

实验技术与方法

不同培养条件对食源性沙门菌生物被膜形成影响

张强¹, 吕泽洵¹, 苏丽¹, 张旭¹, 王逸凡¹, 曹梦园¹, 陈佳², 杜双奎¹, 吕欣¹, 杨保伟¹

(1. 西北农林科技大学 食品科学与工程学院, 陕西 杨凌 712100; 2. 石家庄学院化工学院, 河北 石家庄 050035)

摘要:目的 了解培养条件对沙门菌生物膜形成的影响, 为确保食品安全提供理论支持。方法 利用刚果红结合结晶紫染色法, 从400株食源性沙门菌中筛选出产生物被膜(BF)菌株, 扫描电镜观察BF的形态, 全基因组测序确定BF形成相关基因, 采用试管培养法和微孔板定量法测定沙门菌BF形成情况, 探究不同培养时间、培养基类型、葡萄糖含量、蛋白胨含量和维生素B₁(VB₁)含量对沙门菌BF形成的影响。结果 与LB培养基中生物膜形成量相比, 筛选出的8株(2.00%)产BF沙门菌在BHI培养基中培养96 h后, BF形成量最大; 在BJ44D、ZZSR2-2008、NYSR94-08和yl19Ta中均检出15个与BF形成相关基因(*trx2*、*fadI*、*bsmA*、*bssS*、*tabA*、*bcsE*、*csgD*、*csgA*、*B*、*C*、*seqA*、*dam*、*fliZ*、*fliH*和*motB*)。以BHI为基础培养基, 补充0.6%或0.8%葡萄糖、4.0%蛋白胨、50 mg/L VB₁后沙门菌BF的形成量显著增加($P<0.05$)。结论 不同培养条件对沙门菌BF形成影响显著, 且具有菌株特异性, 可为食品生产链中沙门菌BF形成和控制提供理论依据。

关键词: 沙门菌; 生物被膜形成; 培养条件; 营养条件

中图分类号: R155 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2025)03-0224-08

DOI: 10.13590/j.cjfh.2025.03.003

Effect of different culture time, culture medium and nutrients on biofilm formation of foodborne *Salmonella*ZHANG Qiang¹, LYU Zexun¹, SU Li¹, ZHANG Xu¹, WANG Yifan¹, CAO Mengyuan¹, CHEN Jia²,
DU Shuangkui¹, LYU Xin¹, YANG Baowei¹

(1. College of Food Science and Engineering, Northwest A&F University, Shaanxi Yangling 712100, China; 2. College of Chemical Engineering, Shijiazhuang College, Hebei Shijiazhuang 050035, China)

Abstract: **Objective** To understand the influence of cultivation conditions on the formation of *Salmonella* biofilm and provide basis for ensure food safety. **Methods** Congo red staining and crystal violet staining method were used to screen biofilm (BF) formation strains from 400 foodborne *Salmonella*. Scanning electron microscope was applied to observe BF formation. Whole-genome sequencing analysis was used to identify BF formation related genes. Tube culture and microplate quantitative detection methods were used to determine BF formation of *Salmonella* under different culture conditions. The effect of different culture time, medium type, glucose content, peptone content and Vitamin B₁ (VB₁) content to *Salmonella* BF formation were studied. **Results** Eight (2.00%) BF-forming *Salmonella* isolates were obtained. Compared to LB medium, BHI was more suitable for BF formation for *Salmonella*. When cultured for 96 h, the BF formation of *Salmonella* on BHI was much more than that on LB. Fifteen BF-related genes including *trx2*, *fadI*, *bsmA*, *bssS*, *tabA*, *bcsE*, *csgD*, *csgA*, *B*, *C*, *seqA*, *dam*, *fliZ*, *fliH* and *motB* were detected in BJ44D, ZZSR2-2008, NYSR94-08 and yl19Ta. The best BF formation nutrient conditions for *Salmonella* were that 0.6% or 0.8% glucose, 4.0% peptone, and 50 mg/L VB₁ were respectively supplemented in BHI broth ($P<0.05$). **Conclusion** It is indicated that different culture conditions significantly correlated with BF formation of *Salmonella* and have strain-specificity, and can provide theoretical basis for BF formation control of *Salmonella* in the food production chain.

Key words: *Salmonella* spp.; biofilm formation; culture conditions; nutrition conditions

收稿日期: 2022-08-08

基金项目: “十三五”国家重点研发计划项目(2017YFC1601400)

作者简介: 张强 男 高级实验师 研究方向为食源性微生物安全和防控研究 E-mail: zhqiang001@nwsuaf.edu.cn

通信作者: 杨保伟 男 教授 研究方向为食品安全研究 E-mail: ybwsheng@nwafu.edu.cn

沙门菌(*Salmonella*)是一种常见的食源性致病菌,会引起腹泻、胃肠炎甚至败血症等严重疾病^[1]。在欧洲,2019年沙门菌病患率达到20例/10万人^[2]。在美国,每年约有135万人感染沙门菌,其中约26500人住院,约420人死亡^[3]。2014—2018年,我国腹泻患者中因沙门菌感染的比例为14.94%^[4]。研究表明,约80%的沙门菌和细菌感染与其形成生物被膜(Biofilm, BF)有关^[5-6]。

BF是微生物细胞与胞外聚合物等物质形成的结构性群落^[7],具有高抗逆性,可以保护细菌细胞不易受到抗菌剂及宿主免疫反应的影响^[8-9]。研究表明,分离自肉类、食品销售和加工环境中的沙门菌具有很强的BF形成能力^[10-11],且沙门菌能在整个食品供应链中持续存在,也与其形成BF有关^[5]。因此,在食品产业链中,应当重视能形成BF的沙门菌。

