

DOI: 10.13376/j.cbls/2016106

文章编号: 1004-0374(2016)07-0817-07

· 技术与应用 ·

细菌性疾病的新疗法——噬菌体疗法

郭婷婷, 李玲*, 孙元章, 陈玉春, 谷巍

(山东宝来利来生物工程股份有限公司生物研究院, 泰安 271000)

摘要: 在败血症等一些严重细菌性疾病的防治上, 传统的抗生素法出现了越来越严重的细菌耐药性、残留等问题, 因此, 噬菌体疗法等一些非抗疗法日渐受到人们的广泛关注。现对噬菌体分类和生物学特征, 以及国内外利用噬菌体防治动物和人类细菌感染疾病的临床试验结果进行阐述和评价, 并分析噬菌体疗法的优缺点。噬菌体疗法表现出许多抗生素法无法比拟的优势, 是一种非常有发展前景的替代抗生素治疗的新方法。

关键词: 细菌感染; 多重耐药菌; 抗生素法; 噬菌体治疗

中图分类号: Q819 **文献标志码:** A

The new therapy of bacteria infection: bacteriophage therapy

GUO Ting-Ting, LI Ling*, SUN Yuan-Zhang, CHEN Yu-Chun, GU Wei

(Biological Research Institute, Shandong Baolai-Leelai Bio-engineering Co., Ltd, Tai'an 271000, China)

Abstract: In the prevention of sepsis and some other severe bacterial diseases, the traditional antibiotic therapy appeared more and more serious bacterial resistance, antibiotic residues and other problems, therefore phage therapy and some other non-anti therapies have received widespread attention. Here we elucidate and evaluate the classification and biological characteristics of phages, the clinical results of the application of phage in the treatment of animal and human bacterial infections, and also analyze the advantages and disadvantages of phage therapy. Phage therapy has shown many incomparable advantages, which is a promising alternative to antibiotics for bacterial pathogens.

Key words: bacterial infection; multiple resistant bacteria; antibiotics; bacteriophage therapy

2011年, Sulakvelidze^[1]在 *Bacteriophage* 杂志上描述噬菌体为“地球上最普遍的生物, 对维持地球上的微生物平衡发挥了至关重要的作用”。据统计, 地球上约存在 10^{32} 个噬菌体, 其中每毫升水体约 $10^4 \sim 10^8$ 个, 每克土壤中约有 10^9 个噬菌体^[2]。Chanishvili^[3]称, 一个世纪前, Willian Twort 和 Félix d'Herelle 先后发现噬菌体能够攻击细菌, 且不伤害哺乳动物和植物细胞。大约 20 世纪 30 年代, 东欧和前苏联便开始利用噬菌体治疗多种细菌性疾病, 如皮肤科、眼科、泌尿外科、口腔科、儿科、耳鼻喉科、外科等急性和慢性感染。1925 年, Sinclair Lewis 在《阿罗史密斯》一书中还提到利用噬菌体治疗加勒比岛上的鼠疫。

然而, 由于早期的噬菌体治疗方法简易导致疗

效不一^[2,4], 该疗法开始引起争议, 且随着 20 世纪 40 年代磺胺类药物和 50 年代盘尼西林的出现, 人们基本丧失了研究噬菌体的兴趣, 但在前苏联、波兰, 噬菌体疗法仍是科研领域一个活跃的存在。直到 20 世纪 90 年代, 抗生素滥用导致耐药细菌及超级细菌出现, 使得科学家重新审视噬菌体疗法作为抗细菌感染“新疗法”所具有的巨大潜力。

本文主要介绍了噬菌体的分类及其生物学、噬菌体疗法的优缺点, 并简要概括了噬菌体治疗动物和人类细菌感染疾病的临床试验结果, 如败血症、多重耐药细菌感染疾病等。对于治疗危重细菌感染

收稿日期: 2015-09-15; 修回日期: 2015-12-10

*通信作者: E-mail: liling3210@163.com

患者,噬菌体疗法能否充分发挥其潜能仍有待观察,但其替代抗生素治疗多重耐药细菌疾病,如人类败血症^[5]等,已开始受到人们的关注。

1 噬菌体分类及其生物学特征

目前已发现 6 000 多种噬菌体,包括 6 196 种细菌噬菌体和 88 种古细菌噬菌体^[6]。其形态各异,有球状、丝状、链状、多面体等;其核酸类型主要有线状 dsDNA、环状 dsDNA、环状 ssDNA、线状 ssRNA 和线状 dsRNA,其中以线状 dsDNA 居多。2005 年,国际病毒分类委员会 (ICTV) 根据噬菌体核酸类型、形态结构、基本特征及宿主类型等进行了系统的分类与命名^[7]。

