

吴珮榕, 李瑶, 张昱晗, 等. 大肠杆菌噬菌体 Φ 199 与盐酸克林霉素体外联合应用效果分析 [J]. 畜牧与兽医, 2025, 57 (1): 98-104.

WU P R, LI Y, ZHANG Y H, et al. Effect of the combination of *Escherichia coli* phage 199 and clindamycin hydrochloride on bactericide *in vitro* [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2025, 57 (1): 98-104.

大肠杆菌噬菌体 Φ 199 与盐酸克林霉素体外联合应用效果分析

吴珮榕¹, 李瑶¹, 张昱晗¹, 王阳¹, 陈鑫茹¹, 汤芳¹, 戴建君^{1,2*}

(1. 南京农业大学动物医学院, 江苏 南京 210095;

2. 中国药科大学生命科学与技术学院, 江苏 南京 210009)

摘要: 旨在探究大肠杆菌噬菌体 Φ 199 与盐酸克林霉素体外联合应用的效果。对以大肠杆菌 O157: H7 为宿主菌的噬菌体 Φ 199 的生物学特性进行了研究, 并对噬菌体 Φ 199 与盐酸克林霉素联用抗菌效果进行评估。结果: 噬菌体 Φ 199 是肌尾噬菌体, 其头部直径约为 50 nm, 尾部长度约为 100 nm; 噬菌体 Φ 199 能够在 40~60 °C 稳定存活, 并且在 pH 值 3~12 范围内保持活性, 表明噬菌体 Φ 199 具有较宽的温度、酸碱耐受性; 噬菌体 Φ 199 的最佳感染复数 (MOI) 为 1, 一步生长曲线显示潜伏期为 5 min, 裂解期为 5 min, 裂解量为 44, 能够在 3 h 内抑制细菌生长; 抗生素联合应用结果显示, 噬菌体 Φ 199 与盐酸克林霉素联合应用有协同作用, 与效价为 $10^6 \sim 10^7$ PFU/mL 的噬菌体联用时可将抗生素有效浓度降低至 1/2 MIC, 在与效价为 10^8 PFU/mL 的噬菌体联用时可将抗生素有效浓度降低至 1/4 MIC。

关键词: 大肠杆菌; 噬菌体; 生物学特性; 抗生素; 抗菌活性

中图分类号: S852.6 文献标志码: A 文章编号: 0529-5130(2025)01-0098-07

Effect of the combination of *Escherichia coli* phage 199 and clindamycin hydrochloride on bactericide *in vitro*

WU Peirong¹, LI Yao¹, ZHANG Yuhan¹, WANG Yang¹,
CHENG Xinru¹, TANG Fang¹, DAI Jianjun^{1,2*}

(1. College of Veterinary Medicine, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China;

2. School of Life Science and Technology, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

Abstract: The aim of this study was to investigate the effect of *Escherichia coli* bacteriophage Φ 199 combined with clindamycin hydrochloride on bactericide I. The biological characteristics of bacteriophage Φ 199 with *Escherichia coli* O157: H7 as the host bacterium were studied, and the antibacterial effect of bacteriophage Φ 199 combined with clindamycin hydrochloride was evaluated. The results showed that phage Φ 199 was a muscle-tailed bacteriophage with a head diameter of about 50 nm and a tail length of about 100 nm. Bacteriophage Φ 199 could survive stably at 40-60 °C and maintain lysis activity in the pH range of 3-12, indicating that phage Φ 199 had a wide temperature tolerance and good acid-base tolerance. The optimal MOI of phage Φ 199 was 1, and the one-step growth curve showed that the incubation period was 5 min, the lysis period was 5 min, and the lysis amount was 44. The phage was able to inhibit the growth of bacteria within 3 h. In addition, the results of the antibiotic combination showed that the combination of bacteriophage Φ 199 and clindamycin hydrochloride had a synergistic effect, which could reduce the effective concentration of antibiotics to 1/2 MIC when combined with the bacteriophage with a titer of $10^6 \sim 10^7$ PFU/mL, and to 1/4 MIC when combined with a titer of 10^8 PFU/mL.

Keywords: *Escherichia coli*; phage; biological properties; antibiotic; antibacterial activity

大肠杆菌 O157: H7 是一种重要的食源性致病菌, 常通过消化道进入动物体内, 定殖并破坏肠黏膜上皮细胞, 通过产生志贺毒素引起细胞死亡并进入血

液循环, 对机体造成损伤^[1-4]。大肠杆菌 O157: H7 主要传染源是感染者和无症状携带者, 通常能够通过受污染的食物和水感染人, 引起腹泻、发热、呕吐等症状, 具有较高的发病率和死亡率, 是一种重要的人兽共患病原菌^[5-7]。抗生素是治疗大肠杆菌 O157: H7 感染的主要手段, 但是部分研究人员从环境和人体粪便样本中分离到该菌耐药菌株, 这些耐药菌株可能限制了抗生素治疗的疗效^[8-9]。自 20 世纪 80 年代, 人们就发现对青霉素等抗生素具有耐药性的大肠

收稿日期: 2024-03-01; 修回日期: 2024-10-25

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2023YFD1800300); 国家自然科学基金项目 (32172858)

