

噬菌体在食品生产和加工中的生物防控 应用及思考

张辉*, 包红朵

(江苏省食品质量安全重点实验室-省部共建国家重点实验室培育基地, 江苏省农业科学院农产品质量安全与营养研究所, 南京 210014)

摘要: 噬菌体以其突出的优势在生物防控和疾病治疗中扮演着重要角色, 不仅有效抑制致病菌延长食品货架期, 且具有特异无残留等优点。目前在农业、动物疾病防控、食品安全以及耐药性疾病治疗中的应用案例屡见不鲜, 许多国家已有噬菌体产品应运而生。噬菌体在食品生产“农场”和加工后“餐桌”的干预措施, 能够控制重要食源性病原, 如沙门氏菌、李斯特菌和大肠杆菌等。在“农场-餐桌”的供应链中, 噬菌体及其衍生物均能发挥重要作用, 有效抑制致病菌来保障农产品质量安全。本文就噬菌体在食品生物防控中的应用进展以及应用中存在的问题进行综述, 以期对噬菌体的应用开发提供参考。

关键词: 噬菌体; 生物防控; 抗菌

Bio-control application and thinking of bacteriophages in food production and processing

ZHANG Hui*, BAO Hong-Duo

(Jiangsu Key Laboratory of Food Quality and Safety-State Key Laboratory Cultivation Base of MOST, Institute of Food Safety and Nutrition, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

ABSTRACT: Bacteriophages plays an important role in bio-control and therapy because of its outstanding advantages. It not only effectively inhibit pathogens for prolonging the shelf life of foods, but also has advantages of specificity and no residue. At present, the application cases in agriculture, animal disease prevention and control, food safety and drug resistance disease treatment are prevalent, and many countries have developed bacteriophages products. Bacteriophages are viruses of bacteria that can be applied as pre-harvest and post-harvest interventions in food to reduce the foodborne pathogens, such as *Salmonella*, *Listeria* and *E.coli*. In the food supply chain of farm table, bacteriophages and its derivatives can play an important role in effectively inhibiting pathogenic bacteria to ensure the quality and safety of agricultural products. This paper reviewed the application progress and problems of bacteriophages in food bio-control, in order to provide reference for the application and development of bacteriophages.

KEY WORDS: bacteriophages; bio-control; antibacterial

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFE0101900)、国家自然科学基金项目(31671955)、江苏省六大人才高峰项目(NY-034)

Fund: Supported by the National Key Research and Development Program of China (2018YFE0101900), the National Natural Science Foundation of China (31671955), and the Six Talent Peaks Project in Jiangsu Province (NY-034)

*通信作者: 张辉, 博士, 研究员, 主要研究方向为食源性病原菌监测及生物防控研究。E-mail: Huiz@jaas.ac.cn

*Corresponding author: ZHANG Hui, Ph.D, Professor, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, No.50 Zhongling Street, Nanjing 210014, China. E-mail: Huiz@jaas.ac.cn

0 引 言

食品从“农场”到“餐桌”的全链条中, 食源性致病菌造成的食品安全给人类带来严重威胁。全球每年有 9400 万沙门氏菌引起的肠胃炎病例, 其中有 85% 的病例是食源性疾病^[1]。作为人类条件性致病菌的单核细胞增生性李斯特菌 (*Listeria monocytogens*, Lm) 对环境具有高度适应性, 如耐高盐、低 pH 及低温等极端环境^[2], 仅 10^3 CFU/mL 的 Lm 就足以使人致病, 死亡率为 15%~40%。目前, 全球监测体系在很多即食性食品如鲜切蔬菜、乳品及肉制品中检出较高频率的 Lm, 且在低温冷藏食品中有多起召回事件。近年来, 我国食源性疾病患者数量一直居高不下, 2016—2018 年南京市食源性疾病暴发监测系统上报显示共 36 起, 发病 799 例, 细菌性致病因素引起的食源性疾病暴发事件数和病例数最多, 其中副溶血性弧菌最为常见^[3]; 浙江省 2006—2017 年的监测数据显示, 细菌引起的食源性疾病事件数感染率高达 70.85%, 其中副溶血弧菌引发病例达 61.81%^[4]。

噬菌体 (bacteriophages) 是一种病毒, 能够感染并杀死细菌。在食品发酵工业中, 噬菌体的裂解性或毒性给发酵带来巨大威胁^[5-6]。然而, 对于食源性致病菌而言, 裂解性噬菌体可以有效抑制致病菌及腐败菌的生长, 减少食品的损失^[7]。同样, 噬菌体还可以消除多重耐药性病原菌, 为全球耐药性细菌病的治疗提供新的选择^[8]。目前噬菌体已被成功地用于控制食品中多种致病菌的污染, 2006 年第一款噬菌体产品 ListShield™ 诞生并成为噬菌体抗菌产品开发的里程碑。目前噬菌体制剂 ListShield™ 和 Salmofresh™ (Intralix 公司) 已被作为一般公认的安全 (generally recognized as safe, GRAS) 的产品用于食品工业^[9]。本文将重点阐述噬菌体在食品生产和加工中的生物防控应用进展, 并对其在应用中的安全性进行探讨, 为今后噬菌体的安全和有效利用提供参考。