噬菌体专性寄居在易感宿主菌体内,按照其在宿主菌体内所呈现的生命状态不同,基本可分为 4 种:裂解性、溶原性、伪溶原性和慢性感染。一般选择裂解性噬菌体用于噬菌体治疗,其中尾病毒目的 3 个科——肌尾病毒科、长尾病毒科和短尾病毒科包含了大部分的裂解性噬菌体。最近也有关于立体和丝状噬菌体应用于噬菌体治疗的报道^[8]。

无论是哪种噬菌体,吸附是噬菌体开始其生命周期的第一步,这取决于噬菌体尾部蛋白和细菌表面受体结合位点的分子结构互补性,如 λ 噬菌体只能特异性结合大肠杆菌 LamB 受体^[9]。在与细菌表面受体结合前,一些噬菌体能够合成特异性的酶(水解酶、多糖酶和多糖裂解酶)降解胞外多糖结构,这些酶在临床治疗上具有潜在的应用价值^[8]。

噬菌体吸附到细菌表面,产生的酶裂解局部细胞壁,并将自身遗传物质注入到宿主细胞中,开始进行噬菌体早期基因表达,裂解性噬菌体会重新定向细菌合成机制合成噬菌体的核酸和蛋白质,最后完成子代噬菌体的组装,裂解细菌细胞,释放子代噬菌体。子代噬菌体的裂解量受噬菌体种类、宿主菌状态及其他环境因素,如宿主菌周围的营养成分等影响^[10]。侵染的成熟阶段,噬菌体会产生一些酶,如内溶素、穴蛋白和壁质合成抑制剂等,这些酶蛋白能够破坏宿主细胞壁,促使细胞裂解。这些酶由于特异性强、裂解谱广、不产生耐药性等优点,可作为一种新型杀菌剂治疗败血症及其他严重的细菌性疾病^[11]。

溶原性噬菌体(也叫温和噬菌体)感染细菌后,会将自身遗传物质整合到宿主菌的染色体上,并随着宿主菌的繁殖而传给下一代,实现基因的垂直传播,在适当条件下,溶原性噬菌体会被诱导变成烈

解性噬菌体^[12]。由溶原性噬菌体将一个细胞的基因传递到另一个细胞的过程叫做转导。实际上,多年前,人们已认识到噬菌体对细菌基因组进化发挥的重要作用,Goeter 等^[12]甚至将噬菌体比喻为基因水平转移的代理商,转导过程与宿主菌的耐药性、毒力因子等转移、传播有直接关系。同样,研究发现,应用噬菌体转导这一特性,结合基因工程改造噬菌体,能够赋予噬菌体直接或间接的杀菌能力。Lu 和 Collins^[13]将特定基因插入到 M13 噬菌体,并在宿主菌内大量表达 LexA3 细菌蛋白,该蛋白能够损害细菌自动修复受损 DNA 的能力。实验结果显示,该重组噬菌体对大肠杆菌具有很强的杀菌能力,且在腹腔感染大肠杆菌的小鼠治疗试验中,将 M13 噬菌体与抗生素联合使用,能显著提高小鼠存活率。而 Edgar 等^[14]则利用基因改造的噬菌体侵染细菌,赋予细菌对特定的抗生素敏感的显性基因,使得抗性菌株表现出对链霉素和萘啶酸敏感的特性。

2 噬菌体疗法在动物上的研究

自 20 世纪 80 年以来,科学家们纷纷将噬菌体疗法应用于鼠、牛、猪和羊等多种动物细菌性疾病的治疗,并取得了不错的成果。表 1 总结了部分相关研究。

表 1 列举了不同感染模型,如活菌腹腔内注射导致全身感染、中枢神经系统感染、肺部感染、肝脓肿、肠炎、尿路感染、骨感染、皮肤感染和伤口感染等。致病菌包括大肠杆菌、多重耐药性细菌(铜绿假单胞菌、产光谱内酰胺酶的大肠杆菌、肺炎克雷伯菌、耐万古霉素屎肠球菌)、金黄色葡萄球菌等。还列举了不同的给药方法,包括腹腔注射、口服、局部注射、皮下注射、肌肉注射和鼻内给药。

这些研究结果显示,噬菌体疗法对降低动物死亡率具有积极作用,其中 3 项研究结果显示噬菌体疗法效果明显好于抗生素法^[15,34,36]。在一项小鼠骨感染治疗的试验中,噬菌体联合抗生素疗法在减少病原菌的效果上明显优于单独一种疗法^[38]。

3 噬菌体疗法在人类疾病的研究

噬菌体疗法首次应用于人类疾病治疗是在 1921 年, Bruynoghe 和 Maisin^[35]利用噬菌体治疗皮肤葡萄球菌感染。20 世纪 30 年代,噬菌体疗法曾被广泛用于治疗人类细菌性疾病,如伤寒、痢疾、结肠炎、脑膜炎、败血症、阴道感染以及皮肤和黏膜的化脓性感染等^[36]。

