



一株广谱大肠杆菌噬菌体的生物学特性分析及小鼠模型治疗效果的评估

任国璠^{1,2}, 张静雅^{1,2}, 张 满^{1,2}, 赵梓萌^{1,2}, 张新想^{1,2}, 蒋佳登^{1,2}, 王兴龙^{1,2*}

(1. 西北农林科技大学动物医学院, 杨凌 712100; 2. 咸阳职业技术学院, 咸阳 712000)

摘 要: 噬菌体治疗是一种新型的抗菌治疗策略, 为了给防治大肠杆菌感染提供新的理论技术支持, 本研究从腹泻山羊的粪便中分离出了大肠杆菌E6和一株广谱的大肠杆菌噬菌体, 命名为vB_EcoM_E6, 通过观察噬菌斑, 测定噬菌体的效价、pH稳定性、热稳定性、裂解谱、一步生长曲线等生物学特性, 进行全基因组序列分析, 并通过动物模型试验对该噬菌体进行评估。结果表明, 在研究中该噬菌体的裂解率高达70.6%, 在50℃和pH 3~10范围内比较稳定, 透射电镜观察结果表明, 该噬菌体属于肌尾噬菌体。全基因组分析结果显示, 该噬菌体全长为137 974 bp, CG含量为39.13%, 编码序列(coding sequences, CDS)有247个。小鼠模型试验结果显示, 该噬菌体对于被大肠杆菌感染的小鼠有着良好的保护作用。本研究为进一步研究大肠杆菌抗菌剂提供了良好的材料。

关键词: 大肠杆菌; 噬菌体; 生物学特性; 噬菌体疗法

中图分类号: Q939.48; S855.1

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2026)03-1613-11

Biological Characterization of a Broad-spectrum *Escherichia coli* Phage Strain and Evaluation of Therapeutic Effects in Mouse Models

REN Guofan^{1,2}, ZHANG Jingya^{1,2}, ZHANG Xiao^{1,2}, ZHAO Zimeng^{1,2}, ZHANG Xinxiang^{1,2}, JIANG Jiadeng^{1,2}, WANG Xinglong^{1,2*}

(1. College of Veterinary Medicine, Northwest A&F University, Yangling 712100, China;

2. Xianyang Vocational and Technical College, Xianyang 712000, China)

Abstract: Phage therapy is a novel antimicrobial treatment, in order to provide new theoretical and technical support for the prevention and treatment of *E. coli* infections, in this study, *E. coli* E6 and a broad-spectrum *E. coli* phage named vB_EcoM_E6 were isolated from the feces of diarrheic goats, and the potency, pH stability, thermal stability, lysis spectrum, and one-step growth curves of the phage were measured by observing the phage spots and biological properties, performing whole genome sequence analysis and evaluating the phage by animal model tests. The results showed that the lysis rate of this phage in the study was as high as 70.6%, and it was relatively stable at 50℃ and pH 3-10 range, and the transmission electron microscopy observation results indicated that this phage belonged to the myotail phage. Genome-wide analysis showed that the phage had a total length of 137 974 bp, a CG content of 39.13%, and 247 coding sequences (CDS). The results of the mouse model test showed that the phage had a good protective effect against *E. coli* infection. This study

收稿日期: 2025-06-17

基金项目: 陕西省秦创原“科学家+工程师”队伍建设(2023KXJ-273)

作者简介: 任国璠, 硕士生, 主要从事动物源细菌病的防控研究, E-mail: renguofan@nwfau.edu.cn

* 通信作者: 王兴龙, 主要从事动物传染病防控研究, E-mail: wxlong@126.com

provides a good material for further research on *E. coli* antimicrobial agents.

Keywords: *Escherichia coli*; phage; biological characteristic; phage therapy

* **Corresponding author:** WANG Xinglong, E-mail: wxlong@126.com

大肠杆菌是脊椎动物肠道共生微生物的一员,也是最常见的革兰阴性人畜共患病病原菌之一,易感动物种类繁多。目前存在的大肠杆菌血清型数量可能多达上万种,其中包括了产肠毒素大肠杆菌(*Enterotoxigenic E. coli*, ETEC)、产类志贺毒素大肠杆菌(*Shiga toxin-producing E. coli*, STEC)和肠出血性大肠杆菌(*Enterohemorrhagic E. coli*, EHEC)等高致病性大肠杆菌,大肠杆菌可在全球各地被分离出,且一年四季均可发病,可以引起肠道、尿路、肺脏等多器官组织感染^[1]。而随着抗生素的大规模使用,导致细菌耐药性愈加严重,这会大大增加细菌感染的死亡率和发病率,也会增加疾病治愈的时间、经济成本^[2],在2017年,世界卫生组织强调了多重耐药性革兰阴性菌所带来的威胁^[3],这些严重阻碍了家畜养殖行业的健康发展,并对人类健康造成了威胁,因此研发出一种新的、可行性高的抗菌治疗手段很关键。

噬菌体是目前数量最多的微生物,其分布广泛,适应性强,能够存在于各种环境中^[4],并且相比于抗生素,噬菌体具有许多优势:更加易于获得,大量生产的成本更低;裂解细菌具有高度特异性,对于其他正常菌群往往不会有显著影响,具有较好的安全性;噬菌体作为生物抗菌剂可以进行自我扩增,因为这些优势,噬菌体治疗已经成为抗菌治疗新的研究方向,甚至在欧洲部分国家已经有应用噬菌体进行临床治疗的案例^[5]。

