

噬菌体裂解酶防控食源性病原菌研究进展

张小燕¹, 唐梦君¹, 周倩¹, 郭翔宇², 唐修君¹, 陆俊贤¹, 高玉时^{1*}

(1. 江苏省家禽科学研究所, 江苏扬州 225125) (2. 扬州大学生物科学与技术学院, 江苏扬州 225009)

摘要: 食源性致病菌是危害人类健康和社会经济的重要因素, 食品从“农场”到“餐桌”全链条过程中的各个环节都有可能被致病菌污染而引发食源性疾病。随着全球耐药问题的日益严峻, 迫切需要研发食源性病原菌新型控制方法。噬菌体裂解酶是大部分烈性噬菌体合成的活性蛋白, 能裂解细菌细胞壁, 作为一种杀菌功能蛋白, 因其较强的杀菌活性、宿主特异性、不易产生耐药及具有工程改造潜力等特点而受到研究者们越来越多的关注。本综述描述了噬菌体裂解酶的分类、结构及杀菌特性, 讨论了革兰氏阴性菌噬菌体裂解酶的增效策略, 总结了噬菌体裂解酶防控食源性致病菌的最新研究进展并展望了其应用前景, 以期对耐药食源性病原菌的防控新策略提供参考。

关键词: 噬菌体裂解酶; 食源性病原菌; 防控

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.2.1500

Research Progress of Phage Lysins in Controlling Foodborne Pathogens

ZHANG Xiaoyan¹, TANG Mengjun¹, ZHOU Qian¹, GUO Xiangyu², TANG Xiujun¹, LU Junxian¹, GAO Yushi^{1*}

(1.Jiangsu Institute of Poultry Science, Yangzhou 225125, China)

(2.College of Bioscience and Biotechnology, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

Abstract: Foodborne pathogens are the most important factor causing a threat to human health and economies. Pathogenic bacteria can cause foodborne diseases and contamination at any step of the food supply chain. With the global antimicrobial resistance crisis, there is an urgent necessary to develop novel techniques for controlling foodborne bacteria. Phage lysins are phage-derived lytic proteins that degrade the peptidoglycan layer of the bacterial cell wall at the end of the phage replication cycle. They have several benefits, such as rapid bacterial lysis, high specificity for the target bacterium, low resistance potential of bacterial-resistant mutants, and good potential for engineering. Lysins have been investigated by more and more researchers. This review described the modular structures and classifications of phage lysins, discussed the strategies of enhancing their cleavage activity against Gram-negative pathogens and summarized the recent progress in the applications of lysins in food industry, and it also presents the future perspectives on the development of lysins for food safety. Thus, it provides crucial information for controlling drug-resistant foodborne pathogens.

Key words: phage lysins; foodborne pathogens; control

食源性致病菌 (Foodborne Pathogen) 是引起食源性疾病的首要因素。食品从“农场”到“餐桌”的全链条过程中的各个环节都有可能被致病菌污染而引发食源性疾病, 给人类健康带来严重威胁。常见的食源性致病菌主要有沙门氏菌、空肠弯曲杆菌、副溶血性弧菌、金黄色葡萄球菌、单增李斯特菌、志贺菌、肉毒杆菌和溶血性链球菌等^[1]。细菌性食源性病原菌通常会以两种方式导致疾病, 首先通过定植穿透胃肠道黏膜, 对上皮细胞损伤而引起腹泻, 这种方式致病的病原菌是肠杆菌如空肠弯曲杆菌、单增李斯特菌, 某些情况下会进一步发展为全身性系统疾病如败血症等; 另一种可通过产生毒素导致疾病, 如产气荚膜梭菌、产志贺毒素大肠杆菌 O157、蜡样芽孢杆菌和肉毒杆菌^[2]。在中国, 对食品安全的最大威胁也是食源性病原菌污染。2021 年全国共报告食源性疾病暴发事件 5 493 起, 其中微生物性事件导致的发病人数最多, 占 50.47%^[3]。2022 年中国大陆食源性疾病暴发监测资料分析数据也显示, 微生物性致病因子导致的发病人数最多, 占 38.43% (6 106/15 887)^[4]。因此, 对食品中致病菌的安全有效防控是保障食品安全的必要手段。

收稿日期: 2024-10-11; 修回日期: 2025-01-07; 接受日期: 2025-01-08

基金项目: 江苏省种业振兴揭榜挂帅项目 (JBGS(2021)109); 扬州市社会发展项目 (YZ2024065)

作者简介: 张小燕 (1977-), 女, 博士, 研究员, 研究方向: 病原微生物控制与耐药性研究, E-mail: xiaoyanpanda@163.com

通讯作者: 高玉时 (1967-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 禽产品质量安全控制与品质评价, E-mail: gaoy100@sina.com

对食源性致病菌的传统杀菌技术中,基于热加工的杀菌方法有可能改变食品感官,同时破坏食品本身的营养与质地;辐照杀菌能有效杀死大多数物质上的病原菌,但该方法同样存在影响食品色泽、风味和质地的缺点,同时因各国历史、生活习惯及法规差异等降低了消费者对其可接受性;抗生素及消毒剂杀菌不仅容易诱导产生细菌耐药性,而且有可能导致细菌进入“活的不可培养状态”,从而增加食品二次污染的风险^[5]。

抗生素的不合理使用导致细菌对抗生素产生耐药性,严重威胁人类的生存和健康,全球或将面临药品无效和持续性细菌感染风险的“后抗生素时代”。若不采取行动,预测到2050年,每年将有1000万人因抗生素耐药导致死亡^[6]。多重耐药食源性病原菌的不断出现和传播,也加剧了食源性致病菌的潜在风险,成为公共卫生关注的焦点。因此迫切需要研究和开发新型生物制剂来防控食源性病原菌。噬菌体裂解酶作为一种新型抗菌蛋白在应对耐药性细菌方面具有较多优势,本文对噬菌体裂解酶防控食源性病原菌方面的研究进展和未来发展趋势进行综述,以为耐药性食源性病原菌的防控新策略提供参考。

