

- 4653.
- [20] Tao LL, Zhai YZ, Ding D, et al. The role of C/EBP- α expression in human liver and liver fibrosis and its relationship with autophagy[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(10):13102-13107.
- [21] Wang X, Huang G, Shuang M, et al. Over-expression of C/EBP- α induces apoptosis in cultured rat hepatic stellate cells depending on p53 and peroxisome proliferator-activated receptor- γ [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2009, 380(2):286-291.
- [22] 米兰, 孙晶, 高耀辉, 等. C/EBP α 在结肠直肠癌的表达及对癌细胞的作用[J]. 外科理论与实践, 2015, 20(1):30-35.
- [23] Wang GL, Shi X, Haeffliger S, et al. Elimination of C/EBP- α through the ubiquitin-proteasome system promotes the development of liver cancer in mice[J]. J Clin Invest, 2010, 120(7):2549-2562.
- [24] Zhang J, Ma Y, Wang S, et al. C/EBP inhibits proliferation of breast cancer cells via a novel pathway of miR-134/CREB[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(11):14472-14478.
- [25] Faraji F, Hu Y, Wu G, et al. An integrated systems genetics screen reveals the transcriptional structure of inherited predisposition to metastatic disease [J]. Genome Res, 2014, 24(2):227-240.
- [26] Tseng HH, Hwang YH, Yeh KT, et al. Reduced expression of C/EBP α protein in hepatocellular carcinoma is associated with advanced tumor stage and shortened patient survival[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2009, 135(2):241-247.
- [27] Atta J, Majumder S, Kutay H, et al. Metallothionein expression is suppressed in primary human hepatocellular carcinomas and is mediated through inactivation of CCAAT/enhancer binding protein α by phosphatidylinositol 3-kinase signaling cascade [J]. Cancer Res, 2007, 67(6):2736-2746.
- [28] Lu GD, Leung CH, Yan B, et al. C/EBP is up-regulated in a subset of hepatocellular carcinomas and plays a role in cell growth and proliferation[J]. Gastroenterology, 2010, 139(2):632-643.
- [29] Wang GL, Iakova P, Wilde M, et al. Liver tumors escape negative control of proliferation via PI3K/Akt-mediated block of C/EBP α growth inhibitory activity[J]. Genes Dev, 2004, 18(8):912-925.
- [30] Lu GD, Ang YH, Zhou J, et al. CCAAT/Enhancer Binding Protein α Predicts Poorer Prognosis and Prevents Energy Starvation-Induced Cell Death in Hepatocellular Carcinoma[J]. Hepatology, 2015, 61(3):965-978.

(收稿日期:2016-05-30 修回日期:2016-08-20)

• 综 述 •

基因分型技术在院内感染铜绿假单胞菌中的应用研究进展*

张 伟, 徐益恒 综述, 邵文琳[△]校审

(昆明医科大学第二附属医院检验科, 昆明 650101)

关键词: 铜绿假单胞菌; 基因分型; 院内感染

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.23.032

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)23-3322-04

铜绿假单胞菌是世界范围内医院获得性感染的重要病原菌。对引起疾病的病原菌基因分型的传染源确定、阻止病原菌的传播、潜在病原菌危险的控制和医院耐药监测有很重要的作用。细菌分型作为分子流行病学研究调查的主要研究内容,其结果的准确性依赖于分型方法是否稳定可靠、准确^[1]。细菌分型的方法包括依靠生理、生化特征的表型分型法和近年来流行使用的基因分型法。表型分型方法是根据细菌的生理、生化等表型特征进行分类包括噬菌体分型法、血清型法、营养分型法和药物敏感试验等,这些分型的方法由于受到细菌本身复杂因素及方法的敏感性因素影响,往往就无法有效对不同的菌株进行区分,因此其应用受到很大限制。运用分子生物学方法检测细菌基因组来鉴别菌株的基因分型法,是1980年起逐渐被引入微生物鉴定领域,成为目前较主流的流行病学研究工具,在基因组水平对细菌进行鉴定与分类,与表型分型相比更加细化,对院内引起感染的铜绿假单胞菌近亲缘性,即克隆性菌株

