

< Original Article >

경남지역 가금류 도축장 신선육에서 분리한 *Salmonella* spp.와 *Enterococcus faecalis*의 독성인자 보유 패턴 분석

하도윤¹ · 차휘근¹ · 한권식¹ · 장은희¹ · 박하영¹ · 배민진¹ · 조아름송이¹
이후근¹ · 고병효¹ · 김도경¹ · 황보원¹ · 김상현^{2*}
경상남도 동물위생시험소¹, 경상대학교 수의과대학 수의미생물학연구소²

Analysis of virulence gene profiles of *Salmonella* spp. and *Enterococcus faecalis* isolated from the freshly slaughtered poultry meats produced in Gyeong-Nam province

Do-Yun Hah¹, Hwi-Geun Cha¹, Kwon-Seek Han¹, Eun-Hee Jang¹, Ha-Yeong Park¹,
Min-jin Bae¹, Ah Reum-Song I Cho¹, Hoo-Geun Lee¹, Byeong-Hyo Ko¹,
Do-Kyoung Kim¹, Bo-Won Hwang¹, Sang-Hyun Kim^{2*}

¹Gyeongnam Veterinary Service Laboratory, Jinju 52733, Korea,

²Laboratory of Veterinary Microbiology, College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea

(Received 8 May 2018; revised 2 July 2018; accepted 19 September 2018)

Abstract

In order for monitoring of pathogenic bacterial contamination in the freshly slaughtered poultry meats produced in Gyeong-Nam province, we first isolated 4 strains of *Salmonella* spp. and 32 strains of *Enterococcus faecalis* from the total 164 samples, then we analyzed potential virulence gene profiles of the bacterial isolates by PCR using species-specific primer. The potential virulence genes we selected in this study were *stn*, *invA*, *fimA*, *spvR*, and *spvC* for the isolates of *Salmonella* spp. and those of *esp*, *cylM*, *cylA*, *cylB*, *gelE*, *fsrA*, *fsrB*, and *fsrC* were for the isolates of *E. faecalis*. The PCR results showed that all 5 virulence genes were detected simultaneously in the all isolates of *Salmonella* spp. However, there was a diverse occurrence pattern of the virulence genes in the case of *E. faecalis*. The gene for enterococcal surface protein (*esp*) was not detected among the isolates (0/32), and the haemolysin gene prevalence rate of *cylA*, *cylB*, and *cylM* were 3.1% (1/32), 9.3% (3/32), and 9.3% (3/32), respectively. Moreover, the genes of *gelE*, *fsrA*, *fsrB*, and *fsrC* that associated with gelatinase activity were detected in the rate of 53.1% (17/32), 53.1% (17/32), 53.1% (17/32), and 53.1% (17/32), respectively. In conclusion, in the isolates of *Salmonella* spp., all possessed 5 virulence genes tested, suggesting that they are all related with each other clonally. However, in the case of *E. faecalis* isolates, the occurrence of the haemolysin genes (*cylM*, *cylA*, *cylB*) and the gelatinase genes (*gelE*, *fsrABC*) was highly variable among the isolates.

Key words : *Salmonella* spp., *Enterococcus faecalis*, Virulence gene profiles, PCR, Poultry meats

서 론

Salmonella spp. 및 *Enterococcus* spp. 등은 다양한

가축 동물의 위장관에 서식하고 있으며(Meng과 Doyle, 1998), 가축 사육(Rasheed 등, 2014), 식육의 처리, 유통 및 잘못된 조리 방법에 의해서 인체에 식중독 등의 질병을 유발한다(Zhao 등, 2001).

Salmonella spp.는 사람에게 식중독을 유발하며

*Corresponding author: Sang-Hyun Kim, Tel. +82-55-772-2367,
Fax. +82-55-772-2308, E-mail. vetmicro@gnu.ac.kr

(Hernandez 등, 2013), *salmonella*에 오염된 돼지고기 및 돼지고기 가공식품은 인체에 salmonellosis을 전파시키는 주요 원인균으로 알려져 있다(Smith 등, 2010). 대표적인 *Salmonella* spp.의 독성 인자들은 설사를 유발하는 *Salmonella enterotoxin (stn)* (Chopra 등, 1999) 과 상피세포의 침투에 필요한 *inv* (Darwin과 Miller, 1999) *Salmonella* pathogenicity island-2 (PAI-2)의 type 3 secretion system (T3SS)를 통해 숙주 세포내로 이동하여 세포독성을 유발하는 *spv* (Donald과 Joshua, 2011) 그리고 *Salmonella* spp.의 감염 초기에 장 점막의 표면에 부착하는데 중요한 역할을 하는 *fim* (Adrianus 등, 1998)인자 등이 존재한다.

