·研究论文·

基于恒温光热水凝胶的噬菌体-抗生素-光热多模态协同抗菌治疗

张婧怡 符 豪 吕树一 肖铭慧 刘 博 田 亮 李华龙 郑沁洋 朱春雷*

(南开大学化学学院 高分子化学研究所 功能高分子材料教育部重点实验室 天津 300071)

摘 要 细菌感染对全球公共卫生构成严峻挑战，亟需开发新型高效的抗菌治疗策略. 本研究构建了一种兼具热响应与恒温调控能力的双层水凝胶递送系统，用于实现噬菌体的按需大量释放，并与抗生素协同用于细菌感染治疗. 该系统通过在下层水凝胶中引入光热纳米材料，在激光照射下，光热材料产热并诱导水凝胶发生相变收缩，从而触发噬菌体可控释放；与此同时，上层水凝胶通过相变诱导的光散射效应限制激光穿透，使体系温度精准维持在水凝胶相变点以下，有效避免噬菌体失活和组织过热损伤. 该控释系统与抗生素联合应用可实现对野生型大肠杆菌99.9%的高效杀灭，并在细菌感染伤口模型中显著促进伤口愈合. 这一多模态协同治疗平台集按需控释、智能温控与协同抗菌于一体，为细菌感染性伤口的修复提供了新策略.

关键词 细菌感染；噬菌体；恒温调控；多模态协同治疗

引用： 张婧怡, 符豪, 吕树一, 肖铭慧, 刘博, 田亮, 李华龙, 郑沁洋, 朱春雷. 基于恒温光热水凝胶的噬菌体-抗生素-光热多模态协同抗菌治疗. 高分子学报, **2026**, 57(6), 1294-1310.

Citation: Zhang, J. Y.; Fu, H.; Lv, S. Y.; Xiao, M. H.; Liu, B.; Tian, L.; Li, H. L.; Zheng, Q. Y.; Zhu, C. L. Thermostatic photothermal hydrogel-based multimodal synergistic antibacterial therapy integrating bacteriophages, antibiotics, and photothermal treatment. *Acta Polymerica Sinica* (in Chinese), **2026**, 57(6), 1294-1310.

细菌感染已成为全球公共卫生领域面临的重大挑战，严重威胁人类健康并显著加重医疗负担[1~4]. 为应对这一问题，研究者相继提出并发展了多种新型抗菌策略，包括光热治疗[5~8]、光动力治疗[9~12]以及噬菌体疗法[13~15]等. 其中，噬菌体疗法因其能够在感染部位特异性识别并裂解宿主细菌，且具备原位增殖能力，在抗细菌感染方面展现出独特优势[16,17]. 然而，其单独应用时抗菌效率仍然受限. 将噬菌体与抗生素联合使用可产生协同抗菌效应，从而进一步增强对细菌的杀伤能力[18,19]. 但如何构建能够实现噬菌体按需、精准递送至感染部位的载体系统，仍是亟待解决的关键技术问题之一.

在现有噬菌体递送与调控策略中，温度刺激因其易于实施和调控，常被用作实现按需释放的重要外部触发方式[20]. 热响应水凝胶具有良好的保湿性能、高吸附能力和优异的生物相容性[21,22]，可有效负载噬菌体，并在特定温度刺激下实现其可控释放，因而被认为是一类优异的噬菌体控释载体[23,24]. 尤其是具有低临界溶解温度(LCST)相变行为的热响应水凝胶，在环境温度达到相变点时会发生体积收缩并排出内部水分[25,26]，从而触发噬菌体释放. 然而，在采用热响应策略调控噬菌体释放过程中，需严格控制温度上限，以避免

2026-02-08收稿，2026-03-13录用，2026-05-09网络出版.

基金项目：中央高校基本科研业务费(项目号 63251169)和天津市科技计划项目(项目号 23JCZDJC00860).

* 通信联系人，E-mail: chunlei.zhu@nankai.edu.cn

doi: 10.11777/j.issn1000-3304.2026.26046; CSTR: 32057.14.GFZXB.2026.7577

热刺激导致噬菌体失活及对周围皮肤组织造成热损伤. 因此，如何在保证安全性的前提下实现温度的精准、智能调控，是热响应噬菌体递送体系亟待解决的关键问题.

N-异丙基丙烯酰胺-丙烯酰胺聚合物(P(NIPAM/AM))水凝胶是一类典型的LCST型水凝胶[27,28]，其在相变过程中因脱水而伴随透光率变化，从而限制外部入射光的透过，使体系温度恒定维持在水凝胶相变点以下，可作为一种理想的可逆光热开关材料[29]. 然而，该类水凝胶本身通常不具备内源性光热能力. 为解决上述问题，本研究在材料制备阶段将光热材料引入P(NIPAM/AM)水凝胶网络中，构建了一种具有内源性光热特性的热响应水凝胶体系，使其在激光照射下能够快速升温，从而触发噬菌体的可控释放. 为实现对温度的精准调控，设计了一种双层P(NIPAM/AM)水凝胶体系. 其中，下层水凝胶负载光热材料，在光照刺激下产生局部热量并诱导水凝胶相变收缩；上层为不掺杂光热材料的“空白”P(NIPAM/AM)水凝胶层，其主要作用是吸收下层传递的热量，并通过相变诱导的光散射效应限制入射光穿透，从而将体系温度稳定控制在水凝胶相变点以下. 双层水凝胶通过溶胀方式负载噬菌体，并借助水凝胶相变温度的调控将体系温度稳定维持在治疗窗口(42 ℃)，从而在安全条件下实现噬菌体的高效释放. 进一步，筛选了能够与噬菌体产生协同抗菌效应的抗生素，用于野生型大肠杆菌(WT *E. coli*)的联合治疗. 该基于恒温光热效应的噬菌体−抗生素−光热多模态协同治疗策略可显著提升抗菌治疗效果(图1).

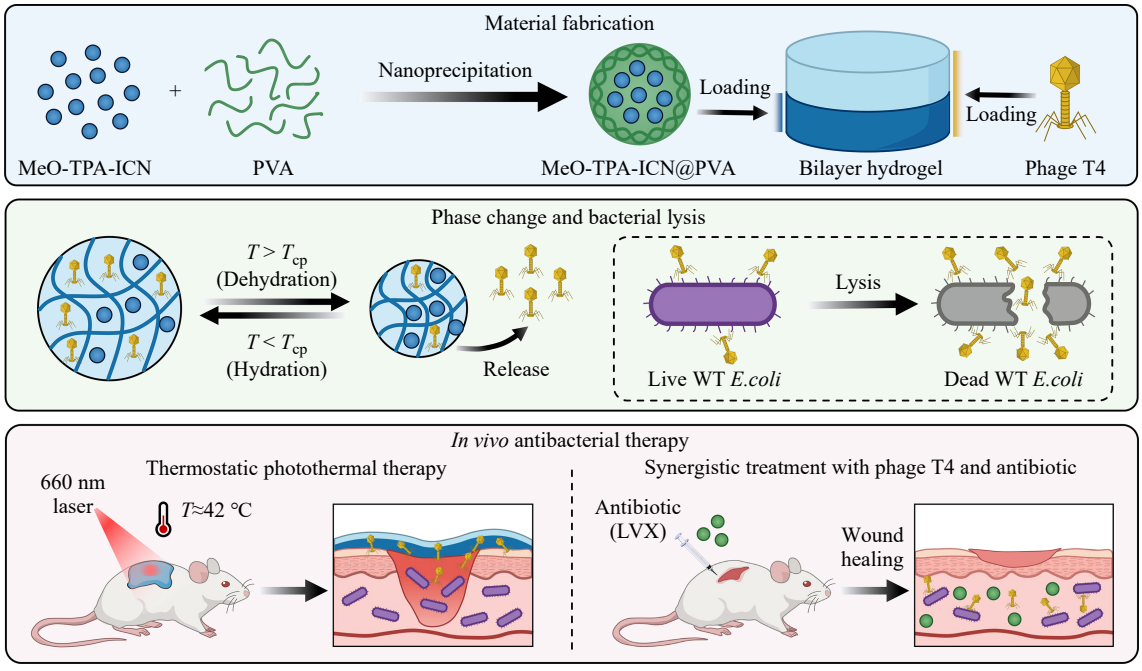


Fig. 1 Schematic illustration of a thermostatic photothermal hydrogel system for multimodal synergistic antibacterial therapy integrating bacteriophages, antibiotics, and photothermal treatment.

1　实验部分

1.1　实验试剂

N-异丙基丙烯酰胺(NIPAM)，购自北京偶合科技有限公司；丙烯酰胺(AM)、*N*,*N*′-亚甲基双丙烯酰胺、四甲基乙二胺(TEMED)、托普霉素(TOB)，购自上海阿拉丁生化科技有限公司；4-溴-*N*,*N*-双(4-甲氧苯基)苯胺、5-醛基-2-噻吩硼酸、3-(二氰基亚甲基)茚-1-酮、[1,1′-双(二苯基膦)二茂铁]二氯化钯(II)二氯甲烷络合物、左氧氟沙星(LVX)，购自上海毕得医药科技有限公司；超干1,4-二氧六环，购自上海阿达玛斯试剂有限公司；过硫酸钾和1,2-丙二醇，购自天津希恩思生化科技有限公司；碳酸钾，购自天津渤海化工集团有限责任公司；胰蛋白胨、琼脂粉、酵母提取物、磷酸盐缓冲液(PBS)，购自北京索莱宝科技有限公司；氯霉素(CHL)，购自北京鼎国昌盛生物技术有限公司；聚乙烯醇(PVA)、头孢曲松钠

(CRO)、氯化钠，购自上海麦克林生化科技有限公司.

1.2 实验仪器

液体核磁共振谱仪(AVANCE III 400MHz，Bruker)，紫外−可见分光光度计(UV-2600，Shimadzu)，660 nm激光发射器(MDL-H-660，长春新产业)，动态光散射仪(Zetasizer Nano ZS90，Malvern)，激光共聚焦显微镜(CLSM；A1+，Nikon)，旋转蒸发仪(N-1300，EYELA)，菌落计数仪(Supcre G6R，Shineso)，酶标仪(Infinite M Nano，Tecan)，红外热成像仪(E6，FLIR).

1.3 光热分子MeO-TPA-ICN的合成及MeO-TPA-ICN@PVA的制备

如图2所示，光热分子MeO-TPA-ICN按照已报道的文献方法进行合成[30,31].

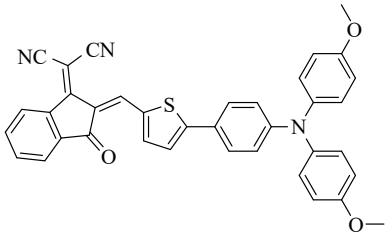


Fig. 2 Molecular structure of MeO-TPA-ICN.

在冰水浴及快速搅拌条件下，将MeO-TPA-ICN的1,4-二氧六环溶液(1 mmol/L，1.2 mL)逐滴加入至PVA水溶液(10 mg/mL，10.8 mL)中. 滴加完毕后，体系在冰水浴中继续搅拌10 min，随后在室温下搅拌15 min. 将所得溶液转移至截留分子量为30 kDa的透析袋中，在超纯水中透析24 h，最终获得蓝色透明分散液，即为MeO-TPA-ICN@PVA纳米颗粒(记为MeO-TPA-ICN@PVA).

