



Isolation, Characterization, and Biocontrol Efficacy of Bacteriophage VMUT_SIR1 Against *Salmonella* enteritidis in Chicken Meat

Reza Teimouri Fard¹, Afshin Akhondzadeh Basti², Ali Khanjari², Negin Noori²,
Hoseinali Ebrahimizadeh Mousavi³, Iradj Ashrafi Tamai⁴, Elnaz Kamrani⁴

¹ Graduated from the Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

² Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

³ Department of Aquatic Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

⁴ Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

Received: 11 Oct 2025, Reciver in revised from: 29 Nov 2025, Accepted: 10 Dec 2025, Available online: 18 Mar 2026

[10.22059/jvr.2025.400880.3536](https://doi.org/10.22059/jvr.2025.400880.3536)

J Vet Res, Volume 81, Number 1, 2026, 13-29

Abstract

BACKGROUND: *Salmonella* enteritidis (*S. enteritidis*) is one of the most prevalent bacterial pathogens responsible for foodborne illnesses transmitted through chicken meat. Given the escalating threats posed by antibiotic resistance in this bacterium, the application of bacteriophages as modern biocontrol agents has gained significant importance.

OBJECTIVES: The present study aimed to isolate and characterize indigenous bacteriophages effective against *S. enteritidis* from wastewater of industrial poultry slaughterhouses and to evaluate their efficacy in controlling *Salmonella* contamination in chicken meat.

METHODS: Twenty 50-mL samples of wastewater were collected from an industrial poultry slaughterhouse in Tehran, Iran, for phage isolation. Purification and propagation of the bacteriophage were performed using the double-layer agar method and plaque assay. The isolated phage was characterized in terms of morphology, host range, lytic activity, multiplicity of infection (MOI), adsorption efficiency, one-step growth curve, stability under various temperature and pH conditions, as well as preventive and corrective treatments on chicken meat.

RESULTS: The purified bacteriophage belonged to the Siphoviridae family and exhibited a broad host range of 90% against *S. enteritidis* serovars. The highest lytic activity and optimal bacteriophage efficacy against the bacterium were observed at an MOI of 0.01. The maximum adsorption percentage occurred within the initial 8 minutes, reaching a peak of 92% at 12 minutes. The phage VMUT_SIR1 demonstrated stability at a temperature range of -18°C to 70°C and pH values of 4 to 12. In treatments applied to chicken meat, the optimal MOI of the bacteriophage yielded the best results in corrective treatment at 25°C, achieving a 2.88 Log CFU/g reduction within the first 6 hours, and a 2.4 Log CFU/g reduction over 24 hours in corrective treatment with the phage at 4°C.

CONCLUSIONS: The bacteriophage VMUT_SIR1 exhibited substantial potential as a biological disinfectant for controlling *Salmonella* in chicken meat production in the conducted study.

Keywords: Bacteriophage, Biological disinfectant, Chicken meat, Lytic, *Salmonella* enteritidis

Copyright © The Author(s).

Publisher: University of Tehran Press

Conflict of interest: The authors declared no conflict of interest.

Corresponding author: Afshin Akhondzadeh Basti, Tel/Fax: +9821-6643841



How to cite this article:

Teimouri Fard R, Akhondzadeh Basti A, Khanjari A, Noori N, Ebrahimizadeh Mousavi H, Ashrafi Tamai I, Kamrani E. Isolation, characterization, and biocontrol efficacy of bacteriophage VMUT_SIR1 against *Salmonella* enteritidis in chicken meat. *Journal of Veterinary Research*, 2026; 81(1): 13-29. doi: 10.22059/jvr.2025.400880.3536

Figure Legends and Table Captions

Figure 1. Bacteriophage VMUT_SIR1 Plaques on *Salmonella* Enteritidis.

Figure 2. Morphological analysis of bacteriophage VMUT_SIR1 using transmission electron microscopy (TEM).

Figure 3. Determination of the optimal MOI.

Figure 4. Evaluation of lytic activity at MOIs of 0.01, 0.1 and 10.

Figure 5. Assessment of adsorption efficiency.

Figure 6. One-step growth curve of bacteriophage VMUT_SIR1 at the optimal MOI of 0.01.

Figure 7. Stability of bacteriophage VMUT_SIR1 at a temperature range of -18 to 90°C.

Figure 8. Stability of bacteriophage VMUT_SIR1 at a pH range of 1-12.

Figure 9. Evaluation of preventive and corrective treatments of chicken meat using bacteriophage VMUT_SIR1 at the optimal MOI of 0.01 and temperatures of 4°C and 25°C.



جداسازی، شناسایی و ارزیابی اثربخشی کنترل زیستی باکتریوفاژ VMUT_SIR1 علیه سالمونلا انتریتیدیس در گوشت مرغ

رضا تیموری فرد^۱، افشین آخوندزاده بستی^۲، علی خنجری^۲، نگین نوری^۲، حسینعلی ابراهیمزاده موسوی^۳،

ایرج اشرفی تمای^۴، الناز کامرانی^۴

^۱ دانش‌آموخته دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

^۲ گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

^۳ گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

^۴ دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۹ مهر ۱۴۰۴، تاریخ بازنگری: ۸ آذر ۱۴۰۴، تاریخ پذیرش: ۱۹ آذر ۱۴۰۴، تاریخ انتشار: ۲۷ اسفند ۱۴۰۴

doi: [10.22059/jvr.2025.400880.3536](https://doi.org/10.22059/jvr.2025.400880.3536)

دوره ۸۱، شماره ۱، ۱۴۰۴، ۱۳-۲۹

چکیده

زمینه مطالعه: سالمونلا انتریتیدیس یکی از شایع‌ترین باکتری‌های عامل بیماری‌های غذایی منتقله از گوشت مرغ می‌باشد. به دلیل تهدیدات فزاینده مقاومت این باکتری به آنتی‌بیوتیک‌ها، استفاده از باکتریوفاژها به‌عنوان عوامل کنترل‌کننده زیستی مدرن، حائز اهمیت است.

هدف: مطالعه حاضر با هدف جداسازی و شناسایی باکتریوفاژ بومی مؤثر بر سالمونلا انتریتیدیس از فاضلاب کشتارگاه صنعتی طیور و تأثیر آن بر کنترل سالمونلا در گوشت مرغ انجام شد.

روش کار: در مطالعه حاضر نمونه‌گیری از کشتارگاه صنعتی طیور تا زمان جداسازی فاژ انجام شد. خالص‌سازی و تکثیر باکتریوفاژ بر پایه روش کشت دولایه و پلاک‌گیری صورت گرفت. فاژ جداسازی‌شده از نظر خصوصیات از قبیل مورفولوژی، دامنه میزبانی، فعالیت لیتیک، نسبت تعدد عفونت (MOI)، کارایی جذب، منحنی رشد یک‌مرحله‌ای، پایداری در شرایط دمایی و pH مختلف و درمان‌های پیشگیرانه و اصلاحی بر روی گوشت مرغ مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: باکتریوفاژ خالص‌شده از خانواده سیفوویریده و دارای طیف وسیع میزبانی ۹۰ درصد در سرووار سالمونلا انتریتیدیس بود. بیشترین فعالیت لیتیک و بهترین تأثیر باکتری بر باکتریوفاژ در MOI ۰/۰۱ مشاهده شد. بیشترین درصد جذب در ۸ دقیقه ابتدایی و بیشترین میزان آن در دقیقه ۱۲ به میزان ۹۲ درصد بود. فاژ VMUT_SIR1 توانایی پایداری در دمای ۱۸- تا ۷۰ درجه سانتی‌گراد و pH ۴ تا ۱۲ را نشان داد. در درمان‌های روی گوشت مرغ بهترین اثر MOI بهینه باکتریوفاژ، مربوط به درمان اصلاحی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به میزان ۲/۸۸ لگاریتم CFU / گرم کاهش در ۶ ساعت اول و درمان اصلاحی با فاژ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به میزان ۲/۴ لگاریتم CFU / گرم کاهش در ۲۴ ساعت بود.

نتیجه‌گیری نهایی: باکتریوفاژ VMUT_SIR1 در مطالعه حاضر پتانسیل بالایی به‌عنوان ضدعفونی‌کننده زیستی در کنترل سالمونلا در تولید گوشت مرغ در مراحل فرآوری و عرضه گوشت خام از خود نشان داد.

کلمات کلیدی: باکتریوفاژ، سالمونلا انتریتیدیس، ضدعفونی‌کننده زیستی، گوشت مرغ، لیتیک

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

کپی‌رایت © نویسندگان.



نویسنده مسئول: افشین آخوندزاده بستی، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

مقدمه

بیماری‌های منتقله از غذا، بار اجتماعی و اقتصادی قابل توجهی ایجاد می‌کنند و خطرات بسیاری برای سلامت انسان به همراه دارند (۱) مصرف غذای آلوده یکی از شایع‌ترین راه‌های ابتلا به سالمونلاهای غیرتیفوئیدی، از جمله سالمونلا انتریتیدیس است (۲).

سالانه حدود ۱۵۳ میلیون مورد گاستروانتریت و ۵۷۰۰۰ مرگ در سطح جهان به سالمونلای غیرتیفوئیدی نسبت داده می‌شود. سالمونلا تیفی موریوم و سالمونلا انتریتیدیس دو سروتیپ سالمونلا می‌باشند که بیشترین موارد گاستروانتریت را در انسان در سراسر جهان

ایجاد می‌کنند (۳). تقریباً ۹۵ درصد از موارد سالمونلوز انسانی با مصرف غذاهای مختلف، مانند گوشت قرمز، گوشت طیور، تخم‌مرغ، شیر، غذاهای دریایی و محصولات تازه مرتبط است (۴).

گوشت مرغ یکی از منابع شایع این آلودگی است و اخیراً توجهات زیادی به شناسایی میزان حضور سالمونلا در مراحل مختلف بسته‌بندی و فرآوری گوشت مرغ معطوف شده است (۵). محصولات طیور به‌عنوان یکی از منابع مهم پروتئین ارزان‌قیمت، به‌دلیل مقرون‌به‌صرفه بودن نسبت به گوشت قرمز، از محبوبیت بالایی برخوردار است (۶). در سال‌های اخیر صنعت طیور به‌دلیل آلودگی‌های میکروبی شدید و از طرف دیگر تقاضای مصرف‌کنندگان بر عدم استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها با چالش‌های فراوانی روبه‌رو شده است (۷). گوشت مرغ به‌دلیل فسادپذیری بالا و آلودگی متقاطع بین لاشه‌های مرغ و محیط تولید، ماندگاری نسبتاً کوتاهی دارد (۸). بین سال‌های ۱۹۹۸ تا ۲۰۱۷، ۲۹۸ مورد شیوع سالمونلوز مرتبط با مصرف مرغ گزارش شده است که به ۷/۸۸۱ عفونت و ۴ مرگ منجر شد (۹).

