

• 综述 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2025.03.026

噬菌体抗感染应用及研究进展*

李欣玥, 黄美佳 综述, 张鸿娟[△] 审校

昆明医科大学第一附属医院医学检验科/云南省医学检验临床医学研究中心, 云南昆明 650032

摘要: 抗菌药物的广泛使用导致全球耐药性问题日益严重, 亟需开发新的抗菌药物或探索其他替代疗法。噬菌体作为专门攻击细菌的病毒, 因其高度宿主特异性和不破坏正常菌群的显著优势, 在“后抗菌药物时代”引起了广泛关注。该研究通过回顾国内外文献, 系统总结了噬菌体的基本特性和防御机制, 探讨了噬菌体疗法在细菌感染治疗中的应用与前景, 旨在为临床应用噬菌体抗感染治疗提供理论依据。

关键词: 噬菌体; 噬菌体疗法; 联合疗法; 细菌感染

中图法分类号: R378; R453.9

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2025)03-0420-04

Application and research progress of phage anti-infection*

LI Xinyue, HUANG Meijia, ZHANG Hongjuan[△]

Department of Clinical Laboratory Medicine, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University/Yunnan Medical Laboratory Clinical Medicine Research Center, Kunming, Yunnan 650032, China

Abstract: The widespread use of antimicrobials has led to a growing global problem of drug resistance, and there is an urgent need to develop new antimicrobials or explore other alternative treatments. Bacteriophages, as viruses that specifically attack bacteria, have attracted wide attention in the "post-antimicrobial era" due to their high host specificity and significant advantages of not destroying normal flora. By reviewing the domestic and foreign literature, this article systematically summarizes the basic characteristics and defense mechanisms of phage, and discusses the application and prospect of phage therapy in the treatment of bacterial infections, aiming to provide a theoretical basis for the clinical application of phage anti-infection therapy.

Key words: bacteriophage; phage therapy; combination therapy; bacterial infection

抗菌药物的滥用与不合理使用导致多重耐药菌(MDROs)数量急剧增加, 对患者生命安全及全球公共卫生构成了严重威胁。据世界卫生组织(WHO)2020年发布的报告, 抗菌药物耐药性(AMR)已被列为全球十大公共卫生威胁之一^[1]。若不采取有效措施, 预计到2050年, 耐药性细菌感染将导致约1000万人死亡^[2]。尽管开发新型抗菌药物或延长现有抗菌药物的有效使用期限是解决此问题的关键, 但新药研发进程缓慢, 现有抗菌药物的耐药问题仍在不断加剧。因此, 探索新兴的抗菌策略变得尤为迫切。噬菌体, 亦称细菌病毒, 以其高度宿主特异性、精确的感染能力以及对人体细胞或有益微生物无害的特性, 在治疗耐药细菌感染方面展现出巨大潜力。WHO在全球行动计划中已将噬菌体疗法列为应对抗菌药物耐药性的关键策略之一。本文围绕噬菌体的基本特性进行阐述, 并深入探讨噬菌体疗法在抗感染中的应用潜力、临床应用前景以及面临的挑战, 旨在为相关领域的研究者和临床工作者提供参考依据, 推动噬菌体疗法在抗感染治疗领域的研究与广泛应用。

1 噬菌体的概况

噬菌体, 一种专一性侵染细菌并诱导其裂解的病毒。早在1896年, 英国化学家首次观察到噬菌体的溶菌现象^[3]。1915年, 英国病理学家对噬菌体的存在进行了正式报道, 1917年, 其被命名为噬菌体, 意为细菌的吞噬者^[4]。噬菌体广泛分布于自然界, 庞大的数量在地球上的生物实体中占据着举足轻重的地位。根据噬菌体DNA进入宿主细胞的机制, 可将其分为烈性噬菌体和温和性噬菌体2大类。烈性噬菌体会在侵入细菌细胞后迅速进入复制与蛋白质合成过程, 最终导致细菌裂解并释放出大量子代噬菌体。与此相对, 温和性噬菌体则选择将自身DNA与宿主的染色体整合, 形成一种称为溶原状态的共生关系, 并在特定应激条件下激活裂解周期。作为细菌的主要天敌, 噬菌体在自然界中的数量远超细菌, 几乎每一种细菌都面临着至少一种噬菌体的威胁。在长期的共同进化过程中, 噬菌体与细菌之间发展出了复杂的攻防关系。细菌为了抵御噬菌体的侵袭, 演化出了多种防御机制, 包括超感染排斥系统、限制-修饰系统以及