本研究从陕西省周至县某羊场的污水和粪便中分离出裂解性的大肠杆菌噬菌体和对应的宿主菌,再结合实验室保存的多株大肠杆菌,对其生物学特性及基因组进行分析,并结合小鼠模型,为探究大肠杆菌噬菌体制剂提供依据,为噬菌体疗法提供可用菌株,对大肠杆菌病的预防与治疗提出创新策略以及对策。

1 材料与方法

1.1 菌株

51株大肠杆菌,均为西北农林科技大学动物医学院传染病实验室临床分离并保存。

1.2 主要试剂与仪器设备

LB琼脂培养基;LB液体培养基;麦康凯琼脂培养基;细菌、噬菌体DNA提取试剂盒;0.45 μm微孔滤膜;0.22 μm微孔滤膜;恒温振荡摇床;二氧化碳恒温培养箱;恒温水浴锅;电子天平;超纯水仪;超净工作台;高压蒸汽灭菌锅;高速离心机等。

1.3 实验动物

6周龄SPF级雌性昆明小鼠(KM小鼠),购自成都达硕实验动物有限公司。

1.4 广谱噬菌体的分离与纯化

1.4.1 噬菌体的分离 参考并改良陈义宝等^[6]的方法分离噬菌体,将所采集羊场粪便加入适量的生理盐水过夜浸泡,使用三层纱布过滤除去颗粒杂质之后,以8 000 r·min⁻¹离心15 min取上清液,离心重复3次,然后用0.45 μm口径微孔滤器进行过滤,获得含有噬菌体的原液。在噬菌体原液中加入500 μL大肠杆菌E6菌液,于37℃恒温摇床温和振荡4~6 h后8 000 r·min⁻¹离心15 min后取上清液,用0.22 μm微孔滤膜过滤。将大肠杆菌E6涂布在固体LB培养基上,滴加10 μL过滤后的上清液,37℃恒温培养4~6 h后可观察到一个透亮的噬菌斑。

1.4.2 噬菌体的纯化 挑取分离过程中所得的噬菌斑接种于500 μL的LB液体培养基中,捣碎琼脂,37℃恒温摇床温和振荡30 min,振荡完毕后,8 000 r·min⁻¹离心5 min,取100 μL上清液和100 μL大肠杆菌E6菌液加入5 mL LB液体培养基,37℃摇床恒温培养6 h,8 000 r·min⁻¹离心5 min,用0.22 μm微孔滤膜过滤,将滤液作10倍倍比稀释,取10⁻²、10⁻⁴、10⁻⁶浓度的滤液各100 μL与大肠杆菌E6菌液按1:1混合,倒入凝固的LB培养基上制成双层平板,37℃恒温培养4~6 h,得到噬菌斑后挑取单斑继续使用双层平板法进行纯化。按上述方法纯化3~5次,直至平板出现大小、形态一致的噬菌斑。

1.4.3 噬菌体效价的测定 将纯化得到的噬菌斑在LB液体培养基中浸出,加入大肠杆菌E6培养液,于37℃恒温摇床中培养6 h后过0.22 μm滤膜,将滤液作10倍倍比稀释后,采用双层平板法来测定噬菌体的效价,每个稀释度重复3次。取噬菌斑数在30~300的平板进行计数,计算噬菌体效价。

噬菌体效价(PFU·mL⁻¹)=平均噬菌斑数×稀释倍数×10。

1.4.4 噬菌体的形态学观察 将纯化过的噬菌体培养液送往成都里来生物科技有限公司做透射电镜观察噬菌体形态。

1.5 噬菌体的裂解谱测定

参考李托等^[7]的方法进行测定,取实验室保存的51株大肠杆菌复苏后,使用点斑法进行裂解谱的测定,具体方式如下:将菌液涂布在固体LB上,滴加5~10 μL噬菌体培养液,待干燥后倒置于37℃培养箱中培养6 h,观察是否会形成透明噬菌斑点,设立一组生理盐水对照组。

1.6 噬菌体最佳感染复数(MOI)的测定

参考Wang等^[8]的方法,将宿主菌培养至对数期,将细菌浓度调节至1×10⁸ CFU·mL⁻¹,将噬菌体与细菌按照MOI为10⁻⁴、10⁻³、10⁻²、10⁻¹、10¹、10²、10³的比例混匀,添加到5 mL LB液体培养基中,37℃恒温摇床以180 r·min⁻¹振荡培养5 h,随后利用双层平板法测定不同MOI下噬菌体的效价,最高效价所对应的MOI,即为最佳MOI,重复3次。

1.7 噬菌体一步生长曲线的测定

参考Wang等^[9]的方法,将宿主菌培养至对数期,将细菌浓度调节至1×10⁸ CFU·mL⁻¹,按照最佳MOI混合,加入到20 mL LB液体培养基中,37℃恒温摇床培养2 h,期间从0 min开始,每隔10 min取样一次使用双层平板法测定噬菌体的效价,重复三次。

1.8 噬菌体的pH稳定性测定

参考Wang等^[9]的方法,使用HCl和NaOH溶液将LB液体培养基的pH调节至2、3、4、5、6、7、8、9、10,分别取900 μL不同pH值的LB液体培养基,再分别加入100 μL噬菌体培养液,在37℃水浴锅中静置培养2 h,再从各管中取100 μL,用双层平板法测定各组噬菌体效价,重复3次。

1.9 噬菌体的热稳定性测定

参考Wang等^[9]的方法,取5 mL纯化过的噬菌体培养液分别置于4、25、40、50、60、70、80℃的水浴锅中,每个温度分别静置20、40、60 min后先自然冷却至室温,再利用双层平板法测定噬菌体效价,重复3次。

