



专论与综述

污水生物处理中的噬菌体及其功能研究进展

刘启新^{1,2} 肖本益^{*2,4} 肖淑敏^{*1,3} 潘艺蓉^{2,4} 韩超^{1,2} 张克^{2,4}

1 天津城建大学环境与市政工程学院 天津 300384

2 中国科学院生态环境研究中心 北京 100085

3 天津市水质科学与技术重点实验室 天津 300384

4 中国科学院大学 北京 100049

摘要: 污水生物处理是一种利用微生物分解污水中的污染物、实现污水净化的方法。噬菌体是感染细菌的病毒，在污水生物处理系统中广泛存在，它们能够特异性地控制微生物菌群，影响污水处理效果和调控污泥性状。因此，研究污水生物处理中噬菌体的分布及其功能具有重要意义。本文介绍了不同污水生物处理中噬菌体的分布，简要分析了噬菌体分离、培养与鉴定方法及其优缺点，详细总结了噬菌体在污水生物处理中的功能，包括：(1) 调节微生物群落结构，影响污水处理效果；(2) 作为环境监测的指示生物；(3) 控制病原菌、污泥膨胀、污泥发泡和膜污染；(4) 减少污泥产量，重点分析了影响噬菌体功能的因素，探讨了污水生物处理中噬菌体功能应用存在的问题及其解决方法，最后对噬菌体未来应用的发展方向进行了展望，以期对污水生物处理技术和工艺的开发与应用提供参考，促进污水处理健康发展。

关键词: 噬菌体，污水生物处理，功能，影响因素，应用

Bacteriophages and their role in biological wastewater treatment: a review

LIU Qixin^{1,2} XIAO Benyi^{*2,4} XIAO Shumin^{*1,3} PAN Yirong^{2,4} HAN Chao^{1,2} ZHANG Ke^{2,4}

1 School of Environmental and Municipal Engineering, Tianjin Chengjian University, Tianjin 300384, China

2 Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China

3 Tianjin Key Laboratory of Aquatic Science and Technology, Tianjin 300384, China

4 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: Biological wastewater treatment is a process conventionally used to achieve wastewater purification and resource recovery through the degradation of pollutants by microbial flora. Bacteriophages, which are known to infect bacteria, are widely distributed viruses found in biological

Foundation items: Major Scientific and Technological Innovation Project of Shandong Province (2019JZZY020301); Major Science and Technology Program for Water Pollution Control and Treatment of China (2017ZX07106003-002)

***Corresponding authors:** E-mail: XIAO Benyi: byxiao@rcees.ac.cn; XIAO Shumin: xiaoshumin@tcu.edu.cn

Received: 23-11-2020; **Accepted:** 19-02-2021; **Published online:** 24-03-2021

基金项目: 山东省重大科技创新工作项目(2019JZZY020301); 水体污染控制与治理国家科技重大专项(2017ZX07106003-002)

***通信作者:** E-mail: 肖本益: byxiao@rcees.ac.cn; 肖淑敏: xiaoshumin@tcu.edu.cn

收稿日期: 2020-11-23; **接受日期:** 2021-02-19; **网络首发日期:** 2021-03-24

wastewater treatment systems. They can specifically control the microbial flora in wastewater, thereby regulating sludge characteristics and affecting wastewater treatment performance. Therefore, it is vital to study the distribution of bacteriophages and explore the significance of their activity in biological wastewater treatment systems. This review summarized the distribution of bacteriophages in different biological wastewater treatment processes and preliminarily analyzed methods of isolation, cultivation, and identification of bacteriophages, along with the advantages and disadvantages of these methods. This review also explored the following functions of bacteriophages: (1) regulating microbial community structure and affecting wastewater treatment, (2) being used as an indicator organism for environmental monitoring, (3) controlling pathogenic bacteria, sludge bulking, sludge foaming, and membrane fouling, and (4) reducing sludge production. Additionally, this review expounded the associated influencing factors, including temperature, pH, multiplicity of infection, and charged particles. Furthermore, this review discussed potential problems that may be encountered during the practical biological wastewater treatment process, along with corresponding solutions. Finally, this review proposed the prospective development of the use of bacteriophages in the biological wastewater treatment process and aimed to provide a reference for the development and application of biological wastewater treatment systems, in order to promote the healthy development of wastewater treatment.

Keywords: bacteriophage, biological wastewater treatment, function, influencing factor, application

随着经济的迅速发展和人口的不断增长,污水量逐渐增多,污水成分也变得更加复杂。由于污水中存在着大量的污染物和致病微生物^[1],对公众健康会造成严重威胁,因此亟需有效的方法处理这些污水。利用具有代谢功能的微生物菌群吸收、分解、转化和去除污水中化学需氧量(Chemical Oxygen Demand, COD)、氮、磷等污染物的生物处理,是目前污水处理厂中最常用的方法之一,微生物是该污水生物处理方法中的核心。噬菌体作为一种侵袭细菌的病毒,广泛存在于污水生物处理系统中,是污水生物处理微生物菌群的重要组成部分^[2]。

在污水生物处理中,噬菌体具有以下功能:

(1) 调节微生物群落结构,影响污水处理^[3];
(2) 作为环境监测指示生物^[4];(3) 控制污水中的病原菌^[5]、污泥膨胀与发泡^[6-7];(4) 减轻膜生物反应器的膜污染^[8];(5) 减量污泥等功能。噬菌体因其特异性、自复制、指数增殖和对人类无害等优点,可以实现精确和可持续的微生物菌群控制^[9]。由于能够特异性地消灭致病菌和抗生素抗性细菌,驱动和控制微生物群落结构,噬菌体在调节污水生物处理过程中的微生物平衡方面

起着重要作用和功能^[10]。

研究表明,微生物(包括细菌)群落结构会影响污水生物处理的效果、污泥产量和污泥特性等^[11-12],噬菌体作为细菌的捕食者,与微生物群落有紧密的联系。因此,全面认识污水生物处理中的噬菌体及其功能具有重要意义。然而,研究通常聚焦于噬菌体的单一方面,例如噬菌体在不同工艺中的分布或其在微生物群落中的作用^[13-15],较为分散且不够全面,难以形成对噬菌体及其功能的系统化认知。本文对相关文献进行了梳理总结归纳,详细阐述了噬菌体在污水生物处理中的分布,介绍了噬菌体的分离、培养和鉴定方法,重点讨论了噬菌体在污水生物处理中潜在的功能和应用及其影响因素,最后对噬菌体技术的应用进行了展望,以期加深人们对于噬菌体在污水生物处理中功能的认识,为噬菌体的应用提供指导,推动污水生物处理的发展。

