

生菜表面肠炎沙门氏菌(ATCC13076)的吸附及其清除

姚蓝, 马文娟, 李晚宁, 王佳, 王小红

(华中农业大学食品科技学院, 湖北武汉 430070)

摘要: 为了控制生鲜蔬菜上沙门氏菌的污染, 本研究以肠炎沙门氏菌(ATCC13076)为研究对象, 探索了其在生菜表面吸附的影响因素, 同时对比了含氯消毒剂 and 裂解噬菌体对生菜上粘附沙门氏菌的清除效果。结果表明: 随着温度的升高(4~32℃)和作用时间的延长(5~60 min), 肠炎沙门氏菌在生菜表面的吸附量呈增加趋势(3.59~5.20 log cfu/cm²)。用10 mg/mL次氯酸钠处理受污染的生菜, 在作用2 h时达到最大清除量(3.83 log cfu/cm²), 随着作用时间的延长(0~48 h)清除量呈不断下降的趋势; 而噬菌体随着感染复数MOI值的增加(0.1、1、10)与作用时间的延长(0~48 h), 对肠炎沙门氏菌的清除量逐渐增加, 在4℃和24℃时, 对肠炎沙门氏菌的最高清除量分别为1.75 log cfu/cm²和1.80 log cfu/cm²。因此, 肠炎沙门氏菌在生菜上的吸附量受到温度、作用时间和pH的影响, 与含氯消毒剂相比, 噬菌体可以安全有效的清除生菜上沙门氏菌。本研究可以为食源性病原微生物在生鲜蔬菜中的清除提供理论支撑与技术指导。

关键词: 肠炎沙门氏菌; 生菜; 噬菌体; 次氯酸钠; 控制

文章编号: 1673-9078(2019)11-170-175

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.11.024

Adsorption and Elimination of *Salmonella enteritidis* (ATCC13076) on the Lettuce

YAO Lan, MA Wen-juan, LI Wan-ning, WANG Jia, WANG Xiao-hong

(College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstracts: In order to control the *Salmonella* contamination on fresh vegetables, in this study, the influences of *S. Enteritidis* (ATCC13076) adsorption capacity on the lettuce surface under different culture conditions (temperature, pH, ionic concentration) were explored. And then, the effects of chlorine-containing disinfectant and phage on the decrease of *S. Enteritidis* adhering to the lettuce were compared. The results showed that with the increase of temperature (4~32℃) and incubation time (5~60 min), the adsorption of *S. Enteritidis* on the surface of lettuce increased (3.59~5.20 log cfu/cm²). Then the contaminated lettuce was treated with 10 mg/mL sodium hypochlorite and phage suspension, respectively. The eliminating effect of sodium hypochlorite showed a decreasing trend with increase of incubation time, and the maximum eliminating effect was 3.83 log cfu/cm² within 2 h, while eliminating effect by phage was increased in different MOI, incubation time and temperature. At 4℃ and 24℃, the highest eliminating effect of *S. Enteritidis* on lettuce were 1.75 log cfu/cm² and 1.80 log cfu/cm², respectively. Therefore, the adsorption of *S. Enteritidis* on the lettuce were effected by the temperature, time and pH. And compared with sodium hypochlorite, bacteriophage can decrease *S. Enteritidis* on the lettuce in a safe and effective manner. This study provided a theoretical foundation for further study on the elimination of food-borne bacteria on fresh vegetables.

Key words: *Salmonella enteritidis*; lettuce; phage; sodium hypochlorite; control

沙门氏菌(*Salmonella*)为革兰氏阴性肠杆菌, 是严重危害人和动物健康的食源性人畜共患病原菌之一

收稿日期: 2019-06-10

基金项目: “十三五”国家重点研发计划重点专项(2017YFC1600100); 国家自然科学基金面上项目(31772054)

