



周军,黄俊清,杜婷婷,等. 1株沙门氏菌噬菌体的分离鉴定及其抑菌效果研究[J]. 轻工学报,2026,41(1): 59-68.

ZHOU J, HUANG J Q, DU T T, et al. Isolation, identification and antibacterial effect of a *Salmonella* phage[J].

Journal of Light Industry, 2026, 41(1): 59-68. DOI: 10. 12187/2026. 01. 006

1株沙门氏菌噬菌体的分离鉴定及其抑菌效果研究

周军^{1,4}, 黄俊清², 杜婷婷², 秦金梦², 张思威², 孙世彪², 孙新城^{2,3,4,5}

1. 郑州轻工业大学 材料与化学工程学院, 河南 郑州 450001;
2. 郑州轻工业大学 食品与生物工程学院, 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. 食品生产与安全河南省协同创新中心, 河南 郑州 450001;
5. 河南省冷链食品质量安全控制重点实验室, 河南 郑州 450001

摘要:【目的】探索噬菌体抑制食品中沙门氏菌的效果。【方法】采用双层琼脂平板法,以鼠伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhimurium*)为宿主菌,从采集自郑州某污水厂的污水样品中分离纯化噬菌体,研究其生物学特性、基因组特征及对人工污染牛奶和蛋清中鼠伤寒沙门氏菌的抑菌效果。【结果】分离纯化获得的噬菌体 ST-1 的最佳感染复数(MOI)为 0.1,最高效价为 10.45 lg PFU/mL,潜伏期为 20 min,裂解期为 70 min,裂解量约为 106.5 PFU/cell;宿主谱较窄,仅能裂解鼠伤寒沙门氏菌和肺炎链球菌;稳定性较好,在温度 30~60℃和 pH 值 5~10 范围内均能保持活性,同时对氯仿不敏感;属于尾噬菌体目,基因组大小为 84 672 bp,GC 含量为 38.82%,含有 142 个开放阅读框(ORF),不含抗性基因和毒力基因,能显著抑制人工污染牛奶和蛋清中鼠伤寒沙门氏菌的生长。【结论】噬菌体 ST-1 的裂解效率较高,热稳定性、酸碱耐受性、安全性和防控效果均较好,可为靶向沙门氏菌生物防治剂的研制提供参考。

关键词:沙门氏菌;噬菌体;生物学特性;基因组特征;抑菌效果

中图分类号:TS201.3;Q93 **文献标识码:**A **文章编号:**2096-1553(2026)01-0059-10

0 引言

食品安全是关乎民生的重大问题,始终受到全社会的广泛关注,食源性疾病是威胁食品安全的核心因素^[1]。沙门氏菌(*Salmonella*)是引起食源性疾病的主要病原体之一,全球每年约导致 9.38×10^7 例

感染及 155 000 人死亡^[2]。沙门氏菌是革兰氏阴性兼性厌氧杆菌,在自然界中广泛分布,可导致宿主腹泻和呕吐,诱发食物中毒风险^[3],其中鼠伤寒沙门氏菌(*S. typhimurium*)和肠炎沙门氏菌(*S. enteritidis*)是人类感染中最常见的血清型^[4]。沙门氏菌感染的主要致病源是食用受污染的家禽、蛋

收稿日期:2025-03-26;修回日期:2025-09-03;出版日期:2026-02-15

基金项目:河南省科技攻关项目(242102111045)

作者简介:周军(1976—),男,湖南省邵阳市人,郑州轻工业大学讲师,博士,主要研究方向为环境工程。E-mail:2005006@zzuli.edu.cn

通信作者: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

类、牛奶、蔬菜等食物^[5]。长期以来,沙门氏菌防控在全球多个国家和地区备受关注,然而,抗生素的不合理使用,导致食源性沙门氏菌耐药性风险持续加剧^[6]。因此,开发新型生物防治剂是预防食源性沙门氏菌感染的关键。

噬菌体(Phage)是一类可感染细菌、真菌等微生物的病毒,具有易分离、研发成本低、对人体无害等特点^[7],且具有特异性强、安全性高、不易引起耐药性等优势,是一种天然且高效的生物防治剂^[8]。研究^[9]发现,噬菌体能够显著降低食品基质中污染性沙门氏菌的数量。J. W. Sun 等^[10]研究发现,经噬菌体处理后,感染沙门氏菌的牛奶样本在 4 ℃ 条件下贮藏 24 h 后,沙门氏菌不可检出(检测下限 10 CFU/mL),而在 25 ℃ 条件下处理 12 h 后,沙门氏菌下降了 2.5 lg CFU/mL。赵远洋等^[11]研究发现,在即食鸭脖中添加噬菌体并于 4 ℃ 条件下贮藏 48 h,沙门氏菌减少了 1.3 lg CFU/g。此外,研究人员用沙门氏菌攻毒 1 日龄蛋鸡,然后在日粮中分别添加 10^9 PFU/d、 10^7 PFU/d 和 10^5 PFU/d 噬菌体,连续饲喂 21 d 后检测发现,蛋鸡肠道内沙门氏菌数量及污染程度均有所下降,且随着噬菌体添加量的增加,上述两项指标的降低量随之增加^[12]。

基于此,本文拟以笔者实验室保存的 1 株常见食源性致病菌鼠伤寒沙门氏菌为宿主菌,再从郑州某污水厂采集的污水样品中分离纯化噬菌体,对其进行生物学特性和基因组特征分析,并评估其对牛奶和蛋清基质中沙门氏菌的生长抑制效果,以期为靶向沙门氏菌的生物防治剂开发及其在食品中的应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

鼠伤寒沙门氏菌,由郑州轻工业大学微生物实验室提供;污水样品,郑州某污水厂;脱脂奶粉,内蒙古伊利实业集团股份有限公司;新鲜鸡蛋,漯河市美宜佳超市;琼脂粉、琼脂糖、SM 缓冲液、PBS 缓冲液,上海生工生物工程股份有限公司;LB 固体培养基、LB 液体培养基,青岛海博生物科技有限公司;HCl、NaCl,上海麦克林生化科技有限公司;甘油,天

津市恒兴化学试剂制造有限公司;氯仿、磷钨酸、乙醇,国药集团化学试剂有限公司。以上试剂均为分析纯。

1.2 主要仪器与设备

SW-CJ-2F 型超级洁净工作台,苏州安泰空气技术有限公司;GI54DS 型自动压力蒸汽灭菌器,致微(厦门)仪器有限公司;5840R 型高速冷冻离心机,德国 Eppendorf 公司;HZQ-X300C 型恒温摇床,上海一恒科学仪器有限公司;SPX-25 型生化培养箱,宁波海曙赛福实验仪器厂;HT7800 型透射电子显微镜,北京日立科学仪器有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 噬菌体富集 参照张玲等^[13]的方法,挑取鼠伤寒沙门氏菌单菌落接种于 LB 液体培养基中,于 37 ℃、160 r/min 恒温摇床中培养 8 h,再按 1% 接种量转接至 10 mL LB 液体培养基中,于 37 ℃、160 r/min 恒温摇床中振荡培养 3 h,即得鼠伤寒沙门氏菌菌液,备用。

