

多组学诠释食源性致病菌小菌落变种形成 分子机制研究进展

关鹏¹, 冻梓杰¹, 王淑莉¹, 姬生鑫¹, 王晓杰^{1,2,3,4}, 艾志录^{1,2,3,4}, 索标^{1,2,3,4*}

(1. 河南农业大学食品科学技术学院, 郑州 450002; 2. 农业农村部大宗粮食加工重点实验室, 郑州 450002; 3. 国家速冻米面制品加工技术研发专业中心, 郑州 450002; 4. 速冻米面及调制食品河南省工程实验室, 郑州 450002)

摘要: 食源性致病菌在环境胁迫下可形成小菌落变种(small colony variants, SCVs), 被认为是其抗逆存活的重要调控方式之一。SCVs的形成及防治给食品安全领域带来重大挑战, 因为与正常细胞相比, SCVs通常具有较强的耐药性, 而且能够抵抗宿主细胞的清除并存活数十年。当条件适宜时, SCVs细胞甚至能够在保持耐药性的同时, 重新转变为快速生长细胞。随着生物技术的高速发展, 多组学方法在微生物抗逆分子机制研究领域的应用越来越常见。基因组学、转录组学、蛋白质组学、代谢组学和联合组学等手段大大增加研究者对细胞中基因调控及蛋白质表达关键途径的理解。本文就近年来食源性致病菌 SCVs 诱导途径及多组学诠释 SCVs 分子机制研究进展进行综述, 并对冷链食品中金黄色葡萄球菌 SCVs 形成机制及低温耐受性研究进行展望, 以期建立针对性的安全控制技术, 抑制食品加工中致病菌 SCVs 形成提供参考。

关键词: 食源性致病菌; 小菌落突变体; 多组学; 分子机制

Multi-omics interpretation of the molecular mechanism of small colony variants of foodborne pathogens: A review

GUAN Peng¹, DONG Zi-Jie¹, WANG Shu-Li¹, JI Sheng-Xin¹,
WANG Xiao-Jie^{1,2,3,4}, AI Zhi-Lu^{1,2,3,4}, SUO Biao^{1,2,3,4*}

(1. College of Food Science and Technology, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China; 2. Key Laboratory of Staple Grain Processing, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Zhengzhou 450002, China; 3. National Research and Development Center for Frozen Rice & Wheat Products Processing Technology, Zhengzhou 450002, China; 4. Henan Engineering Laboratory of Quick-frozen Flour-rice Food and Prepared Food, Zhengzhou 450002, China)

ABSTRACT: Foodborne pathogenic bacteria can form small colony variants (SCVs) under environmental stress and are thought to be one of the most important modalities for their survival. The formation and control of SCVs pose major challenges in the food safety field because SCVs are generally more resistant to drugs than normal cells and can resist clearance by host cells and survive for decades. When conditions are suitable, SCV cells revert to fast-growing cells while maintaining drug resistance. With the rapid development of biotechnology, it is more and more common to apply multi-omics methods to the molecular mechanism of microbial stress resistance. Genomics,

基金项目: 国家自然科学基金项目(32272441)、河南省自然科学基金面上项目(222300420455)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (32272441), and the Natural Science Foundation of Henan Province (222300420455)

*通信作者: 索标, 博士, 教授, 主要研究方向为食品微生物分子生态与食品安全。E-mail: suobiao1982@126.com

*Corresponding author: SUO Biao, Ph.D, Professor, College of Food Science and Technology, Henan Agricultural University, No.63, Nongye Road, Jinshui District, Zhengzhou 450002, China. E-mail: suobiao1982@126.com

transcriptomics, proteomics, metabolomics and co-omics have greatly increased researchers' understanding of key pathways of gene regulation and protein expression. This paper reviewed the recent advances in SCVs induction pathways in foodborne pathogens and the molecular mechanism of interpreted by multiple omics, and prospected the role of *Staphylococcus aureus* gene in SCVs formation and low temperature tolerance in cold chain food. The viewpoints are expected to provide a reference for establishing safety control techniques to inhibit the formation of foodborne pathogens SCVs in food processing.

KEY WORDS: foodborne pathogens; small colony variants; multi-omics; molecular mechanisms

0 引言

食源性致病菌可引起各种健康问题,如胃肠道感染、中枢神经系统疾病、关节炎、肾脏疾病,严重时可危及生命^[1]。由食源性致病菌引起的食品安全问题正在成为一个全球性的公共卫生问题。世界卫生组织对全球食源性疾病的研究表明,每年共有 31 种食源性病原体引起大约 6 亿种疾病和 42 万例死亡^[2]。食源性致病菌主要包括单核增生李斯特菌、沙门氏菌、金黄色葡萄球菌、蜡样芽孢杆菌、肠球菌等^[3]。

在食品加工和储存过程中,细菌会受到各种物理和化学处理,如酸、氧化剂、高压、高温及冷冻等^[4]。这些加工方法可以有效地灭活细菌,延长食品的保质期,从而保证特定期限内的食品安全。然而,细菌可通过基因表达调节细胞的代谢产物和蛋白质,以应对生存环境中的不同压力,从而最大限度地提高生存机会^[5]。当细菌对食品加工过程产生耐受性时,杀菌效果将大幅降低,细菌可以继续食品加工环境中定植,并反复污染食品^[6]。