1 污水生物处理中噬菌体的分布

污水生物处理工艺可分为好氧处理法和厌氧处理法,研究表明,在这些工艺中都发现了噬菌体的存在^[16-18],常用的好氧处理法包括活性污泥法和生物膜法。

活性污泥法是一种通过微生物的代谢作用去除污水中有机污染物和氮磷等营养元素的污水处理方法^[19], 目前广泛用于生活污水和工业废水的处理。噬菌体是活性污泥的重要组成部分, 在活性污泥法处理过程中噬菌体会通过感染和裂解活性污泥中一些细菌(宿主)实现其增殖, 同时存在着消亡过程。研究发现, 噬菌体在活性污泥中的丰度约为 10^8 – 10^{10} 个/mL^[20], 其主要种类包括肌尾科噬菌体、短尾科噬菌体、长尾科噬菌体和丝状科噬菌体等。在我们研究组正在进行的研究中, 发现在 3 套解耦联污泥减量的实验室装置(采用序批式活性污泥法)中均存在着噬菌体, 而且不同污泥减量工艺中的噬菌体在种类和丰度上存在差异^[21]。Ewert 等^[17]发现活性污泥反应器中混合液和出水的噬菌体丰度显著高于进水的噬菌体丰度, 说明噬菌体在污水生物处理中发生了增殖。Zhang 等^[18]发现活性污泥反应器中连续 2 个月噬菌体群落的平均差异为 16.0%, 而且不同噬菌体的相对丰度发生了显著变化。膜生物反应器(Membrane Bio-Reactor, MBR)是采用膜分离技术替代二沉池进行固液分离的一种改进活性污泥工艺, 噬菌体因其纳米级大小, 在应用膜分离技术处理污水的过程中会被截留在滤膜上, 因此往往能在滤膜上发现丰富的噬菌体^[22]。

生物膜法是微生物、原生动物和后生动物等附着在滤料或载体上形成生物膜净化污水的一种方法。Sanderson 等^[16]从曝气生物滤池(一种常用的生物膜法污水处理工艺)中分离出多种以不同肠球菌为宿主的原噬菌体, 并通过鉴定功能性 CRISPR/Cas 序列发现噬菌体和细菌之间存在着持续的相互作用。

厌氧污水生物处理过程中也检测到了噬菌体的存在, 因为没有原生动物等因素的干扰, 在厌氧环境下可以更好地研究噬菌体和细菌之间的关系。Zhang 等^[18]连续 12 个月监测厌氧消化池中微生物群落的组成变化, 在消化污泥里发现了 78 种

噬菌体和 183 个噬菌体基因, 同时噬菌体会影响着厌氧消化器中细菌的菌群结构及厌氧消化器的工艺性能。

2 污水生物处理中噬菌体的分离、培养与鉴定

污水生物处理过程中的噬菌体种类繁多, 需要对噬菌体进行分离、培养和鉴定, 以识别其种属, 研究其具体性状及功能。然而, 在噬菌体的染色和观察过程中常常存在着细菌等杂质的干扰, 因此选择合适的分离、培养与鉴定方法十分重要。在污水生物处理中, 微生物常常以污泥絮凝体或生物膜的形式存在, 而且被胞外聚合物(Extracellular Polysaccharide Substances, EPS)包裹, 需要通过超声、振荡等方法破坏污泥絮凝或生物膜, 才能进一步对其进行培养纯化。分离、培养方法有双层平板法^[14,23]、沉淀离心法^[24]和水解超声/涡旋振荡法^[25]等(表 1), 从污泥或生物膜中分离提取纯种的噬菌体, 并利用其对应的宿主进行扩大培养。目前常用噬菌斑计数、透射电镜、荧光显微镜和流式细胞仪等方法^[26-27]表征污泥或生物膜中噬菌体的丰度; 其中显微镜和流式细胞仪可用于观察噬菌体的大小和结构, 以初步分辨和鉴定噬菌体的种类。祁诗月^[14]利用双层平板法从城市污水厂曝气池的活性污泥中分离培养出了多种噬菌体, 并利用透射电镜法进行了观察和鉴定。随着分子生物学技术的快速发展, 宏基因组测序与数据分析已成为研究复杂环境中微生物群落的重要手段。若引物选用合适, 该技术则可特异性检测噬菌体^[28], 对进一步构建噬菌体数据信息库和研究污水处理系统噬菌体的功能有重要意义。

3 噬菌体在污水生物处理中的功能

3.1 调控微生物菌群结构, 影响污水处理效果

噬菌体作为污水生物处理微生物菌群中的重要组成, 可以通过侵染细菌宿主来调控污水生物

表 1 噬菌体分离、培养、鉴定的方法及特点

Table 1 Methods and characteristics of bacteriophages isolation, culture and identification

项目 Item	方法 Methods	优点 Advantage	缺点 Disadvantage
分离培养 Isolation and culture	双层平板法 Double-plate method	能够清楚观察到噬菌斑的形成，完成噬菌体的分离、纯化和培养 It can clearly observe the formation of plaque, achieve the separation, purification and culture of bacteriophage	大多数宿主细菌不可培养；实验对无菌操作要求较高 Most of the host bacteria cannot be cultured. The experiment requires high aseptic conditions
	沉淀离心法 Centrifugal sedimentation	分离纯化后的噬菌体可直接用于基因组脱氧核糖核酸(Deoxyribonucleic Acid, DNA)的提取及观察 The purified bacteriophage can be directly used to extract and observe genomic DNA	预处理需要超滤浓缩，所需样品量大；实验过程中涉及危险化学品 The pretreatment requires ultrafiltration and concentration, which requires a large amount of samples. Hazardous chemicals are required for experiments
	水解超声/涡旋振荡法 Hydrolysis ultrasound/Vortex oscillation	可有效降低因 EPS 包裹的影响，避免胞溶导致宿主 DNA 污染 It can effectively reduce the influence of EPS on sludge and avoid DNA pollution caused by bacterial cytolysis	操作较复杂，实验步骤烦琐 The operation is cumbersome and complicated
	噬菌斑计数法 Plaque counting method	烈性噬菌体形成透明噬菌斑，温和噬菌体形成混浊噬菌斑，可以计算出空斑形成单位(Plaque Forming Unit, PFU) Plaque forming unit can be calculated, and the types of bacteriophages can be distinguished	计数数量远低于真实数量，不能反映全部噬菌体群落的总体动态 The counting number is much lower than the real number, which could not reflect the overall dynamics of bacteriophage communities
鉴定 Identification	透射电镜法 Transmission electron microscopy	能观察噬菌体的微观结构、丰度及其群落形态多样性 It can observe the microstructure, abundance and diversity of bacteriophage communities	计数存在误差，易受杂质影响，不适合大批量计数 There are errors in counting and it is easily affected by impurities, which is not suitable for large-scale counting
	荧光显微镜法 Fluorescence microscopy	检测快速、成本低、可测样品量大 It has the advantages of rapid detection, low cost and large amount of samples	观测计数时易出现人为误差 There is personal errors sometimes
	流式细胞仪法 Flow cytometry	检测快速，精度准确，可通过噬菌体的直径进行粗略分类 The detection is fast and accurate. Bacteriophages can be roughly classified by diameter	对样品预处理的要求较高 It has high requirements for sample pretreatment
	宏基因组学 Metagenomics	不需分离纯化微生物，可实现对整个微生物群落全基因组的高通量测序，反映基因功能活性及微生物群落结构和关系 High throughput sequencing of the whole microbial community can be realized without isolation and purification of microorganisms, reflecting the functional activity of genes and the structure and relationship of microbial population	宿主细菌的干扰较大，难以检测出低丰度的噬菌体 It is difficult to detect bacteriophages with low abundance due to the interference of host bacteria

