

肠炎沙门氏菌在蛋清中的存活机制及其生物防控研究进展

李嘉铭, 董庆利, 杨昌颖, 王翔, 马悦, 秦晓杰*
(上海理工大学健康科学与工程学院, 上海 200093)

摘要: 沙门氏菌是引发食源性疾病最常见的致病菌之一, 鸡蛋及蛋制品是其传播的重要食品载体。在沙门氏菌众多血清型中, 肠炎沙门氏菌在鸡蛋蛋清中具有独特的存活优势, 能够抵抗蛋清中的抑菌组分, 在鸡蛋内存活并增殖, 进而引发食物中毒。近年来, 国内外研究学者以这一血清型为模式菌株, 运用转座子突变、体内表达、高通量测序和组学技术等手段揭示了该致病菌在鸡蛋蛋清中的存活策略, 挖掘出一些重要的代谢通路以及关键的抗逆基因/蛋白。当前关于抗逆基因功能的揭示还不够深入, 且缺乏对现有研究系统总结。本文首先简要介绍了沙门氏菌污染鸡蛋的现状及传播途径, 进一步从营养物质获得、膜胁迫响应、DNA损伤修复、碱性pH值适应、渗透胁迫响应以及能量代谢等角度, 重点阐述了肠炎沙门氏菌在蛋清中存活的分子机制研究进展, 最后归纳了疫苗接种、噬菌体以及益生菌治疗等沙门氏菌生物防控方法, 并对未来研究方向进行了展望, 旨在为有效控制蛋类食品中的沙门氏菌提供重要参考。

关键词: 沙门氏菌; 鸡蛋; 存活策略; 防控措施; 食品安全

Research Progress on Survival Mechanism and Control Measures of *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis in Egg White

LI Jiaming, DONG Qingli, YANG Changying, WANG Xiang, MA Yue, QIN Xiaojie*
(School of Health Science and Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China)

Abstract: *Salmonella* is one of the most common pathogens causing foodborne diseases. Eggs and egg products are important food vehicles for its transmission. Among the many serotypes of *Salmonella*, *S. enterica* serovar Enteritidis has a unique advantage in surviving egg white because of its resist to antibacterial molecules in egg white, which can lead to food poisoning. In recent years, the survival strategies of *S. enteritidis* serovar Enteritidis in egg white have been explored by using molecular biological techniques such as transposon mutations, *in vivo* expression, high-throughput sequencing and omics, and some key metabolic pathways and stress resistance-related genes/proteins have been discovered. However, the function of stress resistance-related genes has not been fully revealed, and there is a lack of a comprehensive summary of the existing research. Therefore, the current situation and transmission routes of *Salmonella* contaminated eggs are briefly introduced in this review. Furthermore, the latest progress in research on the survival mechanism of *S. enteritidis* serovar Enteritidis in egg white is summarized from the perspectives of nutrient availability, membrane stress response, deoxyribonucleic acid (DNA) damage repair, alkaline pH adaptation, osmotic stress response and energy metabolism. Finally, the biological control methods for *Salmonella* are summarized, including vaccines, bacteriophages, and probiotics. Meanwhile, future research directions are discussed. This article will provide an important reference for effective control of *Salmonella* in eggs and egg products.

Keywords: *Salmonella*; eggs; survival strategies; prevention and control measures; food safety

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20221207-075

中图分类号: TS201.6

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2023) 23-0261-09

收稿日期: 2022-12-07

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目 (32102111); 第70批中国博士后科学基金面上项目 (2021M702194)

第一作者简介: 李嘉铭 (2000—) (ORCID: 0000-0002-4821-3510), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品安全。

E-mail: ljm2297633035@163.com

*通信作者简介: 秦晓杰 (1990—) (ORCID: 0000-0002-5210-0658), 女, 助理研究员, 博士, 研究方向为食源性致病菌的抗逆机制。E-mail: qxj19900709@163.com

引文格式:

李嘉铭, 董庆利, 杨昌颖, 等. 肠炎沙门氏菌在蛋清中的存活机制及其生物防控研究进展[J]. 食品科学, 2023, 44(23): 261-269. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20221207-075. <http://www.spkx.net.cn>

LI Jiaming, DONG Qingli, YANG Changying, et al. Research progress on survival mechanism and control measures of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis in egg white[J]. Food Science, 2023, 44(23): 261-269. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20221207-075. <http://www.spkx.net.cn>

沙门氏菌 (*Salmonella*) 是全球细菌性食源性疾病的重要致病因子^[1], 鸡蛋及蛋制品是其传播的重要食品载体^[2-4]。国内外每年因食用沙门氏菌污染的鸡蛋而引发的食物中毒事件屡见不鲜。世界卫生组织对特定食品引发沙门氏菌病的评估报告指出, 在美国、欧洲、亚洲、西太平洋等地, 由污染鸡蛋引起的沙门氏菌病占20%~27%^[5]。我国是全球最大的鸡蛋生产和消费国, 每年鸡蛋平均产量达3 095万 t, 占全球鸡蛋总产量的40%以上^[6]。根据疾病预防控制中心估计, 我国每年平均约有5 300万人因食用被沙门氏菌污染的带壳鲜蛋而患沙门氏菌病^[7], 这对公众健康构成了严重威胁。近年来, 鸡蛋中检出的沙门氏菌血清型种类增多, 但肠炎沙门氏菌 (*Salmonella enterica* serovar Enteritidis, *S. Enteritidis*) 仍是检出最频繁且最主要的血清型^[8]。

鸡蛋具有天然自我防御体系以保护其免受细菌的入侵。其中, 蛋壳和蛋壳膜构成了物理屏障, 蛋清抑菌组分 (如溶菌酶、卵转铁蛋白、抗生物素蛋白、小分子抗菌肽、核酸酶等) 和碱性环境组成了化学屏障^[9-10], 细菌入侵鸡蛋并在其中生存必须克服这些逆境。沙门氏菌常通过渗透的方式从鸡蛋蛋壳进入蛋清, 但大多数血清型在蛋清抑菌组分中难以存活, 仅有肠炎沙门氏菌凭借自身独特的分子调节机制可抵抗蛋清逆境, 在鸡蛋内生存并增殖^[11-12], 进而引发严重的食品安全问题。针对肠炎沙门氏菌在蛋清中的这种存活优势, 国内外研究学者从脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 结构、运动性、DNA损伤修复等角度探究了该致病菌应对蛋清逆境的分子机制^[13-16], 但由于采用的技术手段、所用的菌株和处理条件不同, 挖掘出的代谢通路及抗逆基因存在差异。另外, 近些年高通量测序及组学技术也被用于揭示肠炎沙门氏菌在蛋清中的存活机制研究, 然而相关研究进展目前还鲜见被系统性报道。

控制鸡蛋生产、流通以及消费过程中沙门氏菌的污染, 可以降低沙门氏菌病暴发风险。目前, 流通环节控制沙门氏菌污染鸡蛋的方法主要是清洗、涂蜡、快速冷冻、低温贮藏等^[17-20], 这些方法虽然能一定程度上降低细菌的数量, 但也会不同程度地影响鸡蛋的品质和营养价值。更为重要的是, 上述方法并不能完全消除鸡蛋内的沙门氏菌。研究发现, 肠炎沙门氏菌主要通过受感染的蛋清垂直传播的方式污染鸡蛋, 因此防控沙门氏菌的首

要方法是从源头控制。在蛋鸡养殖环节, 疫苗接种和噬菌体治疗等生物方法成为防控沙门氏菌污染的重要方向^[12,21]。

本文就沙门氏菌污染鸡蛋现状及传播途径、肠炎沙门氏菌在蛋清中存活的分子机制研究进展及沙门氏菌污染鸡蛋的生物防控方法进行综述, 并对未来沙门氏菌存活机制的揭示及其防控措施进行展望, 旨在为蛋类食品中沙门氏菌的防控提供参考, 从而保障鸡蛋的安全性。