到 20 世纪 40 年代,噬菌体疗法虽在西方国家

表1 噬菌体疗法的试验研究概括

感染模型	实验动物	噬菌体疗法	效果	参考文献
感染耐抗生素的大肠杆菌	小鼠	肌肉注射	大肠杆菌下降, 攻毒试验和治疗试验效果同样好	[15]
大肠埃希氏菌引起的腹泻	仔猪、羊、牛	口服	显著减少大肠杆菌数量, 起到较好的疾病预防和改善的作用	[16]
大肠埃希氏菌引起的败血症、脑膜炎	鸡、牛	肌肉注射	显著延长动物寿命	[17]
烧伤创面感染肺炎克雷白杆菌	小鼠	局部给药	小鼠成活率达73.33%	[18]
骨感染	大白鼠	肌肉注射	噬菌体联合抗生素使用明显降低耐甲氧西林金黄色葡萄球菌形成的生物膜	[19]
耐甲氧西林金黄色葡萄球菌引发败血症	小鼠	腹腔注射	保护力100%, 疗效完全优于万古霉素和达托霉素	[20]
耐甲氧西林金黄色葡萄球菌导致眼内炎	小鼠	玻璃体内注射	显著提高眼内炎的疗效, 维持视网膜完整性	[21]
金黄色葡萄球菌引起的局部和全身感染	小鼠	皮下、静脉注射	噬菌体鸡尾酒制剂有效预防和治疗局部感染, 疗效与万古霉素、克林霉素一致	[22]
金黄色葡萄球菌引起鼻窦炎	羊	口服	无明显炎症反应, 生物膜水平明显减少	[23]
弧菌引起仔鱼死亡	鱼	喂养	极大降低感染仔鱼的死亡率	[24]
鼠伤寒沙门氏菌引起感染	鸡	腹腔内注射	内脏器官鼠伤寒沙门氏菌明显减少	[25]
产光谱 β -内酰胺酶的鲍氏不动杆菌引起的感染	小鼠	口服	降低感染率, 伤口收缩快	[26]
感染沙门氏菌	鸡	口服给药	噬菌体包被显著提高噬菌体在鸡肠道保留时间, 提高噬菌体疗效	[27]
感染沙门氏菌	鸡	口服给药	鸡盲肠内容物沙门氏菌数量直线下降, 且对蛋鸡的产蛋性能和鸡蛋品质无不良影响	[28]
感染弯曲杆菌	鸡	口服给药	两种噬菌体联合治疗比单独使用一种噬菌体治疗效果好	[29]
感染肺炎链球菌	小鼠	皮下注射	有效减少生物膜的形成	[30]
高致病性大肠杆菌导致肺炎	小鼠	腹腔注射	保护效果显著, 存活率高达100%	[31]
多重耐药克伯雷白杆菌导致肺炎	小鼠	鼻腔给药	安全性好, 肺损伤明显改善, 对小鼠无毒性	[32]
烧伤感染铜绿假单胞菌	小鼠	皮下注射	噬菌体疗法能有效提高小鼠成活率, 且对多重耐药细菌引起的伤口感染有效	[33]
产光谱 β -内酰胺酶大肠杆菌引起脑膜炎	兔	腹腔内注射 皮下注射	治愈率高达100%	[34]

受到冷落, 但前苏联和东欧国家等仍致力于噬菌体临床研究中, 主要集中于治疗细菌引起的伤口感染的临床研究, 这些早期的噬菌体研究为人们提供了许多宝贵的参考资料。近年来, 又有大量的相关临床应用研究, 如英国科学家应用噬菌体治疗由绿脓杆菌引起的慢性耳部感染^[37], 以及比利时的医务工作者利用噬菌体治疗由绿脓杆菌和金黄色葡萄球菌引起的烧伤后感染, 均取得了比较理想的效果^[38],

但是大部分存在非随机且不可控影响因素多的问题。

另外, 大量的临床试验也证明了噬菌体疗法的安全性。Sulakvelidze 和 Kutter^[39] 利用葡萄球菌噬菌体混合液、肠杆菌噬菌体 T4 治疗人体疾病, 安全性高。此外, 波兰多家研究机构致力于噬菌体治疗耐药菌感染的研究, 截至目前, 并无任何副作用出现的相关报道^[40-41]。

2009年, Wright 等^[42] 发表了一篇利用噬菌体

治疗下肢静脉溃疡的 I 期临床试验, 但该研究并未有力地证明噬菌体疗法显著提高愈合率。另一随机试验是利用含有 10 种噬菌体的混合液治疗由铜绿假单胞菌引起的慢性中耳炎, 结果显示与对照组相比, 患者体内铜绿假单胞菌的数量明显下降, 各种临床指标 (如不适、瘙痒、湿、难闻的气味等) 都有显著改善, 且无不良反应^[43]。

Abedon 等^[36]于 2011 年利用噬菌体进行烧伤感染治疗的 I 期临床试验, 用 3 种裂性噬菌体制成的 BFC-1 混合液通过喷雾处理患者灼伤部位, 目前尚未出现任何安全问题。

