9], [11], [12], [19]. Mặc dù không sử dụng phổ biến trong hầu hết các phòng thí nghiệm thông thường nhưng những xét nghiệm kiểu hình này có thể hữu ích để phân biệt *E. albertii* với *H. alvei* và *E. coli*.

Dựa trên phân tích và so sánh trình tự coding sequences (CDS) của 34 chủng *E. albertii* với các chủng trong chi *Escherichia* đã phát hiện được 55 CDS đặc trưng cho loài được bảo tồn cao ở *E. albertii* [9]. Trong số đó đã xác định được chức năng cho 29 CDS, chẳng hạn như các gene liên quan đến sản xuất năng lượng (tiểu đơn vị fumarate reductase, flavoprotein chuyển điện tử...) và chuyển hóa (alpha-amylase, các thành phần hệ thống phosphotransferase...), cũng như gene mã hoá cho một số chất vận chuyển và các yếu tố độc lực tiềm ẩn (độc tố làm căng tế bào thuộc phân nhóm II/III/IV và một số protein liên quan đến hệ thống tiết protein tuýp III (T3SS) [9].

Trong tổng số 243 bộ gene của *E. albertii* đã được lấy mẫu ngẫu nhiên từ các dòng khác nhau và 1898 bộ gene đại diện của *E. coli* và *Shigella* đã tìm thấy hai gene (*EAKF1_ch3804*, *EAKF1_ch4075c*) với độ đặc hiệu cao 100% và *EAKF1_ch0408c* với 99,99% độ đặc hiệu với *E. albertii* [20]. Gene *EAKF1_ch4033* được đề xuất là đặc hiệu của *E. albertii* để phân biệt với *E. coli* và *E. fergusonii* [21]. Tuy nhiên, theo sàng lọc cho thấy gene này bị thiếu ở bốn dòng phân lập (ba ST5268 và một ST10002) và tìm thấy trong 33 bộ gene *E. coli* của dòng ST378 và một số dòng *E. coli* khác trên cơ sở dữ liệu (NCBI) [20].

3. Phương pháp phân lập và định danh

3.1. Nuôi cấy và chọn lọc vi khuẩn

Hầu hết các quy trình phân lập *E. albertii* đều dựa vào một bước tăng sinh trong môi trường dinh dưỡng làm giàu nhóm vi khuẩn Gram âm thuộc họ *Enterobacteriaceae*. Các môi trường đã được sử dụng bao gồm nước peptone đậm (BPW), môi trường canh thịt làm giàu *E. coli* (EC broth), môi trường EC biến đổi (mEC broth), novobiocin–mEC (NmEC), môi trường dịch chiết thủy phân đậu nành (TSB), TSB biến đổi (mTSB), hoặc mTSB bổ sung novobiocin–cefixime–tellurite (NCT-mTSB) ở các nhiệt độ khác nhau từ 20 đến 44,5°C [17], [22]–[26].

Các quy trình tăng sinh sử dụng kháng sinh cerfixime có nguy cơ chỉ chọn các chủng *E. albertii* kháng cerfixime. Trong khi đó, các chủng *E. albertii* được phân lập ở châu Á có tỉ lệ cao mang đa gene kháng kháng sinh [20]. Chất novobiocin thường được thêm vào (20 đến 25 mg/L) sẽ ức chế hầu hết các vi khuẩn Gram dương nhưng không ức chế vi khuẩn thuộc họ *Enterobacteriaceae*. Tellurite ức chế sự sinh trưởng của nhiều chủng không phải là *E. coli*, tuy nhiên khả năng kháng tellurite ở *E. albertii* còn chưa được hiểu rõ.

