

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

E. coli O157:H7 diperkirakan menjadi penyebab 63.000 kasus *foodborne diseases*, 2.100 rawat inap, 20 kematian, dan menjadi beban ekonomi sebesar \$ 271 juta (1–3). Diperkirakan bahwa 29% dari kasus STEC terjadi pada usia 0–4 tahun, 20% pada usia 5–15 tahun, 35% pada usia 16–59 tahun, dan 17% pada usia > 60 tahun; 42% dari kasus HUS terjadi pada usia 0–4 tahun, 18% pada usia 5–15 tahun, 26% pada 16–59 tahun, dan 14% pada > 60 tahun; dan 29% dari kematian terjadi pada usia 0–4 tahun, 10% pada usia 5–15 tahun, 5% pada usia 16–59 tahun, dan 57% pada usia > 60 tahun. Diasumsikan distribusi usia yang sama untuk *End Stage Renal Disfunction* seperti untuk halnya HUS (4).

Pada penelitian yang dilakukan pada penderita diare anak pada tahun 2014 di Makassar ditemukan bahwa 21,42% sampel feses positif *E. coli* O157:H7 dengan metode kultur dan 46,42% positif bakteri *E. coli* O157:H7 dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (5). *E. coli* O157:H7 dapat menghasilkan dua shigatoxin yang berbeda, stx1 sangat mirip dengan toksin *Shigella dysenteriae* tipe 1, dan stx2 (6). Toksin stx1 dan stx2 yang dihasilkan diketahui memiliki efek dalam jenis dan derajat kerusakan jaringan yang berbeda pada inang (7,8).

Toksin stx1 lebih terabsorpsi oleh sel epitel usus yang berlanjut pada terjadinya diare berdarah, sedangkan toksin stx2 bersirkulasi pada aliran darah selanjutnya menuju ke ginjal dan berikatan dengan reseptor globo series

globotriaosylceramide yang berdampak pada terjadinya kerusakan endotel glomerulus ginjal sehingga terjadi HUS (8–10). Susu sapi mentah dan daging sapi mentah adalah reservoir primer *E. coli* O157:H7, infeksi dapat ditularkan melalui feses (11,12),

Manusia dapat tertular *E. coli* O157:H7 melalui konsumsi makanan segar yang terkontaminasi dan kontaminasi selama penyiapan makanan (13). Jawa Timur berkontribusi sebagai penyumbang populasi sapi terbanyak secara nasional sebesar 43% (14), tercatat dari 17,2 juta ton sapi potong nasional (15), 4,6 juta ekor (27%) di antaranya adalah hasil peternak di Jawa Timur, sedangkan produksi daging sapi Jatim menyumbang 20% atau sekitar 575.557 ton dimana tingkat konsumsi Jatim sebesar 447.460 ton (16). Berbagai teknik sanitasi telah diadopsi oleh industri makanan untuk meningkatkan keamanan mikroba dan kualitas produk segar (17,18).

Hal tersebut sejalan dengan target kerja pemerintah provinsi Jawa Timur untuk meningkatkan Indeks Pembangunan Manusia provinsi Jawa Timur yang masih rendah dan menurunkan angka kemiskinan provinsi Jawa Timur yang masih sebesar 10,86% lebih tinggi daripada angka nasional, terutama di pedesaan (16). Hal tersebut berdampak juga pada pencemaran air sungai Kalimas, salah satunya akibat pembuangan limbah pasar yang belum memiliki Instalasi Pengolahan Air Limbah di lokasi berdekatan dengan sungai Kalimas (19,20).

Pasien anak dengan infeksi *E. coli* O157:H7 yang diobati dengan antibiotik ditemukan memiliki peningkatan resiko pengembangan HUS (21). Bakteriofag litik dapat memberikan alternatif solusi untuk menanggulangi penyakit dan lebih aman dibandingkan dengan menggunakan obat-obatan dan mengurangi kejadian

resistensi, lebih menguntungkan karena lebih spesifik (22–24). Bakteriofag litik memberikan suatu metode alami dan non toksik untuk mereduksi dan mengontrol pertumbuhan bakteri patogen manusia karena bakteriofag adalah bagian dari gastrointestinal dan ekosistem lingkungan (25).

Inisiasi infeksi bakteriofag dipicu oleh *Receptor Binding Protein* (RBP) bakteriofag yang terletak di permukaan sel inang yang berkaitan dengan adsorpsi (26). Salah satu reseptor dikenal sebagai porin, porin yang paling banyak pada *E. coli* yaitu Omp A (27), yang memicu proses entri DNA virus (28,29).

Setelah berhasil mengikat ke reseptor inang terjadi kontraksi selubung dan injeksi asam nukleat bakteriofag ke dalam sel inang melalui sitoplasma sel bakteri (30). Bakteriofag selanjutnya bekerja menggunakan transkripsi bakteri inang untuk menghasilkan mRNA untuk protein kepala, ekor dan lisis. Protein struktural dan genom bakteriofag merakit diri menjadi partikel bakteriofag baru. Selanjutnya protein holin berperan untuk membuat lubang di membran sel bakteri (31,32), endolysin, enzim berperan untuk menghancurkan membran sel bakteri (33–35), dan protein Rz/Rz1 yang berperan pada penghancuran membran sel inang (32,36). Hal tersebut diikuti oleh lisis sel, melepaskan isi sel, termasuk virion yang telah berkumpul ke lingkungan (30).

Beberapa studi yang melaporkan tentang bakteriofag yaitu bakteriofag yang mampu melisis *Pseudomonas aeruginosa* (37), profag Streptococcal yang dapat mempengaruhi virulensi *Streptococcus pyogenes* (38), bakteriofag “koktail” yang dapat melisis *Staphylococcus aureus* (39), namun didapatkan masih relatif sedikit studi terkait analisis *ligand binding site* dan gen *rz/rz1* pembentuk protein Rz/Rz1 yang berperan pada penghancuran membran sel inang.

Dengan pertimbangan tersebut, maka dirasakan penting untuk mengetahui rantai penularan *foodborne* patogen pada manusia sehingga dapat menentukan intervensi yang tepat, faktor risiko spesifik dari penularan melalui makanan (40), hasil penelitian yang akurat sangat penting untuk mengalokasikan sumber daya dan mengidentifikasi prioritas pencegahan (41) untuk mengurangi kejadian infeksi pada manusia. Reduksi kasus *foodborne disease* merupakan salah satu tujuan utama dari program keamanan pangan nasional dan internasional (42).

Pada studi sebelumnya ditemukan bakteriofag litik *E. coli* O157:H7 dengan family Siphoviridae dan Myoviridae yang diisolasi dari limbah cair lingkungan (43), dan telah dianalisis komposisi peptide penyusun *ligand binding site* bakteriofag dari reseptor Omp A *E. coli* O157:H7 dan komposisi dna rz/rz1 penyusun protein yang melisis *E. coli* O157:H7 (44). Berdasarkan latar belakang tersebut maka dilakukan penelitian tentang karakter Omp A dan rz/rz1 bakteriofag Siphoviridae dan Myoviridae pada kejadian reduksi *E. coli* O157:H7 dengan pendekatan molekular.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana karakter Omp A dan rz/rz1 bakteriofag Siphoviridae dan Myoviridae pada kejadian reduksi *E. coli* O157:H7 dengan pendekatan molekular?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis karakter Omp A dan rz/rz1 bakteriofag Siphoviridae dan Myoviridae pada kejadian reduksi *E. coli* O157:H7 dengan pendekatan molekular?

