

一株耐受蛋清蛋白的鸡蛋腐败菌 S 菌株的分离鉴定及其 De novo 测序分析

张璟, 陈倩, 顾丽红, 阮瑶, 张新帅, 郭爱玲

(华中农业大学食品科学技术学院, 国家蛋品加工技术研发分中心, 湖北武汉 430000)

摘要: 本实验采用传统微生物培养法从鸡蛋中分离出一株革兰氏阳性腐败菌 S 菌株, 经形态学观察、生理生化分析及 16S rDNA 序列比对, 对其进行了鉴定, 并构建系统发育树。采用抑菌圈法及存活率试验探究该菌株对蛋清环境的耐受性, 并基于 Illumina HiSeq 测序平台对该菌株的全基因组进行了 De novo 测序, 获得基因组框架图。结果表明, 该菌株生理生化反应特征与皮生球菌属相似, 且 16S rDNA 序列与 *Dermaococcus abyssi* (登录号 AY894323) 的同源性高达 99%, 鉴定为深渊皮生球菌 (*Dermaococcus abyssi*)。该菌株在含有蛋清或溶菌酶的试管中能生长, 在添加了蛋清或溶菌酶的孔径中没有抑菌圈产生。对蛋白编码基因的功能注释结果显示, 细菌参与膜转运、离子结合、氨基酸和碳水化合物代谢及能量转换相关的基因丰富, 推测其在鸡蛋中可能通过调节相关基因来耐受蛋清抑菌环境。该菌株对蛋清及溶菌酶的耐受性, 为其在鸡蛋中的存活提供了有利条件。

关键词: 鸡蛋腐败; 深渊皮生球菌; 存活机制; De novo 测序

文章编号: 1673-9078(2019)03-58-64

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.3.010

Identification of a Spoilage Bacterium S from Eggs with Tolerance to Egg White Protein and De novo Sequencing Analysis of the Strain

ZHANG Jing, CHEN Qian, GU Li-hong, RUAN Yao, ZHANG Xin-shuai, GUO Ai-ling

(College of Food Science and Technology, National Research and Development Center for Egg Processing, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430000, China)

Abstract: A Gram-positive bacterial strain named S was isolated from egg by traditional microbial culture method. The strain was identified by morphological observation, biochemical analysis and 16S rDNA. The phylogenetic tree was also constructed. The tolerance of the strain to egg white environment was investigated by inhibition zone and survival test. The whole genome of the strain was sequenced using De novo system and a draft map was obtained. The results showed that the physiological and biochemical characteristics of the strain were similar to *Dermaococcus* genus, and the homology of 16S rDNA sequence with *Dermaococcus abyssi* (Accession number AY894323) reached 99%. The strain S was identified as *Dermaococcus abyssi*. The strain can grow in the test tube containing egg white or lysozyme. There was no bacteriostatic zone showed in the pore with egg white or lysozyme. Functional annotations of protein-coding genes showed that there were abundant genes involved in membrane transport, ion binding, amino acid and carbohydrate metabolism and energy conversion. It was speculated that these function clusters might be implicated in the strain to survival in the antimicrobial environment of egg white. The tolerance of the strain to egg white and lysozyme provided favorable conditions for its survival in eggs.

Key words: egg spoilage; *Dermaococcus abyssi*; survival mechanism; De novo sequencing

鸡蛋含有丰富的蛋白质、氨基酸、维生素、必需脂肪酸和矿物质等, 能满足人体所需的所有营养素, 尤其是它的高营养密度特性, 使其成为最适合敏感人群(儿童、老年人、慢性病患者和孕妇)食用的食物

收稿日期: 2018-11-30

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项(201303084)

作者简介: 张璟(1994-), 女, 硕士, 研究方向: 食品营养与安全

通讯作者: 郭爱玲(1965-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 食品微生物和食品安全

之一^[1,2]。鸡蛋本身具有独特的先天防御体系, 包括高粘度、碱性 pH、丰富的抗菌蛋白及离子浓度等一系列抗菌作用机制^[3-7], 不利于大多数微生物的生长繁殖。但少数病原菌能耐受这一不利环境, 在其中生长繁殖, 导致鸡蛋发生腐败变质。目前, 蛋内发现的细菌主要有葡萄球菌、链球菌、大肠杆菌、变形杆菌、假单胞菌及沙门氏菌^[8]。它们产生的肠毒素或侵袭性酶是其重要的致病因素, 可引起腹泻、呕吐等中毒症状, 严重时导致死亡^[9]。因此研究腐败菌在蛋清中的存活机