1.10 噬菌体的体外抑菌活性测定

参考Wang等^[9]的方法,将宿主菌培养至对数期,取100 μL细菌培养液与噬菌体按照MOI=

10⁻⁴、10⁻³、10⁻²、10⁻¹、10¹、10²、10³混合,加入到15 mL LB液体培养基中,在37℃恒温摇床中培养,每过1 h取样测定OD₆₀₀,持续12 h,每组做三组重复,同时设立一组仅噬菌体(OP)、仅细菌(OB)以及仅LB培养基(B)的对照组。

1.11 噬菌体全基因组测序与分析

从已经分离并完成纯化的噬菌体中提取出核酸,将提取好的核酸送至百迈克生物科技有限公司进行测序,测序完成后使用NCBI中的BLAST工具进行序列比对,并利用CGView工具制作噬菌体基因组圈图,用mega X软件构建系统发育进化并进行进化分析^[10]。

1.12 小鼠大肠杆菌感染模型的建立和治疗效果评估

将噬菌体宿主菌E6培养至对数期后,将浓度调节为2.95×10⁸、5.9×10⁸、1.18×10⁹ CFU·mL⁻¹,分别给不同组小鼠腹腔注射0.2 mL以确定最小致死剂量。将昆明小鼠(KM小鼠)分为4组,每组5只,第一组为细菌对照组,每只小鼠腹腔注射0.2 mL三倍最小致死浓度的大肠杆菌E6;第二组为空白对照组,每只小鼠腹腔注射0.2 mL生理盐水;第三组为噬菌体肌肉注射治疗组,每只小鼠攻毒1 h后肌肉注射0.2 mL效价为1.02×10⁹ PFU·mL⁻¹的噬菌体培养液;第四组为噬菌体肌肉注射对照组,每只小鼠仅注射0.2 mL噬菌体培养液。连续观察一周,死亡的小鼠立刻剖检,未死亡的小鼠断颈处死,观察器官病变,采样制作病理切片。

2 结 果

2.1 噬菌体效价测定

纯化处理完的噬菌体,通过双层平板法得出该噬菌体的效价为8.4×10⁸ PFU·mL⁻¹。

2.2 噬菌体形态学观察

采用双层平板法对噬菌体进行分离纯化,以大肠杆菌E6为宿主菌分离噬菌体,纯化培养后平板上形成明显的噬菌斑,且噬菌斑形态呈圆形、透亮,轮廓分明,无晕环。

噬菌体的透射电镜结果如图1所示,头部形态均为正多面体、结构对称,尾部长度约116 nm,直径约22 nm,根据冯书章等对国际病毒分类委员会标准的说明,形态符合有尾噬菌体目(Caudovirales),肌尾噬菌体科(Myovirida),于是将它命名为将其命名为vB_EcoM_E6^[11]。

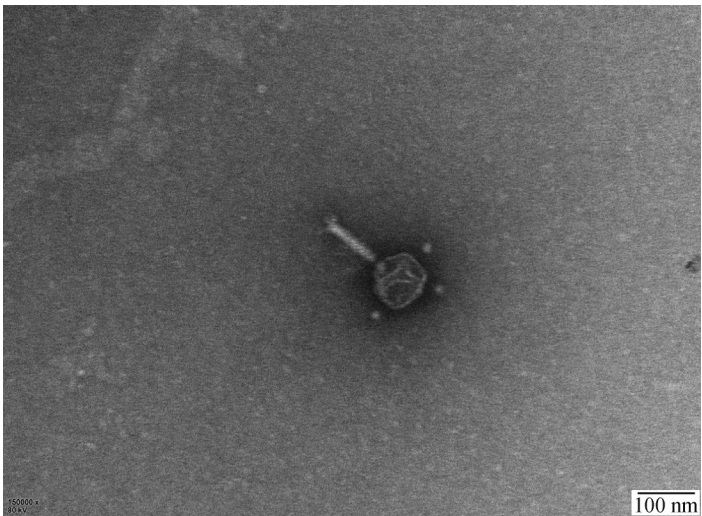


图1 透射电镜观察噬菌体 vB_EcoM_E6
Fig.1 Morphology of phage vB_EcoM_E6 by TEM

2.3 噬菌体裂解谱测定 谱(表1),其中可以裂解 36 株大肠杆菌,裂解率高达 70.6 %,表明噬菌体 vB_EcoM_E6 具有广谱性。

表1 噬菌体 vB_EcoM_E6 裂解大肠杆菌的宿主谱测定
Table 1 The host spectrum analysis on *Escherichia coli* lysed by bacteriophages

标记 Mark	菌种来源 Source of strains	裂解能力 The ability of lysing bacteria	标记 Mark	菌种来源 Source of strains	裂解能力 The ability of lysing bacteria
E1	羊(陕西杨凌)	+++	E27	猪(陕西汉中)	—
E2	羊(陕西杨凌)	+++	E28	猪(陕西杨凌)	++
E3	羊(陕西杨凌)	++	E29	猪(陕西杨凌)	+
E4	羊(陕西杨凌)	+++	E30	猪(陕西汉中)	++
E5	羊(陕西周至)	+++	E31	猪(陕西杨凌)	+++
E6(host)	羊(陕西周至)	+++	E32	猪(陕西杨凌)	+
E7	羊(陕西周至)	+++	E33	牛(陕西杨凌)	++
E8	羊(陕西富平)	—	E34	牛(陕西杨凌)	++
E9	羊(陕西富平)	—	E35	牛(陕西杨凌)	+++
E10	羊(陕西富平)	++	E36	牛(陕西杨凌)	+++
E11	羊(陕西富平)	—	E37	牛(陕西杨凌)	—
E12	羊(陕西富平)	—	E38	牛(陕西杨凌)	++
E13	羊(陕西富平)	+++	E39	牛(陕西杨凌)	++
E14	羊(陕西富平)	—	E40	牛(陕西杨凌)	+++
E15	羊(陕西富平)	—	E41	牛(陕西杨凌)	+
E16	羊(陕西富平)	—	E42	牛(陕西杨凌)	—
E17	羊(陕西富平)	+	E43	牛(陕西杨凌)	++
E18	羊(陕西富平)	—	E44	牛(陕西杨凌)	++
E19	羊(陕西富平)	++	E45	牛(陕西杨凌)	—