1 沙门氏菌污染鸡蛋现状及途径

1.1 沙门氏菌污染鸡蛋导致的食物中毒情况

沙门氏菌广泛存在于动物性食品 (如肉、蛋、奶等) 和植物性食品 (如水果、蔬菜、果汁等) 中, 其中鸡蛋、蛋制品和鸡肉是其传播的主要食品载体。无论是发达国家还是发展中国家, 每年因食用受沙门氏菌污染的鸡蛋及蛋制品而导致的食物中毒事件频繁暴发。据欧洲食品安全局报道, 2019年欧盟暴发的沙门氏菌病中有37%与食用污染的鸡蛋和蛋制品有关^[3]。在美国, 每年约有320万枚鸡蛋受肠炎沙门氏菌污染, 导致80万人罹患沙门氏菌病, 鸡蛋已成为潜在危害性食品^[22]。在我国, 沙门氏菌在商业鸡蛋中的检出率高达0.5%, 其中肠炎沙门氏菌血清型占46.4%^[2]。目前, 通过污染鸡蛋引发食物中毒事件的沙门氏菌血清型有多种, 如肠炎沙门氏菌、鼠伤寒沙门氏菌 (*S. Typhimurium*)、印第安纳沙门氏菌 (*S. Indiana*)、婴儿沙门氏菌 (*S. Infantis*)、布灵得卢柏沙门氏菌 (*S. Braenderup*) 等^[23-27], 但肠炎沙门氏菌是鸡蛋中检出最频繁且引发沙门氏菌病最主要的血清型, 其他血清型引发的食物中毒事件相对较少 (表1)。

表1 国内外与鸡蛋及蛋制品相关的部分沙门氏菌病暴发事件
Table 1 Some outbreaks of *Salmonella* related to eggs or egg products worldwide

年份	国家	食品类型/原因	病例数	血清型	参考文献
2021	中国	蛋炒饭/原料中鸡蛋污染	225	肠炎沙门氏菌	[28]
2019	澳大利亚	鸡蛋	235	肠炎沙门氏菌	[29]
2019	阿联酋	荷兰酱/原料中生鸡蛋污染	15	沙门氏菌/血清型未鉴定	[30]
2019	比利时	蛋黄沙司/原料中生鸡蛋污染	200	沙门氏菌/血清型未鉴定	[31]
2018	智利	蛋黄酱/原料中生鸡蛋污染	174	沙门氏菌/血清型未鉴定	[32]
2018	中国	三文治/原料鸡蛋污染	14	肠炎沙门氏菌	[33]
2018	美国	鸡蛋	44	肠炎沙门氏菌	[34]
2018	澳大利亚	鸡蛋	23	肠炎沙门氏菌	[35]
2017-2018	美国	鸡蛋	45	布灵得卢柏沙门氏菌	[26]

续表1

年份	国家	食品类型/原因	病例数	血清型	参考文献
2017-2018	英国	鸡蛋	421	肠炎沙门氏菌	[36]
2017-2018	澳大利亚	鸡蛋	96	赫萨累克沙门氏菌	[37]
2015-2016	澳大利亚	蛋黄酱/生鸡蛋污染	272	鼠伤寒沙门氏菌	[23]
2013	英国	蛋黄酱/原料中鸡蛋污染	21	鼠伤寒沙门氏菌DT8	[38]
2013	中国	蛋糕/鸡蛋污染	112	肠炎沙门氏菌	[39]
2011	波兰	蛋糕/原料中鸡蛋污染	34	肠炎沙门氏菌	[40]
2010	奥地利	土豆沙拉/鸡蛋交叉污染	14	肠炎沙门氏菌	[41]
2010	美国	鸡蛋	1939	肠炎沙门氏菌	[42]
2000	英国	蛋黄酱三明治/蛋卷巴氏杀菌不彻底	17	印第安纳沙门氏菌	[27]

1.2 沙门氏菌污染鸡蛋的主要方式

鸡蛋虽具有蛋壳、蛋壳膜和卵黄膜等物理屏障，但沙门氏菌却可以侵入鸡蛋内部，通过运动从蛋清或卵黄膜附近迁移至卵黄膜，并穿透卵黄膜进入营养丰富的卵黄中大量繁殖。依据现有文献报道，沙门氏菌污染鸡蛋主要通过垂直传播和水平传播两种方式^[11,43]。垂直传播即由蛋鸡生殖系统中的沙门氏菌直接污染鸡蛋的蛋黄、蛋白、蛋壳膜和蛋壳等，而水平传播即由蛋鸡的肠道、粪便或鸡场周围环境（如与鸡蛋接触的蛋网、传送带等）中的沙门氏菌通过蛋壳和蛋壳膜渗透进入鸡蛋内部。目前，关于沙门氏菌污染鸡蛋的途径，哪种占主导还没有明确定论。但对于肠炎沙门氏菌而言，多数研究认为垂直传播是沙门氏菌污染鸡蛋的主要方式^[11]。

2 鸡蛋的防御体系

鸡蛋从外向内主要由表层膜、蛋壳、蛋壳膜、蛋清、卵黄膜和卵黄等部分组成，这种特殊的结构能保护其免受细菌的入侵（图1）。其中，蛋清是主要的化学屏障，其高黏着度可限制细菌的运动，进而阻止细菌利用鸡蛋中的营养物质进行繁殖。随着鸡蛋贮藏时间的延长，蛋清中二氧化碳会通过蛋壳孔释放导致其pH值呈碱性，从而影响细菌的pH值稳态。更为重要的是，蛋清中含有丰富的抑菌蛋白质和肽，如溶菌酶、卵转铁蛋白、维生素整合蛋白、蛋白酶抑制剂、防御素、核酸酶等，能够抑制细菌的生长^[9]。

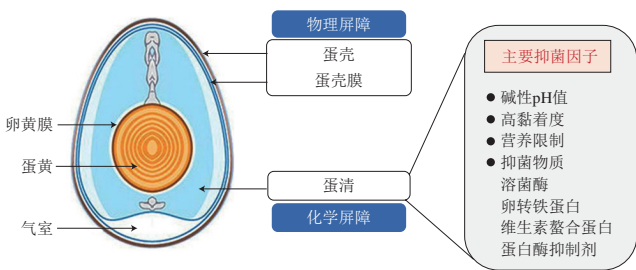


图1 鸡蛋的防御体系

Fig. 1 Self-defense system of eggs

3 肠炎沙门氏菌在蛋清中存活的分子机制

3.1 肠炎沙门氏菌在鸡蛋蛋清中的存活优势

相对于沙门氏菌的其他血清型，肠炎沙门氏菌在蛋清中呈现出较强的存活特征。例如，de Vylder等^[44]测定了89株沙门氏菌（包含5个血清组）在42℃蛋清中孵育24h后的存活数量，发现肠炎沙门氏菌的存活率显著高于其他沙门氏菌血清型和血清组。另外，与其他细菌如大肠杆菌相比，肠炎沙门氏菌感染蛋清后也呈现出存活优势。Clavijo等^[13]比较了肠炎沙门氏菌和鼠伤寒沙门氏菌以及大肠杆菌在37℃蛋清中的存活情况，发现肠炎沙门氏菌存活能力显著强于鼠伤寒沙门氏菌和大肠杆菌。Alabdeh等^[45]分析了不同体积分数的蛋清（0%、10%、100%）、温度（37~48℃）、pH值（7.8、9.3）和初始接种浓度（3~8 lg (CFU/mL)）下肠炎沙门氏菌和大肠杆菌的抗逆能力，研究得出不同影响因素下肠炎沙门氏菌应对蛋清逆境的能力显著高于大肠杆菌。同时，研究证实肠炎沙门氏菌在蛋清中的存活能力显著强于印第安纳沙门氏菌和大肠杆菌^[16]。肠炎沙门氏菌在蛋清中的这种存活优势是其通过垂直传播进入鸡蛋内部并引发食物中毒的决定因素。