致病菌小菌落变种(small colony variants, SCVs)是一种准休眠、缓慢生长的细菌亚群,它们具有独特的表型和致病特征,如能在琼脂平板上形成较小的菌落、新陈代谢静止、溶血和凝固酶活性降低、碳水化合物利用减少、低毒力、抗生素耐药性提高及在有利条件下可以恢复生长等特点^[7]。在环境胁迫下可形成 SCVs 状态的致病菌广泛存在,SCVs 并被认为是其抗逆存活的重要调控方式之一。已报道的在环境胁迫下可形成 SCVs 的致病菌包括金黄色葡萄球菌^[8]、单核增生李斯特菌^[9]、沙门氏菌^[10]、绿脓假单胞菌^[11]及大肠杆菌^[12]等,诱导致病菌进入 SCVs 状态的胁迫因素包括碳酸氢盐^[13]、茶树精油^[14]、H₂O₂^[15]、低温、超高压、抗生素及宿主真核细胞内环境等^[16]。目前,对致病菌 SCVs 细胞环境胁迫耐受变化规律研究最多的是 SCVs 通常具有的极强耐药性和对宿主细胞的抵抗能力。本文根据国内外相关研究,对诱导食源性致病菌形成 SCVs 的因素进行归纳,重点对食源性致病菌形成 SCVs 的分子机制进行综述,旨在为食源性致病菌 SCVs 的相关研究提供理论依据,以期降低 SCVs 在食品中所带来的风险。

1 诱导 SCVs 形成的因素

形成 SCVs 的食源性致病菌普遍存在,抗生素、高静水压力和低温胁迫等不同处理均可诱导 SCVs 的形成。

1.1 抗生素

抗生素是较为常用的杀菌手段之一,但是随着新型抗生素的发现和开发逐渐减少及抗生素的滥用,许多细菌的耐药性增强^[17]。研究表明,金黄色葡萄球菌在亚致死浓度的帕珠沙星中暴露 24 h 会形成 SCVs 表型,并观察到经抗生素诱导的 SCVs 耐药性增加,被认为是其代谢活动改变的结果^[18]。卡那霉素诱导的金黄色葡萄球菌在胆碱酯酶生物合成基因 *aroD* 上有突变,并形成 SCVs^[19]。夫西地酸诱导金黄色葡萄球菌编码核糖体蛋白基因突变,形成 SCVs 后具有夫西地酸抗性^[20]。有学者推测由于甲萘醌分子的生物合成是细菌生长必不可少的环节,它们是电子运输链的组成部分。因此,ATP 的产生由于膜电位的降低而减少,导致细菌的生长速度减慢,生长速度的下降会导致 SCVs 对这些抗生素的耐受性增加^[21]。

1.2 抑菌剂

许多研究指出 SCVs 可由多种抑菌剂诱导形成。三氯生是一种合成的双酚类抑菌剂,它对革兰氏阳性菌和阴性菌均有抑菌活性,并广泛应用到日用品中,其通过抑制酰基载体蛋白还原酶的活性,从而起到抑菌作用^[22],经 0.2% (m/v)浓度的三氯生溶液处理 1 h 可诱导金黄色葡萄球菌形成 SCVs 细胞,潜在因素是细菌能量产生和运输的减少导致 SCVs 对抑菌剂的敏感性降低^[23]。另外,H₂O₂ 诱导 SCVs 形成的原因可能是甲萘醌生物合成基因 *menB* 和 *menH* 的突变^[24]。随着人们对生活的品质追求,天然植物抑菌剂被广泛应用到食品中。其中,茶树油表现出较强的抗菌活性。然而茶树油处理会诱导 SCVs 的形成,其基因组存在两个基因突变,其中一个突变位于 *acpP* 基因,它编码脂肪酸生物合成所需的基本酰基载体蛋白,使得机体的主要生物合成活性降低,应激反应激活和代谢发生整体改变^[25]。

1.3 高静压力

高静压力(high hydrostatic pressure, HPP)处理是一种

非热式巴氏杀菌技术,已经在食品行业得到应用。HPP 可用于灭活食品中包括金黄色葡萄球菌在内的微生物营养细胞^[26]。KARATZAS 等^[27]研究 HPP 处理后的食品分离株金黄色葡萄球菌,并诱导形成 SCVs,该表型生长受损,耐热性和压耐受性增加。但是与其他 SCVs 相比,经 HPP 诱导的 SCVs 对苯唑西林等抗生素的耐药性较低。

1.4 低温

冷链食品是我国农副产品加工和食品工业的重要组成部分。金黄色葡萄球菌等致病菌对低温等不良环境具有极强的适应性,因而是全世界与冷链食品相关的疾病爆发的首要因素。虽然低温会造成致病菌损伤甚至死亡,但形成 SCVs 是致病菌在低温胁迫下存活的重要方式^[8,28]。处于低温胁迫下的 SCVs 对后续其他环境胁迫的抗性往往显著增加,如耐药性增大、对酒精的耐受性增强、对模拟胃肠液的抗性增加等^[29]。并且 SCVs 的细胞膜完整性更好,细胞内环境更加稳定,有助于在低温下存活(图 1)^[30],这些变化对于食品安全控制技术是一种新的挑战。

2 多组学探究 SCVs 分子形成机制

由于食源性致病菌 SCVs 为食品安全带来严重隐患,有关 SCVs 形成的机制近年来逐渐引起人们的研究兴趣。随着高通量测序技术的高速进展,以及基因组学、转录组学、蛋白质组学和代谢组学等多组学技术的应用,增大对微生物的基因组结构和代谢潜力及活动的洞察力^[31]。因此,

