

## 一株空肠弯曲菌噬菌体的分离及其生物学特性鉴定

宋召军 姜启东 范正杨 焦新安 黄金林\*

(扬州大学, 农业部农产品质量安全生物性危害因子(动物源)控制重点实验室, 江苏省动物重要疫病与人兽共患病防控协同创新中心, 扬州 225009)

**摘要:** **目的** 从鸡粪便中分离裂解性空肠弯曲菌噬菌体, 研究其生物学特性, 为治疗和防控空肠弯曲菌感染奠定基础。**方法** 以空肠弯曲菌NCTC11168为宿主菌, 采用双层平板法从鸡粪便中分离空肠弯曲菌噬菌体, 并测定其噬菌斑、遗传物质、裂解谱、最佳感染复数、一步生长曲线、酸碱和热稳定性等生物学特性。**结果** 分离得到空肠弯曲菌噬菌体CP7, 其噬菌斑直径约为1~2mm, 清晰透明, 边缘光滑, 无晕环。CP7裂解能力较强, 能裂解13株空肠弯曲菌分离株。电镜观察噬菌体属于肌尾噬菌体属, 具有典型的弯曲菌噬菌体的终端泡和空头, 有一直径80nm的正多面对称头部, 一长约100nm、宽15nm的尾部, 有肌鞘并可发生收缩。CP7的遗传物质为ds DNA, 能被限制性内切酶HindIII、Hha I、Dra I、EcoRV和Taq I切开, 属于III组空肠弯曲菌噬菌体, 基因组大小约为140kb。**结论** CP7为裂解性噬菌体, 裂解能力较强, 对不同温度、pH也有较强的适应能力, 具有开发为空肠弯曲菌抑菌制剂的潜力。

**关键词:** 噬菌体; 空肠弯曲菌; 分离; 生物学特性

**中图分类号:** Q939.48 **文献标志码:** A

**DOI:**10.13461/j.cnki.cja.006343

### The isolation and characterization of a lytic phage infecting *Campylobacter jejuni*

Song Zhao-jun, Jiang Qi-dong, Fan Zheng-yang, Jiao Xin-an and Huang Jin-lin

(Yangzhou University, Key Laboratory of Prevention and Control of Biological Hazard Factors (Animal Origin) for Agrifood Safety and Quality, Ministry of Agriculture of China, Jiangsu Co-Innovation Center for Prevention and Control of Important Animal Infectious Diseases and Zoonoses, Yangzhou University, Yangzhou 225009)

**Abstract Objective** To isolate and identify a lytic *Campylobacter jejuni* phage from chicken feces samples, analyze its biological properties, and provide the basic data for therapy as well as prevention. **Methods** *Campylobacter jejuni* phages were isolated by the double-layer agar culture method from chicken faeces samples, using *Campylobacter jejuni* NCTC11168 as an indicator. Its biological properties were identified by plaque, transmission electron microscopy (TEM), genetic material, host range, optimal multiplicity of infection (MOI), one-step growth experiment, pH, and thermostability. **Results** A bacteriophage of *Campylobacter jejuni* was successfully isolated, and named as bacteriophage CP7. The morphology of plaque was round, transparent plaques with clear boundaries. Each plaque was from 1mm to 2mm in diameter. 13 strains of *Campylobacter jejuni* could be lysed by CP7. Results of the electron microscope showed phages with a typical terminal bleb and an empty head. The phages had a regular polyhedron symmetry head with a diameter of 80nm, a tail with length of approximately 100nm and width of about 15nm, and a muscular sheath for shrinking. The phages belong to the family of *Myoviridae*. The

收稿日期: 2017-09-30

基金项目: 国家自然科学基金(No. 31372449); 国家支撑计划(No. 2014BAD13B02); 江苏省自主创新项目[No. CX(15)1009-2]

作者简介: 宋召军, 男, 生于1991年, 硕士, 主要从事空肠弯曲菌噬菌体研究, E-mail: 1656259282@qq.com

\*通讯作者, E-mail: jinlin@yzu.edu.cn

genome of CP7 is ds DNA, which can be cut by restriction enzymes *Hind*III, *Hha* I, *Dra* I, *Eco*R V, and *Taq* I. The genome size of CP7 is about 140kb, belonging to the group III *Campylobacter jejuni* phage. **Conclusion** CP7 is lytic bacteriophages specific for *Campylobacter jejuni*. The phage has a strong lysis ability, and can stably present at different temperatures and pH spectrums, which shows its potency to be developed as a novel alternative for the *Campylobacter jejuni* control.

