

李斯特菌噬菌体的分离鉴定及其裂解特性

张 辉, 王 冉, 包红朵

(江苏省农业科学院 农业部农产品质量安全控制技术与标准重点实验室,
江苏省畜禽产品安全性研究重点实验室, 江苏 南京 210014)

摘 要: 以单核细胞增生性李斯特菌(*Lm*)为宿主菌, 从畜禽养殖区污水中分离(*Lm*)特异的噬菌体, 分析其生物学特性、裂解特性及其在食品中的灭菌效果。用双层平板法从污水样中分离 *Lm* 噬菌体, PEG/NaCl 法沉淀纯化噬菌体, 负染色后电镜观察。分析噬菌体对宿主菌的裂解特性及其对温度和 pH 值的敏感性, 同时对该噬菌体进行宿主谱系分析。将噬菌体运用于即食性食品中, 分析其潜在的灭菌效果。结果表明: 分离的噬菌体为裂解性噬菌体, 属长尾噬菌体科, 命名为 LipG2-5。体外能够高效裂解宿主菌, 对温度及 pH 值亦有良好的耐受性。基因组酶切分析表明, LipG2-5 为双链 DNA 噬菌体。噬菌体谱系分析表明, 该噬菌体为 1 株宽宿主噬菌体, 在固态及液态即食性食品中能够高效杀灭 *Lm*。

关键词: 单核细胞增生性李斯特菌; 噬菌体; 生物防控

Isolation, Identification and Lytic Characteristics of *Listeria* Phage

ZHANG Hui, WANG Ran, BAO Hong-duo

(Key Laboratory of Control Technology and Standard for Agro-product Safety and Quality, Ministry of Agriculture, Key Laboratory of Animal-derived Food Safety of Jiangsu Province, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

Abstract: The aim of this study is to find a virulent *Listeria* phage that can inactivate *Listeria monocytogenes* (*Lm*) and achieve biological control of *Lm* in ready-to-eat foods using the phage. The phage was isolated from sewage by double layer plate assay with agar medium. The PEG/NaCl purified phage was analyzed by electron microscope after negative staining. Host range and biological characteristics of the phage were detected. In addition, the genomic DNA was analyzed by restriction enzyme digestion. Finally, the inactivation effect of the phage on *Lm* in ready-to-eat foods was evaluated. The isolated phage, named as LipG2-5, was a lytic member of the *Siphoviridae* family, which could effectively lyse its hosts. LipG2-5 had a wide range of hosts and revealed excellent tolerance to temperature and pH. According to genomic analysis by restriction enzyme digestion, LipG2-5 was double strand DNA phage. *Lm* in ready-to-eat foods could be inactivated within 24 h after LipG2-5 had been added into the foods.

Key words: *Listeria monocytogenes*; phage; biocontrol

中图分类号: Q939.48

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)07-0228-05

李斯特菌(*Listeria*)是一类能够引起动物和人李斯特菌病的革兰氏阳性细菌, 其中单核细胞增生性李斯特菌(*L.monocytogenes*, *Lm*)是最重要的人兽共患病原菌。调查研究表明, 96% 的李斯特菌病例都是由 *Lm* 中 1/2a、1/2b 和 4b 血清型引发的^[1], 主要表现为胃肠炎、败血症、脑膜脑炎和流产等, 死亡率高达 25%~30%^[2]。1981 年首次报道该病原体是通过污染的食物传播的^[3], 此后不断有食源性李斯特菌病暴发的报道^[4-5]。2000 年, WHO 食品安全工作计划已将 *Lm* 列为必检的食源性致病菌之

一。在自然界中, *Lm* 通常存在于土壤、河水、植物、屠宰场废弃物及动物源食品(肉、奶及其制品、海产品等)中^[6], 与大多数人源病原菌不同的是 *Lm* 在低温环境中仍可生长繁殖(如 2~8℃), 是冷藏食品以及即食(ready-to-eat, RTE)食品中威胁人类健康的重要病原菌。在目前已有的杀灭食品 *Lm* 的措施中, 化学方法在快速杀菌的同时也会带来潜在的隐患, 如一些化学药物会残留于食品中, 造成对人体的二次危害; 抗生素类制剂可以抑制 *Lm* 的生长, 但其造成的药物残留并诱导细菌耐