* 基金项目: 云南省科技厅-昆明医科大学应用基础研究联合专项(202301AY070001-291)。

[△] 通信作者, E-mail: z121159143@qq.com。

成簇规则间隔的短回文序列 (CRISPR-Cas) 系统等^[5-6]。深入理解这一进化过程中的相互作用,对于探索噬菌体在抗感染领域的应用具有深远的意义。

2 噬菌体疗法的抗感染应用

2.1 单一噬菌体应用于抗感染治疗和预防 单一噬菌体疗法,即应用单一种类的噬菌体以针对性地消除特定细菌,能够充分利用其特异性优势,同时避免对正常菌群造成干扰,实现对病原体的精确打击。早期研究集中于单一病原体感染,然而,由于噬菌体的宿主特异性较窄,其应用范围受到了一定程度的限制。近年来,研究者们更多地关注了单一噬菌体在特定感染类型中的治疗潜力。YOUNG 等^[7]的研究中,10 例糖尿病足感染患者在抗感染治疗无效后,清洁伤口时,引入噬菌体,最终 6 例患者的感染状况显著好转,成功保留了肢体。RIMON 等^[8]的研究验证了局部噬菌体治疗对减少痤疮丙酸杆菌的细菌负荷和炎症的有效性。PU 等^[9]报道了一种新的噬菌体 BUCT541,可裂解多重耐药肺炎克雷伯菌 (MDR-KP),通过建立小鼠 MDR-KP 肺部感染模型,发现高剂量的 BUCT541(每次 2×10^{-7} PFU)能够实现 BALB/c 小鼠的 100% 治愈率,显示出显著的治疗效果。AB-DELAZIZ 等^[10]的研究表明口服裂解性噬菌体 phPE42 可有效消除胃肠道感染大鼠粪便中的细菌负荷,减少组织损伤。

随着对噬菌体生物学特性的深入了解,单一噬菌体的稳定性、宿主范围、治疗效果得到了进一步提高,筛选和应用变得更加高效和精确。例如,通过基因编辑技术,研究者能够对单一噬菌体进行改造,以提高噬菌体对特定细菌的靶向性。利用 CRISPR-Cas 系统优化噬菌体的尾纤蛋白,显著提高了噬菌体对宿主细菌的识别和黏附能力,从而在治疗革兰阴性菌感染中提升噬菌体的稳定性和疗效^[11]。尽管单一噬菌体疗法展示了其独特的优势,但也面临一些挑战,如宿主谱限制、抗性发展风险、复杂性、成本、稳定性和安全性。随着现代分子生物学的发展,综合运用基因编辑、载体改进和配方优化,可以在一定程度上克服这些限制,单一噬菌体疗法有望推向广泛的临床应用,成为解决抗菌药物耐药性的重要手段。

2.2 噬菌体鸡尾酒 通过混合多种噬菌体来治疗细菌感染的方法,不仅能够针对单一细菌种类使用多种噬菌体,也能够混合针对不同细菌种类的噬菌体。这种策略的目的在于扩展抗菌范围,增强感染控制效果,并降低细菌对单一噬菌体产生耐药性的风险,从而提升治疗效果。目前,噬菌体鸡尾酒已成为噬菌体研究和应用领域的热点,在克服抗菌药物耐药性和治疗复杂感染方面显示出巨大的潜力。WANG 等^[12]采用噬菌体鸡尾酒治疗多重耐药铜绿假单胞菌引起的创伤性皮肤感染,发现鸡尾酒疗效优于头孢曲松,能显著加速皮肤愈合过程。SANCHEZ 等^[13]的研究中,成功从脊髓损伤患者的尿液样本中分离出 6 种独