1 噬菌体裂解酶的类型、结构及其作用特点

1.1 裂解酶的分类

噬菌体裂解酶(Lysin)又被称为内溶素(Endolysin),是一类由噬菌体编码的水解酶,可以降解细菌的细胞壁肽聚糖成分^[7,8]。裂解酶产生的时间一般在噬菌体感染宿主的后期,通过其作用肽聚糖上的酰胺键使细胞壁结构破坏,从而释放出噬菌体。根据肽聚糖上的水解位点,噬菌体裂解酶一般可分为至少5类:①胞壁酰胺酶(N-acetyl Muramidase),裂解N-乙酰胞壁酸(N-acetylmuramic Acid, NAM)的 β -(1,4)糖苷键和N-乙酰葡萄糖胺(N-acetylglucosamines, NAG);②N-乙酰基- β -D-氨基葡萄糖苷酶(N-acetyl- β -D-glucosaminidase),裂解NAG的 β -(1,4)糖苷键和NAM;③N-乙酰基胞壁酰-L-丙氨酸酰胺酶(N-acetylmuramoyl-L-alanine Amidase),裂解NAM和L-丙氨酸(L-Alanine)之间的酰胺键;④内肽酶(Endopeptidase),切割肽链的肽键;⑤裂解性转糖苷酶(Lytic Transglycosylase),通过与胞壁酰胺酶不同的机制切割NAM和NAG的 β -(1,4)糖苷^[9](图1)。

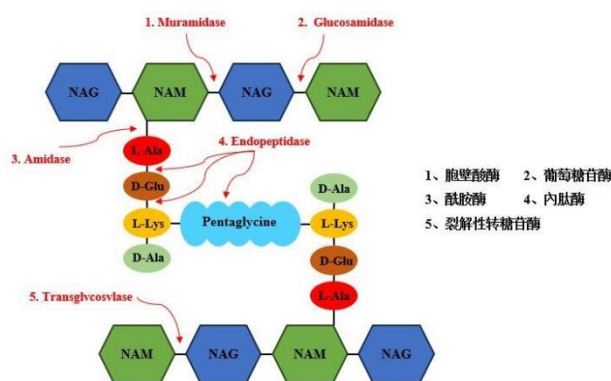


图1 裂解酶的分类(以肽聚糖上的作用位点作为分类依据)

Fig.1 Classification of lysins (Based on the action sites on peptidoglycan)

1.2 裂解酶的结构

细菌不同,其噬菌体裂解酶的结构也存在差异。大多数革兰氏阳性菌噬菌体裂解酶通常有“双结构域”的模块化特点,由2个不同活性的结构域组成:N-端酶活性结构域(Enzymatically Active Domain, EAD)和C-端细胞壁结合结构域(Cell Wall Binding Domain, CBD),两者之间通过一小段肽链相连^[10,11](图2A)。EAD具有催化活性,可特异性地裂解宿主菌肽聚糖中的化学键使肽聚糖分解从而破坏细胞壁。CBD通过与细菌细胞壁受体的特异性识别和结合使裂解酶正确定位于肽聚糖层,进一步发挥EAD的催化作用^[12,13]。革兰氏阴性菌外膜结构(Outer Membrane, OM)的存在可有效阻止外源蛋白进入细胞内部,为细菌提供天然屏障。革兰氏阴性菌噬菌体裂解酶通常为只有催化结构域而缺失结合结构域的单域结构,带有单个EAD以破坏细胞壁,其C-末端往往携带正电荷基团^[14]。另外也有一些革兰氏阴性菌噬菌体裂解酶呈现类似的模块化结构,但与革兰氏阳性菌裂解酶相反的是其N-端含有CBD而C-端含有EAD,这类模块化结构赋予裂解酶更强的裂解活性^[15](图2B)。通过对噬菌体裂解酶

的结构解析发现，它在抗菌抑菌作用方面具有良好的结构基础，有希望开发成为新型抗菌剂^[16]。

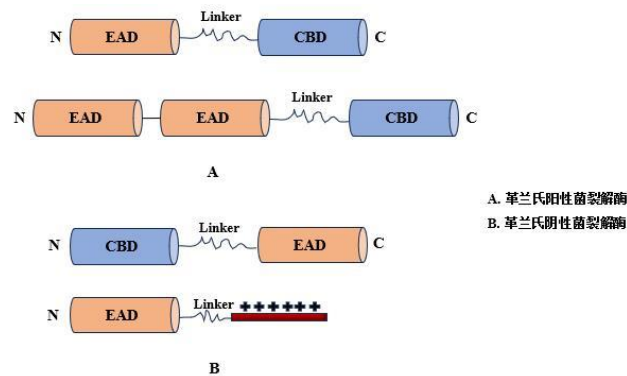


图 2 裂解酶的一般结构

Fig.2 Structures of phage lysins

1.3 裂解酶的特点与优势

1.3.1 较宽裂解谱

噬菌体需要通过侵染、复制、繁殖的过程从体内裂解细菌，而噬菌体裂解酶可特异性地识别细菌细胞壁受体分子，从体外将细菌溶解。因此，噬菌体裂解酶的裂解谱比噬菌体的裂解谱更为宽泛。Siphoviridae 家族噬菌体 PBC1 只对 22 种受试蜡样芽孢杆菌菌株中的一种有裂解作用，其宿主特异性极窄，而其裂解酶 LysPBC1 对所有测试的蜡样芽孢杆菌菌株和芽孢杆菌属的其他成员如枯草芽孢杆菌、巨型芽孢杆菌和地衣芽孢杆菌均表现出裂解性^[17]。纯化的噬菌体裂解酶比噬菌体 DLn1 更显著地减少了牛奶中蜡样芽孢杆菌的数量^[18]。Peng 等^[19]也报道了一种新的蜡样芽孢杆菌噬菌体裂解酶与其噬菌体相比表现出更广泛的裂解谱、更宽的 pH 耐受性和更高的温度稳定性。

