

## 새싹채소 유래 *Enterococcus faecium*으로부터 Temperate Phage의 분리와 특성

이영덕<sup>1,2</sup> · 박종현<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>가천대학교 식품생물공학과, <sup>2</sup>서원대학교 식품공학과

### Isolation and Characterization of Temperate Phages in *Enterococcus faecium* from Sprouts

Young-Duck Lee<sup>1,2</sup> and Jong-Hyun Park<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Food Science and Biotechnology, Gachon University,

<sup>2</sup>Department of Food Science and Engineering, Seowon University

**Abstract** To analyze the characteristics of bacteriophages in *Enterococcus faecium*, D-19 and F6 phages were induced from five *E. faecium* isolated from sprouts by the treatment with mitomycin C. The bacteriophages of D-19 and F-6 had long, non-contractile tails and icosahedral heads, and were members of *Siphoviridae* family. As the host spectrum, D-19 phage lysed five out of 55 strains of *E. faecium*, whereas F6 phage lysed only three strains. Both D-19 and F6 phages displayed similar and high stabilities against ethanol and pH capable of resisting the exposure to 100% ethanol and pH 4.

**Keywords:** *Enterococcus faecium*, temperate phage, *Siphoviridae*, host spectrum, stability

## 서 론

장구균인 *Enterococcus* spp.는 일반적으로 식품 분야에서는 probiotics로 알려져 있고, 치즈, 청국장 발효 등에 주된 역할을 하고 있다(1,2). 하지만, 의학 분야에서는 기회감염균으로 다양한 질환을 유발하면서, vancomycin 등의 다양한 항생제에 내성을 나타내거나 관련 유전자를 다른 장내세균에 전달할 수 있는 특성이 있다(3). *Enterococcus* spp.는 고병원성은 아니지만 최근 들어 다양한 독소 인자들이 병원성에 관여되는 것으로 보고되고 있다. 대표적인 *Enterococcus* spp.의 독소 인자로는 cytolysin (hemolysin), aggregation substance, pheromones, lipoteichoic acid, protease (gelatinase), hyaluronidase 등이 있다(4). 또한, 최근 문제가 되고 있는 다제 내성 *Enterococcus* spp.가 병원 내 감염의 중요 원인으로 부각되는 이유는 항생제가 다량 사용되는 환경에서도 생존할 수 있으며, 감수성 균주는 모두 제거되고 내성 균주만이 살아남아 번식하고 병을 유발하기 때문에 중요한 의미를 갖는다(5,6). 미국의 National Nosocomial Infection Survey를 근거로 한 보고에 의하면 병원 감염 원인균 중 *Enterococcus* spp.의 발생 빈도가 12%로 *Escherichia coli* 다음으로 빈도를 보인다고 발표하였다(7,8). *Enterococcus* spp.는 인체의 구강, 담도 및 질 등의 부위에 집락을 형성할 수 있으며, *Enterococcus* spp.이 일으키는 감염증은 심내막염, 복강내 감염, 요도감염 및 균혈증 등이 있고,

*Enterococcus faecalis*의 감염이 80% 이상을 차지하고 있다(9,10). *Enterococcus* spp.의 균종별 분리빈도는 *E. faecalis*가 80-90%이며 *E. faecium*이 5-10% 수준인 것으로 보고되었으나, 1990년대 이후에는 *E. faecium*의 분리빈도가 증가하는 추세에 있다(11). *Enterococcus* spp.은 항온동물과 관련되어 있을 뿐 아니라 흙, 물, 식물이나 채소, 곤충에서도 발생한다. *Enterococcus* spp.의 살균온도에 대한 저항성과 다른 기질에 대한 적응성 그리고 생육조건은 원료로부터 가공된 식품에서 뿐만 아니라 가열 처리된 식품에서도 *Enterococcus* spp.이 생존할 수 있다. 이것은 *Enterococcus* spp.이 식품생산의 일반적인 조건에 견딜 수 있음을 의미하며, *Enterococcus* spp.는 식품의 가공 중에도 오염될 수 있기 때문에 식품 중 *Enterococcus* spp.는 관리가 중요한 부분이 되어야 한다는 것을 알 수 있다. 일반적으로 *Enterococcus* spp.는 채소와 올리브, 식물 소재 등에서도 많이 분리되지만, 이와 같은 원료에서의 *Enterococcus* spp.의 분리와 균 특성에 관한 보고서가 부족한 실정이다(12-14). 또한, 최근 웰빙 문화와 개인건강유지가 사회적 화두로 떠오르면서 소비자들은 특별한 열처리가 필요 없거나 간단한 처리 등으로 최소 가공된 ready-to-eat food을 선호하는 경향이 증가하고 있다. 발효식품의 중균으로 많이 사용되고 있지만 *Enterococcus* spp.는 자연환경에 널리 분포하고 있으며, 잠재적 병원성을 지닐 가능성이 있다.