(转下页 Carried forward)

(续表1 Continued)

标记 Mark	菌种来源 Source of strains	裂解能力 The ability of lysing bacteria	标记 Mark	菌种来源 Source of strains	裂解能力 The ability of lysing bacteria
E20	羊(陕西富平)	+++	E46	牛(陕西杨凌)	+++
E21	羊(陕西富平)	—	E47	牛(陕西杨凌)	—
E22	羊(陕西富平)	+++	E48	牛(陕西杨凌)	+++
E23	羊(陕西富平)	+++	E49	鸡(陕西杨凌)	+
E24	猪(陕西铜川)	++	E50	鸡(陕西杨凌)	+
E25	猪(陕西铜川)	+	E51	鸡(陕西杨凌)	+
E26	猪(陕西汉中)	—			

+, —表示噬菌体对细菌的裂解能力; +++. 噬菌斑非常透明且清晰; ++. 噬菌斑较澄清且较透明; +. 噬菌斑有朦胧的背景, 不易观察且非常模糊; — 无噬菌斑

+, — represents the bacteriophage's ability to lyse bacteria; +++ . The plaque is very transparent and clear; ++ . The plaque is relatively clear and transparent; + . The plaque has a hazy background and it is difficult to observe and very blurry; — . No plaque.

2.4 噬菌体最佳感染复数(MOI)测定

噬菌体 vB_EcoM_E6 最佳 MOI 测定结果如图 2A 所示, 当 MOI=0.001 时, 其最终效价最高, 因此可以确定 vB_EcoM_E6 的最佳 MOI 为 0.001。

2.5 噬菌体体外抑菌活性测定

噬菌体 vB_EcoM_E6 在不同的 MOI 组中, 抑制

大肠杆菌生长的结果如图 2B 所示, OP 组和 B 组培养液的 OD 值全时间段无明显起伏; OB 组和不同 MOI 组中, 细菌 OD_{600 nm} 随着时间变化不断增大, 但所有 MOI 组在测定的全时间段 OD_{600 nm} 值均小于 OB 组, 说明该噬菌体对宿主菌的生长有着良好的抑制效果, 且随着 MOI 的增大, 抑菌效果越好。

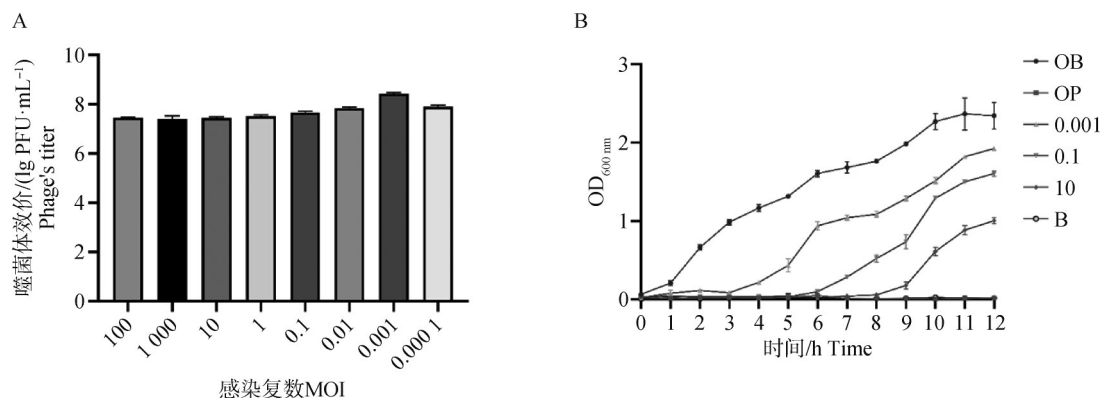


图2 噬菌体 vB_EcoM_E6 感染复数(A)和体外抑菌活性(B)

Fig. 2 The best MOI (A) and vitro antibacterial activity (B) of phage vB_EcoM_E6

2.6 噬菌体 pH 稳定性测定

pH 对噬菌体 vB_EcoM_E6 稳定性的影响如图 3A 所示, 噬菌体在 pH=7 时效价最高, 在 pH 3~10 时, 噬菌体仍能保持一定活性; 但在 pH<6 和 pH>8 时, 噬菌体活性有所下降, 效价降低。

2.7 噬菌体热稳定性测定

温度对噬菌体 vB_EcoM_E6 稳定性的影响如图 3B 所示。结果表明, 噬菌体在 4~50 °C 环境下静置 20、40、60 min, 对噬菌体效价影响较小, 基本保持原有活性; 在 60 °C 条件下, 噬菌体活性明显降低; 随

着温度的升高噬菌体活性逐渐降低, 在温度达到 80 °C 时, 噬菌体完全失去活性。

2.8 噬菌体一步生长曲线测定

噬菌体 vB_EcoM_E6 的一步生长曲线试验结果如图 4 所示, 在侵染宿主菌的前 20 min 内效价未见明显波动, 于 20~90 min 进入对数生长期, 噬菌体效价 110 min 时达到峰值, 90 min 后噬菌体滴度增长趋势变得平缓。

