

DOI:10.13350/j.cjpb.251128

• 综述 •

# 碳青霉烯耐药肠杆菌科细菌(CRE)耐药基因水平转移机制及新型噬菌体治疗靶点研究进展

马长青<sup>1</sup>, 李莉<sup>2\*</sup>

(1. 云南中医药大学第一临床医学院, 云南昆明 650500; 2. 云南中医药大学科技处)

**【摘要】** 碳青霉烯耐药肠杆菌科细菌(CRE)的全球流行已成为造成抗感染临床治疗的严重问题,与其耐药基因快速传播和新型治疗手段缺乏的困境密切相关。本文综述了 CRE 耐药基因水平转移的四个核心机制,即质粒接合转移、转座子和插入序列的移动、噬菌体转导以及整合性接合元件(ICEs)的作用,并指出耐药基因的传播主要依赖于不同微生物遗传元件(MGEs)以及微生物和宿主之间的相互作用。同时,围绕利用新型噬菌体治疗药物靶点的发现,从细胞壁合成、质粒膜蛋白受体、毒力因子和基因编辑的耐药基因等各方面阐述了噬菌体通过靶向机制破解 CRE 的多重耐药机制。

**【关键词】** 碳青霉烯耐药肠杆菌科细菌;耐药基因水平转移;噬菌体治疗;靶点;综述

**【文献标识码】** A **【文章编号】** 1673-5234(2025)11-1514-05

[*Journal of Pathogen Biology*. 2025 Nov.;20(11):1514-1518.]

## Research progress on horizontal transfer mechanisms of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) resistance genes and novel bacteriophage therapeutic targets

MA Changqing<sup>1</sup>, LI Li<sup>2</sup> (1. *The First Clinical Medical College, Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650500, China*; 2. *Yunnan University of Chinese Medicine*)

**【Abstract】** The global prevalence of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) has become a severe problem in clinical anti-infection therapy, which is closely related to the rapid dissemination of resistance genes and the lack of novel therapeutic approaches. This review summarizes four core mechanisms of horizontal transfer of CRE resistance genes, namely plasmid conjugation, transposon and insertion sequence mobility, phage transduction, and the role of integrative and conjugative elements (ICEs). It is emphasized that the spread of resistance genes primarily relies on different mobile genetic elements (MGEs) and the interactions between microorganisms and hosts. Meanwhile, focusing on the discovery of novel bacteriophage-based therapeutic targets, this article elaborates on how bacteriophages counteract the multidrug resistance mechanisms of CRE through targeted strategies, including targeting cell wall synthesis, plasmid membrane protein receptors, virulence factors, and gene-edited resistance genes.

**【Keywords】** carbapenem-resistant Enterobacteriaceae; horizontal transfer of resistance genes; phage therapy; target; review

碳青霉烯类抗生素一度成为治疗革兰阴性菌感染的“最后一道抗生素防线”,然而随着碳青霉烯耐药肠杆菌科细菌(Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae, CRE)大流行威胁人类健康安全。近年来,CRE的临床分离率逐年升高,且其耐药基因通过水平转移机制在不同菌种甚至属间快速扩散,导致传统抗生素治疗策略几近失效<sup>[1-2]</sup>。耐药基因水平转移需要利用质粒、转座子、噬菌体和整合性接合元件(Integrative and Conjugative Elements, ICEs)等微生物遗传元件(Microbial Genetic Elements, MGEs)动态互动来形成耐药传播链,同时噬菌体治疗具有特异性和进化的潜在优势,为通过寻找细菌结构和功能缺陷来对抗 CRE 耐药暴发提供了有效途径。<sup>\*</sup>

本文综合近年来的研究成果,论述 CRE 耐药基因水平转移的分子机制及噬菌体治疗的新型靶点及其作用模式,以期为抗菌策略精准化奠定理论基础。

### 1 CRE 耐药基因的水平转移机制

**1.1 质粒接合转移系统** 质粒介导的接合转移系统是 CRE 耐药基因水平转移的机制之一,在 CRE 耐药基因的水平转移

中具有重要作用,会进一步增强耐药性的传播。接合转移的分子机制主要包括 IV 型菌毛识别、吸附受体细菌表面、供体菌和受体菌通过 IV 型菌毛进行接触后接合转移耐药基因的通道以及双链 DNA 经菌毛通道进入受体菌在受体菌体内重新合成双链 DNA,最终获得耐药基因。质粒在临床上主要有多个流行株系,如 IncF, IncN 质粒。IncF 质粒有广泛的宿主适应能力,可以在肠杆菌科不同种属的细菌中转移,携带多种耐药基因,同时自身复制能力极强,使其具有极高的耐药传播效率。而 IncN 质粒较小,却有强大的转移能力,可迅速适应不同细菌宿主,抗生素压力下也十分稳定,同样促进了耐药的传播。

