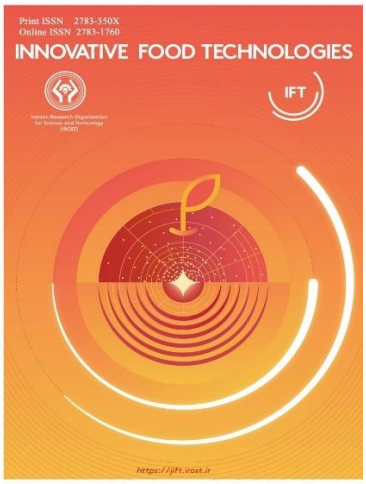
Journal Pre-proofs



The use of bacteriophages, a new biological approach to food safety

Raheleh Majdani, Samira Ghaemi, Mitra Alizadeh

DOI: https://doi.org/ 10.22104/ift.2025.7699.2221

To appear in: Innovative Food Technologies (IFT)

Received Date: 29 June 2025
Revised Date: 5 August 2025
Accepted Date: 11 August 2025

Please cite this article as: Raheleh Majdani, Samira Ghaemi, Mitra Alizadeh, The use of bacteriophages, a new biological approach to food safety, *Innovative Food Technologies (2025)*,
doi: https://doi.org/ 10.22104/ift.2025.7699.2221

This is a PDF file of an article that has undergone enhancements after acceptance, such as the addition of a cover page and metadata, and formatting for readability, but it is not yet the definitive version of record. This version will undergo additional copyediting, typesetting and review before it is published in its final form, but we are providing this version to give early visibility of the article. Please note that, during the production process, errors may be discovered which could affect the content, and all legal disclaimers that apply to the journal pertain.

© 2023 The Author(s). Published by irost.org.

Journal Pre-proof

مقاله پژوهشی

استفاده از باکتریوفاژها، یک رهیافت جدید بیولوژیک در سلامت مواد غذایی

راحله مجدانی[1*]، سمیرا قائمی[1]، میترا علیزاده[1]

۱- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

r.majdani@maragheh.ac.ir rahelehmajdani7@gmail.com ,

چکیده

امنیت غذایی امروزه به عنوان یکی از مسایل بسیارمهم و موثر در دنیا بخصوص در کشورهای در حال توسعه مطرح می باشد که پرداختن به این موضوع و ارائه راهکارهایی جهت امنیت پایدار مواد غذایی از اهمیت بسزایی برخوردار است. در این میان فاژها به دلیل دارابودن خصوصیات منحصر به فرد، به عنوان یک گزینه دارای پتانسیل بالا برای مبارزه با عفونت‌های حاصل از آلودگی‌های مواد غذایی مطرح شده اند. پتانسیل بالای ضدباکتریایی فاژها در زمینه مواد غذایی مختلف از جمله شیر، گوشت، پنیر، سبزیجات و میوه‌های تازه که به صورت خام و فرآوری نشده مصرف میشوند در مطالعات مختلف گزارش شده است. باکتریوفاژ ها هیچ تاثیر منفی و مخربی بر مواد غذایی نداشته و نیز توانسته‌اند به حفظ تازگی و طعم غذا کمک کنند که این مورد بخصوص تامین کننده نیاز و انتظار مصرف کنندگان به ویژه در زمینه حفظ کیفیت مواد غذایی با حداقل فرآوری می باشد. همچنین به دلیل مقاومت بالای فاژها در مقابل تغییرات دمایی و pH، استفاده از آن‌ها در سه بخش اصلی صنایع غذایی یعنی تولید اولیه، ضدعفونی در حین تولید و نیز به عنوان نگهدارنده‌های زیستی میسر می باشد. علاوه بر این، محصولات تجاری فاژی مانند Listshield، ListexP100 و همچنین مخلوط‌های فاژی دیگر نیز برای مقابله با عوامل باکتریایی بیماری‌زا در مواد غذایی اثرات امیدوارکننده ای را در کاهش بار میکروبی مواد غذایی نشان داده اند . استفاده از باکتریوفاژها به عنوان یک راهکار بیولوژیک موثر در کنترل زیستی، می‌تواند به افزایش ایمنی مواد غذایی و کاهش خطرات ناشی از آلودگی‌های میکروبی کمک کند که در نهایت منجر به سلامت عمومی خواهد شد. با این حال انجام تحقیقات بیشتر جهت بهره برداری گسترده از این رهیافت بیولوژیک در صنایع غذایی اهمیت بسزایی دارد.

کلمات کلیدی: کنترل زیستی، باکتریوفاژ، موادغذایی، ایمنی زیستی

Journal Pre-proofs

۱- مقدمه:

امنیت غذایی امروزه به عنوان یکی از مسایل بسیارمهم و موثر در دنیا بخصوص در کشورهای در حال توسعه مطرح می باشد که پرداختن به این موضوع و ارائه راهکارهایی جهت امنیت پایدار مواد غذایی از اهمیت بسزایی برخوردار است.

در این میان یکی از مواردی که نقش مهمی در سلامت مواد غذایی مورد استفاده دارد، نیاز به استفاده از مواد نگهدارنده برای محدود کردن فساد مواد غذایی در طول ماندگاری محصول می باشد که در این زمینه امکان ایجاد بیماری‌های حاصل از مواد غذایی پس از استفاده از محصولاتی که به صورت تازه تهیه می شوند، نگرانی‌های مهمی را به دنبال دارد به طوری که بیش از ۴۰۰ مورد همه گیری بیماری ناشی از مواد غذایی از سال ۱۹۹۰ ثبت گردیده است [1]. سازمان‌های جهانی مسئول در زمینه بهداشت سلامت انسان‌ها بطور مکرر روی بیماری‌های ناشی از مواد غذایی در انسان تاکید دارند که این بیماری‌ها می توانند باعث بستری شدن در بیمارستان و حتی مرگ و میر در انسان‌ها گردند. به عنوان مثال بین سال‌های ۲۰۱۸ و ۲۰۱۹ همه گیری سالمونلا در چندین ایالت آمریکا بروز کرد که منشا آن آلودگی با گوشت خام بوقلمون بود [2]. علاوه بر این افزایش عفونت مواد غذایی ناشی از کمپیلوباکتر و بروز علایم بیماری از جمله تهوع و استفراغ در تعداد زیادی از افراد آلوده با این عفونت در چین در سال ۲۰۱۸به ثبت رسید [3]. برای کاهش بار آلودگی میکروبی مواد غذایی یکی از روش‌های معمول، استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی مصنوعی یا ترکیبی از آن‌ها است. مواد ضد میکروبی مصنوعی، موادی با منشاء شیمیایی هستند که از تکثیر و رشد میکروارگانیسم ها ممانعت می کنند. از جمله مواد ضد میکروبی که برای کاربردهای غذایی تایید شده اند، می توان به اسیدهای معدنی و نمک های سدیم آن‌ها مانند نیتریت‌ها و سولفات ها و اسیدهای آلی ضعیف مانند بنزوئیک، سوربیک، پروپیونیک، استیک و اسیدهای لاکتیک، سوربات پتاسیم، بنزوات سدیم و پروپیونات سدیم اشاره نمود که علیرغم اثرات مفید و نقش مهم این ترکیبات در حفظ محصولات غذایی از طریق افزایش ماندگاری آن‌ها، موضوع مواد ضد میکروبی شیمیایی در مواد غذایی همچنان موضوع بحث و مناقشه است. با وجود اینکه یافته‌های علمی حاکی از وجود اختلاف نظر در زمینه اثربخشی و ایمنی این مواد می باشد، مواد افزودنی ضد میکروبی مصنوعی غذایی، مانند سوربات ها، نیترات ها و سولفیت ها اثرات جانبی متعددی از جمله سرطان زایی و ایجاد آلرژی را در انسان نشان داده اند. برای مثال، استفاده از سولفیت‌ها میتواند واکنش‌های آلرژیک متفاوتی مانند تهوع، کهیر، آسم را در مورد مصرف کنندگان حساس به سولفیت ایجاد کند [4]. جستجوی ترکیبات زیست فعال طبیعی جهت توسعه افزودنی‌های ضد میکروبی غذایی ایمن که دارای سمیت کمتر بوده و سازگار با محیط زیست هستند، می تواند کمک شایانی به سلامتی مواد غذایی نماید. همچنین به دلیل افزایش دانش مصرف کنندگان، علاقه آن‌ها به استفاده از ترکیبات نگهدارنده طبیعی بیشترشده و این مواد جایگزین خوبی برای مواد شیمیایی مصنوعی محسوب می شوند [5]. این نگهدارنده‌های طبیعی مواد فعال زیستی هستند که شامل ترکیباتی حاصل از بافت‌های گیاهی یا حیوانی و یا میکروارگانیسم ها می باشند [6]. در واقع، این ترکیبات برای سلامت انسان مفید بوده و برای استفاده و مصرف، بی خطر هستند. در سالیان اخیر افزایش مستمری در اکتشاف ترکیبات جدید کارآمد برای نگهداری موادغذایی از طریق جایگزینی کامل یا جزئی با افزودنی‌های ساخته شده مصنوعی وجود داشته است [8] [7] .جستجوی عوامل کنترل زیستی طبیعی که اجازه تولید غذاهای ایمن برای مصرف انسان را میدهد و بر طعم، بافت و کیفیت غذایی غذا تأثیر بدی نمیگذارد، یک چالش همیشگی برای صنایع غذایی مختلف در سراسر جهان بوده است. علاوه بر این، علاقه به مواد ضدمیکروبی طبیعی به دلیل استفاده نامناسب و تجویز نادرست آنتی بیوتیک‌ها که منجر به رشد میکروارگانیسم‌های مقاوم به چند دارو شده است، فزونی یافته است [4]. در این میان به دلیل ناکافی و نادرست بودن روش‌های مورداستفاده برای حذف میکروب های بیماری‌زای ناشی از غذاها، یافتن استراتژی‌های جدید برای مبارزه با این عوامل بیماری‌زا بسیارضروری می باشد [9].

Journal Pre-proofs

باکتریوفاژها (فاژها) به عنوان شکارچیان طبیعی باکتری‌ها، برای انسان و حیوانات بی ضرر بوده و دسترسی به آن‌ها آسان و ارزان می باشد لذا، به عنوان عوامل ضد میکروبی با پتانسیل بالا جهت کنترل آلودگی‌های باکتریایی در صنایع غذایی مورد توجه ویژه ای قرار گرفته اند [10] . ازآغاز قرن بیستم پتانسیل باکتریوفاژها در از بین بردن باکتری‌ها به صورت اختصاصی مشخص گردید. هرچند که تمرکز اولیه استفاده از فاژها در موارد بالینی بود ولی با گذشت زمان به بخش‌های صنعتی و بیوتکنولوژی نیز گسترش یافت که یکی از این زمینه‌ها، صنایع غذایی می باشد [11] . برای حذف آلودگی‌های موادغذایی بخصوص در حالت خام و فرآوری نشده نیاز به روش‌های اصولی و اساسی می باشد و روش‌های سنتی محدودیت‌هایی در حذف عوامل بیماری‌زا از سطوح میوه‌ها و سبزی‌ها دارند [12]. فاژها به عنوان گزینه ای معقول و عملکردی در مدیریت مواد غذایی، تازگی و طعم مواد غذایی را برخلاف روش‌های دیگر خراب نمی کنند. فاژها که ویروس‌هایی با توان آلوده کردن و از بین بردن میزبان‌های باکتریایی خود هستند، به عنوان موجوداتی جهت افزایش سلامت مواد غذایی و کاهش میزان ضایعات مواد غذایی مطرح شده اند [13]. این ویروس‌ها دارای خصوصیات منحصر به فردی هستند که آن‌ها را برای مبارزه با عفونت‌های حاصل از آلودگی‌های مواد غذایی مناسب می کند. آن‌ها بسیار اختصاصی بوده و فلور طبیعی بدن را از بین نمی برند. در اغلب موارد یک دوز استفاده از آن‌ها برای حذف عفونت کافی است و می توان دسترسی آسان و ارزان به آن‌ها داشت. افزودن فاژها به مواد غذایی تاثیری روی خصوصیات مثبت مواد غذایی از جمله ریولوژی و خصوصیات ارگانولپتیک آن‌ها ندارد. با استفاده از فاژها میزان عفونت‌های ناشی از مواد غذایی کاهش یافته و از فساد مواد غذایی پیشگیری می گردد که این اثرات مثبت باکتریوفاژها در مطالعات متعدد روی شیر، انواع گوشت و فرآورده های آن، پنیر، سبزیجات و میوه‌های تازه به اثبات رسیده است [14]. دراین مطالعه مروری بر کاربردهای باکتریوفاژها در کاهش بار آلودگی میکروبی مواد غذایی مختلف بر اساس منابع معتبر علمی صورت گرفته است و راهکارهای بیولوژیک موثر بر پایه باکتریوفاژها که می تواند در بحث کنترل زیستی در صنایع غذایی مفید واقع شود، مورد بررسی قرار گرفته است.

۲- مهمترین بیماری های ناشی از آلودگی مواد غذایی

بیماری‌های ناشی از مواد غذایی که به وسیله آلودگی‌های میکروبی رخ می دهد، از علل مهم بیماری و مرگ و میر در دنیاست [1]. سالانه غذاهای دارای آلودگی سبب بروز ۶۰۰ میلیون بیماری ناشی از مواد غذایی و ۴۲۰۰۰۰ مرگ و میر می شود که کودکان زیر پنج سال ۴۰٪ این موارد مرگ و میر را تشکیل می دهند [15] بخش عمده این بیماری‌ها به وجود عوامل بیماری‌زای اختصاصی مواد غذایی از جمله *شیگلا، سالمونلا، کمپیلوباکتر، لیستریا مونوسیتوژنز و اشریشیاکلی* در کنار سایر میکروارگانیسم‌های روده ای مرتبط می باشد [16] [1]. استفاده از مواد غذایی خام و تازه که در اغلب موارد حرارت کافی ندیده اند و نیز وجود آلودگی در تجهیزات و وسایل در حین تولید اینگونه مواد، در بروز این بیماری‌ها عامل مهمی می باشد [17]. در این مجال مروری علمی و کاربردی بر مطالعات و بررسی های انجام شده روی تاثیر ضدمیکروبی باکتریوفاژهای مورداستفاده در عمل، مطرح گردیده است و در هر مورد پتانسیل باکتریوفاژها به عنوان یه عامل ضدباکتریایی زیستی مورد بررسی قرار گرفته است.

