



孙新城,杜月霞,周军,等. 噬菌体及其衍生物抗食源性致病菌生物被膜的研究进展[J]. 轻工学报,2025, 40(5):37-43,54.
SUN X C, DU Y X, ZHOU J, et al. Research progress of bacteriophages and their derivatives against foodborne pathogens biofilms[J]. Journal of Light Industry, 2025, 40(5):37-43, 54. DOI:10.12187/2025.05.005

噬菌体及其衍生物抗食源性致病菌生物被膜的研究进展

孙新城^{1,2,3,4}, 杜月霞¹, 周军², 杜婷婷¹, 秦金梦¹, 张思威¹, 张晓根¹

1. 郑州轻工业大学 食品与生物工程学院, 河南 郑州 450001;
2. 食品生产与安全河南省协同创新中心, 河南 郑州 450001;
3. 中原食品实验室 郑州轻工业大学, 河南 漯河 462300;
4. 冷链食品加工与安全控制教育部重点实验室(培育), 河南 郑州 450001

摘要: 生物被膜(Biofilm, BF)是食源性致病菌在食品加工过程中的主要存在形式,其结构复杂,常规消杀手段难以根除,其防控策略正逐步成为食品领域的研究重点。基于食源性致病菌防控面临的严峻形势及噬菌体作为生物防治剂的潜力,对生物被膜的形成过程及主要调控机制,以及噬菌体及其衍生物、噬菌体与抗生素联用抗食源性致病菌生物被膜的研究进展进行综述。生物被膜的形成过程大致包括可逆粘附阶段、不可逆粘附阶段、早期形成阶段、成熟阶段和分散阶段,群体感应是调控生物被膜形成的主要因素;噬菌体可特异性地靶向食源性致病菌,其衍生物裂解酶和穿孔素能降解细菌的肽聚糖,使细菌细胞裂解并释放子代噬菌体;噬菌体与抗生素联用可产生协同效应,提高食源性致病菌生物被膜的防控效果。未来研究将结合大健康(One Health)理念,从医学、食品、环境等领域解析生物被膜在“人-动物-环境”中的交叉传播机制,优化噬菌体-抗生素联用条件,提升多策略协同防控效果,以更好地保障食品质量与安全。

关键词: 食源性致病菌;生物被膜;噬菌体;生物防治剂;抗生素

中图分类号: TS201.3;Q93 **文献标识码:** A **文章编号:** 2096-1553(2025)05-0037-07

0 前言

食源性致病菌是引发食源性疾病的关键因素,也是食品生产、加工和包装过程中面临的严峻挑战之一。从畜禽养殖到消费者个人,食源性致病菌污染可能发生在“农场-餐桌链”的各个环节,给畜禽和人类健康带来危害。世界卫生组织(World Health Organization, WHO)的调查数据显示,全世界每年有

高达 6 亿例食源性疾病病例,死亡人数约 42 万人^[2],食源性疾病的防控形势严峻。食源性致病菌种类繁多,因加工产品类别而异^[1]。在海鲜行业,常见的食源性致病菌是弧菌(*Vibrio*)、嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)和沙门氏菌(*Salmonella*);在生鲜农产品行业,常见的食源性致病菌是沙门氏菌、大肠杆菌 O157:H7(*Escherichia coli* O157:H7)、志贺氏菌(*Shigella castellani*)、蜡样芽孢杆菌

收稿日期:2024-11-04;修回日期:2025-03-12;出版日期:2025-10-15

基金项目:河南省科技攻关项目(242102111045,222102520041,222103810020)

作者简介:孙新城(1976—),男,山东省巨野县人,郑州轻工业大学教授,博士,主要研究方向为食品微生物。E-mail:biosxc@126.com

(*Bacillus cereus*)、产气荚膜梭菌(*Clostridium perfringens*)和耶尔森氏菌(*Yersinia*);在乳制品行业,常见的食源性致病菌是大肠杆菌、单增李斯特氏菌(*Listeria monocytogenes*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、沙门氏菌等^[3]。这些食源性致病菌常以生物被膜(Biofilm, BF)的形式粘附在食品或加工设备表面,为细胞提供应对外部压力的特殊抵抗力,并通过增加交叉污染的可能性对食品加工产生不利影响,进而引发食品安全问题。研究^[4]表明,包裹在生物被膜中的细菌对抗生素的耐药性是浮游形式细菌的 10~1000 倍,且杀灭它们所需的抗菌药物剂量是杀灭浮游形式细菌的 1000 倍,因此,对生物被膜的灭菌和消毒方式要求极高。而解决这一问题需采取多方面的措施,包括减少畜禽养殖中抗生素的使用、强化对食源性致病菌的监控、加快替代性解决方案的探索和推广等。