取污水样品,于 10 000 r/min 条件下离心 10 min,上清液用 0.22 μm 滤膜过滤,除去杂菌;将 20 mL 除去杂菌的污水样品、80 mL LB 液体培养基、2 mL SM 缓冲液和 1 mL 鼠伤寒沙门氏菌菌液混合,于 37 ℃、160 r/min 恒温摇床中培养 20 h,获得富集液,再于 4 ℃、10 000 r/min 条件下离心 10 min,取上清液过滤,得到噬菌体原液。富集的噬菌体原液再按上述步骤富集 2 次以增加富集噬菌体的浓度。

1.3.2 噬菌体纯化 参照廖彬如等^[14]的方法,采用双层琼脂平板法纯化噬菌体。挑取形状单一、边缘清晰的单个噬菌斑于 1 mL SM 缓冲液中,涡旋振荡 30 s,于 4 ℃ 条件下孵育 12 h 后,再于 10 000 r/min 条件下离心 5 min,取上清液,用 SM 缓冲液进行 10^{-4} ~ 10^{-1} 梯度稀释;分别取 100 μL 各梯度稀释液与 100 μL 鼠伤寒沙门氏菌菌液混匀后,加入到 10 mL、37 ℃ 左右未凝固的 LB 固体培养基中,再倾注到 LB 固体培养基平板上,凝固后,于 37 ℃ 培养箱中倒置培养 12 h。重复该步骤 5 次,直至噬菌斑的形态和大小均一,即得纯化后的噬菌体。

1.3.3 噬菌体宿主谱测定 取 100 μL 鼠伤寒沙门氏菌菌液与 5 mL 未凝固的 LB 固体培养基混匀,再

倾注到 LB 固体培养基平板上,待凝固后,滴加 10 μL 噬菌体液,并滴加 10 μL SM 缓冲液作对照,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中培养 16 h,观察有无噬菌斑形成。

1.3.4 最佳感染复数 (MOI) 测定 参照徐振文等^[15]的方法,将 1×10^8 PFU/mL 噬菌体液按 MOI 进行 10 倍梯度稀释。分别取 MOI 为 100、10、1、0.1、0.01 和 0.001 的梯度稀释噬菌体液与 1×10^6 CFU/mL 宿主菌液各 100 μL 混匀后,转移至 5 mL LB 液体培养基中,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、160 r/min 条件下培养 6 h 后,于 12 000 r/min 条件下离心 10 min,取上清液,测定噬菌体效价,选取效价峰值所对应的 MOI 作为最佳 MOI 。

1.3.5 一步生长曲线绘制 参照李天骄等^[16]的方法,将 500 μL 对数生长期鼠伤寒沙门氏菌菌悬液与等体积噬菌体液按最佳 MOI 混匀,37 $^{\circ}\text{C}$ 吸附 20 min 后,于 4 $^{\circ}\text{C}$ 、12 000 r/min 条件下离心 2 min,去除上清液,将沉淀重悬浮于 10 mL LB 液体培养基中,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、160 r/min 条件下培养 110 min,每 10 min 取 1 次样,离心过滤后,测定噬菌体效价。以噬菌体效价为纵坐标、培养时间为横坐标,绘制一步生长曲线,进而确定其潜伏期、裂解期及裂解量。

$$\text{裂解量} = \frac{\text{裂解末期噬菌体效价}}{\text{感染初期鼠伤寒沙门氏菌浓度}}$$

1.3.6 噬菌体稳定性测定 1) 热稳定性测定。参照李金敏等^[17]的方法,在 6 支 2 mL 无菌 EP 管中分别加入 1 mL 噬菌体液(约 1×10^{10} PFU/mL,下同),在梯度温度(30 $^{\circ}\text{C}$ 、40 $^{\circ}\text{C}$ 、50 $^{\circ}\text{C}$ 、60 $^{\circ}\text{C}$ 、70 $^{\circ}\text{C}$ 和 80 $^{\circ}\text{C}$)下分别孵育 60 min,恢复至室温后,测定噬菌体效价。

2) pH 稳定性测定。参照 C. J. Fang 等^[18]的方法,用 NaOH 溶液和 HCl 溶液调整 LB 液体培养基的 pH 值为 3~12,共 10 组,并做好标记;将不同 pH 值的 LB 液体培养基按每管 900 μL 分装于 2 mL 无菌 EP 管中,再添加 100 μL 噬菌体液,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 60 min 后,测定噬菌体效价。

1.3.7 噬菌体氯仿敏感性测定 参照吴丽飞等^[19]的方法,将噬菌体液分别与体积分数为 0%、10%、20%、30%、40% 和 50% 的氯仿溶液混合,终体积为 1 mL,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、160 r/min 条件下培养 1 h 后,取

100 μL 培养液进行梯度稀释,测定噬菌体效价,评估噬菌体对氯仿的敏感性。

1.3.8 噬菌体形态观察 参照熊文斌等^[20]的方法,将 20 μL 高效价的噬菌体液滴于铜网上,静置 10~15 min,用滤纸吸去残留液后,滴加体积分数为 2% 的磷钨酸溶液负染 5~10 min,再用滤纸吸去染液,室温干燥后,使用透射电子显微镜观察噬菌体形态并采集图像。

1.3.9 噬菌体全基因组检测 参考 V. Savich 等^[21]的方法,通过 NCBI 平台提供的开放阅读框(Open Reading Frame, ORF)识别系统(ORF Finder)进行读码框架初步筛查,并将预测数据依次提交至 NCBI 蛋白质序列比对数据库(Protein BLAST)开展同源序列匹配验证。依据功能分类体系对确认后的编码产物进行系统化功能归类与分子注释。使用 CG View(<https://paulstothard.github.io/cgview/>)绘制噬菌体的全基因组圈图。通过抗生素抗性基因网站(Comprehensive Antibiotic Resistance Database, CARD)、毒力与抗毒力基因网站(Virulence Factors of Bacterial Pathogens, VFDB)对噬菌体基因组中的抗生素抗性基因和毒力基因进行检测。