Vì hầu hết *E. albertii* ban đầu được xác định là *E. coli*, nên có thể suy đoán rằng môi trường làm giàu *Enterobacteriaceae* là một lựa chọn tốt để làm giàu mẫu để phân lập *E. albertii*. Tuy nhiên, do một số môi trường chọn lọc *Enterobacteriaceae* sử dụng đường lactose làm nguồn carbon chính, nên phải thận trọng vì hầu hết *E. albertii* không lên men đường lactose và có thể bị một số thành viên trong họ *Enterobacteriaceae* lên men đường lactose cạnh tranh sinh trưởng [9], [10].

Sau khi nuôi cấy trong môi trường tăng sinh, dịch khuẩn trên môi trường lỏng được lấy để cấy trên thạch Deoxycholate Hydrogen sulphide Lactose (DHL) hoặc MacConkey (MAC) và các biến thể khác nhau của các môi trường này bằng việc bổ sung 1% xylose, 1% rhamnose và hoặc 1% melibiose (XR-MC, XR-DHL, XRM-MC, XRM-DHL và XR-DH) [10], [22], [27]. *E. coli* sử dụng các loại đường này và phát triển để tạo ra các khuẩn lạc có màu; còn hầu hết *E. albertii* được biết cho đến nay không lên men các loại đường nêu trên và không lên men sucrose và lactose, do đó cho khuẩn lạc màu trắng. Các khuẩn lạc sẽ thường được xác nhận thêm thông qua PCR xác định gene đặc hiệu của *E. albertii*.

Một số ít chủng *E. albertii* đã được báo cáo có thể lên men lactose, melibiose và sucrose cũng như có khả năng sản xuất indole từ tryptophan. Do vậy, chọn lọc các khuẩn lạc màu trắng có thể dẫn đến việc loại bỏ các chủng *E. albertii* này [3], [14], [15], [17]. Gần đây, môi trường thạch XRM-MC [27] và thạch XR-DH được đề xuất [23], tương ứng thiếu lactose hoặc cả sucrose và lactose, tránh được vấn đề lên men hai loại đường này. Tuy nhiên, các chủng không phải *E. albertii* như *Shigella* spp. cũng tạo ra các khuẩn lạc màu trắng.

Thạch mEA chứa cellobiose và peptone làm nguồn carbon nên tránh được sự lên men đường lactose và sucrose, cho phép phân lập cả chủng *E. albertii* dương tính và âm tính với lactose [16]. Vi khuẩn không lên men cellobiose, bao gồm cả *E. albertii* tạo ra amoniac từ quá trình chuyển hóa peptone, do đó phát triển dưới dạng khuẩn lạc màu trắng hoặc không màu. Tuy nhiên, các loài khác bao gồm *H. alvei*, *Acinetobacter baumannii*, *Bordetella* spp., *Citrobacter* spp., *E. fergusonii*, *E. hermannii*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella bongori*, *S. Enterica* và một số *Shigella* spp. cũng phát triển dưới dạng khuẩn lạc màu trắng trên thạch mEA [16].

Một số chủng *E. albertii* đã được báo cáo có khả năng sử dụng xylose (<9%) và rhamnose (<5%) [9], [11], [12]. Không có khả năng sử dụng hai nguồn carbon này là cơ sở trong hầu hết các quy trình phân lập và định danh, nên cần thận trọng khi chọn các khuẩn lạc để kiểm tra, đặc biệt là từ các môi trường tăng sinh có PCR dương tính với *E. albertii* nhưng không có khuẩn lạc màu trắng trên các môi trường thạch chọn lọc.

3.2. Phương pháp phân tử nhận biết bằng gene marker

Các gene đặc hiệu và được bảo tồn cao trong loài *E. albertii* được lựa chọn làm gene đích cho các phản ứng PCR để nhận biết. Một đoạn trình tự giữa hai gene *yejH* và *yejK*, mã hóa các tiểu

