

Salmonella Gallinarum 박테리오파지의 특성

김민정 · 권혁무 · 성환우[†]

강원대학교 수의과대학

Characterization of Bacteriophages against *Salmonella* Gallinarum

Minjeong Kim, Hyuk-Moo Kwon and Haan-Woo Sung[†]

College of Veterinary Medicine, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Republic of Korea

ABSTRACT Bacteriophages are viruses that exclusively infect bacterial cells, and lytic bacteriophages can be used as a safe alternative to antibiotics for the prevention and treatment of animal diseases. In this study, we attempted to isolate and characterize bacteriophages for *Salmonella enterica* serovar Gallinarum (*Salmonella* Gallinarum), the causative agent of fowl typhoid in chickens. Ten bacteriophages were isolated from samples of sewage from seven poultry slaughterhouses. One of these isolate, designated as SGΦ-Y5 SP and classified in the family *Myoviridae*, produced plaques with seven *Salmonella* Gallinarum strains. However, no plaques were produced with any of the *Salmonella enterica* serovar Enteritidis strains tested, suggesting that this bacteriophage is *Salmonella* Gallinarum specific. To assess the lytic ability of SGΦ-Y5 SP against *Salmonella* Gallinarum, bacterial growth rates following inoculation of the bacteriophage were compared with the control. The SGΦ-Y5 SP treatment, with a multiplicity of infection of 10, reduced the growth of *Salmonella* Gallinarum by 2.21 log cfu/mL at 6 h, and 2.13 log cfu/mL at 9 h, suggesting that this bacteriophage isolate could be used for the prevention or treatment of *Salmonella* Gallinarum infection in chickens.

(Key words: bacteriophage, *Salmonella* Gallinarum, lytic effect, chicken)

서 론

Salmonella enterica serovar Gallinarum(*Salmonella* Gallinarum)은 닭에서 급성 혹은 만성감염의 가금티푸스(fowl typhoid)를 유발한다(Shivaprasad and Barrow, 2013; Wigley 2017). *Salmonella* Gallinarum은 살모넬라균중 운동성이 없는 균으로 가금류 숙주에만 한정하여 감염하는 특징이 있다(Barrow et al., 1994; Foley et al., 2013). 가금티푸스 감염 닭에서의 폐사율은 감염 닭의 일령, 품종 및 계군 관리 상태 등에 따라 0%에서 100%까지 다양하게 나타난다(Shivaprasad and Barrow, 2013). 가금티푸스 감염 닭을 항생제로 치료할 경우, 폐사 정도가 줄어들 수 있으나, 완전하게 치료되지 않는 경우가 많으며, 일부는 항생제 내성균이 출현하기도 한다(Kang et al., 2010; Kwon et al., 2002; Lee et al., 2003; Lee et al., 2013). 박테리오파지(bacteriophage)는 세균에 특이적으로 감염할 수 있는 바이러스로서 물, 폐수, 토양 등으로부터 광범위하게 분리된다(Crisuolo et al., 2017; Doss et al., 2017; Haq et al.,

2012; Henry and Debarbieux, 2012). 세균에 감염한 파지(phage)는 두 가지 다른 life cycle 즉, lytic cycle과 lysogenic cycle 과정을 거칠 수 있다. Lytic cycle에서는 감염 숙주 세균내에서 후대 파지들이 형성되면서 숙주 세균을 용해하여 죽이게 되지만, lysogenic cycle에서는 감염 세균을 곧바로 죽이지 않고, 파지 게놈(genome)이 숙주 세균 염색체(chromosome) 특정 부위에 삽입되어 prophage DNA 형태로 존재하면서 숙주 세균 게놈과 함께 증식한다(Doss et al., 2017; Erez et al., 2017). 용해능력이 있는(lytic) 파지는 감염 세균에서 후대 파지가 형성되어 인근 세균에도 감염하여 파괴할 수 있기 때문에 파지를 이용한 세균 치료법 개발에 활용될 수 있다(Chhibber et al., 2013; Golkar et al., 2014; Kudva et al., 1999; Schuch et al., 2002; Wittebole et al., 2014). 가금티푸스 등 닭의 세균성 질병에 대하여도 파지를 이용한 치료 연구들이 일부 진행되고 있다(Berchieri et al., 1991; Hong et al., 2013; Kwon et al., 2008; Lim et al., 2011). 특히, 유통 닭고기 등에서 식중독 관련 세균을 감소시키기 위한 파지 연구가 활발

[†] To whom correspondence should be addressed : sunghw@kangwon.ac.kr

히 진행되고 있다(Bao et al., 2015; Grant et al., 2016; Sukumaran et al., 2015; Sukumaran et al., 2016; Yeh et al., 2017). 본 연구는 도축장 폐수에서 *Salmonella Gallinarum*을 용해할 수 있는 파지를 분리하고, 그 특성을 알아보고자 수행하였다.