Enterococcus spp.는 사람 및 가축의 위장관에 서식할 뿐만 아니라 흙, 물, 식물 및 야생동물, 새 등에서도 발견되어진다(Hammerum, 2012). *Enterococcus* spp.는 인체의 혈중 및 요로 등에 감염을 일으키고 식중독을 유발하는 박테리아 중 가장 중요한 요인으로 알려져 있으며, 특히 항생제 내성 유전자를 다른 박테리아에 전달할 수 있는 능력이 있는 것으로 밝혀졌다(Richards 등, 2000). *E. faecalis*의 독성인자의 종류로는 용혈소 및 세포 용해소와 같은 독소를 나타내는 *cylA*, *cylB* 및 *cylM* 인자 (Gilmore 등, 1994), 젤라틴을 분해하는 젤라틴 분해효소를 코딩하는 *gelE* 인자 및 이와 동반하여 카제인, 헤모글로빈 등을 분해하는데 필요한 *fsrA*, *fsrB* 및 *fsrC* 인자(Roberts 등, 2004), 그리고 enterococcal surface protein (*esp*) 인자(Shankar 등, 1999) 등이 밝혀졌다. 이에 본 연구에서는 안전한 축산물의 제공을 위하여 경남 동물위생시험소에서 가축 도체 및 분변에서 분리한 식중독 유발 균, *Salmonella* spp. 및 *E. faecalis*의 오염도를 조사하고, 질병을 유발할 수 있는 이들의 독성 인자의 특성을 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

균주

2017년 3월에서 9월까지 경남 동물위생시험소에서 가축 도체 및 분변으로부터 분리한 164개의 시료로부터 분리한 대표적인 병원성 미생물 *Salmonella* spp. 및 *E. faecalis*을 대상으로 하였다.

Salmonella spp. 분리 및 동정

Nasco swab액 1 mL을 Buffer Peptone Water (BPW) 9 mL에 넣어 36°C에서 18~24시간 배양 후, 0.1 mL을 덜어 Rappaport Vassiliadis Broth (RV) 9 mL에 넣어 42°C에서 20~24시간 배양하였다. 배양 후 RAMBACH 평판 배지에 도말 후 37°C에서 48시간 배양한 후, 붉은색 및 분홍색 집락을 MacConkey 평판 배지에 도말하고 37°C에서 48시간 배양하였다. 배양 후 투명한 집락을 대상으로 VITEK MS™ (BioMérieux, Inc, France)으로 동정하였다.

E. faecalis 분리 및 동정

Nasco swab액 1 mL을 Azide Dextrose Broth 9mL에 넣어 37°C에서 16-20시간 배양 후, m Enterococcus Agar (mEA) 평판 배지에 도말하여 37°C에서 48시간 배양하였다. 분홍색 집락을 대상으로 다시 mEA 배지에 도말하고 같은 조건에서 배양 후, Trypticase Soy Agar (TSA) 평판 배지에 접종하여 같은 조건에서 배양 후 하얀색 집락을 대상으로 VITEK MSTM (BioMérieux, Inc, France)으로 동정하였다.

PCR을 이용한 독성 인자 검출

Genomic 및 plasmid DNA 추출: 분리된 *Salmonella* spp. 및 *E. faecalis*의 계놈 DNA를 추출하기 위해서 Exgene™ Cell SV kit를 이용하여 제조사의 지침대로 실시하였다. 또한 *Salmonella* spp.로부터 플라스미드 DNA 추출을 위해서 Hybrid-Q™ kit를 이용하여 제조사의 지침대로 실시하였다.

