

刘子琛, 陈婷, 张永亮. 噬菌体在畜牧生产中的应用进展 [J]. 畜牧与兽医, 2024, 56 (12): 139-147.

LIU Z C, CHEN T, ZHANG Y L. Progress in research on application of bacteriophages in poultry and livestock production [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2024, 56 (12): 139-146.

噬菌体在畜牧生产中的应用进展

刘子琛, 陈婷, 张永亮*

(华南农业大学动物科学学院, 广东 广州 510642)

摘要: 细菌性疾病的防治一直以来是全球畜牧业研究的重点, 由于抗生素在畜牧业的不规范使用, 细菌耐药性和药物残留等问题严重影响了畜牧生产和食品安全, 亟需寻找新的替代品。噬菌体作为一种天然的抑菌剂, 已有近百年研究历史, 因其特异性强、繁殖速度快和安全高效等特点, 目前在多重耐药菌疾病治疗和食品加工等方面均取得较好效果, 并在畜禽养殖中显示出巨大的潜力。本文综述了噬菌体的定义、形态结构与分类、治疗的优势与局限性以及在畜牧生产中的应用, 以期给畜牧生产中噬菌体的应用提供参考。

关键词: 畜牧生产; 噬菌体; 抗生素; 耐药性; 疫病净化

中图分类号: S811.6 文献标志码: A 文章编号: 0529-5130(2024)12-0139-08

Progress in research on application of bacteriophages in poultry and livestock production

LIU Zichen, CHEN Ting, ZHANG Yongliang*

(College of Animal Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: The prevention and treatment of bacterial diseases have always been a major concern in animal husbandry worldwide. However, the abuse of antibiotics has led to issues such as bacterial resistance and drug residues, which have adversely affected livestock production and food safety. Hence, there is an urgent need for exploring alternative options to antibiotics. One such alternative is phage, a natural bacteriostatic agent that has been studied for almost a century. Due to its high specificity, fast reproduction rate, safety, and effectiveness, phage has shown promising results in treating multi-resistant bacterial diseases and in food processing, and has great potential in livestock and poultry breeding. This review provides an overview of phage, including its definition, morphological structure, and classification, as well as the advantages and limitations in therapy. Additionally, this paper explores the application of phage in animal husbandry, offering a reference for appropriate use of this bacteriostatic agent in livestock and poultry production.

Keywords: livestock and poultry production; bacteriophages; antibiotics; drug resistance; disease purification

畜牧业作为全球经济发展的重要支柱, 其贡献价值高达约 1.4 万亿美元。据联合国粮食及农业组织(粮农组织)估计, 畜牧业产量占农业总产量的 40%, 约有 13 亿人依靠畜牧业维持生计, 但由细菌作为病原体引发的各类疾病不仅损害动物的健康, 还给养殖业造成了巨大的经济损失^[1-2]。饲用抗生素长期以来在畜牧生产中起到了十分关键的作用, 但滥用抗生素使得细菌耐药性增强, 而且由于抗生素具有广谱作用, 会清除正常黏膜微生物群的其他重要成员, 从而破坏菌群平衡, 为条件致病菌的增殖提供机会,

并导致继发感染^[3]。因此, 世界卫生组织于 2019 年宣布抗菌素耐药性 (AMR) 为人类十大公共卫生威胁之一。寻找抗生素的替代品逐渐成为畜牧学研究的热点, 其中噬菌体作为替代品的研究引起了广泛的关注。

噬菌体是一类在自然界广泛存在的专性感染细菌的病毒。早在 1915 年, 英国生物学家 Twort^[4] 宣布在葡萄球菌培养液中发现一种细菌病毒能使金黄色葡萄球菌发生凋亡; 1917 年, 加拿大细菌学家 D'Herelle^[5] 将这种可以感染细菌的病毒命名为“噬菌体”, 并在之后成功治疗了疟疾和人类葡萄球菌感染等疾病。在第二次世界大战后, 新型抗菌药物的兴起使得对于噬菌体的研究进入到停滞阶段, 然而在 20 世纪 80 年代, 随着世界范围内的多重耐药细菌迅速增加以及原有的抗菌剂功效降低, 噬菌体重新成为研究的热

收稿日期: 2024-04-10; 修回日期: 2024-10-16

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2022YFD1300904)

第一作者: 刘子琛, 男, 本科生

* 通信作者: 张永亮, 博士, 教授, 研究方向为动物营养与饲料

科学, E-mail: zhangyl@scau.edu.cn.

点^[6-7]。近年来通过对噬菌体深入研究,发现其对于动物常见胃肠道疾病的防治卓有成效,且能提升畜禽生产性能,防控食品源单增李斯特菌和治疗农作物细菌性感染,如番茄,马铃薯和柑橘,显示出了良好的应用价值。本文就噬菌体形态结构与分类,噬菌体治疗的优势与局限性,以及其在畜禽中的应用进行论述,旨在给畜牧生产中噬菌体的应用提供参考。

1 噬菌体概述

1.1 噬菌体的形态结构与分类

噬菌体是地球上最丰富的生物之一,数量极多。据统计,全球约有 10^{31} 个噬菌体颗粒,广泛分布于土壤、海洋以及人类的生活环境中^[8],其发挥着重要的生态作用,例如噬菌体每天会导致20%~40%海洋细菌的死亡^[9]。噬菌体的体长为20~200 nm^[10],结构较为简单,主要由蛋白质外壳和内部的核酸组成,并通常分为头部和尾部,其中头部包含衣壳蛋白和核酸,尾部为长管结构,能帮助噬菌体整合到细菌细胞内^[11]。目前发现的噬菌体已超过6 000种^[12],有两种分类较为常见,一种是根据与宿主菌的关系进行分类,具体分为使宿主菌裂解的裂解性噬菌体和与宿主菌共生的溶源性噬菌体。而另一种分类方式是由国际病毒分类委员会提出,将噬菌体分为5个阶元,第一阶元依照核酸类型(DNA和RNA)以及单双股形式分为4个“群”,其中将双股DNA病毒划分为群I、单股DNA病毒为群II、双股RNA病毒为群III、单股正链RNA病毒为群IV;第二阶元是按科间亲密关系,在群下设“目”,若科间亲缘关系较远或已知成员较少则直接在群下设科;第三阶元按属间亲密关系设“科”,并根据需要设立“亚科”;第四阶元是科下设立“属”;第五阶元是属下设立“种”和“亚种”^[13]。表1以双股DNA病毒中的长尾病毒科为例进行分类。