1.3.2 Tujuan khusus

1. Mendeteksi gen stx1 dan stx2 *E. coli* O157:H7.
2. Menjelaskan reduksi *E. coli* O157:H7 oleh bakteriofag litik.
3. Mengidentifikasi spesifitas inang bakteriofag *E. coli* O157:H7.
4. Menguraikan family bakteriofag dengan *Transmission Electron Microscope*.
5. Menganalisis Omp A sebagai *ligand binding site* bakteriofag *E. coli* O157:H7 dengan Mass Spectrometry.
6. Menganalisis gen rz/rz1 bakteriofag dengan *Polimerase Chain Reaction* dan sekuensing DNA.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat teoritis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat :

1. Memberikan referensi spesifitas dari bakteriofag.
2. Menjadi dasar eliminasi *E. coli* O157:H7.
3. Menjadi referensi terkait alternatif solusi antibiotik alami dalam rangka mengurangi kejadian resistensi antibiotik.

1.4.2 Manfaat praktis

Hasil penelitian diharapkan dapat menjadi :

1. Dasar pengembangan pencegahan infeksi *E. coli* O157:H7.
2. Dasar pengembangan pencegahan infeksi *E. coli* O157:H7.
3. Bidang pangan sebagai biokontrol agen penyebab keracunan makanan dalam kaitannya dengan keamanan makanan.
4. Bidang limbah sebagai biokontrol agen penyebab *waterborne disease*.

1.5 Tinjauan Pustaka dan Ruang Lingkup Penelitian

1.5.1 Tinjauan Pustaka

Bakteriofag ditemukan oleh Frederick W. Twort berdasarkan morfologi berukuran kecil, berbentuk plak jernih pada media agar dari sampel feses dari pasien disentri (45). Berdasarkan sistem klasifikasi *The International committee on Taxonomy of viruses* (2000), bakteriofag dimasukkan kedalam ordo Caudovirales memiliki *double stranded* DNA dan berekor, jika bakteriofag kontraktile dan berekor panjang maka dimasukkan kedalam famili Myoviridae, serta jika bakteriofag non kontraktile berekor panjang dimasukkan kedalam famili Siphoviridae (46). Mereka ditemukan sebagai entitas biologis yang melimpah dan beragam di bumi (47,48), yang hampir ada di setiap tempat tempat bakteri berkembang biak (30).

Secara umum, proses infeksi bakteriofag dimulai dengan menempel ke permukaan sel *inang* melalui reseptor permukaan sel *inang* tertentu (23). Materi genetik bakteriofag disuntikkan ke sitoplasma sel bakteri. Inisiasi

infeksi bakteriofag dipicu oleh *Receptor Binding Protein* (RBP) bakteriofag yang terletak di ujung ekor dan reseptor yang terletak di permukaan sel *inang* yang berkaitan dengan adsorpsi, yang berkorelasi dengan struktur reseptor yang terletak di permukaan sel *inang* (26).

Untuk memulai proses replikasi, bakteriofag melewati beberapa mekanisme yaitu (i) pencarian dan pengikatan (adsorpsi) ke reseptor permukaan membran sel bakteri, dan (ii) perforasi terkontrol dari membran sel bakteri dan penyaluran DNA virus ke dalam sitoplasma sel *inang* (49,50). Adsorpsi melibatkan interaksi spesifik antara RBP ekor dan satu atau lebih reseptor membran sel bakteri. RBP adalah penentu utama kisaran *inang* bakteriofag dan dapat berlokasi di berbagai substruktur ekor, yaitu pelat dasar (51).

Sel reseptor permukaan inang biasanya merupakan komponen dari lapisan terluar membran sel bakteri, seperti protein, gula dan polimer struktural (lipopolisakarida / LPS (52,53), asam teichoic (54), peptidoglikan/PG) dan ekstraseluler (membran sel) yang berbeda, tetapi dapat juga menjadi flagela dan pili (26,55). Setelah mengikat beberapa RBP kemudian membelah LPS dan membran sel bakteri gram negatif (26).

Karbohidrat pada permukaan sel bakteri, termasuk kapsul polisakarida dapat menutupi reseptor sel inang (56). Kebanyakan kapsul terdiri dari polisakarida dan bersifat patogen yang dapat menjadi faktor virulensi utama yang mengganggu pengenalan / inaktivasi kekebalan tubuh (57). Bakteriofag biasanya membawa beberapa salinan dari satu atau lebih jenis plat ekor, masing-masing menargetkan jenis kapsul tertentu (58–60).

Selanjutnya bakteriofag menggunakan enzim untuk melisiskan barier sel inang (61) yang merupakan struktur kompleks yang berlapis guna mempertahankan tingkat integritas minimum untuk menjamin kelangsungan hidup sel dengan mengamankan homeostasis sel dengan melindungi dari ancaman lingkungan luar, yang juga merupakan tempat masuknya nutrisi dan keluarnya produk limbah untuk menopang pertumbuhan (34,61–63).

Ciri terpenting dari langkah awal infeksi bakteriofag adalah pada ekor / reseptor yang sesuai untuk selanjutnya membuka konektor kepala-ke-ekor untuk keluarnya DNA dan untuk memungkinkan ekor membentuk saluran melintasi membran sel bakteri untuk menyalurkan genom virus ke dalam sel inang (47,65–68).

Pembentukan saluran sering melibatkan penonjolan dan penyisipan di membran sel bakteri substruktur ekor, beberapa di antaranya memiliki aktivitas yang dapat menurunkan PG untuk memfasilitasi penyeberangan penghalang membran sel. Ujung dari tabung ekor yang menembus dapat langsung menyatu dengan membran sel atau akhirnya berinteraksi dengan saluran membran sel inang, yang akhirnya diikuti oleh translokasi DNA bakteriofag (69).

Bakteriofag telah mengembangkan beragam enzim karbohidrat aktif yang merupakan komponen dari ekor bakteriofag (70) yang berfungsi untuk mengenali, mengikat dan memecah komponen karbohidrat dan mendapatkan akses reseptor sel inang. Sesuai dengan mekanisme kerjanya, depolimerase bakteriofag dapat berupa hidrolase atau liase, yang masing-masing menyebabkan pemecahan polisakarida menjadi larut oligosakarida (71).

Setelah berhasil mengikat ke reseptor inang terjadi kontraksi selubung dan injeksi asam nukleat bakteriofag ke dalam sel inang.

Bakteriofag memungkinkan dalam genom inang melalui fase lisogen atau litik, bertujuan untuk melisiskan sel untuk menghasilkan keturunan. Jika mengikuti siklus hidup litik, bakteriofag yang baru terbentuk dalam sel bakteri melisiskan sel untuk melepaskan virion ke lingkungan sekitarnya. Partikel bakteriofag terutama plat ekor, dilengkapi dengan enzim yang mendegradasi komponen polimer dari permukaan bakteri, untuk melewati zat pelindung yang menghalangi akses ke sel reseptor, untuk menengahi proses aktual pengikatan reseptor, atau untuk mengatasi hambatan membran sel bakteri (29,72).

