

噬菌体治疗中国专家建议

中国噬菌体研究联盟

中国生物工程学会噬菌体技术专业委员会

中国微生物学会医学微生物与免疫学专业委员会

通信作者：乐率，陆军军医大学基础医学院微生物学教研室，生物工程重庆市高校重点实验室 重庆 400038, Email: leshuai2004@tmmu.edu.cn; 陈立光，花莲慈济医学中心临床病理部，花莲，97002; Email: likuangchen@gmail.com; 朱同玉，复旦大学附属中山医院泌尿外科，上海，200030, Email: tyzhu@fudan.edu.cn

摘要细菌耐药问题给人类健康和公共卫生安全带来巨大威胁，然而，新型抗菌药物的研发速度远不及病原菌耐药产生的速度。因此，研发新型的抗菌疗法迫在眉睫。噬菌体是一种可特异性感染并杀死细菌的病毒，其杀菌机制与传统抗菌药物截然不同，且对抗菌药物耐药的细菌同样有效，副作用少。噬菌体是治疗难治性耐药细菌感染极具应用潜力的新策略。近年来，噬菌体治疗超级细菌感染的成功案例越来越多。美国、欧盟、以色列、澳大利亚和中国等相继批准了噬菌体治疗耐药菌感染的临床试验。但是，目前噬菌体治疗的临床循证医学证据有限，缺乏统一的技术规范和评价体系。因此，我们组织噬菌体治疗过程中涉及的基础医学、临床医学、临床检验诊断学等多学科的专家，基于我国前期进行的噬菌体治疗临床试验经验，并通过文献检索和证据评价，共同起草噬菌体临床应用专家共识。我们期望通过这一共识规范噬菌体临床应用流程，促进噬菌体在临床实践中的应用，提高我国噬菌体临床应用水平，为有效遏制耐药细菌危机、更好地维护人民生命健康打下坚实的基础。

关键词噬菌体；临床应用；耐药细菌；专家建议

基金项目：国家重点研发计划（2021YFA0911200）；

DOI:10.3760/cma.j.cn311365-20230418-00120 中图分类号：R512.99

Chinese expert recommendation on phage therapy in the clinical practice
Chinese Phage Research Alliance

Phage Technology Committee of Chinese Society of Biotechnology

Medical Microbiology and Immunology Committee of Chinese Society for Microbiology

Corresponding authors: Shuai Le, Department of Microbiology, College of Basic Medical Sciences, Key Laboratory of Microbial Engineering Under the Educational Committee in Chongqing, Army Medical University, Chongqing 400038, China, Email:leshuai2004@tmmu.edu.cn; Chen Li-Kuang, Department of Laboratory Medicine, Clinical Pathology, Buddhist Tzu Chi General Hospital, Hualien 97002, China, Email:likuangchen@gmail.com; Zhu Tongyu, Department of Urology, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200030, China, Email: tyzhu@fudan.edu.cn

Keywords: Antibiotic-resistant bacteria; Phage therapy; Clinical application; Consensus

细菌耐药性问题日益严峻，导致耐药细菌感染患者的发病率、病死率和相关医疗费用大幅上升。《Lancet》杂志最新发表的研究报告证实，仅2019年全球就有770万人死于33种常见细菌感染，细菌感染已经成为仅次于缺血性心脏病的全球第二大死亡原因(1)。但是，新型抗菌药物的研发速度远远赶不上耐药细菌产生的速度(2)。因此，我国《遏制微生物耐药国家行动计划（2022-2025年）》明确提出，急需推动新型抗微生物药物的研发。

噬菌体是能够特异性感染细菌的病毒，可用于耐药细菌感染的治疗(3)。欧盟和美国于2013年和2016年相继启动噬菌体治疗临床试验，初步验证了噬菌体治疗耐药菌感染的有效性和安全性(4-6)。近年来，越来越多的报道证实了噬菌体治疗在脓毒症、尿路感染、骨髓炎和肺炎等感染救治中的价值(7-9)。但是，尽管具备这些潜在的优势，噬菌体治疗目前并没有在临床上广泛应用。噬菌体治疗的经验主要来源于全球少数几个治疗中心，我国目前仅有上海和深圳两地开展了噬菌体治疗(10-12)，可供参考的临床循证医学证据有限。目前，噬菌体治疗耐药菌感染面临的主要障碍是：全球都缺乏噬菌体临床应用的规范和指南，无标准化的治疗方案和疗效评估指标(13)。

为规范和促进噬菌体临床应用，中国噬菌体研究联盟、中国生物工程学会噬菌体技术专业委员会、中国微生物学会医学微生物与免疫学专业委员会组织国内的噬菌体研究相关基础和临床一线专家共同撰写《噬菌体治疗中国专家共识》。当前，噬菌体治疗在我国仍处于研究者发起的临床试验阶段，因此，本文总结并起草了基于噬菌体治疗临床试验框架下的专家共识。

一、适应证与禁忌证：

(一) 适应证

1. 有明确的病原菌感染依据的细菌性肺炎、膀胱炎、细菌性上尿路感染、伤口感染、脓腔感染、骨感染、人工支架或移植物感染。
2. 病原菌为常见的耐药菌（如：肺炎克雷伯菌、鲍曼不动杆菌、铜绿假单胞菌、屎肠球菌、粪肠球菌、金黄色葡萄球菌、嗜麦芽窄食单胞菌等），且有可裂解这些病原菌的噬菌体库。此外，如有尚未建立噬菌体库的非常见病原菌感染，需要从头筛选新噬菌体，患者所需等待时间可能较长。
3. 病原菌为多重耐药、泛耐药、全耐药的细菌，或敏感抗菌药物治疗超过一个疗程而无法治愈，或因患者自身原因对敏感性抗菌药物使用受限（如过敏、药物器官毒性等问题）。
4. 患者出现以上耐药菌感染，且能前往可开展噬菌体治疗临床试验的医院就诊。