برای جلوگیری از آلودگی سالمونلا انتریتیدیس در غذاها و در نتیجه ارتقای ایمنی غذایی، روش‌های مختلفی مبتنی بر تکنیک‌های فیزیکی و شیمیایی تدوین شده‌اند. باین‌حال این روش‌ها معایبی، مانند اثرات ماتریکس غذایی، باقی‌مانده مواد شیمیایی و تأثیر بر طعم، عطر و بافت دارند که همگی بر کیفیت غذا اثر می‌گذارند (۱۰). کنترل‌کننده‌های زیستی در چنین شرایطی به‌عنوان یک استراتژی عملی برای رفع این مشکلات مورد توجه قرار گرفته‌اند و علاقه فزاینده‌ای به استفاده از باکتروفاژها به‌عنوان عوامل کنترل زیستی برای حذف مؤثر باکتری‌های مضر از غذا بدون تغییر کیفیت غذا در میان محققین شکل گرفته است (۱۱).

باکتریوفاژها ویروس‌های باکتریایی و متنوع‌ترین و فراوان‌ترین شکل حیات زیستی را تشکیل می‌دهند. فاژها به‌دلیل وجود فراگیر، ویژگی اختصاصی و اثر باکتری‌کشی، به‌عنوان عوامل کنترل زیستی نویدبخش برای کنترل پاتوژن‌های منتقله از غذا مطرح شده‌اند (۱۲). در چند سال گذشته شناخت مزایای فاژها به‌ویژه توانایی آن‌ها در تکثیر گسترده با استفاده از یک میزبان، افزایش یافته است. علاوه‌براین فاژها به‌طور کلی تأثیر حداقلی بر اکولوژی میکروبی دارند و به‌عنوان موجودات نسبتاً ایمن در نظر گرفته می‌شوند. اختصاصیت فاژها به شکل‌گیری مطالعات گسترده‌ای در راستای رسیدن به درک تعاملات میزبان - فاژ، روش‌های گسترش دامنه میزبانی و تأثیر آن بر کنترل زیستی منجر شده است (۱۳).

در مطالعه حاضر، هدف از جداسازی فاژ بومی تمرکز بر استفاده بالقوه از فاژها برای کنترل زیستی سالمونلا انتریتیدیس به‌عنوان پاتوژن‌های رایج در گوشت مرغ خام بوده است. مطالعه حاضر برای پر کردن شکاف مهمی در جداسازی و شناسایی فاژهای بومی کشور و درک بیشتر پتانسیل فاژها در حوزه ایمنی غذا طراحی شده است.

مواد و روش کار

سویه‌های باکتریایی و شرایط کشت: سویه‌های باکتریایی مورد استفاده در مطالعه حاضر در جدول ۱ نشان داده شده‌اند. سالمونلا انتریتیدیس، سالمونلا تیفی موربوم، اشریشیا کلی و استافیلوکوکوس اورئوس از کلکسیون باکتریایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران تهیه شد. همه سویه‌ها در محیط کشت TSA (Quelab, Canada) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد کشت داده شدند. کشت‌های تازه با گرمخانه‌گذاری کلنی‌های تک در محیط کشت لوریا - برتانی (Quelab, Canada) (LB) و نوترینت برات (Merck, Germany) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد با تکان دادن در ۱۳۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱ شب تهیه شدند (۱۴).

جداسازی، خالص‌سازی و تکثیر: تعداد ۲۰ عدد نمونه ۵۰ میلی‌لیتری از آب فاضلاب کشتارگاه صنعتی طیور در شهر تهران به‌عنوان منابع اولیه برای جداسازی فاژ تهیه شد. به هر نمونه، ۱۰۰ میکرولیتر سالمونلا انتریتیدیس تلقیح شد و با ۱۰۰ میلی‌لیتر LB برات تکمیل شده با ۱۰ میلی‌مولار منیزیم سولفات (قطران شیمی، ایران)، در یک کیسه استوماکر استریل همگن و به‌مدت ۱ شب در ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. پس از آن، ۱۰ میلی‌لیتر از کشت، در ۱۲۰۰۰ دور به‌مدت ۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید و مایع رویی از طریق یک فیلتر غشایی (Solution, USA Membrane) با اندازه منافذ ۰/۴۵ میکرون فیلتر شد تا فاژ لیز شده خام به دست آید (۱۵). بررسی نمونه‌های اخذ شده تا زمان جداسازی باکتروفاژ ادامه یافت.

برای جداسازی فاژ لیتیک، ۱۰۰ میکرو لیتر فاژ لیز شده خام به‌صورت متوالی در بافر منیزیم سالین (SM) رقیق شد و با ۱۰۰ میکرو لیتر از هر کدام از سویه‌های میزبان در ۴ میلی‌لیتر آگار مذاب نوترینت (Merck, Germany) ترکیب گردید. سپس مخلوط روی

TSA (Quelab, Canada) کشت داده و خالص سازی شد. محیط آگار دولایه به مدت ۱ شب در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری گردید. در روز بعد، یک پلاک تک برداشته شد و دوباره در بافر SM معلق گشت تا سوسپانسیون فاژ تولید شود. سوسپانسیون به صورت سریالی با بافر SM رقیق و با میزبان مربوطه مواجهه داده و روی صفحات TSA ریخته شد و ۱ شب گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد برای تولید یک پلاک تک انجام گرفت. این فرایندها ۵ بار تکرار گردید تا از خلوص فاژها اطمینان حاصل شود (۱۵).

به منظور تولید ذخایر با تیترا بالا برای آزمایش های بیشتر، فاژهای جداسازی شده با میزبان اصلی خود تکثیر شدند. ۱ میلی لیتر سوسپانسیون فاژ با ۳ میلی لیتر کشت میزبان در فاز نمایی مخلوط شد و ۱ شب در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری صورت گرفت. پس از آن، مخلوط در ۱۲۰۰۰ دور به مدت ۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شد و مایع رویی از طریق فیلتر غشایی با اندازه منافذ ۰/۲۲ میکرومتر (Membrane Solution, USA) برای به دست آوردن استوک فاژ فیلتر شد. سپس استوک فاژ به صورت متوالی در بافر SM رقیق گردید. ۱۰۰ میکرولیتر از رقت تهیه شده با ۱۰۰ میکرولیتر میزبان باکتریایی درون ۴ میلی لیتر آگار مذاب مخلوط شد. مخلوط بر روی پلیت TSA ریخته و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۱ شب گرمخانه گذاری شد. تیترا فاژ استوک به صورت تعداد پلاک در میلی لیتر (PFU/میلی لیتر) تعیین شد (۱۵).

شناسایی ویژگی های فاژ (میکروسکوپ الکترونی عبوری) (TEM): مورفولوژی فاژ با میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) (LEO 906 E TEM, ZEISS, Germany) در ولتاژ شتاب ۱۰۰ کیلوولت مشاهده شد. به طور خلاصه، ۱۰ میکرولیتر از فاژ خالص شده با غلظت تقریبی $10^{10} \times 2$ PFU / میلی لیتر روی شبکه های پوشیده شده با کربن ریخته شد و با ۲ درصد اورانیل استات (Merck, Germany) رنگ آمیزی منفی شد. تصاویر فاژ با بزرگ نمایی $60000 \times$ گرفته شدند (۱۶).

دامنه میزبانی: دامنه میزبانی فاژهای خالص شده با آزمون لکه گذاری بر روی ۲۰ جدایه سالمونلا انتروتیدیس تعیین شد (۱۷). ۱۰ میکرولیتر از فاژ (10^8 PFU / میلی لیتر) روی سطح کشت چمنی کشت باکتری در پلیت ریخته شد و سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد. تشکیل پلاک ها به صورت بصری تأیید و فعالیت لیتیک علیه هر باکتری بر اساس شفافیت پلاک تعیین شد (۱۸). علاوه بر این بر روی ۱۰ جدایه سالمونلا تیفی موریوم و ۵ جدایه اشریشیا کلی و ۲ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس نیز این تست جهت تعیین اختصاصیت انجام گرفت.

جدول ۱. بررسی دامنه میزبانی باکتریوفاز VMUT_SIR1.

شماره	نوع باکتری	منبع جداسازی	میزان شفافیت ناحیه لیز شده	شماره	نوع باکتری	منبع جداسازی	میزان شفافیت ناحیه لیز شده
۱	سالمونلا انتروتیدیس	ماده غذایی	کامل	۲۱	سالمونلا تیفی موریوم	ماده غذایی	ناقص
۲	سالمونلا انتروتیدیس	ماده غذایی	کامل	۲۲	سالمونلا تیفی موریوم	ماده غذایی	کامل
۳	سالمونلا انتروتیدیس	ماده غذایی	کامل	۲۳	سالمونلا تیفی موریوم	ماده غذایی	بدون لیز
۴	سالمونلا انتروتیدیس	ماده غذایی	کامل	۲۴	سالمونلا تیفی موریوم	ماده غذایی	کامل
۵	سالمونلا انتروتیدیس	ماده غذایی	ناقص	۲۵	سالمونلا تیفی موریوم	کشتارگاه طیور	بدون لیز
۶	سالمونلا انتروتیدیس	ماده غذایی	کامل	۲۶	سالمونلا تیفی موریوم	کشتارگاه طیور	بدون لیز
۷	سالمونلا انتروتیدیس	ماده غذایی	کامل	۲۷	سالمونلا تیفی موریوم	کشتارگاه طیور	کامل
۸	سالمونلا انتروتیدیس	ماده غذایی	کامل	۲۸	سالمونلا تیفی موریوم	کشتارگاه طیور	بدون لیز
۹	سالمونلا انتروتیدیس	ماده غذایی	کامل	۲۹	سالمونلا تیفی موریوم	مزرعه پرورش طیور	بدون لیز
۱۰	سالمونلا انتروتیدیس	ماده غذایی	بدون لیز	۳۰	سالمونلا تیفی موریوم	دامداری	بدون لیز
۱۱	سالمونلا انتروتیدیس	کشتارگاه طیور	کامل	۳۱	اشریشیا کلی	کشتارگاه طیور	بدون لیز
۱۲	سالمونلا انتروتیدیس	کشتارگاه طیور	کامل	۳۲	اشریشیا کلی	کشتارگاه طیور	بدون لیز
۱۳	سالمونلا انتروتیدیس	کشتارگاه طیور	کامل	۳۳	اشریشیا کلی	ماده غذایی	بدون لیز
۱۴	سالمونلا انتروتیدیس	کشتارگاه طیور	کامل	۳۴	اشریشیا کلی	مزرعه طیور	بدون لیز
۱۵	سالمونلا انتروتیدیس	کشتارگاه طیور	کامل	۳۵	اشریشیا کلی	دامداری	بدون لیز
۱۶	سالمونلا انتروتیدیس	مزرعه پرورش طیور	بدون لیز	۳۶	استافیلوکوکوس اورئوس	ماده غذایی	بدون لیز
۱۷	سالمونلا انتروتیدیس	مزرعه پرورش طیور	ناقص	۳۷	استافیلوکوکوس اورئوس	ماده غذایی	بدون لیز
۱۸	سالمونلا انتروتیدیس	مزرعه پرورش طیور	کامل				
۱۹	سالمونلا انتروتیدیس	مزرعه پرورش طیور	کامل				
۲۰	سالمونلا انتروتیدیس	مزرعه پرورش طیور	کامل				