1.3.2 较少耐药性

裂解性噬菌体遗传物质中可能携带的耐药基因和毒力基因制约了噬菌体的临床应用，细菌本身也可通过突变、受体修饰、被动适应和假溶原等方式对噬菌体产生耐药性^[20]。但裂解酶作用位点一般都高度保守，使得细菌对裂解酶很难产生抗性。研究者通过实验发现芽孢杆菌和耐甲氧西林金黄色葡萄球菌（Methicillin-resistant Staphylococcus Aureus, MRSA）对其相应的裂解酶 PlyG 和 ClyS 不产生耐药性，而使用相同方法经抗生素处理的菌株产生了抗生素耐药性^[21,22]。利用基因重组技术体外表达的噬菌体裂解酶应用于易感细菌时会表现出与其天然对应物相似的有效裂解能力，且迄今为止没有关于细菌对噬菌体裂解酶产生耐药性的报道，这一特点为噬菌体裂解酶在食品及其他领域中的应用奠定了基础^[11,23,24]。

1.3.3 不影响正常菌群

人体正常微生物菌群可形成物理屏障，保护宿主免受病原体的攻击。而广谱抗生素易干扰现有微生物群，导致菌群生态失调并产生不利影响^[25]。与典型的广谱抗生素相比，噬菌体裂解酶可以靶向特定的细菌种类，对周围微生物组的不良影响较小，并且没有细菌耐药机制。由于这些特性，噬菌体裂解酶被分配到一类新的抗菌药物中，称之为酶抗生素（Enzybiotics）^[26]。Imanishi 等^[27]研究了重组裂解酶 S25-3 对金黄色葡萄球菌的治疗潜力后发现，局部使用重组裂解酶 S25-3 减少了表皮葡萄球菌的数量且提高了皮肤微生物群的多样性。这些研究表明，噬菌体裂解酶对人体微生物群没有不良影响。

2 主要革兰氏阴性菌噬菌体裂解酶的增效策略

世界卫生组织 2024 年最新发布的抗生素耐药菌名单中占主导地位的病原菌仍然是革兰氏阴性菌^[28]。外膜蛋白的存在使革兰氏阴性菌在很大程度上比革兰氏阳性菌对抗菌药物更具耐药性^[29]。而噬菌体裂解酶无法进入革兰氏阴性菌外膜并通过降解肽聚糖来裂解细胞壁。因此针对革兰氏阴性菌裂解酶可通过一系列增效策略的研究来改善其渗透性和抗菌活性。

2.1 裂解酶与渗透性化学品联用

使用化学渗透剂是使裂解酶进入细胞质的一种有效方法,利用其二价金属离子的化学螯合作用来稳定脂多糖层,破坏外膜蛋白层,使裂解酶进入肽聚糖层^[30]。螯合剂乙二胺四乙酸(Ethylene Diamine Tetraacetic Acid, EDTA)与裂解酶联用使体外抑制多种革兰氏阴性菌变得非常有效^[31,32]。在 EDTA 的协同作用下,裂解酶 LysSP1 对鼠伤寒沙门氏菌 ATCC14028 表现出很强的杀菌活性^[33]。但 EDTA 作为一种强抗凝剂仅限于局部使用或食品保存用。另外柠檬酸和苹果酸等有机酸对外膜蛋白也具有渗透性,可以一定程度上增强裂解酶对革兰氏阴性菌的杀灭效果^[34,35]。有机酸-裂解酶协同作用提供了螯合活性和低 pH 值环境,进一步破坏外膜蛋白使裂解酶到达肽聚糖层。此外,阳离子化合物和抗生素如粘菌素、多粘菌素 B、 ϵ -聚-赖氨酸等可通过竞争性置换外膜蛋白阳离子或插入并分解外膜蛋白与裂解酶发挥协同作用^[36-38]。

2.2 裂解酶与抗菌肽融合

抗菌肽 A (CecA) 是一种膜透性肽,将噬菌体裂解酶 LysAB2 的 C 末端融合 CecA 后其对多重耐药鲍曼不动杆菌的胞壁活性提高了近 10 万倍^[39]。Jeong 等^[40]将三种不同的大肠杆菌噬菌体裂解酶通过 N-末端与抗菌肽 A 融合,提高了它们的抗菌活性。将抗菌肽 CecA 融合到沙门氏菌噬菌体裂解酶的 N 端,增强了其对肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌、大肠杆菌和阴沟杆菌等革兰氏阴性菌的杀菌活性^[41]。通过生物信息学分析和计算机模拟设计出沙门氏菌噬菌体裂解酶和新型抗菌肽 LeuA-P 的重组嵌合体并在大肠杆菌系统中表达,对沙门氏菌表现出高度特异性抑制作用^[42]。总的来说,裂解酶与抗菌肽的融合是增加裂解酶抗菌活性的一种行之有效的方法。

2.3 利用细菌的噬菌体受体结合蛋白改善裂解酶活性

增强裂解酶活性的另一种方法是改善其对外膜蛋白的定位和渗透作用,这可以通过将裂解酶附加到能够与细菌细胞表面受体结合的蛋白上来实现。一些细菌素通过与外膜蛋白磷脂和特定的表面受体、转运蛋白等相互作用在膜中形成孔从而使得裂解酶转运到肽聚糖层。通过将大肠杆菌细菌素 Colicin A 的转运蛋白和受体结合结构域与裂解酶 Lysep3 融合,可在体外有效裂解大肠杆菌并显著减少感染小鼠模型肠道中的大肠杆菌数量^[43]。受体结合蛋白(Receptor-Binding Proteins, RBPs)是噬菌体分泌的蛋白,可与细菌表面的受体(外膜蛋白)结合^[44]。RBPs 的结合能力已被广泛用于设计新的抗菌药物,包括融合构建新型裂解酶,通过它帮助裂解酶穿过革兰氏阴性菌外膜到达肽聚糖层^[45]。Zampara 等^[46]将 23 种裂解酶与大肠杆菌噬菌体受体 Pb5 融合构建了 228 种新型裂解酶并通过高通量筛选选择 Ec21 作为最佳抗菌候选物,有效减少大肠杆菌数量,同时还显示出对第三代头孢菌素耐药大肠杆菌的杀菌活性,细菌计数减少了 3.31 log CFU/mL。而对于这些裂解酶确切的抗菌机制还需要进一步的研究来阐明^[47]。弯曲杆菌作为引起全球食源性胃肠炎的主要病原菌,迫切需要新型抗菌药物。研究人员首先证明了源自空肠弯曲杆菌 CAMSA2147 的 CJIE1 样原噬菌体 H 纤维具有新型噬菌体受体结合蛋白的功能,通过将这种 H 纤维与噬菌体 T5 裂解酶融合,构建了靶向空肠弯曲杆菌的裂解酶,对多种空肠弯曲杆菌菌株具有抗菌活性^[48]。而鉴定出其它未发现的弯曲杆菌噬菌体受体结合蛋白,可能会进一步增加靶向不同受体的新的噬菌体裂解酶库,并作为弯曲杆菌的抗菌药物^[49]。RBPs 的利用虽然仅在大肠杆菌和空肠弯曲杆菌中报道,但该策略可在其他病原菌中得到更广泛的探索^[45]。裂解酶与噬菌体受体结合的这种方式具有靶向病原菌的特异性,不干扰有益微生物群落,但同时也存在可能通过受体突变的方式产生耐药性的局限性^[49]。