处理过程中的微生物菌群结构，从而影响污水处理效果。Abeles 等^[29]研究发现噬菌体是细菌多样性的重要驱动因素，其与细菌保持动态平衡，对细菌群落的结构和动态变化产生重要影响，从而

保证污水生物处理的稳定效果。Brown 等^[3]连续 2 年监测全规模污水处理厂的噬菌体丰度、细菌菌落组成和污水水质，发现混合液中噬菌体丰度与其中 COD 和氨氮浓度有显著的相关性，直接

影响相应的出水浓度。研究表明, 噬菌体影响着污水生物处理中碳和氮的去除, 在活性污泥系统中可能是控制细菌丰度、群落结构和功能稳定性的关键因素之一^[3,29]。另外, 噬菌体会通过侵染优势细菌使之裂解从而显著降低其相对丰度, 直接影响该细菌数量, 使微生物菌群结构发生变化, 间接地影响系统中不同菌种之间的竞争^[3]。当外界因素变化导致污水生物处理效果降低时, 可以在微生物菌群结构与污水处理效果关系研究的基础上, 通过噬菌体去侵染特定微生物, 从而恢复其菌群结构^[30], 提高污水处理效果。

3.2 作为环境监测指示生物

在污水生物处理过程中, 需要监测城市污水处理厂进水和出水中的人类病毒和病原体, 以便进行风险评估。噬菌体可以用作水中病毒和病原菌的指示生物或示踪剂(表 2), 反映水中微生物的污染状况, 是目前广泛应用的微生物指标^[31-32]。环境监测中常用的噬菌体包括水中病毒指示物 SC 噬菌体、肠道病毒指示物 F-RNA 噬菌体和反映人类粪便污染程度的脆弱拟杆菌噬菌体等^[33]。由于噬菌体与人类肠道病毒的组成、结构、大小和复制位点十分相似, 因此其能够对病

毒污染和粪便污染提供更多的信息。Hartard 等^[34]发现 FRNAPH 噬菌体可以用来鉴定污水中的粪便来源。利用噬菌体检测人类肠道病毒具有简单和经济的优势, 能够很好地反映病毒的自然失活和评价污水处理效果^[35-36], 并预测人类肠道病毒的持久性和环境行为。

3.3 控制污水中的病原菌

在污水生物处理工艺中, 部分噬菌体会以污水中的病原菌为宿主细菌, 通过吸附特异性侵入细菌, 在细菌体内增殖, 最终裂解细菌释放子代噬菌体, 达到控制这些病原菌的功能(表 2)。这些病原菌, 诸如肠杆菌、霍乱弧菌、沙门氏菌和分枝杆菌^[37]等, 会引起人类和动物肠道寄生虫感染、腹泻和肺部疾病, 严重时甚至会导致死亡。Fan 等^[38]从活性污泥中分离得到一种双链 DNA 噬菌体 AJ01, 发现其可以有效致死致病菌约翰逊不动杆菌(*Acinetobacter johnsonii*), 而且 AJ01 生长速度快, 同时具有良好的热稳定性和 pH 稳定性, 可用作无毒性的杀菌剂。Zhang 等^[39]利用绿脓杆菌(*Pseudomonas aeruginosa*)的噬菌体选择性地去除了宿主病原菌, 并发现噬菌体处理对生物滤池内的亚硝酸盐氧化菌(Nitrite-Oxidizing

表 2 噬菌体在污水生物处理中的功能、影响因素和应用局限

Table 2 Functions, influencing factors and application limitation of bacteriophage in biological wastewater treatment

功能 Function	影响因素 Influencing factors	应用局限 Application limitation
调控微生物菌群结构, 影响污水处理效果 Regulating microbial community structure and affecting wastewater treatment	温度 Temperature	宿主范围窄 Narrow host range
作为环境监测指示生物 Being used as an indicator organism for environmental monitoring	酸碱度 pH	宿主难确定 Difficult to determine the host
控制污水中的病原菌 Controlling pathogenic bacteria in wastewater	感染复数 Multiplicity of infection	噬菌体抗性 Bacteriophage resistance
控制污泥膨胀 Controlling sludge bulking	带电粒子 Charged particles	
控制污泥发泡 Controlling sludge foaming		
控制膜污染 Controlling membrane fouling		
减量污泥 Reducing sludge production		

Bacteria, NOB)和氨氧化菌(Ammonia-Oxidizing Bacteria, AOB)没有影响,对系统中的有益生物影响最小,改善了出水水质。另外,随着越来越多的抗生素进入生活污水中,细菌变异形成超级耐药细菌和多重耐药细菌^[40],如金黄色葡萄球菌、肺炎克雷伯菌和大肠杆菌等,噬菌体是一种针对上述菌株的有效处理方法。Yu 等^[41]向活性污泥中加入多价噬菌体及其生产宿主,成功地抑制了抗生素耐药性大肠杆菌。相比目前常用的杀菌剂和抗生素,噬菌体对生态更加友好,而且能利用宿主细菌呈指数增殖^[42],保持较高的滴度,快速、持续侵染细菌,最终消灭出水中病原菌并随之消亡,保障出水安全性。

3.4 控制污泥膨胀

污泥膨胀是污水处理过程中常见的问题,膨胀的污泥容易随着出水流失,从而降低系统的污水处理效果。高晨晨等^[43]发现污水处理厂中膨胀污泥的微生物群落结构发生显著改变,对污水中总氮和氨氮的去除率平均降低 5%,总磷去除率降低约 3%。丝状细菌过度繁殖是污泥膨胀的主要原因之一^[7],而噬菌体能够特异性侵蚀这些丝状细菌,控制其丰度,从而从根本上控制污泥膨胀的发生(表 2)。Han 等^[44]研究表明污泥膨胀过程中的微生物群落会发生变化,而噬菌体与微生物菌群结构有一定的关系。Yang 等^[45]对比污泥膨胀时期和非膨胀时期的细菌和噬菌体群落关系发现:软发菌(*Haliscomenobacter hydrossis*)是污泥膨胀时期主要的细菌之一,而且肌尾科噬菌体与软发菌(*H. hydrossis*)丰度有明显的协同增长关系,大约增加了 1.3–3.1 倍,表明噬菌体与丝状细菌存在着密切的动态关系。Kotay 等^[46]将噬菌体与宿主软发菌(*H. hydrossis*)按 1:1 000 的体积比混合培养,丝状细菌死亡率为 54%,污泥体积指数(Sludge Volume Index, SVI)从 155 mL/g 降至 105 mL/g,说明该噬菌体对污泥膨胀起到了良好的控制作用,而且该噬菌体不会侵染负责去除