đơn vị fumarate reductase và một cytochrom loại C đã được sử dụng để thiết kế hai cặp mồi cho hệ thống nested-PCR [13]. Dựa trên các gene đặc hiệu của loài *E. coli* (*cdgR*), *E. albertii* (*EAKF1_ch4033*) và *E. fergusonii* (*EFER_0790*), một phương pháp multiplex PCR đã được thiết lập để phân biệt ba loài [21]. *E. albertii* cũng được phân biệt với *E. coli* và *Shigella* dựa trên sai biệt của trình tự house-keeping gene trong locus *lysP* và *mdh* với đối chứng dương là gene *clpX* [28]. Tuy nhiên, sự đánh giá giá trị của các phương pháp trên một số lượng nhỏ chủng *E. albertii* có thể hạn chế mức độ hiệu quả trên thực tế. Hinenoya và cộng sự [29] sử dụng 67 chủng *E. albertii* đã quan sát thấy các độ nhạy từ 98,5 đến 100% của các xét nghiệm PCR đề cập ở trên.

3.3. Định danh bằng multilocus sequence typing (MLST) và giải trình tự gene 16S rRNA

Phân tích trình tự của các housekeeping gene (*adk*, *fumC*, *gyrB*, *icd*, *mdh*, *purA* và *recA*) là phương pháp có thể phân biệt chính xác hơn giữa *E. albertii* và *E. coli* [28], [30], [31]. Sử dụng trình tự gene 16S rRNA có thể phân biệt được *E. albertii* với các loài trong chi *Escherichia* [1]. Trình tự 16S rDNA của chủng Albert 19982 (NR_025569) được sử dụng phổ biến làm đối chứng. Mặc dù chính xác nhưng các phương pháp này phức tạp và thường không có sẵn trong các phòng thí nghiệm chẩn đoán thông thường.

3.4. Phân tích đặc trưng gene mã hoá kháng nguyên O và H

Thành phần hóa học và cấu trúc của kháng nguyên O rất khác nhau, ngay cả trong cùng một loài [32]-[34]. Sự đa dạng này từ lâu đã được sử dụng để xác định kiểu huyết thanh của các chủng ở nhiều loài vi khuẩn Gram âm. Mặc dù một số chủng *E. albertii* thể hiện sự tương đồng về di truyền hoặc huyết thanh với *E. coli* và *Shigella* [28], [35], [36], bốn mươi kiểu gene mã hoá kháng thể O (EAOg1 đến EAOg40) đã được xác định ở *E. albertii* [37]-[39]. Dựa trên sự biến đổi trình tự của gene *wzx* trong số EAOg, một hệ thống multiplex PCR xác định kiểu gen O đã được phát triển (EAO-genotyping PCR) và xác thực trên 278 chủng *E. albertii* [38]. Mặc dù vậy, 51 trong 278 chủng không thể phân loại cho bất kỳ EAOg.

Kháng nguyên H (flagellin) cũng được sử dụng để xác định kiểu huyết thanh của các chủng ở nhiều loài vi khuẩn Gram âm. Phân tích gene *fliC* của 243 chủng *E. albertii* xác định được 73 loại trình tự *fliC* hợp thành bốn nhóm (EAHg1-EAHg4), khác biệt hoàn toàn so với 53 kháng nguyên H của *E. coli*. Một hệ thống multiplex PCR được phát triển để phát hiện các kiểu gene H cho *E. albertii* [40]. Tuy nhiên, giống như hầu hết các phương pháp định danh, cần phải đánh giá thêm trên một số lượng lớn hơn các chủng *E. albertii* cả về nguồn gốc và địa lý.

3.5. Giải trình tự hệ gene

Giải trình tự toàn bộ hệ gene (WGS) và phân tích di truyền hiện nay là phương pháp tối ưu nhất để định danh chính xác *E. albertii* trong chi *Escherichia* so với các phương pháp dựa vào đặc điểm hoá sinh hoặc PCR khuếch đại gene đặc hiệu. Ngoài định danh, giải trình tự còn cung cấp thêm các thông tin quan trọng về các gene quy định độc lực, kháng kháng sinh, chuyển hoá đặc hiệu,... [2], [13], [20]. Tuy nhiên, giải trình tự hệ gene khá tốn kém, đòi hỏi kỹ thuật phức tạp và máy giải trình tự thường không phổ biến ở các phòng thí nghiệm cơ sở.