制,对鸡蛋的防腐保鲜具有重要意义。

深渊皮生球菌为革兰氏阳性菌,需氧到微需氧,有机化能营养型;细胞形态主要为球状,有时呈逗号形或不规则簇;无运动性、无包膜、不能形成芽胞。在分类地位上属放线菌纲、微球菌目、皮生球菌科。2006年首次从马里亚纳海沟的深水沉积物中分离得到^[10]。皮生球菌属菌株主要从人的皮肤和水中分离得到,目前,国内外关于皮生球菌的报道和研究极少。2015年Takahashi等人报道了一例由深洼皮生球菌引起的导管相关的血流感染,是人类首例报道的皮生球菌感染^[11],目前其致病性尚不清楚。

全基因组 De novo 测序亦称为从头测序,可以不参考任何已有的 DNA 序列信息,直接测序某物种的基因组。通过生物信息学手段对测序序列进行拼接和组装,完成一个完整的基因组序列,进而绘制该物种的全基因组序列图谱。De novo 测序可以获得该物种的基因组和重要功能基因的序列信息,对阐明和解释物种的进化史,了解该物种生长发育和适应环境的分子机制具有重要意义^[12]。

本研究从蛋清中分离出了一株革兰氏阳性腐败菌,命名为 S。通过形态学观察、生理生化分析和 16S rDNA 序列比对,初步鉴定其为深渊皮生球菌 (*Dermacoccus abyssi*),序列相似度高达 99.58%。并通过抑菌试验对其蛋清蛋白耐受性进行研究。鉴于其研究资料极少,对 S 菌株的全基因组进行了 De novo 测序,了解其生长代谢状况,以期为其在蛋清中的存活机制提供参考,进而对禽蛋的微生物污染进行预防和控制,确保食品安全。

1 材料与方法

1.1 原料

鲜鸡蛋:白来航红壳蛋,购自武汉九峰山养鸡场。

主要培养基:营养琼脂、半固体培养基、LB 肉汤、LB 营养琼脂、平板计数琼脂,青岛高科园海博生物技术有限公司。

主要试剂:溶菌酶,国药集团化学试剂有限公司;PCR 扩增相关试剂,北京庄盟国际生物基因科技有限公司;Ezup 柱式细菌基因组 DNA 抽提试剂盒,生工生物工程(上海)有限公司。

1.2 仪器与设备

YXQ-WY21-60 卧式高压蒸汽灭菌锅,四川新德医疗器械有限公司;FumaQYC 211 恒温摇床,上海福玛实验设备有限公司;SHP-250 型生化培养箱,上海

精宏实验设备有限公司;DYY-8C 型电泳仪,北京六一仪器厂;凝胶成像系统,美国 Eastman Kodak 公司;DM3000 生物显微镜,德国徕卡;VITEK 2 全自动微生物分析仪,生物梅里埃公司。

1.3 方法

1.3.1 S 菌株的分离纯化

将从养鸡场购买的当日产出的新鲜鸡蛋至于 4℃ 冰箱中储存,一个月后开始腐败菌的分离工作。鸡蛋表面用蒸馏水冲洗干净后,用酒精棉球对鸡蛋蛋壳表面进行充分擦洗消毒。待蛋壳表面酒精完全挥发后,打开蛋壳,用无菌枪头分别吸取 0.1 mL 蛋清和蛋黄于营养琼脂培养皿内并涂布均匀,倒置于 37℃ 恒温培养箱内培养 48±2 h。挑选在培养皿内生长的菌落于营养琼脂平板上反复分离纯化,直至显微镜观察细胞形态单一,得到腐败菌纯菌株。将纯化后的菌株穿刺接种于半固体培养基内^[13],37℃ 培养 24 h 后,置于-80℃ 冰箱中保存。

1.3.2 形态学观察

菌落特征:对菌落的颜色、大小、形状、光滑度、边缘、透明度和隆起程度等进行观察并记录。

菌体特征:对细菌进行革兰氏染色和荚膜染色,在显微镜下观察。

1.3.3 生理生化分析

选择革兰氏阳性细菌鉴定卡,采用 VITEK 2 全自动微生物分析仪对 S 菌株进行理化特性的鉴定。

1.3.4 16S rDNA 鉴定

采用 Ezup 柱式细菌基因组 DNA 抽提试剂盒提取细菌基因组 DNA (步骤参照说明书)。以提取的基因组 DNA 为模板,选取细菌 16S rDNA 的通用引物 27f(5'-GAGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') 和 1492r (5'-CTACGGCTACCTTGTACGA-3') 进行 PCR 扩增。PCR 扩增条件为:94℃ 预变性 4min;94℃ 变性 30 s,50℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 90 s,循环 32 次;72℃ 延伸 10 min。扩增后的产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测后,送往生工生物工程(上海)有限公司测序。