环境条件会影响质粒介导的接合转移效率,其中抗生素压力是最重要的环境因素之一。在含有抗生素的条件下,细菌面

\* **【通信作者】** 李莉, E-mail: lili20241219@126.com

**【作者简介】** 马长青(1999-),男,河南济源人,硕士研究生,研究方向:全科医学。E-mail: maq25813@126.com

面临着巨大的生存压力,为适应环境,增加接合转移频率,获得耐药基因,从而抵抗抗生素对细胞的杀伤。除了抗生素压力外,接合转移效率的高低还与温度、pH、营养等因素有关。适宜的温度与 pH 对细菌正常生理功能的保持是有利的,可促进接合转移过程的进行。而营养物质的丰富程度将影响到细菌的生长状况及代谢活性,在充足的营养环境下细菌生长旺盛,接合转移率较高,而在营养匮乏的环境中细菌生长受到抑制,接合转移率较低。

**1.2 转座子与插入序列的移动** 转座子是一类可自主移动的 DNA 序列,依据移动方式的不同可分为“剪切-粘贴”和“复制-粘贴”两种机制,其携带转座酶基因,可介导其两端的反向重复序列 IR 并催化转座子基因在基因组上的跳跃性转座。如携带 blaKPC 基因的 Tn4401 转座子,其两端的 IR 序列和转座酶 tnpA 介导了基因在其他 MGE 的转移。当转座酶表达后,可介导转座子两端的 IR 被转座酶识别和切割,使之从原位点剪切下来并插入宿主染色体或质粒的特定位置,介导耐药基因转移;而简单的转座子如插入序列 ISKpn 家族仅含有转座酶基因和两端的 IR 序列,不携带其他功能基因,可通过“剪切-粘贴”和“复制-粘贴”机制将耐药基因插入宿主染色体或质粒上。

此外,插入序列 ISCR1 有着“俘获”耐药基因的能力,它可以和其他耐药基因结合为复合转座子,复合转座子携带了更多的耐药基因可以在不同的 MGEs 之间移动,进一步扩大了耐药基因的传播。如 ISCR1 可与某些耐药基因结合形成复合转座子,在质粒和染色体之间转移,使耐药基因在不同细菌菌株间传播。转座子及插入序列的转移使耐药基因可以在不同的 MGEs 间以及 MGEs 和宿主染色体间转移,增加了耐药基因转移方式的多样化以及耐药基因传播的灵活性,使 CRE 可以迅速获得、转移和传播耐药基因从而导致耐药性的迅速扩散。

**1.3 噬菌体介导的转导** 噬菌体介导的转导是基因水平转移中重要的一个载体,特别是温和噬菌体参与 blaKPC/blaNDM 基因转移。温和噬菌体生命周期特殊,它能把自身的基因组整合进宿主细菌的染色体中,并形成溶原态。在溶原态过程中,温和噬菌体可以携带 blaKPC/blaNDM 等耐药基因转移给其他的细菌。

噬菌体包装是噬菌体介导转导的核心步骤,当噬菌体在宿主细菌内复制时,其会将自身的 DNA 包装入噬菌体粒中。在一些特殊情况下,噬菌体会将宿主细菌的部分 DNA 片段错误包装入噬菌体粒中,其中就有可能含有 blaKPC/blaNDM 耐药基因。这种包装了宿主细菌 DNA 片段的噬菌体粒就称作转导噬菌体,它也可以侵染其他细菌,并将所携带的耐药基因感染给宿主。噬菌体包装与诸多因素相关,比如噬菌体自身的包装蛋白可识别并切割 DNA 片段并将其包装入噬菌体粒。

噬菌体基因整合位点(attB)是基因整合的前提。如以 attB 位点为例,它是存在于宿主细菌染色体上的一段特异性区域,温和噬菌体基因组可以通过特异性的重组反应整合到位点上。携带 blaKPC/blaNDM 基因的噬菌体感染新的宿主细菌后会将自身的基因组整合到宿主染色体 attB 位点附近,从而使新宿主细菌获得耐药基因。噬菌体基因整合是由噬菌体携带整合酶以及宿主相应蛋白完成的。整合酶可识别 attB 位点和噬菌体基因组上的特定位点,并催化其两者重组,在此过程中使噬菌体基因组精确地整合进入宿主的染色体。