Enzim pengurai polisakarida protein dikenal sebagai depolimerase polisakarida. Depolimerase dengan aktivitas fosfoesterase terhadap asam teichoic juga termasuk hydrolase (29,72). Depolimerase dapat menurunkan ekstraseluler polisakarida (kapsul) atau membelah struktur polisakarida (LPS atau PG), menargetkan struktur penting untuk kelangsungan hidup sel dan virulensi dalam mengontrol bakteri (28,73–75). Satu-satunya depolimerase terkait virion yang mampu memprovokasi lisis sel inang yang menargetkan PG termasuk dalam kelompok lysin (74). Beberapa depolimerase virion membelah polipeptida atau zat lipid non polisakarida (73).

Struktur ekor memungkinkan virion melubangi lapisan kapsul sampai akhirnya mencapai reseptor sekunder di membran sel bakteri yang memicu proses entri DNA virus (28,29). Saat dilapisi dalam media agar-agar lembut, bakteriofag dengan aktivitas depolimerase sering menghasilkan lingkaran

cahaya transparansi pada lapang bakteri yang mengelilingi plak bakteriofag. Lingkaran cahaya yang dihasilkan merupakan difusi depolimerase (29).

Aktivitas plat ekor mengikat dan membelah tidak hanya diperlukan untuk memposisikan partikel bakteriofag di membran luar, tetapi juga untuk pembukaan. Hal tersebut menunjukkan bahwa LPS yang sangat murni dapat menyebabkan ejeksi DNA bakteriofag secara *in vitro* ketika diinkubasi dengan virion yang memiliki jenis plat ekor tersebut (76,77).

Beberapa bakteriofag menggunakan depolimerase ekor untuk mencapai permukaan seluler. Pengikatan ke reseptor inang menginduksi perubahan struktur virion untuk pembukaan nukleokapsid dan untuk penyisipan ekor di membran sel bakteri (49). Terlepas dari morfologi ekor, banyak bakteriofag perlu mengeluarkan protein atau menonjolkan substruktur ekor untuk memperpanjang ekor dan bentangannya ke membran sel bakteri (69).

Sementara melintasi lapisan membran membran sel bakteri dapat dicapai dengan mekanis menusuk dan / atau fusi protein dengan konstituen lipid, melintasi membran sel yang kaku dan lebih banyak. Beberapa protein virion yang dimasukkan ke dalam membran sel bakteri diketahui memiliki aktivitas pengurai PG untuk memfasilitasi penyeberangan membran sel. Protein tersebut dikenal sebagai struktural lysin (74).

Lysin virion paling sering berhubungan dengan komponen individu atau domain protein ekor tetapi dapat juga berupa protein dalam kapsid yang dikeluarkan saat pembukaan virus (74). Pengikatan ireversibel ke reseptor inang menginduksi kontraksi selubung ekor, menyebabkan bagian dalam

tabung ekor dengan alat penusuk di ujungnya menembus membran sel bakteri. Salah satu protein penyusunnya adalah glikoprotein, yang memiliki aktivitas muralitik (67,78). Untuk proses entri beberapa bakteriofag Myoviridae menggunakan mekanisme mekanik seperti *syringe*, melubangi membran sel bakteri dengan “jari”nya (78–80).

Beberapa bakteriofag Siphoviridae diketahui mengeluarkan dan memasukkan tabung ekor internal ke dalam membran sel bakteri dibentuk oleh domain protein ekor (39,81–83). Sinyal pembukaan kapsid diawali oleh ejsi domain protein ekor (78) atau perubahan pada protein tabung ekor (84). Melihat struktur dan ekor (tabung, pelat dasar bagian dalam) (85) dalam bakteriofag Siphoviridae dan Myoviridae, domain protein ekor memainkan peran serupa dalam transduksi sinyal yang akan menghasilkan pembukaan untuk pelepasan DNA (86,87).

Pada beberapa Siphoviridae domain protein ekor membawa domain PG-pembelahan (88). Bakteriofag T7 *E. coli* (Podoviridae) mengeluarkan protein yang menyusun inti kapsid dalam untuk membentuk tabung ekor panjang yang membentang di membran sel bakteri. Salah satu protein inti T7 memiliki aktivitas pengurai PG (78).

Lysin virion mendorong lisis PG untuk memfasilitasi penetrasi melintasi membran sel dan fusi selanjutnya ke membran sel. Namun, untuk banyak bakteriofag belum diketahui begitu jelas apakah partikel virus dilengkapi dengan lysin (89).

Selain suhu, faktor kimia seperti ion sangat menentukan ketahanan bakteriofag. Penyimpanan yang tidak tepat akan menyebabkan kerusakan

struktur kepala, ekor, dan perubahan struktur DNA bakteriofag (88). Kestabilan bakteriofag dilakukan dengan menyimpan bakteriofag litik dalam *buffer*, diantaranya *buffer Ringer* (NaCl, KCl, CaCl₂.2H₂O, C₃H₅NaO₃). Hal tersebut disebabkan karena adanya ion Ca²⁺ yang terkandung dalam *buffer Ringer* secara bersamaan dapat mempengaruhi viabilitas bakteriofag di lingkungan (91,92).

Bakteriofag menggunakan ekornya dengan enzim yang dimasukkan melalui pembedahan materi genetik di seluruh membran sel bakteri tanpa mengorbankan kelangsungan hidup sel. Justru sebaliknya, mekanisme untuk pelepasan keturunan virion dari bakteri yang terinfeksi biasanya melibatkan penghancuran yang cukup besar dari membran sel bakteri, dengan akibat lisis sel inang (31,34,35,74,75,90).

Degradasi membran luar bakteri inang diperlukan untuk lisis, yang dilakukan oleh protein Rz/Rz1, yang juga merupakan kompleks spanin (32,36). Penghancuran PG oleh pelepasan endolysin spanin, memberikan energi bebas untuk struktur Rz/Rz1 dalam peranannya menghancurkan membran sel bakteri (35).

Fungsi spanin penting untuk lisis pada bakteriofag yang menginfeksi bakteri Gram-negatif. Lisis Gram-negatif yang dimediasi oleh bakteriofag dapat dilihat sebagai langkah yang bersifat *irreversible*. Langkah pertama berkaitan dengan permeabilisasi membran sel oleh holin yang menyebabkan degradasi PG oleh endolysin (langkah kedua), yang pada gilirannya membebaskan spanin untuk meningkatkan gangguan membran luar. Meskipun membentuk jalur berurutan, holin, endolysin (kompleks spanin)

secara mekanis tidak bergantung, artinya tidak perlu ada interaksi secara fisik untuk menjalankan perannya masing-masing dalam lisis (35).

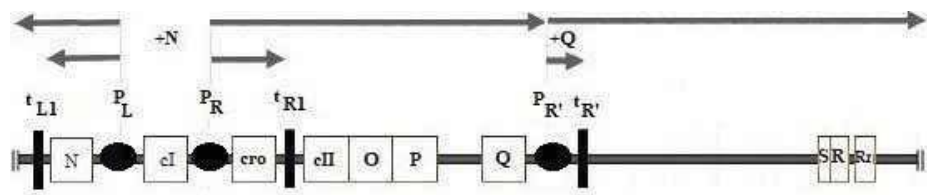
Selama infeksi, partikel bakteriofag mengenali dan mengikat *E. coli*, menyebabkan DNA dari kepala bakteriofag dikeluarkan melalui ekor ke dalam sitoplasma sel bakteri. Biasanya siklus litik terjadi dimana DNA direplikasi dan partikel bakteriofag baru diproduksi di dalam sel. Hal tersebut diikuti oleh lisis sel, melepaskan isi sel, termasuk virion yang telah berkumpul ke lingkungan (30).