3 噬菌体裂解酶防控食源性病原菌的最新研究进展

越来越多的研究表明,噬菌体裂解酶以其特异和高效的特点有望成为替代化学防腐剂和抗生素的理想抑菌剂用于食品生产的各个环节,靶向控制食品中腐败菌和致病菌^[50]。多项实验已经鉴定并测试了多种噬菌体裂解酶的抑菌作用,发现它们用于防控食品工业中的食源性病原菌具有良好的效果^[16]。表 1 列举了 2018 年以来报道的部分噬菌体裂解酶在食品工业中用于防控食源性病原菌的方法和结果。

3.1 金黄色葡萄球菌

金黄色葡萄球菌是全球引起食源性疾病最常见的病原菌,MRSA 一直是公共卫生领域关注的焦点。纯化的噬菌体裂解酶可作为生物防控剂用于控制食品中金黄色葡萄球菌。裂解酶 Lys109 抑制了牛奶和培根中的金黄色葡萄球菌和 MRSA 的生长,对浮游细菌和生物膜均有很好的裂解活性^[51]。Yan 等^[52]研究发现裂解酶 LysGH15 可有效

控制全脂和脱脂牛奶中金黄色葡萄球菌。Youssef 等^[53]将裂解酶 LysRODI Δ Ami 与噬菌体及乳酸链球菌肽联用控制奶酪生产过程中的金黄色葡萄球菌。一种新型裂解酶嵌合体 CHAPk-SH3bk 可有效减少 MRSA 生物膜的形成,且不同结构域的组合可提高其对 MRSA 的溶菌效果^[54]。

3.2 单核细胞增生李斯特菌

单增李斯特菌多在即食食品如肉类、混合沙拉、乳制品和蔬菜中出现。近期,研究人员报道了裂解酶可作为一种天然的单增李斯特菌生物防制剂。当单增李斯特菌起始浓度为 1×10^7 CFU/mL 时,经 37 °C 培养 3 h 后裂解酶 PHA_lys293_BNPs 添加组与对照组相比减少了 84.4% 的李斯特菌数量^[55]。当用 10 U/g 噬菌体裂解酶 PlyP100 处理的奶酪样品接种约 1 log CFU/g 单增李斯特菌时,经富集处理后未观察到病原菌的恢复,且 PlyP100 在奶酪样品中冷藏 28 天后仍表现出类似的抗李斯特菌活性^[56]。使用裂解酶来控制食品中单增李斯特菌的生长是一种相对较新的方法,对于其在各种类型食品中的有效性的研究还比较有限^[57]。

3.3 产气荚膜梭菌

产气荚膜梭菌是一种革兰氏阳性产毒素食源性病原菌,由于其可污染肉类、家禽、肉汁及其他大批量烹饪食物而导致较多的食物中毒病例^[1]。严重的产气荚膜梭菌感染的恢复依赖于抗生素的治疗^[58]。研发产气荚膜梭菌噬菌体及其裂解酶等生物防制剂很有必要。裂解酶 LysCPAS15、LysCPS2、Psa、Psm、PlyCP10 和 PlyCP41 作为天然抗菌蛋白可防止牛奶、肉类和其他食品中产气荚膜梭菌的污染和传播^[59-62]。Zhao 等^[63]研究发现裂解酶 cpp-lys 对产生不同类型毒素的 7 株产气荚膜梭菌均具有裂解活性,裂解酶 cpp-lys 处理组生菜的细菌存活率明显低于对照组,在 15 分钟内去除了大于 4 log CFU/cm² 的产气荚膜梭菌 J1。质量浓度为 50 μ g/mL 的裂解酶 LysCP28 可在 48 小时内减少人工污染鸭肉中产气荚膜梭菌的活菌量 3.08 log CFU/g^[64]。裂解酶 LysCPD20 具有较宽的裂解范围,不仅能杀死产气荚膜梭菌,还能杀死蜡样芽孢杆菌和枯草芽孢杆菌,且可作为有效抗菌剂在食品热加工过程中控制产气荚膜梭菌^[65]。

3.4 肉毒杆菌

肉毒杆菌是一种革兰氏阳性厌氧菌,在罐头食品及密封腌渍食物中具有较强的生存能力。Zhang 等^[66]首次报道了一种噬菌体裂解酶 CBO1751 对 I 型肉毒杆菌菌株表现出有效的裂解活性。这一研究既可以规避产毒素肉毒杆菌导致严重食物中毒的风险,同时也可以避免食品工业中热处理所导致的食物营养及风味物质的丧失。另一种新型裂解酶对梭菌属、葡萄球菌属、芽孢杆菌属和异常球菌属均具有裂解活性^[67]。