收稿日期: 2011-04-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(31101291); 江苏省自然科学基金项目(BK2009328); 江苏省农业科技自主创新项目(cx10)438

作者简介: 张辉(1978—), 女, 副研究员, 博士, 主要从事食源性病原菌监测及生物防控研究。E-mail: HZ581200@yahoo.com.cn

药性、通过食物链传播已成为食品安全的新问题。因此,如何防控食源性李斯特菌在食品中的污染是食品安全中的重要课题。

用噬菌体控制食源性致病菌的研究^[7]已有报道,如用空肠弯曲菌(*Campylobacter jejuni*)噬菌体灭活鸡体表的空肠弯曲菌;沙门菌噬菌体 PHL4 用于控制沙门菌在生禽中的污染等^[8]。Carlton 等^[9]将 *Lm* 噬菌体 P100 作为添加成分来控制奶酪中的 *Lm* 污染(降低 3.5 logs); Guenther 等^[10]将毒性噬菌体 A511 和 P100 混合用于固体和液体食品的杀菌研究,证实其能够有效的杀灭和控制 RTE 食品中的 *Lm* 污染。目前在国内有关噬菌体的研究鲜少,而有关李斯特菌噬菌体的潜在应用前景已在国外相关研究中报道,其裂解特性及其在食品生物防控中的应用前景已成为研究的焦点。获得新的广谱性李斯特菌噬菌体解决了噬菌体单一、特异的问题,同时其高效裂解活性以及天然无污染的特性是传统的化学杀菌剂无以比拟的。本研究旨在鉴定分离的毒性李斯特菌噬菌体,同时分析其生物学特性及裂解特性,并在食品进行初步应用,这为食源性病原生物防控提供新途径。

1 材料与方法

1.1 菌株与试剂

1.1.1 菌株及其生长条件

单核细胞增生性李斯特菌(GIM1.228)、威尔氏李斯特菌(*Listeria welshimeri*, GIM1.231)、英诺克李斯特菌(*Listeria innocua*, GIM 1.230)及大肠杆菌(ATCC 25922)购自广东省微生物研究所微生物菌种保藏中心;*Lm* 分离株 *Lm*002、副伤寒沙门菌(ATCC 50073)、肠炎沙门菌(ATCC 13073)由扬州市疾病预防控制中心巢国祥博士惠赠;绵羊李斯特菌(*Listeria ivanovii*)由本室分离保存。李斯特菌所用培养基为含 0.6g/100mL 酵母浸膏的胰酪胨大豆肉汤(TSB-YE), 30℃ 培养。沙门氏菌培养基为 LB 培养基, 37℃ 培养。

1.1.2 试剂

TSB-YE、LB 肉汤、琼脂 青岛高科园海博生物技术有限公司; λ 噬菌体基因组 DNA 快速提取试剂盒上海 Biomed 公司; pUM19-T 载体 铂优生物技术有限公司; DNA Marker 南京天为生物科技有限公司; 限制性内切酶 深圳 Fermentas 公司; PEG8000 等生化试剂 汕头市西陇化工厂有限公司。

1.2 方法

1.2.1 噬菌体分离

采集猪场附近污水样品 100mL, 4℃、4000r/min 离心 20min; 取上清用 0.22 μ m 滤膜过滤上清。取 10mL 过滤上清, 加入 1mL *Lm*002 过夜培养物, 再加入无菌 CaCl_2

母液至终浓度 1.25mmol/L 混匀后, 加入 20mL TSB-YE 培养基, 室温作用 30min, 再静置于 30℃, 待培养至 6~8h 后, 取上述培养物以 4℃、10000r/min 离心 30min, 取上清; 再用 0.22 μ m 滤膜过滤上清, 形成噬菌体原液。

