噬菌体对鸡肉表面耐药沙门氏菌的抑制作用

丁一峰, 李昀怡, 毕一兵, 周婉晨, 王小红, 王 佳*

(华中农业大学食品科技学院, 武汉 430070)

摘 要: 目的 探究裂解性噬菌体对鸡肉表面耐药沙门氏菌的抑制效果。**方法** 以实验室前期筛选得到的沙门氏菌噬菌体 D1-2 和 Pu20 为研究材料, 采用单独使用和 1:1 混合的方式对生鸡胸肉表面多重耐药沙门氏菌的抑制效果进行研究。**结果** 与单一噬菌体相比, 噬菌体混合制剂对生鸡胸肉表面多重耐药沙门氏菌抑菌效果更显著。在 4 ℃时, 采用感染复数(multiplicity of infection MOI)值为 10000 的噬菌体混合制剂, 其对肠炎沙门氏菌 11561 的抑菌效率达到 98%, 且可以完全抑制鼠伤寒沙门氏菌 SJTUF13277。**结论** 该方法对鸡肉表面沙门氏菌的抑制作用显著, 可为噬菌体控制耐药沙门氏菌提供实验数据与理论基础。

关键词: 沙门氏菌; 噬菌体; 感染复数; 生鸡胸肉; 抑菌效果

Inhibition of bacteriophage on drug-resistant *Salmonella* on chicken surface

DING Yi-Feng, LI Yun-Yi, BI Yi-Bing, ZHOU Wan-Chen, WANG Xiao-Hong, WANG Jia*

(*College of Food Science and Technology*, *Huazhong Agricultural University*, *Wuhan* 430070, *China*)

ABSTRACT: Objective To explore the inhibitory effect of lytic bacteriophages on drug-resistant *Salmonella* of chicken surface. **Methods** The *Salmonella* bacteriophages D1-2 and Pu20 screened in the early stage of laboratory were used as the research materials to study the inhibition effect of multi-drug resistant *Salmonella* on the surface of raw chicken breast by using alone and the 1:1 mixture method. **Results** Compared with a single bacteriophage, the bacteriophage mixed preparation had a more significant antibacterial effect on multi-resistant *Salmonella* on the surface of raw chicken breast. At 4 ℃, the bacteriophage mixed preparation with multiplicity of infection (MOI) value of 10000 was adopted, its antibacterial efficiency against *Salmonella enteritidis* 11561 reached 98%, and *Salmonella typhimurium* SJTUF13277 was completely inhibited. **Conclusion** This method has a significant inhibitory effect on *Salmonella* on chicken surface, which can provide experimental data and theoretical basis for bacteriophages to control drug-resistant *Salmonella*.

KEY WORDS: *Salmonella*; bacteriaphages; multiplicity of infection; chicken breast; antibacterial effect

0 引 言

沙门氏菌是引起食源性疾病的主要病原菌之一, 严重威胁着人类健康。鸡肉、猪肉等生鲜肉类中沙门氏菌的检出率最高, 易造成食品交叉污染[1]。肠炎沙门氏菌(*Salmonella* enteritidis)与鼠伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhimurium*)是重要的具有侵入致病能力的人畜共患沙门氏菌血清型[2]。目前, 使用抗生素是控制沙门氏菌等细菌

基金项目: “十三五”国家重点研发计划项目(2017YFC1600100)、华中农业大学湖北省大学生创新创业训练计划项目(S201910504065)

Fund: Supported by the National Key R & D Program of the 13th Five-Year Plan (2017YFC1600100), and Undergraduate Training Program for Innovation and Entrepreneurship of Huazhong Agricultural University in Hubei Province (S201910504065)

***通信作者:** 王佳, 博士, 副教授, 主要研究方向为食品质量与安全。E-mail: wangjia@mail.hzau.edu.cn

***Corresponding author:** WANG Jia, Ph.D, Associate Professor, College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China. E-mail: wangjia@mail.hzau.edu.cn

性感染的主要措施, 但是, 随之而来的细菌耐药性问题也不断凸显。在我国临床分离得到的鼠伤寒沙门氏菌对头孢曲松和环丙沙星的耐药率分别为16.33%和29.25%[3], 而且呈现耐药率上升趋势以及多重耐药的问题。有研究表明从肉类制品中分离得到的 38 株沙门氏菌对喹诺酮萘啶酸和氨苄西林的耐药率可达 68.4%和 42.1%, 多重耐药比例达到 34.2%[4]。