Tỷ lệ nhận dạng nucleotide trung bình (ANI) giữa các chủng *E. albertii* và các loài trong chi *Escherichia* nằm trong khoảng từ 86% đến 90%, trong khi tỷ lệ này giữa các chủng *E. albertii* là lớn hơn 98% [13], [41], hỗ trợ cho việc phân loại *E. albertii* là một loài riêng biệt. Các phân tích di truyền cho thấy *E. albertii* gồm hai nhánh chính, tám dòng riêng rẽ, và sự phân bố này có thể không phụ thuộc vào yếu tố địa lý [2], [20], [38]. Các so sánh hệ gene cho thấy không có sự khác biệt lớn về mối quan hệ phát sinh di truyền giữa các chủng *E. albertii* nguồn gốc động vật và người [2], [13], [20].

4. Kết luận và định hướng nghiên cứu

Nhiều quy trình khác nhau đã được đề xuất để phân lập và phân biệt *E. albertii* với các loài trong họ *Enterobacteriaceae*, tuy nhiên chưa có một quy trình định danh nào có mức độ chính

xác tối ưu. Môi trường dinh dưỡng tăng sinh và thạch chọn lọc sử dụng cho *E. albertii* hầu hết được sửa đổi từ môi trường sử dụng cho *Enterobacteriaceae*, do đó các loài khác trong họ này đều có thể phát triển. Các phương pháp phân lập trước đây dựa trên giả thuyết rằng không có chủng *E. albertii* nào có thể lên men đường sucrose và đường lactose điều này có thể dẫn đến việc bỏ sót và định danh sai một số chủng *E. albertii*. Phương pháp phân tử xác định loài bằng PCR đã được phát triển dựa trên một số lượng chủng hạn chế, do đó các đoạn mồi PCR này có thể chọn lọc cho các chủng này và bỏ sót các chủng không có hoặc có alen khác với gene mục tiêu. Do đó có thể phối hợp sử dụng nhiều phương pháp khác nhau để tăng độ chính xác trong quá trình phân lập và định danh vi khuẩn nghi là *E. albertii*.

