



· 综述 ·

## 噬菌体在水产养殖业中的研究进展

陈 愿<sup>1</sup>, 张永安<sup>1,2</sup>, 周 洋<sup>1\*</sup>

(1. 华中农业大学水产学院, 湖北 武汉 430070;

2. 长江经济带大宗水生生物产业绿色发展教育部工程研究中心, 湖北 武汉 430070)

**摘要:** 随着水产养殖业的发展, 养殖密度越来越高, 细菌性疾病暴发频繁。现如今主流抗菌手段是抗生素, 但其大规模且不规范的使用使得细菌耐药性问题越发严重。为了有效防治水产细菌性疾病, 加快推进水产养殖业绿色发展, 促进产业转型升级, 人们亟需寻求新的抗菌手段来缓解当今的局面。噬菌体是一种感染细菌和古细菌的病毒, 具有专一性强、不易产生抗性、代谢快、易开发及成本低等优点。在国内外被广泛研究, 同时也被应用于多种疾病的防控, 其相关产品也获得认可, 但其本身存在的限制也不容忽视。本文首先综合介绍了噬菌体治疗的原理和优势, 然后对噬菌体治疗在水产养殖动物细菌性疾病中的研究进展进行综述, 并对噬菌体治疗现存的困难和应对策略进行讨论, 最后在此基础上作出展望, 期望能够为后续噬菌体在水产上的应用研究提供参考。

**关键词:** 噬菌体; 水产养殖; 噬菌体治疗; 细菌性疾病

**中图分类号:** S 942.3

**文献标志码:** A

### 1 水产动物细菌性病原及耐药性现状

#### 1.1 水产动物细菌性病原

近些年人们对鱼、虾、蟹、贝类等水产品的需求量上升, 水产品逐渐成为人类生活的必需品。我国的水产养殖行业已经发生了天翻地覆的变化, 从最初的靠海靠湖捕鱼、捞鱼的简单模式发展成现在的高密度、规模化、集约化、立体化的绿色养殖模式, 我国水产品产量连续28年稳居世界首位<sup>[1]</sup>。但问题也接踵而至, 因为水产养殖对象和养殖模式的特殊性, 水产动物疾病的暴发往往是迅速且不可挽回的。高密度养殖引发的水产养殖动物疾病已经成为阻碍水

产养殖业发展的一大巨石, 其中细菌性疾病更是严重影响了水产养殖业的可持续发展<sup>[2]</sup>。

鱼类常见的细菌性疾病有烂鳃、白皮、赤皮、竖鳞、细菌性败血症、细菌性肠炎、疔疮、链球菌病和打印病等; 甲壳类常见的细菌性疾病有红腿、烂鳃、瞎眼、甲壳溃疡和荧光病等, 鳖类常见细菌性疾病有爱德华氏菌病、穿孔病、红脖子病和胃溃疡出血病; 蛙常见细菌性疾病有爱德华氏菌病、红腿病和链球菌病等<sup>[3]</sup>。常见的水产病原菌如嗜水气单胞菌 (*Aeromonas hydrophila*) 常常导致鱼类、龟及鳖等水生动物的细菌性败血症或出血病; 副溶血弧菌 (*Vibrio parahaemolyticus*) 主要感染海水鱼、虾、蟹、贝等, 引

收稿日期: 2021-03-24 修回日期: 2021-05-11

资助项目: 国家自然科学基金 (32073022)

第一作者: 陈愿, 从事水产噬菌体研究, E-mail: chenchen123@webmail.hzau.edu.cn

通信作者: 周洋 (照片), E-mail: zhouyang@mail.hzau.edu.cn



起虾红体病、鱼类皮肤溃烂<sup>[4]</sup>；哈维氏弧菌 (*V. harveyi*) 主要感染对虾，引起的对虾发光病；以及海豚链球菌 (*Streptococcus iniae*) 主要感染鲷，引起鳃部充血出血等等，这些病原菌给水产养殖业造成了极大的经济损失，同时也阻碍着水产养殖业的发展。

## 1.2 水产动物细菌性病原菌的耐药性

水产养殖业防治细菌性疾病的药物称为抗菌渔药，主要分为2种，首先是天然抗菌渔药，是细菌、真菌、放线菌等微生物的代谢产物，能杀灭或抑制病原微生物，目前，我国水产养殖业中使用的抗生素一共有3类4个品种，分别是氨基糖苷类的硫酸新霉素、四环素类的盐酸多西环素、酰胺类的氟苯尼考与甲砒霉素。另一个则是人工合成抗菌渔药<sup>[5]</sup>，人工合成抗菌渔药主要包括磺胺类药物与喹诺酮类药物等<sup>[6]</sup>。在生产上，抗菌渔药主要施用于养殖水体或者饲料中，它会影响相关共生细菌之间的平衡，甚至可能导致抗生素向邻近生态系统的扩散，导致养殖环境的生态失衡以及出现大量的生态环境问题<sup>[7]</sup>。并且随着这些药物的大量使用，耐药菌株不断产生，微生态环境被破坏，药物残留还会使环境以及水产品污染的问题越发严峻<sup>[8]</sup>。

细菌耐药性是指细菌对于抗菌渔药作用的耐受性，可分为天然耐药性和获得耐药性。自然界中耐药菌的大量出现是施加药物选择的后果，最早发现耐药菌流行性感染是在1957年，美国出现了耐磺胺药的杀鲑气单胞菌 (*A. salmonicida*) 引起的鳟流行性感染，之后在鱼、虾、蟹等水产养殖动物中不断检测出耐药菌株。目前报道的耐药菌株主要有嗜水气单胞菌、爱德华氏菌 (*Edwardsiella* spp.)、溶藻弧菌 (*V. alginolyticus*)、哈维氏弧菌、副溶血弧菌等。嗜水气单胞菌疾病常用喹诺酮类药物恩诺沙星进行治疗，但是随着该药物的长期大量使用，嗜水气单胞菌开始对其产生耐药，甚至出现多重耐药性情况<sup>[9]</sup>。副溶血弧菌的耐药种类存在地区差异。在国内有研究发现，上海地区某水产市场虾中99%的副溶血弧菌对氨苄西林耐药<sup>[10]</sup>；Kang等<sup>[11]</sup>对分离于韩国西海岸牡蛎中的71株副溶血弧菌进行耐药性实验，发现71株菌均对氨苄西林和万古霉素耐药；2010年Okoh等<sup>[12]</sup>对分离于南非某农村处理污水中的副溶血弧菌进行耐药性分析