沙门菌BF形成能力与遗传因素存在一定的关系,*cdg*、*trx*、*fad I*、*rtx*、*bsmA*、*bssS*、*tabA*、*bcsE*、*csg*、*seqA*、*dam*、*fliZ*、*fliD*和*motB*基因对沙门菌BF形成至关重要^[12-17]。然而,DANTAS等^[18]发现,即使菌株携带与生物膜形成相关基因,但仅有部分菌株可形成BF,外界因素对BF形成影响显著。目前,关于不同培养时间及不同营养物质对沙门菌BF形成影响的研究相对较少^[19-22]。

本研究采用刚果红-结晶紫染色相结合的方法,筛选出产BF沙门菌后,通过扫描电镜(Scanning electron microscope, SEM)观察菌株的BF态形态。通过全基因组测序确定BF相关基因,探究培养时间、培养基类型、葡萄糖浓度、蛋白胨浓度以及维生素B₁(VB₁)对沙门菌产BF的影响,比较菌株之间BF形成的差异,为食品加工、贮藏以及销售过程中控制沙门菌BF的形成提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株来源

供试菌株为西北农林科技大学食品科学与工程学院微生物食品安全实验室保存的400株食源性沙门菌,参照菌株为典型的产BF金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, SA),均于-80℃保存。

1.1.2 主要仪器与试剂

NU-425-400E超净工作台(苏州净化设备有限公司);GNP-9080隔水式恒温培养箱;MDF-U5411高压灭菌锅;V-1100D可见分光光度计;spark03030923酶标仪(奥地利 Tecan Austria GmbH);S-3400N扫描电子显微镜。

氯化钠、甲醇、乙醇、冰醋酸、结晶紫购于广东

光华科技股份有限公司;戊二醛购于北京索莱宝科技有限公司;刚果红购于上海山浦化工有限公司;Luria-Bertani(LB)琼脂培养基、脑浸心液(Brain heart infusion, BHI)培养基购于北京陆桥生物技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 产BF沙门菌的筛选

刚果红染色法初筛:将沙门菌划线接种于LB平板,37℃培养12~16h;活化后挑取单菌落划线于BHI平板,37℃培养24h;室温放置24h后,加入5mL 0.08%刚果红染液对菌落染色30s,如菌落及周围颜色变红,菌落表面粗糙,则判定为产BF。不产BF菌株菌落周围无颜色变化。

结晶紫染色法确证:挑取活化后的单菌落接种于装有5mL BHI肉汤的玻璃试管,37℃静置培养48h;弃液体,用NaCl含量为0.85%的无菌生理盐水轻轻地冲洗试管;加入适量甲醇固定5min;弃甲醇,晾干;加入0.1%结晶紫染液染色5min后,弃染液。产BF菌株会在菌液液面与试管接触处形成紫色菌圈,不产BF菌株不会出现紫色圈。形成紫色圈窄而细则判定为产BF量较低,粗而厚实则判定为产BF量较高,最粗最厚实则判断为产BF量最高。

扫描电镜检测验证:挑选代表菌株,用2.5%戊二醛固定4h后,使用梯度乙醇脱水(10%、30%、50%、70%、80%和90%),15~20min/次;再用100%的乙醇脱水3次,30min/次;CO₂干燥、粘台、喷金后上样,用SEM观察。

1.2.2 全基因组测序和结果分析

挑选产BF沙门菌菌株,使用细菌基因组核酸提取试剂盒提取基因组DNA,并送至上海美吉生物医药科技有限公司使用Illumina Hi Seq技术进行全基因组测序,使用SPAdes v3.14.0进行组装。使用Prokka v1.13.4进行基因注释。

1.2.3 培养时间和培养基类型对BF形成的影响

培养时间:采用结晶紫染色法,使用BHI肉汤培养,将静置培养时间分别延长到72、96h,同法测定BF形成情况。

培养基类型:采用结晶紫染色法,分别使用BHI和LB2种肉汤培养基对沙门菌进行培养,同法测定BF形成情况。

1.2.4 不同营养条件对沙门菌BF形成的影响

葡萄糖浓度:参照COFFEY和ANDERSON^[23]方法,挑取活化后的单菌落接种于含5mL BHI肉汤的离心管中,37℃培养24h;用新鲜无菌BHI肉汤将菌悬液调至0.5麦氏浊度;向96孔板中分别加入100μL使用葡萄糖调整后其浓度不同(0.2%、

0.4%、0.6%、0.8% 和 1.0%) 的 BHI 肉汤,再向每孔分别加入 10 μ L 菌悬液,封口膜密封,37 $^{\circ}$ C 恒湿培养 96 h;弃液体,用无菌生理盐水轻轻地冲洗;加入 200 μ L 甲醇固定 15 min;弃甲醇,晾干;加入 200 μ L 0.1% 结晶紫染色 5 min,弃染液;生理盐水清洗 3 次,晾干;加入 200 μ L 33% 冰醋酸溶液溶解结晶紫,使用酶标仪测定 OD₆₀₀ 吸光度值。

蛋白胨浓度:除向 96 孔板中分别加入的 BHI 肉汤为使用蛋白胨调整后其浓度分别为 1%、2%、3%、4% 和 5% 外,菌株活化、接种和培养及 BF 测定等同葡萄糖浓度。

不同 VB₁ 浓度的影响:除向 96 孔板中分别加入的 BHI 肉汤为 100 μ L 使用 VB₁ 调整后其浓度分别为 0、50、100、150 和 200 mg/L 外,菌株活化、接种和培养及 BF 测定等同葡萄糖浓度。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 26.0 软件进行统计学分析,结果均进行 3 次平行试验,结果以均值 $\pm$ 标准偏差表示;组间比较采用单因素方差分析和多重比较, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 产 BF 沙门菌