1.3.10 噬菌体抑菌效果评估 1) 在牛奶中的应用。将 20 g 脱脂奶粉溶于 100 mL 蒸馏水中,于 115 $^{\circ}\text{C}$ 条件下灭菌 15 min,即得灭菌乳。参照郭亚停^[22]的方法,用 PBS 缓冲液梯度稀释对数生长期鼠伤寒沙门氏菌菌悬液至菌液浓度为 1×10^4 CFU/mL;在 9.8 mL 灭菌乳中加入 100 μL 菌液,将 6 份接种了菌液的灭菌乳等分为 2 组,分别于 25 $^{\circ}\text{C}$ 和 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下孵育 20 min。在每个温度下的 3 份样品中,2 份为实验组,分别添加 100 μL 效价为 1×10^7 PFU/mL 和 1×10^8 PFU/mL 的噬菌体液,即 $MOI = 1000$ 和 $MOI = 10\ 000$;1 份为对照组,添加 100 μL PBS 缓冲液。将上述样品混匀后置于对应温度培养箱中,分别于 0 h、3 h、6 h 和 12 h 取样,采用平板计数法检测鼠伤寒沙门氏菌数量,评估噬菌体的抑菌效果。

2) 在蛋清中的应用。用蒸馏水清洗鸡蛋后,用体积分数为 75% 的乙醇溶液对其表面进行消毒,再紫外灭菌 20 min 后,取蛋清。参照郭亚停^[22]的方法,用 PBS 缓冲液梯度稀释对数生长期鼠伤寒沙门

氏菌菌悬液至菌液浓度为 1×10^4 CFU/mL;在 9.8 mL 蛋清中加入 100 μ L 菌液,将 6 份接种了菌液的蛋清等分为 2 组,分别于 25 $^{\circ}$ C 和 4 $^{\circ}$ C 条件下孵育 20 min。在每个温度下的 3 份样品中,2 份为实验组,分别添加 100 μ L 效价为 1×10^7 PFU/mL 和 1×10^8 PFU/mL 的噬菌体液,即 $MOI=1000$ 和 $MOI=10\ 000$;1 份为对照组,添加 100 μ L PBS 缓冲液。将上述样品混匀后置于对应温度培养箱中,分别于 0 h、3 h、6 h 和 12 h 取样,采用平板计数法检测鼠伤寒沙门氏菌数量,评估噬菌体的抑菌效果。

噬菌体的杀菌效率按下式计算。

杀菌效率=
$$\frac{\text{对照组沙门氏菌数量}-\text{实验组沙门氏菌数量}}{\text{对照组沙门氏菌数量}}\times 100\%$$

1.4 数据处理

采用 Excel 2021 和 SPSS 26.0 软件进行数据整理和分析,利用 Origin 2021 软件绘图,其中 * 表示差异显著($P<0.05$),** 表示差异极显著($P<0.01$)。

2 结果与分析

2.1 噬菌体分离纯化结果分析

以鼠伤寒沙门氏菌为宿主菌,从污水样品中分离得到一株鼠伤寒沙门氏菌噬菌体,通过双层琼脂平板法纯化 5 次后,获得噬菌体 ST-1,其噬菌斑如图 1 所示。由图 1 可知,噬菌斑呈圆形,透明度高,形态和大小均匀一致,直径约为 1 mm。在分离过程中发现,含噬菌体环境样品的采集、富集与及时纯化是获得烈性噬菌体的关键,使用 SM 缓冲液并增加富集次数有助于提升分离成功率^[23]。在双层琼

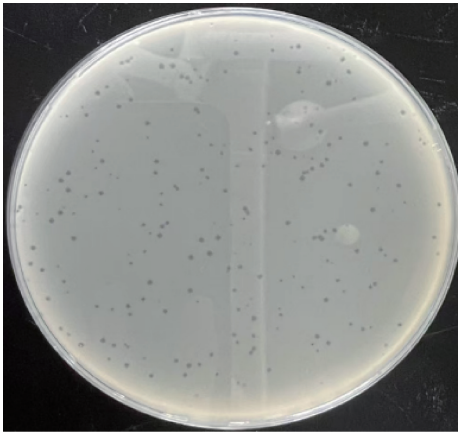


图 1 噬菌体 ST-1 的噬菌斑
Fig.1 Plaque of phage ST-1

脂平板中长时间培养的噬菌体易失活,待噬菌斑形成后需立即挑取以保证噬菌体的最佳活性。

2.2 噬菌体宿主谱分析

噬菌体 ST-1 的宿主谱见表 1。由表 1 可知,噬菌体 ST-1 可裂解鼠伤寒沙门氏菌和肺炎链球菌,对实验室分离的大肠杆菌、副溶血性弧菌、铜绿假单胞菌、单增李斯特菌、金黄色葡萄球菌、肺球菌、阪崎肠杆菌、志贺氏菌、蜡样芽孢杆菌和树生黄单胞杆菌均无裂解活性,即噬菌体 ST-1 的宿主谱较窄,具有一定的专一性。

2.3 噬菌体 MOI 分析

噬菌体 ST-1 的 MOI 见表 2。由表 2 可知,当 MOI 为 0.1 时,噬菌体最终效价达到最大值,为 10.45 lg PFU/mL,说明噬菌体 ST-1 在感染鼠伤寒沙门氏菌时,当二者的数量比为 0.1 时,可增殖最多的噬菌体。

2.4 噬菌体一步生长曲线分析

噬菌体 ST-1 的一步生长曲线如图 2 所示。由图 2 可知,噬菌体 ST-1 的潜伏期为 20 min,裂解期

表 1 噬菌体 ST-1 的宿主谱

Table 1 Host range of phage ST-1

宿主菌名称	编号	斑块情况
鼠伤寒沙门氏菌 (<i>S. typhimurium</i>)	CICC 21484	++
大肠杆菌 O103-1 (<i>Escherichia coli</i> O103-1)	RM 13322	-
大肠杆菌 O103-2 (<i>E. coli</i> O103-2)	RM 10744	-
大肠杆菌 O157:H7 (<i>E. coli</i> O157: H7)	ATCC 43895	-
副溶血性弧菌 (<i>Vibrio parahaemolyticus</i>)	ATCC 17802	-
铜绿假单胞菌 (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>)	ATCC 10145	-
单增李斯特菌 (<i>Listeria monocytogenes</i>)	ATCC 15313	-
金黄色葡萄球菌 (<i>Staphylococcus aureus</i>)	ATCC 6538	-
肺球菌(<i>Pneumococcus</i>)	ATCC 27336	-
阪崎肠杆菌 (<i>Enterobacter sakazakii</i>)	B 81050	-
肺炎链球菌 (<i>Streptococcus pneumoniae</i>)	ATCC 49619	+
志贺氏菌(<i>Shigella</i>)	ATCC 12038	-
蜡样芽孢杆菌 (<i>Bacillus cereus</i>)	BNCC 261113	-
树生黄单胞杆菌 (<i>Xanthomonas dendrogeneris</i>)	BMZ 1480068	-