Namun, dalam kondisi tertentu, DNA bakteriofag dapat mengintegrasikan dirinya ke dalam kromosom sel inang di jalur lisogenik. Dalam keadaan tersebut, DNA disebut sebagai profag dan tetap tinggal di dalam genom inang tanpa merusak inang. Inang disebut lisogen ketika profag hadir. Profag dapat memasuki siklus ketika lisogen memasuki kondisi stress. Segmen cos mengedarkan DNA dalam sitoplasma sel inang. Genom bakteriofag diinjeksikan melalui membran luar *E. coli*. DNA kemudian melewati membran dalam dan segera diedarkan menggunakan cos (90).

DNA girase sel inang menyebabkan daerah kaya A-T untuk dilepaskan dan mendorong transkripsi. Ujung DNA virus untai tunggal diikat oleh DNA ligase sel inang (92). Transkripsi dimulai dari promotor P_L , P_R dan P konstitutif yang menghasilkan transkrip '*immediate early*'. Pada awalnya, terjadi ekspresi gen *n* dan *cro*, menghasilkan protein N dan Cro. Protein N berfungsi untuk mengaitkan RNA polimerase transkrip pada lokasi spesifik dari mRNA yang baru ditranskripsi. Ketika RNA polimerase mentranskripsi, selanjutnya akan membentuk kompleks dengan beberapa

protein inang. Kompleks tersebut melewati sebagian besar urutan terminasi (33).

Bakteriofag dibedakan menjadi dua, yaitu bakteriofag litik dan bakteriofag lisogenik. Bakteriofag litik bersifat virulen, sedangkan bakteriofag lisogenik tidak (93). Kondisi yang menentukan bakteriofag bersifat litik atau lisogenik adalah temperatur rendah, kelaparan sel inang dan multiplisitas infeksi yang tinggi, dimana kondisi tersebut dapat memicu bakteriofag lisogenik, penurunan produktivitas infeksi bakteriofag dan kemampuan replikasi yang kecil (33,94). Transkrip '*delayed early*' terus berlangsung, melibatkan *xis*, *int*, Q dan gen untuk replikasi genome bakteriofag (OP). Cro mendominasi situs represor dan menekan sintesis dari promotor P_{RM} (yang merupakan promotor siklus lisogenik). Protein O dan P memulai replikasi kromosom bakteriofag dengan memerintahkan DNA polimerase bakteri (33). Untaian molekul panjang selanjutnya dibelah oleh *cos*. Proses tersebut terlihat pada gambar berikut:



Gambar 1.1 Gen Bakteriofag (93)

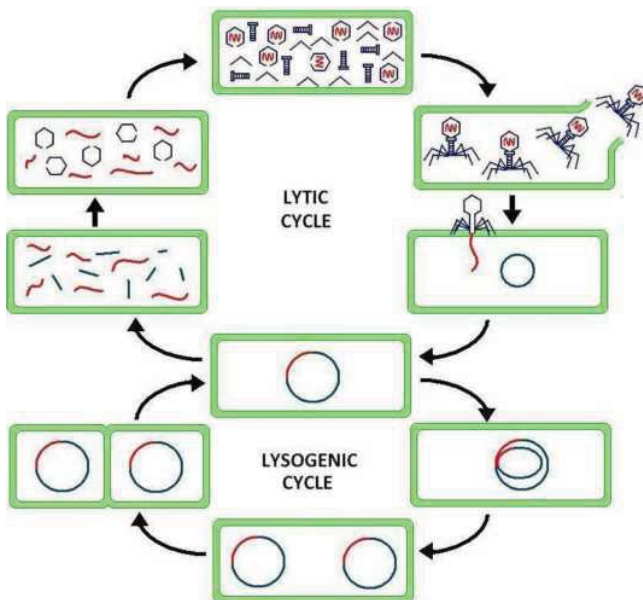
Keterangan :

P_L, P_R : berperan pada proses transkripsi '*immediate early*', mengekspresikan gen *n* dan *cro*

N : berfungsi mengaitkan RNA polimerase transkrip dari mRNA yang baru ditranskripsi

xis, int, Q	: berperan pada proses transkripsi ' <i>delayed</i> '
cro	: menekan sintesis P _{RM} (penentu lisogen)
O dan P	: memerintahkan DNA polimerase bakteri
cI	: berperan menjaga stabilitas lisogen
cII	: penentu lisogen/litik
cIII	: berperan pada stabilitas cII
rz/rz1	: gen pembentuk protein Rz/Rz1

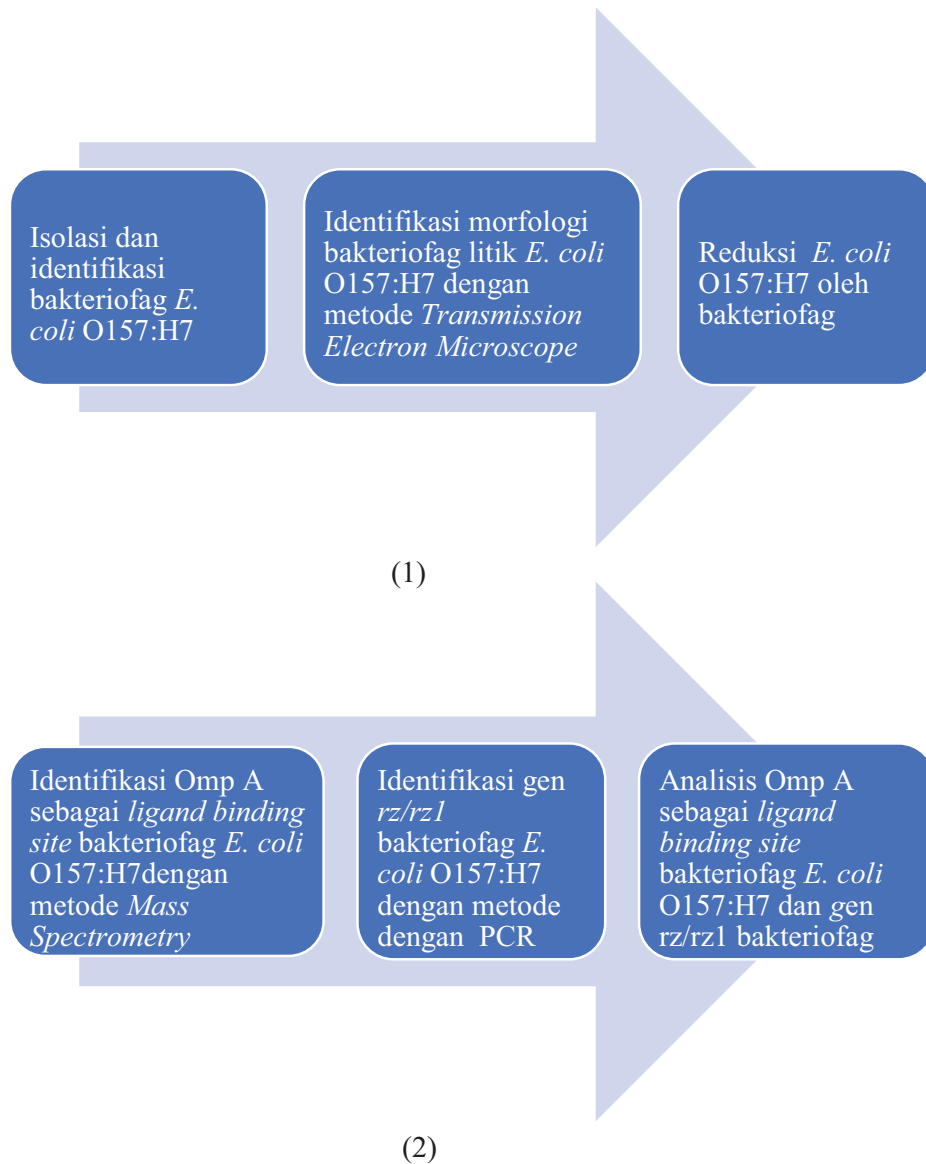
Transkripsi diperluas untuk menghasilkan mRNA untuk protein kepala, ekor dan lisis. Protein struktural dan genom bakteriofag merakit diri menjadi partikel bakteriofag baru. Selanjutnya protein holin berperan untuk membuat lubang di membran sel bakteri (31,32), endolysin, enzim berperan untuk menghancurkan dinding sel bakteri (33–35), dan protein Rz/Rz1 yang berperan pada penghancuran membran sel (32,36).