ضریب تعدد عفونت بهینه (MOI): برای تعیین MOI بهینه در محدوده (PFU/CFU) $10^3 - 10^{-3}$ ، باکتری‌های میزبان در فاز میانی لگاریتمی با حجم برابر فاز خالص شده (۱۰۰ میکرولیتر) در محیط LB آلوده شدند و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد با تکان دادن در ۱۵۰ دور در دقیقه به مدت ۵ ساعت انکوبه شدند. پس از سانتریفیوژ، قسمت رویی توسط فیلتر ۰/۲۲ میکرون فیلتر شد و سپس به صورت مناسب رقیق شد تا تیتراژ با روش آگار دولایه بررسی شود. MOI با بالاترین تیتراژ به عنوان MOI بهینه در نظر گرفته و برای آزمایش‌های بعدی استفاده شد (۱۹).

فعالیت لیتیک: اثرات ضدباکتریایی باکتریوفازها با ظرفیت لیتیک آنها علیه *سالمونلا انتریتیدیس* ارزیابی شد. این آزمایش در یک صفحه میکروپلیت ۹۶ چاهکی ته صاف انجام شد. هر چاه شامل ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتریایی رقیق شده (۱۰۵ CFU / میلی‌لیتر) و فاز با ضریب عفونت (MOI) برابر با ۰/۱، ۰/۰۱، ۰/۱ و ۱۰ بود و محیط LB به عنوان کنترل منفی استفاده شد. ظرفیت لیتیک با پایش رشد باکتری میزبان (OD₆₀₀) طی ۱۲ ساعت انکوباسیون در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با استفاده از دستگاه میکروپلیت ریدر (Stat fax-2100, USA) تعیین شد (۲۰).

آزمایش کارایی جذب: بر اساس MOI بهینه، سوسپانسیون باکتری میزبان (۵ میلی‌لیتر) با حجم برابر فاز آلوده شد. سپس مخلوط در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد با تکان دادن در ۱۶۰ دور در دقیقه به مدت ۲۴ دقیقه انکوبه شد و هر ۲ دقیقه ۳۰۰ میکرولیتر از مخلوط برداشته شد و در حمام یخ به مدت ۳۰ ثانیه متوقف شد. سپس، مخلوط در ۹۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۳۰ ثانیه سانتریفیوژ شد و تیتراژ سوپرناتانت با روش آگار دولایه تعیین شد (۲۱). کارایی جذب به صورت فرمول شماره ۱ محاسبه شد:

$$\text{کارایی جذب (درصد)} = (\text{تیتراژ اولیه فاز} - \text{تیتراژ آزمایشی فاز}) / \text{تیتراژ اولیه فاز} \times 100$$

آزمایش منحنی رشد یک مرحله‌ای: بررسی رشد یک مرحله‌ای فاز اختصاصی *سالمونلا انتریتیدیس* طبق پروتکل توصیف شده توسط Hong و همکاران در سال ۲۰۱۴ با برخی تغییرات انجام شد (۲۲). استوک فاز رقیق شده حاوی 10^3 PFU / میلی‌لیتر با میزبان باکتریایی حاوی 10^5 CFU / میلی‌لیتر مخلوط شد تا تعدد عفونت (MOI) ۰/۱ به دست آید. مخلوط در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در یک حمام آب به مدت ۱۰ دقیقه گرمخانه‌گذاری شد تا امکان جذب فازها فراهم شود و سپس در دور ۱۰۰۰۰ به مدت ۳۰ ثانیه در دمای اتاق سانتریفیوژ انجام شد. گلوله حاوی فازهای متصل به سلول‌های میزبان باکتریایی مجدداً در ۱۰ میلی‌لیتر برات LB حل شد و سپس سوسپانسیون در حمام آب در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد با تکان دادن مداوم نگهداری گردید. بخشی از نمونه (۱۰۰ میکرولیتر) برداشته شد و در دو نسخه با فاصله ۱۰ دقیقه به مدت ۹۰ دقیقه تحت آزمایش پلاک قرار گرفتند. دوره نهفته به عنوان دوره زمانی بین جذب فاز و اولین رهاسازی نتایج فاز تعیین شد. اندازه انفجار به عنوان نسبت تعداد نتایج فاز آزاد شده به سلول‌های میزبان باکتریایی آلوده تخمین زده شد (۲۳).

تحمل دمایی باکتریوفاز: در این آزمایش، پایداری دمایی باکتریوفاز در دماهای مختلف (۱۸- تا ۹۰ درجه سانتی‌گراد) بررسی شد. به طور خاص، ۱۰۰ میکرولیتر از محلول باکتریوفاز با تیتراژ 10^8 PFU / میلی‌لیتر به ۹۰۰ میکرولیتر بافر PBS (۱×) اضافه شد و در دماهای مختلف (۱۸-، ۴، ۲۵، ۳۷، ۵۰، ۶۰، ۷۰، ۸۰ و ۹۰ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۱ ساعت انکوبه شد. سپس رقیق‌سازی گرادیان انجام شد و تیتراژ باکتریوفاز با روش صفحه آگار دولایه تعیین شد. این آزمایش ۳ بار تکرار شد (۲۴).

تحمل pH باکتریوفاز: در این آزمایش، تحمل pH باکتریوفاز در مقادیر مختلف pH (۱ تا ۱۲) بررسی شد. پیش از آزمایش، pH محلول بافر PBS (۱×) با استفاده از HCl و NaOH تنظیم شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از محلول 10^8 PFU / میلی‌لیتر باکتریوفاز به ۹۰۰ میکرولیتر بافر PBS با pHهای مختلف اضافه شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت انکوبه شد. پس از آن، رقیق‌سازی گرادیان انجام شد و تیتراژ باکتریوفاز با روش صفحه آگار دولایه تعیین شد. این آزمایش ۳ بار تکرار شد (۲۵).

درمان پیشگیرانه روی گوشت سینه مرغ: نمونه‌های گوشت سینه مرغ تازه (۶۰ گرمی) با پرتو UV استریل شدند و فازها در نسبت عفونت بهینه ۰/۱ پیش از تلقیح باکتری اعمال و سپس نمونه‌ها با *سالمونلا انتریتیدیس* (۵ لگاریتم CFU / گرم) تلقیح در دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. تعداد باکتری‌ها به مدت ۶ ساعت با فواصل ۱ ساعته و در ساعت ۲۴ با هموزن‌سازی ۱۰ گرم از نمونه‌ها در ۹۰ میلی‌لیتر آب پیتونه استریل، رقیق‌سازی سریالی و کشت روی TSA تعیین شد. شاهد‌های مثبت و منفی در نظر گرفته شدند و هر نمونه در ۳ تکرار آزمایش شد (۲۶).

درمان اصلاحی روی گوشت سینه مرغ: برای درمان اصلاحی، نمونه‌های گوشت سینه مرغ ابتدا با سالمونلا انتریتیدیس (۵ لگاریتم CFU / گرم) تلقیح و در دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت نگهداری شدند. سپس فازها در نسبت عفونت بهینه ۰/۱ اعمال شدند و تعداد باکتری‌ها به مدت ۶ ساعت با فواصل ۱ ساعته و در ساعت ۲۴ مطابق روش ذکر شده، اندازه‌گیری شد. شاهد‌های مثبت و منفی در نظر گرفته شدند و هر نمونه در ۳ تکرار آزمایش شد (۲۶).

تجزیه و تحلیل آماری: همه آزمایش‌ها در ۳ تکرار انجام شدند. نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شدند. داده‌ها به مقادیر لگاریتمی تبدیل شدند و تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA) به دنبال تست توکی (Tukey's Test) با استفاده از نرم‌افزار آماری IBM SPSS نسخه ۲۷ برای تعیین اهمیت آماری تیمارها (در فاصله اطمینان ۹۵ درصد) استفاده شد. روند تکامل هر گروه در طول مطالعه با استفاده از آزمون اندازه‌گیری مکرر بررسی شد. تفاوت بین گروه‌های تیمار و کنترل در سطح ($P < 0/05$) معنی‌دار در نظر گرفته شد (۱۴).

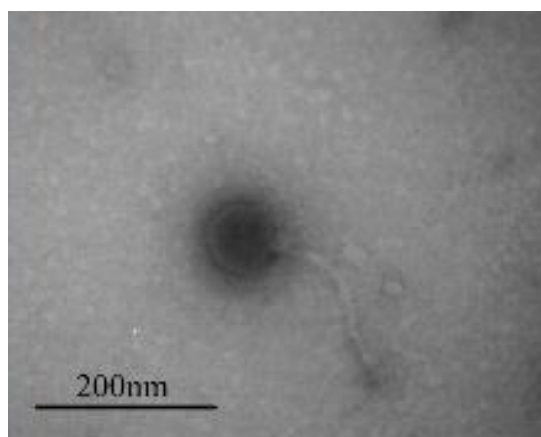
نتایج

جداسازی و خالص‌سازی باکتریوفاژ VMUT_SIR1: در مطالعه حاضر، از سویه سالمونلا انتریتیدیس به عنوان سویه میزبان استفاده شد. باکتریوفاژ از فاضلاب جمع‌آوری شده از کشتارگاه طیور صنعتی در تهران، با روش صفحه آگار دولایه جداسازی شد. باکتریوفاژ خالص، به نام VMUT_SIR1، پس از پنج مرحله خالص‌سازی مداوم به دست آمد و پلاک‌های شفاف با اندازه یکنواخت و تقریباً به قطر ۲ میلی‌متر در تصویر ۱ نشان داده شد.

