

УДК 57.082.25

И.Л. Гармашева, Н.К. Коваленко

*Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины
ул. Академика Заболотного, 154, Киев, 03143, Украина*

ЭНТЕРОЦИНЫ – РАЗНООБРАЗИЕ, СВОЙСТВА И ПРАКТИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

*В обзоре представлены современные сведения о бактериоциногенной активности бактерий рода *Enterococcus*. Приводится информация о разнообразии энтероцинов, их свойствах, влиянии условий культивирования на их продукцию, спектры активности. Освещены данные о практическом использовании энтероцинов в качестве биоконсервантов в пищевых продуктах животного и растительного происхождения.*

К л ю ч е в ы е с л о в а: энтерококки, бактериоцины, энтероцины, биоконсерванты.

Антагонизм является широко распространенным свойством среди микроорганизмов. Антагонистические свойства молочнокислых бактерий хорошо известны, они обусловлены продукцией биологически активных метаболитов, в частности молочной кислоты. Но, в отличие от других родов молочнокислых бактерий, энтерококки не являются сильными кислотообразователями [34]. Поэтому уже давно возник вопрос о более углубленном изучении их антагонистического действия по отношению к условно патогенным и патогенным бактериям.

Впервые антибиотические вещества, подобные бактериоцинам, были выявлены Кјемс в 1955 г. [43] у стрептококков группы D, к которой, согласно систематике, относили энтерококки. Другими авторами была отмечена схожесть бактериоциноподобного агента, продуцируемого *Streptococcus faecium*, с колицином. Позднее эта субстанция получила название энтероцин [10].

По классификации Клаенхаммер [44] бактериоцины молочнокислых бактерий делятся на 4 класса. Позже Nes с соавторами [51] предложили выделить подклассы Па, Пб и Пс, и большинство энтероцинов были отнесены к классу Па. Однако, критерии, положенные в основу данной классификации, приводили к разногласиям при применении их к энтероцинам. Поэтому, в 2007 году была предложена схема классификации бактериоцинов энтерококков, основанная на гомологии аминокислотных последовательностей, которая делит энтероцины на четыре класса (таблица) [30].

К классу I - лантибиогикоподобные энтероцины - отнесен цитолизин, представляющий собой белок, содержащий остатки лантионина и состоящий из двух субъединиц. Данный энтероцин проявляет гемолитические свойства, активен в отношении эукариотических клеток (эритроцитов), а также грампозитивных бактерий. Гены, ответственные за продукцию цитолизина, расположены на плазмиде pAD1 [9].

Класс II объединяет низкомолекулярные, не содержащие лантионина, пептиды. Подкласс II.1 включает энтероцины семейства педиоцинов. Наиболее изученными среди них являются энтероцины А и Р. Энтероцин А был впервые выявлен у штамма *Enterococcus faecium* СТС492, изолированного из сыровяленой колбасы [6]. Он состоит из 47 аминокислотных остатков, его молекулярный вес 4,8 кДа. Аминокислотная последовательность энтероцина А выявила гомологию 38,3-54,6 % с группой педиоцин подобных бактериоцинов, которые продуцируются представителями родов *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* и *Carnobacterium*. Энтероцин А угнетает рост лактобацилл, педиококков, энтерококков, листерий, и не влияет на рост лактококков. Энтероцин А был также обнаружен у других штаммов *E. faecium*, выделенных из сырокопченых колбас [12], молочных продуктов [25]. Это свидетельствует о том, что энтероцин А может быть широко распространенным среди штаммов энтерококков и, возможно, играет важную роль в контроле роста листерий в естественной среде обитания, в частности в ферментированных продуктах, из которых наиболее часто выделяются бактериоциногенные штаммы.

© И.Л. Гармашева, Н.К. Коваленко, 2011

Энтероцин Р впервые был обнаружен у штамма *E. faecium* P13 [13], а позже у штаммов *E. faecium* AA13, G16 и L50, выделенных из сырокопченых колбас [15]. Энтероцин Р проявляет широкий спектр антагонистической активности, угнетает рост *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus* sp., а также патогенных микроорганизмов *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum*, *C. perfringens*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*. Энтероцин Р состоит из 44 аминокислотных остатков, молекулярный вес 4,5 кДа. Его структурный ген расположен на хромосоме [13].

Энтероцин CRL35 продуцировался штаммом *E. faecium*, изолированным из твердого сыра домашнего приготовления в Аргентине. Это пептид из 43 аминокислотных остатков с молекулярным весом 4,9 кДа. Проявляет активность в отношении листерий [26], а также противовирусную активность [68].

Энтероцин SE-K4 продуцируется штаммом *E. faecalis*, выделенным из силоса, это пептид из 43 аминокислотных остатков с молекулярным весом 5,3 кДа. Выявлена его высокая степень гомологии с бактериоцинами 31 и Т8. Этот бактериоцин проявляет активность в отношении грамположительных бактерий *E. faecium*, *E. faecalis*, *B. subtilis*, *C. beijerinckii* и *L. monocytogenes* [24]. Продукция энтероцина SE-K4 и иммунитет к нему опосредуются генами, расположенными на плазмиде рЕК4S, размером 60 т. п. н. [23].

Штамм *E. faecalis* Y1717, выделенный из клинического образца, продуцирует бактериоцин 31, состоящий из 43 аминокислотных остатков и кодируемый плазмидным геном. Этот энтероцин имеет узкий спектр антагонистического действия, ограниченный *Enterococcus* sp. и *L. monocytogenes* [62].

