식품과 가공환경에서의 병원균 억제를 위한 박테리오파지의 활용: 저항성 메커니즘과 대응 전략

Application of bacteriophages for inhibiting pathogens on food surfaces and in processing environments: resistance mechanisms and countermeasures

정수진[1,2], 하상도[1,2,*]

Soo-Jin Jung[1,2], and Sang-Do Ha[1,2,*]

중앙대학교 식품생명공학과[1], 중앙대학교 BK21 GreenTech 기반 식품안전 통합플랫폼 교육연구팀[2]

[1]Department of Food Science and Biotechnology, Chung-Ang University, Anseong-si, Gyeonggi-Do 17546, Republic of Korea

[2]GreenTech-based Food Safety Research Group, BK21 Four, Chung-Ang University, 4726 Seodong-daero, Anseong, Gyeonggi-do 17546, Republic of Korea

하 상 도

Correspondence to

Sang-Do Ha, School of Food Science and Technology, Chung-Ang University, 72-1 Nae-ri, Daeduk-myun, Ansung, Gyunggido 456-756, Republic of Korea

E-mail address: sangdoha@cau.ac.kr (S. D. Ha)

서론

식품의 생산 및 유통 과정에서 병원성 미생물의 오염을 차단하기 위해 고온가열, 초음파, 냉장 · 냉동, 건조, 살균제 처리 등 다양한 물리적 및 화학적 제어 기술이 적용되어 왔다 [1, 2]. 이러한 전통적 처리 기술은 식품의 품질저하와 화학 반응으로 발생하는 부산물 및 잔류물에 의한 인체 유해 영향을 주는 한계점이 있다 [3-5]. 또한, 세균이 생물 · 무생물 표면에 다당류 매트릭스를 형성하며 집락화하는 바이오필름(생물막) 형태는 식품 표면이나 가공 설비 환경 (높은 습도, 풍부한 영양분 등)에서 형성되기 쉬우며, 이 상태의 세균은 외부 스트레스에 대한 내성 수준이 급격히 증가한다. 바이오필름 내 세균은 부유 상태보다 수십~수백 배 높은 생존력을 가지며, 세척 · 소독 공정에도 완전히 제거되지 않아 식품 재오염 및 공정 내 병원균 잔존의 주요 원인으로 지적되고 있다 [6].

이러한 문제를 해결하기 위한 친환경 생물학적 제어 전략이 각광받고 있는데, 특히 박테리오파지(bacteriophage, 이하 파지)가 주목받고 있다. 파지는 세균을 표적으로 삼아 감염과 용균(lysis)을 유도하는 바이러스로, 자연 환경에 널리 존재하며 인간과 동물에는 무해한 것으로 알려져 있다. 특히, 파지는 높은 숙주 특이성, 자가복제를 통한 자기증폭성, 그리고 특정 유익균에 대한 비영향성이라는 특징으로 식품 산업에서 매력적인 생물학적 제어 수단으로 주목된다 [7]. 사실상 파지는 식품 표면이나 가공환경 내에 존재하는 병원균 생육 억제 및 제거, 바이오필름 제어, 식품 포장재에의 적용, 세척수 관리 및 설비 위생 개선 등 다양한 응용 가능성을 보여왔다. 미국 FDA, USDA 및 유럽 EFSA 등 주요 규제기관은 일부 파지 제품에 대해

GRAS(Generally Recognized As Safe) 지위를 부여하였으며, 육류, 가금류, 해산물, 채소 등 다양한 식품군에 대한 병원균 제어 목적으로 상용화할 수 있도록 허가하였다 [8, 9].

그럼에도 불구하고 현장 적용에는 아직 한계가 존재한다. 박테리오파지의 효과는 세균의 빠른 적응과 방어 전략에 의해 제약이 될 수 있는데, 특히 파지 반복 노출 환경에서 세균은 파지 감염에 저항하는 "박테리오파지 비민감성 변이체(Bacteriophage-Insensitive Mutants, BIMs)"로 빠르게 분화할 수 있다 [10, 11]. 이는 파지의 감염 능력을 현저히 감소시키는 요인으로 작용한다. BIMs는 주로 파지가 세균을 인식하는 수용체의 변형 또는 소실을 통해 파지의 흡착을 차단하는 방식으로 발생하며, 이러한 변이는 운동성 감소, 바이오필름 형성력 변화, 탄소원 이용성 변화 등 세균의 생리적 특성 변화를 유발할 수 있다 [12].

더 나아가 BIMs의 출현은 단순한 수용체 회피에 그치지 않고, 세균이 보유한 다양한 파지방어시스템(phage-defense systems) 과의 상호작용 속에서 더욱 복합적인 방어 전략으로 작동하기 때문에 파지 기반 제어법의 지속가능성과 실효성에 중요한 영향을 미친다 [13, 14]. 세균의 파지 방어시스템은 제한-수정 시스템(restriction-modification system), CRISPR-Cas 적응면역 시스템, abortive infection(Abi) 및 독소-항독소(toxin-antitoxin) 시스템 등 다양한 내재적 유전기전으로 구성되어 있다 [15]. 이들 방어 시스템은 수용체 변이와 병렬로 작용하거나 상호 보완적 작용을 통해 파지 압력에 대응하며, 파지와 세균 사이의 경쟁에서 핵심적인 역할을 수행한다. 따라서 BIMs의 형성 및 파지방어시스템의 활성화는 파지 기반 제어 전략의 한계를 결정 짓는 주요 요인이 된다.

본 논문은 식품산업에서 병원균 제어를 위한 파지 활용 현황과 한계를 고찰하고, BIMs 형성 및 파지방어시스템이 제어 전략에 미치는 영향을 분석한다. 더 나아가 최근 제안되고 있는 파지의 방어-카운터 메커니즘 및 BIMs 억제/극복 전략을 다루어, 파지 기술의 현재 한계를 보완하고 식품안전 관리의 효과적 통합 방향을 제시하고자 한다.

본문

1. 박테리오파지 감염 특이성과 수용체 분류

파지는 일반적으로 머리인 캡시드와 꼬리로 구성된 바이러스이며, 이 기본 구조는 숙주 세포의 표면을 정확히 인식하고 유전물질을 주입하는 시작점을 제공한다. 파지의 생활사를 보면, 파지는 일반적으로 용해성 주기와 용해성 주기 두 가지 주요 경로로 분류할 수 있다 [16]. 식품산업에서 사용되는 파지의 경우 주로 용균성 주기에 따라 숙주를 감염하고 용균한다 (그림1). 이 흡착-주입-복제-조립-용균의 연쇄는 매트릭스의 물리적 제약과 숙주 상태에 따라 흐름에 미세한 차이가 나타난다. 초기 감염 시 세균은 내재 면역을 통해 외래 DNA를 인식하고 이를 절단하려 하며, 이에 성공할 경우 감염이 중단되거나 세포 자살(abortive infection)로 이어진다. 반대로 파지 복제가 우세할 경우, 다수의 후속 파지들이 생성되며 숙주 세포는 최종적으로 용해된다. 그림1의 오른쪽 부분은 파지 용균에 관여하는 주요 효소들이 세균 세포벽 구조의 어느 위치에서 작동하는지를 보여준다.

파지의 부착은 생활사에서 결정적 순간이며, 세균 수용체는 종과 균주에 따라 다양하게 구성되어 있으며, 파지는 각각의 수용체 구조에 적합한 수용체결합단백질(Receptor-Binding Proteins, RBPs)을 통해 이를 인식한다 [17]. 일반적으로 세균 수용체는 세포벽 다당류, 외막 단백질, 편모, 섬모 등으로 구성되며, 이들은 크게 다음 네 가지 범주로 분류될 수 있다.