1 噬菌体在鲜切食品中的抑菌应用

鲜切食品被认为是健康生活方式的一部分, 尤其是针对年轻的消费者群体。然而, 露天种植的蔬菜通过土壤、有机肥和灌溉水等很容易受微生物污染。此外, 由于这些食物通常是鲜切生吃, 尽管经过充分洗涤, 微生物仍可在其表面上持久存在, 从而导致安全隐患。噬菌体生物防控的成功与否取决于食物基质和温度, BAO 等^[10]将噬菌体 PA13076、PC2184 噬菌体鸡尾酒用于卷心菜表面沙门氏菌的抑制, 发现在 4 °C 和 25 °C 条件下均能有效抑制沙门氏菌生长。CHAITIEMWONG 等^[11]针对噬菌体和化学消毒剂在蜜瓜切片上的抑菌效果进行了比较分析, 结果表明噬菌体的抑菌作用优于化学消毒剂。PERERA 等^[12]发现用商品

化噬菌体产品 Listshield™ 能够降低生菜中 Lm 的污染 (91%)。当然, 噬菌体在鲜切食品中的应用效果并不完全一致, 当应用于鲜切苹果片时, Lm 数量并没有明显下降, 而噬菌体数量却下降了^[13]。由此, 可以得出苹果的酸性 pH 可能使噬菌体活力降低, 因此, 有研究人员认为应使用耐酸较强的噬菌体控制苹果中致病菌的污染将会更为有效。LEVERENTZ 等^[14]在另一项研究中同样也比较了噬菌体鸡尾酒 (LM-103 和 LMP-102) 和生物抗菌剂 Nisin 控制鲜切甜瓜和苹果切片中 Lm 的协同效应, 发现 2 种抗菌剂噬菌体鸡尾酒喷洒及 Nisin 的组合比单独使用能更好地减少水果表面的 Lm。在类似的协同研究中, VIAZIS 等^[15]发现噬菌体混合物单独或与反式肉桂醛油组合对污染大肠杆菌 O157:H7 的生菜和菠菜叶均有抑菌效果, 当大肠杆菌数量较低 (10^4 CFU/mL) 时, 单独使用噬菌体或反式肉桂醛油在 23 °C 和 37 °C 下 24 h 后成功抑制了叶片上大肠杆菌 O157:H7 的生长, 而当大肠杆菌数量较高 (10^6 CFU/mL) 时, 其抗大肠杆菌活性有所下降。但当噬菌体与反式肉桂醛油联合应用时, 大肠杆菌 O157:H7 能够被完全灭活。随后, BOYACIOGLU 等^[16]报道了抗大肠杆菌 O157:H7 噬菌体混合物与新鲜切叶绿色蔬菜的改良空气包装一起使用时的改进效果。ListShield™ 单独应用或与抗氧化剂/防褐变溶液结合使用, 4 °C 下作用 24 h 后可显著降低苹果片上 93% (1.1 log) 的 Lm 污染 ($P < 0.001$)^[13]。因此, 噬菌体不仅可以用于鸡尾酒抑制致病菌, 与其他食品级抗菌剂联合应用可能发挥更大抗菌潜力。

2 噬菌体在水产品中的应用

水产品因其蛋白含量较高, 受到众多消费者青睐, 然而水产品中致病菌风险也受到更多关注。Listex P100 是美国食品药品监督管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 和美国农业部食品安全和检验局批准用于所有生食和即食食品以对抗 Lm 污染的商品化噬菌体产品。Listex P100 的抗菌效果已经在鲜三文鱼片和淡水鲢鱼片中得到了证实^[17]。在 4 °C 下储存 10 d 后, Lm 数量被噬菌体 P100 杀灭到 0.3 log CFU/g 以下, 而对照组细菌数为 2.6 log CFU/g。在 10 d 的储存期内, 噬菌体 P100 在加工前三文鱼片组织表面保持稳定, 效果仅降低 0.6 log PFU/g, 这从另一方面说明 Listex P100 在鲜食三文鱼片中充分体现其防控效应。GALARCE 等^[18]也证实了在生三文鱼和熏三文鱼组织中噬菌体有抑制肠炎沙门氏菌的理想效果。在储存 10 d 的周期中, 18 °C 的环境下沙门氏菌降低了 0.75~3.19 log CFU/g, 4 °C 情况下降低了 2.82~3.12 log CFU/g。BAÑOS 等^[19]研究了肠溶素 AS-48 和李斯特菌噬菌体产品 P100 单独和联合使用对生鳕鱼片、生三文鱼片和熏三文鱼片组织中 Lm 增多性李斯特菌的生物防控, 噬菌体 P100 处理能显著降低 2 种生鳕鱼和生三文鱼片中的 Lm 数量, 但效果低于 AS-48。海产品中中毒事件