烈性噬菌体作为一类可以特异性侵染、杀灭细菌的病毒, 在控制细菌感染方面具有天然的优势: 1)噬菌体在自然界中分布极广[5]; 2)烈性噬菌体的生命周期后期释放子代噬菌体, 同时裂解宿主菌; 3)噬菌体宿主专一性强, 其自我繁殖要依赖活的宿主菌; 4)噬菌体仅有蛋白质和DNA 组成, 普遍认为其对人体无内源性危害[6], 应用于食品的安全性较高[7]。目前, 已有研究将噬菌体应用于肉类[8]、生鲜蔬菜[9]、干酪[10]以及脱脂牛奶[11]等食品中食源性病原菌的控制。而且, 2006 年美国食品和药物管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准了首个噬菌体制剂 ListShield™, 其可以作为控制单核细胞增生李斯特氏菌的加工助剂用于即食食品(ready-to-eat)和禽类产品, 自此之后, 越来越多的噬菌体产品作为食品中的生物防控制剂获批上市。

鸡肉是人类食用的主要畜禽肉类之一, 特别是注重高质量蛋白质摄入的人群, 对鸡肉、特别是鸡胸肉的需求量大幅提高[12]。但是, 鸡肉也是易受沙门氏菌感染的常见载体, 在我国河南省冰鲜生鸡胸肉中检出沙门氏菌污染率达到了 10.5%[13]。因此, 本研究着眼于保障生鲜鸡肉的质量安全, 采用实验室保存的耐药性鼠伤寒沙门氏菌和肠炎沙门氏菌作为控制对象, 用实验室前期筛选得到的 2 株沙门氏菌噬菌体 D1-2 和 Pu20[14−15], 通过单独和混合使用, 探究其应用于生鸡胸肉表面沙门氏菌污染的抑制效果, 为生鲜畜禽肉中的沙门氏菌的防控提供理论基础。

1　材料与方法

1.1　菌株与样品

所用耐药沙门氏菌由上海交通大学施春雷教授惠赠, 其中肠炎沙门氏菌 11561 对氨苄西林、头孢曲松、链霉素、萘啶酸、磺胺甲恶唑、阿奇霉素、磷霉素等抗菌药物有耐药性, 鼠伤寒沙门氏菌 SJTUF13277 对氨苄西林、氯霉素、环丙沙星、庆大霉素、卡那霉素、萘啶酸、氧氟沙星、链霉素、磺胺甲恶唑、四环素有耐药性。D1-2 和 Pu20 分别是以都柏林沙门氏菌和鸡白痢沙门氏菌 CVCC534 作为宿主菌从环境污水样品中分离得到的噬菌体[14−15], 两者均可裂解 80%以上的待测沙门氏菌血清型(实验室保存), 且对 13 株耐药沙门氏菌均有不同程度的裂解能力[14−15]; 生鸡胸肉样品购于华中农业大学校内菜市场。

1.2　仪器与试剂

木糖赖氨酸脱氧胆酸盐平板(xylose lysine deoxycholate, XLD)、LB 培养基、琼脂(青岛海博生物技术有限公司); 无水乙醇(分析纯)、磷酸盐缓冲液(phosphate buffer saline, PBS) (国药集团化学试剂有限公司)。

5417R 小型台式高速离心机(德国 EPPENDORF 公司); Allegra X-30R 台式高速冷冻离心机(美国 Beckman Coulter, Inc.); BSO-130011A2 超净台(苏净集团苏州安泰空气技术有限公司); SPX-250B-Z 电热恒温培养箱(上海迅博实业有限公司医疗设备厂); HNY-2102C 全温振荡培养箱(武汉瑞华仪器设备有限责任公司); YX 600W 高压灭菌锅(上海三申医疗器械有限公司); WH-2 微型旋涡混合仪(上海沪西分析仪器厂有限公司)。

1.3　实验方法

1.3.1　宿主菌的复苏与噬菌体的活化

将保存于-80 ℃的宿主菌(肠炎沙门氏菌 11561 和鼠伤寒沙门氏菌 SJTUF13277)取出划线, 37 ℃过夜培养后, 挑取单菌落于 10 mL 液体培养基中, 160 r/min 培养 8 h。以1%的比例接种至 10 mL 新鲜的液体培养基中, 振荡培养 3 h 取培养液按照稀释涂平板法进行细胞计数, 计算方式按照公式(1)。

细菌数量(colony forming units/mL, CFU/mL)
=单菌落个数×稀释倍数　　(1)

从–80 ℃冰箱里取出保藏的噬菌体, 与处于对数期的宿主菌菌液混合培养 12~18 h 后, 8000 r/min、4 ℃离心 20 min, 上清液用 0.22 μm 滤膜过滤以除去宿主菌, 得到纯的噬菌体液, 置于 4 ℃备用。