表1 长尾病毒科噬菌体分类示例

属	代表种	宿主菌
T1 噬菌体	肠杆菌 T1 噬菌体	细菌
T5 噬菌体	肠杆菌 T5 噬菌体	细菌
λ 噬菌体	肠杆菌 λ 噬菌体	细菌
L5 噬菌体	分支杆菌 L5 噬菌体	细菌
c2 噬菌体	乳球菌 c2 噬菌体	细菌
PsiM1 噬菌体	甲烷杆菌 PsiM1 噬菌体	古细菌
PhiC31 噬菌体	链霉菌 PhiC31 噬菌体	细菌
N15 噬菌体	肠杆菌 N15 噬菌体	细菌
SP β 噬菌体	杆菌 SP β 噬菌体	细菌

1.2 噬菌体治疗的优势

由于溶源性噬菌体感染宿主菌后,遗传物质以噬菌体原存在于宿主菌内,不仅无法引起宿主菌裂解,还会增大耐药基因(antibiotic resistance genes, ARGs)传播和宿主菌毒力上升的风险^[14]。而裂解性噬菌体可以感染和杀死细菌,不会对人类或动物细胞产生负面影响,因此本文论述中运用于畜牧生产上的噬菌体均为裂解性噬菌体,其主要优势有以下几个方面。

宿主特异性高:噬菌体具有严格的宿主特异性,其中有尾噬菌体通过附着在尾部的尾丝蛋白(tail fibers proteins, TFPs),尾刺蛋白(tail spike proteins, TSPs)和尾管蛋白(tail tube proteins, TTPs)等多种受体结合蛋白对宿主菌细胞表面受体进行识别和不可逆吸附^[15]。以致病菌为宿主筛选的噬菌体会减少对整个微生物群的影响,保护潜在有益细菌,抑制次级病原体过度生长和耐药细菌的出现^[16]。

增殖能力强:在适宜的环境条件下,噬菌体可以 200° 的速度进行繁殖,单次给药就可大量裂解宿主菌细胞,达到快速灭菌的效果。

安全性高:噬菌体具有宿主依赖性,能够在感染部位扩增,更少的剂量就可以发挥作用,并随着宿主菌的清除而死亡,可避免大量残留于体内^[17]。噬菌体还不会破坏原有食物或饲料的颜色、结构和味道,并且分解消化为核酸、蛋白质、磷酸、碱基和氨基酸等,均是无毒的代谢产物^[18]。近些年来,噬菌体完成了动物试验和临床试验,以及噬菌体安全性试验,试验对象的体温、血常规、肝功能、肾功能等,均未发现显著的安全问题^[19-21]。

可裂解细菌生物被膜:生物被膜是由细菌分泌黏性胞外聚合物(extracellular polymeric substance, EPS)吸附于物质表面,并增殖形成的三维结构微生物群落^[22]。作为细菌的天然物理屏障,生物被膜的三维框架结构不但阻止细菌菌团与抗菌药物的接触,还削弱了免疫细胞的能力,提高了细菌在极强胁迫环境中的耐受性^[23-24]。噬菌体可破坏生物被膜,并感染膜外层和内层细菌,其自身合成的溶素和解聚酶可以降解多糖和肽聚糖,促使EPS的降解,从而使噬菌体渗透到更深的生物膜层感染裂解所有细菌^[25]。噬菌体P22处理培养的鼠伤寒沙门菌24 h后可使生物被膜数量减少69%,在处理48 h后减少90%^[26]。金黄色葡萄球菌噬菌体可消除耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的生物被膜达90%以上^[27]。噬菌体疗法可有效抑制耐药细菌的繁殖,并具有成为一线治疗方法的潜力。

与其他替抗药物联用有增效效果:噬菌体可与其

他替抗药物联合使用来弥补各自使用过程中的不足。添加益生菌的消毒剂可高效杀死病原微生物，且不产生抗药性，但其存在灭菌速度慢和效果衰退快等缺点，将噬菌体与其联合使用后可显著改善这一缺点，实现优势互补^[28]。噬菌体和抗菌肽联合添加到新西兰兔的基础日粮中，相较于单一试剂添加，可有效降低家兔肾脏指数、腹泻率和死淘率，提升脾脏指数^[29]。除此之外，人工裂解酶（Art-085 和 Art-175）是通过螺旋状抗菌肽 SMAP-29 和噬菌体编码的裂解酶 KZ114 融合重组而成，试验发现该裂解酶可穿透生物被膜，并快速高效杀灭多重耐药铜绿假单胞菌^[30]。因此，噬菌体与其他替抗药物联用有望成为取代抗生素的新型高效抗菌模式。

成本较低：在适宜的条件下，噬菌体到达感染部位后，以指数方式增殖，使得小剂量地给药便可达到不错的治疗效果，减少了扩增的经济成本。此外，在采用冷冻干燥、喷雾干燥、添加赋形剂等方法后可大大提高噬菌体的热稳定性和保质期，使得其运输成本降低^[31-32]。

1.3 噬菌体治疗的局限性

尽管噬菌体可作为替抗药物进行治疗，但其仍有一些不足之处。

宿主谱单一：细菌感染往往同时感染多种病原菌，而噬菌体由于其过窄的宿主谱难以同时清除多种病原菌。目前多采用配制噬菌体鸡尾酒来扩大宿主谱。

具有产生细菌抗性的风险：在治疗过程中，暴露于高选择压力下的宿主菌可能会产生抗性，而根据噬菌体感染细菌的机理，可将宿主菌产生抗性的原因分为5个方面，抑制噬菌体吸附，阻断噬菌体基因组的注入，阻止噬菌体基因组的复制，流产感染和阻止噬菌体组装与释放^[33]。试验数据显示，仅在单一噬菌体处理铜绿假单胞菌 10 h 后，耐受噬菌体的菌株开始大量生长，单一噬菌体对耐药高毒力肺炎克雷伯菌的完全抑菌效果只能维持 3 h，在 6 h 后抗性突变菌数目呈显著上升趋势^[34-35]。这意味着细菌抗性的出现不仅会影响噬菌体的治疗效果，而且会使用药成本增加，甚至会对生物安全造成威胁。