注:++表示斑块透明,+表示斑块浑浊,-表示无斑块。

为 70 min,裂解末期的效价达到 10.45 lg PFU/mL,裂解量约为 106.5 PFU/cell。因此,噬菌体 ST-1 属于鼠伤寒沙门氏菌噬菌体中潜伏期短、裂解量大的类型^[24],具有理想的增殖活性,能在较短时间有效杀灭鼠伤寒沙门氏菌。

2.5 噬菌体稳定性分析

噬菌体 ST-1 的稳定性曲线如图 3 所示。由图 3a)可知,噬菌体 ST-1 在 30~60 ℃ 范围内效价保持稳定,60 ℃ 时效价迅速下降,80 ℃ 时完全失活,其中 70 ℃ 孵育 60 min 时的效价较未处理的原始效价下降了 2 个数量级。有研究^[25]表明,大部分噬菌体不耐高温,60 ℃ 处理 100 min 后的存活率多低于 1%。而噬菌体 ST-1 经 60 ℃ 孵育 60 min 后的存活率仍超过 80%,表明其具有较强的热稳定性。由图 3b)可知,噬菌体 ST-1 的效价在 pH 值为 5~10 时较稳定,但在 pH 值 < 4 和 pH 值 > 11 条件下孵育 60 min 后活性丧失。这与 N. Imklin 等^[26]的研究结果较一致。

表 2 噬菌体 ST-1 的 MOI

Table 2 Multiplicity of infection (MOI) of phage ST-1			
MOI	噬菌体初始 效价/ (lg PFU · mL ⁻¹)	宿主菌初始 浓度/ (lg CFU · mL ⁻¹)	噬菌体最终 效价/ (lg PFU · mL ⁻¹)
0.001	3	6	9.77
0.01	4	6	9.97
0.1	5	6	10.45
1	6	6	9.87
10	7	6	9.73
100	8	6	9.33

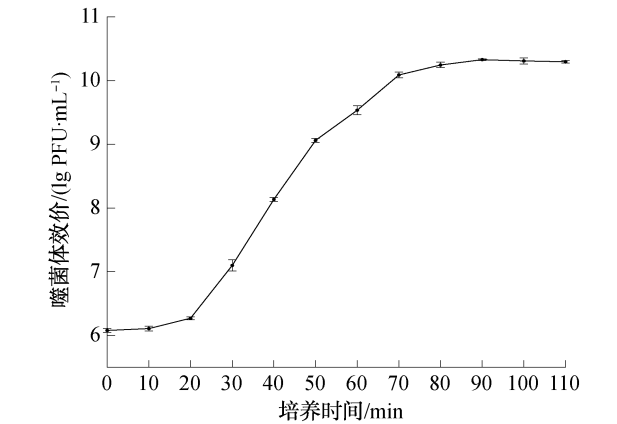


图 2 噬菌体 ST-1 的一步生长曲线
Fig. 2 One-step growth curve of phage ST-1

2.6 噬菌体氯仿敏感性分析

噬菌体对氯仿的敏感性可用于判断其是否含有包膜。包膜主要由蛋白质和脂质构成,含包膜的噬菌体经氯仿处理后效价会显著下降,这是因为脂质成分溶解导致立体结构被破坏,无法有效吸附宿主菌并阻碍子代增殖;反之,若氯仿处理后效价维持稳定,则表明该噬菌体无脂质外壳,属于无包膜类型^[27]。噬菌体 ST-1 的氯仿敏感性如图 4 所示。由图 4 可知,不同体积分数氯仿处理组的效价未发生显著变化,表明噬菌体 ST-1 对氯仿不敏感,无脂质外壳,属于无包膜类型。因此可使用氯仿进行噬菌体富集及基因组提取。

2.7 噬菌体形态分析

噬菌体 ST-1 的透射电子显微镜图如图 5 所示。由图 5 可知,噬菌体 ST-1 由二十面体的头部和可收

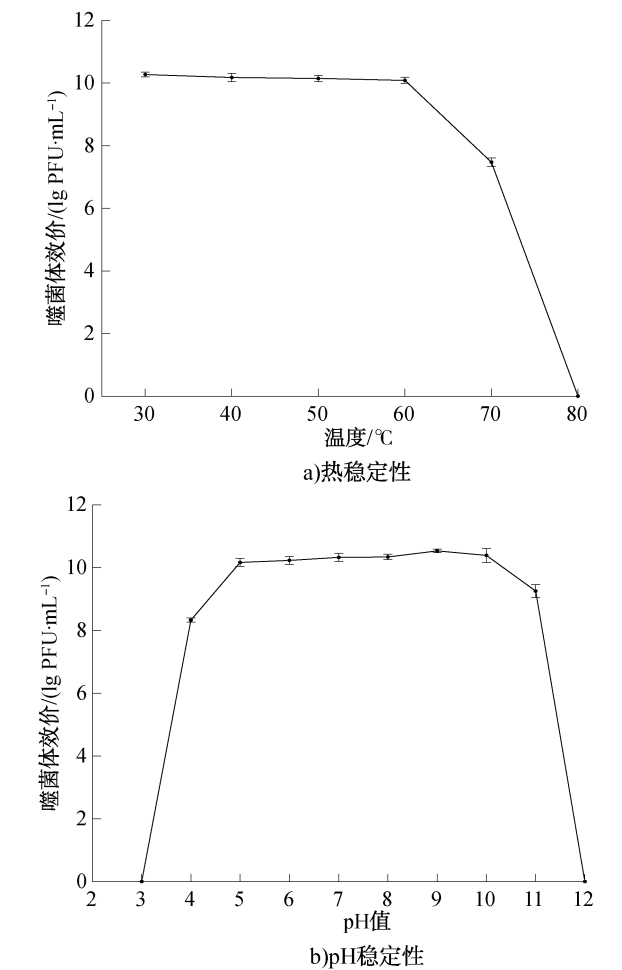


图 3 噬菌体 ST-1 的稳定性曲线
Fig. 3 Stability curves of phage ST-1

缩性的细长尾部构成,头部直径约为 62 nm,尾部长度约为 103 nm。根据国际病毒分类委员会 (ICTV) 形态学分类标准,噬菌体 ST-1 属于有尾噬菌体目 (Caudovirales),肌尾噬菌体科 (Myoviridae)。