作者简介: 姚蓝(1996-), 女, 本科, 研究方向: 食品质量与安全专业

通讯作者: 王佳(1986-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 食品安全检测与控制

[1]. 据我国2015年各类致病因素食源性疾病暴发报告情况显示, 由沙门氏菌引起的食源性疾病患病人数占25.18%。沙门氏菌有2500多个血清型, 其中肠炎沙门氏菌是暴发率最高的沙门氏菌血清型之一^[2,3]。食品在生产、加工、贮藏、运输等环节都存在被沙门氏菌污染的风险, 尤其是生鲜类食品^[4]。生鲜蔬菜, 是人们膳食中重要的组成部分^[5], 可以未经加热直接生食, 易受到病原菌种类和作用条件的影响, 因此, 由食源

性病原菌导致的安全风险也在增加^[6]。

目前, 生鲜蔬菜常用的化学控制方法有含氯消毒剂、臭氧和有机酸等。其中, 含氯消毒剂使用成本低、操作简单、使用时间长^[7], 0.2%的次氯酸钠可以显著控制生菜上的大肠杆菌^[8], 但是在使用过程中产生的安全问题也逐渐受到人们的质疑。三氯甲烷是氯化消毒过程产生的副产物, 张文德等人将 20 g 洋白菜用 20 mg/L 的次氯酸钠浸泡 10 min 后, 三氯甲烷的残留量为 6.42 $\mu\text{g/kg}$ ^[9], 因此, 用次氯酸钠消毒处理提高了消费者暴露在三氯甲烷的风险^[10]。因此, 寻找高效安全的病原菌控制方法一直是研究热点。噬菌体是一类能够感染细菌的病毒, 具有宿主特异性强、增殖能力强、对真核生物无害等优点, 可作为天然的抗菌剂^[11]。Manan 等研究发现噬菌体 ECP-100 对粘附在生菜上的大肠杆菌处理 5 d, 清除率达 94%^[12]; Jassim 等研究发现大肠杆菌在生菜及鸡肉上能形成生物被膜, 且一般的化学清除方法是不能穿透这层屏障而起到杀菌作用, 生物被膜的形成与致病菌的数量均会受到蔬菜类型的影响^[13], 但是噬菌体可以通过降解生物被膜从而起到裂解细菌的作用^[14-17], 噬菌体 BP1369 (10^8 PFU/mL) 作用于生菜表面 2 h, 可以使致病菌数量下降 1.0 log cfu/cm²^[14], 因此噬菌体是一种安全有效的控制食源性病原菌的生物制剂。

为了评价沙门氏菌在生鲜蔬菜表面的吸附情况以及比较化学消毒剂和噬菌体对沙门氏菌的清除效果, 本研究选取生菜作为样品, 研究肠炎沙门氏菌在不同培养条件下在生菜样品表面的吸附情况; 并以肠炎沙门氏菌为宿主菌分离得到的一株噬菌体 LPSE1 为工具, 研究在不同 MOI 值、温度和侵染时间条件下对吸附在生菜上的肠炎沙门氏菌的清除效果, 同时与次氯酸钠清除效果进行比对, 为食源性病原菌在生鲜蔬菜上的控制提供高效安全的方法。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

肠炎沙门氏菌 ATCC13076, 本实验室保存; 噬菌体 LPSE1, 由本实验室以肠炎沙门氏菌 ATCC13076 为宿主菌分离得到^[18]; 实验用生菜, 武汉市洪山区中百超市华农店; TSB 胰蛋白胨大豆肉汤培养基、TSA 大豆酪蛋白琼脂培养基、XLD 木糖赖氨酸脱氧胆酸钠培养基, 青岛高科园海博生物技术有限公司; 次氯酸钠、氯化钠、氯化钙等均为化学分析纯, 国药集团化学试剂有限公司。

超净工作台 BSO-130011A2, 苏净集团苏州安泰

空气技术公司; SPX-250B-Z 电热恒温培养箱, 上海迅博实业有限公司医疗设备厂; HH-2 数显恒温水浴锅, 国华电器有限公司; YX 600W 高压灭菌锅, 上海三申医疗器械有限公司; AllegraX-30R 高速冷冻离心机, 美国 Beckman Coulter 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 沙门氏菌菌悬液的制备

