

## Isolasi Bakteriofag dan Aplikasinya untuk Mengontrol Bakteri Patogen

### Isolation of Bacteriophages and Their Application to Control Pathogenic Bacteria

Zein Nurrikiawan<sup>1</sup>, Ajeng Astrini Brahmanti<sup>1</sup>, Agustin Krisna Wardani<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya, Jl. Veteran, Malang, 65145, Indonesia

\*penulis korespondensi: [agustinwardani@ub.ac.id](mailto:agustinwardani@ub.ac.id)

Diterima: 28 September 2023, Disetujui: 30 November 2023, Diterbitkan: 1 Desember 2023

**Abstrak.** *Foodborne disease* (FBD) merupakan suatu fenomena keracunan makanan yang disebabkan oleh bakteri patogen yang terkandung di dalam makanan. Penyakit yang disebabkan oleh FBD dapat berupa penyakit ringan seperti diare hingga penyakit berbahaya yang dapat berujung pada kematian. Salah satu upaya dalam menanggulangi adanya fenomena FBD adalah dengan menggunakan antibiotik sebagai agen kontrol bakteri patogen. Dampak negatif akibat penggunaan antibiotik adalah adanya kemampuan bakteri patogen untuk resisten terhadap antibiotik. Penggunaan bakteriofag yang spesifik terhadap bakteri patogen menjadi salah satu alternatif untuk penggunaan antibiotik. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan bakteriofag yang dapat menghambat bakteri patogen. Isolasi bakteriofag dilakukan dari beberapa sampel yakni air sampah, usus ayam segar, sayur asin hingga tanah. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolasi bakteriofag menghasilkan bakteriofag campuran (*phage cocktail*) bersifat virulen dari sampel usus ayam dengan isolat nomor U14 ( $\Phi$ U14).  $\Phi$ U14 mampu melisis bakteri inang pada penambahan menit ke-30, 60, 90, dan 120.  $\Phi$ U14 dengan konsentrasi  $1,05 \times 10^8$  PFU/mL efektif menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus cereus* tetapi tidak dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*. Identifikasi bakteri inang U14 menunjukkan bahwa bakteri tersebut bersifat Gram negatif dan katalase positif.

**Kata kunci:** bakteriofag, foodborne disease, keamanan pangan, patogen

**Abstract.** Foodborne disease (FBD) is a phenomenon of food poisoning caused by pathogenic bacteria. Diseases caused by FBD can be in the form of mild diseases such as diarrhea or dangerous diseases that can lead to death. An alternative effort to overcome the phenomenon of FBD is by using antibiotics as a pathogenic bacterial control agent. The negative impact of using antibiotics can evoke pathogenic bacteria's ability to resist antibiotics. The use of bacteriophages specific to pathogenic bacteria has become one of the alternatives to eliminate the use of antibiotics. This research aims to obtain bacteriophages that can inhibit pathogenic bacteria. Bacteriophage isolation was carried out from several samples: wastewater, fresh chicken intestines, salted vegetables, and soil. The results showed that the isolation of bacteriophages produced virulent mixed bacteriophages from chicken intestinal samples with isolate number U14 ( $\Phi$  U14).  $\Phi$  U14 can lyse all of the host bacteria in the addition of 30 minutes, 60, 90, and 120.  $\Phi$  U14 with a concentration of  $1.05 \times 10^8$  PFU / mL effectively inhibits the growth of pathogenic bacteria such as *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, and *Bacillus cereus* but cannot inhibit growth *Escherichia coli*. Identification of the host bacterium U14 showed that the bacterium was Gram-negative and catalase-positive.