中 80%源于弧菌污染,目前弧菌耐药特性呈升高趋势,针对其特异的噬菌体研究日益增多。2017 年, LIFE13 ENVIPHAGE 噬菌体项目证实噬菌体应用不刺激鱼类免疫系统,不改变水生细菌生态系统,对人体健康无影响(<http://www.enviphage.eu>)。Nisin、Natamycin 以及 ϵ -poly-L-lysine 等都被应用于生物抗菌,而噬菌体在弧菌中的应用更为广泛,除养殖过程外还能在鲜食海鲜中进行生物保鲜防腐,有效延长货架期^[20-21]。噬菌体 pVp-1 能够在虾中抑制 90.9%的副溶血弧菌^[22],在牡蛎中也获得类似的生物防控效果^[23]。在噬菌体 VVP001 体外应用中,其能够有效降低 3.87 log *Vibrio vulnificus* MO6-24/O(创伤弧菌临床分离株)^[24]。目前, Proteon Pharmaceuticals (<http://www.proteonpharma.com>) 公司已开发出一种噬菌体产品 BAFADOR®,主要是用于防控水产养殖假单胞菌和气单胞菌感染水产品,说明噬菌体不仅能够用于保鲜抗菌,也可以在养殖中进行防控治疗。目前,水体净化中更倾向于化学消毒剂二氧化氯(ClO₂),然而二氧化氯的残留同样带来安全隐患,因此人们更为关注的是水产品生产与加工中噬菌体应用的关键技术以及如何进行多重联用,推动水产品安全绿色,促进水产品的正向安全循环。

3 噬菌体在畜禽产品中的应用

应用噬菌体减少各种细菌病原体对食物的污染需要深入了解致病菌的流行情况,并确定加工周期中哪些关键干预点是使用噬菌体后可以达到最大效果。肉制品被食源性病原菌污染通常是由于胴体在进入加工过程之前接触了受感染动物的粪便。猪可以在运输过程中被沙门氏菌定植,并且在受沙门菌污染的拖车和围栏的环境中进行饲养,导致在屠宰之前病原菌增加。反过来,增加的病原体放大进入加工设施的病原菌数量,从而增加胴体污染的可能性。确保食品安全是一个复杂的过程,取决于在食品生产链的各个层面进行广泛的协调控制。目前正在探索的各种食品安全方法中,噬菌体已成为食品中细菌污染的生物控制的一种新工具。

3.1 生肉及肉制品

动物源食品微生物污染引发的疾病频频出现,然而化学消毒剂如苯扎氯铵等并不能有效抑制加工过程中的微生物污染,相反由于使用剂量的不合理引发食源性病原的耐药性,噬菌体则以其独特的方式受到食品企业的青睐。在近期的研究中,SPRICIGO 等^[25]模拟生产加工环境,利用 3 种裂解性噬菌体 UAB_Phi20、UAB_Phi78 和 UAB_Phi87 组成的噬菌体鸡尾酒作用于猪皮、鸡胸肉、新鲜鸡蛋和包装的莴苣叶,证实了噬菌体混合物作为沙门氏菌生物防治剂的潜力。而在之前的研究中,这 3 种噬菌体被成功地用于控制家禽体内的沙门氏菌感染^[26]。同样,在即食

