

沙门氏菌噬菌体在动物和食品中的 生物防控研究进展

包红朵¹, 呼圣杰^{1,2}, 王 冉^{1*}

[1. 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, 农业农村部农产品质量安全风险评估实验室(南京), 江苏省农业科学院农产品质量安全与营养研究所, 南京 210014; 2. 江南大学食品学院, 无锡 214122]

摘 要: 随着沙门氏菌耐药性持续发展、耐药菌不断出现以及食物中毒事件频发, 噬菌体已成为一种新型防控耐药性沙门氏菌的生物杀菌剂。噬菌体的作用机制与抗生素完全不同, 在控制耐药性沙门氏菌感染与污染方面具有良好的应用前景, 尤其在治疗超级耐药沙门氏菌方面有着极大的优势, 但是由于沙门氏菌血清型众多, 需要开展针对不同血清型的沙门氏菌特异性噬菌体的分离和鉴定, 这样的噬菌体疗法更具有针对性, 从而成功应对新出现的沙门氏菌。本文综述了沙门氏菌危害、沙门氏菌噬菌体及商用沙门氏菌噬菌体制剂的研究进展、沙门氏菌噬菌体生物防治的研究进展和最新发现, 重点介绍沙门氏菌噬菌体在食品工业中的应用, 为噬菌体作为抗菌剂防控沙门氏菌提供借鉴和参考。

关键词: 沙门氏菌; 沙门氏菌噬菌体; 食品工业; 生物防控

Research progress on biological prevention and control of *Salmonella* phage in animals and foods

BAO Hong-Duo¹, HU Sheng-Jie^{1,2}, WANG Ran^{1*}

[1. Key Laboratory of Food Quality and Safety of Jiangsu Province-State Key Laboratory Breeding Base, Key Laboratory of Agro-product Safety Risk Evaluation (Nanjing) of Ministry of Agriculture and Rural Areas, Institute of Agricultural Product Safety and Nutrition, Jiangsu Academy of Agricultural Science, Nanjing 210014, China; 2. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China]

ABSTRACT: With the continuous development and emergence of drug-resistance of *Salmonella* and frequent food poisoning events incidents, phage has become a new biological bactericide for the prevention and control of drug-resistant *Salmonella*. The bactericidal mechanism of phage is completely different from that of antibiotics. It has a good application prospect in controlling the infection and contamination of drug-resistant *Salmonella*, especially in the treatment of super-drug-resistant bacteria. However, due to the large numbers of *Salmonella* serovars, it is necessary to isolate and identify more *Salmonella* specific phages for different *Salmonella* serovars, so that phage therapy become more targeted, so as to successfully deal with novel emerging *Salmonella*. This review summarized the harm of *Salmonella*, the research progress of *Salmonella* phage and commercial *Salmonella* phage preparations,

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFE0101900)、江苏省农业科技自主创新资金项目[cx(20)3012]

Fund: Supported by the National Key Research and Development Program of China (2018YFE0101900), and the Jiangsu Agricultural Science and Technology Innovation Fund [cx(20)3012]

*通信作者: 王冉, 研究员, 主要研究方向为畜禽产品安全和健康养殖研究。E-mail: ranwang@jaas.ac.cn

*Corresponding author: WANG Ran, Professor, Jiangsu Academy of Agricultural Science, No.50, Zhongling Street, Xuanwu District, Nanjing 210014, China. E-mail: ranwang@jaas.ac.cn

the research progress and latest discovery of the prevention and control of *Salmonella* phage, with emphasis on the application of *Salmonella* phage in food industry, so as to provide reference for phage as antibacterial agent to prevent and control *Salmonella*.

KEY WORDS: *Salmonella*; *Salmonella* phage; food industry; biological control

0 引言

沙门氏菌是一种重要的人畜共患病原菌,它严重威胁养殖业和人类的身体健康,由其引发的污染已经成为我国乃至世界细菌性食物中毒的主要原因。沙门氏菌可以感染多种畜禽,由于沙门氏菌具有在种禽和子代之间进行垂直传播的特性,一旦在养殖场中爆发流行将很难清理,严重影响养殖业的健康发展。随着人们生活水平的提高,人们对畜禽产品,特别是肉类的需求与日俱增,国家对肉产品质量的要求也更加严格,因此,对动物沙门氏菌病的防治刻不容缓。近些年,消费者对食品安全的关注度越来越高,传统的热杀菌并非对所有食品适用,且会影响食品的感官和营养价值;通过防腐剂来延长食品保质期虽然效果显著,但滥用问题层出不穷,因此,需要更安全有效的新型食品灭菌技术,以满足消费者对含更少化学防腐剂、更高质量食品的需求,其中以噬菌体为代表的抗菌剂已经成了当下的研究热点,这是一种高效、无残留、发展前景良好的生物灭菌剂,在降低致病菌污染风险、延长食品保质期从而保障食品的质量与安全方面具有巨大的潜力。噬菌体是细菌的天敌,也是自然界中最丰富的病毒,噬菌体的抗菌作用不受细菌耐药性的影响,相比传统的抗生素疗法,噬菌体疗法具有诸多优势。本文综合国内外最新研究成果及临床应用,针对人、动物和食品中沙门氏菌生物防控相关问题进行论述,以期为今后噬菌体作为抗菌剂防控沙门氏菌提供借鉴和参考。