**Key words** Bacteriophage; *Campylobacter jejuni*; Isolation; Biological properties

空肠弯曲菌是革兰阴性微需氧细菌,是引起人类肠道疾病最常见的病原菌之一。空肠弯曲菌在家禽中广泛存在,严重威胁消费者健康,对社会和公共卫生危害很大,所以防控家禽中空肠弯曲菌的感染和传播,对于农业和食品工业来说是一个巨大的挑战<sup>[1]</sup>。国内主要采用抗生素防治家禽中空肠弯曲菌的传播和感染,但是,对从家禽中分离到的空肠弯曲菌进行耐药性测试,结果显示,空肠弯曲菌分离株对抗生素,尤其是对喹诺酮类抗菌药的耐药性,在持续增强<sup>[2]</sup>,急需寻求新型抗菌制剂,噬菌体是个比较好的前沿研究方向。

因此,本研究旨在探究空肠弯曲菌噬菌体分离方法,并尝试从鸡粪便中分离裂解性空肠弯曲菌噬菌体,分析其生物学特性和裂解能力,为空肠弯曲菌噬菌体的分离和应用提供科学依据,为治疗和防控抗生素耐药空肠弯曲菌提供新思路。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌株来源

分离噬菌体所用的空肠弯曲菌标准株(NCTC11168)由遵义医学院惠赠;大肠埃希菌O157由扬州疾病预防控制中心巢国祥主任惠赠;大肠埃希菌CICC23872购自中国工业微生物菌种保藏管理中心;宋氏志贺菌CMCC51592购自中国医学微生物菌种保藏管理中心;肠炎沙门菌C50041、鸡白痢沙门菌C79-13购自中国兽药监察所;大肠埃希菌ATCC25922、鸡白痢沙门菌S06004由本实验室保存;测定噬菌体裂解谱所用的36株空肠弯曲菌分离株由本实验室从鸡肛拭样品中分离鉴定并保存。

### 1.2 样品采集

鸡粪便样品采自某市活禽市场。

### 1.3 主要试剂和培养基

NZCYM Broth购自上海生工生物公司;CCDA培养基购自英国Oxoid公司;MH Broth购自美国Becton Dickinson公司;琼脂糖购自西班牙Biowest Agarose公司;明胶购自上海翊圣生物公司;Tris Base购自美国Amresco公司;DNase I、RNase A、Nco I、Sac I、Sal I、Pst I、Hind III、EcoR I、

BamH I、EcoR V、Hha I、Dra I和Taq I购自大连宝生物工程公司;λ噬菌体基因组提取试剂盒购自北京艾比根生物公司;0.22μm一次性针头式过滤器购自美国Millipore公司。SM Buffer(NaCl 5.8g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 2g, 1mol/L Tris·HCl (pH7.5) 50mL, 2%明胶(m/V)5mL, 加SW至1000mL, 121℃ 20min)。其他试剂均为国产分析纯试剂。

### 1.4 噬菌体分离纯化

噬菌体分离采用双层平板法<sup>[3]</sup>。将采集的鸡粪便样品使用SM Buffer按照1:10稀释,4℃静置过夜,使噬菌体裂解释放出来,3000g离心20min除去较大杂质,收集上清,经0.22μm滤膜过滤除菌。取0.5mL滤液与0.5mL对数生长期的宿主菌悬液混合后静置20min使噬菌体吸附到宿主菌上,然后与4mL含0.75%琼脂的半固体NZCYM培养基混合均匀,倒双层平板。将双层平板置于42℃微需氧环境培养24h,观察有无噬菌斑。