재료 및 방법

1. 살모넬라균 배양

박테리오파지 분리 및 기타 성장 조사를 위하여 *Salmonella Gallinarum* 7주와 *Salmonella enterica* serovar Enteritidis(*Salmonella* Enteritidis) 5주를 사용하였다. *Salmonella Gallinarum*은 American type culture collection(ATCC, VA, USA)으로부터 분양받은 표준주 1주(ATCC9184)와 국내 분리주 6주(KNU-U09047, KNU09051, KNU09066, KNU09067, KNU10004, KNU10025)를 사용하였으며 *Salmonella* Enteritidis는 ATCC로부터 분양받은 표준주 1주(ATCC4931)와 국내 분리주 4주(SE271, SE306, SE324, SE376)를 사용하였다. 살모넬라균은 BBL™ *Salmonella* Shigella agar(Becton, Dickinson and Company, MD, USA) 혹은 Difco™ Tryptic soy broth(Becton, Dickinson and Company, MD, USA)를 이용하여 37°C 배양기에서 배양하였다.

2. 박테리오파지 분리 및 증식

닭 도축장의 하수 처리장 물을 채취하여 박테리오파지 분리를 시도하였다. 50 mL 코니칼 튜브로 채취한 하수 시료를 저속 원심분리기(1580MGR, Gyrogen, Korea)를 이용하여 3,000 rpm으로 20분간 원심분리한 후, 상층액을 0.45 µm 필터(Millex syringe-driven filter, Millipore, USA)로 여과하였다. 여과액 4.4 mL를 24시간동안 배양한 *Salmonella Gallinarum* 균 KNU10004주(10^7 cfu/mL) 0.1 mL와 섞은 후 10X TSB 0.5 mL를 첨가하여 37°C 배양기에서 밤샘(overnight) 배양하였다. 배양액에서의 박테리오파지 존재 유무는 double agar layer법을 이용한 플라크(plaque) 생성 여부로 확인하였다. 즉, 배양액을 3,000 rpm으로 20분간 원심분리한 후 상층액을 10^{-1} 에서 10^{-8} 까지 10진 희석하여 각각 100 µL를 미리 배양한 SG-KNU10004(10^7 cfu/mL) 100 µL와 혼합하여 5분간 흡착한 후 50°C로 유지한 top agar(0.7% agarose) 5 mL와 잘 혼합하였다. 혼합액을 미리 준비하여 굳힌 bottom agar(tryptic soy agar) 위에 붓고 굳힌 다음, 37°C에서 24시간 배양한 후 플라크 생성 여부를 확인하였다(Kropinski et al., 2010; Pallavali et al., 2017).

3. 분리된 박테리오파지의 감염속주 실험

분리된 박테리오파지의 감염속주 범위를 알아보기 위하여 7주의 *Salmonella Gallinarum*과 5주의 *Salmonella* Enteritidis를 대상으로 double agar layer법을 이용한 플라크(plaque) 생성 여부 실험을 통하여 감염속주 여부를 확인하였다.

4. 전자현미경 관찰

분리된 박테리오파지중 *Salmonella Gallinarum*에 속주 특이성이 있는 한 주(SGΦ-YS)를 선발하여 전자현미경으로 형태를 관찰하였다. 전자현미경으로 관찰하기 위하여 파지 배양액 4 mL와 미리 배양한 *Salmonella Gallinarum* KNU10004 배양액(10^7 cfu/mL) 1 mL를 혼합하여 35 mL TSB에 접종하여 균이 완전히 용해되도록 고 농도로 증식(약 10^{10} plaque forming unit(pfu)/mL)하였다. 증식액을 8,000 rpm(Micro 17TR, Hanil Science, Korea)에서 20분간 원심분리한 후 상층액을 carbon-coated copper grid에 올려 2% uranyl acetate로 negative stain 후 투과전자현미경 Hitachi 7100(Hitachi, Japan)으로 관찰하였다.

5. *Salmonella Gallinarum* 증식 억제 효과

Salmonella Gallinarum(KNU10004)에 대한 SGΦ-YS LP와 SGΦ-YS SP의 증식 억제 정도를 조사하였다. 즉, 각각의 파지를 *Salmonella Gallinarum*에 10 multiplicity of infection(MOI)로 접종하고, 6시간, 9시간, 12시간 때 각각의 600 nm에서의 흡광도(optical density)와 세균수(bacterial colony forming unit)를 측정하여 대조군 대비 감소 정도를 파악하였다.

