



团 体 标 准

T/JSYX 27—2026

# 水产养殖用噬菌体质量要求

Quality Requirements for Bacteriophages Used in Aquaculture

2026-09-10 发布

2026-10-10 实施

江苏省渔业协会 发布

## 前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由菲吉乐科（南京）生物科技有限公司提出。

本文件由江苏省渔业协会归口。

本文件起草单位：菲吉乐科（南京）生物科技有限公司、南京农业大学、中国药科大学、安徽菲吉乐科生物技术有限公司、河海大学、江苏中牧倍康药业有限公司、扬州大学、山东省药学科学院、广州双螺旋基因技术有限公司。

本文件主要起草人：贾红颖、陈迪、黄金虎、肖逍、丁良、汤芳、马家乐、赵哲、吴义龙、董小敬、李涛、郑志勇、林琳、张岱州、陈凯、常彦磊。

# 水产养殖用噬菌体质量要求

## 1 范围

本文件给出了水产养殖用噬菌体的缩略语、试剂和材料、仪器和设备，规定了噬菌体选择、组成和特性、标签和说明书、包装、运输和贮存、保质期等技术要求和效力测定方法。

本文件适用于水产养殖用噬菌体的质量控制和效力检测。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，不注明日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 191 包装储运图形符号标志

GB 4789.2 食品安全国家标准食品微生物学检验菌落总数测定

GB/T 9724 化学试剂pH值测定通则

GB/T 36911 运输包装指南

GB 38598 消毒产品标签说明书通用要求

GB/T 38502 消毒剂实验室杀菌效果检验方法

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

### 3.1 噬菌体 bacteriophage, phage

噬菌体是一类能够感染并于细菌细胞内复制的病毒，具有严格的宿主特异性。噬菌体由单链或双链DNA或RNA组成的基因组和外层包裹的蛋白质衣壳组成。

### 3.2 裂解性噬菌体 lytic phage

侵入宿主菌后，能在宿主菌内复制使宿主菌迅速裂解、并释放子代噬菌体颗粒的噬菌体。

### 3.3 噬菌斑 plaque

裂解性噬菌体侵染宿主菌，导致宿主菌破裂、溶解死亡，在长满菌苔的双层琼脂培养基中形成肉眼可见的透明空斑。

### 3.4 噬菌斑形成单位 plaque forming unit, PFU

在长满菌苔的双层琼脂培养基中，细菌被噬菌体杀死后形成透明空斑，一个空斑即为一个噬菌斑形成单位（PFU）。

### 3.5 噬菌体效价 phage titer

指1 mL待测样品液中含有裂解性噬菌体的颗粒数，采用噬菌斑形成单位来表示（PFU/mL）。

### 3.6 裂解谱 **bacterial lysis spectrum**

指噬菌体能够感染、裂解杀灭的细菌种类、菌株范围，以及裂解强弱。

## 4 缩略语

TSA培养基：胰蛋白胨大豆琼脂培养基

TSB培养基：胰酪胨大豆肉汤培养基

SM缓冲液：Sodium Chloride Magnesium Sulfate Bufer

## 5 试剂和材料

检测试剂一般包括：TSB培养基、TSA培养基、琼脂、三羟甲基氨基甲烷-盐酸缓冲液（Tris-HCl buffer）、氯化钠、明胶、硫酸镁。

检测材料一般包括：灭菌的移液枪头、接种环、试管、封口膜、培养皿。

## 6 仪器和设备

检测仪器和设备一般包括：高压蒸汽灭菌器、恒温微生物培养箱、恒温摇床、超净工作台、低温冰箱、称量天平、移液枪。

## 7 噬菌体选择

7.1 应为裂解性噬菌体。

7.2 能特异性裂解相应的靶标细菌。

7.3 遗传背景明确、经过测序确定不携带已知的抗生素耐药基因、病原菌毒力基因、溶原相关基因等。

## 8 组成和特性

### 8.1 组成

可以是单一噬菌体，也可以选择裂解谱不同的多种裂解性噬菌体组合，或者含噬菌体的其他复配的制剂。

### 8.2 剂型

制剂剂型为液体或固体。

### 8.3 理化指标

表 A.1 噬菌体的理化指标

| 项目                    | 理化指标                                                                                                                 |