**Keywords:** bacteriophage, foodborne disease, food safety, pathogen

## PENDAHULUAN

Kasus keracunan makanan (*foodborne disease*) marak terjadi di kalangan masyarakat. Menurut WHO pada bagian subregion Asia Tenggara yang di dalamnya termasuk Indonesia setidaknya terdapat 690-710 kasus keracunan makanan (*foodborne disease*) pada setiap 100.000 populasi (Havelaar et al., 2015). *Foodborne disease* terjadi akibat memakan atau meminum bahan pangan yang terkontaminasi oleh mikroorganisme patogen. Bakteri patogen merupakan penyebab utama terjadinya *foodborne disease*. Penyakit yang diakibatkan oleh keracunan makanan juga bervariasi, dari yang akut hingga kronik seperti diare, muntah, sakit perut, panas tinggi, sakit kuning hingga penyakit kronis seperti kanker hati, gangguan jantung, kurang gizi dan kematian (Bintsis, 2017).

Untuk menyembuhkan penyakit akibat keracunan makanan dan membunuh bakteri patogen penyebab penyakit tersebut (contohnya susu sapi), masyarakat biasa menggunakan antibiotik. Akan tetapi, antibiotik memberikan efek yang merugikan seperti resistensi bakteri patogen terhadap

antibiotik dan terbunuhnya seluruh koloni mikroorganisme di dalam usus, baik yang menguntungkan maupun yang merugikan (Landecker, 2016). Resistensi terhadap antibiotik merupakan isu kesehatan global yang meresahkan masyarakat pengguna antibiotik. Mikroorganisme patogen menjadi resisten terhadap antibiotik sehingga dibutuhkan dosis yang lebih tinggi untuk mengobati penyakit (Aslam et al., 2018).

Penggunaan bakteriofag dalam membunuh bakteri patogen penyebab *foodborne disease* merupakan salah satu alternatif pemecahan masalah dalam penggunaan antibiotik. Dilihat dari segi keamanan, *virulent phage* (bakteriofag yang eksklusif mengakibatkan lisis) memiliki banyak keuntungan sebagai biokontrol maupun agen terapi karena kemampuannya dalam menyerang spesifik bakteri dengan spesifisitas yang tinggi tanpa mengganggu mikrobiota lainnya (Moye et al., 2018; Kazi dan Annapure, 2016; Ly-Chatain, 2014).

Sifat bakteriofag yang sangat spesifik menyerang bakteri tertentu sangat menguntungkan karena menjadikan aman saat bakteriofag dikonsumsi manusia. Pada tahun 2006 terdapat bakteriofag pertama

yang disetujui oleh USFAD untuk diaplikasikan pada produk makanan untuk membunuh bakteri *Listeria monocytogenes* dan tergolong dalam GRAS (*Generally Recognized as Safe*) (Kahn et al., 2019; Moye et al., 2018).

Banyaknya keuntungan dari penggunaan bakteriofag dan tren konsumen yang lebih memilih menggunakan bahan-bahan alami menjadikan penelitian terkait isolasi bakteriofag banyak diminati. Beberapa penelitian tentang isolasi bakteriofag yang telah dilakukan antara lain: isolasi bakteriofag dari sampah diperoleh bakteriofag yang mampu menghambat pertumbuhan enam isolat *Salmonella spp* (Carey-Smith et al., 2006) dan isolasi bakteriofag dari sayur asin diperoleh bakteriofag yang mampu menghambat pertumbuhan enam strain bakteri *Leuconostoc fallax* (Barrangou et al., 2002).

Namun penelitian tentang isolasi campuran bakteriofag (*phage cocktail*) yang memiliki spektrum luas dari beberapa sampel seperti usus ayam segar, sampah, sayur asin, dan tanah guna menghambat pertumbuhan bakteri patogen belum banyak dilakukan. *Phage cocktail* yang

diperoleh diharapkan memiliki spektrum penghambatan yang luas dalam menghambat bakteri patogen *Salmonella thypimurium*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, dan *Listeria monocytogenes* untuk meningkatkan keamanan pangan.