挑取单个噬菌斑置于含有1mL SM Buffer的离心管中,4℃静置2h使噬菌体充分溶解到缓冲液中,经0.22μm滤膜过滤除菌后,再次与宿主菌悬液混合,倒双层平板,将平板置于42℃微需氧环境培养24h。反复3~5次直至噬菌斑形态规则均一。

### 1.5 噬菌体宿主谱鉴定

噬菌体宿主谱鉴定采用单斑法<sup>[4]</sup>。选取36株空肠弯曲菌分离株,倒双层平板,取10μL噬菌体滴加到平板上,晾干后置于42℃微需氧环境培养24h,观察点样处有无噬菌斑,统计各细菌的裂解情况即得该噬菌体的宿主谱。

### 1.6 噬菌体最佳感染复数测定

取对数期生长的空肠弯曲菌,分别按照0.01、0.1、1、10、100感染复数加入噬菌体,42℃、120r/min培养6h后,取100μL液体梯度稀释,用双层平板法测定噬菌体效价,实验重复3次,即可得出噬菌体最佳感染复数。

### 1.7 噬菌体一步生长曲线测定

取对数期生长的空肠弯曲菌,按照最佳感染复数加入噬菌体,42℃孵育15min后,10000g离心

1min, 弃上清液, MH液体培养基洗两次, 细菌沉淀加入42℃预热的MH液体培养基混匀, 迅速置于42℃、120r/min振荡培养, 并开始计时。每10min取样100μL, 梯度稀释后用双层平板法测定噬菌体效价, 实验重复3次。以感染时间为横坐标, 噬菌体效价的对数值为纵坐标, 绘制一步生长曲线, 得出噬菌体的潜伏期、裂解期, 并计算裂解量。裂解量计算公式: 裂解量=裂解末期噬菌体效价/感染初期宿主菌浓度。

### 1.8 噬菌体热稳定性测定

取100μL噬菌体于1.5mL离心管中, 分6组, 每组18管, 分别于30、40、50、60和70℃水浴1h, 每隔10min各组取3管样品, 梯度稀释后用双层平板法测定噬菌体效价, 实验重复3次。

### 1.9 噬菌体pH稳定性测定

取100μL噬菌体于1.5mL离心管中, 分别加入900μL不同pH值(2~13)的SM Buffer, 42℃水浴2h后, 梯度稀释后用双层平板法测定噬菌体效价, 实验重复3次。

### 1.10 噬菌体颗粒的浓缩

噬菌体颗粒浓缩参照《分子克隆实验指南》中λ噬菌体颗粒PEG/NaCl沉淀提取法<sup>[5]</sup>。

### 1.11 噬菌体形态鉴定

取10μL纯化的噬菌体原液滴于覆有炭膜的铜网上, 静置15min, 用滤纸吸干铜网上的多余液体, 滴加2%磷钨酸(PTA, pH=7.0)染色10min, 静置使其自然干燥后, 用Tecnai 12透射电子显微镜观察噬菌体是否具有典型的弯曲菌噬菌体的终端泡和空头结构<sup>[6-7]</sup>。并按照Bradley和Ackermann形态分类法, 以及ICTV第九次病毒分类报告<sup>[8]</sup>, 对噬菌体进行鉴定和分类。

### 1.12 噬菌体基因组类型鉴定

使用北京艾比根λ噬菌体基因组提取试剂盒提取噬菌体基因组, 将提取的基因组分别与DNase I (20U/g)和RNaseA(5U/g)混合, 37℃温孵3h, 用1%琼脂糖凝胶电泳检测噬菌体基因组类型。将提取的基因组分别用限制性内切酶Nco I、Sac I、Sal I、Pst I、HindIII、EcoR I、BamH I、EcoR V、Hha I、Dra I和Taq I, 根据酶供应商的说明书进行基因组酶切操作, 用1%琼脂糖凝胶电泳检测噬菌体基因组酶切结果。