发现，该菌对氯霉素、链霉素、四环素以及庆大霉素等9种抗生素耐药。吴立婷等<sup>[13]</sup>对分离于福建宁德地区的患病濒死大黄鱼 (*Larimichthys crocea*) 体内的哈维氏弧菌进行耐药性分析，结果显示，所有分离株对硫酸粘杆菌素、庆大霉素、四环素、氨苄西林、复方新诺明和阿莫西林高度耐受。这些耐药菌株的出现不仅阻碍了水产养殖行业的发展，还危及水产品的安全以及人类公共安全。因此，寻求高效、绿色、安全、健康的水产动物细菌性疾病治疗手段迫在眉睫。

## 2 噬菌体治疗的原理和优势

噬菌体是一种能够感染细菌、真菌、放线菌或螺旋体等微生物的病毒的总称，其中噬菌体对细菌的感染较为普遍，因此又称为“细菌病毒”。噬菌体由蛋白质外壳和遗传物质核酸构成<sup>[14]</sup>，其本身不能够进行复制增殖，必需依赖宿主菌的遗传翻译系统进行复制。噬菌体可分为裂解性噬菌体和温和噬菌体<sup>[15]</sup>，其中裂解性噬菌体的增殖可分为4个步骤：吸附、注入、合成装配和释放<sup>[16]</sup>。裂解性噬菌体在与宿主菌表面受体相结合后，将自身的遗传物质注入到宿主菌内，并利用宿主菌的遗传翻译系统进行自身遗传物质的复制和增殖以及蛋白质外壳的合成，从而组装成大量子代噬菌体，最后裂解宿主菌，释放子代噬菌体，释放出来的子代噬菌体又可以感染更多的宿主菌<sup>[17]</sup>。温和噬菌体与裂解性噬菌体不同，温和噬菌体在感染宿主菌后短时间内不会裂解宿主菌，而是将自己的遗传物质转入整合到宿主菌的基因组中，这个整合到宿主菌基因组上的核酸序列称为前噬菌体<sup>[18]</sup>。前噬菌体伴随着宿主的遗传翻译系统的复制翻译而进行相应的复制翻译，这个时期则称为溶源期，故温和噬菌体也称为溶源噬菌体。前噬菌体在一定的条件下溶源转化开启裂解周期，开始合成自身的遗传物质以及蛋白质外壳，并组装子代噬菌体<sup>[19]</sup>。

在已分离的噬菌体中最常见的为有尾噬菌体目 (*Caudovirales*)，根据尾部形态特征区分为肌尾噬菌体科 (*Myoviridae*)、长尾噬菌体科 (*Siphoviridae*) 和短尾噬菌体科 (*Podoviridae*) 3科。肌尾噬菌体具有可伸缩的尾部，而长尾噬菌体具有

较长而不可伸缩的尾部, 短尾噬菌体具有短且不可伸缩的尾部, 代表性噬菌体分别为 T4 噬菌体、T7 噬菌体与  $\lambda$  噬菌体。

噬菌体治疗是一种利用噬菌体裂解细菌的特性来预防或者治疗细菌性感染的一种抗菌手段, 原理是利用噬菌体对致病菌的裂解作用杀死致病菌, 降低其感染概率, 从而达到预防与治疗细菌性疾病的效果。因此, 一般用作治疗细菌性疾病的噬菌体是裂解性噬菌体。在水产养殖业中, 相比于传统的抗生素防治手段, 噬菌体治疗的作用机制更为天然<sup>[20]</sup>。

噬菌体治疗的作用机制与抗生素不同, 甚至可以对多重耐药菌起作用, 例如杀鲑气单胞菌噬菌体 ASP-1 可以治疗具有多重耐药性的杀鲑气单胞菌引起的疾病<sup>[21]</sup>。噬菌体专一性强, 只会特异性识别某一种病原菌, 不会影响到机体或者生态环境中的正常菌群<sup>[22]</sup>。噬菌体的增殖方式是指指数增长, 很少的剂量在短时间内就可以达到较高水平, 减少了多次给药等繁琐事项, 从而更好地控制细菌丰度, 有效控制疾病<sup>[23]</sup>。噬菌体不易产生耐药性, 噬菌体以特异性识别细菌受体侵染并裂解细菌的方式生存, 二者长久以来共同进化, 有研究报道细菌对噬菌体的突变率为  $10^{-7}$ , 而对抗生素的突变率为  $10^{-6}$ , 细菌对噬菌体产生抗性的趋势比使用抗生素时要慢大约十倍, 并且抗噬菌体细菌对具有相似目标范围的其他噬菌体没有抗性<sup>[24]</sup>。噬菌体裂解目标菌后, 其在环境中或者有机体中会被降解或快速代谢掉, 不会残留在水产品或者环境中造成污染<sup>[25]</sup>。噬菌体易开发、成本低, 一般取自于自然环境中, 常见于污水、废液等容易滋生细菌的环境中<sup>[26]</sup>, 在自然界中非常丰富, 分离到可用于治疗细菌性疾病的噬菌体相对容易<sup>[27]</sup>。噬菌体治疗细菌性疾病具有极大的优势, 这也是噬菌体作为潜在的替抗产品用于细菌性疾病防治的重要原因。

### 3 噬菌体治疗在水产养殖动物细菌性疾病中的研究进展

#### 3.1 噬菌体在治疗变形假单胞菌疾病中的研究进展

变形假单胞菌 (*Pseudomonas pleoglossicida*) 为假单胞菌属 (*Pseudomonas*), 是革兰氏阴性菌,

可感染香鱼 (*Plecoglossus altivelis*) 而引起细菌性败血症, 发病率高, 死亡率高, 给香鱼养殖业造成巨大的经济损失<sup>[28]</sup>。有研究者分离到 2 株裂解性变形假单胞菌噬菌体 PPp-W4 与 PPp-W3, 在体外实验中发现二者的混合物最能抑制变形假单胞菌的生长, 其次将噬菌体拌料投喂, 攻毒后统计 2 周死亡率, 发现拌料投喂的香鱼死亡率远远低于对照组, 且混合噬菌体投喂组的死亡率最低, 为 22.5%。该研究说明变形假单胞菌噬菌体在一定程度可以作为防控细菌性疾病的手段, 且噬菌体混合治疗也就是噬菌体鸡尾酒疗法治疗与防控效果更佳<sup>[29]</sup>。