## METODE PENELITIAN

### Sampel dan Bahan Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini meliputi air sampah, usus ayam segar, sayur asin, dan tanah. Sampel-sampel tersebut didapatkan dari Pasar Dinoyo, Kecamatan Lowokwaru, Kota Malang, Jawa Timur. Isolat bakteri patogen yang meliputi *Salmonella thypimurium*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, dan *Listeria monocytogenes* didapatkan dari Laboratorium Bioteknologi, Departemen Ilmu Pangan dan Bioteknologi, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya. Selain itu digunakan bahan lain seperti Nutrient Agar (Oxoid), Nutrient Broth (Oxoid), agar (Oxoid), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Fisher Scientific, 30%), kristal violet (Fisher Scientific, Certified Biological Stain), etanol (Fisher Scientific, 99.5%), aquades, dan alkohol (OneMed, 70%).

## Alat

Alat yang digunakan meliputi autoklaf (Model HL-36 AE, Hirayama Jepang), inkubator (Binder BD 53 Germany), vorteks (Turbo Mixer model LW Scientific, USA), timbangan analitik (Mettler Toledo AL 204, USA), mikropipet 1000  $\mu\text{L}$  dan 40-200  $\mu\text{L}$  (Finnipipett, Labsystem, Hungaria), sentrifuse dingin (Hettrich Zentrifugen Jerman), mikroskop (Olympus, Jepang), refrigerator (Sharp, Jepang).

## Persiapan Sampel

Preparasi sampel berupa usus ayam segar, air sampah, sayur asin dan tanah dilakukan dengan tahap yang berbeda. Larutan sampel sebanyak 30 mL disentrifugasi pada kecepatan 6000 rpm pada suhu 50° C selama 10 menit. Filtrat hasil sentrifugasi kemudian dipindahkan ke dalam tabung reaksi steril dan disaring dengan filter steril 0,2  $\mu\text{m}$ . Hasil penyaringan disimpan dalam refrigerator.

## Persiapan Sel Inang

Sebanyak 100  $\mu\text{L}$  cairan sampel dilakukan seri pengenceran hingga pengenceran tertentu kemudian dilakukan

penanaman pada media *Nutrient Agar* (NA) dengan metode *spread plate* dan diinkubasi 37° C selama 24 jam. Koloni tunggal sebanyak  $\pm 30$  yang terbentuk dipindahkan ke media NA dan diinkubasi 37 °C selama 24 jam kemudian disimpan dalam *refrigerator* untuk dijadikan stok.

## Isolasi Bakteriofag

Isolasi bakteriofag dilakukan dengan menggunakan metode *double-layer agar* (DLA) yang terdiri dari dua lapisan agar yakni *hard* dan *soft agar* (Shende et al., 2017; Chhibber et al., 2018). Media *hard agar* NA (1,5%) cair steril dituang pada tiap cawan Petri setiap sebanyak 15 mL dan dibiarkan hingga memadat. Tiga (3) mL *soft agar* NA (0,7%) cair ditambahkan 100  $\mu\text{L}$  host, 100  $\mu\text{L}$   $\text{CaCl}_2$  0,3 M, dan 100  $\mu\text{L}$  cairan sampel kemudian dituang diatas *hard agar* NA. *Double layer* yang terbentuk diinkubasi pada suhu 37 °C dan diamati tiap jam hingga muncul plak. Plak yang terbentuk diambil dan ditambahkan pada 5mL NB berisi 100  $\mu\text{L}$  sel inang yang telah diinkubasi selama 60 menit pada suhu 37 °C dan ditambahkan 40  $\mu\text{L}$   $\text{CaCl}_2$  0,3 M kemudian diinkubasi 37 °C selama 4-6 jam dengan diamati tingkat

kekeruhannya. Cairan plak yang bening kemudian disentrifuse 6000 rpm, pada 5 °C selama 10 menit. Kemudian filtrat diambil dan disaring menggunakan filter steril 0,2 µm. Filtrat steril mengandung bakteriofag ini disebut lisat (*phage lysate*).