결 과

1. 박테리오파지 분리 및 속주 범위

7개 닭 도축장 하수 시료로부터 총 10주의 박테리오파지를 분리하였다. 분리한 박테리오파지의 속주 범위를 확인하기 위하여 *Salmonella Gallinarum* 7주와 *Salmonella* Enteritidis 5주에 대한 용해 유발능력을 시험한 결과, *Salmonella Gallinarum*만 용해하는 종류(SGΦ-YS), *Salmonella Gallinarum*과 *Salmonella* Enteritidis 모두 용해는 종류(SGΦ-JW1, SGΦ-JW2, SGΦ-DW1), 그리고 serotype별로 공통점을 보이지 않는 종류 등 세 종류로 구분되었다(Table 1).

2. 전자현미경 관찰 결과

*Salmonella Gallinarum*균에만 용해 유발능력이 있는 SGΦ-

Table 1. Host ranges of phage isolates

Strain	Bacteriophage isolates										
	SGΦYS	SGΦJW1	SGΦJW2	SGΦHR1	SGΦHR2	SGΦDW1	SGΦDW2	SGΦCS	SGΦDM	SGΦMM	
<i>Salmonella Gallinarum</i>	KNU09047	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	KNU09051	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	KNU09066	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	KNU09067	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	KNU10004	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	KNU10025	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-
	ATCC9184	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Salmonella Enteritidis</i>	SE271	-	+	+	-	-	+	+	+	-	
	SE306	-	+	+	-	-	+	-	+	+	
	SE324	-	+	+	+	-	+	-	-	-	
	SE376	-	+	+	+	-	+	+	+	+	
	ATCC4931	-	+	+	+	-	+	-	-	-	

+: Plaques, -: No plaques.

YS를 대상으로 전자현미경 관찰을 시도하였다. SGΦ-YS를 *Salmonella Gallinarum* KNU10004에 감염시켜 double agar layer법을 이용한 플라크(plaque)를 확인한 결과, 크기가 작은 종류와 큰 종류로 구분되어(Fig. 1) 각각의 단일 플라크를 채취하고, 5회에 걸쳐 단일 클론을 선발하여 플라크 크기가 작은 것(SGΦ-YS SP)과 큰 것(SGΦ-YS LP)으로 구분하여 각각을 전자현미경으로 관찰하였다. SGΦ-YS SP를 전자현미경으로 관찰한 결과, 꼬리(tail)를 가지고 있는 파지형태로 직경이 약 100 nm 정도의 머리(head)를 갖고 있고, 꼬리는 수축외피(contractile sheath)를 가지고 있는 형태로 *Myoviridae* family에 속하는 파지로 분류되었다(Fig. 2). SGΦ-YS LP는 꼬리를 가지고 있는 파지로 머리 직경이 약 65 nm 정도이었

으며, 꼬리는 길이가 긴 나선형이었고 수축외피를 가지고 있지 않는 것으로 나타나 *Siphoviridae* family에 속하는 파지로 분류되었다(Fig. 2).

3. *Salmonella Gallinarum* 증식 억제 효과

*Salmonella Gallinarum*에 대한 분리 파지의 증식 억제 정도를 시험하였다. *Salmonella Gallinarum* KNU1004에 SGΦ-YS SP를 첨가하여 배양하였을 경우, 6시간, 9시간, 12시간때 OD가 각각 0.06, 0.08, 0.36으로 대조군 OD 1.03, 1.56, 1.71보다 크게 낮았다. 세균수도 6시간때 2.3×10^6 /mL로 대조군 3.8×10^8 /mL보다 2.21 log cfu/mL 감소하였으며, 9시간 때는 3.8×10^6 /mL로 대조군 5.2×10^8 cfu/mL보다 2.13 log cfu/mL,

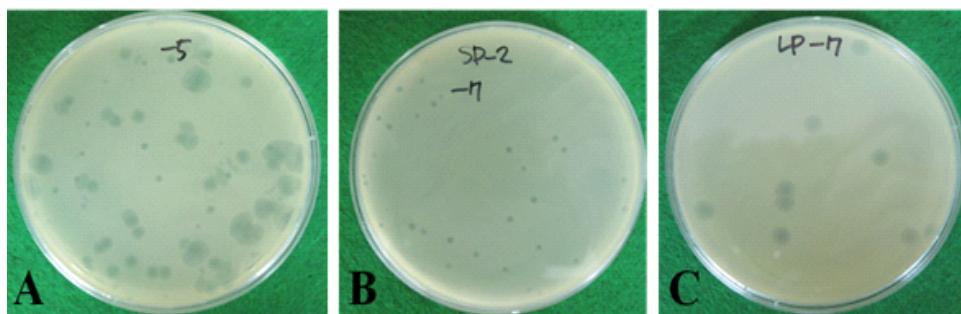


Fig. 1. Two different-sized plaques were observed by soft agar overlay assay with SGΦ-YS (A). A small plaque of SGΦ-YS SP was selected by plaque picking (B). A large plaque of SGΦ-YS LP was selected by plaque picking (C).