PCR을 이용한 *Salmonella* spp. 및 *E. faecalis* 독성 인자 검출: PCR을 이용하여 *Salmonella* spp. 및 *E. faecalis*를 대상으로 독성 인자를 조사하기 위하여, 분리된 계놈 및 플라스미드 DNA를 대상으로 PCR을 수행하였다. PCR에 이용한 primer 서열 및 annealing 조건은 *Salmonella* spp.는 Table 1에, 그리고 *E. faecalis*는 Table 2에 제시하였으며, PCR 조건은 initial denaturation을 94°C에서 10분간 실시하였고, denaturation 94°C에서 1분, extension 72°C에서 1분 조건으로 총 35회 실시하였으며, last extension 72°C에서 5분간 실시하였다. PCR 증폭 산물은 2% 아가로스겔에 DNA 전기영동 버퍼를 이용하여 전기영동을 실시하였으며, GelDoc (Bio-Rad, U.S.A)을 이용하여 결과를 확인하였다.

Table 1. PCR primers and conditions for detection of virulence factor from *Salmonella* spp. isolates

Gene		Primer sequence (5'-3')	Annealing (°C)	PCR size (bp)	Ref.
<i>fimA</i>	F	CCTTCTCCATCGTCCTGAA	56	85	Cohen et al, 1996
	R	TGGTGTATCTGCCTGACCA			
<i>spvC</i>	F	ACTCCTTGCACAACCAAAATGCGGA	60	571	Pasmans et al, 2003.
	R	TGCTTCTGCATTTGCCACCATCA			
<i>spvR</i>	F	CAGGTTCCCTCAGTATCGCA	57	310	Pasmans et al, 2003.
	R	TTTGGCCGAAATGGTCAGT			
<i>inv</i>	F	GTGAAATTATCGCCACGTTCCGGCAA	63	284	Betancor et al, 2010.
	R	TCATCGCACCGTCAAAGGAACC			
<i>stn</i>	F	CTTTGGTCGTAAAATAAGGCG	55	260	Makino et al, 1999.
	R	TGCCCAAAGCAGAGAGATTC			

Table 2. PCR primers and conditions for detection of virulence factor from *E. faecalis* isolates

Gene		Primer sequence (5'-3')	Annealing (°C)	PCR size (bp)	Ref.
<i>gelE</i>	F	ACCCCGTATCAGTGGTTT	55	419	Eaton et al, 2001
	R	ACGCATTGCTTTTCCATC			
<i>esp</i>	F	TTGCTAATGCTAGTCCACGACC	58	933	Eaton et al, 2001
	R	GCGTCAACACTTGCATTGCCGAA			
<i>fsrA</i>	F	ATGAGTGAACAAAATGGCTATTTA	55	740	Ogier et al, 2008
	R	CTAAGTAAGAAATAGTGCCTTGA			
<i>fsrB</i>	F	GGGAGCTCTGGACAAAGTATTATCTAACCG	60	566	Ogier et al, 2008
	R	TTGGTACCCACACCATCACTGACTTTTGC			
<i>fsrC</i>	F	ATGATTTTGTCTGTTATTAGTACT	55	1,343	Ogier et al, 2008
	R	CATCGTTAACAACCTTTTTTACTG			
<i>cylA</i>	F	TGGATGATAGTGATAGGAAGT	52	517	Eaton et al, 2001
	R	TCTACAGTAAATCTTTCGTCAG			
<i>cylB</i>	F	ATTCTACCTATGTTCTGTIA	52	843	Eaton et al, 2001
	R	AATAAACTCTTCTTTTCCAAC			
<i>cylM</i>	F	CTGATCGAAAGAAGATAGTAT	52	742	Eaton et al, 2001
	R	TGAGTTGGTCTGATTACATT			

결 과

병원성 미생물 분리

경남 동물위생시험소에서 가축 도체 및 분변 164개의 시료를 대상으로 병원성 미생물을 분리하여 VITEK MS™으로 동정한 결과 4균주의 *Salmonella* spp. (2.43%)와 32균주의 *E. faecalis* (19.5% 균주)가 분리 및 동정되었다.

PCR을 이용한 독성 인자 검출

***Salmonella* spp. 독성 인자:** PCR을 이용하여 분리된 *Salmonella* spp.의 독성 인자 *fimA*, *spvC*, *spvR*, *inv* 그리고 *stn*의 검출 결과, 분리된 4균주의 계놈 및 플라즈미드 DNA로부터 모든 독성 인자가 검출되었다

(Fig. 1).