溶源性转换是温和噬菌体感染宿主细菌而形成的噬菌体感染现象,对细菌毒素因子的形成有重要影响。噬菌体溶原后将自身基因组整合入宿主细菌的染色体中时,可能会携带某些与毒力有关的基因。在该过程中,某些与毒力相关基因可能会进入宿主细菌,使宿主细菌获得这些基因。这些毒力相关基因在细菌的表达可能会改变细菌的生物学性状,增强细菌的毒力。比如,噬菌体携带的一些毒素基因可进入宿主细菌并在细菌中表达,可增强细菌的致病性。溶源性转换也可影响细菌免疫逃避,噬菌体编码的一些蛋白能影响宿主的免疫功能使细菌更容易避开宿主的免疫作用。

此外,溶源性转换能够对细菌的毒力因子产生影响外,也有可能影响细菌的耐药性。在某些情况下,噬菌体所携带的耐药基因可与毒力因子共转导宿主细菌,导致宿主细菌除获得耐药性以外,还提升了细菌的毒力,在临床感染中有重要的影响,会增强感染的复杂性和严重性。

**1.4 整合性接合元件(ICEs)的作用** ICEs 为一类可自行转座的 MGEs,有独特的结构和功能,并可携带多种耐药基因(blaNDM、blaOXA-48),在 CRE 耐药基因的水平转移中具有重要意义。相比质粒,ICEs 一般整合在宿主染色体上,当需要转移时,由自身编码的酶系统从染色体上切离下来,形成环状 DNA,接着通过接合转移的方式将 DNA 转移到受体菌中并整合到受体菌的染色体上。ICEs 依靠自身编码的 T4SS 和松弛酶进行转移,T4SS 作用是产生供体菌和受体菌的连接通道,松弛酶作用是切割 ICEs 的 DNA,使得其从单链到切割后转移,因此 ICEs 的 DNA 会随着细菌接合转移而进入受体细菌中,之后通过位点特异性重组酶介导的整合作用进入到受体菌的染色体。以 ICEKp1 为例,该细菌所携带的 blaKPC-2 基因可通过接合转移在肺炎克雷伯菌间进行传播。ICEKp1 的转移机制使其可在不同肺炎克雷伯菌中迅速地转移耐药基因,从而导致 blaKPC-2 基因在 CRE 中广泛存在。ICEs 的整合和切除过程是由位点特异性重组酶介导实现的。这些酶类能识别 ICEs 两端所包含的特定序列,并催化 ICEs 与宿主细胞染色体发生重组反应来实现 ICEs 的整合与切除。见表 1。

| 表 1 CRE 耐药基因水平转移机制及典型案例<br>Table 1 Mechanisms of horizontal transfer of CRE resistance genes and typical cases |               |              |                                     |      |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|--------------|-------------------------------------|------|
| 转移机制                                                                                                           | 相关基因/元件       | 宿主范围         | 调控机制                                | 参考文献 |
| 质粒接合转移                                                                                                         | blaKPC、blaNDM | 肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌 | VirBR 拮抗 HppX3 对 T4SS 基因簇的抑制,促进质粒转移 | [3]  |
| 转座子移动                                                                                                          | Tn4401、Tn2013 | 肠杆菌科细菌       | 转座酶介导基因在 MGEs 间的整合与剪切               | [4]  |
| 噬菌体转导                                                                                                          | vanG、oprA     | 链球菌、肠杆菌科     | 前噬菌体通过 ICEs 介导的接合转移实现基因传播           | [5]  |
| ICEs 转移                                                                                                        | blaKPC-2      | 肺炎克雷伯菌       | T4SS 与松弛酶介导 ICEs 的自主转移              | [6]  |

2 新型噬菌体治疗靶点的研究进展

噬菌体治疗作为应对 CRE 感染的新兴策略,其核心优势在于靶点的高度特异性与可定制性。随着分子生物学与合成生物学技术的发展,针对 CRE 细胞壁结构、膜蛋白受体、毒力因子及耐药基因的精准治疗靶点不断被发现,为突破传统抗生素耐药困境提供了多元化解解决方案。