테이코산 (Teichoic acids): 테이코산은 그람-양성 세균의 세포벽에 존재하는 주요 표면 고분자로, 특히 *Staphylococcus*나 *Bacillus* 종에서 파지의 1차 인식 수용체로 기능한다. 이 중 세포벽-테이코산 (wall teichoic acid, WTA)은 여러 phage에서 주요 표적 수용체로 작용하며, 글리코실화 패턴의 차이가 감염 특이성에 큰 영

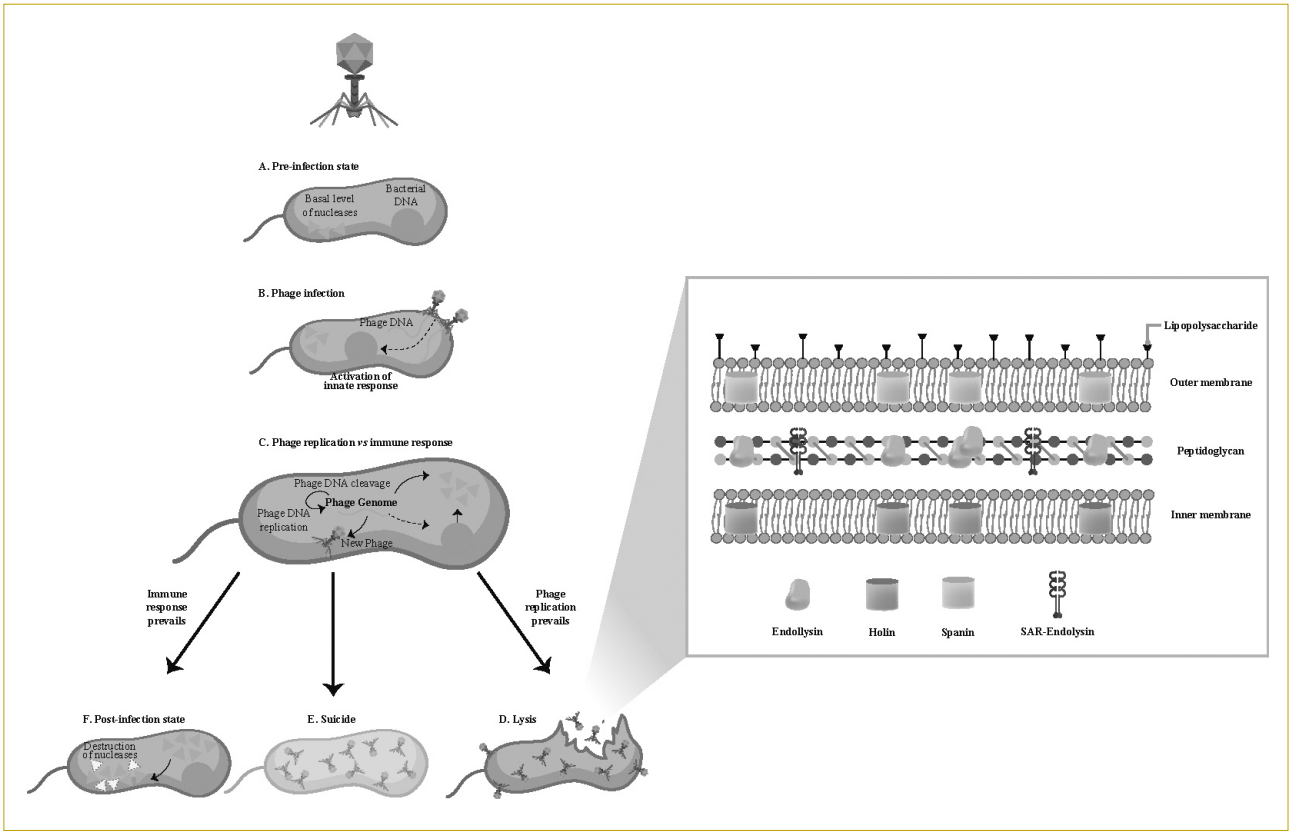

Figure 1. Mechanisms of bacteriophage action against bacterial cells. Mechanisms of bacteriophage action against bacterial cells. Phage–host interactions at the cellular level: phage infection, innate immune activation, replication versus immune clearance, and potential outcomes (lysis, suicide, survival). The right inset details the phage–encoded lytic enzymes acting on different bacterial envelope layers.

향을 준다 [18]. 예를 들어, *S. aureus*에서는 리비톨 포스페이트 골격을 포함한 특정 글리코실화 모티프가 Φ13 계열 파지의 수용체결합단백질 인식에 필수적이며 [19], *S. epidermidis*에서는 글루코스 치환된 세포벽-테이코산이 특정 시포바이러스과의 흡착에 이용된다 [20]. *B. subtilis*에서 SPP1 파지는 초기에는 테이코산에 가역적으로 부착된 뒤, 기능적 내막 수용체인 YueB와 결합함으로써 감염 효율을 최적화 한다 [21].

세포막 단백질 (Outer membrane proteis, OMPs): 특정 파지는 세포막 단백질을 직접적인 수용체로 사용하며, 이는 특히 그람-음성 세균에서 흔히 관찰된다. *E. coli*의 TuIa, TuIb, TuII 계열 파지는 각각 OMP Ia, Ib, II 단백질을 인식하여 감염을 시작하며 [22], T2 파지는 OMP와 LPS를 모두 인식하여 결합 안정성을 확보한다 [23]. T4-like 파지는 OmpC, OmpF 등 포린계열 단백질을 주요 표적으로 삼는다.

지질다당류 (Lipopolysaccharides, LPS): LPS는 Gram-negative 세균의 외막에 존재하는 구조로, lipid A, core oligosaccharide, O-antigen의 세 부분으로 구성된다. 이 중 O-antigen은 구조적 다양성이 높아 파지 감염 특이성에 결정적인 역할을 한다. *Salmonella*나 *E. coli*에서는 LPS의 core 및 O-antigen을 인식하는 파지들이 다양하게 보고되어 있으며, LPS 생합성 유전자의 돌연변이는 파지 저항성과 밀접한 관련이 있다 [24]. 예를 들어, *E. coli*에서 *galU, hldD* 유전자의 변이는 LPS 구조 변형을 유도하고, 이는 LPS 부착 파지에 대한 저항성을 야기한다. 또한 *Yersinia* 속에서도 다양한 파지(fPS-2, fPS-65, fPS-90 등)가 특정 LPS 구조를 인식하는 것으

로 보고되었다 [25].

편모 및 선모 (Flagella 및 Pili): 파지 중 일부는 세균의 운동성 및 부착을 담당하는 기관인 편모와 선모를 1차 수용체로 활용한다. 편모와 선모는 단백질성 구조지만, 그 형태와 감염 경로가 뚜렷하여 독립적인 수용체 분류로 간주된다. 예를 들어, 파지 Chi는 *Salmonella*의 편모를 수용체로 인식하여 부착한 뒤, 회전 운동을 통해 세포 표면으로 이동하고 감염을 유도한다 [26]. 이 경우, 감염은 일반적으로 2단계 메커니즘으로 이루어지며, 초기 결합 이후 다른 표면 수용체로의 전이가 동반된다. *Pseudomonas aeruginosa*의 경우, type IV 선모는 여러 파지가 감염 시 이용하는 주요 수용체로 작용한다 [27].

흥미롭게도 파지와 수용체 간의 상호작용은 지속적인 진화적 군비 경쟁(arms race)의 결과물로 해석된다. 세균은 수용체의 구조나 발현을 변형시켜 파지의 흡착을 차단함으로써 저항성을 획득하며, 이러한 돌연변이는 BIMs 형성의 주요 메커니즘으로 작용한다. 이 주제는 후속 장에서 더 자세히 논의하겠다.