۳- توانایی کنترل زیستی باکتریوفاژها علیه باکتری‌های بیماری‌زا در مواد غذایی

از زمان کشف باکتریوفاژها در حدود یک قرن پیش، محققان به توانایی آن‌ها در درمان وبا و نیز تعداد متنوعی از عوامل بیماری‌زای حاد و مزمن در کاردیولوژی، گاستروانتریت، بیماری‌های نوزادان و جراحی های متعدد پی بردند. این ذرات عفونی در موارد مختلف انسانی، حیوانی و کشاورزی کاربرد داشت ولی استفاده از آن‌ها در تولید مواد غذایی مطرح نبوده است [10]. در حالیکه آلودگی غذاهای تولیدی به صورت خام، همیشه یکی از معضلات صنایع غذایی بوده و نیاز به روش‌های مطمئن جهت ریشه کنی باکتری‌های مضر از مواد غذایی را بیشتر مورد توجه قرار داده است. روش‌های سنتی محدودیت‌هایی در زمینه حذف عوامل

بیماری‌زا بخصوص از میوه‌ها و سبزیجات داشته اند [11]. لذا دانشمندان برای یافتن جایگزین‌های بهتر جهت حذف آلودگی‌های باکتریایی از محصولات تازه روش‌هایی مختلفی مانند رادیو اکتیویته، پوشش مصرفی، اکسیدهای نیتروژن، اشعه ماوراء بنفش، ذخیره سازی تحت کنترل آب و هوا، پرمنگنات پتاسیم، آب و پروتئین های ویروسی را بررسی نمودند [19] [18]. در این میان مشخص گردید که استفاده از فاژها، به عنوان گزینه های عملیاتی و معقول برای مدیریت ارگانیک، مانند روش های متداول پاکسازی، طعم غذای تازه را از بین نمی برد. به همین دلیل بررسی فرمولاسیون ویروسی برای قابلیت کنترل زیستی باکتریوفاژها در برابر عوامل بیماری‌زای غذایی مرتبط با میوه‌ها و سبزیجات مورد توجه قرار گرفت. با این حال، برخی مطالعات و نتایج غیرمنتظره چالش‌هایی را در استفاده فاژها برای گیاه پالایی در بخش غذای بومی مطرح نمود که به تیمار نامساعد در تغلیظ ویروسی و دانش محدود از اکولوژی باکتریوفاژ نسبت داده می‌شود [20] . انجام تحقیقات بیشتر در این زمینه می‌تواند راهگشای استفاده از استراتژی‌های کنترل زیستی موثرتر مبتنی بر فاژ در تضمین ایمنی غذا باشد.

۴- ساختار، طبقه بندی و دسته بندی باکتریوفاژها از نظر ساختار و عملکرد

۴-۱- ساختار فاژها

باکتریوفاژها ویروس‌هایی هستند که باکتری‌ها را آلوده می کنند و از نظر شکل و اندازه (۲۵۰-۱۰ نانومتر) تنوع بالایی دارند. در شکل شماره یک کلیات شکل یک باکتریوفاژ نشان داده شده است. فاژها فراوانترین ساختارهای بیولوژیک روی زمین بوده و در تنظیم جمعیت باکتریایی در محیط‌های مختلف نقش دارند. بخش عمده باکتریوفاژهایی که تاکنون شناسایی شده اند یعنی حدود ۹۶٪ از آنها در رده *Caudovirales* جای گرفته اند. فاژهای این رده باکتریوفاژهای دارای دم و ژنوم DNA دورشته ای بوده و میزبان خود را بطور اختصاصی در حد گونه و یا حتی سویه آلوده می کنند[21]. لذا در معمول ترین شکل، فاژها از دو بخش ساخته شده که شامل یک سر چندوجهی (کپسید) که ماده ژنومی ویروس را در خود جای داده است و یک ناحیه دمی که اتصال به سلول‌های میزبان و عفونت‌زایی فاژ را تسهیل می کنند. ایجاد عفونت سبب تکثیر فاژها و آزادی ویروسهای ایجادشده گردیده که در اغلب موارد با لیز سلول میزبان همراه می باشد. فاژها اشکال متنوعی دارند و شکل متنوع باکتریوفاژها نقش اساسی را در تقسیم بندی و مکانیسمهای عفونتزایی آنها ایفا می کند. برخی از آنها مانند اعضای خانواده *پلاسماویریده* دارای غشایی در اطرافشان هستند که به آنها فاژهای غشادار گفته می شود ولی اغلب آنها فاقد غشا می باشند. برخی فاژها بدون دم هستند مانند خانواده *تکتی ویریده* و برخی دیگر دارای دم هستند که فاژهای دارای دم به سه دسته تقسیم می شوند: فاژهای دارای دم بلند منقبض شونده مانند *پدوویریده*، فاژهای دارای دم بلند غیرمنقبض شونده مانند *سیفوویریده* و فاژهای دارای دم کوتاه غیزمنقبض شونده مانند *پودوویریده*. برخی از فاژها هم مانند اعضای خانواده *اینوویریده* دارای اشکال رشته ای بلند و میله مانند هستند[22] .فاژها تنوع ژنتیکی بالایی نیز دارند و ژنوم آنها می تواند از نوع DNA یا RNA بوده و تک رشته ای ویا دورشته ای باشد و اندازه ژنوم آنها از چندصد کیلوباز تا میزان بسیار بالاتری متغیر باشد. این تنوع ژنتیکی تاکتیکهای همانندسازی و واکنش با سلول میزبان را تحت تاثیر قرار می دهد.

شکل۱. ساختار معمول باکتریوفاژ ها

Fig1. Typical structure of bacteriophages

۴-۲- تقسیم بندی فاژها

در حالت کلی تقسیم بندی باکتریوفاژها بر اساس خصوصیات مختلف آنها از جمله نوع اسیدنوکلئیک آنها (DNA یاRNA)، ساختار کپسید (دم دار، چندوجهی، رشته ای یا پلی مورف)، میزان فعالیت آن علیه میزبان‌های مختلف، تشابه توالی میزبانی و بیماریزایی آنها صورت می گیرد. ۹۵٪ فاژهای شناخته شده متعلق به رده *Caudovirales* یا رده فاژهای دم دار می باشند. این رده شامل سه خانواده *میوویریده*، *سیفوویریده* و *پودوویریده* می باشند که ژنوم آنها از نوع DNA دورشته ای می باشد. ویروس‌های چندوجهی شامل پنج خانواده *میکروویریده*، *کورتیکوویریده*، *تکتی ویریده*، *فیرس ویریده* و *سیستوویریده* می باشد. فاژهای رشته ای شامل *اینوویریده*، *لیپوتریکس ویریده* و *رودی ویریده* می باشد و سایر ویروس‌های پلی مورف شامل *پلاسماویریده*، *فوزلوویریده*، *گوتاویریده*، *آمپولاویریده*، *بیکوداویریده* و *گلوبولوویریده* می باشد. شکل دو تقسیم بندی باکتریوفاژها را بر اساس شکل و نوع اسیدنوکلئیک آنها نشان داده است.[21]

۴-۳- سیکل زندگی فاژها

از نظر سیکل زندگی، باکتریوفاژها به دوقسمت تقسیم می شوند: لیتیک و لیزوژنیک که در سیکل لیتیک فاژ، سلول میزبان خود را آلوده کرده و سیستم متابولیسمی آن را در اختیار خود می گیرد تا ذرات فاژی بیشتری را تولید کند و در نهایت سبب لیز سلول و آزادشدن فاژهای تولیدشده جدید می گردد. لیزین ها و هولین ها دو نوع از پروتئین‌هایی هستند که توسط فاژ موردنظر برای تخریب سلول میزبان به کار می رود [21]. در سیکل لیزوژنیک ژنوم فاژ در ژنوم سلول میزبان ادغام می شود و ساختار پروفاژ را تشکیل می دهد که همراه با ژنوم باکتری همانندسازی می شود ولی آسیبی به سلول میزبان نمی رسد. تحت برخی شرایط ساختار پروفاژی می تواند فعال شده و تبدیل به فاژ لیتیک شود. فهم خصوصیات زیستی و تقسیم بندی باکتریوفاژها می تواند در فهم پتانسیل باکتریوفاژها جهت استفاده های کاربردی متنوع شامل استفاده از آنها به عنوان مواد ضدباکتریایی در صنعت غذا کمک کننده باشد.

۵- کاربرد باکتریوفاژها در زمینه های مختلف

آنتی‌بیوتیک‌ها از زمان جنگ جهانی دوم در دامداری و مدیریت عوامل بیماری‌زای گیاهی مورداستفاده قرار گرفته‌اند. سوءمصرف آنتی‌بیوتیک در کشاورزی منجر به افزایش شیوع باکتری‌های مقاوم به دارو (AMR[1]) در سطح جهان شده است [23][24]. باکتریوفاژها برای پیشگیری یا کاهش بیماری‌های حیوانی (فاژ درمانی) و ضدعفونی کردن مواد اولیه و لاشه‌ها، مانند سبزیجات و میوه‌های تازه، تجهیزات تمیزکاری و رابط‌های تماس سخت، بسیار مناسب‌اند [25]. استفاده از فاژها به‌جای آنتی‌بیوتیک‌ها در شیوه‌های کشاورزی، جایگزینی مناسب برای حفظ سلامت حیوانات و گیاهان و کاهش گسترش مقاومت آنتی‌بیوتیکی و بیماری‌های منتقله بین انسان و دام است که می‌تواند برای مصرف‌کنندگان خطرناک باشد[25] [26]. همچنین فاژها به عنوان محرک رشد در طیور مورد استفاده و همچنین به عنوان جایگزین‌های بالقوه برای آنتی‌بیوتیک‌ها، مورد تحقیق قرار گرفته‌اند. روش تجویز باکتریوفاژها در تعیین اثربخشی آنها در برابر سویه‌های مختلف باکتریایی مهم است. آبزی‌پروری نشان داده است که فاژها یک جایگزین سودآور و سازگار با محیط زیست برای آنتی‌بیوتیک‌ها هستند. باکتریوفاژها می‌توانند علیه باکتری‌های بیماری‌زای

[1] AMR (Antimicrobial Resistance)

Journal Pre-proofs

گیاهی برای جلوگیری از بیماری‌های محصولات کشاورزی و افزایش عملکرد آنها تجویز شوند[27]. در مطالعات گلخانه‌ای، کوکتل‌های فاژ توانسته اند با استفاده از راهکارهای درمانی و پیشگیرانه، توسعه پاتوژن‌ها و علائم را در محصولاتی مانند انگور به طور قابل توجهی کاهش دهند.

یکی از قدیمی‌ترین مراکزی که از فاژدرمانی برای بیماری‌های باکتریایی شایع مرتبط با اورولوژی، زنان، پزشکی داخلی و اطفال استفاده می‌کند، موسسه باکتریوفاژ، میکروبیولوژی و ویروس‌شناسی الیاوا در گرجستان است. بیش از ۹۵٪ از بیمارانی که تحت درمان با فاژ قرار گرفتند، بهبودی قابل توجهی را بدون عوارض جانبی نشان دادند. با پیشرفت سویه‌های باکتریایی مقاوم به چند دارو (MDR[1]) و AMR، فاژدرمانی دوباره محبوبیت پیدا کرده است. با وجود پتانسیل درمانی هیجان‌انگیز فاژها، قبل از استفاده از فاژدرمانی در محیط بالینی، باید بر چالش‌های متعددی غلبه کرد. این چالش‌ها شامل طیف میزبان محدود / باریک، پایداری ضعیف فاژ در سیستم گردش خون، مسائل ایمنی و مسائل مربوط به قابلیت تجاری است. با این حال، با رویکردهای زیست‌شناسی مصنوعی مدرن، می‌توان خواص فاژ را برای حل بسیاری از مشکلات ذکر شده در بالا اصلاح کرد[28] [29].

بر اساس اختصاصیت هدف، فاژها به باکتریوفاژهای طیف گسترده و طیف محدود طبقه‌بندی می‌شوند. باکتریوفاژها بسیار اختصاصی برای هدف هستند و مشخص نیست که برای میکروبیوم انسان مضر باشند. باکتریوفاژهای طیف گسترده، باکتریوفاژهای چند ظرفیتی هستند که قادر به اتصال به بیش از یک محل گیرنده در سطح سلول هدف هستند، در حالی که باکتریوفاژهای طیف محدود، تک ظرفیتی هستند[28] . آنها محدود هستند و به محل‌های گیرنده خاصی متصل می‌شوند. با این وجود، این دو دسته از باکتریوفاژها را می‌توان با استفاده از جهش‌های نقطه‌ای در ژنوم فاژ مهندسی / توسعه داد و با استفاده از جهش‌های نقطه‌ای در ژنوم فاژ، به یکدیگر تبدیل کرد تا تغییرات مطلوب را در محل اتصال گیرنده ایجاد کند. این روش به طور موثر مشکل طیف میزبانی محدود باکتریوفاژ را حل کرد.