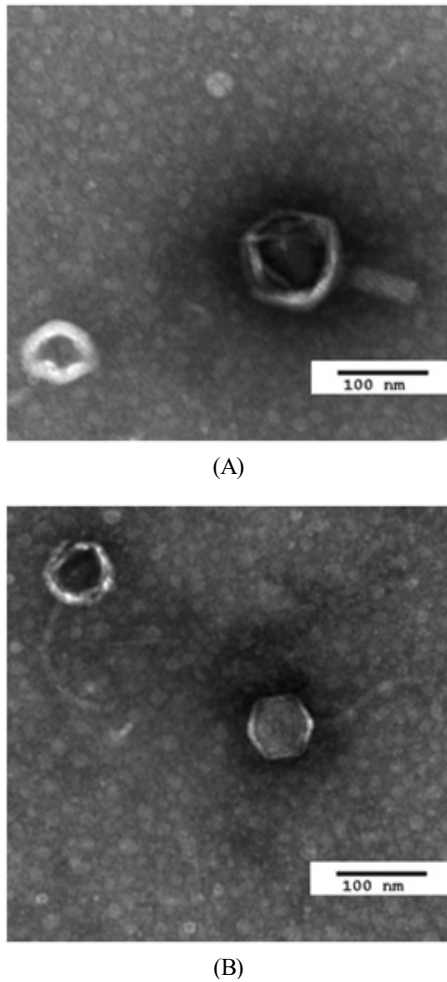


Fig. 2. Transmission electron microscopy images of SGΦ-YS SP and SGΦ-YS LP.

Negatively stained electron micrographs of SGΦ-YS SP virions shows the typical morphology of phages in the family *Myoviridae* (A), and SGΦ-YS LP shows the morphology of the family *Siphoviridae* (B).

12시간 때는 8.0×10^7 /mL로 대조군 9.1×10^8 /mL보다 1.05 log cfu/mL가 감소하였다(Table 2). SGΦ-YS LP를 첨가하여 배양하였을 경우에도 6시간, 9시간, 12시간 때 OD가 0.73, 1.27, 1.40으로 대조군보다 낮았으며, 세균수도 각각 대조군보다 각각 0.42, 0.36, 0.22 log cfu/mL가 감소하였다.

고 찰

닭 도축장 하수 처리장 물을 채취하여 *Salmonella Gallinarum*에 대한 박테리오파지 분리를 시도한 결과 총 10주의 파지가 분리되었다. 분리된 파지의 숙주 범위를 *Salmonella*

Table 2. Inhibition of the growth of *Salmonella Gallinarum* by phage SGΦ-YS

Phage	Incubation time (h)	Control (<i>Salmonella</i> only)		Phage treated (<i>Salmonella</i> + SGΦ)	
		OD	cfu	OD	cfu
SGΦ-YS SP	0	0.17	6.1×10^7	0.17	6.1×10^7
	6	1.03	3.8×10^8	0.06	2.3×10^6
	9	1.56	5.2×10^8	0.08	3.8×10^6
	12	1.71	9.1×10^8	0.36	8.0×10^7
SGΦ-YS LP	0	0.16	7.4×10^7	0.16	7.4×10^7
	6	1.08	4.3×10^8	0.73	1.6×10^8
	9	1.47	6.3×10^8	1.27	2.7×10^8
	12	1.56	7.2×10^8	1.40	4.3×10^8

OD: Optical density values at a wave length of 600 nm.

cfu: Colony forming unit per ml of culture.