(二) 1.2 禁忌证（如出现以下情况之一则不应行噬菌体治疗）

1. 未配型到有效的噬菌体。

2. 无可行的噬菌体给药途径或对给药途径（雾化吸入、置管、灌注、湿敷）有禁忌证。
3. 患者拒绝接受噬菌体治疗。

如出现以下情况不宜行噬菌体治疗，除非临床评定患者除噬菌体治疗外无其他可行的抗菌治疗手段：生命体征（体温、心率、血压、呼吸）不稳定；进展性癌症；严重免疫系统紊乱；代偿或者失代偿肝功能障碍。

二、治疗用噬菌体的要求

（一）噬菌体的要求

1. 应为严格的裂解性噬菌体，非溶原性噬菌体。
2. 应选择遗传背景清晰的天然噬菌体（基因组序列和易感细菌种类），也可选择基因工程改造后的噬菌体（8）。避免使用含有已知或潜在有害遗传因素（溶原相关基因、毒力及抗生素耐药相关基因）的噬菌体。
3. 应通过双层琼脂平板法、液体杀菌曲线法等进行裂解性噬菌体配型，根据配型结果（噬菌斑形态、杀菌曲线等）结合噬菌体自身特点（形态学、基因组等）选择治疗用的单种噬菌体或噬菌体鸡尾酒制剂。

（二）2.2 噬菌体制剂的质量控制要求

1. 外观：噬菌体制剂应包装完整，无肉眼可见的浑浊、沉淀、絮状物等。
2. 效价：噬菌体制剂对扩增宿主细菌的杀菌效价不低于 10^7 PFU/mL（PFU：噬斑形成单位）。
3. 无菌：噬菌体制剂应通过无菌检测。
4. 内毒素：噬菌体制剂所含内毒素残余量应不超过 250 EU/ 10^7 PFU。
5. 保质期：噬菌体制剂 4°C 保存，保质期应不低于 6 个月。

三、噬菌体治疗标准操作流程

（一）患者评估

由接诊医生或临床研究协调员(Clinical Research Coordinator, CRC)对患者进行评估。具体流程如下：

1. 细菌学检查：病原菌培养阳性是噬菌体治疗的首要条件，患者痰液、脓液、支气管肺泡灌洗液、尿液等均可用作细菌分离培养。对分离获得的菌株，需做抗菌药物敏感试验以判断耐药性和指导临床抗菌药物应用。
3. 噬菌体配型：通过双层琼脂平板法、液体杀菌曲线法等对病原菌进行裂解性噬菌体配型。适应证评估：根据患者病史、病原菌培养和药敏试验结果、噬菌体配型结果等信息进行适应证和禁忌证评估。若符合适应证，且不符合禁忌证，则进入签署知情同意和噬菌体治疗程序。若不符合适应证或符合禁忌证，则暂无法进行噬菌体治疗。

（二）知情同意

由于个体化噬菌体治疗仍处于临床试验阶段，需对患者和患者法定监护人进行充分的知情同意，实施噬菌体治疗前应告知患者及其家属。告知治疗目的、风险、注意事项及可能发生的并发症等，并签署知情同意书。

（三）噬菌体治疗

1. 治疗准备：噬菌体治疗前，需结合患者自身情况及疾病种类进行治疗前准备和治疗方案制定。治疗方案应包含噬菌体制剂的选择、给药剂量、递送方案、噬菌体治疗和随访期间的安全性和有效性评估指标和评估方案。
2. 噬菌体的选择和效价质检：根据针对患者病原菌的噬菌体配型结果（噬菌斑形态、杀菌曲线等）结合噬菌体自身特点（形态学、基因组等），选择治疗用的噬菌体或噬菌体鸡尾酒制剂。测定每一株治疗用噬菌体裂解患者病原菌的效价合格。
3. 噬菌体治疗：根据噬菌体治疗方案，使用质检合格的噬菌体或噬菌体鸡尾酒制剂对患者进行治疗。
4. 采样、观察和评估：根据噬菌体治疗方案，对治疗前后时间节点进行病原学、感染指标、临床症

状和安全性指标进行采样、检测、观察和分析。

5. 安全性措施：噬菌体治疗前后应观察患者耐受情况，并及时记录和处理可能出现的不良反应。
6. 补充建议：针对局部感染可单独使用噬菌体治疗，对于全身感染或局部感染继发全身感染，噬菌体治疗可作为辅助治疗手段，在使用抗菌药物治疗的同时使用噬菌体治疗。

(四) 噬菌体治疗效果和安全性评估

1. 根据治疗前后的细菌培养结果和临床指标变化判断噬菌体治疗效果（细菌是否清除、细菌数量变化、临床症状的改善等）。
2. 若患者未达到临床试验设定的终点指标或发生其他细菌感染，可选择出组，或重新进入新一轮评估和噬菌体治疗流程。
3. 根据治疗过程中或治疗后的不良反应进行评估，并分析与噬菌体治疗的相关性。

四、噬菌体治疗流程技术要求

(一) 细菌分离和裂解性噬菌体配型：

1. 细菌的分离鉴定：在微生物实验室对患者感染部位样本进行转种、纯化、鉴定，经临床医生判读检验结果，明确致病细菌。如果在平板上无法区分单菌落，应先用三线法接种培养后，再挑取单菌落进行细菌的鉴定。
2. 细菌培养：挑取 1 个单克隆进行液体接种培养，至对数期。如果平板上的单克隆区分度不佳，为节约时间，可根据细菌形态小心挑取 3 个单克隆同时液体接种培养至对数期。如发现细菌接种 12 h 后培养液还未浑浊，则不能进行噬菌体配型，需重新接种细菌。
3. 噬菌体配型：根据不同致病菌制备合适的培养基，先在固体培养基平板上标记患者信息及噬菌体编号，取 600 μL 对数期菌液与 15-20 mL 50 $^{\circ}\text{C}$ 融化态的 0.5% 半固体培养基混匀，制备双层琼脂平板。使用排枪吸取 2 μL 不同的噬菌体液，点在双层琼脂平板上。加样完毕后，将平板盖好，平放于生物安全柜内，待平板上的噬菌体液吸收后，再将平板倒置，置 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱培养。
4. 结果观察与记录：根据病原菌生长速度，在培养 4~12 h 后，查看噬菌体配型结果，拍照记录，同时填写《噬菌体配型报告单》。
5. 噬菌体选择标准：应选择噬斑透亮且较大（噬斑直径超过 5 mm）的裂解性噬菌体进行质检。如果没有配型到此类噬菌体，也可选择透亮但噬斑较小的噬菌体，不选择噬斑模糊的噬菌体。此外，还需要通过噬斑形成效率（EOP）实验，检测噬菌体裂解患者来源病原菌的效价(14)。通常，噬菌体效价应 $\geq 10^8$ PFU/mL，如果效价 $\geq 10^7$ PFU/mL 也可使用。但是，效价过低时，说明该噬菌体对病原体的裂解效率不佳，会导致临床治疗效果不佳。如果效价过高，可稀释至 $10^8 \sim 10^9$ pfu/mL 再使用。