从 -80 $^{\circ}\text{C}$ 的冰箱里取出甘油管保藏的肠炎沙门氏菌, 划线接种到 XLD 固体培养基上, 37 $^{\circ}\text{C}$ 下培养 24 h。挑取单菌落接种于 10 mL TSB 液体培养基中, 150 r/min、37 $^{\circ}\text{C}$ 摇床中隔夜培养。再转接到 50 mL TSB 培养基中, 150 r/min、37 $^{\circ}\text{C}$ 下振荡培养 3 h。培养液用梯度稀释涂平板法进行计数, 备用。

1.2.2 生菜样品的准备

完整生菜叶片用自来水冲洗 2 min 后, 用 75% 的酒精擦拭一遍, 再用紫外灭菌处理 20 min (正反面各处理 10 min)。用无菌钻孔器 (直径为 1.5 cm) 取中部鲜嫩的叶子置于无菌培养皿中。

1.2.3 肠炎沙门氏菌在生菜表面吸附的影响因素

为了测定不同温度及培养时间对肠炎沙门氏菌在生菜表面吸附的影响, 吸取 1 mL 上述肠炎沙门氏菌菌悬液, 分别加入 50 mL 不同温度 (4、16、24、32 $^{\circ}\text{C}$) 的无菌生理盐水中, 向每个锥形瓶放入 1 片直径为 1.5 cm 的生菜叶片, 静置培养 0、5、15、30、60 min。在相应的时间段取出样品并用无菌水洗涤, 研磨匀浆、吸取汁液, 梯度稀释涂平板法测定肠炎沙门氏菌的菌落数。每个处理做 3 个平行。

为了测定 pH 值对肠炎沙门氏菌在生菜表面吸附的影响, 调节无菌溶液 pH 为 3、4、5、6、7、8、9, 向每个处理中放入 1 片生菜叶片, 静置培养后取出样品, 取出样品并用无菌水洗涤, 研磨匀浆、吸取汁液, 梯度稀释涂平板法测定肠炎沙门氏菌的菌落数。每个处理做 3 个平行。

1.2.4 次氯酸钠对生菜表面肠炎沙门氏菌清除效果

为了测定次氯酸钠对吸附在生菜表面的肠炎沙门氏菌清除效果及影响因素, 具体方法参照文献^[19,20]: 吸取 10 μL 一定浓度的菌悬液, 将其均匀的涂在生菜叶片表面上 (最终菌浓度为 3.78 log cfu/mL), 静置 45 min。把处理好的生菜污染样品分别于 4 和 24 $^{\circ}\text{C}$ 的条件下放置 0、2、8、12、24、48 h。在相应的时间段取出样品, 并在有效氯浓度为 10 mg/L 的次氯酸钠溶液中浸泡 2 min, 取出样品并置于无菌水中洗涤 10 s, 研

磨、匀浆涂平板、测定样品残留肠炎沙门氏菌的菌落数。实验结果以肠炎沙门氏菌的减少量表示,即同一取样时间空白对照组得出的沙门氏菌数量减去用次氯酸钠清除之后的沙门氏菌数。以无菌水做空白对照,做3个平行。

1.2.5 噬菌体的制备及其对生菜表面肠炎沙门氏菌清除效果

从-80℃的冰箱中取出噬菌体,采用固体增殖法制备噬菌体,把平板分为四个区,将噬菌体原液划线培养,按照从划线浓度低(四区)向划线浓度高(一区)的方向加入混有菌液的上层培养基,37℃培养18 h,挑取相对独立、大而边缘光滑的噬菌斑,接种于1 mL 2×YT 液体培养基中,37℃、200 r/min 振荡培养8 h后,8000 r/min 离心15 min,用0.22 μm 滤膜过滤后为纯化的噬菌体原液。重复上述3~5次上述步骤,即为纯化的噬菌体(图1)。利用双层平板法测定所分离噬菌体的效价^[21]。