许多研究者通过多组学分析策略深入探究 SCVs 形成的分子机制(图 2)。

2.1 基因组学

基因组学提供关于特定群落中的集体基因集的信息。可以根据需要将这些基因库分开并分配给特定的分类群,根据群落的复杂性和分析的深度,有时甚至可以组装整个基因组^[32]。在过去 10 年中,随着被称为下一代测序(next-generation sequencing, NGS)和全基因组测序(whole-genome sequencing, WGS)的大规模平行测序技术的兴起,来自环境和食品的微生物的鉴定程序发生变革。此外,基于测序的分型技术,如单核苷酸多态性(single-nucleotide polymorphism, SNP)、核心基因组(core-genome, cg)和全基因组(whole-genome, wg)、多位点序列分型(multilocus sequence typing, MLST)已成为分子流行病学调查的基础,这些基于 WGS 的方法正在逐渐取代分子鉴定中基于电泳的 DNA 指纹/分型的各种技术^[33]。

对金黄色葡萄球菌 SCVs 和野生型菌株的全基因组测序结果表明,9 个与代谢、毒力和 DNA 修复有关的基因发生 15 个突变,包括丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 PrkC (*prkC*)、甘油-3-磷酸酰基转移酶(*plsY*)、2-脱氧核糖-5-磷酸醛缩酶(*deoC*)、细胞外黏附蛋白(*eap*)、铁化合物 ATP 结合盒转运体(ATP binding cassette transporter, ABC)摄取转运体底物结合蛋白(*sstD*)、霍利迪结分解酶(*recU*)、I 型限制修饰系统等^[34]。WANG 等^[35]对假丝酵母菌的 SCVs 和野生型菌株进行比较基因组学分析发现,30 个与代谢、耐药性和毒力相

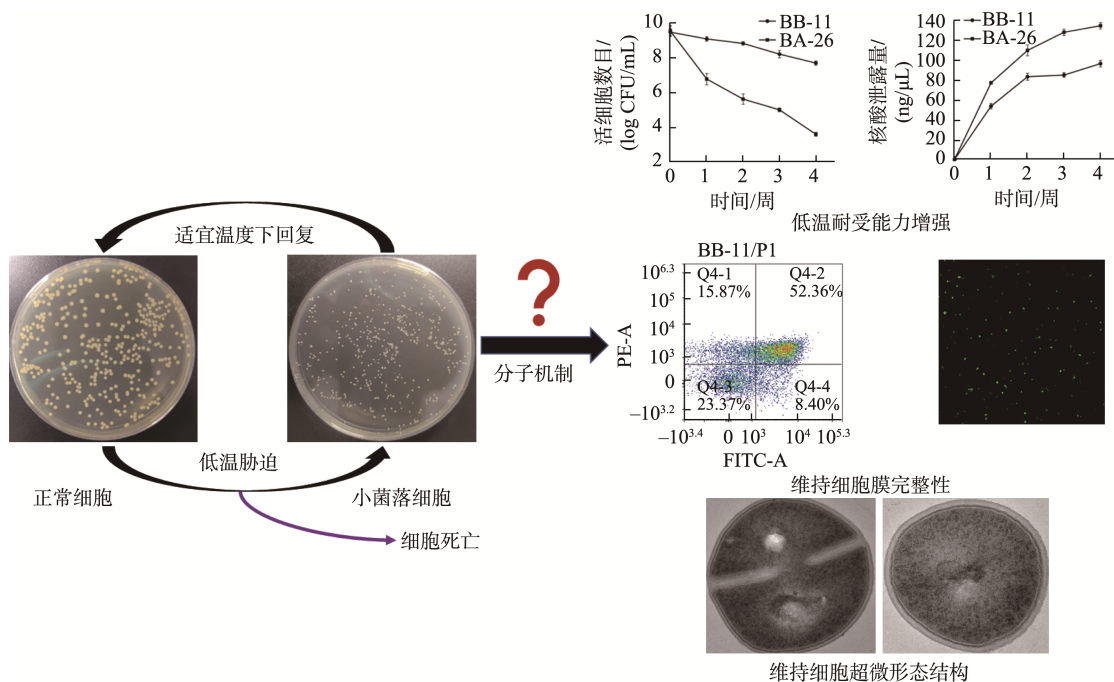


图 1 低温下食源性致病菌 SCVs 形成及胁迫耐受规律^[30]

Fig.1 Patterns of formation and stress response of foodborne pathogens SCVs under cold condition^[30]