1.4 BL-PT-P(NIPAM/AM)水凝胶的制备

将NIPAM (0.45 g，3.98 mmol)、AM (0.023 g，0.323 mmol)与*N*,*N*′-亚甲基双丙烯酰胺(0.009 g，0.06 mmol)加入MeO-TPA-ICN@PVA ([MeO-TPA-ICN]=40 μmol/L，5 mL)中，室温搅拌至完全溶解，形成均匀溶液. 随后，在持续搅拌下向体系中通入氮气20 min，以充分去除溶解氧. 随后，依次加入TEMED (5 μL)和过硫酸钾(0.005 g，0.02 mmol)，迅速搅拌均匀，得到水凝胶预聚液A. 将预聚液A转移至模具中，在室温下静置4 h完成聚合反应，最终得到蓝色透明水凝胶，记为PT-P(NIPAM/AM).

将NIPAM (0.45 g，3.98 mmol)、AM (按AM/NIPAM质量比分别为1/10、1/15、1/20、1/30和1/65添加)与*N*,*N*′-亚甲基双丙烯酰胺(0.009 g，0.06 mmol)共同溶解于5 mL超纯水中，并按照上述步骤制备得到水凝胶预聚液B. 将预聚液B转移至模具中，在室温下静置4 h完成聚合反应，最终得到无色透明水凝胶，记为P(NIPAM/AM).

将上述不同比例的水凝胶预聚液B缓慢加入聚合有PT-P(NIPAM/AM)水凝胶的模具中，使其在原有凝胶上层原位聚合，最终制得具有双层结构的水凝胶，记为BL-PT-P(NIPAM/AM).

1.5 P(NIPAM/AM)水凝胶的透光率测定

利用紫外−可见分光光度计测定不同比例P(NIPAM/AM)水凝胶在660 nm波长处的透光率随温度变化的行为. 将P(NIPAM/AM)水凝胶以每10 min增加2 ℃的升温速率从25 ℃加热至55 ℃，并在每升高2 ℃时记录660 nm处的透光率.

1.6 BL-PT-P(NIPAM/AM)水凝胶的恒温光热性能测试

将PT-P(NIPAM/AM)和BL-PT-P(NIPAM/AM) (AM/NIPAM质量比分别为1/10、1/20和1/30)分别放置于透明培养皿中. 使用660 nm激光垂直照射水凝胶表面，激光功率密度设定为0.9 W/cm^2，持续照射10 min. 使用热红外成像仪以30 s为时间间隔记录样品表面温度的变化.

1.7 细菌培养

从Luria-Bertani (LB)固体琼脂平板上挑取野生型大肠杆菌(WT *E. coli*，革兰氏阴性菌)的单菌落，接种于不含抗生素的LB液体培养基(5 mL)中. 随后，将菌液置于37 ℃恒温振荡培养箱中，以170 r/min的转速振荡培养过夜. 培养结束后，取菌液以5740 r/min离心3 min，收集细菌沉淀，并用PBS洗涤3次. 最后，将细菌沉淀重悬于PBS中，并将细菌悬液浓度稀释至OD_{600} (optical density at 600 nm)=1.0备用.

1.8 T4噬菌体的扩增

按照已报道的文献方法对T4噬菌体进行扩增，并在4 ℃条件下保存备用[32].

1.9 T4@BL-PT-P(NIPAM/AM)水凝胶的制备

将BL-PT-P(NIPAM/AM)双层水凝胶加热至其相变温度以上，使其发生脱水收缩，随后在4 ℃条件下将水凝胶完全浸没于T4噬菌体储存液中，并通过溶胀过程孵育24 h. 经上述处理后，获得负载T4噬菌体的双层水凝胶，记为T4@BL-

PT-P(NIPAM/AM).

1.10　抗生素最小抑菌浓度的测定

在无菌96孔板中，按照已报道的文献方法测定LVX、CRO、CHL和TOB 4种抗生素对野生型大肠杆菌的最小抑菌浓度(MIC)[33,34].

1.11　噬菌体与抗生素的协同抗菌测试

在无菌96孔板中，加入含有WT *E. coli* (OD_{600}=0.1，80 μL)的LB培养液及T4噬菌体(1×10^3 PFU，10 μL)，将其作为实验组，并以等体积PBS替代噬菌体作为对照组. 孵育4 h后，分别向实验组和对照组中加入10 μL经系列2倍梯度稀释的抗生素LVX、CRO、CHL或TOB，其浓度范围为0.63~2560 μg/mL. 孵育过夜后，使用酶标仪测定各组的OD_{600}，以评估噬菌体与抗生素的协同抗菌效果.

1.12　体外抗菌实验

为评估T4@BL-PT-P(NIPAM/AM)水凝胶在光热控释噬菌体并与抗生素联用条件下的体外抗菌性能，设置以下8个实验组对WT *E. coli* (300 μL，OD_{600}=0.1)进行处理：(1) PBS对照组；(2) 仅LVX ([LVX]=16 μg/mL)处理组；(3) BL-PT-P(NIPAM/AM) + PBS处理组；(4) BL-PT-P(NIPAM/AM) + 660 nm激光(0.9 W/cm^2，10 min) + PBS处理组；(5) T4@BL-PT-P(NIPAM/AM) + PBS处理组；(6) T4@BL-PT-P(NIPAM/AM) + 660 nm激光(0.9 W/cm^2，10 min) + PBS处理组；(7) T4@BL-PT-P(NIPAM/AM) + LVX ([LVX]=16 μg/mL)处理组；(8) T4@BL-PT-P(NIPAM/AM) + 660 nm激光(0.9 W/cm^2，10 min) + LVX ([LVX]=16 μg/mL)处理组. 各实验组均在有或无水凝胶条件下处理10 min后，置于振荡培养箱(37 ℃，110 r/min)中孵育4 h，随后加入LVX或等体积PBS缓冲液继续孵育4 h. 处理结束后，将菌液用PBS稀释1×10^3倍，取100 μL均匀涂布在LB固体琼脂平板上，并于37 ℃恒温培养箱中过夜培养. 最后，对平板上形成的菌落形成单位(CFU)进行计数，用于定量评价不同处理条件下的抗菌效果.

1.13　细菌活/死染色实验

按照体外抗菌实验中所述方法，在相同条件处理并孵育WT *E. coli*. 处理结束后，收集菌液并在5740 r/min下离心3 min，随后用PBS洗涤. 将所得细菌沉淀重悬于PBS中，并加入终浓度分别为3.34 μmol/L的SYTO-9和30 μmol/L的碘化丙啶(PI)，避光染色15 min. 取10 μL染色后的菌液滴加于载玻片上，加盖盖玻片后，置于CLSM下进行成像观察(SYTO-9，λ_{ex}=488 nm，λ_{em}=490~540 nm；PI，λ_{ex}=488 nm，λ_{em}=630~680 nm).

1.14　体内抗菌实验

所有动物实验均经南开大学实验动物伦理委员会审核批准(审批号：2024-SYDWLL-000691). 购买雌性BALB/c小鼠(6~8周龄)，并在无特定病原体(SPF)级实验动物房中适应性饲养2周. 在构建皮肤伤口模型前，通过腹腔注射免疫抑制剂环磷酰胺(80 mg/kg)以暂时削弱小鼠对接种细菌的免疫反应. 注射免疫抑制剂24 h后，使用手术剪刀在小鼠右背部剪开直径约为8 mm的圆形伤口，并在创面接种WT *E. coli*悬液(OD_{600}=1.0，100 μL)以建立感染性伤口模型. 待菌液在创面处自然晾干后，使用无菌纱布覆盖包扎伤口，并将细菌接种当日记为Day 0. 感染24 h后，将小鼠随机分为6组(n=8)，分别接受如下处理，每组总液体量均100 μL：(1) 仅PBS处理组；(2) 仅LVX ([LVX]=16 μg/mL)处理组；(3) T4@BL-PT-P(NIPAM/AM) + PBS处理组；(4) T4@BL-PT-P(NIPAM/AM) + 660 nm激光(0.9 W/cm^2，10 min) + PBS处理组；(5) T4@BL-PT-P(NIPAM/AM) + LVX (16 μg/mL)处理组；(6) T4@BL-PT-P(NIPAM/AM) + 660 nm激光(0.9 W/cm^2，10 min) + LVX ([LVX]=16 μg/mL)处理组. 其中，接受LVX治疗的实验组，均在前序处理结束4 h后，于伤口部位滴加100 μL LVX溶液；未接受LVX治疗的治疗组则滴加等体积PBS溶液. 接下来，采用红外热成像仪实时监测并记录伤口区域温度变化. 在整个治疗周期内定期记录小鼠体重，并使用数码相机拍摄伤口愈合情况，伤口面积通过ImageJ软件进行量化分析.

为评估初期抗菌效果，在治疗第2天从每组随机选择3只小鼠处死，取感染皮肤组织的一半进行苏木精−伊红(H&E)染色. 其余感染皮肤组织置于PBS (0.5 mL)中匀浆，并将组织悬浮液稀释2×10^3倍后，取100 μL均匀涂布于LB固体琼脂平板上，在37 ℃培养14~16 h后进行CFU计数(n=3).

为系统评估治疗效果及生物安全性，在治疗结束后将小鼠处死，取感染皮肤组织的一半及主要脏器(包括心、肝、脾、肺和肾)进行H&E染色、马松(Masson)三色染色、免疫荧光染色及免疫

组化染色分析. 为进一步定量分析感染部位的细菌数量，取另一半感染皮肤组织于PBS (500 μL)中匀浆，稀释1×10³倍后取100 μL涂布于LB固体琼脂平板，在37 ℃培养14~16 h后进行CFU计数(n=3).

1.15 统计学分析

利用单因素方差分析结合Tukey多重比较检验进行组间差异分析. 统计显著性水平设定为$^{*}p<0.05$、$^{**}p<0.01$、$^{***}p<0.001$. 实验结果以均值±标准差表示，其中n表示每组的样本数量.

2 结果与讨论

2.1 MeO-TPA-ICN@PVA的制备与表征

为构建一种适用于水凝胶体系并具备长期稳定性的光热纳米粒子，首先合成了疏水性光热分子MeO-TPA-ICN，随后以PVA作为两亲性包覆材料，通过纳米沉淀法将MeO-TPA-ICN包封于疏水内核中，最终获得胶体稳定的纳米颗粒MeO-TPA-ICN@PVA.

接下来，对MeO-TPA-ICN@PVA的粒径分布及稳定性进行了表征. 如图3(a)所示，DLS结果显示MeO-TPA-ICN@PVA的水合粒径主要分布在70~120 nm之间；与此同时，在7天储存过程中，其水合粒径未发生显著变化，说明MeO-TPA-ICN@PVA具有优异的胶体稳定性，可满足后续水凝胶均匀负载需求(图3(b)).