2. 식품산업에서 항균제로서 박테리오파지의 활용

파지는 식품안전 분야에서 병원균 제어를 위한 실용적 도구로 많이 활용되고 있다. 특히 식육, 유제품, 신선편의식품 등 다양한 식품 매트릭스에서 파지를 활용한 오염 세균 제어 및 바이오필름 억제 효과가 지속적으로 보고되고 있다. 이러한 적용은 실험실 수준을 넘어 실제 식품 제조 공정에서의 병원균 관리 전략으로 확장되고 있으며, 특정 병원균을 선택적으로 제거하면서, 식품 품질을 확보할 수 있다는 점에서 주목받고 있다.

Table 1은 최근 발표된 연구들 중에서 *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *E. coli* O157:H7, *Campylobacter jejuni* 등 주요 식중독균에 대해 파지 적용 실험을 수행한 사례를 요약한 것이다. 해당 연구들은 대부분 파지를 식품 표면에 직접 도포하거나 식품 내에 혼합시키는 방식으로 적용하였으며, 전체적으로 0.3–4.1 log CFU 수준의 병원균 감소 효과를 보고하였다. 특히 신선육이나 가금류, 소시지, 양상추 등 고체 식품에서 보다 우유, 사과주스 등과 같은 액체 식품에서 파지의 제어 효과가 두드러졌으며, 일부 연구에서는 저장 중 재오염 방지 및 바이오필름 형성 저해까지 확인되었다.

한편, 미국의 식품위생 관련 규제기관(FDA, EFSA 등)은 특정 파지 제제를 GRAS지위로 승인하여 다양한 상용 파지 제품이 실제 식품 제조 환경에 적용되고 있다. Table 2는 상업적으로 사용 가능한 파지 제품(*ListShield™*, *Salmonelex™*, *PhageGuard Listex™*, *PhageGuard S™* 등)을 활용한 식품 내 병원균 제어 연구를 정리한 것이다. 이들 제품은 주로 육류, 생채소, 해산물 등에 적용되며, 기존의 세척제나 물리적 처리법과 병용하거나 단독으로 사용되었을 때도 높은 제어 효과를 나타냈다.

현재까지의 연구 결과는 파지가 식품 내 병원균의 효율적인 제어 수단이 될 수 있음을 입증하며, 특히 다제내성균 및 바이오필름 관련 문제를 해결하기 위한 미래형 대안 기술로서의 가능성을 보여준다. 그러나 감염 조건의 복잡성, 세균의 재성장, 파지 저항성 문제 등은 여전히 고려되어야 할 과제로 남아 있다.

Table 1. Recent studies involving phage treatment against major foodborne pathogens

Target bacteria	Bacteriophage & source	Application method	Applied object	Result	Refer-ence
Salmonella	5 Bacterio-phages cocktails (*Siphoviridae* and *Microviridae*)	100 mL phage cocktails (〉 9.0 log PFU/mL)	Chicken breast	1.4 log CFU/sample for 48 h at 10 ° C	[28]
	vB_Sal_M467	Spot inoculation for lettuce Mixing with liquid samples	Lettuce Milk Apple juice	reduced 0.3 log CFU/mL at 4℃ for 24h/ 1.9 log CFU/mL at 10℃ for 48h	[29]
				reduced 0.7 log CFU/mL at 4℃ for 48h/ 2.1 log CFU/mL at 10℃ for 48h	
				reduced 0.6 log CFU/mL at 4℃ for 24h/0.7 log CFU/mL at 10℃ for 24h	
	Phage cocktail (WPX5, WPX8, and WPX9)	Co-culture (biofilm formation, MOI 10^5) Inoculation on food contact surface (MOI 10^3)	PVC Ceramic Stainless steel	reduced 100% biofilm formation	[30]
				reduced *Salmonella* on stainless steel by 67% at MOI 10^3	
				reduced *Salmonella* on PVC and ceramic by 64% and 58%, respectively.	
	ZCSE6 (raw milk)	final concen-tration in 5 mL of raw milk	Milk	treated bacterial cells decreased by 1,000-fold compared to those without treatment	[31]
	LPSTLA, LPSTLD, LPSTLH, LPSTLJ, LPSTLV and LPSTLL (lake water sample)	MOI of 1,000 and 10,000	Milk Apple juice Raw chicken Lettuce	In milk, at MOI 10,000 produced reductions of 0.9 and 2.8 log CFU/mL at 4 ℃ and 25 ℃, respectively.	[32]
				In apple juice, at MOI 10,000, 0.4 and 0.5 log CFU/mL reduced at 4 ° C and 25 ℃, respectively.	
				In chicken at 25 ℃ MOI of 10,000, 1.0 log CFU/sample reduction	
				On lettuce at 25 ℃ MOI of 10,000, 0.7 log CFU/sample reduction	
	LPSEYT (water sample)	MOI of 1,000 and 10,000	Pasteurized milk Lettuce	reduced by 2.1 log CFU/mL at 4 ℃ and 3.7 log CFU/mL at 25 ℃ at a MOI of 1,000	[33]
				2.2 log CFU/mL at 4 ℃ and 4.2 log CFU/mL at 25 ℃ at a MOI of 10,000	

Listeria monocyto-genes	Phage cocktail: LMPC01, LMPC02, and LMPC03	MOI of 10	Celery Enoki mushroom	Reduced 2.2 and 1.8 log CFU/g of *L. monocytogenes*	[34]
	P61 (grass silage source)	6.0 log PFU/mL on milk (MOI of 10,000) 8.0 log PFU/ g on spinach (MOI of 10,000)	Milk Baby spinach	log 2.4 (99.6% reduction) in treated vs. untreated samples at day 7 in milk	[35]
				2.1 log (99.1%) at 12 ℃ on day 5 with baby spinach	
	LMF-M117, LMF-M119, and LMF-M135 (poultry slaughter-house wastewater)	MOI of 6.5, 4.2, and 2.2	Chicken leg	reduction was recorded as 3.3 log CFU/mL at a MOI 2.2 at the end of 3 h	[36]
Escherichia coli	JN01 (sanitary sewage lake)	added with 10 drops of phage JN01 on beef added with 100 μL of phage suspension in milk	Beef Milk,	On beef, 2.5, 2.3, 1.7, 1.5, and 1.8 log CFU/cm^2 after stored at 4 ° C for 0, 1, 3, 5, and 7 days.	[37]
				In milk, 4.1, 3.5, 3.7, and 3.7 log CFU/mL after stored at 4 ℃ for 0, 1, 2, and 3 days	
Camplyo-bacter jejuni	CJ01 (retail chicken meat)	MOI 100	Mutton meat Chicken meat	1.7 log cycle reduction after 48 h	[38]
				1.7 log cycle reduction after 48 h	
Clostridium perfringens	CPQ1 CPQ2 CPQ3 CPQ4 CPQ5 CPQ6 (Chicken meat sample)	MOI 10	Milk Chicken meat	4.0 log reduction after 24 h at 37 ° C	[39]
				2.5 log CFU/piece reduction after 2 h at 37 ℃	

Table 2. Recent studies involving treatment with commercial phage products against foodborne pathogens