特的噬菌体,并将它们组合成一种复合制剂。这种噬菌体鸡尾酒展现出了显著的抗菌效果,能够裂解大肠埃希菌库中高达 82% 的菌株。值得注意的是,这些菌株通常与导管相关的尿路感染紧密相关。且噬菌体鸡尾酒与环丙沙星联合使用能够提高治疗效果,降低细菌水平约 50%,并在噬菌体治疗 24 h 后,使原本对环丙沙星耐药的细菌恢复敏感性,为导管相关性尿路感染等病症的治疗提供了新思路。这些研究证实了噬菌体鸡尾酒在多种临床环境中的有效性和在治疗复杂、多重耐药性感染方面的应用前景。

尽管噬菌体鸡尾酒在提高治疗效果和延缓耐药性产生方面优于单一噬菌体疗法,但仍面临一些挑战,包括单一疗法的局限性、安全性评估的挑战、宿主范围的限制、免疫反应问题以及药代/药效动力学数据的不足。为了克服这些问题,研究者们正通过合成生物学、系统生物学方法和高通量筛选技术来优化噬菌体鸡尾酒的组合;利用纳米载体和控释系统技术提高噬菌体在体内的稳定性和生物利用度;结合精准医疗理念,根据患者的病原体特征和微生物群体结构制订个性化治疗方案;结合抗菌药物和噬菌体疗法开展联合治疗,以增强抗菌效果并减少耐药性问题。随着研究的深入、技术的进步、大规模多中心临床试验的开展,以及相关监管政策和标准的建立和完善,噬菌体鸡尾酒疗法有望实现临床转化,为抗击细菌感染提供更为有效的解决方案。

2.3 工程化噬菌体 工程化噬菌体是一种通过基因工程与合成生物学技术改造而得到的病毒,旨在提升天然噬菌体的特定功能或赋予全新特性。这一领域的研究进展跨越了基因工程、微生物学、分子生物学等多个学科,呈现出明显的多学科融合特点。工程化噬菌体通过基因层面的调整,增强了对宿主免疫的抵抗能力,以及在不同条件下的生存能力,这些优化使噬菌体更好地适应体内环境,更有效定位感染部位,并在较长时间内保持稳定和活性。例如,通过整合抗菌肽或抗菌药物抗性基因,工程化噬菌体在持久杀灭耐药细菌方面展现出更强的能力。此外,借助系统生物学与合成生物学的手段,研究者设计了能够广泛靶向不同细菌的噬菌体鸡尾酒,实现了精准医疗理念下的个性化治疗方案。工程化噬菌体还能通过改造基因组来阻断细菌耐药性基因的表达,从而降低耐药性发展的风险。在多种感染模型中,工程化噬菌体展示出显著的治疗效果。例如,利用 CRISPR-Cas 系统改造得到的 4 种武装噬菌体组成的 SNIPR001 混合物,能有效清除超过 90% 的碳青霉烯耐药大肠埃希菌^[14]。GENCAY 等^[14]的研究中,通过 CRISPR-Cas9 技术改造噬菌体,成功构建了一种针对碳青霉烯耐药大肠埃希菌的高效噬菌体鸡尾酒,并在小鼠模型中取得了显著的治疗效果。LEMON 等^[15]的研究则展示了将抗菌肽基因嵌入噬菌体基因组,以增强噬菌体的疗效和持久性。

工程化噬菌体作为合成生物学领域的一项创新成果,正逐步引领传统实验研究模式的革新,并为噬菌体治疗策略的演进注入了新的活力与方向。尽管在发展过程中遭遇诸如安全性考量、临床应用转化等挑战,但通过跨学科的紧密合作与技术的持续创新,工程化噬菌体有潜力在未来对人类健康事业作出更加显著的贡献。