为了测定噬菌体对粘附在生菜表面沙门氏菌的清除效果及其影响因素,具体方法参照文献^[22,23],并进行了适当的修改:吸取10 μL 一定浓度的菌悬液均匀的涂在生菜叶片表面上(最终菌浓度为3.78 log cfu/mL),同时吸取10 μL 感染复数(MOI 值)分别为0.1、1、10的噬菌体滴加并覆盖在肠炎沙门氏菌所污染生菜表面,放置45 min。把样品放在4和24℃的条件下分别处理0、2、8、12、24、48 h后取出样品,经研磨、匀浆后,8000 r/min 离心10 min,分别收集上清液与沉淀,用双层平板法测定上清液中的噬菌斑,用梯度稀释涂平板法计算沉淀中沙门氏菌的菌落数。以无菌水做空白对照处理污染的生菜,做3个平行。实验结果以空白对照组测定的沙门氏菌数量减去用噬菌体清除之后的沙门氏菌数量表示。同时做空白对照,并做3个平行。

1.3 数据处理

各实验重复3次,实验数据以平均值±标准偏差(means±SD)表示,数据用 GraphPad Prism 6.0 软件进行整理和分析。

2 结果与分析

2.1 生菜样品的制备

经无菌钻孔器处理生菜样品如图1所示,取生菜的叶面部分,直径为1.5 cm。紫外灭菌处理20 min后保证叶片表面为无菌环境,处理后的叶片需及时使用。



图1 污染的生菜样品

Fig.1 Contaminated lettuce

2.2 肠炎沙门氏菌在生菜表面吸附的影响因素

2.2.1 温度和时间对沙门氏菌在生菜表面的吸附作用

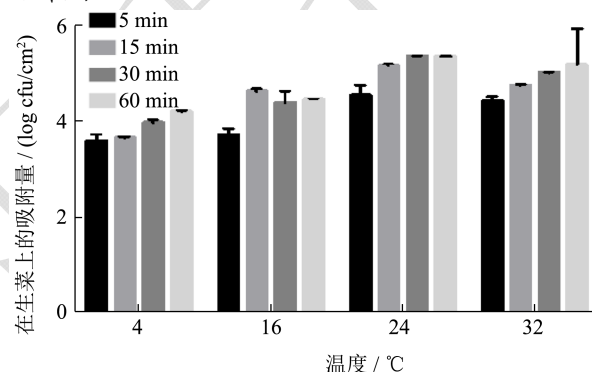


图2 温度对沙门氏菌在生菜表面吸附的影响

Fig.2 Effect of temperature on the adsorption of *Salmonella enteritidis* on lettuce surface

吸附时间与温度直接影响着肠炎沙门氏菌在生菜表面的吸附量。图2是肠炎沙门氏菌在不同的温度(4、16、24、32℃)与接触时间(5、15、30、60 min)条件下在生菜表面的吸附值。随着温度的升高(4~32℃)和作用时间的延长(5~60 min),肠炎沙门氏菌在生菜表面的吸附量呈不断上升的趋势,最低吸附量为3.59 log cfu/cm²(4℃相互作用5 min),在24℃作用30 min达到最大吸附量5.20 log cfu/cm²,且基本保持稳定。随着温度的升高,肠炎沙门氏菌在溶液中的布朗运动加快,从而增大了沙门氏菌与生菜表面的碰撞率,增加了吸附量;温度升高有利于沙门氏菌生物被膜的形成^[24],同时,沙门氏菌菌毛形成的最适温度是28℃^[25],这些都直接影响着菌在生菜表面的吸附量。从图2中还可以看出在24℃作用30 min时的肠炎沙门氏菌在生菜表面的吸附已达最大值。