取噬菌体原液 0.1mL, 进行 10 倍稀释, 取 10^2 、 10^4 和 10^6 稀释液各 0.1mL 与过夜培养的宿主菌液 0.1mL 混匀, 室温作用 15min 后, 加入约 5mL 0.7g/100mL LB 培养基, 混匀后迅速倾倒入含 1.5g/100mL 琼脂的 TSB-YE 平板上层, 摇匀平置 5min, 待其凝固, 置于 30℃ 温箱中培养 12h 后观察, 获得形成噬菌斑的双层平板。

1.2.2 噬菌体纯化及电镜观察

噬菌体的沉淀纯化参考分子克隆手册^[11]中的 PEG/NaCl 方法进行。取纯化噬菌体悬液进行透射电镜观察, 加 20 μ L 样本滴在铜网上, 待其沉淀 15min, 用滤纸吸去多余的液体, 用 2% 的磷钨酸染色 30min, 干燥后进行电镜观察。

1.2.3 噬菌体裂解特性分析

取过夜培养的 *Lm*002 培养物, 用 TSB-YE 将其 $\text{OD}_{600\text{nm}}$ 值调整为 0.5(约为 $5 \times 10^8 \text{CFU/mL}$), 加入噬菌体并至终浓度为 10^9PFU/mL , 于 30℃ 静置培养, 同时以不加噬菌体作为对照组。在培养的 0、1、2、3、4、5h 检测 $\text{OD}_{600\text{nm}}$ 值的变化。

1.2.4 温度及 pH 值对噬菌体的影响

取 0.1mL $1 \times 10^8 \text{PFU/mL}$ 纯化噬菌体于 30~90℃ 水浴分别作用 1h, 将样品冷却后测其效价; 分别取 pH3~10 的 LB 培养基和 $2 \times 10^8 \text{PFU/mL}$ 纯化噬菌体等量混合, 37℃ 水浴作用 2h 后分别测其效价。

1.2.5 噬菌体宿主谱系分析

吸取不同过夜培养物(*Lm*002、单核细胞增生性李斯特菌、威尔氏李斯特菌、英诺克李斯特菌、绵羊李斯特菌 Lv-31)各 0.1mL 滴于 TSB-YE 平板正中央, 将菌液均匀地涂开; 将副伤寒沙门菌、肠炎沙门菌以及大肠杆菌涂布于 LB 平板; 取噬菌体原液, 进行 10 倍稀释, 取 10^2 、 10^4 和 10^6 稀释液 0.01mL 分别滴加于涂有不同宿主菌的平板中, 正放待自然晾干后, 置于 30℃ 温箱培养 10h 后, 观察噬菌体对不同宿主菌的裂解作用。

1.2.6 噬菌体基因组 DNA 分析

按照 λ 噬菌体基因组 DNA 快速提取试剂盒提取噬菌体基因组 DNA, 具体按说明进行。将基因组 DNA 定量后, 分别用限制性内切酶 *Nco*I、*Pvu*II、*Bgl*II 进行酶切, 分析噬菌体基因组类型。

1.2.7 噬菌体在食品中的灭菌效果研究

选取火腿肠为即食性食品, 将其切成面积约为 $2\text{cm} \times 2\text{cm}$ 的小块(约 1g), 将肉块过火焰灭菌; 制备 $5 \times 10^5 \text{CFU/mL}$

Lm002 菌液; 制备 5×10^8 PFU/mL 的噬菌体。将宿主菌液以 $20 \mu\text{L}$ (1×10^4 CFU/mL) 滴于肉块表面, 约 15min 后, 滴 $20 \mu\text{L}$ 噬菌体稀释液, 同时设立宿主菌对照以及 PBS 缓冲液对照; 将制备好的样品分别置于 4°C , 分别于 1、2、3d 检测宿主菌数量变化情况。

将巴氏杀菌牛奶, 分成 3 组, A 组: 接种宿主菌 10^4 CFU/mL 于试管中, 同时加入 10^7 PFU/mL 噬菌体; B 组: 仅加入 10^4 CFU/mL 宿主菌作为对照; C 组: 加入相同体积 PBS 作为对照, 将各组置于 4°C , 分别于 1、2、3d 检测宿主菌数量变化情况。