(二) 噬菌体制剂的制备：

对于研究者发起的临床试验，鉴于成本、体量和可行性因素，可由研究者在实验室进行噬菌体扩增和内毒素去除等步骤，最后在符合 GMP 要求的无菌车间内进行过滤除菌和分装。对于企业发起或资助的大型噬菌体治疗临床试验，则建议企业按照 GMP 规范进行噬菌体制剂的生产，或委托具有相关资质的第三方进行生产。

1. 噬菌体扩增：推荐采用双层琼脂平板法进行噬菌体扩增，根据扩增宿主细菌的生物安全级别选择对应生物安全实验室进行操作。具体操作步骤为：取 100 μL 噬菌体与 300 μL -400 μL 对数生长期菌液混匀，静置 5-10 min 后加入到冷却至 50 $^{\circ}\text{C}$ 左右的 0.5% 半固体培养基中，混匀后铺双层平板，倒置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中过夜培养。第二天刮取已透明的上层半固体培养基于 10 mL SM 缓冲液中，4 $^{\circ}\text{C}$ 静置 12 小时，充分释放噬菌体。离心去除未裂解细菌和细菌碎片，上清经 0.45 μm 滤膜过滤，用 100 kDa 透析膜在 5 L 生理盐水中透析 3 次，即为噬菌体粗提液。
2. 内毒素去除：采用阴离子交换柱对噬菌体原液进行净化，去除内毒素。具体操作步骤为：先使用超纯水冲洗蛋白纯化仪的各个管路，使用强阴离子交换填料填充层析柱，并装机。将制备好的噬菌体粗提液进行上样，再采用 PBS 低盐溶液（150 mM NaCl）进行洗杂，最后使用高盐溶液（20 mM Tris-HCl, 2 M NaCl）进行等度洗脱，根据洗脱峰图收集噬菌体富集的洗脱液。将收集的洗脱液经

0.45 μm 滤膜过滤，用 100 kDa 透析膜在生理盐水中透析 3 次，即为噬菌体纯化液。采用双层琼脂平板法测定噬菌体纯化液的效价，效价需 $\geq 10^7$ PFU/mL 方可进入 GMP 环境进行净化和包装。

- 噬菌体制剂的包装：在符合 GMP 要求的无菌车间内，噬菌体纯化液在安全柜中经 0.22 μm 滤膜过滤后，按照 5 mL/瓶分装于预先贴好标签的塑料旋盖瓶中，使用压膜机封膜后拧紧旋盖，塑料袋封装。每批产品留样至少 6 个月以供追溯。噬菌体制剂可在常温下进行运输，随后尽快置于 4 °C 保存，6 个月内使用一般不影响疗效。

(三) 噬菌体制剂的质量检测：

- 外观检测：取待测噬菌体制剂，核对编号、生产批次等信息，肉眼观察制剂是否透明澄清，是否有异物杂质等。噬菌体制剂应包装完整、信息明确，液体无色透明或淡黄色，无浑浊、沉淀以及絮状物。
- 无菌检测：噬菌体制剂拆封后，取 200 μL 涂布于哥伦比亚血平板，37 °C 培养箱倒置培养 48 h，在 24 h 和 48 h 两个时间点分别观察是否有菌落长出。无细菌生长则判读为噬菌体无菌质控合格。
- （3）效价检测：采用 EOP 实验检测噬菌体制剂对细菌的效价。将细菌单克隆或悬液接种到 3 mL 液体培养基中，于 37 °C、200 rpm 震荡培养至对数生长期。取 300 μL 的对数期宿主菌，加入 5 mL 50 °C 已溶解的 0.5% 的上层半固体培养基，混合均匀后，铺双层平板，静置，待培养基凝固。取噬菌体制剂 100 μL，进行 10 倍梯度稀释，稀释至 10^{-7} 。在平板上依次点样，每个稀释度样本点 2 μL，待点样液体晾干后，放入培养箱中，37 °C 静置培养 6 h 或过夜。计算噬菌体的效价：噬菌体效价 (PFU/mL) = 噬斑个数 × 对应的稀释倍数 × 500 PFU/mL。噬菌体制剂的效价应 $\geq 10^7$ PFU/mL。
- 内毒素检测：使用鲎试剂内毒素检测试剂盒检测噬菌体制剂（非静脉使用）的内毒素含量，内毒素含量应小于 250 EU/ 10^7 PFU。
- 出具噬菌体效价、内毒素含量合格和无菌检测合格报告单。

(四) 噬菌体制剂对患者病原菌的杀菌效价检测：

在对患者进行噬菌体治疗前，使用患者来源的病原细菌对每一株治疗用的噬菌体进行杀菌效价检测，检测方法同 4.3.4。通常，对患者病原细菌的杀菌效价 $\geq 10^7$ PFU/mL 的噬菌体制剂方可用于治疗，或者组成噬菌体鸡尾酒制剂进行治疗。