3.2 研究手段

蛋清的高黏着度、碱性环境以及丰富的抗菌成分构成了一个复杂的抑菌体系。肠炎沙门氏菌因具有独特的抵抗蛋清逆境的能力而在鸡蛋内部存活，进而通过污染鸡蛋及相关制品进行传播，引发食品安全问题。针对肠炎沙门氏菌蛋清抗性问题的研究，国内外研究学者通过各种技术手段来揭示该致病菌在鸡蛋中的存活机制，包括体内表达技术、转座子突变技术、基因芯片、基因组测序以及转录组学和蛋白质组学等技术，具体研究手段和处理条件归纳见表2。

表2 肠炎沙门氏菌在鸡蛋中的存活机制研究手段

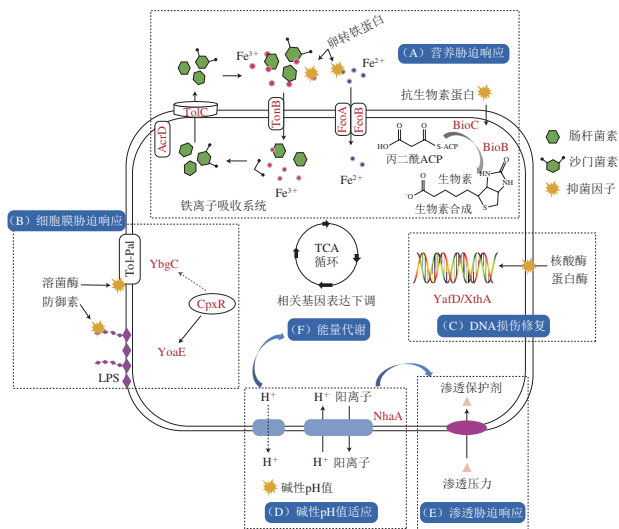
Table 2 Research methods for studying the survival mechanism of *Salmonella enteritidis* serovar Enteritidis in eggs

菌株	食品基质	处理条件	研究手段	参考文献
SE2472	蛋清	37℃/24h	基因敲除技术	[14]
PT4 147	蛋清	42℃/24h	Tn转座子介导突变技术	[15]
SE2472	蛋清	37℃/24h	Tn转座子介导突变技术	[13]
PT4 147	蛋黄+蛋清	37℃/48h	体内表达技术	[46]
PT4 147	蛋黄+蛋清	20℃/8d	体内表达技术	[11]
PT4 147	蛋清	42℃/24h	体内表达技术	[15]
PT4 E2187	蛋黄+蛋清	20℃/24h	基因芯片技术	[47]
SJTUF10978/SJTUF10984	—	—	基因组测序技术	[48]
NCTC13349	蛋清	45℃/7、25、45 min	基因芯片技术	[49]
SJTUF10978	蛋清	37℃/0、6、12、24h	RNA高通量测序技术	[16]
ATCC13076/ΔSEN1393	蛋清	20℃/24h	RNA高通量测序技术	[50]
SJTUF10978	蛋清	37℃/6h	同位素标记相对与绝对定量技术	[51]

注：— 参考文献未提及。

3.3 肠炎沙门氏菌在鸡蛋蛋清中的存活机制

近年来, 肠炎沙门氏菌在鸡蛋蛋清中独特的存活机制已成为食品安全领域研究的热点, 国内外研究学者将该血清型作为一种典型模式菌株, 从基因水平和蛋白质水平挖掘肠炎沙门氏菌抵抗蛋清逆境的重要通路和基因, 并进一步通过基因缺失与回补和定点突变技术, 鉴定关键的抗逆基因。依据现阶段研究进展, 总结各研究中挖掘出的共有通路和抗逆元件, 主要概括为营养胁迫响应、细胞膜胁迫响应、DNA损伤修复、碱性pH值适应、渗透胁迫响应和能量代谢等6个方面(图2)。



红色标注的蛋白质表示已功能鉴定的关键抗逆蛋白。ACP, 酰基载体蛋白 (acyl carrier protein); TCA, 三羧酸 (tricarboxylic acid)。

图2 肠炎沙门氏菌在蛋清中存活的分子机制

Fig. 2 Molecular mechanism of *Salmonella enteritidis* serovar Enteritidis survival in egg white

3.3.1 营养胁迫响应

蛋清中含有高浓度的卵转铁蛋白和高亲和力的维生素结合蛋白(如抗生素蛋白), 它们分别能够螯合铁离子和生物素, 使细菌处于缺铁和生物素的营养胁迫环境, 不利于细菌的生长繁殖^[9]。前期研究结果显示, 肠炎沙门氏菌通过调节自身的三价和二价铁离子吸收系统, 合成并分泌铁载体(即肠杆菌素和沙门菌素)螯合外源铁离子来应对蛋清的缺铁环境, 进而维持细胞内铁离子的平衡(图2A)。无论是在基因水平还是蛋白质水平, 肠炎沙门氏菌铁载体合成与转运(*entABCDEF*、*iroBCDEN*、*fepABCD*)、铁-铁载体复合物的吸收系统(*exbB*、*exbD*、*tonB*)、胞内铁离子释放(*fes*)以及二价铁离子转运(*feoAB*)等相关元件表达上调^[16,49,51]。同时, 肠杆菌素合酶EntF、三价铁转运蛋白TonB以及二价铁转运蛋白FeoA和FeoB的编码基因缺失, 导致肠炎沙门氏菌在蛋清中的存活能力显著降低, 而在蛋清中加入铁离子后, 突变株的存活能力又恢复至原始菌株水平^[52]。

外膜通道蛋白TolC通常与细菌的多重耐药性与致病性相关, 可用于输出细菌分泌物或有害物质, 研究发现该蛋白缺失使得肠炎沙门氏菌抵抗蛋清逆境的能力下降, 且在肠炎沙门氏菌应对卵转铁蛋白抑菌组分中发挥关键作用^[53]。由此可知, 肠炎沙门氏菌通过调节铁离子吸收与转运机制来抵抗蛋清中卵转铁蛋白的胁迫。

另外, 生物素是细菌中各类营养物质中间代谢所需的辅酶因子^[54]。生物素合成系统是肠炎沙门氏菌应对蛋清抗生物素蛋白的一种策略。研究发现, 蛋清胁迫下肠炎沙门氏菌生物素合成相关基因*bioABCDF*的表达显著上调, 且生物素合酶基因*bioB*缺失以及*bioC*突变均显著降低了肠炎沙门氏菌在蛋清中的存活率^[15,48-49](图2A), 但其他生物素合成相关基因是否发挥重要作用尚不清楚, 需进一步进行功能验证。

3.3.2 细胞膜胁迫响应

肠炎沙门氏菌细胞膜由细胞外膜、肽聚糖和细胞内膜三部分组成, 是抵御蛋清逆境的重要屏障, 也是蛋清中抗菌肽、溶菌酶、蛋白酶等胁迫因子攻击的靶标。蛋清中的防御素(如AvBD11和Gallin)是一类非糖基化、富含半胱氨酸的阳离子抗菌肽, 主要通过静电结合细菌细胞膜形成多聚体孔道, 使得必需离子和营养物泄露, 渗透压失衡, 引起细菌死亡^[55-56]。蛋清中溶菌酶的抑菌机制主要包括3个方面: 水解细胞壁肽聚糖; 与细胞外膜LPS结合, 引发LPS重排, 导致细胞外膜破裂或穿孔; 抑制细菌DNA和RNA的合成^[57-58]。沙门氏菌通过启动自身细胞膜完整性和修复相关机制来应对上述胁迫因子, 如LPS合成、Tol-Pal系统和双组分调控系统(图2B)。