2.8 噬菌体全基因组分析

噬菌体 ST-1 的全基因组图谱和系统发育树分别如图 6 和图 7 所示。由图 6 可知,噬菌体 ST-1 的基因组大小为 84 672 bp,GC 含量为 38.82%,含有 142 个 ORF,其中 32 个 ORF 的功能已被注释,有 110 个 ORF 的功能被注释为假定蛋白 (Hypothetical Protein)。在噬菌体 ST-1 的全基因组中未发现抗性基因和毒力基因,表明该噬菌体在基因水平上是安全的。由图 7 可知,基于 Protein BLAST 分析筛选出 20 株与噬菌体 ST-1 全基因组同源性较高的噬菌体序列,其中 *Salmonella* phage BPSELC-1 (MN227145.1) 与噬菌体 ST-1 呈现最为密切的进化关系,该噬菌体属于有尾噬菌体目,斐里克斯状病毒属 (*Felixounavirus*)。

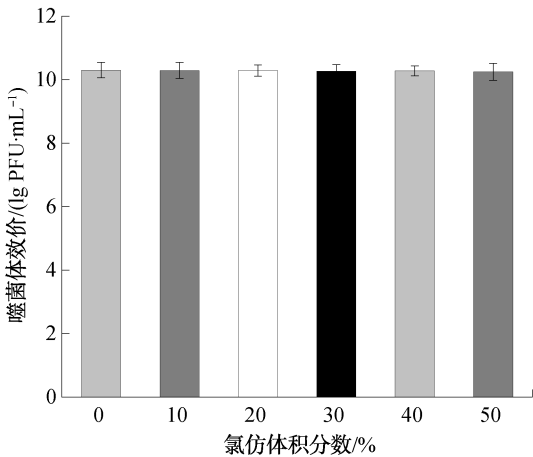


图 4 噬菌体 ST-1 的氯仿敏感性
Fig. 4 Chloroform sensitivity of phage ST-1

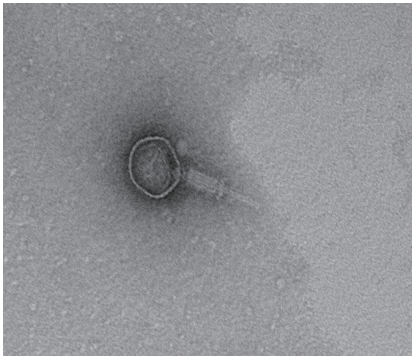


图 5 噬菌体 ST-1 的透射电子显微镜图
Fig. 5 Transmission electron micrograph image of phage ST-1

2.9 噬菌体抑菌效果分析

2.9.1 对牛奶中鼠伤寒沙门氏菌的杀菌效果 噬菌体 ST-1 对牛奶中鼠伤寒沙门氏菌的杀菌效果如图 8 所示。由图 8a)可知,在 4 ℃ 条件下,对照组的鼠伤寒沙门氏菌数量在 12 h 内无显著性差异;相较于对照组,实验组的鼠伤寒沙门氏菌数量在 12 h 内均有明显下降,且在第 3 h 时,MOI = 1000 和 MOI = 10 000 实验组的鼠伤寒沙门氏菌数量分别下降了 0.83 lg CFU/mL 和 0.59 lg CFU/mL ($P < 0.01$)。由图 8b)可知,在 25 ℃ 条件下,对照组的鼠伤寒沙门

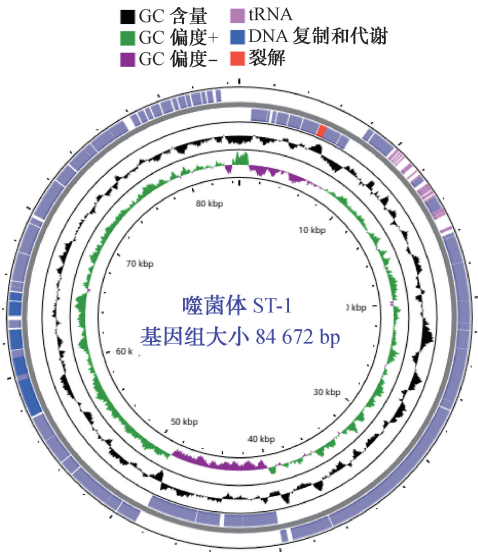


图 6 噬菌体 ST-1 的全基因组图谱
Fig. 6 Complete genome map of phage ST-1

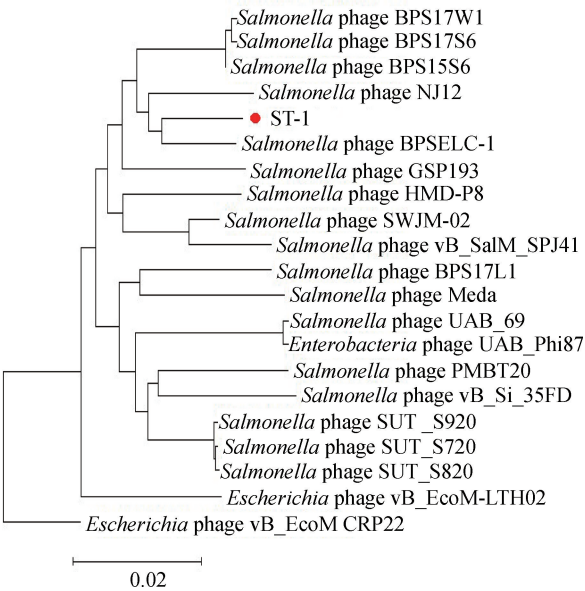


图 7 噬菌体 ST-1 的系统发育树
Fig. 7 Phylogenetic tree of phage ST-1

氏菌数量在 12 h 内呈先上升后下降再上升的趋势;相较于对照组,实验组的鼠伤寒沙门氏菌数量在 12 h 内均有明显下降,且在第 3 h 时, $MOI=1000$ 和 $MOI=10\,000$ 实验组分别下降了 $1.33\lg\text{CFU/mL}$ 和 $1.16\lg\text{CFU/mL}$ ($P<0.01$)。因此,噬菌体 ST-1 在 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 牛奶中呈现出较好的杀菌效果,这可能是因为牛奶这类具有良好流动性的液态基质能高效接触宿主菌,进而提升噬菌体 ST-1 的杀菌效果。

2.9.2 对蛋清中鼠伤寒沙门氏菌的杀菌效果 噬菌体 ST-1 对蛋清中鼠伤寒沙门氏菌的杀菌效果如图 9 所示。由图 9a)可知,在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下,对照组的

鼠伤寒沙门氏菌数量在 12 h 内整体呈上升趋势;相较于对照组,实验组的鼠伤寒沙门氏菌数量在 12 h 内均有明显下降,且在第 12 h 时, $MOI=1000$ 和 $MOI=10\,000$ 实验组分别下降了 $2.27\lg\text{CFU/mL}$ 和 $2.33\lg\text{CFU/mL}$ ($P<0.01$)。此外,2 个实验组的鼠伤寒沙门氏菌数量在 3 h 时差异显著 ($P<0.05$), $MOI=1000$ 实验组的鼠伤寒沙门氏菌数量较 $MOI=10\,000$ 实验组显著降低了 $0.58\lg\text{CFU/mL}$ 。这可能是因为高 MOI 条件下,噬菌体初期过度裂解宿主菌使其浓度骤降,触发裂解停滞期,致使宿主菌数量出现短暂回升^[28]。由图 9b)可知,在 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件