2 结果与分析

2.1 噬菌体分离鉴定结果

将分离的噬菌体原液进行倍比稀释后, 双层平板检测噬菌体效价。次日, 平板中有噬菌斑形成(图 1)。在 10^{-6} 稀释液平板中对噬菌斑计数, 计算得出此噬菌体原液的效价为 2.1×10^9 PFU/mL。经 PEG-NaCl 法沉淀后, 其效价为 7.5×10^{10} PFU/mL, 将噬菌体命名为 LipG2-5。

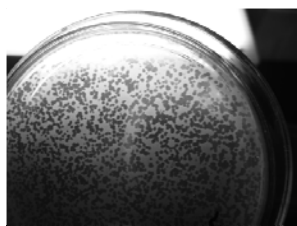


图 1 LipG2-5 噬菌体原液双层平板噬菌斑检测结果
Fig.1 Double layer plate analysis of LipG2-5

2.2 噬菌体形态观察

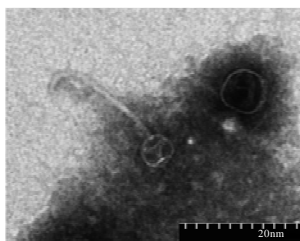


图 2 LipG2-5 噬菌体电镜照片($\times 250000$)
Fig.2 Electron micrograph of LipG2-5($\times 250000$)

如图 2 所示, 噬菌体 LipG2-5 头部对称, 直径约为 75nm, 尾长约为 262.5nm, 尾部直径为 12.5nm。根据国际病毒分类委员会 2005 年发表的《病毒分类: 国际病毒分类委员会第八次报告》中对噬菌体的新分类方法, 将噬菌体 LipG2-5 归于长尾噬菌体科。

2.3 噬菌体体外裂解特性分析

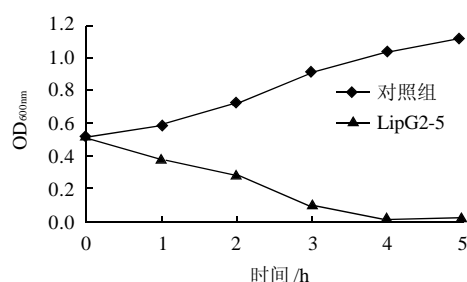


图 3 LipG2-5 噬菌体裂解特性检测结果
Fig.3 Lysis of LipG2-5

如图 3 所示, 在加入噬菌体 0h 后, 起始 $\text{OD}_{600\text{nm}}$ 值无显著变化; 作用 1h 后, LipG2-5 组 $\text{OD}_{600\text{nm}}$ 值降至 0.4 以下; 2h 后, 该组 $\text{OD}_{600\text{nm}}$ 值仍在下降, 肉眼可观察到明显较对照组澄清; 作用 5h 后, LipG2-5 组的 $\text{OD}_{600\text{nm}}$ 值降至 0.024, 此时培养基透亮且澄清, 而对照组 $\text{OD}_{600\text{nm}}$ 值仍在上升, 达到 1.0 以上, 且较为混浊。由此可见, 噬菌体 LipG2-5 能够有效裂解宿主菌。

2.4 噬菌体对温度及 pH 值的敏感性检测

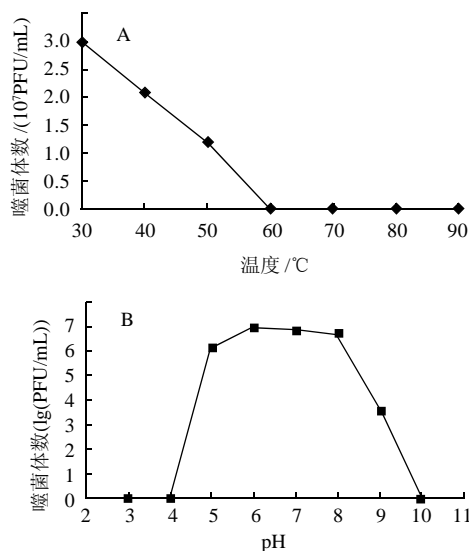


图 4 噬菌体对温度及 pH 值的耐受性检测结果
Fig.4 Effect of temperature and pH on LipG2-5

如图 4A 所示, 噬菌体在 $30 \sim 50^\circ\text{C}$ 分别作用 1h 后, 其活性不受温度影响, 其数量级仍大于 10^7 ; $60 \sim 90^\circ\text{C}$ 作用 1h 后, 噬菌体数量显著下降, 降至检测水平以下, 表明当温度高于 60°C , 噬菌体基本丧失灭活。由图 4B 可知, 当 $\text{pH} \leq 4$ 时, 已检测不到噬菌斑; 而 pH 值为