3.5 沙门氏菌

沙门氏菌是一种较常见的人兽共患病原菌,主要通过肉、蛋等禽类产品感染人。随着细菌耐药性的增强,多重耐药沙门氏菌菌株也不断出现,亟待找到新型抗菌剂来控制沙门氏菌的污染。沙门氏菌噬菌体裂解酶 LysPB32 与多粘菌素 B 联用经 37 °C 培养 24 h 后可有效抑制鼠伤寒沙门氏菌 STKCCM、STCCARM 和 STATCC 的生长^[37]。裂解酶 LysSTG2 和 En4 对鼠伤寒沙门氏菌具有杀菌活性,添加了微酸性次氯酸水的 LysSTG2 (100 μ g/mL) 可消除 99% 以上鼠伤寒沙门氏菌,添加 0.1% 碳酸氢钠的裂解酶 En4 可使冷冻和解冻生鸡肉中鼠伤寒沙门氏菌减少 1.0~1.6 log CFU/g^[68,69]。将裂解酶 rLysJNwz 与 EDTA 联用,可使人工污染的鸡蛋和生菜中活沙门氏菌分别减少 86.7% 和 86.5%^[70]。以上这些结果均表明,沙门氏菌噬菌体裂解酶可作为潜在的抗菌剂用于控制沙门氏菌,特别是食品安全领域的耐药病原菌污染。

3.6 大肠杆菌 O157:H7

大肠杆菌 O157:H7 是一种众所周知的食源性病原菌,可引起溶血性结肠炎和溶血性尿毒症综合征等严重疾病,O157:H7 的感染一般与食用受污染的植物性食品(如生菜、菠菜、番茄和新鲜水果)和牛肉制品有关^[71]。Xu 等^[72]开发了一种新型噬菌体裂解酶可以消除长叶莴苣中 99.7% 的大肠杆菌 O157,且对多种革兰氏阴性菌有很好的杀灭能力,包括大肠杆菌、志贺氏菌、鲍曼不动杆菌和铜绿假单胞菌。裂解酶 LysPECP14 和 LysPECP20 对用 EDTA 预处理的大肠杆菌 O157:H7 表现出显著的溶菌活性,而 LysPECP20 对单增李斯特菌和蜡样芽孢杆菌的活性也很

明显^[73]。

3.7 副溶血弧菌

副溶血弧菌是一种嗜盐性的革兰氏阴性菌，广泛存在于海产品中，是我国沿海地区常见的食物中毒病原菌。副溶血弧菌通常在食品制造的环境中形成生物膜，污染食品制造机械和产品，而生物膜的产生增加了副溶血弧菌对常用抗生素的耐药性^[74,75]。近期对 90 株分离自中国山东、河北和辽宁省海产品中的副溶血弧菌进行抗生素耐药性检测发现，几乎一半的分离菌株对至少三种药物具有耐药性，80%以上对氨苄青霉素和头孢唑林耐药^[76]。裂解酶是对抗副溶血弧菌及其生物膜的一种较有前景的抗生素替代产品。一种具有模块化结构的裂解酶，其催化结构域 Plychap001 对广谱副溶血弧菌菌株具有直接有效的杀菌活性^[75]。来源于噬菌体 F23s1 的裂解酶 ORF52（重组表达蛋白）对 23 株耐药副溶血弧菌有裂解活性^[77]。另外一种裂解酶 LysVPp1 也可抑制副溶血弧菌的生长^[78]。以上这些裂解酶对食品中副溶血弧菌及其生物膜的控制具有潜在的应用前景。

表 1 噬菌体裂解酶防控食源性病原菌的应用

Table 1 List of reported phage lysins used in foodborne pathogen control

病原菌	裂解酶	应用效果	参考文献/年份
蜡样芽孢杆菌	LysDLn1	比噬菌体 DLn1 更显著地减少牛奶中蜡样芽孢杆菌的数量	[18]/2022
	Lys109	清除不锈钢表面和牛奶中金黄色葡萄球菌	[51]/2021
金黄色葡萄球菌	LysGH15	有效控制全脂及脱脂牛奶中金黄色葡萄球菌	[52]/2021
	LysRODIAAmi	与抗菌剂联用消除实验室规模奶酪生产过程中金黄色葡萄球菌	[53]/2023
单增李斯特菌	PHA_lysin293_BNPs	显著抑制实验条件和食品加工环境条件下单增李斯特菌的生长	[55]/2022
	PlyP100	与乳链菌肽协同作用有效控制奶酪中单增李斯特菌	[56]/2018
产气荚膜梭菌	LysCPAS15	抑制牛奶中产气荚膜梭菌生长，表现出更宽裂解谱和更高热稳定性	[59]/2021
	LysCPS2	高度的热稳定性，95 ℃孵育 10 min 后裂解活性高达 30%	[60]/2018
	Cpp-lys	15 min 内去除生菜中大于 4 log CFU/cm ² 产气荚膜梭菌 J1	[63]/2023
	LysCP28	减少人工污染鸭肉中产气荚膜梭菌的活菌数量 3 log CFU/g 以上	[64]/2023
空肠弯曲杆菌	Innolysin Cj	减少人工污染鸡皮中空肠弯曲杆菌的数量	[48]/2021
沙门氏菌	LysSTG2	与微酸性次氯酸水联用对抗鼠伤寒沙门氏菌	[68]/2021
	EN4	与碳酸氢钠组合控制冷藏和解冻鸡肉中沙门氏菌的生长	[69]/2023
	rLysJNwz	与 EDTA 联用减少受污染的鸡蛋和生菜中 86% 以上的活沙门氏菌	[70]/2023
大肠杆菌 O157:H7	PlyEc2	能够清除生菜叶中 99.7% 的大肠杆菌 O157:H7	[72]/2021
	LysPECP20	对用 EDTA 预处理的大肠杆菌 O157:H7 表现出显著的溶菌活性	[73]/2024
	Ec21	对第三代头孢菌素耐药的大肠杆菌具杀菌活性	[46]/2020
副溶血弧菌	Plychap001	能有效降解和消除聚苯乙烯表面的副溶血弧菌生物膜	[75]/2022
	ORF52	显著降低副溶血弧菌 F23 的生长	[77]/2022
鲍曼不动杆菌	LysAB2 KWK	显著提高裂解酶 LysAB2 对多重耐药鲍曼不动杆菌的活性，并具有破坏生物膜形成的能力	[39]/2021
肉毒杆菌	CBO1751	有效裂解 I 型肉毒杆菌菌株，尤其是孢子萌发期和神经毒素产生期	[66]/2020