تولیدکنندگان مواد غذایی در سراسر جهان از روش‌های چندگانه‌ی زیادی برای اطمینان از ایمنی محصولات خود استفاده می‌کنند، از جمله پاستوریزاسیون حرارتی، فرآوری با فشار بالا (HPP[2])، تابش مایکروویو، ضدعفونی‌کننده‌های شیمیایی و افزودنی‌ها / آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی که هر کدام معایب خود را دارند .پاستوریزاسیون حرارتی منجر به پخته شدن غذا می‌شود و بنابراین برای مواد غذایی تازه نامناسب است. در عین حال، تیمار با فشار بالا اثرات مخربی بر کیفیت تغذیه‌ای و ظاهر غذاهایی مانند محصولات تازه و گوشت دارد. اگرچه تابش مؤثرتر و برتر از روش‌های مورد بحث در بالا است، اما کاربردهای سطح بالا به خواص ارگانولپتیک غذاها آسیب می‌رساند[30]. در همین حال، ضدعفونی‌کننده‌ها و افزودنی‌های شیمیایی تجهیزات فرآوری مواد غذایی را فرسوده کرده و پذیرش مصرف‌کننده را کاهش می‌دهند. تقاضا برای مواد غذایی ارگانیک بدون آفت‌کش به سرعت در حال افزایش است[31]. علاوه بر همه این معایب، روش‌های نگهداری ذکر شده، میکروارگانیسم‌ها، از جمله میکروارگانیسم‌های مفید را به طور غیراختصاصی از بین می‌برند.

باکتریوفاژها همچنین به عنوان عوامل ضد میکروبی برای دستیابی به ایمنی مواد غذایی در برابر میکروارگانیسم‌ها مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. شیوه‌های ایمنی مواد غذایی با واسطه باکتریوفاژ، که معمولاً "کنترل زیستی باکتریوفاژ" نامیده می‌شوند، به تدریج در حال ظهور هستند و در بین تکنسین‌های مواد غذایی محبوبیت پیدا می‌کنند و کاستی‌های روش‌های مرسوم نگهداری مواد غذایی را برطرف می‌کنند. کنترل بیولوژیکی باکتریوفاژ نه تنها بر میکروفلور مفید غذا، بلکه بر ویژگی‌های کیفی آن نیز تأثیر می‌گذارد.

[1] MDR (Multiple Drug-Resistant)
[2] HPP (High Pressure Processing)

باکتریوفاژهای لیتیک می‌توانند در روند قبل از برداشت، مانند حیوانات زنده، یا از طریق خوراک دام و / یا پس از برداشت استفاده شوند و ممکن است برای سطوح مواد غذایی در مواد بسته‌بندی برای محدود کردن آلودگی پاتوژن مفید باشند. امکان کنترل زیستی به کار رفته با استفاده از باکتریوفاژ همچنین به صورت مواد ضدعفونی‌کننده روی سطوح فرآوری مواد غذایی نشان داده شده است. چندین بررسی در مورد روندهای قبل از برداشت (روی حیوانات مزرعه) و پس از برداشت (روی گوشت، محصولات تازه و کالاهای بسته‌بندی شده) انجام شده است. در این مطالعات، کنترل عوامل بیماری‌زای مختلف بومی و نوظهور ناشی از غذا، از جمله سالمونلا، لیستریا، کمپیلوباکتر و اشریشیا مشخص گردید [32].

۶- اثرات باکتریوفاژها در کاهش بار میکروبی مواد غذایی مورداستفاده در مطالعات مختلف

در سال‌های اخیر تلاش برای بهبود عادات غذایی مصرف کنندگان و جستجو برای محصولات جدید ارتقا دهنده سلامت باعث افزایش علاقه به مواد غذایی با حداقل فرآوری (MPF)[1] شده است [33] . این محصولات با استفاده از تکنیک های غیر حرارتی نگهداری می‌شوند که منجر به تغییرات محدودی در بافت غذاها می‌شوند. این رویکرد همچنین امکان حفظ مواد غذایی فعال زیستی مانند ویتامین‌ها، پرویتامین‌ها و مواد مغذی گیاهی را فراهم می کند که به طور طبیعی به میزان زیادی در محصولات غذایی با حداقل فرآوری شده با پایه گیاهی وجود دارند [34].

استفاده از روش‌های فیزیکی در صنایع غذایی همیشه تولید یک محصول غذایی با خواص حسی و پارامترهای میکروبیولوژیکی رضایت بخش را تضمین نمی‌کند. روش‌های بیولوژیکی که می‌توانند جایگزینی برای روش‌های فیزیکوشیمیایی باشند، امروزه اهمیت بیشتری در خصوص نگهداری مواد غذایی با حداقل فرآوری و بالاترین خطر آلودگی‌های میکروبی، مانند آب‌میوه‌های تازه، جوانه‌ها یا مخلوط سالاد یافته است [35]. نتایج به‌دست‌آمده نشان می‌دهد که مواد غذایی گیاهی با حداقل فرآوری می‌توانند به شدت به باکتری‌های ساپروفیت آلوده شوند، که تعداد آن‌ها، حتی در طول نگهداری در یخچال، می‌تواند ۲ تا ۳ واحد نسبت به زمان ورود به سیستم افزایش یابد که منجر به کاهش کیفیت محصول می‌شود.

استفاده از باکتریوفاژها می تواند انتظارات مصرف کننده را برای مواد غذایی با حداقل فرآوری در جهت افزایش عمر مفید آن و بدون تأثیر بر خواص فیزیکی برآورده کند. باکتریوفاژها ویروس‌های باکتریایی بسیار اختصاصی هستند و معمولاً می‌توانند تنها یک گونه یا گونه‌های محدودی از باکتری‌ها را آلوده کنند و برخلاف آنتی‌بیوتیک‌ها، میکروبیوتای طبیعی دستگاه گوارش انسان را از بین نمی‌برند. تحقیقات نشان می دهد که فاژها به بسیاری از شرایط تنشی در طول پردازش غذا (پایداری در طیف وسیعی از دما و pH) حساس نیستند. پایداری pH آن‌ها در دماهای پایین تر افزایش می یابد. فاژها در سه بخش صنایع غذایی که شامل تولید اولیه (عمدتاً برای جلوگیری از تشکیل بیوفیلم روی سطح تجهیزات)، بهداشت زیستی در جهت ضدعفونی (عمدتاً در کارخانه‌های تولید) و به عنوان نگهدارنده‌های زیستی (برای افزایش عمر مفید محصولات با مبارزه با باکتری های بیماری زا که غذا را فاسد می کنند)، قابل استفاده می‌باشند.

با توجه به پتانسیل ضدمیکروبی باکتریوفاژها بر اساس مطالعات متعدد قبلی، بررسی‌های مختلفی جهت امکان بهره‌وری از این پتانسیل بالای فاژها در صنایع غذایی نیز صورت گرفته است که نتایج جالبی را هم در in vitro بر روی باکتری‌های بیماری‌زای مشکل‌ساز در مواد غذایی و نیز در آزمایشات صورت گرفته روی آلودگی‌های فرآورده های مواد غذایی داشته است. با وجود

[1] MPF (Minimum Processed Food)

Journal Pre-proofs

جداسازی باکتریوفاژهای متنوع علیه باکتری‌های حاصل از مواد غذایی مختلف در بررسی های پیشین، این مطالعه با تمرکز بر روی بررسی اثرات عملکردی باکتریوفاژها روی مواد غذایی مختلف و توانایی آن‌ها در کاهش بار آلودگی مواد غذایی آلوده با باکتری‌های بیماری‌زای غذایی به مرور تحقیقات مهم صورت گرفته در این زمینه و نتایج حاصل از آن‌ها پرداخته است.

۱-۶- اثر باکتریوفاژها علیه لیستریا در موادغذایی

در حالت کلی دو محصول فاژی برای مبارزه با لیستریا در مواد غذایی مورد تایید FDA[1] قرار گرفته است که اولی با نام listshield که به عنوان افزودنی به مواد غذایی در آمریکا تایید شد که شامل شش فاژ مختلف بود و علیه آلودگی میوه‌ها مورد بررسی قرار گرفت که در یک مطالعه میزان شمارش میکروبی لیستریا را بین۲-۰/۴ log CFU/mlدر لیمو و سیب کاهش داد یا همین مخلوط فاژی در مطالعه دیگری حتی هفت روز پس از آلودگی خربزه به لیستریا مونوسیتوژنز سبب کاهش بارآلودگی به میزان log ۶/۸CFU/ml گردید.[37][36]. به دلیل نتایج خوبی که در مورد کاهش بار آلودگی در میوه‌ها به دست آمد، این فرمولاسیون مخلوط فاژی به عنوان یک کاندیدای مناسب برای کاهش آلودگی باکتریایی در زنجیره تولید مواد غذایی مورد قبول قرار گرفت [38]. فرمولاسیون بعدی ListexP100 می باشد که از باکتریوفاژ P100 تشکیل شده است که کاهش قابل توجه شمارش باکتریایی در پنیر، سالمون خام و تعدادی دیگر از مواد غذایی را در دماهای مختلف نشان داده است [39]. همچنین در یک مطالعه دیگر استفاده از فاژ P100 سبب کاهش بارآلودگی باکتریایی لیستریا در حد غیرقابل تشخیص در شیرشکلاتی و پنیر موزارلا شد [40] . علاوه بر این، استفاده از آن کاهش بار میکروبی درحد log CFU/gr ۵ را در مواد غذایی جامد آماده مصرف و نیز در سبزیجات سبب گردید.

در یک مطالعه، فاژی دارای طیف میزبانی بالا علیه چهار باکتری از جنس لیستریا که شامل *لیستریا مونوسیتوژنز* هم بود، جداسازی شد که فاژ مزبور متعلق به خانواده *میوویریده* و دارای زمان نهفته کوتاه و سایز انفجاری بزرگ بود و جهت بررسی قدرت کاهش بار میکروبی لیستریا در آب پرتقال و قطعات آماده مصرف ماهی سالمون مورداستفاده قرار گرفت. در این مطالعه این فاژ با نام SH3 نه تنها میزان بار آلودگی لیستریا را در حد ۴/۸۵log CFU/ml و۴/۵۴ log CFU/ml پس از ۷۲ ساعت کاهش داد، بلکه توانست میزان تولید بیوفیلم را نیز کاهش دهد. به همین دلیل به عنوان کاندیدایی جهت استفاده به عنوان نگهدارنده در مواد غذایی در آینده مطرح گردید [41].

در مطالعه ای دیگر، اثرات ضد میکروبی نیسین، باکتریوفاژ P100، و لاکتات سدیم، به صورت جداگانه، و ترکیب نیسین با باکتریوفاژ P100 یا لاکتات سدیم، در دو نقطه زمانی مختلف (صفر و ۷۲ ساعت) در ۶ تا ۸ درجه سانتیگراد، بر روی رشد مخلوطی از دو سویه از *لیستریا مونوسیتوژنز* بر روی برش‌های آماده مصرف ژامبون خوک بررسی شد. نتایج نشان داد فاژ P100 در غیرفعال کردن و ممانعت از رشد باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* در ژامبون گوشت خوک اثر مهمی داشت. در مورد قطعات گوشت خوکی که در یخچال قرار داشت نیز استفاده از باکتریوفاژ به همراه نیسین اثر ضدباکتریایی بسیار خوبی در مقایسه با نیسین به تنهایی به عنوان یک ماده نگهدارنده زیستی علیه *لیستریا مونوسیتوژنز* داشت. استفاده از این ترکیب می تواند یک استراتژی هوشمندانه برای اطمینان از سلامت قطعات گوشت در دوره نگهداری آن‌ها در دمای یخچال باشد [42].

۲-۶- اثر باکتریوفاژها علیه سالمونلا در موادغذایی

[1] FDA (Food and Drug Administration)

در یکی از تحقیقات فاژی در سال ۲۰۲۰ در ژاپن از یک محلول فاژی پلی والان به نام PS5 که دارای اثر ضدباکتریایی بالا روی *سالمونلا انتریتیدیس*، *سالمونلا تایفی موریوم* و *اشریشیاکلی* سویه *O157:H7* بود، جهت بررسی خاصیت ضدباکتریایی آن به صورت in vitro در جمعیت باکتریایی و نیز به صورت مستقیم روی گوشت طیور استفاده گردید. فاژ PS5 یک میوویروس با زمان نهفته کوتاه و سایز انفجاری بزرگ و پایداری بالا بود و در بررسی ژنومی آن ژن‌های مقاومت آنتی بیوتیکی، ژن‌های مربوط به توکسین ها و ژن‌های فاکتورهای ویرولانسی تشخیص داده نشد. این فاژ توانست میزان شمارش باکتریایی را در محیط مایع در مورد هرسه میزبان باکتریایی به مقدار بیش از ۱/۳ log CFU/ml در مقایسه با گروه های کنترل پس از دو ساعت در دماهای ۴ درجه و ۲۴ درجه سلسیوس کاهش دهد. در زمینه اثر این فاژ بر روی مواد غذایی از پنج نوع ماده غذایی شامل پوست جوجه خام، برش‌های گوشت گاوی خام، کاهوی تازه، شیرپرچرب پاستوریزه و تخم مرغ استفاده شد که در مواد غذایی نیز کاهش قابل توجه شمارش تعداد باکتریایی در مقایسه با گروه‌های کنترل در مورد هرسه باکتری مورد مطالعه در دماهای استفاده شده مشاهده گردید [43] .

اثربخشی مخلوط فاژی دیگری شامل چهار فاژ سالمونلا را که متعلق به دو خانواده *میوویریده* و *سیفوویریده* بودند بر روی گوشت خام مرغ آلوده با سویه های مختلف *سالمونلا تایفی موریوم*، *سالمونلا انتریتیدیس* و *سالمونلا تایفی* مورد بررسی قرار گرفت. فاژها زمان نهفته ۵ تا ۳۰ دقیقه داشتند. میزان پایداری مشابه در برابر دما و pH داشتند وقتی قطعات گوشت مرغ آلوده در دمای ۴ درجه سلسیوس به مدت هفت روز با کوکتیل فاژی تیمار شدند، شمارش باکتریایی به میزان قابل توجهی کاهش پیدا کرد و نتایج از نظر آماری معنی دار بود [44].