*Gallinarum*과 *Salmonella Enteritidis*균을 대상으로 조사한 결과, 일부는 *Salmonella Gallinarum*에 특이적인 숙주 범위를 보이는 것도 있었으며, 일부는 *Salmonella Gallinarum*과 *Salmonella Enteritidis*균 모두에 감염하는 파지도 있었다. 파지의 감염 숙주 범위는 매우 다양하다. 즉, 같은 종(species)의 세균에서도 감염 숙주 범위 차이가 있는 좁은 숙주 범위를 가지는 경우도 있으며, 종이 다른 세균까지도 광범위하게 감염할 수 있는 숙주 범위가 넓은 경우도 있다(Jensen et al 1998; Koskella and Meaden, 2013). 파지를 이용한 치료법 개발에서 숙주범위가 좁은 문제점은 여러 파지를 함께 사용하는 파지 콕테일(cocktails)로 보완할 수 있으나(Pereira et al., 2016a; Pereira et al., 2016b), 숙주 범위가 광범위한 파지일수록 그 활용도가 높다(Wang et al., 2017). 본 실험에서 분리된 SGΦ-JW1, SGΦ-JW2 및 SGΦ-DW1은 실험에 사용한 *Salmonella Gallinarum* 7주와 *Salmonella Enteritidis* 5주 모두에 감염할 수 있는 파지로 분류되었다. 물론 본 실험에 사용한 살모넬라균수가 적어 이들 파지가 살모넬라균에 광범위한 숙주 범위를 가지는 것인지는 현재로서는 알 수 없었으나, 추가 연구를 통하여 광범위한 숙주범위를 가지는 것으로 확인될 경우, 살모넬라균 감소 방안 연구에 이들 파지의 활용 가능성도 있을 것으로 생각되었다.

*Salmonella Gallinarum*균에만 용해 유발능력이 SGΦ-YS를 대상으로 전자현미경 관찰을 시도한 결과, SGΦ-YS SP는 *Myoviridae* family, SGΦ-YS LP는 *Siphoviridae* family로 분

류되었다. 바이러스 명명 국제 위원회(International Committee on Taxonomy of Viruses; ICTV)에서는 파지를 13 family로 구분하고 있으며, 이중 *Myoviridae*, *Siphoviridae* 및 *Podoviridae* 3개 family 파지만이 꼬리를 가지고 있는 것으로 분류한다(Ackermann, 2006). *Myoviridae*는 꼬리에 수축외피(contractile sheath)를 가지고 있다는 점이 다른 두 family와 구분되며, *Siphoviridae*는 꼬리가 길고 수축외피를 가지고 있지 않는 특징으로 다른 family와 구분된다. SGΦ-YS SP를 전자현미경으로 관찰한 결과 꼬리가 있고, 또 꼬리에는 수축외피를 가지고 있어 *Myoviridae* family에 속하는 파지로 분류할 수 있었으며, SGΦ-YS LP는 꼬리가 긴 파지로 수축외피를 가지고 있지 않는 것으로 나타나, *Siphoviridae* family로 분류할 수 있었다.

Pereira et al.(2016a)은 *Salmonella* Typhimurium에 대한 파지 3주를 분리하여 세균 증식 억제 정도를 조사한 결과, 파지를 100 MOI로 접종한 후 4시간 뒤 세균 감소 정도가 1.7~1.9 log cfu/mL 정도이었으며, 12시간 뒤에는 2.4~2.5 log cfu/mL 정도로 증가하다가 이후는 감소폭 변화가 크지 않음을 관찰한 바 있다. 본 실험에서 분리된 파지 SGΦ-YS SP의 *Salmonella* Gallinarum 증식 억제 정도를 시험한 결과, 10 MOI로 접종한 후 6시간, 9시간, 12시간 뒤에 균 증식 억제 정도는 대조군 대비 2.21 log cfu/mL, 2.13 log cfu/mL, 1.05 log cfu/mL가 감소하는 것으로 나타나, Pereira et al.(2016a)의 보고와 유사한 정도이었다. 파지의 균 증식 억제 정도는 파지 접종량에 따라 차이가 있다. Wang et al.(2017)은 *Salmonella* Typhimurium에 대한 파지를 분리하여 처리 농도를 달리하여 세균 감소 정도를 조사한 결과, 약 10⁶ MOI로 처리시에는 25℃에서 12시간 후 3.78 log cfu/mL의 감소가 나타났으나, 1 MOI로 처리시에는 0.41 log cfu/mL의 감소가 나타나, 파지 처리량에 따라 세균 감소 정도의 차이가 있음을 보고하였다. Guenther et al.(2012)은 핫도그 등 간편 식육에 10³ cfu/g 정도 오염된 살모넬라균을 3×10⁸ pfu/g(약 3×10⁵ MOI) 정도의 높은 파지 농도로 처리하였을 경우, 1일 후에는 식육에서 살모넬라균이 완전히 제거됨을 보고한 바 있다. 본 실험에서 분리된 SGΦ-YS SP를 10 MOI로 *Salmonella* Gallinarum에 처리하였을 때 1.05~2.21 log cfu/mL 감소가 있는 점을 고려하면 접종 파지량을 10⁵ MOI 이상으로 증가시킬 경우, 세균 증식 억제 효과를 더욱 증가시킬 수 있을 것으로 생각되었다.