1.3.2　生鸡胸肉样品的制备

将整块生鸡胸肉切成厚度均匀的薄片, 表面积为 1 cm×1 cm, 随后将其放入盛有 75%酒精的无菌容器浸泡 30 min, 取出晾干后用紫外灯照射 30 min, 每 3 个样品置于一个培养皿中。为了确保鸡肉样品无菌, 随机取出一片处理过的鸡肉充分研磨后, 用超声波清洗器处理获得匀浆样品, 利用平板稀释法进行细菌计数。

1.3.3　单一噬菌体对生鸡胸肉表面沙门氏菌的抑菌实验

将培养至对数生长期的耐药沙门氏菌用无菌 PBS 缓冲液稀释到 1×10^5 CFU/mL, 向每个实验样品上均滴加 10 μL 稀释好的菌液, 放入超净工作台中无菌风处理 15 min 固定。设置噬菌体感染系数(multiplicity of infection, MOI)值为 1000 和 10000, 即效价分别为 10^8 和 10^9 PFU/mL, 各取 10 μL 滴加到鸡肉片样品上, 同时滴加等量无菌 PBS 缓冲液作为阴性对照。

将上述处理过的鸡胸肉片静置于 4 ℃冰箱中, 分别作用 1、3、6、12 和 24 h 后, 分别取出一个培养皿, 将每片

鸡肉加入装有 1 mL 无菌缓冲液的离心管中，充分研磨后，在超声波清洗器中处理 5 min，采用稀释涂布平板计数法测定鸡肉片上沙门氏菌的数量，采用公式(2)计算出噬菌体的抑菌效果，每组处理设置 4 个平行。

噬菌体的抑菌效率=(对照组沙门氏菌数量−实验组沙门氏菌数量)÷对照组肠炎沙门氏菌数量×100% (2)

1.3.4 混合噬菌体对耐药沙门氏菌的抑菌活性及其影响因素

分别向处理好的无菌鸡肉片样品上滴加 10 μL 的肠炎沙门氏菌 11561 和鼠伤寒沙门氏菌 SJTUF13277(1×10^5 CFU/mL)，调整噬菌体 D1-2 和 Pu20 的效价，以 1:1(*V*:*V*)的比例混合后，设置其 MOI 值为 1000 和 10000，各取 10 μL 滴加到鸡肉片样品上，同时滴加等量无菌 PBS 缓冲液作为阴性对照。将样品分别置于 4 ℃冰箱和 25 ℃培养箱中，放置 1、3、6、12 和 24 h 后，按照上述方法处理后测定混合噬菌体对耐药沙门氏菌的抑制作用。

1.3.5 实验数据处理方法

实验数据处理采用 Prism 6.0 软件，采用单因素方差分析(ANOVA)进行邓肯氏差异分析方法分析(P<0.05，差异显著)。

2 结果与分析

2.1 鸡肉样品的预处理

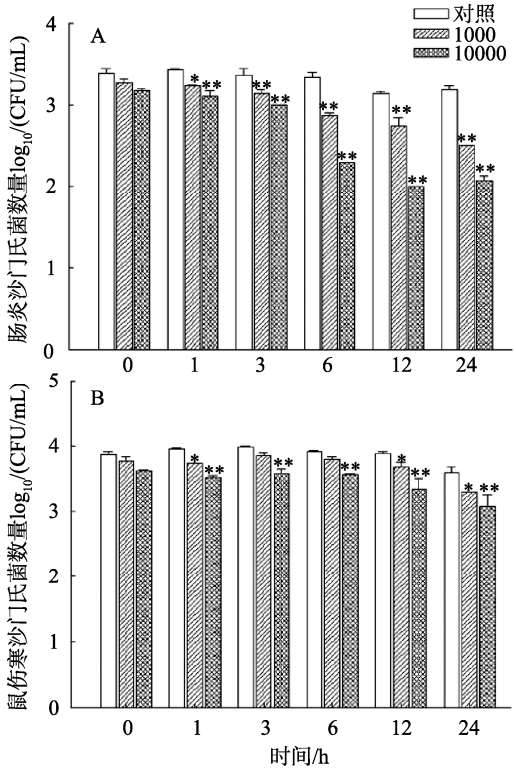
生鸡胸肉片经过 75%酒精和紫外光照的处理后，超声波清洗收集液体涂布平板，原液和不同稀释倍数的平板均无菌落，说明该方法可以有效杀死生鸡胸肉表面的可培养细菌。

2.2 沙门氏菌噬菌体 D1-2 在生鸡胸肉表面的抑菌效果

沙门氏菌噬菌体 D1-2 在 4 ℃下对生鸡胸肉片上耐药肠炎沙门氏菌 11561 的抑菌效果如图 1A 所示。在 4 ℃条件下，对照组宿主菌初始菌量为 3.39 $\log_{10}$ CFU/mL。实验组中加入噬菌体 D1-2 后，设置 MOI=1000 及 10000 时，随着噬菌体与宿主菌作用时间的延长，宿主菌数量有一定下降，当 MOI=10000，两者作用时间为 12 h，宿主菌数量下降最明显，抑菌效率为 93.5%。