2.9 噬菌体全基因组分析

噬菌体 vB_EcoM_E6 基因组序列总长度为

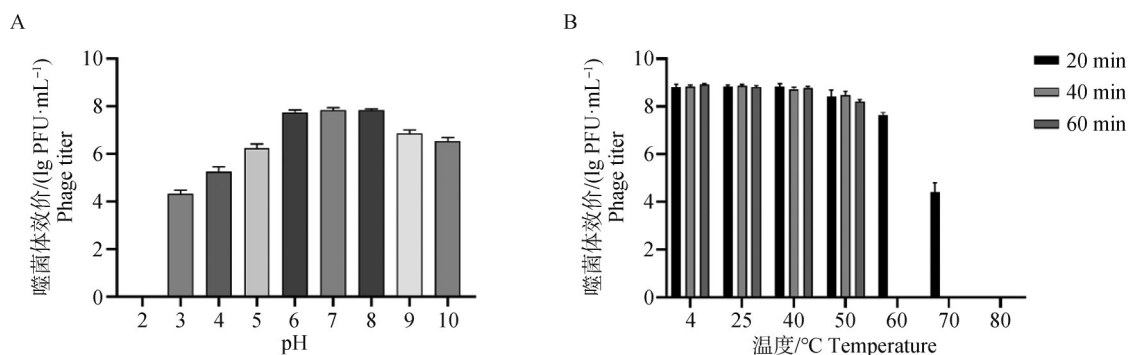


图3 噬菌体 vB_EcoM_E6 pH 稳定性(A)和热稳定性(B)

Fig. 3 pH stability (A) and thermal stability (B) of phage vB_EcoM_E6

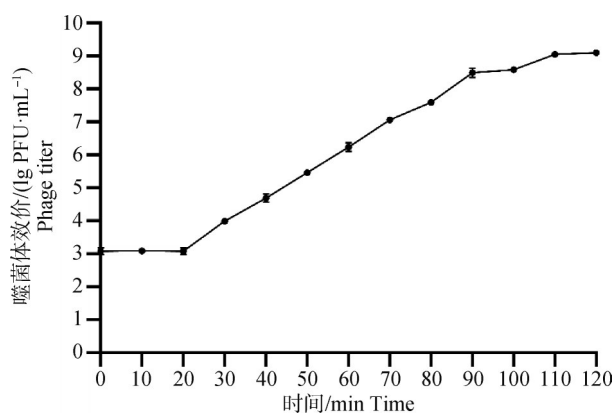


图4 噬菌体 vB_EcoM_E6 一步生长曲线

Fig. 4 One-step growth kinetics of Phage vB_EcoM_E6

137 974 bp, 基因组为线性双链 DNA, CG 含量为 39.13 % (图 5)。噬菌体 vB_EcoM_E6 基因组共有 247 个 CDS, 在噬菌体 vB_EcoM_E6 的基因组中发现 3 个与裂解宿主菌相关的蛋白基因, 未发现与抗生素耐药性、毒力基因和溶源因子相关的基因。使用 NCBI 中 BLAST 工具对 vB_EcoM_E6 全基因组的比对分析后, 用 MEGA 7 构建系统发育进化树 (图 6), 结果表明, 该噬菌体与 vB_EcoM_3A1 SANWU 以及 vB_EcoM_Ro121c4YLVW 来源于同一分支, 相似度较高, 分别为 97.7% 和 98.1%。

2.10 小鼠模型的建立和疗效效果评估

观察不同处理组的小鼠病理变化, 发现感染了大肠杆菌 E6 的小鼠表现出了明显的病变, 如图 7~10 所示, 其肝脏、肺脏、脾脏、肠道均表现明显的充血、出血、炎性细胞大量浸润, 肠绒毛坏死、脱落; 而肌肉注射噬菌体的治疗组的病理变化却较轻, 肠绒毛相对完整, 各组织器官出血、炎性细胞浸润程度减轻; 噬菌体肌肉注射对照组以及生理盐水空白组则未表现出明显异常。

3 讨论

本研究成功筛选到一株广谱噬菌体 vB_EcoM_E6, 其可裂解多地区、多物种分离的大肠杆菌, 拓宽了人们对噬菌体只针对特异性宿主具有裂解能力的传统认知, 也说明噬菌体疗法有着更大的潜力。有研究表明, 噬菌体裂解谱的差异和噬菌体表面的蛋白、脂多糖等相关^[12], 这表明广谱噬菌体 vB_EcoM_E6 可能在裂解菌体方面存在某些机制。

通过基因组测序发现该噬菌体并不具有溶源性基因、毒力基因以及耐药基因。近些年来发现, 许多噬菌体会从宿主菌中获取耐药基因、毒力基因等不利于临床治疗的基因, 还有噬菌体会以溶源基因携带者的状态存在, 这会增加耐药基因在细菌之间传播的概率^[13], 相比之下本研究中分离得到的噬菌体在临床治疗的研究中会有更多的优势。