#### 3.2 噬菌体在治疗铜绿假单胞菌疾病中的研究进展

铜绿假单胞菌 (*P. aeruginosa*), 又称绿脓杆菌, 是一种革兰氏阴性菌, 可以感染动植物以及人类<sup>[30]</sup>, 在水产中会引起鱼类细菌性血性腹水。2019 年, 华南理工大学分离出 4 株烈性铜绿假单胞菌噬菌体, 发现均有较强的裂解能力, 还能有效破坏已形成的生物被膜<sup>[31]</sup>。Morello 等<sup>[32]</sup>将噬菌体 P3-CHA 注射被铜绿假单胞菌感染的小鼠 (*Mus musculus*), 证明噬菌体可以预防和治疗该细菌性疾病。亦有报道噬菌体与抗生素协同作用可显著降低铜绿假单胞菌 PAO1 耐药性的产生<sup>[33]</sup>。Cafora 等<sup>[34]</sup>研究表明, 在斑马鱼囊性纤维化胚胎感染模型上, 噬菌体疗法可有效降低铜绿假单胞菌致死率、细菌载量和促炎免疫反应。

#### 3.3 噬菌体在治疗嗜水气单胞菌疾病中的研究进展

嗜水气单胞菌是水产中重要的鱼类病原菌, 会引起鱼类如青鱼 (*Mylopharyngodon piceus*)、草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*) 的出血性败血症<sup>[35]</sup>, 而且还能感染人与动物, 是典型的人 (*Homo sapiens*)-畜-鱼共患病病原菌, 轻则引起人类腹泻, 重则危及人类生命安全<sup>[36-38]</sup>。1983 年首次出现关于嗜水气单胞菌噬菌体的报道, Chow 等<sup>[39]</sup>从污水中分离到 2 株嗜水气单胞菌噬菌体 Aeh1 和 Aeh2。1994 年, 林业杰等<sup>[40]</sup>分离到 25 株嗜水气单胞菌噬菌体, 是国内首次分离到嗜水气单胞菌噬菌体。随后该研究团队对其中宿主范围较广的 6 株噬菌体进行了相关特性研究, 发现这 6 株噬菌体裂解范围具有属的特异性, 且均具有

较强的裂解能力, 同时还用这 6 株噬菌体对福建地区的 196 株嗜水气单胞菌进行分型, 发现分型率高达 83.68%<sup>[41]</sup>。韩国 Jun 等<sup>[42]</sup> 在一家鱼场中分离到 2 株裂解性嗜水气单胞菌噬菌体 Pah1-C 和 Pah6-C, 进行体外和泥鳅 (*Misgurnus anguillicaudatus*) 体内实验, 发现二者对嗜水气单胞菌引起的疾病均有防治效果, 且注射和拌饲料投喂 2 种方式的效果没有显著差别。Hoang 等<sup>[43]</sup> 在越南湄公河区域鱼塘中分离到 24 株嗜水气单胞菌噬菌体, 发现其中 TG25P 与 CT45P 噬菌体的混合物对嗜水气单胞菌具有较好的治疗效果。2020 年, 有科研人员在鱼塘中分离出嗜水气单胞菌噬菌体 PAh4, 对其进行拌饲料投喂尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*), 发现 PAh4 以剂量依赖的方式降低嗜水气单胞菌感染导致的罗非鱼死亡率<sup>[44]</sup>。Akmal 等<sup>[45]</sup> 在韩国巨济岛分离并鉴定了嗜水气单胞菌噬菌体 Akh-2, 并对受感染的泥鳅具有良好的治疗效果。Slam 等<sup>[46]</sup> 分离出嗜水气单胞菌噬菌体 ZPAH7, 并对其进行生物学特性等研究, 发现能抑制和杀死生物被膜中的嗜水气单胞菌。

随着研究手段的发展, 嗜水气单胞菌噬菌体的研究内容也由最初的分离筛选噬菌体向噬菌体基因组、蛋白质组水平挖掘, 且评估了宿主免疫应答反应。Sau 等<sup>[47]</sup> 和 Merino 等<sup>[48]</sup> 对嗜水气单胞菌噬菌体 Aeh1 基因组分析发现, 其不携带任何毒素与抗生素抗性基因, 并对其密码子使用偏好性进行分析, 评估了其用作治疗嗜水气单胞菌感染的潜能。相类似的研究还包括 2020 年 Tu 等<sup>[49]</sup> 以及 2021 年 Pallavi 等<sup>[50]</sup> 分别分离获得噬菌体 PVN02 与 vB-AhyM-AP1, 基因组分析发现, 上述噬菌体没有携带任何毒力或者抗生素抗性基因, 且对嗜水气单胞菌浮游菌以及生物被膜均有裂解活性。2019 年韩国 Chandrarathna 等<sup>[51]</sup> 在鲤 (*Cyprinus carpio*) 组织中分离出了新型烈解性噬菌体 AHP-1, 用噬菌体 AHP-1 对斑马鱼 (*Danio rerio*) 进行浸泡处理, 接着进行斑马鱼免疫相关基因表达分析发现, 噬菌体 AHP-1 没有引起任何不利的免疫反应, 且具有治疗细菌性疾病的潜能。我国学者 Cao 等<sup>[52]</sup> 从河流中分离到嗜水气单胞菌烈解性噬菌体 MJG, 通过形态观察、基因组分析和系统发育分析表明, MJG 与短尾噬菌体科 Sp6 病毒属的噬菌体密切相关。国内外学者在嗜水气单胞菌噬菌体方面的积累为

后续噬菌体的应用研究打下了坚实的基础。

### 3.4 噬菌体在治疗哈维氏弧菌疾病中的研究进展

哈维氏弧菌为弧菌科 (Vibrionaceae) 弧菌属 (*Vibrio*)。随着水产行业的不断发展, 哈维氏弧菌给水产养殖带来的危害越来越大, 其主要感染海洋中的对虾、大黄鱼等经济品种。哈维氏弧菌可引起对虾的发光病, 且致死率将近 100%。Viond 等<sup>[53]</sup> 在虾场分离到了哈维氏弧菌的双链 DNA 噬菌体, 发现其可以提高幼虾的存活率, 且存活率高于抗生素组。Stalin 等<sup>[54]</sup> 在印度东海岸虾场中分离出了 3 株广谱哈维氏弧菌噬菌体, 并证明一定浓度的噬菌体在对虾养殖过程中可提高对虾的存活率。2017 年 Lal 等<sup>[55]</sup> 发现, 哈维氏弧菌噬菌体 VhKM4 在感染复数低至 0.01 的情况下对哈维氏弧菌 VHJR7 仍有很强的裂解能力。