LPS作为沙门氏菌最外层屏障, 能够阻挡蛋清中的抑菌组分与细菌直接接触, 从而对细菌起到保护作用^[59-60]。LPS中O抗原长度、疏水性和多糖部分电荷的改变都可能导致阳离子肽与其结合能力的改变, 从而影响沙门氏菌在蛋清中的存活^[61]。研究发现, 控制O抗原长度相关基因*wzz*和*fepE*以及O抗原合成相关基因*rfaH*和*rfaI*的缺失导致肠炎沙门氏菌在蛋清中的存活能力显著降低甚至死亡^[46]。因此, LPS的完整性和稳定性在肠炎沙门氏菌蛋清抗逆过程中发挥重要作用。

在沙门氏菌等革兰氏阴性菌中, Tol-Pal系统是高度保守的膜蛋白系统之一, 由外膜-肽聚糖相连的脂蛋白Pal、周质蛋白TolB和内膜蛋白复合体TolQRA组成, 将细胞外膜、肽聚糖和内膜固定在一起, 以维持细胞膜完整性和稳定性^[62-63]。前期研究发现, 位于Tol-Pal基因簇上的硫酯酶基因*ybgC*缺失后, 肠炎沙门氏菌在蛋清中的存活数量显著降低, 而该基因回补后菌株存活能力也随之恢复^[51]。此外, 进一步发现*ybgC*基因能够调控细胞膜脂肪酸的组成, 影响细胞外膜渗透性增强和细胞形态, 进而应对蛋清溶菌酶抑菌组分的胁迫^[64], 但该基因的具体作

用机制还需进一步探究。另外,外膜孔道蛋白TolC通过维持肠炎沙门氏菌细胞壁/膜完整性来抵御蛋清逆境^[53]。最新研究发现,多重耐药外排泵转运蛋白AcrD也同样在肠炎沙门氏菌蛋清抗逆中发挥着重要作用^[65]。

双组分调控系统CpxR/A和 σ 因子SigE是细菌应对胞膜胁迫的关键调控因子^[66-67],这两个系统在肠炎沙门氏菌应对蛋清胞膜胁迫和碱性pH值中均显著上调并发挥了重要作用。其中,CpxR蛋白编码基因的缺失使得肠炎沙门氏菌在不同贮藏温度下(4、20、37℃)蛋清中的存活率降低90%以上,表明该蛋白在肠炎沙门氏菌应对蛋清引起的胞膜胁迫响应中发挥了核心调控作用^[16]。另外,该蛋白直接正向调控未知功能基因 $yoaE$ 的表达,通过增强肠炎沙门氏菌对蛋清抗菌肽和碱性pH值的抵抗能力,促进该菌在蛋清中生长增殖^[68]。由此可知,沙门氏菌胞膜完整性和损伤修复能力对其在蛋清中的存活至关重要。

3.3.3 DNA损伤修复

蛋清中含有核酸酶,当细菌细胞膜受损后,核酸酶通过受损的细胞膜进入胞内,降解细菌基因组DNA。研究发现,肠炎沙门氏菌在蛋清逆境中DNA损伤修复相关基因的表达显著上调^[16,49,51],包括同源重组、错配修复、DNA复制修复、碱基切除修复等(图2C)。另外,研究证实 $yafD$ 和 $xthA$ 基因能够显著增强肠炎沙门氏菌在蛋清中的存活,这两个基因可以修复蛋清引起的细菌基因组DNA损伤^[14]。因此,肠炎沙门氏菌能够通过调节自身的DNA损伤修复系统来抵抗蛋清中核酸酶对其基因组DNA的破坏。

3.3.4 碱性pH值适应

鸡蛋贮藏过程中,由于蛋清中二氧化碳通过蛋壳孔释放导致蛋清的pH值呈碱性(pH 9.3~9.5)^[45]。碱性pH值环境会影响沙门氏菌等嗜中性细菌的pH值稳态,从而影响菌体细胞质蛋白功能、跨膜质子动势以及能量代谢^[69-70]。肠炎沙门氏菌应对蛋清碱性pH值环境的潜在机制归纳为以下几方面(图2D):通过调控阳离子/质子泵向胞外排出阳离子如 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} ,并向胞内转运质子来降低胞内pH值;通过氨基酸脱氢酶的作用在胞内产酸性物质并向外排出氨气来降低胞内pH值;催化二氧化碳和水转化成碳酸氢盐和质子来缓冲细胞内pH值;降低能量消耗,减少质子的流失。此外,针对 Na^+/H^+ 反转运泵基因 $nhaA$ 进行缺失与回补,发现该基因对肠炎沙门氏菌在蛋清中存活至关重要^[16]。

3.3.5 渗透胁迫响应

蛋清本身不是一个高渗环境^[9],但由于其碱性pH值特性,细菌会通过调节阳离子/质子反转运泵向胞外排出阳离子,以交换质子进入细胞内,导致细胞质离子浓度降低,从而引起细菌渗透压低于蛋清渗透压。因此,

细菌在蛋清中会受到高渗胁迫(图2E)。研究发现,肠炎沙门氏菌通过调节渗透胁迫感应、渗透保护剂合成和转运相关基因的表达来应对这种压力,如双组分调控系统 $envZ/ompR$ 、海藻糖合成酶基因($otsA$ 、 $otsB$ 、 $treA$ 、 $treF$)、渗透保护剂转运子 $proP$ 、ABC转运子 $proW$ 和 $proV$,这些基因对于肠炎沙门氏菌应对蛋清渗透胁迫可能发挥了重要的调节作用^[71]。此外,渗透诱导蛋白 $osmB$ 和 $osmY$ 以及脂蛋白基因 $nlpI$ 的表达在蛋清中诱导上调。其中,研究证实 $osmB$ 和 $nlpI$ 有利于细菌在高渗透压时维持细胞膜稳定性^[72],这两个基因的诱导表达有助于维持蛋清胁迫中肠炎沙门氏菌细胞膜的完整性和稳定性。

3.3.6 能量代谢

细菌可通过减少自身ATP和质子动力的能量消耗来抵抗外界环境压力^[73]。蛋清胁迫下,肠炎沙门氏菌中参与TCA循环的基因表达发生了显著下调,如延胡索酸还原酶编码基因 $frdABCD$ 和延胡索酸酯酶编码基因 $fumA$ 、 $fumB$ 。同时,电子传递链相关基因 $hypO$ 、 $hyaE$ 、 $hypA$ 、 $cybH$ 、 $hybABDE$ 、 $cyoABCDE$ 、 $nuoABCDEFGHIJKLM$ 的表达也被抑制^[16,51]。由此说明,降低能量消耗也是肠炎沙门氏菌应对蛋清高pH值和缺氧环境的一种策略(图2F)。另外,细菌运动与趋化相关基因(如 $motAB$ 、 $cheAWMRBYZ$ 、 $fliBCDHNL$ 等)的表达下调^[16,51],表明细菌可能通过减少运动性以降低自身的能量消耗来应对蛋清逆境。

综上所述,肠炎沙门氏菌通过营养物质获取、细胞膜胁迫响应、DNA损伤修复、碱性pH值适应、渗透胁迫响应以及能量代谢等多种方式共同作用,抵抗蛋清中的压力因子的胁迫。尽管研究学者发掘出一些发挥重要作用的通路和基因,但对于关键基因的具体作用方式探究还不够深入。另外,尽管通过高通量技术筛选出的多数元件在表达上发生了显著变化,但是否能发挥关键抗逆作用,仍需更进一步功能鉴定。