*Enterococcus* spp.는 같은 종 내에서 또는 다른 균종으로 내성 유전자를 쉽게 전달할 수 있는 방법을 갖고 있기 때문에 새로운 내성 유전자를 원활히 획득할 수 있으며, 다른 세균과 유사하게 plasmid, transposon, bacteriophage 등에 의해 전달되는 것으로 알려져 있다(15-17). Bacteriophage의 경우 최근 세균에게 있어서 독소 유전자와 항생제 내성 유전자 전이, 진화에 매우 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(18). Virus의 일종인 bacteriophage는 일반적으로 용균성 생활환(lytic cycle-virulent phage)과 용원성 생

\*Corresponding author: Jong-Hyun Park, Department of Food Science and Biotechnology, Seongnam, Gyeonggi 461-701, Korea  
Tel: 82-31-750-5523  
Fax: 82-31-750-5273  
E-mail: p5062@gachon.ac.kr  
Received December 12, 2013; revised January 20, 2014;  
accepted January 27, 2014

활환(lysogenic cycle-temperate phage)을 거치면서 증식하게 된다. 각각의 bacteriophage는 그 특성에 따라 최근 다양한 연구 분야에 응용되어 사용되고 있다. 가장 대표적인 예로 병원성 미생물의 치료제로 주로 항생제 내성 세균의 치료에 사용되는 bacteriophage therapy, 병원성 미생물의 typing, vaccine 관련 연구, bacteriophage 유전자를 이용한 lytic enzyme 등의 유용 효소의 생산, 병원성 세균의 검출, 유제품에 있어서 젖산균의 bacteriophage resistant 균주 개발, 환경 오염 지표, bacteriophage 유전자의 전이, bacteriophage의 host specificity와 밀접한 관계를 갖는 receptor 연구 등 매우 광범위하게 이용 및 연구되고 있다(19). 그리고, 다양한 세균들이 bacteriophage에 의해 독성 혹은 대사 관련 유전자 등을 획득하게 되었다는 것은 다양한 연구 결과를 통해 확인되었다. 대표적으로는 *E. coli* O157:H7의 shiga toxin, *Staphylococcus aureus*의 일부 enterotoxin 등이 있으며, *Clostridium botulinum*의 neurotoxin C1과 D, *Streptococcus pyogenes*의 경우 superantigen 등이 알려져 있다. 또한, *E. coli* O157:H7의 경우는 shiga toxin 이외에도 일부 cytotoxin이 bacteriophage에 의해 암호화되는 것으로 보고되고 있다(20). 또한, *E. coli* O157:H7의 genome에는 18 개의 prophage가 존재하였으며, 비병원성 *E. coli* K-12의 genome에 비해 약 20%가 외래 유전자인 것으로 확인되었다(21). 그러므로, *Enterococcus* spp.의 다양한 항생제 내성 유전자, 독소 유전자 등이 bacteriophage에 의해 유발될 가능성이 있으므로, *Enterococcus* spp.이 보유하는 temperate phage의 특성과 유전자 전이 특성에 대한 연구가 필요할 것으로 판단된다.

그러므로 본 연구에서는 새싹채소로부터 분리된 *E. faecium*에서 temperate phage의 존재유무를 확인하고, 그 phage를 분리한 후 특성을 분석하여 다양한 식품에 존재하는 *E. faecium*이 안전성에 문제될 가능성에 대한 자료를 제공하고자 한다.