Бактериоцин RC714 был выделен у штамма *E. faecium*, устойчивого к ванкомицину. Его пептидная последовательность содержит 42 аминокислотных остатка и выявила 88 % идентичность с бактериоцином 31. Генетические детерминанты не были определены, однако бактериоциногенная активность передавалась вместе с устойчивостью к ванкомицину. Это может свидетельствовать о плазмидной локализации структурных генов бактериоцина, так как гены резистентности к ванкомицину расположены на плазмиде [21]. Бактериоцин Т8 продуцируется штаммом *E. faecium* Т8, выделенным из вагинального секрета детей, инфицированных ВИЧ. По аминокислотной последовательности он на 98 % гомологичен бактериоцину RC714 и на 88 % гомологичен бактериоцину 31. Структурный ген бактериоцина Т8 расположен на плазмиде. Бактериоцин Т8 активен в отношении уропатогенных штаммов *E. faecalis*, а также *Lactobacillus* sp., *Enterococcus* sp., *Propionibacterium* sp. [20].

Два ванкомицин устойчивых клинических изолята *E. faecium* продуцировали антимикробный пептид, получивший название бактериоцин 43. Структурные гены бактериоцина локализованы на плазмиде рDT1. Бактериоцин 43 угнетает рост *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. hirae*, *E. durans* и *L. monocytogenes* [59].

Подкласс П.2 объединяет энтероцины, синтезирующиеся без лидерного пептида. Энтероцин L50 был впервые выделен из культуральной жидкости штамма *E. faecium* L50 [14]. Было показано, что данный энтероцин состоит из двух пептидов (L50A и L50B), каждый из которых обладает антимикробной активностью и вместе проявляют синергизм. Продукция энтероцина L50 была также отмечена у штаммов *E. faecium* 6Т1а [27] и *E. faecium* F58, выделенного из марокканского традиционного сыра [2]. Энтероцин L50 обладает широким спектром действия, активен в отношении *Enterococcus* sp., *Lactobacillus* sp., *L. lactis*, *P. pentosaceus*, *L. monocytogenes*, *B. cereus* [14, 22]. Генетические детерминанты пептидов L50A и L50B расположены на плазмиде рC17 (50 т. п. н.) штамма *E. faecium* L50 [18].

Продуцентом энтероцина RJ-11 является штамм *E. faecalis* RJ-11, выделенный из рисовых отрубей. Молекулярный вес энтероцина составляет 5,0 кДа и он выявил высокую гомологию с энтероцином L50A [69]. Штамм *E. faecalis*, изолированный из копчиковой железы удода (*Urupa eops*), синтезировал два антимикробных пептида, энтероцины MR10A и MR10B с молекулярным весом 5,20 и 5,21 кДа, соответственно, их структурные гены локализованы на хромосоме. Данные энтероцины проявляют синергизм и характеризуются широким спектром антагонистического действия.

Штамм *E. faecium* L50, помимо энтероцинов Р и L50, является продуцентом энтероцина Q. Это относительно небольшой пептид, состоит из 34 аминокислотных остатков, его

молекулярный вес составляет 3,9 кДа [15]. Структурный ген энтероцина Q расположен на плазмиде pCIZ2 [18].

Энтероцин EJ97 продуцируется штаммом *E. faecalis* EJ97, выделенным из городских сточных вод, обладает широким спектром активности, угнетает рост энтерококков, некоторых видов рода *Bacillus*, *Listeria* и *S. aureus* [33]. Это пептид из 44 аминокислотных остатков, молекулярный вес 5,3 кДа. Его структурный ген расположен на конъюгативной плазмиде pEJ97 размером 60 т. п. н. [54].

Класс II.3 включает энтероцин 1071, который продуцируют штаммы *E. faecalis* BFE1071 и FAIR-E 309. Энтероцин 1071 состоит из двух пептидов, 1071А и 1071В, обладающих широким спектром активности, а именно в отношении представителей родов *Clostridium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Propionibacterium*, *Streptococcus*, *Micrococcus* и *Listeria*. Генетические детерминанты энтероцинов расположены на плазмидной ДНК, пептиды 1071А и 1071В состоят из 39 и 34 аминокислотных остатков, соответственно [8, 29].

Энтероцин В был впервые выявлен у штамма *E. faecium* T136 из сырокопченной колбасы [12], который также продуцирует энтероцин А. Энтероцин В состоит из 53 аминокислотных остатков, молекулярный вес 5,4 кДа, структурный ген расположен на хромосоме. Энтероцин В не проявлял активность в отношении грамотрицательных бактерий, но в то же время подавлял рост *Enterococcus* sp., *Lactobacillus* sp., *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *C. perfringens*. Ингибирующая активность энтероцина В была сходной с энтероцином А, а в некоторых случаях минимальная ингибирующая концентрация энтероцина А была ниже, чем для энтероцина В. Также отмечено, что некоторые индикаторные штаммы были устойчивы к одному из этих бактериоцинов и чувствительны к другому. Такие отличия в антимикробном спектре энтероцинов А и В, по мнению авторов, свидетельствуют о разных мишенях для данных энтероцинов. Также был продемонстрирован их синергизм [12]. Другими авторами было показано, что некоторые штаммы энтерококков, продуцирующие энтероцин А, так же синтезируют и энтероцин В [25, 28].

Устойчивый к ванкомицину штамм *E. faecalis* VRE200 продуцирует бактериоцин 32, который проявляет антимикробную активность в отношении *E. faecium*, *E. hirae*, *E. durans* и не действует на *L. monocytogenes* [39].