5~8 时, 其效价与初始效价无显著性差异, 仍有良好的裂解活性; 当 pH 值为 9 时, 其效价降低约 3 logs, 而当 pH 10 时, 噬菌体基本丧失活性。

2.5 噬菌体宿主谱系检测结果

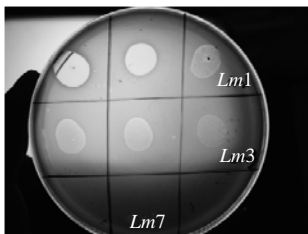
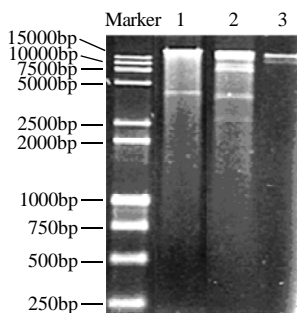


图 5 LipG2-5 噬菌体谱系检测结果

Fig.5 Host spectrum of *Listeria* phage LipG2-5

由图 5 可知, 噬菌体在单核细胞增生性李斯特菌及 *Lm002*、威尔氏李斯特菌、英诺克李斯特菌及绵羊李斯特菌 Lv-31 等菌株中均有噬菌斑形成, 说明该噬菌体对以上 4 个种属的李斯特菌均具有裂解性。但在大肠杆菌、副伤寒沙门菌以及肠炎沙门菌平板上均无噬菌斑形成。由此表明, 噬菌体 LipG2-5 仅对李斯特菌具有良好的裂解活性。

2.6 噬菌体基因组 DNA 分析



1. *Pvu* II 酶切; 2. *Nco* I 酶切; 3. *Bgl* II 酶切。

图 6 LipG2-5 噬菌体基因组 DNA 酶切结果

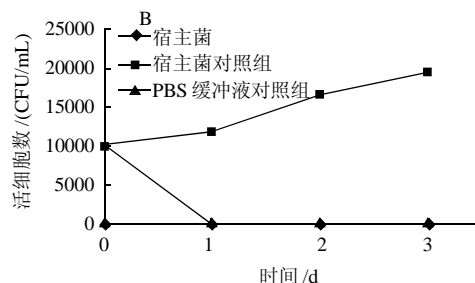
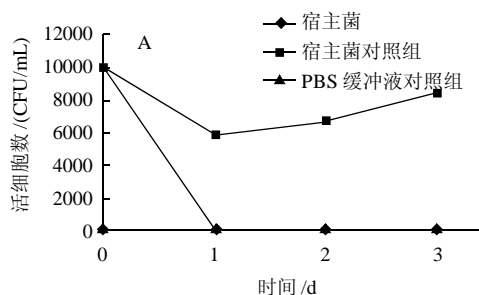
Fig.6 Restriction enzyme digestion profiles of LipG2-5 genomic DNA

由图 6 可知, LipG2-5 噬菌体基因组为双链 DNA, 能够被 *Nco* I、*Pvu* II 及 *Bgl* II 切开。

2.7 噬菌体 LipG2-5 在食品中的灭菌效果

噬菌体在 RTE 食品中杀菌结果如图 7 所示, 将噬菌体以高感染复数(multiplicity of infection, MOI)作于火腿块中的 *Lm*, 4℃作用 1d 后, 宿主菌数量已降至检测水平以下(图 7A); 第 2 天, 仍未检测到 *Lm*, 而此时 *Lm* 对照组中数量有所升高; 至第 3 天, 检测组与对照组宿主菌数量呈显著性差异, 表明噬菌体能够有效杀灭