در مطالعه ای که روی آلودگی سالمونلایی گوشت چرخ کرده (ریز و درشت) انجام گرفت، کاربرد باکتریوفاژ باعث کاهش سالمونلا در گوشت چرخ کرده و در تمام مراحل آماده سازی شد. این مطالعه به منظور ارزیابی اثرات کاربرد فاژ بر روی گوشت چرخ کرده گاو تلقیح شده با کوکتل سالمونلا که حاوی چهار گونه باکتری سالمونلا بود، طراحی شد. هنگام استفاده از باکتریوفاژ با غلظت 10^9 و 10^8 روی گوشت چرخ کرده میزان سالمونلاها ۱ log CFU/gr کاهش پیدا کرد و این در حالی بود که وقتی باکتریوفاژ بر روی قطعات بزرگتر گوشت استفاده شد کاهشی برابر با ۱/۶ log CFU/gr مشاهده گردید. فرآیند چرخ کردن یک تکه گوشت، ذرات کوچکتری را تولید می کند که باعث افزایش سطحی می شود که باید با باکتریوفاژها تماس یابد لذا هنگامی که باکتریوفاژها بر روی گوشت گاو چرخ شده استفاده شد، غلظت بیشتری از باکتریوفاژ برای کاهش آماری آلودگی سالمونلا مورد نیاز بود. این مطالعه بیانگر امکان استفاده از باکتریوفاژ بر روی گوشت آلوده گاوی جهت کاهش بار آلودگی سالمونلایی گوشت گاو بود [45].

در یک بررسی، باکتریوفاژی از نمونه‌های شیر بر علیه سالمونلا جداسازی شد و از نظر مولکولی و شیمیایی خصوصیات آن بررسی گردید. این فاژ که ژنوم کوچکی داشت و متعلق به خانواده *سیفوویریده* بود، پایداری بالایی در برابر دماها و pH هایی که در زنجیره نگهداری شیر مهم است، نشان داد. این فاژ رشد باکتری سالمونلا را در شیر بعد از سه ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سلسیوس به میزان هزار برابر کاهش داد. نتایج مطالعه نشانگر قدرت بالای این فاژ در زمینه کنترل رشد سالمونلا در شیر بود که می تواند علاوه بر استفاده جهت کنترل زیستی در شیر، افزایش ماندگاری شیر را هم سبب شود [46].

همچنین اثربخشی یک بسته باکتریوفاژی تجاری به نام Salmo Fresh روی آلودگی سالمونلایی کاهوی رومی و جوانه و دانه ماش که شامل شش سویه باکتریوفاژی بود بررسی شد و تاثیر آن با اثر آب کلردار روی کاهش بار آلودگی سالمونلایی مقایسه گردید. علاوه بر این، اثر همزمان آب کلردار و بسته فاژی باهم نیز ارزیابی شد که در نتیجه استفاده از روش غوطه وری موادغذایی داخل محلول باکتریوفاژی نسبت به اسپری کردن باکتریوفاژ روی مواد تاثیر ضدمیکروبی بهتری داشت و حدود ۲/۵ log CFU/ml کاهش بار آلودگی سالمونلایی را نشان داد. این مطالعه استفاده از این مخلوط فاژی را به عنوان یک روش موثر در کنترل زیستی آلودگی

سالمونلایی در این مواد غذایی دانست. همچنین مشخص گردید که به دلیل رشد سالمونلا در دانه های ماش در زمان جوانه زدن، مخلوط باکتریوفاژی مذکور روی دانه های بزرگ جوانه زده تاثیری نداشته است در حالی که استفاده ترکیبی از آب کلردار و مخلوط فاژی به عنوان بهترین تیمار جهت کاهش بار آلودگی سالمونلایی در دانه ماش و کاهو گزارش گردید [47]. در یک بررسی دیگر اثر ضدباکتریایی این مخلوط فاژی روی سه گونه سالمونلایی *سالمونلا تیفی موریوم*، *سالمونلا کنتاکی* و *سالمونلا انتریتیدیس* در دمای ۳۷ درجه سلسیوس در فرآورده های گوشت بوقلمون مشخص گردید درحالی که روی بار آلودگی ناشی از سالمونلا هایدلبرگ اثری نشان نداد [48]. در مطالعه ای مشابه ، یک کوکتل پنج فاژی برای کنترل هفت سویه *سالمونلا انتریکا* از چهار سرووواریته مختلف مورد استفاده قرار گرفت که ۲۴ ساعت پس از تلقیح محلول فاژی به برگ‌های کاهوی رومی و طالبی، مورد تیمار با سویه های مختلف سالمونلا قرار گرفتند. میزان کاهش بار آلودگی در این مواد غذایی در مورد برخی سویه های مورداستفاده به log ۳ هم رسید. بر اساس نتایج این مطالعه، فاژها پتانسیل کنترل زیستی سالمونلا را در بافت طالبی و کاهو داشتند اما میزان اثربخشی باکتریوفاژها بسته به سویه سالمونلای هدف متفاوت بود [49] .

۳-۶- اثر باکتریوفاژها علیه *اشریشیاکلی* در موادغذایی

در یک مطالعه در ترکیه که برای اولین بار در این کشور جهت بررسی اثربخشی کاربردی باکتریوفاژها در کاهش بار میکروبی مواد غذایی سنتی انجام شد، از یک باکتریوفاژ متعلق به خانواده *میوویریده* جداسازی شده از فاضلاب کشتارگاه های محلی، که دارای اثرات لیتیک با طیف وسیع روی اغلب سویه‌های باکتری *اشریشیاکلی* سویه *O157:H7* بود، استفاده شد. در این مطالعه غلظت های مختلفی از باکتریوفاژ مورداستفاده قرار گرفت. نتایج حاکی از کاهش قابل توجه حتی بیش از log CFU/gr ۲در تعداد باکتری‌ها در پنج ساعت اول تیمار بود که این میزان کاهش باکتری‌ها با افزایش غلظت فاژ مورداستفاده افزایش بیشتری هم داشت. از نظر کاربردی، افزودن باکتریوفاژ به ترکیبات غذاهای سنتی پیچیده مانند کوفته ترکی می تواند به عنوان روش مهمی در حذف آلودگی با *اشریشیاکلی* سویه *O157:H7* باشد. نتایج این مطالعه پتانسیل استفاده کاربردی از باکتریوفاژها در مواد غذایی آماده مصرف را جهت کنترل زیستی باکتری‌های بیماری‌زا مشخص نمود [50]. در مطالعه ای دیگر اثربخشی یک محصول تجاری فاژی به نام EcoShield™ که شامل سه باکتریوفاژ اختصاصی علیه *اشریشیاکلی* سویه *O157:H7* بود در مورد کاهش بار آلودگی قطعات گوشت گاوی و نیز در کاهو مورد بررسی قرار گرفت که در مورد گوشت گاوی کاهش شمارش باکتریایی به میزان بیش از ۹۴٪ و در مورد کاهو کاهش بیشتر از ۸۷٪ در پنج دقیق اول پس از آلودگی مشاهده شد ولی حفاظت از آلودگی مجدد پس از یکبار استفاده از محلول باکتریوفاژی حاصل نشد و آلودگی‌های پس از فرآوری را کاهش نداد. در این مطالعه نتایج کاهش بار میکروبی حتی پس از قرارگیری گوشت در بازه‌های زمانی مختلف ۱۰ دقیقه تا ۲۲ ساعت در دمای ۴ درجه سلسیوس نیز بسیار امیدوارکننده و بین ۹۴٪ تا ۹۸٪ بود. بطور جالب مشخص گردید که در صورت نگهداری گوشت در یخچال به مدت هفت روز نیز با توجه به عدم رشد یا رشد پایین باکتری *اشریشیاکلی* در این دما، همان کاهش بار میکروبی بین ۹۴٪ تا ۹۸٪ ثبت گردید که این مشاهدات میتواند پیامدهای عملی مهمی برای طراحی روش‌های کنترل زیستی مناسب با استفاده از باکتریوفاژها در بخش تاسیسات مرتبط با فرآوری مواد غذایی صنعتی داشته باشد [51]. اثربخشی یک کوکتل فاژی دیگر در کاهش بار آلودگی ناشی از هفت *اشریشیاکلی* توکسیژنیک روی ماتریکس غذایی ماش، دانه ماش و کاهو مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین اثربخشی این مخلوط فاژی روی کاهوی رومی و کاهوی آیسبرگ نیز بررسی شد. در این میان اثر ترکیبی آب کلردار و مخلوط فاژی موردنظر به همراه همدیگر نیز

مورد مطالعه قرار گرفت که این استفاده ترکیبی میزان بار آلودگی باکتری‌های STEC[1] روی کاهو را به میزان ۲/۱ log CFU/gr و بار آلودگی روی ماش را CFU/gr۲/۲log کاهش داد. استفاده از این کوکتیل فاژی علیه چهار باکتری *اشریشیاکلی* دیگر در کاهوها میزان بار آلودگی را ۳/۲- ۲/۶ log CFU/gr کاهش داد. قابل ذکر است که این مخلوط فاژی در دماهای ۲ و ۱۰ درجه سلسیوس و پس از ۷۲ ساعت بیشترین کاهش بار آلودگی را نشان داد. در مورد دانه های ماش، مخلوط فاژی تاثیری در کاهش بار آلودگی ناشی از باکتری‌های *اشریشیاکلی* توکسیژنیک نداشت که البته ممکن است به بافت غذایی آن‌ها مرتبط باشد که این یافته‌ها می‌تواند گام مهمی در جهت درک کاربردهای عملی فاژها برای افزایش ایمنی غذا بر روی محصولات برگ‌دار تازه باشد. بر اساس مطالعه مذکور نتایج امیدوارکننده حاصل، امکان تجاری سازی این کوکتیل فاژی را به عنوان یک درمان ضد عفونی پس از برداشت در صنایع محصولات تازه و فرآوری نشده در آینده فراهم می کند [52].

۴-۶- اثر باکتریوفاژها علیه *استافیلوکوکوس آرئوس* و کمپیلوباکتر در موادغذایی

با استفاده از یک فاژ جداسازی شده از مواد غذایی، اثر لیتیک آن روی کاهش بار آلودگی باکتری *استافیلوکوکوس آرئوس* در شیرپرچرب پاستوریزه و نیز سطوح استیل آلوده با استافیلوکوکوس سنجش گردید. پس از انتخاب فاژ مناسب جهت استفاده در مواد غذایی (SA46-CTH2) مشخص گردید که این فاژ به تنهایی یا همراه با نیسین در کاهش سلول‌های پلانکتونیک و نیز بیوفیلم حاصل از *استافیلوکوکوس آرئوس* در شرایط مختلف تاثیر بالایی داشت. با توجه به نتایج حاصل در این مطالعه پیشنهاد گردید که فاژ مذکور می تواند در کنترل زیستی سلول‌های پلانکتونیک و نیز بیوفیلم حاصل از *استافیلوکوکوس آرئوس* در مواد غذایی و نیز در ضدعفونی وسیله‌های مورداستفاده در فرآوری آن‌ها اثربخشی بالایی داشته باشد[53]. در یک بررسی دیگر پس از استفاده از غلظت‌های مختلف باکتریوفاژ اختصاصی روی سطوح گوشت گوساله خام و پخته آلوده با کمپیلوباکتر، کاهش بار آلودگی حدود ۱-۲ log CFU/ml مشاهده گردید [54].

۷- استفاده از باکتریوفاژها در فرایند بسته بندی مواد غذایی

با وجود انجام مطالعات متعدد جهت استفاده از ترکیبات مختلف بر روی کاهش بار آلودگی مواد غذایی مختلف، تحقیق و توسعه جهت تولید مواد بسته بندی نوآورانه برای محافظت از مواد غذایی بسته بندی شده در برابر آلودگی میکروبی و اکسیداسیون نیز پیشرفت چشمگیری داشته است. بسته بندی فعال اخیراً به عنوان یک رویکرد عملی برای کاهش اکسیداسیون و رشد میکروبیولوژیکی در کالاهای بسته بندی شده، افزایش عمر مفید آن‌ها و محافظت از مصرف کنندگان در برابر آسیب های احتمالی توسعه یافته است. با وجود استفاده از مواد ضدمیکروبی مختلف از جمله نیترات ها و اسیدهای بنزوئیک در فرمولاسیون بسته بندی فعال مواد غذایی، امروزه مصرف کنندگان به جای آنتی بیوتیک‌های شیمیایی، استفاده از آنتی بیوتیک‌های طبیعی مانند باکتریوسین ها، باکتریوفاژها و اسانس ها را ترجیح می دهند که باکتریوفاژها (ویروس ها) نیز به عنوان یک گزینه عملی برای آلودگی زدایی و از بین بردن عفونت های بیماری‌زای منابع غذایی مطرح شده اند. این ویروس‌ها می‌توانند عوامل بیماری‌زای خاصی از مواد غذایی را بدون آسیب رساندن به باکتری‌های مفید یا آلوده کردن انسان و دام مورد هدف قرار دهند و استفاده از باکتریوفاژها در فیلم‌های بسته‌بندی مواد غذایی نه تنها میکروارگانیسم‌های غذایی بیماری‌زای خاص را از بین می‌برد، بلکه می تواند به عنوان یک سلاح جدید برای مبارزه با مشکلات مقاومت به آنتی بیوتیک (AMR) در کاهش مقاومت‌های باکتریایی نیز مفید باشد. لذا استفاده از پوشش‌ها و لایه‌های بیوپلیمری و خوراکی مشتق از باکتریوفاژ به عنوان جایگزینی برای بسته‌بندی سنتی مواد

[1]STEC (Shiga toxin-producing *E. coli*)

غذایی از ارزش بالایی برخوردار می باشد. در بسیاری از گزارش‌ها نیز ادعا شده است که افزودن فاژهای جدید به لایه‌های پوشش‌های بیوپلیمری، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و کیفیت حسی غذا را تغییر نمی‌دهد. با این حال، افزودن این عوامل ضد باکتریایی منجر به تغییراتی در خواص مکانیکی فیلم‌ها می‌شود. اثرات ضد باکتریایی لایه‌ها و پوشش‌های دارای باکتریوفاژ در سیستم‌های غذایی مانند سبزیجات، گوشت، میوه، مرغ و ماهی با موفقیت آزمایش و اثبات شده است. هرچند چالش‌هایی برای بهره برداری کامل از این استراتژی جدید جهت توسعه فیلم های بسته بندی مواد غذایی مبتنی بر باکتریوفاژ برای کاربردهای بسته بندی فعال وجود دارد. از جمله این چالش‌ها می توان به زنده مانی و پایداری فاژ، تحرک فاژ در پوشش‌ها و فیلم‌ها، رهایش باکتریوفاژ از پوشش ها و فیلم ها به ماتریکس غذایی و غلظت جمعیت فعال باکتریایی و میزان در دسترس بودن جمعیت باکتریایی برای ارتقای عملکرد فاژها اشاره نمود. با این حال، تحقیقات قبلی ثابت کرده است که ترکیب فاژها در فیلم ها / پوشش ها برای حفظ فعالیت ضد باکتریایی مفید است. برای افزایش پایداری فاژها، نیاز مستمر به تحقیقات بیشتر در مورد مکانیک رهاسازی فاژ و استراتژی‌های ساخت فیلم‌ها وجود دارد [55]. کنترل زیستی باکتریوفاژی می تواند ابزاری امیدوارکننده جهت حفظ جمعیت میکروبی طبیعی و مفید غذاها و در عین حال از بین بردن باکتری‌های بیماری زا باشد. فناوری فاژ ممکن است هم درحیطه کاهش عفونت در حیوانات مزرعه و محدود کردن بار میکروبی در زنجیره تامین غذا، ایمنی غذا را افزایش دهد و همچنین می تواند برای پاکسازی زیستی میکروارگانیسم‌های موجود در مواد غذایی نیز مفید باشد.