### 3.5 噬菌体在治疗副溶血弧菌疾病中的研究进展

副溶血弧菌是革兰氏阴性菌, 嗜盐, 常分布于河海交汇处、近海以及海产品中<sup>[56]</sup>。可感染海水鱼类、虾与贝类等水产动物, 引起节肢动物急性肝胰坏死病, 甚至可以感染人类导致食物中毒, 出现呕吐、腹泻及腹痛等症状, 可引起严重的食源性社会公共问题<sup>[57]</sup>。彭勇等<sup>[58-59]</sup> 从水产市场污水排放处分离到 VPp1、VPp2 和 VPp3 等 3 株副溶血弧菌噬菌体, 通过对其裂解活性研究发现, 3 株噬菌体均有作为副溶血弧菌生物防控手段的潜能。Rong 等<sup>[60]</sup> 对上述 VPp1 做了进一步研究, 发现在 16 °C 的条件下噬菌体感染复数为 0.1 时, 噬菌体的作用效果最佳。丁云娟<sup>[61]</sup> 2012 年报道, 副溶血弧菌噬菌体 qdv001 可以净化牡蛎养殖环境以及牡蛎体内的副溶血弧菌。同时该课题组在 2020 年研究发现, 副溶血弧菌噬菌体可以抑制促炎因子 IL-1 $\beta$  和 IL-6 以及 CD14 的表达, 调节细菌引起的免疫应答<sup>[62]</sup>。Mateus 等<sup>[63]</sup> 同样分离筛选出 3 株副溶血弧菌噬菌体, 其中 VP-3 具有强裂解性, 因此鸡尾酒疗法与单独使用 VP-3 并无显著差异。Lomeli-Ortega 等<sup>[64]</sup> 分离筛选出 2 株副溶血弧菌噬菌体 A3S 和 VPMS1, 发现二者都可以提高患病幼虾的存活率。Lal 等<sup>[65]</sup> 发现了 1 株副溶血弧菌噬菌体 VpKK5, 其对副溶血弧菌裂解能力强, 且基因组分析发现噬菌体 VpKK5 是一种新型噬菌体, 具有进一步探索

的潜力。

### 3.6 噬菌体在可形成生物膜细菌治疗中的研究进展

细菌生物膜 (bacterial biofilms) 也称为细菌生物被膜, 是由细菌形成并依附于生物体或者非生物体表面, 生物被膜内细菌彼此黏连, 并由自身产生的细胞外聚合物基质包裹的膜样物质<sup>[66]</sup>。据统计 90% 以上的细菌都会产生生物被膜<sup>[67]</sup>, 生物被膜状态的细菌比浮游状态的细菌具有更高的抗生素抗性, 不利于疾病的治疗<sup>[68-69]</sup>。噬菌体可以穿过生物被膜中的水通道, 到达生物被膜的最深层裂解细菌, 有效地清除细菌生物被膜, 有的噬菌体还可以产生解聚酶消除生物被膜<sup>[70]</sup>。Kim 等<sup>[71]</sup>发现, 噬菌体 pVa-21 可以消除溶藻弧菌生物被膜, 并有效抑制浮游和生物被膜状态的溶藻弧菌。Papadopoulou 等<sup>[72]</sup>将抗生物被膜化合物与噬菌体联用, 发现消除生物被膜效果更为有效, 从而减少鱼塘中细菌性冷水病的暴发。2020 年 Sundell 等<sup>[73]</sup>研究发现, 在初始感染复数仅为 0.01 时, 裂解性噬菌体 FPSV-D22 可以抑制至少 80% 的嗜冷黄杆菌 (*Flavobacterium psychrophilum*) 的吸附和定殖, 并能够有效消除成熟的嗜冷黄杆菌生物被膜。2021 年 Pallavi 等<sup>[50]</sup>在污水中筛选获得嗜水气单胞菌噬菌体 vB-AhyM-AP1, 发现其对嗜水气单胞菌浮游菌以及生物被膜均有裂解活性。

## 4 噬菌体治疗现存的困境以及对策

### 4.1 噬菌体宿主范围小, 可用鸡尾酒疗法

噬菌体鸡尾酒疗法是将宿主不同的噬菌体混合并对患病动物进行治疗的一种手段, 从而达到一个广谱治疗的作用。因为噬菌体感染宿主菌是通过受体结合的作用, 故噬菌体宿主谱普遍比较窄, 这使噬菌体具有很强的专一性<sup>[74]</sup>, 而水产动物生活环境复杂, 细菌性疾病的暴发往往是混合感染所导致的, 单独使用某种噬菌体达不到预期的治疗效果。2008 年丹麦 Stenholm 等<sup>[75]</sup>在某虹鳟养殖场分离出了 22 株嗜冷黄杆菌噬菌体, 将 FpV-4、FpV-9 与 FpV-21 进行鸡尾酒组合, 对嗜冷黄杆菌进行裂解实验, 发现鸡尾酒组合的裂解效果最佳。2014 年 Mateus 等<sup>[63]</sup>对他们分离到的 3 株副溶血弧菌研究发现, 2 种

或者 3 种噬菌体混合作用效果远远好于单独使用 VP-1 或 VP-2。2019 年, 国外报道一种由 3 种嗜水气单胞菌噬菌体和 4 种荧光假单胞菌 (*P. fluorescens*) 噬菌体组成商品化噬菌体鸡尾酒制剂 BAFADOR<sup>®</sup>, Schulz 等<sup>[76]</sup>发现该噬菌体鸡尾酒制剂可以提高欧洲鳗鲡 (*Anguilla anguilla*) 血清中的总蛋白水平、免疫球蛋白水平以及溶菌酶活性和铜蓝蛋白水平, 并能够显著提高脾脏吞噬细胞的杀菌活性和头肾淋巴细胞增殖能力, 显著降低嗜水气单胞菌和荧光假单胞菌造成的鳗鲡死亡率。