第一作者: 吴珮榕, 女, 硕士研究生

* 通信作者: 戴建君, 教授, 研究方向: 细菌致病机理, E-mail:

daijianjun@njau.edu.cn。

杆菌 O157: H7 菌株^[9-10]。近年来,随着抗生素的普及,多重耐药菌也逐渐增多,如今,人们能够从奶牛等动物体内检测出具有耐氨苄西林、头孢菌素、卡那霉素等多种抗生素的多重耐药大肠杆菌 O157: H7 菌株^[11-14], 这为该菌感染的进一步防治带来了挑战。

噬菌体是一种在自然界中广泛存在的微生物^[15], 作为细菌的天然克星, 其具有动态自适应靶向能力、高度的物种特异性^[16]、良好的生物相容性以及能够裂解耐药细菌等优势^[17]。近年来,噬菌体治疗的相关研究取得了一定进展。一项研究表明,用噬菌体处理多重耐药肺炎克雷伯菌感染的伤口时表现出高达 99% 的愈合效率^[18]。此外,研究人员通过将 3 种针对 O157: H7 大肠杆菌的噬菌体混合成“鸡尾酒”治疗小鼠肠炎,显著提高了小鼠存活率以及预后效果^[19]。这些试验都证明了噬菌体治疗的可能性。然而,噬菌体和细菌始终处于竞争关系中,细菌可能在短时间内通过修饰受体或其他突变机制逃避噬菌体的感染,获得对噬菌体的抗性^[20-21], 导致单一的噬菌体无法彻底清除细菌感染。

基于抗生素和噬菌体对细菌不同的杀菌机制,临床或试验中尝试将抗生素和噬菌体联合治疗,与单纯抗生素或噬菌体治疗相比,可避免细菌对单纯抗生素或单纯噬菌体产生耐药性^[22], 显著提高患者的治愈比例^[23-24], 且通过正确的联合用药还能够降低药物的副作用,提高治疗效果^[25-26]。本试验检测了大肠杆菌噬菌体 Φ 199 最佳感染复数 (MOI)、一步生长曲线等生物学特性,同时也检测了大肠杆菌 O157: H7 对不同抗生素的耐药性,在此基础上探究了噬菌体与盐酸克林霉素联合用药的效果。

1 材料与方法

1.1 主要试验材料

大肠杆菌 O157: H7 菌株为江苏省疾病预防控制中心惠赠,南京农业大学动物医学院人兽共患病实验室保存;噬菌体为实验室分离保存的肌尾科噬菌体 Φ 199; Mueller-Hinton (MH) 培养基购自海博生物技术有限公司;盐酸克林霉素购自北京索莱宝科技有限公司。

1.2 噬菌体效价测定

采用双层平板法进行噬菌体增殖。宿主菌 O157: H7 大肠杆菌培养至对数期,取 100 μ L 菌液与 100 μ L 噬菌体混合均匀,加入 45 $^{\circ}$ C 的 Luria-Bertani (LB) 半固体中,混匀后倒入 LB 平板。30 $^{\circ}$ C 过夜培养,待平板上长满空斑后取出平板,加入 5 mL SM 液,4 $^{\circ}$ C 放置 12 h。最后吸取 SM 液用 0.22 μ m 的滤膜过滤,所得滤液即为噬菌体裂解液,于 4 $^{\circ}$ C 保存备用。

采用双层平板法进行噬菌体效价测定。上述噬菌体裂解液用 SM 液进行 10 倍倍比稀释,每个稀释度取 100 μ L 与 100 μ L 对数期大肠杆菌 O157: H7 混匀,加入 45 $^{\circ}$ C 的 LB 半固体中,混匀后倒入 LB 平板。30 $^{\circ}$ C 过夜培养,第 2 天取出平板,计数噬菌斑为 30~300 之间的平板。重复以上操作 3 次,取平均数为对应噬菌体的效价。

1.3 透射电镜观察

噬菌体培养至 10^9 PFU/mL,取 10 μ L 转移至铜网格上,静置 10 min 待其吸附于铜网格后,用滤纸吸去多余液体,滴加 10 μ L 磷酸盐 (PTA, 2%),自然风干 5 min 后使用 H7650 透射电子显微镜 (Hitachi, Japan) 观察噬菌体结构。

1.4 最佳 MOI 测定

最佳 MOI 是指噬菌体与细菌的数量在此比值下,噬菌体处于最佳复制状态。O157: H7 大肠杆菌培养至对数期,用 LB 培养基稀释至 1×10^7 CFU/mL,用 SM 液稀释噬菌体,使噬菌体与细菌的 MOI 为 0.001、0.01、0.1、1、10 和 100。取 200 μ L 菌液和噬菌体液,混合均匀后置于 37 $^{\circ}$ C、180 r/min 摇床中孵育 5 h。10 000 g 离心 8 min,吸取上清液过滤。滤液通过 10 倍比稀释以及双层平板计数法测定噬菌体效价,效价最高的 MOI 为最佳感染复数。每组重复 3 次。

1.5 一步生长曲线测定

取 1 mL 噬菌体 Φ 199 和 1 mL O157: H7 以最佳 MOI 混合均匀,37 $^{\circ}$ C 静置孵育 10 min。孵育结束后,10 000 g 离心 8 min,用 2 mL 的 LB 培养基洗涤 2 次以去除没有吸附于细菌上的噬菌体。用预热至 37 $^{\circ}$ C 的 5 mL LB 培养基重悬沉淀,置于 37 $^{\circ}$ C、180 r/min 摇床中孵育,每间隔 5~10 min 取出菌液进行倍比稀释,双层平板法测定噬菌体效价。每组重复 3 次。