## 재료 및 방법

### *E. faecium*의 분리와 동정

대형 마트에서 시판하는 50개의 새싹채소로부터 *Enterococcus* spp.의 분리를 위해 전처리된 검액을 10진 희석하여 Enterococcosel agar (Difco, MD, USA)에 도말하여 37°C에서 24-72시간 배양한 후 검은색 집락 중 대표적인 것을 분리하여 동정하였다. Enterococcosel agar에서 검은색 집락을 분리하여 5% 면양혈액이 첨가된 tryptic soy agar (Difco)에 배양 후 그람 양성 구균의 균주만을 선별하여 45°C에서의 생육여부, 6.5% NaCl 존재하의 생육, catalase 생성유무를 확인하였다. 이와 함께 미생물 자동 동정 기기인 Vitek (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France)을 수행하였다. 또한, PCR을 위한 genomic DNA의 추출을 위해 1 mL의 *E. faecium* 배양액을 10,000 rpm에서 5분간 원심침전하고 멸균증류수로 2회 세척한 다음, Accuprep® genomic DNA extraction kit (Bioneer, Daejeon, Korea)로 genomic DNA를 정제하였다. 그리고, 추출한 DNA를 주형으로 하여 *Enterococcus* spp.의 *tuf* 유전자와 *E. faecium*를 *ddl* 유전자를 목적 DNA로 하여 PCR을 수행하였다

Table 1. Oligonucleotide primers used in PCR

Genes	primers	Sequence of oligonucleotide	Product size (bp)
<i>tuf</i>	Ent 1	TACTGACAAACCATTCATGATG	112
	Ent 2	AACCTTCGTCAACGCGAAC	
<i>ddl</i> <sub><i>E. faecium</i></sub>	<i>ddl</i> <sub><i>E.FM1</i></sub>	TAGAGACATTGAATATGCC	536
	<i>ddl</i> <sub><i>E.FM2</i></sub>	GCTTCCACCTAACATCGTGTA	

(Table 1).

### Temperate phage의 분리와 특성 분석

Temperate phage의 분리를 위해 *E. faecium* 분리균을 100 mL의 LBC broth (10 mM CaCl<sub>2</sub> 첨가)에 접종하여 흡광도가 약 0.3이 될 때까지 배양하고, mitomycin C를 최종 1 µg/mL의 농도로 처리한 후 시간에 따른 흡광도의 감소를 측정하여 temperate phage의 유도를 확인하였다. 그리고 원심 분리 후 0.2 µm syringe filter (Millipore, MA, USA)를 사용하여 제균하였다. 그리고, 제균액을 배양된 *E. faecium*에 10진 희석하여 spot assay를 수행하여 plaque 형성을 확인하였다.

### 숙주저해범위

분리된 temperate phage의 숙주저해범위를 확인하기 위해 *E. faecium* KCCM12118, *E. faecalis* KCTC3206과 88주의 분리 균주를 사용하였으며, spot assay를 수행하여 확인하였다. 배양된 *E. faecium*과 *E. faecalis*를 LBC soft agar에 분주하고 LBC agar에 중층한 후 temperate phage를 10 µL를 분주하고 37°C에서 24시간 배양 후 plaque 형성을 확인하였다.

### 투과전자현미경을 통한 형태학적 특성

형태학적 특성을 분석하기 위해 투과전자현미경을 사용하여 검정하였다. 2M NaCl이 첨가된 20% PEG 8000 (Sigma)과 제균액을 1:1로 혼합한 후 4°C에서 18시간 동안 방치하고, 혼합액을 13000×g에서 1시간 동안 원심분리를 하였다. 그 후 상등액을 버린 후 침전물에 SM buffer로 현탁한 후 plaque assay를 통해 확인하였다. 그리고, 농축된 파지를 2% uranyl acetate를 이용하여 negative stain을 수행한 후 80 kV 하에서 투과 전자 현미경을 통해 형태학적 특성을 확인하였다.