1 沙门氏菌主要危害

沙门氏菌是一种在人和动物肠道中发现的、兼性厌氧胞内革兰氏阴性杆菌,其属于肠杆菌科,基因组大小在 4460~4857 kb 之间,靠周身鞭毛运动,血清型超过 2500 种^[1-2]。沙门氏菌是典型的经口传播的致病菌,可通过水、牛奶、生蔬菜、动物性食品、海鲜和鸡蛋传播,引起动物和人类肠热(伤寒)、肠炎/腹泻、菌血症和慢性无症状携带等多种症候群,统称为沙门氏菌病^[3]。当这些致病菌经养殖场—动物—屠宰场—食品供应链进入食品时,再经过不适当的储存温度、无烹饪、交叉污染,或通过直接接触受感染的动物和人类,或通过食品间接引起感染,极易引起该致病菌在食品中的扩散^[4],因此,沙门氏菌是世界上最重要的食源性病原菌之一,也是在腹泻导致的人类死亡的原因中占第 3 位^[3]。根据全球疾病、伤害和风险因素负担研究组织(Global Burden of Disease, GBD)报道,

2017 年,肠炎沙门氏菌导致 9510 万病例,310 万劳动力丧失和 50771 例死亡^[5]。世界卫生组织(World Health Organization, WHO)报告称,2010 年沙门氏菌导致 1.8 亿例疾病和 298496 例死亡^[6-7]。2011—2018 年,吉林省市售食品样品中检出沙门氏菌 75 株,总检出率为 0.56%,检出率较高的食品类别有生肉及生肉制品、蛋与蛋制品、速冻食品、水果及其制品^[8]。2016—2018 年江西省 339 份食源性腹泻患者的腹泻标本检出 170 株沙门氏菌(检出率为 3.18%),年龄主要集中在 5 岁(48.13%)以下^[9]。2019 年江苏省部分地区 5 岁以下食源性腹泻儿童中沙门氏菌的检出率为 2.9%,1~2 岁患儿居多^[10]。美国农业部经济研究处(Economic Research Service, ERS)估计,2014 年非伤寒沙门氏菌造成的经济损失为 36.6 亿美元^[11]。欧盟估计每年因沙门氏菌损失超过 30 亿欧元^[12]。近年来,抗生素的滥用不仅使畜禽产品中抗生素残留超标,更是导致沙门氏菌耐药性不断增强^[13]、多重耐药菌不断增加^[14-15],给沙门氏菌的防控造成严重困难。

2 沙门氏菌噬菌体

在 20 世纪初,抗生素还没有出现之前,噬菌体也曾作为抗菌制剂在东欧国家被广泛使用。但是,青霉素出现以后,噬菌体长期处于被忽视的地位。近几年,随着超级细菌的频繁出现,人们对噬菌体再次产生了极大的兴趣,研究将其作为新型抗菌剂用于防控耐药致病菌^[16]。研究发现,噬菌体具有来源广泛、分离简单、价格低廉、对肠道菌群无害、严格的宿主特异性、可以区分死细菌和活细菌、增殖能力强、灭菌效果不受细菌耐药性影响等多重优点^[17]。此外,噬菌体对动物体和人体无副作用或者仅产生非常轻微的副作用^[18]。因此,噬菌体可广泛应用于养殖业、食品工业、医疗卫生等多个领域^[19]。

目前,利用不同血清型的沙门氏菌已经从环境和食物中分离和纯化出不同类型的沙门氏菌噬菌体^[20]。由于鼠伤寒沙门氏菌和肠炎沙门氏菌是污染最严重,也是最普遍存在的两种沙门氏菌血清型,因此,目前分离获得的沙门氏菌噬菌体多数是鼠伤寒沙门氏菌噬菌体(约 59%),其次是肠炎沙门氏菌噬菌体(约 26%)^[21]。分离方法大同小异,主要经过采样、富集、分离、纯化 4 个步骤,双层琼脂平板法是经典噬菌体分离方法^[22]。绝大部分噬菌体由头部和尾部组成,属于有尾噬菌体目,其中,肌病毒科占 24.5%、长尾病毒科占 61%和短尾病毒科 14%^[21]。噬菌体可分为裂解性噬菌体和温和噬菌体,只有裂解性噬菌体可以引起宿主细菌的裂解。温和噬菌体感染宿主细菌后不引起细菌裂解,而将其自身的

基因组与宿主菌基因组整合, 并随细菌分裂传至子代细菌的基因组中。尽管可以从环境等样品中分离获得大量的沙门氏菌噬菌体, 但是, 我们并不能保证筛选到的噬菌体一定是裂解性噬菌体。用于生产使用的沙门氏菌噬菌体除了需要做详尽的生物学特性鉴定外, 还应该进行测序分析, 在基因和蛋白水平证实其裂解性、安全性、无整合基因和耐药基因。理论上, 使用裂解性沙门氏菌噬菌体可以有效控制沙门氏菌。然而, 在临床使用时, 由于噬菌体进入胞内的效率较低, 有可能难以有效清除胞内沙门氏菌^[23]。目前, 对这一问题的研究较少, 但有一项研究证实噬菌体对胞内沙门氏菌有效^[23]。由于沙门氏菌血清型众多, 因此, 需要开展针对不同血清型的沙门氏菌特异性噬菌体的分离和鉴定, 这样可以为噬菌体疗法提供安全有效的噬菌体背景信息, 从而成功应对新出现的沙门氏菌血清型。