***E. faecalis* 독성 인자:** 분리된 32균주의 *E. faecalis*를 대상으로 독성 인자 *esp*, *cylA*, *cylB*, *cylM*, *gelE*, *fsrA*, *fsrB*, 그리고 *fsrC*를 PCR로 확인한 결과, *cylA*는 1균주 (3.1%), *cylB*와 *cylM*는 3균주(9.3%)로 검출되었고, *esp* 인자는 검출이 되지 않았다(Fig. 2). *gelE*, *fsrA*, *fsrB* 그리고 *fsrC*는 17균주(53.1%)로 나타났으며, 17균주 모두 *gelE*, *fsrA*, *fsrB* 그리고 *fsrC* 인자를 가지고 있었다 (Fig. 3).

고 찰

일반적으로 *Salmonella*의 장 점막의 부착은 감염에 있어서 필수적이다. 많은 미생물에서 숙주 상피세포의 특이 수용체와 결합하는 fimbriae 및 pili 같은 부

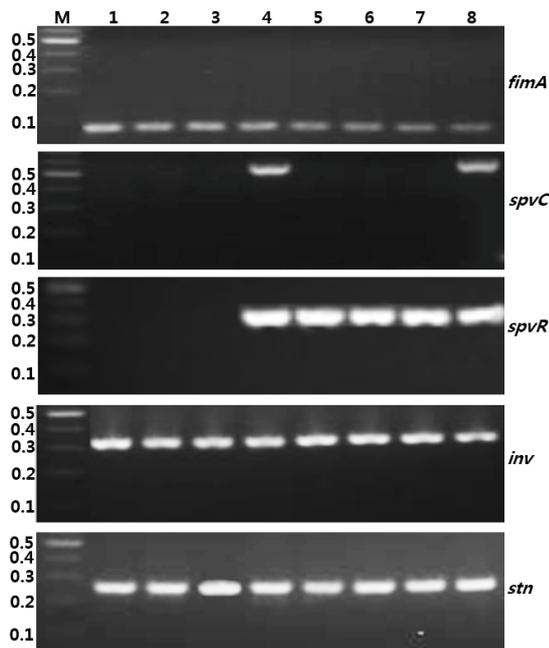


Fig. 1. 2% agarose gel electrophoresis of virulence factor PCR products from *Salmonella* spp. isolates. M : 100 bp DNA size marker, 1~4: genomic DNA of 1~4 *Salmonella* spp. isolates, 5~8: plasmid DNA of 1 - 4 *Salmonella* spp. isolates.

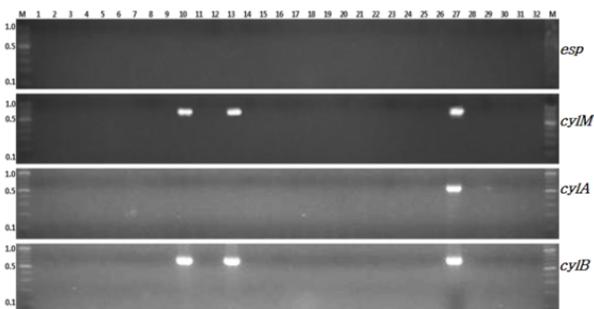


Fig. 2. 2% agarose gel electrophoresis of virulence factor PCR products from *E. faecalis* isolates. M : 100 bp DNA size marker, 1~32: isolated *E. faecalis* 1~32, respectively.

착에 관련된 부속 기관이 보고 되었으며(Clegg 등, 1985; Clegg과 Gerlach, 1987) 특히 Type 1 fimbriae가 독성 인자와 관련이 있는 것으로 보고되었다(Kurkkonen 등, 1993). *Salmonella*에서는 fimbriae를 구성하는 유전자가 cluster 형태로 구성 되어 있는데, 그중 *fimA*는 fimbriae의 구성에 있어 가장 중요한 유전자이다(Purcell 등, 1987). 이에 본 연구에서 분리된 4균주의 *Salmonella* spp.를 대상으로 *fimA*를 검출한 결과 100%로, 다른 그룹의 연구 결과와 비슷하게 나타났다(Alphons과 Jaap, 2005; Naravaneni과 Jamil, 2005; Chaudhary 등, 2015). *invA*는 *Salmonella*에서 아주 잘