pH 和温度都能在一定程度上影响噬菌体的生长, 在通过试验测定 pH 和温度对噬菌体生长速度、裂解效率的影响之后, 可以通过对 pH 和温度的

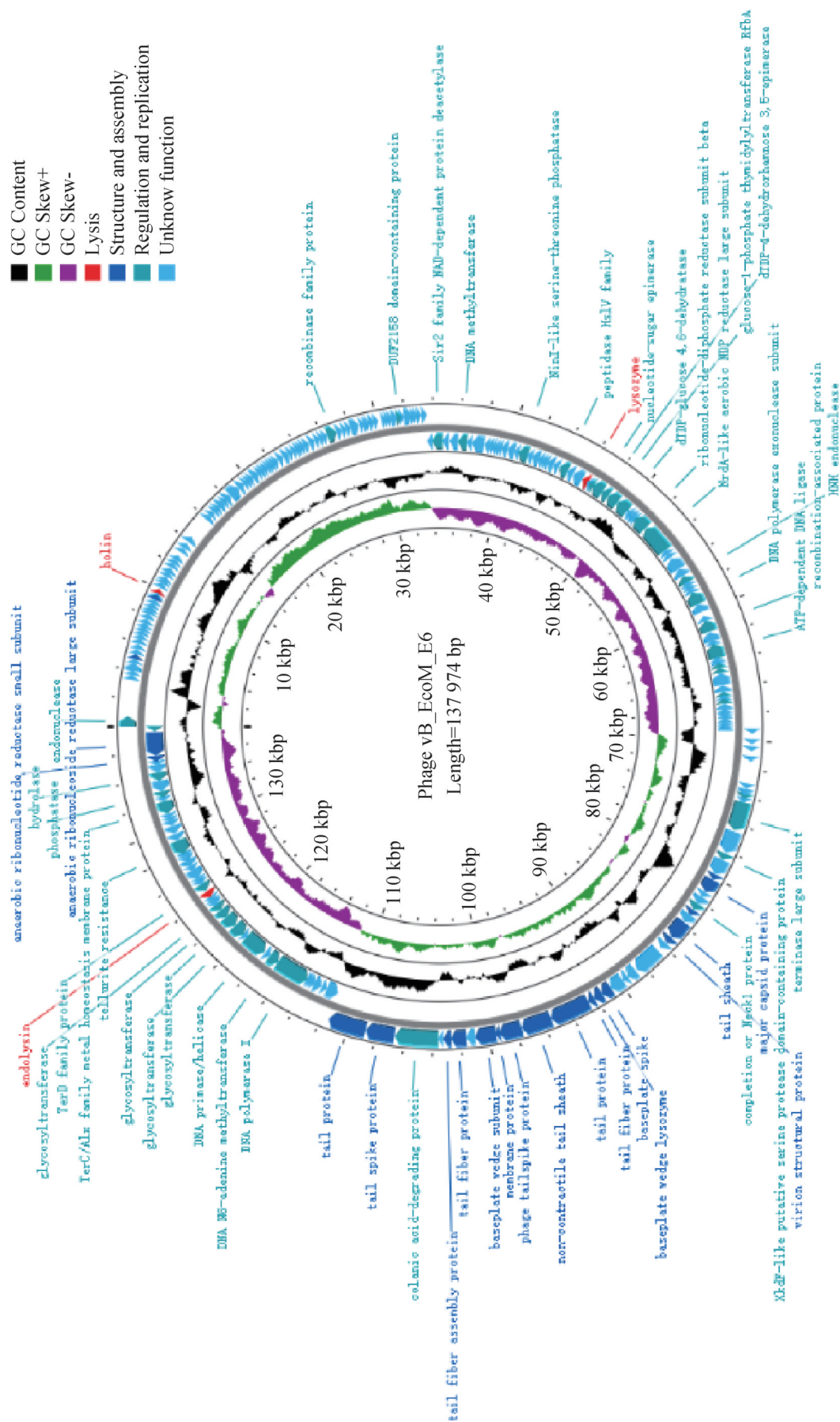
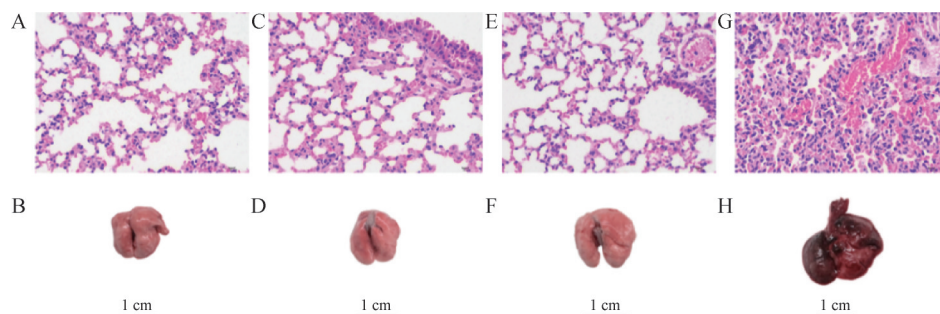


图 5 噬菌体 vB_EcoM_E6 全基因组图

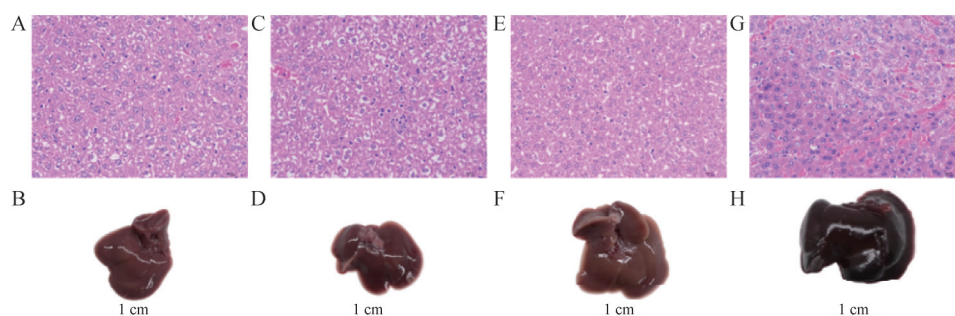
Fig. 5 Comparative circular genome map of Phage vB_EcoM_E6