3 噬菌体治疗的动物实验研究

畜牧养殖可能是抗生素滥用最严重的环节。研究证实, 噬菌体疗法已成功用于治疗畜禽养殖动物的沙门氏菌感染, 尤其针对鸡和猪的研究^[24]。研究表明, 沙门氏菌噬菌体能够减少家禽^[25-29]和猪^[30-31]体内的沙门氏菌的数量, 起到减少定植和预防沙门氏菌感染的目的(表 1)。猪在养殖和运输中容易被沙门氏菌定植, 噬菌体疗法已被证明是一种有效的屠宰前干预措施。在一项初步研究中, 一组 3~4 周龄的猪在接种鼠伤寒沙门氏菌的同时服用沙门氏菌噬菌体鸡尾酒, 沙门氏菌定植率降低了 99%以上^[31]。在另一项实验中, 16 头小猪进入被肠炎沙门氏菌感染的猪圈, 其中一组在早期接受噬菌体鸡

尾酒治疗, 结果表明, 噬菌体通过降低盲肠和回肠沙门氏菌数量显著预防沙门氏菌感染^[30]。SEO 等^[31]评估了噬菌体对断奶仔猪的预防作用, 4 周龄的猪先用噬菌体制剂预防饲喂 15 d, 第 7 d 时, 灌胃鼠伤寒沙门菌 10 mL (10^8 CFU/mL), 噬菌体处理组在感染后第 7 d 粪便样本未检出沙门氏菌。由于牛可以无症状携带沙门噬菌体, 而造成牛肉沙门氏菌污染, 因此, 噬菌体也是控制牛皮中沙门氏菌污染的一种强有力的非抗生素策略。在 XIE 等^[32]研究中, 4 种不同的沙门氏菌噬菌体 Sergei、Season12、Sw2 和 Munch 单独或联合使用控制牛皮模型中沙门氏菌污染, 沙门氏菌减少 0.50~1.75 log CFU/cm², 噬菌体 Sergei 和 Sw2 裂菌效果更好, 减少 1 log CFU/cm² (CFU/g)。2013 年, HENRIQUES 等^[33]向孵化过程中感染沙门菌的蛋壳表面喷洒噬菌体, 喷洒组中孵化的雏鸡与未喷洒组中相比关节炎症状明显减轻, 且 8 d 后症状消失, 与未感染沙门菌种蛋孵化的雏鸡状态相似。这说明噬菌体可以阻断沙门菌的垂直传播。2016 年, GALTIER 等^[34]在小鼠模型中发现口服噬菌体能够减少小鼠肠道耐抗生素病原菌。与抗生素相比, 噬菌体治疗不会直接降低小鼠肠道微生物的多样性。2017 年, NIKKHAHI 等^[35]评价了单个噬菌体剂量(10^9 PFU/只)治疗小鼠肠炎沙门氏菌感染效果, 在术后 4 d 通过口服灌胃的方式, 发现噬菌体治疗可以保护小鼠免受沙门氏菌感染, 防止小鼠的体重下降, 虽然环丙沙星作为阳性对照有类似的保护作用, 但小鼠体重下降了。这些研究的结果表明, 噬菌体疗法和抗生素疗法一样有效且对动物无害。噬菌体疗法可被认为是一种替代抗生素疗法或作为协同治疗的一种手段, 特别是治疗由耐多药细菌引起的沙门氏菌感染。