COD、氨氧化和厌氧硫酸盐还原的细菌菌种,在 SBR 工艺中污水处理效率恢复到污泥膨胀之前。Choi 等^[47]从污水中分离出一株宿主为浮游球衣菌(*Sphaerotilus natans*)的强毒肌尾科噬菌体,将其加入活性污泥中侵染 12 h,发现 SVI 由 168 ± 2 mL/g 降至 102 ± 2 mL/g,污泥从膨胀变为不膨胀,沉降性能改善,上清液浊度显著降低,而且噬菌体的加入对去除 COD 和营养物质几乎没有影响,即对污水处理效率没有影响。

3.5 控制污泥发泡

污泥发泡是在生物反应池和二沉池表面产生大量泡沫的现象,这些泡沫会隔绝空气,影响污水复氧,从而使出水水质恶化,影响污水处理效果。泡沫会富集细菌病原体,携带抗生素抗性基因,随着出水或形成气溶胶逸散到环境中,造成危害^[48]。气泡、表面活性物质和疏水性物质的共同作用被认为是引起污泥发泡的重要原因^[49],这个过程中,疏水性物质是必不可少的。作为一种疏水性物质,疏水性细菌在污水生物处理中却常常发挥着积极的作用,因此需要在污水处理过程中保持一定的丰度。噬菌体能够侵蚀特定的疏水性细菌,如球衣菌属(*Sphaerotilus* spp.)、戈登氏菌属(*Gordonia* spp.)、斯科曼氏菌属(*Skermania* spp.)、分期杆菌属(*Mycobacterium* spp.)和诺卡氏菌属(*Nocardia* spp.)等,控制其丰度在形成稳定泡沫所需的阈值以下^[6,50],从而在源头上抑制污泥发泡的产生(表 2),保持稳定的污水处理效果。Dyson 等^[51]从活性污泥中分离出的一株长尾科噬菌体,发现其可以强制裂解引起污泥发泡的强疏水性细菌松状斯科曼氏菌(*Skermania piniformis*),从而抑制污泥发泡。Khairnar 等^[52]发现噬菌体 NOC1、NOC2 和 NOC3 可以使疏水性细菌诺卡氏菌(*Nocardia*)的丰度在短时间内迅速下降,24 h 后宿主细菌的数量减少 87.5%,泡沫显著减少,成功控制了污泥发泡,而且所分离的噬菌体与活性污泥系统中最常见的细菌没有交叉感染性,不会

影响污水处理效果。Petrovski 等^[53]从活性污泥中分离出的长尾噬菌体 GTE2 和 GTE7 能够靶向控制疏水性细菌戈登氏菌(*Gordonia*)和诺卡氏菌(*Nocardia*), 其中长尾噬菌体 GTE7 对宿主细菌有更强的抑制作用。Liu 等^[54]从活性污泥中分离出可以导致污泥发泡的丝状细菌戈登氏菌(*Gordonia*)及其 4 种对应的噬菌体, 经过 9 d 混合处理培养, 发现宿主细菌的丰度相较于对照组下降了 90%, 污泥泡沫显著减少。

3.6 控制膜污染

微生物是造成膜污染的重要原因, 微生物及其胞外聚合物(EPS)附着在膜组件上会加重膜生物反应器的膜污染^[55], 影响出水效率, 缩短膜的使用寿命。噬菌体可以特异性地侵染细菌, 从而减少目标宿主细菌的丰度, 调控细菌的群落结构, 并分泌多糖解聚酶(Polysaccharide Depolymerase Enzymes, PDE)降解 EPS, 抑制和破坏细菌在膜组件表面形成的生物膜(表 2), 使生物膜可以通过物理方法剥离^[56-57], 恢复膜通量, 从而提高污水处理效率。噬菌体尺寸一般大于膜生物反应器的孔径, 能够被拦截在膜内进行持续的生物控制, 并可以使用多价噬菌体联合处理含有多种细菌的生物膜, 保障膜生物反应器的处理效率。Goldman 等^[58]将烈性噬菌体添加到超滤反应器, 特异性感染绿脓杆菌(*Pseudomonas aeruginosa*)、约翰逊不动杆菌(*Acinetobacter johnsonii*)和枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*), 发现滤膜表面生物膜层的形成明显减少, 同时膜的通透性提高了 40%–60%。Bhattacharjee 等^[57]从污水处理厂的混合液中分离出多重耐药细菌戴尔夫特菌(*Delftia tsuruhatensis* ARB-1)的特异烈性噬菌体 DTP1, 并将 10^{12} PFU/mL 的该噬菌体加入已经发生膜污染的膜生物反应器中, 发现膜通量从 15 L/hm² 恢复至 47 L/hm²。

3.7 减量污泥

污水生物处理中的活性污泥利用污水中的有

机物合成新的细胞物质进行繁殖, 随着系统的运行, 污泥不断增加, 一定的污泥增长对污水生物处理是有益的, 但是活性污泥中好氧微生物的同化效率很高, 导致容易产生过量的剩余污泥。De Leeuw 等^[59]发现在污水处理中噬菌体和细菌之间存在着密切相关性, 噬菌体扮演着细菌捕食者的角色。由于污泥减量的前提是不影响或不显著影响污水处理效果, 而噬菌体能够特异性侵染引起污泥增量大却又不影响有机物去除和脱氮除磷效果的问题细菌, 使其消亡^[60]。因此通过加入噬菌体等手段可以控制污泥中特定细菌的增殖, 在保证污水处理效果的前提下, 实现污泥减量(表 2)。Han 等^[61]研究表明, 污水生物处理过程中的污泥减量与污泥的微生物菌群结构有直接关系, 而我们研究组近期在实验室不同解耦联污泥减量工艺的污泥中发现, 微生物(包括噬菌体)的种类和丰度存在着明显差异, 这也说明噬菌体可能与污泥减量有关系^[21], 但噬菌体在污泥减量中的作用仍需要进一步研究。

4 影响污水生物处理中噬菌体的因素

4.1 温度

温度显著影响着污水处理过程中微生物的代谢和群落结构(表 2, 表 3), 决定着噬菌体的存活、侵染和储存, 在低于最佳温度时, 噬菌体遗传物质进入细菌宿主较少; 在较高的温度时, 噬菌体的潜伏期会延长^[62]。Puck 等^[63]研究了不同温度下 T1 (一种细菌)噬菌体对 T1 的吸附, 发现在 37 °C 时吸附最快, 温度过高或过低都会影响吸附速率。Kotay 等^[46]发现丝状细菌 *H. hydrossis* 的特异性噬菌体, 在–20–35 °C 内的感染效率几乎没有变化, 但是暴露在高于 42 °C 后噬菌体发生变性、失活。在污水生物处理中, 考虑到微生物群体的生物活性, 通常应将温度控制在 15–35 °C 内^[64]。