## 2 结果

### 2.1 空肠弯曲菌噬菌体的分离和纯化

从鸡粪便中分离出一株空肠弯曲菌噬菌体, 命名为CP7(*Campylobacter jejuni* phage 7), 噬菌体CP7的噬菌斑直径约为1~2mm, 斑块清晰透明, 边缘光滑, 无晕环(图1)。

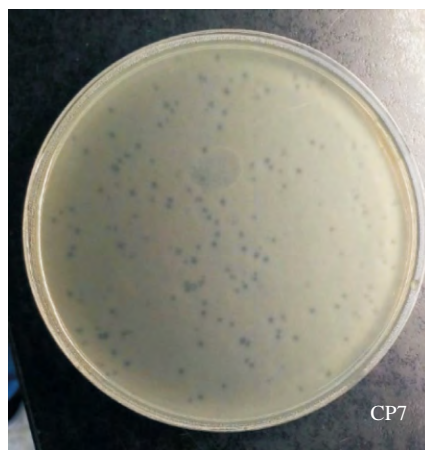


图1 空肠弯曲菌噬菌体CP7噬菌斑

Fig. 1 Plaques of *Campylobacter jejuni* phage CP7

### 2.2 噬菌体裂解谱

噬菌体裂解谱测定结果表明, 噬菌体CP7对大肠埃希菌、宋内志贺菌、肠炎沙门菌和鸡白痢沙门菌都不具有裂解能力, 表明噬菌体CP7具有很强的特异性。对36株空肠弯曲菌分离株的裂解能力测定结果表明, 噬菌体CP7能裂解13株空肠弯曲菌, 裂解能力较强(表1)。

### 2.3 噬菌体最佳感染复数(MOI)

由表2可知, 噬菌体CP7在MOI=0.01时效价最高, 为 $5.9 \times 10^{12}$  PFU/mL。因此, 可确定噬菌体CP7的最佳MOI为0.01。

### 2.4 噬菌体一步生长曲线

由图2的一步生长曲线可知, 噬菌体CP7具有较高的裂解活性, 潜伏期约45min, 裂解期约120min, 裂解量为354。

### 2.5 噬菌体热稳定性

由图3可知, 噬菌体CP7对高温耐受性较强, 适合在50℃以下环境中生存, 而最适温度为30~40℃。CP7在30℃和40℃环境下, 基本保持原有活性; 在50℃条件下温孵1h, 噬菌体效价保持在 $1 \times 10^8$  PFU/mL左右; 在60℃条件下温孵1h, 噬菌体效价降至 $1 \times 10^4$  PFU/mL左右; 而在70℃条件下温孵1h, 噬菌体效价降至 $1 \times 10^3$  PFU/mL左右。

### 2.6 噬菌体pH稳定性

由图3可知, 噬菌体CP7对pH耐受性较强, 在pH



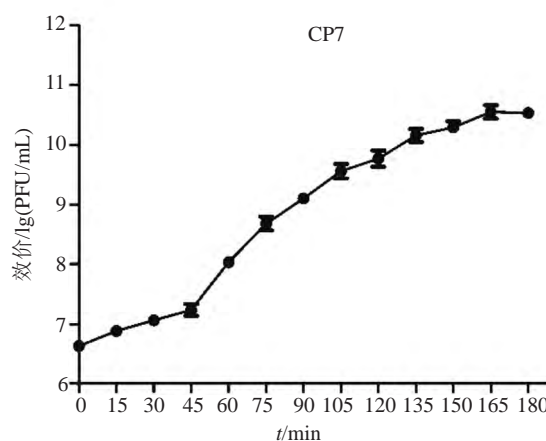
**表1** 噬菌体CP7的宿主范围  
**Tab. 1** Host range of phage CP7