Các phương pháp phân lập và định danh *E. albertii* dựa trên môi trường tăng sinh, thạch chọn lọc và gene đặc hiệu như đã đề cập ở trên cần được đánh giá giá trị trên nhiều chủng, đa dạng hơn về nguồn gốc và khu vực địa lý; đồng thời cần cải tiến dựa trên các đặc điểm đặc hữu cũng như mới cập nhật về kiểu gene và kiểu hình của *E. albertii* so với các loài trong họ *Enterobacteriaceae*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] G. Huys, M. Cnockaert, J. M. Janda, and J. Swings, "*Escherichia albertii* sp. nov., a diarrhoeagenic species isolated from stool specimens of Bangladeshi children," *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, vol. 53, no. 3, pp. 807-810, 2003, doi: 10.1099/ij.s.0.02475-0.
- [2] T. A. T. Gomes, T. Ooka, R. T. Hernandez, D. Yamamoto, and T. Hayashi, "*Escherichia albertii* pathogenesis," *EcoSal Plus*, vol. 9, no. 1, 2020, doi: 10.1128/ecosalplus.esp-0015-2019.
- [3] T. J. Inglis, A. J. Merritt, N. Bzdyl, S. Lansley, and M. N. Urosevic, "First bacteraemic human infection with *Escherichia albertii*," *New Microbes and New Infection*, vol. 8, pp. 171-173, Nov 2015, doi: 10.1016/j.nmni.2015.07.003.
- [4] T. Ooka, K. Seto, K. Kawano, H. Kobayashi, Y. Etoh, S. Ichihara *et al.*, "Human gastroenteritis outbreak associated with *Escherichia albertii*, Japan," *Emerging Infectious Diseases*, vol. 19, no. 1, pp. 144-1446, 2013, doi: 10.3201/eid1901.120646.
- [5] T. Konno, J. Yatsuyanagi, S. Takahashi, Y. Kumagai, E. Wada, M. Chiba, and S. Saito, "Isolation and identification of *Escherichia albertii* from a patient in an outbreak of gastroenteritis," *Japanese Journal of Infectious Diseases*, vol. 65, no. 3, pp. 203-207, 2012.
- [6] N. Asoshima, M. Matsuda, K. Shigemura, M. Honda, H. Yoshida, H. Hiwaki, K. Ogata, and T. Oda, "Identification of *Escherichia albertii* as a causative agent of a food-borne outbreak occurred in 2003," *Japanese Journal of Infectious Diseases*, vol. 67, no. 2, pp. 139-140, 2014, doi: 10.7883/yoken.67.139.
- [7] K. Masuda, T. Ooka, H. Akita, T. Hiratsuka, S. Takao, M. Fukada, K. Inoue, M. Honda, J. Toda, and W. Sugitani, "Epidemiological aspects of *Escherichia albertii* outbreaks in Japan and genetic characteristics of the causative pathogen," *Foodborne Pathogens and Disease*, vol. 17, no. 2, pp. 144-150, 2020, doi: 10.1089/fpd.2019.2654.
- [8] E. Tokuoka, K. Furukawa, T. Nagamura, F. Harada, K. Ekinaga, and H. Tokunaga, "Food poisoning outbreak due to atypical EPEC OUT: HNM, May 2011–Kumamoto," *Infect Agents Surveillance Report*, vol. 33, pp. 8-9, 2012.
- [9] T. Ooka, K. Seto, K. Kawano, H. Kobayashi, Y. Etoh, S. Ichihara, A. Kaneko, J. Isobe, K. Yamaguchi, K. Horikawa, T. A. T. Gomes, A. Linden, M. Bardiau, J. G. Mainil, L. Beutin, Y. Ogura, and T. Hayashi, "Clinical significance of *Escherichia albertii*," *Emerging Infectious Diseases*, vol. 18, no. 3, pp. 488-492, 2012, doi: 10.3201/eid1803.111401.
- [10] K. Murakami, K. Murakami, Y. Etoh, E. Tanaka, S. Ichihara, K. Horikawa, K. Kawano, T. Ooka, Y. Kawamura, and K. Ito, "Shiga toxin 2f-producing *Escherichia albertii* from a symptomatic human," *Japanese Journal of Infectious Diseases*, vol. 67, no. 3, pp. 204-208, 2014, doi: 10.7883/yoken.67.204.
- [11] S. L. Abbott, J. O'Connor, T. Robin, B. L. Zimmer, and J. M. Janda, "Biochemical properties of a newly described *Escherichia* species, *Escherichia albertii*," *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 41, no. 10, pp. 4852-4854, 2003, doi: 10.1128/jcm.41.10.4852-4854.2003.
- [12] L. F. Nimri, "*Escherichia albertii*, a newly emerging enteric pathogen with poorly defined properties," *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, vol. 77, no. 2, pp. 91-95, 2013, doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2013.06.028.