噬菌体(Bacteriophage)是一种能感染并杀死宿主细菌的病毒,除了具有无毒性、增殖率高、自主复制周期快、自限性等优点^[5],还具有较高的宿主特异性,能够选择性地裂解某一种宿主细菌,且不会对人或其他动物体内的益生菌产生不良影响^[6-7];另外,还可有效防止生物被膜的形成及消除已形成的生物被膜。因此,噬菌体作为一种具有潜在应用前景的生物防治剂,正受到越来越多研究者的关注。在东欧国家,噬菌体早已被用于治疗人类细菌性感染,而随着抗生素耐药性问题的日益严峻,噬菌体的应用范围也逐渐扩展至食品、临床、兽医、环境等多个领域^[4]。目前,基于噬菌体的生物被膜防控策略主要包括利用单一噬菌体或多种噬菌体混合的鸡尾酒、采用噬菌体衍生酶、实施噬菌体与抗生素联用的方法等。本文拟对生物被膜的形成过程及主要调控机制,以及噬菌体及其衍生物、噬菌体与抗生素联用在去除食源性致病菌生物被膜方面的研究进展进行综述,以期为食品及其相关行业生物被膜的防控策略提供参考,同时为保障食品质量与安全提供借鉴。

1 生物被膜形成过程及主要调控机制

生物被膜是细菌为适应生存环境而形成的一种具有结构性、功能性和协调性的复杂群落聚集形

式,也是细菌粘附到生物载体或非生物载体表面的重要工具,它能将细菌及其分泌的胞外多糖、蛋白质、DNA 等基质包绕其中,形成细菌逃避宿主防御系统的物理屏障,并阻碍抗菌药物进入细菌体内,使细菌产生耐药性^[5,7]。不同细菌或同一细菌会因所处环境的不同,形成厚薄不均、疏密有别、结构各异的生物被膜,而成熟后的生物被膜则是一个具有高度组织性和特殊功能性的结构群体^[8]。生物被膜具有 3 种明显的特性:1)与浮游形式细菌相比,生物被膜细菌对食品工业中的次氯酸钠、过氧乙酸等常用消毒剂具有较强的抵抗力;2)生物被膜细菌以其独特的生长方式形成了具有组织性的复杂聚集式群落结构;3)生物被膜的形成过程具有规律性,大致包括可逆粘附阶段、不可逆粘附阶段、早期形成阶段、成熟阶段和分散阶段^[9-11]。

生物被膜形成的影响因素包括细菌种类、待定植表面特性、基因调控、群体感应(Quorum Sensing, QS)等,其中群体感应是对生物被膜形成发挥调控作用的主要因素^[12]。细菌之间的交流主要依赖于信号分子(自诱导剂),而这些信号分子通过群体感应来调节基因表达,以响应种群密度的变化^[13]。信号分子之间的精细合作与调节是食源性致病菌存活及成功入侵宿主的关键。因此,食源性致病菌已形成一套精密的调节系统来调控毒力基因的表达,在感染过程中可适应环境条件的变化^[14]。群体感应对生物被膜和抗性基因的调控均具有重要意义,它可使生物被膜中的营养物质、酶类、代谢产物和废物正常运输和排出;另外,整个细菌群体的行为也需要通过密度感应系统来控制 and 协调,二者共同对周围环境的刺激作出反应,以显著提高生物被膜的生存能力^[15]。群体感应通过自身分泌的小信号分子来调节生物被膜的形成,当这些小信号分子的浓度达到最小阈值时,会与受体蛋白结合,激活参与生物被膜形成的基因表达^[16]。在革兰氏阳性和革兰氏阴性细菌中都广泛存在群体感应信号分子,主要包括革兰氏阴性细菌分泌的 *n*-乙酰基高丝氨酸内酯(AHL)分子、革兰氏阳性细菌特有的小肽化合物(AIP)、革兰氏阴性和革兰氏阳性细菌均分泌的自诱导剂 2(AI-2,呋喃基硼酸二酯及类似分子)