使用刚果红染色和结晶紫染色法,从 400 株食源沙门菌中筛选出 8 株(2.00%)可形成 BF 的菌株(表 1)。菌株 NYSR94-08、S8xc001a 和 BJ44D 形成的 BF 为供试菌形成的 BF 的典型代表,可以清晰地观察到 BF 的网状结构,细胞表面粗糙。相较于 S8xc001a 和 BJ44D, NYSR94-08 菌株细胞分布比较分散。见图 1。

2.2 生物膜形成相关基因

将菌株 BJ44D、ZZSR2-2008、NYSR94-08 和 y119Ta 组装好的序列使用 Prokka v1.13.4 进行基因注释,发现 4 株沙门菌均携带 15 个与 BF 形成相关的基因,分别为 *trx2*(编码硫氧还原蛋白基因)、*fadL*

表 1 培养时间和培养基类型对食源性沙门菌 BF 形成的影响
Table 1 Effects of incubation time and type of medium on the biofilm formation of foodborne *Salmonella*

菌株编号	来源	采样地点	血清型	培养时间/h		培养基类型	
				72	96	BHI	LB
S8xc001a	全鸡	陕西	Typhimurium	++	+++	+++	+
BJ44D	鸡腹肉	陕西	Kallo	++	+++	+++	+
LC95T	凉拌藕片	河南	—	+	+++	+++	++
ZZSR2-2008	鸡腿	河南	Enteritidis	+	++	++	+
NYS8-08	生鸡肉	河南	GH:Z4,Z32:-)	+	+++	++	+
XXS31-08	生鱼片	河南	Berta	++	+++	+++	++
NYSR94-08	鸡翅	河南	Enteritidis	++	++	++	++
y119Ta	全鸡	陕西	—	++	++	++	++
SA	生鸡肉	陕西	—	++	+++	+++	++

注:+:产 BF 量较低;+:产 BF 量较高;+++ :产 BF 量最高;—:无相关信息

(编码 FMN 还原酶基因)、*bsmA*(编码生物膜抗氧化蛋白基因)、*bssS*(编码生物膜形成调节蛋白基因)、*tabA*(编码毒素-抗毒素生物膜蛋白基因)、*bcsE*(编码 c-di-GMP 结合蛋白基因)、*csgD*(编码转录激活剂 *curli* 操纵子基因)、*csgA*、*B*、*C*(编码 *curli* 组装蛋白基因)、*seqA*(编码复制起始的负调节剂基因)、*dam*(编码 DNA 腺嘌呤甲基酶基因)、*fliZ*(编码鞭毛生物合成调节因子基因)、*fliH*(编码鞭毛生物合成调节因子基因)和 *motB*(编码鞭毛旋转生成因子基因)。

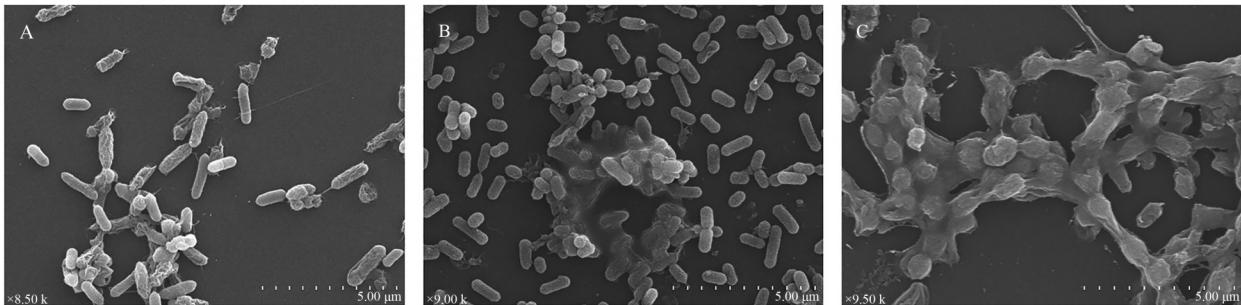
2.3 培养时间和培养类型对沙门菌 BF 形成的影响

在培养时间为 96 h 时,与阳性对照 SA 相比, S8xc001a、BJ44D、LC95T、NYS8-08 和 XXS31-08 的 BF 形成量均达到最高水平,趋势基本相同。其他菌株的 BF 形成量虽然也有所增加,但水平低于上述 5 株菌。在 BHI 培养基中培养时, S8xc001a、BJ44D、LC95T、XXS31-08 和 SA 形成的 BF 量最多。表明 BHI 培养基更利于沙门菌形成 BF,且随着培养时间的增加, BF 形成量更多(表 1)。