菌株编号	菌株名称	CP7
ATCC25922	大肠埃希菌	-
O157	大肠埃希菌	-
CICC23872	大肠埃希菌	-
CMCC51592	宋内志贺菌	-
C50041	肠炎沙门菌	-
S06004	鸡白痢沙门菌	-
C79-13	鸡白痢沙门菌	-
HMJH1-3-12	空肠弯曲菌	+++
HMJH1-3-132	空肠弯曲菌	-
HMJH1-4-22	空肠弯曲菌	-
HMJH1-4-23	空肠弯曲菌	+
HMJH1-4-37	空肠弯曲菌	+
HMJH1-4-49	空肠弯曲菌	+++
HMJH1-4-73	空肠弯曲菌	+++
HMJH1-4-74	空肠弯曲菌	+++
HMJH1-4-80	空肠弯曲菌	+++
HMJH1-4-SFF2	空肠弯曲菌	++
HMJH1-4-SJJ4	空肠弯曲菌	-
HMJH1-8-33	空肠弯曲菌	-
HMJH1-8-37	空肠弯曲菌	-
HMJH1-8-52	空肠弯曲菌	-
HMJH1-8-54	空肠弯曲菌	-
HMJH1-8-56	空肠弯曲菌	-
HMJH2-3-135	空肠弯曲菌	-
HMJH2-3-160	空肠弯曲菌	-
HMJH2-3-18	空肠弯曲菌	-
HMJH2-3-69	空肠弯曲菌	-
HMJH2-3-80	空肠弯曲菌	-
HMJH2-3-SB	空肠弯曲菌	-
HMJH2-5-28	空肠弯曲菌	-
HMJH2-5-47	空肠弯曲菌	-
HMJH2-6-85	空肠弯曲菌	-
HMJH2-6-86	空肠弯曲菌	-
HMJH2-6-96	空肠弯曲菌	-
XLRG-4-17	空肠弯曲菌	+++
XLRG-5-01	空肠弯曲菌	-
XLRG-7-32	空肠弯曲菌	+++
XLRG-10-60	空肠弯曲菌	-
XLRG-10-43	空肠弯曲菌	+++
XLRG-10-44	空肠弯曲菌	+
XLRG-10-53	空肠弯曲菌	-
XLRG-10-57	空肠弯曲菌	-
XLRG-14-103	空肠弯曲菌	+++

注：“+++”表极强裂解性；“++”表较强裂解性；“+”表弱裂解性；“-”不裂解

**表2** 噬菌体CP7的最佳MOI测定结果  
**Tab. 2** Determination of optimal multiplicity of infection (MOI) of phage CP7

感染复数	细菌数/CFU	噬菌体数/PFU	CP7效价/(PFU/mL)
0.01	$1 \times 10^8$	$1 \times 10^6$	$5.9 \times 10^{12}$
0.1	$1 \times 10^8$	$1 \times 10^7$	$1.8 \times 10^{12}$
1	$1 \times 10^8$	$1 \times 10^8$	$1.3 \times 10^{11}$
10	$1 \times 10^8$	$1 \times 10^9$	$1.4 \times 10^{11}$
100	$1 \times 10^8$	$1 \times 10^{10}$	$1.5 \times 10^{10}$



**图2** 噬菌体CP7一步生长曲线  
**Fig. 2** One-step growth curves of phage CP7

6~8范围内效价较稳定，pH值小于6或大于8都会引起效价的明显下降，但在pH值为3的强酸和12的强碱环境中仍具有高效价( $>1 \times 10^5$  PFU/mL)，pH<3或>12时，基本检测不到噬菌体。

### 2.7 噬菌体形态鉴定

经透射电镜观察，噬菌体CP7有一正多面体对称头部，头部直径80nm，有一长约100nm、宽15nm的尾部，有肌鞘并且可发生收缩。具有典型的弯曲菌噬菌体的终端泡和空头。按照Bradley和Ackermann形态分类法分类，属于A形态群。根据ICTV第九次病毒分类报告，属于有尾噬菌体目，肌尾噬菌体科，T4-like噬菌体属(图4)。