鉴定有重要意义,从根本上确定菌株遗传基础的相互联系和变异,为流行病学调查工作中确定菌株间的遗传亲缘关系等方面提供更为有力的实验室证据^[2]。基因分型法目前运用较多的有:重复序列聚合酶链反应(PCR)、随机扩增多态性DNA(RAPD)、多位点可变数目串联重复序列分析(VNTR)、限制性片段长度多态性PCR(RFLP)、多位点序列分型(MLST)、脉冲场凝胶电泳(PFGE)。分型方法是在微生物学、遗传学、流行病学等交叉学科一系列研究中的工具,选择合适的方法,有效监测院内病原菌的分子流行病学变化,如此研究预期和最终目的才能达到。现就目前常用于铜绿假单胞菌基因分型的技术进行简要介绍。

1 重复序列 PCR

重复序列 PCR 是采用特定引物对细菌基因组重复序列的DNA进行扩增,高度保守的重复序列之间的不同区域可表现不同的图谱,然后经凝胶电泳分析其多态性。目前,运用最多

* 基金项目:云南省卫生科技计划项目(2014NS114);昆明医科大学研究生创新基金项目(2015S31)。

[△] 通讯作者, E-mail: taiwenlinlin@sohu.com。

的是肠杆菌基因间重复共有序列(ERIC)PCR,应用于细菌分类和菌种鉴别。ERIC 是最常用的一类引物,长度为 126 bp,位于染色体非编码转录区,ERIC-PCR 分辨效果好,可重复性好,特别适用于基因型的辨别。PFGE 目前被认为是细菌基因分型技术的“金标准”^[3]。孙晶等^[4]在对铜绿假单胞菌 ERIC-PCR 和 PFGE 方法学比较分析发现,两种方法的符合率近 90%,在 ERIC-PCR 方法重复 5 次的结果相似度高于 75%;Han 等^[5]报道对铜绿假单胞菌研究中发现,在同一血清型中采用 ERIC-PCR 分出多个不同型别铜绿假单胞菌,采用 ERIC-PCR 分辨能力和重复性与 PFGE 很相近,均较血清分型方法较好,但 ERIC-PCR 用时短,操作简单,成本低,值得在流行分子生物学研究中推广。在院内感染耐药监测研究中,张勇等^[6]对 75 株耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌 ERIC-PCR 同源性分析,结果显示分型为 8 种,但以 A、B 型为主,分别占 34.7%和 22.7%,表明耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌在院内以克隆株传播,ERIC-PCR 是铜绿假单胞菌同源性分析有效工具,以其多种优点在耐药监测和预防等方面有明显的优势^[7]。尽管 ERIC-PCR 有很多优势,但在近缘菌株分析中分辨力还有待加强,且此方法对软件的要求和数据分析能力较高,普通实验室还难普及^[8]。

2 RAPD

RAPD 是 20 世纪 90 年代末发展起来的一种新方法,该法使得对非血清型菌株从基因多态性的水平进行分型的鉴定成为可能^[9-10]。以基因组 DNA 为模板,以单个人工合成的随机多态核苷酸序列(通常为 10 个碱基对)为引物,在热稳定的 DNA 聚合酶(Taq 酶)作用下,进行 PCR 扩增。这种方法可对物种基因背景不清楚的情况下对基因组 DNA 水平进行研究^[11]。目前研究铜绿假单胞菌的特点主要在遗传学分型、抗生素表型和血清学分型,主要是评价多种分离株关系的分型能力^[12]。近来出现的 RAPD-PCR 方法对铜绿假单胞菌的多种细菌分型则成为可靠的手段,与传统的对细菌鉴定分型方法比较,具有简便、快速、灵敏度高,不需要已知基因组序列的优势^[11-12]。RAPD 技术是在基因水平上对菌株间差异进行研究,最终可以表现出克隆间的差别和种系发育中的相互关系^[13]。相异指数是 RAPD 技术中重要的指标,是指对 2 个分离株进行比较,相异指数越小,相似性越大。在聂道海等^[14]报道中,采用 Phylip 和 TREEview 等软件对 RAPD 指纹图谱相异指数分析。患者不同时间的分离株相异指数最小为零,说明有可能克隆菌株。最大为 89.47%,说明两次感染来源不同。同一克隆株于空间上分布集中的趋势,提示可能存在通过某一未识别的共同传播源传播同一病区来自不同患者的铜绿假单胞菌显示相同的 RAPD 型别,提供了医院感染局部流行的证据。RAPD 分型和耐药谱分型比较研究中,RAPD 分型谱相同,其耐药谱也大致一样,耐药谱分型一致的,其 RAPD 分型可不同,说明 RAPD 分型谱和药谱分型遗传关系有一定的差异。所以,耐药谱分型可作为 RAPD 分型进一步补充分型。虽然 RAPD 技术简便、对试验条件要求低的广泛使用,但研究人员也慢慢意识该技术存在试验条件影响大、可重复性低等一系列问题。国内外仍有很多实验采用该方法对菌株进行流行病学研究和分型判断^[12]。