4.2 酸碱度

酸碱度(Potential of Hydrogen, pH)会影响噬菌体的活性及其与宿主之间的吸附, 从而影响其

感染效率(表 2)。当 pH 值低于噬菌体的等电点, 范德华引力和疏水相互作用会克服噬菌体粒子之间的静电斥力, 导致噬菌体聚集, 降低感染效率^[65], 而在强酸或强碱的条件下, 噬菌体会失去活性(表 3)。Fan 等^[38]发现在 pH 6.0–9.0 时, AJO1 噬菌体的感染效率在 70%以上, pH 7.0 时感染效率最高。曾祥朋^[66]发现污水处理厂样品中分离的噬菌体 YZ1 在 pH 4.0–8.0 内具有活性, pH 7.0 时活性最好。Jiang 等^[67]发现沙门氏菌噬菌体 KM15 在 pH 6.0–7.0 时形成最多的噬菌斑, 在 pH 10.0–11.0 缓冲液中的活性高于 pH 3.0–4.0, 表明该噬菌体在碱性条件下具有更好的耐受性。尽管大多数噬菌体的适宜 pH 在中性, 但是仍需要在应用前通过试验确定最佳 pH 以达成最好的侵染效果。

4.3 感染复数

感染复数(Multiplicity of Infection, MOI)即投加噬菌体与宿主菌数量的初始比值, 会影响噬菌体的效价。研究表明, 由于不同噬菌体的形态

和结构存在差别, 其 MOI 存在差异, 在污水生物处理中其最佳 MOI 值范围为 0.001–15 (表 2, 表 3)。因此, 在应用噬菌体之前, 通常需要进行预实验确定最佳的 MOI 值(表 3), 以实现有效的微生物控制。

4.4 带电粒子

在中性条件下, 噬菌体粒子带有负电荷, 会与污水中存在的某些正价阳离子发生反应形成沉淀, 影响噬菌体的稳定性及其对细菌的侵染效果(表 2)。静电作用在噬菌体的吸附过程中有着重要作用, 不同带电粒子对噬菌体的影响不同。Puck 等^[63]向营养肉汤中加入适当浓度的 Cl^- 发现, T1 噬菌体对大肠杆菌的吸附速率有了显著提高, 但过量 Cl^- 对噬菌体的吸附作用会产生抑制。 Al^{3+} 和 Fe^{3+} 较低剂量时就会使噬菌体产生快速且不可逆的失活, 例如, Matsui 等^[68]发现 4 种铝盐溶液(硫酸铝、氯化铝、液铝和聚合氯化铝溶液)都会使 Q β 、MS2、T1、P1 噬菌体发生不同程度的失活。

表 3 污水生物处理中不同噬菌体的影响因素

Table 3 Influencing factors of different bacteriophages in biological wastewater treatment

噬菌体 Bacteriophage	宿主 Host	样品 Sample	最佳感染复数 Optimal multiplicity of infection	温度 Temperature (°C)	酸碱度 pH	参考文献 References
长尾科噬菌体 Siphoviridae	诺卡氏菌 <i>Nocardia</i>	污水厂混合液 Mixed liquids	1	20–60	6.0–10.0	[52]
长尾科噬菌体 Siphoviridae	戈登氏菌 <i>Gordonia</i>	污水厂混合液 Mixed liquids	5–15	–	–	[54]
长尾科噬菌体 Siphoviridae	鼠伤寒沙门氏菌 <i>Salmonella typhimurium</i>	污水厂进水 Influent	0.1	40–50	5.0–9.0	[23]
肌尾科噬菌体 Myoviridae	鼠伤寒沙门氏菌 <i>Salmonella typhimurium</i>	污水厂进水 Influent	0.01	40–50	5.0–10.0	[23]
肌尾科噬菌体 Myoviridae	软发菌 <i>Haliscomenobacter hydrossis</i>	污水厂混合液 Mixed liquids	0.001	–20–35	5.0–8.0	[46]
短尾科噬菌体 Podoviridae	约翰逊不动杆菌 <i>Acinetobacter johnsonii</i>	污水厂活性污泥 Activated sludge	0.01	42–55	6.0–9.0	[38]
短尾科噬菌体 Podoviridae	大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	污水厂混合液 Mixed liquids	0.01	0–40	4.0–8.0	[66]
丝状科噬菌体 Filoviridae	芽孢杆菌 <i>Bacillus</i> sp.	污水厂混合液 Mixed liquids	0.1	–	–	[14]

注: –: 未见报道

Note: –: No report

5 噬菌体在污水生物处理中应用的局限和解决方法

5.1 宿主范围窄

大多数情况下噬菌体具有高度的特异性, 这种特异性会导致噬菌体的宿主范围窄, 限制其大规模的生产和富集(表 2)。为了克服噬菌体的这种不足, 研究者尝试在污水生物处理中应用具有多宿主的多价噬菌体^[69]。Yu 等^[41]利用多价噬菌体和替代宿主抑制抗生素抗性细菌 NDM-1, 发现对比窄宿主范围噬菌体的处理, 多价噬菌体可达到更高的丰度, NDM-1 减少了更多。

5.2 宿主难确定

污水生物处理过程中的微生物种类繁多, 不同的污水处理厂有着不同的微生物群落结构, 因此噬菌体的宿主通常难确定(表 2)。通常, 可以利用 16S rRNA 基因和高通量测序等分子生物学手段对系统的微生物群落进行分析, 并通过分析噬菌体与细菌群落的结构和功能关系, 确定宿主细菌^[65]。

5.3 噬菌体抗性

宿主在驯化之后可能会产生一定的抗性(表 2), 从而使噬菌体失效, 阻止噬菌体吸附和进入, 破坏噬菌体基因组和终止噬菌体生命周期^[70]。通常可以通过将针对同一宿主菌的多种噬菌体混合在一起, 靶向多种抗性载体, 从而避开细菌的不同抗性机制, 防止噬菌体抗性宿主的产生, 这种方法被称为噬菌体“鸡尾酒疗法”^[71]。为了适应和保持针对不断出现的新菌种的活性, 噬菌体的种类需要持续更新^[72]。另外, 研究发现宿主细菌在产生噬菌体抗性之后, 会一定程度上降低环境适应性, 在种间竞争中处于劣势, 并失去对某些抗生素和化学药剂的抗性。因此, 可以采用噬菌体和特定抗生素或化学药剂联合处理的方法, 抑制细菌产生噬菌体 and 抗生素抗性, 提高细菌的杀灭。