4 沙门氏菌污染鸡蛋的生物防控

针对沙门氏菌污染鸡蛋这一严重问题,国内外采用物理、化学和生物方法对其进行防控。通过鸡蛋蛋壳表面的杀菌处理如清洗、低温、电解质水、臭氧、微波、紫外线等,可降低微生物污染风险,但也会对鸡蛋品质和营养价值造成一定的负面影响^[8,74-76]。一些新的杀菌技术如脉冲光技术、气体等离子体技术、植物源抗菌剂等也被用于鸡蛋的沙门氏菌防控研究,但还处于探索阶段^[8]。作为污染鸡蛋最重要的血清型,肠炎沙门氏菌主要通过蛋鸡垂直传播方式在鸡蛋内存活增殖,除对蛋壳表面进行杀菌处理以降低微生物污染外,控制沙门氏菌的关键在于降低其在鸡蛋内部的污染,采取生物防控方法降低

沙门氏菌感染是行之有效的措施,当前研究较多的生物防控方法主要为疫苗接种、噬菌体和益生菌治疗等。

4.1 疫苗接种

疫苗接种可以减少或防止沙门氏菌在肠道/生殖道定植,从而减少粪便排菌及在蛋壳表面和蛋内的污染。研究表明,沙门氏菌灭活疫苗、减毒活疫苗、靶向基因突变疫苗以及新型的聚合物纳米颗粒疫苗等可降低鸡体和蛋内致病菌的污染。例如,接种沙门氏菌灭活疫苗 Oilvax[®] SET后,蛋鸡产生高水平抗体,蛋内沙门氏菌的污染降低^[77]。口服免疫沙门氏菌活疫苗 vac[®] E显著降低了鸡蛋内肠炎沙门氏菌的污染水平^[78]。通过喷雾沙门氏菌活疫苗 AviPro[®] Megan[®] Egg可以降低蛋鸡肠炎沙门氏菌的感染率^[79]。然而,活疫苗的安全性是备受关注的问题。近些年,聚合物纳米颗粒疫苗也被用于预防肉鸡和蛋鸡沙门氏菌感染的研究,但相关报道较少,还处于探究阶段^[79]。沙门氏菌减毒活疫苗的研发已从早期的物理或化学诱变到现在的选择性基因突变^[80]。靶向基因突变可以去除细菌的特定功能,从而提高疫苗的安全性。同时,敲除肠炎沙门氏菌在蛋清中存活的关键基因,使得疫苗菌株在蛋清中无法存活,可以降低鸡蛋传播沙门氏菌的风险。研究发现,肠炎沙门氏菌 $\Delta tolC$ 、 $\Delta acrABacrEFmdtABC$ 突变株不仅可以提高疫苗菌株的安全性,还可减少致病菌在蛋鸡肠道内的定植,从而阻止沙门氏菌污染鸡蛋^[80]。面对沙门氏菌污染鸡蛋引发的食品安全严重问题,以及一些新血清型的不断出现,迫切需要继续开发安全高效的新型疫苗菌株。

4.2 噬菌体治疗

随着抗生素的广泛使用甚至滥用,沙门氏菌的耐药性问题日益加剧。噬菌体因其具有来源广泛、分离简单、宿主特异性、繁殖能力强等优点,成为潜在的抗生素替代品,在耐药沙门氏菌的防控上具有较大的开发应用价值。研究表明,裂解性噬菌体处理能够消减鸡肠道内和鸡蛋表面的沙门氏菌^[81-82]。噬菌体 D1-2 能够有效抑制蛋清和蛋黄中多重耐药沙门氏菌的生长^[83]。噬菌体单一使用效果不明显或作用效果持续时间短,“鸡尾酒”疗法即多种噬菌体联合使用可以弥补这些不足,研究发现不同噬菌体混合使用可以显著降低蛋液和蛋壳沙门氏菌的数量,且这些噬菌体混合剂在不同食品基质中具有一定的稳定性^[84-85]。目前,国外已有沙门氏菌噬菌体产品批准使用,如用于食品、食品加工设备和家禽中,控制沙门氏菌的污染^[86-88]。我国目前还没有批准的噬菌体产品。随着研究的不断深入,噬菌体的安全性和稳定性以及细菌抗性的产生等问题会进一步解决,筛选新型噬菌体和噬菌体混合制剂成为生物抗菌方向的研究热点。

4.3 益生菌治疗

益生菌作为饲料补充剂,可通过改善宿主肠道微生

物平衡来减少致病菌定植和入侵,主要的种类有芽孢杆菌、双歧杆菌、肠球菌、乳酸菌以及链球菌等^[89]。据报道,益生菌对沙门氏菌潜在的作用机制主要是竞争肠道黏附位点和营养物质,分泌抗菌物质如细菌素、过氧化氢和挥发性脂肪酸^[90]。已有大量研究证实乳酸菌属能够减少或抑制盲肠中沙门氏菌的定植,进而防控鸡蛋内沙门氏菌的污染^[91-93]。

5 结语

国内外每年由沙门氏菌污染鸡蛋引发的食物中毒事件时有发生,“鸡蛋-沙门氏菌”仍是风险较高的食品-致病菌组合,其中肠炎沙门氏菌是污染鸡蛋的最常见沙门氏菌血清型。目前,关于肠炎沙门氏菌在鸡蛋蛋清中的存活机制研究已取得一些进展,主要存活策略包括铁离子、生物素、氨基酸等营养物质获得、细胞膜胁迫响应、DNA 损伤修复、碱性环境适应、渗透胁迫响应及能量代谢等。在基因水平和蛋白质水平,通过基因定点突变、敲除和回补手段,一些发挥关键作用的基因和蛋白已被鉴定出来,然而,对于关键抗逆元件的具体作用模式解析还不够深入,在代谢层面还缺乏相关机制探究。

针对沙门氏菌在鸡蛋中的存活机制及防控研究,提出几点展望:1) 未来可聚焦关键抗逆元件,深入解析其功能,明确具体作用方式;2) 运用代谢组学技术,从代谢层面识别新的抗逆元件,全面系统地探究肠炎沙门氏菌在蛋清中的存活机制;3) 除肠炎沙门氏菌外,近年来其他沙门氏菌血清型污染鸡蛋导致的食物中毒事件也有发生,关于这些血清型的危害不可忽视,可探究这些新发血清型在鸡蛋中的生存情况;4) 当前蛋鸡的疫苗接种仍是防控沙门氏菌污染鸡蛋的重要方式,挖掘的关键抗逆基因可作为候选基因用于新疫苗的研发。

参考文献:

- [1] SEIF Y, KAVVAS E, LACHANCE J C, et al. Genome-scale metabolic reconstructions of multiple *Salmonella* strains reveal serovar-specific metabolic traits[J]. Nature Communications, 2018, 9(1): 3771. DOI:10.1038/s41467-018-06112-5.
- [2] LI Y, YANG X R, ZHANG H N, et al. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Salmonella* in the commercial eggs in China[J]. International Journal of Food Microbiology, 2020, 325: 108623. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108623.
- [3] European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union one health 2019 zoonoses report[J]. EFSA Journal, 2021, 19(2): 6406. DOI:10.2903/j.efsa.2021.6406.
- [4] BRADEN C R. *Salmonella enterica* Serotype Enteritidis and eggs: a national epidemic in the United States[J]. Clinical Infectious Diseases, 2006, 43(4): 512-517. DOI:10.1086/505973.
- [5] HOFFMAN S, DEVLEESSCHAUWER B, ASPINALL W, et al. Attribution of global foodborne disease to specific foods: findings from