1.6 裂解曲线测定

取 1 mL 浓度为 1×10^8 CFU/mL 的大肠杆菌 O157: H7,用 LB 洗涤 3 次后稀释 10 倍至 1×10^7 CFU/mL。按照最佳 MOI 各取 100 μ L 噬菌体和菌液,混匀后加入 96 孔板中。取稀释好的菌液和 LB 各 100 μ L,混匀后加入 96 孔板中,作为菌液对照。取 200 μ L LB 加入 96 孔板中,作为空白对照。每组重复 3 孔。酶标仪设置参数为恒温 37 $^{\circ}$ C,180 r/min 震荡,持续 12 h,每 30 min 检测 1 次 $OD_{600\text{nm}}$ 值,将所得数值绘制体外裂解曲线。

1.7 噬菌体热稳定性和 pH 稳定性

在每个 1.5 mL 的 EP 管中加入 500 μ L 噬菌体,分别置于 40、50、60、70、80 和 90 $^{\circ}$ C 中孵育,每隔 30 min 取出 100 μ L 噬菌体液用 SM 液 10 倍倍比稀释,通过双层平板法测定噬菌体效价,一共孵育

1.5 h。每组重复3次。

利用盐酸和 NaOH 调节 SM 液体的 pH 值，配制 pH 值为 2~13 的 SM 液。在 1.5 mL 的 EP 管中分别加入 900 μL 不同 pH 值的 SM 液和 100 μL 的噬菌体，混匀后于 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中孵育 1 h，最后取出培养液进行 10 倍比稀释以及双层平板法测定噬菌体效价。每组重复 3 次。

1.8 盐酸克林霉素最小抑菌浓度 (MIC) 测定

采用 96 孔 U 型板测量盐酸克林霉素的 MIC。配制盐酸克林霉素母液为 256 mg/mL ，用 MH 培养液稀释至 512 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。在 96 孔板中第 2~10 孔每孔加入 100 μL MH 培养基，在第 1、2 孔中加入 100 μL 盐酸克林霉素稀释液，第 2 孔开始混匀，2 倍稀释，依次稀释至第 10 孔。大肠杆菌培养至对数期，用 MH 培养基稀释至 1×10^6 CFU/mL，每孔加入 50 μL 菌液，第 12 孔加入 50 μL MH 培养基。同时设置阳性对照组（大肠杆菌+MH 培养基）和阴性对照组（MH 培养基）。96 孔板置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中培养 12 h。使用酶标仪检测每孔在 600 nm 处 OD 值。每组重复 3 次。

1.9 噬菌体 $\Phi 199$ 和盐酸克林霉素体外联合应用

参考文献 [27] 检测噬菌体 $\Phi 199$ 和盐酸克林霉素体外联合应用的效果。首先配制 512 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的抗生素稀释液，在 96 孔板中每孔加入 100 μL MH 培养液并通过倍比稀释方法进行抗生素稀释。大肠杆菌培养至对数期，用 MH 培养基稀释至 1×10^6 CFU/mL，每孔加入 50 μL 菌液。准备效价为 $10^5 \sim 10^8$ PFU/mL 的噬菌体 $\Phi 199$ 稀释液，第 1 行到第 4 行加入 50 μL 浓度分别为 10^5 、 10^6 、 10^7 和 10^8 PFU/mL 噬菌体，使每孔含 200 μL 液体，具体加样方式如图 1 所示。

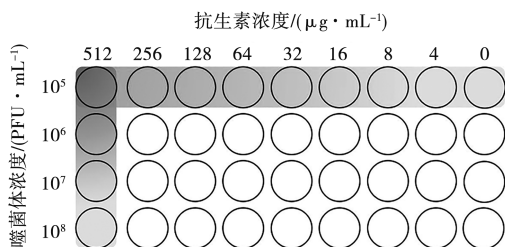


图 1 噬菌体 $\Phi 199$ 和盐酸克林霉素体外联合应用加样示意

同时设置阳性对照和阴性对照。随后将 96 孔板置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中培养 12 h，使用酶标仪检测每孔在 600 nm 处 OD 值，计算抗菌效率。公式如下：抗菌效率% = (对照组 $OD_{600 \text{ nm}}$ 值 - 试验组 $OD_{600 \text{ nm}}$ 值) / 对照组 $OD_{600 \text{ nm}}$ 值。试验重复 3 次取平均值。

2 结果

2.1 噬菌体 $\Phi 199$ 及其噬菌斑的形态特征

如图 2A 所示，噬菌体 $\Phi 199$ 的噬菌斑形态为圆形，透亮的空斑，边缘清晰，直径约为 2 mm。透射电镜观察显示 (图 2B)，噬菌体 $\Phi 199$ 病毒颗粒头部是直径约为 50 nm 的二十面体，具有可以收缩的尾部，长度约为 100 nm，属于肌尾型噬菌体。