(五) 噬菌体治疗标准方案

我国团队对呼吸系统、泌尿系统、创腔、皮肤等局部感染的噬菌体治疗已有较为成熟的治疗体系，总结成为 SOP，可安全、高效地开展噬菌体治疗。其它感染类型（脓毒症、前列腺炎、骨髓炎、鼻窦炎、中耳炎、骨感染等）的噬菌体治疗经验尚不丰富，需要在临床试验过程中，由噬菌体专家和相关科室临床医生共同制订治疗方案，积累经验，待 SOP 完善后，将另行公布。

1. 呼吸道感染的噬菌体治疗：

（1）根据患者病情，可直接进行噬菌体雾化治疗(3)；也可首先进行排痰治疗，使肺部的痰液尽可能的排出，再进行雾化治疗；如果肺部脓性分泌物过多，会显著影响噬菌体接触到细菌的概率，可用注射器预先混合 1 组噬菌体制剂，经纤维支气管镜进行肺部灌洗，灌洗治疗 4 h 之后，再进行雾化治疗。

（2）用注射器将噬菌体制剂（通常为 5 mL/瓶）注入雾化器中，患者佩戴面罩进行呼吸道雾化治疗；若选择不同噬菌体组成的鸡尾酒制剂，可分别注入雾化器中；若噬菌体鸡尾酒制剂混合后体积超过雾化器容积，则先混合噬菌体之后加入到雾化器的最大体积，或分 2 次进行雾化。插管患者需要先将雾化器接入呼吸机管路的进气管中，然后进行雾化。

（3）第一次噬菌体治疗 4 h 后，用同样的噬菌体制剂及操作进行第 2 次噬菌体治疗，本轮治疗结束。

注意事项和观察指标：

（1）噬菌体治疗前及治疗后第 1、3、5、7 天，取痰或肺泡灌洗液样本进行细菌学培养，记录痰液性状（痰液量、黏稠度、颜色等）。其中第 1、3、5 天若仍检出目标细菌，则增加药敏试验、噬菌体裂解谱试验。

(2) 若噬菌体治疗后 4 h 内出现发热的状况, 需采用物理降温, 或酌情使用药物对症处理(如: 吲哚美辛、对乙酰氨基酚、布洛芬等 NSAIDs 类药物)。同时, 建议进行血培养, 并检测血液中内毒素含量, 以及炎性标志物。

(3) 检测患者治疗前及治疗后 1~7 天的血常规、降钙素原(Procalcitonin, PCT)、血沉(Erythrocyte Sedimentation Rate, ESR)、C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP) 等指标, 情况允许时可进行胸部 CT 或胸片等影像学检查。

(4) 记录患者临床感染症状、生命体征的变化。

(5) 对于急性呼吸道感染患者, 2 次的噬菌体雾化可有效清除目标病原体。但是, 也存在耐受菌或异质性耐药菌, 导致病原体不能被彻底清除。需要根据检验结果和病情, 综合判断是否需要再进行第二轮的噬菌体治疗。

(6) 对于慢性呼吸道感染伴随肺部生理结构破坏的患者, 如慢性阻塞性肺疾病(COPD)、肺纤维化伴慢性感染患者, 在有敏感噬菌体、且患者使用噬菌体没有出现副作用的前提下, 应适当增加治疗次数、延长治疗时间(10~30 天, 根据检验结果调整治疗疗程); 在噬菌体制剂符合静脉注射标准时, 可静脉注射噬菌体治疗, 且内毒素含量须小于 5 EU/kg/h。

2. 泌尿系统感染的噬菌体治疗

泌尿系统感染主要分为下尿路感染和上尿路感染。下尿路感染包括膀胱炎、尿道炎, 可经导尿管膀胱灌注进行噬菌体治疗, 而上尿路感染, 如肾盂肾炎、输尿管炎, 可经尿道逆行插管肾盂灌注, 或经皮肾盂造瘘引流管灌注进行噬菌体治疗。

经导尿管膀胱灌注:

(1) 通过导尿管将膀胱尿液尽可能排出。

(2) 治疗前估算患者膀胱有效容量, 根据患者膀胱容量, 用林格氏液稀释 1 组噬菌体制剂鸡尾酒, 制剂体积略小于膀胱容积。也可灌注 50 mL 噬菌体稀释液, 然后让患者多喝水, 充盈膀胱。

(3) 经导尿管灌注噬菌体制剂, 拔掉导尿管, 憋尿 30 min, 然后由患者自行排出; 若留置导尿管, 可夹闭导尿管 30 min, 然后放空尿液。

(4) 每隔 12 h, 重复灌注 1 次, 连续治疗 6 次, 本轮治疗结束(10)。

经尿道逆行插管肾盂灌注:

(1) 首先用噬菌体制剂鸡尾酒膀胱灌注治疗 2 天(4 次)。

(2) 从第 3 天(即第 5 次)开始, 将噬菌体鸡尾酒稀释至 200 mL, 在膀胱镜下分别逆行置输尿管支架管至双侧肾盂水平, 留取双侧肾盂内尿液(标记左、右), 送细菌培养、药敏试验。

(3) 排空膀胱内尿液后, 退出膀胱镜, 双侧输尿管支架管引出体外, 并留置导尿管, 患者保持平卧位, 臀部垫高。

(4) 用 5 mL 注射器经输尿管支架管向肾盂内缓慢推注, 共推注 100 mL 左右, 推注过程中需询问患者是否有腰部不适症状。推注结束, 保留导管, 可夹闭输尿管导管, 噬菌体液在体内保留 30 min 后, 随尿液排出。膀胱镜检查术若安排在下午, 则上午可进行第 5 次的膀胱灌注治疗。

(4) 每隔 6 h, 重复灌注 1 次, 连续治疗 4 次。拔出双侧单 J 管及导尿管, 本轮治疗结束(16)。

经皮肾盂造瘘引流管灌注

此灌注方法适用于因输尿管严重狭窄无法逆行置管的上尿路感染患者; 或患者尿路感染复杂, 评估后需多轮噬菌体治疗的患者;