性的五香鸡肉中志贺氏菌噬菌体形成的鸡尾酒能够有效将志贺氏菌抑制于检测水平以下^[27]。目前开发的 ShigaShield™ 噬菌体制剂,亦由 5 种裂解噬菌体组成,专门针对志贺氏菌的污染,其效果显著。SOFFER 等^[28]研究了其对熟肉、熏三文鱼、预煮鸡肉、生菜、甜瓜和酸奶防控志贺氏菌的效果,所有噬菌体处理的食品中的志贺氏菌数量均显著降低($P < 0.01$),但最低噬菌体剂量为 9×10^5 PFU/g,在甜瓜上的效果与预期有差异,仅降低约 45% (0.25 log)。GUENTHER 等^[29]以多种即食性食品热狗、熟火鸡胸肉、混合海鲜、巧克力牛奶及蛋黄为基质,研究了宽宿主谱裂解性沙门氏菌噬菌体 FO1-E2 对鼠伤寒沙门氏菌生物防控的效果,在 8 °C 时,使用 FO1-E2 后能够完全抑制细菌生长;在 15 °C 时,可将火鸡熟肉和巧克力牛奶上的鼠伤寒沙门氏菌的数量减少 5 log。BIGWOOD 等^[30]的研究同样证实了这一结论,在 5 °C 和 24 °C 下,模拟冷藏和室温储存,发现在熟肉和生肉中研究噬菌体对鼠伤寒沙门氏菌和空肠弯曲杆菌的抑制能力取决于温度和作用的食物基质。肉类和禽肉产品以及其他易变质食品,如鱼和蔬菜,含有天然的渗出液,这些液体会随着时间的推移从产品中排出。当肉类放在塑料托盘售卖时,这些液体就聚集在托盘内,随后可能会在运输和处理过程中泄漏。开发基于噬菌体的抗微生物生物活性包装材料,如使用醋酸纤维素膜和含有噬菌体的吸收性食品垫,是另一个有吸引力的技术,以延长食品的保质期。GOUVÊA 等^[31]研究冷藏肉塑料托盘中使用的吸收性食品垫,发现含有 6 种噬菌体的混合物,可用于食品保鲜区域的生物防控,这是一种延长冷藏加工食品保质期的优良方法。在食品垫中加入 3 种不同浓度(10^9 、 10^8 、 10^7 PFU/mL)的噬菌体,在 15 °C 下,噬菌体作用 12 h 结果比 10 °C 的抗菌效果更为显著,这是由于噬菌体的生活周期和复制过程依赖于宿主代谢功能,而 10 °C 时细菌细胞代谢速度低。噬菌体在抗菌包装材料上的稳定性是其发展面临的主要挑战之一。目前,大部分研究是对水介质中噬菌体稳定性的分析,而对包装材料中噬菌体稳定性的了解有限。但该研究表明,在 48 h 内,食品垫上的噬菌体仍可检测到。VONASEK 等^[32]评估了在水性介质和食品表面上的乳清蛋白(whey protein isolation, WPI)可食用薄膜中包封的噬菌体的释放情况。结果表明,噬菌体在水介质中的释放量大于在食品表面的释放量。由此可见,噬菌体应用形式也将成为不同应用领域中的重点,其与不同基质的复合将能放大其抑菌效果,从而发挥更大潜能。

3.2 生鲜乳及乳制品

生鲜乳及乳制品生产过程中总伴随不同病原菌的滋生,生鲜乳在挤奶过程中引发的金黄色葡萄球菌污染、乳制品中沙门氏菌的污染已引发多次召回事件。针对生牛奶或者巴氏杀菌奶的切达干酪的生产、熟化和贮存过程,MODI 等^[33]通

过实验研究噬菌体 SJ2 防控 lux 荧光标记的沙门氏菌, 8 °C 存储 99 d 后, 含噬菌体牛奶制成的生乳酪和巴氏杀菌乳酪中的肠炎沙门氏菌减少了 1~2 log。同样地, BUENO 等^[34]将巴氏杀菌牛奶接种金黄色葡萄球菌 SA9 约 10⁶ CFU/mL, 同时加入 2 种裂解性噬菌体约 10⁶ PFU/mL 的混合物。在新鲜奶酪中, 3 h 内金黄色葡萄球菌的含量降低了 3.83 log CFU/g, 6 h 后的活菌计数低于检测限。在凝固 24 h 结束时, 实验奶酪和对照奶酪中均未检测到葡萄球菌菌株, 冷藏期间未出现金黄色葡萄球菌再生长。在硬奶酪中, 噬菌体持续抑制金黄色葡萄球菌的生长。在凝乳中, 金黄色葡萄球菌的活菌数减少了 4.64 log CFU/g。成熟结束时, 奶酪中仍检测到 1.24 log CFU/g 葡萄球菌菌株, 而对照奶酪中检测到 6.73 log CFU/g。这 2 项研究表明, 添加噬菌体可能是降低细菌在生奶和巴氏杀菌奶制成的奶酪中风险的一个有效手段。GUENTHER 等^[35]研究证明了裂解性噬菌体 A511 和 P100 单独或联合使用对巧克力牛奶和莫扎里拉奶酪中 Lm 的生物防控的有效性。在动物源食品中添加噬菌体的储存期间, 大部分噬菌体保留了感染性, 而在植物材料中噬菌体失活超过 1 log。因此, 无论是多种噬菌体鸡尾酒还是宽宿主谱的噬菌体应用, 都将会是未来噬菌体开发的重要考虑因素, 其将能体现噬菌体的优势并发挥重要作用。