К классу III отнесен энтероцин AS-48, продуцируемый штаммом *E. faecalis* S-48, который был выделен из клинического материала. Он угнетает рост грамположительных бактерий, таких как *Bacillus* spp., *Corynebacterium glutamicum*, *C. bovis*, *Mycobacterium phlei*, *Micrococcus luteus*, *S. aureus*, а также некоторые грамотрицательные микроорганизмы, такие как *S. typhimurium*, *Shigella sonnei*, *E. coli*, *Pseudomonas* spp., *Klebsiella pneumoniae* [31, 32]. Энтероцин AS-48 представляет собой замкнутую в кольцо белковую молекулу, состоящую из 70 аминокислотных остатков. Структурные гены энтероцина AS-48 расположены на плазмиде pMB2 [48].

К IV классу относится энтеролизин А, который синтезируется штаммами *E. faecalis* LMG 2333 и DPS 7280. Это термолabileный, высокомолекулярный протеин с молекулярным весом 34,5 кДа. Энтеролизин А активен в отношении *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Bacillus*, *Listeria*, *Staphylococcus* spp. [52].

Таким образом, энтерококки с бактериоциногенными свойствами выделяются из различных экониш, а именно молочных и мясных продуктов питания [2, 17], желудочно-кишечного тракта человека, животных и птиц [40, 41, 55, 56, 58], растительного материала [38, 60, 70], окружающей среды [47]. Большинство хорошо изученных бактериоциногенных штаммов относятся к видам *E. faecium* и *E. faecalis*, тогда как представители некоторых видов, таких как *E. casseliflavus* [53], *E. gallinarum* [40], *E. avium* [5], *E. durans* [38], *E. hirae* [55, 56], остаются мало исследованными.

По спектру антагонистической активности энтероцины делятся на группы, согласно предложенной классификации бактериоцинов молочнокислых бактерий [16]. Бактериоцин Вас 32 [39], бактериоцин Т8 [20] относятся к бактериоцинам с узким спектром действия, ограниченными штаммами вида продуцента или видами того же рода (*Enterococcus*, *Lactobacillus*). Мундицин KS [42], дуранцин TW-49М, бактериоцин штамма *E. avium* PA1 [5] - бактериоцины с средним спектром действия, которые активны по отношению к другим родам молочнокислых

бактерий (*Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*) и грамположительных бактерий, включая патогены, которые вызывают порчу продуктов питания (роды *Listeria*, *Staphylococcus*, *Clostridium*). Энтероцины L50A и L50B [13], хирецин JM79 [55], энтероцин SE-K4 [24], энтероцин RJ11 [69] - бактериоцины с широким спектром действия, угнетают рост широкого спектра грампозитивных бактерий, включая роды, указанные выше (*Listeria*, *Staphylococcus*, *Clostridium*), а также *Propionibacterium* spp. и *Bacillus* spp.

В работах последних лет, наряду с микробиологическими методами исследования антагонистической активности, изучается наличие структурных генов энтероцинов с использованием ПЦР-анализа. Было показано, что гены энтероцинов, в частности энтероцинов А, В, Р, L50A и L50B, широко распространены среди штаммов разного происхождения [17, 25, 41, 58]. В то же время, многими авторами было отмечено отсутствие корреляции между наличием генов известных энтероцинов и спектром антагонистической активности [22, 50, 58].

Продукция бактериоцинов зависит от множества факторов, в частности от условий культивирования и состава питательной среды. Так, для штамма *E. faecium* ST311LD наивысший уровень продукции бактериоцина наблюдался при pH 5,0-6,0 и температуре 30 °C [60], тогда как для штамма *E. faecium* RS C5 оптимальными были pH 6,5 и температура 20 °C или 35 °C. При температуре 30 °C продукция энтероцина RZS C5 наблюдалась только при pH 5,5 и 8,0 [45]. В то же время для оптимального уровня продукции бактериоцина штаммом *E. faecium* GM-1 требовалась температура 35-40 °C и pH 6,0-7,0 [41].

Самая высокая активность продукции бактериоцина *E. mundtii* QU2 была отмечена на среде MPC, тогда как наиболее интенсивный рост данного штамма наблюдался на среде АТР [70]. Аналогично, низкий уровень активности бактериоцина штамма *E. faecium* ST311LD был отмечен при росте на средах ВН1 и М17, несмотря на высокий титр клеток. В то же время, несмотря на хороший рост на мелассе, продукция бактериоцина у штамма *E. faecium* ST311LD отсутствовала. [60]. Таким образом, оптимальные условия для роста клеток не всегда являются наилучшими для продукции бактериоцинов.

Продукция энтероцинов может зависеть от наличия твин-80 в питательной среде. В присутствии данного компонента уровень продукции бактериоцина штаммом *E. faecium* ST311LD повышался на 50 % [60]. Однако влияние твин-80 на продукцию бактериоцинов может быть объяснено не стимуляцией продукции бактериоцина, а снижением его адсорбции на поверхности клеток-продуцентов, что было установлено авторами для штамма *E. mundtii* QU2 [70].

Рост штамма *E. faecium* ST311LD в присутствии триптона, как единственного источника азота, приводил к повышению продукции бактериоцина в 2-4 раза, по сравнению с мясным или дрожжевым экстрактами [60]. Ограничение доступного азота до одного источника приводило к снижению антибактериальной активности штамма *E. faecium* GM-1 в сравнении с полноценной средой MPC [41]. Исключение отдельных источников азота из среды MPC приводило к снижению активности продукции бактериоцина штаммом *E. mundtii* QU2 на 50 %, по сравнению с контролем. На среде MPC без источников азота (пептон, дрожжевой и мясной экстракты) полностью прекращался синтез бактериоцина [70].