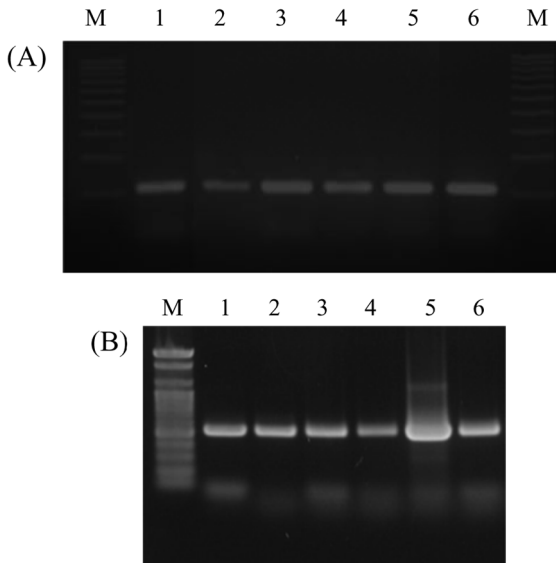
### Ethanol과 pH에 따른 temperate phage의 안정성

분리된 temperate phage를 pH와 ethanol 처리 농도에 따른 안정성 확인을 위해서 pH 2-9와 50, 75, 100% ethanol로 각각 노출시킨 후 처리 시간에 따라 희석하여 plaque assay를 수행하였다. 그리고 실험은 3회 반복 실험을 수행하였다.

## 결과 및 고찰

### *E. faecium*의 분리와 동정

시판 중인 50개의 새싹채소로부터 *Enterococcus* spp.를 분리하기 위해 전통적인 배양법을 이용하여 1차적으로 의심되는 균주를 선별한 후 VITEK을 통해 확인한 결과, *E. faecium*과 99%로 일치하는 것으로 나타났다. 또한, *tuf* 유전자와 *ddl* 유전자를 목적 유전자로 하여 PCR로 확인한 결과 총 5주의 *E. faecium*을 확인하였다(Fig. 1). *Enterococcus* spp.는 주로 사람과 동물의 장에 존재하면서 환경에 널리 분포되어 있으며, 농산물과 축산물, 발효 식품 등에 다양하게 오염되어 있는 것으로 알려져 있다.



**Fig. 1.** Agarose gel electrophoresis for the detection of *E. faecium* from sprouts. (A) *tuf* gene (B) *ddl* gene (Lane 1: *E. faecium* KCCM12118, Lane 2: *E. faecium* C12, Lane 3: *E. faecium* D-19, Lane 4: *E. faecium* E9, Lane 5: *E. faecium* F2, Lane 6: *E. faecium* F6)

Klein(22)은 동물 유래 식품의 경우 *E. faecium*에 비해 *E. faecalis*가 더 많이 검출되는 것을 확인하였으며, Klein 등(23)은 소고기와 돼지고기에서 *Enterococcus* spp.에 대한 오염 분석을 수행한 결과 약 90%가 *E. faecium*인 것으로 나타났다. Ben Omar 등은 유제품, 육제품, 채소 등의 다양한 식품으로부터 *Enterococcus* spp.에 대한 오염 분석을 수행한 결과, 약 1.4 log CFU/g 수준이 존재하는 것으로 나타났으며 각각의 식품에 따른 우점종은 14개의 식품에서는 *E. faecalis*, 36개의 식품에서는 *E. faecium*인 것을 확인하였다(24). 이 외에도 다수의 연구자들이 *Enterococcus* spp.에 대한 식품 오염 정도를 비교했을 때 주된 오염균은 *E. faecium*과 *E. faecalis*인 것으로 나타났으며, 식품의 종류와 지역 등에 따라 상이하게 나타나는 것으로 보여진다.