进一步地，评估了MeO-TPA-ICN@PVA的光热性能. 如图3(c)所示，在660 nm激光照射下，MeO-TPA-ICN@PVA水分散液的升温表现出明显的功率密度依赖性，即当功率密度从0.6 W/cm²提高至1.2 W/cm²时，体系的平衡温度由约48 ℃升高至65 ℃. 通过升温与自然降温曲线计算可知(图3(d)和3(e))，MeO-TPA-ICN@PVA的光热转换效率为48.9%，表明其具备优异的光能热转换能力. 为验证MeO-TPA-ICN@PVA的光热稳定性，进行了多次循环光照实验. 如图3(f)结果所示，经过660 nm激光连续5次循环照射后，MeO-TPA-ICN@PVA的光热性能基本保持不变，表明其具有优异的光热稳定性，为其在水凝胶体系中的多次稳定应用奠定了基础.

2.2 P(NIPAM/AM)和BL-PT-P(NIPAM/AM)水凝胶的温控性能

本研究中所构建的双层水凝胶BL-PT-P(NIPAM/AM)的上层结构在单体组成与交联体系上与水凝胶P(NIPAM/AM)一致，因此以P(NIPAM/AM)作为模型体系，系统评估AM与NIPAM的不同配比对水凝胶相变行为的影响. 为此，制备了5组不同单体比例的P(NIPAM/AM)水凝胶，其中AM/NIPAM质量比分别为1/10、1/15、1/20、1/30和1/65. 随后，测量各组水凝胶在660 nm波长下的透光率随温度变化的曲线，并将透光率下降至5%时所对应的温度定义为相变温度(T_{cp}). 如图4(a)~4(e)所示，随着AM/NIPAM质量比从1/10逐步变化至1/65，水凝胶的T_{cp}由48.7 ℃逐步降低至36.4 ℃，说明单体配比能够有效调控水凝胶的相变温度窗口. 通过线性拟合可见(图4(f))，AM/NIPAM质量比与T_{cp}之间具有良好的线性相关性. 从机理层面来看，AM单体的引入增加了水凝胶网络的亲水性与氢键作用，这使得网络由水合态向脱水塌缩态转变的温度上升；相反，当NIPAM比例提高时，疏水异丙基结构占比增加并削弱了氢键作用，使水凝胶更容易发生脱水塌缩，因此T_{cp}下降. 综合上述结果，P(NIPAM/AM)水凝胶的相变温度可在36.4~48.7 ℃范围内连续可调.

在此基础上，进一步测试了BL-PT-P(NIPAM/AM)双层水凝胶对光热温度的自调控能力及其与水凝胶T_{cp}间的关系. 如图5(a)~5(c)所示，在660 nm激光照射(0.9 W/cm²，10 min)下，与双层水凝胶BL-PT-P(NIPAM/AM)下层组分一致的单层光热水凝胶PT-P(NIPAM/AM)温度迅速升高至59.7 ℃，呈现出典型的非自控式光热升温行为. 相比之下，双层水凝胶BL-PT-P(NIPAM/AM)在不同单体比例(AM/NIPAM质量比分别为1/10、1/20和1/30)时，其平衡温度分别稳定在49.2、41.9和39.3 ℃，显著低于单层光热凝胶的升温水平，且均接近对应配比P(NIPAM/AM)的T_{cp}. 这种温度自调控行为可归因于双层结构的协同作用：在激光照射下，BL-PT-P(NIPAM/AM)水凝胶下层中的光热纳米粒子迅速产热，并将热量传导至上层水凝胶；当上层温度接近T_{cp}时，水凝胶发生相变并形成大量光散射中心，从而有效削弱激光的穿透. 该过程在光热转换与光散射屏蔽之间建立了一种动态、可逆的平衡，使体系的光热平衡温度稳定维持在T_{cp}附近. 基于后续实验中对噬菌体安全、稳定递送的需求，选用AM/

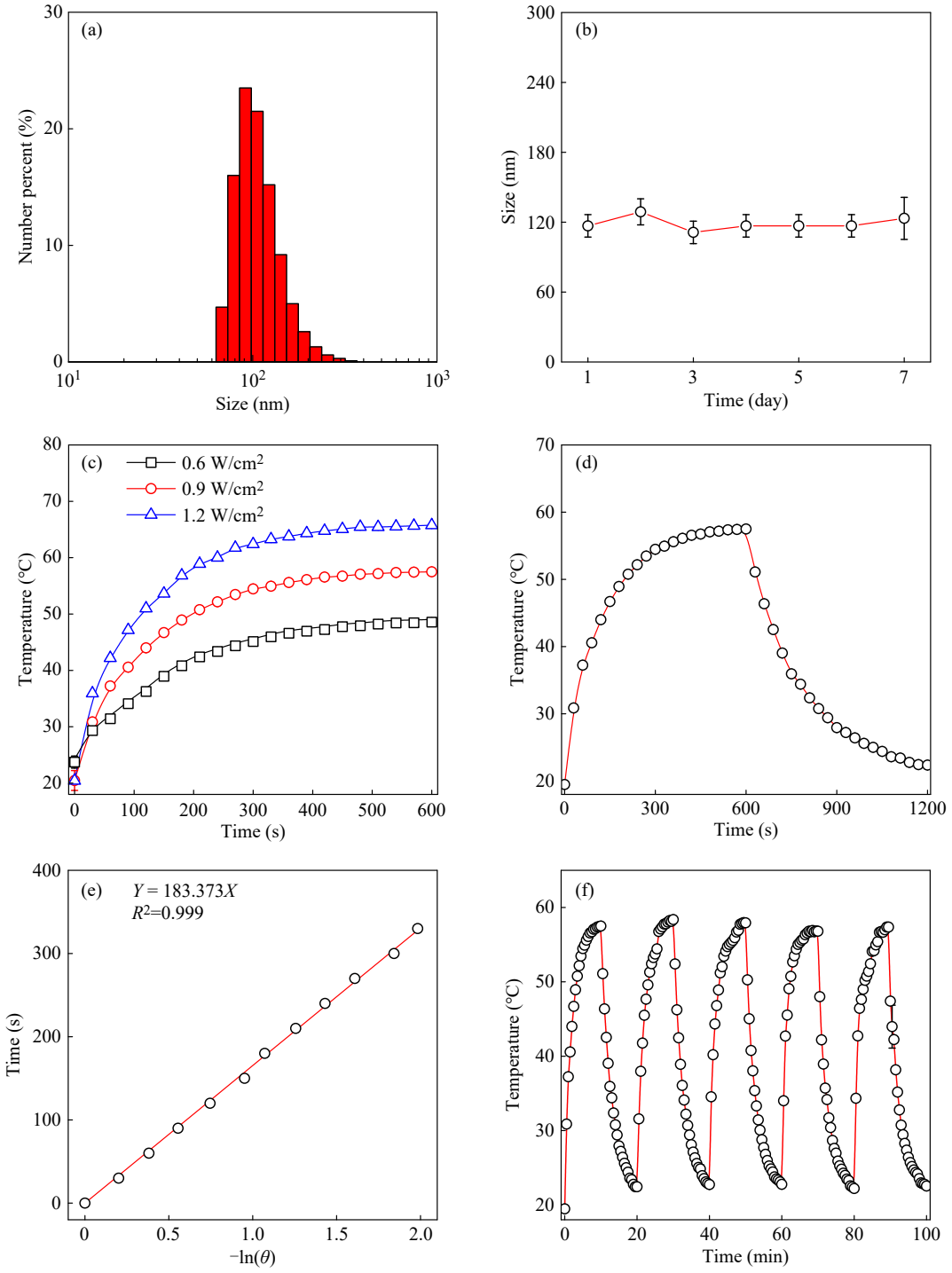


Fig. 3 Characterization on the physicochemical properties of MeO-TPA-ICN@PVA. (a) Size distribution of MeO-TPA-ICN@PVA; (b) Colloidal stability of MeO-TPA-ICN@PVA over 7 days; (c) Photothermal heating curves of MeO-TPA-ICN@PVA ([MeO-TPA-ICN]=40 μmol/L) under 660 nm laser irradiation at different power densities; (d) Heating and cooling curves of MeO-TPA-ICN@PVA ([MeO-TPA-ICN]=40 μmol/L) under 660 nm laser irradiation (0.9 W/cm^2); (e) Linear fitting curve of $-\ln(\theta)$ versus time derived from the cooling curve of MeO-TPA-ICN@PVA ([MeO-TPA-ICN]=40 μmol/L); (f) Photothermal stability of MeO-TPA-ICN@PVA ([MeO-TPA-ICN]=40 μmol/L) after five laser on/off cycles under 660 nm laser irradiation at 0.9 W/cm^2.

NIPAM质量比为1/20的BL-PT-P(NIPAM/AM)双层水凝胶(T_{cp}≈42 ℃)作为智能温控体系. 利用热成像仪记录了2种水凝胶在660 nm激光照射下随时间变化的温度分布(图5(d))，结果表明BL-PT-P(NIPAM/AM)双层水凝胶展现出优异的恒温控制能力. 综上所述，BL-PT-P(NIPAM/AM)双