3 VNTR

VNTR 是在原核和真核生物基因中一种重复 DNA 小序列,为 10 到几百核苷酸,以首尾相连的方式串联一起,拷贝数在 10~1 000 的 PCR 技术^[15]。多态性指数(DI)是 VNTR 分

型能力的一个指标,DI 值低,说明分型能力不好,特别是对近缘性菌株区分能力不足,DI 值高,可导致非同源性相似。DI 值在 0.48~0.89,即可避免非同源性相似性,又有分型能力。近年来已有国内外关于 VNTR 对铜绿假单胞菌基因分型的报道^[16]。李艳君等^[17]在铜绿假单胞菌院内感染溯源性研究中采用 VNTR 方法,建立 DI 分布适中的 12 个 VNTR 新筛选位点方法,对 98 株铜绿假单胞菌进行分型,共分类为 5 群,88 个基因型,认为同病房分离菌株有一定同源性。MLVA 是基于 VNTR 方法发展起来的新技术。近来有研究以铜绿假单胞菌的全基因组序列为参考的多个 VNTR 位点的 MLVA 方法^[18]。随后有人在这基础上建立 15 个 VNTR 位点的 MLVA 方法使分型更简单、便捷,是目前 MLVA 对铜绿假单胞菌基因分型的主要研究方法^[19]。不同的铜绿假单胞菌 VNTR 位点的数目数字化后,在数据库中比对,菌株的差异就能用数字表达^[20]。尽管采用数量不同的位点,都能进行分型,且随着技术的进步分型能力越来越好,但缺点是数量有限,而且在基因组上分布不均匀,这就极大限制其在基因定位中的应用,VNTR 也存在实验操作繁琐、检测时间长、成本高的不足。

4 RFLP

RFLP 是指用不同的限制性内切酶对 DNA 分子处理后,通过琼脂糖凝胶电泳对 DNA 片段进行分析。国外报道,RFLP 也可以筛选出铜绿假单胞菌的超广谱 β -内酰胺酶(ES-BLs)基因,在流行病学基因研究、检测新的变异有重要意义^[21]。RFLP 已被用于构建基因组遗传图谱、基因定位、生物进化和分类的研究。由于只对单拷贝基因组序列进行鉴定,且需要多种内切酶及探针,操作步骤繁琐,但 RFLP 较之 RAPD 的优势是突变类型可以确定是由碱基突变或倒位、还是由插入缺失造成的。在 RFLP 技术基础上发展起来的扩增片段长度多态性分析(AFLP)是一种新的标记技术,是先采用限制性内切酶对基因组 DNA 进行切割,然后再将切割后的双链连接到 DNA 的末端,使邻近的限制性内切酶位点和短的接头序列作为结合位点。它拥有了 RFLP 的高效性和可靠性,但目前这一技术使用还不广泛。

5 MLST

MLST 方法近年来成为流行的基因分型方法,通过采取测定菌株多个管家基因的 DNA 序列进行分型,管家基因几乎不会发生遗传漂变而存在于所有菌株中,所以采用管家基因进行 MLST 分型^[22]。测定 7 个管家基因(acsA、aroE、guaA、mutL、nuoD、ppsA 和 trpE)500 bp 左右 DNA 序列片段代表基因组的分子多样性,每个管家基因的等位基因由发现和递呈的时间顺序分配,每类菌株所有的等位基因号按照规定顺序排列成为等位基因谱,也叫序列型(ST)^[23]。此种方法不需要培养病原菌,可直接从标本中进行扩增,获得等位基因图谱,有群体遗传学分析的功能,且能够准确提供菌种评估的信息,比传统的免疫学方法更可靠和准确,自从 Gomila 等^[24]运用此方法分析铜绿假单胞菌的遗传多样性,现 MLST 数据库已建立且不断完善,结果的可比性高,适合国际实验室间的数据进行比较,可以对局部感染爆发的评估和菌群结果的评价。目前运用 MLST 分型对铜绿假单胞菌的研究越来越多。研究称铜绿假单胞菌的遗传背景是多样性的。国外报道铜绿假单胞菌以 ST235 型最为常见,但也伴其他 ST 型^[25]。铜绿假单胞菌容易引起暴发流行,在西班牙 2007~2008 年暴发两起感染,是 ST235 所致^[26]。韩国也有此型的多重耐药菌株传播。虽然 MLST 与 PFGE 和 MLVA 比较分辨力一般,但其结果可在全世界进行比较,发现

