科学通报
生物污染物风险与控制专题 评 述
《中国科学》杂志社
SCIENCE CHINA PRESS

噬菌体介导的耐药基因传播机制及其对人类活动的响应

汤湘†, 柯彦楚†, 黄嘉华, 刘晨, 廖汉鹏*, 周顺桂*

福建农林大学资源与环境学院, 福州 350002

† 同等贡献

* 联系人, E-mail: liaohp@fafu.edu.cn; sgzhou@fafu.edu.cn

2025-12-30 收稿, 2026-02-10 修回, 2026-03-09 接受, 2026-03-10 网络版发表

国家自然科学基金(42307466, 42507116)和中国科协青年人才托举工程(2023QNRC001)资助

摘要 抗生素耐药基因的广泛传播对全球公共卫生构成严重威胁. 噬菌体是抗菌疗法的重要补充, 但其自身生命周期驱动的基因流动也是抗生素耐药性扩散的重要途径, 这一双重角色构成了当前研究的焦点与矛盾. 然而, 在人类活动加剧的背景下, 当前对复杂环境中噬菌体介导抗生素耐药性扩散的关键路径及其风险等级仍缺乏系统认知. 与普遍认知不同, 转导过程的载体(即转导颗粒)是基因组缺陷的噬菌体, 其在环境中转移抗生素耐药基因的效率低下; 相反, 溶原化过程的载体是正常的温和噬菌体, 温和噬菌体感染的普遍性及其引发“棘轮效应”的潜力使溶原化成为一条被严重低估的抗生素耐药基因传播路径. 进一步分析表明, 抗生素、重金属和微塑料等典型人为压力会显著影响上述路径, 加剧抗生素耐药基因的传播风险. 本文旨在明确噬菌体介导抗生素耐药基因传播的不同机制及其对典型人类活动的响应, 以期为理性利用噬菌体、阻遏抗生素耐药性传播提供理论依据.

关键词 噬菌体, 抗生素耐药性, 抗生素耐药基因, 转导, 溶原化, 人类活动

抗生素耐药性(antimicrobial resistance, AMR)问题已成为全球公共卫生领域的主要挑战之一. 据报告, AMR每年导致数百万例耐药菌感染, 并直接或间接造成数百万人死亡[1,2]. 尽管已投入大量资源开发新型抗生素和替代疗法, 但AMR的扩散速度远超新药研发的步伐. 在环境中, 抗生素耐药基因(antibiotic resistance genes, ARGs)的水平转移是AMR扩散的关键机制之一, 其中噬菌体(特异性感染细菌的病毒)作为可移动遗传元件, 其自身生命周期也可能导致ARGs在细菌群落中传播[3,4]. 因此, 解析噬菌体在环境ARGs传播中的作用及其影响因素, 对于理解AMR的生态动态并提供环境ARGs控制的理论依据具有重要意义.

噬菌体作为地球上数量最多的生命实体, 其生态功能近年来受到广泛关注. 噬菌体根据其生命策略可大致分为烈性噬菌体(virulent phage)和温和噬菌体(temperate phage), 前者仅执行裂解周期(lytic cycle, 即噬菌体侵染宿主细胞后, 立即利用宿主资源复制增殖并导致细胞裂解死亡), 后者则可在溶原周期(lysogenic cycle, 即噬菌体将自身基因组整合到宿主DNA中, 与宿主共存并随细胞分裂传播)和裂解周期之间切换[5]. 噬菌体捕食可杀死优势菌, 成为微生物群落演替的重要驱动力. 例如, 噬菌体捕食导致海洋中每日20%的细菌死亡[6]. 此外, 噬菌体可参与基因水平转移, 驱动微生物群落功能进化. 例如, 通过噬菌体转导(transduction)机制, 转导颗粒可包装前任细菌宿主的DNA转移到新宿主[7,8]. 此外, 温和噬菌体的溶原化(lysogeny, 指温和噬菌体将其基因组稳定整合到宿主染色体的过程)可实现其基因组在细菌群体中垂直与水平传播, 可能是环境中细菌的动态基因储存库[9]. 尽管这些过程在模拟条件下的模式菌株中已被证实, 但其在环境中介导

引用格式: 汤湘, 柯彦楚, 黄嘉华, 等. 噬菌体介导的耐药基因传播机制及其对人类活动的响应. 科学通报
Tang X, Ke Y-C, Huang J-H, et al. Phage-mediated dissemination of antibiotic resistance genes: mechanisms and their response to human activities (in Chinese). Chin Sci Bull, doi: 10.1360/CSB-2025-6014

© 2026《中国科学》杂志社

ARGs传播的贡献仍存在争议[10,11]. 与纯培养条件不同, 环境中ARGs的传播涉及复杂的微生物群落变化与演替, 迫切需要基于生态学角度对噬菌体介导ARGs转移的机制及现有证据进行整合性分析, 这对辩证理解噬菌体在AMR中的作用至关重要[2]. 特别是, 在人类世(anthropocene)背景下, 日益加剧的人类活动导致环境中多种污染物出现共选择作用, 可能加速噬菌体介导的ARGs传播[12], 但当前缺乏对这些交互效应的探讨.

本综述旨在系统梳理环境中噬菌体介导ARGs传播的机制与风险, 并评估典型人类活动的潜在影响. 本文首先概述噬菌体在环境中参与ARGs扩散的核心途径: 包括常见的转导作用、被忽视的溶原化和潜在生态调控; 其次, 基于现有文献数据揭示不同途径的风险; 最后, 探讨基于当前典型人类活动, 如抗生素、重金属、微塑料污染等如何影响这些过程. 针对噬菌体在AMR防控中的双重角色, 其应用策略应基于全面的风险评估, 避免"一刀切". 本综述可为理性控制环境中ARGs传播提供理论基础, 并为理解人类世中AMR扩散的复杂性贡献见解, 助力实现一体化健康(One Health)目标.

1 环境中噬菌体介导ARGs传播的潜在机制

转导、转化和接合作为不同细菌间基因水平转移关键驱动力, 它们在环境AMR扩散中发挥重要作用. 与转化(细菌直接摄取胞外DNA)和接合(通过细菌菌毛介导DNA传递)不同, 转导过程借助噬菌体衣壳作为载体, 包装前任宿主的DNA并注入新宿主, 从而实现细菌间基因水平转移. 通常, 转导作用被视为噬菌体介导ARGs传播的主要路径, 但这忽略了噬菌体自身基因组在微生物群落中扩散的潜力: 一旦携带ARGs的温和噬菌体完成侵染与整合, 也可以导致ARGs的传播, 即使这可能不再涉及细菌基因的水平转移. 此外, 噬菌体对群落中非耐药菌的捕食也可能改变微生物群落中耐药菌的生存压力, 进而影响耐药菌的命运. 下面将分别介绍转导、溶原化和生态调控介导AMR传播的原理.

1.1 转导

转导最早于1952年由Zinder和Lederberg在沙门氏菌中发现[13], 现在已成为研究细菌进化和基因工程的基础工具. 根据转移基因范围、基因包装形式的不同, 可进一步分为广义转导(generalized transduction)、特异性转导(specialized transduction)和侧向转导(lateral transduction), 以下将逐一介绍其作用机制及其在ARGs传播中的作用.

广义转导是由噬菌体在组装过程中错误地包装宿主染色体DNA引起的, 因此, 这一过程理论上可转移宿主基因组中的任何序列. 广义转导通常与采用头部包装策略(packaging site, 简称pac)的噬菌体相关. 头部包装是指噬菌体从DNA上的特定起点(即pac位点)开始切割, 然后把DNA分段塞进噬菌体衣壳, 直到塞满为止. 因此, 当宿主基因组中存在pac同源序列时, 噬菌体组装过程可能会将宿主的DNA错误地打包进入衣壳(形成的转导颗粒不再能执行噬菌体的全部功能), 然后随着转导颗粒侵染而进入新宿主. 烈性噬菌体和pac型温和噬菌体均可介导广义转导, 只要细菌基因组携带ARGs, 那么这些ARGs都有可能被随机包装, 进而通过广义转导传播至新的宿主. 肺炎克雷伯菌(*Klebsiella pneumoniae*)的耐药性演化就充分展示了这一过程. 研究发现, 多重耐药肺炎克雷伯菌的烈性噬菌体虽然以裂解宿主为目标, 但在快速增殖过程中会由于pac位点的识别误差, 将宿主细胞内的碳青霉烯类耐药质粒(如携带bla_{KPC}的质粒)或染色体上的抗性岛错误包装[14].

特异性转导仅由温和噬菌体介导[15], 源于前噬菌体(prophage, 即温和噬菌体在溶原周期中的整合版本)从细菌染色体上诱导时对整合位点(即att位点)的不精确切除, 导致一段宿主细菌DNA被包含在诱导切割的环化混合DNA中. 环化的混合DNA通过滚动环形复制(rolling circle replication)产生线性串联体, 随后通过头部包装策略或位点包装策略(cohesive-end site, 简称cos)切割线性串联体以完成DNA包装[16]. 这种混合包装的物理基础在于噬菌体衣壳能够容纳多大DNA分子, 如在λ噬菌体中约为噬菌体自身的基因组DNA长度的107%[17], 在其他噬菌体中呈现类似上限[18]. 特异性转导是一种低频事件, 相对于精准的前噬菌体切除, 其发生频率约为10^{-6}[19]. 与广义转导类似, 特异性转导通常是"一次性"事件, 因为转导颗粒存在基因缺陷而无法进一步繁殖. 当细菌基因组的att位点附近含有ARGs时, 这些邻近ARGs就可能通过特异性转导传播至新的宿主. 铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)中前噬菌体与耐药基因的互作提供了有力证据. 研究表明, 在临床分离的铜绿假单胞菌中, 某些温和噬菌体的整合位点常靠近携带ARGs的基因岛[20]. 当环境压力诱导前噬菌体进入裂解周期时, 不精确的切除过程会导致这些邻近的耐药基因装入噬菌体头部[21].