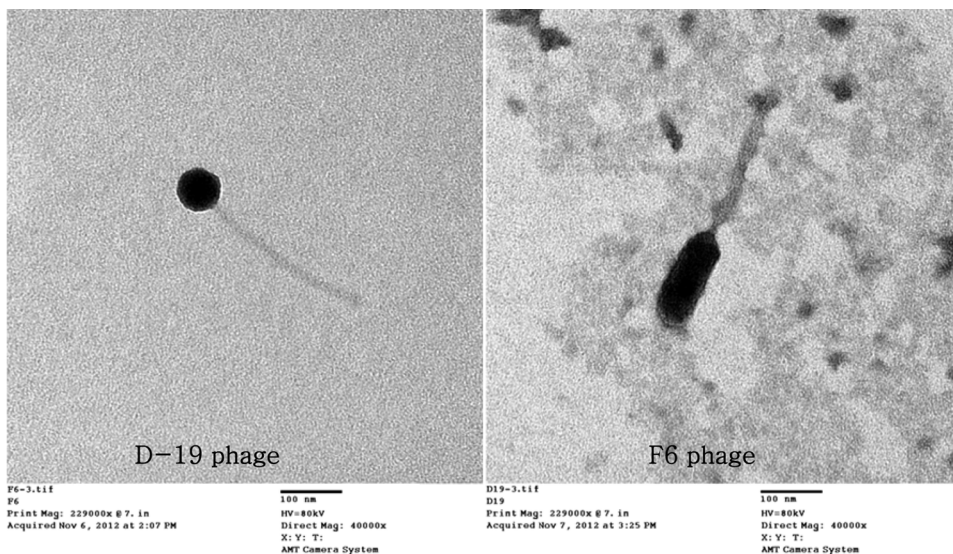
**Table 2.** Host spectrum of D-19 and F6 phages on *E. faecium* and *E. faecalis*

	D-19 phage	F6 phage
<i>E. faecium</i>	5/35	3/35
<i>E. faecalis</i>	0/55	0/55
Total	5/90	3/90

***E. faecium* temperate phage의 분리와 특성**

분리된 5주의 *E. faecium*들에 대해 temperate phage를 분리하기 위해 mitomycin C를 처리한 후 흡광도를 측정하여 생육 억제 정도를 비교한 결과, *E. faecium* D-19와 F6의 생육이 억제되는 것을 확인하였다. 그리고, 제균액을 spot assay를 통해 plaque의 형성을 확인하였다(결과 미제시). 제균액에 있는 temperate phage를 농축한 뒤 투과전자현미경을 통해 형태학적인 특성을 검경한 결과, Siphoviridae에 속하는 것으로 확인되었다(Fig. 2). 현재 알려진 *Enterococcus* spp.의 phage는 대부분이 Siphoviridae에 속하는 형태학적 특성을 나타냈다. 일반적으로 자연계에 존재하는 bacteriophage는 대부분이 double stranded DNA를 보유하고 있으며, 꼬리를 가지고 있는 형태가 대부분을 차지하고 있으며, 이 중에서 Siphoviridae>Myoviridae>Podoviridae 순으로 자연계에 존재하는 것으로 알려져 있다(25).

분리된 temperate phage의 숙주 저해 특성을 확인한 결과, D-19 phage는 5주의 *E. faecium*를 용균시켰으며 F6 phage는 3주의 *E. faecium*에 대해서만 용균시키는 것으로 나타났다(Table 2). Bacteriophage의 중요한 특성인 숙주특이성 때문에 동일한 종에 감염되지 않는 경우가 매우 많으며, 특히 *Enterococcus* spp.의 bacteriophage는 숙주저해범위는 기존에 알려진 다른 세균의 bacteriophage에 비해 상대적으로 매우 낮은 숙주저해특성을 나타내는 것으로 알려져 있으며, 이에 대한 추가적인 연구가 필요한 실정이다. 분리된 D-19 phage와 F6 phage에 대한 pH와 ethanol 농도에 따른 안정성을 확인한 결과는 Fig. 3과 같다. 다양한 ethanol 농도에서의 안정성은 고농도에서도 매우 안정한 것으로 확인되었으며, pH 2에서는 모두 불활성화 되는 것으로 나타났다. Ethanol에 대한 bacteriophage의 안정성에 대한 연구들에서는 저농도