파지를 이용한 치료법은 항생제를 이용한 치료법보다 여러 면에서 장점이 있다. 새로운 항생제를 개발하는 것보다는 파지분리는 간단하고 쉬우며, 비용도 적게 든다(Parasion et al., 2014). 파지에 대한 저항 균주 출현 빈도는 항생제 저항

균주 출현율보다 약 10배가 낮게 나타난다(Parasion et al., 2014). 또한 파지는 악조건 환경에서도 생존하여 감염능력이 유지되며, 숙주 세균 농도가 감소할 때까지 계속 증식할 수도 있기 때문에(Schmelcher and Loessner, 2014), 오염 대상이나 환경에 적용하였을 경우 세균 사멸 효능이 계속된다. 국내에서 분리되는 *Salmonella* Gallinarum의 내성율은 매우 높은 편이다. Kang et al.(2010)의 보고에 의하면 국내 분리 *Salmonella* Gallinarum주 대부분인 98.1%(105주중 103주)는 nalidixic acid에 대한 내성을 갖고 있으며, 94.3%는 fluoroquinolone 제제인 enrofloxacin에 내성을 가지고 있고, 또한 분리주의 63.8%는 적어도 3종 이상의 항생제에 대하여 내성이 나타나는 등 *Salmonella* Gallinarum균의 항생제 내성수준은 매우 심각한 상황에 있다. 따라서 항생제 대체 치료 방법 개발이 더욱 절실하다고 할 수 있다. 국내에서도 분리된 파지를 닭에 적용하였을 경우, *Salmonella* Gallinarum에 대한 일부 예방효능이 있는 것이 여러 연구자에 의해 확인된 바 있다(Hong et al., 2013; Kwon et al., 2008; Lim et al., 2011). 본 연구에서 분리된 *Salmonella* Gallinarum 혹은 *Salmonella* Enteritidis에 대한 파지의 성장 및 균 증식 억제 정도에 대한 추가적인 연구가 이루어질 경우, *Salmonella* Gallinarum 혹은 *Salmonella* Enteritidis 증식 억제 효능이 있는 파지 제제 개발 가능성도 있을 것으로 기대된다.

적 요

박테리오파지는 세균에 특이적으로 감염하는 바이러스로 용해 능력이 있는 박테리오파지는 동물질병을 치료하는 항생제 대체제로 사용할 수 있다. 본 연구는 닭에서 가금티푸스를 유발하는 *Salmonella enterica* serovar Gallinarum(*Salmonella* Gallinarum)에 대한 박테리오파지를 분리하고, 그 특성을 구명하고자 하였다. 7개의 닭 도축장 하수 처리장 물로부터 10주의 박테리오파지를 분리하였다. 이중 SGΦ-YS SP로 명명된 파지는 전자현미경 관찰 결과, *Myoviridae* family로 분류되었다. 분리한 박테리오파지의 숙주 범위를 확인하기 위하여 *Salmonella* Gallinarum 7주와 *Salmonella* Enteritidis 5주에 대한 용해 유발능력을 조사한 결과, SGΦ-YS SP는 *Salmonella* Gallinarum만 용해하는 특징을 보였다. SGΦ-YS SP는 *Salmonella* Gallinarum에 접종하였을 경우 6시간과 9시간 뒤 각각 2.21 log cfu/mL 및 2.13 log cfu/mL를 감소시키는 것으로 확인되어 닭에서 *Salmonella* Gallinarum 감염을 예방하거나 치료하는 파지 제제 개발에 이용될 수 있을 것으

로 판단되었다.

(색인어: 박테리오파지, 살모넬라 갈리나룸, 용해, 닭)