等^[17]。此外,群体感应还可促进生物被膜的解离过程,加速食源性致病菌的分散和感染^[18]。

2 噬菌体及其衍生物对食源性致病菌生物被膜的影响

2.1 噬菌体对食源性致病菌生物被膜的影响

目前,在食品及其加工设施中已引入壳聚糖、乳酸链球菌素、过氧乙酸等抗菌物质,以降低食源性致病菌污染风险并延长食品保质期,然而,这些传统方法尚无法有效防控食源性致病菌的生长。为此,研究者开始探索新型生物防治策略,其中以细菌为宿主的噬菌体被认为最具潜力。与不加选择地攻击食品中其他有益细菌的传统抗菌方法相比,噬菌体可特异性地靶向沙门氏菌、大肠杆菌等食源性致病菌^[19]。美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)已认定用于控制食源性致病菌的 ListShield™、SalmoFresh™ 等商业噬菌体为一般公认的安全(Generally Recognized As Safe, GRAS)食品防腐剂^[20]。V. Y. Montañez-Izquierdo 等^[21]研究发现,用 1×10^8 CFU/mL 的噬菌体 P100 处理在不锈钢表面形成的 3 日龄单增李斯特菌生物被膜,8 h 内该菌数量减少了约 5.29 log CFU/cm²,48 h 后未检测到活菌,证实了噬菌体介导的消毒方式的有效性。Y. J. Yin 等^[22]从地表水中分离出的噬菌体 ϕ V05、 ϕ V07 和 ϕ V09 能有效控制聚苯乙烯表面生物被膜的形成,但对预成型生物被膜无显著影响。此外,K. H. Byun 等^[23]研究发现,用噬菌体混合物(LMPC01+02+03)鸡尾酒处理食品接触材料(Food Contact Materials, FCM)上形成的单增李斯特氏菌生物被膜 8 h 后,年幼生物被膜减少了 2 log CFU/cm² 以上,成熟生物被膜减少了约 1 log CFU/cm²,且去除率在 4 ℃、15 ℃ 和 30 ℃ 无显著差异。然而,由于宿主对噬菌体具有耐药性,且生物被膜在噬菌体处理的生物和非生物表面具有存活能力,多数前期研究均未能利用噬菌体完全去除生物被膜。

2.2 噬菌体衍生物对食源性致病菌生物被膜的影响

尽管生物被膜可保护细菌免受恶劣环境影响

及噬菌体捕食,但噬菌体在侵染细菌过程中可在其基因组中编码裂解酶、穿孔素、内溶素等,以对抗生物被膜^[24]。其中,裂解酶能够降解细菌的肽聚糖,使细菌裂解死亡;穿孔素则在细菌质膜上形成小孔,协助裂解酶降解肽聚糖;二者均具有无毒、高效抑菌、不易产生耐药性等特点,已逐渐被应用于食品安全与控制相关研究^[25]。

裂解酶是一种噬菌体编码的肽聚糖水解酶^[21],可利用多糖或多糖衍生物作为底物,在噬菌体裂解周期中高效作用于肽聚糖,破坏细菌细胞壁的完整性,使细菌细胞裂解并释放子代噬菌体^[26-27]。M. V. Fursov 等^[28]测试了大肠杆菌噬菌体的重组裂解酶 LysECD7 对肺炎克雷伯菌(*Klebsiella pneumoniae*)生物被膜的清除功效,证实该裂解酶能显著抑制肺炎克雷伯菌生物被膜的形成,并能在体外降解预形成的生物被膜。J. Wang 等^[29]研究发现,裂解酶 Ply113 对屎肠球菌(*Enterococcus faecium*)、粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*)和金黄色葡萄球菌,包括耐万古霉素肠球菌和耐甲氧西林金黄色葡萄球菌,均表现出较高的快速裂解活性,且呈剂量依赖性。C. Ghose 等^[30]也证实,裂解酶 PlyF307 对聚氯乙烯(PVC)导管上形成的鲍曼不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*)生物被膜具有抑制作用。H. Q. Ning 等^[31]研究发现,裂解酶 Lysqdv001 与 ϵ -聚赖氨酸协同使用可除去聚苯乙烯、玻璃和不锈钢表面上 44%~68%的副溶血弧菌生物被膜。Y. Zhang 等^[32]研究发现,沙门氏菌噬菌体 STG2 的裂解酶 LysSTG2 可使经氯仿处理(增加外膜通透性)的沙门氏菌菌液的 OD_{600} 在 5 min 内迅速下降,且在裂解酶 LysSTG2 质量浓度为 400 μ g/mL 和 50 μ g/mL 时,分别下降 73% 和 45%。S. H. Zhang 等^[33]从沙门氏菌噬菌体 XF II-1 中筛选获得一种新的裂解酶 XF II,发现其对乙二胺四乙酸(EDTA)预处理的沙门氏菌具有良好的裂解效果,对其形成的生物被膜具有抑制作用。在食品生产和加工的各个环节都有可能存在由食源性致病菌形成的生物被膜,因此裂解酶可应用于食品供应链全流程,以降低食源性致病菌污染风险^[34-36]。M. J. Holle 等^[37]比较了裂解酶 PlyP40、PlyPSA 和 PlyP100 抑制单增李斯特菌污染