A、B. 噬菌体肌肉注射对照组;C、D. 噬菌体肌肉注射治疗组;E、F. 生理盐水空白对照组;G、H. 细菌对照组。切片 $400\times$
A, B. Phage intramuscular injection control group; C, D. Phage intramuscular injection treatment group; E, F. Saline blank control group; G, H. Bacterial control group. All slides at $\times 400$ magnification

图8 小鼠肺脏病理观察图(切片 $400\times$)

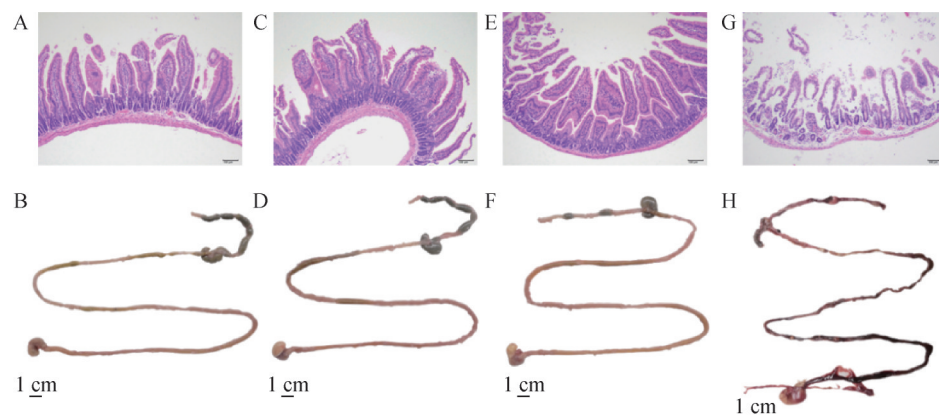
Fig. 8 Pathological observation of mouse lungs



A、B. 噬菌体肌肉注射对照组;C、D. 噬菌体肌肉注射治疗组;E、F. 生理盐水空白对照组;G、H. 细菌对照组。切片 $400\times$
A, B. Phage intramuscular injection control group; C, D. Phage intramuscular injection treatment group; E, F. Saline blank control group; G, H. Bacterial control group. All slides at $\times 400$ magnification

图9 小鼠肝脏病理观察图

Fig. 9 Pathological observation of mouse livers



A、B. 噬菌体肌肉注射对照组;C、D. 噬菌体肌肉注射治疗组;E、F. 生理盐水空白对照组;G、H. 细菌对照组。切片 $400\times$
A, B. Phage intramuscular injection control group; C, D. Phage intramuscular injection treatment group; E, F. Saline blank control group; G, H. Bacterial control group. All slides at $\times 400$ magnification

图10 小鼠肠道病理观察图

Fig. 10 Pathological observation of mouse spleen intestines

如宋智婕等^[14]分离的PJNE213,本试验分离的噬菌体在增殖、裂解细菌时将有更大的优势。如果未来

需要制备商业化的噬菌体产品,就需要在保证噬菌体滴度的情况下保证足够多的产量,以此来减少噬

菌体制剂的生产成本,相比其他大肠杆菌噬菌体^[15],vB_EcoM_E6的最佳MOI为0.001,有着更加强大的增殖能力。

一步生长曲线展示了vB_EcoM_E6对于开始裂解前的潜伏期的度过较迅速,相比潜伏期长的噬菌体,例如孙利厂等^[16]分离的V_EcoM_C1,同时间段可以生产出更多子代噬菌体,更有利于发挥抗菌作用。现有的研究表明,噬菌体在裂解细菌的同时,能够顺应宿主菌的变化,因此在使用噬菌体治疗时,噬菌体可以裂解发生突变而对抗生素和噬菌体产生耐受的菌株。因此可以推测,噬菌体和抗生素的联合治疗效果将会大于噬菌体或抗生素单独治疗,但噬菌体和抗生素的抗菌机制可能会存在冲突的情况,迄今为止也只有少数研究解决了他们之间的机制冲突问题,因此它们之间的联合使用,尽管可以提供一种新的治疗思路,但仍需进行研究^[17]。

在本试验中,在小鼠感染大肠杆菌E6后,使用vB_EcoM_E6肌肉注射进行治疗可以能够减轻小鼠临床症状和病理变化,大大提高了感染小鼠的生存率。近些年来噬菌体治疗细菌感染的研究成为了热点,许多研究人员也不断尝试着在生产实践中应用噬菌体制剂,Jhandai等^[18]从养殖场的污水中分离一株大肠杆菌噬菌体vB_EcoS_PJ16,将其用于预防雏鸡大肠杆菌感染,并取得了良好的效果。因此,尽管存在着困难和挑战,但噬菌体作为新型的抑菌剂仍然有着巨大的前景。

4 结 论

噬菌体vB_EcoM_E6在不同温度和酸碱度下表现出了良好的适应性,不具有耐药基因和毒力基因,展现出了针对多地区、多物种分离的大肠杆菌的广谱裂解性,并且有可能通过联合其他噬菌体或抗菌药物达到更加良好的抗菌效果。因此该噬菌体有潜力制成临床防治大肠杆菌病的制剂。

5 伦理声明

该动物研究已获得批准,本研究中涉及动物试验的所有操作均按照西北农林科技大学伦理委员会的规定进行(批准号DY2022009),本研究遵循当地法规和机构要求。

参考文献(References):