2 噬菌体在家禽生产中的应用

2.1 噬菌体在防治家禽肠道疾病中的应用

我国禽类产品的消费位居世界前列，肠道作为家禽消化和吸收营养物质的主要场所，直接关系到其健康水平和生产性能^[36]。在家禽生产过程中，由禽类大肠杆菌和禽类沙门菌所引起的细菌性疾病可引起蛋禽产蛋下降，肉禽生长性能受到影响，种鸡孵化率降

低，甚至导致死亡^[37-38]。当前，国内外均有利用噬菌体治疗禽类细菌性疾病的研究。Nicolas 等^[39]将 4 种噬菌体（REC、ESCO3、ESCO47 和 ESCO58）制成噬菌体鸡尾酒（ 4.3×10^7 PFU/mL），组合接种到白来航鸡第 17 天鸡胚，并在携带 4 种噬菌体的 1 日龄雏鸡中接种禽致病性大肠杆菌株 BEN4358，感染 7 d 后发现胚内接受噬菌体注射的雏鸡没有发生大肠杆菌病变，该研究表明在胚内接种噬菌体可预防 1 周雏鸡大肠杆菌病。卓国荣等^[40]将 672 只 45 g 左右的 1 日龄雏鸡分为 4 组，分别饲喂基础日粮、基础日粮+50 mg/kg 杆菌肽锌、基础日粮+25 mg/kg 或 50 mg/kg 噬菌体（ 10^8 PFU/g），并观察雏鸡生长性能、血液特征和粪便微生物的情况，结果发现，饲料中添加 50 mg/kg 噬菌体的雏鸡粪便中大肠杆菌和沙门菌含量较对照组降低了 7.48%，相较于抗生素处理组则下降了 0.68%，表明饲料中添加噬菌体可有效抑制大肠杆菌和沙门菌，效果与抗生素相当。杨文文^[41]对 5 日龄雏鸡用肠炎沙门菌攻毒后进行分组，并分别在其饮水中添加 10^6 PFU 噬菌体和适量多种抗生素，数据显示菌体处理组的雏鸡生存率为 100%，而阿莫西林和新霉素处理组的生存率分别为 65% 和 60%，这表明噬菌体对肠炎沙门菌感染的治疗效果优于阿莫西林和新霉素。

肠道菌群通过影响肠道发育、营养物质利用和免疫反应，从而改善肉鸡的生产性能^[42]。唐路遥^[43]分别将 5×10^8 PFU/mL 的噬菌体鸡尾酒和抗生素添加到饮水中并投喂给 28 日龄的肉鸡，试验期间记录各组肉鸡的采食量、死亡数目、体重变化及身体健康状况，结果显示，与抗生素组相比，噬菌体鸡尾酒可以使家禽肠道乳酸杆菌量显著升高，极显著提高绒毛高度 9.1%，绒毛高度/隐窝深度值 6.5%，并且在肉鸡 56 日龄观测时发现噬菌体组肉鸡较抗生素组日均增重提高 1.1%，日均采食量降低 6.3%，料重比显著降低 9.7%。赵虹泽^[44]评估噬菌体对鸡白痢沙门菌的治疗效果时，发现噬菌体能够使盲肠菌群中肠球菌科、罕见小球菌属和双歧杆菌属的丰度提高，这些益生菌可在肠道内分泌有益物质，增强机体蛋白质代谢，并且能产生丁酸，增强肠道屏障功能，抑制促炎因子表达，维持肠道稳态^[45]。

2.2 噬菌体在净化家禽养殖环境中的应用

规模化养鸡场作为家禽生产链的源头，是致病菌防控的重要环节，定期进行疫病净化可为鸡的生长和生产创造安全的生物环境^[46]。但由于抗生素的滥用，使得耐药菌向养殖环境中扩散，而噬菌体作为环境友好型的生物消毒剂，其对养殖环境中耐药菌的净化效用得到广泛关注^[47-48]。耐药沙门菌可通过被污染的

土壤、水体等方式进入养殖环境中并长期存在，并利用水平传播和垂直传播的恶性循环感染整个养禽生产周期^[49-50]。Pelyuntha 等^[51]利用 3 种从水体分离出的噬菌体，尝试裂解从泰国南部和东部养鸡场中筛选出的 10 株多重耐药沙门菌，结果发现，3 种噬菌体对于多重耐药沙门菌的裂解率分别为 90.9%、95.5%、81.8%，并且耐药菌子代未发生抗噬菌体突变。张佳等^[52]在肉鸡养殖场周围水体分离出的 11 株沙门菌均出现耐药现象，并且多重耐药率高达 63.64%，在噬菌体抑菌试验中发现，当控制噬菌体感染复数 (MOI) 为 1:10 时，细菌生长显著滞后，抑制效果明显。以上结果展现出噬菌体在净化环境中耐药型沙门菌的潜力。Sevilla-Navarro 等^[53]在家禽农业设施表面接种 10^8 CFU/mL 的婴儿沙门菌和肠炎沙门菌，并利用从家禽粪便中筛选的两株特异性噬菌体作为环境消毒剂测试其净化效果，在试验第 5 天发现当婴儿沙门菌和肠炎沙门菌噬菌体浓度分别为 10^8 PFU/mL 和 10^3 PFU/mL 时，可使两种沙门菌分别减少 7 lg CFU/mL 和 4.1 lg CFU/mL，并且整个试验过程中连续使用噬菌体可有效净化沙门菌。此外，Roth 等^[54]发现中国大型家禽产区的鸡源大肠杆菌对氨基糖苷类和磺胺类的耐药率高达 80%，并且耐药大肠杆菌可在鸡场内动物、环境及饲养员中进行克隆传播，因此净化鸡场内的大肠杆菌可有效阻止其耐药基因交流。El-Gohary 等^[55]通过喷洒噬菌体 SPRO2 (2.8×10^8 PFU/mL) 到被大肠杆菌污染过的雏鸡垫料中，使得雏鸡死亡率减低和第 1 周体重显著升高，表明噬菌体净化环境可以降低患染大肠杆菌病的严重程度，并推测噬菌体可在净化环境中大肠杆菌的同时被雏鸡大量摄入。于晓妍等^[56]将噬菌体 Bp7 制成消毒剂 (效价为 0.1×10^9 PFU/mL)，并与生理盐水和葵甲溴铵类消毒剂比较在鸡舍地面、空气、粉尘的灭菌效果。在鸡舍地面，生理盐水组的消毒效果为 (60.1 ± 35.1) 个，葵甲溴铵消毒剂组为 (30.8 ± 26.4) 个，而 Bp7 噬菌体组为 (13.7 ± 12.8) 个，表明噬菌体的杀菌净化效果更为显著。同样在鸡舍空气和粉尘的消毒效果中噬菌体组均显著优于其他两组，证实噬菌体作为绿色、环保的消毒剂对疫病净化的实际应用价值。