1.3.5 同源性及进化树分析

将测序结果输入 NCBI(National Center for Biotechnology Information, NCBI, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 数据库和韩国标准菌株网 (<http://www.ezbiocloud.net/>) 进行序列比对,综合分析得到菌种鉴定结果。选取同源性较高的序列,用 MEGA 6.0 软件(美国 MEGA 开发公司)构建 NJ (Neighbor-joining) 系统发育树。

1.3.6 菌株对蛋清、溶菌酶的耐受性研究

存活率试验：参考蒋惠源^[14]等人的方法进行存活率试验。将 S 菌株接种 LB 液体培养基，37℃ 过夜培养 12~18 h。过夜培养的菌液稀释后分别接入 10 mL 蛋清和 10 mL 含有溶菌酶（3.5 g/L）的肉汤试管中，使终浓度为 4~7×10⁵ CFU/mL，试管置于摇床中 37℃ 振荡培养。分别于 0 h、6 h、12 h、18 h、24 h 取 100 μL 涂布 PCA 平板，37℃ 培养 24 h 后进行平板计数。将各培养时间活菌数与初始活菌数比较（设初始存活率为 1），计算出 37℃ 培养条件下的存活率。以溶菌酶敏感的金黄色葡萄球菌 ATCC 27217 作为对照菌株。实验进行 2 次平行和 3 次重复。

抑菌圈试验：分别测定产蛋 7 d 内的新鲜蛋清和溶菌酶对腐败菌的抑菌能力。将 S 菌株接种 LB 液体培养基，37℃ 过夜培养 12~18 h。将已灭菌的 LB 营养琼脂培养基冷却至 50℃ 左右，接入过夜培养的菌液，使终浓度为 10⁶ CFU/mL。混匀后倒入培养皿，用内径 6 mm、外径 8 mm 的牛津杯打孔，每孔加入 100 μL 不同浓度的蛋清或溶菌酶溶液，对照孔添加无菌生理盐水。平板静置 30 min 后，放入培养箱中 37℃ 恒温培养 18~24 h。以溶菌酶敏感的金黄色葡萄球菌 ATCC 27217 作为对照菌株。实验进行 2 次平行和 3 次重复。

1.3.7 细菌基因组 De novo 测序（框架图）

采用全基因组鸟枪法（Whole Genome Shotgun, WGS）策略，构建不同插入片段的文库，利用第二代测序技术（Next-Generation Sequencing, NGS），基于 Illumina HiSeq 测序平台，对这些文库进行双末端（Paired-end, PE）测序。测序工作委托上海派森诺生物科技股份有限公司完成。

1.3.8 数据统计分析

图表采用 Origin Pro 8.0 进行绘制，系统发育树采用 MEGA 6.0 绘制。

2 结果与讨论

2.1 腐败菌形态学鉴定

S 菌株在营养琼脂平板上形成浅黄色、凸起、表面光滑、边缘整齐、不透明、有光泽的圆形菌落。显微镜下观察有荚膜，革兰氏染色结果为阳性（图 1）。

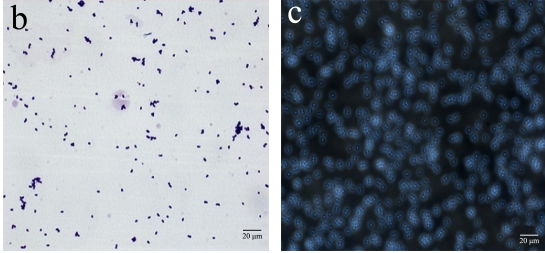
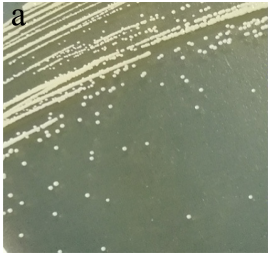


图 1 S 菌株的形态观察

Fig.1 Morphological Observation of strain S

注：a：平板划线；b：革兰氏染色；c：荚膜染色

2.2 生理生化反应特征

通过 VITEK 2 对 S 菌株进行鉴定，生理生化反应特征如表 1 所示。鉴定结果与菌种资料库中生物编号为 051020100000000 的标准菌株西宫皮生球菌（*Dermaococcus nishinomiyaensis*）相似度最高，置信度显示结果为极好。