- [1] DENAMUR E, CLERMONT O, BONACORSI S, et al. The population genetics of pathogenic *Escherichia coli*[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2021, 19(1): 37-54.
- [2] HUEMER M, MAIRPADY SHAMBAT S, BRUGGER S D, et al. Antibiotic resistance and persistence—Implications for human health and treatment perspectives[J]. *EMBO Rep*, 2020, 21(12): e51034.
- [3] WHO. WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed [J]. *Neurosciences*, 2017, 22(2): 159-160.
- [4] HATFULL G F, DEDRICK R M, SCHOOLEY R T. Phage therapy for antibiotic-resistant bacterial infections [J]. *Ann Rev Med*, 2022, 73 (Volume 73, 2022): 197-211.
- [5] LAVERGNE S, HAMILTON T, BISWAS B, et al. Phage therapy for a multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* craniectomy site infection [J]. *Open Forum Infect Dis*, 2018, 5(4): 64.
- [6] 陈义宝, 孙二超, 杨 澜, 等. 产志贺毒素大肠杆菌噬菌体vBEcoMPHB05的生物学特性及全基因组分析 [J]. 中国兽医科学, 2018, 48(4): 428-437.
CHEN Y B, SUN E C, YANG Y L, et al. Characterization and complete genome sequence analysis of *Shiga* toxin-producing *Escherichia* bacteriophage vB_EcoM_PHB05 [J]. *Chinese Veterinary Science*, 2018, 48(4): 428-437. (in Chinese)
- [7] 李 托, 杜媛媛, 屈 雷, 等. 奶牛乳房炎源金黄色葡萄球菌特异性噬菌体的分离鉴定及生物学特性研究 [J]. 中国畜牧兽医, 2025, 52(6): 2800-2808.
LI T, DU Y Y, Q L, et al. Isolation, identification and characterization of specific bacteriophage of *Staphylococcus aureus* from bovine mastitis [J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2025, 52(6): 2800-2808. (in Chinese)
- [8] CHEN M, XU J, YAO H, et al. Isolation, genome sequencing and functional analysis of two T7-like coliphages of avian pathogenic *Escherichia coli* [J]. *Gene*, 2016, 582(1): 47-58.
- [9] WANG C, CHEN Q, ZHANG C, et al. Characterization of a broad host-spectrum virulent *Salmonella* bacteriophage fmb-p1 and its application on duck meat [J]. *Virus Res*, 2017, 236: 14-23.
- [10] LI C, WANG Z, ZHAO J, et al. A novel vibriophage vB_VcaS_HC containing lysogeny-related gene has

- strong lytic ability against pathogenic bacteria [J]. *Virologica Sinica*, 2021, 36(2): 281-290.
- [11] 冯 烨, 刘 军, 孙 洋, 等. 噬菌体最新分类与命名 [J]. 中国兽医学报, 2013, 33(12): 1954-1958.
FENG Y, LIU J, SUN Y, et al. An introduction to current classification and nomenclature of bacterial viruses [J]. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2013, 33(12): 1954-1958. (in Chinese)
- [12] XIANG Y, LI W, SONG F, et al. Biological characteristics and whole-genome analysis of the *Enterococcus faecalis* phage PEf771 [J]. *Can J Microbiol*, 2020, 66(9): 505-520.
- [13] STRATHDEE S A, HATFULL G F, MUTALIK V K, et al. Phage therapy: From biological mechanisms to future directions [J]. *Cell*, 2023, 186(1): 17-31.
- [14] 宋智婕, 王东东, 杨思敏, 等. 禽致病性大肠杆菌噬菌体 PJNE213 的生物学特性及其应用 [J]. 中国生物工程杂志, 2025, 45(7): 22-33.
SONG Z J, WANG D D, YANG S M, et al. Biological characteristics and application of avian pathogenic *Escherichia coli* phage PJNE213 [J]. *China Biotechnology*, 2025, 45(7): 22-33. (in Chinese)
- [15] 吴珮榕, 李 瑶, 张昱晗, 等. 大肠杆菌噬菌体 Φ 199 与盐酸克林霉素体外联合应用效果分析 [J]. 畜牧与兽医, 2025, 57(1): 98-104.
- WU P R, LI Y, ZHANG Y H, et al. Effect of the combination of *Escherichia coli* phage Φ 199 and clindamycin hydrochloride on bactericide *in vitro* [J]. *Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2025, 57(1): 98-104. (in Chinese)
- [16] 孙利广, 周 艳, 张莉莉, 等. 1 株宽噬菌谱肠出血性大肠杆菌噬菌体的分离及生物学特性分析 [J]. 中国动物传染病学报, 2019, 26(6): 58-63.
SUN L C, ZHOU Y, ZHANG L L, et al. Isolation and biological characteristics of lytic enterohemorrhagic *Escherichia coli* bacteriophage [J]. *Chinese Journal of Animal Infectious Diseases*, 2019, 26(6): 58-63. (in Chinese)
- [17] GU LIU C, GREEN S I, MIN L, et al. Phage-antibiotic synergy is driven by a unique combination of antibacterial mechanism of action and stoichiometry [J]. *mBio*, 2020, 11(4): e01462-20.
- [18] JHANDAI P, MITTAL D, GUPTA R, et al. Therapeutics and prophylactic efficacy of novel lytic *Escherichia* phage vB_EcoS_PJ16 against multidrug-resistant avian pathogenic *E. coli* using *in vivo* study [J]. *Int Microbiol*, 2024, 27(3): 673-668.
- (编辑 白永平)