2.4 不同营养条件对沙门菌 BF 形成的影响

2.4.1 葡萄糖浓度

不同葡萄糖浓度对沙门菌 BF 的形成影响差异有统计学意义($P<0.05$)。当添加的葡萄糖浓度<



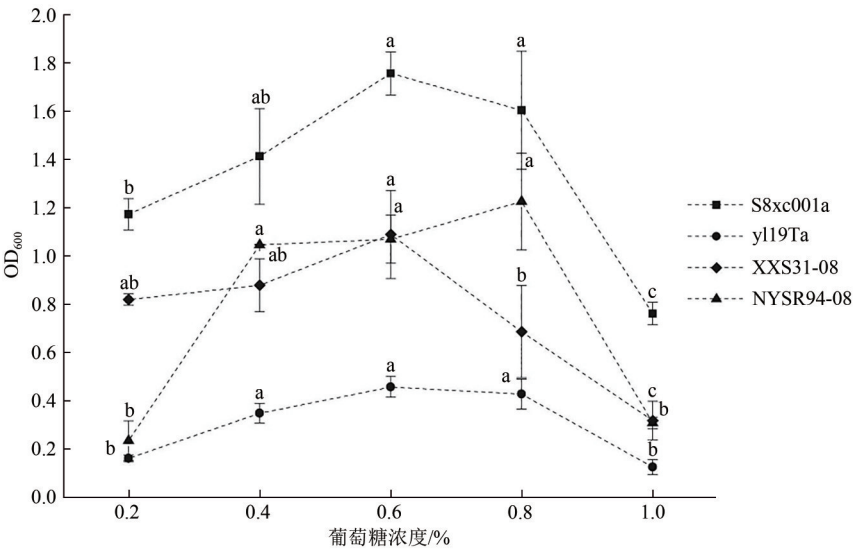
注:A:NYSR94-08;B:S8xc001a;C:BJ44D

图 1 不同沙门菌生物被膜形态

Figure 1 Morphology of different *Salmonella* biofilm

0.6% 时,S8xc001a、yl19Ta 和 XXS31-08 形成 BF 的冰醋酸溶液 OD₆₀₀ 值随着葡萄糖浓度的增加而升高,在葡萄糖浓度为 0.6% 时,OD₆₀₀ 值达到峰值,表明低浓度葡萄糖对 BF 形成具有促进作用。当葡萄糖浓度>0.6% 时,BF 的冰醋酸溶液 OD₆₀₀ 值随着葡萄糖浓度的增加而降低,表明高浓度葡萄糖

糖对 BF 形成可能具有抑制作用。当添加的葡萄糖浓度为 0.8% 时,NYSR94-08 的 BF 生成量最高。总体而言,低浓度葡萄糖可促进沙门菌 BF 形成,且促进作用与浓度呈正相关;高浓度葡萄糖可能会抑制 BF 形成,且抑制作用与浓度呈正相关(图 2)。



注:a、b、c表示不同葡萄糖浓度下沙门菌BF的冰醋酸溶液的吸光度的统计学比较

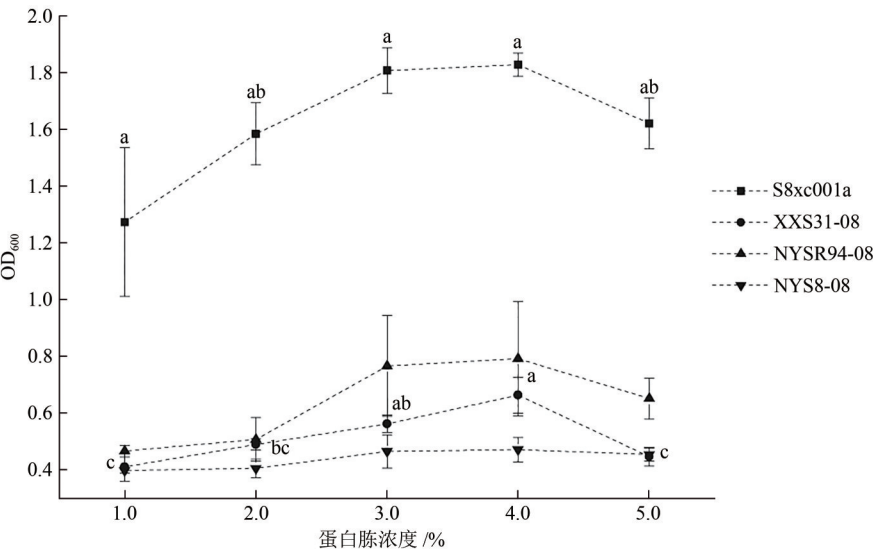
图2 葡萄糖浓度对沙门菌BF形成的影响

Figure 2 Effect of glucose concentration on the biofilm formation of *Salmonella*

2.4.2 蛋白胨浓度

添加不同浓度的蛋白胨对菌株 S8xc001a、NYSR94-08 和 XXS31-08 的 BF 形成影响差异有统计学意义 ($P<0.05$),而对 NYS8-08 的影响差异无统计意义 ($P>0.05$)。当添加的蛋白胨浓度<4.0% 时,菌株 BF 的 OD₆₀₀ 值随着蛋白胨添加浓度的增加而升高,浓度为 4.0% 时达到峰值,表

明补充低浓度蛋白胨对 BF 形成具有促进作用。当添加的蛋白胨浓度>4.0% 时,菌株 BF 的 OD₆₀₀ 值随着蛋白胨浓度的增加而降低,表明高浓度蛋白胨对 BF 形成可能具有抑制作用。结果表明,添加低浓度蛋白胨可促进沙门菌 BF 形成,且促进作用与浓度呈正相关,而高浓度则会抑制 BF 形成。