表 1 S 菌株的生理生化分析

Table 1 Physiological and biochemical analysis of strain S

项目	结果	项目	结果
苦杏仁苷	-	多粘菌素 B 耐受	-
磷脂酰磷脂酶 C	-	D-半乳糖	-
D-木糖	-	D-核糖	-
精氨酸双水解酶 1	+	L-乳酸盐产碱	-
β-D-半乳糖苷酶	-	乳糖	-
α-葡萄糖苷酶	+	N-乙酰氨基葡萄糖	-
丙氨酸-苯丙氨酸-脯氨酸芳胺酶	+	D-麦芽糖	-
环式糊精	-	杆菌肽耐受	-
L-天冬氨酸芳胺酶	-	新生霉素耐受	-
β-半乳糖苷酶	-	6.5%氯化钠生长	-
α-甘露糖苷酶	-	D-甘露醇	-
磷酸酶	-	D-甘露糖	-
亮氨酸芳胺酶	-	甲基葡萄糖甙	-
L-脯氨酸芳胺酶	+	支链淀粉	-
β-D-葡萄糖醛酸	-	D-棉子糖	-
α-半乳糖苷酶	-	O/129 耐受	-
焦谷氨酸芳胺酶	-	水杨素	-
β-D-葡萄糖醛酸酶	-	蔗糖	-
丙氨酸芳胺酶	+	D-海藻糖	-
酪氨酸芳胺酶	-	精氨酸双水解酶 2	-
D-山梨醇	-	奥普脱欣耐受	-
尿素酶	-		

2.3 同源性及系统发育分析

微生物的 rDNA 结构具有保守性又具有高变性，

能反映生物物种的亲缘关系和特征核酸序列。16S rDNA 系统发育分析具有准确、快速、灵敏的优点,已成为国际上细菌分类鉴定的常用技术手段。一般认为16S rDNA 的序列相似度在97%以上即为相同的种,低于97%属于不同的种,低于95%属于不同的属^[15]。S 菌株的16S rDNA 序列全长1429 bp,与韩国标准菌株网的比对结果显示,与S 菌株相似性高于95%的菌株均属于皮生球菌属(*Dermaococcus spp.*),其中与深渊皮生球菌(*Dermaococcus abyssi*, 登录号 AY894323)的相似度最高,达到99.58%,确认S 菌株属于皮生球菌属。西宫皮生球菌(*Dermaococcus nishinomiyaensis*)为皮生球菌属的模式种,验证了通过生理生化分析得到的鉴定结果。

在NCBI 数据库中对S 菌株的16S rDNA 序列进行比对分析,相似度在98%以上的种属与韩国标准菌株网相一致。选取10 个同源性大于98%的菌株序列,用Mega 6.0 软件进行序列对比,建立的系统发育树如图2 所示。从系统发育树可以看出,S 菌株与2 株深渊皮生球菌(*Dermaococcus abyssi*)处于较近分支,且聚集在一起,成为一簇。与深洼皮生球菌(*Dermaococcus barathri*)和深处皮生球菌(*Dermaococcus profundus*)的发育关系较近,但与西宫皮生球菌(*Dermaococcus nishinomiyaensis*)的亲缘关系较远。系统发育分析与同源性比对结果一致,因此鉴定S 菌株为深渊皮生球菌(*Dermaococcus abyssi*)。