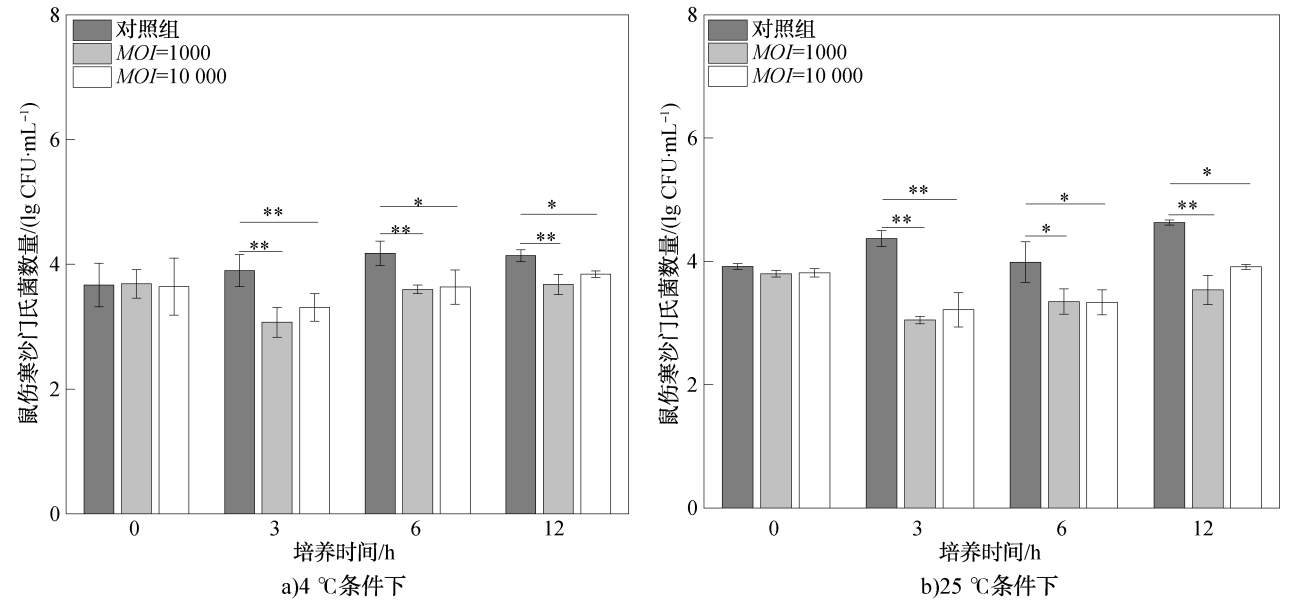


图 8 噬菌体 ST-1 对牛奶中鼠伤寒沙门氏菌的杀菌效果
Fig. 8 Bactericidal effects of phage ST-1 on *S. typhimurium* in milk

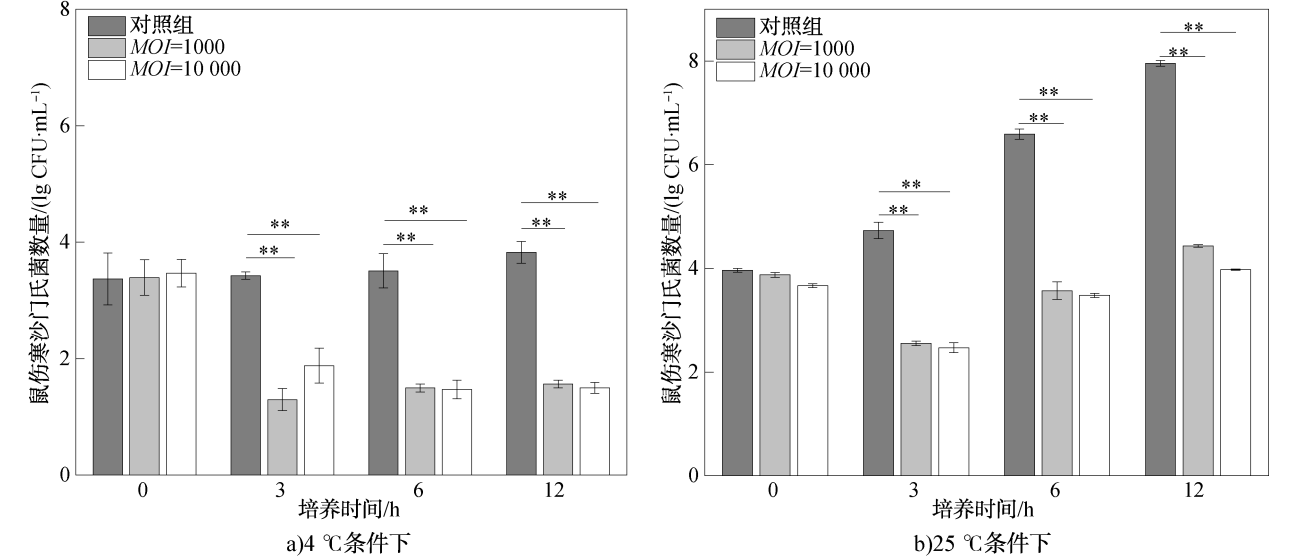


图 9 噬菌体 ST-1 对蛋清中鼠伤寒沙门氏菌的杀菌效果
Fig. 9 Bactericidal effects of phage ST-1 on *S. typhimurium* in egg white

下,对照组的鼠伤寒沙门氏菌数量在 12 h 内呈不断上升的趋势;相较于对照组,实验组的鼠伤寒沙门氏菌数量在 12 h 内均有明显下降,且在第 12 h 时, $MOI=1000$ 和 $MOI=10\ 000$ 实验组分别下降了 $3.53\lg\text{CFU/mL}$ 和 $3.99\lg\text{CFU/mL}$ ($P<0.01$),这表明噬菌体 ST-1 能有效地抑制沙门氏菌在蛋清中的生长。

3 结论

本研究采用双层琼脂平板法成功分离并鉴定了一株肌尾噬菌体科鼠伤寒沙门氏菌噬菌体 ST-1。该噬菌体的 MOI 较小,潜伏期较短,热稳定性和 pH 稳定性均较好,宿主谱较窄,基因组大小为 $84\ 672\text{bp}$,GC 含量为 38.82% ,含有 142 个 ORF,不含抗性基因和毒力基因,能够有效抑制人工污染牛奶和蛋清中鼠伤寒沙门氏菌的生长,是一株具有较好应用前景的噬菌体。本研究可为开发噬菌体生物防治剂奠定基础,扩充噬菌体基因组资源库。但单一噬菌体的抑菌效果存在局限性,未来需通过分离更多噬菌体并采用联合防治策略提升抑菌效果。