注:a、b、c表示不同蛋白胨浓度下沙门菌BF的冰醋酸溶液的吸光度的统计学比较

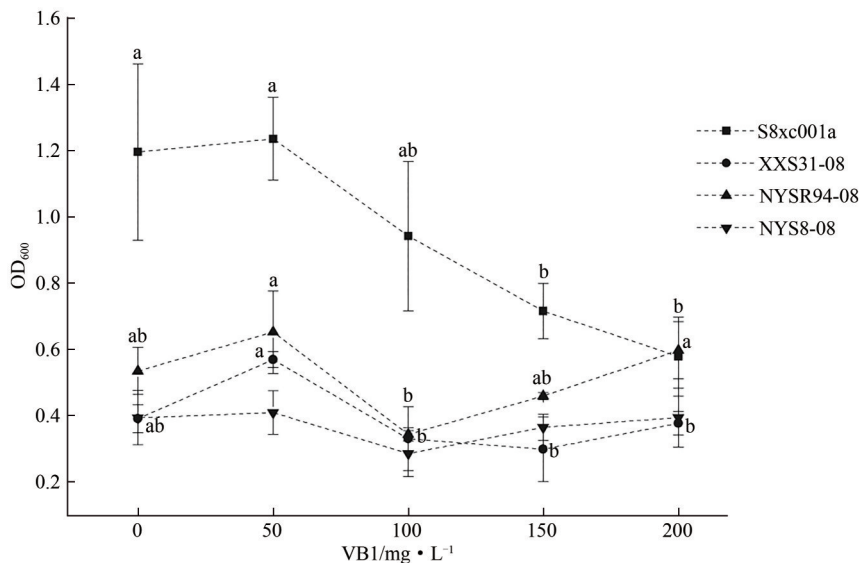
图3 蛋白胨浓度对沙门菌BF形成的影响

Figure 3 Effect of peptone concentration on the biofilm formation of *Salmonella*

2.4.3 VB₁浓度

补充不同浓度的生长因子 VB₁ 对沙门菌 BF 形成影响差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。当添加的 VB₁ 浓度为 50 mg/L 时,所有供试菌株 BF 的 OD₆₀₀ 值达到峰值。随着 VB₁ 添加量增加,S8xc001a BF 的

OD₆₀₀ 值逐渐降低。NYSR94-08 和 NYS8-08 的 BF 的 OD₆₀₀ 值在 VB₁ 浓度为 100 mg/L 时达到最低值,XXS31-08 则在 150 mg/L 时达到最低值。因此,在一定浓度范围内的 VB₁ 促进沙门菌 BF 形成,超过一定浓度则会抑制沙门菌 BF 形成。



注:a、b、c表示不同维生素B₁含量下沙门菌BF的冰醋酸溶液的吸光度的统计学比较

图4 维生素B₁含量对沙门菌BF形成的影响

Figure 4 Effect of vitamin B₁ concentration on the biofilm formation of *Salmonella*

3 讨论

沙门菌在全球每年造成约9380万食源性疾病和约15.5万人死亡^[24]。2004—2018年间,我国市售食品中沙门菌平均污染率为5.91%,而沙门菌的发病率则与食品污染率存在一定的线性关系^[4]。全球约65%的人类感染是由BF介导发生,约80%的慢性感染可能与BF的形成直接相关^[9]。本研究中华产BF菌株比例远低于CHUAH等^[10]、MANAFI等^[11]和蹇慧等^[25]的研究结果。CHUAH等^[10]采用刚果红琼脂法发现112株沙门菌均能形成BF;MANAFI等^[11]和蹇慧等^[25]均采用结晶紫微量板滴定法分别对29株肉源和35株猪源沙门菌进行鉴定,结果发现所有菌株均具有形成BF能力。本研究同类研究获得的产BF菌株在比例上的差异可能与筛选方法有关。BF的形成不仅增强了细菌的耐药性,而且与临床上许多细菌感染相关^[5,26]。因此,产BF沙门菌的广泛流行对食品行业提出了严峻的挑战。

本研究通过全基因组测序分析后,在4株BF形成菌株中检出15种与BF形成相关基因。CHEN和WANG等^[12]将mini-Tn10分别插入

bssS和tabA均表达上调,其中bsmA的表达可在BF形成过程特定点控制细胞的聚集,bssS通过分泌信号因子调节BF的形成,tabA对BF的形成影响与时间有关。在早期,tabA的表达抑制BF的形成,在后期,促进BF的形成^[13]。有研究表明,含有c-di-GMP结构域的BcsE蛋白可通过调节c-di-GMP水平,参与沙门菌BF形成的调控;bcsE突变体纤维素产量明显减少时,BF结构趋于解体^[14];csgD编码的中枢调控因子可激活csgBAC操纵子转录,其中csgA可编码合成生物膜的关键的蛋白成分——curli菌毛;csgD和csgA突变肠炎沙门菌BF形成能力显著下降,毒性显著降低^[15];SeqA和Dam蛋白可通过调节脂肪酸合成以及膜的流动性,从而导致参与BF形成的鞭毛和胞外多糖发生变化^[16];seqA突变沙门菌BF形成能力显著低于野生型菌株^[17]。虽然4株沙门菌均携带与BF形成相关的基因,但产BF的能力存在差异,这可能与BF相关基因表达水平有关。蹇慧等^[25]比较了14种血清型沙门菌产BF的能力,结果表明不同血清型沙门菌形成BF能力差异显著,其中鼠伤寒沙门菌产BF能力最强。本研究中菌株S8xc001a也属于鼠伤寒沙门菌,其产BF量最高。虽然MANAFI等^[11]发现肠炎沙门菌产BF能力最强。另外,BF形成能力差异还可能与沙门菌来源有关。

PIRAS 等^[27]比较了猪源和环境源(接触肉和不接触肉的表面)沙门菌形成 BF 的能力,研究发现 35 ℃ 培养时,分离自与肉接触表面的菌株产 BF 能力显著高于其他来源的菌株。这些研究表明沙门菌形成 BF 的机制复杂,还需进一步研究。