当宿主菌为耐药鼠伤寒沙门氏菌 SJTUF13277 时，采用噬菌体 D1-2 处理受污染的生鸡胸肉。在 4 ℃条件下，生鸡胸肉上对照组的沙门氏菌数量初始为 3.88 $\log_{10}$ CFU/mL，24 h 储藏后，平板计数法得到宿主菌数量为 3.59 $\log_{10}$ CFU/mL。当设置不同 MOI 时，噬菌体对宿主菌均有一定程度的抑制作用，当 MOI=1000，作用时间为 0、1、3、6、12、24 h 时，噬菌体 D1-2 对宿主菌的抑制效率分别为 41.3%、26.5%、23.2%、38.5%、48.7%。当 MOI=10000，作用时间为 0、1、3、6、12、24 h 时，抑制率分别为 64.1%、61.2%、56.1%、71.8%、69.2%(图 1B)。

随着噬菌体 D1-2 对受污染样品作用时间的延长，宿主菌数量显著下降，但噬菌体 D1-2 不能完全杀灭宿主菌肠炎沙门氏菌 11561 和鼠伤寒沙门氏菌 SJTUF13277。



注: *显著, P<0.05; **极显著, P<0.01，下同。

图 1 4 ℃下噬菌体 D1-2 对生鸡胸肉上肠炎沙门氏菌 11561(A)和鼠伤寒沙门氏菌 SJTUF13277(B)的抑菌效果(n=4)

Fig.1 Bacteriostatic effect of bacteriophage D1-2 against *Salmonella enteritidis* 11561(A) and *Salmonella typhimurium* SJTUF13277(B) on raw chicken breast at 4 ℃ (n=4)

2.3 沙门氏菌噬菌体 Pu20 在生鸡胸肉表面的抑菌效果

分别以肠炎沙门氏菌 11561 和耐药鼠伤寒沙门氏菌 SJTUF13277 为宿主菌，沙门氏菌噬菌体 Pu20 对其的抑制作用如图 2 所示。用肠炎沙门氏菌 11561 污染生鸡胸肉片，在 4 ℃条件下，对照组生鸡胸肉上的耐药宿主菌的初始数量为 3.36 $\log_{10}$ CFU/mL，处理 24 h 后菌量为 2.98 $\log_{10}$ CFU/mL。分别以 MOI=1000 和 MOI=10000 设置实验组。当 MOI=1000 时，随着噬菌体 Pu20 与鸡肉片上耐药宿主菌作用时间的延长，宿主菌的数量逐渐降低。当 MOI=10000 时，噬菌体 Pu20 与耐药宿主菌作用时间也会影响宿主菌的数量，MOI=10000 时，噬菌体 Pu20 作用 1、3、6、12、24 h 后，抑菌效率分别为 62.5%、65.5%、75.2%、68.5%、75.0%。在作用时间为 6 h 时，宿主菌比同期对照组菌落数下降最明显(图 2A)。

以耐药鼠伤寒沙门氏菌 SJTUF13277 为宿主菌处理生鸡胸肉片时, 初始菌量为 3.76 $\log_{10}$ CFU/mL, 作用 24 h 菌量为 3.56 $\log_{10}$ CFU/mL。噬菌体的作用会显著降低宿主菌的数量, 尤其是当 MOI=10000 时, 噬菌体对宿主菌的裂解作用较 MOI 为 1000 时更明显, 当作用 1、3、6、12、24 h 后, 噬菌体 Pu20 对宿主菌的抑制效率分别为 60.7%、70.8%、52.9%、55.5%、68.5% (图 2B)。

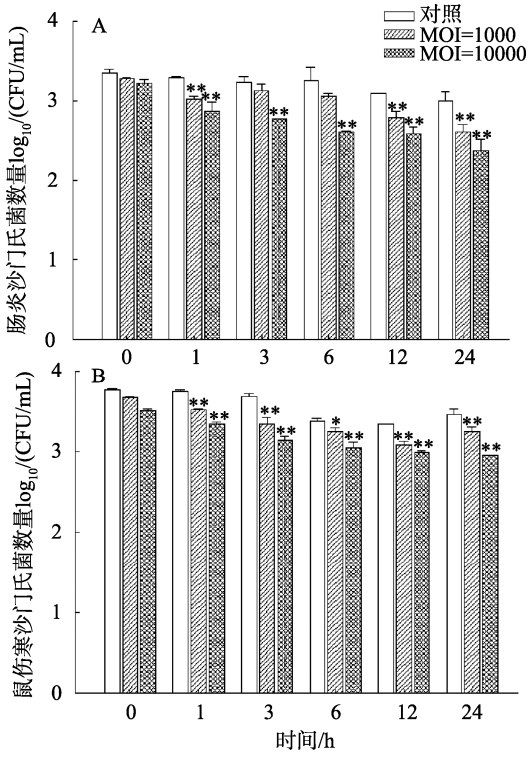


图 2　4 ℃下噬菌体 Pu20 对生鸡胸肉上肠炎沙门氏菌 11561(A)和鼠伤寒沙门氏菌 SJTUF13277(B)的抑菌效果(n=4)