Target bacteria	Phage products	Application	Results	Ref.
Salmonella	SalmoFresh™	SalmoFresh™ was applied to the surface by spraying	reduced *Salmonella* cocktails on lettuce and sprouts by 2.0 to 3.0 log CFU/g	[40]
		peracetic acid and chlorine with SalmoFresh™	*Salmonella* Heidelberg 1.6, 1.4, and 3.3 log reduction on apples, cantaloupes, and lettuce, respectively	[41]
		Mixing with milk by MOI 6	Reduced *Salmonella spp.* in pasteurized milk by 3.22 log CFU/mL after 7 days at 7°C	[42]
	PhageGuard S™	–	〉 1.0 log reduction on skinless and skin-on poultry products	[43]
		5×10^6, 1×10^7, 2×10^7 or 5×10^7 PFU/cm^2 or PFU/g	*Salmonella* contamination on lean pork, bacon or pork trims by 1.3 to 1.7 log reduction	[44]
		spray or dip method	meat and poultry parts by 1.2 to 2.3 log, respectively	[45]
Listeria monocytogenes	Phage Guard Listex™	0.2 and 0.5% Phage Guard Listex™	〉 3.4 log reduction on after 6 days at 4°C on fresh cheese	[46]
	ListShield™ Listex™ P100 PhageGuard Listex™	spot inoculation	2.3 log was recorded in phage-treated beef samples during the storage period of 15 days	[47]
		10^8 PFU/mL sprayed onto chicken breast muscle surface	0.6, 0.8, 0.5, and 0.1 log CFU/g after 0, 24, 48, and 72 h	[48]
		incorporated into the sodium alginate-based film and applied directly to the surface	inactivation during 7 days of storage	[49]
		On the processing line, on the conveyor belt by the spray system	reduced in fresh-cut endive by 2.5 log	[50]
E. coli	EcoShield PX™	beef chuck roast, ground beef, chicken breast, cooked chicken, salmon, cheese, cantaloupe, and romaine lettuce	significant reductions ($p<0.05$) in E. coli O157:H7 levels of up to 97% in all foods	[51]
	PhageGuard E™ (PGE)	Applied on beef under vacuum and aerobic conditions	Under aerobic conditions reduced STEC in beef by approximately 1.4 log, under vacuum for 30 min, bacteriophage significantly reduced STEC by 1 log	[52]

3. 박테리오파지의 한계: 박테리오파지 처리에 대한 미생물 저항성

식품산업 적용에서 박테리오파지의 핵심 한계는 표적 세균의 저항성 획득이다. 저항성메커니즘은 크게 두 축으로 나타난다. (1) 감수성 개체군에서 파지 비민감성 변이체(BIMs, bacteriophage-insensitive mutants)의 신속한 출현과 확산, (2) 세균이 보유한 선천적 · 적응적 파지 방어시스템의 작동이다. 두 메커니즘은 독립적이면서도 상호 보완적으로 작동해 파지 처리의 지속 효과를 약화시킨다.

3.1.BIMs 형성과 흡착 저항 메커니즘

BIMs는 박테리오파지 감염 주기의 특정 단계에서 복제를 저해하는 돌연변이를 획득한 세균 개체를 의미하며, 주로 파지 흡착 저해에 기반한 저항성이 관찰된다. 이러한 변이는 파지-숙주 조합과 환경적 스트레스(예: 저온, 고삼투, 건조)에 따라 발생 빈도가 달라지며, 일반적으로는 약 10^{-6} - 10^{-8}/세포 수준에서 형성된다고 보고된다 [53]. 가장 주된 메커니즘은 파지 수용체의 구조 또는 발현 조절의 변화다 [12]. 앞장에서 언급한 다양한 표면 수용체의 관련 유전자(*rfa*, *rfb*, *wzy*, *wzx*, tar 등)의 점돌연변이 · 프레임시프트 · 재배열 또는 발현 전환(phase variation)을 통해 흡착을 효과적으로 차단한다. *Salmonella*의 경우 *rfa*/*rfb* 변이에 따른 O-antigen 변화 [54], *E. coli* O157:H7의 경우 *wzy*/*wzx* 등 O-PS 길이 · 구성 변화 [7, 55], *Listeria*의 WTA 당화 패턴 변경 [56-58]에 의한 돌연변이 출현이 반복적으로 보고되었다. 또한, 수용체 차폐(shielding) 전략으로 캡슐 또는 바이오필름 내 EPS의 과다 생성이 파지 접근을 제한할 수 있다. 비록 일부 파지가 depolymerase 효소를 통해 이를 분해할 수도 있으나, EPS 조성 변화를 통해 회피가 반복될 수 있다 [59-61]. 흡착 이후 DNA 주입 과정에서도 막 전위 변화나 세포막 단백질 구조 이상으로 감염이 차단될 수 있다 [62, 63].

수용체는 환경 적응 · 병원성 인자와 연결되어 있어 변이가 성장률 저하, 스트레스 감수성 증가, 병원성 감소 등 적응 비용을 동반한다. *Salmonella* O-antigen 변이 및 *E. coli* O157:H7 내성체에서의 적응도 손실과 독성 저감이 보고되었고 [55, 64], *Listeria*의 WTA 변형은 세포벽 항상성과 표면 부착력 변화로 이어질 수 있다 [56-58].

3.2. 세균의 세포 내 파지 방어 시스템

BIMs 외에도, 세균은 감염 단계별로 다양한 세포 내 방어 기작을 발달시켜 왔다. 파지 DNA의 진입을 막는 기작부터 유전체 절단, 번역 억제, 감염 세포의 자살 유도까지 파지 수명 주기의 여러 단계를 표적으로 삼는다. 그 결과, 세균은 파지 감염에 맞서며 진화적 경쟁을 지속하고 있다.

- 흡착 및 진입 차단

세균은 파지 감염의 첫 단계인 흡착을 차단하기 위해 수용체를 가리거나 전환시키며, 세포 표면 특성을 수정하는 세포 외 고분자물질 (EPS)을 생성하는 등의 방법으로 파지의 인식을 회피한다 [65, 66]. 슈퍼감염 배제(Superinfection exclusion, Sie) 시스템은 세균 내에 존재하는 용원성 파지 또는 그 관련 유전자가 외부 파지의 중복 감염을 차단하기 위해 DNA 주입을 차단한다. 외막 지단백질의 하나인 Cor의 경우 페리크롬 흡수 단백질(FhuA)라는 파지 수용체를 비활성화 하여 파지 DNA 진입을 차단하는 것으로 보고되었다 [67].

- 세포질 내 유입 직후

많은 세균 속에는 바이러스를 포함 외부 DNA 침입으로부터 세포를 보호하기 위한 제한-수정 시스템이 존재한다 [68]. 이 시스템은 비메틸화된 외래 DNA를 제한 엔도뉴클레아제로 절단하는 한편, 자가 DNA는 메틸화로 보호함으로써 자기-비자기 구별을 수행하게 된다 [69].

CRISPR-Cas 시스템은 감염 파지의 유전체 일부를 스페이서로 저장하고, 이 후 동일한 파지 감염시 이를 인식하고 절단하는 면역 체계이다[2, 21]. 비피도박테리움과 같은 일부 종은 작은 게놈에도 불구하고 대부분의 세균보

다 두배 이상의 방어 시스템을 보유하고 있는 것으로 밝혀졌으며, 여러가지 CIRSPR-Cas 유형이 보고되었다 [70].

독소-항독소 시스템은 세균 내에서 파지의 복제 · 조립을 차단하기 위하여 독소방출을 촉진하며, 감염 세포의 자살을 유도함으로써 파지 확산을 저지할 수 있도록 방어적으로 작용한다 [71]. 이처럼 파지 감염의 마지막 단계에서 세균은 세포 자살을 유도하여 파지가 복제 주기를 완료하기 전에 다른 숙주로 감염이 확산되는 것을 방지하여 박테리아 군집을 보호할 수 있다 [72].