2.2.2 不同 pH 对沙门氏菌在生菜表面吸附的影响结果

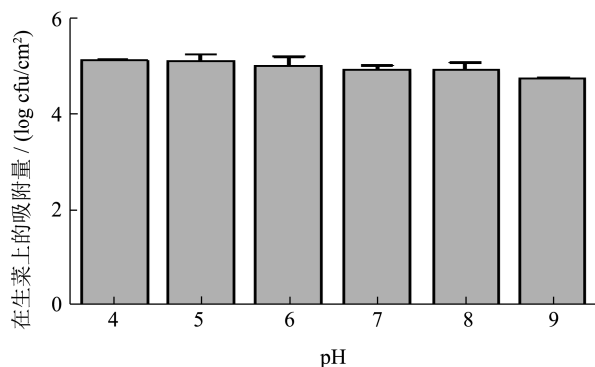


图3 pH对沙门氏菌在生菜表面吸附的影响结果

Fig.3 Adsorption of *Salmonella enteritidis* under different pH

图3是在不同pH的水溶液中测得的肠炎沙门氏菌在生菜上的吸附量。在pH 4.0~8.0时,肠炎沙门氏菌在生菜表面的吸附量较高,吸附量略有下降,没有显著性差异。但是,在pH为9.0时,吸附量显著降低,造成吸附量降低的原因可能是随着溶液碱性增加,溶液中游离的OH⁻浓度增加,且不断进入到生菜表面和肠炎沙门氏菌表面的双电层,使生菜和沙门氏菌接触面的负电荷增多,导致它们接触面的静电斥力变大^[26],吸附量降低。

通过测定肠炎沙门氏菌对生菜表面吸附量的影响因素,显示在24℃肠炎沙门氏菌与生菜表面作用30 min以上,且溶液环境保持pH为中性或偏酸性时,致使沙门氏菌在生菜表面的吸附量达到最大。该条件为后续清除实验提供基础数据,并可以在一定程度上为生鲜蔬菜的存放、运输等过程提供理论依据与指导。

2.3 次氯酸钠对粘附在生菜表面沙门氏菌的清除效果

次氯酸钠对粘附在生菜表面沙门氏菌的清除结果如图4所示,生菜用有效氯浓度为10 mg/L的次氯酸钠溶液的处理后,其表面的肠炎沙门氏菌得到一定的清除。但是随着互作时间的延长(0~48 h),清除量(3.84 log~0.29 log cfu/cm²)呈现不断下降的趋势(图4)。随着肠炎沙门氏菌与生菜表面接触时间的增加,沙门氏菌开始在生菜叶面繁殖增长,分泌胞外聚合物并能形成生物被膜^[14,17],生物被膜中的微生物对环境耐受性更强,如抗生素、加热、光照等^[27],因此导致了随着互作时间的延长次氯酸钠清除量不断下降。随着时间的延长,在4℃条件下的肠炎沙门氏菌的清除量高于在24℃条件的清除量,因为在温度相对较低的环境下,沙门氏菌的生长受到抑制,在生菜叶面不能快速繁殖,与生菜叶面的吸附不牢固,所以容易清除。

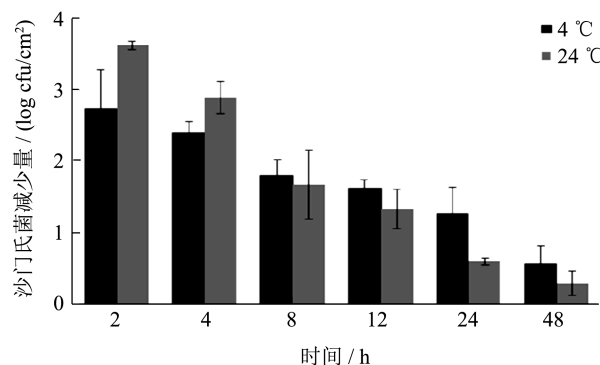


图4 次氯酸钠对生菜表面肠炎沙门氏菌的清除效果

Fig.4 Elimination effect of sodium hypochlorite

2.4 噬菌体对粘附在生菜表面沙门氏菌的清除效果

将噬菌体LPSE1噬菌体原液在平板上反复纯化3~5次,得到大小均一的噬菌斑,即为纯化的噬菌体(图5)。利用双层平板法测定该噬菌体的效价为10.1 log PFU/mL。

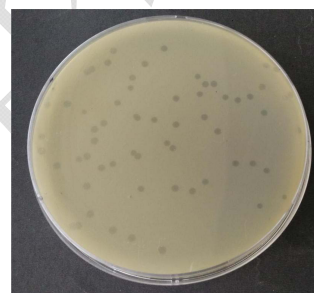


图5 噬菌体LPSE1纯化结果

Fig.5 Plaques of phage LPSE1 purification

噬菌体对粘附在生菜表面沙门氏菌的清除结果如图6所示,在4℃条件下,随着肠炎沙门氏菌与生菜互作时间的延长(0~48 h)和噬菌体MOI(0.1、1、10)值的增加,清除量都呈不断上升的趋势(图6a)。分析原因:低温抑制了沙门氏菌在生菜叶面的快速繁殖,导致其在生菜叶面的吸附不牢;噬菌体LPSE1对肠炎沙门氏菌具有裂解杀灭的作用。一般感染复数越高清除量就越大,即MOI=10的清除量(0~1.75 log cfu/cm²)高于MOI=1(0~1.13 log cfu/cm²)和MOI=0.1(0~0.61 log cfu/cm²)时的清除量。