表 1 沙门氏菌噬菌体在猪和家禽上的应用研究

Table 1 Application research of *Salmonella* phages in pigs and poultry

沙门氏菌血清型	噬菌体制剂	动物品种	效果	参考文献
肠炎沙门氏菌(耐萘啶酸)	沙门氏菌单噬菌体和多噬菌体制备(P1:1, CON, MOT2, IP, UDF1, YP, EP2, M4, MUT3, P22 hc2, P22, cPII, P22 cl-7, Felix O1)	鸡(14 日龄)	噬菌体处理鸡的盲肠细菌数比对照组的鸡低 0.3~1.3 log CFU/g	[25]
肠炎沙门氏菌	肠炎沙门氏菌噬菌体(PSE)	鹌鹑(36 日龄)	口服预防使用 PSE 可以更有效地减少肠炎沙门氏菌的定植	[26]
肠炎沙门氏菌 PT4	混合噬菌体(CNPSA1, CNPSA3, CNPSA4)	鸡(1 日龄)	噬菌体治疗组盲肠内容物中肠炎沙门氏菌 PT4 的数量减少了 3.5 log CFU/g 与对照组相比, 24 h 内, 噬菌体 Φ 151 减少了 ≥ 4.2 log CFU 肠炎沙门氏菌的盲肠定植; 噬菌体 Φ 10 使鼠伤寒沙门氏菌降低 ≥ 2.19 log CFU; 噬菌体 Φ 25 不能有效减少 <i>S. hadar</i> 的定植	[27]
沙门氏菌(肠炎沙门氏菌、鼠伤寒沙门氏菌、哈达尔沙门氏菌 <i>S. hadar</i>)	混合噬菌体(Φ 151, Φ 25, Φ 10)	鸡(34 日龄)	与对照组(100%)相比, 雾化吸入 BPs 可显著降低鸡感染沙门氏菌的发生率 (72.7%)。此外, 通过喷雾和饮用水口服噬菌体均降低了肠道沙门氏菌的定植 ($P < 0.01$; $P < 0.05$)	[28]
肠炎沙门氏菌	混合噬菌体(BP1, BP2, BP3)	鸡(10 日龄)	避免猪感染鼠伤寒沙门氏菌, 并减少扁桃腺、回肠和盲肠中沙门氏菌的定植用噬菌体鸡尾酒 C 治疗可降低猪粪便中沙门氏菌的数量	[29]
鼠伤寒沙门氏菌	混合噬菌体(PEW 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14)	重量约 110 kg 的断奶猪(3 周龄)	避免猪感染鼠伤寒沙门氏菌, 并减少扁桃腺、回肠和盲肠中沙门氏菌的定植	[30]
鼠伤寒沙门氏菌	噬菌体鸡尾酒 C (SEP-1, SGP-1, STP-1, SS3eP-1, STP-2, SChP-1, SAP-1, SAP-2)	断奶仔猪(3 周龄)	用噬菌体鸡尾酒 C 治疗可降低猪粪便中沙门氏菌的数量	[31]

4 噬菌体在食品中的生物防控研究

使用噬菌体控制食源性细菌污染, 被称为噬菌体生物防控。从农场到餐桌的整个食品链上, 噬菌体在防控食源性致病菌的应用方面具有许多优势。在不同类型食品中使用噬菌体控制不同血清型沙门氏菌已有很多研究, 且大部分研究成功地减少了污染的沙门氏菌数量(表 2)。这些食品包括奶酪、法兰克福香肠、鸡胸肉、生菜、全脂和脱脂牛奶、苹果汁和豆芽等^[21]。

针对禽肉及肉类, 4 °C下用沙门氏菌噬菌体 S16 和 Felix-O1a (FO1a)作用于碎肉 6 h, 沙门氏菌含量从 7 降至 1 log CFU/g; 作用于禽肉 30 min, 沙门氏菌含量从 7 降至 1.1 log CFU/g, 杀菌效果显著^[36]。针对乳制品, 如牛奶、奶酪, 经巴氏杀菌的牛奶及其制品中仍然存在沙门氏菌, 由两株沙门氏菌噬菌体 PA13076 和 PC2184 混合在 4 °C下, 处理 5 h后,

巴氏杀菌奶中沙门氏菌数减少了 1.5~4 log CFU/样品^[37]; 另一研究表明, 沙门氏菌噬菌体 SJ2 明显降低了奶酪制作过程及 99 d 储存期的沙门氏菌数量^[38]。针对鲜切产品, 肠炎沙门氏菌噬菌体 LPSE1 在感染复数(multiplicity of infection, MOI)为 1、10 和 100 时, 使生菜上污染的沙门氏菌分别减少 2.02、1.71 和 1.45 log CFU/mL^[39]; 经沙门氏菌噬菌体产品 SalmoFresh™ 处理的混合血清型的沙门氏菌污染的绿豆 5 h, 沙门氏菌数量平均减少 5.34 log CFU ($P=0.007$), 绿豆种子仍可以发芽^[40]。GUENTHER 等^[41]使用宽宿主谱沙门氏菌噬菌体 FO1-E2 防控多种即食食品(Ready-to-eat), 如热狗、炸鸡、海鲜、巧克力牛奶以及蛋黄中鼠伤寒沙门氏菌的污染, 8 °C时, 噬菌体处理 6 h, 可以降低沙门氏菌数量到检测限以下, 15 °C 时巧克力牛奶和炸鸡中沙门氏菌数量降低得最多, 其次是热狗和海鲜, 总体而言, 噬菌体在所测食品中的防控沙门氏菌效果明显。

表 2 沙门氏菌噬菌体在食品工业上的应用研究
Table 2 Application research of *Salmonella* phages in food industry