BREX(Bacteriophage Exclusion) 시스템은 바실러스 세레우스(*Bacillus cereus*)에서 발견되는 6개 유전자 카세트를 포함하는 새로운 파지 저항 메커니즘이다. 이 시스템은 파지 흡착은 허용하지만, 비회문 부위에서의 DNA 메틸화를 통해 파지 DNA 복제를 차단함으로써 광범위한 파지에 대한 저항성을 제공한다 [73]. 기존 제한-변형 시스템과 달리, BREX는 파지 DNA를 절단하지 않아 독특한 방어 기전을 시사한다.

DISARM(제한-변형과 연관된 방어 섬 시스템)은 DNA 메틸라제와 헬리카제 및 포스포리파제 도메인을 포함하는 다섯 개의 유전자로 구성되어 있다 [74]. 이 시스템은 제한-변형 시스템과 유사하게, 유입되는 파지 DNA를 절단하고 숙주 DNA를 메틸화하여 식별하는 방식으로 세균을 보호하며, 꼬리형 이중가닥 DNA 파지의 모든 주요 계통에 대해 효과적인 것으로 보고되었다 [74].

Dnd 시스템은 DNA 인산황화(phosphorothioation)을 통해 DNA 골격의 산소 원자를 황 원자로 치환하며, 이로 인해 다양한 파지에 대한 저항성을 제공한다 [75]. Dnd와 관련된 Ssp 시스템 역시 이 과정을 공유하며, 두 시스템이 조합될 경우 파지 복제를 가산적으로 억제하여 방어력을 강화할 수 있다[75]. 두 시스템 모두 용균성 파지에 효과적이지만, 용원성 파지에 대해서는 보호하지 못할 수 있다 [75].

이러한 복잡한 세균의 방어 시스템에 맞서 파지 또한 다양한 counter-방어 전략을 진화시켜 왔다. 이로 인해 세균과 파지 간의 진화적 경쟁은 지속되며, 식품산업에서 파지를 활용한 제어 전략 수립 시, 이러한 상호작용의 이해는 필수이다.

4. 파지 대응 전략

식품산업에서 박테리오파지를 실용적으로 적용하기 위해서는, 세균이 갖는 다양한 파지방어시스템를 우회하거나 무력화하고, 동시에 BIMs의 출현과 고정을 지연 · 억제하는 설계 전략이 필수적이다. 이에 따라 최근 연구에서는 분자 수준의 counter-defense 전략, 칵테일 및 적용 설계, 식품 공정 통합 등의 다층적 접근이 제시되고 있으며, 이는 파지-숙주 간의 진화적 경쟁 속에서 효과의 지속 가능성을 확보하기 위한 핵심 열쇠로 작용한다.

4.1. BIMs 형성 억제를 위한 전략적 설계

– 파지 칵테일의 최적 설계

단일 수용체에 의존하지 않고, 병원균 내 혈청형 및 표면 구조의 이질성을 고려해 다양한 수용체를 타겟으로 하는 파지를 조합한다 [62-63]. 또한, burst size와 latent time이 상이한 파지들과 depolymerase 또는 biofilm-targeting 능력을 갖춘 파지를 병합함으로써 선택압을 분산시키고 및 감염 확산 속도를 향상시킬 수 있다 [60-61]. 더불어, 변이를 획득하는 데 높은 생존 비용이 요구되는 필수 구조물(LPS core, OMP 등)을 표적으로 하는 파지를 포함할 경우, BIMs 형성의 진화적 부담을 높여 BIMs 발생확률을 낮출 수 있다 [54-55, 76].

– 순차적 적용 및 회전 전략

파지를 동시에 투여하지 않고 시간 간격을 두고 처리함으로써 세균의 진화적 적응성을 저해하거나 [77], 칵테일 또는 파지 패널을 공정 단계별로 교대 사용한다. 또는, 현장 우점균에 적응된 '훈련된 파지'를 주기적으로 갱신함으로써 적용 효과를 극대화할 수 있다 [78].

– 식품 공정 통합 및 다중 장벽(hurdle) 기술

파지 단독 적용은 종종 물리적, 화학적 장벽에 의해 제한되므로, 저온, pH 조절, 수분 활성 제어, MAP, 유기산 등과 병용하여 파지의 복제 환경을 유리하게 조성하고 BIMs의 고정을 지연시킬 수 있다 [77]. 또한 보호제나 완충염의 첨가, 미세캡슐화, 포장재 표면 코팅 등의 제형 최적화를 통해 도포 균일성과 안정성을 확보할 수 있으며, 이를 통해 BIMs 형성에 작용하는 선택압을 완화할 수 있다 [79].

– 지속적 모니터링 및 적응적 관리

우점 혈청형, 수용체 변이, defense 유전자(BREX, DISARM, CRISPR 등)의 분포를 주기적으로 시퀀싱 · 형질 분석하고, 그 결과에 따라 칵테일을 업데이트하는 전략이 필요하다 [41].

4.2. 세균의 다층 방어 시스템과 파지의 대응 전략

– 수용체 수준 방어에 대한 전략

파지는 흡착단계에서 세균 표면의 특정 수용체를 인식하여 감염을 시작한다. 세균은 수용체의 돌연변이나 발현 억제를 통해 이를 회피할 수 있지만, 이는 종종 성장 속도 저하, 환경 적응력 감소 등의 trade-off를 수반한다. 이에 대응해, 서로 다른 수용체를 인식하는 파지들을 조합한 다수 수용체 기반 칵테일 전략이 효과적으로 사용되며, 수용체 변형의 진화적 비용을 증가시켜 BIMs의 고정 가능성을 낮춘다 [62-63].

또한, 합성생물학 기반 기술을 통해 파지의 RBP 또는 tail spike 단백질을 교체, 키메라화, 유도진화시켜 특정 숙주에 대한 친화도를 증강하거나 숙주 범위를 확장하는 전략도 병행되고 있다 [76, 78].

– 바이오필름 및 다당질 차폐 극복

바이오필름이나 캡슐 구조는 파지의 흡착을 물리적으로 차단하는 장벽으로 작용한다. 이에 depolymerase를 자체 보유한 파지 또는 DNase, 다당분해효소와 같은 외부 효소를 병용하여 EPS matrix를 분해함으로써 파지 확산과 흡착을 촉진할 수 있다 [60-61]. 특히 그람양성균의 경우, 파지 유래 엔도라이신, 아틸라이신 등 세포벽 분해 효소를 보완 장벽으로 사용하면 복제에 의존하지 않고도 살균 효과를 기대할 수 있다 [80].

– 제한 · 수정 기반 방어 회피

세균의 제한-수정 시스템은 외래 DNA의 메틸화 패턴을 인지해 절단하는 기전으로, 파지 DNA를 빠르게 제거한다. 이에 대응해, 파지를 숙주 유래 메틸화 패턴에 맞춰 증식시키거나, Ocr과 같은 제한효소 억제 단백질을 탑재하는 전략이 적용된다 [59, 62]. 최근에는 BREX, DISARM, Dnd(Ssp) 등 표지-기반 방어 시스템이 주목받고 있으며, 이들에 대응하는 anti-marking 인자 또는 교란 유전자를 선발하거나 삽입하는 전략이 개발되고 있다 [74].

– CRISPR-Cas 및 세포 자살 방어 회피

CRISPR-Cas 시스템은 세균의 적응면역 시스템으로, 파지 유전체를 직접 절단할 수 있다. 파지에 항-CRISPR (Acr) 단백질을 선천적으로 보유하거나 삽입하여 이를 억제하는 전략이 광범위하게 활용된다 [76]. 또한, CBASS, Abi 등 감염 유도 자살 시스템에 대해서는 세포 내 신호분해 효소 또는 효과기 저해 단백질을 탑재한 파지의 효과가 보고되고 있으며, 이는 새로운 counter-defense 축으로 떠오르고 있다 [81].