### 4.2 天然噬菌体存在限制, 可用基因工程等方法进行人工改造

目前对噬菌体的研究还不够透彻, 天然噬菌体可能存在着安全性隐患或者治疗效果不佳等问题。作为治疗手段, 安全性评估是第一位的, 1987 年有报道证表明, 大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 不耐热肠毒素基因是由噬菌体导入的<sup>[77]</sup>。理论上, 噬菌体以指数方式增殖, 每个噬菌体就可以产生 200 个子代噬菌体<sup>[24]</sup>。然而天然噬菌体在细菌体内不会以理论增殖方式增殖, 它们会受到细菌体内防御系统的攻击, 因此治疗效果也会大打折扣。为解决这一问题, Drulis-Kawa 等<sup>[78]</sup>以及 Goodridge<sup>[79]</sup>等通过基因工程的手段改造天然噬菌体衣壳蛋白, 提高了噬菌体在细菌体内的存活率, 表明通过基因工程的手段可以解除野生噬菌体自身的限制, 噬菌体治疗细菌性疾病时, 细菌裂解所释放出的内毒素可能会引起机体炎症反应, 从而引发机体发烧或者败血性休克, 甚至导致水产动物的死亡, 因此如何控制内毒素水平, 也是噬菌体治疗的一大挑战。Hagens 等<sup>[80]</sup>在 2004 年研究发现, 通过基因工程将铜绿假单胞菌丝状噬菌体 Pf3 的输出蛋白基因替换为限制性核苷酸内切酶, 得到铜绿假单胞菌丝状噬菌体 Pf3 变体 (Pf3R), 可阻断其从靶细胞中释放出来。体外实验发现, 这种基因工程噬菌体 Pf3R 可以降低内毒素的释放; 体内实验发现, 用 Pf3R 治疗的小鼠其存活率明显高于裂解性噬菌体治疗组, 上述存活率的提高可能跟内毒素的减少所引起的炎症反应降低有关。除了对噬菌体改造外, 还有大量研究选择噬菌体源裂解酶等抗菌蛋白作为抗菌的手段<sup>[81]</sup>, 此方面研究不在本综述讨论范围。

### 4.3 噬菌体治疗与其他治疗手段相结合

由于噬菌体治疗技术尚不成熟,因此人们开始尝试噬菌体治疗与其他治疗手段相结合来治疗细菌性疾病。如“噬菌体-抗生素协同作用”<sup>[82]</sup>是指噬菌体可以提高抗生素的活性。2013年有研究发现,最小抑制浓度的头孢曲松与铜绿假单胞菌噬菌体长尾噬菌体家族中的噬菌体 $\sigma$ -1协同作用可以抑制细菌的生长<sup>[83]</sup>。同时噬菌体与抗生素联合用药可以降低细菌的突变率,Carlton<sup>[24]</sup>研究发现,使用抗生素产生突变株的概率是 $10^{-6}$ ,使用噬菌体产生突变的概率是 $10^{-7}$ ,而联合用药的突变率可以降低至 $10^{-13}$ 。

## 5 结语

近年来,我国水产养殖业发展取得了显著成绩,为保障优质蛋白供给、降低天然水域水生生物资源利用强度、促进渔业产业兴旺和渔民生活富裕作出了突出贡献。然而高密度的养殖方式也让病原菌有了可乘之机,如今的主流抗菌手段仍然是使用抗生素,其频繁与不规范的使用导致大量耐药菌株的产生。为加快推进水产养殖业绿色发展,促进产业转型升级,亟需寻求新的抗菌手段来缓解当今的局面。噬菌体是一种天然“捕食”细菌的病毒,对宿主细菌具有天然的特异性,现在有部分噬菌体产品已经在医药和畜牧产业上成功投放使用。水产养殖中噬菌体的相关研究尚处于起步阶段,前期研究为后续噬菌体的产业应用积累了大量的研究材料和基础数据。尽管噬菌体疗法存在着各种各样的局限与弊端,然而其具有的专一性等优势是其他抗菌手段不能比拟的。笔者相信随着噬菌体研究的不断深入,噬菌体治疗的安全性与效果将进一步提高,在水产养殖业上具有广阔的应用前景。

### 参考文献 (References):

- [1] 陈翰玄. 浅论水产养殖业的可持续发展[J]. 新农业, 2019(22): 21-22.  
Chen H X. On the sustainable development of aquaculture industry[J]. New Agriculture, 2019(22): 21-22(in Chinese).
- [2] 李振, 张建城, 曹振辉, 等. 噬菌体控制主要水产养殖类致病菌的研究进展[J]. 畜牧与兽医, 2015, 47(8): 138-143.  
Li Z, Zhang J C, Cao Z H, et al. Research progress on bacteriophages controlling major aquaculture pathogenic bacteria[J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2015, 47(8): 138-143(in Chinese).
- [3] 战文斌, 刘洪明, 王越. 水产养殖病害及其药物控制与水产品安全[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2004, 34(5): 758-760.  
Zhan W B, Liu H M, Wang Y. Medications for aquaculture diseases and the safety of aquatic products[J]. Periodical of Ocean University of China, 2004, 34(5): 758-760(in Chinese).
- [4] 祝儒刚. 海产品中致病性副溶血弧菌 PCR 快速检测体系建立及定量研究 [D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2011.  
Zhu R G. Establishment of rapid detection system by PCR and quantification study on pathogen of *Vibrio parahaemolyticus* in seafood[D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2011 (in Chinese).
- [5] 崔惠敬, 耿慧君, 王丽丽, 等. 噬菌体治疗海水养殖动物常见细菌性疾病的研究进展[J]. 国外医药: 抗生素分册, 2019, 40(5): 445-450.  
Cui H J, Geng H J, Wang L L, et al. Research progress of using bacteriophages in treatment of common bacterial diseases in marine cultured animals[J]. World Notes on Antibiotics, 2019, 40(5): 445-450(in Chinese).
- [6] 郭秀平, 邓国成, 杨小静. 我国现行水产养殖动物使用国标兽药的种类[J]. 海洋与渔业, 2014(3): 57-59.  
Guo X P, Deng G C, Yang X J. Types of national standard veterinary drugs used in aquaculture animals in China[J]. Ocean and Fishery, 2014(3): 57-59(in Chinese).
- [7] Assefa A, Abunna F. Maintenance of fish health in aquaculture: review of epidemiological approaches for prevention and control of infectious disease of fish[J]. Veterinary Medicine International, 2018, 2018: 5432497.
- [8] 王熙涛, 卢燕丹, 王丽丽, 等. 新型抗生素替代品防治水产动物细菌性疾病的研究进展[J]. 饲料与畜牧, 2015(4): 18-22.  
Wang X T, Lu Y D, Wang L L, et al. Research progress in the prevention and treatment of bacterial diseases in aquatic animals with new antibiotic substitutes[J]. Feed and Animal Husbandry, 2015(4): 18-22(in Chinese).
- [9] Del Castillo C S, Hikima J I, Jang H B, et al. Comparat-  
中国水产学会主办 sponsored by China Society of Fisheries

