

5.3 Czy fagi mogą być użyte do zwalczania bakterii w żywności i medycynie?

Slajd 1: W tej części omówimy, czy fagi mogą być użyte do zwalczania bakterii w dwóch różnych obszarach: żywności i medycynie. Jak wspomniano wcześniej, bakteriofagi mają zdolność rozpoznawania swojego gospodarza w sposób specyficzny i lizują go z dużą wydajnością. Teraz pojawia się pytanie, czy można wykorzystać te zdolności w praktyce?

Slajd 2: Najpierw omówimy stosowanie bakteriofagów w żywności. Bardziej szczegółowo zaprezentowano ten temat na przykładzie walki z patogenem *Listeria monocytogenes*. W następnej części przedstawimy zastosowanie fagów jako preparatów leczniczych i jak takie preparaty się przygotowuje.

Slajd 3: *L. monocytogenes* to Gram-dodatnia, bakteria w kształcie pałeczki (jak widać na zdjęciu), która może przetrwać w różnych środowiskach, na przykład w glebie. Bakteria wywołuje jednostkę chorobową zwaną listeriozą, która może być śmiertelna (śmiertelność może osiągnąć nawet do 30% osób zainfekowanych). Liczba ta jest dość wysoka, dlatego też ważne jest opracowanie strategii zwalczania tej bakterii. Główną drogą zakażenia jest zanieczyszczona żywność. Mogą to być warzywa, owoce, mięso, mleko itp. W trakcie zakażenia, większość bakterii *L. monocytogenes* jest rozpoznawana przez układ odpornościowy. Jednakże część bakterii nie jest usunięta przez organizm i te bakterie wnikają do komórek gospodarza. Chronią się w ten sposób przed przeciwciałami i innymi, krążącymi elementami układu immunologicznego.

Slajd 4: Ponieważ śmiertelność wywołana przez ten patogen waha się w zakresie od 20 do 30%, dlatego istotne jest znalezienie sposobów jego eliminacji. Jedną z metod zwalczania bakterii *L. monocytogenes* jest stosowanie bakteriofagów do dezynfekcji żywności, zanim zostanie sprzedana klientowi. Amerykańska Agencja ds. Żywności i Leków (FDA) z USA stwierdziła, że fagi te są ogólnie uważane za bezpieczne, a tym samym uzyskały status GRAS (GRAS – ogólnie rozpoznane jako bezpieczne). Departament Rolnictwa Stanów Zjednoczonych zatwierdził wykorzystanie fagów do celów przetwórczych. Oznacza to, że wirusy mogą być używane podczas przetwarzania żywności, na przykład mięsa. W 2010 r. Ministerstwo Zdrowia z Holandii zatwierdziło także fagi, które mają być wykorzystane w przetwórstwie. Co więcej, Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności lub EFSA także uznał fagi za bezpieczne.

Slajd 5: W następnej części omówimy zastosowanie fagów w medycynie. Gdy tylko d'Herelle odkrył, że fagi mają zdolność zabijania całej populacji bakterii, tym samym dostrzegł możliwość leczenia zakażeń bakteryjnych u ludzi, co do tej pory nie było możliwe. W 1919 roku stworzył swoje pierwsze koktajle fagowe do leczenia bakteryjnej czerwoności. Następnie zajął się komercyjną działalnością i zaczął produkować koktajle fagowe pod nazwą L'Oréal. Jednakże podczas drugiej wojny światowej odkryto antybiotyki o szerokim spektrum działania, które doprowadziły do zaprzestania terapii fagowej, zwłaszcza na Zachodzie. W Europie Wschodniej i Rosji terapia fagowa cieszyła się powszechną popularnością aż do lat siedemdziesiątych i jest stosowana do dziś. W Europie Zachodniej i Stanach Zjednoczonych fagi stosuje się bardzo rzadko i tylko w ramach terapii alternatywnych, co jest zgodne z artykułem 37 Deklaracji Helsińskiej, która pozwala na zastosowanie terapii fagowej jako alternatywnej metody leczenia, gdy nie ma innych dostępnych metod leczenia a życie pacjenta jest zagrożone.