沙门氏菌血清型	噬菌体制剂	食品	效果
肠炎沙门氏菌和鼠伤寒沙门氏菌	混合噬菌体(UAB_Phi20, UAB_Phi78, UAB_Phi87)	生菜	减少鼠伤寒沙门菌 3.9 log CFU/g 和肠炎 2.2 log CFU/g
肠炎沙门氏菌	混合噬菌体 SCPLX1 (4 种噬菌体)	苹果和甜瓜切片	5 °C和 10 °C时, 甜瓜切片中的细菌减少至 3.5 log CFU/g。苹果切片中细菌数无显著的减少
鼠伤寒沙门氏菌	混合噬菌体	禽肉	17 d 内使鼠伤寒沙门氏菌减少到 3 log CFU。噬菌体处理不到 12 d 时, 未检测到沙门氏菌的显著变化
混合沙门氏菌(鼠伤寒沙门菌、副伤寒沙门氏菌、 <i>S. miami</i> , <i>S. agona</i> , <i>S. natum</i>)	沙门氏菌噬菌体 fmb-p1	鲜冷猪肉	4 °C, 14 d 后, 新鲜冷却猪肉上的沙门氏菌数量减少了 2 log CFU/g 以上
混合沙门氏菌	沙门氏菌噬菌体 S16 和 FelixO1a (FO1a)	肉和鸡肉	4 °C, 噬菌体处理 6 h(肉类)和 30 min(家禽)后, 沙门氏菌从 7 log CFU/g 分别显著降低至 1 和 1.1 log CFU/g
混合沙门氏菌(鼠伤寒沙门氏菌、肠炎沙门氏菌和海德堡沙门氏菌)	沙门氏菌噬菌体制剂 (Salmo Fresh)	鸡胸肉	4 °C下, 噬菌体与氯化十六烷基吡啶和精氨酸月桂酯结合, 在体外将鼠伤寒沙门氏菌、肠炎沙门氏菌和海德堡沙门氏菌减少至 5 log
肠炎沙门氏菌	沙门氏菌噬菌体 SE07	果汁、新鲜鸡蛋、牛肉和鸡肉	应用噬菌体 SE07 可将肠炎沙门氏菌数量在 4 °C下减少约 2 log CFU, 持续 48 h。
肠炎沙门氏菌 ATCC13076 和 CVCC2184	混合沙门氏菌噬菌体 (PA13076 和 PC2184)	鸡胸肉、巴氏灭菌乳和白菜	4 °C, 5 h 内, 细菌降至 1.5~4 log CFU/g 样本
鼠伤寒沙门氏菌 DT104	沙门氏菌噬菌体 FelixO1	鸡肉	联合使用野生型 Felix O1 和突变的噬菌体 Felix O1 使鼠伤寒沙门菌 DT104 约减少 2 log CFU
肠炎沙门氏菌	沙门氏菌噬菌体 PHL4	肉(肉鸡、火鸡)	10 ¹⁰ PFU/mL 噬菌体可降低肠炎沙门氏菌的数量至对照组的水平
鼠伤寒沙门氏菌	沙门氏菌噬菌体 P7	肉(鲜肉/熟牛肉)	2~3 log CFU 宿主细菌在 5 °C时减少, 而在 24 °C时显著减少 6 log CFU
鼠伤寒沙门氏菌 U288	混合噬菌体	猪皮肤	猪皮肤上的噬菌体鸡尾酒疗法将鼠伤寒沙门菌 U288 从 4.7 CFU 降至 3.5 CFU

食品类型及加工方式会影响噬菌体的杀菌效果。噬菌体在食品如肉及肉制品、牛奶、奶酪、生鱼片、蔬菜、甜瓜和苹果中的稳定性不同,其灭菌效果也不同^[36-40]。噬菌体的施用方式也会影响其杀菌效果,不同噬菌体对于同一种给药方式、同一噬菌体对于不同给药方式都可能表现出不同的生物防控效果。尽管浸渍和喷涂是常见的噬菌体应用方法,但它们可能产生不良后果^[42-43]。喷涂可能将噬菌体颗粒释放到环境中,而浸渍可能引起细菌交叉污染。

游离噬菌体稳定性较差,室温条件下贮藏时,其效价易降低,因此需要根据不同的情况选择使用不同的包被方法,来保护噬菌体活性、扩大噬菌体应用范围并确保噬菌体的灭菌效果。针对这一情况,微囊化技术成为增强噬菌体抗逆性的有效措施,尤其是在液态食品中使用。该技术通过使用功能性赋形剂包被噬菌体,提高其稳定性,调控噬菌体的释放速率,增加其灭菌效果。马永生^[44]以海藻酸钠和壳聚糖为载体包被沙门氏菌噬菌体 FelixO1,制备成噬菌体水凝胶,显著提高噬菌体 FelixO1 的耐酸性,延长其储存期。喷雾干燥也是一种高效低成本的噬菌体微囊化技术,用商品化的阴离子聚合物(Eudragit S100[®])包封沙门氏菌噬菌体 Felix O1,再使用喷雾干燥法制备成噬菌体粉剂,也可以显著提高噬菌体的耐酸性,有效解决噬菌体在酸性食品中容易失活的问题^[45]。

在噬菌体生物防控过程中,如果想要获得较好的灭菌效果,必须在正确的阶段进行噬菌体干预,并且避免细菌的再繁殖^[46]。有些食品适合原料阶段(或原料采集前)使用噬菌体,如肉类、奶类,可以在动物屠宰前或挤奶前使用,但需注意避免细菌二次污染,例如猪肉在屠宰场环境中仅需 2 h 便可再次感染沙门氏菌, KIM 等^[47]将肠炎沙门氏菌噬菌体加入肉鸡饲料中,发现可以促进肉鸡生长并降低肉鸡体内肠炎沙门氏菌的数量从而降低肉鸡的死亡率。