- a World Health Organization structured expert elicitation[J]. PLoS ONE, 2017, 12(9): e1083641. DOI:10.1371/journal.pone.0183641.
- [6] China, NBS. China Statistical Yearbook 2016[R]. Beijing: China Statistics Press, 2016.
- [7] 赵志晶, 刘秀梅. 中国带壳鸡蛋中沙门氏菌定量危险性评估的初步研究: II.危害特征的描述与危险性特征的描述[J]. 中国食品卫生杂志, 2004, 16(4): 295-300. DOI:10.13590/j.cjfh.2004.04.002.
- [8] GALIS A M, MARCQ C, MARLIER D, et al. Control of *Salmonella* contamination of shell eggs-preharvest and postharvest methods: a review[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2013, 12(2): 155-182. DOI:10.1111/1541-4337.12007.
- [9] BARON F, NAU F, GUÉRIN-DUBIARD C, et al. Egg white versus *Salmonella* Enteritidis! A harsh medium meets a resilient pathogen[J]. Food Microbiology, 2016, 53: 82-93. DOI:10.1016/j.fm.2015.09.009.
- [10] 刘理虹, 周秀娟, 王妍妍, 等. 肠炎沙门氏菌在贮藏鸡蛋蛋清中生动力学模型的建立[J]. 中国食品学报, 2018, 18(3): 163-168. DOI:10.16429/j.1009-7848.2018.03.022.
- [11] GANTOIS I, DUCATELLE R, PASMANS F, et al. Mechanisms of egg contamination by *Salmonella* Enteritidis[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2009, 33(4): 718-738. DOI:10.1111/j.1574-6976.2008.00161.x.
- [12] 李卓阳, 郭荣显, 孟闯, 等. 肠炎沙门氏菌与鸡蛋: 污染机制、危害分析及生物防控[J]. 中国家禽, 2018, 40(17): 40-44. DOI:10.16372/j.issn.1004-6364.2018.17.009.
- [13] CLAVIJO R I, LOUI C, ANDERSEN G L, et al. Identification of genes associated with survival of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis in chicken egg albumen[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2006, 72(2): 1055-1064. DOI:10.1128/AEM.72.2.1055-1064.2006.
- [14] LU S W, KILLORAN P B, RILEY L W. Association of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis *yafD* with resistance to chicken egg albumen[J]. Infection and Immunity, 2003, 71(12): 6734-6741. DOI:10.1128/IAI.71.12.6734-6741.2003.
- [15] RASPOET R, SHEARER N, APPIA-AYME C, et al. A genome-wide screen identifies *Salmonella* Enteritidis lipopolysaccharide biosynthesis and the HtrA heat shock protein as crucial factors involved in egg white persistence at chicken body temperature[J]. Poultry Science, 2014, 93(5): 1263-1269. DOI:10.3382/ps.2013-03711.
- [16] HUANG X Z, ZHOU X J, JIA B, et al. Transcriptional sequencing uncovers survival mechanisms of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis in antibacterial egg white[J]. mSphere, 2019, 4(1): e00700-18. DOI:10.1128/mSphere.00700-18.
- [17] HUTCHISON M L, GITTINS J, WALKER A, et al. An assessment of the microbiological risks involved with egg washing under commercial conditions[J]. Journal of Food Protection, 2004, 67(1): 4-11. DOI:10.4315/0362-028X-67.1.4.
- [18] KEENER K M, LACROSSE J D, FARKAS B E, et al. Gas exchange into shell eggs from cryogenic cooling[J]. Poultry Science, 2000, 79(2): 275-280. DOI:10.1093/ps/79.2.275.
- [19] GAST R K, HOLT P S. Influence of the level and location of contamination on the multiplication of *Salmonella* Enteritidis at different storage temperatures in experimentally inoculated eggs[J]. Poultry Science, 2000, 79(4): 559-563. DOI:10.1093/ps/79.4.559.
- [20] KHAN S, MCWHORTER A R, MOYLE T S, et al. Refrigeration of eggs influences the virulence of *Salmonella* Typhimurium[J]. Scientific Reports, 2001, 11(1): 18026. DOI:10.1038/s41598-021-97135-4.
- [21] 包红朵, 呼圣杰, 王冉. 沙门氏菌噬菌体在动物和食品中的生物防控研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(2): 605-611. DOI:10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/2022.02.023.
- [22] KEENER K M. Egg innovations and strategies for improvements[M]. Salt Lake City: Academic Press, 2017: 165-175. DOI:10.1016/B978-0-12-800879-9.00016-0.
- [23] FORD L, WANG Q N, STAFFORD R, et al. Seven *Salmonella* Typhimurium outbreaks in Australia linked by trace-back and whole genome sequencing[J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2018, 15(5): 285-292. DOI:10.1089/fpd.2017.2353.
- [24] SAMIULLAH, CHOUSALKAR K K, ROBERTS J R, et al. Effects of egg shell quality and washing on *Salmonella* Infantis penetration[J]. International Journal of Food Microbiology, 2013, 165(2): 77-83. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2013.05.002.
- [25] MOFFATT C R M, MOUSTO J, PINGAULT N, et al. *Salmonella* Typhimurium and outbreaks of egg-associated disease in Australia, 2001 to 2011[J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2016, 13(7): 379-385. DOI:10.1089/fpd.2015.2110.
- [26] Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Multistate outbreak of *Salmonella* Braenderup infections linked to rose acre farms shell eggs[EB/OL]. (2018-07-26)[2022-11-15]. <https://www.cdc.gov/Salmonella/braenderup-04-18/>.
- [27] MASON B W, WILLIAMS N, SALMON R L, et al. Outbreak of *Salmonella* Indiana associated with egg mayonnaise sandwiches at an acute NHS hospital[J]. Communicable Disease and Public Health, 2001, 4(4): 300-304.
- [28] ZHANG Y W, LIU K K, ZHANG Z B, et al. A severe gastroenteritis outbreak of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis linked to contaminated egg fried rice, China, 2021[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 12: 779749. DOI:10.3389/fmicb.2022.847423.
- [29] Food Standards Australia New Zealand. *Salmonella* Enteritidis (SE) linked to eggs[EB/OL]. (2019-06-17)[2022-11-15]. <https://www.foodstandards.gov.au/consumer/safety/Pages/Salmonella-Enteritidis-linked-to-eggs.aspx>.
- [30] Gulf Business. Dubai closes restaurant after 15 affected by *Salmonella* outbreak[EB/OL]. (2019-09-26)[2022-11-15]. <https://gulfbusiness.com/dubai-closes-restaurant-15-affected-Salmonella-outbreak/>.
- [31] Food Safety News. Belgian *Salmonella* outbreak traced to tartar sauce[EB/OL]. (2019-09-25)[2022-11-15]. <https://www.foodsafetynews.com/2019/09/belgian-Salmonella-outbreak-traced-to-tartare-sauce/>.
- [32] MACKIN K M. *Salmonella* outbreak in Chile linked to homemade mayo[EB/OL]. (2018-01-11)[2022-11-15]. <https://www.foodsafetynews.com/2018/01/Salmonella-outbreak-in-chile-linked-to-homemade-mayo/>.
- [33] 周如意, 古丽斯, 章志斌, 等. 社区蛋糕店一起沙门氏菌食物中毒事件的流行病学调查[J]. 实用预防医学, 2019, 26(8): 947-950. DOI:10.3969/j.issn.1006-3110.2019.08.014.
- [34] Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Outbreak of *Salmonella* infections linked to gravel ridge farms shell eggs[EB/OL]. (2018-10-25)[2022-11-15]. <https://www.cdc.gov/Salmonella/enteritidis-09-18/index.html>.
- [35] WHITWORTH J. Australian officials report *Salmonella* outbreak in Sydney linked to shell eggs[EB/OL]. (2018-09-11)[2022-11-15]. <https://www.foodsafetynews.com/2018/09/Salmonella-outbreak-in-australian-state-linked-to-eggs/>.
- [36] WHITWORTH J. U.K. reports more *Salmonella* cases linked to Polish eggs[EB/OL]. (2019-05-30)[2022-11-15]. <https://www.foodsafetynews.com/2019/05/u-k-reports-more-Salmonella-cases-linked-to-polish-eggs/>.