细菌 BF 的形成除了受多种基因表达的调控,还受多种外界因素影响。本研究发现沙门菌在 BHI 培养基中可形成大量 BF。相较于 LB 培养基,BHI 为沙门菌 BF 的形成提供了优质营养条件。有研究发现,单核细胞增生李斯特菌和金黄色葡萄球菌的 BF 形成量随着培养时间的增加而增加,这一现象与细菌生长规律有关,时间越长,细菌数量越多,因而形成的 BF 更多^[28-29]。在培养基中添加低浓度葡萄糖可促进沙门菌 BF 形成,而高浓度葡萄糖则可抑制 BF 形成,在单增李斯特菌、大肠埃希菌和蜡样芽胞杆菌等细菌 BF 研究中也发现了相似的结果^[28-31]。葡萄糖不仅能刺激细菌生长,还能够诱导 BF 形成,但高浓度葡萄糖可能会导致细菌外部环境的渗透压升高,不利于细菌生长,因此 BF 形成量降低^[32]。在培养基中添加蛋白胨时,同样也观察到低浓度促进、高浓度抑制 BF 形成的现象。黄宁等^[33]发现,当蛋白胨浓度达到 4.0% 时,香蕉细菌性软腐病菌 BF 形成能力下降,可能是由于培养基中有效营养成分的缺失和比例失衡而造成。此前有研究报道,在营养浓度较低条件下,细菌也可以形成更多的 BF^[15]。

不同于 VC 和 VE 能够抑制 BF 形成,B 族维生素可以通过提高细菌生物量和胞外产物含量促进 BF 形成^[34-36]。杨金龙等^[36]利用 VB₇ 和 VB₁₂ 处理海假交替单胞菌后,也发现 BF 的细菌密度和膜厚度均有显著提高。CRESPO 等^[37]发现 VB₁₂ 浓度可以决定假铜绿单胞菌 BF 形成过程中十分重要的Ⅱ类三核糖核苷酸还原酶的活跃程度。当添加 VB₁ 含量为 50 mg/L 时,BF 形成量增加。然而,本研究中观察到高浓度 VB₁ 能抑制沙门菌 BF 形成的现象,说明 VB₁ 可促进或抑制沙门菌 BF 形成,也可能和沙门菌自身的特性相关。

在食品储存、销售以及加工环境中,多种外界因素都会促成沙门菌 BF 形成,还可能增加毒力基因的表达水平,对食品安全构成潜在的威胁^[38]。LI 等^[39]建立了生肉汁最小加工食品模型,发现肉汁残留物显著提高了沙门菌的初始附着和 BF 形成能力。在食物残渣存在的情况下,沙门菌在不锈钢和聚丙烯食品生产链表面均能产生 BF^[40]。沙门菌通过形成 BF 能在加工环境各个部位定殖,从而导致其广泛传播^[10]。因此,在食品生产和处理过程中,彻底

清理食品残渣是控制沙门菌载量的关键。

综上,研究筛选出 8 株可形成 BF 的食源性沙门菌,培养时间、培养基类型、糖分、营养条件以及生长辅助因子对 BF 形成具有不同程度的影响。研究结果为控制食品产业链中沙门菌 BF 的形成提供了新的思路,有利于控制因沙门菌形成 BF 导致的感染发生。

参考文献

- [1] 李思学,王莺杰.沙门氏菌发病机理、检测方法及防治[J].生物化工,2019,5(6):147-149,153.
LI S X, WANG Y J. Research progress on the pathogenesis, detection and prevention of *Salmonella* [J]. Biological Chemical Engineering, 2019, 5(6): 147-149, 153.
- [2] 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): e06406.
- [3] CDC. About Salmonella Infection [EB/OL]. (2024-10-04).<https://www.cdc.gov/salmonella/about/index.html>.
- [4] 吴宪.我国食品沙门氏菌污染率与引起的发病率统计分析[D].大连:大连理工大学,2021.
WU X. Statistical analysis of the incidence and contamination rate of *Salmonella* in China [D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2021.
- [5] LAMAS A, REGAL P, VÁZQUEZ B, et al. *Salmonella* and *Campylobacter* biofilm formation: A comparative assessment from farm to fork [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2018, 98(11): 4014-4032.
- [6] 张慧,郭晓梅,白婧,等.3,3'-二吡啶甲烷对肠炎沙门氏菌生物被膜的抑制作用[J].中国测试,2022,48(1):60-67.
ZHANG H, GUO X M, BAI J, et al. Antibiofilm activity of 3,3'-diindolomethane on *Salmonella enteritidis* [J]. China Measurement & Test, 2022, 48(1): 60-67.
- [7] KARYGIANNI L, REN Z, KOO H, et al. Biofilm matrixome: Extracellular components in structured microbial communities [J]. Trends in Microbiology, 2020, 28(8): 668-681.
- [8] DEL POZO J L. Biofilm-related disease [J]. Expert Review of Anti-Infective Therapy, 2018, 16(1): 51-65.
- [9] TAO Q, WU Q, ZHANG Z H, et al. Meta-analysis for the global prevalence of foodborne pathogens exhibiting antibiotic resistance and biofilm formation [J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 906490.
- [10] CHUAH L O, SHAMILA SYUHADA A K, MOHAMAD SUHAIMI I, et al. Genetic relatedness, antimicrobial resistance and biofilm formation of *Salmonella* isolated from naturally contaminated poultry and their processing environment in northern Malaysia [J]. Food Research International, 2018, 105: 743-751.
- [11] MANAFI L, ALIAKBARLU J, DASTMALCHI SAEI H. Antibiotic resistance and biofilm formation ability of *Salmonella* serotypes isolated from beef, mutton, and meat contact surfaces at retail [J]. Journal of Food Science, 2020, 85(8): 2516-2522.
- [12] CHEN J R, WANG Y. Genetic determinants of *Salmonella*

