

## 5.1 Zastosowanie fagów w rolnictwie i przemyśle spożywczym

Numer slajdu i zawartość:

- 1) Ta część poświęcona jest wykorzystaniu bakteriofagów jako czynników przeciwbakteryjnych w rolnictwie i przemyśle spożywczym.
- 2) Na początku powiemy, dlaczego właściwie w przemyśle istnieje pilne zapotrzebowanie na alternatywne czynniki przeciwbakteryjne.  
Do 2050 wielkość populacji najprawdopodobniej osiągnie ponad 9 miliardów ludzi. Będzie to skutkowało również zwiększonym zapotrzebowaniem na żywność. Nawet do 10% światowej produkcji żywności ulega zniszczeniu ze względu na bakteryjne infekcje roślin. Zapobieganie lub zwalczanie tego typu infekcji mogłoby w pewnym stopniu posłużyć sprostaniu tym wymaganiom w przyszłości.  
Rysunki przedstawiają niektóre przykłady chorób roślin uprawnych. Każda z chorób spowodowana jest przez konkretny gatunek bakterii, tj.: *Agrobacterium radiobacter* biovar 1, powodująca guzowatość korzeni pomidora czy *Xanthomonas campestris* pathovar *campestris*, powodująca czarną zgniliznę kapusty.  
Obecnie, jedyną możliwością na zmniejszenie wpływu infekcji bakteryjnych na plony jest stosowanie środków zapobiegawczych, takich jak płodozmian czy usuwanie roślin dotkniętych chorobą, aby ograniczyć rozprzestrzenianie infekcji. Jednakże, ze względu na bakterie pozostające w glebie czy na szczątkach roślinnych niemożliwym jest zredukowanie infekcji bakteryjnych roślin przez stosowanie jedynie wspomnianych środków zapobiegawczych.  
Tradycyjne środki chemiczne na bazie miedzi, jak siarczan miedzi czy tlenek miedzi, były stosowane do zwalczania infekcji, ale zostały zakazane ze względu na szerokie spektrum aktywności, co skutkowało usuwaniem fazy bakteryjnej gleby. Co więcej, pozostałości miedzi mogą być szkodliwe dla środowiska. Stosowanie antybiotyków wydaje się być możliwym rozwiązaniem, aczkolwiek ze względu na fakt, że rośliny uprawne trafiają do łańcucha pokarmowego, przyczyniłoby się to rozprzestrzeniania antybiotykooporności.
- 3) Po zbiorach, znaczna ilość produktów żywnościowych również ulega zepsuciu na skutek aktywności bakterii. Przykładami są: zgnilizna warzyw będąca skutkiem infekcji pomidorów czy papryki przez *Erwinia* species, czy psucie mięsa (gównie drobiu) zainfekowanego przez *Pseudomonas fluorescens*. Skutkuje to zmianami w walorach smakowych produktów żywnościowych, przez co nie nadają się do konsumpcji. Generalnie, stosowanie antybiotyków jest zabronione do zapobiegania tego typu kontaminacji, z tego samego powodu jak wspomniano wcześniej. W związku z tym, stosowanie pewnych chemicznych środków konserwujących byłoby dopuszczalne, aby przedłużyć trwałość produktów. Aczkolwiek konsumenci coraz częściej oczekują produktów o akceptowalnej jakości i pozbawionych zanieczyszczeń.  
Nawet przy zastosowaniu środków zapobiegawczych oraz Dobrej Praktyki Wytwarzania, kontroli jakości i higieny, 25% żywności wytworzonej rocznie ulega zepsuciu na skutek działalności bakterii. Z tego powodu znalezienie alternatywnych środków konserwujących staje się kluczowe, aby udało się sprostać wciąż rosnącemu zapotrzebowaniu na żywność.