- [37] KENNY B, MILLER M J, MCEVOY V, et al. A protracted outbreak of *Salmonella* Hessearek infection associated with one brand of eggs: South Australia, March 2017–July 2018[J]. Communicable Diseases Intelligence, 2019, 43: 43. DOI:10.33321/cdi.2019.43.22.
- [38] ASHTON P M, PETERS T, AMEH L, et al. Whole genome sequencing for the retrospective investigation of an outbreak of *Salmonella* Typhimurium DT8[J]. PLoS Currents, 2015, 7(6): e62. DOI:10.1371/currents.outbreaks.2c05a47d292f376afc5a6fcd8a7a3b6.
- [39] ZHOU X J, HE S K, SONG Q F, et al. Phenotypic and genotypic characterization of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis isolates associated with a mouse cake-related outbreak of gastroenteritis in Ningbo, China[J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2015, 12(5): 433-440. DOI:10.1089/fpd.2014.1896.
- [40] ZIELICKA-HARDY A, ZAROWNA D, SZYCH J, et al. Ensuring safety of home-produced eggs to control salmonellosis in Poland: lessons from an outbreak in September 2011[J]. Eurosurveillance, 2012, 17(47): 20319. DOI:10.2807/ese.17.47.20319-en.
- [41] HRIVNIAKOVA L, SCHMID D, LUCKNER-HORNISCHER A, et al. Salmonellosis outbreak due to *Salmonella* Enteritidis phage type 14b resistant to nalidixic acid, Austria, September 2010[J]. Eurosurveillance, 2011, 16(34): 19952. DOI:10.2807/ese.16.34.19952-en.
- [42] ZHANG W, ZHENG J X, XU G Y. Toward better control of *Salmonella* contamination by taking advantage of the egg's self-defense system: a review[J]. Journal of Food Science, 2011, 76(3): R76-R81. DOI:10.1111/j.1750-3841.2011.02053.x.
- [43] DE REU K, MESSENS W, HEYNDRICKX M, et al. Bacterial contamination of table eggs and the influence of housing systems[J]. World's Poultry Science Journal, 2008, 64(1): 5-19. DOI:10.1017/S0043933907001687.
- [44] DE VYLDER J, RASPOET R, DEWULF J, et al. *Salmonella* Enteritidis is superior in egg white survival compared with other *Salmonella* serotypes[J]. Poultry Science, 2013, 92(3): 842-845. DOI:10.3382/ps.2012-02668.
- [45] ALABDEH M, LECHEVALIER V, NAU F, et al. Role of incubation conditions and protein fraction on the antimicrobial activity of egg white against *Salmonella* Enteritidis and *Escherichia coli*[J]. Journal of Food Protection, 2021, 74(1): 24-31. DOI:10.4315/0362-028X.JFP-10-157.
- [46] GANTOIS I, DUCATELLE R, PASMANS F, et al. *Salmonella enterica* serovar Enteritidis genes induced during oviduct colonization and egg contamination in laying hens[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2008, 74(21): 6616-6622. DOI:10.1128/AEM.01087-08.
- [47] JAKOCIUNE D, HERRERO-FRESNO A, JELSBK L, et al. Highly expressed amino acid biosynthesis genes revealed by global gene expression analysis of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis during growth in whole egg are not essential for this growth[J]. International Journal of Food Microbiology, 2016, 224: 40-46. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2016.02.015.
- [48] WANG Yanyan, JIA Ben, XU Xuebin, et al. Comparative genomic analysis and characterization of two *Salmonella enterica* serovar Enteritidis isolates from poultry with notably different survival abilities in egg whites[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 2111. DOI:10.3389/fmicb.2018.02111.
- [49] BARON F, BONNASSIE S, ALABDEH M, et al. Global gene-expression analysis of the response of *Salmonella enteritidis* to egg white exposure reveals multiple egg white-imposed stress responses[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 829. DOI:10.3389/fmicb.2017.00829.
- [50] LIU B, HOU W W, LI K, et al. Specific gene *SEN1393* contributes to higher survivability of *Salmonella* Enteritidis in egg white by regulating sulfate assimilation pathway[J]. International Journal of Food Microbiology, 2021, 337: 108927. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108927.
- [51] QIN X J, HE S K, ZHOU X J, et al. Quantitative proteomics reveals the crucial role of YbgC for *Salmonella enterica* serovar Enteritidis survival in egg white[J]. International Journal of Food Microbiology, 2019, 289: 115-126. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2018.08.010.
- [52] KANG H, LOUI C, CLAVIJO R I, et al. Survival characteristics of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis in chicken egg albumen[J]. Epidemiology and Infection, 2006, 134(5): 967-976. DOI:10.1017/S0950268806006054.
- [53] RASPOET R, EECKHAUT V, VERMEULEN K, et al. The *Salmonella* Enteritidis TolC outer membrane channel is essential for egg white survival[J]. Poultry Science, 2019, 98(5): 2281-2289. DOI:10.3382/ps/pey584.
- [54] SIRITHANAKORN C, CRONAN J E. Biotin, a universal and essential cofactor: synthesis, ligation and regulation[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2021, 45(4): fuab003. DOI:10.1093/femsre/fuab003.
- [55] MANN K. The chicken egg white proteome[J]. Proteomics, 2007, 7(19): 3558-3568. DOI:10.1002/pmic.200700397.
- [56] HERVE-GREPINET V, REHAULT-GODBERT S, LABAS V, et al. Purification and characterization of avian beta-defensin 11, an antimicrobial peptide of the hen egg[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2010, 54(10): 4401-4409. DOI:10.1128/AAC.00204-10.
- [57] MASSCHALCK B, MICHIELS C W. Antimicrobial properties of lysozyme in relation to foodborne vegetative bacteria[J]. Critical Reviews in Microbiology, 2003, 29(3): 191-214. DOI:10.1080/713610448.
- [58] AGUILERA O, QUIROS L M, FIERRO J F. Transferrins selectively cause ion efflux through bacterial and artificial membranes[J]. FEBS Letters, 2004, 560(1/2/3): 226-226. DOI:10.1016/S0014-5793(04)00062-6.
- [59] ROJAS E R, BILLINGS G, ODERMATT P D, et al. The outer membrane is an essential load-bearing element in Gram-negative bacteria[J]. Nature, 2018, 559: 617-621. DOI:10.1038/s41586-018-0344-3.
- [60] WHITFIELD C, TRENT M S. Biosynthesis and export of bacterial lipopolysaccharides[J]. Annual Review of Biochemistry, 2014, 83: 99-128. DOI:10.1146/annurev-biochem-060713-035600.
- [61] MATAMOUROS S, MILLER S I. S. Typhimurium strategies to resist killing by cationic antimicrobial peptides[J]. Biochimica et Biophysica Acta-Biomembranes, 2015, 1848(11): 3021-3025. DOI:10.1016/j.bbmem.2015.01.013.
- [62] EGAN A J F. Bacterial outer membrane constriction[J]. Molecular Microbiology, 2018, 107(6): 676-687. DOI:10.1111/mmi.13908.
- [63] MASILAMANI R, CIAN M B, DALEBROUX Z D. *Salmonella* Tol-Pal reduces outer membrane glycerophospholipid levels for envelope homeostasis and survival during bacteremia[J]. Infection and Immunity, 2018, 86(7): e00173. DOI:10.1128/IAI.00173-18.
- [64] QIN X J, DONG R, HE S K, et al. Characterization of the role of ybgC in lysozyme resistance of *Salmonella* Enteritidis[J]. Food Control, 2020, 109: 106732. DOI:10.1016/j.foodcont.2019.105732.
- [65] QIN X J, LIU Y H, SHI X M. Resistance-nodulation-cell division (RND) transporter AcrD confers resistance to egg white in *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis[J]. Foods, 2022, 11(1): 90. DOI:10.3390/foods11010090.
- [66] GRABOWICZ M, SILHAVY T J. Envelope stress responses: an interconnected safety net[J]. Trends in Biochemical Sciences, 2017, 42(3): 232-242. DOI:10.1016/j.tibs.2016.10.002.