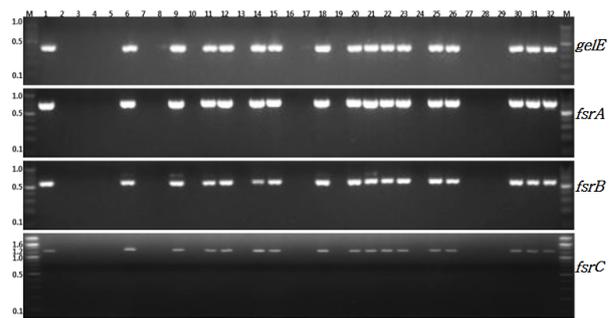


Fig. 3. 2% agarose gel electrophoresis of virulence factor PCR products from *E. faecalis* isolates. M : 100 bp DNA size marker, 1~32: isolated *E. faecalis* 1~32, respectively.

보존되어 있는 유전자로 본 연구에서도 다른 연구 결과(Swamy 등, 1996; Oliveira 등, 2003)와 유사하게 분리된 모든 균주에서 100%를 보였다. *Salmonella* enterotoxin (*stn*)은 콜레라 독소, 이열성 장독소 및 ADP-ribosyltransferases의 활성부위와 유사한 부위를 가지고 있으며, 장독소과 세포독소 활성을 가지고 있다고 보고되었으며(Chopra 등, 1999), 다른 연구 결과(Dinjus 등, 1997; Soto 등, 2006)와 유사하게 본 연구에서도 100% 검출되었다. *Salmonella* plasmid virulence (*spv*) 유전자는 positive regulator인 *spvR*과 *spvABCD*로 순차적으로 배열되어 있다(Fang 등, 1991). 특히 *spvC*는 최근 phosphothreonine lyase 활성이 있어 항-세포사멸 인자를 활성화 시키는 p38 MAP kinase 억제시켜 세포사멸을 유도하는 것으로 보고되었다(Li 등, 2007). 이에 *spvR* 및 *spvC*를 조사해 본 결과, *spvC*는 계놈 및 플라스미드 DNA에 관계없이 4균주 중 1균주(25%)만 검출이 되었다. 그러나, *spvR*의 경우 계놈에서는 1균주(25%) 그리고 플라스미드에서는 4균주(100%) 모두에서 검출이 되었다. Araque는 2009년에 *S. enteritidis* 및 *S. typhimurium* 32균주를 대상으로 *spvR* 및 *spvC*를 검출한 결과 모든 분리 균주에서 *spvR*은 검출되었지만, *spvC*는 검출 되지 않음을 보고 하였고, Chaudhary 등 (2015)의 결과에도 같은 결과로 나타났다. 하지만, Soto 등(2006)은 분리된 60균주의 *S. enteritidis*에서 *spvC*가 모두 검출됨을 보였다. 본 연구에서는 그 이유를 설명할 수 없으나 *spvC*의 경우 25%의 검출율을 보였고, *spvR*의 경우 플라스미드 DNA에 100%의 검출율을 보였다. 본 연구에서는 분리된 *Salmonella* 균주의 표본이 너무 적고, 표현형에 대한 조사가 이루어지지 않아 정확히 판단할 수 없으나, *fimA*, *invA*, *stn* 그리고 *spvR* 독성인자가 100%로 나타나는 것으로 보아 분리 균주 모두 숙주 장 점막의 침투력 및 독소원

성이 매우 높을 것으로 판단된다.