دامنه میزبانی باکتریوفاژ VMUT_SIR1: در مجموع، ۲۰ سویه سالمونلا انتریتیدیس برای تعیین طیف میزبانی باکتریوفاژ استفاده شدند. همان‌طور که در جدول ۱ نشان داده شده است، ۱۸ نمونه لیز شدند و نرخ لیز کلی ۹۰ درصد را نشان داد. این نتیجه نشان داد باکتریوفاژ VMUT_SIR1 دارای طیف لیز گسترده‌ای برای سالمونلا انتریتیدیس است. علاوه بر این، در ۲ نمونه (۱۰ درصد) لیز ناقص مشاهده شد. از ۱۰ نمونه سالمونلا تیپ‌ی موریوم ۳ (۳۰ درصد) مورد تحت تأثیر فاژ لیز کامل و ۱ مورد لیز ناقص نشان داد. در مطالعه بر روی اشریشیا کلی و استافیلوکوکوس اورئوس هیچ ناحیه لیز و عدم رشدی مشاهده نشد.

مورفولوژی باکتریوفاژ: همان‌طور که در تصویر ۲ نشان داده شده است، VMUT_SIR1 دارای دم بلند و غیرانقباضی می‌باشد، طول دم و قطر سر ایکوزاهدراال آن به ترتیب ۱۹۶ نانومتر و ۸۹ نانومتر بود که به مورفولوژی معمول رده کوداویریده و خانواده سیفویریده تعلق دارد.

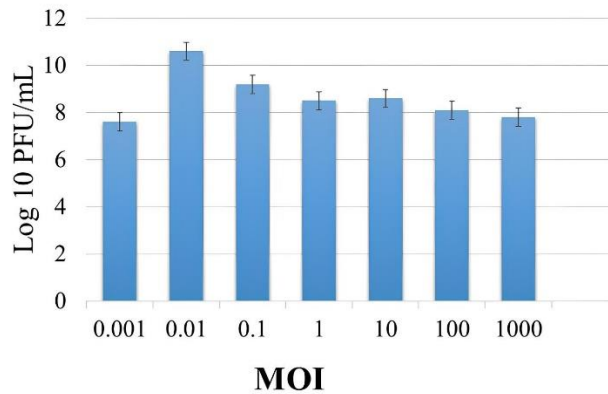
ضریب تعدد عفونت بهینه: پس از انکوباسیون VMUT_SIR1 با سلول‌های میزبان در MOIهای مختلف (10^{-3} - 10^3) به مدت ۵ ساعت، تیتراژ باکتریوفاژ مطابق تصویر ۳ تعیین شد. در MOI برابر با 10^{-2} ، تیتراژ افزایش یافت و به بالاترین مقدار (5×10^9 PFU / میلی‌لیتر) رسید که نشان می‌دهد MOI بهینه VMUT_SIR1 آلوده شده با سالمونلا انتریتیدیس در محدوده ۰/۱ تا ۰/۱ بود.



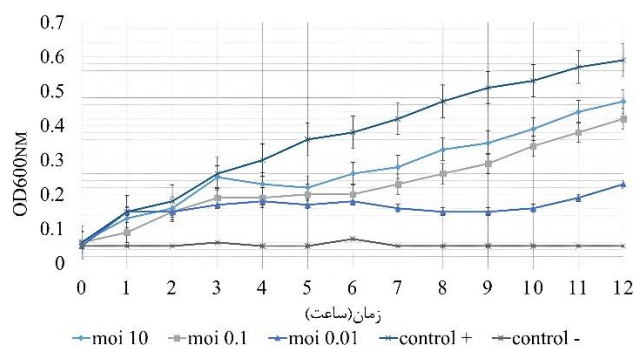
تصویر ۱. پلاک حاصل از تأثیر باکتریوفاژ VMUT_SIR1 بر روی سالمونلا انتریتیدیس.



تصویر ۲. بررسی مورفولوژی باکتریوفاژ VMUT_SIR1 زیر میکروسکوپ الکترونی TEM.



تصویر ۳. نمودار تعیین نسبت تعداد عفونت بهینه (MOI).



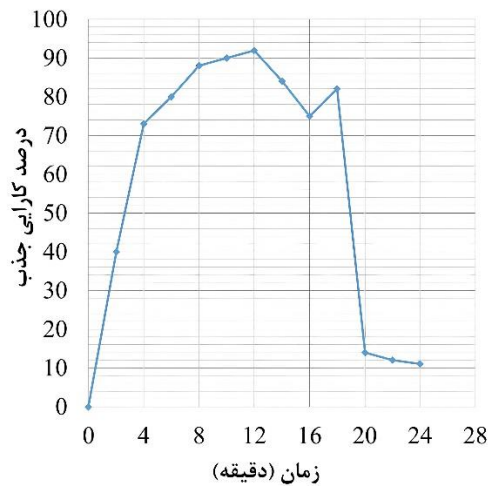
تصویر ۴. نمودار بررسی فعالیت لیتیک در MOI 0.1 و 0.1 و 10.

فعالیت لیتیک: برای بررسی توانایی ضدباکتریایی باکتریوفاژ VMUT_SIR1، اثر لیتیک باکتریوفاژ بر باکتری میزبان در MOIهای مختلف (0.1، 0.1، 10) آزمایش شد. همانطور که در تصویر ۴ نشان داده شده است، رشد باکتری میزبان تحت درمان با باکتریوفاژ VMUT_SIR1 در تمام MOIها در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی داری مهار شد. تنها در MOI 0.1 بیش از ۷ ساعت رشد باکتری مهار شد و تفاوت آشکاری در مهار باکتریایی در سایر MOIها پس از ۷ ساعت مشاهده نشد.

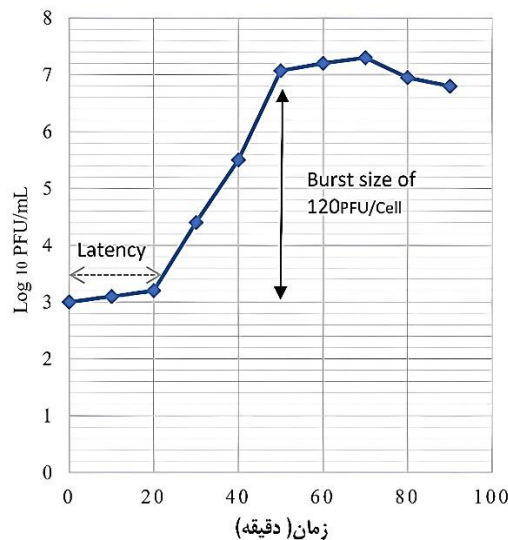
کارایی جذب: همان طور که در **تصویر ۵** نشان داده شده است، کارایی جذب VMUT_SIR1 روی سالمونلا انتریتیدیس در ۸ دقیقه اول به طور معنی داری افزایش یافت و در ۱۲ دقیقه انکوباسیون به مقدار اوج (۹۲ درصد) رسید و در دقیقه ۲۰ با شدت زیاد افت نمود.

منحنی رشد یک مرحله‌ای: همان طور که در **تصویر ۶** نشان داده شده است، VMUT_SIR1 دوره نهفتگی کوتاهی (تقریباً ۲۰ دقیقه) نشان داد. ذرات فاژ VMUT_SIR1 در ۳۰ دقیقه به صورت نمایی تکثیر شدند و اندازه انفجار تقریباً ۱۲۰ PFU / سلول محاسبه شد.

پایداری حرارتی و pH: برای تعیین پایداری، تحمل باکتریوفاژ VMUT_SIR1 در برابر دماهای مختلف (۱۸- تا ۹۰ درجه سانتی‌گراد) و مقادیر pH (۱ تا ۱۲) بررسی شد. همان طور که در **تصویر ۷** نشان داده شده است، فعالیت باکتریوفاژ در دماهای بین ۱۸- تا ۷۰ درجه سانتی‌گراد پایدار باقی ماند. تیتراژ باکتریوفاژ به تدریج کاهش یافت و در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد همچنان تیتراژی تقریبی ۴ لگاریتم / میلی‌لیتر را حفظ کرد. باکتریوفاژ VMUT_SIR1 پس از قرار گرفتن در معرض دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد کاملاً غیرفعال شد.



تصویر ۵. نمودار آزمایش کارایی جذب.

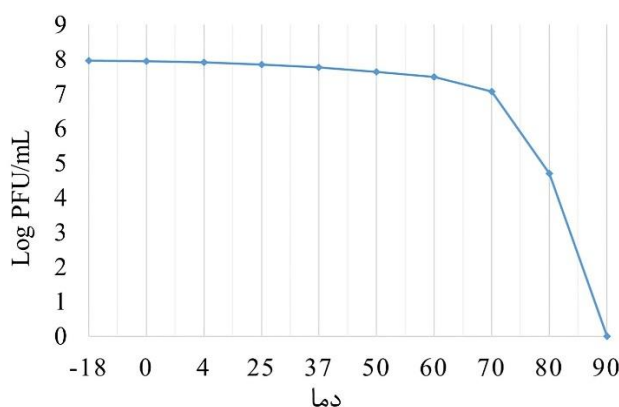


تصویر ۶. نمودار منحنی رشد یک مرحله باکتریوفاژ در MOI بهینه (۰/۱).

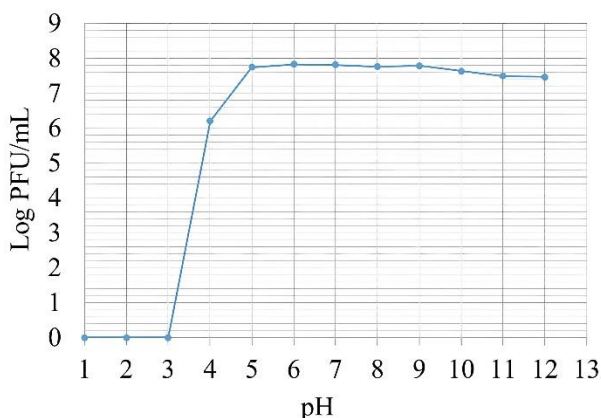
همان‌طور که در **تصویر ۸** نشان داده شده است، تیتراژ باکتریوفاژ VMUT_SIR1 در محدوده pH ۴ تا ۱۲ در سطح اولیه باقی ماند. در pH ۴ تا ۱/۸ لگاریتم PFU / میلی‌لیتر تیتراژ به تدریج کاهش یافت. در شرایط بسیار پایین ($pH \leq 3$)، هیچ باکتریوفاژ فعالی وجود نداشت. آزمایش‌های پایداری نشان داد این باکتریوفاژ دارای دامنه تحمل نسبتاً گسترده‌ای در برابر تنش‌های دمایی و pH است.