侧向转导是一种近年来在某些细菌中发现的由少数pac型温和噬菌体介导的基因水平转移机制[22]. 它与pac型温和噬菌体参与的特异性转导类似, 都仅在前噬菌体诱导期间发生, 但有两大主要差异: (1) 特异性转导发生在DNA切除阶段, 而侧向转导发生在诱导的极早期(DNA复制起始后, 但尚未切除); (2) 侧向转导采用连续包装策略, 第一段DNA从pac位点开始, 后续段则从上一段终点继续. 这种机制提高了噬菌体整合位点附近的基因转移频率, 这一效应可被定位在该区域的移动遗传元件所利用. 近期研究显示, 侧向转导的频率比广义转导高2~3个数量级, 能够将超过500 kb染色体DNA在多达12个连续噬菌体衣壳中的转移. 理论上, 侧向转导具备动员宿主基因组中所有ARGs的能力, 但是目前仅在金黄色葡萄球菌和大肠杆菌中有观察到, 其他细菌是否具有侧向转导能力、以及其在环境ARGs传播中的贡献依然未知[23,24].

1.2 溶原化

溶原化指温和噬菌体感染宿主细菌后, 将其基因组稳定整合到宿主染色体上的过程, 整合的前噬菌体可随宿主DNA同步复制并稳定遗传给子代细胞. 与转导不同, 溶原化是由正常温和噬菌体的固有生命周期介导的. 这一过程涉及将噬菌体基因组整合到宿主染色体中, 并作为休眠前噬菌体存在, 直到被诱导进入裂解周期(图1). 在宿主细菌体内, 前噬菌体的诱导激活功能可能被破坏, 无法重新进入裂解周期, 形成缺陷前噬菌体(cryptic prophage). 缺陷前噬菌体保留了对宿主的益处(如对重复感染的免疫, 增强宿主适应性), 同时不能被诱导, 从而可以长期与宿主形成互利共生的关系. 与转导相比, 溶原化为细菌宿主提供了更强的适应性优势. 例如, 前噬菌体不仅在整合状态下协助宿主抗逆, 还可以通过诱导后的再次溶原化传播有益基因[25]. 溶原化过程并非主动在不同细菌间交换细菌基因, 但只要温和噬菌体基因组含有ARGs, 它将具备介导ARGs传播的强大潜力[9].

1.3 生态调控

近期研究显示, 噬菌体捕食可能通过杀死耐药菌或非耐药菌促进微生物群落中ARGs的传播. 一方面, 噬菌体捕食群落中耐药菌会使其破裂, 导致ARGs释放至胞外. 这些基因片段在降解前, 可通过转化等过程, 被其他微生物摄取[26,27]. 另一方面, 噬菌体在群落中捕食非耐药菌也可能促进ARGs传播, 即噬菌体通过捕食导致群落条件有利于耐药菌增殖: 在单菌生物膜中, 噬菌体捕食可改变生物膜结构, 促进质粒编码ARGs的转移[28]; 在双菌生物膜体系中, 噬菌体捕食可在生物膜外围杀死生长迅速的非耐药菌, 间接保护耐药菌(即使它们承担着ARGs带来的适应性代价), 使其在无抗生素环境中也能维持耐药性[29]. 烈性噬菌体捕食作用影响群落中特定种群的多样性及对整个群落稳定性的影响, 可能是噬菌体介导ARGs传播的新动力(即生态调控机制), 这为理解环境中耐药性流行提供了新视角, 可能影响环境微生物组(如土壤或水体)中的ARGs动态. 然而, 这些结果主要来自控制模拟条件下的模式细菌, 忽略了自然微生物组的复杂性, 如多物种互动、空间异质性和环境梯度. 未来研究应采用多组学结合原位方法追踪环境中噬菌体捕食作用, 以期在复杂群落中验证生态调控机制的普适性.

2 环境中的ARGs转导: 高载体丰度与低传播效率

2.1 目前区分正常噬菌体与转导颗粒的方法仍存在挑战

如前所述, 转导颗粒是错误包装了宿主DNA的噬菌体, 因此与正常噬菌体的基因组存在显著差异. 为确保术语的准确性, 我们将“正常噬菌体”定义为封装正常病毒基因组的感染性噬菌体, 它能吸附易感宿主并启动新的生命周期(裂解或溶原), 最终产生后代. 转导颗粒则指形态类似于噬菌体但缺乏感染性的实体(但可以借助噬菌体外壳完成DNA注入). 在环境病毒组研究中, 常需对样品中病毒组分进行富集、以得到满足分析需求的足量DNA. 然而, 虽然粒径分离浓缩法(如切向流过滤)可以获得转导颗粒和正常噬菌体的混合物, 但二者在外形上没有明显差异, 这导致多种锚定噬菌体ARGs研究方法存在偏倚风险. 首先, 尽管去除游离DNA后的PCR常用于验证噬菌体是否携带ARGs, 但其结果无法区分转导颗粒和正常噬菌体的贡献. 其次, 宏基因组数据中正常噬菌体序列占比低, 在常规测序深度下覆盖度通常不足, 致使研究者使用宽松的探索性阈值, 导致研究结果存在较高假阳性. 此外, 针对类病毒颗粒(virus-like particles, VLPs)的病毒组分析也受转导颗粒中宿主DNA的影响. 大量的基于qPCR的实验结果和基于宽松阈值的序列比对的宏基

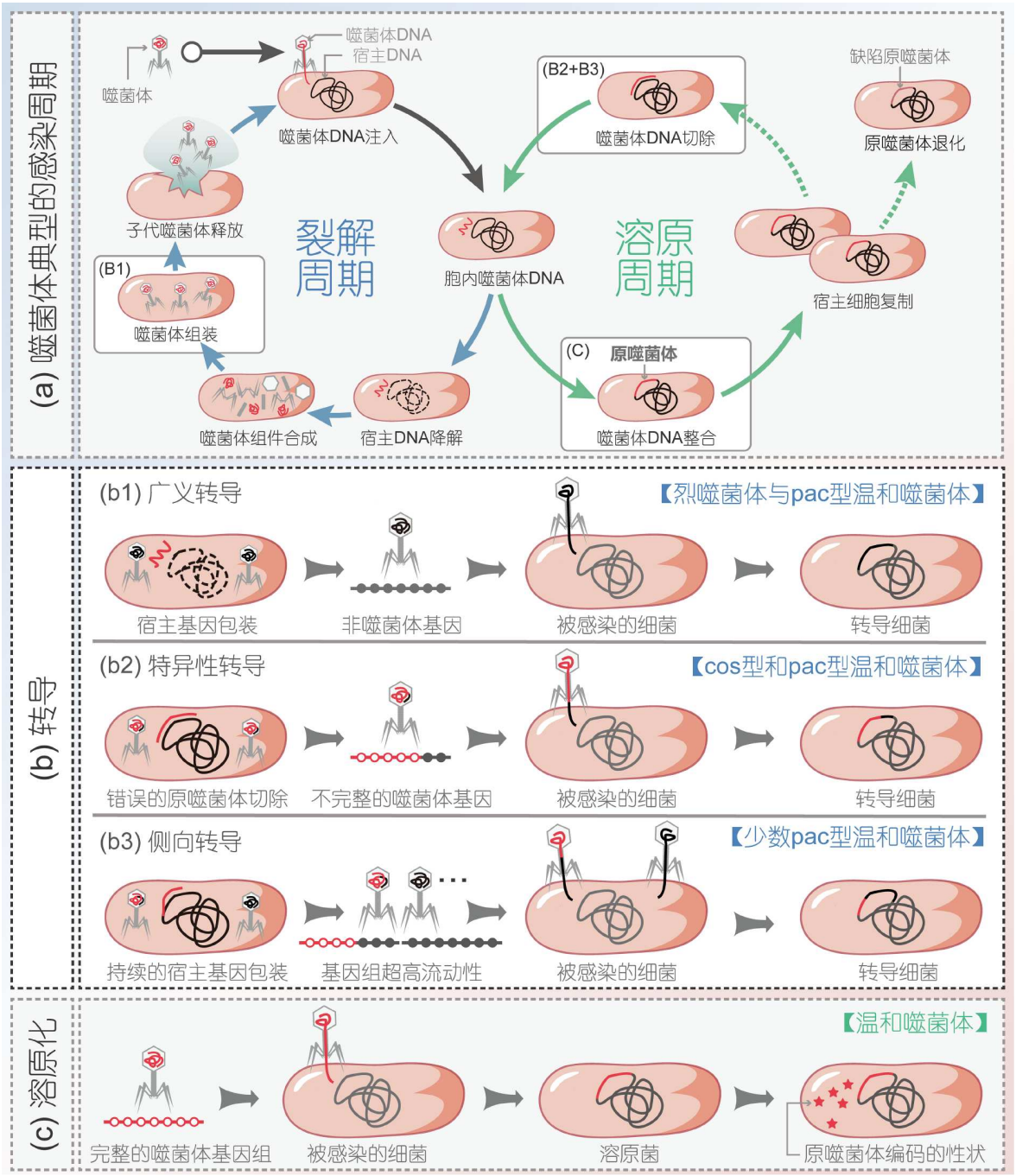


图 1 噬菌体生命周期中涉及的基因水平转移机制. (a) 噬菌体生命周期概述, 其中标注了转导和溶原化发生的阶段. (b) 转导介导基因水平转移的机制特征, 其中具体包括广义转导(b1)、特异性转导(b2)及侧向转导(b3). (c) 溶原化介导基因水平转移的机制特征

Figure 1 Mechanisms of horizontal gene transfer involved in the phage life cycle. (a) Overview of the phage life cycle, with stages where transduction and lysogeny occur indicated. (b) Mechanistic features of transduction-mediated horizontal gene transfer, specifically including (b1) generalized transduction, (b2) specialized transduction, and (b3) lateral transduction. (c) Mechanistic features of lysogeny-mediated horizontal gene transfer

因组分布表明, 病毒组分是ARGs重要的储存库. 然而, 使用严格阈值的序列比对结果和噬菌体分离验证结果显示, 噬菌体很少携带ARGs. 综上所述, 噬菌体在ARGs传播中的角色之所以存在争议, 主要原因在于相关研究方法存在局限性, 导致不同研究得出的结论不一致.