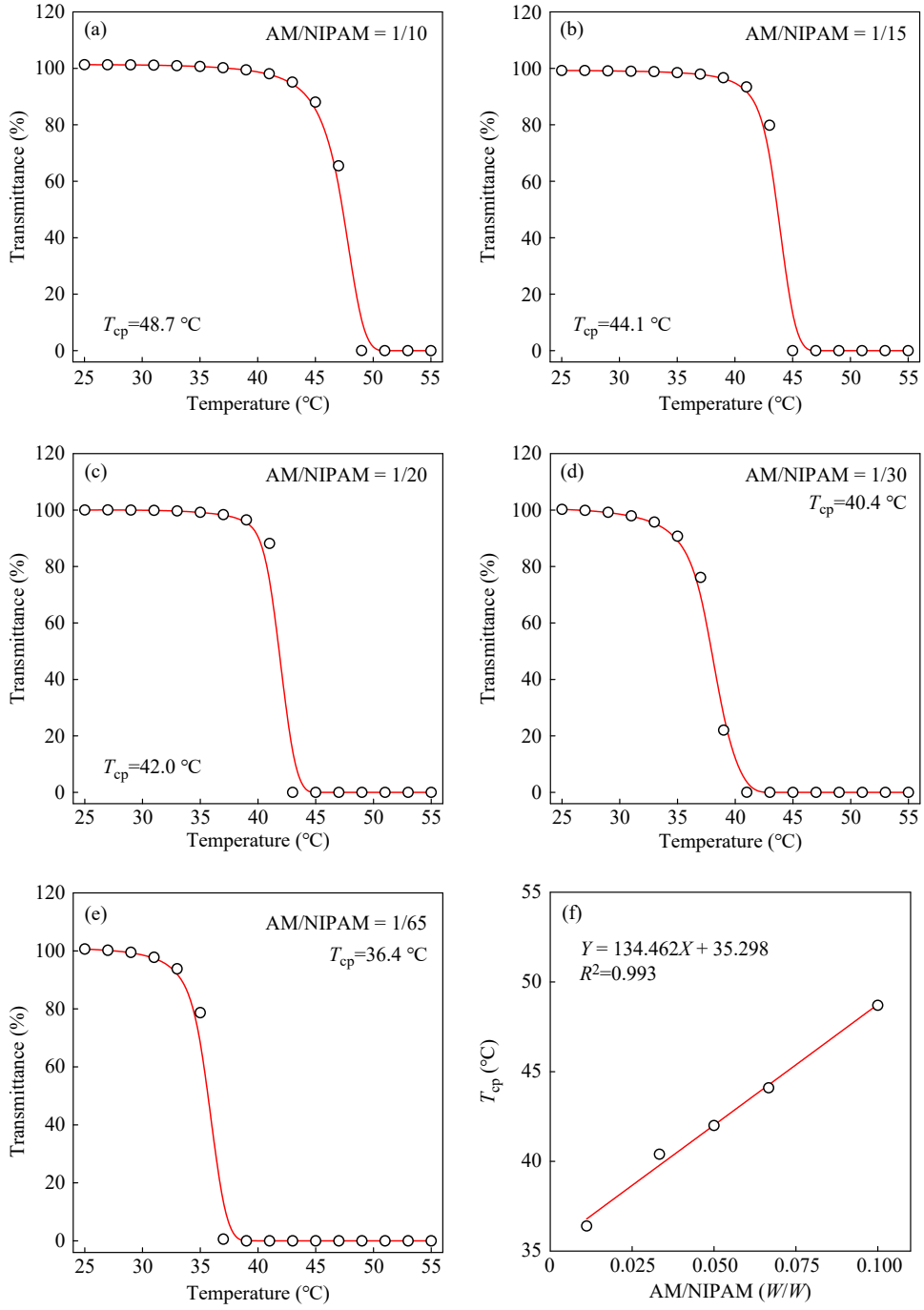


Fig. 4 Temperature-dependent transmittance of P(NIPAM/AM) hydrogels at 660 nm with different monomer weight ratios: (a) AM/NIPAM = 1/10, (b) AM/NIPAM = 1/15, (c) AM/NIPAM = 1/20, (d) AM/NIPAM = 1/30, (e) AM/NIPAM = 1/65; (f) Linear correlation between T_{cp} and the AM/NIPAM mass ratio.

层水凝胶能够实现智能、精准且稳定的温度控制，为生物活性载体递送及安全光热治疗提供了重要保障.

2.3 噬菌体与抗生素的协同抗菌性能

为明确WT *E. coli*对常见抗生素的敏感性，我们测定了LVX、CRO、CHL和TOB对WT *E. coli*的MIC值，结果如表1所示.

根据CLSI M100的判断标准，上述4种抗生素的MIC值均高于临床敏感折点，表明WT *E. coli*对LVX、CRO、CHL和TOB均呈现不同程度的耐药性(S表示临床敏感，I表示临界值，R表示临床不敏感).

我们进一步评估了T4噬菌体与抗生素联合使用的协同抗菌效果. 为定量比较噬菌体对抗生

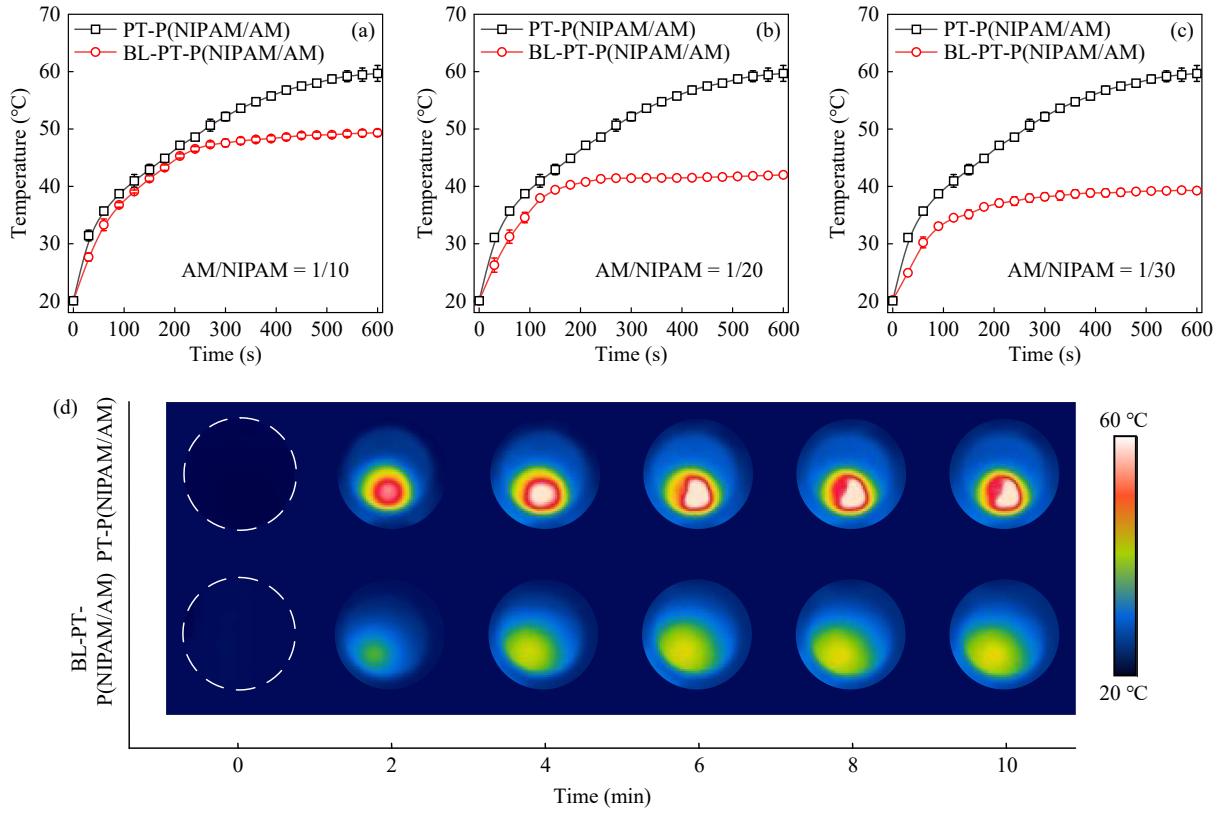


Fig. 5 Photothermal heating curves and thermal images of BL-PT-P(NIPAM/AM) and PT-P(NIPAM/AM) hydrogels with different monomer weight ratios under 660 nm laser irradiation at 0.9 W/cm^2: (a) AM/NIPAM = 1/10, (b) AM/NIPAM = 1/20, (c) AM/NIPAM = 1/30; (d) Thermal images of BL-PT-P(NIPAM/AM) and PT-P(NIPAM/AM) hydrogels (AM/NIPAM = 1/20).

Table 1 MIC values and clinical susceptibility of different antibiotics against WT *E. coli*.

Antibiotic	MIC (μg/mL)	Clinical susceptibility
LVX	32	R (≥32)
CRO	>512	R (≥4)
CHL	128	R (≥32)
TOB	64	R (≥8)

素抑菌能力的增敏作用，以细菌生长曲线中OD_{600}=0.08所对应的药物浓度作为有效抑菌判定标准. 如图6(a)~6(d)所示，在T4噬菌体存在条件下，LVX、CRO、CHL和TOB 4种抗生素对WT *E. coli*的有效抑菌浓度分别由48、>512、153和83 μg/mL显著降低至2.6、2.0、1.6和31.6 μg/mL. 这一结果表明，T4噬菌体可显著增强多种抗生素的抑菌作用并降低其有效用量，从而验证了其与抗生素之间存在明显的协同抗菌能力.

2.4　多模态协同治疗策略在体外细菌杀伤中的作用

基于前述实验中对BL-PT-P(NIPAM/AM)双层水凝胶恒温光热性能及噬菌体−抗生素协同抗菌效果的验证，构建了一种基于恒温光热水凝胶的噬菌体控释系统，旨在实现噬菌体的按需大量释放，并与抗生素协同增强抗菌效果. 以野生型大肠杆菌(WT *E. coli*)为模型菌株，评估了负载T4噬菌体的恒温光热水凝胶T4@BL-PT-P(NIPAM/AM)与LVX联用时的体外抗菌效果.

为降低光热过程对噬菌体活性的潜在影响，选用T_{cp}≈42 ℃的T4@BL-PT-P(NIPAM/AM)水凝胶进行实验表征. 实验分组中，“Blank”和“LVX”分别表示PBS处理的对照组和LVX处理的治疗组；“D/H”和“L/H”、“D/T4”和“L/T4”、“D/T4/LVX”和“L/T4/LVX”分别表示无/有激光照射的BL-PT-P(NIPAM/AM)水凝胶处理组、无/有激光照射的T4@BL-PT-P(NIPAM/AM)水凝胶处理组、无/有激光照射的T4@BL-PT-P(NIPAM/AM)水凝胶与LVX联合处理组. 其中，LVX均在有/无激光照射的水凝胶处理结束并继续孵育4 h后加入. 如图7(a)和7(b)所示，不含噬菌体的“D/H”和“L/H”组未表现出明显的抗菌效果；单独使用1/2 MIC浓度的“LVX”组，对杀菌效率

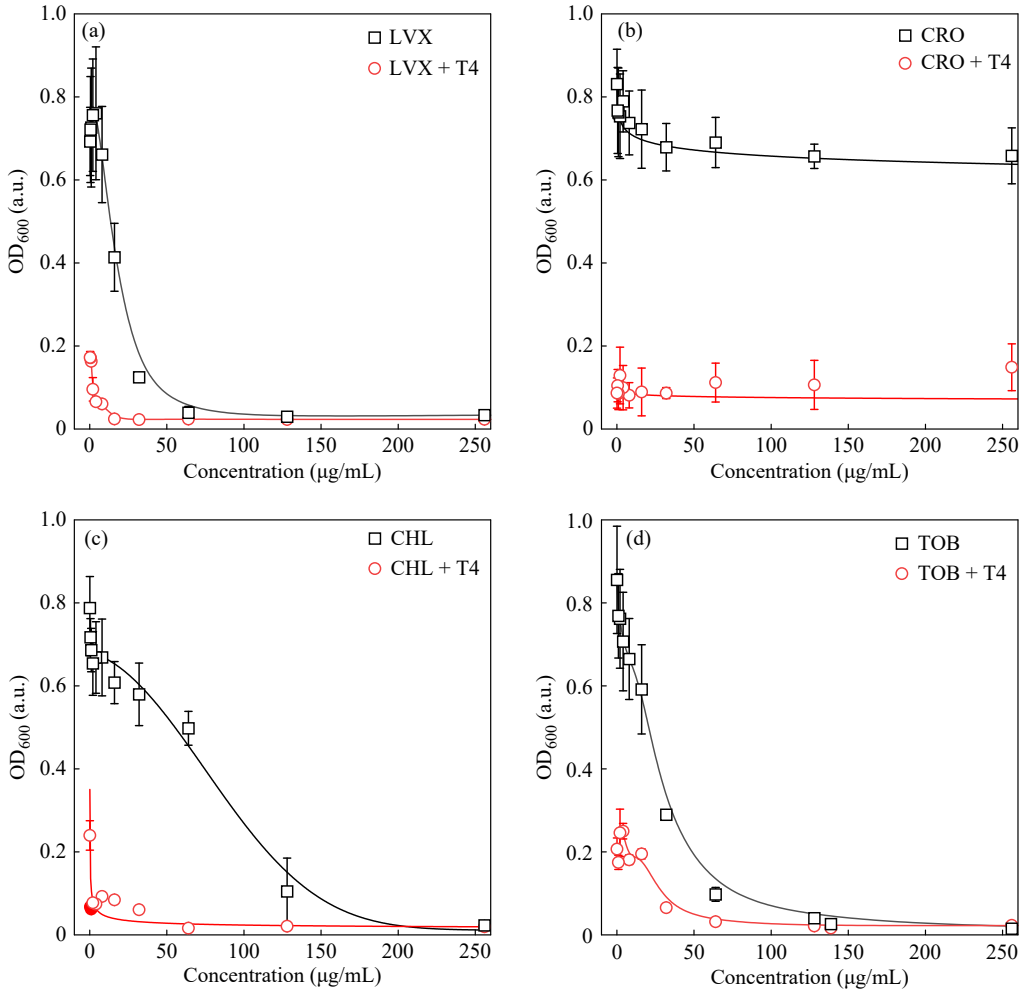


Fig. 6 Bacterial growth as a function of antibiotic concentration in the presence or absence of phage T4 (1×10^2 PFU/mL): (a) LVX, (b) CRO, (c) CHL, (d) TOB.