Slajd 6: Jeśli przyjrzymy się bliżej terapii fagowej, istnieją dwa różne sposoby opracowywania koktajli fagowych. Jednym ze sposobów nazywa się "Prêt-à-porter approach". Tutaj powstaje podstawowy koktajl, który pozwala na leczenie zakażeń bakteryjnych wywołanych przez najczęściej występujące szczepy bakterii. Gdy koktajl jest skomponowany, jest on produkowany i testowany. Procedury obejmują badania przedkliniczne z testami na zwierzętach i trzy próby kliniczne, co pochłania wiele czasu i jest bardzo kosztowne. Wreszcie koktajl można konfekcjonować i sprzedawać pacjentom.

Slajd 7: Przeszkodą stosowania tej terapii jest fakt, że fagi są uważane za produkty medyczne zgodnie z Dyrektywą Europejską i FDA. Nie ma też indywidualnego systemu zastosowania w stosunku do konkretnego pacjenta, ponieważ są to gotowe koktajle podstawowe. Inną wielką wadą jest to, że koktajl podstawowy jest bardziej narażony na rozwój oporności u bakterii.

Slajd 8: Inne podejście jest bardziej zindywidualizowane dla pacjenta, i nosi nazwę „sur-mesure”. Tutaj koktajl fagowy jest przygotowywany zgodnie z potrzebami pacjenta. Bakterie powodujące zakażenie są izolowane, hodowane i testowane dostępnymi bibliotekami fagowymi. Fagi, które mogą zabijać bakterie pacjenta, są komponowane razem i stosowane w jego leczeniu. Ten koktajl jest wykonany zgodnie

z protokołami, które opisują konkretnie, jak należy go sporządzić. Kiedy obserwuje się oporność na koktajl fagowy, można utworzyć nowy koktajl w taki sam sposób jak poprzednio.

Slajd 9: To podejście jest dość szybkie i opłacalne. Istnieje jednak potrzeba stworzenia nowych ram prawnych, ponieważ tego typu leczenie może być wykonywane tylko na podstawie deklaracji z Helsinek, która umożliwia przeprowadzenie alternatywnego leczenia, jeśli inne metody nie są dostępne, a życie pacjenta jest zagrożone.

Slajd 10: W Belgii sytuacja ulega niewielkiej zmianie, ponieważ władze zezwoliły na jakościowo kontrolowane stosowanie preparatu fagowego, jako preparatu farmaceutycznego. Oznacza to, że lekarze medycyny wraz z farmaceutami mogą poprosić o przygotowanie konkretnego koktajlu fagowego do leczenia pacjenta. Pozwala to na leczenie poszczególnych pacjentów niezależnie od regulacji prawnych zawartych w deklaracji helsińskiej. Zmiana przepisów, zatwierdzonych przez władze belgijskie może być pierwszym krokiem w realizacji terapii fagowej we współczesnej medycynie.

Niskanen, T., Ciaravino, G. & Takkinen, J., 2015. *ECDC Surveillance report: Surveillance of seven priority food- and waterborne diseases in the EU/EEA 2010-2012*, Stockholm.

Travier, L. & Lecuit, M., 2014. *Listeria monocytogenes* ActA: a new function for a “classic” virulence factor. *Current Opinion in Microbiology*, 17, pp.53–60. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1369527413002294> [Accessed July 30, 2017].

Microcos, 2016. Don't give *Listeria* a chance with PhageGuard Listex. Available at: <https://www.phageguard.com/listeria-solution/> [Accessed July 30, 2017].

Pirnay, J.P. et al., 2011. The phage therapy paradigm: Prêt-à-porter or sur-mesure? *Pharmaceutical Research*, 28(4), pp.934–937.

Verbeke, G. et al., 2007. European regulatory conundrum of phage therapy. *Future Microbiology*, 2(5), pp.485–491. Available at: <http://www.futuremedicine.com/doi/10.2217/17460913.2.5.485>.

De Smet, J. et al., 2017. *Pseudomonas* predators: understanding and exploiting phage–host interactions. *Nature Reviews Microbiology*. Available at: <http://www.nature.com/doi/10.1038/nrmicro.2017.61>.