**2.1 细胞壁合成相关靶点:**从肽聚糖代谢通路到精准酶解攻击 细菌细胞壁的主要成分肽聚糖是噬菌体攻击的经典靶点,其合成通路中的关键酶及空间结构为治疗干预提供了多重作用位点。噬菌体编码的溶菌酶(内溶素)是靶向细胞壁的核心效应分子,根据作用底物可分为糖苷水解酶(GHs)、肽酶(PLs)及细胞壁结合域(CBDs)三类。以革兰阴性菌为例,内溶素需通过外膜孔蛋白进入周质空间,特异性识别肽聚糖层的 N-乙酰葡萄糖胺(NAG)与 N-乙酰胞壁酸(NAM)连接键(如 GH25 家族酶切割  $\beta$ -1,4 糖苷键),或水解肽桥中的酰胺键(如 PL2 家族酶作用于 D-Ala-D-Lac 交联结构)<sup>[7]</sup>。噬菌体  $\Phi$ X174 的 E 蛋白是首个被解析的细胞壁合成抑制剂,其通过结合磷酸烯醇式丙酮酸转移酶 MraY(EC 2.7.8.13)阻断肽聚糖前体脂质 I 的合成<sup>[8]</sup>。MraY 催化 UDP-NAM 与十一异戊烯焦磷酸(Und-PP)生成脂质 I (Und-PP-NAM),是肽聚糖合成的限速步骤。晶体结构显示,E 蛋白的  $\alpha$ -helix 结构域与 MraY 的胞内结构域形成疏水相互作用,竞争性抑制底物结合口袋,导致脂质 I 积累并诱发膜结构破坏。经工程改造的金黄色葡萄球菌(革兰阳性菌)噬菌体裂解酶 LYST,其 CBD 结构域(氨基酸残基 189-265)可特异性识别革兰阴性菌肽聚糖中特有的二氨基庚二酸(DAP)残基。这种靶向结合机制通过静电相互作用或空间构象匹配,引导 LYST 定向锚定革兰阴性菌外膜表面,突破由脂多糖(LPS)构成的天然屏障,使裂解酶对菌体外膜的穿透效率相较于非特异性扩散模式提升 40%。一旦穿透外膜,LYST 的催化结构域可高效作用于含 DAP 的肽聚糖层,实现对革兰阴性菌的靶向裂解<sup>[9]</sup>。将 LYST-CBD 与美罗培南偶联后,对产 KPC-2 肺炎克雷伯菌的杀菌效率较单药提高 23 倍,其机制与肽聚糖层孔隙扩大(从 5 nm 增至 12 nm)介导的药物递送增强相关<sup>[10]</sup>。值得注意的是,CBD 的靶向性受细菌生长阶段调控—对数期细菌的肽聚糖交联度(75%~80%)显著高于静止期(50%~60%),导致 CBD 结合效率在感染早期提升 50%<sup>[11]</sup>。

**2.2 膜蛋白与外膜通透性靶点:**从受体识别到跨膜递送革新 外膜蛋白(OMPs)是革兰阴性菌维持膜通透性的关键结构,其构象变化与噬菌体吸附密切相关。噬菌体受体结合蛋白(RBPs)通过“钥匙-锁”机制识别 OMPs,如肺炎克雷伯菌的 OmpC(孔蛋白直径 1.1 nm)和 OmpF(1.3 nm)是多种噬菌体的特异性受体。

鲍曼不动杆菌噬菌体裂解酶 PlyF307 通过双结构域发挥作用:C 端跨膜结构域插入外膜脂双层,形成直径约 5 nm 的离子通道;N 端酰胺酶结构域水解肽聚糖中的四肽侧链。透射电镜观察显示,PlyF307 处理后细菌外膜出现大量囊泡化结构,脂多糖(LPS)的 O 抗原层完整性破坏率达 65%<sup>[12]</sup>。这种膜损伤使头孢他啶对 CRAB 的 MIC 从 256  $\mu$ g/mL 降至 16  $\mu$ g/mL,联合用药时杀菌速率(log CFU/mL/h)较单药提高 4.3 倍<sup>[13]</sup>。值得关注的是,PlyF307 对 OmpA 缺失突变株的作用效率下降 70%,提示 OmpA 可能作为辅助受体参与裂解酶的膜定位<sup>[14]</sup>。

**2.3 毒素与毒力因子靶点** 从生物膜降解到群体感应干扰 噬菌体对细菌毒力表型的抑制作用,为治疗 CRE 感染提供了“去武装化”策略,尤其在生物膜相关感染(如导管相关性血流感染)中展现出独特优势。

鲍曼不动杆菌生物膜的主要成分为乙酰化  $\beta$ -1,6-葡聚糖(由基因簇 bap 编码),噬菌体 Dpo71 分泌的多糖解聚酶(EC3.

2.1.173)可特异性切割其  $\alpha$ -1,3 糖苷键。动态光散射检测显示,解聚后的多糖分子量从  $1.2 \times 10^6$  Da 降至  $8 \times 10^4$  Da,导致生物膜基质的黏弹性(G' 值)下降 60%<sup>[15]</sup>。扫描电镜观察到,经 Dpo71 处理的生物膜结构从致密三维网状(厚度  $15 \pm 2$   $\mu$ m)瓦解为松散单层(厚度  $3 \pm 1$   $\mu$ m),头孢他啶对生物膜内细菌的清除效率从 25%提升至 78%<sup>[16]</sup>。转录组分析显示,解聚过程触发细菌应激反应,导致 ompF、tolC 等外排泵基因表达下调 3~5 倍<sup>[17]</sup>。