目前, 噬菌体应用于治疗人体细菌性疾病感染, 如痤疮^[44]、金黄色葡萄球菌引起的感染^[45]等具有良好效果。

4 噬菌体疗法的优势

噬菌体是一种诱导细菌裂解、维持菌群平衡的自然抗菌剂, 同时, 由于作用机制完全不同于抗生素, 其对 G^+ 、 G^- 及耐药性细菌均有作用^[2]。

抗生素的广谱抗菌作用会导致整个肠道菌群的失调, 而噬菌体具有很强的专一性, 抗菌谱狭窄。研究显示, 噬菌体疗法不会破坏机体正常菌群, 而仅对相应的病原菌有效^[46-47]。

由于缺乏大规模、随机性、可控的试验, 因此, 很难评估噬菌体疗法的副作用和潜在影响, 但目前的研究结果表明, 噬菌体疗法并没有明显副作用。Sarker 等^[48]证明了服用大肠杆菌噬菌体 T4 制剂的正常受试者和存在免疫缺陷的患者均没有出现过敏等不良症状。

噬菌体分布广泛, 而且能够穿透血脑屏障, 可用于中枢神经系统感染的治疗^[34]。另外, 目前已有关于利用噬菌体裂解细菌 (包括耐甲氧西林金黄色葡萄球菌) 生物膜的报道^[49]。

噬菌体疗法能够显著调节免疫反应^[50]。Singla 等^[51]利用噬菌体疗法预防和治疗克雷伯氏菌引起的肺炎的试验中, 测得小鼠模型在噬菌体治疗后, 血清中启动炎症反应通路的信号分子低于初始水平, 而抗炎细胞因子水平显著提高。Weber-Dabrowska 等^[52]研究发现, 噬菌体治疗骨髓炎、人工关节感染、皮肤和软组织感染及肺部感染时, C-反应蛋白和白细胞数最初并不受影响, 口服噬菌体制剂后第 9 天至第 32 天数量急剧下降, 但这仅是无对照组的观察试验, 有待于进一步严谨完善的研究验证。2012 年, Miedzybrodzki 等^[53]研究发现, 只有当患者血清中 C-

反应蛋白水平超过 10 mg/dL, 采用噬菌体治疗后, C-反应蛋白才会受影响。

从经济角度上, 噬菌体治疗的成本远低于抗生素法。Międzybrozki 等^[53]利用噬菌体成功治疗 6 例葡萄球菌感染 (包括 MRSA) 的患者就充分说明了这一点。

在防治细菌性疾病上, 噬菌体可单独使用, 也可以为达到扩大其抗菌谱的效果, 联合抗生素一起使用。早在 20 世纪 80 年代初, Smith 及其同事发现治疗感染大肠杆菌的小鼠时, 单独注射噬菌体制剂与注射复合链霉素效果相同, 并且两者同样优于注射四环素、氨苄西林、氯霉素、三甲氧苄啶^[15]。而 Sakandelidze^[1]的研究却发现, 治疗人类细菌性疾病, 如过敏性鼻炎、皮炎或结膜炎等, 联合使用抗生素和噬菌体制剂治疗较单独使用抗生素或噬菌体制剂治疗, 效果有所下降。

综上所述, 噬菌体疗法的应用优势有以下几点:

(1) 对多种细菌 (包括耐药性细菌) 有效; (2) 专一性强, 有利于维持微生态平衡; (3) 无副作用; (4) 分布广泛; (5) 降低免疫反应; (6) 成本低; (7) 提高疗效。

5 噬菌体疗法的局限性

综上所述, 噬菌体疗法应用于临床治疗的前景是非常广阔的。但是, 仍需要解决一些细节问题, 例如最佳剂量、给药途径、给药频率和持续时间等。

在应用噬菌体防治细菌感染时, 首先需要快速准确地确定引起感染或疾病的病原菌, 这个过程通常包括: 采集样本、分离培养, 通过标准的微生物诊断程序 (如基因组测定或质谱测定) 鉴别病原微生物; 然后利用噬菌体严格的宿主特异性, 制备针对病原微生物的噬菌体制剂。整个过程复杂耗时, 对于治疗急性感染或在规格较低、资源有限的微生物实验室和医疗卫生机构是不可行的。为解决这个问题, 人们提出了噬菌体鸡尾酒疗法, 直接从噬菌体侵染过的细菌中分离筛选, 按照生理和遗传性质进行分类, 并从中选择特定的裂解性噬菌体组成噬菌体鸡尾酒制剂^[54]。在法国、波兰和俄罗斯相继出现了利用该法治疗皮肤感染、肠道感染等疾病, 疗效显著。但由于噬菌体-宿主相互作用的不确定性, 目前仍没有明确的官方认可的程序。另外, 由于噬菌体对许多外部环境和物理因素的敏感性, 噬菌体鸡尾酒具有较高的遗传变异的可能性, 导致了制备稳定制剂的困难。除此之外, 由于噬菌体活性易受