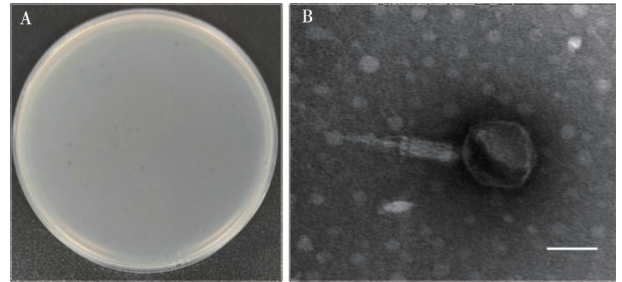


图 2 噬菌体 $\Phi 199$ 形成的噬菌斑形态; B. 噬菌体 $\Phi 199$ 负染后的电镜图 (比例尺=50 nm)。

图 2 噬菌体 $\Phi 199$ 形态学观察

2.2 噬菌体 $\Phi 199$ 最佳 MOI

如图 3 所示，噬菌体 $\Phi 199$ 的效价在 MOI 为 0.01~100 时均能够达到 10^9 PFU/mL，并且在 MOI 为 1 时，噬菌体的滴度最高为 9.24×10^9 PFU/mL，因此噬菌体 $\Phi 199$ 与宿主菌 O157: H7 的最佳 MOI 为 1。

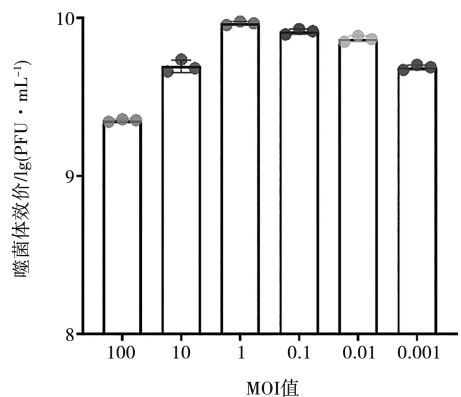


图 3 噬菌体 $\Phi 199$ 的最佳 MOI

2.3 噬菌体 $\Phi 199$ 一步生长曲线

如图 4 示，噬菌体 $\Phi 199$ 在前 5 min 内效价无明显变化，5~10 min 内效价急剧升高，然后趋于稳定。裂解量 = 裂解期平均噬菌斑数/潜伏期平均噬菌斑数。噬菌体 $\Phi 199$ 的潜伏期为 5 min，裂解期为 5 min，裂解量为 44。

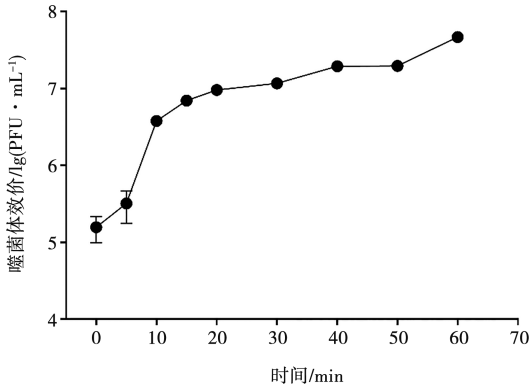


图4 噬菌体 Φ199 一步生长曲线

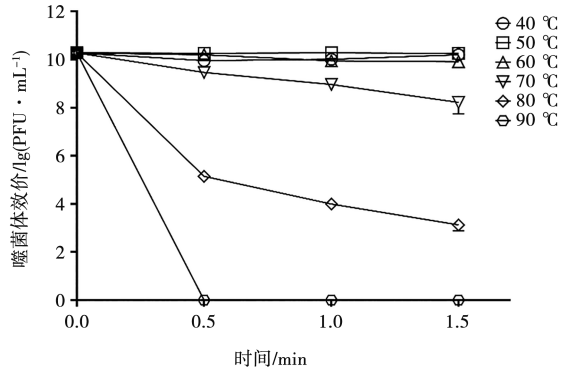


图6 噬菌体 Φ199 温度敏感性

2.4 噬菌体 Φ199 体外裂解曲线测定

将噬菌体 Φ199 与宿主菌以最佳 MOI 混合培养并持续观察 12 h, 结果如图 5 所示。在前 3 h 内, 噬菌体 Φ199 能够完全抑制大肠杆菌 O157: H7 的生长, 未加噬菌体的大肠杆菌 O157: H7 则保持持续增长, 空白对照组则未见细菌增长。

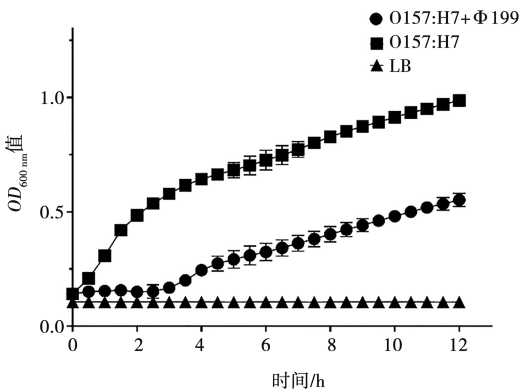


图5 噬菌体 Φ199 体外裂解曲线

2.5 噬菌体 Φ199 热稳定性及 pH 稳定性

如图 6 所示, 在 40~60 °C 时噬菌体 Φ199 能够稳定存在, 在 70、80 °C 时噬菌体效价在 1.5 h 内急剧下降, 在 90 °C 孵育 30 min 后噬菌体效价降低至 0。以上结果表明, 噬菌体 Φ199 在 40~60 °C 范围内活性比较稳定, 在 70 °C 及以上温度下较难长时间生存。