- [13] T. Ooka, Y. Ogura, K. Katsura, K. Seto, H. Kobayashi, K. Kawano, E. Tokuoka, M. Furukawa, S. Harada, S. Yoshino, J. Seto, T. Ikeda, K. Yamaguchi, K. Murase, Y. Gotoh, N. Imuta, J. Nishi, T. A. Gomes, L. Beutin, and T. Hayashi, "Defining the genome features of *Escherichia albertii*, an emerging enteropathogen closely related to *Escherichia coli*," *Genome Biology and Evolution*, vol. 7, no. 12, pp. 3170-3179, 2015, doi: 10.1093/gbe/evv211.
- [14] K. Murakami E. Maeda-Mitani, H. Kimura, M. Honda, T. Ikeda, W. Sugitani, T. Konno, K. Kawano, Y. Etoh, N. Sera, F. Mizukoshi, T. Saitoh, Y. Kawamura, T. Ishioka, M. Ohnishi, K. Oishi, and S. Fujimoto, "Non-biogroup 1 or 2 strains of the emerging zoonotic pathogen *Escherichia albertii*, their proposed assignment to biogroup 3, and their commonly detected characteristics," *Frontiers in Microbiology*, vol. 10, p. 1543, 2019, doi: 10.3389/fmicb.2019.01543.
- [15] A. Hinenoya, H. Ichimura, S. P. Awasthi, N. Yasuda, J. Yatsuyanagi, and S. Yamasaki, "Phenotypic and molecular characterization of *Escherichia albertii*: further surrogates to avoid potential laboratory misidentification," *International Journal of Medical Microbiology*, vol. 309, no. 2, pp. 108-115, 2019, doi: 10.1016/j.ijmm.2018.12.003.
- [16] A. F. Maheux, S. Brodeur, È. Bérubé, D. K. Boudreau, J. Y. Abed, M. Boissinot, L. Bissonnette, and M. G. Bergeron, "Method for isolation of both lactose-fermenting and – non-fermenting *Escherichia albertii* strains from stool samples," *Journal of Microbiology Methods*, vol. 154, pp. 134-140, 2018, doi: 10.1016/j.mimet.2018.09.008.
- [17] S. Arai, K. Ohtsuka, N. Konishi, K. Ohya, T. Konno, Y. Tokoi, H. Nagaoka, Y. Asano, H. Maruyama, and H. Uchiyama, "Evaluating methods for detecting *Escherichia albertii* in chicken meat," *Journal of Food Protection*, vol. 84, no. 4, pp. 553-562, 2021, doi: 10.4315/JFP-20-206.
- [18] I. Stock, M. Rahman, K. J. Sherwood, and B. Wiedemann, "Natural antimicrobial susceptibility patterns and biochemical identification of *Escherichia albertii* and *Hafnia alvei* strains," *Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases*, vol. 51, no. 3, pp. 151-163, 2005, doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2004.10.008.
- [19] J. M. Janda, S. L. Abbott, and M. J. Albert, "Prototypal diarrheagenic strains of *Hafnia alvei* are actually members of the genus *Escherichia*," *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 37, no. 8, pp. 2399-2401, 1999, doi: 10.1128/JCM.37.8.2399-2401.1999.