4 小结与展望

尽管人们对清洁和消毒方法的认识和进步达到较高水平，食源性疾病仍然是一个全球性的问题，因此有必要寻找新的更有效的方法来对抗食品和加工环境中的病原菌。此外，随着抗生素耐药性问题的出现，寻找替代抗生素产品成为研究者的首要任务。近年来虽然已经报道了一些提高噬菌体裂解酶对革兰氏阴性菌有效性的不同策略，但大多集中在临床应用上，研究关注裂解酶在食品基质中对抗革兰氏阴性食源性病原菌相对较少。重组裂解酶若作为食源性病原菌的潜在生物防制剂用于食品工业，未来的研究应侧重于控制持久性食源性病原菌，同时要考虑到各种食品基质及储存条件等。

总之，噬菌体裂解酶是食品加工和医疗领域对抗耐药性病原菌的有前景的工具。使用先进的分子生物学工具

将有助于获得对革兰氏阴性菌有高活性的重组噬菌体裂解酶,同时使其更具热稳定性、高溶解度、高度靶向和广谱抗菌性等特点。裂解酶工程为生产理想的新型裂解酶开辟了大量可能性,在不久的将来,“新一代裂解酶”的研制可应用于食品加工、畜禽养殖和绿色农产品种植等有细菌控制要求的相关领域。

参考文献

- [1] YANG J, ZHU X, XU X, et al. Recent knowledge in phages, phage-encoded endolysin, and phage encapsulation against foodborne pathogens [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2023, 17: 1-21.
- [2] MATHER AE, GILMOUR MW, REID SWJ, et al. Foodborne bacterial pathogens: genome-based approaches for enduring and emerging threats in a complex and changing world [J]. Nature Reviews Microbiology, 2024, 22(9): 543-555.
- [3] 李红秋,贾华云,赵帅,等.2021 年中国大陆食源性疾病爆发监测资料分析[J].中国食品卫生杂志,2022,34(4):816-821.
- [4] 李红秋,郭云昌,刘志涛,等.2022 年中国大陆食源性疾病爆发监测资料分析[J].中国食品卫生杂志,2024,36(8):962-967.
- [5] FERRO S, AMORICO T, DEO P. Role of food sanitising treatments in inducing the ‘viable but nonculturable’ state of microorganisms [J]. Food Control, 2018, 91: 321-329.
- [6] HUTCHINGS MI, TRUMAN AW, WILKINSON B. Antibiotics: past, present and future [J]. Current Opinion in Microbiology, 2019, 51: 72-80.
- [7] KAKASIS A, PANITSA G. Bacteriophage therapy as an alternative treatment for human infections. A comprehensive review [J]. International Journal of Antimicrobial Agents, 2019, 53(1): 16-21.
- [8] PIRES DP, COSTA AR, PINTO G, et al. Current challenges and future opportunities of phage therapy [J]. FEMS Microbiology Reviews, 2020, 44(6): 684-700.
- [9] HO MKY, ZHANG P, CHEN X, et al. Bacteriophage endolysins against gram-positive bacteria, an overview on the clinical development and recent advances on the delivery and formulation strategies [J]. Critical Reviews in Microbiology, 2022, 48(3): 303-326.
- [10] GUO X, SODERHOLM A, P SK, et al. Structure and mechanism of a phage-encoded SAM lyase revises catalytic function of enzyme family [J]. Elife, 2021, 10: e61818.
- [11] KHAN FM, CHEN JH, ZHANG R, et al. A comprehensive review of the applications of bacteriophage-derived endolysins for foodborne bacterial pathogens and food safety: recent advances, challenges, and future perspective [J]. Frontiers in Microbiology, 2023, 14:1259210.
- [12] ABDELRAHMAN F, EASWARAN M, DARAMOLA OI, et al. Phage-encoded endolysins [J]. Antibiotics (Basel), 2021, 10(2): 124
- [13] SCHMELCHER, M, DONOVAN DM, LOESSNER MJ. Bacteriophage endolysins as novel antimicrobials [J]. Future Microbiology, 2012, 7(10): 1147-1171.
- [14] GHOSE C, EULER C. Gram-negative bacterial lysins [J]. Antibiotics (Basel), 2020, 9(2): 74.
- [15] GERSTMANS H, CRIEL B, BRIERS Y. Synthetic biology of modular endolysins [J]. Biotechnology Advances, 2018, 36(3): 624-640.
- [16] 孙新城,胡旭阳,许素月,等.噬菌体裂解酶在食品安全领域的研究进展[J].食品安全质量检测学报,2021,24(12):9415-9421.
- [17] KONG M, RYU S. Bacteriophage PBC1 and its endolysin as an antimicrobial agent against *Bacillus cereus* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2015, 81(7): 2274-2283.
- [18] LI N, YUAN X, LI C, et al. A novel *Bacillus cereus* bacteriophage DLn1 and its endolysin as biocontrol agents against *Bacillus cereus* in milk [J]. International Journal of Food Microbiology, 2022, 16: 369:109615.
- [19] PENG Q, YUAN Y. Characterization of a novel phage infecting the pathogenic multidrug-resistant *Bacillus cereus* and functional analysis of its endolysin [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2018, 102(18): 7901-7912.
- [20] MONDAL SI, DRAPER LA, ROSS RP, et al. Bacteriophage endolysins as a potential weapon to combat *Clostridioides difficile* infection [J]. Gut Microbes, 2020, 12(1): 1813533.
- [21] PASTAGIA M, EULER C, CHAHALES P, et al. A novel chimeric lysin shows superiority to mupirocin for skin decolonization of methicillin-resistant and-sensitive *Staphylococcus aureus* strains [J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2011, 55(2): 738-744.
- [22] SCHUCH R, NELSON D, FISCHETTI VA. A bacteriolytic agent that detects and kills *Bacillus anthracis* [J]. Nature, 2002, 418(6900): 884-889.
- [23] LOESSNER MJ. Bacteriophage endolysins-current state of research and applications [J]. Current Opinion in Microbiology, 2005, 8(4): 480-487.