Gambar 1.2 Siklus litik bakteriofag (Sumber : Wikipedia)

1.5.2 Ruang lingkup penelitian

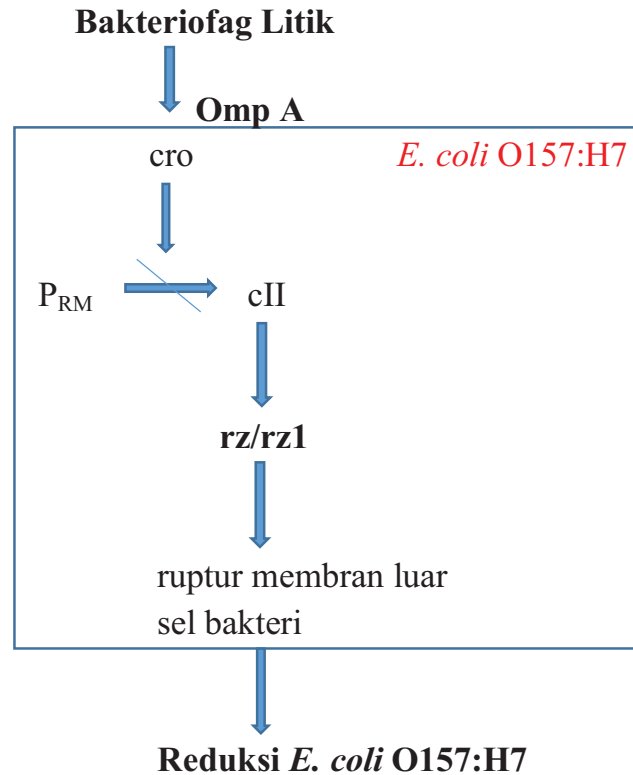
Ruang lingkup penelitian berisikan kronologis publikasi ilmiah, dimana Publikasi Ilmiah 1 terkait bakteriofag litik dan lisis *E. coli* O157:H7 (Isolasi dan identifikasi bakteriofag *E. coli* O157:H7, Identifikasi morfologi bakteriofag litik dengan metode *Double layer plaque technique*, Identifikasi bakteriofag menggunakan *Transmission Electron Microscope*, mengetahui reduksi *E. coli* O157:H7 oleh bakteriofag menggunakan metode Densitometry, dan Publikasi Ilmiah 2 terkait Omp A dan rz/rz1 (identifikasi Omp A sebagai *ligand binding site* bakteriofag *E. coli* O157:H7, identifikasi gen rz/rz1 bakteriofag *E. coli* O157:H7, analisis Omp A sebagai *ligand binding site E. coli* O157:H7 bakteriofag dan rz/rz1 bakteriofag *E. coli* O157:H7) yang terlihat pada *roadmap* penelitian dan Kerangka Konseptual Penelitian.



Gambar 1.3 *Roadmap* Penelitian (1=Publikasi Ilmiah 1; 2=Publikasi Ilmiah 2)

1.6 Kerangka Konseptual

Kerangka konseptual penelitian dapat dilihat pada gambar berikut ini:



Gambar 1.4 Kerangka Konseptual

Keterangan gambar : huruf cetak tebal merupakan komponen penelitian

Untuk memulai proses replikasi, bakteriofag melewati proses adsorpsi yang melibatkan interaksi spesifik antara ekor (*ligand binding site*) dan reseptor membran sel bakteri (49,94). Setelah bakteriofag mengikat RBP kemudian membelah LPS dan membran sel bakteri gram negatif (26).

Porin berperan dalam transportasi lewatnya larutan hidrofilik, porin yang paling banyak terdapat pada *E. coli* yaitu Omp A. Struktur ekor memungkinkan virion melubangi lapisan membran sampai akhirnya mencapai reseptor sekunder di membran sel bakteri yang memicu proses entri

DNA virus (28,29).

Setelah ekor/reseptor yang sesuai membuka konektor kepala-ke-ekor untuk keluarnya DNA, selanjutnya ekor membentuk saluran melintasi membran sel bakteri untuk menyalurkan genom virus ke dalam sel inang (47,63–66). Setelah berhasil mengikat ke reseptor inang terjadi kontraksi selubung dan injeksi asam nukleat bakteriofag ke dalam sel inang melalui sitoplasma sel bakteri (30).

Genom bakteriofag litik diinjeksikan melalui membran luar *E. coli* O157:H7, DNA kemudian melewati kompleks permease mannose di membran dalam dan segera diedarkan menggunakan *cos* (89). DNA girase sel inang menyebabkan daerah kaya A-T untuk dilepaskan dan mendorong transkripsi. Transkripsi dimulai dari ekspresi gen *n* dan *cro*. Protein N berfungsi untuk mengaitkan RNA polimerase transkrip pada lokasi spesifik dari mRNA yang baru ditranskripsi. Cro mendominasi situs represor dan menekan sintesis dari promotor P_{RM} (yang merupakan promotor siklus lisogenik) yang memicu terjadinya supresi gen *cII* yang berperan pada fase litik (95), selanjutnya *rz/rz1* berperan menghancurkan membran sel bakteri (35) yang mengakibatkan lisis *E. coli* O157:H7.