6 结论和展望

噬菌体作为污泥的重要组成部分, 广泛存在于各种污水处理工艺中, 在污水生物处理过程中发挥重要作用, 其在污水生物处理过程中可以起到指示生物、消灭病原菌、控制污泥膨胀和污泥发泡、控制膜污染和减量污泥等功能。但要利用噬菌体进行大规模应用, 仍然存在一些问题, 我们难以精准识别噬菌体及其宿主, 尚未明确宿主细菌对噬菌体的抗性机制及其相互作用, 而且也不确定应用噬菌体是否会对污水生物处理产生其他不利的影响。

因此, 在未来污水生物处理中噬菌体的研究应从以下方面进行:

- (1) 开发准确高效分析鉴定噬菌体的方法, 形成标准化鉴定噬菌体的方法。
- (2) 应用噬菌体仍存在宿主范围窄、宿主难确定和宿主产生噬菌体抗性等问题, 需要针对这些问题进行深入的研究。
- (3) 在实际污水生物处理应用上需要尽早地为细菌目标建立噬菌体库。
- (4) 切实了解噬菌体与细菌的动态变化和相互作用, 及其与污水生物处理效率的关系, 以充分发挥噬菌体的功效, 保证污水生物处理的污染物去除效果, 使其更好地服务于污水生物处理过程, 促进污水生物处理健康发展。

REFERENCES

- [1] Ibrahim S, El-Liethy MA, Abia ALK, Abdel-Gabbar M, Al Zanaty AM, Kamel MM. Design of a bioaugmented multistage biofilter for accelerated municipal wastewater treatment and deactivation of pathogenic microorganisms[J]. Science of the Total Environment, 2020, 703: 134786
- [2] Khan MA, Satoh H, Katayama H, Kurisu F, Mino T. Bacteriophages isolated from activated sludge processes and their polyvalency[J]. Water Research, 2002, 36(13): 3364-3370
- [3] Brown MR, Baptista JC, Lunn M, Swan DL, Smith SJ, Davenport RJ, Allen BD, Sloan WT, Curtis TP. Coupled virus-bacteria interactions and ecosystem function in an engineered microbial system[J]. Water Research, 2019, 152: 264-273

- [4] Amarasiri M, Kitajima M, Nguyen TH, Okabe S, Sano D. Bacteriophage removal efficiency as a validation and operational monitoring tool for virus reduction in wastewater reclamation: review[J]. *Water Research*, 2017, 121: 258-269
- [5] Kutateladze M, Adamia R. Bacteriophages as potential new therapeutics to replace or supplement antibiotics[J]. *Trends in Biotechnology*, 2010, 28(12): 591-595
- [6] Thomas JA, Soddell JA, Kurtböke DI. Fighting foam with phages?[J]. *Water Science and Technology*, 2002, 46(1/2): 511-518
- [7] Wang P, Yu ZS. Comparative analysis of sludge bulking and sludge foaming in wastewater treatment plant[J]. *Microbiology China*, 2019, 46(8): 1971-1981 (in Chinese)
王萍, 余志晟. 污水处理厂污泥膨胀和污泥发泡的比较分析[J]. *微生物学通报*, 2019, 46(8): 1971-1981
- [8] Wu B, Wang R, Fane AG. The roles of bacteriophages in membrane-based water and wastewater treatment processes: a review[J]. *Water Research*, 2017, 110: 120-132
- [9] Zhong Y, Zhou XJW, Liu WN, Yang JQ, Xu MZ. Application of bacteriophage technology in sewage treatment[J]. *Liaoning Chemical Industry*, 2018, 47(10): 1005-1009 (in Chinese)
钟响, 周欣婧雯, 刘苑凝, 杨珺琪, 徐明芷. 噬菌体技术在水污染控制中的应用[J]. *辽宁化工*, 2018, 47(10): 1005-1009
- [10] Mathieu J, Yu PF, Zuo PX, Da Silva MLB, Alvarez PJJ. Going viral: emerging opportunities for phage-based bacterial control in water treatment and reuse[J]. *Accounts of Chemical Research*, 2019, 52(4): 849-857
- [11] Xiao BY, Li HC, Yan H, Guo XS. Evaluation of the sludge reduction effectiveness of a metabolic uncoupler-tetrakis (hydroxymethyl) phosphonium sulfate in anaerobic/anoxic/oxic process[J]. *Desalination and Water Treatment*, 2016, 57(13): 5772-5780
- [12] Han YP, Sun YL, Chen H, Guo XS, Yu CY, Li YB, Liu JX, Xiao BY. Effects of wastewater treatment processes on the sludge reduction system with 2,4-dichlorophenol: sequencing batch reactor and anaerobic-anoxic-oxic process[J]. *Journal of Biotechnology*, 2017, 251: 99-105
- [13] Withey S, Cartmell E, Avery LM, Stephenson T. Bacteriophages—potential for application in wastewater treatment processes[J]. *Science of the Total Environment*, 2005, 339(1/3): 1-18
- [14] Qi SY. Ecological distribution and characteristics of phage in wastewater treatment system[D]. Xinxiang: Master's Thesis of Henan Normal University, 2014 (in Chinese)
祁诗月. 污水处理系统中噬菌体的生态分布及特性研究[D]. 新乡: 河南师范大学硕士学位论文, 2014
- [15] Zhao HL, Qi SY, Zhang F, Yang QX. Concentration separation and metagenomic DNA extraction of bacteriophages from a sewage treatment system[J]. *Journal of Henan Normal University (Natural Science Edition)*, 2016, 44(4): 131-136 (in Chinese)
赵红丽, 祁诗月, 张斐, 杨清香. 污水处理系统中噬菌体的浓缩分离和宏基因组 DNA 的提取[J]. *河南师范大学学报: 自然科学版*, 2016, 44(4): 131-136
- [16] Sanderson H, Ortega-Polo R, Zaheer R, Goji N, Amoako KK, Brown RS, Majury A, Liss SN, McAllister TA. Comparative genomics of multidrug-resistant *Enterococcus* spp. isolated from wastewater treatment plants[J]. *BMC Microbiology*, 2020, 20(1): 20
- [17] Ewert DL, Paynter MJB. Enumeration of bacteriophages and host bacteria in sewage and the activated-sludge treatment process[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1980, 39(3): 576-583
- [18] Zhang JY, Gao Q, Zhang QT, Wang TX, Yue HW, Wu LW, Shi J, Qin ZY, Zhou JZ, Zuo JE, et al. Bacteriophage—prokaryote dynamics and interaction within anaerobic digestion processes across time and space[J]. *Microbiome*, 2017, 5(1): 57
- [19] Petrovski S, Seviour R. Activated sludge foaming: can phage therapy provide a control strategy?[J]. *Microbiology Australia*, 2018, 39(3): 162-164
- [20] Ju F, Zhang T. Advances in meta-omics research on activated sludge microbial community[J]. *Microbiology China*, 2019, 46(8): 2038-2052 (in Chinese)
鞠峰, 张彤. 活性污泥微生物群落宏组学研究进展[J]. *微生物学通报*, 2019, 46(8): 2038-2052
- [21] Liu QX. Study on *in-situ* sludge reduction efficiency of chemical uncoupling process and oxic-settling-anaerobic process[D]. Tianjin: Master's Thesis of Tianjin Chengjian University, 2021 (in Chinese)
刘启新. 化学解偶联法和好氧-沉淀-厌氧工艺污泥原位减量效果研究[D]. 天津: 天津城建大学硕士学位论文, 2021
- [22] Shi H, Pasco EV, Tarabara VV. Membrane-based methods of virus concentration from water: a review of process parameters and their effects on virus recovery[J]. *Environmental Science: Water Research & Technology*, 2017, 3(5): 778-792
- [23] Zhang ZY. Screening of phages in sewage treatment system and the experimental study on prevention and control of *Salmonella typhimurium*[D]. Taiyuan: Master's Thesis of Taiyuan University of Technology, 2017 (in Chinese)
张仲阳. 污水处理系统中噬菌体筛选及鼠伤寒沙门氏菌防控试验研究[D]. 太原: 太原理工大学硕士学位论文, 2017
- [24] Zhao HL. Correlations between bacteriophage and bacterial communities and sludge settling performances in the sewage treatment systems[D]. Xinxiang: Master's Thesis of Henan Normal University, 2016 (in Chinese)
赵红丽. 污水处理系统中噬菌体和细菌群落特征与污泥沉降性的相关性研究[D]. 新乡: 河南师范大学硕士学位论文, 2016
- [25] Yu ZD, Zhang ZM, Zhu L, Xu XY. Method for extracting