|-----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 性状                    | 液体制剂：颜色为无色或淡黄色，色泽一致，可有少量絮状沉淀；有培养基自然气味，无发霉、变质现象，无酸败等气味。<br><br>固体制剂：颜色为无色或淡黄色的粉末或细小颗粒状，色泽一致，无发霉、结块现象，有培养基自然气味，无酸败等气味。 |
| 效价，<br>PFU/mL 或 PFU/g | 单一噬菌体 $\geq 10^8$ （检测方法见本文件 13.1）                                                                                    |
| pH 值                  | 6.0~8.5                                                                                                              |
| 杀菌效力                  | 对指示菌的杀灭对数值 $\geq 3$ （检测方法见本文件 13.2）                                                                                  |
| 裂解率                   | $\geq 85\%$ （检测方法见本文件 13.3）                                                                                          |

9 标签和说明书

标签应含有产品名称、主要有效成分及其含量、使用范围（针对的靶标细菌种类）、生产日期及有效期、生产企业名称、地址和联系方式、贮存条件等。说明书还应包括使用方法、注意事项等。

10 包装

10.1 包装应密封、防潮、防水、不易破损。包装材料应无毒、无害。包装应符合 GB/T 191 的规定。

10.2 液体制剂采用塑料瓶或玻璃瓶，规格可为：100 mL/瓶、250 mL/瓶、500 mL/瓶、1000 mL/瓶等。

10.3 固体制剂采用聚丙烯袋或铝塑复合袋，规格可为：100 g/袋、250 g/袋、500 g/袋、1000 g/袋等。

11 运输和储存

11.1 运输

噬菌体制剂运输应符合运输包装指南要求。运输工具应清洁、干燥，并有防雨、防污染措施。不得与有毒、有害物品混装、混运。

## 11.2 储存

噬菌体制剂应保存于干燥、避光、阴凉处，不得与有毒、有害物品混合贮存。

## 12 保质期

在符合运输、贮存条件的情况下，制剂保质期应为12个月及以上。

## 13 效力测定方法

### 13.1 噬菌体效价

#### 13.1.1 检测方法

取1 mL待测的噬菌体液体样本，加入9 mL已灭菌的SM（见附录A.1）缓冲液，按照10倍梯度稀释法稀释，将样本依次稀释到 $10^{-6}$ 。取100  $\mu$ L各稀释度样品，加入到含100  $\mu$ L新鲜培养的宿主菌液中，混匀后于 $30 \pm 1^\circ\text{C}$ 孵育5 min，将上述200  $\mu$ L混合液加入含5 mL~8 mL上层TSB半固体培养基（见附录A.2）的试管中，混匀，倾倒在含底层TSA固体培养基（见附录A.2）的平皿，室温静置至上层半固体培养基凝固。于宿主菌最佳培养条件下倒置培养，待平皿上可见清晰的噬菌斑即可计数。每个稀释度设3个平行试验。

噬菌体制剂固体样本应先采用无菌生理盐水溶解成制剂实际使用体积，然后与液体制剂相同的方法进行测定。

#### 13.1.2 噬菌斑计数

噬菌斑计数按照GB 4789.2 中菌落计数原则，选择50~300 PFU/平板的最适稀释度平板进行噬菌斑计数，获得3个平行试验的噬菌斑平均数。

#### 13.1.3 计算方法

噬菌体效价（PFU/mL）为噬菌斑平均数乘以稀释倍数再乘以10。

## 13.2 噬菌体制剂杀菌效力

### 13.2.1 检测方法

按照GB/T 38502-2020消毒剂实验室杀菌效果检验方法，采用噬菌体敏感的对应该宿主菌为指示菌。取1 mL待测定的噬菌体液体样本，加入新鲜培养的1 mL，浓度为 $10^8$  CFU/mL的指示菌液中，轻轻混匀，室温静置孵育30 min，用无菌生理盐水将上述混合液作连续10倍比递减的4个~6个稀释梯度，每个稀释梯度分别取100  $\mu$ L加到宿主菌适宜的固体培养基平板上，涂布均匀，根据宿主菌确定最适培养时间和培养温度。每个稀释度设3个平行。同时，设生理盐水替代噬菌体制剂处理为对照组，按上述相同的方法与指示菌混合处理、稀释、培养。