2.4 噬菌体与其他抗菌剂的联用疗法

2.4.1 噬菌体与抗菌药物联合疗法

噬菌体与抗菌药物联合疗法作为现代抗感染治疗领域的新兴策略,通过显著的协同效应,抑制耐药基因的传播、优化免疫系统的响应以及分子机制的互补性,共同发挥了抗感染的效用。SOONTARACH 等^[16]将耐多药鲍曼不动杆菌的特定噬菌体 T1245 与多种抗菌药物(如头孢他啶、多黏菌素、亚胺培南、美罗培南)联合应用,发现即便是低浓度的抗菌药物与噬菌体 T1245 的联合使用也能显著抑制高达 80% 的细菌活性,并有效破坏细菌生物膜结构。此外,ASHWORTH 等^[17]通过将泛耐药铜绿假单胞菌先暴露于噬菌体鸡尾酒中,恢复了病原体对抗菌药物的敏感性,成功根除了体内的耐药菌感染。噬菌体与抗菌药物的联用疗法在抗感染治疗中展现出了显著的潜力,尤其是在应对多重耐药菌株方面。然而,联合疗法在实施过程中也存在诸多挑战与不足,包括协同效应的复杂性、宿主免疫反应的评估、耐药性发展的监控、以及患者接受度、成本及普及性等伦理和法律监管问题。因此,在抗菌药物与噬菌体联用时,应谨慎评估噬菌体与细菌的相互作用和可能结果,选择合适的抗菌药物种类、剂量,避免联合治疗的拮抗作用和失败。

2.4.2 噬菌体与抗菌肽联合疗法

抗菌肽,一类由短链氨基酸组成的小分子蛋白,因其广谱抗菌活性而备受关注。这些肽类物质通过破坏细菌细胞膜的完整性来发挥抗菌作用,是宿主防御体系中的重要组成部分,在多种生物体中均有发现。噬菌体作为专一性的细菌捕食者,与抗菌肽的联合使用理论上能够产生协同增效作用。TYAGI 等^[18]将噬菌体内溶素与不同的抗菌肽联用进行抗菌、抗生物膜研究,评估噬菌体与抗菌肽的协同作用。ZHANG 等^[19]的研究亦表明,噬菌体裂解酶 Ply2660 与抗菌肽 LL-37 的联合使用在抑制粪肠球菌生物膜形成和增强杀菌活性方面,效果优于单一使用任何一种抗菌剂。尽管噬菌体与抗菌肽的联合疗法在抗感染治疗中展现出巨大潜力,但在实际应用中仍面临诸多挑战和限制,包括噬菌体的稳定性、存储和传递难题,以及如何精确控制噬菌体和抗菌肽的剂量与给药时间,以实现最佳治疗效果。同时,噬菌体和抗菌肽的安全性和免疫原性问题亦需进一步深入研究。

2.4.3 噬菌体与其他物质联合疗法

为充分发挥噬菌体的抗感染作用,研究团队致力于探索噬菌体与其他物质联合使用的抗菌潜力,以期为临床治疗提供更

多样化的方案,例如噬菌体与 EDTA^[20]、精油化合物^[21]、益生菌^[22]以及印楝提取物^[23]的联合应用。这些研究旨在评估不同物质与噬菌体结合时的协同效应,增强抗菌效果,为临床医生在面对复杂和棘手的细菌感染时,提供更为丰富和有效的治疗选择。

3 总 结

抗微生物药物耐药性问题正日益成为全球公共卫生领域的一个严峻挑战,噬菌体疗法作为一种新兴的抗感染策略,为抗击耐药性带来了新的希望。然而,要将噬菌体疗法成功转化为临床实践,首先需要建立专家共识和制订相应的监管法规,这是推动噬菌体疗法发展的关键所在。必须确立标准化的操作流程、临床使用规程和评估指标,以确保噬菌体的质量和安全性,同时保证临床疗效。具体而言,需要明确噬菌体的分离、鉴定、制备和储存等各个环节的操作流程,以提升生产效率。此外,制订针对不同疾病的噬菌体使用剂量、给药途径等临床应用规程至关重要^[24],这些规程的制订应基于广泛的临床试验数据和实践经验,确保噬菌体在临床应用中的高效性。同时,加强噬菌体在人体内的安全性和药代动力学研究也是必不可少的,这包括研究噬菌体在体内的分布、代谢和排泄等方面,为临床应用提供坚实的科学依据。深入探究噬菌体与细菌的相互作用,有助于设计出更具针对性的噬菌体制剂,从而提高噬菌体疗法对细菌感染的治疗效果。在与其他抗菌剂联合治疗时,关键在于合理设计药物和噬菌体的组合方案,应特别关注药物和噬菌体的剂量、滴度等比例关系,以实现最佳治疗效果,充分发挥各自优势。