- and enriching phage from activated sludge: CN, 109810951B[P]. 2021-02-12 (in Chinese)
俞卓栋, 张智明, 朱亮, 徐向阳. 一种从活性污泥中提取富集噬菌体的方法: 中国, 109810951B[P]. 2021-02-12
- [26] Chen C. Separation and purification of four marine phages and the biological characteristics research[D]. Guangzhou: Master's Thesis of South China University of Technology, 2015 (in Chinese)
陈澄. 4 株海洋噬菌体的分离纯化及其生物学特性的研究[D]. 广州: 华南理工大学硕士学位论文, 2015
- [27] Brown MR, Camézuli S, Davenport RJ, Petelenz-Kurdziel E, Øvreås L, Curtis TP. Flow cytometric quantification of viruses in activated sludge[J]. *Water Research*, 2015, 68: 414-422
- [28] Zhao ZL. Comparison of microbial communities and the antibiotic resistome between prawn mono- and poly-culture systems[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, 207: 111310
- [29] Abeles SR, Ly M, Santiago-Rodriguez TM, Pride DT. Effects of long term antibiotic therapy on human oral and fecal viromes[J]. *PLoS One*, 2015, 10(8): e0134941
- [30] Thompson AF, English EL, Nock AM, Willsey GG, Eckstrom K, Cairns B, Bavelock M, Tighe SW, Foote A, Shulman H, et al. Characterizing species interactions that contribute to biofilm formation in a multispecies model of a potable water bacterial community[J]. *Microbiology*, 2020, 166(1): 34-43
- [31] McMinn BR, Ashbolt NJ, Korajkic A. Bacteriophages as indicators of faecal pollution and enteric virus removal[J]. *Letters in Applied Microbiology*, 2017, 65(1): 11-26
- [32] Xiong WB, Lu H, Liu XC. Exploration of bacteriophage applied in process of wastewater treatment[J]. *Water Purification Technology*, 2020, 39(11): 93-100 (in Chinese)
熊文斌, 卢晗, 刘新春. 噬菌体应用于污水处理过程的探讨[J]. *净水技术*, 2020, 39(11): 93-100
- [33] Farkas K, Walker DI, Adriaenssens EM, McDonald JE, Hillary LS, Malham SK, Jones DL. Viral indicators for tracking domestic wastewater contamination in the aquatic environment[J]. *Water Research*, 2020, 181: 115926
- [34] Hartard C, Rivet R, Banas S, Gantzer C. Occurrence of and sequence variation among F-specific RNA bacteriophage subgroups in feces and wastewater of urban and animal origins[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2015, 81(18): 6505-6515
- [35] Janahi EM, Mustafa S, Parkar SFD, Naser HA, Eisa ZM. Detection of enteric viruses and bacterial indicators in a sewage treatment center and shallow water bay[J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2020, 17(18): 6483
- [36] Sassi HP, Ikner LA, Abd-Elmaksoud S, Gerba CP, Pepper IL. Comparative survival of viruses during thermophilic and mesophilic anaerobic digestion[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 615: 15-19
- [37] Sidhu JPS, Gupta VVSR, Stange C, Ho J, Harris N, Barry K, Gonzalez D, Van Nostrand JD, Zhou J, Page D, et al. Prevalence of antibiotic resistance and virulence genes in the biofilms from an aquifer recharged with stormwater[J]. *Water Research*, 2020, 185: 116269
- [38] Fan NS, Qi R, Yang M. Isolation and characterization of a virulent bacteriophage infecting *Acinetobacter johnsonii* from activated sludge[J]. *Research in Microbiology*, 2017, 168(5): 472-481
- [39] Zhang YY, Hunt HK, Hu ZQ. Application of bacteriophages to selectively remove *Pseudomonas aeruginosa* in water and wastewater filtration systems[J]. *Water Research*, 2013, 47(13): 4507-4518
- [40] Zainab SM, Junaid M, Xu N, Malik RN. Antibiotics and antibiotic resistant genes (ARGs) in groundwater: a global review on dissemination, sources, interactions, environmental and human health risks[J]. *Water Research*, 2020, 187: 116455
- [41] Yu PF, Mathieu J, Lu GW, Gabiatti N, Alvarez PJ. Control of antibiotic-resistant bacteria in activated sludge using polyvalent phages in conjunction with a production host[J]. *Environmental Science & Technology Letters*, 2017, 4(4): 137-142
- [42] Sybesma W, Zbinden R, Chanishvili N, Kutateladze M, Chkhotua A, Ujmajuridze A, Mehnert U, Kessler TM. Bacteriophages as potential treatment for urinary tract infections[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 465
- [43] Gao CC, You J, Chen Y, Zheng XC, Shang W, Zhang WA. Effect of denitrification and phosphorus removal microorganisms in activated sludge bulking caused by filamentous bacteria[J]. *Environmental Science*, 2018, 39(6): 2794-2801 (in Chinese)
高晨晨, 游佳, 陈轶, 郑兴灿, 尚巍, 张文安. 丝状菌污泥膨胀对脱氮除磷功能菌群的影响[J]. *环境科学*, 2018, 39(6): 2794-2801
- [44] Han YP, Luo M, Chen H, Zhang WZ, Liu JX, Xiao BY. Deterioration mechanisms of sludge settleability in sludge reduction systems with metabolic uncouplers[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2017, 123: 296-303
- [45] Yang QX, Zhao HL, Du BB. Bacteria and bacteriophage communities in bulking and non-bulking activated sludge in full-scale municipal wastewater treatment systems[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2017, 119: 101-111
- [46] Kotay SM, Datta T, Choi J, Goel R. Biocontrol of biomass bulking caused by *Haliscomenobacter hydrossis* using a newly isolated lytic bacteriophage[J]. *Water Research*, 2011, 45(2): 694-704
- [47] Choi J, Kotay SM, Goel R. Bacteriophage-based biocontrol of biological sludge bulking in wastewater[J]. *Bioengineered Bugs*, 2011, 2(4): 214-217
- [48] Zhang HP, Zhang ZH, Song JJ, Cai L, Yu YL, Fang H. Foam shares antibiotic resistomes and bacterial pathogens with activated sludge in wastewater treatment plants[J].