향후에는 anti-BREX/DISARM/CBASS 분자 표적의 탐색과 표준화, 파지의 안전한 페이로드화를 위한 규제 프레임 구축, 식품 공정과 통합 가능한 SOP의 산업 스케일 적용 등이 실현되어야 박테리오파지의 산업적 채택이 본격화될 것이다 [74, 81].

요약

박테리오파지는 다양한 식품 매트릭스에서 병원균과 바이오필름을 효과적으로 제어할 수 있는 생물학적 제어법으로 주목받고 있다. 파지는 높은 숙주 특이성과 자가복제 능력, 그리고 항생제 내성균에 대한 살균 가능성을 바탕으로 식품안전 산업에 적용되고 있으며, 최근에는 다양한 상업용 제품이 육류, 채소, 유제품 등의 산업 공정에 실질적으로 도입되고 있다. 그러나 세균은 수용체 변형, 바이오필름 차폐, 다양한 방어 시스템(제한-수정 시스템, CRISPR-Cas, CBASS, Abi 등)을 통해 파지 감염을 회피하고, 그 결과 BIMs의 출현으로 파지의 지속 효과가 저해될 수 있다. 이를 극복하기 위해 파지 칵테일 설계(다수 수용체 표적화), RBP 재설계, anti-CRISPR 단백질 탑재, 바이오필름 분해효소 병용, 메틸화 회피 전략 등이 개발되고 있으며, 다층 방어를 우회하는 파지-defense counter 전략이 핵심 기술로 부상하고 있다. 이러한 한계를 극복하기 위해, 최근에는 수용체 다양성을 고려한 칵테일 설계, anti-CRISPR 단백질 및 엔도라이신 탑재, 유전체 재설계를 통한 감염력 향상, 그리고 공정별 적용 방식의 정교화 전략이 활발히 연구되고 있다. 특히 파지와 환경 스트레스, 물리 · 화학적 보조 기술을 통합한 다중장벽 전략은 BIMs의 고정화를 지연시키고, 제어 효과의 지속성을 높이는 데 기여한다. 향후에는 병원균의 유전적 다양성, 식품 공정별 특성, 적용 현실성을 모두 고려한 맞춤형 파지 설계와 함께, 표준화된 적용 지침과 모니터링 체계의 확립이 병행되어야 할 것이다. 이를 통해 파지는 식품안전 분야에서 항생제 대체 전략 그 이상의 의미를 지니는 정밀 제어 도구로 자리매김할 수 있을 것이다. 결국, 병원균의 유전적 다양성과 공정 조건, 방어 기전을 반영한 맞춤형 파지 설계와 파지-defense 우회 전략이 병행될 때, 박테리오파지는 식품산업에서 정밀 제어 도구로서의 가능성을 확장할 수 있을 것이다.

참고 문헌

1. Micciche, A.C, Rubinelli PM, Ricke SC, *Source of Water and Potential Sanitizers and Biological Antimicrobials for Alternative Poultry Processing Food Safety Applications.* Front Sustain Food S, 2018. **2**(82).

2. Ban, G-H, Kim, S-H, Kang, D-H, Park, S-H, *Comparison of the efficacy of physical and chemical strategies for the inactivation of biofilm cells of foodborne pathogens.* Food Sci Biotechnol, 2023. **32**(12): p. 1679-1702.

3. Møretrø T, Heir E, Nesse LL, Vestby LK, Langsrud S, *Control of Salmonella in food related environments by chemical disinfection.* Food Res Int, 2012. **45**(2): p. 532-544.

4. Starek A, Kobus Z, Sagan A, Chudzik B, Pawłat J, Kwiatkowski M, et al., *Influence of ultrasound on selected microorganisms, chemical and structural changes in fresh tomato juice.* Sci Rep, 2021. **11**(1): p. 3488.

5. Verde SC, Silva T, Matos P, *Effects of gamma radiation on wastewater microbiota.* Radiat Environ Biophys, 2016. **55**(1): p. 125-131.

6. Ashrafudoulla M, Yun H, Ashikur Rahman M, Jung S-J, jie-Won Ha A, Anamul Hasan Chowdhury M, et al., *Prophylactic efficacy of baicalin and carvacrol against Salmonella Typhimurium biofilm on food and food contact surfaces.* Food Res Int, 2024. **187**: p. 114458.

7. Kortright KE, Chan BK, Koff JL, Turner PE, *Phage Therapy: A Renewed Approach to Combat Antibiotic-Resistant Bacteria.* Cell Host Microbe, 2019. **25**(2): p. 219-232.

8. Gu Liu C, Green Sabrina I, Min L, Clark Justin R, Salazar Keiko C, Terwilliger Austen L, et al., *Phage-Antibiotic Synergy Is Driven by a Unique Combination of Antibacterial Mechanism of Action and Stoichiometry.* mBio, 2020. **11**(4): p .01462-20.

9. Kang J, Chang Y, *Characterization of a Vibrio parahaemolyticus-targeting lytic bacteriophage SSJ01 and its application in artificial seawater.* Food Sci Biotechnol, 2024. **33**(6): p. 1505-1515.

10. Goodridge LD, Bisha B, *Phage-based biocontrol strategies to reduce foodborne pathogens in foods.* Bacteriophage, 2011. **1**(3): p. 130-137.

11. Walker N, Li S, Strauss H, Pokharel S, *Salmonella Typhimurium DT 104 response to Lytic bacteriophage and Lactobionic acid on raw chicken breast.* Food Microbiol, 2021. **100**: p. 103862.

12. Oechslin F, *Resistance Development to Bacteriophages Occurring during Bacteriophage Therapy.* Viruses, 2018. **10**(7): p. 351.

13. Zeng Y, Li P, Liu S, Shen M, Liu Y, Zhou X, *Salmonella enteritidis acquires phage resistance through a point mutation in rfbD but loses some of its environmental adaptability.* Vet Res, 2024. **55**(1): p. 85.

14. Hasan M, Ahn J, *Evolutionary Dynamics between Phages and Bacteria as a Possible Approach for Designing Effective Phage Therapies against Antibiotic-Resistant Bacteria.* Antibiotics (Basel), 2022. **11**(7): p. 915.

15. Law N, Aslam S, *Phage Therapy: Primer and Role in the Treatment of MDROs.* Curr Infect Dis Rep, 2020. **22**(12): p. 31.

16. Morrisette T, Kebriaei R, Lev KL, Morales S, Rybak MJ, *Bacteriophage Therapeutics: A Primer for Clinicians on Phage-Antibiotic Combinations.* Pharmacotherapy, 2020. **40**(2): p. 153-168.

17. S ø rensen AN, Br ø ndsted L, *Renewed insights into Ackermannviridae phage biology and applications.* npj Viruses, 2024. **2**(1): p. 37.

18. Beck C, Krusche J, Notaro A, Walter A, Kränkel L, Vollert A, et al., *Wall teichoic acid substitution with glucose governs phage susceptibility of Staphylococcus epidermidis.* mBio, 2024. **15**(4): p. e0199023.

19. Krusche J, Beck C, Lehmann E, Gerlach D, Wolz C, Peschel A, *Systematic classification of phage receptor-binding proteins predicts surface glycopolymer structure in Staphylococcus pathogens*. BioRxiv, 2024. p. 583386.

20. Guo Y, Du X, Krusche J, Beck C, Ali S, Walter A, et al., *Invasive Staphylococcus epidermidis uses a unique processive wall teichoic acid glycosyltransferase to evade immune recognition.* Sci Adv, 2023. **9**(47): p. eadj2641.