Продукция бактериоцина может зависеть от источника углевода. Так, уровень продукции бактериоцина штаммом *E. faecium* ST311LD был выше в присутствии 20 г/л глюкозы или мальтозы, в отличие от лактозы, маннозы или фруктозы [60]. Штамм *E. faecium* GM-1 практически не продуцировал бактериоцин при выращивании на среде с галактозой, в отличие от других сахаров, таких как фруктоза, манноза, сахароза, раффиноза, рамноза, сорбитол, арабиноза, мальтоза или лактоза [41]. У штамма *E. mundtii* QU2 использование мальтозы, галактозы или ксилозы приводило к снижению продукции бактериоцина, в сравнении с фруктозой, сахарозой или лактозой [70].

Влияние солей неорганических и органических кислот изучено мало. Показано, что увеличение концентрации K_2HPO_4 в диапазоне 0,5-10,0 г/л приводило к снижению активности бактериоцина штамма *E. faecium* ST311LD [60]. Отсутствие ацетата натрия в среде MPC значительно снижало продукцию бактериоцина штаммом *E. faecium* GM-1 [41]. Добавление в среду MPC ионов Ca^{2+} в виде $CaCO_3$ или $CaCl_2$ значительно угнетало продукцию бактериоцина у штамма *E. mundtii* QU2 [70].

Также некоторыми авторами было показано, что антагонистическая активность штаммов энтерококков проявлялась только на агаризованной среде при первичном скрининге, но безклеточная культуральная жидкость этих штаммов такого действия не имела [52, 55].

Использование энтерококков в пищевых технологиях обусловлено как их вкладом в формирование органолептических характеристик продукта, так и продукцией бактериоцинов. Особый интерес вызывает использование бактериоциногенных штаммов энтерококков как стартовых или защитных культур при изготовлении кисломолочных и мясных продуктов, в частности сыров и сырокопченых колбас [7, 11], а также ферментированных продуктов растительного происхождения [19].

Таблица

**Классификация бактериоцинов энтерококков,
согласно Franz et al., (2007) [30]**

Класс, подкласс	энтероцины	Штамм-продуцент
I	Цитолизин	<i>E. faecalis</i>
II		
II.1	Энтероцин А Энтероцин Р Энтероцин CRL35 Энтероцин SE-K4 Бактериоцин 31 Бактериоцин 43 Бактериоцин Т8	<i>E. faecium</i> CTC942 <i>E. faecium</i> P13 <i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i> <i>E. faecalis</i> Y1717 <i>E. faecium</i> <i>E. faecium</i> T8
II.2	Энтероцин L50 Энтероцин RJ-11 Энтероцин MR10 Энтероцин Q Энтероцин EJ97	<i>E. faecium</i> L50 <i>E. faecalis</i> RJ-11 <i>E. faecalis</i> <i>E. faecium</i> L50 <i>E. faecalis</i> EJ97
II.3	Энтероцин 1071 Энтероцин В Бактериоцин 32	<i>E. faecalis</i> BFE1071 <i>E. faecium</i> T136 <i>E. faecalis</i> VRE200
III	Энтероцин AS-48	<i>E. faecalis</i> S-48
IV	Энтеролизин А	<i>E. faecalis</i> LMG 2333

Определенную заинтересованность вызывает использование полуочищенных и очищенных препаратов энтероцинов в качестве пищевых консервантов, особенно для неферментированных продуктов питания. Показано, что использование энтероцина AS-48 как натурального консерванта может быть хорошей альтернативой традиционным консервантам для предотвращения развития посторонней микрофлоры в продуктах [1]. Изучение стабильности энтероцина AS-48 [35] показало, что при разбавлении концентрата энтероцина в 10 раз фруктовыми или овощными соками приводит к снижению или потере антимикробной активности. Предварительная тепловая обработка сока при температуре 72-98°C перед добавлением энтероцина предотвращала потерю антимикробной активности, что свидетельствует о том, что потеря активности, возможно, связана с активностью протеолитических ферментов. Также показана эффективность применения энтероцина AS-48 для подавления развития грамотрицательных бактерий в продуктах растительного происхождения [49].

Некоторыми авторами наблюдалось синергичное действие энтероцина AS-48 и других антимикробных веществ и фенольных соединений [36, 64], натуральных консервантов, таких как лимонная и молочная кислоты [4], а также комбинированное действие различных методов стерилизации и добавления AS-48. Показано, что энтероцин AS-48 может быть использован в сырокопченной колбасе для подавления роста *L. monocytogenes*, а в сочетании с обработкой высоким давлением усиливается антимикробное действие на сальмонеллу [3]. Показана эффективность использования энтероцина AS-48 в сочетании с воздействием высокоинтенсивного импульсного электрического поля для предотвращения развития экзополисахарид-продуцирующих штаммов *L. diolivorans* и *P.* в яблочном соке [63, 67]. Показано, что энтероцин AS-48 может быть использован для предотвращения развития таких патогенных бактерий,

как *S. aureus*, *B. cereus* и *L. monocytogenes* в различных видах десертов [Viedma et al., 2009b] и энергетических напитков [66].

Несмотря на положительные эффекты, при добавлении очищенных бактериоцинов в продукты могут возникнуть проблемы, связанные с полной или частичной потерей антимикробной активности под влиянием различных факторов в процессе приготовления и при хранении конечного продукта. Альтернативой является введение бактериоцинов в упаковочные пленки, что придает им антимикробные свойства, а также предотвращает негативные последствия взаимодействия бактериоцинов с компонентами пищевого продукта. Было показано, что энтероцины А и В, при включении их в биоразлагаемые упаковочные пленки, подавляют рост листерий в готовых мясных продуктах [46].

Таким образом, явления бактериоциногенности широко распространено среди представителей разных видов рода *Enterococcus*. Наиболее перспективным направлением является использование энтероцинов как биоконсервантов в пищевой промышленности. Однако, описанные в литературе процессы получения, очистки и применения энтероцинов проводятся в основном в лабораторных условиях. Вопрос коммерческого использования энтероцинов требует решения проблем эффективного, с экономической точки зрения, получения бактериоцинов [3].

