**概述**

噬菌体（英语：bacteriophage）)是感染放线菌、藻类、真菌、以及细菌等微生物的病毒的总称，因部分能引起宿主菌的裂解，故称为噬菌体。噬菌体裂解细菌现象发现之初，由于其能对宿主细菌有特异性裂解作用，被寄希望用于治疗细菌等病原微生物所致感染相关疾病[1]。

噬菌体是一种以细菌为宿主的病毒，噬菌体制剂经过临床验证能够有效治疗细菌感染。噬菌体的命名是由希腊语词汇“吞噬”（φαγεῖν）的首字母Φ开始，然后加上一组序号[2]。

在前苏联、中欧和法国，噬菌体都曾用作抗生素的替代品，作为医疗用品的时间超过90年。噬菌体治疗已经被更多国家接受，它们被用作许多具有多重耐药性的细菌的治疗。此外，噬菌体广泛存在于自然界中（水、土壤、空气），烈性噬菌体可感染或裂解细菌，目前已被广泛应用于对人类的治疗方面[3]。

噬菌体是感染放线菌、藻类、真菌、以及细菌等微生物的病毒的总称

## 生物特性

* 热稳定性
* pH 值稳定性
* 吸附能力性
* 感染复数性

## 本质

噬菌体的本质就是病毒的一种，在自然界的分布非常广泛，为地球上数量最多的微生物，大约是细菌的十倍。因为噬菌体以细菌为宿主，噬菌体常常伴随着细菌而存在，因而充满细菌的环境，如泥土、动物的内脏里，理论上都可以找到并分离、纯化相对应的噬菌体。

## 增殖过程

**吸附**

噬菌体吸附蛋白与宿主表面受体蛋白发生特异性结合的过程。

**噬菌体吸附蛋白**

噬菌体通常吸附蛋白或[衣壳]的组成部分。

**侵入**

T偶数噬菌体通过注射方式将其DNA注入宿主细胞中。

**装配**

以T4噬菌体为例：

* 头部装配，先形成空壳，再装入DNA。
* 尾部装配，基板装上尾管，再装上尾鞘。
* 头与尾结合
* 上部颗粒与尾丝相连

## 测定

**裂解谱测定**

取22个LB固体培养皿，分别收集细菌编号标记培养皿上，并将培养皿均分为8等分，记号笔标记划分区域。将22株鲍曼不动杆菌分别取200肛L菌液与5mL LB半固体培养基充分混合后，迅速倾倒于相对应的培养皿内。然后向22个培养皿的8个区域内加入分离的8株噬菌体液各lmL。室温干燥后置于37℃恒温箱过夜培养。次日观察培养皿内噬菌体裂解情况。

**效价测定**

拟选取以上8株噬菌体裂解谱最广的一株噬菌体进行“噬菌体治疗泛耐药鲍曼不动杆菌所致小鼠脓毒症的效果”相关的动物实验，根据测量结果选取Bp200201404072为抗菌剂进行后续动物实验[4]。

(1)以ABA200201404072鲍曼不动杆菌为宿主菌，将该菌培养至对数早期(4-6h)。

(2)挑取Bp200201404072号噬菌体的单个噬菌斑，将噬菌斑融入上步所述的新鲜菌液中，然后将菌液放置于37℃，200 rpm／min的摇床中共同培养，直至黄色混浊样菌液变为淡黄色澄清状态(此时为宿主细菌基本被噬菌体全部裂解)。

(3)将裂解液用无菌0．22um过滤器过滤，滤过细菌细胞碎片以及为裂解细胞。然后将过滤的裂解液使用SM液稀释为10-1，10-2，10-3，10-4，10-5，10-6，10-7，10-8，10-9。

(4)将上步所述稀释后的裂解液各取109L加入对数早期的新鲜宿主菌液200肛L中。然后室温静置15min左右(该步骤使噬菌体充分吸附于宿主细菌细胞上)。

(5)向上步所诉的混合液中加入3-5mL左右的未凝的半固体LB培养基，然后迅速置于振荡器混匀后倾倒于固体LB培养基平板(按稀释浓度标记平板)。待半固定成型后，将平板倒置于37。C恒温箱过夜培养。

(6)根据效价计算公式：效价(PFU／mL)=噬菌斑数×稀释度×100≈1x108PFU／mL。

(7)将测定效价后的噬菌体液4℃冰箱冻存备用

## 模式噬菌体

下面的噬菌体被广泛的研究：

* 肠杆菌噬菌体T2（Enterobacteria phage T2）
* 肠杆菌噬菌体T4（Enterobacteria phage T4，169 kbp 基因组，200 nm 长
* T7噬菌体（英语：T7 phage）（T7 phage）
* T12噬菌体（英语：T12 phage）（T12 phage）
* M13噬菌体
* 埃希氏菌属病毒HK97

## 研究

**噬菌体对小鼠泛耐药鲍曼不动杆菌脓毒症疗效研究**

(1)泛耐药鲍曼不动杆菌裂解性噬菌体的分离与保存[5]

使用混合宿主菌扩增噬菌体的方法，以泛耐药鲍曼不动杆菌为宿主菌，在某医院未经处理的污水池中取污水筛选得到泛耐药鲍曼不动杆菌裂解性噬菌体8株，并测定各株裂解性噬菌体的裂解谱，选取其裂解谱最宽、裂解效果最好的裂解性噬菌体备用，作为抗菌剂进行后续动物治疗实验。

(2)小鼠泛耐药鲍曼不动杆菌脓毒症模型的建立

将48只8～12周龄雄性健康BALB／cJJ、鼠，随机分为4组，每组12只，记为A，B，c，D四组。分别向A，B，C，D，四组小鼠腹腔注射泛耐药鲍曼不动杆菌5x108 CFU／mL，2.5×108 CFu／mL，1x108 CFU／mL，5x107 cFU／mL这四个浓度的菌液各lmL。注射成功后，将各组小鼠按正常饲养，密切观察各组小鼠生命体征，死亡小鼠数量，腹腔灌洗液细菌培养结果，血培养结果。

(3)噬菌体对小鼠泛耐药鲍曼不动杆菌脓毒症的治疗效果

Ⅰ.将60只BALB／c鼠，按随机数字表法分为空白对照组、脓毒症对照组、抗生素治疗组、噬菌体治疗组、噬菌体对照组，每组12只。每组均连续注射7 d，每天观察记录小鼠存活情况。

Ⅱ.另取60只BALB／c小鼠，同1分组处理。实验第2、4、6天当天注射前，每组选1～3只存活小鼠，每只鼠取眶静脉血20  L检查白细胞计数[6]。