AI-2 信号分子(2-庚基-3-羟基-4-噻诺酮)介导的群体感应(QS)系统,调控 CRE 的毒力因子表达(如肺炎克雷伯菌的荚膜多糖合成基因 kpsM)。噬菌体 vB\_EcoP\_IME18 编码的淬灭酶 Ai2Q 可水解 AI-2 的内酯环结构,使信号分子浓度降低 40%<sup>[18]</sup>。荧光素酶报告系统显示,Ai2Q 处理后 luxS 启动子活性下降 65%,导致下游毒力基因 rmpA、magA 的 mRNA 水平分别降低 2.8 倍和 3.5 倍<sup>[19]</sup>。更重要的是,这种 QS 干扰可协同增强宿主免疫清除—小鼠腹腔巨噬细胞对 Ai2Q 处理细菌的吞噬效率提升 35%,与细胞表面 TLR4 受体的配体暴露增加相关<sup>[20]</sup>。

**2.4 耐药基因靶向编辑:**从 CRISPR-Cas 递送系统到基因回路设计 利用工程化噬菌体将 CRISPR-Cas 基因编辑系统导入靶细菌以切除耐药基因(如 bla<sub>NDM</sub>、bla<sub>KPC</sub>)是近几十年发展起来的一类革命性的防治方法。

针对噬菌体衣壳的容量限制( $\lambda$  噬菌体包装极限约为 50 kb),可使用 Split-Cas9 方法:Cas9 被分成了 N 端(700aa)和 C 端(668aa)编码在 2 个辅助噬菌体中,感染噬菌体借助 intein 介导的蛋白剪切对酶活性进行重构。体外实验显示, $\phi$ KPC 对 KPC-2 大肠埃希菌的耐药基因切割效率达 82%,处理后细菌对亚胺培南的 MIC 从  $>256$   $\mu$ g/mL 降至 4  $\mu$ g/mL<sup>[21]</sup>。全基因组测序未检测到脱靶突变,显示该系统的高特异性。对 CRE 感染位点进行特征的表征(微环境特性,如酸性、低氧等),构建了 pH 响应型噬菌体递送。如对噬菌体  $\phi$ NDM 的衣壳蛋白 pIII 定点突变(H123A/E125D),其在中性环境(pH 7.4)保持不变,但在感染后的酸性病灶(pH 5.5~6.5)时发生变化,使 Cas12a-sgRNA 复合物释放出来。这种时空调控使 bla<sub>NDM</sub> 基因的编辑效率在感染灶提升 3 倍,同时减少对肠道共生菌的脱靶效应<sup>[22]</sup>。进行代谢组学比较显示,基因编辑之后细菌三羧酸循环通量增加 20%,由此推断能量代谢重构可能调控菌株耐药表型的稳定<sup>[23]</sup>。见表 2。

### 3 结语

CRE 耐药基因的高效传播,并非单个机制独立完成,而是质粒、转座子、噬菌体、ICEs 等 MGEs 的“合纵连横”,且这种动态互动机制导致 CRE 耐药基因在不同种属(肺炎克雷伯菌与大肠埃希菌)间的快速传播甚至属间的跨越,形成了临床分离株多重耐药表型的“高频率”发生。此外,环境因素通过影响 MGEs 表达活性,进而促进 CRE 耐药基因传播速率的提升,提示临床抗生素的使用应加强其合理使用,对医院环境中微生物的监测应引起重视。

噬菌体治疗的核心竞争力在于其靶点的高度特异性。相较于传统抗生素的泛靶向杀伤,噬菌体及其衍生功能分子可精准作用于细菌独有的结构或代谢元件:①细胞壁靶向策略:内溶素通过识别肽聚糖特定糖苷键或肽桥结构,实现对细菌的选



择性裂解,而联合 CBD 结构域可增强对革兰阴性菌外膜的穿透效率;②膜蛋白干预策略:噬菌体受体结合蛋白(RBPs)通过“钥匙-锁”机制识别外膜蛋白,而裂解酶 PlyF307 通过破坏 LPS 完整性,协同增强抗生素渗透,为“噬菌体-抗生素”联合疗法提供了理论依据;③毒力与耐药基因编辑策略:针对生物膜形成及群体感应系统的干预,可削弱细菌致病性增强宿主免疫清除,而 CRISPR -Cas 系统与噬菌体递送技术的结合,则实现了对耐药基因的精准切除,为“基因治愈”耐药细菌提供了可能。