- 4) W przemyśle spożywczym, poza wpływem bakterii na psucie się żywności, kontaminacja pewnego typu patogenami może powodować poważne zagrożenie dla zdrowia. Przykładami mogą być zatrucia pokarmowe wywołane przez *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes* czy *Escherichia coli* O157:H7. W 2011 roku oszacowano, że corocznie w samych Stanach Zjednoczonych dochodzi do 48 milionów przypadków zatruc pokarmowych, z czego 128 000 kończy się hospitalizacją a około 3 000 prowadzi do śmierci.

Powinno stać się już jasne, że istnieje pilna potrzeba znalezienia alternatywnych czynników przeciwbakteryjnych, aby zredukować straty w uprawach, psuciu się żywności, czy zmniejszyć częstość zatruc pokarmowych.

- 5) Zastosowanie bakteriofagów litycznych jako biopestycydów, środków konserwacji żywności i czynników bioterapeutycznych jest słuszną i biologicznie uzasadnioną alternatywą. Jako skutek infekcji fagiem litycznym, komórka gospodarza ulegnie lizie i uwolnione zostaną nowe bakteriofagi, które mogą następnie zainfekować pozostałe bakterie.

Terapia fagowa posiada kilka zalet w porównaniu z konwencjonalnymi chemicznymi pestycydami, środkami konserwującymi i terapeutycznymi. Po pierwsze, fagi są ekologiczne i przyjazne dla środowiska, ponieważ są biodegradowalne. Co więcej, fagi namnażają się w gospodarzu i w stadium końcowym doprowadzają do jego zniszczenia aby uwolnić swoje potomstwo. Zdolność do samo-namnażania jest ogromną zaletą przewyższającą inne metody, ponieważ zmniejsza to ilość koniecznych do zastosowania dawek. Dodatkowo fagi są bardzo selektywne względem bakterii czy patogenów. Jest to bardzo ważna cecha ze względu na fakt, że fag nie będzie wpływał negatywnie na rośliny uprawne, naturalną florę bakteryjną gleby czy też bakterie probiotyczne obecne i niezbędne w produktach spożywczych. Jednakże ta wysoka specyficzność może być również wadą, ponieważ fag może mieć na tyle wąskie spektrum aktywności, że będzie w stanie zaatakować tylko określony szczep bakteryjny, pozostawiając część bakterii nietkniętych. Rozwiązaniem tego problemu jest stosowanie koktajli fagowych, złożonych z różnych fagów, których zasięg gospodarzy łącznie może pokryć cały gatunek. Stosowanie różnych fagów wpływa również na redukcję szybko rozwijającej się oporności. Co więcej, stosowanie koktajli fagowych jest również ekonomicznie opłacalne dla producenta, ponieważ jest tańsze w produkcji niż konwencjonalne pestycydy czy środki konserwujące.

- 6) Przejdźmy do przykładów zastosowania fagoterapii w rolnictwie i przemyśle spożywczym.

W ostatnich latach zostało opublikowanych wiele badań z obiecującymi wynikami na temat zastosowania fagów jako biopestycydów przeciwko ważnym bakteryjnym patogenom roślin jak np. *Dickeya*, *Ralstonia*, *Xanthomonas* czy *Pseudomonas*. Jeśli chcesz dowiedzieć się więcej na temat tych badań, możesz skorzystać z referencji zawartych w tabeli.

Co ważne w tego typu badaniach, gdy fag prezentuje duży potencjał infekcyjny w testach *in vitro*, nie musi to być jednoznaczne z efektywnością tych fagów jako czynnik biokontroli w trakcie uprawy, dlatego też kluczowe są testy w naturalnym środowisku, w jakim fagi będą stosowane. W momencie gdy próby pokażą znaczną

redukcję symptomów infekcji bakteryjnej po zastosowaniu fagów, produkt fagowy może być zarejestrowany i zatwierdzony jako biopestycyd przez odpowiednie władze.