DAFTAR PUSTAKA

1. Poxleitner M, Pope W, Sera DJ, Sivanathan V HG. *Phage discovery Guide* [Internet]. Chevy Chase (US); 2016 [cited 2019 Sep 14]. Available from: <https://www.coursehero.com/file/40591240/Phage-Discovery-Guide-Gordonia-2016pdf/>
2. Scallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ, V. TR, Marc-Alain W, Roy SL, *et al.* Foodborne illness acquired in the United States—major pathogens. *Emerg Infect Dis.*, 2011;17(1):7–15.
3. Hoffmann S, Macculloch B, Batz M. *Economic Burden of Major Foodborne Illnesses Acquired in the United States* [Internet]. 2015 [cited 2019 Oct 16]. Available from: https://www.ers.usda.gov/webdocs/publications/43984/52807_eib140.pdf?v=2385.8
4. Majowicz SE, Scallan E, Jones-Bitton A, Sargeant JM, Stapleton J, Angulo FJ, *et al.* Global incidence of human shiga toxin-producing escherichia coli infections and deaths: A systematic review and knowledge synthesis. *Foodborne Pathog Dis.*, 2014;11(6):447–55.
5. Bakri Z, Hatta M, Massi MN. Deteksi Keberadaan Bakteri Escherichia coli O157:H7 Pada Feses Penderita Diare Dengan Metode Kultur Dan PCR. *JST Kesehatan*, 2015;5(2):184–92.
6. Melton-Celsa AR. Shiga Toxin (Stx) Classification, Structure, and Function. *Microbiol Spectr.*, 2014;2(4):1–21.
7. Scheutz F, Teel LD, Beutin L, Piérard D, Buvens G, Karch H, *et al.* Multicenter evaluation of a sequence-based protocol for subtyping Shiga toxins and standardizing Stx nomenclature. *J Clin Microbiol.*, 2012;50(9):2951–63.
8. Luna-Gierke RE, Griffin PM, Gould LH, Herman K, Bopp CA, Strockbine N, *et al.* Outbreaks of non-O157 Shiga toxin-producing Escherichia coli infection: USA. *Epidemiol Infect.*, 2014;142(11):2270–80.
9. Fathi J, Ebrahimi F, Nazarian S, Tarverdizade Y. Purification of shigalike toxin from Escherichia coli O157: H7 by a simple method. *J Appl Biotechnol Reports.*, 2017;4(4):707–11.
10. Fedio WM, Jinneman KC, Yoshitomi KJ, Zapata R, Wendakoon CN, Browning P, *et al.* Detection of E. coli O157:H7 in raw ground beef by Pathatrix™ immunomagnetic-separation, real-time PCR and cultural methods. *Int J Food Microbiol*, 2011;148(2):87–92.

11. Perera A, Clarke CM, Dykes GA, Fegan N. Characterization of Shiga Toxigenic *Escherichia coli* O157 and Non-O157 Isolates from Ruminant Feces in Malaysia. *Biomed Res Int*, 2015;2015.
12. Farahmandfar M, Moori-Bakhtiari N, Gooraninezhad S, Zarei M. Comparison of two methods for detection of *E. Coli* O157H7 in unpasteurized milk. *Iran J Microbiol*, 2016;8(5):282–7.
13. WHO. *E. coli* [Internet]. 2018 [cited 2020 Dec 20]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>
14. Liputan6.com. *Jawa Timur Berkontribusi 43 Persen terhadap Populasi Sapi Nasional* [Internet]. 2019 [cited 2019 Oct 14]. Available from: <https://surabaya.liputan6.com/read/4085691/jawa-timurberkontribusi-43-persen-terhadap-populasi-sapi-nasional>
15. Detikfinance. *Jawa Timur Sumbang Populasi Sapi Terbanyak Secara Nasional* [Internet]. 2019 [cited 2019 Oct 14]. Available from: <https://finance.detik.com/berita-ekonomi-bisnis/d-4604205/jawatimur-sumbang-populasi-sapi-terbanyak-secara-nasional>
16. Bisnis.com. *Populasi Sapi Jatim Ditarget Tumbuh 3,5% Tahun Ini* [Internet]. 2019 [cited 2019 Oct 18]. Available from: <https://surabaya.bisnis.com/read/20190709/532/1121842/populasisapi-jatim-ditarget-tumbuh-35-tahun-ini>
17. Fisher, K. D. Evaluation of a novel antimicrobial solution and its potential for control *Escherichia coli* O157: H7, non-O157: H7 shiga toxin-producing *E. coli*, *Salmonella* spp., and *Listeria monocytogenes* on beef. *Food Control*, 2016;64(2016):196–201.
18. Joshi, I. Characterization of microbial inactivation using plasma-activated water and plasma-activated acidified buffer. *Journal of Food Protection*, 2018;81(9):1472–1480.
19. Detiknews. *Lapak Pasar Unggas Keputran yang Berbau Tak Sedap Dibongkar* [Internet]. 2018 [cited 2019 Sep 18]. Available from: <https://news.detik.com/berita-jawa-timur/d-4198620/lapak-pasarunggas-keputran-yang-berbau-tak-sedap-dibongkar>
20. Jatimnet.com. *Berbau PD Pasar Atur Pembuangan Limbah Pedagang Unggas Keputran* [Internet]. 2019 [cited 2020 Jan 8]. Available from:

<https://jatimnet.com/berbau-pd-pasar-atur-pembuangan-limbahpedagang-unggas-keputran>

21. Wong CS, Mooney JC, Brandt JR, Staples AO, Jelacic S, Boster DR, *et al.* Risk factors for the hemolytic uremic syndrome in children infected with *Escherichia coli* O157:H7: A multivariable analysis. *Clin Infect Dis*, 2012;55(1):33–41.
22. Haq IU, Chaudhry WN, Akhtar MN, Andleeb S, Qadri I. 2 «بميشويب». *Viol J*, 2012;1–23.
23. Zhan Y, Buchan A, Chen F. Novel N4 bacteriophages prevail in the cold biosphere. *Appl Environ Microbiol*, 2015;81(15):5196–202.
24. Harada LK, Silva EC, Campos WF, Del Fiol FS, Vila M, D browska K, *et al.* Biotechnological applications of bacteriophages: State of the art. *Microbiol Res*, 2018;212–213(February):38–58.
25. Bhardwaj N, Bhardwaj SK, Deep A, Dahiya S, Kapoor S. Lytic bacteriophages as biocontrol agents of foodborne pathogens. *Asian J Anim Vet Adv*, 2015;10(11):708–23.
26. Silva JB, Storms Z, Sauvageau D. Host receptors for bacteriophage adsorption. *FEMS Microbiol Lett*, 2016;363(4):1–11.
27. Ortiz-Suarez ML, Samsudin F, Piggot TJ, Bond PJ, Khalid S. FullLength OmpA: Structure, Function, and Membrane Interactions Predicted by Molecular Dynamics Simulations. *Biophys J*, 2016;111(8):1692–702.
28. Yan J, Mao J, Xie J. Bacteriophage polysaccharide depolymerases and biomedical applications. *BioDrugs*, 2014;28(3):265–74.
29. Cornelissen A, Ceyssens PJ, T'Syen J, van Praet H, Noben JP, Shaburova O V., *et al.* The t7-related pseudo *onas putida* phage ϕ 15 displays virion-associated biofilm degradation properties. *PLoS One*, 2011;6(4).
30. Clokie MRJ, Millard AD, Letarov A V., Heaphy S. Phages in nature. *Bacteriophage*, 2011;1(1):31–45.
31. Catalão MJ, Gil F, Moniz-Pereira J, São-José C, Pimentel M. Diversity in bacterial lysis systems: Bacteriophages Show the way. *FEMS Microbiol Rev*, 2013;37(4):554–71.