۸- محصولات تجاری باکتریوفاژی در دسترس

موفقیت در استفاده از فاژها به‌عنوان عوامل ضد میکروبی منجر به توسعه محصولات تجاری متعددی در بخش‌های غذایی، کشاورزی، زیست‌پزشکی و بالینی شده است. سازمان حفاظت محیط زیست آمریکا (EPA[1]) ایمنی و اثر بخشی باکتری‌کشی محصولات Agriphage را که برای درمان لکه‌های باکتریایی در محصولات مختلف استفاده می‌شوند، تأیید کرده است . علاوه بر این، ListShield™توسط سازمان غذا و داروی ایالات متحده (FDA) به‌عنوان افزودنی غذایی تأیید و به‌عنوان ماده‌ای که به‌طور کلی ایمن شناخته شده است (GRAS[2]) ثبت شده است، که این اولین محصول فاژ تجاری شده برای استفاده مستقیم بر روی غذاهای آماده مصرف (RTE) محسوب می‌شود .(Intralytix, n.d) همچنین، Phageguard L™ (که قبلاً Listex™ P100 نام داشت)، نیز در چندین کشور از جمله آمریکا، کانادا، استرالیا، نیوزیلند و سوئیس تأیید شده است (Phageguard. N.d). تعدادی از محصولات فاژی تجاری موجود در (**جدول ۱**) ارائه شده است که لیست کامل این محصولات در مطالعه Liu و همکاران که در سال ۲۰۲۴ ارائه شده آمده است .[56] شایان ذکر است که تولید فاژ در مقایسه با تحقیق و توسعه آنتی‌بیوتیک‌ها مقرون‌به‌صرفه‌تر است چون توسعه آنتی‌بیوتیک‌های جدید معمولاً نیازمند میلیون ها دلارسرمایه‌گذاری و صرف زمان قابل توجهی برای نوآوری است. تخمین زده شده است که توسعه یک آنتی‌بیوتیک هدفمند حدود ۱.۵ میلیارد دلار آمریکا هزینه دارد در حالی که فرآیند جداسازی، تکثیر و تولید فاژها هزینه‌های بسیار کمتری به همراه دارد. به‌عنوان مثال، هزینه تولید کوکتل فاژی شامل شش فاژ اختصاصی سالمونلا که در صنعت طیور استفاده می‌شود، به‌طور میانگین ۱۴۲۲ دلار آمریکا به ازای هر دوز و فقط ۰.۰۳ دلار آمریکا به ازای هر مرغ برآورد شده است [57]. استفاده از فاژهای لیتیک به‌عنوان عوامل ضدمیکروبی مقرون‌به‌صرفه، نویددهنده آینده‌ای روشن است.

[1] EPA (Environmental Protection Agency)
[2] GRAS (Generally Recognized as Safe)

(جدول۱) محصولات تجاری باکتریوفاژی برای کاربردهای کنترل زیستی(Liu et al, 2024)

(Table1) Commercial bacteriophage products for biocontrol applications

درمان‌های ضدمیکروبی مبتنی بر فاژ می‌توانند از مسیرهای مختلفی پیروی کنند، که شامل استفاده مستقیم محلول فاژی یا اسپری کردن سوسپانسیون فاژ به طور مستقیم [58]؛ یا ترکیب فاژها در ماتریکس‌های مختلف مانند حامل‌ها، پوشش‌ها و مواد بسته‌بندی می‌باشد. در مورد سیستم‌های کشاورزی، فاژها به عنوان جایگزینی برای آنتی‌بیوتیک‌ها در صنعت دامداری برای کنترل بیماری‌های باکتریایی استفاده شده‌اند که فاژها از طریق تجویز خوراکی تجویز شده اند [59] اگرچه استفاده از روش خوراکی یک رویکرد عملی برای تغذیه حیوانات با استفاده از غلظت نسبتاً بالای فاژ است، اما اثربخشی این درمان هنوز به میزان پایداری فاژ و راندمان رهایش آن در دستگاه گوارش (GI) حیوانات بستگی دارد. در مورد سیستم‌های اسپری، برخی عوامل بیرونی، مانند محیط‌های خشن و موانع فیزیکی، بر بقای فاژ و مقاومت آن در سیستم‌های غذایی و کشاورزی تأثیر می‌گذارند56].

۹- مزایای استفاده از باکتریوفاژها

۹-۱- فاژها به عنوان مواد ضدمیکروبی و جایگزینی برای آنتی بیوتیک‌ها

از مهمترین مزایای استفاده از باکتریوفاژها در مواد غذایی استفاده آز آنها به عنوان مواد ضدمیکروبی می باشد که بخش مهم و حیاتی در زمینه استراتژی های جدید در نگهداری موادغذایی محسوب می گردد. باکتریوفاژها به عنوان عوامل ضدمیکروبی جایگزین مواد شیمیایی، با عملکرد اختصاصی خود سبب جلوگیری از حذف فلورطبیعی موادغذایی می شوند. استفاده از فاژها یک راه موثر برای تغییر اکولوژی باکتریایی به صورت فعال می باشد. در این بین علاوه بر تاثیر فاژها در درمان عوامل باکتریایی مانند شیگلا که توجه به فاژها را افزایش داده است، پروفیلاکسی فاژی به عنوان یک روش موثر در کنترل بیماری‌های مختلف انسانی و دامی مطرح گردیده است. علاوه بر مطرح بودن فاژها به عنوان عوامل ضدباکتریایی، با افزایش روزافزون مقاومت‌های باکتریایی استفاده از باکتریوفاژها به عنوان جایگزین‌هایی قابل توجه و موثر برای آنتی بیوتیک‌ها مورد توجه قرار گرفته اند. این مورد زمانی اهمیت بیشتری می یابد که توجه داشته باشیم که طبق گزارش WHO سالانه ۷۰۰۰۰۰ نفر در نتیجه مقاومتهای باکتریایی در جهان جان خود را از دست می دهند و بر اساس تخمین ها این مقدار تا سال ۲۰۵۰ به بیش از ده میلیون نفر خواهد رسید.[60]استفاده از آنتی بیوتیک‌ها در تولید مواد غذایی بر پایه کشاورزی نیز می تواند به عنوان منابع انتقال مقاومت‌های باکتریایی به حوزه بالینی انسانی مطرح باشد. با توجه به خصوصیات فاژها، باکتریوفاژها و پروتئین‌های بر پایه فاژ می توانند درمانهای قابل اعتمادی برای عفونت‌های مختلف باکتریایی باشند. بر پایه مطالعات انجام شده استفاده از فاژها در مقابله با طیف وسیعی از عفونت‌های باکتریایی از جمله عفونت‌های ناشی از *استافیلوکوکوس آرئوس*، سودوموناس آئروژینوزا، شیگلا و سالمونلا موفقیت آمیز بوده و نتایج بسیار جالب و امیدوارکننده ای هم در in vitro و هم در مدلهای حیوانی به دست آمده است و در مواردی که احتمال مرگ حتمی در اثر مقاومت به آنتی بیوتیک‌های موجود وجود داشت استفاده از باکتریوفاژها توانسته است جان بیماران را نجات دهد[61].

۹-۲- فاژها به عنوان کنترل زیستی باکتری‌های بیماری‌زا و عوامل فساد در موادغذایی

Journal Pre-proofs

حدود ۲۰۰ بیماری شناخته شده از طریق موادغذایی انتقال می یابند که بخش عمده یعنی دو سوم آنها از طریق آلودگی‌های باکتریایی ایجاد می شوند. از بین این باکتری‌ها هم سالمونلا، لیستریا، *ای‌کولای* و کمپیلوباکتر معمولترین جنس‌های باکتریایی هستند که معمولا با عفونت‌های جدی معدی- روده ای همراه هستند. بخشی از این باکتری‌ها شامل فلورطبیعی موادغذایی تازه و فرآوری نشده می باشند که نقش مهمی در تعادل میکروبی اکوسیستم باکتریایی دارند[62]. فاژهای لیتیک برای کنترل زیستی موادغذایی مناسب می باشند و تعدادی محصول تجاری در این زمینه از جمله Listex برای کنترل *لیستریا مونوسیتوژنز* و Ecoshield برای کنترل ای کولای O157H7 موجود می باشد. استفاده از فاژها موفقیت‌های قابل توجهی را در از بین بردن ریسک آلودگی موادغذایی حیوانی نشان داده است. مطالعات بیشتر بر روی بیوتکنولوژی فاژها شامل تولید محصولات فاژی مناسب مانند آندولیزین های فاژی نیز می تواند بازده کشاورزی و سلامت موادغذایی را افزایش دهد. در صنعت غذا امروزه استفاده از تکنیک‌های جدید به عنوان نگهدارنده های زیستی از اهمیت بسیار بالایی برخوردار است و از فاژهایی برای کنترل زیستی *شیگلا فلکسنری* و *شیگلا سونئی* و همچنین *گزانتوموناس کمپستریس* و *سودوموناس سیرنگی* با موفقیت استفاده شده است[63]. به دلیل مقاومت بالای این فاژها در دمای ۱ تا ۴۵ و نمک۱۰٪ و pH بین ۳ تا ۹ می توان از چنین فاژهایی برای مقابله با عفونت‌های حاصل از *لیستریا مونوسیتوژنز* که قابلیت رشد در شرایط سخت را داشته و در اغلب موادغذایی خام یافت می شود، استفاده نمود که در بسیاری از مطالعات توانسته اند بار آلودگی *لیستریا مونوسیتوژنز* را در گوشت خام، ماهی دودی شده،برش‌های میوه آماده، سبزیجات و طیف وسیعی از غذاهای آماده مصرف کاهش داده یا حتی حذف کنند[64]. در زمینه عفونت با کمپیلوباکتر در گوشت جوجه نیز به دلیل افزایش زیاد مقاومت‌های آنتی بیوتیکی و امکان تغییر ظاهر گوشت جوجه ها، استفاده از فاژ می تواند یک گزینه مناسب برای مبارزه با این عفونت باشد[65]. در مورد سالمونلا نیز که بر اساس نظر WHO یکی از چهار علت اصلی اسهال می باشد و می تواند از طریق آلودگی موادغذایی روی سلامت انسان‌ها تاثیر بگذارد، با استفاده از یک مخلوط چهارفاژی امکان کاهش تعداد سالمونلا در طی ذخیره و استفاده از موادغذایی مشخص گردید.[66]

۳-۹- فاژها به عنوان نشانگرهای زیستی

حسگرهای زیستی دستگاه‌های ساده و سریعی هستند که بر اساس کاوشگرهای آلی ساخته شده‌اند و قادر به شناسایی آنالیت‌های بیولوژیکی مانند میکروارگانیسم‌ها، ویروس‌ها و مولکول‌های زیستی هستند. یکی دیگر از استفاده های باکتریوفاژها تولید سنسورهای بر پایه فاژ می باشد که به دلیل اختصاصیت و حساسیت بالا و سادگی آنها در تشخیص سریع و اختصاصی میکروب‌ها اهمیت یافته اند[67].در این تکنیک‌ها، فاژها به طور گسترده به عنوان کاوشگرهای زیستی برای تشخیص عوامل بیماری‌زا استفاده می‌شوند. فاژها مختص باکتری‌های میزبان هستند و ویژگی‌های متفاوتی دارند، از جمله اینکه تکثیر آن‌ها آسان و تولید آن‌ها ارزان است، در برابر دما و تخریب pH و همچنین حلال‌های آلی مقاوم هستند[68]. پلتفرم‌های حسگر زیستی مبتنی بر فاژ عموماً شامل شبکه‌ای از کل فاژ یا ذره فاژ جزئی، آلوده‌سازی باکتری میزبان و در نهایت تولید سیگنال‌های رنگ‌سنجی، الکتریکی، فلورسنت یا لومینسانس هستند[69]

۴-۹- استفاده از پروتئین‌های لیزکننده مشتق از فاژها

آندولیزین های فاژی نیز مانند هیدرولازهای پپتیدوگلیکانی به عنوان یک منبع قابل اعتمادترکیبات فعال از نظر زیستی برای مبارزه باعفونت‌ها و آلودگی‌های نامطلوب مطرح شده اند. پروتئین‌های هولین امکان ورود آندولیزین‌ها به غشای سیتوپلاسمی را فراهم می‌سازند و به سوبسترای خود دستیابی پیدا می کنند[70]. آندولیزینی به نام LysH5 به طور موثری *استافیلوکوکوس آرئوس* را در شیرگاو حدود ۸log کاهش داد. آنزیم‌های لیتیک فاژی خانواده ای از آنتی بیوتیک‌ها هستندکه آنزی بیوتیک نامیده می

شوند و علاوه بر قدرت لیزکنندگی بالا، انتخابی بودن و ساختار خاص آنها تاکنون باکتری مقاوم به آنزی بیوتیک‌ها شناسایی نشده است[71].