2.2 转导颗粒(而非正常噬菌体)作为环境ARGs储存库

qPCR已在多种环境样品的VLPs组分中检测到ARGs. 多数研究常用DNase处理结合16S rRNA基因检测以排除细菌污染, 随后将VLPs组分称为噬菌体组分, 但这些组分中包含转导颗粒和正常噬菌体, 故本节统一使用VLPs表述. Calero-Cáceres等人[30]在河流VLPs组分中(经氯仿和DNase处理)检测到bla_{TEM}、$bla_{\text{CTX-M}}$、*qnrA*、*qnrS*、*mecA*和*sul1*六种ARGs. 类似地, 在流入爱尔兰都柏林湾的河流中, VLPs组分也检出bla_{TEM}、bla_{SHV}、*qnrS*和*sul1*[31]. 在污水处理厂的污水[32]和厌氧消化污泥中[33], VLPs组分中都存在qPCR法可检出的ARGs. 值得一提的是, 噬菌体衣壳能够保护ARGs的稳定, 因为在不同温度、pH及消毒条件下, 污水VLPs组分中的ARGs均比细菌组分更稳定[34]. 在农业土壤中, qPCR法在VLPs组分中检测到*strA*、*strB*、*sul1*、*aadA*和$bla_{\text{OXA-20}}$等ARGs[35]. 此外, 堆肥VLPs组分也携带多种ARGs[36]. 在生菜、菠菜、黄瓜等新鲜蔬菜及其栽种土壤中, VLPs携带多种ARGs, 且大肠杆菌暴露于这些VLPs后ARGs丰度增加, 表明(至少部分)VLPs具有感染性和可转移ARGs能力[37]. 因养殖过程中抗生素使用强度高, 畜禽粪便是ARGs富集的热区, 研究发现VLPs在畜禽粪便中是重要的ARGs载体[38]. 此外, 分析健康成人的粪便中VLPs中有73%~77%的样本中可检测到ARGs[39,40]. 综上所述, qPCR方法可以在不同环境的VLPs组分中检出ARGs.

使用严格阈值难以从游离的正常噬菌体基因组中检出ARGs, 这与基于qPCR的结果形成鲜明对比. 早期病毒组研究常使用较宽松的比对参数进行探索, 导致ARGs检出率较高. 例如, 在医院废水病毒组中, 0.14%的contigs携带45种ARGs(期望≤1×10^{-5}, 覆盖度≥80%, 相似度≥40%)[41]; 网络分析显示猪场污水处理系统中噬菌体序列(phage clusters)与ARGs丰度显著相关[42,43]; 城市地表水病毒组中发现了$bla_{\text{HRV-1}}$和$bla_{\text{HRVM-1}}$(期望≤1×10^{-5}, 相似度≥ 60%)[44]. 然而, 探索性阈值极易产生假阳性. 当采用更严格的比对参数时, 噬菌体contigs中ARGs的检出率迅速下降. 一项覆盖多种土壤类型的病毒组研究(长度>75 bp, 期望<1×10^{-7}, 相似度>80%)发现, 噬菌体几乎不携带ARGs[45]. Enault等人[11]重新分析人类肠道病毒组数据后指出, 使用严格阈值将携带ARGs的噬菌体contigs从宽松阈值下的421个降至2个, 差异主要源于宿主DNA污染和序列鉴定阈值不高. 类似地, 对猪粪便中纯化病毒组分的高深度测序显示, 活跃的正常噬菌体中ARGs比例低于0.02%[46]. 以上证据表明, 在严格控制污染和比对阈值的条件下, 游离的正常噬菌体很少携带ARGs.

纵观上述研究, 基于qPCR的方法虽灵敏, 但其无法区分携带ARGs的VLPs究竟是转导颗粒, 还是正常噬菌体. 这种混淆可能导致过高估计正常噬菌体在环境中传播ARGs的直接作用. 正如废水相关研究中所揭示的: 即使噬菌体基因组本身不编码ARGs, 其子代病毒颗粒也可能通过包装宿主DNA而携带ARGs信号[47]. 要厘清这一问题, 最直接的证据是获取环境中的正常噬菌体分离株, 并验证其基因组是否整合有ARGs. 然而, 这类分离与验证工作费时费力, 导致目前确凿的实验证据仍然有限. 因此, 基于现有文献, 我们倾向于认为: 在环境病毒组分中检测到的ARGs, 其主要贡献很可能来自于转导颗粒. 为确定环境样本中携带ARG的正常噬菌体(而非包装错误的转导颗粒), 我们建议采用以下标准化的鉴别流程: (1) 依次通过0.22 μm滤膜过滤及氯化铯密度梯度离心(利用密度差异高效分离结构完整的病毒颗粒); (2) 采用高浓度DNase I深度消化纯化后的病毒液, 以彻底降解外部残留的宿主基因组DNA及环境游离DNA; (3) 结合长读长(long-reads)宏基因组测序技术与VirSorter2 等生物信息学工具, 通过分析ARG与病毒特征基因的物理连锁关系, 排除误包装片段(严格阈值应达到以下标准: 相似度≥80%; 覆盖度≥70%; 期望≤1×10^{-10}); (4) 利用宿主菌进行噬菌斑实验或转导验证, 从生物学角度确证其感染力及介导ARGs转移的潜力. 未来研究亟需通过分离实验与分子生物学手段相结合, 方能最终阐明噬菌体在环境ARGs传播中的真实潜力与相对重要性.

2.3 转导作用低效传播ARGs成因分析

广义转导介导ARGs传播涉及三个步骤: (1) 噬菌体衣壳包装的宿主DNA片段包含ARGs; (2) 转导颗粒完成感染; (3)ARGs通过同源重组整合入受体细菌基因组. 这些步骤均存在发生效率低的限制. (1) 宿主DNA错误包装的概率通常为总噬菌体颗粒的10^{-5}~10^{-6}[13,48]. 一项与甲氧西林耐药金黄色葡萄球菌和噬菌体的共培养实验显示, 仅10^{-8}的转导颗粒携带ARGs[49]. ARGs被噬菌体衣壳包装的概率取决于其在宿主细胞中的密度, 这可以解释在耐药菌丰富的环境中更易检测携带ARGs的VLPs. (2) 转导颗粒需逃避宿主细菌的

防御机制. 同时, 大多数噬菌体的宿主谱较窄, 将转导范围限制在亲缘紧密的菌株, 从而限制ARGs在不同分类群间的传播. 广宿主范围噬菌体可通过多功能受体结合蛋白感染多个属, 在混合群落中提高转导效率. 宏基因组分析显示, 多价噬菌体在环境中并不罕见, 所以在高多样性生境ARGs转导可能增强[50,51]. (3) 转导颗粒中的宿主DNA需与新宿主细菌基因组有足够同源性以整合, 因此广义转导更可能发生在同种微生物间. 因此, 广义转导对多样化环境中ARGs传播的贡献可能有限[52,53].

特异性转导介导ARGs传播同样涉及三个步骤: (1) 前噬菌体诱导时在att位点错误切割导致包装相邻细菌DNA, 而这些相邻DNA同时包含ARGs; (2) 释放含有ARGs的转导颗粒; (3) ARGs通过同源重组整合入受体细菌基因组. 特异转导频率低于广义转导, 估算为10^{-6}~10^{-7}, 且限于前噬菌体整合位点(*attL*或*attR*)附近的基因[54]. 具体而言, 前噬菌体通常整合入细菌基因组的保守区域, 而ARGs多位于可变或附属区域, 从而降低ARGs位于att位点附近的概率[55,56]. 此外, 同源重组同样依赖转导颗粒中的宿主DNA与新宿主细菌基因组有足够同源性. 目前, 关于特异性转导介导ARGs传播的证据有限, 但可预期其贡献较低. 同时, 侧向转导仅在少数模式细菌中报道, 目前也没有其在环境中介导ARGs传播的明确证据[8,22].

以上研究表明环境中ARGs的转导效率主要受耐药菌丰度和噬菌体介导宿主裂解效率影响, 这已得到现有研究的支撑. 例如, 抗生素治疗可增加患者粪便样品中耐药菌的丰度, 同时VLPs组分中ARGs丰度也随之升高[57], 支持细菌群落中耐药菌丰度对ARGs转导的决定性作用. 此外, 噬菌体介导的细菌裂解效率取决于宿主密度. 在水生环境中, 当细菌密度约10^6 cells/mL时(土壤中约10^8 cells/g), 裂解周期占据主导, 从而最大化转导潜力[58,59]. 因此, 噬菌体转导介导的ARGs转移由细菌群落动态驱动, 在环境中对ARGs传播影响有限.

3 环境中的溶原化: 被低估的ARGs传播路径

3.1 前噬菌体在环境中广泛存在

前噬菌体的普遍性是评估其通过溶原化传播ARGs潜力的关键, 因此本节介绍不同环境中的溶原频率(frequency of lysogeny, FL, 指携带至少一个前噬菌体的细菌比例)[60,61]. 研究显示, 溶原菌在生态系统中普遍存在. 例如, 海洋上层光照区原核微生物FL为31%, 深海区达55%[62]; 土壤宏基因组证实温和噬菌体广泛分布[63], FL代理指标(如可诱导细胞比例)从农田土壤的34%[64]到沙漠土壤的84%[65]不等. 肠道中FL更高, 反刍动物为60%[66], 人类为70%[67]. 主流观点认为, 宿主密度是FL的主要驱动因素, 可用“避难所(refuge)”-“杀死优胜者(kill the winner)”-“搭乘优胜者(piggyback the winner)”范式概括[59,68]: 在水生环境中, 噬菌体捕食效率最大化的细菌密度约为10^6 cells/mL, 而在土壤中该阈值可能变为10^8 cells/g. 当宿主密度显著高于或低于此阈值时, 噬菌体更倾向于进入溶原周期, 从而提高群落FL[69]. 由于前噬菌体在水生、陆生和肠道细菌中的广泛存在, 凸显其通过生命策略转换介导ARGs传播的潜力.