上述表明，噬菌体可作为抗生素的替代品去降低家禽肠道有害菌群的含量，有效治疗禽类肠道细菌性疾病，并通过提高肠道益生菌群的丰度，促进肠道消化吸收，提高饲料利用率。噬菌体还可以改变肠黏膜形态结构，提高绒毛高度，从而改善小肠对营养物质的利用率，有利于家禽的生长发育^[57]。同时，噬菌体可以通过净化家禽养殖环境，从源头上减少致病菌

的定制，控制耐药基因交流。因此，噬菌体应用在畜牧生产中可提高家禽的生产性能。

3 噬菌体在猪生产中的应用

3.1 噬菌体在防治断奶仔猪腹泻中的应用

猪是我国畜牧业的主要养殖动物。在现代密集饲养条件下，断奶是猪生产过程中的关键时期^[58]。断奶仔猪因饮食和生活环境等因素产生的应激，会引起肠道微生物群被破坏，大肠杆菌、沙门菌、梭状芽胞杆菌等细菌病原体感染仔猪，造成仔猪产生腹泻等不良反应，给全球生猪产业带来巨大损失^[59]。如今，已有许多研究表明噬菌体可有效降低断奶仔猪的细菌性病原体的数量，并治疗仔猪腹泻降低死亡率。Thanki 等^[60]把干燥后的噬菌体鸡尾酒 ($2.4 \times 10^6 \sim 3 \times 10^8$ PFU/g) 添加到攻毒仔猪饲料中。与对照组相比，噬菌体组仔猪胃组织、十二指肠组织、结肠内容和盲肠内容物中沙门菌的定殖数目都显著下降。Mao 等^[61]研究表明，通过给被大肠杆菌攻毒的断奶仔猪口服囊化噬菌体 A221 (10^9 PFU/mL) 可将肠杆菌科在十二指肠的比例降至 0.64%。同时盲肠和十二指肠的病变减轻，空肠淋巴结、盲肠和脾脏的细菌负荷减轻，显著提高了仔猪日增重。与抗生素对照组相比，噬菌体取得与其相同的效果。Choi 等^[62]通过给体重在 (7.18 ± 0.41) kg 并处于非卫生条件下的断奶仔猪的日粮中添加噬菌体鸡尾酒 (10^8 PFU/kg)。在投喂 14 d 后发现，噬菌体不仅能有效控制仔猪体内变形杆菌门和梭状芽胞杆菌的丰度，提高十二指肠以及空肠绒毛高度，还降低了仔猪体内血清肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 和诱生型 COX (COX-2) 的释放，高浓度的 COX-2 是肠漏的标志^[63]。通过分析仔猪的肠道微生物菌群发现，仔猪肠道内毛螺菌属、乳酸杆菌和双歧杆菌等益生菌的数量大量增加，肠胃中丁酸的含量增多，促进了仔猪的消化与吸收^[64]，使得仔猪的平均日增重和体重大幅增加。Zeng 等^[65]在 25 日龄的断奶仔猪中的日粮中添加 10^8 PFU/g 噬菌体，与抗生素对照组相比，投喂 400 mg/kg 噬菌体的仔猪体内有害菌群的数目减少，腹泻发生率下降。在此基础上，研究发现仔猪体内分泌型免疫球蛋白 A (sIgA)、转化生长因子 α (TGF- α) 和肠三叶因子 (ITF) 的含量升高，表明饲料中添加 400 mg/kg 的噬菌体可以提高仔猪的免疫能力。同时，还提高了空肠内 ZO 蛋白 (ZO-1)、闭合蛋白和密封蛋白的 mRNA 相对表达量，降低了血清 d-乳酸浓度和二胺氧化酶 (DAO) 活性，保护了肠道屏障的完整性。

3.2 噬菌体在净化猪源耐药菌中的应用

仔猪易被耐药菌感染，使得新生仔猪腹泻更难以

防控,并导致仔猪免疫机能低下,死亡率升高,甚至成为耐药菌扩散的源头,噬菌体疗法被给予厚望^[66]。如今,猪源大肠杆菌普遍出现耐药性且以多重耐药型居多,其中作为引发仔猪腹泻的主要病原菌之一的产肠毒素型大肠杆菌(*Enterotoxigenic Escherichia coli*, ETEC)已产生耐药性。Ferreira等^[67]使用海藻酸钠和碳酸钙制成微囊包被噬菌体 FJ1 (1×10^6 PFU/mL),并在体外环境中测试微囊在模拟胃肠液中对噬菌体的保护效果和对 ETEC O9:H9 感染的新生仔猪小肠细胞系 IPEC-1 的治疗效果。体外测试发现,微囊包被的噬菌体 FJ1 在模拟胃肠液中 1 h 后的成活率仍高达 (93.3±8.7)% ,并且在 6 h 内清除 IPEC-1 内 99% 以上的 ETEC,这一结果在给药后 6 h 仍保持显著,证明了噬菌体在仔猪肠道细胞中对抗耐药型 ETEC 是有效的。Han等^[68]给断奶仔猪灌服含有 ETEC K88 和 K99 的缓冲液,并在每日的基础日粮中添加等量可裂解 ETEC K88 和 K99 的噬菌体,结果发现,回肠与盲肠中 ETEC K88 的定殖量显著减少以及粪便中脱落量显著增加,而对 ETEC K99 的治疗效果不显著,但仔猪症状均有缓解,并且平均日增重也显著增加。由于仔猪接触环境中被耐药菌污染的垫料、饲料、饮水会引起发病,并且仔猪排出的粪便也会携带耐药菌,加重环境的污染。韦馨琛^[69]利用噬菌体 EA43P9 和 ET2P2 制成喷雾剂,在模拟污染环境中评估其对猪源多重耐药大肠杆菌的净化效果,试验开始 2 h 后,杀菌率分别高达 98.57%, 98.91%, 而两种噬菌体的混合喷雾剂杀菌效率更是高达 99.68%。

上述说明,噬菌体可有效净化猪源耐药型细菌,并减少断奶仔猪肠道内的致病性细菌的定殖,同时提高益生菌(乳酸杆菌、双歧杆菌)丰度和丁酸含量,改善肠道结构,提高饲料的消化利用效率,使得生产性能各项指数显著升高^[70-71]。