到 pH 和酶的影响, 因此, 选择和确定合适的给药途径、给药频率等是十分重要的。为保证噬菌体的治疗效果, 除了采用非消化道途径给药, 通常采用微囊化包埋技术处理噬菌体^[55], 提高噬菌体存活率, 或者分离筛选 pH 耐受性高的稳定噬菌体。

另一个棘手的问题则是转导。转导作用可能会导致致病性因素和毒力因子的转移, 引起宿主变异或耐药性菌株的流行^[56]。

截至目前, 已经有许多噬菌体的基因组被测定, 而且许多新的噬菌体基因被源源不断地发现, 许多基因的功能也尚不清楚, 如某些噬菌体中发现的孤儿基因与基因数据库中的其他任何基因无相似性^[57], 这些基因是否潜在影响有害副作用仍有待研究。

裂解性噬菌体诱导细菌裂解, 除了释放子代噬菌体还会释放出各种细菌内物质, 如内毒素, 这些毒素物质会引起机体产生一些副作用, 如引起器官衰竭的炎症级联反应等。

噬菌体作为病毒, 会被患者的免疫系统视为入侵者, 刺激全身免疫系统发挥作用使其失活, 尤其是网状内皮系统的快速清除作用^[58], 在长期使用或重复使用的情况下容易出现疗效降低的情况。现有的办法主要有两种: 一是利用分子生物学改造噬菌体或者构建噬菌体基因工程载体, 延长噬菌体存留时间或表达特异性蛋白, 综合提高噬菌体抗病能力^[59]; 二是改善给药技术, 延长噬菌体体内存留时间^[60]。

变异、转导、噬菌体溶原性转变等都会导致细菌产生抗性, 降低噬菌体的疗效。目前阻止噬菌体吸附细菌而产生抗性的机制主要有 4 种方式: 受体缺失、受体封阻、结构改变、产生竞争性抑制物^[61]。若因自然突变或人工诱变导致受体组成成分(荚膜多糖^[62]、外膜蛋白^[63]等)缺失, 都会妨碍噬菌体吸附到细菌上, 从而阻止产生新的噬菌体。例如当甲氧基氨基磷酸酯修饰的荚膜多糖因为基因突变导致结构变化时, 空肠弯曲菌噬菌体 F336 将无法识别该受体, 从而导致空肠弯曲菌获得对噬菌体 F336 的抗性^[64]。各种分子物质(如假单胞菌属分泌的胞外多糖和肠杆菌分泌的糖复合物)的分泌会掩盖受体, 但噬菌体会通过选择一个新的受体或分泌胞外多糖降解酶来抵消这种掩盖^[7]; 其他的抗性机制, 包括通过超免疫系统^[65]妨碍噬菌体 DNA 的整合、利用限制修饰系统^[66]或规律成簇的间隔短回文重复系统^[67]降解或干扰噬菌体 DNA, 以及通过流产感染机制^[68]阻断噬菌体的复制、转录、翻译或组装。幸运的是, 几乎没有关于噬菌体体内治疗产生抗性

的相关报道^[7]。

此外, 研究过发现, 细菌感染产生的细菌生物膜有助于甲型副伤寒杆菌等病原菌抵抗外部不利的环境, 极大地增加了噬菌体疗法的治疗难度, 近几十年在中国中南部地区甲型副伤寒时常爆发, 难以防治^[69]。

目前噬菌体仍是未被公认的医药产品, 出于安全性考虑, 无论是美国的 FDA, 还是欧洲药品相关法规都没有通过统一的审批标准^[53], 但国内外研究机构及企事业单位仍非常看好噬菌体, 许多非营利性研究机构的成立, 以及噬菌体相关学术研讨会的举办等, 都在为噬菌体的深入研究及其在临床上的应用铺平道路。

6 结语

噬菌体是替代抗生素治疗细菌性疾病(包括 MRSA)的一种有效工具, 其在治疗上存在优势, 但也不排除未被报道的缺点。然而, 随着相关研究的不断深入, 噬菌体疗法的某些局限或不足终将会被解决。目前我国在噬菌体研究方面正快速发展, 由早期的少数科研院所参与^[70], 到目前多家公司正在积极参与到噬菌体商业化转化的进程中, 如梅花生物等。

另外, 噬菌体编码表达的蛋白, 如内容素、胞外多糖酶和穴蛋白, 已被证明在预防和治疗细菌性疾病方面具有非常广阔的应用前景^[71]。当然, 噬菌体的应用绝不仅局限于细菌性疾病防治, 至今为止, 噬菌体已被广泛开发应用于食品安全^[72]、农业^[72]、工业^[73]、细菌分类检测的临床应用^[73]等多个领域。

[参 考 文 献]