3.2 前噬菌体中ARGs的多重功能

温和噬菌体与宿主遗传物质的融合为两者形成互惠关系提供了基础, 这种互惠关系分布广泛, 并构成微生物环境适应能力的重要部分[58]. 根据现有证据, 温和噬菌体感染可能通过对抗环境胁迫和强化竞争两种路径提升宿主适应能力, 这为理解温和噬菌体何时更易携带ARGs提供了线索. 大量证据表明, 环境胁迫可显著提升微生物群落中的FL. 例如, 在铬污染土壤中, FL随铬浓度从0.9 mg/kg时的1.5%显著上升至465.4 mg/kg时的22.8%[70]. 抗生素暴露作为临床与农业环境中常见胁迫, 可增强温和噬菌体的溶原化, 从而放大其介导ARGs转移的潜力. 在好氧膜生物反应器中, 四环素和红霉素等抗生素胁迫可增加温和噬菌体携带ARGs的频率, 从而增强宿主对抗生素的耐受能力[71]. 与此同时, 抗生素产生以及对药性获取的策略, 是微生物早在人类发现抗生素之前就已存在的自然机制. 这意味着ARGs原本并非针对人类抗生素, 而是帮助细菌在自然环境中应对竞争压力(如资源争夺或毒素防御)[72]. 在无抗生素的贫营养及富营养生境中(这些生境中溶原周期在噬菌体种群中占主导), 温和噬菌体携带ARGs的证据广泛存在, 表明它们可以帮助细菌应对自然竞争[73,74]. 例如, 在无抗生素的水产养殖系统中, 由于高微生物密度和生长竞争, 前噬菌体通过整合ARGs在细菌群体中维持耐药性[73,74]. 河流与湖泊等淡水病毒组通过深度测序揭示新型前噬菌体编码ARGs, 这些ARGs可能帮助细菌抵御环境毒素或竞争者[44]. 在无抗生素暴露的肠道微生物群中, 温和噬菌体携带常见

ARGs(如*norM*、*mdtK*)[10,75,76]. 此外, 即使在无抗生素的极端环境(如阿塔卡马沙漠), 前噬菌体仍携带ARGs[77,78]. 总之, 以上证据表明, 自然竞争能够在不依赖人为抗生素压力的条件下维持耐药多样性, 从而为细菌带来适应性优势.

3.3 温和噬菌体介导ARGs转移的潜在"棘轮效应"

由于参与溶原化过程的噬菌体是能够在裂解与溶原周期转换的正常温和噬菌体, 其生命扩张的本质属性使其具备持续感染能力. 理论上, 温和噬菌体可通过以下路径实现感染扩张的"棘轮效应"(即一种单向累积过程, 一旦感染发生, 便难以逆转, 导致感染范围持续扩大), 此时携带ARGs的温和噬菌体存在指数型扩增的潜力(图2). (1) 稳定整合的前噬菌体被诱导. 这一过程可由多种路径触发, 包括无外部诱导剂的自发诱导[79](通常由随机分子事件或低水平RecA蛋白激活引起)、外源物质损伤细菌DNA后引发的SOS响应(导致前噬菌体阻遏蛋白失效)[80,81], 以及独立于SOS响应的机制(如小分子蛋白[82]或小分子多肽[83]). 由于这些诱导因子在环境中可能经常出现, 因此环境中前噬菌体被激活诱导的可能性普遍存在. (2) 环境条件在一段时间内有利于温和噬菌体维持裂解周期, 如果前噬菌体诱导后环境仍有利于溶原周期, 则温和噬菌体的扩张规模受限. (3) 环境条件切换至有利于温和噬菌体维持溶原周期. 通过多轮裂解周期后, 微生物群落中的游离温和噬菌体将大幅增多. 若此时环境转向有利于溶原周期(如微生物密度增加), 它们则将重新执行以上整合—诱导—裂解—再整合的循环过程, 从而实现ARGs在群落中的棘轮式传播. 目前, 环境中大量宏基因组数据为溶原化介导ARGs传播提供了间接证据. 在污水处理厂中, 噬菌体相关的可移动遗传元件较质粒相关元件更富集, 且温和噬菌体与韩国城市设施出水中核心ARGs强烈相关[84,85]. 一项涵盖60个国家79个城市的全球污水研究发现显著的温和噬菌体-ARGs关联[86]. 值得注意的是, 游离的温和噬菌体可通过黏附于非宿主细菌表面[87,88]或水生环境中的微塑料[89], 这强调了温和噬菌体在复杂生态系统中推动ARGs扩张的潜力. 但是, 目前关于溶原化介导环境中ARGs传播的研究依然较少, 将来需要针对以上过程开展基于实验和组学多尺度的研究.

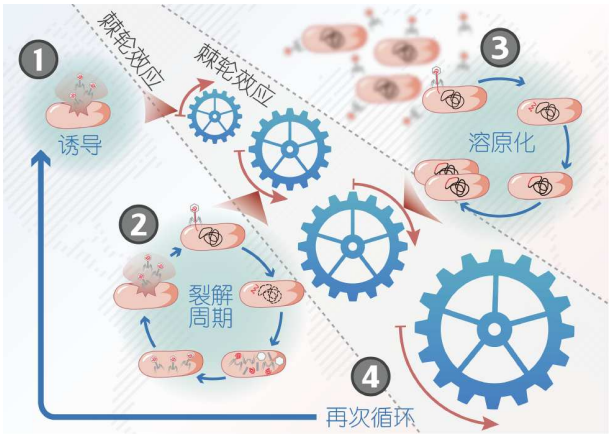


图 2 溶原化介导ARGs快速扩散的"棘轮效应"的条件. (1) 携带ARGs的前噬菌体被诱导. (2) 释放的噬菌体执行一段时间裂解周期以快速增殖. (3) 增殖后的温和噬菌体重新回到溶原周期形成前噬菌体. (4) 开启另一个潜在的上述循环

Figure 2 Conditions for the "ratchet effect" of lysogeny-mediated rapid dissemination of antibiotic resistance genes (ARGs). (1) The prophage carrying ARGs is induced. (2) The released bacteriophages undergo a period of the lytic cycle for rapid proliferation. (3) The proliferated temperate bacteriophages return to the lysogenic cycle to form prophages. (4) Initiation of another potential cycle as described above

3.4 溶原化介导ARGs传播的长期低估及其研究展望

环境中溶原化介导的ARGs传播长期被忽视, 主要因为传统上噬菌体研究更注重噬菌体的裂解作用以对抗耐药菌, 而忽略了温和噬菌体作为ARGs载体的"双刃剑"作用——它们可将ARGs整合到细菌基因组中, 促进AMR在细菌群体中的稳定扩散, 尤其在人类影响的环境中, 这种富集现象才最近被揭示[90]. 事实上, ARGs由温和噬菌体携带的概率远高于烈性噬菌体中: 一项研究分析了38861个噬菌体序列, 仅0.47%携带ARGs, 且60%是温和噬菌体[91]. 更多携带ARGs的温和噬菌体则以整合形式存在: 本团队最近的细菌单基因组分析揭示, 全球38605个细菌分离株中, 约30%~50%携带至少一个前噬菌体, 前噬菌体携带ARGs的概率约为42.98%(在26858个前噬菌体中, 有11543个携带ARGs), 而在627970个烈性噬菌体中, 仅有67个携带ARGs(小于0.01%)[12]. 此外, 学术界早期对溶原整合的忽视, 部分归因于伪溶原化(pseudolysogeny)所产生的实验干扰. 由于伪溶原化状态(即噬菌体基因组在宿主内呈不稳定的环状游离态)难以通过当时的手段与典型的溶原整合进行区分, 这种方法学上的挑战促使研究者转向研究机制更为清晰、易于定量分析的裂解周期. 此外, 面临的技术难题包括准确识别和追踪前噬菌体序列的挑战——由于其生活方式可转换(从溶原周

期转向裂解周期), 传统计算工具往往存在分析偏差、分类不准, 以及地理和时间上的数据不均衡; 同时, 实验中分离携带ARGs的温和噬菌体困难, 因为它们并非稳定地产生明显表型, 且环境样本中病毒-细菌互作复杂, 难以准确量化转导效率. 未来研究应聚焦于人工智能辅助的模型工具和多组学(宏基因组、宏病毒组、宏转录组等)结合来全面映射前噬菌体编码的ARGs在自然生态(如土壤、废水和人体微生物组)中的分布与动态; 同时, 量化溶原化在微生物群落中ARGs传播的贡献对探索针对性防控策略至关重要, 例如, 利用合成生物学手段构建工程化裂解性噬菌体, 或通过基因编辑削弱特定高危温和噬菌体的整合能力, 使其转变为仅具裂解能力的变体, 从而作为生物制剂定向阻断关键耐药菌属间的ARGs水平转移.

4 人类活动对噬菌体介导ARGs扩散的强化效应

4.1 抗生素

为了治疗或预防细菌感染, 抗生素被广泛滥用并排放到环境中. 抗生素在水体、土壤、废水及肠道等环境中通常以亚抑制浓度存在(通常ng/L至μg/L级别)[92]. 低浓度抗生素虽不能直接杀死细菌, 但能以不同方式增强噬菌体介导的ARGs水平转移.

一方面, 抗生素作为直接选择压力可显著富集群落中耐药菌的数量, 这已在多种环境中得到验证[93,94]. 溶原耐药菌丰度的上升会导致以下情况: 即使噬菌体介导宿主裂解及噬菌体错误包装的频率不变, 也会增加错误包装事件中捕获ARGs的概率. 例如, 在含有亚抑制浓度环丙沙星的废水系统中, 耐药菌比例升高. 由于耐药菌丰度增加, 错误包装捕获ARGs的概率随之上升, 最终导致转导频率提高数倍至数十倍. 该研究指出, 转导效率与供体菌中ARGs丰度直接相关[53]. 粪肥施用导致细菌群落中ARGs丰度升高, 结合噬菌体作为ARGs载体的作用, 表明当携带ARGs的供体菌比例增加时, 即使噬菌体错误包装频率不变, 也会提升ARGs被转导的总体潜力[35]. 另一方面, 抗生素暴露也会增加耐药菌被携带ARGs的温和噬菌体感染的概率, 从而导致微生物群落中耐药溶原菌的比例增加. 例如, 某些温和噬菌体本身编码多种ARGs, 通过感染并溶原化新宿主, 可直接使非耐药菌转化为耐药溶原菌. 在抗生素胁迫下, 携带ARGs的溶原菌获得生存优势, 导致其在群落中富集[95]. 一旦环境发生有利于“棘轮效应”的变化, 可预期微生物群落中将出现ARGs的快速传播, 尤其在肠道和人类影响的生态系统中[96]. 当我们以转导介导的ARG传播概率作为低风险基线、以溶原化介导的ARG传播概率作为高风险基线时(下文同), 环境抗生素污染对转导作用介导的ARGs传播是升高性的低风险(即低风险因素的频率上调, 但由于其内在限制、仍未达到高风险), 而对溶原化介导的ARGs传播是持续高风险(图3).