درمان پیشگیرانه روی گوشت سینه مرغ: در تمام آزمایش‌ها، سالمونلای طبیعی در نمونه‌های سینه مرغ پس از استریل کردن شناسایی نشد. در **تصویر ۹** نشان داده شده است در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، تعداد باکتری‌های زنده سالمونلا انتریتیدیس در نمونه‌های تیمار شده به‌طور معنی‌داری در ۶ ساعت اول به میزان ۲ لگاریتم CFU / گرم کاهش یافت ($P < 0.05$)؛ اما پس از ۲۴ ساعت ۲/۴۷ لگاریتم CFU / گرم نسبت به تیتراژ اولیه باکتری افزایش یافت و به 3×10^7 باکتری رسید. در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، پس از ۶ ساعت ۰/۸ لگاریتم CFU / گرم و پس از ۲۴ ساعت ۱/۷۶ لگاریتم CFU / گرم کاهش در تعداد باکتری‌های زنده، نسبت به میزان اولیه آن‌ها مشاهده شد. در نمونه‌های کنترل تعداد باکتری زنده پس از ۲۴ ساعت به ترتیب در دمای ۲۵ و ۴ درجه سانتی‌گراد به ترتیب به ۹/۶ لگاریتم CFU / گرم و ۵/۴ لگاریتم CFU / گرم رسید.

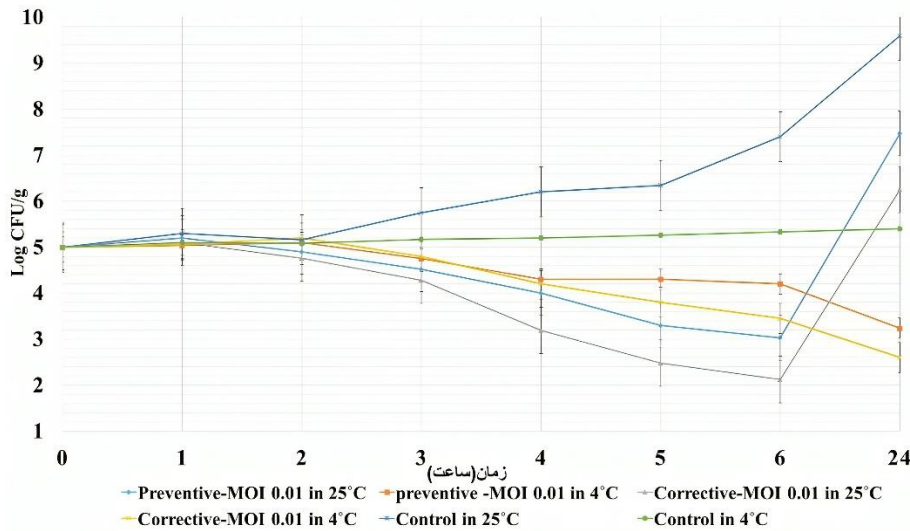
درمان اصلاحی روی گوشت سینه مرغ: همان‌طور که در **تصویر ۹** نشان داده شده است در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد تعداد باکتری در نمونه‌های تیمار شده با باکتریوفاژ به‌طور معنی‌داری در ۶ ساعت اول به میزان تقریبی ۳ لگاریتم CFU / گرم کاهش یافت ($P < 0.05$). پس از ۲۴ ساعت ۱/۲۵ لگاریتم CFU / گرم نسبت به تیتراژ اولیه باکتری افزایش یافت و به ۶/۲۵ لگاریتم CFU / گرم باکتری رسید. در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، پس از ۶ ساعت ۱/۵۵ لگاریتم CFU / گرم و پس از ۲۴ ساعت ۲/۴ لگاریتم CFU / گرم کاهش نسبت به میزان اولیه تعداد باکتری‌های زنده مشاهده شد.



تصویر ۷. نمودار پایداری فاژ در محدوده دمایی ۱۸- تا ۹۰ درجه سانتی‌گراد.



تصویر ۸. نمودار پایداری فاژ در برابر pH ۱ تا ۱۲.



تصویر ۹. بررسی درمان پیشگیرانه و اصلاحی در گوشت مرغ توسط باکتریوفاژ در MOI ۰/۰۱ در دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد.

بحث

مطالعه حاضر در راستای جداسازی و شناسایی جزئی باکتریوفاژهای خاص سالمونلا از فاضلاب کشتارگاه صنعتی طیور با هدف نهایی بررسی پتانسیل فاژها برای ایجاد یک عامل کنترل زیستی صورت گرفت. جداسازی فاژها با موفقیت انجام شد و نشان‌دهنده کاربردپذیری روش‌های مطالعه حاضر بود. از دیرباز ارتباط نزدیک باکتریوفاژها با میزبان‌های طبیعی خود شناخته شده است (۲۷). سالمونلا به‌طور معمول در دستگاه گوارش حیوانات وجود دارد؛ از این رو فاضلاب کشتارگاه طیور به جهت پروسه‌های ذبح، شست‌وشو و تخلیه امعاوحشا مکانی مناسب برای جداسازی باکتریوفاژهای بومی می‌باشد (۲۸).

پس از نمونه‌گیری و بررسی اولیه در مجموع از میان فاژهای موجود، فاژ VMUT_SIR1 به‌عنوان فاژ موردآزمایش در مطالعه حاضر انتخاب گردید. مطالعات پیشین جداسازی فاژهای لیتیک علیه سالمونلای بیماری‌زای موجود در مواد غذایی را از منابع مختلفی، همچون مدفوع توسط Esmael و همکاران در سال ۲۰۲۱ (۲۹)، گوشت مرغ توسط Parveen و همکاران در سال ۲۰۱۷ (۳۰) یا محتوای رودهای جوجه‌های گوشتی توسط Augustine و همکاران در سال ۲۰۱۳ (۳۱) و آب فاضلاب توسط Bryan و همکاران در سال ۲۰۲۳ (۳۲) گزارش کرده‌اند.

مهم‌ترین و متداول‌ترین عامل برای طبقه‌بندی فاژها، در تمام مطالعات، ساختار میکروسکوپی بوده که در مطالعه حاضر، از میکروسکوپ الکترونی برای ارزیابی ساختار فنوتیپی باکتریوفاژ استفاده شد (۳۳). فاژ جداسازی‌شده با استفاده از استانداردهای مورفولوژیکی تعیین‌شده توسط کمیته بین‌المللی طبقه‌بندی ویروس‌ها و پروتکل منتشرشده شناسایی و سپس با عنوان VMUT_SIR1 نام‌گذاری گردید (۳۴). نتایج شناسایی مورفولوژیک نشان داد این فاژ به خانواده Siphoviridae تعلق داشته و دارای دم بلند و غیرقابل انقباض بود. این یافته با مطالعات پیشین که نشان داده‌اند فاژهای اختصاصی میزبان سالمونلا عمدتاً از اعضای راسته Caudovirales می‌باشند همخوانی دارد (۳۵). خانواده Siphoviridae، از ویروس‌های DNA دورشته‌ای، به‌دلیل طول بلند دم‌های غیرانقباضی خود متمایز می‌باشند. اعضای این خانواده دارای ژنوم‌های خطی و سرهای ایکوزاهدراال بوده که به‌دلیل ظرفیت ساختاری عمومی، کاندیدایی عالی برای آلوده کردن سویه‌های باکتریایی متعدد در مسیر کنترل زیستی مبتنی بر فاژ می‌باشند (۳۶).

فاژ جداسازی‌شده، ویژگی‌های لیتیک خود را براساس توانایی در تشکیل پلاک روی لایه‌های باکتریایی میزبان‌هایشان نشان داد. همگنی پلاک پس از خالص‌سازی مشاهده شد (۳۷).

در طی بررسی‌های صورت‌گرفته بر روی فاژ VMUT_SIR1، دامنه میزبانی گسترده و درعین‌حال اختصاصی برای آن مشخص شد. تعاملات مولکولی اختصاصی بین فاژ و باکتری میزبان، دامنه میزبانی باکتریوفاژ را تعیین می‌کند. باکتریوفاژهای با دامنه میزبانی اندک و گسترده وجود دارند. اختصاصیت بالای باکتریوفاژ به پروتئین‌های گیرنده اتصال (RBPs)، مانند پروتئین فیبر دم و پروتئین

اسپایک دم مرتبط است (۳۸). این پروتئین‌ها می‌توانند به باکتریوفاژ کمک کنند تا به‌طور خاص باکتری‌ها را شناسایی و به آن‌ها متصل شوند و برخی نیز می‌توانند ساختار سطح باکتری را مختل کنند تا به ورود اسیدهای نوکلئیک باکتریوفاژ به باکتری کمک کنند (۳۹). درحالی‌که فاژهای با طیف میزبانی وسیع می‌توانند در از بین بردن مجموعه‌ای از باکتری‌ها بسیار ارزشمند باشند، اما اختصاصیت این فاژها برای درمان‌های هدفمند مفید می‌باشد و ایجاد اختلال و اثرات خارج از هدف را در مقایسه با طیف میزبانی محدود که اختصاصی‌تر است کاهش می‌دهند (۴۰). به‌عنوان مثال، فاژ VMUT_SIR1 توانست ۹۰ درصد از جدایه‌های سرووار *سالمونلا اینتریتیدیس* و ۳۰ درصد از جدایه‌های *سالمونلا تیفی موریوم* را لیز کند، اما بر روی باکتری *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* تأثیری نداشت.

Meaden و Koskella در سال ۲۰۱۳ با مطالعه درک اختصاصیت باکتریوفاژها در محیط طبیعی (۴۱)، همچنین Akhtar و همکاران در سال ۲۰۱۴ در مطالعاتی در راستای جداسازی، شناسایی و تعیین خصوصیات فاژهای لیتیک مؤثر بر سرووارهای *سالمونلا انتریتیدیس* بیان کردند فاژها می‌توانند در محیط‌های طبیعی با دامنه میزبانی محدود، اما با طیف اختصاصیت گسترده در سطح سرووار فعالیت کنند. مطالعه Akhtar و همکاران در سال ۲۰۱۴ تأکید کرد فاژ SEA1 و SEA2 به‌شدت در برابر سایر باکتری‌ها اختصاصی می‌باشند. باین‌حال قادر به آلوده کردن طیف گسترده‌ای از سالمونلاها بودند. مشاهدات مطالعه حاضر با پژوهش‌های ذکرشده همخوانی داشت (۴۲، ۴۳).