### 2.8 噬菌体基因组类型鉴定

由图5可知，噬菌体CP7基因组能被DNaseI完全降解，而RNaseA无明显变化，表明它的遗传物质为ds DNA。噬菌体CP7基因组能被限制性内切酶Hind III、Hha I、Dra I、EcoRV和Taq I切开，其他限制性内切酶均不能消化(未展示)。根据现有的空肠弯曲菌噬菌体分类法<sup>[9-10]</sup>，噬菌体CP7应属III组空肠弯曲菌噬菌体，预计基因组大小约为140kb。

### 3 讨论

本研究从鸡粪便中分离到一株空肠弯曲菌噬菌

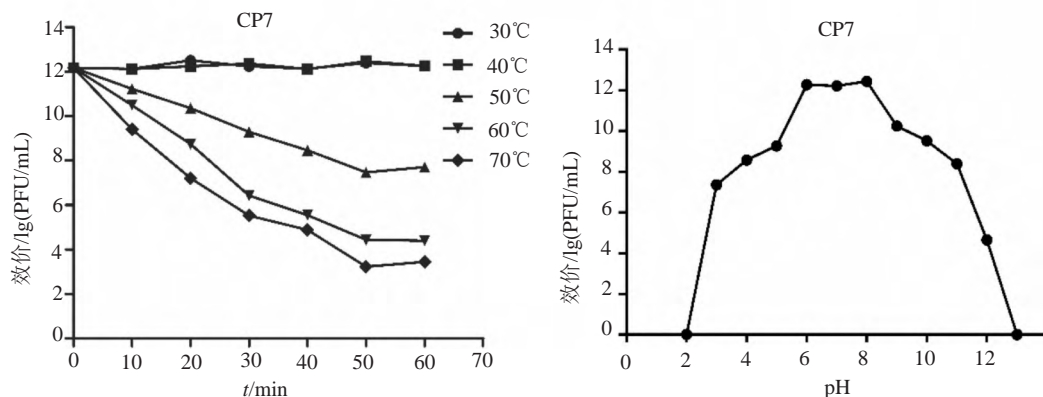


图3 噬菌体CP7温度和pH耐受曲线  
Fig. 3 Resistance of phage CP7 to temperature and pH

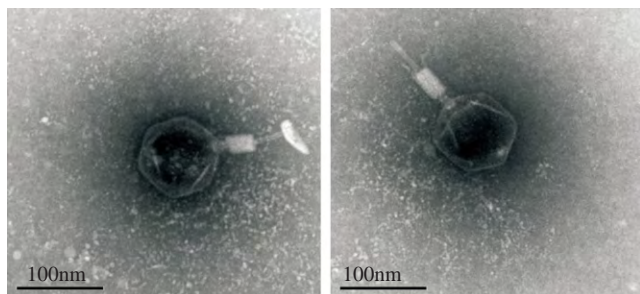
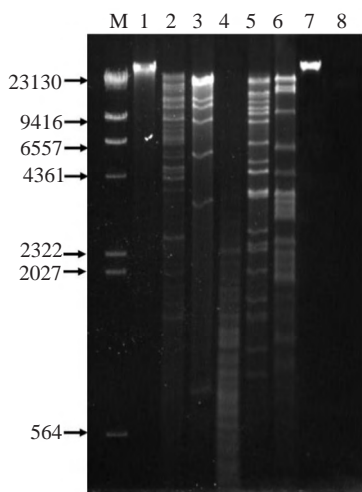


图4 空肠弯曲菌噬菌体CP7透射电镜照片  
Fig. 4 Transmission electron micrographs of *Campylobacter jejuni* phage CP7



M:  $\lambda$  HindIII digest; 1: CP7 genome; 2: HindIII; 3: HhaI; 4: Dra I; 5: EcoRV; 6: Taq I; 7: RNaseA; 8: DNase I

图5 噬菌体CP7基因组酶切图谱

Fig. 5 Agarose gel electrophoresis of the genomes of phage CP7 digested with restriction enzymes