- [67] RUIZ N, SILHAVY T J. Sensing external stress: watchdogs of the *Escherichia coli* cell envelope[J]. Current Opinion in Microbiology, 2005, 8(2): 122-126. DOI:10.1016/j.mib.2005.02.013.
- [68] HUANG X Z, HU M J, ZHOU X J, et al. Role of *yoeE* gene regulated by CpxR in the survival of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis in antibacterial egg white[J]. mSphere, 2020, 5(1): e00638-19. DOI:10.1128/mSphere.00638-19.
- [69] PADAN E, BIBI E, ITO M, et al. Alkaline pH homeostasis in bacteria: new insights[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2005, 1717(2): 67-88. DOI:10.1016/j.bbame.2005.09.010.
- [70] KRULWICH T A, SACHS G, PADAN E. Molecular aspects of bacterial pH sensing and homeostasis[J]. Nature Reviews Microbiology, 2011, 9(5): 330-343. DOI:10.1038/nrmicro2549.
- [71] ALTENDORF K, BOOTH I R, GRALLA J, et al. Osmotic stress[J]. EcoSal Plus, 2009, 3(2): 1-41. DOI:10.1128/ecosalplus.5.4.5.
- [72] CHAROENWONG D, ANDREWS S, MACKEY B. Role of *rpoS* in the development of cell envelope resilience and pressure resistance in stationary-phase *Escherichia coli*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77(15): 5220-5229. DOI:10.1128/AEM.00648-11.
- [73] MINAMINO T, MORIMOTO Y V, KINOSHITA M, et al. The bacterial flagellar protein export apparatus processively transports flagellar proteins even with extremely infrequent ATP hydrolysis[J]. Scientific Reports, 2015, 4: 7579. DOI:10.1038/srep07579.
- [74] MATTIOLI S, ORTENZI R, SCUOTA S, et al. Impact of ozone and UV irradiation sanitation treatments on the survival of *Salmonella* and the physical-chemical characteristics of hen eggs[J]. Journal of Applied Poultry Research, 2020, 29(2): 409-419. DOI:10.1016/j.japr.2020.01.004.
- [75] AFARI G K, HUNG Y. A meta-analysis on the effectiveness of electrolyzed water treatments in reducing foodborne pathogens on different foods[J]. Food Control, 2018, 93: 150-164. DOI:10.1016/j.foodcont.2018.06.009.
- [76] LAKINS D G, ALVARADO C Z, THOMPSON L D, et al. Reduction of *Salmonella* Enteritidis in shell eggs using directional microwave technology[J]. Poultry Science, 2008, 87(5): 985-991. DOI:10.3382/ps.2007-00393.
- [77] OKAMURA M, TACHIZAKI H, KUBO T, et al. Comparative evaluation of a bivalent killed *Salmonella* vaccine to prevent egg contamination with *Salmonella enterica* serovars Enteritidis, Typhimurium, and Gallinarum biovar Pullorum, using 4 different challenge models[J]. Vaccine, 2007, 25(25): 4837-4844. DOI:10.1016/j.vaccine.2007.03.004.
- [78] GANTOIS I, DUCATELLE R, TIMBERMONT L, et al. Oral immunization of laying hens with the live vaccine strains of TAD *Salmonella* vac(R)E and TAD *Salmonella* vac(R)T reduces internal egg contamination with *Salmonella* Enteritidis[J]. Vaccine, 2006, 24(37/38/39): 6250-6255. DOI:10.1016/j.vaccine.2006.05.070.
- [79] ACEVEDO-VILLANUEVA K Y, AKERELE G O, AI HAKEEM W G, et al. A novel approach against *Salmonella*: a review of polymeric nanoparticle vaccines for broilers and layers[J]. Vaccines, 2021, 9(9): 1041. DOI:10.3390/vaccines9091041.
- [80] KILROY S, RASPOET R, HAESBROUCK F, et al. Prevention of egg contamination by *Salmonella* Enteritidis after oral vaccination of laying hens with *Salmonella* Enteritidis *AtolC* and *AacrABacrEFmdtABC* mutants[J]. Veterinary Research, 2016, 47: 82. DOI:10.1186/s13567-016-0369-2.
- [81] BORIE C, HAUVA C, QUIROGA J, et al. Bacteriophage use in laying hens infected with *Salmonella enterica* serovar Enteritidis: prevention of intestinal and reproductive colonization[J]. Archivos de Medicina Veterinaria, 2011, 43(1): 85-89. DOI:10.4067/S0301-732X2011000100012.
- [82] KIM J H, KIM J W, SHIN H S, et al. Effect of dietary supplementation of bacteriophage on performance, egg quality and caecal bacterial populations in laying hens[J]. British Poultry Science, 2015, 56(1): 132-136. DOI:10.1080/00071668.2014.991272.
- [83] LI Z W, MA W J, LI W N, et al. A broad-spectrum phage controls multidrug-resistant *Salmonella* in liquid eggs[J]. Food Research International, 2020, 132: 109011. DOI:10.1016/j.foodres.2020.109011.
- [84] SPRICIGO D A, BARDINA C, CORTES P, et al. Use of a bacteriophage cocktail to control *Salmonella* in food and the food industry[J]. International Journal of Food Microbiology, 2013, 165(2): 169-174. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2013.05.009.
- [85] SRITHA K S, BHAT S G. *In vitro* efficiency evaluation of phage cocktail for biocontrol of *Salmonella* spp. in food products[J]. Archives of Microbiology, 2021, 203(9): 5445-5452. DOI:10.1007/s00203-021-02522-0.
- [86] GOODRIDGE L D, BISHA B. Phage-based biocontrol strategies to reduce foodborne pathogens in foods[J]. Bacteriophage, 2011, 1(3): 130-137. DOI:10.4161/bact.1.3.17629.
- [87] MONK A B, REES C D, BARROW P, et al. Bacteriophage applications: Where are we now?[J]. Letters Applied Microbiology, 2010, 51(4): 363-369. DOI:10.1111/j.1472-765X.2010.02916.x.
- [88] OH J H, PARK M K. Recent trends in *Salmonella* outbreaks and emerging technology for biocontrol of *Salmonella* using phages in foods: a review[J]. Journal Microbiology and Biotechnology, 2018, 27(12): 2075-2088. DOI:10.4014/jmb.1710.10049.
- [89] PATTERSON J A, BURKHOLDER K M. Application of prebiotics and probiotics in poultry production[J]. Poultry Science, 2003, 82(4): 627-631. DOI:10.1093/ps/82.4.627.
- [90] VANDEPLAS S, DUBOIS D R, BECKERS Y, et al. *Salmonella* in chicken: current and developing strategies to reduce contamination at farm level[J]. Journal of Food Protection, 2010, 73(4): 774-785. DOI:10.4315/0362-028X-73.4.774.
- [91] TELLEZ G, PETRONE V M, ESCORCIA M, et al. Evaluation of avian-specific probiotic and *Salmonella* Enteritidis-, *Salmonella* Typhimurium-, and *Salmonella* Heidelberg-specific antibodies on cecal colonization and organ invasion of *Salmonella* Enteritidis in broilers[J]. Journal of Food Protection, 2001, 64(3): 287-291. DOI:10.4315/0362-028X-64.3.287.
- [92] AMMOR M S, FLOREZ B A, MAYO B. Antibiotic resistance in non-enterococcal lactic acid bacteria and bifidobacteria[J]. Food Microbiology, 2007, 24(6): 559-570. DOI:10.1016/j.fm.2006.11.001.
- [93] LIMA E T, ANDREATTI FIHO R L, OKAMOTO A S, et al. Evaluation *in vitro* of the antagonistic substances produced by *Lactobacillus* spp. isolated from chickens[J]. Canadian Journal of Veterinary-Revue Canadienne de Recherche Veterinaire, 2007, 71(2): 103-107.