奶酪的能力,发现 3 种裂解酶都能有效降低单增李斯特菌的活菌数,其中裂解酶 PlyP100 抑菌效果最优。R. Lu 等^[38]研究发现,纯化后的裂解酶 LysCP28 能有效阻止产气荚膜杆菌生物被膜的形成,并去除已形成的生物被膜。M. Q. Guo 等^[39]筛选了一种新的含有裂解酶样结构域的 LysPA26,发现其不仅可有效杀灭铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*),还可对抗其他能形成生物被膜的耐药革兰氏阴性细菌,如大肠杆菌、肺炎克雷伯菌等。R. Soontarach 等^[40]研究发现,来源于噬菌体的裂解酶 LysAB1245 可作为多功能抗菌剂用于控制革兰氏阴性和革兰氏阳性细菌;另外,该裂解酶不仅能显著抑制铜绿假单胞菌和金黄色葡萄球菌形成生物被膜,还能根除预先形成的生物被膜。因此,噬菌体裂解酶在防治食源性致病菌污染方面具有巨大的潜力。

穿孔素是噬菌体在感染细菌宿主后期合成的小分子疏水性跨膜蛋白^[41],它能以寡聚体的形式在特定时间节点聚集于细胞被膜上,形成损害细胞被膜的非特异性通道,从而释放细胞内的裂解酶以水解细胞壁中的肽聚糖层,最终导致细菌细胞裂解并释放子代噬菌体。噬菌体最经典的裂解系统“holin-lysin”至少包含一种穿孔素和一种裂解酶^[42]。体外实验中,在没有裂解酶存在的情况下,穿孔素依然可使细菌活力丧失,这可能是因为穿孔素在细胞被膜上形成的孔洞能使环境中的有毒有害物质进入细菌细胞,最终导致细菌死亡^[43-44]。

3 噬菌体与抗生素联用对食源性致病菌生物被膜的影响

尽管头孢洛林、达托霉素、特拉万星等抗生素已被广泛用于处理成熟细菌生物被膜,但防控效果不理想^[45]。例如,M. E. Roberts^[46]等用抗生素处理生物被膜发现,其表面的细菌虽被杀死,但其深层的休眠细菌几乎不受影响。此外,一旦停止使用抗生素,生物被膜较深层的细菌会快速增殖并形成新的生物被膜。在与噬菌体长期的共进化历程中,细菌已演化出多样化的抗噬菌体防御策略,这导致噬菌体的抑菌效果不理想,严重制约了其在食品工业

中的应用^[47]。同时,宿主特异性较高,利用单一噬菌体几乎无法防控某一物种中的所有菌株。因此,与单一抗生素或单一噬菌体制剂相比,将二者联合使用有望产生协同效应,从而提高食源性致病菌生物被膜的防控效果^[48]。

噬菌体-抗生素协同作用(Phage-Antibiotic Synergy, PAS)是指某些抗生素的亚致死浓度可促进后代噬菌体从细菌细胞中释放的现象^[49]。该策略既可降低抗生素剂量,还可减轻抗生素的耐药性^[50],且在根除细菌生物被膜上表现出协同效应。有研究^[51]发现,将噬菌体与抗生素联用能够有效清除铜绿假单胞菌生物被膜。T. L. Tagliaferri 等^[52]评估了噬菌体 Sb-1 与 5 种抗生素联用对 10 种耐利福平金黄色葡萄球菌生物被膜活性的影响,发现噬菌体 Sb-1 与达托霉素、氟氯西林、头孢唑啉或磷霉素联用能够在体外根除耐利福平金黄色葡萄球菌生物被膜,且菌落数比单独使用某种抗生素减少 3 倍以上,比单独使用噬菌体 Sb-1 减少 6 倍以上,且只有联合使用才能阻止生物被膜形成。Y. Q. Wu 等^[53]研究发现,裂解酶 Dep42 在肺炎克雷伯菌生物被膜解聚过程中表现出特异性,能够显著抑制该生物被膜的形成或降解所形成的生物被膜;当 Dep42 与多黏菌素联用时,可增强多黏菌素对肺炎克雷伯菌生物被膜活性的影响。N. Agnieszka 等^[54]研究了噬菌体鸡尾酒与环丙沙星、利福平联用对 STEC 模式菌株大肠杆菌 O157:H7(ST2-8624)生物被膜活性的影响,发现在所有实验条件下均表现出有效的抗生物被膜作用。