Fig.2　Bacteriostatic effect of bacteriophage Pu20 on *Salmonella enteritidis* 11561(A) and *Salmonella typhimurium* SJTUF13277(B) on raw chicken breast at 4 ℃ (n=4)

2.4　沙门氏菌噬菌体混合制剂在生鸡胸肉表面的抑菌效果

通过双层平板法测定噬菌体 D1-2 和 Pu20 的效价, 以 1:1 比例混合后, 吸取 10 μL 作用于耐药宿主菌, 分别将受污染的生鸡胸肉片置于 4 ℃和 25 ℃的条件下培养, 结果如图 3。

在 4 ℃条件下, 生鸡胸肉片上肠炎沙门氏菌 11561 初始菌量为 3.38 $\log_{10}$ CFU/mL, 12 h 后菌量略有下降, 为 3.18 $\log_{10}$ CFU/mL。调整噬菌体 Pu20 和 D1-2 效价, 混合后 MOI=1000 时, 与宿主菌作用 1 h 后, 宿主菌数量显著下降, 当 MOI=10000 时, 宿主菌菌量在 1 h 后出现极显著性差异 (P<0.01)。随着混合噬菌体与宿主菌作用时间的延长, 不论 MOI 为 1000 还是 10000, 对宿主菌肠炎沙门氏菌 11561 的抑制率均不断提高。噬菌体混合使用对生鸡胸肉表面沙门氏菌的抑菌作用也受到温度的影响, 当作用温度为 25 ℃、MOI 为 10000 时, 可以完全抑制沙门氏菌的生长(图 3A、B)。

鼠伤寒沙门氏菌 SJTUF13277 在生鸡胸肉片上初始菌量为 3.45 $\log_{10}$ CFU/mL, 在 4 ℃条件下放置 24 h 后, 菌量为 3.43 $\log_{10}$ CFU/mL。用噬菌体 Pu20 和 D1-2 混合后处理样品, 当 MOI=1000 时, 噬菌体作用时间为 1、3、6、12 和 24 h, 生鸡胸肉片上宿主菌数量呈现先降低后升高, 特别是在作用 24 h 后, 宿主菌数量明显回升, 可能是因为鼠伤寒沙门氏菌 SJTUF13277 在 24 h 后对混合噬菌体产生了一定程度的抗性。随着 MOI 的增加, 抑菌效率显著增加。当 MOI=10000、作用 1 h 后, 噬菌体 Pu20 和 D1-2 混合使用后可以完全抑制宿主菌的生长, 抑菌效率达到了 100%。当 MOI=1000 时, 在 25 ℃培养条件下, 24 h 后生鸡胸肉上的宿主菌数量略有增加, 与宿主菌作用 1、3、6、12、24 h 后, 样品中宿主菌数量相比均有所下降, 但是在 24 h 时菌量也出现了上升; 而 MOI=10000、作用 3 h 时, 噬菌体混合制剂即可完全抑制宿主菌的生长。

噬菌体单一和混合使用对生鸡胸肉片表面宿主菌的最佳抑菌效果如表 1 所示, 噬菌体混合使用可以显著提高其对宿主菌的抑制效果。

3　结论与讨论

沙门氏菌是一类重要的人畜共患病原菌, 其中肠炎沙门氏菌和鼠伤寒沙门氏菌是最常见的 2 种血清型。目前, 主要采用抗生素控制沙门氏菌的大量增殖, 但是随之而来的耐药性也不容忽视。近年来, 越来越多的研究选择噬菌体用于控制食源性病原微生物。噬菌体是一类天然生物制剂, 其抑菌效果受到很多因素的影响, 如作用时间和温度、噬菌体的种类及其与细菌数量的比例, 即感染复数 MOI[16]。通常情况下, 所采用 MOI 越高, 抑菌效率越显著[17]。在实际应用中, 较高的 MOI 值可以提升噬菌体与宿主菌的接触概率, 确保初始噬菌体足够多可以吸附到宿主菌上, 在较短的时间降低宿主菌的浓度[18−19]。在本研究中, 噬菌体 D1-2 和 Pu20 对沙门氏菌的不同血清型具有广谱抑制活性, 对实验室已有的 13 株耐药沙门氏菌显示出较强的抑菌能力, 其中, 对肠炎沙门氏菌 11561 和鼠伤寒沙门氏菌 SJTUF13277 抑菌效果极显著[14−15], 因此本研究采用这 2 株噬菌体单一和混合的方式对生鸡胸肉表面耐药沙门氏菌进行抑菌效果的分析。根据前期实验结果, 当 MOI 值为 1000、与宿主菌作用 12 h 时, D1-2 可以完全抑制培养基中肠炎沙门氏菌 11561 和鼠伤寒沙门氏菌 SJTUF13277[14]; 噬菌体 Pu20 在 MOI 为 1000 时, 前 8 h 可以完全抑制肠炎