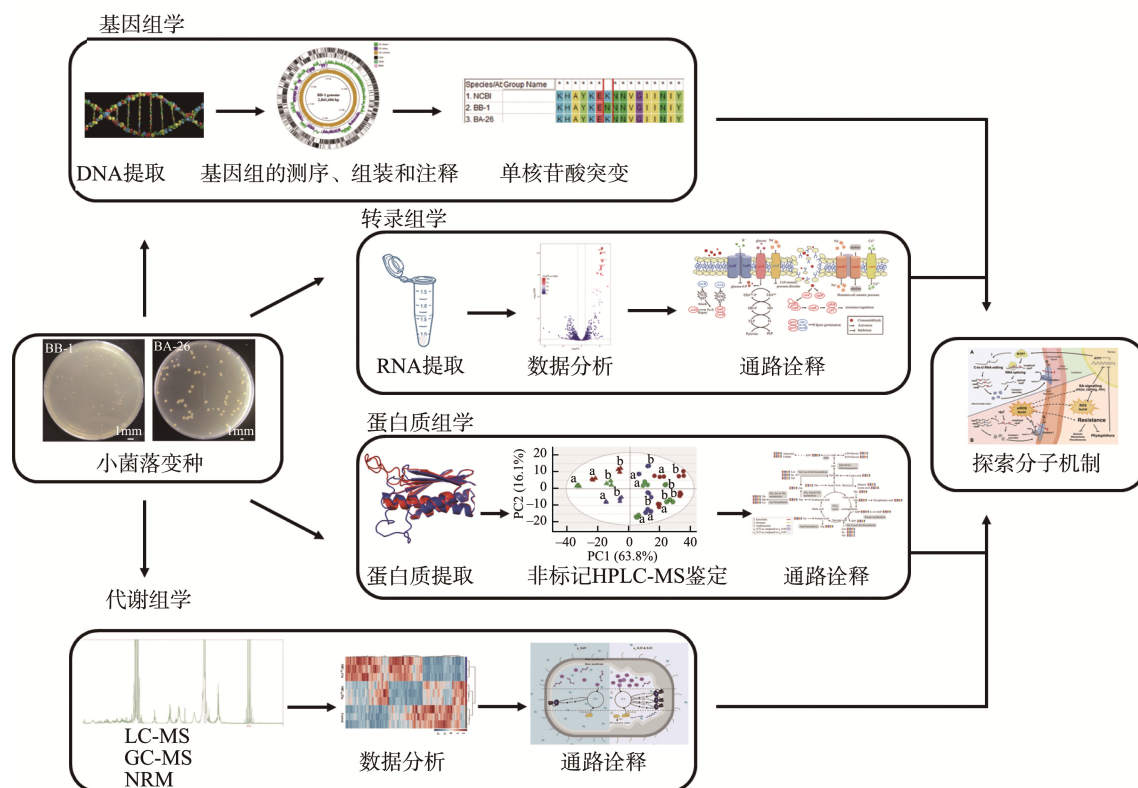


图 2 基于多组学探究 SCVs 形成分子机制的示意图

Fig.2 Schematic diagram of a multi-omics-based probe into the molecular mechanisms of SCVs

关的基因发生 38 个变异。变异的基因编码一些细胞膜蛋白、膜运输工具和合成酶。单核增生李斯特菌在 4°C 条件下形成低温耐受型 SCVs, 全基因组测序结果表明, 这种表型的变化与乙酰辅酶 A 羧化酶基因的单核苷酸多态性改变有显著关系, 该基因是细胞膜脂肪酸合成关键酶编码基因^[36]。参与血红素生物合成的 *hemA* 基因自然突变的大肠杆菌可转变为 SCVs^[37]。在茶树精油的处理下, 金黄色葡萄球菌 *menB* 基因和冷激蛋白编码基因 *cspB* 的缺失突变可诱导 SCVs 表型的形成^[38]。综上可知, 致病菌相关基因的序列改变是环境胁迫诱导 SCVs 形成的重要原因。基因组学分析为 SCVs 的形态变异和表型特征之间的关联提供线索, 也为探索其菌落形态与代谢、抗生素抗性和毒力之间的潜在关联提供有力工具。

2.2 转录组学

转录组学是一门揭示受到不同因素影响而改变基因表达的全能学科^[39]。生物体的转录过程是瞬息万变的, 因为它可以根据生物体内在和外在因素而发生调整^[40]。转录组学研究中主要采用两种技术, 基因芯片和 RNA 测序。与转录组学中使用其他技术相比, 基于基因芯片的技术成本更低^[41]。由于序列的直接表征, RNA 测序可以提供更完整的信息, 这使得它成为识别微生物转录组的理想选择^[42]。

对比 SCVs 与野生菌株的转录组差异^[34]发现, SCVs 体内参与嘧啶代谢途径、替代碳源运输、磷酸转移酶系统、通过糖酵解途径的碳分解、三羧酸循环途径和磷酸戊糖途径的基因显著下调, 这可能与细菌在恶劣环境中降低消耗和增强耐受能力有关^[43]。令人惊讶的是, 受 *agr* 和 *agr* 基因调节的毒力基因上调^[7], 这可能导致 SCVs 在恢复原始形态后的细胞毒性比野生菌株高, 这提示受到 SCVs 污染的食品更应该引起食品从业人员的警惕。其他上调的基因还包括编码 ABC 转运蛋白基因和与氧化应激相关的基因, 与活性氧解毒及与细胞壁相关的脂肪酸和脂质生物合成、糖酵解生成和 pH 平衡有关的众多基因。由于 ABC 转运蛋白在获取营养物质和适应快速变化的宿主环境方面发挥着重要作用^[5], 所以 ABC 转运蛋白和其他解毒基因的同时上调表达, 表明 SCVs 快速适应环境中的恶劣变化^[44]。因此, 相关基因转录水平的变化, 与 SCVs 细胞形成具有密切的联系。

2.3 蛋白质组学

除基因组学和转录组学外, 蛋白质组学也是被广泛用于揭示代谢途径和天然产物生产之间关系的有力方法。事实上, 蛋白质组学通过比较蛋白质的表达水平, 提供关于不同途径调节的关键信息。蛋白质在生物体内起着关键作用, 像拼接、蛋白质修饰等过程是从生物学角度考虑的, 这意味着蛋白质组学不仅涉及蛋白质序列, 还涉及生物科