综上,抗生素与噬菌体联用能够有效防控细菌生物被膜的形成,但目前噬菌体-抗生素联用的相关研究多注重于细菌生物被膜总体清除效率的提高,并未对单一使用的效果进行定量分析,且二者的剂量、使用顺序等对防控效果有较大的影响,因此未来的研究应优化联用条件,在确保安全性的前提下,充分发挥联用效果,以实现协同效应最大化。

在食品领域,抗生素可在法规允许范围内谨慎使用。例如:在乳制品生产中,使用 β -内酰胺类抗生素对原料奶进行消毒,可有效杀灭食源性致病菌;在发酵过程中,合理使用大环内酯类抗生素可

有效抑制发酵过程中有害菌生长,促进有益菌繁殖,进而提高发酵效果^[55]。尽管目前尚未见关于噬菌体与抗生素联用的公开具体案例,但食品工业中的食源性致病菌污染防控与医疗领域的细菌感染防治在原理上有相通之处,医学领域噬菌体与抗生素联用的实践对食品工业中应对食源性致病菌生物被膜具有一定启示和参考价值。在食品加工中,为防止沙门氏菌、金黄色葡萄球菌等食源性致病菌的污染,可尝试采用噬菌体与抗生素联用的方式。例如,在肉类加工过程中,针对原料肉中可能存在的多种耐药性食源性致病菌,先用对特定食源性致病菌有靶向性的噬菌体破坏细菌结构或代谢过程,使细菌对抗生素更敏感,再配合低剂量的抗生素进一步杀灭细菌,为肉制品安全提供双重保障。

4 结论与展望

本文阐述了食源性致病菌生物被膜的形成过程及主要调控机制,综述了噬菌体及其衍生物、噬菌体与抗生素联用在去除食源性致病菌生物被膜方面的研究进展。生物被膜具有规律的形成过程,包括可逆粘附阶段、不可逆粘附阶段、早期形成阶段、成熟阶段和分散阶段,群体感应是对生物被膜形成发挥调控作用的主要因素;噬菌体及其衍生物可有效抑制食源性致病菌生物被膜的形成,噬菌体与抗生素联用产生的协同效应能提高食源性致病菌生物被膜的防控效果。随着食品安全标准的逐步完善,未来可就以下几方面开展研究:第一,进一步深入系统地解析生物被膜的形成调控机制,并结合大健康(One Health)理念,从医学、食品、环境等领域解析生物被膜在“人-动物-环境”中的交叉传播机制,探索去除生物被膜的新方法。第二,优化噬菌体-抗生素联用条件,在确保安全性的前提下,充分发挥联用效果,实现协同效应最大化。第三,进一步提升多策略协同防控效果,降低由生物被膜污染引发的食品安全风险,确保消费者的健康和生命安全。虽然噬菌体及其衍生物在防控食源性致病菌生物被膜方面具有较大潜力,但仍存在一定的局限性。例如,尚未形成噬菌体作为生物防治剂的标准化方法,且缺乏相应的法律法规;噬菌体应用

的可操作性和实用性仍有待提高,其使用还需获得监管部门批准;由于噬菌体的病毒属性,尚未被公众完全接受。目前,我国尚未批准任何噬菌体成为食品添加剂,国家药品监督管理局(NMPA)对噬菌体仍持审慎态度,但也在密切关注国际进展和国内研究动态。

参考文献:

[1] 吕阳,尹平,MOHAMED K M,等.噬菌体在食品安全控制中的研究进展[J].食品科学,2018,39(15):240-246.

[2] 都雪莹,胡欣,冯泽银,等.肉桂醛防控食源性致病菌及其生物被膜的研究进展[J].食品科学,2025,46(1):237-245.

[3] GUTIÉRREZ D,RODRÍGUEZ-RUBIO L,MARTÍNEZ B, et al. Bacteriophages as weapons against bacterial biofilms in the food industry[J]. Frontiers in Microbiology,2016,7:825.

[4] 梁馨文,刘振杰,张菊梅,等.高效噬菌体防控食品源单增李斯特菌的研究进展[J].现代食品科技,2024,40(1):304-311.

[5] KIM J H,KIM H J,JUNG S J, et al. Characterization of *Salmonella* spp.-specific bacteriophages and their biocontrol application in chicken breast meat[J]. Journal of Food Science,2020,85(3):526-534.

[6] 王瑜豪,于进洋,王圣睿,等.中药协同抗生素抑制金黄色葡萄球菌生物膜形成研究进展[J].中医学报,2024,39(7):1484-1491.

[7] SADEKUZZAMAN M,YANG S,MIZAN M F R, et al. Effectiveness of a phage cocktail as a biocontrol agent against *L. monocytogenes* biofilms [J]. Food Control,2017,78:256-263.