І.І. Гармашева, Н.К. Коваленко

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, Київ

ЕНТЕРОЦИНИ – РІЗНОМАНІТТЯ, ВЛАСТИВОСТІ І ПРАКТИЧНЕ ВИКОРИСТАННЯ

Резюме

В огляді представлені сучасні відомості щодо бактериоциногенної активності бактерій роду *Enterococcus*. Наведено інформацію про різноманіття ентероцинів, їх властивості, вплив умов культивування на їх продукцію, спектри активності. Висвітлено дані про практичне використання ентероцинів як біоконсервантів у харчових продуктах тваринного й рослинного походження.

Ключові слова: ентерококи, бактериоцини, ентероцини, біоконсерванти.

I. L. Garmasheva, N. K. Kovalenko

*Zabolotny Institute of Microbiology and Virology,
National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv*

ENTEROCINS – DIVERSITY, PROPERTIES AND PRACTICAL USE

S u m m a r y

This review presents current information about bacteriocinogenic activity of bacteria of *Enterococcus* genus. Information is presented about enterocins diversity, their properties, the effect of culture conditions on their production, activity spectrum. Data on the practical use of enterocins as biopreservatives in food products of animal and vegetable origin.

The paper is presented in Russian.

К e y w o r d s: enterococci, bacteriocins, enterocins, biopreservatives

The authors' address: *I. L. Garmasheva, Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine, 154 Acad.Zabolotny St., Kyiv, MSP, D03680, Ukraine.*

1. *Abriouel H., Lucas R., Ben Omar N., Valdivia E., Gálvez A.* Potential applications of the cyclic peptide enterocin AS-48 in the preservation of vegetable foods and beverages // *Probiotics Antimicrob. Prot.* – 2010. – 2. – P. 77–89.
2. *Achemchem F., Martínez-Bueno M., Abrini J., Valdivia E., Maqueda M.* *Enterococcus faecium* F58, a bacteriocinogenic strain naturally occurring in Jben, a soft, farmhouse goat's cheese made in Morocco // *J. Appl. Microbiol.* – 2005. – 99, N 1. – P.141-150.

3. Ananou S., Garriga M., Jofré A., Aymerich T., Gálvez A., Maqueda M., Martínez-Bueno M., Valdivia E. Combined effect of enterocin AS-48 and high hydrostatic pressure to control food-borne pathogens inoculated in low acid fermented sausages // *Meat Sci.* – 2010. – **84**, N 4. – P. 594-600
4. Antonio C.M., Abriouel H., López R.L., Omar N.B., Valdivia E., Gálvez A. Enhanced bactericidal activity of enterocin AS-48 in combination with essential oils, natural bioactive compounds and chemical preservatives against *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat salad // *Food Chem. Toxicol.* – 2009. – **47**, N 9. – P. 2216-23.
5. Audisio M.C., Terzolo H.R., Apella M. Bacteriocin from honeybee *Enterococcus avium*, active against *Listeria monocytogenes*// *Appl. Environ. Microbiol.* – 2005. – **71**, N 6. – P. 3373-3375.
6. Aymerich T., Holo H., Havarstein L.S., Hugas M., Garriga M., Nes I.F. Biochemical and genetic characterization of enterocin A from *E. faecium*, a new antilisterial bacteriocin in the pediocin family of bacteriocins// *Appl. Environ. Microbiol.* – 1996. – **62**, N 5. – P. 1676-1682.
7. Aymerich T., Garriga M., Ylla J., Vallier J., Monfort J.M., Hugas M. Application of enterocins as biopreservatives against *Listeria innocua* in meat products// *J. Food Prot.* – 2000. – **63**, N 6. – P. 721-726.
8. Balla E., Dicks L.M.T., Du Toit M., van der Merwe M.J., Holzapfel W.H. Characterization and cloning of the genes encoding enterocin 1071A and enterocin 1071B, two antimicrobial peptides produced by *Enterococcus faecalis* BFE 1071 // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2000. – **66**, N 4. – P. 1298-1304.
9. Booth M.C., Bogie C.P., Sahl H.G., Siezen R.J., Hatter K.L., Gilmore M.S. Structural analysis and proteolytic activation of *Enterococcus faecalis* cytolysin, a novel lantibiotic // *Mol. Microbiol.* – 1996. – **21**, N 6. – P. 1175-1184.
10. Brandis H., Brandis U. On a bacteriocin-like substance of enterococci// *Pathol. Microbiol. (Basel).* – 1962. – **25**. – P. 632-640.
11. Callewaert R., Hugas M., De Vuyst L. Competitiveness and bacteriocin production of enterococci in the production of Spanish-style dry fermented sausages// *Int. J. Food Microbiol.* – 2000. – **57**, N 1 – P. 33-42.
12. Casaus P., Nilsen T., Cintas L.M., Nes I.F., Hernández P.E., Holo H. Enterocin B, a new bacteriocin from *Enterococcus faecium* T136 which can act synergistically with enterocin A // *Microbiology.* – 1997. – **143**, N 7. – P. 2287-2294.
13. Cintas L.M., Casaus P., Håvarstein L.S., Hernández P.E., Nes I.F. Biochemical and genetic characterization of enterocin P, a novel *sec*-depend bacteriocin from *Enterococcus faecium* P13 with a broad antimicrobial spectrum // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1997. – **63**, N 11. – P. 4321-4330
14. Cintas L.M., Casaus P., Holo H., Hernandez P.E., Nes I.F., Håvarstein L.S. Enterocins L50A and L50B, two novel bacteriocins from *Enterococcus faecium* L50 are related to staphylococcal haemolysins// *J. Bacteriol.* – 1998. – **180**, N 8. – P. 1988-1994
15. Cintas L.M., Casaus P., Hernandez P.E., Håvarstein L.S., Holo H., Hernández P.E., Nes I.F. Biochemical and genetic evidence that *Enterococcus faecium* L50 produces enterocins L50A and L50B, the *sec*-dependent enterocin P and a novel bacteriocin secreted without an N-terminal extension termed enterocin Q// *J. Bacteriol.* – 2000. – **182**, N 23. – P. 6806-6814.
16. Cintas L.M., Casaus M.P., Herranz C. et al. Review: Bacteriocins of lactic acid bacteria // *Food Sci. Tech. Int.* – 2001. – **7**, N 4. – P. 281-305.
17. Cocolin L., Foschino R., Comi G., Fortina M.G. Description of the bacteriocins produced by two strains of *Enterococcus faecium* isolated from Italian goat milk // *Food Microbiol.* – 2007. – **24**, N 7-8. – P. 752-758
18. Criado R., Diep D.B., Aakra A., Gutiérrez J., Nes I.F., Hernández P.E., Cintas L.M. Complete sequence of the enterocin Q-encoding plasmid pCI22 from the multiple bacteriocin producer *Enterococcus faecium* L50 and genetic characterization of enterocin Q production and immunity// *Appl. Environ. Microbiol.* – 2006. – **72**, N 10. – P. 6653-6666.
19. de Castro A., Montano A., Casado F.J. et al. Utilization of *Enterococcus casseliflavus* and *Lactobacillus pentosus* as starter cultures for Spanish-style green olive fermentation // *Food Microbiol.* – 2002. – **19**, N 6. – P. 637-644.
20. De Kwaadsteniet M., Fraser T., Van Reenen C.A., Dicks L.M.T. Bacteriocin T8, a novel class IIa *sec*-dependent bacteriocin produced by *Enterococcus faecium* T8, isolated from vaginal secretions of children infected with human immunodeficiency virus // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2006. – **72**, N 7. – P. 4761-4766.