### Pemurnian Sel Inang

Sel inang diinokulasikan pada media NB kemudian diinkubasi 37 °C selama 24 jam. Sel inang yang telah tumbuh ditanam pada media NA, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Beberapa koloni tunggal yang terbentuk kemudian dipindahkan pada media agar NA baru, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37 °C, selama 24 jam. Kemudian, tiap koloni diinokulasikan pada media cair NB dan diinkubasi pada suhu 37 °C, selama 24 jam. Sebanyak 100 µL kultur ditambahkan dalam 5 mL NB kemudian ditambah 40 µL CaCl<sub>2</sub> 0,3 M dan 100 µL lisat diamati tingkat kekeruhannya selama ±6 jam. Pada kultur yang tingkat kekeruhannya menurun setelah ±4-6 jam, selanjutnya diambil untuk dimurnikan lagi sampai 3x pemurnian. Setelah selesai dilakukan pemurnian, maka

isolat dikonfirmasi dengan uji katalase dan pengecatan gram.

### Perhitungan Konsentrasi Bakteriofag

Lisat dilakukan seri pengenceran menggunakan aquades steril hingga pengenceran tertentu kemudian tiap pengenceran ditanam pada NA dengan metode *double layer* (Shende et al., 2017; Chhibber et al., 2018). Pada 3 ml media *soft agar* NA ditambahkan 100 µL host, 100 µL CaCl<sub>2</sub> 0,3 M, dan 100 µL lisat. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37 °C selama ±4-6 jam dan diamati terbentuknya plak Plak yang terbentuk dihitung dengan satuan PFU/mL (*Plaque Forming Unit/mL*).

### Perbanyakan Bakteriofag

Sel inang sebanyak 200 µL ditambahkan pada 10 mL NB kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C, selama 90 menit. Sebanyak 40 µL CaCl<sub>2</sub> 0,3 M dan 200 µL lisat ditambahkan ke dalam *soft agar*, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C sampai larutan menjadi bening. Kemudian dilakukan sentrifugasi larutan pada kecepatan 6000 rpm, 5 °C, selama 10 menit. Kemudian filtrat yang terbentuk disaring dengan filter steril 0,2 µm.

### Uji Spektrum Penghambatan

Sebanyak 75 mL media NB ditambahkan 200  $\mu$ L bakteri patogen, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C, selama 1 jam. Kemudian 100  $\mu$ L  $\text{CaCl}_2$  0,3M dan 200  $\mu$ L lisat ditambahkan ke dalam media tersebut. Selanjutnya setiap 2 jam, dilakukan pengukuran pertumbuhan bakteri patogen yang telah diinfeksi oleh bakteriofag (lisat) dan tanpa diinfeksi oleh lisat (sebagai kontrol).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Isolasi Bakteriofag

Isolasi bakteriofag ditujukan untuk memperoleh campuran bakteriofag (*phage cocktail*) yang bersifat virulen yang diharapkan mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Isolasi bakteriofag dilakukan dengan preparasi sampel untuk mengambil cairan bening sampel yang diasumsikan sebagai bakteriofag. Selain itu, preparasi sampel juga bertujuan untuk mendapatkan koloni bakteri alami dari sampel dan diharapkan sebagai sel inang dari bakteriofag tersebut. Setelah diperoleh cairan sampel dan bakteri

inang, maka dilakukan metode *double layer* untuk mengisolasi bakteriofag (Shende et al., 2017; Pallavali et al., 2017; Chhibber et al., 2018). Hasil isolasi menunjukkan terbentuknya plak bakteriofag yang bersifat virulen, plak terlihat jelas dan tegas (Gambar 1). Dari hasil isolasi bakteriofag yang dilakukan terhadap beberapa sampel yaitu sampel usus ayam segar, tanah, air sampah dan sayur asin, menunjukkan bahwa plak yang terbentuk sangat banyak. Setelah dilakukan konfirmasi maka diperoleh satu isolat yang berpotensi (memiliki aktivitas litik), yaitu isolat nomor 14 dari sampel usus yang selanjutnya dinamakan sebagai U14.