噬菌体疗法的成功转化,需要多学科的紧密合作,包括微生物学、临床医学、药学等领域的专家共同努力。建立长期的疗效监测机制,跟踪噬菌体疗法患者的治疗效果和预后情况,对于评估噬菌体疗法的可行性至关重要。中国噬菌体研究联盟等组织和专家所制订的共识,对于推动噬菌体治疗在临床应用及转化方面的发展具有重要的意义^[25],为抗感染治疗领域带来了新的可能性和希望,为噬菌体疗法的临床应用奠定了坚实的基础。

参考文献

- [1] World Health Organization. Antibiotic resistance [EB/OL] (2021-11-17) [2024-07-01]. <https://www.who.int/zh/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>.
- [2] AMMI Canada and the Canadian Medical Association. Antimicrobial resistance (AMR) [J]. *Br J Biomed Sci*, 2019, 4 (4):200-203.
- [3] ABEDON S T, THOMAS-ABEDON C, THOMAS A, et al. Bacteriophage prehistory: is or is not Hankin, 1896, a phage reference [J]. *Bacteriophage*, 2011, 1(3):174-178.
- [4] SALMOND G P C, FINERAN P C. A century of the phage: past, present and future [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2015, 13(12):777-786.

- [5] WANG Y E, FAN H H, TONG Y G. Unveil the secret of the bacteria and phage arms race[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(5):4363.
- [6] PLEŠKA M, GUET C C. Effects of mutations in phage restriction sites during escape from restriction-modification[J]. *Biol Lett*, 2017, 13(12):20170646.
- [7] YOUNG M J, HALL L M L, MERABISHVILLI M, et al. Phage therapy for diabetic foot infection: a case series [J]. *Clin Ther*, 2023, 45(8):797-801.
- [8] RIMON A, RAKOV C, LERER V, et al. Topical phage therapy in a mouse model of *Cutibacterium acnes*-induced acne-like lesions[J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1):1005.
- [9] PU M, LI Y, HAN P, et al. Genomic characterization of a new phage BUCT541 against *Klebsiella pneumoniae* K1-ST23 and efficacy assessment in mouse and *Galleria mellonella* larvae[J]. *Front Microbiol*, 2022, 13:950737.
- [10] ABDELAZIZ A A, ABO KAMER A M, NOSAIR A M, et al. Exploring the potential efficacy of phage therapy for biocontrol of foodborne pathogenic extensively drug-resistant *Escherichia coli* in gastrointestinal tract of rat model[J]. *Life Sci*, 2023, 315:121362.
- [11] YEHL K, LEMIRE S, YANG A C, et al. Engineering phage host-range and suppressing bacterial resistance through phage tail fiber mutagenesis[J]. *Cell*, 2019, 179(2):459-469. e9.
- [12] WANG J Y, MENG W X, ZHANG K C, et al. Topically applied bacteriophage to control multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*-infected wounds in a new zealand rabbit model[J]. *Front Microbiol*, 2022, 13:1031101.
- [13] SANCHEZ B C, HECKMANN E R, GREEN S I, et al. Development of phage cocktails to treat *E. coli* catheter-associated urinary tract infection and associated biofilms [J]. *Front Microbiol*, 2022, 13:796132.
- [14] GENCAY Y E, JASINSKYTÉ D, ROBERT C, et al. Engineered phage with antibacterial CRISPR-Cas selectively reduce *E. coli* burden in mice[J]. *Nat Biotechnol*, 2024, 42(2):265-274.
- [15] LEMON D J, KAY M K, TITUS J K, et al. Construction of a genetically modified T7Select phage system to Express the antimicrobial peptide 1018 [J]. *J Microbiol*, 2019, 57(6):532-538.