仅为70%. 相比之下，“L/T4”组杀菌效率显著提高至93%，这归因于T4@BL-PT-P(NIPAM/AM)水凝胶在660 nm激光照射下升温并在达到42 ℃时后发生相变，从而促进T4噬菌体大量释放；进一步地，多模态协同治疗的“L/T4/LVX”组杀菌效率高达99.9%，显著优于任何单一治疗方式. T4@BL-PT-P(NIPAM/AM)水凝胶在激光照射下发生相变收缩，从而实现T4噬菌体的可控释放；与此同时，光热效应引起的局部升温可导致部分细菌细胞结构受损，为后续抗菌作用创造有利条件. 释放后的噬菌体可特异性裂解WT *E. coli*并产生子代噬菌体，形成持续性抗菌效应；随后加入的LVX进一步杀灭可能逃逸噬菌体裂解的残留细菌. 因此，光热损伤、噬菌体裂解和抗生素清除在时序和功能上形成有效衔接，共同构建了多模态协同抗菌机制.

为直观展示多模态协同治疗的抗菌效果，对处理后的WT *E. coli*进行了活/死荧光染色. 如图7(c)所示，绿色荧光代表活细菌，红色荧光代表死细菌. “Blank”、“D/H”和“L/H”组均呈现强烈的绿色荧光，表明细菌存活率高，这与平板计数结果一致；“LVX”组可观察到部分红色荧光信号，说明抗生素处理导致部分细菌死亡；相比之下，“D/T4”和“L/T4”组中绿色荧光信号显著减少，表明T4噬菌体对细菌的裂解作用；尤其在“L/T4/LVX”组中，绿色荧光信号显著减少并伴随红色荧光信号的出现，直观体现了噬菌体与抗生素通过不同抗菌机制所产生的协同抗菌效果.

2.5 多模态协同治疗策略在小鼠皮肤伤口感染模型中的应用

基于体外抗菌实验结果，进一步构建了WT *E. coli*感染的小鼠皮肤伤口模型，以评估多模态协同治疗策略在体内的抗菌疗效. 具体而言，在

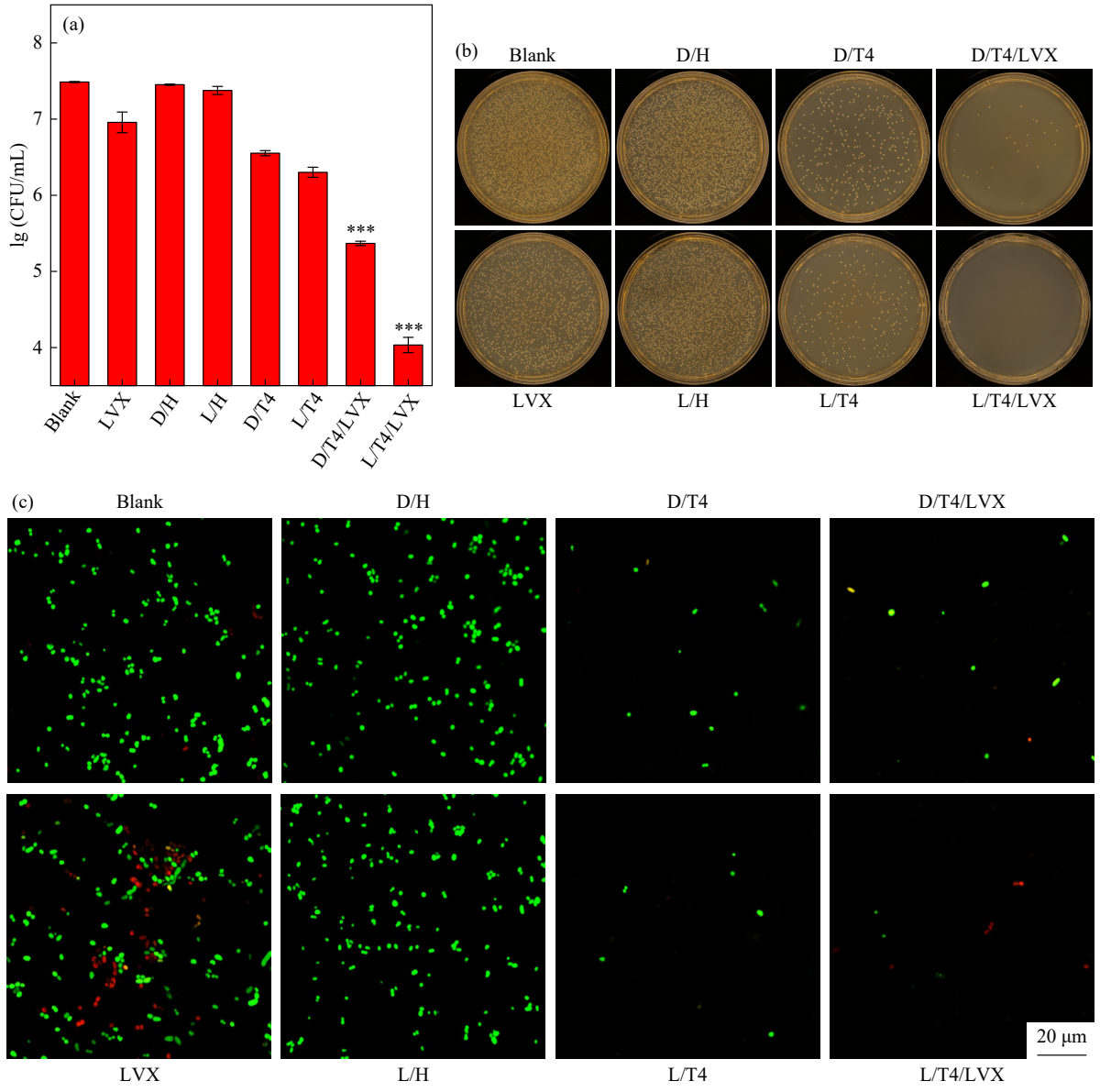
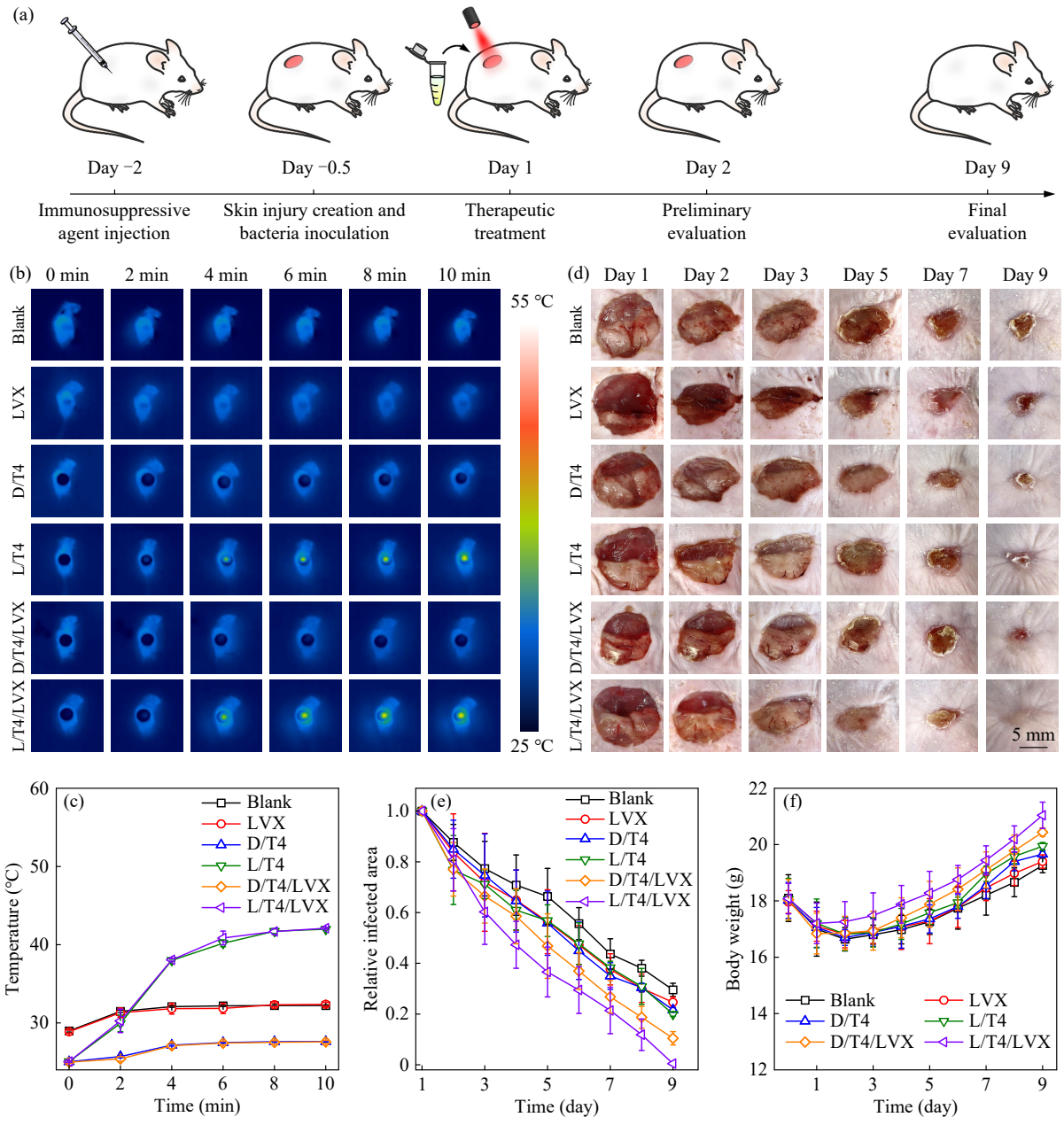


Fig. 7 *In vitro* antibacterial activity against WT *E. coli* following different treatments. (a) Quantitative analysis of bacterial viability for different groups under conditions with or without laser irradiation and with or without LVX (n=3). $^{***}p$<0.001 when compared with the blank group; (b) Photographs of bacterial colonies formed on LB solid agar plates for different treatment groups; (c) CLSM images of live (green) and dead bacteria (red) after different treatments. "Blank" and "LVX" denote the PBS-treated control group and the LVX-treated group, respectively; "D/H" and "L/H", "D/T4" and "L/T4", and "D/T4/LVX" and "L/T4/LVX" represent the groups treated with BL-PT-P(NIPAM/AM) hydrogel without or with laser irradiation, T4@BL-PT-P(NIPAM/AM) hydrogel without or with laser irradiation, and T4@BL-PT-P(NIPAM/AM) hydrogel without or with laser irradiation followed by LVX treatment, respectively.