- enterica* critical for attachment and biofilm formation [J]. International Journal of Food Microbiology, 2020, 320: 108524.
- [13] THOMAS S G, GLOVER M A, PARTHASARATHY A, et al. Expression of a *Shiga*-like toxin during plastic colonization by two multidrug-resistant bacteria, *Aeromonas hydrophila* RIT668 and *Citrobacter freundii* RIT669, isolated from endangered turtles (*Clemmys guttata*) [J]. Microorganisms, 2020, 8(8): 1172.
- [14] ÖZDEMİR C, AKÇELİK N, ÖZDEMİR F N, et al. The role of *bcsE* gene in the pathogenicity of *Salmonella* [J]. Pathogens and Disease, 2021, 79(6): ftab037.
- [15] CHEN S J, FENG Z, SUN H L, et al. Biofilm-formation-related genes *csgD* and *bcsA* promote the vertical transmission of *Salmonella enteritidis* in chicken [J]. Frontiers in Veterinary Science, 2021, 7: 625049.
- [16] ABDELWAHEB C, LOBNA M, BOUCHRA B A, et al. Fatty acids composition and biofilm production of attenuated *Salmonella typhimurium dam* and *seqA* mutants after exposure to UV-C [J]. Current Microbiology, 2015, 71(4): 471-475.
- [17] UĞUR S, AKÇELİK N, YÜKSEL F N, et al. Effects of *dam* and *seqA* genes on biofilm and pellicle formation in *Salmonella* [J]. Pathogens and Global Health, 2018, 112(7): 368-377.
- [18] DANTAS S T A, ROSSI B F, BONSAGLIA E C R, et al. Cross-contamination and biofilm formation by *Salmonella enterica* serovar enteritidis on various cutting boards [J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2018, 15(2): 81-85.
- [19] ARIAFAR M N, BUZRUL S, AKÇELİK N. Modeling and predicting the biofilm formation of *Salmonella* Virchow with respect to temperature and pH [J]. Acta Biologica Hungarica, 2016, 67(1): 99-111.
- [20] LAMAS A, FERNANDEZ-NO I C, MIRANDA J M, et al. Biofilm formation and morphotypes of *Salmonella enterica* subsp. *arizonae* differs from those of other *Salmonella enterica* sub species in isolates from poultry houses [J]. Journal of Food Protection, 2016, 79(7): 1127-1134.
- [21] STOCKI S L, ANNETT C B, SIBLEY C D, et al. Persistence of *Salmonella* on egg conveyor belts is dependent on the belt type but not on the rdar morphotype [J]. Poultry Science, 2007, 86(11): 2375-2383.
- [22] 张钰皎, 胡炜东, 黄海英, 等. 培养条件对食源性混合病原菌生物被膜形成的影响 [J]. 食品研究与开发, 2019, 40(23): 43-49.
- ZHANG Y J, HU W D, HUANG H Y, et al. Influences of culture conditions on the biofilm formation of foodborne mixed bacteria [J]. Food Research and Development, 2019, 40(23): 43-49.
- [23] COFFEY B M, ANDERSON G G. Biofilm formation in the 96-well microtiter plate [J]. Methods in Molecular Biology: Clifton, N J, 2014, 1149: 631-641.
- [24] ABEBE E, GUGSA G, AHMED M. Review on major food-borne zoonotic bacterial pathogens [J]. Journal of Tropical Medicine, 2020, 2020: 4674235.
- [25] 蹇慧, 黎木兰, 艾佛德, 等. 广西猪源沙门菌血清学分型及生物被膜形成能力的研究 [J]. 畜牧与兽医, 2014, 46(7): 1-5.
- JIAN H, LI M L, AI F D, et al. Biofilm formation and serotypes of swine *Salmonella* strains isolated from Guangxi province [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2014, 46(7): 1-5.
- [26] HALL C W, MAH T F. Molecular mechanisms of biofilm-based antibiotic resistance and tolerance in pathogenic bacteria [J]. FEMS Microbiology Reviews, 2017, 41(3): 276-301.
- [27] PIRAS F, FOIS F, CONSOLATI S G, et al. Influence of temperature, source, and serotype on biofilm formation of *Salmonella enterica* isolates from pig slaughterhouses [J]. Journal of Food Protection, 2015, 78(10): 1875-1878.
- [28] 曹启航, 刘园园, 孙亚楠, 等. 不同培养条件对单核细胞增生李斯特菌生物被膜形成的影响 [J]. 中国兽医科学, 2020, 50(12): 1563-1571.
- CAO Q H, LIU Y Y, SUN Y N, et al. Effect of different culture conditions on the formation of biofilm of *Listeria monocytogenes* [J]. Chinese Veterinary Science, 2020, 50(12): 1563-1571.
- [29] 林健, 林志立, 魏文珩, 等. 不同培养条件对金黄色葡萄球菌生物被膜形成的影响 [J]. 九江学院学报: 自然科学版, 2018, 33(4): 88-90.
- LIN J, LIN Z L, WEI W J, et al. Effects of different culture conditions on biofilm formation of *Staphylococcus aureus* [J]. Journal of Jiujiang University: Natural Science Edition, 2018, 33(4): 88-90.
- [30] 顾晓晓, 邹琴, 陶乔孝慈, 等. 犊牛脑炎源大肠杆菌生物被膜形成及其影响因素分析 [J]. 畜牧与兽医, 2020, 52(7): 92-96.
- GU X X, WU Q, TAO Q, et al. The formation and influencing factors of biofilm of *Escherichia coli* derived from calf encephalitis [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2020, 52(7): 92-96.
- [31] 李南薇, 何佩倩, 杜冰, 等. 培养条件对蜡样芽孢杆菌生物被膜生长的影响 [J]. 食品工业, 2012, 33(7): 108-110.
- LI N W, HE P Q, DU B, et al. Effect of culture conditions on growth of *Bacillus cereus* biofilm [J]. The Food Industry, 2012, 33(7): 108-110.
- [32] 靳嘉巍, 张力, 查锡良, 李华林, 瞿涤. 葡萄糖对表皮葡萄球菌生物被膜形成的影响及调节机制的研究 [J]. 微生物学报, 2005, 45(3): 431-436.
- JIN J W, ZHANG L, ZHA X L, et al. Effect of glucose on biofilm and the gene *ica* expression in *Staphylococcus epidermidis* with different biofilm-forming capability [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2005, 45(3): 431-436.
- [33] 黄宁, 张景欣, 蒲小明, 等. 香蕉细菌性软腐病菌生物被膜形成特性 [J]. 中国农业大学学报, 2019, 24(5): 82-89.
- HUANG N, ZHANG J X, PU X M, et al. Biofilm formation characteristics of *Dickeya zeae* MS1 [J]. Journal of China Agricultural University, 2019, 24(5): 82-89.
- [34] SHIVAPRASAD D, TANEJA N K, LAKRA A, et al. *In vitro* and *in situ* abrogation of biofilm formation in *E. coli* by vitamin C through ROS generation, disruption of quorum sensing and exopolysaccharide production [J]. Food Chemistry, 2021, 341: 128171.
- [35] VERGALITO F, PIETRANGELO L, PETRONIO PETRONIO G, et al. Vitamin E for prevention of biofilm-caused healthcare-associated infections [J]. Open Medicine: Warsaw, Poland, 2019,