**Fig 2.** Electron micrograph of enterococcal D-19 and F6 phage. (The scale bar in the lower corner represents 100 nm)

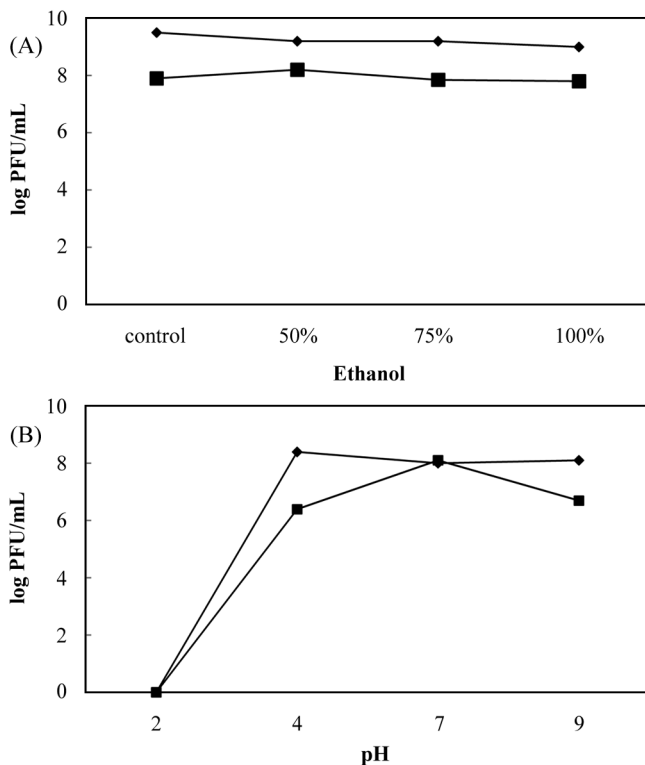


Fig. 3. Stability of enterococcal phage D-19 and F6 phage at various ethanol (A) and pH (B). (■: D-19 phage, ◆: F6 phage)

(<50%)에서는 대체적으로 안정한 것으로 알려져 있으며, 고농도에서도 안정성을 나타내는 것도 보고되고 있다(27). Bacteriophage의 pH에 안정성은 중성부터 알칼리 조건에서는 viability를 유지하고, 산성 조건에서 bacteriophage의 viability가 급격하게 낮아지며 pH 2에서는 대부분 불활성화 되는 것으로 알려져 있으며, 이것은 bacteriophage 단백질들이 pH 2에서 응집되기 때문인 것으로 보고되고 있다(27). 하지만, 최근에는 고온 등에서도 생존이 가능한 극한미생물(extremophile)의 경우 bacteriophage 역시 숙주와 마찬가지로 높은 내열성을 나타내는 것으로 보고되고 있다(28).

*Enterococcus* spp.의 bacteriophage는 현재 다른 세균에 비해 연구가 상대적으로 적게 보고되고 있으며, 아직까지 *Enterococcus* spp.에 있어서 bacteriophage가 병원성 인자와 항생제 내성 유전자의 전이에 대한 기작은 명확하게 확인되고 있지는 않다(29). 미국 국립생물정보센터의 GenBank에 보고된 *Enterococcus* spp.에 대한 bacteriophage의 genome sequence도 약 10개 정도만이 등록되어 있으며, 이 중 5개가 temperate phage인 것으로 나타났다. *Enterococcus* spp.는 다양한 병원성 인자를 보유함과 동시에 항생제 내성 유전자를 가지고 있으며(30), 최근 *E. faecium*에 대한 whole genome sequence 보고에서는 22개의 pathogenicity islands와 3개의 prophage를 확인하였으며, *vanB* 유전자가 있는 transposon *Tn1549*와 유사한 sequence가 존재하는 것으로 나타났다(31). 최근, 항생제 내성 *Enterococcus* spp.에 대한 중요성과 위해성이 증가함에 따라서 *Enterococcus* spp.가 항생제 내성을 가지게 되는 기작에 대한 연구가 활발하게 수행되고 있다. Yasmin 등(29)은 bacteriophage가 *E. faecalis*의 항생제 내성 유전자 전이를 할 수 있다고 하였으며, Mazaheri Nezhad Fard 등(32)은 *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. hirae*, *E. casseloflavus* 중 간에 tetracycline 유전자 전이가 bacteriophage에 의해 가능하다는 보고하였다. 하지만, bac-

teriophage가 항생제 내성 유전자 전이에 중요한 역할을 할 것이라는 것은 예측하고 있지만, bacteriophage의 명확한 역할에 대한 연구는 추가적으로 필요한 것으로 알려져 있다.