体CP7, 经透射电镜观察, 具有典型的弯曲菌噬菌体的终端泡和空头, 属于肌尾噬菌体。噬菌体CP7基因组大小约为140kb, 应属II组空肠弯曲菌噬菌体, 其基因组能被限制性内切酶HindIII、Hha I、Dra I、

EcoRV和Taq I切开, 其中HhaI可以将CP7基因组消化成1~23kb的小片段, 其他限制性内切酶均不能消化。III组噬菌体正是当前研究最多、分离最成熟、应用最多、杀菌效果最好的空肠弯曲菌噬菌体。Carrillo等<sup>[7]</sup>对空肠弯曲菌噬菌体的基因组进行研究后发现, HindIII和EcoRV等大多数限制性内切酶均不能消化空肠弯曲菌噬菌体基因组, HhaI能空肠弯曲菌噬菌体基因组消化成4~64kb的小片段。Hansen等<sup>[9]</sup>发现HhaI能消化III组空肠弯曲菌噬菌体, 并且对140kb的噬菌体F336基因组消化片段与噬菌体CP7相似。

本研究获得的噬菌体CP7对恶劣环境具有较强的耐受性。一方面, 噬菌体CP7对pH耐受性较强, 在pH值为3和12的强酸强碱环境中仍具有较高效价。另一方面, 虽然CP7最适宜温度在50°C以下, 但是CP7对高温也具有较强耐受性, CP7在70°C条件下温孵1h, 效价仍能保持在在 $1 \times 10^3$  PFU/mL以上。理想的噬菌体不仅需要靶细菌有很强的裂解能力, 还需要有很强的耐受性, 这样才能更容易在使用的环境(例如, 高温环境如42°C体温的活鸡体内, 低pH环境如鸡的肠道pH为2~4)中存活下来并发挥作用<sup>[10-11]</sup>。Carrillo等<sup>[11]</sup>在使用噬菌体治疗鸡之前, 将噬菌体与CaCO<sub>3</sub>混合, 证明噬菌体和抗酸剂联合使用可以提高噬菌体的治疗效果。因此, 后续研究中, CP7可以与抗酸剂联用, 进一步提高其对酸碱的耐受性。

空肠弯曲菌是严格的微需氧细菌, 培养条件苛刻, 考虑弯曲菌挑剔的天性, 以及其对大气中氧气的敏感性。因此, 从某种意义上来说, 空肠弯曲菌在环境中广泛存在其实是一个悖论<sup>[12]</sup>。想要分离空肠弯曲菌噬菌体, 首先要保证培养条件本就非常

苛刻的空肠弯曲菌能够在双层平板上良好生长。另外,噬菌体最容易从宿主菌大量分布的地方分离,空肠弯曲菌喜欢以共生的形式在禽类肠道中定植<sup>[13]</sup>,因此可以从家禽粪便、屠宰场污水、下水道污水、粪肥、人类粪便,甚至是零售禽肉中分离空肠弯曲菌噬菌体<sup>[14-17]</sup>。本研究选择空肠弯曲菌NCTC11168作为宿主细菌,不过NCTC11168对噬菌体的敏感性不高,因此导致本研究噬菌体分离率较低,这也是本研究的不足之处。而相关研究表明使用空肠弯曲菌NCTC12662可以提高噬菌体分离率<sup>[6,18]</sup>。因此,本研究虽然从鸡粪便中成功分离到一株裂解性空肠弯曲菌噬菌体,但仍需扩大样本量和样本类型,选择不同的宿主空肠弯曲菌,继续分离不同裂解谱噬菌体。

#### 4 结论

本研究从鸡粪便中分离出一株空肠弯曲菌噬菌体,生物学特性测定结果显示,该噬菌体具有较高特异性和较强裂解能力,同时对恶劣环境具有较强适应性,实际应用价值较高,有望研发成新型空肠弯曲菌抑菌制剂。本研究为空肠弯曲菌噬菌体的分离提供了参考和依据,为空肠弯曲菌噬菌体的深入研究奠定了基础,为防控和治疗抗生素耐药空肠弯曲菌提供了新思路。