学。与基因组的蛋白质编码部分相联系。

金黄色葡萄球菌在三氯生抗菌剂处理后,诱导形成的 SCVs 中有 28 个蛋白质的表达上调,而 20 个蛋白质的表达下调。与细胞膜脂肪酸合成相关的蛋白质表达上调,这解释 SCVs 形成后细胞膜和细胞壁变厚的原因^[45]。有研究发现,−18℃ 处理 90 d 可诱导金黄色葡萄球菌形成小菌落表型并长期存活,蛋白质组差异表达谱结果表明,抗-抗- σ 因子(anti-anti- σ factor, RsbV)蛋白表达量增大 2.5 倍^[46]。LIU 等^[28]对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的 SCVs 蛋白质组进行分析,并试图确定与 SCVs 形成和生存密切相关的关键基因或途径。发现 ABC 转运蛋白和 TCA 循环途径的下调导致 SCVs 中电子转运链缺陷和 ATP 生成减少,从而导致对糖酵解的依赖性增加。此外,胶囊多糖的上调和表面蛋白的下调阻止宿主细胞的吞噬作用,减少对宿主细胞的黏附,免疫逃避能力得以增强。通过蛋白质组学技术发现细菌体内的蛋白质相互作用共同调节 SCVs 形成,并通过能量代谢的调节使得 SCVs 细胞具有更强的存活能力。

2.4 代谢组学

虽然基因组学、转录组学和蛋白质组学的功能强大,但这些组学技术仍无法深入知悉微生物的物质与能量合成及代谢的潜力^[47]。代谢组学能够反映基因组学、转录组学和蛋白质组学调控的结果,已成为研究微生物次级代谢物的有力工具^[48]。基于核磁共振分析和质谱分析的代谢组学方法可以测量低分子量代谢物的整体水平,并对不同处理的生物样本进行代谢比较,已成为分析食品中微生物胁迫耐受分子机制的重要组学手段^[49-50]。

对庆大霉素诱导的金黄色葡萄球菌 SCVs 进行代谢组分析发现,多个代谢途径在 SCVs 形成过程中受到明显影响,包括丙氨酸、天门冬氨酸和谷氨酸代谢,甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢^[51]。在 4℃ 条件下,金黄色葡萄球菌 SCVs 的比例随着贮藏时间的上升而逐渐增大,与未低温处理的空白对照相比,核糖体蛋白表达量显著上升,胞内柠檬酸含量增大^[52]。并且丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢及甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢途径均发生显著变化^[51]。ATP 含量的降低、细胞膜电位及电子传递速率的下降等能量代谢的改变,也可能是食源性致病菌 SCVs 形成的分子机制^[53]。因此,通过代谢组学可以更好地了解食源性致病菌在 SCVs 形成过程中独特的生理和代谢变化,证实细菌自身可以通过增强蛋白质和能量的利用效率,从而促进 SCVs 的形成。

2.5 联合组学

在进行组学分析时,一些蛋白质会发生胞内外转运或降解,使得低丰度的蛋白质无法通过蛋白质组学或者代谢组学检测到,同时, mRNA 和蛋白质丰度之间往往存在着显著的低相关性,这造成单一的组学方法有时不能充分解释基础生物学的复杂性^[54]。将基因组学、转录组学、蛋

白质组学或代谢组学等组学方法相结合,即使单一组学分析方法得出的有些基因和蛋白质的表达之间没有直接关系,但特定变化的趋势很可能是互补或者相关的^[55]。因此,联合组学方法的分析更有利于全面了解食源性致病菌形成 SCVs 的分子机制。

利用基因组学和转录组学的方法探究假芽孢杆菌 SCVs 细胞与野生型细胞的潜在毒力基因和生存基因差异,发现其差异与氨基酸、碳水化合物、脂质和其他氨基酸代谢相关的基因下调^[56]。联合蛋白质组学和代谢组学探究茶树油诱导的 SCVs,发现 SCVs 出现脂肪酸合成的缺陷,与中心代谢有关的基因和代谢物表达的改变,一般应激反应的诱导,以及与生长和翻译相关的关键蛋白的减少。并且,SCVs 还表现出氨基酸积累的增加和糖含量的减少,表明 SCVs 可以通过糖含量的降低使分解代谢物抑制失活,并在需要时通过三羧酸循环维持碳元素流动^[57]。蛋白质组学和转录组学分析表明,抑弹脲酶素可诱导 SCVs 体内许多与细胞分裂和细胞壁合成相关的蛋白质下调,这些蛋白质参与机体的营养代谢调节并通过对环境压力的应答维持细胞稳态,其他下调的通路还包括脂肪酸代谢、糖酵解、双组分系统和 RNA 降解。最重要的是,参与氧化磷酸化和磷酸转移酶系统的蛋白质在 SCVs 中比在野生型菌株中上调更多,这表明 SCVs 对抑弹脲酶素耐受性更强^[25]。总之,SCVs 细胞能通过对多种基因网络的调节,影响蛋白质的表达从而对细胞进行全局调控,联合组学分析方法有助于人们更高通量地分析这种全局调控规律,从而全面了解食源性致病菌形成 SCVs 的分子机制。