21. Del Campo R., Tenorio C., Jiménez-Díaz R., Rubio C., Gómez-Lus R., Baquero F., Torres C. Bacteriocin production in vancomycin-resistant and vancomycin-susceptible *Enterococcus* isolates of different origins// Antimicrob. Agents Chemother. – 2001. – **45**, N 3. – P. 905-912.
22. De Vuyst L., Moreno M.R.F., Revets H. Screening for enterocins and detection of hemolysin and vancomycin resistance in enterococci of different origins//Int. J. Food Microbiol. – 2003. – **84**, N 3. – P. 299-318.
23. Doi K., Eguchi T., Choi S.H., Iwatake A., Ohmomo S., Ogata S. Isolation of enterocin SE-K4-encoding plasmid and a high enterocin SE-K4 producing strain of *Enterococcus faecalis* K-4 // J. Biosci. Bioeng. – 2002. – **93**, N 4. – P. 434-436
24. Eguchi T., Kaminaka K., Shima J., Kawamoto S., Mori K., Choi S.H., Doi K., Ohmomo S., Ogata S. Isolation and characterization of enterocin SE-K4 produced by thermophilic enterococci, *Enterococcus faecalis* K-4// Biosci. Biotechnol. Biochem. – 2001.– **65**, N 2. – P. 247-253
25. Ennahar S., Asou Y., Zendo T., Sonomoto K., Ishizaki A. Biochemical and genetic evidence for production of enterocins A and B by *Enterococcus faecium* WHE 81 // Int. J. Food Microbiol. – 2001. – **70**, N 3. – P. 291-301
26. Fariás M.E., Fariás R.N., de Ruíz-Holgado A.P., Sesma F. Purification and N-terminal amino acid sequence of enterocin CRL35, a 'pediocin-like' bacteriocin produced by *Enterococcus faecium* CRL35//Lett. Appl. Microbiol. – 1996. – **22**, N 6. – P. 412-419
27. Floriano B., Ruiz-Barba J.L., Jiménez-Díaz R. Purification and genetic characterization of enterocin I from *Enterococcus faecium* 6T1a, a novel antilisterial plasmid-encoded bacteriocin wich does not belong to the pediocin family of bacteriocins//Appl. Environ. Microbiol. – 1998. – **64**, N 12. – P. 4883-4890.
28. Franz C.M.A.P., Worobo R.W.W., Quadri L.E.N., Schillinger U., Holzappel W.H., Veredas J.C., Stiles M.E. Atypical genetic locus associated with constitutive production of enterocin B by *Enterococcus faecium* BFE 900//Appl. Environ. Microbiol. – 1999. – **65**, N 2. – P. 2170-2178.
29. Franz C.M.A.P., Grube A., Herrmann A., Abriouel H., Stärke J., Lombardi A., Tauscher B., Holzappel W.H. Biochemical and genetic characterization of the two-peptide bacteriocin enterocin 1071 produced by *Enterococcus faecalis* FAIR-E 309//Appl. Environ. Microbiol. – 2002. – **68**, N5. – P. 2550-2554
30. Franz C. M. A. P., van Belkum M. J., Holzappel W. H., Abriouel H. and Gálvez A. Diversity of enterococcal bacteriocins and their grouping in a new classification scheme//FEMS Microbiol. Rev. – 2007. – **31**, N 3. – P. 293-310.
31. Gálvez A., Maqueda M., Valdivia E., Quesada A., Montoya E. Characterization and partial-purification of a broad-spectrum antibiotic AS-48 produced by *Streptococcus faecalis* // Can. J. Microbiol. – 1986.– **32**, N 10. – P. 765–771.
32. Gálvez A., Giménez-Gallego G., Maqueda M., Valdivia E. Purification and amino-acid composition of peptide antibiotic AS-48 produced by *Streptococcus (Enterococcus) faecalis* subsp *liquefaciens* S-48//Antimicrob. Agents Chemother. – 1989. – **33**, N 4. – P. 437–441.
33. Gálvez A., Valdivia E., Abriouel H., Camafeita E., Mendez E., Martínez-Bueno M., Maqueda M. Isolation and characterization of enterocin EJ97, a bacteriocin produced by *Enterococcus faecalis* EJ97 // Arch. Microbiol. – 1998. – **171**, N 1. – P. 59-65.
34. Giraffa G. Functionality of enterococci in dairy products // Int. J. Food Microbiol. – 2003. – **88**, N 2-3. – P. 215-222.
35. Grande M.J., Lucas R., Valdivia E., Abriouel H., Maqueda M., Ben Omar N., Martínez-Cañamero M., Gálvez A. Stability of enterocin AS-48 in fruit and vegetable juices // J. Food Prot. – 2005.– **68**, N 10. – P. 2085–2094.
36. Grande, M.J., Abriouel, H., López, R.L., Valdivia, E., Ben Omar, N., Martínez-Cañamero, M., Gálvez, A. Efficacy of enterocin AS-48 against bacilli in ready-to-eat vegetable soups and purees // J. Food Prot. – 2007.– **70**, N 10.– P. 2339–2345.
37. Herranz C., Mukhopadhyay S., Casaus P., Martínez J.M., Rodríguez J.M., Nes I.F., Hernández P.E., Cintas L.M. *Enterococcus faecium* P21: a strain occurring naturally in dry-fermented sausages producing the class II bacteriocins enterocin A and enterocin B // Food Microbiol. – 2001.– **18**, N 2. – P. 115-131.