#### 参考文献

- [1] Newell D G, Koopmans M, Verhoef L, *et al.* Food-borne diseases-the challenges of 20 years ago still persist while new ones continue to emerge[J]. *Int J Food Microbiol*, 2010, 139(1): S3-S15.
- [2] Moore J E, Barton M D, Blair I S, *et al.* The epidemiology of antibiotic resistance in *Campylobacter*[J]. *Microbes Infect*, 2006, 8(7): 1955-1966.
- [3] Salama S, Bolton F J, Hutchinson D N. Improved method for the isolation of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* bacteriophages[J]. *Lett Appl Microbiol*, 1989, 8(1): 5-7.
- [4] Kramer J M, Gillanders S A. Phage typing of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* and its use as an adjunct to serotyping[J]. *Epidemiol Infect*, 1999, 123(1): 47-55.
- [5] Sambrook J, Russell D W. 分子克隆实验指南[M]. 3版. 北京: 科学出版社, 2002: 185-187, 195-197.
- [6] Owens J, Barton M D, Heuzenroeder M W. The isolation and characterization of *Campylobacter jejuni* bacteriophages from free range and indoor poultry[J]. *Vet Microbiol*, 2013, 162(1): 144-150.
- [7] Loc Carrillo C M, Connerton P L, Pearson T, *et al.* Free-range layer chickens as a source of *Campylobacter* bacteriophage[J]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2007, 92(3): 275-284.
- [8] King A M, Adams M J, Carstens E B, *et al.* Virus taxonomy: Ninth report of the international committee on taxonomy of viruses[M]. Amsterdam: Elsevier/Academic Press, 2011: 1221-1234.
- [9] Hansen V M, Rosenquist H, Baggesen D L, *et al.* Characterization of *Campylobacter* phages including analysis of host range by selected *Campylobacter* Penner serotypes[J]. *BMC Microbiol*, 2007, 7(1): 90.
- [10] Sails A D, Wareing D R, Bolton F J, *et al.* Characterisation of 16 *Campylobacter jejuni* and *C. coli* typing bacteriophages[J]. *J Med Microbiol*, 1998, 47(2): 123-128.
- [11] Loc Carrillo C M. Bacteriophage control of *Campylobacters* in poultry production[D]. Britain: University of Nottingham, 2005.
- [12] Murphy C, Carroll C, Jordan K N. Environmental survival mechanisms of the foodborne pathogen *Campylobacter jejuni*[J]. *J Appl Microbiol*, 2006, 100(4): 623-632.
- [13] Newell D G, Fearnley C. Sources of *Campylobacter* colonization in broiler chickens[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2003, 69(8): 4343-4351.
- [14] Atterbury R J, Dillon E, Swift C, *et al.* Correlation of *Campylobacter* bacteriophage with reduced presence of hosts in broiler chicken ceca[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2005, 71(8): 4885-4887.
- [15] El-Shibiny A, Connerton P L, Connerton I F. Enumeration and diversity of *Campylobacters* and bacteriophages isolated during the rearing cycles of free-range and organic chickens[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2005, 71(3): 1259-1266.
- [16] Atterbury R J, Connerton P L, Dodd C E, *et al.* Isolation and characterization of *Campylobacter* bacteriophages from retail poultry[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2003, 69(8): 4511-4518.
- [17] Tsuei A C, Carey-Smith G V, Hudson J A, *et al.* Prevalence and numbers of coliphages and *Campylobacter jejuni* bacteriophages in New Zealand foods[J]. *Int J Food Microbiol*, 2007, 116(1): 121-125.
- [18] Connerton P L, Loc Carrillo C M, Swift C, *et al.* Longitudinal study of *Campylobacter jejuni* bacteriophages and their hosts from broiler chickens[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2004, 70(7): 3877-3883.