3 展望

食源性致病菌在食品加工环境胁迫下可形成 SCVs,被认为是其抗逆存活的重要调控方式之一。SCVs 的特征在于形成的菌落较小及其新陈代谢的速度减缓。与野生菌株相比,SCVs 具有更强的维持细胞稳态的能力,且对某些抗菌剂的敏感性降低^[58]。随着居民生活水平的提高和人们消费习惯的改变,冷链物流和冷藏食品的需求在日益增加。但是低温会诱导食源性致病菌形成 SCVs,并且 SCVs 在适宜的环境下会恢复至正常细胞并快速生长对食品安全造成较大危害。金黄色葡萄球菌 SCVs 细胞的比例随着贮藏时间的上升而逐渐增大,但金黄色葡萄球菌 SCVs 形成机制和与胁迫耐受相关的关键基因及其对物质和能量代谢的调节机制,目前的报道仍未有充分的阐述。4℃ 处理 7 d 即可形成 SCVs 的金黄色葡萄球菌分离菌株 BB-1 抗低温能力较高且 *rsbV* 基因表达显著上调,说明 *rsbV* 基因的调节可能是低温致金黄色葡萄球菌 SCVs 形成及具有低温胁迫耐受性的重要原因。因此,采用基因突变等技术深入分析重要基因在食源性致病菌 SCVs 形成中作用及其分子调控机制,将是未来研究的重要内容,研究结果可为冷链食品

产业建立致病菌高效安全控制技术提供理论依据。

随着高通量测序技术的高速进展, 各种微生物组学技术成为分析微生物的有力手段。整合多组学方法, 包括但不限于基因组学、转录组学、蛋白质组学、代谢组学和联合组学, 是在分子层面上诠释微生物代谢途径的常用方法。SCVs 的形成大都受基因表达的调控, 食源性致病菌在相关基因的表达调控下, 物质和能量代谢的改变是环境胁迫诱导 SCVs 形成的重要原因。近年来随着生物信息学技术的高速发展, 通过多组学策略探究 SCVs 形成及其胁迫耐受的分子机制成为可能。但是, 目前的研究大都采用单一组学进行分析, 未来可以在多组学分析结果的基础上, 对特定基因在 SCVs 形成中的功能进行深入分析, 更进一步探究 SCVs 形成及其胁迫耐受机制。