- ive sequence analysis of a multidrug-resistant plasmid from *Aeromonas hydrophila*[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2013, 57(1): 120-129.
- [10] He Y, Jin L L, Sun F J, *et al.* Antibiotic and heavy-metal resistance of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from fresh shrimps in Shanghai fish markets, China[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016, 23(15): 15033-15040.
- [11] Kang C H, Shin Y J, Kim W R, *et al.* Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from oysters in Korea[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016, 23(1): 918-926.
- [12] Okoh A I, Igbinsosa E O. Antibiotic susceptibility profiles of some *Vibrio* strains isolated from wastewater final effluents in a rural community of the Eastern Cape Province of South Africa[J]. *BMC Microbiology*, 2010, 10(1): 143.
- [13] 吴立婷, 廖金轩, 庞茂达, 等. 大黄鱼中哈维氏弧菌毒力及耐药特性分析[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(8): 2111-2119.
- Wu L T, Liao J X, Pang M D, *et al.* Virulence and antimicrobial resistance of *Vibrio harveyi* in large yellow croaker[J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 2019, 10(8): 2111-2119(in Chinese).
- [14] Finer-Moore J S, Maley G F, Maley F, *et al.* crystal structure of thymidylate synthase from T4 phage: component of a deoxynucleoside triphosphate-synthesizing complex[J]. *Biochemistry*, 1994, 33(51): 15459-15468.
- [15] Ripp S, Miller R V. The role of pseudolysogeny in bacteriophage-host interactions in a natural freshwater environment[J]. *Microbiology*, 1997, 143(6): 2065-2070.
- [16] Rakhuba D V, Kolomiets E I, Dey E S, *et al.* Bacteriophage receptors, mechanisms of phage adsorption and penetration into host cell[J]. *Polish Journal of Microbiology*, 2010, 59(3): 145-155.
- [17] O'Flaherty S, Ross R P, Coffey A. Bacteriophage and their lysins for elimination of infectious bacteria[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2009, 33(4): 801-819.
- [18] Lima-Mendez G, Van Helden J, Toussaint A, *et al.* Prophinder: a computational tool for prophage prediction in prokaryotic genomes[J]. *Bioinformatics*, 2008, 24(6): 863-865.
- [19] Mropinski K A. Phage therapy-everything old is new again[J]. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*, 2006, 17: 329465.
- [20] Kokkari C, Sarropoulou E, Bastias R, *et al.* Isolation and characterization of a novel bacteriophage infecting *Vibrio alginolyticus*[J]. *Archives of Microbiology*, 2018, 200(5): 707-718.
- [21] Nikapitiya C, Dananjaya S H S, Chandrarathna H P S U, *et al.* Isolation and characterization of multidrug resistance *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* and its infecting novel phage ASP-1 from Goldfish (*Carassius auratus*)[J]. *Indian Journal of Microbiology*, 2019, 59(2): 161-170.
- [22] 张昕, 蔡俊鹏. 噬菌体在水产养殖中的应用[J]. *粮食与饲料工业*, 2004(6): 38-39.
- Zhang X, Cai J P. The application of bacteriophages in aquaculture[J]. *Cereal & Feed Industry*, 2004(6): 38-39(in Chinese).
- [23] Barrow P A, Soothill J S. Bacteriophage therapy and prophylaxis: rediscovery and renewed assessment of potential[J]. *Trends in Microbiology*, 1997, 5(7): 268-271.
- [24] Carlton R M. Phage therapy: past history and future prospects[J]. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 1999, 47(5): 267-274.
- [25] Międzybrodzki R, Fortuna W, Weber-dąbrowska B, *et al.* Phage therapy of *Staphylococcal* infections (including MRSA) may be less expensive than antibiotic treatment[J]. *Postepy Higieny I Medycyny Doswiadczalnej*, 2007, 61: 461-465.
- [26] Parasion S, Kwiatek M, Gryko R, *et al.* Bacteriophages as an alternative strategy for fighting biofilm development[J]. *Polish Journal of Microbiology*, 2014, 63(2): 137-145.
- [27] Mushegian A R. Are there  $10^{31}$  virus particles on earth, or more, or fewer?[J]. *Journal of Bacteriology*, 2020, 202(9): e00052-20.
- [28] Nishimori E, Kita-Tsukamoto K, Wakabayashi H. *Pseudomonas plecoglossicida* sp. nov., the causative agent of bacterial haemorrhagic ascites of ayu, *Plecoglossus altivelis*[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2000, 50(1): 83-89.
- [29] Park S C, Nakai T. Bacteriophage control of *Pseudomonas plecoglossicida* infection in ayu *Plecoglossus*