传播现象和分子流行病学研究,受到研究者的青睐。

6 PFGE

PFGE 是采用限制性内切酶(Spe I 酶)将 DNA 识别并内切成若干片段,再脉冲场凝胶电泳,电场不断在两种方向(有一定夹角,而不是相反的两个方向)变动,来分离大小从 10 kb 至 10 Mb 的 DNA 分子。因其分辨率高,重复性好被公认为铜绿假单胞菌基因型的金标准^[27]。其结果可作为控制医院感染的重要基础。能帮助临床工作者发现潜在的危险因素,进而及时切断流行菌株的来源和传播途径。对不同患者分离的同一病原菌进行亲缘性分析,是判断医院是否存在散在性感染和暴发流行性感染的有效工具。自 1984 年报道了脉冲场电泳的方法以来,目前已得到全面发展,各种条件得到优化,PulseNet 细菌分子分型网络提供技术下载,且 Tenover 等研究了结果的解释标准,统一技术对结果解释的影响,利于 PFGE 技术的运用,但是操作相对耗费时间和精力且检测通量小,导致其不能对大量菌株进行研究,是其应用的不足。

7 小 结

铜绿假单胞菌在院内感染由于滥用抗菌药物从而导致的变异,容易引起院内的暴发流行,表型分型的不足采用基因分型方法弥补,但基因分型方法也存在不足,特别是不能解决院内铜绿假单胞菌感染暴发流行的实时在线分析能力,也没有统一的标准来对分型方法进行指导,导致各种方法均有优缺点。理想的分型方法有以下特征:对不同患者同一菌株的分型能力强且操作简便、费用低;对同一患者不同时期同一菌株高分辨能力,即将同一克隆或遗传相近的菌株分辨出来;最重要的一点是具有良好的复现性。但目前的技术还不能做到。