Terbentuknya plak disebabkan karena adanya infeksi bakteriofag terhadap bakteri indikator. Dari satu bakteriofag yang menginfeksi bakteri maka akan dihasilkan 200-300 bakteriofag baru dengan efek bakteri terinfeksi menjadi lisis. Bakteriofag baru akan berdifusi ke dalam agar dan mengulang proses infeksi. Area hasil infeksi bakteriofag ini disebut plak (zona bening pada lapisan bakteri indikator). Plak memiliki berbagai morfologi, ukuran dan bentuk pinggiran (Hyman, 2019; Woźnica et al., 2015).

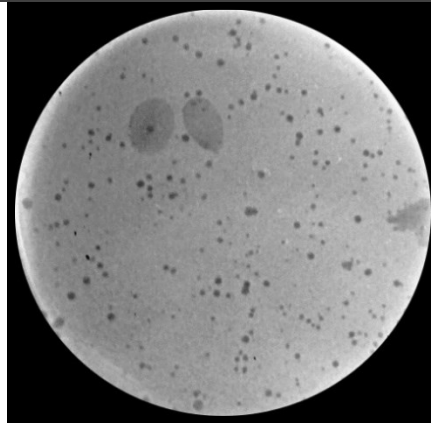
### **Pemurnian Sel Inang**

Tahap pemurnian sel inang dilakukan dengan tujuan memperoleh bakteri yang sensitif terhadap bakteriofag hasil isolasi. Pada tahap pemurnian pertama masih menunjukkan adanya sel inang yang tidak sensitif terhadap  $\Phi$  U14, sehingga dilakukan tahapan pemurnian kedua. Setelah bakteri inang dimurnikan sebanyak 3x proses pemurnian maka diperoleh bakteri inang yang spesifik dan sensitif terhadap  $\Phi$  U14. Hasil identifikasi sederhana isolat U14 dari hasil pemurnian menunjukkan bahwa isolat tersebut termasuk dalam golongan bakteri Gram-negatif karena hasil dari pengecatan Gram menunjukkan warna merah muda. Hasil pengamatan di bawah mikroskop menunjukkan bentuk sel yang berbentuk batang. Bersifat katalase positif karena

adanya gelembung udara pada saat koloni ditetesi  $H_2O_2$ .

### **Perhitungan Konsentrasi Bakteriofag**

Perhitungan konsentrasi bakteriofag diawali dengan pembuatan stock lisat yang bertujuan untuk memperoleh persediaan fag yang cukup untuk digunakan selama proses pengujian dan untuk menghindari adanya perubahan konsentrasi bakteriofag. Setelah stok lisat diperoleh, maka dilakukan penghitungan total bakteriofag untuk mengetahui konsentrasi bakteriofag. Penghitungan lisat  $\Phi$  U14 dilakukan pada pengenceran  $10^{-5}$ - $10^{-8}$ . Penghitungan total  $\Phi$  U14 memberikan hasil bahwa konsentrasi bakteriofag sebanyak  $1,05 \times 10^9$  PFU/mL. Konsentrasi bakteriofag ini diperoleh dari perhitungan jumlah plak yang terdapat pada pengenceran  $10^{-6}$  sebanyak 105 plaque yang terbentuk (Gambar 1).