32. Young R. Phage lysis: Do we have the hole story yet? *Curr Opin Microbiol*, 2013;16(6):790–7.
33. Santangelo TJ, Artsimovitch I. Termination and antitermination: RNA polymerase runs a stop sign. *Nat Rev Microbiol*, 2011;9(5):319–29.
34. Nelson DC, Schmelcher M, Rodriguez-Rubio L, Klumpp J, Pritchard DG, Dong S, *et al.* Endolysins as Antimicrobials. 1st ed. Vol. 83, *Advances in Virus Research*. Elsevier Inc.; 2012. p. 299–365.
35. Young R. Phage lysis: Three steps, three choices, one outcome. *J Microbiol*, 2014;52(3):243–58.
36. Berry J, Rajaure M, Pang T, Young R. The spanin complex is essential for lambda lysis. *J Bacteriol*, 2012;194(20):5667–74.
37. Pires DP, Vilas Boas D, Sillankorva S, Azeredo J. Phage Therapy: a Step Forward in the Treatment of *Pseudomonas aeruginosa* Infections. *J Virol*, 2015;89(15):7449–56.
38. McShan WM, McCullor KA, Nguyen S V. The Bacteriophages of *Streptococcus pyogenes*. *Gram-Positive Pathog*, 2016;158–76.
39. Abatángelo V, Peressutti Bacci N, Boncompain CA, Amadio AA, Carrasco S, Suárez CA, *et al.* Broad-range lytic bacteriophages that kill *Staphylococcus aureus* local field strains. *PLoS One*, 2017;12(7):1–22.
40. Aspinall WP, Cooke RM, Havelaar AH, Hoffmann S, Hald T. Evaluation of a performance-based expert elicitation: WHO global attribution of foodborne diseases. *PLoS One*, 2016;11(3):1–14.
41. Haagsma JA, Polinder S, Stein CE, Havelaar AH. Systematic review of foodborne burden of disease studies: Quality assessment of data and methodology. *Int J Food Microbiol*, 2013;166(1):34–47.
42. Azevedo I, Albano H, Silva J, Teixeira P. Food safety in the domestic environment. *Food Control*, 2014;37(1):272–6.
43. Sjahriani T, Wasito EB, Tyasningsih W. Isolation and Identification of *Escherichia coli* O157:H7 Lytic Bacteriophage from Environment Sewage. *Int J Food Sci*, 2021;2021(Article ID 7383121).

44. Sjahriani T, Wasito EB, Tyasningsih W. The Analysis of OmpA and Rz/Rz1 of Lytic Bacteriophage from Surabaya, Indonesia. *Scientifica*, 2021;2021(Article ID 7494144).
45. Keen EC. Felix d'Herelle and our microbial future. *Future Microbiol*, 2012;7(12):1337–9.
46. Ackermann HW, Prangishvili D. Prokaryote viruses studied by electron microscopy. *Arch Virol*, 2012;157(10):1843–9.
47. Díaz-Muñoz SL, Koskella B. Bacteria-Phage interactions in natural environments. 1st ed. Vol. 89, *Advances in Applied Microbiology*. Elsevier Inc.; 2014. p. 135–183.
48. Engelhardt T, Kallmeyer J, Cypionka H, Engelen B. High virus-to-cell ratios indicate ongoing production of viruses in deep subsurface sediments. *ISME J*, 2014;8(7):1503–9.
49. Fokine A, Rossmann MG. Molecular architecture of tailed doublestranded DNA phages. *Bacteriophage*, 2014;4(2):e28281.
50. Mahony J, Alqarni M, Stockdale S, Spinelli S, Feyereisen M, Cambillau C, *et al.* Functional and structural dissection of the tape measure protein of lactococcal phage TP901-1. *Sci Rep*, 2016;6(November):1–10.
51. Dowah ASA, Clokie MRJ. Review of the nature, diversity and structure of bacteriophage receptor binding proteins that target Grampositive bacteria. *Biophys Rev*, 2018;10(2):535–42.
52. Ainsworth S, Sadovskaya I, Vinogradov E, Courtin P, Guerardel Y, Mahony J, *et al.* Differences in lactococcal cell wall polysaccharide structure are major determining factors in bacteriophage sensitivity. *MBio*, 2014;5(3):1–11.
53. Mahony J, Kot W, Murphy J, Ainsworth S, Neve H, Hansen LH, *et al.* Investigation of the relationship between lactococcal host cell wall polysaccharide genotype and 936 phage receptor binding protein phylogeny. *Appl Environ Microbiol*, 2013;79(14):4385–92.
54. Mahony J, van Sinderen D. Structural aspects of the interaction of dairy phages with their host bacteria. *Viruses*, 2012;4(9):1410–24.

55. Letarov A V., Kulikov EE. Adsorption of bacteriophages on bacterial cells. *Biochem*, 2017;82(13):1632–58.
56. Mostowy RJ, Holt KE. Diversity-Generating Machines: Genetics of Bacterial Sugar-Coating. *Trends Microbiol*, 2018;26(12):1008–21.
57. Wen Z, Zhang JR. Bacterial Capsules. *Mol Med Microbiol Second Ed*. 2014;1–3(December 2017). p. 33–53.
58. Hsieh PF, Lin HH, Lin TL, Chen YY, Wang JT. Two T7-like Bacteriophages, K5-2 and K5-4, Each Encodes Two Capsule Depolymerases: Isolation and Functional Characterization. *Sci Rep*, 2017;7(1):1–13.
59. Pan Y-J, Lin T-L, Chen C-C, Tsai Y-T, Cheng Y-H, Chen Y-Y, *et al*. Klebsiella Phage Φ K64-1 Encodes Multiple Depolymerases for Multiple Host Capsular Types. *J Virol*, 2017;91(6):1–16.
60. Oliveira H, Costa AR, Konstantinides N, Ferreira A, Akturk E, Sillankorva S, *et al*. Ability of phages to infect *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex species through acquisition of different pectate lyase depolymerase domains. *Environ Microbiol*, 2017;19(12):5060–77.
61. Santos SB, Costa AR, Carvalho C, Nóbrega FL, Azeredo J. Exploiting Bacteriophage Proteomes: The Hidden Biotechnological Potential. *Trends Biotechnol*, 2018;36(9):966–84.
62. Pastagia M, Schuch R, Fischetti VA, Huang DB. Lysins: The arrival of pathogen-directed anti-infectives. *J Med Microbiol*, 2013;62(PART10):1506–16.
63. Schmelcher M, Loessner MJ. Bacteriophage endolysins: Applications for food safety. *Curr Opin Biotechnol*, 2016;37(iii):76–87.
64. Rodríguez-Rubio L, Gutiérrez D, Donovan DM, Martínez B, Rodríguez A, García P. Phage lytic proteins: Biotechnological applications beyond clinical antimicrobials. *Crit Rev Biotechnol*, 2016;36(3):542–52.
65. Casjens SR, Molineux IJ. Short noncontractile tail machines: Adsorption and DNA delivery by podoviruses. In: *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2012. p. 143–79.