在24℃条件下,随着肠炎沙门氏菌与生菜互作时间(0~48 h)的延长和噬菌体MOI(0.1、1、10)值的增加,清除量先增加,在12 h之后呈现逐渐减少的趋势,在12 h之后肠炎沙门氏菌在生菜表面快速繁殖并大量聚集,形成生物被膜,导致噬菌体清除能力减弱,在12 h时清除量(1.80 log cfu/cm²)达到最大值(图6b)。在前12 h时MOI=10的清除量(0~1.80 log

cfu/cm²) 高于 MOI=1 (0~1.35 log cfu/cm²) 和 MOI=0.1 (0~1.08 log cfu/cm²) 时的清除量。

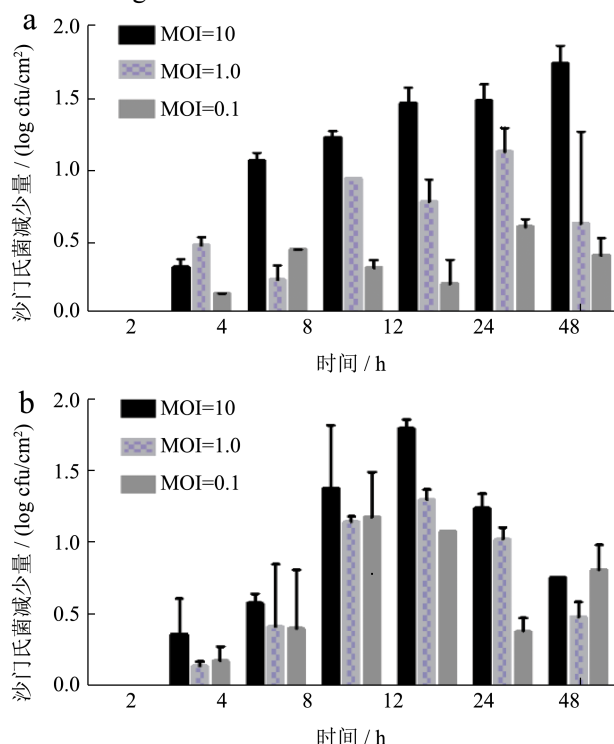


图6 噬菌体的清除效果

Fig.6 Elimination effect of bacteriophage

注: a: 4 °C; b: 24 °C。

相比于化学消毒剂次氯酸钠,噬菌体是一类安全、高效、特异性强的抑菌剂,特别是裂解性噬菌体,因其可以自身增殖,来源稳定,宿主特异性强,在食品中致病菌的防控中有潜在的应用价值。次氯酸钠对细菌的杀灭过程主要是其作为强氧化剂破坏致病菌的细胞膜,导致细胞内溶物的泄露,使其不能新陈代谢和自我复制而死亡;而裂解性噬菌体是一类专门侵染细菌的病毒,能够特异性进入宿主细胞后,能够引起宿主菌细胞的裂解从而导致细菌死亡。已有研究报道,噬菌体作为抑菌剂可以用于水果、蔬菜、禽畜类食品中病原菌的控制^[28],当生菜表面肠炎沙门氏菌和鼠伤寒沙门氏菌的污染量为 10⁵ cfu/mL 时,经过噬菌体处理后,分别降低了 3 log cfu/g 和 2.3 log cfu/g^[29]。噬菌体对致病菌的清除效果会受到噬菌体感染复数 MOI 值、宿主菌的浓度、作用温度等的影响。噬菌体 MOI 值越高或者宿主菌的浓度越低,噬菌体清除宿主菌的效果越好^[30]。同时几种裂解性噬菌体混合物或者通过与其它抑菌剂结合使用,也可以提高杀菌效果^[17]。