사 사

이 논문은 농림식품기술기획평가원(IPET) Golden Seed Project 총축사업(과제번호: 213010-05-1-SB330)과 강원대학교 2015년 기본연구비 지원사업(No.520150274)으로 수행된 것으로 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Ackermann HW 2006 Classification of bacteriophages. Pages 8-16 In: Bacteriophages. 2nd ed. Oxford University Press, NewYork, USA.
- Bao H, Zhang P, Zhang H, Zhou Y, Zhang L, Wang R 2015 Bio-control of *Salmonella* Enteritidis in foods using bacteriophages. *Viruses* 7(8):4836-4853. doi: 10.3390/v7082847
- Barrow PA, Huggins MB, Lovell MA 1994 Host specificity of *Salmonella* infection in chickens and mice is expressed *in vivo* primarily at the level of the reticuloendothelial system. *Infect Immun* 62(10):4602-10.
- Berchieri A Jr, Lovell MA, Barrow PA 1991 The activity in the chicken alimentary tract of bacteriophages lytic for *Salmonella typhimurium*. *Res Microbiol* 142(5):541-549.
- Chhibber S, Kaur T, Sandeep K 2013 Co-therapy using lytic bacteriophage and linezolid: Effective treatment in eliminating methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from diabetic foot infections. *PLoS ONE* 8:e56022.
- Crisuolo E, Spadini S, Lamanna J, Ferro M, Burioni R 2017 Bacteriophages and their immunological applications against infectious threats. *Journal of Immunology Research* 2017: 3780697. doi: 10.1155/2017/3780697
- Doss J, Culbertson K, Hahn D, Camacho J, Barezki N 2017 A review of phage therapy against bacterial pathogens of aquatic and terrestrial organisms. *Viruse* 9(3):E50. doi: 10.3390/v9030050
- Erez Z, Steinberger-Levy I, Shamir M, Doron S, Stokar-Avihail A, Peleg Y, Melamed S, Leavitt A, Savidor A, Albeck S, Amitai G, Sorek R 2017 Communication between viruses guides lysis-lysogeny decisions. *Nature* 541:488-493.
- Foley SL, Johnson TJ, Ricke SC, Nayak R, Danzeisenb J 2013 *Salmonella* pathogenicity and host adaptation in chicken-associated serovars. *Microbiol Mol Biol Rev* 77(4):582-607.
- Golkar Z, Bagasra O, Pace DG 2014 Bacteriophage therapy: A potential solution for the antibiotic resistance crisis. *J Infect Dev Ctries* 8:129-136.
- Grant Ar' Q, Hashem F, Parveen S 2016 *Salmonella* and *Campylobacter*: Antimicrobial resistance and bacteriophage control in poultry. *Food Microbiology* 53(Pt B):104-109. doi: 10.1016/j.fm.2015.09.008
- Guenther S, Herzig O, Fieseler L, Klumpp J, Loessner MJ 2012 Biocontrol of *Salmonella* Typhimurium in RTE foods with the virulent bacteriophage FO1-E2. *Int J Food Microbiol* 154(1-2):66-72. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.12.023
- Haq IU, Chaudhry WN, Akhtar MN, Andleeb S, Qadri I 2012 Bacteriophages and their implications on future biotechnology: A review. *Virology* 9:9.
- Henry M, Debarbieux L 2012 Tools from viruses: Bacteriophage successes and beyond. *Virology* 434:151-161.
- Hong SS, Jeong J, Lee J, Kim S, Min W, Myung H. 2013 Therapeutic effects of bacteriophages against *Salmonella* Gallinarum infection in chickens. *J Microbiol Biotechnol* 23(10):1478-1483.
- Jensen EC, Schrader HS, Rieland B, Thompson TL, Lee KW, Nickerson KW, Kokjohn TA 1998 Prevalence of broad-host-range lytic bacteriophages of *Sphaerotilus natans*, *E. coli*, and *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl Environ Microbiol* 64(2):575-580.
- Kang MS, Kim A, Jung BY, Her M, Jeong W, Cho YM, Oh JY, Lee YJ, Kwon JH, Kwon YK. 2010 Characterization of antimicrobial resistance of recent *Salmonella enterica* serovar Gallinarum isolates from chickens in South Korea. *Avian Pathol* 39(3):201-205.
- Koskella B, Meaden S 2013 Understanding bacteriophage specificity in natural microbial communities. *Viruses* 5(3): 806-823.
- Kropinski AM, Mazzocco A, Waddell TE, Lingohr E, Jonson RP 2010 Enumeration of bacteriophage by double agar overlay plaque assay. Page 69-76 In: Bacteriophages. Volume 1: Isolation, Characterization, and Interactions. Humana Press, NY, USA.
- Kudva IT, Jelacic S, Tarr PI, Youderian P, Hovde CJ 1999