4 噬菌体在反刍动物生产中的应用

4.1 噬菌体在防治犊牛腹泻中的应用

反刍动物可提供人类必需的肉、奶、皮等农产品,使其成为畜牧养殖的重要角色之一。牛是单胎动物,通常 1 胎产 1 犊,所以由腹泻引发的犊牛死亡给养殖户带来巨大的经济损失。调查研究显示,有 28% 以上的犊牛腹泻是由致病性大肠杆菌引起,病牛生长缓慢,易感染其他疾病且极易死亡^[72-73]。Schmoeller等^[74]将 200 只饲喂了 2 d 初乳的牛犊分组,噬菌体组每日饲料添加 1 g 的噬菌体 (1.8×10^6 PFU)。与对照组相比,噬菌体组的犊牛出现腹泻的数目较少,且患病犊牛的腹泻天数减少,平均日增重和终末体重均增高,说明噬菌体可有效预防治疗犊牛

腹泻。Alomari等^[75]把 3 种大肠杆菌噬菌体 (10^9 PFU/mL) 和乳酸菌制成栓剂,同时把 3~7 日龄的犊牛分为健康犊牛对照组(不投喂栓剂)、攻毒犊牛对照组、服用栓剂的健康犊牛组、服用栓剂的攻毒犊牛组,结果表明,服用栓剂的健康犊牛组无腹泻症状且未见大肠杆菌再定殖,而攻毒犊牛组在服用栓剂的 24 h 后腹泻率下降至 20%,表明服用栓剂可有效预防和治疗腹泻,同时,试验发现服用栓剂的犊牛组体内免疫球蛋白 A (IgA)、免疫球蛋白 G (IgG)、干扰素 γ (IFN- γ) 和溶菌酶相较于对照组体内浓度高,说明栓剂可刺激犊牛体内的特异性免疫和非特异性免疫。Jeong等^[76]给断奶前的雄性荷斯坦犊牛的日粮中添加 0.1% 的商用噬菌体,发现在断奶后两周,未服用噬菌体的犊牛存活率为 50%,而服用噬菌体的犊牛成活率为 70%,此外,试验组犊牛的粪便中的大肠杆菌 $10^{3.5}$ CFU/g,而对照组犊牛粪便中的大肠杆菌为 $10^{4.7}$ CFU/g,表明饲料中添加噬菌体有效提高了犊牛的存活率,降低了犊牛体内的大肠杆菌数目。

4.2 噬菌体对大肠杆菌 O157:H7 的净化效果

由于绝大部分携带大肠杆菌 O157:H7 的牛不表现任何临床症状,使得食品安全受到了威胁。大肠杆菌 O157:H7 和金黄色葡萄球菌可通过反刍动物的肉制品和奶制品进入食物链造成人群感染,感染致病菌后会出现腹部绞痛和非出血性腹泻,患病严重者可能发展成急性肾衰竭而死亡^[77-78]。Rozema等^[79]分别给攻毒育肥牛口服噬菌体 (3.3×10^{11} PFU/mL) 和直肠注射噬菌体 (1.5×10^{11} PFU/mL),发现口服和直肠注射噬菌体均能有效降低大肠杆菌 O157:H7 的数目。Bach等^[80]给绵羊口服噬菌体鸡尾酒 (10^{10} PFU/mL),发现在服用 8 d 后,肠道内大肠杆菌 O157:H7 的数目迅速减少,这与 Raya等^[81]的研究结论相似。Gill等^[82]向奶牛乳房内每日注射 10 mL 噬菌体 (1.25×10^{11} PFU/mL) 或生理盐水来治疗 24 头由金黄色葡萄球菌引发的乳腺炎的荷斯坦奶牛,5 d 后,噬菌体治疗组的治愈率为 16.7%,而生理盐水组则全部没有治愈。

4.3 噬菌体在净化反刍动物养殖环境中的应用

反刍动物养殖环境的卫生水平直接或间接决定了细菌疾病的感染率,因此研发绿色安全的环境消毒剂对于反刍动物的生产十分关键。Nickodem等^[83]将噬菌体鸡尾酒 ($2 \times 10^{10} \sim 6 \times 10^{10}$ PFU/mL) 喷洒到牛圈表面,并在第 0、7、14、21 天分别收集牛皮拭子样本(包括胸部和臀部)和粪便样本。试验第 0 天,样本中均检测出携带 ARGs 的沙门菌,其中粪便样本的沙门菌感染率为 38.2%,胸部和臀部牛皮样本的感染率分别达 78.7% 和 80.9%;当试验结束后发现

经噬菌体鸡尾酒喷洒的区域的粪便、胸部和臀部样本最低感染率分别下降到 12.5%、18.4%、15.6%，证明了噬菌体可有效净化牛圈中的耐药型沙门菌。Flach 等^[84]按照商用噬菌体配方 Finalyse，配制牛皮洗涤剂，并将牛圈中 1 800 头牛进行喷淋洗涤；肉牛在洗涤前首先经过外部栏，并在干预栏中进行洗涤，之后进入内部栏，洗涤处理后，工作人员每周 3 次穿戴无纺布鞋套在牛圈内按规定路径行走，采集靴拭子样本；分析一个月内的样本发现，干预栏的靴拭子样本中的大肠杆菌 O157:H7、O26 和 O45 含量相较于其他栏显著降低，意味着在牛圈中喷洒噬菌体，可能有助于环境中大肠杆菌 O157:H7、O26 和 O45 的减少。喻胜猛^[85]将 6 种噬菌体制成噬菌体鸡尾酒 (10^9 PFU/mL) 并装入无菌喷壶，均匀喷洒至含有羊源大肠杆菌的透明箱内，发现噬菌体鸡尾酒可在 0.5 h 内消灭模拟环境中绝大多数的细菌，证明噬菌体均具有良好的环境净化能力，且宿主菌与噬菌体作用 6 h 后产生抗性概率的结果表示，宿主菌突变率在 $10^4 \sim 10^6$ 之间，说明对于宿主菌突变影响低，具有很好的实际应用价值。

以上表明，噬菌体可作为抗生素的替代品来降低反刍动物体内大肠杆菌 O157:H7 的阳性率，并且可有效防治由细菌性病原体引发的腹泻和乳腺炎，从而提高了反刍动物生产产品的质量品质和生产性能。此外噬菌体对环境出色的净化效果，使反刍动物的患病概率大大降低。