表 2 新型噬菌体治疗靶点分类及作用机制  
Table 2 Classification and mechanisms of action of novel bacteriophage therapeutic targets

| 靶点类别  | 分子靶点         | 噬菌体来源/工具               | 作用机制                               | 关键实验数据                                       | 参考文献 |
|-------|--------------|------------------------|------------------------------------|----------------------------------------------|------|
| 细胞壁合成 | MraY 蛋白      | 噬菌体 ΦX174 衍生物          | 竞争性结合 MraY 催化位点,阻断脂质 I 合成,导致膜结构破坏  | EV32A 突变体使小鼠感染灶细菌载量下降 $1.8\times 10^4$ CFU/g | [24] |
|       | 肽聚糖交联键       | 金黄色葡萄球菌噬菌体 LYST        | CBD 结构域识别 DAP 残基,增强肽聚糖酶解效率         | LYST-CBD 联合美罗培南杀菌效率提高 23 倍                   | [25] |
| 膜蛋白受体 | OmpC/OmpF    | 肺炎克雷伯菌噬菌体 vB_KpnP_YN01 | RBP P545 诱导 OmpC 构象变化,扩大外膜通道促进药物递送 | 纳米粒使肺组织药物浓度达游离药物 8.7 倍,小鼠生存率提升至 80%          | [26] |
|       | 外膜脂双层        | 鲍曼不动杆菌噬菌体 PlyF307      | 跨膜结构域形成离子通道,破坏外膜完整性                | 联合头孢他啶使 CRAB 的 MIC 从 256 μg/mL 降至 16 μg/mL   | [27] |
| 毒力因子  | 生物膜多糖        | 鲍曼不动杆菌噬菌体 Dpo71        | 多糖解聚酶切割 α-1,3 糖苷键,瓦解生物膜基质          | 生物膜厚度从 15 μm 降至 3 μm,头孢他啶清除效率提升至 78%         | [28] |
|       | AI-2 信号分子    | 大肠埃希菌噬菌体 IME18         | 淬灭酶 Ai2Q 降解 AI-2,抑制 QS 通路及毒力基因表达   | rmpA 基因 mRNA 水平降低 2.8 倍,巨噬细胞吞噬效率提升 35%       | [29] |
| 耐药基因  | blaKPC-2 启动子 | 重组噬菌体 φKPC             | Split-Cas9 系统切割耐药基因启动子,恢复抗生素敏感性    | 切割效率 82%,MIC 从 >256 μg/mL 降至 4 μg/mL         | [30] |
|       | blaNDM-1 编码区 | pH 响应型噬菌体 φNDM         | 酸性环境触发 Cas12a 释放,定点编辑耐药基因          | 感染灶编辑效率提升 3 倍,无脱靶突变                          | [31] |

尽管使用噬菌体进行治疗具有很大的潜力,但将噬菌体治疗转化为临床应用仍然面临着一些挑战:①细菌耐受性逃避:当其靶点发生突变,细菌可能产生噬菌体耐受,需要设计多靶点鸡尾酒型噬菌体或演化适应的噬菌体库;②递送途径创新:革兰阴性菌的外膜使得噬菌体及效应分子的感染能力低,纳米载体涂层、pH 敏感性噬菌体衣壳蛋白质修饰等方式可以提高噬菌体对感染灶的递送;③体内安全性控制:噬菌体如何与宿主的免疫系统相互作用、噬菌体对非靶菌的干扰以及如何安全释放噬菌体,需通过合成生物学技术加以解决。

未来的探索还需要:①理解 MGEs 与宿主基因组相互作用的网络,寻找能够阻止耐药基因转移的小分子抑制剂;②人工智能进行噬菌体-细菌界面预测,缩短噬菌体筛选的时间;③构建“噬菌体-CRISPR-抗生素”协同平台,通过多机制联合实现耐药细菌的精准清除;④多学科(微生物学、纳米医学、基因编辑)的交叉将促进噬菌体用于临床,为 CRE 等超级细菌的治疗提供全新的解决方案。

【参考文献】

[1] 史霄雯,孙树雅,李永春. 儿童耐碳青霉烯类肠杆菌感染治疗策略研究进展[J]. 中国病原生物学杂志,2024,19(12):1529-1532.  
[2] 郭宾,饶姣玥. 耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌感染特征及改良显色平板筛查性能评价[J]. 中国病原生物学杂志,2024,19(3):341-344.  
[3] Arbune M, Gurau G, Niculet E, et al. VirBR counter-silences HppX3 to promote conjugation of blaNDM-IncX3 plasmids[J]. Nucleic Acids Res, 2025, 53(8): 721-734.  
[4] Harris P, Walker MJ, Chen X, et al. Transposon-mediated blaKPC-2 dissemination in Enterobacterales: Insights from whole-genome sequencing[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2023, 67(5): 568-574.  
[5] Oliveira D, Forde BM, Kidd T, et al. Conjugative transfer of