参考文献

- [1] 张鹏飞, 阮傅倩, 徐旭, 等. 陕西省和上海市市售猪肉中金黄色葡萄球菌分子多样性及耐药性研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(10): 11. ZHANG PF, RUAN FQ, XU X, *et al.* Molecular diversity and drug resistance of *Staphylococcus aureus* from retail pork in Shaanxi Province and Shanghai City [J]. J Food Saf Qual, 2022, 13(10): 11.
- [2] LEE H, YOON Y. Etiological agents implicated in foodborne illness world wide [J]. Food Sci Anim Resour, 2021, 41(1): 1–7.
- [3] 阙浩鹏, 温红玲, 胡豫杰. 我国市售食品中耐甲氧西林金黄色葡萄球菌污染情况研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(14): 4463–4471. KAN HP, WEN HL, HU YJ. Research progress on the contamination of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in retail foods in China [J]. J Food Saf Qual, 2022, 13(14): 4463–4471.
- [4] LIAO X, MA Y, DALIRI EBM, *et al.* Interplay of antibiotic resistance and food-associated stress tolerance in foodborne pathogens [J]. Trends Food Sci Technol, 2020, 95(7): 97–106.
- [5] GUAN P, CHANG Y, LI S, *et al.* Transcriptome analysis reveals the molecular mechanism of cinnamaldehyde against *Bacillus cereus* spores in ready-to-eat beef [J]. Food Res Int, 2023, 163(6): 112185.
- [6] ONICIUC EA, LIKOTRAFITI E, ALVAREZ-MOLINA A, *et al.* Food processing as a risk factor for antimicrobial resistance spread along the food chain [J]. Curr Opin Food Sci, 2019, 30(8): 6–14.
- [7] LOSS G, SIMÕES PM, VALOUR F, *et al.* *Staphylococcus aureus* small colony variants (SCVs): News from a chronic prosthetic joint infection [J]. Front Cell Inf Microbiol, 2019, 9(8): 22.
- [8] 关鹏, 冻梓杰, 贺舒佳, 等. 低温对不同抗性金黄色葡萄球菌细胞膜完整性及相关基因表达的影响[J]. 食品与发酵工业, 2022, 6(8): 1–10. GUAN P, DONG ZJ, HE SJ, *et al.* Effects of low temperature on cell membrane integrity and related gene expression of *Staphylococcus aureus* strains with different stress tolerance [J]. Food Ferment Ind, 2022, 6(8): 1–10.
- [9] ARVANITI M, TSAKANIKAS P, PARAMITHIOTIS S, *et al.* Deciphering the induction of *Listeria monocytogenes* into sublethal injury using fluorescence microscopy and RT-qPCR [J]. Int J Food Microbiol, 2023, 385(6): 109983.
- [10] DRESCHER SPM, GALLO SW, FERREIRA PMA, *et al.* *Salmonella enterica* persister cells form unstable small colony variants after *in vitro* exposure to ciprofloxacin [J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 7232.
- [11] SOARES A, CARON F, ETIENNE M. Commentary: Tolerance and resistance of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms to antimicrobial agents—How *P. aeruginosa* escape antibiotics [J]. Front Microbiol, 2019, 10(16): 1–8.
- [12] MATSUMOTO T, HASHIMOTO M, TENG CH, *et al.* Molecular characterization of a carbon dioxide-dependent *Escherichia coli* small-colony variant isolated from blood cultures [J]. Int J Med Microbiol, 2020, 310(5): 151431.
- [13] ZHANG P, WRIGHT JA, TYMON A, *et al.* Bicarbonate induces high-level resistance to the human antimicrobial peptide LL-37 in *Staphylococcus aureus* small colony variants [J]. J Anti Chem, 2017, 73(3): 615–619.
- [14] ZHOU S, RAO Y, LI J, *et al.* *Staphylococcus aureus* small-colony variants: Formation, infection, and treatment [J]. Microbiol Res, 2022, 260(6): 127040.
- [15] LEE J, ZILM PS, KIDD SP. Novel research models for *Staphylococcus aureus* small colony variants (SCV) development: Co-pathogenesis and growth rate [J]. Front Microbiol, 2020, 11(8): 1–6.
- [16] KAHL BC. Small colony variants (SCVs) of *Staphylococcus aureus*—a bacterial survival strategy [J]. Infect Genet Evol, 2014, 21(8): 515–522.
- [17] HUTCHINGS MI, TRUMAN AW, WILKINSON B. Antibiotics: Past, present and future [J]. Curr Opin Microbiol, 2019, 51(6): 72–80.
- [18] GIMZA BD, CASSAT JE. Mechanisms of antibiotic failure during *Staphylococcus aureus* osteomyelitis [J]. Front Immun, 2021, 12(6): 1–8.
- [19] ZHANG P, WRIGHT JA, OSMAN AA, *et al.* An *aroD* ochre mutation results in a *Staphylococcus aureus* small colony variant that can undergo phenotypic switching via two alternative mechanisms [J]. Front Microbiol, 2017, 8(18): 1–9.
- [20] NORSTRÖM T, LANNERGÅRD J, HUGHES D. Genetic and phenotypic identification of fusidic acid-resistant mutants with the small-colony-variant phenotype in *Staphylococcus aureus* [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2007, 51(12): 4438–4446.
- [21] EIFF C, PETERS G, BECKER K. The small colony variant (SCV) concept—The role of staphylococcal SCVs in persistent infections [J]. Injury, 2006, 37(2, Suppl): S26–S33.
- [22] LEVY SB. Antibacterial household products: cause for concern [J]. Emerg Infect Dis, 2001, 7(3 Suppl): 512–515.
- [23] BAYSTON R, ASHRAF W, SMITH T. Triclosan resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* expressed as small colony variants: A novel mode of evasion of susceptibility to antiseptics [J]. J Antimicrob Chemother, 2007, 59(5): 848–853.
- [24] PAINTER KL, STRANGE E, PARKHILL J, *et al.* *Staphylococcus aureus* adapts to oxidative stress by producing H₂O₂-resistant small-colony variants via the SOS response [J]. Infect Immun, 2015, 83(5): 1830–1844.
- [25] TORRES NJ, HARTSON SD, ROGERS J, *et al.* Proteomic and metabolomic analyses of a tea-tree oil-selected *Staphylococcus aureus* small colony variant [J]. Antibiotics, 2019, 8(4): 248.
- [26] HUANG HW, HSU CP, WANG CY. Healthy expectations of high hydrostatic pressure treatment in food processing industry [J]. J Food Drug Anal, 2020, 28(1): 1–13.
- [27] KARATZAS KAG, TOOM NAL, TASSOU CC, *et al.* Molecular characterization of piezotolerant and stress-resistant mutants of *Staphylococcus aureus* [J]. J Appl Microbiol, 2021, 130(3): 901–912.
- [28] LIU S, BRUL S, ZAAT SAJ. Bacterial persister-cells and spores in the food chain: Their potential inactivation by antimicrobial peptides (AMPs) [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(23): 8967.
- [29] YAN H, LI M, MENG L, *et al.* Formation of viable but nonculturable state of *Staphylococcus aureus* under frozen condition and its characteristics [J]. Int J Food Microbiol, 2021, 357(6): 109381.
- [30] QIAO J, ZHU M, FAN Y, *et al.* Properties and control of cold-induced small colony variants of *Staphylococcus aureus* [J]. Food Biosci, 2021,