- 15: 14-21.
- [36] 杨金龙, 段志鸿, 丁文扬, 等. 维生素 B7 和 B12 对细菌生物被膜形成及厚壳贻贝幼虫变态的影响[J]. 渔业科学进展, 2021, 42(5): 113-123.
- YANG J L, DUAN Z H, DING W Y, et al. Effects of VB₇ and VB₁₂ on biofilm formation and larval metamorphosis of the mussel *Mytilus coruscus* [J]. Progress in Fishery Sciences, 2021, 42(5): 113-123.
- [37] CRESPO A, BLANCO-CABRA N, TORRENTS E. Aerobic vitamin B₁₂ biosynthesis is essential for pseudomonas aeruginosa class II ribonucleotide reductase activity during planktonic and biofilm growth[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 986.
- [38] ROY P K, HA A J W, MIZAN M F R, et al. Effects of environmental conditions (temperature, pH, and glucose) on biofilm formation of *Salmonella enterica* serotype Kentucky and virulence gene expression[J]. Poultry Science, 2021, 100(7): 101209.
- [39] LI J Q, FENG J S, MA L N, et al. Effects of meat juice on biofilm formation of *Campylobacter* and *Salmonella* [J]. International Journal of Food Microbiology, 2017, 253: 20-28.
- [40] PAZ-MÉNDEZ A M, LAMAS A, VÁZQUEZ B, et al. Effect of food residues in biofilm formation on stainless steel and polystyrene surfaces by *Salmonella enterica* strains isolated from poultry houses[J]. Foods; Basel, Switzerland, 2017, 6(12): 106-117.

《中国食品卫生杂志》顾问及第五届编委会名单

顾问: 陈君石、黄璐琦、江桂斌、李林、沈建忠、吴清平、Jianghong Meng(美国)、Patrick Wall(爱尔兰)、Samuel Godefroy(加拿大)、Gerald Moy(美国)、Paul Brent(澳大利亚)、Marta Hugas(比利时)、Yukikko Yamada(日本)、Tom Heilandt(德国)、Andreas Hensel(德国)、Christopher Elliott(英国)、Christine Nelleman(丹麦)

主任委员: 李宁

副主任委员: 王竹天、孙长颢、王涛、谢剑伟、应浩、丁钢强、张峰、张永慧

主 编: 吴永宁

编 委(按姓氏笔画排序)

丁钢强(中国疾病预防控制中心营养与健康所)

于 洲(国家食品安全风险评估中心)

于维森(青岛市疾病预防控制中心)

马 宁(国家食品安全风险评估中心)

马会来(中国疾病预防控制中心)

马群飞(福建省疾病预防控制中心)

王 君(国家食品安全风险评估中心)

王 茵(浙江省医学科学院)

王 涛(浙江清华长三角研究院)

王 硕(南开大学医学院)

王 慧(上海交通大学公共卫生学院)

王永芳(国家卫生健康委员会卫生健康监督中心)

王竹天(国家食品安全风险评估中心)

王松雪(国家粮食和物资储备局科学研究院)

王晓英(中国动物疫病预防控制中心)

计 融(国家食品安全风险评估中心)

邓小玲(广东省疾病预防控制中心)

卢 江(国家食品安全风险评估中心)

匡 华(江南大学食品学院)

朱心强(浙江大学医学院)

刘 弘(上海市疾病预防控制中心)

应 浩(中国科学院上海营养与健康所)

张 丁(河南省疾病预防控制中心)

张 峰(中国检验检疫科学研究院)

张卫兵(南通市疾病预防控制中心)

张立实(四川大学华西公共卫生学院)

张永慧(广东省疾病预防控制中心)

张旭东(国家卫生健康委员会医院管理研究所)

张剑峰(黑龙江省疾病预防控制中心)

张朝晖(中国海关科学技术研究中心)

张惠媛(中国海关科学技术研究中心)

张遵真(四川大学华西公共卫生学院)

陈 波(湖南师范大学化学化工学院)

陈 颖(中国检验检疫科学研究院)

陈卫东(广东省市场监督管理局)

邵 兵(北京市疾病预防控制中心)

武爱波(中国科学院上海营养与健康所)

赵 舰(重庆市疾病预防控制中心)

赵云峰(国家食品安全风险评估中心)

赵贵明(中国检验检疫科学研究院)

钟 凯(科信食品与营养信息交流中心)

姜毓君(东北农业大学食品学院)

(下转第 239 页)