- Journal of Hazardous Materials, 2021, 408: 124855
- [49] Song Y, Jiang CY, Wang AJ, Liu SJ. Research progress towards biological foaming of activated sludge in municipal wastewater treatment plants[J]. Microbiology China, 2019, 46(8): 1954-1970 (in Chinese)
宋阳, 姜成英, 王爱杰, 刘双江. 城市污水处理厂活性污泥生物泡沫研究进展[J]. 微生物学通报, 2019, 46(8): 1954-1970
- [50] Deepnarain N, Nasr M, Kumari S, Stenström TA, Reddy P, Pillay K, Bux F. Artificial intelligence and multivariate statistics for comprehensive assessment of filamentous bacteria in wastewater treatment plants experiencing sludge bulking[J]. Environmental Technology & Innovation, 2020, 19: 100853
- [51] Dyson ZA, Tucci J, Seviour RJ, Petrovski S. Isolation and characterization of bacteriophage SPI1, which infects the activated-sludge-foaming bacterium *Skermania piniformis*[J]. Archives of Virology, 2016, 161(1): 149-158
- [52] Khairnar K, Chandekar R, Nair A, Pal P, Paunikar WN. Novel application of bacteriophage for controlling foaming in wastewater treatment plant- an eco-friendly approach[J]. Bioengineered, 2016, 7(1): 46-49
- [53] Petrovski S, Seviour RJ, Tillett D. Prevention of *Gordonia* and *Nocardia* stabilized foam formation by using bacteriophage GTE7[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77(21): 7864-7867
- [54] Liu M, Gill JJ, Young R, Summer EJ. Bacteriophages of wastewater foaming-associated filamentous *Gordonia* reduce host levels in raw activated sludge[J]. Scientific Reports, 2015, 5: 13754
- [55] Asif MB, Ren BY, Li CY, Maqbool T, Zhang XH, Zhang ZH. Evaluating the impacts of a high concentration of powdered activated carbon in a ceramic membrane bioreactor: mixed liquor properties, hydraulic performance and fouling mechanism[J]. Journal of Membrane Science, 2020, 616: 118561
- [56] Motlagh AM, Bhattacharjee AS, Goel R. Biofilm control with natural and genetically-modified phages[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2016, 32(4): 67
- [57] Bhattacharjee AS, Choi J, Motlagh AM, Mukherji ST, Goel R. Bacteriophage therapy for membrane biofouling in membrane bioreactors and antibiotic-resistant bacterial biofilms[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2015, 112(8): 1644-1654
- [58] Goldman G, Starosvetsky J, Armon R. Inhibition of biofilm formation on UF membrane by use of specific bacteriophages[J]. Journal of Membrane Science, 2009, 342(1/2): 145-152
- [59] De Leeuw M, Brenner A, Kushmaro A. Modelling phage—bacteria interaction in micro-bioreactors[J]. CLEAN—Soil, Air, Water, 2017, 45(8): 1600702
- [60] Wei YS, Lin JQ, Xu YF, Liu JB. State of the art of *in situ* sludge reduction technology based on microbial metabolic process[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2020, 14(9): 2291-2309 (in Chinese)
魏源送, 林佳琪, 徐宇峰, 刘吉宝. 基于微生物新陈代谢过程的污泥原位减量技术进展[J]. 环境工程学报, 2020, 14(9): 2291-2309
- [61] Han YP, Zhang WZ, Yu X, Yu PF, Xiao BY, Yi H. Effects of tetrakis (hydroxymethyl) phosphonium sulfate pretreatment on characteristics of sewage sludge[J]. Journal of Environmental Sciences, 2019, 78: 174-182
- [62] Jończyk E, Klak M, Międzybrodzki R, Górski A. The influence of external factors on bacteriophages: review[J]. Folia Microbiologica, 2011, 56(3): 191-200
- [63] Puck TT, Garen A, Cline J. The mechanism of virus attachment to host cells. I. the role of ions in the primary reaction[J]. The Journal of Experimental Medicine, 1951, 93(1): 65-88
- [64] Zhang ZJ. Drainage Engineering (Volume 2). Fifth edition. Beijing: China Architecture & Building Press, 2015: 99-111 (in Chinese)
张自杰. 排水工程(下册). 第五版. 北京: 中国建筑工业出版社, 2015: 99-111
- [65] Langlet J, Gaboriaud F, Gantzer C. Effects of pH on plaque forming unit counts and aggregation of MS2 bacteriophage[J]. Journal of Applied Microbiology, 2007, 103(5): 1632-1638
- [66] Zeng XP. Contributions of bacteriophage on the transfer of antibiotic resistance gene in wastewater treatment system and receiving river[D]. Xinxiang: Master's Thesis of Henan Normal University, 2018 (in Chinese)
曾祥朋. 污水处理系统及接纳河水中噬菌体在耐药基因水平转移中的作用[D]. 新乡: 河南师范大学硕士学位论文, 2018
- [67] Jiang LM, Zheng R. Isolation and characterization of a lytic *Salmonella paratyphi* phage and its antibiofilm activity individually or collaborative with kanamycin sulfate[J]. Viral Immunology, 2020, 33(7): 521-529
- [68] Matsui Y, Matsushita T, Sakuma S, Gojo T, Mamiya T, Suzuoki H, Inoue T. Virus inactivation in aluminum and polyaluminum coagulation[J]. Environmental Science & Technology, 2003, 37(22): 5175-5180
- [69] Jassim SAA, Limoges RG, El-Cheikh H. Bacteriophage biocontrol in wastewater treatment[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2016, 32(4): 70
- [70] Lusiak-Szelachowska M, Weber-Dąbrowska B, Górski A. Bacteriophages and Lysins in biofilm control[J]. Virologica Sinica, 2020, 35(2): 125-133
- [71] Abedon ST, García P, Mullany P, Aminov R. Editorial: phage therapy: past, present and future[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 981
- [72] Nikolich MP, Filippov AA. Bacteriophage therapy: developments and directions[J]. Antibiotics, 2020, 9(3): 135