5 商用沙门氏菌噬菌体制剂

据不完全统计,全球目前有 28 家生产噬菌体相关产品的公司,其中美国 9 家、英国 7 家、澳大利亚和格鲁吉亚各 2 家,荷兰、以色列、爱尔兰、德国、韩国、加拿大、葡萄牙和俄罗斯各 1 家^[48]。产品经美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准使用的噬菌体及相关产品生产公司 5 家:美国 Intralytix 公司、荷兰 Microos Food Safety 公司、美国 Elanco Food Solutions 公司、美国 OmniLytics(AgriPhi)公司和韩国 Cheil Jedang 公司^[48]。除李斯特菌噬菌体产品外,被批准的沙门氏菌噬菌体产品的数量位居第一。2007 年, FDA 批准使用 OmniLytics 公司生产的大肠杆菌和抗沙门氏菌噬菌体制剂,用于在屠宰前净化活体动物^[49]。2013 年 2 月, Intralytix 公司生产的沙门氏菌噬菌体制剂 Salmofresh[™] 获得批准用于消除家禽产品和其他食品中沙门氏菌。正在开发及应用于食品、动物方面的商业

沙门氏菌噬菌体产品有: SalmoShield[™] 用于处理引起食品及食品加工设施污染的高致病性沙门氏菌; SalmoLyse[™] 针对宠物食品中沙门氏菌污染;噬菌体产品 PhageGuard S 可减少肉糜和家禽产品中的沙门氏菌污染^[21]。Elanco 食品解决方案公司与 OmniLytics 公司共同生产了沙门氏菌噬菌体产品 Armament,以减少加工前肉类和家禽中的污染^[50]。沙门氏菌噬菌体产品 BioTector 由位于首尔的韩国 CJ CheilJedang 公司开发,是第一款替代动物饲料中抗生素的噬菌体产品,用于控制禽伤寒和鸡白痢沙门氏菌^[51]。虽然,国外噬菌体产品已经被批准使用,但是目前我国还没有获批的噬菌体产品。

6 展 望

虽然噬菌体相关研究应用并未完全成熟,噬菌体制剂作为生物防治手段在我国仍有很长一段路要走,但相信随着国内外噬菌体制剂商业化发展、研究的不断深入以及基因工程技术的逐步成熟,噬菌体安全性、稳定性及有效性等问题会得到进一步研究并解决。噬菌体与宿主的共同进化,使得他们之间形成了复杂的相互对抗机制,细菌对噬菌体产生了抗性,而噬菌体可以克服细菌的抗性。目前,使用带有多个表面受体的噬菌体可以防止或延迟细菌对噬菌体的抗性。这可能为噬菌体控制耐药性的沙门氏菌提供强大的优势。为了在食品中更广泛地使用噬菌体,应积累更多的研究,从不同角度证明噬菌体的有效性、安全性和稳定性,并将其应用到动物养殖和食品行业。目前使用噬菌体的生物防控研究仅涉及某些沙门氏菌血清型的菌株,如鼠伤寒沙门氏菌、肠炎沙门氏菌、鸡白痢沙门氏菌等。随着新发血清型的沙门氏菌在食品中变得越来越严重,应该筛选和鉴定能够控制特定沙门氏菌血清型的新型噬菌体或配制噬菌体混合物或与其他抗菌技术结合,以最大限度地发挥噬菌体应用的功效。

参考文献

- [1] 汪国翡, 胡弘宇. 食品中沙门氏菌检测现状分析[J]. 食品安全导刊, 2020, (6): 146.
WANG GF, HU HY. Analysis on the detection status of *Salmonella* in food [J]. Chin Food Saf Magaz, 2020, (6): 146.
- [2] ENG SK, PUSPARAJAH P, AB MNS, et al. *Salmonella*: A review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance [J]. Front Life Sci, 2015, 8(3): 284-293.
- [3] FERRARI RG, ROSARIO DKA, CUNHA-NETO A, et al. Worldwide epidemiology of *Salmonella* serovars in animal-based foods: A meta-analysis [J]. Appl Environ Microbiol, 2019, 85(14): e00591-19.
- [4] European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2015 [J]. EFSA J, 2017, 15(2): e04694.
- [5] STANAWAY JD, PARISI A, SARKAR K, et al. The global burden of