[8] 李新圃,罗金印,杨峰,等.金黄色葡萄球菌生物膜形成机制及中药调控作用的研究进展[J].中兽医医药杂志,2018,37(6):21-25.

[9] GUPTA P V,NAGARSENKER M S. Antimicrobial and antibiofilm activity of enzybiotic against *Staphylococcus aureus* [M] // MENDEZ-VILAS A. The battle against microbial pathogens; Basic science, technological advances and educational programs. Badajoz: Formatex Research Center,2015:364-372.

[10] 柴子涵.噬菌体聚糖酶在细菌生物被膜降解中的应用研究[D].青岛:中国海洋大学,2012.

[11] RODRIGUES CARNEIRO C,NOGUEIRA LEITE N,DE ABREU OLIVEIRA A V, et al. Mathematical modeling for the prediction of biofilm formation and removal in the food industry as strategy to control microbiological resistance [J]. Food Research International,2024,197:115248.

- [12] 张天震,刘伶普,李文超,等.群体感应系统介导细菌生物膜形成的研究进展[J].生物加工过程,2020,18(2):177-183.
- [13] 周彤,周秀娟,龙坤兰,等.肺炎克雷伯菌生物膜治疗的研究进展[J].中国抗生素杂志,2023,48(6):636-642.
- [14] 唐俊妮,史贤明,王红宁,等.细菌生物膜的形成与调控机制[J].生物学杂志,2009,26(2):48-50,53.
- [15] 贾鸣,胡晓梅,胡福泉.细菌生物被膜的耐药机制及控制策略[J].生命的化学,2008,28(3):315-317.
- [16] WANG Y X, DAI J J, WANG X H, et al. Mechanisms of interactions between bacteria and bacteriophage mediate by quorum sensing systems[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2022, 106(7): 2299-2310.
- [17] 高苗,凌保东.群体感应介导细菌-噬菌体间相互作用的研究进展[J].生物学杂志,2024,41(5):94-99.
- [18] 刘子豪,梁媛,刘丹,等.根除细菌生物被膜的新视角:分散[J].微生物学报,2023,63(12):4451-4466.
- [19] EKIZ E, TAYYARCAN E K, EVRAN E, et al. Investigation of the effect of bacteriophage cocktail on microbial quality in the case of cold chain breakage: A case study on *Escherichia coli* contamination in milk[J]. Food and Humanity, 2023, 1: 1073-1081.
- [20] SCHMELCHER M, LOESSNER M J. Bacteriophage endolysins: Applications for food safety [J]. Current Opinion in Biotechnology, 2016, 37: 76-87.
- [21] MONTAÑEZ-IZQUIERDO V Y, SALAS-VÁZQUEZ D I, RODRÍGUEZ-JEREZ J J. Use of epifluorescence microscopy to assess the effectiveness of phage P100 in controlling *Listeria monocytogenes* biofilms on stainless steel surfaces[J]. Food Control, 2012, 23(2): 470-477.
- [22] YIN Y J, NI P E, LIU D L, et al. Bacteriophage potential against *Vibrio parahaemolyticus* biofilms [J]. Food Control, 2019, 98: 156-163.
- [23] BYUN K H, HAN S H, CHOI M W, et al. Biofilm eradication ability of phage cocktail against *Listeria monocytogenes* biofilms formed on food contact materials and effect on virulence-related genes and biofilm structure [J]. Food Research International, 2022, 157: 111367.
- [24] PIRES D P, MELO L D R, AZEREDO J. Understanding the complex phage-host interactions in biofilm communities [J]. Annual Review of Virology, 2021, 8(1): 73-94.
- [25] GONDIL V S, HARJAI K, CHHIBBER S. Endolysins as emerging alternative therapeutic agents to counter drug-resistant infections [J]. International Journal of Antimicrobial Agents, 2020, 55(2): 105844.
- [26] XI H Y, JI Y L, FU Y, et al. Biological characterization of the phage lysin AVPL and its efficiency against *Aerococcus viridans*-induced mastitis in a murine model [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2024, 90(8): e0046124.
- [27] GUTIÉRREZ D, FERNÁNDEZ L, RODRÍGUEZ A, et al. Are phage lytic proteins the secret weapon to kill *Staphylococcus aureus*? [J]. mBio, 2018, 9(1): e01923-17.
- [28] FURSOV M V, ABDRAKHMANOVA R O, ANTONOVA N P, et al. Antibiofilm activity of a broad-range recombinant endolysin LysECD7: *in vitro* and *in vivo* study [J]. Viruses, 2020, 12(5): 545.
- [29] WANG J, LIANG S Y, LU X F, et al. Bacteriophage endolysin Ply113 as a potent antibacterial agent against polymicrobial biofilms formed by *enterococci* and *Staphylococcus aureus* [J]. Frontiers in Microbiology, 2023, 14: 1304932.
- [30] GHOSE C, EULER C W. Gram-negative bacterial lysins [J]. Antibiotics, 2020, 9(2): 74.
- [31] NING H Q, LIN H, WANG J X. Synergistic effects of endolysin Lysqdv001 and ϵ -poly-lysine in controlling *Vibrio parahaemolyticus* and its biofilms [J]. International Journal of Food Microbiology, 2021, 343: 109112.
- [32] ZHANG Y, HUANG H H, DUC H M, et al. Endolysin LysSTG2: Characterization and application to control *Salmonella typhimurium* biofilm alone and in combination with slightly acidic hypochlorous water [J]. Food Microbiology, 2021, 98: 103791.
- [33] ZHANG S H, CHANG Y, ZHANG Q, et al. Characterization of *Salmonella* endolysin XFII produced by recombinant *Escherichia coli* and its application combined with chitosan in lysing Gram-negative bacteria [J]. Microbial Cell Factories, 2022, 21(1): 171.
- [34] 刘成,常钦源,范国庆,等.噬菌体裂解酶在畜禽生产中的应用研究进展[J].中国畜牧兽医,2024,51(1): 357-364.
- [35] KIM J, HASAN M, LIAO X Y, et al. Combined antimicrobial activity of short peptide and phage-derived endolysin against antibiotic-resistant *Salmonella typhimurium* [J]. Food Microbiology, 2025, 125: 104642.
- [36] SHARMA U, VIPRA A, CHANNABASAPPA S. Phage-derived lysins as potential agents for eradicating biofilms and persisters [J]. Drug Discovery Today, 2018, 23(4): 848-856.
- [37] HOLLE M J, MILLER M J. Lytic characterization and application of listerial endolysins PlyP40 and PlyPSA in queso fresco [J]. JDS Communications, 2021, 2(2): 47-50.
- [38] LU R, LIU B H, WU L T, et al. A broad-spectrum phage endolysin (LysCP28) able to remove biofilms and inactivate *Clostridium perfringens* strains [J]. Foods, 2023, 12(2): 411.
- [39] GUO M Q, FENG C Y, REN J, et al. A novel antimicrobial endolysin, LysPA26, against *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 293.
- [40] SOONTARACH R, SRIMANOTE P, VORAVUTHIKUN CHAI S P, et al. Antibacterial and anti-biofilm efficacy of