- [24] BLASCO L, AMBROA A, TRASTOY R, et al. In vitro and in vivo efficacy of combinations of colistin and different endolysins against clinical strains of multi-drug resistant pathogens [J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 7163.
- [25] KEENEY KM, YURIST-DOUSTCH S, ARRIETA MC, et al. Effects of antibiotics on human microbiota and subsequent disease [J]. Annual Review of Microbiology, 2014, 68: 217-235.
- [26] MURRAY E, DRAPER LA, ROSS RP, et al. The advantages and challenges of using endolysins in a clinical setting [J]. Viruses, 2021, 13(4): 680.
- [27] IMANISHI I, UCHIYAMA J, TSUKUI T, et al. Therapeutic potential of an endolysin derived from kayvirus S25-3 for Staphylococcal Impetigo [J]. Viruses, 2019, 11(9): 769.
- [28] World Health Organization. Bacterial Priority Pathogens List, 2024: Bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance [EB/OL]. (2024-05-17) [2024-10-20]. <http://www.who.int/publications/i/item/9789240093461>.
- [29] BREIJYEH Z, JUBEH B, KARAMAN R. Resistance of gram-negative bacteria to current antibacterial agents and approaches to resolve it [J]. Molecules, 2020, 25(6): 1340.
- [30] OLIVEIRA H, BOAS DV, MESNAGE S, et al. Structural and enzymatic characterization of ABgp46, a novel phage endolysin with broad anti-gram-negative bacterial activity [J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 208.
- [31] NI P, WANG L, DENG B, et al. Characterization of a lytic bacteriophage against *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* and its endolysin [J]. Viruses, 2021, 13(4): 631.
- [32] NIE T, MENG F, LU F, et al. An endolysin Salmcide-p1 from bacteriophage fmb-p1 against gram-negative bacteria [J]. Journal of Applied Microbiology, 2022, 133(3): 1597-1609.
- [33] JIANG Y, XU D, WANG L, et al. Characterization of a broad-spectrum endolysin LysSP1 encoded by a *Salmonella* bacteriophage [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2021, 105(13): 5461-5470.
- [34] PLOTKA M, KAPUSTA M, DORAWA S, et al. Ts2631 endolysin from the extremophilic *Thermus scotoductus* bacteriophage vB_Tsc2631 as an antimicrobial agent against gram-negative multidrug-resistant bacteria [J]. Viruses, 2019, 11(7): 657.
- [35] SISSON HM, FAGERLUND RD, JACKSON SA, et al. Antibacterial synergy between a phage endolysin and citric acid against the gram-negative kiwifruit pathogen *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2024, 90(3): e0184623.
- [36] HONG HW, KIM YD, JANG J, et al. Combination effect of engineered endolysin EC₃₄₀ with antibiotics [J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13:821936.
- [37] KIM J, KIM JC, AHN J. Assessment of bacteriophage-encoded endolysin as a potent antimicrobial agent against antibiotic-resistant *Salmonella typhimurium* [J]. Microbial Pathogenesis, 2022, 168:105576.
- [38] NING HQ, LIN H, WANG JX. 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.
- [39] CHEN X, LIU M, ZHANG P, et al. Membrane-permeable antibacterial enzyme against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* [J]. ACS Infectious Diseases, 2021, 7(8): 2192-2204.
- [40] JEONG TH, HONG HW, KIM MS, et al. Characterization of three different endolysins effective against gram-negative bacteria [J]. Viruses, 2023, 15(3):679.
- [41] LIM J, HONG J, JUNG Y, et al. Bactericidal effect of Cecropin A fused endolysin on drug-resistant gram-negative pathogens [J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2022, 32(6): 816-823.
- [42] NIE T, MENG F, ZHOU L, et al. In silico development of novel chimeric lysins with highly specific inhibition against *Salmonella* by computer-aided design [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021, 69(12): 3751-3760.
- [43] YAN G, LIU J, MA Q, et al. The N-terminal and central domain of colicin A enables phage lysin to lyse *Escherichia coli* extracellularly [J]. Antonie Van Leeuwenhoek, 2017, 110(12): 1627-1635.
- [44] DAMS D, BRONDSTED L, DRULIS-KAWA Z, et al. Engineering of receptor-binding proteins in bacteriophages and phage tail-like bacteriocins [J]. Biochemical Society Transactions, 2019, 47(1): 449-460.
- [45] KOCOT AM, BRIERS Y, PLOTKA M. Phages and engineered lysins as an effective tool to combat gram-negative foodborne pathogens