- Biocontrol of *Escherichia coli* O157 with O157-specific bacteriophages. *Appl Environ Microbiol* 65(9):3767-3773.
- Kwon HJ, Cho SH, Kim TE, Won YJ, Jeong J, Park SC, Kim JH, Yoo HS, Park YH, Kim SJ. 2008 Characterization of a T7-like lytic bacteriophage (phiSG-JL2) of *Salmonella enterica* serovar Gallinarum biovar Gallinarum. *Appl Environ Microbiol* 74(22):6970-6979.
- Kwon HJ, Kim TE, Cho SH, Seol JG, Kim BJ, Hyun JW, Park KY, Kim SJ, Yoo HS 2002 Distribution and characterization of class 1 integrons in *Salmonella enterica* serotype Gallinarum biotype Gallinarum. *Veterinary Microbiology* 89(4):303-309.
- Lee SK, Chon JW, Song KY, Hyeon JY, Moon JS, Seo KH. 2013 Prevalence, characterization, and antimicrobial susceptibility of *Salmonella* Gallinarum isolated from eggs produced in conventional or organic farms in South Korea. *Poult Sci* 92(10):2789-2797.
- Lee YJ, Kim KS, Kwon YK, Tak RB 2003 Biochemical characteristics and antimicrobials susceptibility of *Salmonella* Gallinarum isolated in Korea. *J Vet Sci* 4(2):161-166.
- Lim TH, Lee DH, Lee YN, Park JK, Youn HN, Kim MS, Lee HJ, Yang SY, Cho YW, Lee JB, Park SY, Choi IS, Song CS. 2011 Efficacy of bacteriophage therapy on horizontal transmission of *Salmonella* Gallinarum on commercial layer chickens. *Avian Dis* 55(3):435-438.
- Pallavali RR, Degati VL, Lomada D, Reddy MC, Durbaka VRP 2017 Isolation and *in vitro* evaluation of bacteriophages against MDR-bacterial isolates from septic wound infections. *PLOS ONE* 12(7):e0179245. doi: 10.1371/journal.pone.0179245
- Parasion S, Kwiatek M, Gryko R, Mizak L, Malm A 2014 Bacteriophages as an alternative strategy for fighting biofilm development. *Pol J Microbiol* 63(2):137-145.
- Pereira C, Moreirinha C, Lewicka M, Almeida P, Clemente C, Cunha Â, Delgadillo I, Romalde JL, Nunes ML, Almeida A 2016a Bacteriophages with potential to inactivate *Salmonella* Typhimurium: Use of single phage suspensions and phage cocktails. *Virus Res* 220:179-192. doi: 10.1016/j.virusres.2016.04.020
- Pereira S, Pereira C, Santos L, Klumpp J, Almeida A 2016b Potential of phage cocktails in the inactivation of *Enterobacter cloacae* - An *in vitro* study in a buffer solution and in urine samples. *Virus Res* 211:199-208. doi: 10.1016/j.virusres.2015.10.025
- Schmelcher M, Loessner MJ 2014 Application of bacteriophages for detection of foodborne pathogens. *Bacteriophage* 4(1):e28137. Epub 2014 Feb 7.
- Schuch R, Nelson D, Fischetti VA 2002 A bacteriolytic agent that detects and kills *Bacillus anthracis*. *Nature* 418(6900):884-889.
- Shivaprasad HL, Barrow PA 2013 Pullorum disease and fowl typhoid. Pages 678-692 In: *Diseases of Poultry*. 13th ed. Wiley-Blackwell, Iowa, USA.
- Sukumaran AT, Nannapaneni R, Kiess A, Sharma CS 2015 Reduction of *Salmonella* on chicken meat and chicken skin by combined or sequential application of lytic bacteriophage with chemical antimicrobials. *Int J Food Microbiol* 207:8-15. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2015.04.025.
- Sukumaran AT, Nannapaneni R, Kiess A, Sharma CS 2016 Reduction of *Salmonella* on chicken breast fillets stored under aerobic or modified atmosphere packaging by the application of lytic bacteriophage preparation Salmo FreshTM. *Poult Sci* 95(3):668-675.
- Wang C, Chen Q, Zhang C, Yang J, Lu Z, Lu F, Bie X 2017 Characterization of a broad host-spectrum virulent *Salmonella* bacteriophage fmb-p1 and its application on duck meat. *Virus Res* 236:14-23. doi: 10.1016/j.virusres.2017.05.001
- Wigley P 2017 *Salmonella enterica* serovar Gallinarum: Addressing fundamental questions in bacteriology sixty years on from the 9R vaccine. *Avian Pathol* 46(2):119-124.
- Wittebole X, De Roock S, Opal SM 2014 A historical overview of bacteriophage therapy as an alternative to antibiotics for the treatment of bacterial pathogens. *Virulence* 5:226-235.
- Yeha Y, Purushothaman P, Gupta N, Ragnone M, Verma SC, de Mello AS 2017 Bacteriophage application on red meats and poultry: Effects on *Salmonella* population in final ground products. *Meat Science* 127:30-34. doi: 10.1016/j.meatsci.2017.01.001