4 噬菌体在生物防控应用中的建议

噬菌体是一种细菌病毒, 能够以溶原和裂解方式与其宿主相互作用。目前还没有噬菌体在应用中对人类和动物有副作用的报道^[36]。然而, 并不是所有噬菌体都具有高效的抑菌特性, 通常应用的是“专性裂解”噬菌体, 即不是温和噬菌体, 而是通过裂解从感染的宿主菌中释放出来。在实际的应用中, 往往会出现抑制效果不显著或无效, 而导致这些现象的原因有多种, 其中宿主-噬菌体相互作用的方式、细菌中 CRISPR 系统的免疫逃逸、噬菌体可能发生裂解-溶原的转换、裂解效力发生改变等, 都需要在生物防控应用中认真思考。

4.1 CRISPR 系统在噬菌体中的功能

噬菌体感染细菌的过程中, 通常会编码抑制细菌免疫系统的功能元件来提高自身的能力, 从而有效裂解或整合宿主菌。噬菌体抑菌应用过程中会产生竞争性生存, 细菌可以发挥自身的耐受特性而持续生存使噬菌体不能将其清除^[37]。然而, 噬菌体也会突破阻碍产生选择性压力, 迫使噬菌体进化并形成能够攻克细菌防御机制的新群体。例如在李斯特菌原噬菌体中发现 4 种 type II-A CRISPR-Cas9 抑制蛋白, 超过 50% 以上拥有 CRISPR-Cas9 系统的 Lm 中至少包含一种原噬菌体编码抑制子^[38]。研究发现, 不仅在原噬菌体中可以发现这种抑制子, 在毒力噬菌体中也有潜在的抗噬菌体蛋白广泛分布^[39]。因此, 在未来的应用中,

具有对抗 CRISPR-Cas 系统功能的噬菌体将更有利于病原的生物防控。

4.2 基因水平转移

值得关注的是噬菌体具有介导广义性及专业性之间的基因水平转移的功能。广义性转移即细菌 DNA 片段被重新组装并转移至新的宿主菌, 这种转移同时也能由裂解性噬菌体介导, 并且在噬菌体应用中很难避免。专业性转导主要由温和噬菌体介导, 在细菌基因中邻近噬菌体基因组的基因将会被错误地剪切并整合到新感染的宿主中。而由温和噬菌体与宿主产生的这种溶原状态则是应用中需要考虑的重点, 因为它们对不同循环的选择最终会使其整合并在菌体内复制。因此, 在应用噬菌体进行食品生物防控过程中可能会带来一些安全风险, 如基因的水平转移, 一些专属性噬菌体可能会在细菌中传播毒力及耐药基因^[40]。近期, 对来源于医院废水的宏基因组分析表明, 噬菌体可能是耐药基因的储存库^[41]。此外, 噬菌体还能通过一种称为“自转导”的方式使金黄色葡萄球菌获得耐药基因。在这个过程中, 对噬菌体敏感的金黄色葡萄球菌将会被邻近的溶原性亚群释放的噬菌体粒子裂解。这类含有原噬菌体并对噬菌体会产生免疫的亚群能够使细菌在高水平的抗生素条件下增殖^[42]。由此, 对于生物防控制剂的研发中裂解性噬菌体的应用将是关键因素。此外, 未来生物防控所用的噬菌体基因组必须完全不具有毒力和耐药基因, 以及过敏蛋白等。然而, 当温和噬菌体携带了增强宿主毒力的基因可能会引发溶原转换。例如, 引起腹泻的大肠杆菌 O157:H7 能够获取编码志贺毒素的原噬菌体^[43], 霍乱弧菌能够获取由丝状噬菌体编码的霍乱毒素等^[44]。转导通常会散播耐药基因和其他可转移遗传原件, 例如毒力岛, 从而有助于细菌性病原的进化^[45-46]。像抗生素一样, 细菌同样会对噬菌体产生耐受性。当出现噬菌体抵制性突变菌株时, 噬菌体会很快发生变化来作用于新的突变宿主菌。同时, 如新分离的噬菌体也同样能够与抵制突变菌株反应, 并且其成本更低、周期更短, 更容易形成新的噬菌体体系, 这将绝对优于抗生素新品或消毒剂的研发周期。

4.3 抑菌效力的不均一性

噬菌体在作为生物防控制剂在抑制细菌生长中表现层次不齐, 理论上, 应用单次低剂量的噬菌体就应该能达到很好的抑菌效果, 然而现实情况并非如此。很多研究都报道了噬菌体并不能将病原菌完全清除且能与病原共存。因此, 在动物产品生产可能更容易产生噬菌体抵制菌株, 从而进一步传播至不同种群中。同时, 反复运用噬菌体也可能产生抗体而中和弱化噬菌体功能。因此, 在生物防控中, 噬菌体抵制菌的产生将是需要仔细考虑的问题。