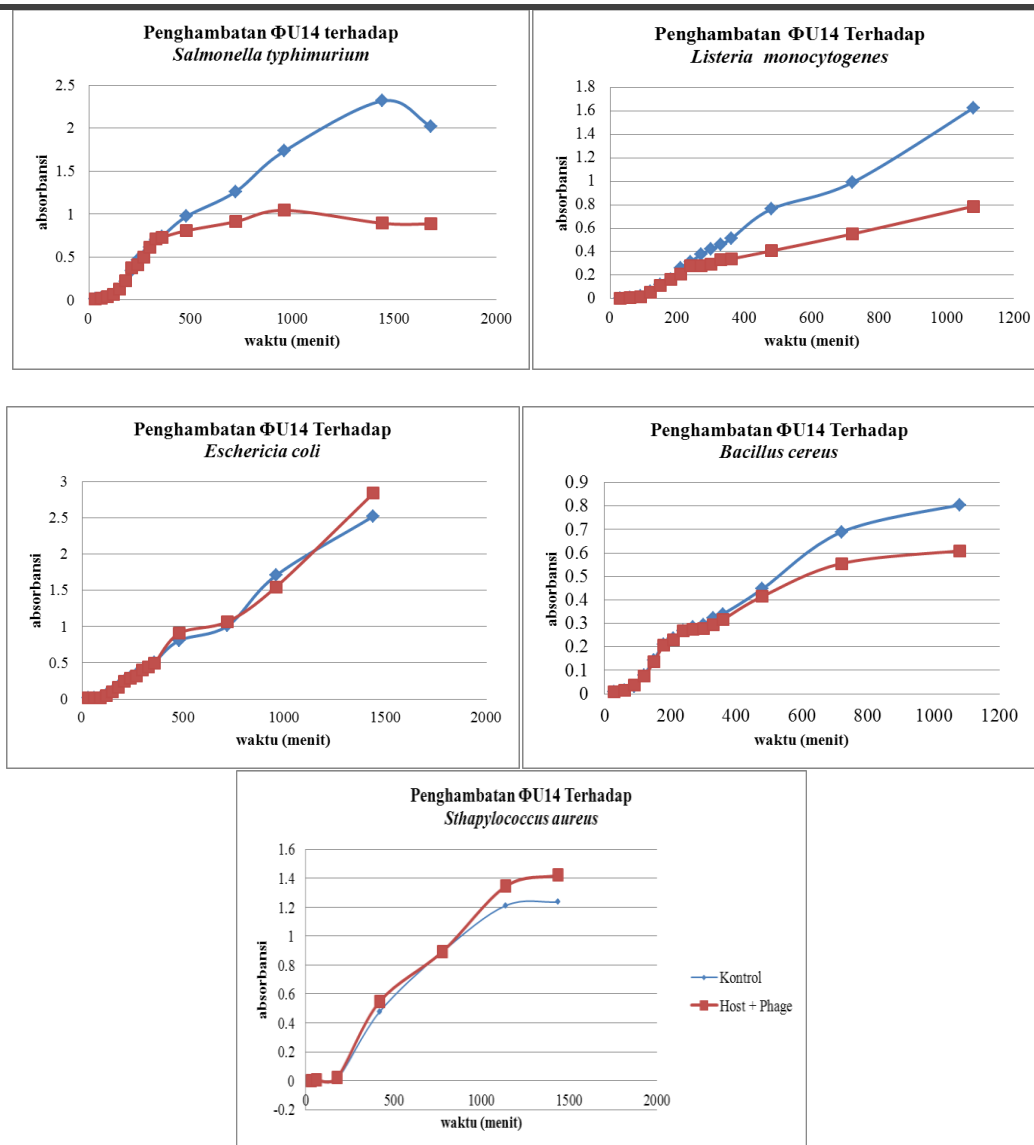
**Gambar 1.** Hasil isolasi bakteriofag dari sampel