如图 7 所示, 噬菌体 Φ199 在 pH 值为 3~12 时具有较好的活性, pH 值为 2 和 13 时完全丧失活性。这些结果表明噬菌体 Φ199 对酸碱具有一定的耐受性, 在 pH 值 3~12 时可以稳定存在。

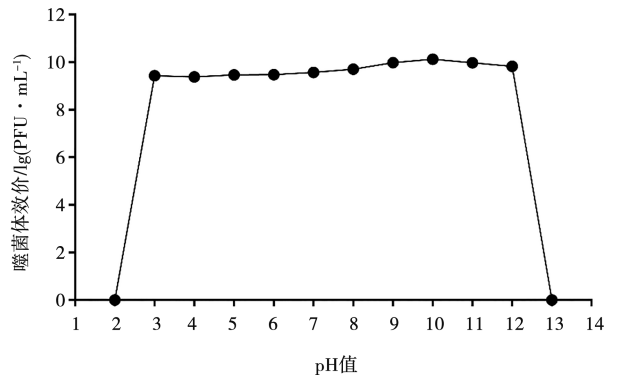


图7 噬菌体 Φ199 pH 值敏感性

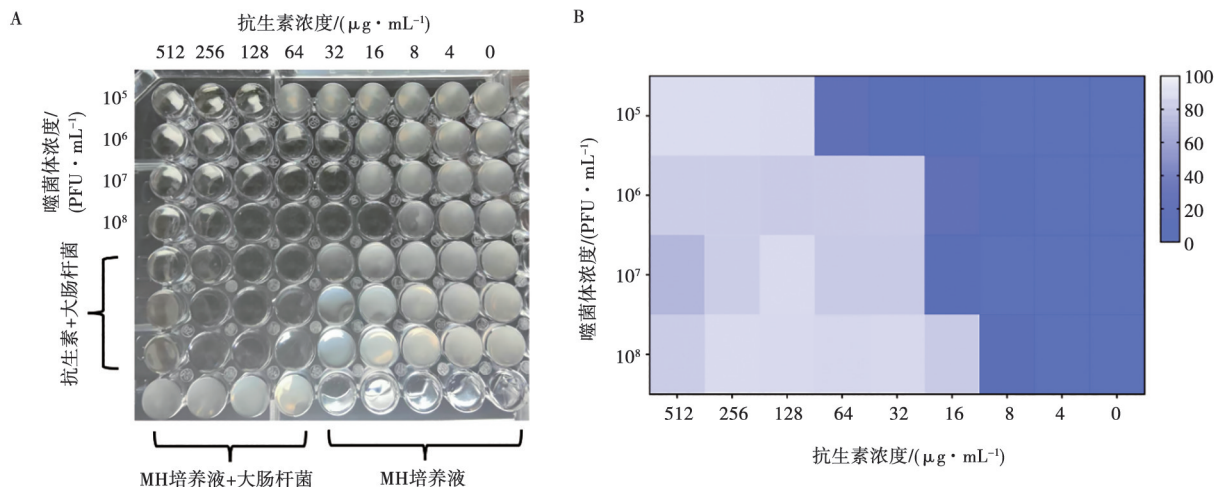
2.6 盐酸克林霉素的 MIC 值

通过将细菌与不同浓度抗生素共同孵育以探究大肠杆菌对盐酸克林霉素的 MIC, 结果, 盐酸克林霉素对大肠杆菌 O157: H7 的 MIC 为 64 μg/mL。

2.7 噬菌体 Φ199 与盐酸克林霉素体外抗菌应用

将盐酸克林霉素与噬菌体 Φ199 体外联合应用, 旨在探索二者联用效果。通过肉眼直接观察噬菌体与细菌联用后 MIC 的变化, 结果如图 8A 所示。当噬菌体浓度为 10⁵ PFU/mL 时, 盐酸克林霉素的 MIC 仍为 64 μg/mL; 噬菌体浓度为 10⁶ PFU/mL 和 10⁷ PFU/mL 时, 抗生素的有效浓度降为 1/2 MIC; 当噬菌体浓度为 10⁸ PFU/mL 时, 抗生素的有效浓度降至 1/4 MIC。

进一步检测细菌 OD_{600nm} 值并计算抗菌效率, 图 8B 呈现了噬菌体与盐酸克林霉素联合应用的效果, 数值代表细菌的清除效率, 数值越大, 颜色越浅, 表明清除细菌的效果越好, 其结果与图 8A 一致。



A. 噬菌体与盐酸克林霉素联合应用 96 孔板; B. 细菌与盐酸克林霉素联合应用的抗菌效率。

图 8 盐酸克林霉素与噬菌体 $\Phi 199$ 联合应用的抗菌效果

3 讨论

本研究检测了以大肠杆菌 O157:H7 为宿主菌的噬菌体 $\Phi 199$ 的生物学特性, 并且噬菌体 $\Phi 199$ 与盐酸克林霉素联用后能够降低大肠杆菌对盐酸克林霉素的 MIC。噬菌体 $\Phi 199$ 的生物学特性显示, 其最佳 MOI 为 1, 能够在双层琼脂平板上形成清晰的噬菌斑。裂解曲线显示, 噬菌体 $\Phi 199$ 能够在 3 h 内达到良好的抑菌效果。通过透射电镜观察到噬菌体 $\Phi 199$ 属于肌尾型噬菌体, 具有直径约为 50 nm 的头部和长度约为 100 nm 的尾部。温度、酸碱度的变化能够影响噬菌体的生存和生产, 作为一种生命体, 噬菌体只有在活性良好的情况下才能够发挥理想的杀菌作用^[28]。通过检测噬菌体在不同温度和 pH 值条件下的生存能力显示, 噬菌体 $\Phi 199$ 在 40~60 °C 范围内能够保持较高的活性, 在 pH 值 3~12 范围具有较高的生物学活性, 表明其能够在较宽的温度和酸碱环境下生存, 证实该噬菌体具有良好的应用前景。