ضریب چندگانگی عفونت (MOI) نسبت تعداد باکتریوفاژها به سلول‌های باکتریایی میزبان است (۴۴). بالاترین تیتراژ باکتریوفاژ ممکن است با مخلوط کردن باکتریوفاژها با سلول‌های میزبان در MOI بهینه به دست آید. برای مثال، فاژ *سالمونلا انتریتیدیس* LSE7621 (۴۵)، فاژ *سالمونلا انتریتیدیس* SaFB14 (۴۶) و فاژ *سالمونلا تیفی موریوم* T156 (۴۷) در مطالعات دیگر محققین دارای MOI بهینه مشابه (10^{-1}) بودند، درحالی‌که MOI بهینه فاژ T4 مانند QL01 برابر با ۱۰۰ (۴۸) و فاژ *استافیلوکوکوس اورئوس* GH15 برابر با 10^{-3} بود (۴۹). ویژگی‌های باکتریوفاژها معمولاً بسته به سلول‌های میزبان و منابع آن‌ها متفاوت است.

فاژ VMUT_SIR1 پایداری در کاهش رشد باکتریایی و توقف آن در ۱۲ ساعت اول در MOI ۰/۰۱ را نشان داد. MOI ۰/۰۱ فعالیت لیتیک کمتری نسبت به سلول‌های باکتریایی داشت و به افزایش تعداد باکتری‌ها منجر شد. نتایج فعالیت لیتیک فاژ مورد مطالعه با نتیجه مطالعات Dong و همکاران در سال ۲۰۲۵ (۵۰)، Erol و همکاران در سال ۲۰۲۲ (۵۱)، Haslinda و همکاران در سال ۲۰۲۴ (۵۲) و Ge و همکاران در سال ۲۰۲۱ (۵۳) همخوانی دارد.

جذب، اولین گام در آلودگی سلول‌های باکتریایی میزبان توسط فاژها است. VMUT_SIR1 زمان جذب کوتاه‌تر و کارایی جذب بالاتری داشت. گزارش شده است که فاژهای نوترکیب T3، T7 و ps3-1 کارایی جذب بهتری نسبت به فاژ مورد مطالعه نشان دادند (۵۴). از نظر کاربرد، فاژ مورد مطالعه با زمان جذب کوتاه و نرخ جذب بالا می‌تواند نرخ لیز و فعالیت خود را افزایش دهد.

منحنی رشد یک‌مرحله‌ای برای تعیین ویژگی‌های باکتریوفاژها، مانند دوره نهفتگی، زمان انفجار و اندازه انفجار اهمیت زیادی دارد. فاژهایی با دوره نهفتگی کوتاه ممکن است کاندیداهای خوبی برای کاربردهای کنترل زیستی در غذاها باشند (۴۷). همان‌طور که در نمودار شماره ۴ نشان داده شده است VMUT_SIR1 دوره نهفتگی کوتاهی (تقریباً ۲۰ دقیقه) نشان داد مشابه باکتریوفاژهای لیتیک *سالمونلا* گزارش شده توسط Li و همکاران در سال ۲۰۲۱ (۴۷) و Duc و همکاران در سال ۲۰۱۸ (۱۵) می‌باشد. ذرات فاژ در ۳۰ دقیقه به‌صورت نمایی تکثیر شدند و اندازه انفجار تقریباً ۱۲۰ PFU / سلول محاسبه شد. دوره نهفتگی کوتاه و اندازه انفجار بزرگ ویژگی‌های مثبتی می‌باشند که VMUT_SIR1 را برای کنترل آلودگی باکتریایی بالقوه مناسب می‌کنند که بالاتر از فاژ *سالمونلا* LPSTLL (۷۱ PFU / سلول) (۵۵) و LPST144 (۶۲ PFU / سلول) (۵۶) و نزدیک به LPST10 (۱۰۱ PFU / سلول) (۵۷) بود.

درحالی‌که برخی فاژها ممکن است توانایی‌های لیتیک قوی نشان دهند، موفقیت آن‌ها در فاژدرمانی می‌تواند به‌دلیل عدم پایداری فیزیکی محدود شود؛ زیرا ممکن است تنها در دامنه‌های محدودی از شرایط محیطی زنده بمانند. باین‌حال فاژ VMUT_SIR1 دماهای بین ۱۸- تا ۷۰ درجه سانتی‌گراد را تحمل کرد که پتانسیل دوام آن را به‌عنوان عوامل ضدعفونی‌کننده پایدار و سازگار با شرایط دمایی مختلف، از جمله دماهای مشابه بدن حیوان تأیید می‌کند. این فاژ در شرایط اسیدی قوی زنده ماند. در مقابل مطالعه حاضر که پایداری در دماهای < 70 درجه سانتی‌گراد را نشان داد، Kim و همکاران در سال ۲۰۲۰ پایداری به‌مدت ۱ ساعت در دماهای < 65 درجه

سانتی‌گراد را گزارش کردند (۵۸). نتیجه مطالعه حاضر با مطالعات دیگری نیز که پایداری مشابهی را در فازهای سالمونلا SWJM-01 (۵۹)، SWJM-02 (۵۹)، PSDA-2 (۶۰)، PS5 (۶۱) و ZCSE-9 (۶۲) گزارش کرده‌اند سازگار است؛ بنابراین فازهای جدا شده در مطالعه حاضر به دلیل پایداری گسترده pH (۴-۱۲) و پایداری دمایی (۱۸- تا ۷۰ درجه سانتی‌گراد) می‌توانند در غذاهای مختلف استفاده شوند.

اثرات فاژ بر زنده‌مانی سالمونلا انتروتیدیس در هر دو حالت پیشگیرانه و درمان اصلاحی باعث کاهش قابل توجه ($P < 0.05$) میزبان‌های باکتریایی شد؛ اما در روش درمان اصلاحی، قدرت اثر فاژها نسبت به روش پیشگیرانه بیشتر بود که این مورد مرتبط با حضور میزبان‌های موجود در فاز لگاریتمی و کمک به اتصال و تکثیر بیشتر فاژ می‌باشد. تأثیر باکتریوفاژ در دمای ۲۵ درجه به مراتب بیشتر از دمای ۴ درجه سانتی‌گراد بود (۶۳). در نمونه‌های تیمار شده با فاژ در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد طی ۲۴ ساعت، رشد مجدد سالمونلا انتروتیدیس مشاهده شد، اما میزان زنده ماندن آن‌ها همچنان کمتر از نمونه کنترل بود ($P < 0.05$). هنگامی که نمونه‌های گوشت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تیمار شدند، تعداد زنده ماندن سالمونلا انتروتیدیس در نمونه‌های کنترل در طول زمان پایدار و نزدیک به تلقیح اولیه باقی ماند. در عوض، میزان زنده ماندن سالمونلا انتروتیدیس در نمونه‌های تیمار شده به‌طور قابل توجهی ($P < 0.05$) در هر قطعه پس از ۲۴ ساعت نگهداری کاهش یافت (۶۴).

فاژها برای همانندسازی و تولید ذرات جدید به رشد میزبان باکتریایی خود وابسته‌اند. در دامنه دمایی بهینه، رشد سریع‌تر باکتری موجب تسریع همانندسازی فاژ می‌شود، درحالی‌که در دمای پایین، به دلیل کاهش نرخ رشد میزبان، سرعت همانندسازی فاژ به‌طور قابل توجهی کاهش یافته یا متوقف می‌شود (۶۵)؛ بنابراین دما یکی از مهم‌ترین عوامل برون‌زاد مؤثر بر نتایج کاربرد فاژها در کنترل باکتری محسوب می‌شود. در مطالعه حاضر، تیمار سویه‌های سالمونلا انتروتیدیس در محیط LB در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد کاهش بیشتری در شمار باکتری‌ها نسبت به تیمار در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نشان داد که با گزارش‌های پیشین در زمینه بیوکنترل فاژی همخوانی دارد (۶۶، ۶۷).

نتیجه‌گیری نهایی: فاژ سالمونلای به‌دست‌آمده در مطالعه حاضر اطلاعات مفیدی جهت طراحی درمان‌های کنترلی زیستی مبتنی بر فاژ برای مقابله با سالمونلا انتروتیدیس در مراحل فرآوری و عرضه گوشت خام مرغ فراهم می‌کند و می‌تواند با هدف کاهش استفاده از ضد عفونی‌کننده‌های شیمیایی استفاده شود. به‌طور کلی فاژ VMUT_SIR1 به‌عنوان یک فاژ بومی با شاخصه‌های مهمی همچون اختصاصیت بالا، کارایی در MOI پایین و دوره نهفتگی کوتاه‌مدت می‌تواند جایگزین بالقوه‌ای برای کنترل گسترش سالمونلا انتروتیدیس در کشور، با توجه به تیتراژ آلودگی‌های گزارش شده باشد.

سپاسگزاری

از صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور و بنیاد ملی علم به پاس حمایت از مطالعه حاضر، در قالب رساله دکتری به شماره ۴۰۱۴۱۲۸ و ستاد توسعه علوم و فناوری‌های زیست و سلول‌های بنیادی معاونت علمی و فناوری ریاست جمهوری به شماره طرح ۱۲۷۱۹۴/۱۱ سپاسگزاری می‌شود. از کلیه آزمایشگاه‌ها و کارشناسان دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران که در انجام مطالعه حاضر به ما یاری رساندند، قدردانی می‌شود.

تعارض منافع

هیچ گونه تعارض منافی در ارتباط با این مطالعه وجود ندارد.