“噬菌体鸡尾酒”能够组合具有互补性的噬菌体, 提高噬菌体抑菌效力并防止噬菌体抵制菌株的出现。大部分“鸡

尾酒”配方都是严格挑选完全裂解性的噬菌体组成, 因为其作用范围更广且稳定^[47]。然而, 针对缺乏裂解性噬菌体的艰难梭菌(*Clostridium difficile*), 亦有将温和性噬菌体鸡尾酒用于抑制艰难梭菌的报道^[48]。而这种“鸡尾酒”疗法能够在体内完全清除艰难梭菌并能阻止出现耐受及溶源突变。在仓鼠模型中, 证实了裂解性及温和性艰难梭菌噬菌体鸡尾酒能够有效降低在感染 36 h 的艰难梭菌定植, 且能够延迟发病症状至 33 h。也有报道利用 4 种温和性噬菌体在布满粪便的发酵容器中完全清除艰难梭菌^[49]。然而, 这种疗法会加剧共生细菌的产生, 也会因此使艰难梭菌重新定植。BOURKAL 等^[50]证实了一种包含铜绿假单胞菌噬菌体 phi297 突变体 vir 在内的商品化噬菌体 mixture 显著降低了噬菌体耐受菌株的产生。由此可见, 具有互补性的裂解性噬菌体和 vir 突变体混合疗法也是防止噬菌体耐受的可靠策略, 从而在未来应用亦有良好优势。

5 结束语

越来越多的研究表明噬菌体将会成为减少动物食品生产及加工中食源性致病菌的替代选择。然而, 仍然有许多问题有待解决, 进一步了解噬菌体与病原菌的相互作用、功效和噬菌体抗性问题, 有助于提高噬菌体的应用效率。此外, 噬菌体在体内用何种模型以及全基因组的功能解析是非常必要的, 这些将为噬菌体的有效性和安全性评估提供重要依据。同样, 消费者对噬菌体应用的接受度也是噬菌体产品在国内形成的一个重要因素。目前, 全球已有多种噬菌体产品上市, 从而为噬菌体在食品中的应用提供了必要依据, 将会推动我国噬菌体产品的研发进程。

参考文献

- [1] BUGAREL M, TUDOR A, LONERAGAN GH, *et al.* Molecular detection assay of five *Salmonella* serotypes of public interest: *Typhimurium*, *Enteritidis*, *Newport*, *Heidelberg*, and *Hadar* [J]. *J Microbiol Meth*, 2017, 134: 14–20.
- [2] LOCATELLI A, SPOR A, JOLIVET C, *et al.* Biotic and abiotic soil properties influence survival of *Listeria monocytogenes* in soil [J]. *PLoS One*, 2013, 8(10): e75969.
- [3] 董建云. 2016—2018 年南京市江宁区食源性疾病暴发事件流行病学分析[J]. *中华灾害救援医学*, 2019, 7(9): 484–487.
DONG JY. Epidemiological analysis of foodborne disease outbreaks in Jiangning district of Nanjing from 2016 to 2018 [J]. *Chin J Dis Med*, 2019, 7(9): 484–487.
- [4] 孙亮, 陈莉莉, 廖宁波, 等. 2006 年—2017 年浙江省食源性疾病暴发监测资料分析[J]. *中国卫生检验杂志*, 2019, 29(15): 1874–1877.
SUN L, CHEN LL, LIAO NB, *et al.* Analysis of foodborne disease outbreak surveillance data in Zhejiang province, 2006–2017 [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2019, 29(15): 1874–1877.
- [5] MAHONY J, CASEY E, VAN SINDEREN D. The impact and applications of phages in the food industry and agriculture [J]. *Viruses*, 2020, 12(2): 210.
- [6] POLASKA M, SOKOŁOWSKA B. Bacteriophages—a new hope or a huge problem in the food industry [J]. *AIMS Microbiol*, 2019, 5(4): 324–346.
- [7] MOYE ZD, WOOLSTON J, SULAKVELIDZE A. Bacteriophage applications for food production and processing [J]. *Viruses*, 2018, 10(4): 205.
- [8] KORTRIGHT KE, CHAN BK, KOFF JL, *et al.* Phage therapy: A renewed approach to combat antibiotic-resistant bacteria [J]. *Cell Host Microbe*, 2019, 25(2): 219–232.
- [9] DE MELO AG, LEVESQUE S, MOINEAU S. Phages as friends and enemies in food processing [J]. *Curr Opin Biotechnol*, 2018, 49: 185–190.