由于抗生素的滥用, 导致临床上细菌耐药性问题严重, 且由于超级细菌的形成导致采用单一抗生素或抗菌药物无法达到良好的治疗效果, 因此在临床或试验中常使用多种抗菌药物联合抗菌^[29-31]。目前已有较多的研究报告显示, 与单一噬菌体或抗生素相比, 噬菌体与抗生素联用具有协同作用, 可以避免细菌感染或生物被膜的形成^[32-36]。此外, 越来越多的临床医疗者将噬菌体与抗生素联合应用以治疗多重耐药细菌感染引起的疾病, 并且取得了较为显著的治疗效果^[23-24]。盐酸克林霉素具有广谱抗菌活性, 主要通过细菌核糖体的 50S 亚单位结合, 抑制细菌肽链延

长, 从而抑制细菌蛋白质合成^[37]。盐酸克林霉素还可通过破坏细菌的表面结构和抑制细菌的生物活性来杀伤细菌, 并有利于吞噬细胞的吞噬^[38]。

本研究显示, 单独使用盐酸克林霉素时, 盐酸克林霉素对大肠杆菌的 MIC 为 64 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 抗菌效果较差。单独使用噬菌体时, $10^6 \sim 10^8$ PFU/mL 的噬菌体 $\Phi 199$ 都无法在 12 h 内抑制大肠杆菌 O157:H7 的生长。联合用药后结果显示, 在噬菌体浓度为 $10^6 \sim 10^7$ PFU/mL 时, 能够将抗生素有效使用浓度降至 1/2 MIC; 在噬菌体浓度为 10^8 PFU/mL 时, 能够使抗生素的有效使用浓度降至 1/4 MIC, 表明联合应用可以协同或增加药物的抗菌效果。有研究表明噬菌体与抗生素联用能够降低抗生素的使用浓度至 1/2 MIC^[27,39], 而本试验降低抗生素使用浓度至 1/4 MIC, 显著提高了联用效果。这种联用效果的产生可能是由两方面因素导致的: 一方面是细菌可能因为遗传限制使其无法高效产生 2 种抗菌机制的突变^[31,40], 并且抵抗不同抗菌机制之间可能存在相互负作用, 即增强一种抵抗能力的同时会削弱另一种抵抗能力^[32,41], 且细菌荚膜对噬菌体的吸附十分重要, 细菌可能通过丢失荚膜来改变噬菌体对其吸附能力, 但是荚膜的丢失可能导致耐药细菌对抗生素重新敏感^[42-43]; 另一方面, 抗生素和噬菌体协同作用可能迅速降低了细菌密度, 从而降低了耐药突变的概率^[44]。

综上, 本研究发现了一种能够裂解大肠杆菌 O157:H7 的裂解性噬菌体 $\Phi 199$, 其与盐酸克林霉素联用后能够在体外有效抑制细菌生长, 表明这种联用方法对于控制由耐药性大肠杆菌 O157:H7 引起的

感染具有潜在的应用价值。然而,目前噬菌体与抗生素联用的方法仍然存在一些需要解决的问题:一方面是噬菌体可能与抗菌剂之间存在拮抗作用,导致联用后治疗效果低于抗生素治疗效果^[45];另一方面是噬菌体与抗生素联用仍然可能导致细菌内毒素和毒性蛋白的释放^[46],造成机体损伤。本试验没有检测噬菌体的耐药基因,以及联用后大肠杆菌 O157:H7 内毒素、志贺毒素等毒素物质的释放。相关试验表明,使用噬菌体和抗生素治疗时能够降低有毒物质的释放,提高对动物的治疗效果^[22],且能够减少细菌耐药性的发展^[47-48]。相信随着研究的深入,以上问题将会得到解决,从而促进噬菌体-抗生素联合应用的发展和普及。

参考文献:

- [1] 李瑾,王瑜欣,王许航,等. 大肠杆菌 O157:H7 噬菌体鸡尾酒喷雾干燥微囊粉剂的制备及其应用 [J]. 微生物学报, 2023, 63 (8): 3203-3218.
- [2] LIZARDO M, MAGALHÃES R M, TAVARIA F K. Probiotic adhesion to skin keratinocytes and underlying mechanisms [J]. *Biology*, 2022, 11 (9): 1372.
- [3] KUANG M, YU H, QIAO S, et al. A novel nano-antimicrobial polymer engineered with chitosan nanoparticles and bioactive peptides as promising food biopreservative effective against foodborne pathogen *E. coli* O157-caused epithelial barrier dysfunction and inflammatory responses [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22 (24): 13580.
- [4] ARVIDSSON I, TONTANAHAL A, JOHANSSON K, et al. Apyrase decreases phage induction and Shiga toxin release from *E. coli* O157:H7 and has a protective effect during infection [J]. *Gut Microbes*, 2022, 14 (1): 2122667.
- [5] BUMUNANG E W, ZAHEER R, STANFORD K, et al. Genomic analysis of Shiga toxin-producing *E. coli* O157 cattle and clinical isolates from Alberta, Canada [J]. *Toxins*, 2022, 14 (9): 603.
- [6] ZHOU Y, CHEN Y, LIU Y, et al. Controlled copper in situ growth-amplified lateral flow sensors for sensitive, reliable, and field-deployable infectious disease diagnostics [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2021, 171: 112753.
- [7] 巩倩雯,李一昊,曾颜,等. 特异性识别 K1 荚膜大肠杆菌的噬菌体 PNJ1809-36 生物学特性及全基因组分析 [J]. 畜牧兽医学报, 2021, 52 (6): 1677-1688.
- [8] TORRES-ELIZALDE L, ORTEGA-PAREDES D, LOAIZA K, et al. In silico detection of antimicrobial resistance integrons in *Salmonella enterica* isolates from countries of the Andean Community [J]. *Antibiotics*, 2021, 10 (11): 1388.
- [9] 卢丽英,詹丽杏. 大肠埃希菌 O157:H7 抗生素耐药性研究进展 [J]. 预防医学, 2021, 33 (11): 1117-1121.
- [10] MENG J, ZHAO S, DOYLE M P, et al. Antibiotic resistance of *Escherichia coli* O157:H7 and O157:NM isolated from animals, food, and humans [J]. *Journal of Food Protection*, 1998, 61 (11): 1511-1514.
- [11] OBAIDAT M M, STRINGER A P. Prevalence, molecular characterization, and antimicrobial resistance profiles of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica*, and *Escherichia coli* O157:H7 on dairy cattle farms in Jordan [J]. *Journal of Dairy Science*, 2019, 102 (10): 8710-8720.
- [12] OBAIDAT M M. Prevalence and antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* O157:H7 in imported beef cattle in Jordan [J]. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 2020, 70: 101447.
- [13] ATNAFIE B, PAULOS D, ABERA M, et al. Occurrence of *Escherichia coli* O157:H7 in cattle feces and contamination of carcass and various contact surfaces in abattoir and butcher shops of Hawassa, Ethiopia [J]. *BMC Microbiology*, 2017, 17 (1): 24.
- [14] ABREHAM S, TEKLU A, COX E, et al. *Escherichia coli* O157:H7: distribution, molecular characterization, antimicrobial resistance patterns and source of contamination of sheep and goat carcasses at an export abattoir, Mojo, Ethiopia [J]. *BMC Microbiology*, 2019, 19 (1): 215.
- [15] CHEVALLEREAU A, PONS B J, VAN HOUTE S, et al. Interactions between bacterial and phage communities in natural environments [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2022, 20 (1): 49-62.
- [16] SHEN S, HUO D, MA C, et al. Expanding the colorectal cancer biomarkers based on the human gut phageome [J]. *Microbiology Spectrum*, 2021, 9 (3): e00090-21.
- [17] MENDOZA S D, NIEWEGLOWSKA E S, GOVINDARAJAN S, et al. A bacteriophage nucleus-like compartment shields DNA from CRISPR nucleases [J]. *Nature*, 2020, 577 (7789): 244-248.
- [18] FAYEZ M S, HAKIM T A, AGWA M M, et al. Topically applied bacteriophage to control multi-drug resistant *Klebsiella pneumoniae* infected wound in a rat model [J]. *Antibiotics*, 2021, 10 (9): 1048.
- [19] WANG Y, SUBEDI D, LI J, et al. Phage cocktail targeting STEC O157:H7 has comparable efficacy and superior recovery compared with enrofloxacin in an enteric murine model [J]. *Microbiology Spectrum*, 2022, 10 (3): e00232-22.
- [20] FONG K, MU K, RHEAULT J G, et al. Bacteriophage-insensitive mutants of antimicrobial-resistant *Salmonella Enterica* are altered in their tetracycline resistance and virulence in Caco-2 intestinal cells [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21 (5): 1883.
- [21] KOONJAN S, CARDOSO PALACIOS C, NILSSON A S. Population dynamics of a two phages-one host infection system using *Escherichia coli* strain ECOR57 and phages vB_EcoP_SU10 and vB_EcoD_SU57 [J]. *Pharmaceuticals*, 2022, 15 (3): 268.
- [22] AGHAE B L, KHAN MIRZAEI M, ALIKHANI M Y, et al. Improving the inhibitory effect of phages against *Pseudomonas aeruginosa* isolated from a burn patient using a combination of phages and antibiotics [J]. *Viruses*, 2021, 13 (2): 334.
- [23] TKHILASHVILI T, WINKLER T, MÜLLER M, et al. Bacteriophages as adjuvant to antibiotics for the treatment of periprosthetic joint infection caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2019, 64 (1): e00924-19.
- [24] TKHILASHVILI T, MERABISHVILI M, PIRNAY J P, et al. Suc-