### **Spektrum Penghambatan Bakteriofag**

Isolat U14 yang telah dimurnikan maka selanjutnya dilakukan uji terhadap aktifitas  $\Phi$ U14. Uji ini dilakukan dengan cara pengukuran absorbansi media broth yang telah diinokulasikan isolat U14 pada panjang gelombang 600 nm tiap 30 menit selama  $\pm 8$  jam. Selanjutnya ditambahkan  $\text{CaCl}_2$  dan lisat sebanyak 40  $\mu\text{L}$  dan 100  $\mu\text{L}$ . Untuk mengetahui pengaruh perbedaan waktu penambahan  $\text{CaCl}_2$  dan lisat maka dilakukan empat perbedaan waktu penambahan, yaitu pada menit ke 30, 60, 90, dan 120. Hasil dari

pengujian tersebut diketahui bahwa  $\Phi$ U14 mampu melisiskan isolat bakteri U14 pada penambahan menit ke-30 hingga menit ke-120. Uji spektrum penghambatan bakteriofag dilakukan terhadap 5 jenis bakteri patogen, yaitu *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Eschericia coli*, *Salmonella typhimurium*, dan *Bacillus cereus* (Gambar 2). Ke-lima bakteri patogen tersebut dipilih karena merupakan bakteri yang umum menyebabkan kasus *foodborne disease*.





**Gambar 2.** Penghambatan ΦU14 terhadap *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, dan *Staphylococcus aureus*.

Gambar 2. menunjukkan bahwa ΦU14 efektif menghambat pertumbuhan *Salmonella typhimurium* dan *Listeria monocytogenes* serta cukup efektif menghambat pertumbuhan *Bacillus cereus* dan *Staphylococcus aureus*. Sedangkan

ΦU14 tidak mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*. Hal ini menunjukkan bahwa di dalam ΦU14 terdapat campuran bakteriofag (*phage cocktail*) yang bersifat virulen sehingga mampu menghambat pertumbuhan 4 jenis

bakteri patogen (Carter et al., 2012; Moye et al., 2018; Sillankorva et al., 2012). Pada umumnya bakteriofag memiliki spesifisitas bakteri inang yang tinggi, satu bakteriofag hanya mampu menginfeksi 1-2 bakteri inang (Costa et al., 2019). Penghambatan oleh  $\Phi$ U14 ditunjukkan dengan menurunnya nilai absorbansi pada media yang ditumbuhkan isolat U14. Penurunan tersebut disebabkan oleh lisisnya sebagian strain bakteri patogen dalam media memiliki reseptor yang sesuai dengan reseptor  $\Phi$ U14. Kesesuaian ini mengakibatkan  $\Phi$ U14 mampu memasukkan materi genetiknya ke dalam bakteri patogen tersebut dan menggunakannya sebagai media perkembangbiakan. Setiap bakteriofag hanya dapat memasuki membran sel bakteri apabila reseptor alami sel bakteri tersebut sesuai dengan reseptor bakteriofag (Ly-Chatain, 2014; Stone et al., 2019).

## KESIMPULAN

Isolat bakteriofag yang diperoleh pada penelitian ini didapatkan dari sampel usus ayam segar, yakni isolat  $\Phi$ U14. Bakteriofag yang diperoleh bersifat virulen dalam bentuk campuran bakteriofag atau disebut

dengan *phage cocktail*. Bakteriofag  $\Phi$ U14 efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen yang meliputi *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* dan *Staphylococcus aureus*, akan tetapi sangat tidak efektif atau rendah aktivitasnya dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Dengan demikian,  $\Phi$ U14 sangat potensial untuk diaplikasikan sebagai biopreservatif pangan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aslam B, Wang W, Arshad MI, Khurshid M, Muzammil S, Rasool MH, Nisar MA, Alvi RF, Aslam MA, Qamar MU, Salamat MKF, Baloch Z. 2018. Antibiotic resistance: A rundown of a global crisis. *Infection and Drug Resistance* 11: 1645–1658. <https://doi.org/10.2147/IDR.S173867>
- Barrangou R, Yoon S-S, Breidt Jr, Frederick, Fleming, HP, Klaenhammer TR. 2002. Characterization of Six *Leuconostoc fallax* Bacteriophages Isolated from an Industrial Sauerkraut Fermentation. *Applied and Environmental Microbiology* 68(11): 5452. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.11.5452-5458.2002>
- Bintsis T. 2017. Foodborne pathogens. *AIMS Microbiology* 3(3): 529–563. doi:10.3934/microbiol.2017.3.529