- [16] SOONTARACH R, NWABOR O F, VORAVUTHIKUNCHAI S P. Interaction of lytic phage T1245 with antibiotics for enhancement of antibacterial and anti-biofilm efficacy against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* [J]. *Biofouling*, 2022, 38(10):994-1005.
- [17] ASHWORTH E A, WRIGHT R C T, SHEARS R K, et al. Exploiting lung adaptation and phage steering to clear pan-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infections in vivo [J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1):1547.
- [18] TYAGI J L, GUPTA P, GHATE M M, et al. Assessing the synergistic potential of bacteriophage endolysins and antimicrobial peptides for eradicating bacterial biofilms [J]. *Arch Microbiol*, 2024, 206(6):272.
- [19] ZHANG H H, ZHANG X Y, LIANG S Y, et al. Bactericidal synergism between phage endolysin Ply2660 and cathelicidin LL-37 against vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* biofilms [J]. *NPJ Biofilms Microbiomes*, 2023, 9(1):16.
- [20] HUANG H H, FURUTA M, NASU T, et al. Inhibition of phage-resistant bacterial pathogen re-growth with the combined use of bacteriophages and EDTA [J]. *Food Microbiol*, 2021, 100:103853.
- [21] GHOSH A, RICKE S C, ALMEIDA G, et al. Combined application of essential oil compounds and bacteriophage to inhibit growth of *Staphylococcus aureus* in vitro [J]. *Curr Microbiol*, 2016, 72(4):426-435.
- [22] PORTER S B, JOHNSTON B D, KISIELA D, et al. Bacteriophage cocktail and microcin-producing probiotic *Escherichia coli* protect mice against gut colonization with multidrug-resistant *Escherichia coli* sequence type 131 [J]. *Front Microbiol*, 2022, 13:887799.
- [23] SAGAR S S, RANI S, PUSHPA SADANANDAN S. Combined effect of isolated bacteriophage and neem extract on isolated multiple drug-resistant pathogenic *Escherichia coli* E1 from well water [J]. *Environ Health Insights*, 2023, 17:11786302231166818.
- [24] CUI Z L, GUO X K, FENG T T, et al. Exploring the whole standard operating procedure for phage therapy in clinical practice [J]. *J Transl Med*, 2019, 17(1):373.
- [25] 中国噬菌体研究联盟, 中国微生物学会医学微生物学与免疫学专业委员会, 中国生物工程学会噬菌体技术专业委员会, 等. 预防及治疗用噬菌体质量标准专家共识 [J]. *中国生物工程杂志*, 2024, 44(1):152-158.

(收稿日期:2024-08-01 修回日期:2024-12-15)

(上接第 419 页)

- [21] YANG B, SHI Z W, MA Y, et al. LAMP assay coupled with CRISPR/Cas12a system for portable detection of African swine fever virus [J]. *Transbound Emerg Dis*, 2022, 69(4):e216-e223.
- [22] SONG J, CHA B, MOON J, et al. Smartphone-based SARS-CoV-2 and variants detection system using colorimetric DNAzyme reaction triggered by loop-mediated isothermal amplification (LAMP) with clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR) [J]. *ACS Nano*, 2022, 16(7):11300-11314.
- [23] 周丽娟, 吴艳凌, 周林, 等. 检测肺炎支原体新方法的建立及应用 [J]. *实用临床医药杂志*, 2022, 26(19):100-104.
- [24] 游旸, 杜宗敏. 基于 CRISPR-Cas 系统的核酸检测方法研究进展 [J]. *军事医学*, 2021, 45(12):955-960.
- [25] GOTOH K, NISHIMURA N, OHSHIMA Y, et al. Detection of *Mycoplasma pneumoniae* by loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay and serology in pediatric community-acquired pneumonia [J]. *J Infect Chemother*, 2012, 18(5):662-667.

(收稿日期:2024-06-02 修回日期:2024-11-08)