- altivelis*[J]. *Diseases of Aquatic Organisms*, 2003, 53(1): 33-39.
- [30] Lyczak J B, Cannon C L, Pier G B. Establishment of *Pseudomonas aeruginosa* infection: lessons from a versatile opportunist[J]. *Microbes and Infection*, 2000, 2(9): 1051-1060.
- [31] 郭杨毅君. 铜绿假单胞菌烈性噬菌体的分离与生物学特性研究 [D]. 广州: 华南理工大学, 2019.
- Guo Y Y J. Isolation and biological characterization of *Pseudomonas aeruginosa* virulent phages[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2019 (in Chinese).
- [32] Morello E, Saussereau E, Maura D, *et al.* Pulmonary bacteriophage therapy on *Pseudomonas aeruginosa* cystic fibrosis strains: first steps towards treatment and prevention[J]. *PLoS One*, 2011, 6(2): e16963.
- [33] Torres-Barceló C, Franzone B, Vasse M, *et al.* Long-term effects of single and combined introductions of antibiotics and bacteriophages on populations of *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Evolutionary Applications*, 2016, 9(4): 583-595.
- [34] Cafora M, Forti F, Briani F, *et al.* Phage therapy application to counteract *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis zebrafish embryos[J]. *Journal of Visualized Experiments*, 2020(159): e61275.
- [35] Kozińska A, Pękala A. Characteristics of disease spectrum in relation to species, serogroups, and adhesion ability of motile aeromonads in fish[J]. *The Scientific World Journal*, 2012, 2012: 949358.
- [36] Bulger R J, Sherris J C. The clinical significance of *Aeromonas hydrophila*[J]. *Archives of Internal Medicine*, 1966, 118(6): 562-564.
- [37] Choi J P, Lee S O, Kwon H H, *et al.* Clinical significance of spontaneous *Aeromonas* bacterial peritonitis in cirrhotic patients: a matched case-control study[J]. *Clinical Infectious Diseases*, 2008, 47(1): 66-72.
- [38] Lee W S, Puthucheary S D. Retrospective study of *Aeromonas* infection in a Malaysian urban area: a 10-year experience[J]. *Singapore Medical Journal*, 2001, 42(2): 57-60.
- [39] Chow M S, Rouf M A. Isolation and partial characterization of two *Aeromonas hydrophila* bacteriophages[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1983, 45(5): 1670-1676.
- [40] 林业杰, 陈亢川, 胡海林, 等. 国内首次分离出嗜水气单胞菌噬菌体[J]. *中国人兽共患病杂志*, 1994, 10(1): 32-34.
- Lin Y J, Chen K C, Hu H L, *et al.* *Aeromonas hydrophila* phage isolated for the first time in China[J]. *Chinese Journal of Zoonoses*, 1994, 10(1): 32-34(in Chinese).
- [41] 林业杰, 林国华, 欧剑鸣. 嗜水气单胞菌噬菌体分型研究[J]. *海峡预防医学杂志*, 1999, 5(3): 29-30.
- Lin Y J, Lin G H, Ou J M. Phage typing of *Aeromonas hydrophila*[J]. *Strait Journal of Preventive Medicine*, 1999, 5(3): 29-30(in Chinese).
- [42] Jun J W, Kim J H, Shin S P, *et al.* Protective effects of the *Aeromonas* phages pAh1-C and pAh6-C against mass mortality of the cyprinid loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) caused by *Aeromonas hydrophila*[J]. *Aquaculture*, 2013, 416-417: 289-295.
- [43] Hoang A H, Tran T T X, Le P N, *et al.* Selection of phages to control *Aeromonas hydrophila*—an infectious agent in Striped Catfish[J]. *Biocontrol Science*, 2019, 24(1): 23-28.
- [44] Phumkhaichorn P, Rattanachaikunsopon P. Use of bacteriophage to control experimental *Aeromonas hydrophila* infection in tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 2020, 23(12): 1659-1665.
- [45] Akmal M, Rahimi-Midani A, Hafeez-ur-Rehman M, *et al.* Isolation, characterization, and application of a bacteriophage infecting the fish pathogen *Aeromonas hydrophila*[J]. *Pathogens*, 2020, 9(3): 215.
- [46] Slam M S, Yang X W, Euler C W, *et al.* Application of a novel phage ZPAH7 for controlling multidrug-resistant *Aeromonas hydrophila* on lettuce and reducing biofilms[J]. *Food Control*, 2021, 122: 107785.
- [47] Sau K. Studies on synonymous codon and amino acid usages in *Aeromonas hydrophila* phage Aeh1: architecture of protein-coding genes and therapeutic implications[J]. *Journal of Microbiology Immunology and Infection*, 2007, 40(1): 24-33.
- [48] Merino S, Camprubi S, Tomás J M. Characterization of an O-antigen bacteriophage from *Aeromonas hydrophila*[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 1990, 68(3): 239-244.
- [49] Tu V Q, Nguyen T T, Tran X T T, *et al.* Complete gen-



- ome sequence of a novel lytic phage infecting *Aeromonas hydrophila*, an infectious agent in striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*)[J]. *Archives of Virology*, 2020, 165(12): 2973-2977.
- [50] Pallavi B, Puneeth T G, Shekar M, *et al.* Isolation, characterization and genomic analysis of vB-AhyM-AP1, a lytic bacteriophage infecting *Aeromonas hydrophila*[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2021, 131(2): 695-705.
- [51] Chandrarathna H P S U, Nikapitiya C, Dananjaya S H S, *et al.* Isolation and characterization of phage AHP-1 and its combined effect with chloramphenicol to control *Aeromonas Hydrophila*[J]. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2020, 51(1): 409-416.
- [52] Cao Y S, Li S W, Wang D, *et al.* Genomic characterization of a novel virulent phage infecting the *Aeromonas hydrophila* isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Virus Research*, 2019, 273: 197764.
- [53] Vinod M G, Shivu M M, Umesha K R, *et al.* Isolation of *Vibrio harveyi* bacteriophage with a potential for biocontrol of luminous vibriosis in hatchery environments[J]. *Aquaculture*, 2006, 255(1-4): 117-124.
- [54] Stalin N, Srinivasan P. Efficacy of potential phage cocktails against *Vibrio harveyi* and closely related *Vibrio* species isolated from shrimp aquaculture environment in the south east coast of India[J]. *Veterinary Microbiology*, 2017, 207: 83-96.
- [55] Lal T M, Sano M, Ransangan J. Isolation and characterization of large marine bacteriophage (Myoviridae), VhKM4 Infecting *Vibrio harveyi*[J]. *Journal of Aquatic Animal Health*, 2017, 29(1): 26-30.
- [56] Daramola B A, Williams R, Dixon R A. *In vitro* antibiotic susceptibility of *Vibrio parahaemolyticus* from environmental sources in northern England[J]. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2009, 34(5): 499-500.
- [57] Su Y C, Liu C C. *Vibrio parahaemolyticus*: a concern of seafood safety[J]. *Food Microbiology*, 2007, 24(6): 549-558.
- [58] 彭勇, 王静雪, 丁云娟, 等. 两株副溶血弧菌噬菌体的分离鉴定及裂解性能[J]. *水产科学*, 2012, 31(11): 645-650.
- Peng Y, Wang J X, Ding Y J, *et al.* Isolation, identification and lysis property of two *Vibrio parahaemolyticus* phage[J]. *Fisheries Science*, 2012, 31(11): 645-650(in Chinese).
- [59] 彭勇, 丁云娟, 林洪, 等. 一株副溶血弧菌噬菌体VPp1的分离鉴定及裂解性能[J]. *海洋科学*, 2013, 37(1): 96-101.
- Peng Y, Ding Y J, Lin H, *et al.* Isolation, identification and lysis properties analysis of a *Vibrio parahaemolyticus* phage VPp1[J]. *Marine Sciences*, 2013, 37(1): 96-101(in Chinese).
- [60] Rong R, Lin H, Wang J X, *et al.* Reductions of *Vibrio parahaemolyticus* in oysters after bacteriophage application during depuration[J]. *Aquaculture*, 2014, 418-419: 171-176.
- [61] 丁云娟. 副溶血弧菌噬菌体 qdvp001 的分离鉴定及其在牡蛎净化中的初步应用 [D]. 中国海洋大学, 2012.
- Ding Y J, Isolation, identification and preliminary application of bacteriophage qdvp001 host *Vibrio parahaemolyticus* in oyster purification.[D]. Ocean University of China, 2012 (in Chinese).
- [62] 李婧雯, 王静雪. 副溶血弧菌噬菌体调控外周血单核细胞中IL-1 $\beta$ 、IL-6、CD14的表达[J]. *微生物学免疫学进展*, 2020, 48(3): 26-30.
- Li J W, Wang J X. Expression of IL-1 $\beta$ , IL-6, CD14 in peripheral blood mononuclear cells by *Vibrio parahaemolyticus* phage regulation[J]. *Progress in Microbiology and Immunology*, 2020, 48(3): 26-30(in Chinese).
- [63] Mateus L, Costa L, Silva Y J, *et al.* Efficiency of phage cocktails in the inactivation of *Vibrio* in aquaculture[J]. *Aquaculture*, 2014, 424-425: 167-173.
- [64] Lomeli-Ortega C O, Martínez-Díaz S F. Phage therapy against *Vibrio parahaemolyticus* infection in the whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) larvae[J]. *Aquaculture*, 2014, 434: 208-211.
- [65] Lal T M, Sano M, Ransangan J. Genome characterization of a novel Vibriophage VpKK5 (*Siphoviridae*) specific to fish pathogenic strain of *Vibrio parahaemolyticus*[J]. *Journal of Basic Microbiology*, 2016, 56(8): 872-888.
- [66] Wu H, Moser C, Wang H Z, *et al.* Strategies for combating bacterial biofilm infections[J]. *International Journal of Oral Science*, 2015, 7(1): 1-7.
- [67] Lu L, Hu W, Tian Z R, *et al.* Developing natural