*Enterococcus*의 독성은 위장관계에 집락화, 트롬보스폰된, 락토페린 및 비트로넥틴과 같은 세포외기질 단백질과의 부착, 그리고 상피세포와의 부착에 의해 결정된다(Fisher과 Phillips, 2009). Extracellular surface protein (Esp)는 부착, 집락화에 관여하며, 항생제 내성에 관여하는(Foulquié Moreno 등, 2006) 독성 인자로서 잘 알려져 있다. 본 연구에서 *esp*는 검출이 되지 않아 다른 연구의 결과와(Eaton과 Gasson, 2001; Dupre 등, 2003) 다르게 나타났다. *E. faecalis*의 용혈능에 관여하는 용혈소는 세포내부의 *CylM*에 의해 성숙되어 세포벽에 존재하는 *CylB* ATP-binding transporter에 의해 세포외부로 나온 뒤, *CylA*에 의해 활성이 이루어진다(Gilmore 등, 1994). 따라서, *cylA*, *cylB* 그리고 *cylM*은 *E. faecalis*의 또 다른 중요 독성 인자이다. 본 연구에서는 *cylA*는 1균주(3.1%), *cylB*와 *cylM*는 3균주(9.3%)로 *cylA*의 검출이 조금 낮게 나왔지만 다른 연구(Poeta 등, 2006)와 비슷한 결과를 보이고 있다. *E. faecalis*의 젤라틴 분해효소 *gelE*는 *fsr locus* (*fsrA*, *fsrB* 그리고 *fsrC*) downstream에 존재하며, 모든 유전자가 젤라틴 분해효소 활성에 필수적이다(Qin 등, 2001). 따라서 *gelE*와 *fsr locus* 모두 발현이 되어야 젤라틴 분해효소 활성을 가지게 되며, 젤라틴 분해효소 활성이 없는 *E. faecalis*는 마우스 모델에서 마우스의 생존율을 증가되는 독성 인자로 알려져 있다(Qin 등, 2001). 본 연구에서는 *gelE*⁺/*fsrABC*⁺는 32균주 중에서 17균주(53.1%)로, *gelE*⁻/*fsrABC*⁻는 15균주(46.8%)로 다른 연구 결과와 거의 비슷하게 나타났다(Poeta 등, 2006). 본 연구에서 분리된 *E. faecalis*의 독성 인자는 부착 및 집락화에 관여하는 독성 인자가 낮게 나왔지만, 다수의 용혈소 및 젤라틴 분해효소 독성 인자가 나타난 것으로 보아, 많은 분리균주가 독성이 높을 것으로 판단된다.

결론적으로, 보다 더 안전한 축산물 제공을 위해 축산물 도체로부터 병원성 미생물 분리 및 독성 인자를 조사해 본 결과, 분리된 *Salmonella* spp. 및 *E. faecalis*에서 독성이 높을 것으로 판단되며, 축산물의 도축 및 축산물 생산에 있어 보다 위생에 주의를 더 기울여야 된다고 생각된다.

결 론

경남 동물위생시험소에서 가축 도체 및 분변 164

개의 시료를 대상으로 병원성 미생물을 분리한 결과 4균주의 *Salmonella* spp. (2%), 32균주의 *E. faecalis* (19.5%)가 동정되었다. 분리된 균주로부터 독성 인자를 PCR을 이용하여 분석한 결과, *Salmonella* spp.의 경우 모든 분리균주에서 *fimA*, *spvC*, *spvR*, *inv* 그리고 *stn*이 검출되었다. *E. faecalis*인 경우 *cylA*는 3.1%, *cylB*와 *cylM*는 9.3%로 검출되었고 *esp* 인자는 검출되지 않았다. *gelE*, *fsrA*, *fsrB* 그리고 *fsrC*는 53.1%로 나타났다, 17균주 모두 *gelE*, *fsrA*, *fsrB* 그리고 *fsrC* 인자를 가지고 있었다. 본 연구에서는 분리된 *Salmonella* 균주는 그 표본이 너무 적고, 표현형에 대한 조사가 이루어지지 않아 정확히 판단할 수 없으나, *fimA*, *invA* 그리고 *stn* 독성인자가 100%로 나타나는 것으로 보아 분리 균주 모두 침투 및 독소원성이 매우 높을 것으로 판단되며, *E. faecalis*의 독성 인자는 부착 및 집락화에 관여하는 독성 인자가 낮게 나왔지만, 다수의 용혈소 및 젤라틴 분해효소 인자가 나타난 것으로 보아, 많은 분리균주가 독성이 높을 것으로 판단된다. 결론적으로, 보다 더 안전한 축산물 제공을 위해 축산물의 도축 및 축산물 생산에 있어 위생관리를 더 철저히 해야 한다.