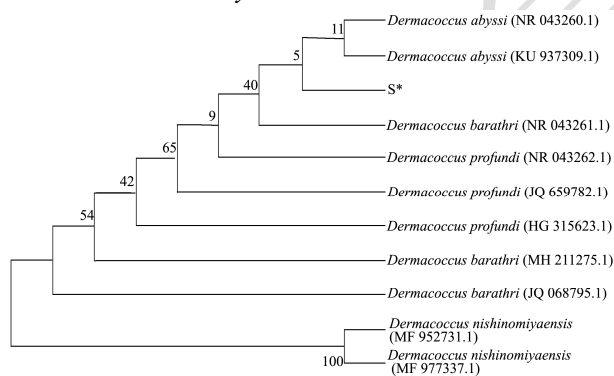


图2 基于16S rDNA 的系统发育树

Fig.2 The phylogenetic tree based on 16S rDNA

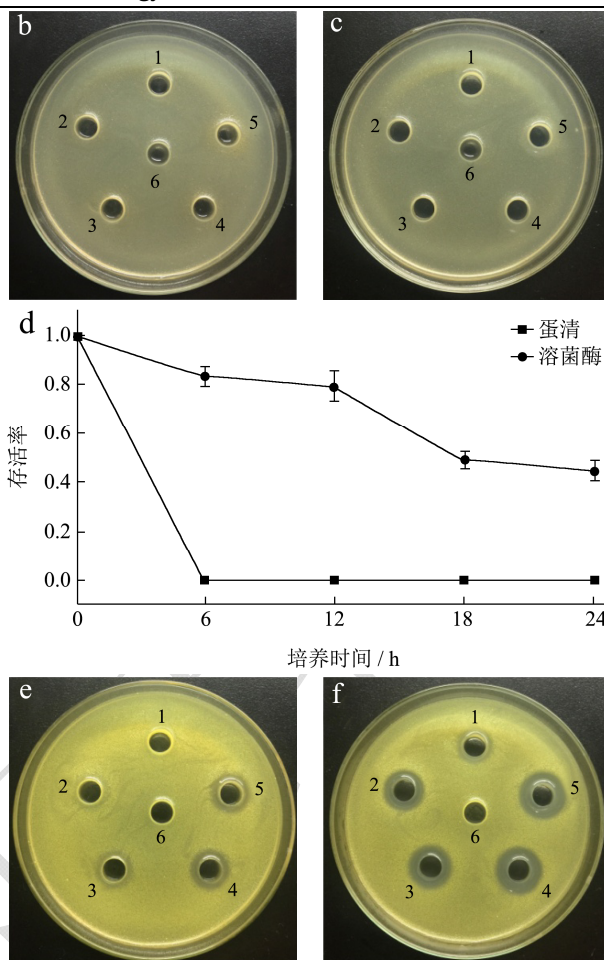
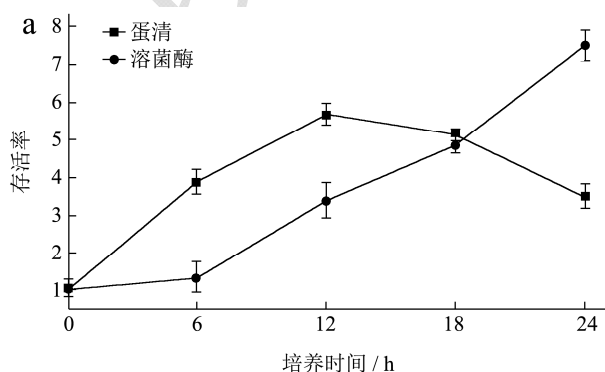


图3 细菌的耐受性分析

Fig.3 Tolerance analysis of bacteria

注: 图a 为S 菌株的存活率曲线; 图b 为S 菌株的蛋清抑菌圈试验,1~5 孔蛋清浓度依次为20%、40%、60%、80%、100%,孔6 为生理盐水对照; 图c 为S 菌株的溶菌酶抑菌圈试验,1~5 孔溶菌酶浓度依次为1.5 mg/mL、3.5 mg/mL、5.5 mg/mL、7.5 mg/mL、10 mg/mL,孔6 为生理盐水对照。图d 为金黄色葡萄球菌菌株的存活率曲线; 图e 为金黄色葡萄球菌菌株的蛋清抑菌圈试验,1~5 孔蛋清浓度依次为20%、40%、60%、80%、100%,孔6 为生理盐水对照; 图f 为金黄色葡萄球菌菌株的溶菌酶抑菌圈试验,1~5 孔溶菌酶浓度依次为1.5 mg/mL、3.5 mg/mL、5.5 mg/mL、7.5 mg/mL、10 mg/mL,孔6 为生理盐水对照。

2.4 对蛋清、溶菌酶的耐受性分析

S 菌株和对照菌株金黄色葡萄球菌 ATCC 27217 的耐受性分析结果如图3 所示。S 菌株在蛋清中的存活率呈现先上升后下降的趋势,在添加了溶菌酶的肉汤中正常生长(图3a),表明蛋清对细菌的抑制作用并不明显,且在该浓度下(3.5 g/L),溶菌酶也不抑制S 菌株的生长。而溶菌酶敏感的对照菌株金黄色葡萄球菌 ATCC 27217 在蛋清和含有3.5 g/L 溶菌酶的肉汤中生长明显受到抑制,数量呈现下降趋势(图3d)。

在平板上,不同浓度的蛋清和溶菌酶溶液对 S 菌株的抑菌效果分别如图 3b 和图 3c 所示,所有添加蛋清和溶菌酶的孔均没有抑菌圈产生,表明 S 菌株可以耐受蛋清和溶菌酶。而对照菌株金黄色葡萄球菌 ATCC

27217 在添加不同浓度蛋清和溶菌酶溶液的平板上产生大小不一的抑菌圈,且抑菌圈大小与溶液浓度成正比(图 3e、图 3f),证明金黄色葡萄球菌对蛋清和溶菌酶没有耐受性。