宿主菌。同样在巴氏杀菌牛奶中, 第 1 天已检测不到宿主菌 *Lm*; 而对照组中宿主菌数量却有显著上升趋势(图 7B)。由此可见, 噬菌体无论在固态还是液态 RTE 食品中均能有效杀灭 *Lm*。



A. 火腿肠; B. 巴氏杀菌牛奶。

图 7 噬菌体在食品的杀菌效果分析

Fig.7 Inactivation effect of LipG2-5 on the growth of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods

3 讨论

用噬菌体控制食品中的食源性病原污染已有报道, 但用广谱性噬菌体用来控制李斯特菌的报道鲜少。有文献报道, 噬菌体在人体用于治疗临床病例已累计达数千例^[12], 2005 年, Bruttin 等^[13]首次报道了大肠杆菌噬菌体口服治疗腹泻性疾病的安全性报道, 结果表明噬菌体口服后并不影响人体的转氨酶水平, 同时并没有检测到噬菌体抗体, 其安全性获得认可。2006 年, 美国 FDA 已批准噬菌体作为食品添加剂用于杀灭食品中的李斯特菌(www.cfsan.fda.gov); 美国农业部已批准 Omnilytics 公司生产的以噬菌体为主的杀菌剂用于杀灭宰前动物中污染的大肠杆菌 O157:H7 及沙门氏菌(www.omnilytics.com), 这些都表明, 噬菌体在食品中应用是安全可行的。

噬菌体具有天然杀菌特性, 但特异性较强, 而本实验室所分离的 *Lm* 噬菌体 LipG2-5 不仅能够裂解 *Lm*, 还对威尔氏李斯特菌、英诺克李斯特菌以及绵羊李斯特菌均具有良好的裂解活性, 是一株较为广谱的李斯特菌噬

菌体, 这将为食品以及医学行业提供重要生物防控制剂源及治疗途径。

在 LipG2-5 噬菌体基因组 DNA 酶切分析过程中发现, 仅 *Nco* I、*Pvu* II 及 *Bgl* II 酶能够将其基因组 DNA 切开, 这可能是因为基因组中存在较多的重复序列, 且 GC 含量高的原因所致^[14], 这与文献报道^[15]有所异同, 由此可见噬菌体之间存在差异。目前, 本实验已鉴定并克隆了该噬菌体的裂解酶基因, 并将其序列登录至 GenBank(登录号: HQ437691)^[16], 其相关基因序列信息将在后继的研究中逐步揭开, 为噬菌体的研究和应用提供更为可靠的参考依据。

与大多数人源病原菌不同的是 *Lm* 在低温环境中仍可生长繁殖(如 2~8℃), 是冷藏食品以及 RTE 食品中威胁人类健康的重要病原菌之一。噬菌体是一种病毒, 其对外界条件具有一定的耐受力。而 LipG2-5 噬菌体对温度有较好的耐受力, 在 50℃ 以下仍具有活性。同样, 在对酸碱的耐受实验中也显示其特有的特征, 对高 pH 值具有一定耐受力。目前食品特别是 RTE 食品, 其 pH 值一般在 5.5~7.0 之间, 且大部分为冷藏保存, 这恰好为噬菌体发挥杀菌作用提供了良好的外界环境。因此, 噬菌体将会在冷藏食品尤其是冷藏的 RTE 食品中发挥重要作用。有研究表明, 志贺氏菌噬菌体在牛奶中能够有效杀菌^[17], 在选择牛奶的同时还选择了固态的火腿肉块作为对象, 经添加高剂量 *Lm*(10⁴CFU/mL 或 10⁴CFU/g) 后, 利用较高 MOI 的 *Lm* 噬菌体进行了灭菌实验, 结果在 24h 后, 已检测不到 *Lm*, 这与 Guenther 等^[10]研究相符。可见, 噬菌体不仅能够高效杀菌, 还能在食品中能够起到防腐保鲜作用, 进而延长食品的保存期。