3 结论

肠炎沙门氏菌作为暴发率最高的沙门氏菌血清型之一,对其控制至关重要。本研究通过评价肠炎沙门

氏菌在生菜表面吸附量的影响因素,确定了温度、作用时间和 pH 都会对菌吸附量产生影响;采用常用含氯消毒剂(次氯酸钠)和以肠炎沙门氏菌为宿主菌分离得到的噬菌体 LPSE1 作为抑菌剂,比对生菜上肠炎沙门氏菌的清除效果。随着温度的升高、互作时间延长的增加,肠炎沙门氏菌在生菜表面的吸附量呈现出不断增加的趋势,但是随着 pH 的增加,吸附量略有下降。含氯杀毒剂虽然在很短的互作时间内(<2 h)可以较好的杀灭肠炎沙门氏菌,但是随着作用时间延长,清除效果越差;相反,噬菌体在短期内对肠炎沙门氏菌的清除效果不理想,但是随着作用时间延长(12~48 h),沙门氏菌清除量增加。同时,随着噬菌体 MOI 值的升高或宿主菌的浓度降低,噬菌体对宿主菌的清除效果更明显。综上所述,本研究通过对沙门氏菌吸附量与清除效果的研究,可以为控制生鲜蔬菜上沙门氏菌的污染提供理论指导。

参考文献

- [1] Eng S K, Pusparajah P, Mutalib N S A, et al. Salmonella: A review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance [J]. Frontiers in Life Science, 2015, 8(3): 284-293
- [2] European Food Authority. European centre for disease prevention and control. The European union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2013 [J]. EFSA Journal, 2015, 13(1): 3991
- [3] Li Y, Xie X, Xu X, et al. Nontyphoidal salmonella infection in children with acute gastroenteritis: prevalence, serotypes, and antimicrobial resistance in Shanghai, China [J]. Foodborne Pathogens & Disease, 2014, 11, 200-206
- [4] 韩晗,韦晓婷,魏映,等,沙门氏菌对食品的污染及其导致的食源性疾病[J].江苏农业科学,2016,44:15-20
- [5] HAN Han, WEI Xiao-ting, WEI Yi. et al. Salmonella-associated food contamination and foodborne diseases [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2016, 44: 15-20
- [6] Warriner K, Huber A, Namvar A, et al. Recent advances in the microbial safety of fresh fruits and vegetables [J]. Advances in Food & Nutrition Research. 2009, 57: 155-208
- [7] Wadamori Y, Gooneratne R, Hussain M A. Outbreaks and factors influencing microbiological contamination of fresh produce [J]. Journal of the Science of Food & Agriculture. 2016, 97: 1396-1403
- [7] 成黎.食品原料安全与初加工食品质量安全控制——以新鲜蔬菜的质量控制为例[J].食品科学.2015,36(5):266- 273
- CHENG Li. Quality and safety control of raw materials and