따라서, 본 연구에서 새싹채소에 분포하고 있는 *E. faecium*에 temperate phage가 존재함을 확인하였고 그의 안정성이 높아 식품내에서 *E. faecium*의 병원성에 관여할 수 있을 것으로 보인다. 이를 위한 분자생물학적 특성 분석과 horizontal transduction 등을 통한 항생제 내성 유전자 획득과 전이 등에 대한 추가 연구가 필요할 것으로 판단된다.

## 요 약

새싹채소로부터 분리된 *E. faecium*의 temperate phage 특성을 mitomycin C를 이용하여 *E. faecium*으로부터 D-19 phage와 F6 phage를 각각 분리하였다. 분리된 temperate phage는 형태학적 특성을 확인한 결과 모두 *Siphoviridae*에 속하는 것으로 나타났다. 그리고, 숙주 저해 범위는 55개의 숙주중에서 D-19 phage는 5주, F6 phage는 3주의 *E. faecium*만을 용균시킬 수 있는 것으로 확인하였다. 다양한 ethanol 농도에서의 안정성은 고농도에서도 매우 안정한 것으로 확인되었으며, pH의 안정성도 pH 4까지 안정한 것으로 나타났다. 본 연구를 통해 아직 연구가 많이 이루어지지 않은 *E. faecium*의 temperate phage는 host spectrum이 넓지 않은 것으로 나타났고 pH, 온도 등의 환경인자에 상당히 강한 안정성을 가지고 있는 것으로 나타났다.

## 감사의 글

본 논문은 농촌진흥청 연구사업(과제번호: PJ009799)의 지원에 의해 이루어진 것임.

## References

- Giraffa G. Functionality of enterococci in dairy products. *Int. J. Food Microbiol.* 88: 215-222 (2003)
- Tendolkar PM, Baghdayan AS, Shankar N. Pathogenic enterococci new developments in the 21<sup>st</sup> century. *Cell. Mol. Life Sci.* 60: 2622-2636 (2003)
- Franz CM, Stiles ME, Schleifer KH, Holzapfel WH. *Enterococci* in foods-a conundrum for food safety. *Int. J. Food Microbiol.* 88: 105-122 (2003)
- Jett BD, Huycke MM, Gilmore MS. Virulence of *Enterococci*. *Clin. Microbiol. Rev.* 7: 462-478 (1994)
- Gordts B, van Landuyt H, Ieven M, Vandamme P, Goossens H. Vancomycin-resistant *Enterococci* colonizing the intestinal tracts of hospitalized patients. *J. Clin. Microbiol.* 33: 2842-2846 (1995)
- Schaberg DR, Culver DH, Gaynes RP. Major trends in the microbial etiology of nosocomial infection. *Am. J. Med.* 91: 72S-75S (1991)
- Moellering RC Jr. Emergence of *Enterococcus* as a significant pathogen. *Clin. Infect. Dis.* 14: 1173-1178 (1992)
- Linden PK, Miller CB. Vancomycin-resistant *Enterococci*: The clinical effect of a common nosocomial pathogen. *Diagn. Microb. Infect. Dis.* 33: 113-120 (1999)
- Gin AS, Zhanel GG. Vancomycin-resistant *Enterococci*. *Ann. Pharmacother.* 30: 615-624 (1996)
- Sternm CS, Carvalho MG, Teixeira LM. Characterization of *Enterococci* isolated from human and nonhuman sources in Brazil. *Diagn. Microb. Infect. Dis.* 20: 61-67 (1994)
- Iwen PC, Kelly DM, Linder J, Hinrichs SH, Dominguez EA, Rupp ME, Patil KD. Change in prevalence and antibiotic resistance of *Enterococcus* species isolated from blood cultures over an 8-year period. *Antimicrob. Agents Ch.* 41: 494-495 (1997)