在食品生物防控中, 噬菌体已愈来愈受到世人的关注, 并且在不久的将来会成为候选的食品杀菌制剂源。噬菌体对天然宿主相对专一, 高效、并持续发挥裂菌作用。此外, 对机体和环境无毒性、无刺激作用, 使其更具有显著的优势, 本研究中分离的 *Lm* 噬菌体 LipG2-5 不仅具有高裂解活性, 其在食品的应用潜力有待开发, 有望在不远的将来成为抗菌和杀菌制剂的重要组成部分。

参考文献:

- [1] TOMPKIN R B. Control of *Listeria monocytogenes* in the food-process-
- [2] VÁZQUEZ-BOLAND J A, KUHN M, BERCHE P, et al. *Listeria* pathogenesis and molecular virulence determinants[J]. *Clinical Microbiology Reviews*, 2001, 14(3): 584-640.
- [3] SCHLECH W F, LAVIGNE P M, BORTOLUSSI R A, et al. Epidemic listeriosis: evidence for transmission by food[J]. *New England Journal Medicine*, 1983, 308(4): 203-206.
- [4] DENNY J, McLAUCHLIN J. Human *Listeria monocytogenes* infections in Europe: an opportunity for improved European surveillance[J]. *Euro surveillance*, 2008, 3(1/3): 1-5.
- [5] FARBER J M, PETERKIN P I. *Listeria monocytogenes*: a food-borne pathogen[J]. *Microbiology Reviews*, 1991, 55(3): 476-511.
- [6] GANDHI M, CHIKINDAS M L. *Listeria*: a foodborne pathogen that knows how to survive[J]. *International Journal Food Microbiology*, 2006, 113(1): 1-15.
- [7] WAGENAAR J A, van BERGEN M A, MUELLER M A, et al. Phage therapy reduces *Campylobacter jejuni* colonization in broilers[J]. *Veterinary Microbiology*, 2005, 109(3/4): 275-283.
- [8] HIGGINS J P, HIGGINS S E, GUENTHER K L, et al. Use of a specific bacteriophage treatment to reduce *Salmonella* in poultry products[J]. *Poultry Science*, 2005, 84(7): 1141-1145.
- [9] CARLTON R M, NOORDMAN W H, BISWAS B, et al. Bacteriophage P100 for control of *Listeria monocytogenes* in foods: genome sequence, bioinformatic analyses, oral toxicity study, and application[J]. *Regulatory Toxicology Pharmacology*, 2005, 43(3): 301-312.
- [10] GUENTHER S, HUWYLER D, RICHARD S, et al. Virulent bacteriophage for efficient biocontrol of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(1): 93-100.
- [11] 萨姆布鲁克 J, 拉塞尔 D W. 分子克隆实验指南[M]. 3 版. 北京: 科学出版社, 2002: 185-187.
- [12] 张克斌. 铜绿假单胞菌噬菌体的分离鉴定及其基因组学研究[D]. 重庆: 第三军医大学基础部微生物学教研室, 2001.
- [13] BRUTTIN A, BRÜSSOW H. Human volunteers receiving *Escherichia coli* phage T4 orally: a safety test of phage therapy[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2005, 49(7): 2874-2878.
- [14] KLUMPP J, DORSCHT J, LURZ R, et al. The terminally redundant, nonpermuted genome of *Listeria* bacteriophage A511: a model for the SPO1-like myoviruses of gram-positive bacteria[J]. *Journal of Bacteriology*, 2008, 190(17): 5753-5765.
- [15] DORSCHT J, KLUMPP J, BIELMANN R, et al. Comparative genome analysis of *Listeria* bacteriophages reveals extensive mosaicism, programmed translational frameshifting, and a novel prophage insertion site[J]. *Journal of Bacteriology*, 2009, 191(23): 7206-7215.
- [16] ZHANG Hui, BAO Hongduo, BILLINGTON C, et al. Isolation and lytic activity of the *Listeria* bacteriophage endolysin LysZ5 against *Listeria monocytogenes* in soya milk[J]. *Food Microbiology*, 2012, DOI: 10.1016/j.fm.2012.01.005.
- [17] 张辉, 王冉, 包红朵. 裂解性福氏志贺氏菌噬菌体 SF-A2 的生物学特性及其在巴氏杀菌牛奶中灭菌效果[J]. *食品科学*, 2010, 31(23): 214-218.