- cessful case of adjunctive intravenous bacteriophage therapy to treat left ventricular assist device infection [J]. *Journal of Infection*, 2021, 83 (3): e1-e3.
- [25] 杨春利. 氟苯尼考和硫酸粘菌素对猪源大肠杆菌、链球菌的体外抑菌试验 [J]. *中国猪业*, 2023, 18 (6): 135-137.
- [26] 邵健健, 杜红旭, 曲逸文, 等. 噬菌体与抗生素的联合应用及其协同作用机制 [J]. *中国抗生素杂志*, 2022, 47 (10): 985-993.
- [27] 胡紫萌, 陈伟叶, 陈欣仪, 等. PH826 噬菌体与抗生素联用有效抑制多重耐药铜绿假单胞菌生物被膜的形成 [J]. *微生物学报*, 2024, 64 (2): 473-488.
- [28] 李远瞻. 克林霉素对猪肺炎霉形体病的治疗效果观察 [J]. *畜牧兽医科学 (电子版)*, 2020 (4): 15-16.
- [29] 孔令楠. 克林霉素原位富集土壤放线菌的分离及次级代谢产物挖掘 [D]. 塔里木: 塔里木大学, 2023.
- [30] MA Y L, LU C P. Isolation and identification of a bacteriophage capable of infecting *Streptococcus suis* type 2 strains [J]. *Veterinary Microbiology*, 2008, 132 (3): 340-347.
- [31] DOS REIS T F, HORTA M A C, COLABARDINI A C, et al. Screening of chemical libraries for new antifungal drugs against *Aspergillus fumigatus* reveals sphingolipids are involved in the mechanism of action of miltefosine [J]. *mBio*, 2021, 12 (4): e0145821.
- [32] 高志鹏, 陈康, 郭佳婧. 抗生素与抗菌药物协同作用防控生物膜的研究进展 [J]. *微生物学杂志*, 2017, 37 (3): 116-121.
- [33] 吴菲, 陶丽, 杨泽平, 等. 治疗药物监测在 ICU 重症感染患者抗菌药物联用的作用 [J]. *临床急诊杂志*, 2022, 23 (11): 781-786.
- [34] SHLEZINGER M, COPPENHAGEN-GLAZER S, GELMAN D, et al. Eradication of vancomycin-resistant Enterococci by combining phage and vancomycin [J]. *Viruses*, 2019, 11 (10): 954.
- [35] TORRES-BARCELO C, HOCHBERG M E. A window of opportunity to control the bacterial pathogen *Pseudomonas aeruginosa* combining antibiotics and phages [J]. *PLoS One*, 2014, 9 (9): e106628.
- [36] CHATTERJEE A, JOHNSON C N, LUONG P, et al. Bacteriophage resistance alters antibiotic-mediated intestinal expansion of Enterococci [J]. *Infection and Immunity*, 2019, 87 (6): e00085-19.
- [37] CHANG R Y K, DAS T, MANOS J, et al. Bacteriophage PEV20 and ciprofloxacin combination treatment enhances removal of *Pseudo-*
monas aeruginosa biofilm isolated from cystic fibrosis and wound patients [J]. *The AAPS Journal*, 2019, 21 (3): 49.
- [38] DICKEY J, PERROT V. Adjunct phage treatment enhances the effectiveness of low antibiotic concentration against *Staphylococcus aureus* biofilms *in vitro* [J]. *PLoS One*, 2019, 14 (1): e0209390.
- [39] 李翠函. 不同禽源 β -内酰胺类耐药沙门菌和大肠杆菌传播特征及沙门菌噬菌体与抗生素联合杀菌研究 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2023.
- [40] CASTLEDINE M, SIEROCINSKI P, INGLIS M, et al. Greater phage genotypic diversity constrains arms-race coevolution [J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2022, 12: 834406.
- [41] MORRISSETTE T, KEBRIAEI R, LEV K L, et al. Bacteriophage therapeutics; a primer for clinicians on phage-antibiotic combinations [J]. *Pharmacotherapy*, 2020, 40 (2): 153-168.
- [42] GORDILLO ALTAMIRANO F, FORSYTH J H, PATWA R, et al. Bacteriophage-resistant *Acinetobacter baumannii* are resensitized to antimicrobials [J]. *Nature Microbiology*, 2021, 6 (2): 157-161.
- [43] CANFIELD G S, CHATTERJEE A, ESPINOSA J, et al. Lytic bacteriophages facilitate antibiotic sensitization of *Enterococcus faecium* [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2021, 65 (5): e00143-21.
- [44] SUDAGAR A J, RANGAM N V, RUSZCZAK A, et al. Valorization of brewery wastes for the synthesis of silver nanocomposites containing orthophosphate [J]. *Nanomaterials*, 2021, 11 (10): 2659.
- [45] 袁玉玉, 丛聪, 王丽丽, 等. 噬菌体与抗菌剂联合应用研究进展 [J]. *中国抗生素杂志*, 2017, 42 (10): 842-848.
- [46] JIANG L, YANG W, JIANG X, et al. Virulence-related O islands in enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7 [J]. *Gut Microbes*, 2021, 13 (1): 1992237.
- [47] VOIT M, TRAMPUZ A, GONZALEZ MORENO M. *In vitro* evaluation of five newly isolated bacteriophages against *E. faecalis* biofilm for their potential use against post-treatment apical periodontitis [J]. *Pharmaceutics*, 2022, 14 (9): 1779.
- [48] DIALLO K, DUBLANCHET A. Benefits of combined phage-antibiotic therapy for the control of antibiotic-resistant bacteria; a literature review [J]. *Antibiotics*, 2022, 11 (7): 839.