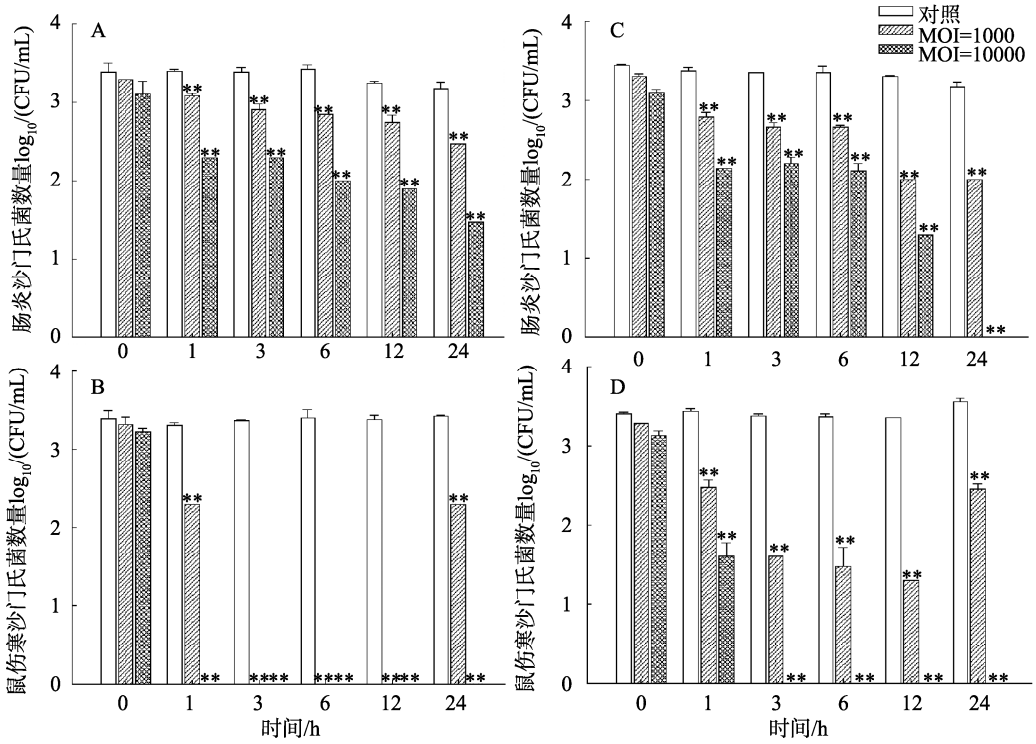


图 3 噬菌体混合制剂在 4 ℃ (A、B)和 25℃ (C、D)对生鸡胸肉上肠炎沙门氏菌 11561 和鼠伤寒沙门氏菌 SJTUF13277 的抑菌效果(n=4)

Fig.3 Bacteriostatic effect of bacteriophage mixed preparation on *S*. Enteritidis 11561 and *S*. Typhimurium SJTUF13277 on raw chicken breast at 4 ℃ (A, B) and 25 ℃ (C, D) (n=4)

表 1 噬菌体 D1-2 和 Pu20 及其混合使用在生鸡胸肉片表面最佳抑菌效果及其条件

Table 1 Optimal antibacterial effect and condition of bacteriophage D1-2 and Pu20 and their mixture on the surface of raw chicken breast slices

宿主菌噬菌体	肠炎沙门氏菌 11561				鼠伤寒沙门氏菌 SJTUF13277			
	D1-2	Pu20	噬菌体混合		D1-2	Pu20	噬菌体混合	
			4 ℃	25 ℃			4 ℃	25 ℃
最高抑制效率	93.5%	75.2%	98.0%	100%	71.8%	70.8%	100%	100%
菌落数 log10/(CFU/mL)	2.0	2.61	1.5	0	3.34	3.15	0	0
MOI	10000	10000	10000	10000	10000	10000	10000	10000
作用时间/h	12	6	24	24	12	3	1	3