۵-۹- فاژها و کاربرد آن‌ها در صنایع غذایی

یک فاژ می تواند به عنوان یک ضدباکتری و نگهدارنده در تولید موادغذایی و روند فرآوری آنها به کار روند. کیفیت غذا به دلیل ارتباط مستقیم با سلامت انسان‌ها اهمیت بسیار بالایی دارد که بر اساس مطالعات انجام شده باکتریوفاژها به عنوان عوامل مهم و قوی در کنترل زیستی بوده و تحقیقات حاکی از ایمن بودن آن‌ها برای گیاهان، جانوران و انسان می باشد[72].

۶-۹- فاژها در کنترل بیوفیلم های باکتریایی

باکتری‌های بیماری‌زا می توانند تکثیر یافته و بیوفیلم‌هایی را روی وسیله ها و سطوح ایجاد کنند که این امر بخصوص در زمینه آلودگی فرآورده های لبنی بسیار اهمیت دارد و می تواند عامل انتقال بیماری گردد. در واقع باکتری‌ها در داخل ساختار بیوفیلم به دام می افتند و حفاظت می شوند. در موارد مطالعات متعددی حذف بیوفیلم‌های باکتریایی توسط باکتریوفاژها به اثبات رسیده است.

تحقیقات نشان داده است که فاژها پتانسیل قابل توجهی در کاهش تشکیل بیوفیلم‌های جدید و همچنین از بین بردن بیوفیلم‌های از قبل موجود دارند. به عنوان مثال، کوکتل فاژی متشکل از LPSTLL، LPST94 و LPST153 توانسته است بیوفیلم‌های سالمونلا را به طور موثری روی سطوح مختلف از جمله میکروپلیت‌ها و فولاد ضد زنگ کاهش دهد. این کوکتل فاژی نه تنها قادر است میزان باکتری سالمونلا را در بیوفیلم‌ها در مدت زمان کوتاهی (تنها دو ساعت) کاهش دهد، بلکه این کاهش در بیوفیلم‌های تشکیل شده روی سطوح مختلف مانند فولاد ضد زنگ و لاستیک نیز مشاهده شده است[73].

علاوه بر این، یک کوکتل شش فاژی توانسته است جمعیت سالمونلا را روی چکمه‌های کارگران در محیط‌های فرآوری مواد غذایی کاهش دهد. این کاهش با استفاده از هیپوکلریت سدیم و سایش بیشتر هم شده است. جالب توجه است که ترکیب فاژها با کلر اثر هم‌افزایی در کاهش رشد بیوفیلم و حذف بیوفیلم‌های موجود نشان داده است. در مقابل، استفاده از کلر به تنهایی قادر به حذف کامل بیوفیلم‌ها نیست[74].

۱۰-۹- استفاده از باکتریوفاژها در سیستم گوارشی

در سیستم گوارشی انسان حدود ۱۵۱۰ فاژ وجود دارد که بیشترین غلظت موجودات بیولوژیک در روی زمین را نشان می دهد. بیشترین خانواده های ویروسی موجود، *پودوویریده*، *سیفوویریده* و *میووویریده* می باشدکه می توانند تعادل میکروبیوم روده را حفظ کنند که مسئول بیماری و سلامتی انسان می باشد[75]. شواهدی از شوروی قدیم نشان داده است که استفاده پیشگیرانه از فاژها میزان شیوع اسهال را در سربازان شوروی کاهش داد[76]. همچنین در گرجستان در دهه ۱۹۶۰ فاژدرمانی پیشگیرانه به صورت موفقیت آمیز در کودکان در مورد اسهال استفاده شد که میزان شیوع اسهال در این کودکان ۳/۸ برابر کمتر بود[76]. فرمولاسیون فاژی inestiphage که شامل مخلوطی از فاژها برای پیشگیری و درمان عفونت‌های ناشی از *استافیلوکوکوس آرئوس*، *ایکولای*،

شیگلا، سالمونلا، سودوموناس و پروتئوس بود، در بهبود بیماران حتی در مقایسه با آنتی بیوتیک‌ها نتایج بسیار خوبی داشت. یک عامل مهم در استفاده خوراکی از فاژها امکان آسیب توسط اسیدیته معده می باشد که در این زمینه میکروکپسوله کردن فاژها می تواند بسیار موثر باشد. همچنین مطالعات استفاده از باکتریوفاژها همراه با پروبیوتیک‌ها را به عنوان درمان موثری در ایجاد تعادل در سیستم گوارشی اشاره کرده اند.

۱۰- چالش‌های استفاده از فاژها

با وجود مزایای زیادی که استفاده از باکتریوفاژها در حوزه های مختلف علم و صنعت دارد، جهت استفاده گسترده از آنها توجه به برخی نکات بسیار ضروری می باشد[77]. استفاده از فاژها از نظر درمانی اثرات مضر جدی ندارد ولی با این وجود باید از خلوص محلول فاژی مورداستفاده اطمینان حاصل کرد. به دلیل احتمال تخریب لیپوپلی ساکارید و پپتیدوگلیکان باکتریایی و ایجاد ترکیبات التهابی پس از لیز گسترده باکتریها توسط فاژها وجود دارد که البته تکنولوژی‌های متنوع مانند سانتریفوژ گرادیان و ستون کروماتوگرافی برای تخلیص فاژها در دسترس می باشد که ساده و مقرون به صرفه هستند. آلودگی با فاژها می تواند در برخی فرآیندهای مواد غذایی بخصوص در زمینه لبنیات مشکل آفرین باشد و سبب آسیب به باکتریهای استارتر شود. زمانی که عفونت فاژی جدی است، فعالیت استارتری کاملا از بین می رود البته راهکارهایی برای اصلاح این روند وجود دارد که می توان به استفاده از استارترهای با سویه های مخلوط باکتریایی و فاصله داشتن محل تولید پنیر از محل تولید استارترها و استفاده از محیط‌های کشت ممانعت کننده از رشد فاژها برای تولید استارترها در مقادیر بالا و روش‌های دیگر اشاره نمود. با پایش و مراقبت موثر در محل ورود و روش‌های شناسایی موثر فاژی، امکان کنترل ریسک تکثیر فاژی در داخل بخش تخمیری صنایع لبنی افزایش می یابد.

۱-۱۰- امکان ایجاد مقاومت باکتریایی در برابر فاژها

مکانیسم اولیه این نوع مقاومت جلوگیری از اتصال فاژ به رسپتورهای باکتریایی می باشد که باعث جلوگیری از تلقیح DNA فاژی به داخل سلول شده و از تولید فاژ و تکثیر آن‌ها جلوگیری می کند. تغییر یا حذف رسپتورها برای تغییرات پروتئین های غشایی در *اشریشیاکلی*، *استافیلوکوکوس آرئوس*، *بوردتلا و ویبریو کلرا* نشان داده شده است. گونه های سودوموناس ترکیبات پلیمری خارج سلولی ترشح می کنند. استفاده از مخلوط فاژی و تلقیح غلظت بالای فاژی در دوز اول می تواند در کاهش مقاومت‌های باکتریایی نسبت به فاژها موثر باشد.یعنی اگر فاژها خیلی سریع بتوانند عوامل بیماری‌زا را حذف کنند، بالطبع تولید باکتری‌های مقاوم به فاژ کاهش می یابد[78].

۲-۱۰- قوانین و چهارچوب‌های قانونی استفاده از باکتریوفاژها

جستجوی جایگزین‌هایی برای آنتی‌بیوتیک‌ها بسیار مهم است، زیرا مقاومت ضدمیکروبی به یک نگرانی جهانی تبدیل شده است. درمان با باکتریوفاژ به عنوان جایگزینی مناسب برای درمان بیماری‌های باکتریایی مقاوم به بسیاری از داروها ظهور کرده است. آژانس داروهای اروپایی (EMA) باکتریوفاژهای طبیعی مورد استفاده به عنوان درمان را به عنوان محصولات پزشکی در نظر می‌گیرد و آن‌ها را طبق دستورالعمل ۲۰۰۱ / ۸۳ EC / در مورد قانون جامعه مربوط به محصولات دارویی برای استفاده انسان به عنوان مواد بیولوژیکی طبقه‌بندی می‌کند. اگرچه بسیاری از کشورها اخیراً به دلیل اپیدمیAMR علاقه خود را به درمان با فاژ

دوباره به دست آورده‌اند، اما مدت‌هاست که در اروپای شرقی مورد استفاده قرار می‌گیرد. به طور خاص، درمان با فاژ از زمان کشف آن در مراقبت‌های بهداشتی در گرجستان، لهستان و روسیه مورد استفاده قرار گرفته است. طبق چندین قانون لهستان، از جمله قانون مشاغل پزشکی و دندانپزشکی مصوب ۵ دسامبر ۱۹۹۶، قانون اخلاقی انجمن لهستان، قانون اساسی لهستان و قوانین اتحادیه اروپا مربوط به کشورهای عضو آن، فاژ درمانی در لهستان به عنوان یک درمان تجربی در نظر گرفته می‌شد[79]. در لهستان، درمان با فاژ همچنین تحت نظارت دستورالعمل‌های ۲۰۰۱ / ۲۰ / EC و ۲۰۰۵ / ۲۸ / EC است که مطالعات بالینی و عملکرد بالینی خوب را کنترل می‌کنند. فاژ درمانی مدت‌هاست که در اروپای شرقی مورد استفاده قرار می‌گیرد، اما استفاده از آن در کشورهای اروپای غربی، از جمله بریتانیا، فرانسه و بلژیک، پراکنده‌تر است. با این حال، پیشرفت‌های اخیر در این کشورها، پیشرفت‌های قابل توجهی را در قوانین حاکم بر این درمان نشان داده است. از سال ۲۰۱۱، آژانس داروهای اروپا، فاژ درمانی را به عنوان یک محصول دارویی طبقه‌بندی کرده است. با این حال، اختلاف نظرهایی در مورد اینکه آیا این طبقه‌بندی باید محصولات دارویی بیولوژیکی تحت دستورالعمل کمیسیون ۲۰۰۱ / ۸۳ / EC یا محصولات دارویی پیشرفته درمانی تحت دستورالعمل کمیسیون ۲۰۰۳ / ۶۳ / EC باشد، ایجاد شده است[80]. اگرچه فاژ درمانی در بریتانیا مجوز ندارد، اما بسیاری از بخش‌ها توسط آژانس نظارتی محصولات دارویی و مراقبت‌های بهداشتی تنظیم می‌شوند. این آژانس همچنین بر استفاده دلسوزانه از فاژ درمانی نظارت دارد و فاژ طبیعی را به عنوان پزشکی بیولوژیکی طبقه‌بندی می‌کند[81]. درمان با فاژ در سال‌های اخیر در استرالیا نیز در بین محققان و متخصصان پزشکی محبوبیت پیدا کرده است. محققان و پزشکان در بیمارستان‌ها و مؤسسات تحقیقاتی در سراسر کشور توسط فاژ استرالیا، یک همکاری ملی با هدف سیستماتیک کردن فاژ درمانی، با هم در ارتباط هستند. این روش هنوز به راحتی برای عموم مردم قابل دسترسی نیست، اما ذینفعان در تلاشند تا این درمان را حرفه‌ای کنند[82]. درمان با فاژ توسط دفتر تحقیقات و بررسی واکسن‌های سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA) در مرکز ارزیابی و تحقیقات بیولوژیک، به عنوان یک محصول بیولوژیکی طبقه‌بندی شده است و به همین ترتیب، مشمول مقررات و تولیدی است که شامل GMP، تحقیقات پیش‌بالینی و مستندات کارآزمایی بالینی می‌شود. اگرچه در حال حاضر هیچ درمان فاژ مورد تأیید FDA در دسترس نیست، ایالات متحده بیشترین آزمایش‌های حمایت شده توسط صنعت (IST) مرتبط با فاژ را دارد که برخی از آن‌ها در مرحله کارآزمایی بالینی فاز ۳ هستند. با گردهمایی محققان و ذینفعان فاژ توسط شورای تحقیقات پزشکی هند (ICMR[1]) برای بحث در مورد جزئیات مربوطه، دولت هند پس از تحقق پتانسیل آن، در تلاش است تا فاژدرمانی را ترویج دهد. در نتیجه، می‌توان انتظار داشت که مقررات و مراکز تحقیقاتی تخصصی‌تری در هند ایجاد شود[83]. آیین‌نامه الکترونیکی مقررات فدرال (eCFR-FDA) فرآورده‌های باکتریوفاژ اختصاصی لیستریا برای لیستریا مونوسیتوژنز را به عنوان یک عامل ضدمیکروبی (افزودنی) مطابق با رویه‌های صحیح تولید فعلی فهرست کرده است. برای کنترل *L. monocytogenes* با استفاده مستقیم از آن در محصولات گوشتی و مرغی که با تعریف آماده مصرف (RTE) در CFR 430.1 ۹ مطابقت دارند. با این حال، رویه‌های صحیح تولید فعلی با استفاده مستقیم از اسپری افزودنی با سرعت تقریبی ۱ میلی‌لیتر از افزودنی به ازای هر ۵۰۰ سانتی‌متر مربع از سطح محصول سازگار است.