12. Mundt JO. Occurrence of *Enterococci* on plants in a wild environment. *Appl. Microbiol.* 11: 141-144 (1963)
13. Franz CMAP, Holzapfel WH, Stiles ME. *Enterococci* at the crossroads of food safety? *Int. J. Food Microbiol.* 47: 1-24 (1990)
14. Giraffa G. *Enterococci* from foods. *FEMS Microbiol. Rev.* 26: 163-171 (2002)
15. Leclercq R, Dutka-Malen S, Brisson-Noel A, Molinas C, Derlot E, Arthur M, Duval J, Courvalin P. Resistance of *Enterococci* to aminoglycosides and glycopeptides. *Clin. Infect. Dis.* 15: 495-501 (1992)
16. Clewell DB. Conjugative transposons and the dissemination of antibiotic resistance in *Streptococci*. *Am. Rev. Microbiol.* 40: 635-659 (1986)
17. Schaberg DR, Zervos MJ. Intergenic and interspecies gene exchange in gram positive cocci. *Antimicrob. Agents Ch.* 30: 817-822 (1986)
18. Campbell A. The future of bacteriophage biology. *Nat. Rev. Genet.* 4: 471-477 (2003)
19. Brüssow H, Canchaya C, Hardt WD. Phages and the evolution of bacterial pathogens: from genomic rearrangements to lysogenic conversion. *Microbiol. Mol. Biol. R.* 68: 560-602 (2004)
20. Allison HE. Stx-phages: drivers and mediators of the evolution of STEC and STEC-like pathogens. *Future Microbiol.* 2: 165-174 (2007)
21. Dutka-Malen S, Evers S, Courvalin P. Detection of glycopeptide resistance genotypes and identification to the species level of clinically relevant *Enterococci* by PCR. *J. Clin. Microbiol.* 33: 24-27 (1995)
22. Klein G. Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of *Enterococci* from food and the gastrointestinal tract. *Int. J. Food Microbiol.* 88: 123-131 (2003)
23. Klein G, Pack A, Reuter G. Antibiotic resistance patterns of enterococci and occurrence of vancomycin-resistant *Enterococci* in raw minced beef and pork in Germany. *Appl. Environ. Microb.* 64: 1825-1830 (1998)
24. Ben Omar N, Castro A, Lucas R, Abriouel H, Yousif NM, Franz CM, Holzapfel WH, Pérez-Pulido R, Martínez-Cañamero M, Gálvez A. Functional and safety aspects of *Enterococci* isolated from different Spanish foods. *Syst. Appl. Microbiol.* 27: 118-130 (2004)
25. Hendrix RW. Bacteriophage genomics. *Curr. Opin. Microbiol.* 6: 506-511(2003)
26. Guglielmotti DM, Mercanti DJ, Reinheimer JA, Quiberoni Adel L. Efficiency of physical and chemical treatments on the inactivation of dairy bacteriophages. *Front. Microbiol.* 2: 282 (2012)
27. Jończyk E, Kłak M, Międzybrodzki R, Górski A. The influence of external factors on bacteriophages. *Folia Microbiol.* 56: 191-200 (2011)
28. Minakhin L, Goel M, Berdygulova Z, Ramanculov E, Florens L, Glazko G, Karamychev VN, Slesarev AI, Kozyavkin SA, Khromov I, Ackermann HW, Washburn M, Mushegian A, Severinov K. Genome comparison and proteomic characterization of *Thermus thermophilus* bacteriophages P23-45 and P74-26: siphoviruses with triplex-forming sequences and the longest known tails. *J. Mol. Biol.* 378: 468-480 (2008)
29. Yasmin A, Kenny JG, Shankar J, Darby AC, Hall N, Edwards C, Horsburgh MJ. Comparative genomics and transduction potential of *Enterococcus faecalis* temperate bacteriophages. *J. Bacteriol.* 192: 1122-1130 (2010)
30. Manson JM, Hancock LE, Gilmore MS. Mechanism of chromosomal transfer of *Enterococcus faecalis* pathogenicity island, capsule, antimicrobial resistance, and other traits. *P. Natl. Acad. Sci. USA* 107: 12269-12274 (2010)
31. Lam MMC, Seemann T, Bulach DM, Gladman SL, Chen H, Harding V, Moore RJ, Ballard S, Grayson ML, Johnson PDR, Howden BP, Stinear TP. Comparative analysis of the first complete *Enterococcus faecium* genome. *J. Bacteriol.* 194: 2334-2341 (2012)
32. Mazaheri Nezhad Fard R, Barton MD, Heuzenroeder MW. Bacteriophage-mediated transduction of antibiotic resistance in *Enterococci*. *Lett. Appl. Microbiol.* 52: 559-564 (2011)