- [1] Sulakvelidze A. Bacteriophage: A new journal for the most ubiquitous organisms on Earth. *Bacteriophage*, 2011, 1: 1-2
- [2] 蒋依倩, 齐宇, 王美玲, 等. 噬菌体在动物细菌病防治中的应用研究进展. *中国兽药杂志*, 2015, 49: 66-9
- [3] Chanishvili N. Phage therapy--history from Twort and d'Herelle through Soviet experience to current approaches. *Adv Virus Res*, 2012, 83: 3-40
- [4] Eaton MD, Stanhope BJ. Bacteriophage therapy: review of the principle and results of the use of bacteriophage in the treatment of infection (I) (II) (III). *J Am Med Assoc*, 1934, 103: 1769-76
- [5] Xu YQ, Liu Y, Liu Y, et al. Bacteriophage therapy against Enterobacteriaceae. *Virol Sin*, 2015, 30: 11-8
- [6] Wittebole X, De Roock S, Opal SM. A historical overview of bacteriophage therapy as an alternative to antibiotics for the treatment of bacterial pathogens. *Virulence*, 2014,

- 1: 226-35
- [7] Philbey AW, Mather HA, Gibbons JF, et al. Serovars, bacteriophage types and antimicrobial sensitivities associated with salmonellosis in dogs in the UK (1954-2012). *Vet Rec*, 2014, 4: 94
- [8] Manyuhina OV, Lawlor KB, Marchetti MC, et al. Viral nematodes in confined geometries. *Soft Matter*, 2015, 30: 6099-105
- [9] Chatterjee S, Rothenberg E. Interaction of bacteriophage 1 with its *E. coli* receptor, LamB. *Viruses*, 2012, 4: 3162-78
- [10] Schenk M. Bacteriophages: an alternative to antibiotics. *Dtsch Med Wochenschr*, 2014, 4: 124-5
- [11] Nakonieczna A, Cooper CJ, Gryko R. Bacteriophages and bacteriophage-derived endolysins as potential therapeutics to combat Gram-positive spore forming bacteria. *J Appl Microbiol*, 2015, 119: 620-31
- [12] Goeter FA, Hall AR, Buckling A, et al. Parasite host range and the evolution of host resistance. *J Evol Biol*, 2015, 5: 1119-30
- [13] Lu TK, Collins JJ. Engineered bacteriophage targeting gene networks as adjuvants for antibiotic therapy. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 4629-34
- [14] Edgar R, Friedman N, Molshanski-Mor S, et al. Reversing bacterial resistance to antibiotics by phagemediated delivery of dominant sensitive genes. *Appl Environ Microbiol*, 2012, 78: 744-51
- [15] Rahmani R, Zarrini G, Sheikhzadeh F, et al. Effective phages as green antimicrobial agents against antibiotic-resistant hospital *Escherichia coli*. *Jundishapur J Microbiol*, 2015, 2: e17744
- [16] Smith HW, Huggins MB. Effectiveness of phages in treating experimental *Escherichia coli* diarrhoea in calves, piglets and lambs. *J Gen Microb*, 1983, 129: 2659-75
- [17] Barrow P, Lovell M, Berchieri A Jr. Use of lytic bacteriophage for control of experimental *Escherichia coli* septicemia and meningitis in chickens and calves. *Clin Diagn Lab Immunol*, 1998, 5: 294-8
- [18] Kumari S, Harjai K, Chhibber S. Bacteriophage versus antimicrobial agents for the treatment of murine burn wound infection caused by *Klebsiella pneumoniae* B5055. *J Med Microbiol*, 2011, 60: 205-10
- [19] Yilmaz C, Colak M, Yilmaz BC, et al. Bacteriophage therapy in implant-related infections: an experimental study. *J Bone Joint Surg Am*, 2013, 95: 117-25
- [20] Schuch R, Lee HM, Schneider BC, et al. Combination therapy with lysin CF-301 and antibiotic is superior to antibiotic alone for treating methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*-induced murine bacteremia. *J Infect Dis*, 2014, 9: 1469-78