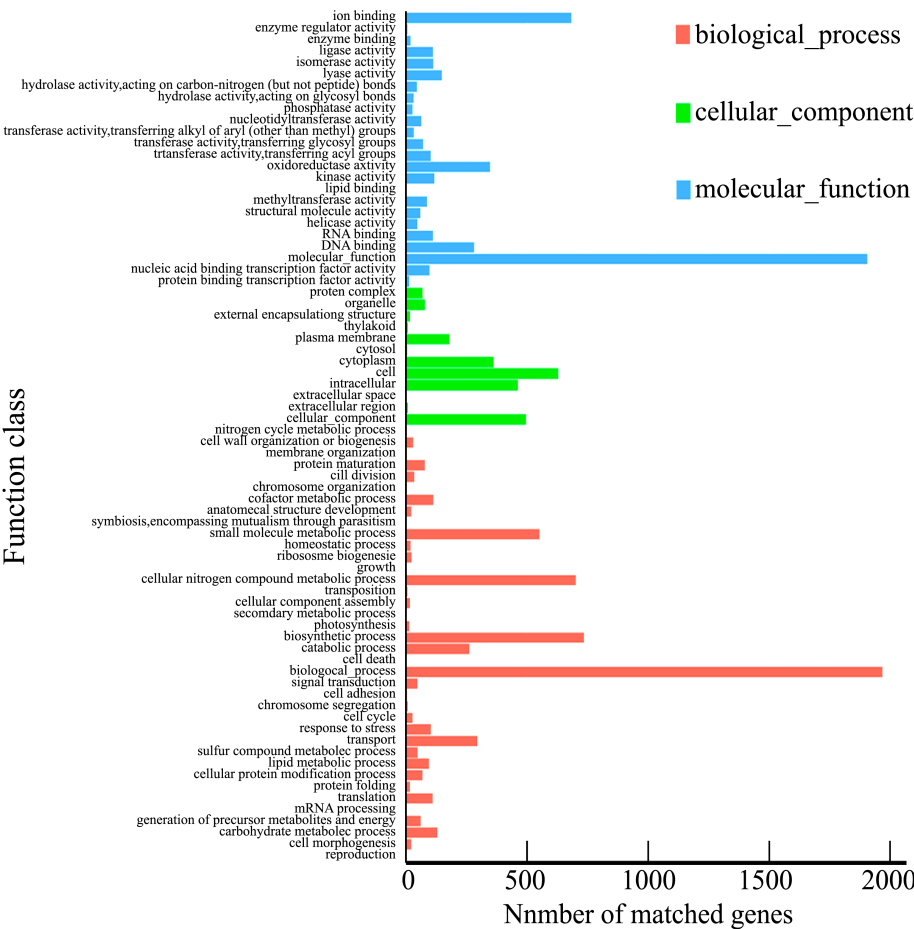


图 4 S 菌株的 GOSlim 注释图

Fig.4 GOSlim annotation results of Strain S

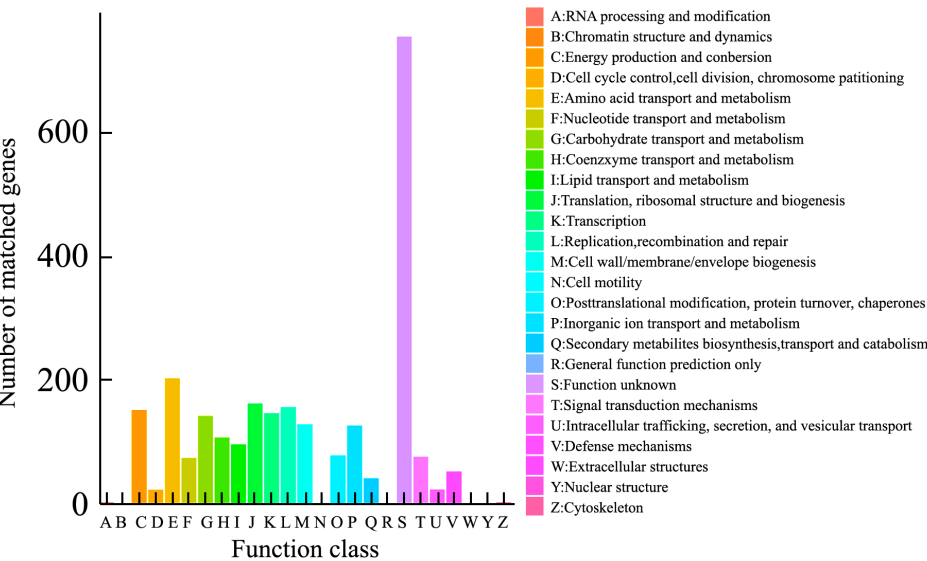


图 5 S 菌株的 eggNOG 功能分类图

Fig.5 EggNOG classified annotation results of strain S

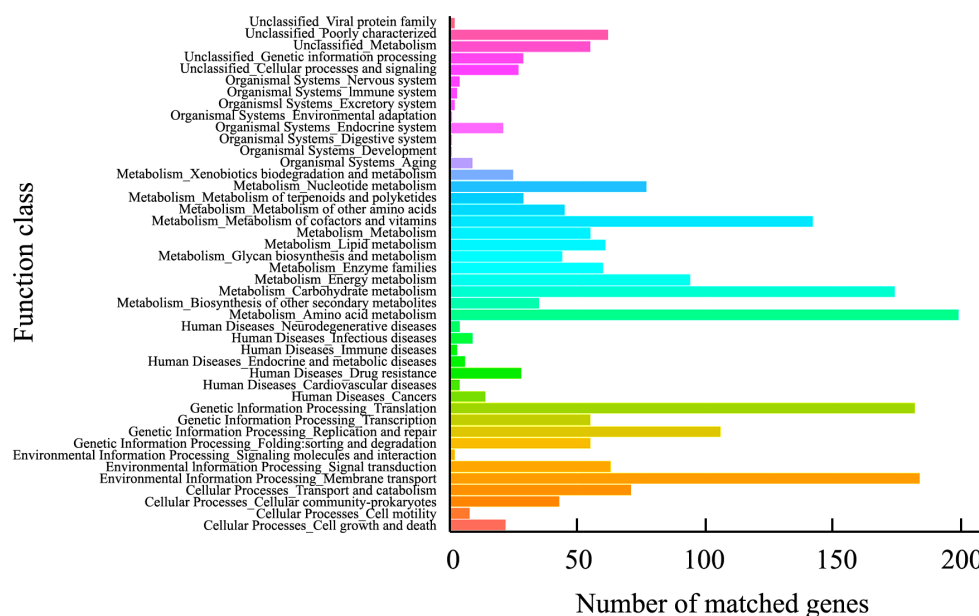


图6 S菌株的KEGG分析统计图

Fig.6 KEGG analysis results of strain S

2.5 细菌基因组 De novo 测序分析

通过蛋白编码基因预测、非编码 RNA 预测和 CRISPRs 预测等方法可获取测序菌株的基因组组成情况。基因组分析发现, S 菌株含有开放阅读框 2928 个, 平均序列长度为 944 bp, 含有 tRNA 49 条, rRNA 3 条以及 ncRNA 23 条, CRISPRs 结构 3 条, 其中有 2 条结构是确定的。预测结果的分析表明, S 菌株具有功能基因组研究的理论价值。

选取 GO、eggNOG 和 KEGG 这 3 个数据库对蛋白编码基因的功能进行注释。其中 GO (Gene Ontology) 注释是一个国际化的基因功能分类体系, 主要描述了基因的分子功能、所处的细胞位置、参与的生物学过程这三大类。GO 注释结果的分类如图 4 所示。细菌分子功能和生物学过程都十分活跃, 其中参与离子结合 (683 条)、细胞氮化合物代谢 (702 条) 和生物合成 (736 条) 的基因较多。与 GO 注释不同, eggNOG 将全部编码蛋白质的基因分为了 25 类, 注释结果见图 5。其中参与氨基酸转运和代谢、能量转换和 DNA 复制与修复类基因数量较多, 自身能量转换和物质代谢活跃。KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) 从代谢通路进行注释, 获得物种内分子间相互作用和反应的网络。KEGG 代谢通路的统计结果见图 6。从代谢通路的角度看, 参与氨基酸代谢和碳水化合物代谢的基因丰度较高, 此外, 参与膜转运、维生素代谢和能量代谢等相关基因丰度也较高。

3 结论

3.1 本研究从鸡蛋中分离出了一株腐败菌 S, 经生理生化试验和 16S rDNA 序列分析, 鉴定 S 菌株为深渊皮生球菌 (*Dermacoccus abyssi*), 并对其进行了系统发育分析。本实验室在 2016~2017 年间, 对 1000 多枚鸡蛋进行了微生物菌株的分离鉴定, 从中分离出了 500 余株腐败菌, 分属于 29 个不同菌种, 其中的深渊皮生球菌种分离出 2 株。对分离出的 29 个菌种菌株进行了蛋清和溶菌酶的耐受性分析, 发现 S 菌株耐受蛋清和溶菌酶的能力最强。为研究其耐受机制, 对 S 菌株进行了 De novo 测序分析, 获得基因组框架图, 通过对蛋白编码基因的功能注释, 发现参与离子结合、膜转运、氨基酸转运和代谢、DNA 复制与修复类基因数量较多。

3.2 目前, 关于微生物在蛋清中的存活机制研究较多的是病原沙门氏菌, 研究主要集中在识别蛋清培养过程中可能赋予沙门氏菌抗性的基因上, 这些基因主要与糖代谢、氨基酸和核酸代谢、细胞膜结构和功能有关, 包括脂多糖的生物合成、铁转运、DNA 修复、应激反应、入侵和致病性等^[16-18]。王妍妍等人通过比较转录组分析发现, 参与膜相关、离子结合、核苷酸结合相关的功能基因具有显著差异^[19]。这些结果为沙门氏菌在蛋清抗菌环境中的存活提供了不同解释, 而针对其余腐败菌在蛋清中存活机制的研究很少甚至没有。本文深渊皮生球菌的 De novo 测序分析提示该菌可能通过调节膜结构、离子结合能力及氨基酸代谢等