5 展望

在畜牧生产的过程中，合理利用噬菌体不仅可以治疗细菌性病原体引发的疾病、降低畜禽幼仔死亡率和提高畜禽生产性能，还可抑制耐药型细菌传播，净化畜禽养殖环境。但是，由于噬菌体在畜牧生产中仍未有统一标准，所以调节噬菌体宿主范围、确定噬菌体添加的最佳剂量及研发安全高效的给药剂型等问题仍是今后的研究重点。同时，为了安全高效的应用噬菌体，对于细菌耐受噬菌体的机制、动物自身免疫对于噬菌体的影响和噬菌体和病毒协同进化等问题仍需进一步深入研究。

参考文献:

- [1] OSEI E K, MAHONY J, KENNY J G. From farm to fork: streptococcus suis as a model for the development of novel phage-based bio-control agents [J]. *Viruses*, 2022, 14 (9): 1996.
- [2] DEWI G, JOHNY A K. *Lactobacillus* in food animal production: a forerunner for clean label prospects in animal-derived products [J]. *Front Sustain Food Syst*, 2022, 6: 831195.
- [3] GAIO D, DEMAERE M Z, ANANTANAWAT K, et al. Phylogenetic diversity analysis of shotgun metagenomic reads describes gut microbiome development and treatment effects in the post-weaned pig [J]. *PLoS One*, 2022, 17 (6): e0270372.
- [4] TWORT F W. Further investigations on the nature of ultra-microscopic viruses and their cultivation [J]. *J Hyg (Lond)*, 1936, 36 (2): 204-235.
- [5] D'HERELLE F. On an invisible microbe antagonistic dysenteric bacilli: brief note by Mr. F. D'Herelle presented by Mr. Roux [J]. *Res Microbiol*, 2007, 158 (7): 553-554.
- [6] PERROS M. A sustainable model for antibiotics [J]. *Science*, 2015, 347 (6226): 1062-1064.
- [7] MORRISON L, ZEMBOWER T R. Antimicrobial resistance [J]. *Gastrointest Endosc Clin N Am*, 2020, 30 (4): 619-635.
- [8] 李萍. 肺炎克雷伯菌噬菌体及其抗菌酶的活性研究 [D]. 扬州: 扬州大学, 2023.
- [9] WITTEBOLE X, DE ROOCK S, OPAL S M. A historical overview of bacteriophage therapy as an alternative to antibiotics for the treatment of bacterial pathogens [J]. *Virulence*, 2014, 5 (1): 226-235.
- [10] CHOPRA S, HARJAI K, CHHIBBER S. Potential of combination therapy of endolysin MR-10 and minocycline in treating MRSA induced systemic and localized burn wound infections in mice [J]. *Int J Med Microbiol*, 2016, 306 (8): 707-716.
- [11] SCHOLL D. Phage tail-like bacteriocins [J]. *Annu Rev Virol*, 2017, 4 (1): 453-467.
- [12] ACKERMANN H W. 5500 Phages examined in the electron microscope [J]. *Arch Virol*, 2007, 152 (2): 227-243.
- [13] 冯焯, 刘军, 孙洋, 等. 噬菌体最新分类与命名 [J]. *中国兽医学报*, 2013, 33 (12): 1954-1958.
- [14] FABIJAN A P, IREDELL J, DANIS-WLODARCZYK K, et al. Translating phage therapy into the clinic: recent accomplishments but continuing challenges [J]. *PLoS Biology*, 2023, 21 (5): e3002119.
- [15] 李凡, 于振兴, 张明, 等. 噬菌体受体结合蛋白及其宿主谱扩展的相关研究进展 [J]. *食品科学*, 2023, 44 (23): 252-260.
- [16] DOMINGO-CALAP P, DELGADO-MARTÍNEZ J. Bacteriophages: protagonists of a post-antibiotic era [J]. *Antibiotics (Basel)*, 2018, 7 (3): 66.
- [17] KORTRIGHT K E, CHAN B K, KOFF J L, et al. Phage therapy: a renewed approach to combat antibiotic-resistant bacteria [J]. *Cell Host Microbe*, 2019, 25 (2): 219-232.
- [18] HAGENS S, LOESSNER M J. Application of bacteriophages for detection and control of foodborne pathogens [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2007, 76 (3): 513-519.
- [19] DUFOUR N, DELATTRE R, CHEVALLEREAU A, et al. Phage therapy of pneumonia is not associated with an overstimulation of the inflammatory response compared to antibiotic treatment in mice [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2019, 63 (8): e00379-19.
- [20] FONG S A, DRILLING A J, OOI M L, et al. Safety and efficacy of a bacteriophage cocktail in an *in vivo* model of *Pseudomonas aeruginosa* sinusitis [J]. *Transl Res*, 2019, 206: 41-56.
- [21] FEBVRE H P, RAO S, GINDIN M, et al. PHAGE Study: effects of supplemental bacteriophage intake on inflammation and gut microbiota in healthy adults [J]. *Nutrients*, 2019, 11 (3): 666.