REFERENCES

- Adrianus WM, Velden VD, Bäumlér AJ, Tsolis RM, Feffron F. 1998. Multiple Fimbrial Adhesins are required for full virulence of *Salmonella typhimurium* in Mice. *Infect Immun* 66: 2803-2808.
- Alphons JAMV, Jaap EVD. 2005. Distribution of "classic" virulence factors among *Salmonella* spp. *FEMS Immunol Med Microbiol* 44: 251-259.
- Araque M. 2009. Nontyphoid *Salmonella* gastroenteritis in pediatric patients from urban areas in the city of Mérida, Venezuela. *J Infect Developing Countries* 3(1): 28-34.
- Betancor L, Pereira M, Martínez A, Giossa G, Fookes M, Flores K, Barrios P, Repiso V, Vignoli R, Cordeiro N, Algorta G, Thomson N, Maskell D. 2010. Prevalence of *Salmonella enterica* in poultry and eggs in Uruguay during an epidemic due to *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. *J Clin Microbiol* 48(7): 2413-2423.
- Chaudhary JH, Nayak JB, Brahmabhatt MN, Makwana PP. 2015. Virulence genes detection of *Salmonella* serovars isolated from pork and slaughterhouse environment in Ahmedabad, Gujarat. *Veterinary World* 8: 121-14.
- Chopra AK, Huang JH, Xu X, Burden K, Niesel DW, Rosenbaum MW, Popo VL, Peterson JW. 1999. Role of *Salmonella* enterotoxin in overall virulence of the

- organism. *Microb Pathog* 27(3): 155-171.
- Clegg S, Pruckler J, Purcell BK. 1985. Complementation analysis of recombinant plasmids encoding type 1 fimbriae of members of the family *Enterobacteriaceae*. *Infect Immun* 50: 338-340.
- Clegg S, Gerlach GF. 1987. *Enterobacterial* fimbriae. *J Bacteriol* 169: 934-938.
- Cohen HJ, Mechanda SM, Lin W. 1996. PCR amplification of the fimA gene sequence of *Salmonella typhimurium*, a specific method for detection of *Salmonella* spp. *Appl Environ Microbiol* 62(12): 4303-4308.
- Darwin KH, Miller VL. 1999. Molecular basis of the interaction of *Salmonella* with the intestinal mucosa. *Clin Microbiol Rev* 12: 405-428.
- Dinjus U, Hanvel I, Muller W, Bauerfeind R, Helmuth R. 1997. Detection of the induction of *Salmonella* enterotoxin gene expression by contact with epithelial cells with RT-PCR. *FEMS Microbiol Lett* 146(2): 175-178.
- Donald GG, Joshua F. 2011. The role of the spv genes in *Salmonella* pathogenesis. *Frontiers in Microbiology*: 129-138.
- Dupre L, Zanetti S, Schito AM, Fadda G, Sechi LA. 2003. Incidence of virulence determinants in clinical *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* isolates collected in Sardinia (Italy). *J Med Microbiol* 52: 491-498.
- Eaton TJ, Gasson MJ. 2001. Molecular screening of *Enterococcus* virulence determinants and potential for genetic exchange between food and medical isolates. *Appl Environ Microbiol* 67(4): 1628-1635.
- Fang FC, Krause M, Roudier C, Fierer J, Guiney DG. 1991. Growth regulation of a *Salmonella* plasmid gene essential for virulence. *J Bacteriol* 173: 6783-6789.
- Fisher K, Phillips C. 2009. The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. *Microbiology* 155: 1749-1757.
- Foulquié Moreno MR, Sarantinopoulos P, Tsakalidou E, De Vuyst L. 2006. The role and application of *enterococci* in food and health. *Int J Food Microbiol* 106: 1-24.
- Gilmore MS, Segarra RA, Booth MC, Bogie CP, Hall LR, Clewell DB. 1994. Genetic structure of the *Enterococcus faecalis* plasmid pAD1-encoded cytolytic toxin system and its relationship to antibiotic determinants. *J Bacteriol* 176(23): 7335-7344.
- Hammerum AM. 2012. *Enterococci* of animal origin and their significance for public health. *Clin Microbiol Infect* 18: 619-625.
- Hernandez M, Gomez J, Luque I, Herrera S, Maldonado A, Reguillo L, Astorga RJ. 2013. *Salmonella* prevalence and characterization in a free-range pig processing plant: Tracking in trucks, lairage, slaughter line and quartering. *Int J Food Microbiol* 162: 48-54.
- Kurkkonen MT, Raunio T, Virkola R, Lahtemaki K, Makela PH, Klemm P, Clegg S, Korhonen TK. 1993. Basement membrane carbohydrate as a target for adhesion binding of type 1 fimbriae of *Salmonella enteritidis* and *Achillea* to lamini. *Mol Microbiol* 7: 227-237.