4.2 重金属

人类活动造成环境中重金属浓度的积累, 其在全球水体、土壤、沉积物及废水系统中维持在亚抑制浓度(通常μg/L至mg/L级别)[97]. 这虽难以直接杀死微生物, 但可施加持续选择压力, 促进金属抗性基因(metal resistance genes, MRGs)的富集, 并通过共选择机制间接维持ARGs的丰度与流动性[98,99].

近年来基于宏基因组学的多项研究证实, MRGs与ARGs在移动遗传元件上的共定位现象普遍存在, 其中质粒、整合子和转座子是主要载体, 而噬菌体作为新兴载体, 正逐渐受到关注[100,101]. 重金属污染不仅直接选择MRGs来维持ARGs, 还通过诱导前噬菌体放大ARGs的水平转移风险. 多项实验证据显示, 远低于最小抑菌浓度的重金属(如Cu^{2+}、Zn^{2+}和Cd^{2+})即可激活细菌SOS应答途径, 激活RecA蛋白介导的前噬菌体诱导, 进而释放携带ARGs的噬菌体进入环境造成扩散传播[102,103]. 例如, 在畜禽粪便和高Cu/Zn污染的农田土壤中, MRGs与ARGs在前噬菌体中的共发生率显著升高, 这不仅强化了溶原化介导的ARGs扩散, 还可能形成“棘轮效应”——即重金属的持久性和非降解性导致ARGs在微生物群落中的单向、不可逆富集, 而该作用不会像抗生素选择压力那样易随时间衰减[104,105]. 全球土壤宏基因组分析进一步揭示, 有机肥施用(尤其是畜禽粪便)会通过遗传联动共选择ARGs与MRGs, 并在转录水平上共表达, 进一步放大ARGs在环境中的放大效应[99]. 该作用机制在畜牧养殖环境中尤为突出: 高Cu/Zn饲料添加剂导致粪便中重金属浓度达数百mg/kg, 显著提升MRGs和ARGs的共现性, 并通过可移动遗传元件驱动多重耐药菌的产生[106]. 相比之下, 抗生素的选择压力往往是暂时的, 而重金属的持久积累可能构成更长期的“环境耐药库”, 进而增加临床耐药菌向人类食物链转移的风险[100]. 因此, 重金属污染不仅是传统

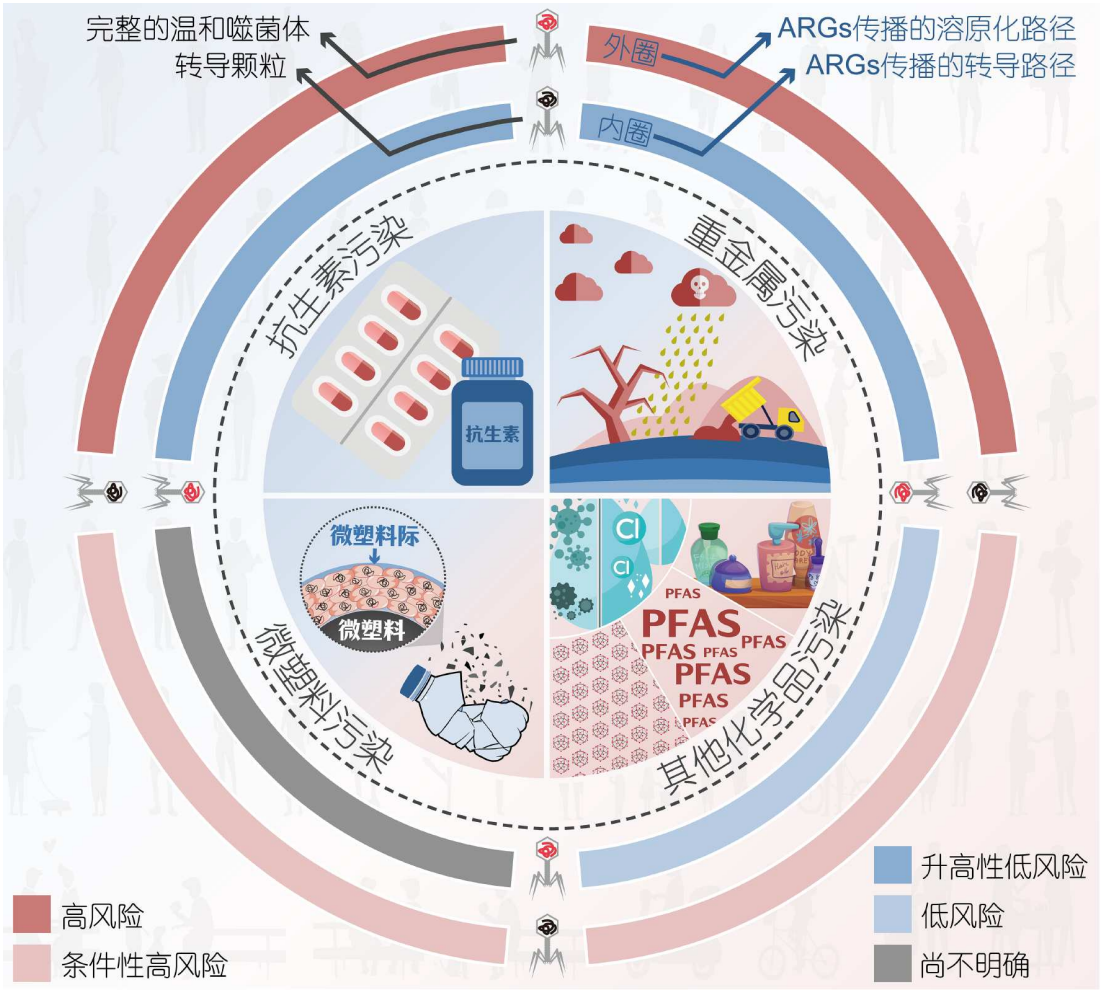


图 3 典型人类活动加速噬菌体介导的ARGs传播的风险评估. 由于目前专门针对溶原化的研究很少, 这一评估基于前文所述的理论及现有证据进行外推

Figure 3 Risk assessment of typical human activities accelerating bacteriophage-mediated dissemination of antibiotic resistance genes (ARGs). Due to the lack of specific studies on lysogeny, this assessment is extrapolated based on the theory described above and the available evidence

生态毒性问题, 更是全球抗生素耐药危机的重要驱动因素, 亟需在风险评估和调控策略中纳入重金属共同选择作用与前噬菌体介导的放大机制. 因此, 重金属污染对转导作用介导的ARGs传播是升高性的低风险、对溶原化介导的ARGs传播是高风险(图3).

4.3 微塑料

微塑料(microplastics)作为人类世最具标志性的新污染物, 在全球水体、土壤、沉积物及大气中广泛累积, 其质量浓度通常可达mg/kg或mg/L[107,108]. 研究表明, 塑料添加剂(如增塑剂)可能促进ARGs传播, 但大多关注接合转移[109].

此前研究显示, 远超环境浓度的增塑剂邻苯二甲酸丁苄酯可诱导前噬菌体释放[110], 这可能增加转导和溶原化介导ARGs转移的风险. 有趣的是, 微塑料表面可形成独特的“微塑料际”(plastisphere)生态位, 即高密度生物膜. 这一微生态系统中的细菌丰度往往比周围环境高2~4个数量级, 并选择性富集机会致病菌和耐药菌, 从而提升公共健康风险[111,112]. 近年来研究显示, 微塑料际不仅是ARGs的富集热点, 还可能成为其跨界传播的移动型载体. 宏病毒组学研究表明, 微塑料际中病毒群落(特别是温和噬菌体)丰度与多样性显著高于周边环境, 且这些噬菌体常携带临床关键ARGs, 使微塑料际成为ARGs水平转移的潜在“移动热点”[113,114]. 河

流微塑料上的病毒宏基因组分析揭示，噬菌体携带的ARGs比例远高于游离病毒群落，并与潜在致病菌宿主密切关联[89]. 此外, 虽然微塑料际是提升细菌间接触频率的高密度生境，但其中噬菌体种群由溶原策略主导, 限制了广义转导的发生[115]. 然而，当微塑料际生物膜自然脱落或微塑料在环境中迁移时，可能产生更广泛的生态影响. 因此, 微塑料对转导途径的净效应仍存在不确定性, 未来亟需实验验证, 尤其是结合生物膜动态脱落的长期监测. 相较而言, 微塑料际为溶原化介导的ARGs传播提供了理想条件. 高密度、相对封闭的微生境有利于温和噬菌体整合到宿主基因组. 一旦携带ARGs的温和噬菌体被诱导(即使是低频率的自发诱导), 封闭的微生境将为“棘轮效应”的发生提供条件, 尤其是在可生物降解的微塑料上[116]. 总体而言，微塑料污染对转导介导的ARGs传播的风险尚不清楚、对溶原化介导的ARGs传播而言是条件性高风险(当微塑料际中存在被携带ARGs的温和噬菌体所感染的溶原菌时呈现高风险)(图3).

4.4 其他化学品

人类生产了数以万计的化学品，其中大部分可以进入自然环境，可能改变噬菌体–细菌互作模式，从而调控环境中ARGs水平转移效率. 除已被广泛讨论的抗生素、重金属和微塑料外，消毒剂及其副产物、纳米材料、药品及个人护理品(PPCPs)以及全氟烷基物质(PFAS)等新污染物暴露被证实可以促进ARGs传播, 主要通过影响细菌介导的接合转移和转化机制，而对转导影响关注较少.