(1) 在超声引导下经皮肾盂穿刺, 并留置引流管;

(2) 短暂夹闭肾盂引流管, 留取引流管内尿液 5~10 mL, 送细菌培养、药敏试验。

(3) 用林格氏液稀释 1 组噬菌体制剂鸡尾酒, (单侧注射配置 100 mL, 双侧注射配置 200 mL), 用 5 mL 注射器缓慢经引流管灌注, 完成后, 夹闭引流管 30 min。如果患者出现腰部胀痛, 即开放引流管排出。

(4) 每隔 6-8 h, 重复灌注 1 次, 每天 3-4 次, 连续 3 天, 共进行 9-12 次, 本轮治疗结束。

注意事项和观察指标:

(1) 噬菌体治疗前及治疗后第 1、3、5、7 天送尿液或引流液进行尿常规检测和细菌学培养。其中第 1、3、5 天若检出目标细菌, 则增加药敏试验、噬菌体裂解谱实验。如果细菌出现药敏、噬菌体敏感性变化, 应及时调整和优化噬菌体制剂。

(2) 若噬菌体治疗后 4 h 内出现发热的状况, 需采用物理降温, 或使用药物对症处理(如: NSAIDs 类药物), 同时, 建议进行血培养, 并检测血液中内毒素含量, 以及炎性标志物。

(3) 检测患者治疗前及治疗后 1~7 天的血常规、肝肾功能、PCT、ESR、CRP 等指标。情况允许时可以采集膀胱镜、超声等影像学资料, 有助于疾病的诊断。

(4) 记录患者临床感染症状、生命体征的变化。

3. 4.5.3 创腔感染的噬菌体治疗

(1) 用引流管将创腔中的液体全部排出, 取中段引流液, 送细菌学培养。

(2) 用生理盐水经引流管冲洗创腔, 同时, 估算创腔容积。

(3) 用注射器将噬菌体制剂注入林格氏液中, 总体积略大于创腔容积。

(4) 经引流管灌注噬菌体, 夹闭引流管 2 h 以上, 然后导出。

(5) 预留 5~10 mL 噬菌体液, 浸润纱布后, 对创腔口进行 30 min 湿敷。

(6) 每隔 12 h, 重复灌注 1 次, 连续治疗 3 天, 本轮治疗结束。

注意事项和观察指标:

(1) 噬菌体治疗前及治疗后第 1、3、5、7 天送创腔引流液培养, 记录引流液性状(引流量、颜色、透明度、黏稠度等)。其中第 1、3、5 天若仍检出目标细菌, 则增加药敏试验、噬菌体裂解谱实验。

(2) 若噬菌体治疗后 4 h 内出现发热的状况, 需采用物理降温, 或使用药物对症处理(NSAIDs 类药物), 同时, 建议检测血液中内毒素含量, 以及炎性标志物。

(3) 检测患者治疗前及治疗后 1~7 天的血常规、PCT、ESR、CRP 等指标。

(4) 记录患者临床感染症状、生命体征的变化。

4. 创面感染的噬菌体治疗

(1) 用生理盐水对感染部位进行清洗, 充分暴露感染伤口。

(2) 用注射器混合噬菌体制剂; 如果噬菌体制剂体积较少, 可用生理盐水稀释到 20 mL。

(3) 在伤口处垫上洁净纱布, 用注射器将噬菌体制剂喷洒到纱布上, 湿敷 30 min。

(4) 约 8 h 后, 重复步骤 2-3, 本轮治疗结束(17)。

注意事项和观察指标:

(1) 噬菌体治疗前及治疗后第 1、3、5、7 天, 取感染创面分泌物进行细菌学检测。记录患者感染创面的状态, 如: 伤口愈合度、感染面干燥度、红肿度、分泌物量、粘稠度、颜色等。其中第 1、5 天若仍检出目标细菌, 则增加药敏实验、噬菌体裂解谱试验。根据检验结果, 判断是否需要需要进行第二轮噬菌体治疗。

(2) 若噬菌体治疗后 4 h 内出现发热的状况, 需采用物理降温, 或使用药物对症处理(NSAIDs 类药物); 同时, 建议检测血液中内毒素含量, 以及炎性标志物。

(3) 检测患者治疗前及治疗后 1~7 天(视病情选择时间点)的血常规、PCT、ESR、CRP 等指标。

(六) 噬菌体治疗临床试验的主要评价指标:

1. 首要指标(目标细菌变化): 噬菌体治疗结束后 1 周内, 隔日细菌培养连续 2 次未检出目标细菌被视为“治愈”; 若目标细菌载量明显下降(半定量降低 2+, 或绝对定量降低 2 log), 被视为“部分有效”。

2. 次要指标(临床症状变化): 临床症状得到明显改善, 包括临床体征和症状、影像学、实验室检查指标的改善并达到出院标准, 被视为“治愈”; 若先前记录的生理功能下降趋于稳定, 但有持续感

染的证据，则临床反应将被视为“部分有效”。

- “治愈”和“部分有效”将被归类为“良好的临床反应”。
- 临床体征和症状恶化，影像学、实验室检查证明感染持续，将被定义为“治疗无效”。

五、建议

(一) 噬菌体治疗安全性评估和应对

根据目前开展的噬菌体治疗经验以及国外相关案例的文献报道，在噬菌体制剂符合良好生产规范或类似的监管标准的前提下，噬菌体治疗安全性较高。如在口服、局部应用、雾化吸入(18)或静脉注射时，观察到短暂的副作用。例如，一位患者在两次高剂量注射噬菌体制剂后出现发热、呼吸短促和喘息，退烧药对症处理后症状缓解，后续使用较低剂量的噬菌体制剂，则没有再次出现发热等症状(19)。另一名患者在雾化吸入双链 RNA 噬菌体进行治疗后出现发热，对症处理后迅速缓解(18)。一名女性患者在接受第一剂静脉注射噬菌体后，在感染部位（脚后跟）出现发烧和短暂疼痛增加(20)。总体上，噬菌体治疗的安全性较高，副作用较为少见，对症处理即可，其他不良反应的相关报道较少(5)。但是，须针对所有不良反应提前准备相应设备和药物，如监护仪、非甾体类抗炎药、抗过敏药等。对出现不良反应的患者应及时对症治疗。对出现严重不良反应的患者应立即停止噬菌体治疗并及时对症治疗。