- [20] L. Luo, H. Wang, M. J. Payne, C. Liang, L. Bai, H. Zheng, Z. Zhang, L. Zhang, X. Zhang, G. Yan, N. Zou, X. Chen, Z. Wan, Y. Xiong, R. Lan, and Q. Li, "Comparative genomics of Chinese and international isolates of *Escherichia albertii*: population structure and evolution of virulence and antimicrobial resistance," *Microbial Genomics*, vol. 7, no. 12, 2021, doi: 10.1099/mgen.0.000710.
- [21] R. L. Lindsey, L. Garcia-Toledo, D. Fasulo, L. M. Gladney, and N. Strockbine, "Multiplex polymerase chain reaction for identification of *Escherichia coli*, *Escherichia albertii* and *Escherichia fergusonii*," *Journal of Microbiology Methods*, vol. 140, pp. 1-4, 2017, doi: 10.1016/j.mimet.2017.06.005.
- [22] S. Arai, S. Yamaya, K. Ohtsuka, N. Konishi, H. Obata, T. Ooka, S. Hirose, A. Kai, and Y. Hara-Kudo, "Detection of *Escherichia albertii* in Retail Oysters," *Journal of Food Protection*, vol. 85, no. 1, pp. 173-179, 2022, doi: 10.4315/jfp-21-222.
- [23] Y. Wakabayashi, K. Seto, M. Kanki, T. Harada, and K. Kawatsu, "Proposal of a novel selective enrichment broth, NCT-mTSB, for isolation of *Escherichia albertii* from poultry samples," *Journal of Applied Microbiology*, vol. 132, no. 3, pp. 2121-2130, 2022, doi: 10.1111/jam.15353.
- [24] H. Wang, Q. Li, X. Bai, Y. Xu, A. Zhao, H. Sun, J. Deng, B. Xiao, X. Liu, and S. Sun, "Prevalence of *eae*-positive, lactose non-fermenting *Escherichia albertii* from retail raw meat in China," *Epidemiology and Infection*, vol. 144, no. 1, pp. 45-52, 2016, doi: 10.1017/S0950268815001120.
- [25] A. Hinenoya, K. Nagano, S. P. Awasthi, N. Hatanaka, and S. Yamasaki, "Prevalence of *Escherichia albertii* in raccoons (*Procyon lotor*), Japan," *Emerging Infectious Diseases*, vol. 26, no. 6, p. 1304, 2020, doi: 10.3201/eid2606.191436.
- [26] A. Hinenoya, X. P. Li, X. Zeng, O. Sahin, R. A. Moxley, C. M. Logue, B. Gillespie, S. Yamasaki, and J. Lin, "Isolation and characterization of *Escherichia albertii* in poultry at the pre-harvest level," *Zoonoses and Public Health*, vol. 68, no. 3, pp. 213-225, 2021, doi: 10.1111/zph.12812.
- [27] A. Hinenoya, K. Nagano, K. Okuno, A. Nagita, N. Hatanaka, S. P. Awasthi, and S. Yamasaki, "Development of XRM-MacConkey agar selective medium for the isolation of *Escherichia albertii*," *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, vol. 97, no. 1, 2020, doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2020.115006.