21. Batista PJ, Ruby JG, Claycomb JM, Chiang R, Fahlgren N, Kasschau KD, et al., *PRG-1 and 21U-RNAs interact to form the piRNA complex required for fertility in C. elegans*. Mol Cell, 2008. **31**(1): p. 67-78.

22. Datta DB, Arden B, Henning U, *Major proteins of the Escherichia coli outer cell envelope membrane as bacteriophage receptors.* J Bacteriol, 1977. **131**(3): p. 821-829.

23. Hantke K, *Major outer membrane proteins of E. coli K12 serve as receptors for the phages T2 (protein Ia) and 434 (protein Ib).* Mol Gen Genet, 1978. **164**(2): p. 131-135.

24. Knirel YA, Prokhorov NS, Shashkov AS, Ovchinnikova OG, Zdorovenko EL, Liu B, et al., *Variations in O-antigen biosynthesis and O-acetylation associated with altered phage sensitivity in Escherichia coli 4s*. J Bacteriol, 2015. **197**(5): p. 905-912.

25. Salem M, Pajunen MI, Jun JW, Skurnik M, *T4-like Bacteriophages Isolated from Pig Stools Infect Yersinia pseudotuberculosis and Yersinia pestis Using LPS and OmpF as Receptors*. Viruses, 2021. **13**(2): p. 296.

26. Lee JH, Shin H, Choi Y, Ryu S, *Complete genome sequence analysis of bacterial-flagellum-targeting bacteriophage chi*. Arch Virol, 2013. **158**(10): p. 2179-2183.

27. Mi Y, He Y, Mi J, Huang Y, Fan H, Song L, et al., *Genetic and Phenotypic Analysis of Phage-Resistant Mutant Fitness Triggered by Phage - Host Interactions.* Int J Mol Sci, 2023. **24**(21): p. 15594.

28. Aguilera M, Martínez S, Tello M, Gallardo MJ, García V, *Use of Cocktail of Bacteriophage for Salmonella Typhimurium Control in Chicken Meat.* Food, 2022. **11**(8): p. 1164.

29. Qin X, Liu T, Xue J, Zhang W, Li H, Liu Y, et al., *Characterization of a novel Salmonella enterica serovar Manhattan phage and its inhibitory effects in vitro and in food matrices.* LWT, 2025. **222**: p. 117617.

30. Pelyuntha W, Yamik DY, Vetboocha N, Vongkamjan K, *Effect of novel phage cocktail on Salmonella recovered from broiler sources and its anti-biofilm effect on food contact surface model.* Food Control, 2025. **169**: p. 111000.

31. Abdelsattar A, Safwat A, Nofal R, Elsayed A, Makky S, El-Shibiny A, *Isolation and Characterization of*

Bacteriophage ZCSE6 against Salmonella spp.: Phage Application in Milk. Biologics, 2021. **1**(2): p. 164-176.

32. Guo Y, Li J, Islam MS, Yan T, Zhou Y, Liang L, et al., *Application of a novel phage vB_SalS-LPSTLL for the biological control of Salmonella in foods.* Food Res Int, 2021. **147**: p. 110492.

33. Yan T, Liang L, Yin P, Zhou Y, Sharoba AM, Lu Q, et al., *Application of a Novel Phage LPSEYT for Biological Control of Salmonella in Foods.* Microorganisms, 2020. **8**(3): p. 400.

34. Byun KH, Han SH, Choi MW, Kim BH, Park SH, Ha SD, *Biofilm eradication ability of phage cocktail against Listeria monocytogenes biofilms formed on food contact materials and effect on virulence-related genes and biofilm structure.* Food Res Int, 2022. **157**: p. 111367.

35. Stone E, Lhomet A, Neve H, Grant IR, Campbell K, McAuliffe O, *Isolation and Characterization of Listeria monocytogenes Phage vB_LmoH_P61, a Phage With Biocontrol Potential on Different Food Matrices.* Front Sustain Food S, 2020. **4**

36. Scattolini S, D'Angelantonio D, Boni A, Mangone I, Marcacci M, Battistelli N, et al., *Characterization and In Vitro Efficacy against Listeria monocytogenes of a Newly Isolated Bacteriophage, ϕIZSAM-1.* Microorganisms, 2021. **9**(4): p. 731.

37. Li Y-K, Chen H, Shu M, Zhong C, Bi Y, Yang H-H, Wu G-P, *Isolation, characterization and application of an alkaline resistant virulent bacteriophage JN01 against Escherichia coli O157:H7 in milk and beef.* LWT, 2021. **144**: p. 111266.

38. Thung TY, Lee E, Mahyudin NA, Wan Mohamed Radzi CWJ, Mazlan N, Tan CW, Radu S, *Partial characterization and in vitro evaluation of a lytic bacteriophage for biocontrol of Campylobacter jejuni in mutton and chicken meat.* J Food Safety, 2020. **40**(2): p. 12770.

39. Mohammadi TN, Shen C, Li Y, Zayda MG, Sato J, Masuda Y, et al., *Characterization of Clostridium perfringens bacteriophages and their application in chicken meat and milk*. Int J Food Microbiol, 2022. **361**: p. 109446.

40. Zhang X, Niu YD, Nan Y, Stanford K, Holley R, McAllister T, Narváez-Bravo C, *SalmoFresh™ effectiveness in controlling Salmonella on romaine lettuce, mung bean sprouts and seeds*. Int J Food Microbiol, 2019. **305**: p. 108250.

41. Moye Z, Das C, Tokman J, Fanelli B, Karathia H, Hasan N, et al., *Treatment of fresh produce with a Salmonella-targeted bacteriophage cocktail is compatible with chlorine or peracetic acid and more consistently preserves the microbial community on produce.* J Food Saf, 2020. **40**(5): p. e12763.

42. Everhart E, Worth A, D'Amico DJ, *Control of Salmonella enterica spp. enterica in milk and raw milk cheese using commercial bacteriophage preparations.* Food Microbiol, 2025. **128**: p. 104725.

43. Hagens S, De Vegt B, Peterson R, *Efficacy of a Commercial Phage Cocktail in Reducing Salmonella Contamination on Poultry Products- Laboratory Data and Industrial Trial Data.* Meat Muscle Biol, 2018. **2**(2): p. 156.

44. Sirdesai S, Eraclio G, Peterson R, Mierlo J, De Vegt B, *Efficiency of Phage Intervention on Salmonella Kill on Lean Pork, Pork Trim and Bacon.* Meat Muscle Biol, 2018. **2**(2): p. 157.

45. De Vegt B, Sirdesai S, Peterson R, Pinheiro M, Nuboer W, Kan A, Mierlo J, *Efficieny of Phage Intervention Against Salmonella in Meat and Poultry Processing.* Meat Muscle Biol, 2019. **3**(2): p. 142.

46. Colás-Medà P, Viñas I, Alegre I, *Evaluation of Commercial Anti-Listerial Products for Improvement of Food Safety in Ready-to-Eat Meat and Dairy Products.* Antibiotics (Basel), 2023. **12**(2): p. 414.

47. Ishaq A, Ebner PD, Syed QA, Ubaid ur Rahman H, *Employing list-shield bacteriophage as a bio-control intervention for Listeria monocytogenes from raw beef surface and maintain meat quality during refrigeration storage.* LWT, 2020. **132**: p. 109784.

48. Yang S, Sadekuzzaman M, Ha S-D, *Reduction of Listeria monocytogenes on chicken breasts by combined treatment with UV-C light and bacteriophage ListShield.* LWT, 2017. **86**: p. 193-200.