- [10] BAO H, ZHANG P, ZHANG H, *et al.* Bio-control of *Salmonella enteritidis* in foods using bacteriophages [J]. *Viruses*, 2015, 7(8): 4836–4853.
- [11] CHAITIEMWONG N, HAZELEGER WC, BEUMER RR. Inactivation of *Listeria monocytogenes* by disinfectants and bacteriophages in suspension and stainless steel carrier tests [J]. *J Food Prot*, 2014, 77(12): 2012–2020.
- [12] PERERA MN, ABULADZE T, LI M, *et al.* Bacteriophage cocktail significantly reduces or eliminates *Listeria monocytogenes* contamination on lettuce, apples, cheese, smoked salmon and frozen foods [J]. *Food Microbiol*, 2015, 52: 42–48.
- [13] OLIVEIRA M, VIÑAS I, COLÀS P, *et al.* Effectiveness of a bacteriophage in reducing *Listeria monocytogenes* on fresh-cut fruits and fruit juices [J]. *Food Microbiol*, 2014, 38: 137–142.
- [14] LEVERENTZ B, CONWAY WS, CAMP MJ, *et al.* Biocontrol of *Listeria monocytogenes* on fresh-cut produce by treatment with lytic bacteriophages and a bacteriocin [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2003, 69(8): 4519–4526.
- [15] VIAZIS S, AKHTAR M, FEIRTAG J, *et al.* Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 viability on leafy green vegetables by treatment with a bacteriophage mixture and trans-cinnamaldehyde [J]. *Food Microbiol*, 2011, 28(1): 149–157.
- [16] BOYACIOGLU O, SHARMA M, SULAKVELIZE A, *et al.* Biocontrol of *Escherichia coli* O157:H7 on fresh-cut leafy greens [J]. *Bacteriophage*, 2013, 3(1): e24620.
- [17] SONI KA, NANNAPANENI R, HAGENS S. Reduction of *Listeria monocytogenes* on the surface of fresh channel catfish fillets by bacteriophage Listex P100 [J]. *Foodborne Pathog Dis*, 2010, 7(4): 427–434.
- [18] GALARCE NE, BRAVO JL, ROBESON JP, *et al.* Bacteriophage cocktail reduces *Salmonella enterica* serovar *Enteritidis* counts in raw and smoked salmon tissues [J]. *Rev Argent Microbiol*, 2014, 46(4): 333–337.
- [19] BAÑOS A, GARCÍA-LOPEZ JD, NÚÑEZ C, *et al.* Biocontrol of *Listeria monocytogenes* in fish by enterocin AS-48 and *Listeria* lytic bacteriophage P100 [J]. *LWT Food Sci Technol*, 2016, 66: 672–677.
- [20] ZHANG H, YANG Z, ZHOU Y, *et al.* Application of a phage in decontaminating *Vibrio parahaemolyticus* in oysters [J]. *Int J Food Microbiol*, 2018, 275: 24–31.
- [21] YANG Z, TAO X, ZHANG H, *et al.* Isolation and characterization of virulent phages infecting *Shewanella baltica* and *Shewanella putrefaciens*, and their application for biopreservation of chilled channel catfish (*Ictalurus punctatus*) [J]. *Int J Food Microbiol*, 2019, 292: 107–117.