沙门氏菌 11561 的生长[15], 而 MOI 值为 0.01~100 之间时, 宿主菌生长呈先上升再下降后再回升的趋势, 抑菌效果不明显。同时, 与牛奶等液体样品相比, 鸡肉是固体样品, 其表面噬菌体与宿主菌接触不够充分, 且水分蒸发后肉片变干, 会影响肉片表面沙门氏菌的生长, 也会间接影响噬菌体的抑菌效果。因此, 综合考虑选择了较高的 MOI 值(1000 和 10000)进行后续实验。本研究选择 4 ℃作为实验处理温度, 主要原因是 4 ℃为肉类的保鲜温度, 在此温度下, 宿主菌繁殖缓慢, 噬菌体抑制宿主菌的速度优于宿主菌的生长速度, 抑菌效果较显著。

噬菌体 D1-2 和 Pu20 混合制剂的抑菌效果显著优于单一噬菌体[20]。噬菌体与宿主菌共同培养会表现出不同的共进化过程, 使宿主菌对噬菌体产生抗性, 若将多种噬菌体混合, 具有协同效应, 在一定程度上可以降低或延缓宿主菌对噬菌体产生抗性[21], 从而提高了其对宿主菌的抑制作用。单一噬菌体易使宿主菌产生抗性, 实验室前期工作分析了 Pu20 对沙门氏菌 SJTUF13277 的裂解曲线, 可知在 MOI=1000 时, 作用 0~6 h 可以显著抑制宿主菌的生长, 但 6 h 之后, 宿主菌数量有所上升, 说明该株沙门氏菌对噬菌体 Pu20 产生了抗性[15]。在本研究中, 噬菌体 D1-2 和 Pu20 单一使用时, 作用于受污染的样品 12 h 及以上时, 抑菌效率无显著提高; 而将这 2 种噬菌体混合后作用于受肠炎沙门氏菌 11561 污染的鸡肉时, 随着作用时间的延长, 可以显著降低宿主菌的浓度。但是, 当宿主菌为鼠伤寒沙门氏菌 SJTUF13277 时, 在 MOI=1000 时, 作用 24 h 后, 宿主菌数量又显著回升, 说明宿主菌对该噬菌体混合制剂产生了

耐受性, 且在 4 ℃和 25 ℃条件下菌量均有回升, MOI 的增加可以减少或延缓这种耐受性的产生。除此之外, 作用温度也是影响混合噬菌体对宿主菌的抑制效果的重要因素, 而前期实验结果也显示噬菌体 D1-2 和 Pu20 在 30 ℃处理 1 h 效价没有明显变化[14−15]。因此, 测定 25 ℃(室温温度)下混合噬菌体的抑菌活性, 不仅可以确定温度对噬菌体抑菌活性的影响, 也为拓宽噬菌体的应用提供了理论依据。

本研究以生鸡胸肉为研究对象, 探究了 2 种噬菌体单独和混合复配应用于生鸡胸肉表面时的抑菌效果。与单一噬菌体相比, 2 种噬菌体以 1:1 混合后, 其对宿主菌的抑制效果更显著, 在 MOI=10000 时, 3 h 即可完全抑制鼠伤寒沙门氏菌 SJTUF13277 的生长。因此, 噬菌体作为细菌的“天然杀手”, 特别是噬菌体混合制剂, 在抑菌和延缓宿主耐药性方面具有广阔的应用前景。

参考文献

[1] 陈楷, 林秀敏, 尹玮璐, 等. 生鲜肉制品沙门氏菌分离鉴定过程中的干扰菌分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(4): 1287−1292.
CHEN K, LIN XM, YIN WL, *et al*. Interfering bacteria analysis in the isolation and identification of *Salmonella* in fresh meat products [J]. J Food Saf Qual, 2017, 8(4): 1287−1292.

[2] PETROVSKA L, MATHER AE, ABUOUN M, *et al*. Microevolution of monophasic *Salmonella* Typhimurium during epidemic, United Kingdom, 2005–2010 [J]. Emerg Infect Dis, 2016, 22(4): 617−624.

[3] 李永瑞, 李艳. 河南省临床鼠伤寒沙门氏菌的耐药性分析[J]. 河南科技大学学报(医学版), 2018, 36(3): 218−221.
LI YR, LI Y. Antibiotic resistance of *Salmonella Enteria Serovar* Typhimurium in human infections in Henan [J]. J Henan Univ Sci Technol (Med Sci Ed), 2018, 36(3): 218−221.

[4] 畅晓晖, 张捷, 亓合媛, 等. 北京地区肉类中沙门氏菌全基因组分型及耐药分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(3): 783−791.
CHANG XH, ZHANG J, QI HY, *et al*. Genotyping and drug resistance analysis of *Salmonella* in meat in Beijing [J]. J Food Saf Qual, 2020, 11(3): 783−791.