- products as potential anti-biofilm agents[J]. *Chinese Medicine*, 2019, 14(1): 11.
- [68] Høiby N, Ciofu O, Johansen H K, *et al.* The clinical impact of bacterial biofilms[J]. *International Journal of Oral Science*, 2011, 3(2): 55-65.
- [69] Wang H Z, Wu H, Ciofu O, *et al.* Pharmacokinetics/pharmacodynamics of colistin and imipenem on mucoid and nonmucoid *Pseudomonas aeruginosa* biofilms[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2011, 55(9): 4469-4474.
- [70] Zhang L L, Liang E J, Cheng Y C, *et al.* Is combined medication with natural medicine a promising therapy for bacterial biofilm infection?[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2020, 128: 110184.
- [71] Kim S G, Jun J W, Giri S S, *et al.* Isolation and characterisation of pVa-21, a giant bacteriophage with anti-biofilm potential against *Vibrio alginolyticus*[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9(1): 6284.
- [72] Papadopoulou A, Dalsgaard I, Wiklund T. Inhibition activity of compounds and bacteriophages against *Flavobacterium psychrophilum* biofilms *in vitro*[J]. *Journal of Aquatic Animal Health*, 2019, 31(3): 225-238.
- [73] Sundell K, Landor L, Castillo D, *et al.* Bacteriophages as biocontrol agents for *Flavobacterium psychrophilum* biofilms and rainbow trout infections[J]. *Phage*, 2020, 1(4): 198-204.
- [74] Barrow P, Lovell M, Berchieri Jr A. Use of lytic bacteriophage for control of experimental *Escherichia coli* septicemia and meningitis in chickens and calves[J]. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 1998, 5(3): 294.
- [75] Stenholm A R, Dalsgaard I, Middelboe M. Isolation and characterization of bacteriophages infecting the fish pathogen *Flavobacterium psychrophilum*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74(13): 4070-4078.
- [76] Schulz P, Robak S, Dastyeh J, *et al.* Influence of bacteriophages cocktail on European eel (*Anguilla anguilla*) immunity and survival after experimental challenge[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 84: 28-37.
- [77] Takeda Y, Murphy J R. Bacteriophage conversion of heat-labile enterotoxin in *Escherichia coli*[J]. *Journal of Bacteriology*, 1978, 133(1): 172-177.
- [78] Drulis-Kawa Z, Majkowska-Skrobek G, Maciejewska B, *et al.* Learning from bacteriophages-advantages and limitations of phage and phage-encoded protein applications[J]. *Current Protein and Peptide Science*, 2012, 13(8): 699-722.
- [79] Goodridge D L. Designing phage therapeutics[J]. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 2010, 11(1): 15-27.
- [80] Hagens S, Habel A, von Ahsen U, *et al.* Therapy of experimental pseudomonas infections with a nonreplicating genetically modified phage[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2004, 48(10): 3817-3822.
- [81] Matamp N, Bhat S G. Phage Endolysins as potential antimicrobials against multidrug resistant *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio parahaemolyticus*: current status of research and challenges ahead[J]. *Microorganisms*, 2019, 7(3): 84.
- [82] Comeau A M, Tétart F, Trojet S N, *et al.* Phage-antibiotic synergy (PAS):  $\beta$ -lactam and quinolone antibiotics stimulate virulent phage growth[J]. *PLoS One*, 2007, 2(8): e799.
- [83] Knezevic P, Curcin S, Aleksic V, *et al.* Phage-antibiotic synergism: a possible approach to combatting *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Research in Microbiology*, 2013, 164(1): 55-60.

## Research progress of bacteriophage in aquaculture

CHEN Yuan<sup>1</sup>, ZHANG Yongan<sup>1,2</sup>, ZHOU Yang<sup>1\*</sup>

(1. College of Fisheries, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

2. Engineering Research Center of Green Development for Conventional Aquatic Biological Industry in the Yangtze River Economic Belt, Ministry of Education, Wuhan 430070, China)

**Abstract:** With the development of the aquaculture industry, the stocking density has increased and the outbreaks of bacterial diseases have become more and more frequent. Nowadays, antibiotics are still the main control tool against bacterial infection. However its massive and irregular use makes the problem of drug resistance more serious. In order to effectively prevent and control aquatic bacterial diseases, accelerate the sustainable development of the aquaculture industry, and promote industrial transformation, it is urgently needed to seek new antibacterial methods to alleviate the current situation. Bacteriophages (phages) are viruses that specifically infect bacteria. A bacteriophage, also known informally as a phage, is a virus that infects and replicates within bacteria and archaea. They have the advantages of strong specificity, less resistance, easy to be metabolized, easy development, and low cost. Phages have been widely studied worldwide, and also have been applied to the prevention and control of various diseases. The related products have also been well-recognized, but the limitations cannot be ignored. This article first comprehensively introduces the principles and advantages of phage therapy, and then reviews the research progress of phage therapy in bacterial diseases of aquaculture animals. Subsequently, the existing dilemmas of phage therapy and coping strategies were discussed. Finally, a prospect is made on this basis, hoping to provide references for the follow-up research on the application of bacteriophages in aquaculture.

**Key words:** bacteriophage; aquaculture; phage therapy; bacterial disease

**Corresponding author:** ZHOU Yang. E-mail: zhouyang@mail.hzau.edu.cn

**Funding project:** National Natural Science Foundation of China (32073022)