- [21] Singh PK, Donovan DM, Kumar A. Intravitreal injection of the chimeric phage endolysin Ply187 protects mice from *Staphylococcus aureus* endophthalmitis. *Antimicrob Agents Chemother*, 2014, 8: 4621-9
- [22] Tamariz JH, Lezameta L, Guerra H. Phago-therapy faced with *Staphylococcus aureus* methicillin resistant infections in mice. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*, 2014, 1: 69-77
- [23] Drilling A, Morales S, Boase S, et al. Safety and efficacy of topical bacteriophage and ethylenediaminetetraacetic acid treatment of *Staphylococcus aureus* infection in a sheep model of sinusitis. *Int Forum Allergy Rhinol*, 2014, 3: 176-86
- [24] Dufour N, Debarbieux L, Fromentin M, et al. Treatment of highly virulent extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* pneumonia with bacteriophages. *Crit Care Med*, 2015, 6: e190-8
- [25] Wong CL, Sieo CC, Tan WA, et al. Evaluation of a lytic bacteriophage, Φ st1, for biocontrol of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in chickens. *Int J Food Microbiol*, 2014, 172: 92-101
- [26] Shivaswamy VC, Kalasuramath SB, Sadanand CK, et al. Ability of bacteriophage in resolving wound infection caused by multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in uncontrolled diabetic rats. *Microb Drug Resist*, 2015, 2: 171-7
- [27] Colom J, Cano-Sarabia M, Otero J, et al. Liposome-encapsulated bacteriophages for enhanced oral phage therapy against *Salmonella* spp. *Appl Environ Microbiol*, 2015, 14: 4841-9
- [28] Kim JH, Kim JW, Shin HS. Effect of dietary supplementation of bacteriophage on performance, egg quality and caecal bacterial populations in laying hens. *Br Poultry Sci*, 2015, 13: 1-5
- [29] Hammerl JA, Jackel C, Alter T, et al. Reduction of campylobacter jejuni in broiler chicken by successive application of group II and group III phages. *PLoS One*, 2014, 12: 1-17
- [30] Diez-Martinez R, De Paz HD, Garcia-Fernandez E, et al. A novel chimeric phage lysin with high *in vitro* and *in vivo* bactericidal activity against *Streptococcus pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother*, 2015, 6: 1763-73
- [31] Dufour N, Debarbieux L, Fromentin M, et al. Treatment of highly virulent pathogenic *Escherichia coli* pneumonia with bacteriophages. *Crit Care Med*, 2015, 6: e190-8
- [32] Cao F, Wang XT, Wang LH, et al. Evaluation of the efficacy of a bacteriophage in the treatment of pneumonia induced by multidrug resistance *Klebsiella pneumoniae* in mice. *Biomed Res Int*, 2015, 2015: 752930
- [33] Basu S, Agarwal M, Kumar Bhartiya S, et al. An *in vivo* wound model utilizing bacteriophage therapy of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Ostomy Wound Manage*, 2015, 8: 16-23
- [34] Cho YH. Molecular microbiology in antibacterial research. *J Microbiol*, 2014, 3: 185-7
- [35] Bruynoghe R, Maisin J. Essais de thérapeutique au moyen du bacteriophage du Staphylocoque. *Compt Rend Soc Biol*, 1921, 85: 1120-1
- [36] Abedon ST, Kuhl SJ, Blasdel BG, et al. Phage treatment of human infections. *Bacteriophage*, 2011, 1: 66-85
- [37] Technology to defeat bacterial infection shows positive results[EB/OL]. *Medical News Today*, 2008. <http://www.medicalnewstoday.com/articles/98346.php>
- [38] Verbeken G, De Vos D, Vaneechoutte M, et al. European regulatory conundrum of phage therapy. *Nat Microbiol*, 2007, 2: 485-91