- [22] 张润润, 张顺宜, 楼倚洋, 等. 食品工业中细菌生物被膜研究进展 [J]. 浙江大学学报 (农业与生命科学版), 2024, 50 (4): 1-18.
- [23] 郝柳杭, 谢自强, 宋瑞铭, 等. 噬菌体清除沙门菌生物被膜应用研究进展 [J]. 现代畜牧兽医, 2023 (11): 78-83.
- [24] 黄涵. 污水厂中多重耐药菌的筛选鉴定及耐药机制研究 [D]. 哈尔滨: 哈尔滨师范大学, 2023.
- [25] PARASION S, KWIAK M, GRYKO R, et al. Bacteriophages as an alternative strategy for fighting biofilm development [J]. Pol J Microbiol, 2014, 63 (2): 137-145.
- [26] KARACA B, AKCELIK N, AKCELIK M. Effects of P22 bacteriophage on *Salmonella enterica* subsp entericaserovar typhimurium dmc4 strain biofilm formation and eradication [J]. Arch Biol Sci, 2015, 67 (4): 1361-1367.
- [27] ZHOU X, LIU Y, XIONG X, et al. Intestinal accumulation of microbiota-produced succinate caused by loss of microRNAs leads to diarrhea in weanling piglets [J]. Gut Microbes, 2022, 14 (1): 2091369.
- [28] 陈宗月, 杨雨卉, 罗羽. 噬菌体在医院环境消毒灭菌中应用的研究进展 [J]. 护理研究, 2023, 37 (13): 2365-2369.
- [29] 葛龙, 石永顺, 贺永超, 等. 噬菌体、益生菌、抗菌肽对肉兔生长性能、肠道菌群及屠宰性能的影响 [J]. 饲料研究, 2022, 45 (4): 119-122.
- [30] BRIERS Y, WALMAGH M, GRYMONPREZ B, et al. Art-175 is a highly efficient antibacterial against multidrug-resistant strains and persists of *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Antimicro Agents Chemother, 2014, 58 (7): 3774-3784.
- [31] 吴亚迪, 常嘉琪, 金何雨洁, 等. 噬菌体保藏方法研究综述 [J]. 聊城大学学报 (自然科学版), 2023, 36 (6): 1-9.
- [32] MALIK D J, SOKOLOV I J, VINNER G K, et al. Formulation, stabilisation and encapsulation of bacteriophage for phage therapy [J]. Adv Colloid Interface Sci, 2017, 249: 100-133.
- [33] 钟卓君, 饶贤才, 乐率. 细菌耐噬菌体感染的分子机制研究进展 [J]. 微生物学通报, 2021, 48 (9): 3249-3260.
- [34] 孙素越, 于姣阳, 王卫晓, 等. 铜绿假单胞菌噬菌体 vB_{PaeM}-YQ78 生物学与基因组特征及其裂解酶的改造 [J]. 中国抗生素杂志, 2023, 48 (9): 1037-1047.
- [35] 石潋含, 王秀丽, 圣朝军, 等. 噬菌体 PCCM_{Kp}P1172 的鉴定及其对大蜡螟幼虫碳青霉烯耐药高毒力肺炎克雷伯菌感染的疗效评估 [J]. 解放军医学院学报, 2023, 48 (9): 1-9.
- [36] ADETUNJI C, ADEJUMO I. Potency of agricultural wastes in mushroom (*Pleurotus sajor-caju*) biotechnology for feeding broiler chicks (*Arbor acre*) [J]. Int J Recycl Org Waste Agricult, 2019, 8 (1): 37-45.
- [37] 龚秀香. 禽大肠杆菌病的病状与防控 [J]. 畜牧兽医学 (电子版), 2017, 2017: 78.
- [38] 谢兰强. 禽伤寒的诊断方法与防治措施分析 [J]. 家禽科学, 2020 (9): 30-31.
- [39] NICOLAS M, FAURIE A, GIRAULT M, et al. *In ovo* administration of a phage cocktail partially prevents colibacillosis in chicks [J]. Poult Sci, 2023, 102 (11): 102967.
- [40] 卓国荣, 付学智, 丁丽军, 等. 噬菌体对肉鸡生长性能、血液特征和微生物脱落的影响 [J]. 中国饲料, 2021 (14): 49-52.
- [41] 杨文文. 鸡源沙门菌分离鉴定及噬菌体治疗效果研究 [D]. 聊城: 聊城大学, 2022.
- [42] THOMAS M, WONGKUNA S, GHIMIRE S, et al. Gutmicrobial dynamics during conventionalization of germfree chicken [J]. mSphere, 2019, 4 (2): e00035-19.
- [43] 唐路遥. 噬菌体鸡尾酒对肉鸡生长性能的影响 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2022.
- [44] 赵虹泽. 噬菌体对鸡白痢治疗效果评价及其对盲肠菌群的影响 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2022.
- [45] 齐梦迪, 李铁, 张克英, 等. 枯草芽孢杆菌和屎肠球菌长期添加对蛋鸡生产性能、蛋品质和血清指标的影响 [J]. 动物营养学报, 2023, 35 (10): 6387-6401.
- [46] 李朋朋, 李传栋, 陈真, 等. 癸甲溴铵溶液在鸡场不同应用场景区的消毒效果研究 [J]. 中国家禽, 2024, 46 (9): 128-134.
- [47] 史晓敏, 王少林. 食品动物养殖环境中细菌耐药性研究进展 [J]. 生物工程学报, 2018, 34 (8): 1234-1245.
- [48] 吕兴帮, 郝贺, 张博, 等. 噬菌体对鸡肠炎沙门菌的防治研究 [J]. 现代畜牧兽医, 2022 (1): 88-91.
- [49] 王黎. 广西优质鸡种鸡场沙门菌污染调查及其替抗产品的研究 [D]. 南宁: 广西大学, 2022.
- [50] WERNICKI A, NOWACZEK A, URBAN-CHMIEL R. Bacteriophage therapy to combat bacterial infections in poultry [J]. Virol J, 2017, 14 (1): 179.
- [51] PELYUNTHA W, NGASAMAN R, YINGKAJORN M, et al. Isolation and characterization of potential *Salmonella phages* targeting multidrug-resistant and major serovars of *Salmonella* derived from broiler production chain in Thailand [J]. Front Microbiol, 2021, 12: 662461.
- [52] 张佳, 李倩园, 董艺博, 等. 肉鸡养殖场环境水体中沙门菌的耐药性与噬菌体的抑菌作用 [J]. 中国兽医杂志, 2022, 58 (7): 33-37.
- [53] SEVILLA-NAVARRO S, CATALÁ-GREGORI P, GARCÍA C, et al. *Salmonella infantis* and *Salmonella enteritidis* specific bacteriophages isolated from poultry faeces as a complementary tool for cleaning and disinfection against *Salmonella* [J]. Comp Immunol Microbiol Infect Dis, 2020, 68: 101405.
- [54] ROTH N, KÄSBOHRER A, MAYRHOFER S, et al. The application of antibiotics in broiler production and the resulting antibiotic resistance in *Escherichia coli*: a global overview [J]. Poult Sci, 2019, 98 (4): 1791-1804.
- [55] EL-GOHARY F A, HUFF W E, HUFF G R, et al. Environmental augmentation with bacteriophage prevents colibacillosis in broiler chickens [J]. Poult Sci, 2014, 93 (11): 2788-2792.
- [56] 于晓妍, 颜晨, 任景乐, 等. 大肠杆菌噬菌体 Bp7 对鸡舍环境的消毒效果 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2016 (10): 107-109.
- [57] OKUMURA R, TAKEDA K. Maintenance of intestinal homeostasis by mucosal barriers [J]. Inflamm Regen, 2018, 38: 5.
- [58] GRESSE R, CHAUCHEYRAS-DURAND F, FLEURY M A, et al. Gutmicrobiota dysbiosis in postweaning piglets: understanding the keys to health [J]. Trends Microbiol, 2017, 25 (10): 851-873.
- [59] LALLÈS J-P, BOSI P, SMIDT H, et al. Nutritional management of gut health in pigs around weaning [J]. Proc Nutr Soc, 2007, 66 (2): 260-268.
- [60] THANKI A M, MIGNARD G, ATTERBURY R J, et al. Prophylactic delivery of a bacteriophage cocktail in feed significantly reduces *Salmonella* colonization in pigs [J]. Microbiol Spectr, 2022, 10 (3): e0042222.