每只小鼠的背部建立一个直径约为8 mm的圆形皮肤伤口，并在伤口处接种WT *E. coli*以建立感染模型(图8(a)). 随后，将感染小鼠随机分为6组，分别接受不同处理. 其中，用"Blank"和"LVX"分别表示PBS处理的对照组和LVX处理的治疗组；"D/T4"和"L/T4"、"D/T4/LVX"和"L/T4/LVX"分别表示无/有激光照射的T4@BL-PT-P(NIPAM/AM)水凝胶处理组、无/有激光照射的T4@BL-PT-P(NIPAM/AM)水凝胶与LVX联合处理组. 在激光照射过程中，采用红外热成像仪对伤口区域温度进行实时监测，并每隔120 s记录一次温度变化. 如图8(b)和8(c)所示，未接受激光照射的水凝胶组("D/T4"和"D/T4/LVX")仅表现为轻微的温度升高. 相比之下，经激光照

射的水凝胶组(“L/T4”和“L/T4/LVX”)，伤口区域温度在激光照射后迅速上升，并维持在42 ℃附近，这主要得益于T4@BL-PT-P(NIPAM/AM)水凝胶的智能温度调控特性. 在整个治疗过程中，监测小鼠的存活率、感染伤口面积变化以及体重变化. 如图8(d)和8(e)所示，至治疗第9天，“L/T4/LVX”组小鼠的皮肤伤口基本完全愈合，愈合程度明显优于其他处理组. 如图8(f)所示，接受多模态协同治疗的“L/T4/LVX”组小鼠在治疗后第2天体重即开始回升，且其恢复速度显著快于其他各组. 这一结果主要归因于水凝胶在光热相变后促进噬菌体的大量释放，提高了伤口局部的噬菌体滴度，从而增强了噬菌体与抗生素的协同抗菌效果. 为进一步定量评估体内抗菌效果，在治疗第2天和第9天分别取感染区域一半的皮肤组织进行匀浆并进行细菌定量分析. 如图8(g)和8(h)所示，第9天“L/T4”组和“L/T4/LVX”组的杀菌效率分别为94%和99.9%，进一步证实了多模态协同治疗的显著抗菌优势. 此外，在整个治疗周期内，各实验组小鼠的存活率均为100%.

为了进一步评估多模态协同治疗策略对感染伤口愈合的促进作用，在治疗第2天和第9天对感染伤口区域进行了组织学分析. 如图9(a)所示，



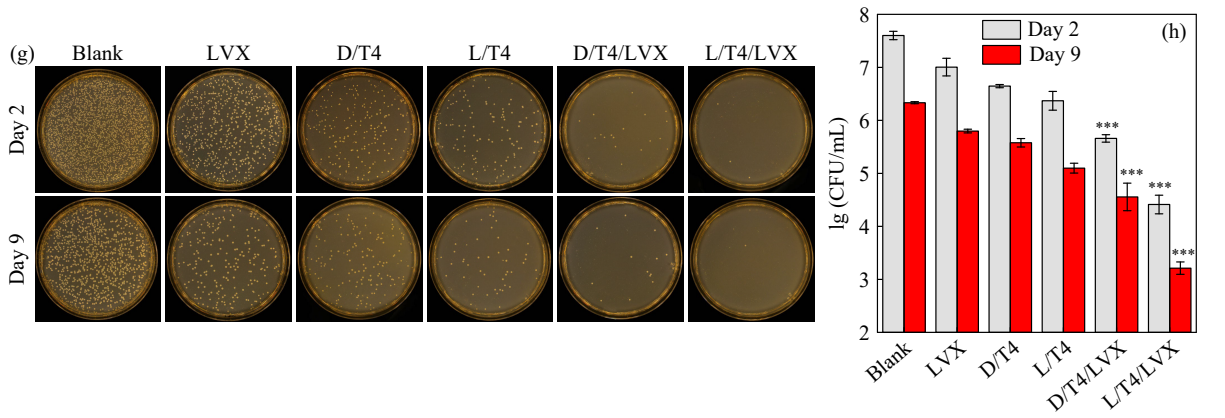


Fig. 8 *In vivo* antibacterial behaviors following different treatments. (a) Schematic timeline of the entire evaluation period; (b) Thermal images of infected mice under different treatments; (c) Temperature profiles extracted from thermal images of infected mice (n=5); (d) Photographs of skin wounds on infected mice with different treatments. Scale bar: 5 mm; (e) Relative wound areas of infected mice with different treatments (n=5); (f) Body weight changes of infected mice with different treatments (n=5); (g) Photographs of bacterial colonies formed on LB solid agar plates for different treatment groups collected on day 2 and day 9; (h) Quantitative analysis of bacterial viability for different treatment groups on day 2 and day 9 (n=3). $^{***}p$< 0.001 when compared with the blank group.

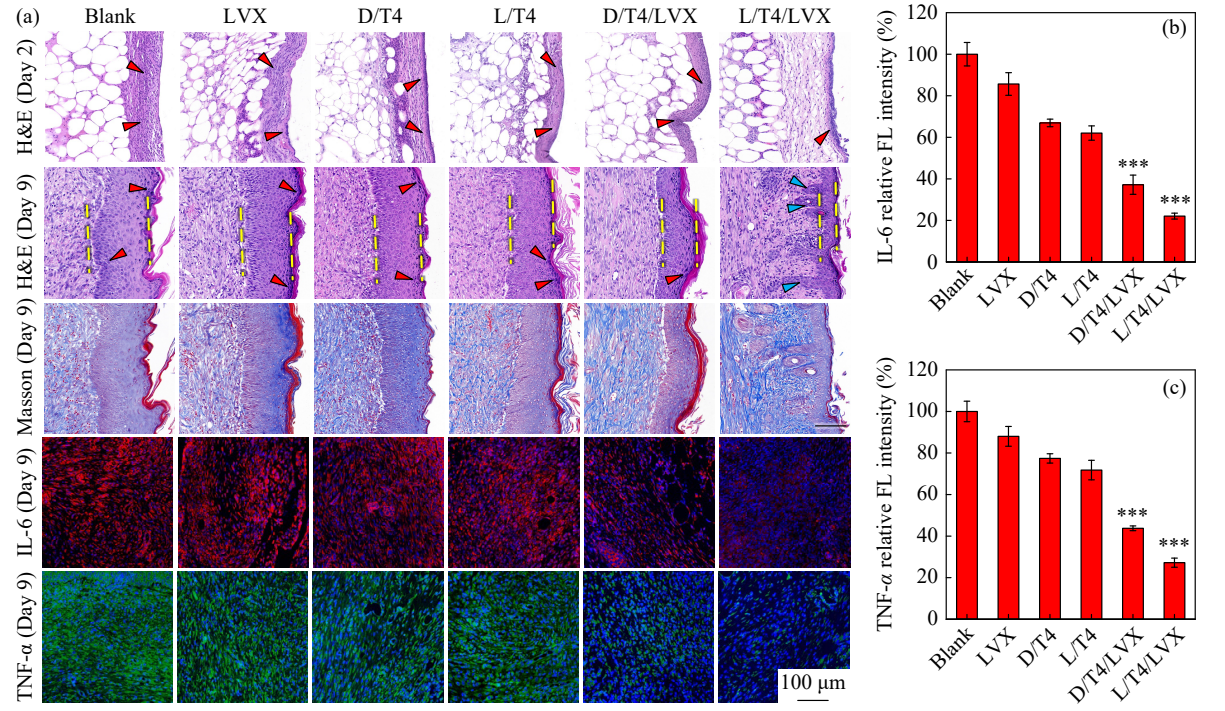


Fig. 9 Histological and immunofluorescence analysis of infected wound tissues after different treatments. (a) H&E staining on day 2 and day 9, Masson's trichrome staining on day 9, and immunofluorescence staining on day 9 of infected wound tissue sections from mice for different treatment groups. All tissue samples used for staining were collected from the wound area. Red arrowheads, blue arrowheads, and yellow dashed lines indicate inflammatory regions, newly formed hair follicles, and regenerated epidermis, respectively; (b) Quantitative analysis of the relative fluorescence intensity of IL-6 for different treatment groups (n=5); (c) Quantitative analysis of the relative fluorescence intensity of TNF-α for different treatment groups (n=5). $^{***}p$<0.001 when compared with the blank group.

在第2天的H&E染色中，各处理组伤口均可观察到组织结构破坏及炎症细胞浸润，但“L/T4/LVX”组的炎症面积最小，表明该组的即时治疗效果优于其他各组. 至第9天时，“L/T4/LVX”组中炎症细胞显著减少，并在伤口区域形成较为完整的新生表皮及相对成熟的毛囊结构，表明多模

态协同治疗策略有效促进了组织再生与伤口愈合. 进一步，通过Masson染色评估伤口组织中的胶原沉积情况. 结果显示，在第9天时，“L/T4/LVX”组呈现出最多的蓝色染色区域，表明胶原纤维沉积显著增加. 上述结果表明，多模态协同治疗不仅有效抑制感染与炎症反应，还显著促进胶原合成，从而加速伤口愈合与表皮再生. 进一步，我们采用免疫荧光分析了促炎细胞因子IL-6和TNF-α的表达水平，其升高通常表征炎症反应的发生[35]. 如图9(a)~9(c)所示，“L/T4/LVX”组中IL-6 (红色荧光)和TNF-α (绿色荧光)的荧光强度最低，表明感染伤口区域的炎症反应得到显著抑制.

随后，采用免疫组化分析了胶原沉积与血管再成情况(图10). CD31是一种与内皮细胞黏附和血管生成密切相关的标志性蛋白，在维持血管完整性、调节免疫反应及促进组织再生中发挥重要作用. 如图10(a)和10(b)所示，“L/T4/LVX”组中新生微血管数量明显多于其他各组，表明多模态协同治疗策略能有效促进血管生成. 此外，在治疗第9天，“L/T4/LVX”组中COL I和COL III的表达水平均显著升高，表明该治疗方式通过促进胶原蛋白合成加速了伤口修复过程(图10(a)、10(c)和10(d)). 综上所述，多模态协同治疗策略不仅有效减轻了伤口部位的炎症反应，还显著促进了血管生成与胶原沉积，从而加快了伤口组织的再生与修复.