endolysin LysAB1245 against a panel of important pathogens[J]. *Pharmaceuticals*,2024,17(2):155.

[41] 齐心,陈培培,邹玲,等.噬菌体 Bp7 穿孔素 holin 的克隆、表达及其活性分析[J]. *畜牧兽医学报*,2017,48(12):2392-2398.

[42] WANG Y, YI L, WANG Y X, et al. Isolation, phylogenetic group, drug resistance, biofilm formation, and adherence genes of *Escherichia coli* from poultry in Central China [J]. *Poultry Science*,2016,95(12):2895-2901.

[43] KAMILLA S, JAIN V. Mycobacteriophage D29 holin C-terminal region functionally assists in holin aggregation and bacterial cell death[J]. *The FEBS Journal*,2016,283(1):173-190.

[44] SAIER M H Jr, REDDY B L. Holins in bacteria, eukaryotes, and Archaea: Multifunctional xenologues with potential biotechnological and biomedical applications [J]. *Journal of Bacteriology*,2015,197(1):7-17.

[45] 郑杨,查何.金黄色葡萄球菌生物膜防治研究进展[J]. *中国医药导报*,2021,18(18):32-35.

[46] ROBERTS M E, STEWART P S. Modelling protection from antimicrobial agents in biofilms through the formation of persister cells[J]. *Microbiology*, 2005, 151(1): 75-80.

[47] 惠蒲然,黄振华,刘静,等.噬菌体在食品微生物安全领域中应用的局限性和挑战[J]. *食品科学*,2023,44(13):338-345.

[48] FERRIOL-GONZÁLEZ C, DOMINGO-CALAP P. Phages for biofilm removal[J]. *Antibiotics (Basel)*,2020,9(5):E268.

[49] 杨佩霓,李庆蓉,李江,等.噬菌体抗细菌生物膜机制及应用策略的研究进展[J]. *现代检验医学杂志*,2024,39(1):199-204.

[50] LI X H, HE Y H, WANG Z L, et al. A combination therapy of phages and antibiotics; Two is better than one [J]. *International Journal of Biological Sciences*,2021,17(13):3573-3582.