- [61] MAO X, WU Y, MA R, et al. Oral phage therapy with microencapsulated phage A221 against *Escherichia coli* infections in weaned piglets [J]. BMC Vet Res, 2023, 19 (1): 165.
- [62] CHOI Y, HOSSEINDOUST A, HA S H, et al. Effects of dietary supplementation of bacteriophage cocktail on health status of weanling pigs in a non-sanitary environment [J]. J Anim Sci Biotechnol, 2023, 14 (1): 64.
- [63] HU R, HE Z, LIU M, et al. Dietary protocatechuic acid ameliorates inflammation and up-regulates intestinal tight junction proteins by modulating gut microbiota in LPS-challenged piglets [J]. J Anim Sci Biotechnol, 2020, 11 (1): 92.
- [64] 徐菊美. 丁酸钠对猪肠黏膜免疫、肠道发育和菌群区系的影响 [D]. 南京: 南京农业大学, 2017.
- [65] ZENG Y, WANG Z, ZOU T, et al. Bacteriophage as an alternative to antibiotics promotes growth performance by regulating intestinal inflammation, intestinal barrier function and gut microbiota in weaned piglets [J]. Front Vet Sci, 2021, 8: 623899.
- [66] 刘哲, 孙洋, 纪雪, 等. 仔猪腹泻大肠杆菌流行株鉴定及毒力与耐药性分析 [J]. 中国畜牧兽医, 2017, 44 (4): 1226-1232.
- [67] FERREIRA A, SILVA D, ALMEIDA C, et al. Effect of phage vB_EcoM_FJ1 on the reduction of ETEC O9: H9 infection in a neonatal pig cell line [J]. Vet Res, 2023, 54 (1): 26.
- [68] HAN S J, OH Y, LEE C Y, et al. Efficacy of dietary supplementation of bacteriophages in treatment of concurrent infections with enterotoxigenic *Escherichia coli* K88 and K99 in postweaning pigs [J]. J Swine Health Prod, 2016, 24 (5): 259-263.
- [69] 韦馨琛. 猪源致病性大肠杆菌噬菌体的分离鉴定及其对环境耐药的杀灭效果评估 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2023.
- [70] 曾永娣, 王自蕊, 邹田德, 等. 噬菌体对断奶仔猪生长性能、肠道内容物 pH、挥发性脂肪酸含量和二糖酶活性的影响 [J]. 动物营养学报, 2020, 32 (2): 682-690.
- [71] 孙新城, 许素月, 李侠颖, 等. 噬菌体在畜牧养殖及肉制品加工中的应用 [J]. 动物医学进展, 2022, 43 (7): 103-107.
- [72] 潘文艳. 新生犊牛腹泻的原因及防治措施 [J]. 兽医导刊, 2021 (19): 32-33.
- [73] 李叔伟, 刘新雷, 姜丽萍, 等. 细菌性犊牛腹泻的防治 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2011 (20): 88-89.
- [74] SCHMOELLER E, DE MATOS A D C, RAHAL N M, et al. Diarrhea duration and performance outcomes of pre-weaned dairy calves supplemented with bacteriophage [J]. Can J Anim Sci, 2022, 102 (1): 165-174.
- [75] ALOMARI M M M, DEC M, NOWACZEK A, et al. Therapeutic and prophylactic effect of the experimental bacteriophage treatment to control diarrhea caused by *E. coli* in newborn calves [J]. ACS Infect Dis, 2021, 7 (8): 2093-2101.
- [76] JEONG S, JO N, LEE J J, et al. Effects of β -mannanase and bacteriophage supplementation on health and growth performance of Holstein calves [J]. Animals (Basel), 2021, 11 (2): 372.
- [77] 山珊, 赖卫华, 陈明慧, 等. 农产品中大肠杆菌 O157: H7 的来源及分布研究进展 [J]. 食品科学, 2014, 35 (1): 289-293.
- [78] 牛冬燕. 应用噬菌体控制牛及其饲养环境中大肠杆菌 O157: H7 的研究 [D]. 大连: 大连理工大学, 2009.
- [79] ROZEMA E A, STEPHENS T P, BACH S J, et al. Oral and rectal administration of bacteriophages for control of *Escherichia coli* O157: H7 in feedlot cattle [J]. J Food Prot, 2009, 72 (2): 241-250.
- [80] BACH S J, JOHNSON R P, STANFORD K, et al. Bacteriophages reduce *Escherichia coli* O157: H7 levels in experimentally inoculated sheep [J]. Can J Anim Sci, 2009, 89 (2): 285-293.
- [81] RAYA R R, OOT R A, MOORE-MALEY B, et al. Naturally resident and exogenously applied T4-like and T5-like bacteriophages can reduce *Escherichia coli* O157: H7 levels in sheep guts [J]. Bacteriophage, 2011, 1 (1): 15-24.
- [82] GILL J J, PACAN J C, CARSON M E, et al. Efficacy and pharmacokinetics of bacteriophage therapy in treatment of subclinical *Staphylococcus aureus* mastitis in lactating dairy cattle [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2006, 50 (9): 2912-2918.
- [83] NICKODEM C A, ARNOLD A N, BECK M R, et al. An experimental field trial investigating the use of bacteriophage and manure slurry applications in beef cattle feedlot pens for *Salmonella* mitigation [J]. Animals (Basel), 2023, 13 (20): 3170.
- [84] FLACH M G, DOGAN O B, MILLER M F, et al. Validation of abacteriophage hide application to reduce STEC in the lairage area of commercial beef cattle operations [J]. Foods, 2023, 12 (23): 4349.
- [85] 喻胜猛. 致羊腹泻大肠杆菌噬菌体的分离鉴定及其在环境中的杀菌效果评估 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2023.