参考文献

- [1] Foley SL, Lynne AM, Nayak R. Molecular typing methodologies for microbial source tracking and epidemiological investigations of gram-negative bacterial foodborne pathogens[J]. Infect Genet Evol, 2009, 9(4): 430-440.
- [2] Li W, Raoult D, Fournier PE. Bacterial strain typing in the genomic era[J]. FEMS Microbiol Rev, 2009, 33(5): 892-916.
- [3] Durante-Mangoni E, Zarrilli R. Global spread of drug-resistant acinetobacter baumannii: molecular epidemiology and management of antimicrobial resistance[J]. Future Microbiol, 2011, 6(4): 407-422.
- [4] 孙晶, 常军霞, 刘巍. ERIC-PCR 与 PFGE 检测铜绿假单胞菌同源性的方法学比较[J]. 中国抗生素杂志, 2013, 38(4): 297-302.
- [5] Han MM, Mu LZ, Liu XP, et al. ERIC-PCR genotyping of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from haemorrhagic pneumonia cases in mink[J]. Vet Rec Open, 2014, 1(1): e000043.
- [6] 张勇, 刘爱胜, 文艳. 75 株碳青霉烯类耐药铜绿假单胞菌 ERIC-PCR 菌种分型及其主要耐药机制研究[J]. 检验医学, 2014, 11(7): 755-759.
- [7] 郑芬, 芮勇宇. 耐碳青霉烯铜绿假单胞菌耐药机制和传播机制研究[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(10): 1201-1202.
- [8] Lee J, Kang H, Kim S, et al. Optimal combination of VNTR typing for discrimination of isolated mycobacterium tuberculosis in korea[J]. Tuberc Respir Dis, 2014, 76(2): 59-65.
- [9] Hafiane A, Ravaoarino M. Characterization of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from cystic fibrosis patients by different typing methods[J]. Pathol Biol, 2011, 59(5): 109-114.
- [10] Shoumali L, Masoud H, Khlaif H, et al. Serologic and molecular characterization of *Pseudomonas aeruginosa* Jordanian clinical isolates compared with the strains of International Antigenic Typing Scheme[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2007, 58(4): 393-398.
- [11] Nanvazadeh F, Khosravi, Azar DZ, et al. Genotyping of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from burn patients by RAPD-PCR[J]. Burns, 2013, 39(7): 1409-1413.
- [12] Zou W, Lin WJ, Hise KB, et al. Prediction system for rapid identification of *Salmonella* serotypes based on pulsed-field gel electrophoresis fingerprints[J]. J Clin Microbiol, 2012, 50(5): 1524-1532.
- [13] Salimi H, Owlia P, Yakhchali B, et al. Characterization of *Pseudomonas aeruginosa* in burn patients using PCR-restriction fragment length polymorphism and random amplified polymorphic DNA analysis[J]. IJMS, 2010, 35(3): 236-241.
- [14] 聂道海, 靳桂明, 魏华, 等. 长期住院老年患者感染铜绿假单胞菌的基因聚类分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2002, 12(4): 251-252.
- [15] Ortatatl M, Karagoz A, Percin D, et al. Antimicrobial susceptibility and molecular subtyping of 55 turkish bacillus anthracis strains using 25-loci multiple-locus VNTR analysis[J]. Comp Immunol Microbiol Infect Dis, 2012, 35(4): 355-361.
- [16] Sobral D, Mariani-Kurkdjian P, Bingen E, et al. A new highly discriminatory multiplex capillary-based MLVA assay as a tool for the epidemiological survey of *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis patients[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2012, 31(9): 2247-2256.
- [17] 李艳君, 李妍妮, 钱扬会, 等. 应用多位点 VNTR 分析进行铜绿假单胞菌院内感染溯源的研究[J]. 检验医学与临床, 2015, 12(19): 2811-2813.
- [18] Martin K, Baddal B, Mustafa N, et al. Clusters of genetically similar isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from multiple hospitals in the UK[J]. J Med Microbiol, 2013, 62(7): 988-1000.
- [19] Llanes C, Pourcel C, Richardot C, et al. Diversity of beta-lactam resistance mechanisms in cystic fibrosis isolates of *Pseudomonas aeruginosa*: A french multicentre study[J]. J Antimicrob Chemother, 2013, 68(8): 1763-1771.
- [20] 邢进, 岳秉飞, 贺争鸣. 绿脓杆菌分子分型方法研究进展[J]. 中国比较医学杂志, 2012, 22(8): 62-67.
- [21] Kalai Blagui S, Achour W, Abdeladhim A, et al. Identification of SHV-type extended spectrum beta-lactamase genes in *Pseudomonas aeruginosa* by PCR-restriction fragment length polymorphism and insertion site restriction-PCR[J]. Pathol Biol, 2009, 57(5): 420-424.
- [22] Johansson E, Welinder-Olsson C, Gilljam M, et al. Geno-

- typing of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from lung transplant recipients and aquatic environment-detected in-hospital transmission[J]. APMIS, 2014, 122(2): 85-91.
- [23] Didelot X, Maiden MC. Impact of recombination on bacterial evolution[J]. Trends Microbiol, 2010, 18(7): 315-322.
- [24] Gomila M, Del Carmen Gallegos M, Fernandez-Baca V, et al. Genetic diversity of clinical *Pseudomonas aeruginosa* isolates in a public hospital in Spain[J]. BMC Microbiol, 2013, 13(1): 138.
- [25] Cho HH, Kwon KC, Sung JY, et al. Prevalence and genetic analysis of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* ST235 isolated from a hospital in Korea, 2008-2012 [J]. Ann Clin Lab Sci, 2013, 43(4): 414-419.
- [26] Yoo JS, Yang JW, Kim HM, et al. Dissemination of genetically related IMP-6-producing multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* ST235 in South Korea[J]. Int J Antimicrob Agents, 2012, 39(4): 300-304.
- [27] Lim KT, Yasin RM, Yeo CC, et al. Genetic fingerprinting and antimicrobial susceptibility profiles of *Pseudomonas aeruginosa* hospital isolates in Malaysia[J]. J Microbiol Immunol Infect, 2009, 42(3): 197-209.
- 综 述 •

(收稿日期: 2016-05-28 修回日期: 2016-08-18)

噬菌体治疗细菌性感染的研究进展*

高 静 综述, 刘 新[△] 审校

(沈阳医学院病原生物学教研室, 沈阳 110034)