(二) 噬菌体耐受的处理

细菌可通过变异等多种机制对噬菌体产生抵抗，导致感染的复发(21, 22)。因此，在噬菌体的选择上，首选相对广谱、高效的一线噬菌体。如果治疗后出现噬菌体耐受菌，可对其再次分离有效的噬菌体进行第二轮噬菌体治疗，有时需要进行多轮的治疗才能彻底治愈(16)。如果时间允许，还可在实验室先分离噬菌体耐受菌，再配型针对噬菌体耐受菌的“二线”噬菌体，从而制备一组噬菌体“鸡尾酒”，一起使用可以有效预防耐受菌的出现(23)。此策略在多位新冠肺炎继发泛耐药肺炎克雷伯菌肺部感染的患者中应用，并取得较好的疗效(11)。此外，也可再次测试耐受菌对抗生素的敏感性，如果噬菌体耐受菌的药敏谱改变，可选择相应敏感抗生素进行后续治疗。

(三) 噬菌体与抗生素联用

噬菌体与抗生素的杀菌机制不同。如果还有有效的抗生素可选择时，推荐噬菌体与抗生素的联合使用(19, 24)。噬菌体治疗临床案例大多是采用噬菌体与抗生素协同使用的策略，可更快的杀灭细菌、减少复发的概率，同时，噬菌体还有可能导致噬菌体耐受菌恢复抗生素敏感性(25, 26)，因此，噬菌体与抗生素的协同使用可更彻底地清除细菌感染。目前还没有临床试验来比较噬菌体单独使用与噬菌体-抗生素联用的效果差异，这是今后可以开展的一个临床研究方向。

(四) 噬菌体环境喷雾

超级细菌通过污染医院环境导致感染在院内持续传播(27)。已有实践表明，针对病房及患者的超级细菌分离噬菌体，然后利用造雾机对噬菌体进行雾化，可使噬菌体广泛分布于病房各个物品表面，从而有效杀灭病房物品表面的超级细菌，显著减少超级细菌院内传播的风险，是院感防控、减少超级细菌感染概率的创新性方案(28-30)。部分患者住宅中的物品表面也有超级细菌污染，是金黄色葡萄球菌等细菌持续传播和感染的重要根源，可同样采用住房环境喷雾，减少耐药菌的定植和传播。

(五) 噬菌体治疗后观察与随访

每次噬菌体治疗后 24 小时需密切观察患者情况，如有不良反应，应立刻处理并及时上报。1 个疗程治疗结束后的 1 周内应对患者细菌学指标、感染指标和临床症状改善情况进行评估。噬菌体治疗疾病的随访及疗效判断指标主要遵循细菌感染性疾病的治疗指南，首要评价指标为显著抑制、降低或清除病原菌；次要评价指标为临床症状显著改善。

噬菌体治疗不应影响患者常规治疗（含抗菌药物治疗）。如第 1 个疗程结束 1 周后首要评价指标无改善，需对治疗后检出的细菌重新进行噬菌体配型，并根据配型结果重新评估是否满足噬菌体治疗适应症。如患者接受噬菌体治疗后病原菌清除，则可结束噬菌体治疗。如噬菌体治疗后显著抑制、降低

病原菌和/或患者症状明显改善，可重复 2-3 轮噬菌体治疗后结束治疗，视噬菌体配型情况决定中间是否更换噬菌体鸡尾酒组合。如患者连续 3 轮噬菌体治疗后首要评价指标和次要评价指标均无改善，此时不应继续噬菌体治疗，以免耽误病情。

随访至末次噬菌体治疗结束后至少 4 周，有条件者应进行大于 1 年甚至 5 年以上的长期随访。

六、展望和呼吁

为应对耐药菌危机，欧美多国纷纷加强了噬菌体治疗临床试验的研究力度。但是，我国在噬菌体临床试验中还面临多个层面的壁垒。我们呼吁噬菌体的基础和临床研究人员共同制订、完善噬菌体相关医药产品标准，规范噬菌体治疗方案，同时需要临床医生或者研究者开展更多高质量的噬菌体治疗临床研究，进一步论证其有效性和安全性。需要相关监管部门、医院、产业界、科研人员和临床医生共同携手，加速噬菌体在临床实践中的应用。

同时，呼吁我国相关监管部门能够出台配套政策，加强噬菌体及其相关工艺的知识产权保护，加速噬菌体医疗技术和噬菌体医药产品的监管与审批。目前，我国缺乏针对噬菌体治疗的监管法规，《中华人民共和国药典》中没有噬菌体药物的相关描述和规定。我国噬菌体治疗研究目前都是基于研究者发起的临床试验。结合我国目前的监管政策，噬菌体治疗有望通过两种方式进一步开发：国家食品药品监督管理局可按新药申报流程审批固定配方噬菌体鸡尾酒制剂；省级卫健委可将个体化噬菌体治疗技术列入限制类医疗技术，在指定医院备案后予以实施。噬菌体鸡尾酒药物和噬菌体治疗限制类医疗技术的获批，将直接加速我国噬菌体治疗的应用，必将有效地遏制细菌耐药危机，更好地维护人民群众的生命健康安全。

撰写组成员(以姓氏笔画为序):