噬菌体制剂固体样本应先采用无菌生理盐水溶解成制剂实际使用体积，然后与液体制剂相同的方法进行测定。

### 13.2.2 计数

按照GB 4789.2菌落计数原则，选择50~300 CFU/平板的最适稀释度平板进行菌落计数。根据相应的稀释倍数，获得3个平行试验的平均菌落数，并换算为对数值（N）。菌落计数的平皿的稀释度实验组与对照组相对应。按式（1）计算噬菌体制剂的杀灭对数值（KL）。

### 13.2.3 计算公式：

$$KL = N_o - N_x \dots\dots\dots (1)$$

式中：

KL——杀灭对数值；

$N_o$ ——对照组平均菌落数对数值；

$N_x$ ——试验组平均菌落数对数值。

### 13.2.4 结果判定

每次试验需重复3次，噬菌体制剂杀灭细菌的对数值报告结果取3次的平均值。

## 13.3 噬菌体裂解谱

### 13.3.1 制备菌液

吸取50  $\mu$ L~100  $\mu$ L待检测的菌液，加入至含3 mL~5 mL TSB培养基的无菌管中，放于摇床 $30 \pm 1$  °C，180rpm~200 rpm培养，菌液变浑浊即可。

细菌来源应为不同区域分离株，菌株分离地间隔5 km以上，菌株数量不少于30株。

### 13.3.2 平板制备

试管中加入300  $\mu$ L~500  $\mu$ L在13.3.1制备好的菌液，并加入5mL~8mL、40°C~45 °C的TSB半固体培养基，迅速混匀后倾注到底层TSA琼脂平板上（避免产生气泡），等待上层琼脂凝固。

### 13.3.3 点滴与培养

用无菌枪头吸取10  $\mu$ L 待验证的噬菌体溶液（粉剂噬菌体称取1 g，溶解到9mLSM缓冲液，使用0.22  $\mu$ m 滤膜过滤后备用），点滴至平板标记的相应位置，敞口于净化台中静置15min~20 min，待点滴噬菌体风干后，将上述操作的平板倒置放进 $30 \pm 1$  °C培养箱中培养18h~24h。

### 13.3.4 结果观察

观察噬菌斑情况，并根据13.3.5 判断其裂解能力。

### 13.3.5 噬菌体裂解谱统计

#### 13.3.5.1 裂解判定标准

根据噬菌斑的透明程度分为：

- (1) 噬菌斑清晰透亮：+++
- (2) 噬菌斑较明显（微模糊）：++
- (3) 噬菌斑微透明（模糊）：+
- (4) 无噬菌斑：—

13.3.5.2 统计“被检测的菌株总数”和“能被该噬菌体成功裂解的菌株数（裂解包括+++、++、+三类总和）”。

#### 13.3.5.3 计算裂解率

裂解率=（能被该噬菌体成功裂解的菌株数÷被检测的菌株总数）×100%。

附录A  
(规范性附录)  
缓冲液和培养基的制备

A.1 SM 缓冲液的配制

分别称取氯化钠5.8 g，硫酸镁2 g，1 mol/L Tris-HCl 50 mL，明胶0.25 g，加入纯化水，定容至 1000 mL。pH值调节至7.2 ~7.4，121 °C高压蒸汽灭菌20 min，备用。

A.2 双层琼脂培养基的制备

A.2.1 下层TSA培养基琼脂配方：

胰蛋白胨 15g

大豆蛋白胨 5g

氯化钠 5g

琼脂 15g

pH值 7.2~7.4

加入纯化水，定容至1000mL，充分溶解后，121 °C高压灭菌20 min，冷却到40°C~45 °C，倾注90 mm灭菌平皿，铺满平皿底层即可，琼脂凝固后置于2°C ~8 °C保存备用。

A.2.2 上层TSB半固体培养基配方：

胰蛋白胨 17g

大豆蛋白胨 3g

氯化钠 5g

磷酸氢二钾 2.5g

葡萄糖 2.5g

琼脂 7.5g

pH值 7.2~7.4。

加入纯化水，定容至1000mL，充分溶解后，121 °C高压灭菌20 min。使用前需加热融化，冷却到40°C~45°C备用。

A.3 TSB培养基的制备

胰蛋白胨 17g

大豆蛋白胨 3g

氯化钠 5g

磷酸氢二钾 2.5g

葡萄糖 2.5g

pH值 7.2~7.4

加入纯化水，定容至1000mL，充分溶解后，121 °C高压灭菌20 min，冷却后2°C ~8 °C保存备用。

---