[5] LOC-CARRILLO C, ABEDON ST. Pros and cons of phage therapy [J]. Bacteriophage, 2011, 1(2): 111−114.

[6] SILLANKORVA SM, OLIVEIRA H, AZEREDO J. Bacteriophages and their role in food safety [J]. Int J Food Microbiol, 2012, (1): 863945.

[7] 刘心妍. 噬菌体在食品安全中的应用和潜在风险[J]. 微生物学通报, 2011, 38(6): 916−920.
LIU XY. The application and potential risks of bacteriophages for the food safety [J]. Microbiol China, 2011, 38(6): 916−920.

[8] YEH Y, MOURA F, BROEK K, *et al*. Effect of ultraviolet light, organic acids, and bacteriophage on *Salmonella* populations in ground beef [J]. Meat Sci, 2018, 139: 44−48.

[9] OLIVEIRA M, ABADIAS M, COLÁS-MEDÀ P, *et al*. Biopreservative methods to control the growth of foodborne pathogens on fresh-cut lettuce [J]. Int J Food Microbiol, 2015, 214: 4−11.

[10] SILVA ENG, FIGUEIREDO ACL, MIRANDA FA, *et al*. Control of *Listeria monocytogenes* growth in soft cheeses by bacteriophage P100 [J]. Braz J Microbiol, 2014, 45(1): 11−16.

[11] ENDERSEN L, BUTTIMER C, NEVIN E, *et al*. Investigating the biocontrol and anti-biofilm potential of a three phage cocktail against *Cronobacter sakazakii* in different brands of infant formula [J]. Int J Food Microbiol, 2017, 253: 1−11.

[12] 孙菀霞, 杜建萍, 张春艳, 等. 生鸡肉生产链中沙门氏菌风险评估的研究进展[J]. 生物加工过程, 2017, 15(2): 72−78.
SUN WX, DU JP, ZHANG CY, *et al*. Progress on risk assessment of *Salmonella* spp. During the raw chicken production chain [J]. Chin J Bioproc Eng, 2017, 15(2): 72−78.

[13] 徐丽娜, 闫龙刚, 朱瑶迪, 等. 河南省冰鲜鸡肉与烧鸡中沙门氏菌污染情况调查[J]. 安徽农学通报, 2018, 24(20): 96−117.
XU LN, YAN LG, ZHU YD, *et al*. Investigation on *Salmonella* contamination in chilled chicken and roast chicken in Henan province [J]. Anhui Agric Sci Bull, 2018, 24(20): 96−117.

[14] LI Z, MA W, LI W, *et al*. A broad-spectrum phage controls multidrug-resistant *Salmonella* in liquid eggs [J]. Food Res Int, 2020, 132: 109011.

[15] ZHANG Y, DING Y, LI W, *et al*. Application of a novel lytic podoviridae phage Pu20 3 for biological control of drug-resistant *Salmonella* in 4 liquid eggs [J]. Pathogens, 2021, 10(1): 34−48.

[16] LY-CHATAIN MH. The factors affecting effectiveness of treatment in phages therapy [J]. Front Microbiol, 2014, 5: 51.

[17] HUANG C, SHI J, MA W, *et al*. Isolation, characterization, and application of a novel specific *Salmonella* bacteriophage in different food matrices [J]. Food Res Int, 2018, 111: 631−641.

[18] HUDSON JA, BILLINGTON C, CORNELIUS AJ, *et al*. Use of a bacteriophage to inactivate *Escherichia coli* O157:H7 on beef [J]. Food Microbiol, 2013, 36(1): 14−21.

[19] HUNGARO HM, MENDOCA RCS, GOUVEA DM, *et al*. Use of bacteriophages to reduce *Salmonella* in chicken skin in comparison with chemical agents [J]. Food Res Int, 2013, 52(1): 75−81.

[20] NIU YD, JOHNSON RP, XU Y, *et al*. Host range and lytic capability of four bacteriophages against bovine and clinical human isolates of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 [J]. J Appl Microbiol, 2009, 107(2): 646−656.

[21] MUKHOPADHYAY S, RAMASWAMY R. Application of emerging technologies to control *Salmonella* in foods: A review [J]. Food Res Int, 2012, 45(2): 666−677.

(责任编辑: 张晓寒)

作者简介

丁一峰, 博士研究生, 主要研究方向为食品质量与安全。
E-mail: yifengding@webmail.hzau.edu.cn

王　佳, 博士, 副教授, 主要研究方向为食品质量与安全。
E-mail: wangjia@mail.hzau.edu.cn