参考文献:

- [1] 胡金强,丁慧敏,詹丽娟,等.食源性致病菌多重 PCR 检测技术建立及其应用[J].轻工学报,2022,37(1):12-19.
HU J Q, DING H M, ZHAN L J, et al. Development and application of multiplex PCR detection techniques for foodborne pathogenic bacteria[J]. Journal of Light Industry, 2022, 37(1): 12-19.
- [2] ENG S K, PUSPARAJAH P, AB MUTALIB N S, et al. *Salmonella*: A review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance[J]. Frontiers in Life Science, 2015, 8(3): 284-293.
- [3] EVRAN S, TAYYARCAN E K, ACAR-SOYKUT E, et al. Applications of bacteriophage cocktails to reduce *Salmonella* contamination in poultry farms[J]. Food and Environmental Virology, 2022, 14(1): 1-9.
- [4] LÓPEZ-ROMERO J C, VALENZUELA-MELENDRÉS M, JUNEJA V K, et al. Effects and interactions of Gallic acid, eugenol and temperature on thermal inactivation of *Salmonella* spp. in ground chicken[J]. Food Research International, 2018, 103: 289-294.
- [5] 聂若男,李晚宁,杨其乐,等.1株裂解性短尾沙门氏菌噬菌体 T139 的生物学特性及其对牛奶和牛肉的抑菌作用[J].食品科学,2019,40(18):130-136.
NIE R N, LI W N, YANG Q L, et al. Biological

- characteristics of a lytic short-tailed *Salmonella* phage T139 and its antibacterial effect in milk and ground beef[J]. Food Science, 2019, 40(18): 130-136.
- [6] RAFFATELLU M. Learning from bacterial competition in the host to develop antimicrobials[J]. Nature Medicine, 2018, 24(8): 1097-1103.
 - [7] 温慧,刘婷,陈忠军,等.沙门氏菌噬菌体 ΦSHDA-1 生物学特性及基因组学初步研究[J].食品与生物技术学报,2020,39(11):96-103.
WEN H, LIU T, CHEN Z J, et al. A preliminary study on the characteristics and genomics analysis of *Salmonella* phage ΦSHDA-1[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2020, 39(11): 96-103.
 - [8] ISAEV A B, MUSHAROVA O S, SEVERINOV K V. Microbial arsenal of antiviral defenses-part I[J]. Biochemistry (Moscow), 2021, 86(3): 319-337.
 - [9] BHETWAL A, MAHARJAN A, SHAKYA S, et al. Isolation of potential phages against multidrug-resistant bacterial isolates: Promising agents in the rivers of kathmandu, Nepal[J]. BioMed Research International, 2017, 2017(1): 3723254.
 - [10] SUN J W, LIU L B, ZHAO Z F, et al. A novel bacteriophage SJW01A capable of infecting multidrug-resistant *Salmonella*: Isolation, characterization, and application as biocontrol in milk[J]. LWT-Food Science and Technology, 2025, 218: 117463.
 - [11] 赵远洋,舒梅,吴国平,等.沙门氏菌烈性噬菌体 JN-S202001 的分离、鉴定及其应用于即食鸭脖的抑菌效果[J].江西农业大学学报,2022,44(6):1520-1528.
ZHAO Y Y, SHU M, WU G P, et al. A virulent bacteriophage against *Salmonella*: Isolation, characterization and application as a biocontrol agent in ready-to-eat duck neck[J]. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis, 2022, 44(6): 1520-1528.
 - [12] 聂长丽,张明,董浩,等.噬菌体在动物源性食品致病菌控制中的应用[J].中国渔业质量与标准,2022,12(5):39-50.
NIE C L, ZHANG M, DONG H, et al. Research progress on the application of bacteriophage in the control of pathogenic bacteria in animal-derived food[J]. Chinese Fishery Quality and Standards, 2022, 12(5): 39-50.
 - [13] 张玲,王莲莲,龙倩雯,等.一株沙门氏菌噬菌体 SalmpYZU27 的生理学特性及其在牛奶和鸡肉中的抑菌作用研究[J].食品安全质量检测学报,2023,14(18):120-127.
ZHANG L, WANG L L, LONG Q W, et al. Physiological characterization of a *Salmonella* phage SalmpYZU27 and its bacteriostatic effects in milk and chicken meat[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2023, 14(18): 120-127.
 - [14] 廖彬如,余春燕,黄巧辰,等.1株沙门氏菌噬菌体的分离鉴定和特性分析[J].中国畜牧兽医,2023,50(10):