- [28] K. E. Hyma, D. W. Lacher, A. M. Nelson, A. C. Bumbaugh, J. M. Janda, N. A. Strockbine, V. B. Young, and T. S. Whittam, "Evolutionary genetics of a new pathogenic *Escherichia* species: *Escherichia albertii* and related *Shigella boydii* strains," *Journal of Bacteriology*, vol. 187, no. 2, pp. 619-28, 2005, doi: 10.1128/jb.187.2.619-628.2005.
- [29] A. Hinenoya, H. Ichimura, N. Yasuda, S. Harada, K. Yamada, M. Suzuki, Y. Iijima, A. Nagita, M. J. Albert, N. Hatanaka, S. P. Awasthi, and S. Yamasaki, "Development of a specific cytolethal distending toxin (cdt) gene (Eacdt)-based PCR assay for the detection of *Escherichia albertii*," *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, vol. 95, no. 2, pp. 119-124, 2019, doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2019.04.018.
- [30] J. L. Oaks, T. E. Besser, S. T. Walk, D. M. Gordon, K. B. Beckmen, K. A. Burek, G. J. Haldorson, D. S. Bradway, L. Ouellette, F. R. Rurangirwa, M. A. Davis, G. Dobbin, and T. S. Whittam, "*Escherichia albertii* in wild and domestic birds," *Emerging Infectious Diseases*, vol. 16, no. 4, pp. 638-46, 2010, doi: 10.3201/eid1604.090695.
- [31] A. F. Maheux, D. K. Boudreau, M. G. Bergeron, and M. J. Rodriguez, "Characterization of *Escherichia fergusonii* and *Escherichia albertii* isolated from water," *Journal of Applied Microbiology*, vol. 117, no. 2, pp. 597-609, 2014, doi: 10.1111/jam.12551.
- [32] R. Stenutz, A. Weintraub, and G. Widmalm, "The structures of *Escherichia coli* O-polysaccharide antigens," *FEMS Microbiol Review*, vol. 30, no. 3, pp. 382-403, 2006, doi: 10.1111/j.1574-6976.2006.00016.x.
- [33] B. Liu, Y. A. Knirel, L. Feng, A. V. Perepelov, S. N. Senchenkova, P. R. Reeves, and L. Wang, "Structural diversity in *Salmonella* O antigens and its genetic basis," *FEMS Microbiology Review*, vol. 38, no. 1, pp. 56-89, 2014, doi: 10.1111/1574-6976.12034.
- [34] B. Liu, Y. A. Knirel, L. Feng, A. V. Perepelov, S. N. Senchenkova, Q. Wang, P. R. Reeves, and L. Wang, "Structure and genetics of *Shigella* O antigens," *FEMS Microbiol Review*, vol. 32, no. 4, pp. 627-53, 2008, doi: 10.1111/j.1574-6976.2008.00114.x.
- [35] M. Z. Rahman, S. Akter, N. Azmuda, M. Sultana, F. X. Weill, S. I. Khan, P. A. Grimont, and N. K. Birkeland, "Serological cross-reaction between O-antigens of *Shigella dysenteriae* type 4 and an environmental *Escherichia albertii* isolate," *Current Microbiology*, vol. 67, no. 5, pp. 590-595, 2013, doi: 10.1007/s00284-013-0405-7.
- [36] H. Zheng, O. I. Naumenko, H. Wang, Y. Xiong, J. Wang, A. S. Shashkov, Q. Li, and Y. A. Knirel, "Colitose-containing O-polysaccharide structure and O-antigen gene cluster of *Escherichia albertii* HK18069 related to those of *Escherichia coli* O55 and *E. coli* O128," *Carbohydrate Research*, vol. 480, pp. 73-79, 2019, doi: 10.1016/j.carres.2019.05.013.
- [37] O. I. Naumenko, H. Zheng, S. N. Senchenkova, H. Wang, Q. Li, A. S. Shashkov, J. Wang, Y. A. Knirel, and Y. Xiong, "Structures and gene clusters of the O-antigens of *Escherichia albertii* O3, O4, O6, and O7," *Carbohydrate Research*, vol. 449, pp. 17-22, 2017, doi: 10.1016/j.carres.2017.06.008.
- [38] T. Ooka, K. Seto, Y. Ogura, K. Nakamura, A. Iguchi, Y. Gotoh, M. Honda, Y. Etoh, T. Ikeda, W. Sugitani, T. Konno, K. Kawano, N. Imuta, K. Yoshiie, Y. Hara-Kudo, K. Murakami, T. Hayashi, and J. Nishi, "O-antigen biosynthesis gene clusters of *Escherichia albertii*: their diversity and similarity to *Escherichia coli* gene clusters and the development of an O-genotyping method," *Microbial Genomics*, vol. 5, no. 11, 2019, doi: 10.1099/mgen.0.000314.
- [39] H. Wang, H. Zheng, Q. Li, Y. Xu, J. Wang, P. Du, X. Li, X. Liu, L. Zhang, N. Zou, G. Yan, Z. Zhang, H. Jing, J. Xu, and Y. Xiong, "Defining the genetic features of O-antigen biosynthesis gene cluster and performance of an O-antigen serotyping scheme for *Escherichia albertii*," *Frontiers in Microbiology*, vol. 8, 2017, doi: 10.3389/fmicb.2017.01857.
- [40] K. Nakae, T. Ooka, K. Murakami, Y. Hara-Kudo, N. Imuta, Y. Gotoh, Y. Ogura, T. Hayashi, Y. Okamoto, and J. Nishi, "Diversification of *Escherichia albertii* H-antigens and development of H-genotyping PCR," *Frontiers in Microbiology*, vol. 12, 2021, doi: 10.3389/fmicb.2021.737979.
- [41] C. Luo, S. T. Walk, D. M. Gordon, M. Feldgarden, J. M. Tiedje, and K. T. Konstantinidis, "Genome sequencing of environmental *Escherichia coli* expands understanding of the ecology and speciation of the model bacterial species," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 108, no. 17, pp. 7200-7205, 2011, doi: 10.1073/pnas.1015622108.