- 7) Kilka biopestycydów fagowych jest dostępnych na rynku. AgriPhage, biopestycyd firmy OmniLytics (USA), zarejestrowany w 2006. To dwa koktajle fagowe specyficzne względem *Xanthomonas campestris* pathovar *vesicatoria* i *Pseudomonas syringae* pathovar *tomato*, dedykowane do zapobiegania i kontroli bakteryjną plamistość pomidora i papryki.  
Węgierska firma Enviroinvest jako druga zarejestrowała swój biopestycyd. Erwiphage stosuje się na zarazę ogniową jabłoni wywoływaną przez *Erwinia amylovora*.  
Oba produkty są sprzedawane jako skoncentrowane płyny, które należy rozcieńczyć w wodzie użytej do spryskiwania roślin na polach uprawnych czy w szklarniach.  
Ponieważ fagi są wrażliwe na promieniowanie UV, preparaty powinny być aplikowane kilka razy w tygodniu, najlepiej późnym wieczorem lub przed świtem.
- 8) W przemyśle spożywczym również istnieje duży potencjał w zastosowaniu fagów jako naturalnych czynników antybakteryjnych do kontroli patogenów żywności na różnych etapach produkcji: od dekontaminacji inwentarza, po odkażanie sprzętu i powierzchni na farmach i w przemyśle, jako bioterapeutyki stosowane do surowego mięsa i świeżych produktów, jak również jako naturalne konserwanty żywności, w celu przedłużenia jej trwałości.  
W ostatnich latach zostało opublikowanych wiele badań udowadniających korzyści płynące z zastosowania fagów w przemyśle spożywczym, w biokontroli i eradykacji organizmów powodujących psucie żywności i zatrucia pokarmowe. Zachęcam do zapoznania się z dwoma pracami przeglądowymi napisanymi przez Goodridge i Bisha oraz Endersen i współpracowników (slajd z referencjami).
- 9) Obecnie na rynku jest dostępny jeden produkt stosowany jako środek konserwujący do przedłużenia trwałości żywności, wyprodukowany przez szkocką firmę APS biocontrol. Firma ta opracowała oparty na bakteriofagach płyn do spryskiwania bulw ziemniaków, nazwany 'Biolyse'. Spryskanie ziemniaków przed zapakowaniem zapobiega w trakcie przechowywania mokrej zgniliznie, wywoływanej przez *Enterobacteriaceae*, takie jak *Pectobacterium*.
- 10) Potencjał bakteriofagów do zwalczania patogenów powodujących zatrucia pokarmowe jest powszechnie znany. W 2006 dużym krokiem było uzyskanie zgody na pierwszy oparty na bakteriofagach produkt ListShield do kontroli *Listeria monocytogenes* w mięsie i produktach drobiowych. Produkt ten, w postaci płynu do spryskiwania żywności produkowany jest przez firmę Intralytix (USA).  
W chwili obecnej Intralytix posiada również dwa inne produkty zatwierdzone przez FDA i dostępne na rynku: SalmoFresh do kontroli *Salmonella* wśród drobiu, ryb, mięczaków oraz świeżych i przetworzonych owoców i warzyw oraz EcoShield do kontroli *E. coli* O157:H7 w czerwonym mięsie przeznaczonym do mielenia.  
Ostatnio czwarty produkt, ShigaShield, do kontroli *Shigella* species w produktach żywnościowych, otrzymał status GRAS nadawany przez FDA.  
Firma Microeos (Holandia) produkuje dwa zatwierdzone produkty fagowe, pod nazwą PhageGuard, które mogą być stosowane w produktach gotowych do spożycia (ready-to-eat products), celem uniknięcia zatruc pokarmowych. PhageGuard Listex

dedykowany do zwalczania *Listeria*, a PhageGuard S, wcześniej nazywany Salmonex, skierowany jest przeciwko *Salmonella*. Oba produkty nie wpływają na smak, zapach i konsystencję żywności.

Wszystkie te przykłady potwierdzają, że użycie bakteriofagów jest obecnie akceptowane w rolnictwie i przemyśle spożywczym i daje nadzieję na uzyskanie zgody na produkcję kolejnych produktów na bazie bakteriofagów w najbliższej przyszłości.