- [J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2023, 22(3): 2235-2266.
- [46] ZAMPARA A, SORENSEN MCH, GRIMON D, et al. Exploiting phage receptor binding proteins to enable endolysins to kill gram-negative bacteria [J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 12087.
- [47] SISSON HM, JACKSON SA, FAGERLUND RD, et al. Gram-negative endolysins: overcoming the outer membrane obstacle [J]. Current Opinion in Microbiology, 2024, 78: 102433.
- [48] ZAMPARA A, SORENSEN MCH, GENCAY YE, et al. Developing innolysins against *Campylobacter jejuni* using a novel prophage receptor-binding protein [J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 619028.
- [49] WARRING SL, MALONE LM, JAYARAMAN J, et al. A lipopolysaccharide-dependent phage infects a *pseudomonad* phytopathogen and can evolve to evade phage resistance [J]. Environmental Microbiology, 2022, 24(10): 4834-4852.
- [50] 黄振华,张昭寰,童金蓉,等.噬菌体裂解酶结构特征、重组策略及其在控制食源性致病菌中的应用[J].食品科学,2021,42(23):315-324.
- [51] SON B, KONG M, LEE Y, et al. Development of a novel chimeric endolysin, Lys109 with enhanced lytic activity against *Staphylococcus aureus* [J]. Front Microbiol, 2021, 11: 615887.
- [52] YAN J, YANG R, YU S, et al. The application of the lytic domain of endolysin from *Staphylococcus aureus* bacteriophage in milk [J]. Journal of Dairy Science, 2021, 104(3): 2641-2653.
- [53] YOUSSEF O, AGUN S, FERNANDEZ L, et al. Impact of the calcium concentration on the efficacy of phage phiIPLA-RODI, LysRODIΔAmi and nisin for the elimination of *Staphylococcus aureus* during lab-scale cheese production [J]. International Journal of Food Microbiology, 2023, 399: 110227.
- [54] BEHERA M, SINGH G, VATS A, et al. Expression and characterization of novel chimeric endolysin CHAPk-SH3bk against biofilm-forming methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 254(Pt2): 127969.
- [55] STONE E, PENNONE V, REILLY K, et al. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by phage lytic enzymes displayed on tailored bionanoparticles [J]. Foods, 2022, 11(6): 854.
- [56] IBARRA-SANCHEZ LA, TASSELL MLV, MILLER MJ. Antimicrobial behavior of phage endolysin PlyP₁₀₀ and its synergy with nisin to control *Listeria monocytogenes* in Queso Fresco [J]. Food Microbiology, 2018, 72: 128-134.
- [57] GRIGORE-GURGU L, BUCUR FI, MIHALACHE OA, et al. Comprehensive review on the biocontrol of *Listeria monocytogenes* in food products [J]. Foods, 2024, 13(5): 734.
- [58] YADAV JP, KAUR S, DHAKA P, et al. Prevalence, molecular characterization, and antimicrobial resistance profile of *Clostridium perfringens* from India: A scoping review [J]. Anaerobe, 2022, 77: 102639.
- [59] CHO JH, KWON JG, O'SULLIVAN DJ, et al. Development of an endolysin enzyme and its cell wall-binding domain protein and their applications for biocontrol and rapid detection of *Clostridium perfringens* in food [J]. Food Chemistry, 2021, 345: 128562.
- [60] HA E, SON B, RYU S. *Clostridium perfringens* virulent bacteriophage CPS2 and its thermostable endolysin LysCPS2 [J]. Viruses, 2018, 10(5): 251.
- [61] SEKIYA H, OKADA M, TAMAI E, et al. A putative amidase endolysin encoded by *Clostridium perfringens* St13 exhibits specific lytic activity and synergizes with the muramidase endolysin Psm [J]. Antibiotics (Basel), 2021, 10(3): 245.
- [62] SWIFT SM, WATERS JJ, ROWLEY DT, et al. Characterization of two glycosyl hydrolases, putative prophage endolysins, that target *Clostridium perfringens* [J]. FEMS Microbiology Letters, 2018, 356(16): fny179.
- [63] ZHAO X, LI L, ZHANG Q, et al. Characterization of the *Clostridium perfringens* phage endolysin cpp-lys and its application on lettuce [J]. International Journal of Food Microbiology, 2023, 405: 110343.
- [64] LU R, LIU B, WU L, et al. A broad-spectrum phage endolysin (LysCP28) able to remove biofilms and inactivate *Clostridium perfringens* strains [J]. Foods, 2023, 12(2): 411.
- [65] SHIN D, HA E, KONG M, et al. Characterization of thermostable bacteriophage CPD2 and its endolysin LysCPD2 as biocontrol agents against *Clostridium perfringens* [J]. Food Science and Biotechnology, 2023, 32(14): 2069-2077.
- [66] ZHANG Z, LAHTI M, DOUILLARD FP, et al. Phage lysin that specifically eliminates *Clostridium botulinum* Group I cells [J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 21571.
- [67] MORZYWOLEK A, PLOTKA M, KACZOROWSKA AK, et al. Novel lytic enzyme of prophage origin from *Clostridium botulinum* E3

- strain Alaska E43 with bactericidal activity against clostridial cells [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(17): 9536.
- [68] ZHANG Y, HUANG HH, DUC HM, 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.
- [69] ABHISINGHA M, DUMNIL J, PITAKSUTHEEPONG C. Effect of lysin EN4 in combination with sodium bicarbonate on reduction of *Salmonella* in chilled and thawed chicken meat [J]. International Journal of Food Microbiology, 2023, 387: 110058.
- [70] SHEN K, SHU M, ZHONG C, et al. Characterization of a broad-spectrum endolysin rLysJNwz and its utility against *Salmonella* in foods [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2023, 107(10):3229-3241.
- [71] PULIGUNDLA P, LIM S. Biocontrol approaches against *Escherichia coli* O157:H7 in foods [J]. Foods, 2022, 11(5): 756.
- [72] XU S, CAMPISI E, LI J, et al. Decontamination of *Escherichia coli* O157:H7 on fresh Romaine lettuce using a novel bacteriophage lysin [J]. Int J Food Microbiol, 2021, 341: 109068.
- [73] OH M, CEVALLOS-URENA A, KIM BS. Bacteriophages PECP14, PECP20, and their endolysins as effective biocontrol agents for *Escherichia coli* O157:H7 and other foodborne pathogens [J]. International Journal of Food Microbiology, 2024, 409: 110460.
- [74] LOPATEK M, WIECZOREK K, OSEK J. Antimicrobial resistance, virulence factors, and genetic profiles of *Vibrio parahaemolyticus* from seafood [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2018, 84(16): e00537-18.
- [75] WANG L, JU X, CONG Y, et al. A single catalytic endolysin domain Plychap001: characterization and application to control *Vibrio parahaemolyticus* and its biofilm directly [J]. Foods, 2022, 11(11): 1578.
- [76] JIANG Y, CHU Y, XIE G, et al. Antimicrobial resistance, virulence and genetic relationship of *Vibrio parahaemolyticus* in seafood from coasts of Bohai Sea and Yellow Sea, China [J]. International Journal of Food Microbiology, 2019, 290: 116-124.
- [77] XIAO H, YANG H, YAN N, et al. Bacteriostatic effects of phage F23s1 and its endolysin on *Vibrio parahaemolyticus* [J]. Journal of Basic Microbiology, 2022, 62(8): 963-974.
- [78] LI M, JIN Y, LIN H, et al. Complete genome of a novel lytic *Vibrio parahaemolyticus* phage VPp1 and characterization of its endolysin for antibacterial activities [J]. Journal of Food Protection, 2018, 81(7): 1117-1125.