References

1. Parra A, Toro M, Jacob R, Navarrete P, Troncoso M, Figueroa G, et al. Antimicrobial effect of copper surfaces on bacteria isolated from poultry meat. Brazil J Microbiol. 2018;49:113-8. [doi: 10.1016/j.bjm.2018.06.008](https://doi.org/10.1016/j.bjm.2018.06.008) PMID: 30181050

2. Liu B, Zhang X, Ding X, Bin P, Zhu G. The vertical transmission of *Salmonella* Enteritidis in a one-health context. *One Health*. 2023;16:100469. [doi: 10.1016/j.onehlt.2022.100469](https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2022.100469) PMID: 36507074
3. Edris A, Hassan M, Shaltout F, Elhosseiny S. Detection of *E. coli* and *Salmonella* organisms in cattle and camel meat. *Benha Veterinary Medical Journal*. 2012;24(2):198-204.
4. Jung S-J, Park SY, Ha S-D. Synergistic effect of X-ray irradiation and sodium hypochlorite against *Salmonella enterica* serovar Typhimurium biofilms on quail eggshells. *Food Res Int*. 2018;107:496-502. [doi: 10.1016/j.foodres.2018.02.063](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.02.063) PMID: 29580512
5. Golden CE, Rothrock Jr MJ, Mishra A. Mapping foodborne pathogen contamination throughout the conventional and alternative poultry supply chains. *Poult Sci*. 2021;100(7):101157. [doi: 10.1016/j.psj.2021.101157](https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101157) PMID: 34089937
6. Abd El-Hack ME, Aldhalmi AK, Abu-Hiamed HA, Almarkhan WD, Alharbi NA, Alhassani WE, et al. Antibiotic alternatives to produce organic poultry meat as a safe food source and the impact of its consumption on human health—a review. *Annals of Animal Science*. 2025;1;25(3):815-28. [doi: 10.2478/aoas-2024-0090](https://doi.org/10.2478/aoas-2024-0090)
7. Marmion M, Ferone M, Whyte P, Scannell A. The changing microbiome of poultry meat; from farm to fridge. *Food Microbiology*. 2021;99:103823. [doi: 10.1016/j.fm.2021.103823](https://doi.org/10.1016/j.fm.2021.103823) PMID: 34119108
8. Song X, Wang H, Xu X. Investigation of microbial contamination in a chicken slaughterhouse environment. *J Food Sci*. 2021;86(8):3598-610. [doi: 10.1111/1750-3841.15842](https://doi.org/10.1111/1750-3841.15842) PMID: 34287883
9. Kiprotich S, Mendonça A, Dickson J, Shaw A, Thomas-Popo E, White S, et al. Thyme oil enhances the inactivation of *Salmonella enterica* on raw chicken breast meat during marination in lemon juice with added *Yucca schidigera* extract. *Front Nutr*. 2021;7:619023. [doi: 10.3389/fnut.2020.619023](https://doi.org/10.3389/fnut.2020.619023) PMID: 33644106
10. Deng L-Z, Mujumdar AS, Pan Z, Vidyarthi SK, Xu J, Zielinska M, et al. Emerging chemical and physical disinfection technologies of fruits and vegetables: a comprehensive review. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2020;60(15):2481-508. [doi: 10.1080/10408398.2019.1649633](https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1649633) PMID: 31389257
11. Coughlan LM, Cotter PD, Hill C, Alvarez-Ordóñez A. New weapons to fight old enemies: novel strategies for the (bio) control of bacterial biofilms in the food industry. *Front Microbiol*. 2016;7:1641. [doi: 10.3389/fmicb.2016.01641](https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01641) PMID: 27803696
12. Azeredo J, García P, Drulis-Kawa Z. Targeting biofilms using phages and their enzymes. *Curr Opin Biotechnol*. 2021;68:251-61. [doi: 10.1016/j.copbio.2021.02.002](https://doi.org/10.1016/j.copbio.2021.02.002) PMID: 33714050
13. Zhang J, Ning H, Lin H, She J, Wang L, Jing Y, et al. Expansion of the plaquing host range and improvement of the absorption rate of a T5-like *Salmonella* phage by altering the long tail fibers. *Appl Environ Microbiol*. 2022;88(17):e00895-22. [doi: 10.1128/aem.00895-22](https://doi.org/10.1128/aem.00895-22) PMID: 35969059
14. Zhao J, Lin Y, Wang C, Zayda M, Maung AT, Mohammadi TN, et al. Biocontrol of *Salmonella* Typhimurium in milk, lettuce, raw pork meat and ready-to-eat steamed-chicken breast by using a novel bacteriophage with broad host range. *Inte J Food Microbiol*. 2023;402:110295. [doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110295](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110295) PMID: 37352774
15. Duc HM, Son HM, Honjoh K-i, Miyamoto T. Isolation and application of bacteriophages to reduce *Salmonella* contamination in raw chicken meat. *Lwt*. 2018;91:353-60. [doi: 10.1016/j.lwt.2018.01.072](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.01.072)
16. Abed S, Sholeh M, Khazani Asforooshani M, Shafiei M, Hashemi Shahraki A, Nasr S. Insights into the novel *Enterococcus faecalis* phage: A comprehensive genome analysis. *Plos one*. 2024;19(5):e0301292. [doi: 10.1371/journal.pone.0301292](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0301292) PMID: 38743671

17. Teklemariam AD, Alharbi MG, Al-Hindi RR, Alotibi I, Aljaddawi AA, Azhari SA, et al. Isolation and characterization of Chi-like *Salmonella* bacteriophages infecting two *Salmonella enterica* Serovars, Typhimurium and Enteritidis. *Pathogens*. 2022;11(12):1480. [doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2013.11.034](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.11.034) [PMID: 36558814](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36558814/)
18. Abedon ST. Detection of bacteriophages: phage plaques. *Bacteriophages: biology, technology, therapy*: Springer; 2021.p.507-38.
19. Fang Q, Zong Z. Lytic phages against ST11 K47 carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* and the corresponding phage resistance mechanisms. *Mosphere*. 2022;7(2):e00080-22. [doi: 10.1128/msphere.00080-22](https://doi.org/10.1128/msphere.00080-22) [PMID: 35255715](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35255715/)
20. Wong CL, Sieo CC, Tan WS, Abdullah N, Hair-Bejo M, Abu J, et al. Evaluation of a lytic bacteriophage, Φ st1, for biocontrol of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in chickens. *Int J Food Microbiol*. 2014;172:92-101. [doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2013.11.034](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.11.034) [PMID: 24361838](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24361838/)
21. Sharma S, Datta S, Chatterjee S, Dutta M, Samanta J, Vairale MG, et al. Isolation and characterization of a lytic bacteriophage against *Pseudomonas aeruginosa*. *Sci Rep*. 2021;11(1):19393. [doi: 10.1038/s41598-021-98457-z](https://doi.org/10.1038/s41598-021-98457-z) [PMID: 34588479](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34588479/)
22. Hong Y, Pan Y, Ebner P. Meat science and muscle biology symposium: development of bacteriophage treatments to reduce *Escherichia coli* O157: H7 contamination of beef products and produce. *J Anim Sci*. 2014;92(4):1366-77. [doi: 10.2527/jas.2013-7272](https://doi.org/10.2527/jas.2013-7272) [PMID: 24492574](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24492574/)
23. Pelzek AJ, Schuch R, Schmitz JE, Fischetti VA. Isolation, culture, and characterization of bacteriophages. *Current Protocols Essential Laboratory Techniques*. 2013;7(1):4.1-4.33. [doi: 10.13040/IJPSR.0975-8232.13\(12\).5178-82](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.13(12).5178-82)
24. Pradeep A, Ramasamy S, Veniemilda J, Kumar C. Effect of pH & temperature variations on phage stability- a crucial prerequisite for successful phage therapy. *Int J Pharm Sci Res*. 2022;13:5178-82.
25. Abozahra R, Shlkamy D, Abdelhamid SM. Isolation and characterization of ϕ EcM-vB1 bacteriophage targeting multidrug-resistant *Escherichia coli*. *BMC Research Notes*. 2025;18(1):3. [doi: 10.1186/s13104-024-07033-x](https://doi.org/10.1186/s13104-024-07033-x) [PMID: 39754154](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39754154/)
26. Jung S-J, Ashrafudoulla M, Kang I, Ha S-D. Isolation and characterization of multidrug-resistant *Salmonella*-specific bacteriophages and their antibacterial efficiency in chicken breast. *Poult Sci*. 2023;102(11):103073. [doi: 10.1016/j.psj.2023.103073](https://doi.org/10.1016/j.psj.2023.103073) [PMID: 37774519](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37774519/)
27. Shkoporov AN, Turkington CJ, Hill C. Mutualistic interplay between bacteriophages and bacteria in the human gut. *Nat Rev Microbiol*. 2022;20(12):737-49. [doi: 10.3390/foods10081742](https://doi.org/10.3390/foods10081742) [PMID: 35773472](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35773472/)
28. Wessels K, Rip D, Gouws P. Salmonella in chicken meat: Consumption, outbreaks, characteristics, current control methods and the potential of bacteriophage use. *Foods*. 2021;10(8):1742. [doi: 10.3390/foods10081742](https://doi.org/10.3390/foods10081742) [PMID: 34441520](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34441520/)
29. Esmael A, Azab E, Gobouri AA, Nasr-Eldin MA, Moustafa MM, Mohamed SA, et al. Isolation and characterization of two lytic bacteriophages infecting a multi-drug resistant *Salmonella* Typhimurium and their efficacy to combat salmonellosis in ready-to-use foods. *Microorganisms*. 2021;9(2):423. [doi: 10.3390/microorganisms9020423](https://doi.org/10.3390/microorganisms9020423) [PMID: 33670722](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33670722/)
30. Parveen S, Schwarz J, Hashem F, Vimini B. Reduction of *Salmonella* in ground chicken using a bacteriophage. *Poult Sci*. 2017;96(8):2845-52. [doi: 10.3382/ps/pex062](https://doi.org/10.3382/ps/pex062)
31. Augustine J, Louis L, Varghese SM, Bhat SG, Kishore A. Isolation and partial characterization of Φ SP-1, a *Salmonella* specific lytic phage from intestinal content of broiler chicken. *J Basic Microbiol*. 2013;53(2):111-20. [doi: 10.1002/jobm.201100319](https://doi.org/10.1002/jobm.201100319) [PMID: 22733367](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22733367/)