- non-typhoidal *Salmonella* invasive disease: A systematic analysis for the global burden of disease study 2017 [J]. *Lancet Infect Dis*, 2019, 19(12): 1312–1324.
- [6] World Health Organization. WHO estimates of the global burden of foodborne diseases: Foodborne disease burden epidemiology reference group 2007–2015 [Z].
- [7] KIRK MD, PIRES SM, BLACK RE, *et al.* World Health Organization estimates of the global and regional disease burden of 22 foodborne bacterial, protozoal, and viral diseases, 2010: A data synthesis [J]. *PLoS Med*, 2015, 12(12): e1001921.
- [8] 孙景昱, 刘思洁, 赵薇, 等. 2011—2018年吉林省食品中沙门氏菌的污染监测及血清型别分布[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(24): 9377–9382.
- SUN JY, LIU SJ, ZHAO W, *et al.* Pollution monitoring and serotype distribution of *Salmonella* in food in Jilin Province from 2011 to 2018 [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(24): 9377–9382.
- [9] 黄金会, 彭思露, 周厚德, 等. 2016—2018年江西省食源性腹泻患者沙门氏菌感染状况和耐药性分析[J]. *现代预防医学*, 2020, 47(24): 4452–4455.
- HUANG HJ, PENG SL, ZHOU HD, *et al.* Analysis of *Salmonella* infection and drug resistance in patients with foodborne diarrhea in Jiangxi Province from 2016 to 2018 [J]. *Mod Prev Med*, 2020, 47(24): 4452–4455.
- [10] 沈赞, 秦思, 霍翔. 2019年江苏省部分地区儿童腹泻沙门氏菌的感染率及耐药状况研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(15): 5150–5155.
- SHEN Y, QIN S, HUO X. Study on the infection rate and drug resistance of *Salmonella* diarrhea in children in some areas of Jiangsu Province in 2019 [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(15): 5150–5155.
- [11] United States Department of Agriculture. Cost Estimates of Foodborne Illnesses. 2021. Available online: <https://www.ers.usda.gov/data-products/cost-estimates-of-foodborne-illnesses.aspx> (accessed on 21 June 2020) [Z].
- [12] European Centre for Disease Prevention and Control. *Salmonella* the Most Common Cause of Foodborne Outbreaks in the European Union. 2020 [Z].
- [13] VT ND, VENKITANARAYANAN K, KOLLANOOR JA. Antibiotic-resistant *Salmonella* in the food supply and the potential role of antibiotic alternatives for control [J]. *Foods*, 2018, 7(10): 167.
- [14] DEBROY R, MIRYALA SK, NAHA A, *et al.* Gene interaction network studies to decipher the multi-drug resistance mechanism in *Salmonella enterica* serovar Typhi CT18 reveal potential drug targets [J]. *Microb Pathogen*, 2020, 142: 104096.
- [15] HE J, SUN F, SUN D, *et al.* Multidrug resistance and prevalence of quinolone resistance genes of *Salmonella enterica* serotypes 4,[5],12:i:- in China [J]. *Int J Food Microb*, 2020, 330: 108692.
- [16] KORTRIGHT KE, CHAN BK, KOFF JL, *et al.* Phage therapy: A renewed approach to combat antibiotic-resistant bacteria [J]. *Cell Host Microb*, 2019, 25(2): 219–232.
- [17] PRINCIPI N, SILVESTRI E, ESPOSITO S. Advantages and limitations of bacteriophages for the treatment of bacterial infections [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 513.
- [18] PARASION S, KWIATEK M, GRYKO R, *et al.* Bacteriophages as an alternative strategy for fighting biofilm development [J]. *Pol J Microb*, 2014, 63(2): 137.
- [19] GORDILLO AFL, BARR JJ. Phage therapy in the postantibiotic era [J]. *Clin Microbiol Rev*, 2019, 32(2): e00066–18.
- [20] DOSS J, CULBERTSON K, HAHN D, *et al.* A review of phage therapy against bacterial pathogens of aquatic and terrestrial organisms [J]. *Viruses*, 2017, 9(3): 50.
- [21] OH JH, PARK MK. Recent trends in *Salmonella* outbreaks and emerging technology for biocontrol of *Salmonella* using phages in foods: A review [J]. *J Microb Biotech*, 2017, 27(12): 2075–2088.
- [22] BAO H, SHAHIN K, ZHANG Q, *et al.* Morphologic and genomic characterization of a broad host range *Salmonella enterica* serovar pullorum lytic phage vB_SPuM_SP116 [J]. *Microb Pathogenesis*, 2019, 136: 103659.
- [23] SULAKVELIDZE A, ALAVIDZE Z, MORRIS JGG. Bacteriophage therapy [J]. *Antimicrob Agents*, 2001, 45(3): 649–659.
- [24] DEC M, WERNICKI A, URBAN-CHMIEL R. Efficacy of experimental phage therapies in livestock [J]. *Anim Health Res Rev*, 2020, 21(1): 69–83.
- [25] SKLAR IANB, JOERGER RD. Attempts to utilize bacteriophage to combat *Salmonella enterica* serovar enteritidis infection in chickens [J]. *J Food Saf*, 2001, 21(1): 15–29.
- [26] AHMADI M, KARIMI TORSHIZI MA, RAHIMI S, *et al.* Prophylactic bacteriophage administration more effective than post-infection administration in reducing *Salmonella enterica* serovar enteritidis shedding in quail [J]. *Front Microb*, 2016, 7: 1253.
- [27] FIORENTIN L, VIEIRA ND, BARIONI JW. Oral treatment with bacteriophages reduces the concentration of *Salmonella enteritidis* PT4 in caecal contents of broilers [J]. *Avian Pathol*, 2005, 34(3): 258–263.
- [28] ATTERBURY RJ, VAN BMAP, ORTIZ F, *et al.* Bacteriophage therapy to reduce *Salmonella* colonization of broiler chickens [J]. *Appl Environ Microb*, 2007, 73(14): 4543–4549.
- [29] BORIE C, ALBALA I, SÁNCHEZ P, *et al.* Bacteriophage treatment reduces *Salmonella* colonization of infected chickens [J]. *Avian Dis*, 2008, 52(1): 64–67.
- [30] WALL SK, ZHANG J, ROSTAGNO MH, *et al.* Phage therapy to reduce preprocessing *Salmonella* infections in market-weight swine [J]. *Appl Environ Microb*, 2010, 76(1): 48–53.
- [31] SEO BJ, SONG ET, LEE K, *et al.* Evaluation of the broad-spectrum lytic capability of bacteriophage cocktails against various *Salmonella* serovars and their effects on weaned pigs infected with *Salmonella typhimurium* [J]. *J Vet Med Sci*, 2018, 80(6): 851–860.
- [32] XIE Y, THOMPSON T, O'LEARY C, *et al.* Differential bacteriophage efficacy in controlling *Salmonella* in cattle hide and soil models [J]. *Front Microb*, 2021, 12: 1733.
- [33] HENRIQUES A, SERENO R, ALMEIDA A. Reducing *Salmonella* horizontal transmission during egg incubation by phage therapy [J]. *Foodborne Pathog Dis*, 2013, 10(8): 718–722.
- [34] GALTIER M, DE SORDI L, MAURA D, *et al.* Bacteriophages to reduce gut carriage of antibiotic resistant uropathogens with low impact on microbiota composition [J]. *Environ Microb*, 2016, 18(7): 2237–2245.
- [35] NIKKHAHI F, DALLAL MMS, ALIMOHAMMADI M, *et al.* Phage therapy: Assessment of the efficacy of a bacteriophage isolated in the treatment of salmonellosis induced by *Salmonella enteritidis* in mice [J].