49. Gündüz H, Öztürk F, *Prevalence of Listeria spp. in Seafood Samples and Control of Listeria monocytogenes with Using LISTEX™ P100 Bacteriophage Applications in Smoked Rainbow Trout.* J Agr Sci, 2021. **27**(4): p. 493-499.

50. Truchado P, Elsser-Gravesen A, Gil MI, Allende A, *Post-process treatments are effective strategies to*

reduce Listeria monocytogenes on the surface of leafy greens: A pilot study. Int J Food Microbiol, 2020. **313**: p. 108390.

51. Vikram A, Tokman JI, Woolston J, Sulakvelidze A, *Phage Biocontrol Improves Food Safety by Significantly Reducing the Level and Prevalence of Escherichia coli O157:H7 in Various Foods.* J Food Prot, 2020. **83**(4): p. 668-676.

52. Shebs EL, Lukov MJ, Giotto FM, Torres ES, de Mello AS, *Efficacy of bacteriophage and organic acids in decreasing STEC O157:H7 populations in beef kept under vacuum and aerobic conditions: A simulated High Event Period scenario.* Meat Sci, 2020. **162**: p. 108023.

53. Levin BR, Moineau S, Bushman M, Barrangou R, *The population and evolutionary dynamics of phage and bacteria with CRISPR-mediated immunity.* PLoS Genet, 2013. **9**(3): p. e1003312.

54. Kim M, Ryu S, *Spontaneous and transient defence against bacteriophage by phase-variable glucosylation of O-antigen in Salmonella enterica serovar Typhimurium.* Mol Microbiol, 2012. **86**(2): p. 411-425.

55. León M, Bastías R, *Virulence reduction in bacteriophage resistant bacteria.* Front Microbiol, 2015. **6**: p. 343.

56. Denes T, Wiedmann M, *Environmental responses and phage susceptibility in foodborne pathogens: implications for improving applications in food safety.* Curr Opin in Biotechnol, 2014. **26**: p. 45-49.

57. Sumrall ET, Shen Y, Keller AP, Rismondo J, Pavlou M, Eugster MR, et al., *Phage resistance at the cost of virulence: Listeria monocytogenes serovar 4b requires galactosylated teichoic acids for InlB-mediated invasion.* PLoS Pathog, 2019. **15**(10): p. e1008032.

58. Eugster MR, Loessner MJ, *Rapid Analysis of Listeria monocytogenes Cell Wall Teichoic Acid Carbohydrates by ESI-MS/MS.* PLoS One, 2011. **6**(6): p. e21500.

59. Labrie SJ, Samson JE, Moineau S, *Bacteriophage resistance mechanisms.* Nat Rev Microbiol, 2010. **8**(5): p. 317-327.

60. Latka A, Maciejewska B, Majkowska-Skrobek G, Briers Y, Drulis-Kawa Z, *Bacteriophage-encoded virion-associated enzymes to overcome the carbohydrate barriers during the infection process.* Appl Microbiol Biotechnol, 2017. **101**(8): p. 3103-3119.

61. Pires DP, Melo L, Vilas Boas D, Sillankorva S, Azeredo J, *Phage therapy as an alternative or complementary strategy to prevent and control biofilm-related infections.* Curr Opin Microbiol, 2017. **39**: p. 48-56.

62. Hampton HG, Watson BNJ, Fineran PC, *The arms race between bacteria and their phage foes.* Nature, 2020. **577**(7790): p. 327-336.

63. Labrie SJ, Samson JE, Moineau S, *Bacteriophage resistance mechanisms.* Nat Rev Microbiol, 2010. **8**(5): p. 317-327.

64. Kim M, Ryu S, *Spontaneous and transient defence against bacteriophage by phase-variable glucosylation of O-antigen in Salmonella enterica serovar Typhimurium.* Mol Microbiol, 2012. **86**(2): p. 411-425.

65. Wang Y, Fan H, Tong Y, *Unveil the Secret of the Bacteria and Phage Arms Race.* Int J Mol Sci, 2023. **24**(5): p. 4363.

66. Bhushan K, Bhagyawant SS, In: Singh, N., Chattopadhyay, A., Lichtfouse, E. (eds), *The Perpetual Battle of Bacteria and Phages.* Sustainable Agriculture Reviews 60, 2023. **60**

67. Arguijo-Hernández ES, Hernandez-Sanchez J, Briones-Peña SJ, Oviedo N, Mendoza-Hernández G, Guarneros G, Kameyama L, *Cor interacts with outer membrane proteins to exclude FhuA-dependent phages.* Arch Virol, 2018. **163**(11): p. 2959-2969.

68. Gupta R, Capalash N, Sharma P, *Restriction endonucleases: natural and directed evolution.* Appl Microbiol Biotechnol, 2012. **94**(3): p. 583-599.

69. Tock MR, Dryden DT, *The biology of restriction and anti-restriction.* Curr Opin Microbiol, 2005. **8**(4): p. 466-472.

70. Docherty JAD, Cook R, Kiu R, Dyball X, Brown T, Kujawska M, et al., *Diverse Defence Systems and Prophages in Human-Associated Bifidobacterium Species Reveal "Arms Race" Dynamics.* BioRxiv, 2025. p. 633837.

71. Teklemariam AD, Al-Hindi RR, Qadri I, Alharbi MG, Ramadan WS, Ayubu J, et al., *The Battle between Bacteria and Bacteriophages: A Conundrum to Their Immune System.* Antibiotics (Basel), 2023. **12**(2): p. 381.

72. Garneau JE, Dupuis M-È, Villion M, Romero DA,

Barrangou R, Boyaval P, et al., *The CRISPR/Cas bacterial immune system cleaves bacteriophage and plasmid DNA.* Nature, 2010. **468**(7320): p. 67-71.

73. Chaudhary K, *BacteRiophage EXclusion (BREX): A novel anti-phage mechanism in the arsenal of bacterial defense system.* J Cell Physiol, 2018. **233**(2): p. 771-773.

74. Ofir G, Melamed S, Sberro H, Mukamel Z, Silverman S, Yaakov G, et al., *DISARM is a widespread bacterial defence system with broad anti-phage activities.* Nat Microbiol, 2018. **3**(1): p. 90-98.

75. Jiang S, Chen K, Wang Y, Zhang Y, Tang Y, Huang W, et al., *A DNA phosphorothioation-based Dnd defense system provides resistance against various phages and is compatible with the Ssp defense system.* mBio, 2023. **14**(4): p. e0093323.

76. Pawluk A, Davidson AR, Maxwell KL, *Anti-CRISPR: discovery, mechanism and function.* Nat Rev Microbiol, 2018. **16**(1): p. 12-17.

77. Moye ZD, Woolston J, Sulakvelidze A, *Bacteriophage Applications for Food Production and Processing.* Viruses, 2018. **10**(4)

78. Yehl K, Lemire S, Yang AC, Ando H, Mimee M, Torres MT, et al., *Engineering Phage Host-Range and Suppressing Bacterial Resistance through Phage Tail Fiber Mutagenesis.* Cell, 2019. **179**(2): p. 459-469.e9.

79. Endersen L, O'Mahony J, Hill C, Ross RP, McAuliffe O, Coffey A, *Phage therapy in the food industry.* Annu Rev Food Sci Technol, 2014. **5**: p. 327-349.

80. Schmelcher M, Loessner MJ, *Bacteriophage endolysins: applications for food safety*. Curr Opin Biotechnol, 2016. **37**: p. 76-87.

81. Millman A, Bernheim A, Stokar-Avihail A, Fedorenko T, Voichek M, Leavitt A, et al., *Bacterial Retrons Function In Anti-Phage Defense.* Cell, 2020. **183**(6): p. 1551-1561.e12.