38. Hu C.-B., Zendo T., Nakayama J., Sonomoto K. Description of durancin TW-49M, a novel enterocin B-gomologous bacteriocin in carrot-isolated *Enterococcus durans* QU 49//J. Appl. Microbiol. – 2008. –**105**, N 3. – P. 681-690.
39. Inoue T., Tomita H., Ike Y. Bac 32, a novel bacteriocin widely disseminated among clinical isolates of *Enterococcus faecium* // Antimicrob. Agents Chemother. – 2006.– **50**, N 4.– P. 1202-1212.
40. Jennes W., Dicks L.M.T., Verwoerd D.J. Enterocin 012, a bacteriocin produced by *Enterococcus gallinarum* isolated from the intestinal tract of ostrich // J. Appl. Microbiol. – 2000.– **88**, N 2.– P. 349-357
41. Kang J.H., Lee M.S. Characterization of a bacteriocin produced by *Enterococcus faecium* GM-1 isolated from an infant//J. Appl. Microbiol. – 2005. – **98**, N 5– P. 1169-1176.
42. Kawamoto S., Shima J., Sato R., Eguchi T., Ohmomo S., Shibato J., Horikoshi N., Takeshita K., Sameshima T. Biochemical and genetic characterization of mundicin KS, an antilisterial peptide produced by *Enterococcus mundtii* NFRI 7393 // Appl. Environ. Microbiol. – 2002. – **68**, N 8. – P. 3830-3840
43. Kjems E. Studies on streptococcal bacteriophages. I. Technique of isolating phage-producing strains // Acta Pathol. Microbiol. Scand. – 1955. – **36**, N 5. – P. 433-440.
44. Klaenhammer T.R. Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria // FEMS Microbiol. Rev. – 1993. – **12**, N 1-3. – P. 39-86.
45. Leroy F., Vankrunkelsven S., De Greef J., De Vuyst L. The stimulating effect of a harsh environment on the bacteriocin activity by *Enterococcus faecium* RZS C5 and dependency on the environmental stress factor used//Int. J. Food Microbiol. – 2003. –**83**, N 1. – P. 27-38.
46. Marcos B., Aymerich T., Monfort J.M., Garriga M. Use of antimicrobial biodegradable packaging to control *Listeria monocytogenes* during storage of cooked ham // Int. J. Food Microbiol. – 2007. – **120**, N 1-2. – P. 152–158.
47. Mareková M., Lauková A., Skaugen M., Nes I. Isolation and characterization of a new bacteriocin, termed enterocin M, produced by environmental isolate *Enterococcus faecium* AL41 // J. Ind. Microbiol. Biotechnol. – 2007. – **34**, N 8. – P. 533-537.
48. Martínez-Bueno M., Maqueda M., Gálvez A., Samyn B., van Beeumen J., Coyette J., Valdivia E. Determination of the gene sequence and molecular structure of the enterococcal peptide antibiotic AS-48 // J. Bacteriol.- 1994.- **176**, N 20.- P. 6334-6339.
49. Molinos, A.C., Abriouel, H., López, R.L., Valdivia, E., Ben Omar, N., Gálvez, A. Combined physico-chemical treatments based on enterocin AS-48 for inactivation of Gram-negative bacteria in soybean sprouts // Food Chem. Toxicol.- 2008. – **46**, N 9. – P. 2912–2921.
50. Moreno M.R.F., Callewaert R., Devreese B. Isolation and biochemical characterisation of enterocins produced by enterococci from different sources // J. Appl. Microbiol. – 2003. – **94**, N 2. – P. 214-229.
51. Nes I.F., Diep D.B., Havarstein L.S., Brurberg M.B., Eijsink V., Holo H. Biosynthesis of bacteriocins in lactic acid bacteria // Antonie van Leeuwenhoek.- 1996. – **70**, N 2-4. – P. 113-128.
52. Nilsen T., Nes I.F., Holo H. Enterolysin A, a cell wall-degrading bacteriocin from *Enterococcus faecalis* LMG 2333 // Appl. Environ. Microbiol. – 2003. – **69**, N 5. – P. 2975-2984
53. Sabia C., Messi P., de Niederhäusern S., Manicardi G., Bondi M. Study of two bacteriocins produced by *Enterococcus casseliflavus* and *Ent. faecalis*//Lett. Appl. Microbiol. – 2004. – **38**, N 2. – P. 99-105.
54. Sánchez-Hidalgo M., Maqueda M., Gálvez A., Abriouel H., Valdivia E., Martínez-Bueno M. The genes coding for enterocin EJ97 production by *Enterococcus faecalis* EJ97 are located on a conjugative plasmid//Appl. Environ. Microbiol. – 2003. – **69**, N 3. – P. 1633-1641.
55. Sánchez J., Basanta A., Gómez-Sala B., Herranz C., Cintas L.M., Hernández P.E. Antimicrobial and safety aspects and biotechnological potential of bacteriocinogenic enterococci isolated from mallard ducks (*Anas platyrhynchos*) // Int. J. Food Microbiol. – 2007. – **117**, N 3. – P. 295-305
56. Siragusa G.R. Production of bacteriocin inhibitory to *Listeria* species by *Enterococcus hirae* // Appl. Environ. Microbiol. – 1992. – **58**, N 11. – P. 3508-3513.
57. Sparo M.D., Castro M.S., Andino P.J., Lavigne M.V., Ceriani C., Gutiérrez G.L., Fernández M.M., De Marzi M.C., Malchiodi E.L., Manghi M.A. Partial characterization of enterocin MR99 from a corn silage isolate of *Enterococcus faecalis* // J. Appl. Microbiol. – 2006. – **100**, N 1. – P. 123-134