关键词: 噬菌体; 细菌性感染; 多重耐药菌

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2016. 23. 033

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)23-3325-03

1915 年, Frederick 在研究牛痘病毒时, 发现细菌被杀死的现象, 但尚未进行深入研究^[1]。1917 年, Felix 发现了一种能够杀灭涂布在琼脂表面上细菌并且呈现独立噬斑的“微生物”, 并认为这种微生物可以侵入细菌内并在其体内扩增, 因此称之为“噬菌体”。此后, 噬菌体的研究拉开了帷幕。噬菌体被定义为一类能够感染细菌、真菌、放线菌或螺旋体等微生物的病毒。1921 年, Bruynogh 和 Maisin 首次利用噬菌体治疗了由葡萄球菌引起的人类皮肤疖肿。在噬菌体研究的前十年里, 研究者们因过多关注噬菌体的应用而忽视了噬菌体的生物学特性。起初, 研究者在噬菌体中只检测到蛋白质, 直到 1936 年, Schlesinger 研究发现噬菌体中还存在 DNA, 这才证实了噬菌体是由核酸和蛋白质组成的病毒颗粒。1940 年, Ruska 首次用电镜观察到噬菌体的形态。随后, 陆续有研究者利用电镜观察到噬菌体的形态并得出了噬菌体的一般特征。噬菌体的生物学特性逐渐明了。近年来, 随着抗菌药物的广泛使用, 出现了越来越多的难以用抗菌药物治疗的多重耐药菌(MDR), 现已成为全球许多重症监护室(ICU)一个迫在眉睫的医疗危机^[2]。人们不得不将关注点转向寻找抗菌药物的替代疗法。于是, 噬菌体疗法成为了一个潜在的治疗细菌感染的可行性方案。

1 噬菌体的类型及其生物学特性

噬菌体根据生活方式分为毒性噬菌体和温和噬菌体^[3]。毒性噬菌体又称裂解性噬菌体, 能够在敏感菌中增殖并引起细菌裂解; 温和噬菌体又称为溶原性噬菌体, 感染细菌后, 将其基因整合于细菌染色体中, 不引起宿主菌裂解, 随宿主菌的繁殖将基因传于子代。

当噬菌体寄生在细菌细胞内时, 可呈现出不同的生活状态。无论噬菌体处于何种生活状态, 在进入细菌前, 第一步都

是先与细菌细胞壁上的受体结合。这个特定的过程会影响噬菌体与细菌的相互作用。例如, 噬菌体 λ 仅与大肠杆菌的 LamB 受体相互作用, 并且此作用对于噬菌体成功侵入细菌非常重要, 即噬菌体具有特异性, 仅选择特异性受体才能侵入细菌^[4]。

研究表明, 某些噬菌体在与特异性受体作用之前, 能合成水解酶或多糖分解酶系及多糖裂解酶, 这些酶可以降解宿主菌的多糖, 为噬菌体治疗提供了潜在的意义, 但目前尚在研究中, 还未应用于临床^[5]。

噬菌体在与特定的受体结合后, 通过细菌的细胞壁打开缺口, 然后把噬菌体 DNA 注入细菌的细胞内, 其蛋白质外壳留在菌体外。如果是温和噬菌体, 噬菌体 DNA 插入到细菌的染色体上, 成为细菌染色体的一部分, 随细菌繁殖而传代。因此, 温和噬菌体不产生子代噬菌体, 但这种噬菌体 DNA 随着细菌 DNA 的复制进行复制, 直到诱发裂解周期。当温和噬菌体因发生变异而失去进入裂解周期的能力, 噬菌体 DNA 会成为细菌染色体的一部分, 成为一个长期寄居于宿主染色体的噬菌体序列, 即前噬菌体。如果是毒性噬菌体, 感染宿主菌后马上进行噬菌体早期基因的表达, 噬菌体利用细菌的细胞器复制子代噬菌体的核酸和蛋白质, 然后组装、释放新合成的子代噬菌体。

噬菌体可通过转导作用传递细菌之间的遗传物质, 因此, 可以利用生物工程技术将抗菌药物敏感基因表达于目的菌中, 通过转导作用转移抗菌药物敏感基因。例如, Lu 等^[6]的研究表明, 在体外通过 M13mp18 噬菌体靶向 SOS DNA 修复系统插入特定基因, 增加了大肠杆菌对抗菌药物的敏感性。Edgar 等^[7]利用转基因技术将特定的基因转入耐药菌内, 增加耐药菌对链霉素和萘啶酸的敏感性。

* 基金项目: 辽宁省科学事业公益研究基金项目(GY2013-A-014); 沈阳医学院重点实验室研究基金项目(20135060)。

[△] 通讯作者, E-mail: syliuxin141236@sina. cn。