- 4168-4178.
- LIAO B R, YU C Y, HUANG Q C, et al. Isolation, identification and characterization of a strain of *Salmonella* phage [J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2023, 50(10): 4168-4178.
- [15] 徐振文,肖纪滕,李梦哲,等.一株耐甲氧西林金黄色葡萄球菌噬菌体的生物学特性与全基因组学分析[J]. *中国生物工程杂志*, 2024, 44(8): 36-47.
- XU Z W, XIAO J T, LI M Z, et al. Characterization and complete genome analysis of a phage infecting methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. *China Biotechnology*, 2024, 44(8): 36-47.
- [16] 李天娇,舒梅,吴国平,等.大肠杆菌烈性噬菌体 vB_EcoM_JN03 的分离、鉴定及其抑菌效果研究[J]. *江西农业大学学报*, 2024, 46(3): 713-725.
- LI T J, SHU M, WU G P, et al. Isolation, identification and antibacterial effect study of *E. coli* lytic bacteriophage vB_EcoM_JN03 [J]. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 2024, 46(3): 713-725.
- [17] 李金敏,高绪娜,桑瑞新,等.1株禽大肠杆菌噬菌体的分离及杀菌效果评估[J]. *中国畜牧兽医*, 2022, 49(2): 783-790.
- LI J M, GAO X N, SANG R X, et al. Isolation and evaluation of sterilization effect of an avian *Escherichia coli* phage [J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2022, 49(2): 783-790.
- [18] FANG C J, DAI X Y, XIANG L, et al. Isolation and characterization of three novel lytic phages against K54 serotype carbapenem-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* [J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2023, 13: 1265011.
- [19] 吴丽飞,王兆飞,王中华,等.高效裂解多重耐药金黄色葡萄球菌的噬菌体分离及裂解酶的制备[J]. *中国动物传染病学报*, 2021, 29(3): 1-9.
- WU L F, WANG Z F, WANG Z H, et al. Characterization of a phage effectively lysing multi-drug resistant *Staphylococcus aureus* and preparation of its lysin [J]. *Chinese Journal of Animal Infectious Diseases*, 2021, 29(3): 1-9.
- [20] 熊文斌,卢晗,刘新春.诺卡氏菌烈性噬菌体 vB_Ncarnea_KYD1 的分离纯化与基因组分析[J]. *微生物学通报*, 2022, 49(11): 4832-4847.
- XIONG W B, LU H, LIU X C, et al. Isolation, purification, and genomic analysis of the virulent phage vB_Ncarnea_KYD1 from *Nocardia* spp [J]. *Microbiology China*, 2022, 49(11): 4832-4847.
- [21] SAVICH V, AKHREMCHUK A, HERASIMOVICH A, et al. Isolation, characterization, and whole-genome analysis of the novel temperate bacteriophage Ph-p5 infecting *Glutamicibacter halophytocola* [J]. *Archives of Virology*, 2025, 170(3): 46.
- [22] 郭亚停. 高效防控沙门氏菌的噬菌体筛选及其在食品上的应用研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2022.
- GUO Y T. Phage isolation for effective control of *Salmonella* and its application in food [J]. *Wuhan: Huazhong Agricultural University*, 2022.
- [23] 黄景晓,尚俊康,陈慧敏,等.一株烈性沙门氏菌噬菌体的生物学特性及基因组分析[J]. *生物技术通报*, 2021, 37(6): 136-146.
- HUANG J X, SHANG J K, CHEN H M, et al. Biological characterization and genome analysis of a lytic phage infecting *Salmonella* [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2021, 37(6): 136-146.
- [24] YAN T, LIANG L, YIN P, et al. Application of a novel phage LPSEYT for biological control of *Salmonella* in foods [J]. *Microorganisms*, 2020, 8(3): 400.
- [25] LIU J, GAO S S, DONG Y H, et al. Isolation and characterization of bacteriophages against virulent *Aeromonas hydrophila* [J]. *BMC Microbiology*, 2020, 20(1): 141.
- [26] IMKLIN N, NASANIT R. Characterization of *Salmonella* bacteriophages and their potential use in dishwashing materials [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2020, 129(2): 266-277.
- [27] 王香妮,马彩琴,刘进仁,等.污水中分离的大肠杆菌噬菌体和金黄色葡萄球菌噬菌体的生物学特性分析[J]. *西安交通大学学报(医学版)*, 2023, 44(5): 823-829.
- WANG X N, MA C Q, LIU J R, et al. Biological characteristics of *Escherichia coli* phage and *Staphylococcus aureus* phage isolated from sewage [J]. *Journal of Xi'an Jiaotong University (Medical Sciences)*, 2023, 44(5): 823-829.
- [28] EREZ Z, STEINBERGER-LEVY I, SHAMIR M, et al. Communication between viruses guides lysis-lysogeny decisions [J]. *Nature*, 2017, 541(7638): 488-493.

Isolation, identification and antibacterial effect of a *Salmonella* phage

ZHOU Jun^{1,4}, HUANG Junqing², DU Tingting², QIN Jinmeng²,
ZHANG Siwei², SUN Shibiao², SUN Xincheng^{2,3,4,5}

1. College of Materials and Chemical Engineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China;

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

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

4. Henan Collaborative Innovation Centre of Food Production Safety, Zhengzhou 450001, China;
5. Henan Key Laboratory of Cold Chain Food Quality and Safety Control, Zhengzhou 450001, China

Abstract: [Objective] This study aims to explore the antibacterial effect of phages on *Salmonella* in food. **[Methods]** Phages were isolated and purified from wastewater samples collected from a wastewater treatment plant in Zhengzhou, with *Salmonella typhimurium* as the host bacterium, by the double-layer agar plate method. Their biological characteristics, genomic features, and antibacterial effects on *S. typhimurium* in artificially contaminated milk and egg white were investigated. **[Results]** The optimal multiplicity of infection (*MOI*) of the isolated and purified phage ST-1 was 0.1, with a maximum titer of 10.45 lg PFU/mL. Its latent period was 20 min, the lysis period was 70 min, and the burst size was approximately 106.5 PFU/cell. It had a narrow host range, being able to lyse only *S. typhimurium* and *Streptococcus pneumoniae*. It exhibited good stability, maintaining activity within a temperature range of 30~60 °C and a pH range of 5~10, while also being insensitive to chloroform. Phage ST-1 belongs to the order Caudovirales. Its genome size is 84 672 bp, with a GC content of 38.82%, and it contains 142 open reading frames (ORFs). It does not carry resistance genes or virulence genes and can significantly inhibit the growth of *S. typhimurium* in artificially contaminated milk and egg white. **[Conclusion]** Phage ST-1 has high lysis efficiency, good thermal stability, acid-base tolerance, safety, and control effects, which can provide a reference for the development of targeted biocontrol agents against *Salmonella*.

Key words: *Salmonella*; phage; biological characteristic; genomic feature; antibacterial effect

[责任编辑: 杨晓娟 申慧珊]

(上接第 33 页)

Abstract: [Objective] This study aimed to investigate the bacterial community diversity in red vinasse acid (a traditional fermented acidic food from Wuxuan County, Guangxi Zhuang Autonomous Region) and thereby provide potential microbial strain resources for red vinasse acid products. **[Methods]** MiSeq high-throughput sequencing technology was applied to analyze the bacterial α -diversity, community structure, and functional profiles of 12 red vinasse acid samples collected from Wuxuan County, Guangxi. And a pure culture technique was utilized to isolate and identify lactic acid bacteria (LAB). **[Results]** The dominant bacterial phyla in the samples were Firmicutes and Proteobacteria, with average relative abundances of 90.17% and 9.17%, respectively. The dominant bacterial genera were *Lactobacillus*, *Pediococcus*, and *Levilactobacillus*, with average relative abundances of 32.18%, 20.54%, and 11.62%, respectively. The samples exhibited relatively high abundances in the transport and metabolism of carbohydrates and amino acids. A total of 29 LAB strains were isolated from the 12 samples, which belong to 6 species of 5 genera. Among them, the dominant cultivable LAB species were *Lactiplantibacillus pentosus* and *P. acidilactici*, accounting for 44.83% and 24.14% of the total LAB isolates, respectively. **[Conclusion]** Red vinasse acid from the Wuxuan region exhibits high bacterial diversity and abundant LAB resources, and thus can serve as microbial strain resources for the industrial production of red vinasse acid.

Key words: red vinasse acid; high-throughput sequencing; pure culture; bacterial diversity; gene function prediction; lactic acid bacteria

[责任编辑: 杨晓娟]