- Li H, Xu H, Zhou Y, Zhang J, Long C, Li S, Chen S, Zhou JM, Shao F. 2007. The phosphothreonine lyase activity of a bacterial type III effector family. *Science* 315: 1000-1003.
- Makino SI, Kurazono H, Chongsangum M, Hayashi H, Cheun HI, Suzuki S, Shirahata T. 1999. Establishment of the PCR system specific to *Salmonella* spp. and its application for the inspection of food and fecal samples. *J Vet Med Sci* 61(11): 1245-1247.
- Meng J, Doyle MP. 1998. Emerging and evolving microbial food-borne pathogens. *Bull Inst Pasteur* 96: 151-164.
- Naravaneni R, Jamil K. 2005. Rapid detection of food-borne pathogens by using molecular techniques. *J Med Microbiol* 54: 51-54.
- Ogier JC, Serror P. 2008. Safety assessment of dairy microorganisms: The *Enterococcus* genus. *Int J Food Microbiology* 126: 291-301.
- Oliveira SD, Rodenbusch CR, Michae GB, Cardoso MI, Canal CW, Brandelli A. 2003. Detection of virulence genes in *Salmonella enteritidis* isolated from different sources. *Braz J Microbiol* 34(1): 123-124.
- Pasmans F, Immerseel FV, Heyndrickx MH, Martel A, Godard C, Wildemaue C, Ducatelle R, Haesebrouck F. 2003. Host adaptation of pigeon isolates of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium variant Copenhagen phage type 99 is associated with enhanced macrophage cytotoxicity. *Infect Immun* 71(10): 6068-6074.
- Poeta P, Costa D, Klibi N, Rodrigues J, Torres C. 2006. Phenotype and genotype study of gelatinase and beta-haemolysis activities in fecal *enterococci* of poultry in Portugal. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 53: 203-208.
- Purcell BK, Pruckler J, Clegg S. 1987. Nucleotide sequences of the genes encoding type 1 fimbrial subunit of *Klebsiella pneumoniae* and *Salmonella typhimurium*. *J Bacteriol* 169: 5831-5834.
- Qin X, Singh KV, Weinstock GM, Murray BE. 2001. Characterization of *fsr*, a regulator controlling expression of gelatinase and serine protease in *Enterococcus faecalis* OG1RF. *J Bacteriol* 183(11): 3372-3382.
- Rasheed MU, Thajuddin N, Ahamed P, Teklemariam Z, Jamil K. 2014. Antimicrobial drug resistance in strains of *Escherichia coli* isolated from food sources. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 56: 341-346.
- Richards MJ, Edwards JR, Culver DH, Gaynes RP. 2000. Nosocomial infections in combined medical-surgical intensive care units in the United States. *Infect Control Hosp Epidemiol* 21: 510-515.
- Roberts JC, Singh KV, Okhuysen PC, Murray BE. 2004. Molecular epidemiology of the *fsr* locus and of gelatinase production among different subsets of *Enterococcus faecalis* isolates. *J Clin Microbiol* 42(5): 2317-2320.
- Shankar V, Baghdayan AS, Huycke MM, Lindahl G, Gilmore MS. 1999. Infection-derived *Enterococcus faecalis* strains are enriched in *esp*, a gene encoding a novel surface

- protein. *Infect Immun* 67(1): 193-200.
- Smith RP, Clough HE, Cook AJ. 2010. Analysis of meat juice ELISA results and questionnaire data to investigate farm-level risk factors for *Salmonella* infection in UK pigs. *Zoonoses Public Health* 57: 39-48.
- Soto SM, Rodríguez I, Rodicio MR, Vila J, Mendoza MC. 2006. Detection of virulence determinants in clinical strains of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis and mapping on macrorestriction profiles. *J Med Microbiol* 55: 365-373.
- Swamy SC, Barnhart HM, Lee MD, Dreesen DW. 1996. Virulence determinants *invA* and *spvC* in *salmonellae* isolated from poultry products, wastewater, and human source. *Appl Environ Microbiol* 62: 3768-3771.
- Zhao C, Ge B, Villena JD, Sudler R, Yeh E, Zhao S, White DG, Wagner D, Meng J. 2001. Prevalence of *Campylobacter* spp., *Escherichia coli*, and *Salmonella* Serovars in Retail Chicken, Turkey, Pork, and Beef from the Greater Washington, D.C., Area. *Appl Environ Microbiol* 67: 5431-5436.