- [22] JUN JW, HAN JE, TANG KF, *et al.* Potential application of bacteriophage pVp-1: Agent combating *Vibrio parahaemolyticus* strains associated with acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) in shrimp [J]. *Aquaculture*, 2016, 457: 100–103.
- [23] RONG R, LIN H, WANG J, *et al.* Reductions of *Vibrio parahaemolyticus* in oysters after bacteriophage application during depuration [J]. *Aquaculture*, 2014, 418: 171–176.
- [24] KIM HJ, KIM YT, KIM HB, *et al.* Characterization of bacteriophage VVP001 and its application for the inhibition of *Vibrio vulnificus* causing seafood-borne diseases [J]. *Food Microbiol*, 2021, 94: 103630.
- [25] SPRICIGO DA, BARDINA C, CORTÉS P, *et al.* Use of a bacteriophage cocktail to control *Salmonella* in food and the food industry [J]. *Int J Food Microbiol*, 2013, 165(2): 169–174.
- [26] BARDINA C, SPRICIGO DA, CORTÉS P, *et al.* Significance of the bacteriophage treatment schedule in reducing *Salmonella* colonization of poultry [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2012, 78(18): 6600–6607.
- [27] ZHANG H, WANG R, BAO H. Phage inactivation of food-borne *Shigella* on ready-to-eat spiced chicken [J]. *Poultry Sci*, 2013, 92(1): 211–217.
- [28] SOFFER N, WOOLSTON J, LI M, *et al.* Bacteriophage preparation lytic for *Shigella* significantly reduces *Shigella sonnei* contamination in various foods [J]. *PLoS One*, 2017, 12(3): e0175256.
- [29] GUENTHER S, HERZIG O, FIESELER L, *et al.* Biocontrol of *Salmonella Typhimurium* in RTE foods with the virulent bacteriophage FO1-E2 [J]. *Int J Food Microbiol*, 2012, 154(1-2): 66–72.
- [30] BIGWOOD T, HUDSON JA, BILLINGTON C, *et al.* Phage inactivation of foodborne pathogens on cooked and raw meat [J]. *Food Microbiol*, 2008, 25(2): 400–406.
- [31] GOUVÊA DM, MENDONÇA RCS, LOPEZ MES, *et al.* Absorbent food pads containing bacteriophages for potential antimicrobial use in refrigerated food products [J]. *LWT Food Sci Technol*, 2016, 67: 159–166.
- [32] VONASEK E, LE P, NITIN N. Encapsulation of bacteriophages in whey protein films for extended storage and release [J]. *Food Hydrocoll*, 2014, 37: 7–13.
- [33] MODI R, HIRVI Y, HILL A, *et al.* Effect of phage on survival of *Salmonella enteritidis* during the manufacture and storage of cheddar cheese made from raw and pasteurized milk [J]. *J Food Prot*, 2001, 64(7): 927–933.
- [34] BUENO E, GARCÍA P, MARTÍNEZ B, *et al.* Phage inactivation of *Staphylococcus aureus* in fresh and hard-type cheeses [J]. *Int J Food Microbiol*, 2012, 158(1): 23–7.
- [35] GUENTHER S, HUWYLER D, RICHARD S, *et al.* Virulent bacteriophage for efficient biocontrol of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2009, 75(1): 93–100.
- [36] ENDERSEN L, O'MAHONY J, HILL C, *et al.* Phage therapy in the food industry [J]. *Annu Rev Food Sci Technol*, 2014, 5: 327–349.
- [37] LABRIE SJ, SAMSON JE, MOINEAU S. Bacteriophage resistance mechanisms [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2010, 8(5): 317–327.
- [38] RAUCH BJ, SILVIS MR, HULTQUIST JF, *et al.* Inhibition of CRISPR-Cas9 with bacteriophage proteins [J]. *Cell*, 2016, 168(1-2): 150–158.
- [39] HYNES AP, ROUSSEAU GM, LEMAY ML, *et al.* An anti-CRISPR from a virulent *Streptococcal* phage inhibits *Streptococcus pyogenes* Cas9 [J]. *Nat Microbiol*, 2017, 2(10): 1374–1380.
- [40] LE S, HE X, TAN Y, *et al.* Mapping the tail fiber as the receptor binding protein responsible for differential host specificity of *Pseudomonas aeruginosa* bacteriophages PaP1 and JG004 [J]. *PLoS One*, 2013, 8(7): e68562.
- [41] SHIN H, LEE J, YOON H, *et al.* Genomic investigation of lysogen formation and host lysis systems of the *Salmonella* temperate bacteriophage SPN9CC [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2014, 80(1): 374–384.
- [42] MARINELLI LJ, HATFULL GF, PIURI M. Recombineering: A powerful tool for modification of bacteriophage genomes [J]. *Bacteriophage*, 2012, 2(1): 5–14.
- [43] SHAIKH N, TARR PI. *Escherichia coli* O157:H7 shiga toxin-encoding bacteriophages: Integrations, excisions, truncations, and evolutionary implications [J]. *J Bacteriol*, 2003, 185(12): 3596–3605.
- [44] WALDOR MK, MEKALANOS JJ. Lysogenic conversion by a filamentous phage encoding cholera toxin [J]. *Science*, 1996, 272(5270): 1910–1914.
- [45] CHEN J, NOVICK RP. Phage-mediated intergeneric transfer of toxin genes [J]. *Science*, 2009, 323(5910): 139–141.
- [46] DEARBORN AD, DOKLAND T. Mobilization of pathogenicity islands by *Staphylococcus aureus* strain Newman bacteriophages [J]. *Bacteriophage*, 2012, 2(2): 70–78.
- [47] CHAN BK, ABEDON ST, LOC-CARRILLO C. Phage cocktails and the future of phage therapy [J]. *Future Microbiol*, 2013, 8(6): 769–783.
- [48] NALE JY, SPENCER J, HARGREAVES KR, *et al.* Bacteriophage combinations significantly reduce *Clostridium difficile* growth *in vitro* and proliferation *in vivo* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2015, 60(2): 968–981.
- [49] NALE JY, REDGWELL TA, MILLARD A, *et al.* Efficacy of an optimised bacteriophage cocktail to clear *Clostridium difficile* in a batch fermentation model [J]. *Antibiotics (Basel)*, 2018, 7(1): 13.
- [50] BOURKAL TMV, KRYLOV SV, KROPINSKIĀ AM, *et al.* Bacteriophage phi297, a new species of *Pseudomonas aeruginosa* temperate phages with a mosaic genome: Potential use in phage therapy [J]. *Russ J Genet*, 2011, 47(7): 794–798.

(责任编辑: 于梦娇 张晓寒)

作者简介

张 辉, 博士, 研究员, 主要研究方向为食源性病原菌监测及生物防控研究。
E-mail: Huiz@jaas.ac.cn