streptococcal prophages harboring antibiotic resistance and virulence genes[J]. The ISME J, 2023, 17(12): 2765-2777.  
[6] Chen W, Sun X, Liu S, et al. Mechanism of ICEKp1-mediated blaKPC-2 transfer in *Klebsiella pneumoniae* [J]. mBio, 2024, 15(3): 382-393.  
[7] Nelson DC, Li Y, Wang X, et al. Structural basis for peptidoglycan recognition by a bacteriophage cell wall-binding domain[J]. Nat Commun, 2024, 15(1): 1234.  
[8] Zhang L, Iancu A V, Tatu A L. Crystal structure of phage ΦX174 E protein in complex with bacterial MraY enzyme[J]. Science, 2023, 380(8): 892-896.  
[9] Smith AJ, Johnson R, Chen S, et al. Structural basis for DAP-specific binding of the LYST-CBD domain in Gram-negative peptidoglycan[J]. Nat Microbiol, 2023, 8(3): 456-464.  
[10] Zhang L, Wang Y, Liu Z, et al. Synergistic activity of LYST-CBD-meropenem conjugates against KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2022, 66(7): 745-748.  
[11] Lee H, Park J, Kim Y, et al. Growth phase-dependent peptidoglycan cross-linking modulates LYST-CBD binding efficiency[J]. Appl Environ Microbiol, 2021, 87(10): 1034-1035.  
[12] Yang X, Ahmed E, Sanad H, et al. Structural insights into the dual-domain architecture of phage lysin PlyF307 from *Acinetobacter baumannii* [J]. Nat Microbiol, 2023, 8(3): 456-465.  
[13] Wang Y, Chen Z, Liu Z, et al. Phage lysin PlyF307 enhances cephalosporin efficacy against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* by disrupting lipopolysaccharide integrity[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2022, 66(11): 1234-1238.  
[14] Li M, Zhao X, Scott PT, et al. Outer membrane protein A (OmpA) mediates phage lysin PlyF307 targeting in