۱۱- چشم انداز آینده استفاده از باکتریوفاژها در صنایع غذایی

علیرغم بهبود روش‌های کنترل زیستی برای مواد غذایی، استفاده از افزودنی های تقلبی در میوه ها و سبزیجات تازه همچنان موضوع مهمی است. باکتری‌های بیماری‌زا و زیان آور می توانند کیفیت محصول را کاهش داده و منجر به هدررفت آن‌ها شود.

[1] ICMR (Indian Council of Medical Research)

تحقیقات کنونی در میکروبیولوژی مواد غذایی، اثربخشی باکتریوفاژها را در جلوگیری از رشد باکتری‌های مضر بر روی محصولات تازه برجسته کرده است. باکتریوفاژها در نقاط مختلف زنجیره تولید مواد غذایی مفید هستند. آن‌ها ابزار کمکی امیدوارکننده ای را برای مبارزه با عفونت‌های ناشی از غذا، به ویژه در مورد جمعیت‌های آسیب پذیر مانند کودکان، سالمندان و مادران باردار ارائه می دهند. فاژها دشمنان قوی، صریح و خود تکثیر گونه های باکتریایی هستند که در کاهش بیماری، ضدعفونی در سطح مزرعه و به عنوان نگهدارنده در موادغذایی می توانند بسیار ارزشمند باشند. آن‌ها به طور فزاینده ای به عنوان ایمن (GRAS) برای استفاده در محصولات غذایی شناخته می شوند و ارگانیک و قانونی در نظر گرفته می شوند. به ویژه کوکتیل های فاژی، فعالیت قابل توجهی برای مقابله با گونه‌های مقاوم به چند دارو (MDR) نشان داده اند و می توانند با سایر ترکیبات ضد میکروبی ایمن مانند باکتریوسین‌ها ترکیب شوند تا اثربخشی و گزینش پذیری آن‌ها افزایش یابد. با این حال، مسائلی که نیاز به بررسی بیشتر دارند شامل مکانیسم های مقاومت فاژی، انتقال بالقوه ژن‌های بیماری‌زا، قابلیت ردیابی فاژ در محیط، و چالش‌های فرمولاسیون و پایداری برای کاربردهای درمانی است. به طور کلی، باکتریوفاژها اجزای ضروری اکوسیستم ها هستند که نقش مهمی در تکامل باکتری ها دارند. استفاده از آن‌ها به عنوان عوامل کنترل زیستی در طول مراحل قبل از برداشت، برداشت و پس از برداشت، مزایای متعددی را برای پالایش ایمنی و پایداری مواد غذایی در راستای اهداف توسعه پایدار (SDGs[1]) فراهم می کند.

References

[1] Murray, K., Wu, F., Shi, J., Jun Xue, S., & Warriner, K. (2017). Challenges inthe microbiological food safety of fresh produce: Limitations ofpost-harvest washing and the need for alternative interventions. Food Qual Saf., 1(4), 289–301.

[2] Rashida, H., Sean, B., Douglas, N., Carlota, M., Alida, S., Jessica, L, Rotstein, D., Schlater, L., Freiman, J., Douris, A., Simmons, M., Donovan, D., Henderson, J., Tewell, M., Snyder, K., Oni, O., Von Stein, D., Dassie, K. . . . Gieraltowski, L. (2019). Multistate outbreak of Salmonella infections linked to raw turkey products United States, 2017–2019. MMWR., 68(46), 1045–1049.

[3] Yu, H., Elbediwi, M., Zhou, X., Shuai, H., Lou, X., Wang, H., Li, Y., & Yue, M. (2020). Epidemiological and genomic characterization of *Campylobacter jejuni* isolates from a foodborne outbreak at Hangzhou, China. Int J Mol Sci., 21(8), 3001.

[4] Bensid A., El Abed N., ; Houicher A., M. Regenstein J., Özogul F. (2020). Antioxidant and antimicrobial preservatives: Properties, mechanism of action and applications in food – a review. Crit Rev Food Sci Nutr., 62, 2985-3001.

[5] Van Loo, E. J., Ricke S. C., O'Bryan C. A., Johnson M. G. (2012). Historical and current perspectives in organic meat production. Organic meat production and processing, 1–9. New York, NY: Wiley Scientific/IFT.

[6] Ricke, S. C., Wideman M. E. (2013). Cranberries and their potential application against foodborne pathogens. OA Alternative Medicine 1 (2):17.

[7] Corbo, M. R., Bevilacqua, A., Campaniello, D., et al. (2009). Prolonging microbial shelf life of foods through the use of natural compounds and non-thermal approaches–a review. IJFST., 44, 223–241

[8] Del Nobile, M. A., Lucera, A., Costa, C., et al. (2012). Food applications of natural antimicrobial compounds. Front microbiol., 3, 287.

[9] Moye, Z. D., Woolston, J., Sulakvelidze, A. (2018). Bacteriophage applications for food production and processing. Viruses, 10(4), 205.

[1] SDGs (Sustainable Development Goals)

Journal Pre-proofs

[10] Endersen L., CoffeyA. (2020). The use of bacteriophages for food safety. Curr Opin Food Sci., 36,1–8.

[11] Sillankorva, S. M., Oliveira, H., Azeredo, J. (2012). Bacteriophages and their role in food safety. Int J Microbiol., 2012, 1–13.

[12] Bhardwaj, N., Bhardwaj, S. K., Deep, A., Dahiya, S., Kapoor, S. (2015). Lytic bacteriophages as biocontrol agents of foodborne pathogens. AJAVA., 10(11), 708–723.

[13] O'Sullivan, L., Bolton, D., McAuliffe, O., Coffey, A. (2019). Bacteriophages in food applications: From foe to friend. Annu Rev Food Sci Technol., 10(1), 151–172.

[14] Greer, G. G. (2005). Bacteriophage control of foodborne bacteria. JFP., 68(5), 1102–1111.

[15] Sarno, D Pezzutto, Rossi M, Liebana E, Rizzi V. (2021). A Review of Significant European Foodborne Outbreaks in the Last Decade. JFP.,84(12).

[16] Scallan, E. Hoekstra, RM. Angulo, FJ. Tauxe, RV. Widdowson, MA. Roy, SL. Jones, JJ. Griffin, PM. (2011). Foodborne Illness Acquired in the United States—Major Pathogens. Emerg. Infect. Dis.,17(1),7-15.

[17] Żaczek, B. Weber-Dąbrowska, A. Górski, (2015) Phages in the global fruit and vegetable industry. J Appl Microbiol,118,3.

[18] Islam, F., Saeed, F., Afzaal, M., Ahmad, A., Hussain, M., Khalid, M. A., Saewan, S. A., & Khashroum, A. O. (2022). Applications of green technologies-based approaches for food safety enhancement: A comprehensive review. Food sci nutr., 10(9), 2855–2867.

[19] Mahajan, P. V., Caleb, O. J., Singh, Z., Watkins, C. B., & Geyer, M. (2014). Post harvest treatments of fresh produce. Philos Trans R Soc A., 372 (2017).

[20] McCallin, S., Sarker, S. A., Barretto, C., Sultana, S., Berger, B., Huq, S., Krause, L., Bibiloni, R., Schmitt, B., Reuteler, G., & Reuteler, G. (2013). Safety analysis of a Russian phage cocktail: From MetaGenomic analysis to oral application in healthy human subjects. Virol J., 443(2),187–196.

[21] Wagh, R., Ruchir Priyadarshi, V., Jong-Whan, R. (2023). Novel Bacteriophage-Based Food Packaging: An InnovativeFood Safety Approach, coatings, 13: 609.

[22] Kamiński, B., & Paczesny, J. (2024). Bacteriophage challenges in industrial processes: A historical unveiling and future outlook. *Pathog.*, *13*(2), 152. [23] Kochhar, R. The Virus in the Rivers: Histories and Antibiotic Afterlives of the Bacteriophage at the Sangam in Allahabad. *Notes Rec. R. Soc. J. Hist. Sci.* 2020, *74*, 625–651

[24] Suvarna, V., Nair, A., Mallya, R., Khan, T., & Omri, A. (2022). Antimicrobial nanomaterials for food packaging. *Antibiotics* (*Basel*) [*Abbrev.: Antibiotics (Basel)*], *11*(5), 729. [25] Gordillo Altamirano, F.L.; Barr, J.J. Phage Therapy in the Postantibiotic Era. *Clin. Microbiol. Rev.* 2019, *32*, e00066-18.

[26] Kasimanickam, V., Kasimanickam, M., & Kasimanickam, R. (2021). Antibiotics use in food animal production: Escalation of antimicrobial resistance: Where are we now in combating AMR? *Med. Sci.*, *9*(1), 14 [27] Holtappels, D.; Fortuna, K.; Lavigne, R.; Wagemans, J. The Future of Phage Biocontrol in Integrated Plant Protection for Sustainable Crop Production. *Curr. Opin. Biotechnol.* **2021**, *68*, 60–71.

[28] Azam, A. H., Tan, X.-E., Veeranarayanan, S., Kiga, K., & Cui, L. (2021). Bacteriophage technology and modern medicine. *Antibiot.* [29] Zolnikov, T.R. Global Health in Action Against a Superbug. *Am. J. Public Health* **2019**, *109*, 523–524.

[30] Chiozzi, V., Agriopoulou, S., & Varzakas, T. (2022). Advances, applications, and comparison of thermal (pasteurization, sterilization, and aseptic packaging) against non-thermal (ultrasounds, UV radiation, ozonation, high hydrostatic pressure) technologies in food processing. *Appl. Sci.*, *12*(5), 2202 [31] Jagtap,

Journal Pre-proofs

N.S.; Wagh, R.V.; Chatli, M.K.; Malav, O.P.; Kumar, P.; Mehta, N. Chevon Meat Storage Stability Infused with Response Surface Methodology Optimized *Origanum vulgare* Leaf Extracts. *Agric. Res.* **2020**, *9*, 663–674.

[32] Hameed, F., Bandral, J. D., Gupta, N., Nayik, G. A., Sood, M., & Rahman, R. (2022). Use of bacteriophages as a target specific therapy against food-borne pathogens in food industry – a review: Bacteriophage. *J. Microbiol. Biotechnol. Food Sci.*, *11*(6), e2949. [33] Agriopoulou, S; Stamatelopoulou, E; Sachadyn-Król, M.; Varzakas, T. (2020) Lactic Acid Bacteria as Antibacterial Agents to Extend the Shelf Life of Fresh and Minimally Processed Fruits and Vegetables: Quality and Safety Aspects. Mdpi., 8, 952.

[34] Zhang, Z.H.; Wang, L.H.; Zeng, X.A.; Han, Z.; Brennan, C.S. (2019). Non-thermal technologies and its current and future application in the food industry. IJFST., 54, 1–13.

[35] Gientka, I.; Wójcicki, M.; ˙Zuwalski, A.W.; Bła ˙zejak, S. (2021) Use of phage cocktail for improving the overall microbiological quality of sprouts—Two methods of application. Appl Microbiol., 1, 289–303.

[36] Leverentz, B., W. S. Conway, M. J. Camp, W. J. Janisiewicz, A. Abuladze, M. Yang, R. Saftner, and A. Sulakvelidze. (2003). Biocontrol of *Listeria monocytogenes* on fresh-cut produce by treatment with lytic bacteriophages and a bacteriocin. Appl Environ Microbiol., 69,4519–4526.

[37] Leverentz, B., W. S. Conway, W. Janisiewicz, and M. J. Camp. (2004). Optimizing concentration and timing of a phage spray application to reduce *Listeria monocytogenes* on honeydew melon tissue. J Food Prot., 67:1682– 1686.

[38] Aprea, G.; Zocchi, L.; Di Fabio, M.; De Santis, S.; Prencipe, V.A.; Migliorati, G. (2018) The applications of bacteriophages and their lysins as biocontrol agents against the foodborne pathogens *Listeria monocytogenes* and Campylobacter spp.: An updated look. Vet Ital., 54, 293–303.

[39] Soni, K.A., Nannapaneni, R., Hagens, S. (2010). Reduction of *Listeria monocytogenes* on the Surface of Fresh Channel Catfish Fillets by Bacteriophage Listex P100. Foodborne Pathog Dis., 7(4), 427–434.

[40] Guenther S, Huwyler D, Richard S, Loessner MJ. (2009). Virulent bacteriophage for efficient biocontrol of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. Appl Environ Microbiol., 75,93–100.

[41] Zhou, C., Zhu, M., Wang, Y., Yang, Z., Ye, M., Wu, L., Bao, H., Pang, M., Zhou, Y., Wang, R., Sun, L., Wang, H., Zheng, C., & Zhang, H. (2020). Broad host range phage vB-LmoM-SH3-3 reduces the risk of *Listeria* contamination in two types of ready-to-eat food. Food Control., 108, 106830.

[42] Figueiredo, A.C.L.; Almeida, R.C.C. (2017). Antibacterial efficacy of nisin, bacteriophage P100 and sodium lactate against *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat sliced pork ham. Braz J Microbiol., 48, 724–729.

[43] Duc, H. M., Son, H. M., Yi, H. P. S., Sato, J., Ngan, P. H., Masuda, Y. Honjoh, K.-I., & Miyamoto, T. (2020). Isolation, characterization and application of a polyvalent phage capable of controlling Salmonella and *Escherichia coli O157: H7* in different food matrices. Int. Food Res., 131, 108977.

[44] Kim, J., H., Jung, S. J., Mizan, M. F. R., Park, S. H., & Ha, S. (2020). Characterization of Salmonella spp. specific bacteriophages and their biocontrol application in chicken breast meat. J Food Sci., 85(3), 526–534.

[45] Shebs-Maurine, E. L., Giotto, F. M., Laidler, S. T., & de Mello, A. S. (2021). Effects of bacteriophages and peroxyacetic acid applications on beef contaminated with Salmonella during different grinding stages. Meat Sci., 173, 108407.

[46] Abdelsattar AS, Safwat A, Nofal R, Elsayed A, Makky S, El-Shibiny A, (2021). Isolation and Chaaracterization of Bacteriophage ZCSE6 against *Salmonella spp*: Phage Application in Milk. Biologics, 1,164–176.