32. Bryan DW, Hudson LK, Wang J, Denes TG. Characterization of a diverse collection of Salmonella phages isolated from Tennessee wastewater. *Phage*. 2023;4(2):90-8. [doi: 10.1089/phage.2023.0004](https://doi.org/10.1089/phage.2023.0004) [PMID: 37350991](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37350991/)
33. Aprea G, D'Angelo AR, Prencipe VA, Migliorati G. Bacteriophage morphological characterization by using transmission electron microscopy. *J Life Sci*. 2015;9(1):214-20. [doi: 10.17265/1934-7391/2015.05.004](https://doi.org/10.17265/1934-7391/2015.05.004)
34. Adriaenssens EM, Brister JR. How to name and classify your phage: an informal guide. *Viruses*. 2017;9(4):70. [doi: 10.3390/v9040070](https://doi.org/10.3390/v9040070) [PMID: 28368359](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28368359/)
35. Bardina C, Spricigo DA, Cortés P, Llagostera M. Significance of the bacteriophage treatment schedule in reducing Salmonella colonization of poultry. *Appl Environ Microbiol*. 2012;78(18):6600-7. [doi: 10.1128/AEM.01257-12](https://doi.org/10.1128/AEM.01257-12) [PMID: 22773654](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22773654/)
36. Giri N. Bacteriophage structure, classification, assembly and phage therapy. *Biosciences Biotechnology Research Asia*. 2021;18(2):239-50. [doi: 10.13005/bbra/2911](https://doi.org/10.13005/bbra/2911)
37. Glonti T, Pirnay J-P. In vitro techniques and measurements of phage characteristics that are important for phage therapy success. *Viruses*. 2022;14(7):1490.
38. Dunne M, Prokhorov NS, Loessner MJ, Leiman PG. Reprogramming bacteriophage host range: design principles and strategies for engineering receptor binding proteins. *Current Opinion in Biotechnology*. 2021;68:272-81. [doi: 10.1016/j.copbio.2021.02.006](https://doi.org/10.1016/j.copbio.2021.02.006) [PMID: 33744824](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33744824/)
39. Jia H-J, Jia P-P, Yin S, Bu L-K, Yang G, Pei D-S. Engineering bacteriophages for enhanced host range and efficacy: insights from bacteriophage-bacteria interactions. *Front Microbiol*. 2023;14:1172635. [doi: 10.3389/fmicb.2023.1172635](https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1172635) [PMID: 37323893](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37323893/)
40. Cui L, Watanabe S, Miyana K, Kiga K, Sasahara T, Aiba Y, et al. A comprehensive review on phage therapy and phage-based drug development. *Antibiotics*. 2024;13(9):870. [doi: 10.3390/antibiotics13090870](https://doi.org/10.3390/antibiotics13090870) [PMID: 39335043](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39335043/)
41. Koskella B, Meaden S. Understanding bacteriophage specificity in natural microbial communities. *Viruses*. 2013;5(3):806-23. [doi: 10.3390/v5030806](https://doi.org/10.3390/v5030806) [PMID: 23478639](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23478639/)
42. Holtappels D, Alfenas-Zerbini P, Koskella B. Drivers and consequences of bacteriophage host range. *FEMS Microbiol Rev*. 2023;47(4):fuad038. [doi: 10.1093/femsre/fuad038](https://doi.org/10.1093/femsre/fuad038) [PMID: 37422441](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37422441/)
43. Akhtar M, Viazis S, Diez-Gonzalez F. Isolation, identification and characterization of lytic, wide host range bacteriophages from waste effluents against *Salmonella enterica* serovars. *Food Control*. 2014;38:67-74. [doi: 10.1016/j.foodcont.2013.09.064](https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.09.064)
44. Schneider KA, Tsoungui Obama HCJ, Kamanga G, Kayanula L, Adil Mahmoud Yousif N. The many definitions of multiplicity of infection. *Front Epidemiol*. 2022;2:961593. [doi: 10.3389/fepid.2022.961593](https://doi.org/10.3389/fepid.2022.961593) [PMID: 38455332](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38455332/)
45. Liu A, Liu Y, Peng L, Cai X, Shen L, Duan M, et al. Characterization of the narrow-spectrum bacteriophage LSE7621 towards *Salmonella* Enteritidis and its biocontrol potential on lettuce and tofu. *Lwt*. 2020;118:108791. [doi: 10.1016/j.lwt.2019.108791](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108791)
46. Tang F, Zhang P, Zhang Q, Xue F, Ren J, Sun J, et al. Isolation and characterization of a broad-spectrum phage of multiple drug resistant *Salmonella* and its therapeutic utility in mice. *Microb Pathog*. 2019;126:193-8. [doi: 10.1016/j.micpath.2018.10.042](https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.10.042) [PMID: 30408490](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30408490/)

47. Li J, Li Y, Ding Y, Huang C, Zhang Y, Wang J, et al. Characterization of a novel *Siphoviridae* *Salmonella* bacteriophage T156 and its microencapsulation application in food matrix. *Food Res Int.* 2021;140:110004. [doi: 10.1016/j.foodres.2020.110004](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.110004) PMID: 33648237
48. Xu J, Chen M, He L, Zhang S, Ding T, Yao H, et al. Isolation and characterization of a T4-like phage with a relatively wide host range within *Escherichia coli*. *J Basic Microbiol.* 2016;56(4):405-21. [doi: 10.1002/jobm.201500440](https://doi.org/10.1002/jobm.201500440) PMID: 26697952
49. Gu J, Liu X, Lu R, Li Y, Song J, Lei L, et al. Complete genome sequence of *Staphylococcus aureus* bacteriophage GH15. American Society for Microbiology 1752 N St., NW, Washington, DC; 2012. [doi: 10.1128/jvi.01313-12](https://doi.org/10.1128/jvi.01313-12) PMID: 22843868
50. Dong VQ, Pham TL, Nguyen KO, Pham VTH. A Lytic Bacteriophage PS2 with Potential for Controlling *Salmonella* infections in Chickens and Ducks. *VNU Journal of Science: Natural Sciences and Technology.* 2025;41(2). [doi: 10.25073/2588-1140/vnunst.5874](https://doi.org/10.25073/2588-1140/vnunst.5874)
51. Erol HB, Kaskatepe B, Ozturk S, Oz ZS. The comparison of lytic activity of isolated phage and commercial Intesti bacteriophage on ESBL producer *E. coli* and determination of Ec_P6 phage efficacy with in vivo *Galleria mellonella* larvae model. *Microb Pathog.* 2022;167:105563. [doi: 10.1016/j.micpath.2022.105563](https://doi.org/10.1016/j.micpath.2022.105563) PMID: 35513294
52. Haslinda W, Tang J, Zainazor TT. Isolation and characterisation of two lytic bacteriophages against non-typhoidal *Salmonella*. *International Food Research Journal.* 2024;31(4):1060-75. [doi: 10.47836/ifrj.31.4.22](https://doi.org/10.47836/ifrj.31.4.22)
53. Ge H, Xu Y, Hu M, Zhang K, Zhang S, Jiao Xa, et al. Isolation, characterization, and application in poultry products of a *Salmonella*-specific bacteriophage, S55. *Journal of Food Protection.* 2021;84(7):1202-12. [doi: 10.4315/JFP-20-438](https://doi.org/10.4315/JFP-20-438) PMID: 33710342
54. Lin T-Y, Lo Y-H, Tseng P-W, Chang S-F, Lin Y-T, Chen T-S. A T3 and T7 recombinant phage acquires efficient adsorption and a broader host range. *PloS one.* 2012;7(2):e30954. [doi: 10.1371/journal.pone.0030954](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030954) PMID: 22347414
55. Guo Y, Li J, Islam MS, Yan T, Zhou Y, Liang L, et al. Application of a novel phage vB_SalS-LPSTLL for the biological control of *Salmonella* in foods. *Food Res Int.* 2021;147:110492. [doi: 10.1016/j.foodres.2021.110492](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110492) PMID: 34399488
56. Yang Q, Ding Y, Nie R, Yao L, Wang X, Zhou M, et al. Characterization of a novel T7-like *Salmonella typhimurium* (ATCC13311) bacteriophage LPST144 and its endolysin. *Lwt.* 2020;123:109034. [doi: 10.1016/j.lwt.2020.109034](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109034)
57. Huang C, Shi J, Ma W, Li Z, Wang J, Li J, et al. Isolation, characterization, and application of a novel specific *Salmonella* bacteriophage in different food matrices. *Food Res Int.* 2018;111:631-41. [doi: 10.1016/j.foodres.2018.05.071](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.05.071) PMID: 30007727
58. Kim JH, Kim HJ, Jung SJ, Mizan MFR, Park SH, Ha SD. Characterization of *Salmonella* spp.-specific bacteriophages and their biocontrol application in chicken breast meat. *J Food Sci.* 2020;85(3):526-34. [doi: 10.1111/1750-3841.15042](https://doi.org/10.1111/1750-3841.15042) PMID: 32043599
59. Pan H, Shu M, Li T-J, Shen K-S, Zhao Y-Y, Liao N-B, et al. Isolation and characterization of two lytic phages against multidrug-resistant *Salmonella* and their application as a cocktail for biocontrol in foods. *Lwt.* 2023;185:115184. [doi: 10.1016/j.lwt.2023.115184](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.115184) PMID: 33670722
60. Sun Z, Mandlaa, Wen H, Ma L, Chen Z. Isolation, characterization and application of bacteriophage PSDA-2 against *Salmonella typhimurium* in chilled mutton. *PLoS One.* 2022;17(1):e0262946. [doi: 10.1371/journal.pone.0262946](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0262946) PMID: 35073376

61. Duc HM, Son HM, Yi HPS, Sato J, Ngan PH, Masuda Y, et al. Isolation, characterization and application of a polyvalent phage capable of controlling *Salmonella* and *Escherichia coli* O157: H7 in different food matrices. *Food Res Int.* 2020;131:108977. [doi: 10.1016/j.foodres.2020.108977](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.108977) PMID: 32247506
62. Khan MAS, Islam Z, Barua C, Sarkar MMH, Ahmed MF, Rahman SR. Phenotypic characterization and genomic analysis of a *Salmonella* phage L223 for biocontrol of *Salmonella* spp. in poultry. *Sci Rep.* 2024;14(1):15347. [doi: 10.1038/s41598-024-64999-1](https://doi.org/10.1038/s41598-024-64999-1) PMID: 38961138
63. Moon SH, Waite-Cusic J, Huang E. Control of *Salmonella* in chicken meat using a combination of a commercial bacteriophage and plant-based essential oils. *Food Control.* 2020;110:106984. [doi: 10.1016/j.foodcont.2019.106984](https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106984)
64. Almutairi M, Imam M, Alammari N, Hafiz R, Patel F, Alajel S. Using phages to reduce *Salmonella* prevalence in chicken meat: a systematic review. *Therapy, Applications, and Research.* 2022;3(1):15-27. [doi: 10.1089/phage.2021.0017](https://doi.org/10.1089/phage.2021.0017) PMID: 36161190
65. Galarce NE, Bravo JL, Robeson JP, Borie CF. Bacteriophage cocktail reduces *Salmonella enterica* serovar Enteritidis counts in raw and smoked salmon tissues. *Rev Argent Microbiol.* 2014;46(4):333-7. [doi: 10.1016/S0325-7541\(14\)70092-6](https://doi.org/10.1016/S0325-7541(14)70092-6) PMID: 25576418
66. Hungaro HM, Mendonça RCS, Gouvêa DM, Vanetti MCD, de Oliveira Pinto CL. Use of bacteriophages to reduce *Salmonella* in chicken skin in comparison with chemical agents. *Food Res Int.* 2013;52(1):75-81. [doi: 10.1016/j.foodres.2013.02.032](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.02.032)
67. Tomat D, Migliore L, Aquili V, Quiberoni A, Balagué C. Phage biocontrol of enteropathogenic and shiga toxin-producing *Escherichia coli* in meat products. *Front Cell Infect Microbiol.* 2013;3:20. [doi: 10.3389/fcimb.2013.00020](https://doi.org/10.3389/fcimb.2013.00020) PMID: 23761050