马迎飞（中国科学院深圳先进技术研究院）、王冉（江苏省农业科学院）、王亚文（西安交通大学第一附属医院检验科）、王庆明（上海市公共卫生临床中心神经外科）、王明贵（华山医院抗生素研究所）、王铭杨（重庆市红十字会医院重症医学科）、王鹤（上海市公共卫生临床中心外科监护室）、邓清军（重庆市红十字会医院重症医学科）、石毅（浦东新区浦南医院检验科）、卢曙光（陆军军医大学基础医学院）、包娟（上海市公共卫生临床中心泌尿外科）、申捷（复旦大学附属金山医院）、乐率（陆军军医大学基础医学院）、戎瑞明（复旦大学附属中山医院泌尿外科、输血科）、朱同玉（复旦大学附属中山医院泌尿外科）、朱冬（复旦大学附属中山医院泌尿外科）、危宏平（中国科学院武汉病毒研究所）、刘冰（西安交通大学第一附属医院检验科）、严亚贤（上海交通大学农业与生物学院动物科学系）、李文伟（上海市公共卫生临床中心神经内科）、李阳（陆军特色医学中心创伤外科）、李劲松（军事医学研究院）、李明（中国科学院微生物研究所）、李金梁（哈尔滨第六人民医院内科）、李建辉（上海市公共卫生临床中心上海噬菌体与耐药研究所）、李俊（上海嘉会国际医院大外科）、李娜（复旦大学附属中山医院感染病科）、李晓宇（复旦大学附属中山医院药剂科）、李锋（上海市公共卫生临床中心呼吸科）、李锦铨（华中农业大学农业微生物资源发掘与利用全国重点实验室）、杨橙（复旦大学附属中山医院泌尿外科）、吴楠楠（上海市公共卫生临床中心上海噬菌体与耐药研究所）、邹全明（陆军军医大学国家免疫生物制品工程技术研究中心）、沈伟（重庆医科大学第二附属医院）、宋振举（复旦大学附属中山医院急诊科）、张仁芳（上海市公共卫生临床中心感染与免疫科）、张建中（上海市老年医学中心药剂科）、张晓林（上海市公共卫生临床中心呼吸科）、张婷婷（贵州医科大学生物工程学院）、陈立光（台湾花莲慈济医学中心临床病理部）、陈正（广州医科大学附属第二医院肾移植科）、周昕（创噬纪（上海）生物技术有限公司研发部）、胡必杰（复旦大学附属中山医院感染病科、感染管理科）、赵言玮（上海嘉会国际医院医生部）、钟秋（陆军特色医学中心检验科）、秦金红（上海交通大学医学院）、夏乾峰（海南医学院）、顾敬敏（吉林大学动物医学院）、皋源（上海交通大学医学院附属仁济医院重症科）、徐建青（上海市新发与再现传染病研究所）、郭志敏（吉林大学第一医院检验科）、郭明权（上海市公共卫生临床中心检验科）、黄广涛（深圳大学第一附属医院烧伤整形创面修复科）、黄琴（上海市公共卫生临床中心感染科）、崔泽林（上海市第一人民医院检验医学中心）、韩文瑜（吉林大学动物医学

院)、程梦珺(上海市公共卫生临床中心上海噬菌体与耐药研究所)、蒋梅(重庆市红十字会医院护理部)、谢建平(西南大学生命科学学院)、靳静(郑州希拓生物技术有限公司)、谭德猛(上海市公共卫生临床中心上海噬菌体与耐药研究所)、谭新(中国科学院深圳先进技术研究院)、瞿洪平(上海交通大学医学院附属瑞金医院重症科)

指导专家组: 翁心华(复旦大学华山医院感染科)、胡福泉(陆军军医大学基础医学院)、童贻刚(北京化工大学生命科学学院)、郭晓奎(上海交通大学全球健康学院)、卢洪洲(深圳市第三人民医院感染内科)

秘书组: 秦金红(上海交通大学医学院)、包娟(上海市公共卫生临床中心泌尿外科)、吴楠楠(上海市公共卫生临床中心上海噬菌体与耐药研究所)、顾敬敏(吉林大学动物医学院)

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献:

- [1] Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis[J]. *Lancet*, 2022,399(10325):629-655. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)02724-0.
- [2] Butler MS, Gigante V, Sati H, et al. Analysis of the Clinical Pipeline of Treatments for Drug-Resistant Bacterial Infections: Despite Progress, More Action Is Needed[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2022,66(3):e0199121. DOI: 10.1128/AAC.01991-21.
- [3] Li L, Zhong Q, Zhao Y, et al. First-in-human application of double-stranded RNA bacteriophage in the treatment of pulmonary *Pseudomonas aeruginosa* infection[J]. *Microb Biotechnol*, 2023,16(4):862-867. DOI: 10.1111/1751-7915.14217.
- [4] Jault P, Leclerc T, Jennes S, et al. Efficacy and tolerability of a cocktail of bacteriophages to treat burn wounds infected by *Pseudomonas aeruginosa* (PhagoBurn): a randomised, controlled, double-blind phase 1/2 trial[J]. *Lancet Infect Dis*, 2019,19(1):35-45. DOI: 10.1016/S1473-3099(18)30482-1.
- [5] Uytendaele S, Chen B, Onsea J, et al. Safety and efficacy of phage therapy in difficult-to-treat infections: a systematic review[J]. *Lancet Infect Dis*, 2022,22(8):e208-e220. DOI: 10.1016/S1473-3099(21)00612-5.
- [6] Poirel L, Nordmann P, de la Rosa J, et al. A phage-based decolonisation strategy against pan-resistant enterobacterial strains[J]. *Lancet Infect Dis*, 2020,20(5):525-526. DOI: 10.1016/S1473-3099(20)30140-7.
- [7] Schooley RT, Biswas B, Gill JJ, et al. Development and Use of Personalized Bacteriophage-Based Therapeutic Cocktails To Treat a Patient with a Disseminated Resistant *Acinetobacter baumannii* Infection[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2017,61(10)DOI: 10.1128/AAC.00954-17.
- [8] Dedrick RM, Guerrero-Bustamante CA, Garlena RA, et al. Engineered bacteriophages for treatment of a patient with a disseminated drug-resistant *Mycobacterium abscessus*[J]. *Nat Med*, 2019,25(5):730-733. DOI: 10.1038/s41591-019-0437-z.
- [9] El Haddad L, Harb CP, Gebara MA, et al. A Systematic and Critical Review of Bacteriophage Therapy Against Multidrug-resistant ESKAPE Organisms in Humans[J]. *Clin Infect Dis*, 2019,69(1):167-178. DOI: 10.1093/cid/ciy947.
- [10] Bao J, Wu N, Zeng Y, et al. Non-active antibiotic and bacteriophage synergism to successfully treat recurrent urinary tract infection caused by extensively drug-resistant *Klebsiella pneumoniae*[J]. *Emerg Microbes Infect*, 2020,9(1):771-774. DOI: 10.1080/22221751.2020.1747950.
- [11] Wu N, Dai J, Guo M, et al. Pre-optimized phage therapy on secondary *Acinetobacter baumannii* infection in four critical COVID-19 patients[J]. *Emerg Microbes Infect*, 2021,10(1):612-618. DOI: 10.1080/22221751.2021.1902754.
- [12] Tan X, Chen H, Zhang M, et al. Clinical Experience of Personalized Phage Therapy Against Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Lung Infection in a Patient With Chronic Obstructive Pulmonary Disease[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021,11:631585. DOI: 10.3389/fcimb.2021.631585.
- [13] Suh GA, Lodise TP, Tamma PD, et al. Considerations for the Use of Phage Therapy in Clinical Practice[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2022,66(3):e0207121. DOI: 10.1128/AAC.02071-21.
- [14] Gelman D, Yerushalmy O, Alkalay-Oren S, et al. Clinical Phage Microbiology: a suggested framework and recommendations for the in-vitro matching steps of phage therapy[J]. *Lancet Microbe*, 2021,2(10):e555-e563. DOI: 10.1016/S2666-5247(21)00127-0.
- [15] Luong T, Salabarria AC, Edwards RA, et al. Standardized bacteriophage purification for personalized phage therapy[J]. *Nat Protoc*, 2020,15(9):2867-2890. DOI: 10.1038/s41596-020-0346-0.
- [16] Qin J, Wu N, Bao J, et al. Heterogeneous *Klebsiella pneumoniae* Co-infections Complicate Personalized Bacteriophage Therapy[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2020,10:608402. DOI: 10.3389/fcimb.2020.608402.
- [17] Duplessis CA, Biswas B. A Review of Topical Phage Therapy for Chronically Infected Wounds and Preparations for a Randomized Adaptive Clinical Trial Evaluating Topical Phage Therapy in Chronically Infected Diabetic Foot Ulcers[J]. *Antibiotics (Basel)*, 2020,9(7)DOI: 10.3390/antibiotics9070377.
- [18] Li L, Zhong Q, Zhao Y, et al. First-in-human application of double-stranded RNA bacteriophage in the treatment of pulmonary *Pseudomonas aeruginosa* infection[J]. *Microb Biotechnol*, 2023,16(4):862-867. DOI: 10.1111/1751-7915.14217.
- [19] Aslam S, Lampley E, Wooten D, et al. Lessons Learned From the First 10 Consecutive Cases of Intravenous Bacteriophage Therapy to Treat Multidrug-Resistant Bacterial Infections at a Single Center in the United States[J]. *Open Forum Infect Dis*, 2020,7(9):ofaa389. DOI: 10.1093/ofid/ofaa389.
- [20] Khatami A, Lin R, Petrovic-Fabijan A, et al. Bacterial lysis, autophagy and innate immune responses during adjunctive phage therapy in a child[J]. *EMBO Mol Med*, 2021,13(9):e13936. DOI: 10.15252/emmm.202113936.
- [21] Egido JE, Costa AR, Aparicio-Maldonado C, et al. Mechanisms and clinical importance of bacteriophage resistance[J]. *FEMS Microbiol Rev*, 2022,46(1)DOI: 10.1093/femsre/fuab048.
- [22] Pires DP, Costa AR, Pinto G, et al. Current challenges and future opportunities of phage therapy[J]. *FEMS Microbiol Rev*, 2020,44(6):684-700. DOI: 10.1093/femsre/fuaa017.
- [23] Yang Y, Shen W, Zhong Q, et al. Development of a Bacteriophage Cocktail to Constrain the Emergence of Phage-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Front Microbiol*, 2020,11:327. DOI: 10.3389/fmicb.2020.00327.

- [24] Jenness S, Merabishvili M, Soentjens P, et al. Use of bacteriophages in the treatment of colistin-only-sensitive *Pseudomonas aeruginosa* septicemia in a patient with acute kidney injury—a case report[J]. *Crit Care*, 2017,21(1):129. DOI: 10.1186/s13054-017-1709-y.
- [25] Chan BK, Turner PE, Kim S, et al. Phage treatment of an aortic graft infected with *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Evol Med Public Health*, 2018,2018(1):60-66. DOI: 10.1093/emph/eoy005.
- [26] Chan BK, Siström M, Wertz JE, et al. Phage selection restores antibiotic sensitivity in MDR *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Sci Rep*, 2016,6:26717. DOI: 10.1038/srep26717.
- [27] Chng KR, Li C, Bertrand D, et al. Cartography of opportunistic pathogens and antibiotic resistance genes in a tertiary hospital environment[J]. *Nat Med*, 2020,26(6):941-951. DOI: 10.1038/s41591-020-0894-4.
- [28] Chen LK, Chang JC, Chu HT, et al. Preoptimized phage cocktail for use in aerosols against nosocomial transmission of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*: A 3-year prospective intervention study[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2022,236:113476. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2022.113476.
- [29] Chavignon M, Kolenda C, Medina M, et al. Bacteriophage-based decontamination to control environmental colonization by *Staphylococcus capitis* in neonatal intensive care units: An in vitro proof-of-concept[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2022,12:1060825. DOI: 10.3389/fcimb.2022.1060825.
- [30] Ho YH, Tseng CC, Wang LS, et al. Application of Bacteriophage-containing Aerosol against Nosocomial Transmission of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* in an Intensive Care Unit[J]. *PLoS One*, 2016,11(12):e0168380. DOI: 10.1371/journal.pone.0168380.



中华医学学会