- Carey-Smith GV, Billington C, Cornelius AJ, Hudson JA, Heinemann JA. 2006. Isolation and characterization of bacteriophages infecting *Salmonella* spp. *FEMS Microbiology Letters* 258: 182-186. doi:10.1111/j.1574-6968.2006.00217.x
- Carter CD, Parks A, Abuladze T, Li M, Woolston J, Magnone J, Senecal A, Kropinski AM, Sulakvelidze A. 2012. Bacteriophage cocktail significantly reduces *Escherichia coli* O157. *Bacteriophage* 2(3): 178-185. <https://doi.org/10.4161/bact.22825>
- Chhibber S, Kaur P, Gondil VS. 2018. Simple drop cast method for enumeration of bacteriophages. *Journal of Virological Methods* 262: 1-5. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2018.09.001>
- Costa P, Pereira C, Gomes ATPC, Almeida A. 2019. Efficiency of Single Phage Suspensions and Phage Cocktail in the Inactivation of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*: An In Vitro Preliminary Study. *Microorganisms* 7(4). <https://doi.org/10.3390/microorganisms7040094>
- Havelaar AH, Kirk MD, Torgerson PR, Gibb HJ, Hald T, Lake RJ, Praet N, Bellinger DC, de Silva NR, Gargouri N, Speybroeck N, Cawthorne A, Mathers C, Stein C, Angulo FJ, Devleeschauwer B. 2015. World Health Organization Global Estimates and Regional Comparisons of the Burden of Foodborne Disease in 2010. *PLoS Medicine* 12(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001923>
- Hyman P. 2019. Phages for Phage Therapy: Isolation, Characterization, and Host Range Breadth. *Pharmaceuticals* 12(1). <https://doi.org/10.3390/ph12010035>
- Kahn LH, Bergeron G, Bourassa MW, de Vegt B, Gill J, Gomes F, Malouin F, Opengart K, Ritter GD, Singer RS, Storrs C, Topp E. 2019. From farm management to bacteriophage therapy: Strategies to reduce antibiotic use in animal agriculture. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1441(1): 31-39. <https://doi.org/10.1111/nyas.14034>
- Kazi M, Annapure US. 2016. Bacteriophage biocontrol of foodborne pathogens. *Journal of Food Science and Technology* 53(3): 1355-1362. doi:10.1007/s13197-015-1996-8
- Landecker H. 2016. Antibiotic Resistance and the Biology of History. *Body & society* 22(4): 19-52. doi:10.1177/1357034X14561341
- Ly-Chatain MH. 2014. The factors affecting effectiveness of treatment in phages therapy. *Frontiers in Microbiology* 5. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00051>
- Moye ZD, Woolston J, Sulakvelidze A. 2018. Bacteriophage Applications for Food Production and Processing. *Viruses* 10(4). <https://doi.org/10.3390/v10040205>
- 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).

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179245>

Shende RK, Hirpurkar SD, Sannat C, Rawat N, Pandey V. 2017. Isolation and characterization of bacteriophages with lytic activity against common bacterial pathogens. *Veterinary World* 10(8): 973–978.

<https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.973-978>

Sillankorva SM, Oliveira H, Azeredo J. 2012. Bacteriophages and Their Role in Food Safety. *International Journal of Microbiology* 2012.

<https://doi.org/10.1155/2012/863945>

Stone E, Campbell K, Grant I, McAuliffe O. 2019. Understanding and Exploiting Phage–Host Interactions. *Viruses* 11(6).

<https://doi.org/10.3390/v11060567>

Woźnica WM, Bigos J, Łobocka MB. 2015. Lysis of bacterial cells in the process of bacteriophage release – canonical and newly discovered mechanisms. *Advances in Hygiene and Experimental Medicine* 69: 114–126.