理论上，一旦这些细菌驱动的ARGs的转移导致耐药菌富集(即使并非通过转导), 噬菌体转导作用介导的ARGs转移风险也会增加，但环境中实际效应需通过严格的ARG追踪实验验证. 此外, 这些化学物质暴露对溶原化介导ARGs传播的风险可能取决于环境中是否存在抗生素胁迫. 目前尚无证据表明ARGs在宿主适应化学品污染胁迫中的存在直接作用，因此理论上不会增加携带ARGs的温和噬菌体感染概率. 然而，当环境中同时存在抗生素胁迫时，化学品污染可显著推动“棘轮效应”，因为许多化学品在低浓度下具备诱导前噬菌体释放的能力. 例如: 溴乙酸(bromoacetic acid)是一种常见的饮用水消毒副产物，在环境相关浓度下可通过诱导氧化应激和DNA损伤激活SOS响应，从而触发细菌中的前噬菌体诱导[117]. CdTe量子点是一种纳米材料, 在0.5 nmol/L的极低浓度下可通过诱导氧化应激导致DNA损伤，从而激活细菌(如大肠杆菌)中的前噬菌体, 引发噬菌体释放和细胞生长抑制[118]; 全氟辛酸(perfluorooctanoic acid)是一种典型的PFAS，在低浓度下(如饮用水分布系统相关浓度)可诱导氧化应激和ROS积累, 从而激活细菌中的前噬菌体(如Pf4噬菌体), 导致噬菌体释放和生物膜增强[119,120]. 总体而言，上述化学品污染对转导介导的ARGs传播而言是低风险、对溶原化介导的ARGs传播而言是条件性高风险(当与抗生素污染共存时)(图3).

5 结论

噬菌体作为ARGs传播的重要载体, 其生命周期驱动的基因流动过程在人类世背景下日益凸显. 噬菌体转导途径虽广受关注，但转导颗粒不具备完整的噬菌体基因组，其在环境中转移ARGs的效率较低; 相反, 溶原化途径以正常温和噬菌体为载体，通过普遍存在的温和噬菌体感染及潜在的“棘轮效应”，成为环境中被低估的ARGs传播驱动力. 该途径不仅在水生、陆生和肠道等自然环境中广泛存在，更通过与宿主建立的互惠共生关系，显著增强了ARGs的长期维持与扩散潜能. 进一步分析显示: 抗生素、重金属、微塑料等典型选择压力可以显著扰动转导和溶原化途径、进而影响环境中ARGs扩散. 尽管已有证据支持溶原化在ARGs传播中可能占据重要地位, 但目前的认知仍高度依赖于生物信息学推断. 针对当前研究的不足, 未来可在以下四个方向开展深入探索: (1) 针对目前游离温和噬菌体动态认知不足的问题，应开发基于高分辨率病毒组学与整合酶追踪策略的动态监测技术. 重点解析在复杂环境基质(如土壤、污泥)中，温和噬菌体从“潜伏整合”到“诱导爆发”的触发阈值与时空动力学; (2) 克服对宏基因组数据的过度依赖，建立模拟真实环境的微宇宙实验模型. 利用位点特异性荧光标记或微流控技术，在单细胞水平上直观观测溶原化途径对ARGs横向转移的贡献率, 以弥补实验证据的缺失; (3) 解析复杂环境因素(如活性氧、气候变化)对噬菌体种群溶原/裂解平衡的影响机制; (4) 评估通过精准干预温和噬菌体整合/切除过程来防控ARGs扩散的可行性, 开发能够定向削弱温和噬菌体传播潜能的靶向生物防治工具.

参考文献

1 Collaborators G A R. Global mortality associated with 33 bacterial pathogens in 2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. Lancet, 2022, 400: 2221–2248

2 Murray C J L, Ikuta K S, Sharara F, et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. Lancet, 2022, 399: 629–655

3 Pirnay J P, Djebara S, Steurs G, et al. Personalized bacteriophage therapy outcomes for 100 consecutive cases: a multicentre, multinational, retrospective observational study. Nat Microbiol, 2024, 9: 1434–1453

4 Koncz M, Stirling T, Hadj Mehdi H, et al. Genomic surveillance as a scalable framework for precision phage therapy against antibiotic-resistant pathogens. Cell, 2024, 187: 5901–5918.e28

5 Tang X, Zhou S G. Lysogenic phage therapy towards emerging contaminant bioremediation. Sci China Technol Sci, 2024, 67: 3129–3131

6 Zhang Y Y, Huang C X, Yang J, et al. Interactions between marine microorganisms and their phages (in Chinese). Chin Sci Bull (Chin Ver), 2011, 56: 1071–1079 [张永雨, 黄春晓, 杨军, 等. 海洋微生物与噬菌体间的相互关系. 科学通报, 2011, 56: 1071–1079]

7 Fillol-Salom A, Alsaadi A, Sousa J A M, et al. Bacteriophages benefit from generalized transduction. PLoS Pathog, 2019, 15: e1007888

8 Fillol-Salom A, Bacigalupe R, Humphrey S, et al. Lateral transduction is inherent to the life cycle of the archetypical Salmonella phage P22. Nat Commun, 2021, 12: 6510

9 Moura de Sousa J, Lourenço M, Gordo I. Horizontal gene transfer among host-associated microbes. Cell Host Microbe, 2023, 31: 513–527

10 Modi S R, Lee H H, Spina C S, et al. Antibiotic treatment expands the resistance reservoir and ecological network of the phage metagenome. Nature, 2013, 499: 219–222

11 Enault F, Briet A, Bouteille L, et al. Phages rarely encode antibiotic resistance genes: a cautionary tale for virome analyses. ISME J, 2017, 11: 237–247

12 Liao H, Liu C, Zhou S, et al. Prophage-encoded antibiotic resistance genes are enriched in human-impacted environments. Nat Commun, 2024, 15: 8315

13 Zinder N D, Lederberg J. Genetic exchange in salmonella. J Bacteriol, 1952, 64: 679–699

14 Chen L, Chavda K D, Melano R G, et al. Molecular survey of the dissemination of two bla_{KPC}-harboring IncFIA plasmids in New Jersey and New York hospitals. Antimicrob Agents Chemother, 2014, 58: 2289–2294

15 Johnson G, Banerjee S, Putonti C, et al. Diversity of *Pseudomonas aeruginosa* temperate phages. mSphere, 2022, 7: e01015

16 Chiang Y N, Penadés J R, Chen J, et al. Genetic transduction by phages and chromosomal islands: the new and noncanonical. PLoS Pathog, 2019, 15: e1007878

17 Feiss M, Fisher R A, Crayton M A, et al. Packaging of the bacteriophage λ chromosome: effect of chromosome length. Virology, 1977, 77: 281–293

18 Jardine P J, Anderson D L. DNA Packaging in Double-Stranded DNA Phages. Oxford: Oxford University Press, 2005

19 Campos J, Martínez E, Marrero K, et al. Novel type of specialized transduction for CTXϕ or its satellite phage RS1 mediated by filamentous phage VGJϕ in *Vibriocholerae*. J Bacteriol, 2003, 185: 7231–7240

20 Kondo K, Kawano M, Sugai M, et al. Distribution of antimicrobial resistance and virulence genes within the prophage-associated regions in nosocomial pathogens. mSphere, 2021, 6: e00452

21 Cavenagh M M, Miller R V. Specialized transduction of *Pseudomonas aeruginosa* PAO by bacteriophage D3. J Bacteriol, 1986, 165: 448–452

22 Chen J, Quiles-Puchalt N, Chiang Y N, et al. Genome hypermobility by lateral transduction. Science, 2018, 362: 207–212

23 Humphrey S, Fillol-Salom A, Quiles-Puchalt N, et al. Bacterial chromosomal mobility via lateral transduction exceeds that of classical mobile genetic elements. Nat Commun, 2021, 12: 6509

24 Chee M S J, Serrano E, Chiang Y N, et al. Dual pathogenicity island transfer by piggybacking lateral transduction. Cell, 2023, 186: 3414–3426.e16

25 Middelboe M, Traving S J, Castillo D, et al. Prophage-encoded chitinase gene supports growth of its bacterial host isolated from deep-sea sediments. ISME J, 2025, 19: wraf004

26 Anastassopoulou C, Panagiotopoulos A P, Ferous S, et al. Phages connect the biological dots of antimicrobial resistance: from genesis and spread to alternative treatment modules. J AntiMicrob ChemoTher, 2025, 80: 2892–2901

27 Ai C, Cui P, Liu C, et al. Viral and thermal lysis facilitates transmission of antibiotic resistance genes during composting. Appl Environ Microbiol, 2024, 90: e0069524

28 Ruan C, Ramoneda J, Kan A, et al. Phage predation accelerates the spread of plasmid-encoded antibiotic resistance. Nat Commun, 2024, 15: 5397

29 Ruan C, Vinod D P, Johnson D R. Phage-mediated peripheral kill-the-winner facilitates the maintenance of costly antibiotic resistance. Nat Commun, 2025, 16: 5839

30 Calero-Cáceres W, Méndez J, Martín-Díaz J, et al. The occurrence of antibiotic resistance genes in a Mediterranean river and their persistence in the riverbed sediment. Environmental Pollution, 2017, 223: 384–394

31 Sala-Comorera L, Nolan T M, Reynolds L J, et al. Bacterial and bacteriophage antibiotic resistance in marine bathing waters in relation to rivers and urban streams. Front Microbiol, 2021, 12: 718234

32 Yang Y, Xing S, Chen Y, et al. Profiles of bacteria/phage-comediated ARGs in pig farm wastewater treatment plants in China: association with mobile genetic elements, bacterial communities and environmental factors. J Hazard Mater, 2021, 404: 124149

33 Calero-Cáceres W, Melgarejo A, Colomer-Lluch M, et al. Sludge as a potential important source of antibiotic resistance genes in both the bacterial and bacteriophage fractions. Environ Sci Technol, 2014, 48: 7602–7611

34 Calero-Cáceres W, Muniesa M. Persistence of naturally occurring antibiotic resistance genes in the bacteria and bacteriophage fractions of wastewater. Water Res, 2016, 95: 11–18

35 Ross J, Topp E, Schaffner D W. Abundance of antibiotic resistance genes in bacteriophage following soil fertilization with dairy manure or municipal biosolids, and evidence for potential transduction. Appl Environ Microbiol, 2015, 81: 7905–7913

36 Shi M, Zhao Z, Wang X, et al. Profiles and key drivers of bacteria/phage co-mediated antibiotic resistance genes during swine manure composting amended with humic acid. Bioresource Tech, 2023, 374: 128721

37 Larrañaga O, Brown-Jaque M, Quirós P, et al. Phage particles harboring antibiotic resistance genes in fresh-cut vegetables and agricultural soil. Environ Int, 2018, 115: 133–141