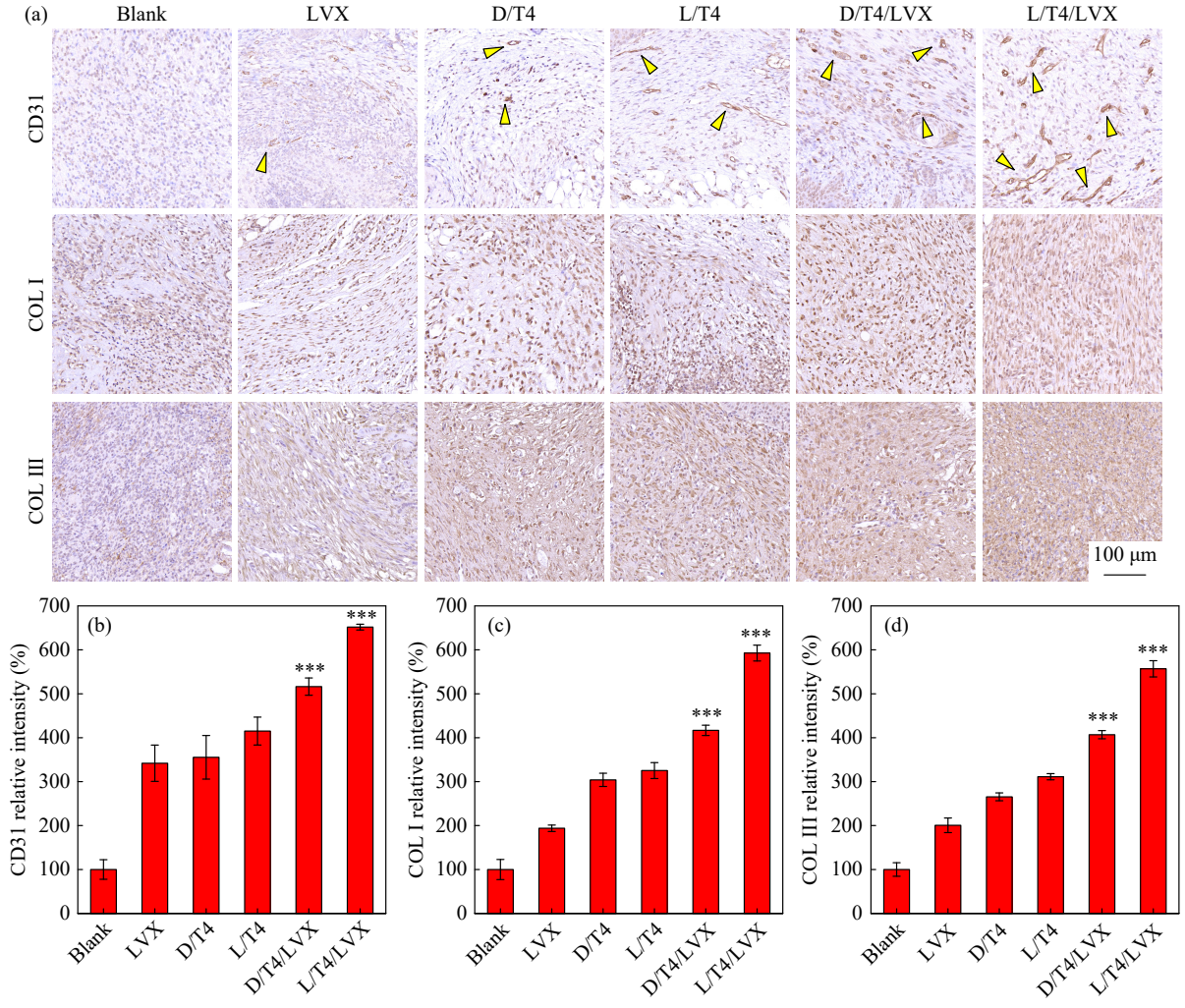


Fig. 10 Immunohistochemical analysis of infected wound tissues after different treatments on day 9. (a) Immunohistochemical analysis of CD31, COL I, and COL III in infected wound tissue sections from mice for different treatment groups. Yellow arrowheads indicate newly formed blood vessels; (b) Quantitative analysis of the relative fluorescence intensity of CD31 for different treatment groups (n=5); (c) Quantitative analysis of the relative fluorescence intensity of COL I for different treatment groups (n=5); (d) Quantitative analysis of the relative fluorescence intensity of COL III for different treatment groups (n=5). $^{***}p$<0.001 when compared with the blank group.

为评估多模态协同治疗策略的生物安全性，我们对小鼠的主要脏器(如心、肝、脾、肺和肾)进行了H&E染色分析. 结果显示，各处理组在第2天和第9天均未观察到明显的病理学异常，表明其在体内应用中具有良好的生物安全性(图11).

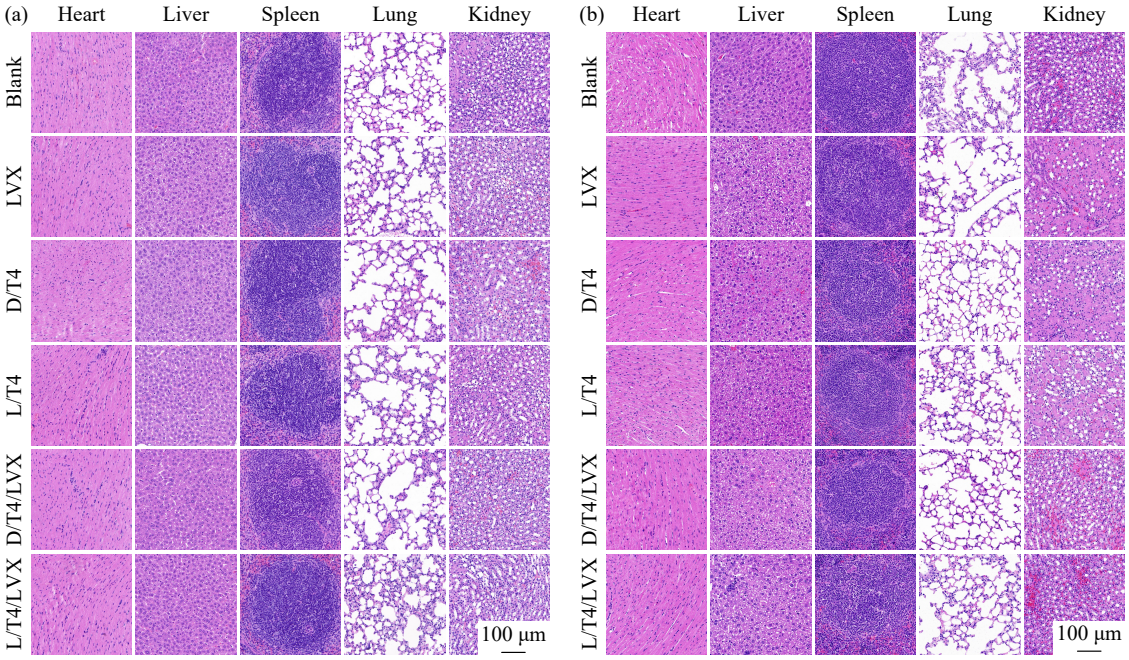


Fig. 11 H&E staining of major organs (including heart, liver, spleen, lung, and kidney) after different treatments in infected mice on (a) day 2 and (b) day 9.

3　结论

构建了一种基于双层恒温光热水凝胶BL-PT-P(NIPAM/AM)的智能噬菌体控释系统. 通过在下层水凝胶中引入高效光热纳米粒子MeO-TPA-ICN@PVA，使体系在660 nm激光照射下实现自升温并诱导水凝胶相变收缩，从而触发噬菌体大量释放；同时，上层不含光热材料的“空白”水凝胶在相变后产生光散射效应，有效限制激光的进一步穿透，使体系温度稳定维持在相变点以下，实现了噬菌体的恒温、按需释放.

将负载T4噬菌体的双层恒温光热水凝胶T4@BL-PT-P(NIPAM/AM)与抗生素联合应用，构建了噬菌体−抗生素−光热多模态协同抗菌治疗策略. 该策略在降低抗生素用量的同时显著增强了抗菌效果. 体外抗菌实验及小鼠皮肤伤口感染治疗结果表明，该多模态协同治疗策略对WT *E. coli*的杀菌效率高达99.9%，并显著促进了感染伤口的愈合，展示出良好的应用潜力.

REFERENCES

1　May, K. L.; Grabowicz, M. The bacterial outer membrane is an evolving antibiotic barrier. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2018**, 115(36), 8852−8854.

2　MacLean, R. C.; San Millan, A. The evolution of antibiotic resistance. *Science*, **2019**, 365(6458), 1082−1083.

3　Tängdén, T.; Pulcini, C.; Aagaard, H.; Balasegaram, M.; Hara, G. L.; Nathwani, D.; Sharland, M.; Theuretzbacher, U.; Cars, O. Unavailability of old antibiotics threatens effective treatment for common bacterial infections. *Lancet Infect. Dis.*, **2018**, 18(3), 242−244.

4　Yu, Q.; Wang, L.; Zhang, Z. Y.; Liang, Z. Q.; Hu, J.; Wang, S. T.; Luan, S. F.; Shi, H. C. Synergistic antibacteria and anti-inflammation with reversible redox selenium-functionalized polypeptides for efficient gram-negative bacterial sepsis treatment. *Small*, **2026**, 22(3), e09805.

5 Wang, J. X.; Hao, B. Y.; Xue, K.; Fu, H.; Xiao, M. H.; Zhang, Y. X.; Shi, L. Q.; Zhu, C. L. A smart photothermal nanosystem with an intrinsic temperature-control mechanism for thermostatic treatment of bacterial infections. *Adv. Mater.*, **2022**, 34(44), 2205653.

6 Huo, J. J.; Jia, Q. Y.; Huang, H.; Zhang, J.; Li, P.; Dong, X. C.; Huang, W. Emerging photothermal-derived multimodal synergistic therapy in combating bacterial infections. *Chem. Soc. Rev.*, **2021**, 50(15), 8762−8789.

7 徐婷, 葛黎明, 徐志朗, 李德富, 穆畅道. 可溶性透明质酸微针经皮递送迷迭香酸协同光热抗菌的研究. 高分子学报, **2025**, 56(10), 1746−1756.

8 Hu, D. F.; Li, H.; Wang, B. L.; Ye, Z.; Lei, W. X.; Jia, F.; Jin, Q.; Ren, K. F.; Ji, J. Surface-adaptive gold nanoparticles with effective adherence and enhanced photothermal ablation of methicillin-resistant staphylococcus aureus biofilm. *ACS Nano*, **2017**, 11(9), 9330−9339.

9 Xiu, W. J.; Wan, L.; Yang, K. L.; Li, X.; Yuwen, L.; Dong, H.; Mou, Y. B.; Yang, D. L.; Wang, L. H. Potentiating hypoxic microenvironment for antibiotic activation by photodynamic therapy to combat bacterial biofilm infections. *Nat. Commun.*, **2022**, 13(1), 3875.