- [39] Sulakvelidze A, Kutter E. Bacteriophage therapy [M]// Kutter E, Sulakvelidze A. Bacteriophage biology and applications. Boca Raton, FL: CRC Press, 2005: 381-436
- [40] Slopek S, Weber-Dabrowska B, Dabrowski M, et al. Result of bacteriophage treatment of suppurative bacterial infections in the years 1981-1986. Arch Immunol Ther Exp: Warsz, 1987, 35: 569-83
- [41] Weber-Dabrowska B, Mulczyk M, Gorski A. Bacteriophage therapy of bacterial infection: An update of our substitute, sexperience. Arch Immunol Ther Exp: Warsz, 2000, 48: 547-51
- [42] Wright A, Hawkins CH, Anggard EE, et al. A controlled clinical trial of a therapeutic bacteriophage preparation in chronic otitis due to antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. Clin Otolaryngol, 2009, 34: 349-57
- [43] Saussereau E, Vachier I, Chiron R, et al. Effectiveness of bacteriophages in the sputum of cystic fibrosis patients. Clin Microbiol Infect, 2014, 12: 983-90
- [44] Liu J, Yan R, Zhong Q, et al. The diversity and host interactions of *Propioni bacterium* acnes bacteriophages on human skin. ISME J, 2015, 9: 2078-93
- [45] Pincus NB, Reckhow JD, Saleem D, et al. Strain specific phage treatment for *Staphylococcus aureus* infection is influenced by host immunity and site of infection. PLoS One, 2015, 4: e0124280
- [46] 韩晗. 产肠毒素性大肠杆菌噬菌体PK88-4的分离及其抗菌效果与安全性研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2011
- [47] Qadir MI. Phage therapy: a modern tool to control bacterial infections. Pak J Pharm Sci, 2015, 1: 265-70
- [48] Sarker SA, McCallin S, Barretto C, et al. Oral T4-like phage cocktail application to healthy adult volunteers from Bangladesh. Virology, 2012, 434: 222-32
- [49] 舒本富. 裂解临床分离MRSA生物膜的噬菌体筛选研究. 赣南医学院学报, 2013, 4: 584-5
- [50] Focà A, Liberto MC, Quirino A, et al. Gut inflammation and immunity: what is the role of the human gut virome. Mediat Inflamm, 2015, 2015: 326032
- [51] Singla S, Harjai K, Katare OP, et al. Bacteriophage-loaded nanostructured lipid carrier: improved pharmacokinetics mediates effective resolution of *Klebsiella pneumoniae*-induced lobar pneumonia. J Infect Dis, 2015, 2: 325-34
- [52] Weber-Dabrowska B, Zimecki M, Mulczyk M. Effective phage therapy is associated with normalization of cytokine production by blood cell cultures. Arch Immunol Ther Exp: Warsz, 2000, 48: 31-7
- [53] Międzybrodzki R, Borysowski J, Weber-Dąbrowska B, et al. Clinical aspects of phage therapy. Adv Virus Res, 2012, 83: 73-121
- [54] Alves DR, Perez-Esteban P, Kot W, et al. A novel bacteriophage cocktail reduces and disperses *Pseudomonas aeruginosa* biofilms under static and flow conditions. Microb Biotechnol, 2015, 4: e28491
- [55] Ma YS, Pacan JC, Wang Q, et al. Microencapsulation of bacteriophage Felix O1 into chitosan-alginate microspheres for oral delivery. Appl Environ Microbiol, 2008, 74: 4799-805
- [56] 韩晗, 李剑锋, 姜金仲, 等. 噬菌体治疗的另一种策略——转基因噬菌体. 畜牧与兽医, 2015, 47: 138-40
- [57] Heussler GE, Cady KC, Koeppen K, et al. Clustered regularly interspaced short palindromic repeat-dependent, biofilm-specific death of *Pseudomonas aeruginosa* mediated by increased expression of phage-related genes. MBio, 2015, 3: e00129-15
- [58] Abedon ST. Bacteriophage secondary infection. Virol Sin, 2015, 1: 3-10
- [59] 武英. 应对耐药菌的新方法: 噬菌体制剂. 国外医药抗生素分册, 2011, 32: 223-8
- [60] Kim KP, Cha JD, Jang EH, et al. PEGylation of bacteriophages increases blood circulation time and reduce T-helper type 1 immune response. Microb Biotechnol, 2008, 1: 247-57
- [61] 徐嘉良, 颀颀. 细菌的噬菌体感染抗性机制. 生物技术通讯, 2015, 3: 409-11
- [62] Sorensen MC, Gencay YE, Birk T, et al. Primary isolation strain determines both phage type and receptors recognised by *Campylobacter jejuni* bacteriophages. PLoS One, 2015, 1: e0116287
- [63] Hossain MJ, Rahman KS, Terhune JS, et al. An outer membrane porin protein modulates phage susceptibility in *Edwardsiella ictaluri*. Microbiology, 2012, 158: 474-87
- [64] Holst Srensen MC, van Alphen LB, Harboe A, et al. Bacteriophage F336 recognizes the capsular phosphoramidate modification of *Campylobacter jejuni* NCTC11168. J Bacteriol, 2012, 193: 6742-9
- [65] Sekulovic O, Ospina Bedoya M, Fivian-Hughens AS, et al. The *Clostridium difficile* cell wall protein CwpV confers phase-variable phage resistance. Mol Microbiol, 2015, 98: 329-42
- [66] Leon M, Bastias R. Virulence reduction in bacteriophage resistant bacteria. Front Microbiol, 2015, 6: 343
- [67] Boudry P, Semenova E, Monot M, et al. Function of the CRISPR-Cas system of the human pathogen *Clostridium difficile*. MBio, 2015, 5: 529-36
- [68] Barrangou R, Vander Oost J. Bacteriophage exclusion, a new defense system. EMBO J, 2015, 2: 134-5
- [69] 毛普加, 冯梦蝶, 洪愉, 等. 甲型副伤寒杆菌抗噬菌体及生物膜形成基因的筛选及鉴定. 生物化学与生物物理进展, 2015, 427: 584-7
- [70] 裴光倩, 韩传根, 史套兴, 等. 抗生素可替代品——噬菌体和益生菌会议. 生物工程学报, 2013, 29: 247-50
- [71] Drulis-Kawa Z, Majkowska-Skrobek G, Maciejewska B. Bacteriophages and phage-derived proteins--application approaches. Curr Med Chem, 2015, 14: 1757-73
- [72] Hussain MA, Liu H, Wang Q, et al. Use of encapsulated bacteriophages to enhance farm to fork food safety. Crit Rev Food Sci Nutr, 2015 [Epub ahead of print]
- [73] Haq IU, Chaudhry WN, Akhtar MN, et al. Bacteriophages and their implications on future biotechnology: a review. Virol J, 2012, 9: 9