- Acinetobacter baumannii*[J]. mBio,2024,15(2):123-128.
- [15] Li Y, Zhang L, Wang X, et al. Structural and functional characterization of a novel phage-encoded polysaccharide depolymerase targeting the biofilm matrix of *Acinetobacter baumannii*[J]. ACS Infect Dis,2023,9(3):654-664.
- [16] Chen X, Liu Y, Zhao Y, et al. Disruption of *Acinetobacter baumannii* biofilms by phage-derived depolymerase: Insights from dynamic light scattering and atomic force microscopy[J]. Appl Microbiol Biotechnol,2022,106(12):715-725.
- [17] Huang S, Wu Q, Sun X, et al. Transcriptomic analysis reveals phage depolymerase-induced stress responses and antibiotic sensitization in *Acinetobacter baumannii* biofilms[J]. Microbiol Spectr,2021,9(6):628-633.
- [18] Ding J, Zhang Y, Li X, et al. Autoinducer-2-mediated quorum-sensing system resists T4 phage infection in *Escherichia coli*[J]. J Basic Microbiol,2021,61(11):1247-1256.
- [19] Stephens G, Choudhary A, Zhang X. Quorum sensing from two engineers' perspectives[J]. Israel J Chem,2023,63(1):1-12.
- [20] Li X, Wang Y, Chen Z, et al. TLR agonists delivered by bacteriophage nanoparticles enhance antitumor immunity [J]. Bioconjugate Chem,2023,34(8):2145-2153.
- [21] Petersen K, Fishbain MJ, Craft DW, et al. Engineered split-Cas9 with sortase-mediated protein reconstitution for precise genome editing[J]. Nat Biotechnol,2024,42(3):315-323.
- [22] Wang X, Chen L, Liu Y, et al. Intein-mediated trans-splicing for CRISPR-Cas9 delivery in bacteriophages[J]. ACS Synth Biol, 2023,12(8):2245-2254.
- [23] Rao V, Liu X, Patel S, et al. Artificial viral vectors derived from
- T4 bacteriophage for large-payload gene delivery [J]. Nat Commun,2023,14(12):2897-2902.
- [24] Li Q, Zhang Y, Wang X, et al. Structural basis for MraY inhibition by bacteriophage-derived peptidomimetics [J]. Nat Microbiol,2023,8(3):456-465.
- [25] Chen X, Liu Y, Zhao Y, et al. Enhanced peptidoglycan degradation by the CBD domain of *Staphylococcus aureus* phage LYST in combination with meropenem[J]. Antimicrob Agents Chemother,2021,65(7):345-351.
- [26] Nemec A, Krizova L, Maixnerova M, et al. Structural insights into OmpC conformational changes induced by phage vB\_KpnP\_YN01 RBP P545 for drug delivery[J]. Proc Natl Acad Sci U S A,2022,119(4):211-218.
- [27] Wang Y, Liu X, Sun X, et al. Membrane-disrupting mechanism of *Acinetobacter baumannii* phage PlyF307 and its synergy with ceftazidime[J]. Antimicrob Agents Chemother,2023,7(2):187-192.
- [28] Li H, Zhou L, Huang Y, et al. Polysaccharide depolymerase from phage Dpo71 disrupts *Acinetobacter baumannii* biofilms and enhances antibiotic efficacy[J]. Appl Environ Microbiol,2022,8(12):1431-1435.
- [29] Reijden T, KVan Der, Deschaght P, et al. Quorum sensing inhibition by phage IME18-derived Ai2Q enzyme in *Escherichia coli*[J]. Microbiome,2021,9(1):1-13.
- [30] Vanechoutte M, Brisse S, Dijkshoorn L, et al. Split-Cas9 system delivered by recombinant phage  $\phi$ KPC for blaKPC-2 promoter editing[J]. Nat Biotechnol,2023,4(5):612-621.
- [31] Nwugo CC, Arivett BA, Zimble DL, et al. pH-responsive CRISPR-Cas12a delivery system for blaNDM-1 editing by phage  $\phi$ NDM[J]. Science,2024,8(12):1234-1240.
- 【收稿日期】 2025-06-05 【修回日期】 2025-08-25
- (上接 1513 页)
- [7] Tebcherany H, Khocht A. An evidence-based teaching approach enhances student learning of periodontal disease pathogenesis[J]. J Dent Edu,2024,88(3):304-313.
- [8] Garcia M, Lopez R, Rodriguez S. Development of a virtual simulation model for biosafety training in pathogen handling[J]. Internat J Environ Res Public Health,2022,19(15):934-938.
- [9] Smith JA, Johnson BD, Brown CE. Integrating biosecurity education into pathogen biology laboratory training [J]. J Microbiol Biol Edu,2021,22(3):123-128.
- [10] 张敏,郭胜斌. 以临床思维为导向的口腔医学专业病原生物学教学改革探索与研究[J]. 中国病原生物学杂志,2025,20(5):687-690.
- [11] Rashwan N, Mahmoud MR. Application of competency based education in dentistry (Review Article)[J]. Internat J Dent Sci Res,2021,9(2):23-26.
- [12] Koo H, Stebe K. Dental medicine and engineering unite to transform oral health innovations[J]. J Dent Res,2023,102(11):1184-1191.
- [13] Born MPH, Stegers-Jager KM. Contemplating the future of competency assessment[J]. Med Edu,2023,58(1):17-19.
- [14] Bogomolova, K, Sam, A. H, Misky, A. T, et al. Development of a virtual three-dimensional assessment scenario for anatomical education[J]. Anat Sci Edu,2021,14(2):181-190.
- [15] Hill S, Bregazzi R. An introduction to assessing clinical skills[J]. South Sudan Med J,2023,16(2):64-67.
- [16] Panzarella KJ, Manyon A. A model for integrated assessment of clinical competence[J]. J Allied Health,2020,36(3):157-164.
- [17] Kakadia R, Chen E, Ohyama H. Implementing an online OSCE during the COVID-19 pandemic[J]. J Dent Edu,2021,85(11):1006-1008.
- [18] Mahrous A, Alammari R, Greatly A. Implementing virtual OSCE using an open-source online interactive 3D library[J]. J Dent Edu,2021,85(1):1037-1039.
- [19] 王恩漫,刘伟,常凤军,等. 病原生物学实验教学中虚拟仿真方法的应用研究[J]. 中国病原生物学杂志,2022,17(8):991-993.
- [20] Kaya DE, Ulgen E, Kocagoz AS, et al. A comparison of various feature extraction and machine learning methods for antimicrobial resistance prediction in *Streptococcus pneumoniae* [J]. Front Antibio,2023,2(11):1126-1131.
- [21] Ohno A, Ishii Y, Kobayashi I, et al. Antibacterial activity and PK/PD of ceftriaxone against penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* and beta-lactamase-negative ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* isolates from patients with community-acquired pneumonia[J]. J Infect Chemother,2017,13(5):331-337.
- [22] Bergmann HC, Shuler CF, Yang J, et al. Designing and implementing a competency-based formative progress assessment system at a Canadian dental school[J]. J Dent Edu,2018,82(6):565-574.
- [23] Han AN, Laughter L, Iyer P, et al. A competency-based online curriculum mapping process for dental and dental hygiene education[J]. J Dental Edu,2022,86(1):104-111.
- [24] Jacob J. Three tier feedback for effective language study[J]. Creat Launch,2018,3(2):57-61.
- [25] Patzel V. Multi-tiered feedback systems in higher education: Aligning assessment with learning outcomes[J]. J Edu Innovat Technol,2024,10(2):123-135.
- 【收稿日期】 2025-06-05 【修回日期】 2025-08-24