38 Colomer-Lluch M, Imamovic L, Jofre J, et al. Bacteriophages carrying antibiotic resistance genes in fecal waste from cattle, pigs, and poultry. Antimicrob Agents Chemother, 2011, 55: 4908–4911

39 Quirós P, Colomer-Lluch M, Martínez-Castillo A, et al. Antibiotic resistance genes in the bacteriophage DNA fraction of human fecal samples. Antimicrobial Agents Chemotherapy, 2014, 58: 606–609

40 Brown-Jaque M, Calero-Cáceres W, Espinal P, et al. Antibiotic resistance genes in phage particles isolated from human faeces and induced from clinical bacterial isolates. Int J AntiMicrob Agents, 2018, 51: 434–442

41 Shuai X, Zhou Z, Ba X, et al. Bacteriophages: vectors of or weapons against the transmission of antibiotic resistance genes in hospital wastewater systems? Water Res, 2024, 248: 120833

42 Li X, Chen T, Ren Q, et al. Phages in sludge from the A/O wastewater treatment process play an important role in the transmission of ARGs. Sci Total Environ, 2024, 926: 172111

43 Chen T, Mo C, Yuan Y, et al. Short-, long-read metagenome and virome reveal the profile of phage-mediated ARGs in anoxic-oxic processes for swine wastewater treatment. J Hazard Mater, 2024, 468: 133789

44 Moon K, Jeon J H, Kang I, et al. Freshwater viral metagenome reveals novel and functional phage-borne antibiotic resistance genes. Microbiome, 2020, 8: 75

45 Liao H, Li H, Duan C S, et al. Metagenomic and viromic analysis reveal the anthropogenic impacts on the plasmid and phage borne transferable resistome in soil. Environ Int, 2022, 170: 107595

46 Billaud M, Lamy-Besnier Q, Lossouarn J, et al. Analysis of viromes and microbiomes from pig fecal samples reveals that phages and prophages rarely carry antibiotic resistance genes. ISME Commun, 2021, 1: 55

47 Wang Q, Zeng X, Yang Q, et al. Identification of a bacteriophage from an environmental multidrug-resistant *E. coli* isolate and its function in horizontal transfer of ARGs. Sci Total Environ, 2018, 639: 617–623

48 Schmieger H. The fate of the bacterial chromosome in P22-infected cells of *Salmonella typhimurium*. Molecular General Genetics, 1971, 110: 238–244

49 Leclerc Q J, Wildfire J, Gupta A, et al. Growth-dependent predation and generalized transduction of antimicrobial resistance by bacteriophage. mSystems, 2022, 7: e0013522

50 Bignaud A, Conti D E, Thierry A, et al. Phages with a broad host range are common across ecosystems. Nat Microbiol, 2025, 10: 2537–2549

51 Göller P C, Elsener T, Lorgé D, et al. Multi-species host range of staphylococcal phages isolated from wastewater. Nat Commun, 2021, 12: 6965

52 Maganha de Almeida Kumlien A C, Borrego C M, Balcázar J L. Antimicrobial resistance and bacteriophages: an overlooked intersection in water disinfection. Trends Microbiol, 2021, 29: 517–527

53 Balcazar J L, Miller V. Bacteriophages as vehicles for antibiotic resistance genes in the environment. PLoS Pathog, 2014, 10: e1004219

54 Campbell A M. Episomes. In: Caspari E W, Thoday J M, eds. Advances in Genetics. New York: Academic Press. 1962. 101–145

55 Morse M L, Lederberg E M, Lederberg J. Transduction in *Escherichia coli* K-12. Genetics, 1956, 41: 142–156

56 Kwoh D Y, Kemper J. Bacteriophage P22-mediated specialized transduction in *Salmonella typhimurium*: identification of different types of specialized transducing particles. J Virol, 1978, 27: 535–550

57 Fernández-Orth D, Miró E, Brown-Jaque M, et al. Faecal phageome of healthy individuals: presence of antibiotic resistance genes and variations caused by ciprofloxacin treatment. J Antimicrobial Chemotherapy, 2019, 74: 854–864

58 Tang X, Liao H, Gao J, et al. Omnipresent allies: the role of temperate phages in microbial adaptation across ecosystems. Environ Microbiol, 2025, 27: e70204

59 Silveira C B, Luque A, Rohwer F. The landscape of lysogeny across microbial community density, diversity and energetics. Environ Microbiol, 2021, 23: 4098–4111

60 López-García P, Gutiérrez-Preciado A, Krupovic M, et al. Metagenome-derived virus-microbe ratios across ecosystems. ISME J, 2023, 17: 1552–1563

61 Liang X, Zhang Y, Wommack K E, et al. Lysogenic reproductive strategies of viral communities vary with soil depth and are correlated with bacterial diversity. Soil Biol Biochem, 2020, 144: 107767

62 Yi Y, Liu S, Hao Y, et al. A systematic analysis of marine lysogens and proviruses. Nat Commun, 2023, 14: 6013

63 Ma B, Wang Y, Zhao K, et al. Biogeographic patterns and drivers of soil viromes. Nat Ecol Evolut, 2024, 8: 717–728

64 Prestel E, Regeard C, Salamitou S, et al. The bacteria and bacteriophages from a Mesquite Flats site of the Death Valley desert. Antonie van Leeuwenhoek, 2013, 103: 1329–1341

65 Roy K, Ghosh D, DeBruyn J M, et al. Temporal dynamics of soil virus and bacterial populations in agricultural and early plant successional soils. Front Microbiol, 2020, 11: 1494

66 Wu Y, Gao N, Sun C, et al. A compendium of ruminant gastrointestinal phage genomes revealed a higher proportion of lytic phages than in any other environments. Microbiome, 2024, 12: 69

67 Dikareva E, Matharu D, Lahtinen E, et al. An extended catalog of integrated prophages in the infant and adult fecal microbiome shows high prevalence of lysogeny. Front Microbiol, 2023, 14: 1254535

68 Liang X, Radosevich M, DeBruyn J M, et al. Incorporating viruses into soil ecology: a new dimension to understand biogeochemical cycling. Crit Rev Environ Sci Tech, 2024, 54: 117–137

69 Liang X, Wagner R E, Zhuang J, et al. Viral abundance and diversity vary with depth in a southeastern United States agricultural ultisol. Soil Biol Biochem, 2019, 137: 107546

70 Huang D, Yu P, Ye M, et al. Enhanced mutualistic symbiosis between soil phages and bacteria with elevated chromium-induced environmental stress. Microbiome, 2021, 9: 150

71 Al-Faliti M, Wang P, Smith A L, et al. Phage phylogeny, molecular signaling, and auxiliary antimicrobial resistance in aerobic and anaerobic membrane bioreactors. Water Res, 2024, 256: 121620

72 Xu Q, Zhang H, Vandenkoornhuyse P, et al. Carbon starvation raises capacities in bacterial antibiotic resistance and viral auxiliary carbon metabolism in soils. Proc Natl Acad Sci USA, 2024, 121: e2318160121

73 Colombo S, Arioli S, Guglielmetti S, et al. Virome-associated antibiotic-resistance genes in an experimental aquaculture facility. FEMS Microbiol Ecol, 2016, 92: fiw003

74 Alfiansah Y R, Hassenrück C, Kunzmann A, et al. Bacterial abundance and community composition in pond water from shrimp aquaculture systems with different stocking densities. Front Microbiol, 2018, 9: 2457

75 Wu R, Cao Z, Jiang Y, et al. Early life dynamics of ARG and MGE associated with intestinal virome in neonatal piglets. Vet Microbiol, 2022, 274: 109575

76 Minot S, Sinha R, Chen J, et al. The human gut virome: inter-individual variation and dynamic response to diet. Genome Res, 2011, 21: 1616–1625

77 Sun M, Ye M, Jiao W, et al. Changes in tetracycline partitioning and bacteria/phage-comediated ARGs in microplastic-contaminated greenhouse soil facilitated by sophorolipid. J Hazard Mater, 2018, 345: 131–139

78 Fancello L, Trape S, Robert C, et al. Viruses in the desert: a metagenomic survey of viral communities in four perennial ponds of the Mauritanian Sahara. ISME J, 2013, 7: 359–369

79 Nanda A M, Thormann K, Frunzke J, et al. Impact of spontaneous prophage induction on the fitness of bacterial populations and host-microbe interactions. J Bacteriol, 2015, 197: 410–419

80 Hao Y, Zhang M, Lei X, et al. PSOSP uncovers pervasive SOS-independent prophages with distinct genomic and host traits in bacterial genomes. iMeta, 2025, 4: e70073

81 Silpe J E, Wong J W H, Owen S V, et al. The bacterial toxin colibactin triggers prophage induction. Nature, 2022, 603: 315–320

82 Silpe J E, Duddy O P, Johnson G E, et al. Small protein modules dictate prophage fates during polylysogeny. Nature, 2023, 620: 625–633

83 Erez Z, Steinberger-Levy I, Shamir M, et al. Communication between viruses guides lysis–lysogeny decisions. Nature, 2017, 541: 488–493

84 Li Z, Guo X, Liu B, et al. Metagenome sequencing reveals shifts in phage-associated antibiotic resistance genes from influent to effluent in wastewater treatment plants. Water Res, 2024, 253: 121289

85 Raza S, Shin H, Hur H G, et al. Higher abundance of core antimicrobial resistant genes in effluent from wastewater treatment plants. Water Res, 2022, 208: 117882

86 Strange J E S, Leekitcharoenphon P, Møller F D, et al. Metagenomics analysis of bacteriophages and antimicrobial resistance from global urban sewage. Sci Rep, 2021, 11: 1600

87 Yu Z, Schwarz C, Zhu L, et al. Hitchhiking behavior in bacteriophages facilitates phage infection and enhances carrier bacteria colonization. Environ Sci Technol, 2021, 55: 2462–2472

88 Zhang B, Zhang Y, Zhang X, et al. Enhanced phytopathogen biofilm control in the soybean phyllosphere by the phoresy of bacteriophages hitchhiking on biocontrol bacteria. Environ Sci Technol, 2025, 59: 10334–10346

89 Li R, An X L, Wang Y, et al. Viral metagenome reveals microbial hosts and the associated antibiotic resistome on microplastics. Nat Water, 2024, 2: 553–565