66. Davidson AR, Cardarelli L, Pell LG, Radford DR, Maxwell KL. Long noncontractile tail machines of bacteriophages. *Adv Exp Med Biol*, 2012;726:115–42.
67. Leiman PG, Shneider MM. Contractile tail machines of bacteriophages. *Adv Exp Med Biol*, 2012;726:93–114.
68. Goerin R, Dockrell H, Zucker an M, Roitt I CP. *Medical Microbiology*. 5th ed. United Kingdom: Elsevier; 2013.
69. Xu J, Xiang Y. Membrane Penetration by Bacterial Viruses. *J Virol*, 2017;91(13):1–7.
70. Yan J, Mao J, Xie J. Erratum: Bacteriophage Polysaccharide Depolymerases and Biomedical Applications. *BioDrugs*, 2014;28(3):323.
71. Fernandes S, São-José C. Enzymes and mechanisms employed by tailed bacteriophages to breach the bacterial cell barriers. *Viruses*, 2018;10(8):1–22.
72. Myers CL, Ireland RG, Garrett TA, Brown ED. Characterization of wall teichoic acid de radiation by the bacteriophage $\phi 29$ appendage protein GP12 using synthetic substrate analogs. *J Biol Chem*, 2015;290(31):19133–45.
73. Pires DP, Oliveira H, Melo LDR, Sillankorva S, Azeredo J. Bacteriophage-encoded depolymerases: their diversity and biotechnological applications. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2016;100(5):2141–51.
74. Latka A, Maciejewska B, Majkowska-Skrobek G, Briers Y, DrulisKawa Z. Bacteriophage-encoded virion-associated enzymes to overcome the carbohydrate barriers during the infection process. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2017;101(8):3103–19.
75. Drulis-Kawa Z, Majkowska-Skrobek G, Maciejewska B. Bacteriophages and Phage-Derived Proteins – Application Approaches. *Curr Med Chem*, 2015;22(14):1757–73.
76. Broeker NK, Barbirz S. Not a barrier but a key: How bacteriophages exploit host's O-antigen as an essential receptor to initiate infection. *Mol Microbiol*, 2017;105(3):353–7.

77. Andres D, Roske Y, Doering C, Heinemann U, Seckler R, Barbirz S. Tail morphology controls DNA release in two Salmonella phages with one lipopolysaccharide receptor recognition system. *Mol Microbiol*, 2012;83(6):1244–53.
78. Hu B, Margolin W, Molineux IJ, Liu J. *Structural remodeling of bacteriophage T4 and host membranes during infection initiation*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2015;112(35):E4919–28.
79. Browning C, Shneider MM, Bowman VD, Schwarzer D, Leiman PG. Phage pierces the host cell membrane with the iron-loaded spike. *Structure*, 2012;20(2):326–39.
80. Taylor NMI, Prokhorov NS, Guerrero-Ferreira RC, Shneider MM, Browning C, Goldie KN, *et al.* Structure of the T4 baseplate and its function in triggering sheath contraction. *Nature*, 2016;533(7603):346–52.
81. Cumby N, Reimer K, Mengin-Lecreulx D, Davidson AR, Maxwell KL. The phage tail tape measure protein, an inner membrane protein and a periplasmic chaperone play connected roles in the genome injection process of E. coli phage HK97. *Mol Microbiol*, 2015;96(3):437–47.
82. Li E, Wei X, Ma Y, Yin Z, Li H, Lin W, *et al.* Isolation and characterization of a bacteriophage phiEap-2 infecting multidrug resistant *Enterobacter aerogenes*. *Sci Rep*, 2016;6(June):1–9.
83. Ge P, Scholl D, Leiman PG, Yu X, Miller JF, Zhou ZH. Atomic structures of a bactericidal contractile nanotube in its pre- and postcontraction states. *Nat Struct Mol Biol*, 2015;22(5):377–82.
84. Nováček J, Šiborová M, Benešík M, Pantůček R, Doškař J, Plevka P. *Structure and genome release of Twort-like Myoviridae phage with a double-layered baseplate*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2016;113(33):9351–6.
85. Veessler D, Cambillau C. A Common Evolutionary Origin for Tailed Bacteriophage Functional Modules and Bacterial Machineries. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2011;75(3):423–33.
86. Chaban Y, Lurz R, Brasilès S, Cornilleau C, Karreman M, Zinn-Justin S, *et al.* *Structural rearrangements in the phage head-to-tail interface during assembly and infection*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2015;112(22):7009–14.

87. Xu J, Hendrix RW, Duda RL. Chaperone-protein interactions that mediate assembly of the bacteriophage lambda tail to the correct length. *J Mol Biol*, 2014;426(5):1004–18.
88. Jończyk, E. *et al.* The influence of external factors on bacteriophages-review. *Folia Microbiologica*, 2011;56(3):191–200.
89. Jamal, M. *et al.* Characterization of siphoviridae phage Z and studying its efficacy against multidrug-resistant *klebsiella pneumoniae* planktonic cells and biofilm. *Journal of Medical Microbiology*, 2015;64(4):454–462.
90. Yazdi, M., Bouzari, M. and Ghaemi, E. A. Isolation and characterization of a lytic bacteriophage (vB-PmiS-TH) and its application in combination with ampicillin against planktonic and biofilm forms of *proteus mirabilis* isolated from urinary tract infection. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 2018;28(1):37–46.
91. Rodríguez-Rubio L, Gutiérrez D, Martínez B, Rodríguez A, Götz F, García P. The tape measure protein of the *Staphylococcus aureus* bacteriophage vB_SauS-phiIPLA35 has an active muramidase domain. *Appl Environ Microbiol*, 2012;78(17):6369–71.
92. Rodríguez-Rubio L, Martínez B, Donovan DM, Rodríguez A, García P. Bacteriophage virion-associated peptidoglycan hydrolases: Potential new enzybiotics. *Crit Rev Microbiol*, 2013;39(4):427–34.
93. Liu H, Geagea H, Rousseau GM, Labrie SJ, Tremblay DM, Liu X, *et al.* Characterization of the *Escherichia coli* virulent myophage ST32. *Viruses*, 2018;10(11).
94. Liu X, Zeng J, Huang K, Wang J. Structure of the mannose transporter of the bacterial phosphotransferase system. *Cell Res*, 2019;29(8):680–2.
95. Casjens SR, Hendrix RW. Bacteriophage lambda: Early pioneer and still relevant. *Virology*, 2015;479–480:310–30.
96. Howard-Varona C, Hargreaves KR, Abedon ST, Sullivan MB. Lysogeny in nature: Mechanisms, impact and ecology of temperate phages. *ISME J*, 2017;11(7):1511–20.

97. Denes T, Wiedmann M. Environmental responses and phage susceptibility in foodborne pathogens: Implications for improving applications in food safety. *Curr Opin Biotechnol*, 2014;26(i):45–9.
98. Wagner PL, Waldor MK. Minireview; Bacteriophage Control of Bacterial Virulence. *Infect Immun*, 2002;70(8):3985–93.
99. Moye ZD, Woolston J, Sulakvelidze A. Bacteriophage applications for food production and processing. *Viruses*, 2018;10(4):1–22.
100. Wegrzyn G, Licznarska K, Węgrzyn A. Phage λ -New Insights into Regulatory Circuits. *Adv Virus Res*, 2012;82:155–78.