[51] HOLGER D J, EL GHALI A, BHUTANI N, et al. Phage-antibiotic combinations against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in *in vitro* static and dynamic biofilm models [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*,2023,67(11):e0057823.

[52] TAGLIAFERRI T L, JANSEN M, HORZ H P. Fighting pathogenic bacteria on two fronts: Phages and antibiotics as combined strategy [J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*,2019,9:22.

[53] WU Y Q, WANG R, XU M S, et al. A novel polysaccharide depolymerase encoded by the phage SH-KP152226 confers specific activity against multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* via biofilm degradation [J]. *Frontiers in Microbiology*,2019,10:2768.

[54] AGNIESZKA N, SYLWIA B, GRACJA T, et al. Synergistic effects of bacteriophage vB_Eco4-M7 and selected antibiotics on the biofilm formed by shiga toxin-producing *Escherichia coli* [J]. *Antibiotics*,2022,11(6):712.

[55] 黄晓英.传统发酵食品中具有抑菌特性乳酸菌的筛选、抑菌机理及其在泡菜发酵中的应用[D].成都:西南民族大学,2022.

Research progress of bacteriophages and their derivatives
against foodborne pathogens biofilms

SUN Xincheng^{1,2,3,4}, DU Yuexia¹, ZHOU Jun², DU Tingting¹, QIN Jinmeng¹,
ZHANG Siwei¹, ZHANG Xiaogang¹

1. College of Food and Bioengineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China;

2. Collaborative Innovation Center of Food Production and Safety, Henan Province, Zhengzhou 450001, China;

3. Zhengzhou University of Light Industry, Food Laboratory of Zhongyuan, Luohe 462300, China;

4. Key Laboratory of Cold Chain Food Processing and Safety Control, Ministry of Education (Cultivation), Zhengzhou 450001, China

Abstract: Biofilm (BF) is the predominant form of foodborne pathogenic bacteria during food processing. It has a complex structure, making it difficult for conventional disinfection and sterilization methods to eradicate it. Prevention and control strategies for biofilms are gradually becoming a research focus in the food field. Based on the severe situation in the prevention and control of foodborne pathogenic bacteria and the potential of bacteriophages as biological control agents, this review summarizes the formation process and main regulatory mechanisms of biofilms, as well as the research progress on bacteriophages and their derivatives, and the combination of bacteriophages and antibiotics in targeting biofilms of foodborne pathogenic bacteria. The formation process of biofilm generally includes the reversible adhesion stage, irreversible adhesion stage, early formation stage, maturation stage, and dispersion stage. Quorum sensing is the main factor that regulates biofilm formation. Bacteriophages can specifically target

sequencing technologies. The results showed that 23 mutantgenes were identified in the evolved strain, involving key pathways such as the ABC transport system, nicotinic acid and nicotinamide metabolism, quorum sensing, and spore formation. Compared to the parent strain, the evolved strain exhibited significantly upregulated gene expression in pathways related to glycerol (ester) metabolism, the tricarboxylic acid cycle, purine metabolism, the ABC transport system, and energy metabolism. The synthesis metabolism of fatty acids and biotin of the evolved strainwere markedly enhanced. Furthermore, the evolved strain partially lost its spore-forming capacity, with spore formation rates decreasing by 38.0% and 52.3% during the stable middle and late stages, respectively. Additionally, six new components were detected in the cell membrane, along with a significant increase in both the types and concentration of fatty acids, thereby enhancing the stability of the phospholipid bilayer. This enhancement was the critical factor contributing to the strain’s high tolerance to crude glycerol and its rapid growth.

Key words:*Bacillus subtilis*; crude glycerol tolerance; analysis of molecular mechanisms; whole genome sequencing; RNA-sequencing

[责任编辑:杨晓娟 申慧珊]

(上接第 43 页)

foodborne pathogenic bacteria. Their derivatives, lysin and holin, can degrade the peptidoglycan of bacteria, leading to bacterial cell lysis and the release of progeny bacteriophages. The combination of bacteriophages and antibiotics can produce a synergistic effect and improve the effect of prevention and control of biofilms formed by foodborne pathogenic bacteria. Future research will integrate the One Health concept, investigate the cross-transmission mechanism of biofilms in the “human-animal-environment” system from the fields of medicine, food, and environment, optimize the combination conditions of bacteriophages and antibiotics, and enhance the effect of multi-strategy synergistic prevention and control to better ensure food quality and safety.

Key words:foodborne pathogenic bacteria; biofilm; phage; biological control agent; antibiotic

[责任编辑:杨晓娟]