10 Jia, Q. Y.; Song, Q.; Li, P.; Huang, W. Rejuvenated photodynamic therapy for bacterial infections. *Adv. Healthc. Mater.*, **2019**, 8(14), 1900608.

11 Du, P. D.; Shen, Y. Z.; Zhang, B. L.; Li, S.; Gao, M. Z.; Wang, T.; Ding, X. K.; Yu, B. R.; Wang, Z. G.; Xu, F. J. A H_2O_2-supplied supramolecular material for post-irradiated infected wound treatment. *Adv. Sci.*, **2023**, 10(9), 2206851.

12 Zhu, Y. W.; Wu, S. J.; Sun, Y. J.; Zou, X.; Zheng, L.; Duan, S.; Wang, J. L.; Yu, B. R.; Sui, R. F.; Xu, F. J. Bacteria-targeting photodynamic nanoassemblies for efficient treatment of multidrug-resistant biofilm infected keratitis. *Adv. Funct. Mater.*, **2022**, 32(14), 2111066.

13 Jin, L. L.; Cao, F. F.; Gao, Y.; Zhang, C. Y.; Qian, Z. F.; Zhang, J. J.; Mao, Z. W. Microenvironment-activated nanozyme-armed bacteriophages efficiently combat bacterial infection. *Adv. Mater.*, **2023**, 35(30), 2301349.

14 Oromí -Bosch, A.; Antani, J. D.; Turner, P. E. Developing phage therapy that overcomes the evolution of bacterial resistance. *Annu. Rev. Virol.*, **2023**, 10(1), 503−524.

15 Skurnik, M.; Alkalay-Oren, S.; Boon, M.; Clokie, M.; Sicheritz-Pontén, T.; Dąbrowska, K.; Hatfull, G. F.; Hazan, R.; Jalasvuori, M.; Kiljunen, S.; Lavigne, R.; Malik, D. J.; Nir-Paz, R.; Pirnay, J. P. Phage therapy. *Nat. Rev. Meth. Primers*, **2025**, 5, 9.

16 Abedon, S. T. Use of phage therapy to treat long-standing, persistent, or chronic bacterial infections. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **2019**, 145, 18−39.

17 Liu, M. Y.; Liu, X.; Wang, C. Y.; Wan, Q. Q.; Tian, Y. F.; Liu, S. L.; Pang, D. W.; Wang, Z. G. Inhalable polymeric microparticles for phage and photothermal synergistic therapy of methicillin-resistant staphylococcus aureus pneumonia. *Nano Lett.*, **2024**, 24(28), 8752−8762.

18 Kim, M. K.; Chen, Q. Q.; Echterhof, A.; Pennetzdorfer, N.; McBride, R. C.; Banaei, N.; Burgener, E. B.; Milla, C. E.; Bollyky, P. L. A blueprint for broadly effective bacteriophage-antibiotic cocktails against bacterial infections. *Nat. Commun.*, **2024**, 15(1), 9987.

19 Gordillo Altamirano, F. L.; Barr, J. J. Phage therapy in the postantibiotic era. *Clin. Microbiol. Rev.*, **2019**, 32(2), e00066−18.

20 Tao, S. Y.; Hu, A. N.; Bavel, E.; Yu, C. H.; Zhang, S. X.; Kissling, V. M.; Li, Z. H.; Moriaty, T. F.; Maniura-Weber, K.; Ren, Q. Bio-responsive hydrogel for targeted on-demand release of a phage cocktail for treatment of pseudomonas aeruginosa infection. *Adv. Funct. Mater.*, **2026**, 36(2), e09360.

21 王黎安, 葛志青, 汪谟贞, 葛学武. 具有近红外光控释功能的邻苯二酚改性壳聚糖基可注射生物黏合剂的制备及性能. 高分子学报, **2020**, 51(12), 1335−1346.

22 Chang, R. X.; Wang, X. M.; Li, X.; An, H.; Qin, J. L. Self-activated healable hydrogels with reversible temperature responsiveness. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2016**, 8(38), 25544−25551.

23 Yan, W.; Banerjee, P.; Liu, Y. N.; Mi, Z. Q.; Bai, C. Q.; Hu, H. Y.; To, K. K. W.; Duong, H. T. T.; Leung, S. S. Y. Development of thermosensitive hydrogel wound dressing containing Acinetobacter baumannii phage against wound infections. *Int. J. Pharm.*, **2021**, 602, 120508.

24 Briot, T.; Kolenda, C.; Ferry, T.; Medina, M.; Laurent, F.; Leboucher, G.; Pirot, F. Paving the way for phage therapy using novel drug delivery approaches. *J. Control. Release*, **2022**, 347, 414−424.

25 Rasib, S. Z. M.; Ahmad, Z.; Khan, A.; Akil, H. M.; Othman, M. B. H.; Hamid, Z. A. A.; Ullah, F. Synthesis and evaluation on pH- and temperature-responsive chitosan-p(MAA-*co*-NIPAM) hydrogels. *Int. J. Biol. Macromol.*, **2018**, 108, 367−375.

26 McMasters, J.; Poh, S.; Lin, J. B.; Panitch, A. Delivery of anti-inflammatory peptides from hollow PEGylated poly(NIPAM) nanoparticles reduces inflammation in an *ex vivo* osteoarthritis model. *J. Control. Release*, **2017**, 258, 161−170.

27 Cao, Y.; Wang, L. F.; Zhang, X. M.; Lu, Y.; Wei, Y.; Liang, Z. W.; Hu, Y. C.; Huang, D. Double-crosslinked PNIPAM-based hydrogel dressings with adjustable adhesion and contractility. *Regen. Biomater.*, **2023**, 10, rbad081.

28 Mi, L.; Xue, H.; Li, Y. T.; Jiang, S. Y. A thermoresponsive antimicrobial wound dressing hydrogel based on a cationic betaine ester. *Adv. Funct. Mater.*, **2011**, 21(21), 4028−4034.

29 Fu, H.; Xue, K.; Zhang, Y. X.; Xiao, M. H.; Wu, K. Y.; Shi, L. Q.; Zhu, C. L. Thermoresponsive hydrogel-enabled thermostatic photothermal therapy for enhanced healing of bacteria-infected wounds. *Adv. Sci.*, **2023**, 10(11), 2206865.

30 Kang, M. M.; Zhou, C. C.; Wu, S. M.; Yu, B. R.; Zhang, Z. J.; Song, N.; Lee, M. M. S.; Xu, W. H.; Xu, F. J.; Wang, D.; Wang, L.; Tang, B. Z. Evaluation of structure-function relationships of aggregation-induced emission luminogens for simultaneous dual applications of specific discrimination and efficient photodynamic killing of gram-positive bacteria. *J. Am. Chem. Soc.*, **2019**, 141(42), 16781−16789.

31 Jeux, V.; Segut, O.; Demeter, D.; Alévêque, O.; Leriche, P.; Roncali, J. Push-pull triphenylamine chromophore syntheses and optoelectronic characterizations. *ChemPlusChem*, **2015**, 80(4), 697−703.

32 Lv, S. Y.; Wang, C.; Xue, K.; Wang, J. X.; Xiao, M. H.; Sun, Z. C.; Han, L.; Shi, L. Q.; Zhu, C. L. Activated alkyne-enabled turn-on click bioconjugation with cascade signal amplification for ultrafast and high-throughput antibiotic screening. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2023**, 120(27), e2302367120.

33 纪文科, 胡雪琪, 赵耀, 诸致远, 饶静一. 酶响应型纳米抗生素的制备及其抗细菌生物被膜性能研究. 高分子通报, **2023**, 36(11), 1559−1569.

34 Wootton, M.; Davies, L.; Pitman, K.; Howe, R. A. Evaluation of susceptibility testing methods for Burkholderia cepacia complex: a comparison of broth microdilution, agar dilution, gradient strip and EUCAST disc diffusion. *Clin. Microbiol. Infect.*, **2021**, 27(5), 788.e1−788.e4.

35 Zhang, H. D.; Liang, Q.; Ji, Y. X.; Chen, Q.; Jiang, W. N.; Zhang, D. H.; Wu, Y. M.; Yu, L. M.; Chen, W.; Liu, R. H. Facile fabrication of antioxidative and antibacterial hydrogel films to accelerate infected diabetic wound healing. *Bioact. Mater.*, **2025**, 53, 386−403.

Research Article

Thermostatic Photothermal Hydrogel-based Multimodal Synergistic Antibacterial Therapy Integrating Bacteriophages, Antibiotics, and Photothermal Treatment

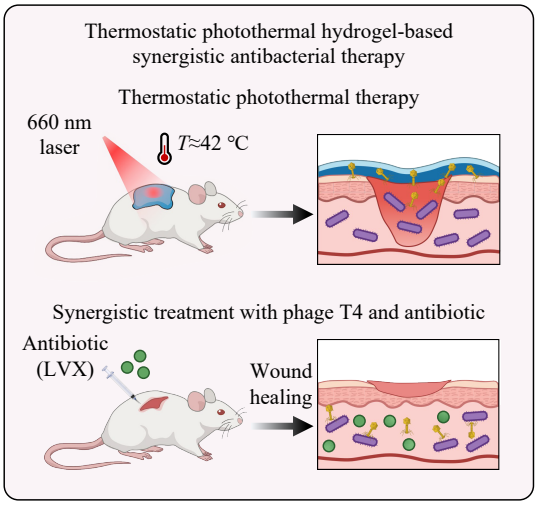
Jing-yi Zhang, Hao Fu, Shu-yi Lv, Ming-hui Xiao, Bo Liu, Liang Tian, Hua-long Li, Qin-yang Zheng, Chun-lei Zhu*

(*Key Laboratory of Functional Polymer Materials, Ministry of Education, Institute of Polymer Chemistry, College of Chemistry, Nankai University, Tianjin 300071*)

Abstract Bacterial infections pose a severe challenge to global public health, necessitating the development of novel and efficient antibacterial therapeutic strategies. In this study, a bilayer hydrogel delivery system with thermal responsiveness and thermostatic regulation was constructed to achieve on-demand burst release of bacteriophages and synergistic treatment in combination with antibiotics. By incorporating photothermal nanomaterials into the bottom hydrogel layer, laser irradiation induces localized heat generation, triggering a phase transition-driven contraction of the hydrogel and consequently enabling controlled phage release. Meanwhile, the upper hydrogel layer, devoid of photothermal components, restricted laser penetration through a phase transition-induced light-scattering effect, thereby precisely maintaining the system temperature below the hydrogel transition threshold and effectively preventing phage inactivation and tissue overheating. *In vitro* antibacterial assay demonstrated that

* Corresponding author: Chun-lei Zhu, E-mail: chunlei.zhu@nankai.edu.cn

the combined application of the controlled-release system and antibiotics achieves 99.9% eradication of wild-type *Escherichia coli* (WT *E. coli*). Furthermore, in a bacteria-infected wound model, this synergistic therapeutic strategy significantly accelerated wound healing. Overall, this work presents a multimodal synergistic therapeutic platform integrating on-demand release, intelligent thermal regulation, and synergistic antibacterial activity, providing a promising strategy for the treatment of bacteria-infected wounds.



Keywords Bacterial infection; Bacteriophages; Thermostatic control; Multimodal synergistic therapy