- fresh and primarily processed products: Fresh vegetable quality control [J]. Food Science, 2015, 36(5): 266-273
- [8] 吴思,程妍,石健春,等.生鲜蔬菜消毒方法的比较[J].湖北农业科学,2016,55(7):1795-1799
- WU Si, CHENG Yan, SHI Jian-chun, et al. Comparison of fresh vegetables disinfection methods [J]. Hubei Agricultural Sciences, 2016, 55(7): 1795-1799
- [9] 张文德.蔬菜用次氯酸钠消毒产生三氯甲烷与安全性[J].预防医学情报杂志,2009,10:865-867
- ZHANG Wen-de. Formation of chloroform in vegetables treated with sodium hypochlorite and food safety [J]. Journal of Preventive Medicine Information, 2009, 10: 865-867
- [10] Hiadka T, Kirigary T, Kamijo M, et al. Simultaneous determination of residual chlorine and volatile chlorinated organic compounds in vegetables by the head space method [J]. Journal of the Food Hygienic Society of Japan, 2009, 32: 308-314
- [11] Wang L, Qu K, Li X, et al. Use of bacteriophages to control *Escherichia coli* O157:H7 in domestic ruminants, meat products, and fruits and vegetables [J]. Foodborne Pathogens & Disease, 2017, 14: 483-493
- [12] Manan S, Jitendar R P, William S C, et al. Effectiveness of bacteriophages in reducing *Escherichia coli* O157:H7 on fresh-cut cantaloupes and lettuce [J]. Journal of Food Protection, 2009, 72(7): 1481-1485
- [13] Patel J, Sharma M. Differences in attachment of *Salmonella enterica* serovars to cabbage and lettuce leaves [J]. International Journal of Food Microbiology, 2010, 139: 41-47
- [14] Veerappa S K, Thakur S, Patel J. Biofilm formation by environmental isolates of *Salmonella* and their sensitivity to natural antimicrobials [J]. Foodborne Pathogens & Disease, 2016, 13(9): 509-516
- [15] Sadekuzzaman M, Mizan M, Yang S, et al. Application of bacteriophages for the inactivation of *Salmonella* spp. in biofilms [J]. Food Science & Technology International, 2018, 24: 424-433
- [16] Sadekuzzaman M, Yang S, Mizan M F R, et al. Effectiveness of a phage cocktail as a biocontrol agent against *L. monocytogenes* biofilms [J]. Food Control, 2016, 78: 256-263
- [17] Patel J, Singh M, Macarasin D, et al. Differences in biofilm formation of produce and poultry *Salmonella enterica* isolates and their persistence on spinach [J]. Food Microbiology, 2013, 36: 388-394
- [18] Huang C, Virk SM, Shi J, et al. Isolation, characterization, and application of bacteriophage LPSE1 against *Salmonella enterica* in ready to eat (RTE) foods [J]. Front. Microbiol. 9:1046
- [19] Zhe Z, Ryan C F, Christie R, et al. Incidence of naturally internalized bacteria in lettuces leaves [J]. International Journal of Food Microbiology, 2003, 162: 260-265
- [20] Lee S Y, Baek S Y. Effect of chemical sanitizer combined with atmosphere packaging on inhibiting *Escherichia coli* O157:H7 in commercial spinach [J]. Food Microbiology, 2008, 25(4): 582-587
- [21] López-Cuevas O, Castro-Del Campo N, León-Félix J, et al. Characterization of bacteriophages with a lytic effect on various *Salmonella* serotypes and *Escherichia coli* O157:H7 [J]. Canadian Journal of Microbiology, 2011, 57(12): 1042
- [22] Britta L, William S C, Mary J C, et al. Biocontrol of *Listeria monocytogenes* on fresh-cut produce by treatment with lytic bacteriophages and a bacteriocin [J]. Applied Environmental Microbiology, 2003, 69(8): 4519-4526
- [23] Tamar A, Manrong L, Marc Y M, et al. Bacteriophage reduce experimental contamination of hard surfaces, tomato, spinach, broccoli and ground beef by *Escherichia coli* O157:H7 [J]. Applied Environmental Microbiology, 2008, 74(20): 6230-6238
- [24] Nguyen H D N, Yang Y S, Yuk H G. Biofilm formation of *Salmonella typhimurium* on stainless steel and acrylic surfaces as affected by temperature and pH level [J]. LWT-Food Science and Technology 2014, 55: 383-388
- [25] Tan M S F, White A P, Sadequr R, et al. Role of fimbriae, flagella and cellulose on the attachment of *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 to plant cell wall models [J]. Plos One, 2016, 11: e0158311
- [26] Zhao Q, Wang C, Liu Y, et al. Bacterial adhesion on the metal-polymer composite coatings [J]. International Journal of Adhesion and Adhesives, 2007, 27: 85-91
- [27] 许诺,苏洋洋,冯政,等.禽源沙门菌生物被膜形成能力与耐药性分析[J].扬州大学学报,2018,1:1-5
- XU Nuo, SU Yang-yang, FENG Zheng, et al. Drug resistance and biofilm-forming ability analysis of *Salmonella* isolates from poultry [J]. Journal of Yangzhou University, 2018, 1: 1-5
- [28] Zaczek M, Weber-Dabrowska B, Gorski A. Phages in global fruit and vegetable industry [J]. Journal of Applied Microbiology, 2014, 118(3): 537-556