生物过程来应对蛋清抑菌环境,为鸡蛋腐败菌在蛋清中的存活机制研究提供了一定的基础,但该菌在蛋清中的存活是否与这些基因有关,还有待后续开展转录组测序、基因敲除等深入研究。

参考文献

- [1] 陈冬梅.关于鸡蛋食用价值的探讨[J].中国酿造,2013,32(6): 12-15
CHEN Dong-mei. Discussion of the edible value of eggs [J]. China Brewing, 2013, 32(6): 12-15
- [2] Sencic, Samac D. Nutritional value of eggs in human nutrition [J]. Meso Prvi Hrvatski Casopis O Mesu, 2017, 19(1): 68-72
- [3] 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, 2011, 74(1): 24-31
- [4] Baron F, Gautier M, Brule G. Factors involved in the inhibition of growth of *Salmonella enteritidis* in liquid egg white [J]. Journal of Food Protection, 1997, 60(11): 1318-1323
- [5] 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
- [6] Kang, Loui, Clavijo, et al. Survival characteristics of *Salmonella enterica* serovar *Enteritidis* in chicken egg albumen [J]. Epidemiology and Infection, 2006, 134(5): 967-976
- [7] Lu S, 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
- [8] Board R G. Study of bacterial infection of the hen's egg [J]. Behavioral and Brain Sciences, 1962, 10(1): 410-414
- [9] Granum P E. Spotlight on *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins [J]. Fems Microbiology Letters, 2017, 364(10): 1-3
- [10] Pathomaree W, Nogi Y, Sutcliffe I C, et al. *Dermaococcus abyssi* sp nov., a piezotolerant *Actinomycete* isolated from the Mariana Trench [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2006, 56(5): 1233-1237
- [11] Takahashi N, Shinjoh M, Tomita H, et al. Catheter-related blood stream infection caused by *Dermaococcus barathri*, representing the first case of *Dermaococcus* infection in humans [J]. Journal of Infection and Chemotherapy, 2015, 21(8): 613-616
- [12] Guidong Y, Qiang G, Longhai L, et al. The application of high-throughput sequencing technology in plant and animal research [J]. Scientia Sinica, 2012, 42(2): 107-124
- [13] 顾冠彬,王蕾,房红莹.微生物实验室菌种的保存和管理[J].中国血液流变学杂志,2013,23(4):724-726
GU Guan-bin, WANG Lei, FANG Hong-ying, et al. Bacterial preservation and administration in microbiology laboratory [J]. Chinese Journal of Hemorheology, 2013, 23(4): 724-726
- [14] 蒋惠源,曹鸣辉,曹学松,等.非编码小 RNA(sraB)调控肠炎型沙门菌的抗蛋清抑菌作用[J].微生物学报,2010,50(11): 1537-1544
JIANG Hui-yuan, CAO Ming-hui, CAO Xue-song, et al. sRNA(sraB) regulate the resistant ability of *Salmonella enteric* serovar *Enteritidis* to egg albumen [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2010, 50(11): 1537-1544
- [15] 朱诗应,戚中田.16S rDNA 扩增及测序在细菌鉴定与分类中的应用[J].微生物与感染,2013,8(2):104-109
ZHU Shi-ying, QI Zhong-tian. Application of bacterial 16S rDNA amplification and sequencing in the classification and identification of bacteria [J]. Journal of Microbes and Infections, 2013, 8(2): 104-109
- [16] 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
- [17] Raspoet R, Gantois I, Devloo R, et al. *Salmonella enteritidis* universal stress protein (usp) gene expression is stimulated by egg white and supports oviduct colonization and egg contamination in laying hens [J]. Veterinary Microbiology, 2011, 153(1): 186-190
- [18] Raspoet R, Shearer N, Appiaayme 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]. Poult Sci., 2014, 93(5): 1263-1269
- [19] 王妍妍,贾犇,张利达,等.肠炎沙门氏菌在蛋清抑菌环境存活机制的比较基因组分析[C]// 中国食品科学技术学会年会. 2014
WANG Yan-yan, JIA Ben, ZHANG Li-da, et al. Comparative Genomic Analysis of *Salmonella enteric* serovar *Enteritidis* on the Survival Mechanism in Antimicrobial Environment of Egg Albumen [C] // Annual Meeting of CIFST, 2014

现代食品科技