90 Tang X, Ke Y, Yang Q, et al. Trojan phages: distinguishing lysogeny from transduction in phage-involved ARG dissemination. Agric Environ Sustainability, 2026, 1: 100002

91 Kant P, Petersen B, Sicheritz-Pontén T, et al. The low abundance of antimicrobial resistance genes (ARGs) in bacteriophages and their transfer bottlenecks limit the ability of phages to contribute to the spread of ARGs. biorxiv, 2024, 2024.2004.2002.587543

92 Hanna N, Tamhankar A J, Stålsby Lundborg C. Antibiotic concentrations and antibiotic resistance in aquatic environments of the WHO Western Pacific and South-East Asia regions: a systematic review and probabilistic environmental hazard assessment. Lancet Planet Health, 2023, 7: e45–e54

93 Baudet A, Kichenbrand C, Pulcini C, et al. Antibiotic use and resistance: A nationwide questionnaire survey among French dentists. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2020, 39: 1295–1303

94 Larsson D G J, Flach C F. Antibiotic resistance in the environment. Nat Rev Microbiol, 2022, 20: 257–269

95 Pfeifer E, Bonnin R A, Rocha E P C, et al. Phage-plasmids spread antibiotic resistance genes through infection and lysogenic conversion. mBio, 2022, 13: e01851-22

96 Anthenelli M, Jasien E, Edwards R, et al. Phage and bacteria diversification through a prophage acquisition ratchet. bioRxiv, 2020, 2020.2004.2008.028340

97 Hou D, Jia X, Wang L, et al. Global soil pollution by toxic metals threatens agriculture and human health. Science, 2025, 388: 316–321

98 Gillieatt B F, Coleman N V. Unravelling the mechanisms of antibiotic and heavy metal resistance co-selection in environmental bacteria. FEMS Microbiol Rev, 2024, 48: fuae017

99 Liu Z T, Ma R A, Zhu D, et al. Organic fertilization co-selects genetically linked antibiotic and metal(loid) resistance genes in global soil microbiome. Nat Commun, 2024, 15: 5168

100 Murray L M, Hayes A, Snape J, et al. Co-selection for antibiotic resistance by environmental contaminants. npj Antimicrob Resist, 2024, 2: 9

101 Li L G, Xia Y, Zhang T. Co-occurrence of antibiotic and metal resistance genes revealed in complete genome collection. ISME J, 2017, 11: 651–662

102 Choi J, Kotay S M, Goel R. Various physico-chemical stress factors cause prophage induction in *Nitrosospira multiformis* 25196- an ammonia oxidizing bacteria. Water Res, 2010, 44: 4550–4558

103 Lee L H, Lui D, Platner P J, et al. Induction of temperate cyanophage AS-1 by heavy metal – copper. BMC Microbiol, 2006, 6: 17

104 Liu C, Li G, Qin X, et al. Profiles of antibiotic- and heavy metal-related resistance genes in animal manure revealed using a metagenomic analysis. Ecotoxicol Environ Saf, 2022, 239: 113655

105 Sun F, Xu Z, Fan L. Response of heavy metal and antibiotic resistance genes and related microorganisms to different heavy metals in activated sludge. J Environ Manage, 2021, 300: 113754

106 Liu W, Zhou W, Fu C, et al. Heavy metals and antibiotic resistance genes in large-scale livestock farming environments: pollution characteristics, driving factors, and risks to humans. Biocontaminant, 2025, 1: e006

107 Büks F, Kaupenjohann M. Global concentrations of microplastics in soils – a review. Soil, 2020, 6: 649–662

108 Zhang Y, Kang S, Allen S, et al. Atmospheric microplastics: a review on current status and perspectives. Earth-Sci Rev, 2020, 203: 103118

109 Wu J, Zhou J H, Liu D F, et al. Phthalates promote dissemination of antibiotic resistance genes: an overlooked environmental risk. Environ Sci Technol, 2023, 57: 6876–6887

110 Tang X, Zhou M, Fan C, et al. Benzyl butyl phthalate activates prophage, threatening the stable operation of waste activated sludge anaerobic digestion. Sci Total Environ, 2021, 768: 144470

111 Zettler E R, Mincer T J, Amaral-Zettler L A. Life in the “plastisphere”: microbial communities on plastic marine debris. Environ Sci Technol, 2013, 47: 7137–7146

112 Zhu D, Ma J, Li G, et al. Soil plastispheres as hotspots of antibiotic resistance genes and potential pathogens. ISME J, 2022, 16: 521–532

113 Joannard B, Sanchez-Cid C. Bacterial dynamics of the plastisphere microbiome exposed to sub-lethal antibiotic pollution. Microbiome, 2024, 12: 97

114 Chen X P, Zhu D, Liu S Y, et al. Unique plastisphere viromes with habitat-dependent potential for modulating global methane cycle. Nat

Commun, 2025, 16: 8098
115 Xia R, Yin X, Balcazar J L, et al. Bacterium-phage symbiosis facilitates the enrichment of bacterial pathogens and antibiotic-resistant bacteria in the plastisphere. Environ Sci Technol, 2025, 59: 2948–2960
116 Luo G, Fan L, Liang B, et al. Determining antimicrobial resistance in the plastisphere: lower risks of nonbiodegradable vs higher risks of biodegradable microplastics. Environ Sci Technol, 2025, 59: 7722–7735
117 Mantilla-Calderon D, Plewa M J, Michoud G, et al. Water disinfection byproducts increase natural transformation rates of environmental DNA in *Acinetobacter baylyi* ADP1. Environ Sci Technol, 2019, 53: 6520–6528
118 Xu J, He H, Wang Y Y, et al. New aspects of the environmental risks of quantum dots: prophage activation. Environ Sci-Nano, 2018, 5: 1556–1566
119 Wang H, Li Y, Chen H, et al. Perfluorooctanoic acid can increase biofilm resilience and virulence in drinking water distribution systems. Environ Sci Technol, 2025, 59: 21028–21038
120 Huang Z, Zhang X, Lin S, et al. Regulation of filamentous phage Pf4 activation by oxidative stress in *Pseudomonas aeruginosa*. mLife, 2025, 4: 437–446

Summary for “噬菌体介导的耐药基因传播机制及其对人类活动的响应”

Phage-mediated dissemination of antibiotic resistance genes: mechanisms and their response to human activities

Xiang Tang†, Yan-Chu Ke†, Jia-Hua Huang, Chen Liu, Han-Peng Liao* & Shun-Gui Zhou*

College of Resources and Environment, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China
† Equally contributed to this work
* Corresponding authors, E-mail: liaohp@fafu.edu.cn; sgzhou@fafu.edu.cn

The global proliferation of antibiotic resistance genes (ARGs) has significantly intensified the antimicrobial resistance (AMR) crisis, compromising the clinical efficacy of antibiotics and posing a profound threat to public health. While phages emerge as a promising alternative for targeted antimicrobial therapy due to their high specificity and minimal impact on the microbiome, their dual role presents a fundamental research paradox: phages can also facilitate ARG dissemination through their diverse lifecycles. The mechanisms underlying this process encompass not only transduction—the accidental horizontal transfer of host bacterial DNA—but also lysogeny, involving the vertical and horizontal propagation of the phage’s own genome. Despite its significance, the contribution of lysogeny to the environmental ARG pool remains frequently overlooked in conventional ecological assessments. Critically, in the Anthropocene, characterized by intensified human activities and the ubiquitous presence of stressors, the dynamics of phage-mediated ARG spread in complex environmental matrices lack systematic elucidation. This knowledge gap hinders the rational implementation of phage therapy and the development of robust strategies to combat AMR.

This review first elucidates the multifaceted mechanisms of phage-mediated ARG dissemination, strictly distinguishing between transduction and lysogeny. Transduction, comprising generalized, specialized, and lateral transduction, occurs when host DNA (including ARGs) is erroneously packaged into phage capsids during the lytic cycle. Notably, while lateral transduction represents a highly efficient mode of hyper-dissemination, robust evidence for its impact on ARG spread in natural environments remains scarce. In contrast, lysogeny operates through the intrinsic lifecycle of temperate phages, whose genomes may natively harbor ARGs as functional “cargo” genes. Furthermore, we propose phage predation as an ecological regulator: killing resistant hosts releases ARGs for transformation, while eliminating non-resistant competitors reshapes biofilms and preserves resistance by suppressing faster-growing susceptible cells—enabling persistence even without antibiotic selection.

Through an extensive analysis of existing literature and metagenomic datasets, we demonstrate that although ARGs in environmental viromes are predominantly associated with transducing particles, the actual transduction process is subject to stringent constraints across the packaging, infection, and genomic integration phases. Specifically, the probability of erroneous ARG packaging is exceedingly low (10^{-5} to 10^{-8}), and the process is further hampered by narrow host ranges, intracellular defense systems, and the requirement for high sequence homology for successful recombination. Specialized transduction is even more restricted, as it is confined to genes flanking the prophage attachment sites, whereas ARGs typically reside in variable or accessory genomic regions. Consequently, phage-mediated transduction is primarily driven by bacterial community dynamics—specifically the abundance of resistant hosts and total bacterial density—rendering its overall contribution to ARG dissemination limited in diverse natural environments. Conversely, once ARGs are integrated into temperate phage genomes—a prevalent phenomenon given the fitness advantages these genes provide to the host-phage symbiosis—they exhibit significant potential for ratchet-like expansion, becoming a permanent fixture of the phage lineage.

In addition, we synthesize the impact of typical anthropogenic stressors, including heavy metals, antibiotics, microplastics, and other chemicals. These environmental pressures often trigger the bacterial SOS response, which induces prophages to enter the lytic cycle, thereby facilitating ARG mobilization through massive virion release and subsequent re-lysogeny. In conclusion, this review highlights the inherent efficiency limitations of transduction versus the potent, underestimated potential of lysogeny in driving the global ARG reservoir. These insights are pivotal for developing next-generation intervention strategies, such as engineering phages to suppress ARG-carrying prophages or implementing environmental management to mitigate pollutant-induced induction. Future research must prioritize high-resolution temporal monitoring of phage viromes in impacted ecosystems to refine predictive models and advance the development of sustainable, “resistance-aware” phage-based solutions.

phages, antimicrobial resistance, antibiotic resistance genes, transduction, lysogeny, human activities

doi: 10.1360/CSB-2025-6014