Journal Pre-proofs

[47] Zhang, X., Niu, Y. D., Nan, Y., Stanford, K., Holley, R., McAllister, T., &Narváez-Bravo, C. (2019). SalmoFresh™ effectiveness in controlling Salmonella on romaine lettuce, mung bean sprouts and seeds. Int. J Food Microbiol., 305, 108250.

[48] Sharma, C., Dhakal, J., Nannapaneni, R. (2015). Efficacy of lytic bacteriophage preparation in reducing *Salmonella* in vitro, on turkey breast cutlets, and on ground turkey. JFP., 78 (7), 1357–1362.

[49] Wong, C. W., Delaquis, P., Goodridge, L., Lévesque, R. C., Fong, K., & Wang, S. (2020). Inactivation of *Salmonella enterica* on post-harvest cantaloupe and lettuce by a lytic bacteriophage cocktail. CRFS., 2, 25–32.

[50] Gencay, Y. E., Ayaz, N. D., Copuroglu, G., & Erol, I. (2016). Biocontrol of Shiga toxigenic *Escherichia coli O157: H7 in* Turkish raw meatball by bacteriophage. J. Food Saf., 36(1), 120–131.

[51] Carter, C. D., Parks, A., Abuladze, T., Li, M., Woolston, J., Magnone, J., Senecal, A., Kropinski, A. M., & Sulakvelidze, A. (2012). Bacteriophage cocktail significantly reduces *Escherichia coli O157: H7* contamination of lettuce and beef, but does not protect against recontamination. Bacteriophage, 2(3), 178–185.

[52] Ding, Y., Nan, Y., Qiu, Y., Niu, D., Stanford, K., Holley, R., Narváez-Bravo, C., & McAllister, T. (2023). Use of a phage cocktail to reduce the numbers of seven *Escherichia coli* strains belonging to different STEC serogroups applied to fresh produce and seeds. J. Food Saf.,43(4), e13044.

[53] Duc, H. M., Son, H. M., Ngan, P. H., Sato, J., Masuda, Y., Honjoh, K.-i., & Miyamoto, T. (2020). Isolation and application of bacteriophages alone or in combination with nisin against planktonic and biofilm cells of *Staphylococcus aureus*. Appl Microbiol Biotechnol., 104(11), 5145–5158

[54] Orquera, S., Gölz, G., Hertwig, S., Hammerl, J., Sparborth, D., Joldic, A., & Alter, T. (2012). Control of Campylobacter spp. And *Yersinia enterocolitica* by virulent bacteriophages. IJBR., 6(1), 273.

[55] Umaraw, P., Munekata, P. E. S., Verma, A. K., Barba, F. J., Singh, V. P., Kumar, P., et al. (2020). Edible films/coating with tailored properties for active packaging of meat, fish and derived products. Trends Food Sci Technol., 98, 10–24.

[56] Liu, S., Quek, S.-Y., & Huang, K. (2024). Advanced strategies to overcome the challenges of bacteriophage-based antimicrobial treatments in food and agricultural systems. *npj Science of Food*, 7, 12574–12598.

[57] Torres-Acosta, M. A., Clavijo, V., Vaglio, C., González-Barrios, A. F., Vives-Flórez, M. J., & Rito-Palomares, M. (2019). Economic evaluation of the development of a phage therapy product for the control of *Salmonella* in poultry. *Biotechnol. Prog.*, *35*(5), e2852

[58] Liu, A., Liu, Y., Peng, L., Cai, X., Shen, L., Duan, M., Ning, Y., Liu, S., Li, C., Liu, Y., et al. (2020). Characterization of the narrow-spectrum bacteriophage LSE7621 towards *Salmonella Enteritidis* and its biocontrol potential on lettuce and tofu. LWT, *118*, 108791

[59] Clavijo, V., Baquero, D., Hernandez, S., Farfan, J. C., Arias, J., Arévalo, A., Donado-Godoy, P., & Vives-Flores, M. (2019). Phage cocktail SalmoFREE® reduces *Salmonella* on a commercial broiler farm. *Poult. Sci.*, *98*(10), 5054–5063. https://doi.org/10.3382/ps/pez318

[60] Pecetta, S., & Rappuoli, R. (2021). Bacteriophages, a multi-tool to fight infectious disease. *Med*, *2*(2), 209–210. https://doi.org/10.1016/j.medj.2021.01.007

[61] i, J., Zhao, F., Zhan, W., Li, Z., Zou, L., & Zhao, Q. (2022). Challenges for the application of bacteriophages as effective antibacterial agents in the food industry. *J. Sci. Food Agric.*, *102*(2), 461–471

[62] Esmael, A., Azab, E., Gobouri, A. A., Nasr-Eldin, M. A., Moustafa, M. M. A., Mohamed, S. A., Badr, O. A. M., & Abdelatty, A. M. (2021). Isolation and characterization of two lytic bacteriophages infecting a multi-

Journal Pre-proofs

drug resistant *Salmonella Typhimurium* and their efficacy to combat salmonellosis in ready-to-use foods. *Microorganisms*, *9*(2), 423.

[63] Prashantha, S. T., Yadav, J., Sunilkumar, V. P., & HP, N. P. (2023). The variability and mechanisms of infection by gram-positive, plant associated bacteria. *International Year of Millets, 51*.

[64] Komora, N., Maciel, C., Amaral, R. A., Fernandes, R., Castro, S. M., Saraiva, J. A., & Teixeira, P. (2021). Innovative hurdle system towards *Listeria monocytogenes* inactivation in a fermented meat sausage model - high pressure processing assisted by bacteriophage P100 and bacteriocinogenic *Pediococcus acidilactici*. *Food Res. Int.*, 148, 110628.

[65] Srivastava, K. R., Awasthi, S., Mishra, P. K., & Srivastava, P. K. (2020). In M. N. V. Prasad & A. Grobelak (Eds.), *Waterborne pathogens* (pp. 237–277). Banaras Hindu University.

[66] Kuek, M., McLean, S. K., & Palombo, E. A. (2022). Application of bacteriophages in food production and their potential as biocontrol agents in the organic farming industry. *Biol. Control*, *165*, 104817.

[67] Paczesny, J., Wdowiak, M., & Ochirbat, E. (2022). In *Nanotechnology for infectious diseases* (pp. 439–473). Springer

[68] Aliakbar Ahovan, Z., Hashemi, LM De Plan, A., Gholipourmalekabadi, M., Seifalian, A. (2020). Bacteriophage Based Biosensors: Trends, Outcomes and Challenges, Nanomaterials, *10*(3), 501.

[69] Wang, J., Kanach, A., Han, R., & Applegate, B. (2021). Application of bacteriophage in rapid detection of *Escherichia coli* in foods. *Curr. Opin. Food Sci.*, *39*, 43–50 [70] Lai, W. C. B., Chen, X., Ho, M. K. Y., Xia, J., & Leung, S. S. Y. (2020). Bacteriophage-derived endolysins to target gram-negative bacteria. *Int. J. Pharm.*, *589*, 119833.

[71] Huang, Z., Zhang, C., Wang, J., Zhang, F., & Xu, X. (2021). Phages and their lysins: Toolkits in the battle against foodborne pathogens in the post-antibiotic era. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, *20*(4), 3319–3343.

[72] Ranveer, S. A., Dasriya, V., Ahmad, M. F., Dhillon, H. S., Samtiya, M., Shama, E., Anand, T., Dhewa, T., Chaudhary, V., Chaudhary, P., Behare, P., Ram, C., Puniya, D. V., Khedkar, G. D., Raposo, A., Han, H., & Puniya, A. K. (2024). Positive and negative aspects of bacteriophages and their immense role in the food chain. *npj Science of Food, 8*(1), 1

[73] Islam, M. S., Zhou, Y., Liang, L., Nime, I., Liu, K., Yan, T., Wang, X., & Li, J. (2019). Application of a phage cocktail for control of Salmonella in foods and reducing biofilms. Viruses, 11(9), 841.

[74] Cristobal-Cueto, P., García-Quintanilla, A., Esteban, J., García-Quintanilla, M. (2021). Phages in Food Industry Biocontrol and Bioremediation, Antibiotics, *10*(7), 786.

[75] Fernández, L., Duarte, A. C., Rodríguez, A., & García, P. (2021). The relationship between the phageome and human health: Are bacteriophages beneficial or harmful microbes? *Benef. Microbes, 12*(2), 107–120.

[76] Kutter, E., De Vos, D., Gvasalia, G., Alavidze, Z., Gogokhia, L., Kuhl, S., & Abedon, S. T. (2010). Phage therapy in clinical practice: Treatment of human infections. *urr. Pharm. Biotechnol, 11*(1), 69–86.

[77] Strathdee, S. A., Hatfull, G. F., Mutalik, V. K., & Schooley, R. T. (2023). Phage therapy: From biological mechanisms to future directions. *Cell*, *186*(1), 17–31

[78] Principi, N., Silvestri, E., & Esposito, S. (2019). Advantages and limitations of bacteriophages for the treatment of bacterial infections. *Front. Pharmacol.*, *10*, 513.

[79] Żaczek, M., et al. (2022). A thorough synthesis of phage therapy unit activity in Poland—its history, milestones and international recognition. *Viruses*, *14*(6), 1170

Journal Pre-proofs

جدول ۱

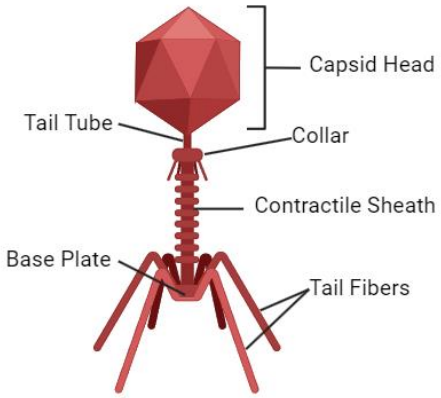
[80] Naureen, Z., et al. (2020). Comparison between American and European legislation in the therapeutical and alimentary bacteriophage usage. *Acta Biomed.*, *91*.

[81] Jones, J. D., Trippett, C., Suleman, M., Clokie, M. R., & Clark, J. R. (2023). The future of clinical phage therapy in the United Kingdom. *Viruses*, *15*(3), 721.

[82] Lin, R. C., Fabijan, A. P., Attwood, L., & Iredell, J. (2019). State of the regulatory affair: Regulation of phage therapy in Australia.

[83] Johri, P. (2023). Antimicrobial resistance and phage therapy in India. *Microbiologist*, Retrieved from.

شکل ۱



Product	Phage identity	Host	Applications	Company	References
AgriPhage	N/A[1]	Xanthomonas campestris pv.Vesicatoria organism Pseudomonas syringae pv.	Controlling plantdisease inpre-harvesting	omnilytics inc.	**(agriPhage™,n.d.)**
AgriPhage-Citrus Canker		Xanthomonas citri pv. citri.			
Biolyse®-PB	N/A	Soft-rot Enterobacteriacea	Controlling freshproduce disease inpacking house	aPs Biocontrolltd.	**(aPs Biocontrol,n.d.)**
BIOTECTOR	N/A	E. coli Clostridium Salmonella	Controlling plantdisease inpre-harvesting	CheilJedang Corporation	**(CheilJedang,n.d.)**
listshield™	Phage cocktail (list-1, list-2, list-3,list-4, list-36 and list-38	Listeria monocytogenes	Foodborne pathogenscontrol in foodproducts	intralytix inc.	**(intralytix, n.d.)**
shigashield™	Phage cocktail (sHsMl-52-1, sHFMl-11,sHsMl-45, sHFMl-26, andsHBMl-50-1)	Shigella spp.			
Salmolyse®	Phage cocktail (sPt-1, sBa-178,sBa-1781, sit-128, sse-121 andsdt-15)	Salmonella spp.	Controlling foodbornepathogens in petfood products		
ListPhage™	Phage cocktail (list-1, list-2, list-3,list-4, list-36 and list-38)	L.monocytogenes			
Pyo-Phage	N/A	Staphylococcus Escherichia coli Streptococcus Pseudomonas aeruginosa Proteus	Controlling foodbornepathogens in foodproducts	Brimrose technology Corporation	**(PhageGuard,n.d.)**
EnkoPhagum	N/A	Shigellas spp. enteropathogenic E. coli Staphylococcus spp. Staphylococcus spp.	Controlling foodbornepathogens in foodproducts	Brimrose technology Corporation	**(Brimrose, n.d)**

[1] N/A: information is not available.

Journal Pre-proofs

The use of bacteriophages, a new biological approach to food safety

Raheleh Majdani[1]*, Samira Ghaemi[1], Mitra Alizadeh[1]

Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Maragheh, Maragheh, Iran

, rahelehmajdani7@gmail.com r.majdani@maragheh.ac.ir

Abstract

Food security is one of the most important and effective issues in the world today, especially in developing countries, and addressing this issue and providing solutions for sustainable food security is of great importance. In this regard, phages, due to their unique properties, have been proposed as a high-potential option for combating infections resulting from food contamination. The high antibacterial potential of phages in various foods, including milk, meat, cheese, vegetables, and fresh fruits that are consumed raw and unprocessed, has been reported in various studies. Bacteriophages have no negative or destructive effect on food and have also been able to help maintain the freshness and flavor of food, which particularly meets the needs and expectations of consumers, especially in the field of maintaining the quality of food with minimal processing. Also, due to the high resistance of phages to temperature and pH changes, their use is possible in three main sectors of the food industry: primary production, disinfection during production, and as biological preservatives. In addition, commercial phage products such as Listshield, ListexP100 and other phage mixtures have also shown promising effects in reducing the microbial load of food to combat pathogenic bacterial agents. The use of bacteriophages as an effective biological strategy in biological control can help increase food safety and reduce the risks of microbial contamination, which will ultimately lead to public health. However, further research is essential for the expanding use of this biological approach in the food industry.

Key words: biological control, bacteriophage, food, biosecurity

Journal Pre-proofs