- 40(8): 100874.
- [31] GUTLEBEN J, MARES MC, VAN ELSAS JD, *et al.* The multi-omics promise in context: From sequence to microbial isolate [J]. *Crit Rev Microbiol*, 2018, 44(2): 212–229.
- [32] PENNONE V, COBO-DÍAZ JF, PRIETO M, *et al.* Application of genomics and metagenomics to improve food safety based on an enhanced characterisation of antimicrobial resistance [J]. *Curr Opin Food Sci*, 2022, 43(2): 18318.
- [33] BANERJEE G, AGARWAL S, MARSHALL A, *et al.* Application of advanced genomic tools in food safety rapid diagnostics: Challenges and opportunities [J]. *Curr Opin Food Sci*, 2022, 47(6): 100886.
- [34] CHEN H, WANG Q, YIN Y, *et al.* Genotypic variations between wild-type and small colony variant of *Staphylococcus aureus* in prosthetic valve infectious endocarditis: A comparative genomic and transcriptomic analysis [J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2018, 51(4): 655–658.
- [35] WANG X, ZHENG X, HUANG M, *et al.* A comparative genomic analysis of small-colony variant and wild-type *Burkholderiapseudomallei* in a patient with bacterial liver abscess [J]. *J Global Antimicrob Resist*, 2020, 21(8): 16–21.
- [36] HINGSTON PA, TRUELSTRUP HL, POMBERT JF, *et al.* Characterization of *Listeria monocytogenes* enhanced cold-tolerance variants isolated during prolonged cold storage [J]. *Int J Food Microbiol*, 2019, 306(6): 108262.
- [37] HUBBARD AT, ROBERTS AP. A novel *hemA* mutation is responsible for small colony variant phenotype in *Escherichia coli* [J]. *bioRxiv*, 2020, 2021(167): 000962.
- [38] TORRES NJ, HARTSON SD, ROGERS J, *et al.* Proteomics analysis of tea tree oil-selected *Staphylococcus aureus* small colony variant [J]. *FASEB J*, 2017, 31(S1): 768.14.
- [39] HU Z, YUAN K, ZHOU Q, *et al.* Mechanism of antifungal activity of *Perilla frutescens* essential oil against *Aspergillus flavus* by transcriptomic analysis [J]. *Food Control*, 2021, 123(18): 107703.
- [40] SUO B, GUAN P, DONG Z, *et al.* Comparative transcriptomic analysis of *Staphylococcus aureus* reveals the genes involved in survival at low temperature [J]. *Foods*, 2022, 11(7): 996.
- [41] BALKIR P, KEMAHLIOGLU K, YUCELU U. Foodomics: A new approach in food quality and safety [J]. *Trends Food Sci Technol*, 2021, 108(7): 49–57.
- [42] CHUNG HY, KIM YT, KWON JG, *et al.* Molecular interaction between methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and chicken breast reveals enhancement of pathogenesis and toxicity for food-borne outbreak [J]. *Food Microbiol*, 2021, 93(6): 103602.
- [43] CONLON BP, ROWE SE, GANDT AB, *et al.* Persister formation in *Staphylococcus aureus* is associated with ATP depletion [J]. *Nat Microbiol*, 2016, 1(5): 16051.
- [44] HOSSEINKHAN N, MOUSAVIAN Z, MASOUDI-NEJAD A. Comparison of gene co-expression networks in *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* reveals conservation in some aspects of virulence [J]. *Gene*, 2018, 639(8): 1–10.
- [45] BAZAID AS, FORBES S, HUMPHREYS GJ, *et al.* Fatty acid supplementation reverses the small colony variant phenotype in triclosan-adapted *Staphylococcus aureus*: Genetic, proteomic and phenotypic analyses [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 3876.
- [46] SUO B, YANG H, WANG Y, *et al.* Comparative proteomic and morphological change analyses of *Staphylococcus aureus* during resuscitation from prolonged freezing [J]. *Front Microbiol*, 2018, 9(1): 866–871.
- [47] LIU S, CHEN H, CHEN J, *et al.* Transcriptome and proteome of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* small-colony variants reveal changed metabolism and increased immune evasion [J]. *Microbiol Spect*, 6(8): e01898–22.
- [48] WU W, ZHANG L, ZHENG X, *et al.* Emerging applications of metabolomics in food science and future trends [J]. *Food Chem X*, 2022, 16(16): 100500.
- [49] MUNEKATA PES, PATEIRO M, ROCCHETTI G, *et al.* Application of metabolomics to decipher the role of bioactive compounds in plant and animal foods [J]. *Curr Opin Food Sci*, 2022, 46(6): 100851.
- [50] LI S, TIAN Y, JIANG P, *et al.* Recent advances in the application of metabolomics for food safety control and food quality analyses [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2021, 61: 1448–1469.
- [51] LIU J, SHEN Z, TANG J, *et al.* Extracellular DNA released by glycine-auxotrophic *Staphylococcus epidermidis* small colony variant facilitates catheter-related infections [J]. *Commun Biol*, 2021, 4(1): 904.
- [52] WANG C, ZHU J. HPLC-MS/MS targeted metabolic profiling reveals distinct metabolic profiles from *Staphylococcus aureus* small-colony variants [J]. *J Chromatogr B*, 2017, 1060(217): 340–346.
- [53] ALRESHIDI MM, DUNSTAN RH, MACDONALD MM, *et al.* Metabolomic and proteomic responses of *Staphylococcus aureus* to prolonged cold stress [J]. *J Proteom*, 2015, 121(8): 44–55.
- [54] TUCHSCHERR L, LÖFFLER B, PROCTOR RA. Persistence of *Staphylococcus aureus*: Multiple metabolic pathways impact the expression of virulence factors in small-colony variants (SCVs) [J]. *Front Microbiol*, 2020, 11(6): 1–8.
- [55] LI H, HUANG YY, ADDO KA, *et al.* Transcriptomic and proteomic analysis of *Staphylococcus aureus* response to cuminaldehyde stress [J]. *Int J Food Microbiol*, 2022, 382(6): 109930.
- [56] PALAZZOTTO E, WEBER T. Omics and multi-omics approaches to study the biosynthesis of secondary metabolites in microorganisms [J]. *Curr Opin Microbiol*, 2018, 45(6): 109–116.
- [57] AL-MALEKI AR, VELLASAMY KM, MARIAPPAN V, *et al.* Transcriptome analysis of *Burkholderia pseudomallei* SCV reveals an association with virulence, stress resistance and intracellular persistence [J]. *Genomics*, 2020, 112(1): 501–512.
- [58] SULAIMAN JE, LONG L, QIAN PY, *et al.* Proteomics and transcriptomics uncover key processes for elasinintolerance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. *mSystems*, 2022, 7(1): e01393.

(责任编辑: 郑丽于梦娇)

作者简介



关鹏, 硕士研究生, 主要研究方向为食品微生物安全控制技术。
E-mail: guanp1996@163.com



索标, 博士, 教授, 主要研究方向为食品微生物分子生态与食品安全。
E-mail: suobiao1982@126.com