- Gastroen Hepatol Bed Bench, 2017, 10(2): 131.
- [36] YE H Y, PURUSHOTHAMAN P, GUPTA N, *et al.* Bacteriophage application on red meats and poultry: Effects on *Salmonella* population in final ground products [J]. Meat Sci, 2017, 127: 30–34.
- [37] BAO H, ZHANG P, ZHANG H, *et al.* Bio-control of *Salmonella enteritidis* in foods using bacteriophages [J]. Viruses, 2015, 7(8): 4836–4853.
- [38] MODI R, HIRVI Y, HILL A, *et al.* Effect of phage on survival of *Salmonella enteritidis* during manufacture and storage of cheddar cheese made from raw and pasteurized milk [J]. J Food Protect, 2001, 64(7): 927–933.
- [39] HUANG C, VIRK S M, SHI J, *et al.* Isolation, characterization, and application of bacteriophage LPSE1 against *Salmonella enterica* in ready to eat (RTE) foods [J]. Front Microb, 2018, 9: 1046.
- [40] ZHANG X, NIU YD, Nan Y, *et al.* SalmoFresh™ effectiveness in controlling *Salmonella* on romaine lettuce, mung bean sprouts and seeds [J]. Int J Food Microb, 2019, 305: 108250.
- [41] 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 Microb, 2012, 154(1-2): 66–72.
- [42] LONE A, ANANY H, HAKEEM M, *et al.* Development of prototypes of bioactive packaging materials based on immobilized bacteriophages for control of growth of bacterial pathogens in foods [J]. Int J Food Microb, 2016, 217: 49–58.
- [43] LEWIS R, HILL C. Overcoming barriers to phage application in food and feed [J]. Curr Opin Biotechnol, 2020, 61: 38–44.
- [44] 马永生. 口服微囊化噬菌体的制备及其在胃肠环境中的稳定性、释放行为和抗菌活性研究[D]. 大连: 大连理工大学, 2011.
- MA YS. Preparation of oral microencapsulated phage and its stability, release behavior and antibacterial activity in gastrointestinal environment [D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2011.
- [45] VINNER GK, REZAIE-YAZDI Z, LEPPANEN M, *et al.* Microencapsulation of salmonella-specific bacteriophage Felix O1 using spray-drying in a pH-responsive formulation and direct compression tableting of powders into a solid oral dosage form [J]. Pharmaceuticals, 2019, 12(1): 43.
- [46] SHARMA M, DASHIELL G, HANDY ET, *et al.* Survival of *Salmonella* newport on whole and fresh-cut cucumbers treated with lytic bacteriophages [J]. J Food Protect, 2017, 80(4): 668–673.
- [47] KIM KH, INGALE SL, KIM JS, *et al.* Bacteriophage and probiotics both enhance the performance of growing pigs but bacteriophage are more effective [J]. Anim Feed Sci Technol, 2014, 196: 88–95.
- [48] 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.
- [49] GARCÍA P, RODRÍGUEZ L, RODRÍGUEZ A, *et al.* Food biopreservation: promising strategies using bacteriocins, bacteriophages and endolysins [J]. Trends Food Sci Technol, 2010, 21(8): 373–382.
- [50] GOODRIDGE LD, BISHA B. Phage-based biocontrol strategies to reduce foodborne pathogens in foods [J]. Bacteriophage, 2011, 1(3): 130–137.
- [51] MONK AB, REES CD, BARROW P, *et al.* Bacteriophage applications: Where are we now? [J]. Lett Appl Microb, 2010, 51(4): 363–369.

(责任编辑: 于梦娇 郑 丽)

作者简介

包红朵, 副研究员, 主要研究方向为噬菌体生物防控研究。

E-mail: baohongduo@163.com

王 冉, 研究员, 主要研究方向为畜禽产品安全与健康养殖研究。

E-mail: ranwang@jaas.ac.cn