58. Strompfová V., Lauková A. In vitro study on bacteriocin production of enterococci associated with chickens // *Anaerobe*. – 2007. – **13**, N 1-2. – P. 228-237
59. Todokoro D., Tomita H., Inoue T., Ike Y. Genetic analysis of bacteriocin 43 of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2006. – **72**, N 11. – P. 6955-6964
60. Todorov S.D., Dicks M.T. Optimization of bacteriocin ST311LD production by *Enterococcus faecium* ST311LD, isolated from spoiled black olives // *J. Microbiol.* – 2005. – **43**, N.4. – P. 370-374.
61. Todorov S.D., Wachsman M.B., Knoetze H., Meincken M., Dicks L.M. An antibacterial and antiviral peptide produced by *Enterococcus mundtii* ST4V isolated from soya beans // *Int. J. Antimicrob. Agents*. – 2005. – **25**, N 6. – P. 508-513.
62. Tomita H., Fujimoto S., Tanimoto K., Ike Y. Cloning and genetic organization of the bacteriocin 31 determinant encoded on the *Enterococcus faecalis* pheromone-responsive conjugative plasmid pY117 // *J. Bacteriol.* – 1996. – **178**, N 12. – P. 3585-3593.
63. Viedma P.M., Abriouel H., Sobrino L.A., Ben O.N., Lucas L.R., Valdivia E., Martín B.O., Gálvez A. Effect of enterocin AS-48 in combination with high-intensity pulsed-electric field treatment against the spoilage bacterium *Lactobacillus diolivorans* in apple juice // *Food Microbiol.* – 2009. – **26**, N 5. – P. 491-496.
64. Viedma P.M., Abriouel H., Omar N.B., López R.L., Gálvez A. Antistaphylococcal effect of enterocin AS-48 in bakery ingredients of vegetable origin, alone and in combination with selected antimicrobials // *J. Food Sci.* – 2009a. – **74**, N 7. – P. M384-M389.
65. Viedma P.M., Abriouel H., Omar N.B., López R.L., Valdivia E., Gálvez A. Assay of enterocin AS-48 for inhibition of foodborne pathogens in deserts // *J. Food Prot.* – 2009b. – **72**, N 8. – P. 1654-1659.
66. Viedma P.M., Abriouel H., Omar N.B., López R.L., Valdivia E., Gálvez A. Antibacterial protection by enterocin AS-48 in sport and energy drinks with less acidic pH values // *J. Food Prot.* – 2009c. – **72**, N 4. – P. 881-884.
67. Viedma P.M., López A.S., Omar N.B., Abriouel H., López R.L., Beloso O.M., Gálvez A. Increased inactivation of exopolysaccharide-producing *Pediococcus parvulus* in apple juice by combined treatment with enterocin AS-48 and high-intensity pulsed electric field // *J. Food Prot.* – 2010. – **73**, N 1. – P. 39-43.
68. Wachsman M.B., Farias M.E., Takeda E., Sesma F., De Ruiz Holgado A.P., De Torres L.A., Coto C.E. Antiviral activity of enterocin CRL35 against herpesviruses // *Int. J. Antimicrob. Agents*. – 1999. – **12**, N 4. – P. 293-299
69. Yamamoto Y., Togawa Y., Shimosaka M., Okazaki M. Purification and characterization of a novel bacteriocin produced by *Enterococcus faecalis* strain RJ-11 // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2003. – **69**, N 10. – P. 5746-5753.
70. Zendo T., Eungruttanagorn N., Fujioka S., Tashiro Y., Nomura K., Sera Y., Kobayashi G., Nakayama J., Ishizaki A., Sonomoto K. Identification and production of a bacteriocin from *Enterococcus mundtii* QU 2 isolated from soybean // *J. Appl. Microbiol.* – 2005. – **99**, N 5. – P. 1181-1190

Отримано 12.10.2010