

DFG Senatskommission zur
gesundheitlichen Bewertung von
Lebensmitteln

SKLM



**Sicherheitsaspekte beim Einsatz von
Bakteriophagen in der
Lebensmittelproduktion**

Überarbeitete Endfassung vom: 27. Februar 2026

Deutsche Forschungsgemeinschaft

Kennedyallee 40 • 53175 Bonn

www.dfg.de/sklm

DFG

Mitglieder und Ständige Gäste der DFG Senatskommission zur gesundheitlichen Bewertung von Lebensmitteln (SKLM), 2023–2025

Mitglieder:

Prof. Dr. Jan Hengstler (Vorsitzender), Prof. Dr. Andrea Büttner, Prof. Dr. Patrick Diel, Prof. Dr.-Ing. Petra Först, Prof. Dr. Tilman Grune, Prof. Dr. Dirk Haller, Dr.-Ing. Volker Heinz, Prof. Dr. Michael Hellwig, Prof. Dr. Hans-Ulrich Humpf, Prof. Dr. Henry Jäger, Prof. Dr. Marcel Leist, Prof. Dr. Angela Mally, Prof. Dr. Doris Marko, Prof. Dr. Ute Nöthlings, Prof. Dr. Joachim Spranger, Prof. Dr. Wim Wätjen

Ständige Gäste:

Prof. Dr. Sabine Kulling, Prof. Dr. Dr. Alfonso Lampen, PD Dr. Elke Röhrdanz, Prof. Dr. Stefan Vieths

Die Kommission dankt der Arbeitsgruppe „Lebensmitteltechnologie und -sicherheit“:

Dr. Ing. Volker Heinz, Prof. Dr. Kemal Aganovic, Prof. Dr. Karl Heinz Engel, P.D. Dr. Christian Hertel, Prof. Dr. Thomas Holzhauser, Prof. Dr. Henry Jäger, Dr. Oliver Schlüter, Dr. Uwe Schwarzenbolz, den Gästen Prof. Dr. Franz Charles (Max-Rubner Institut, Kiel) und Dr. Stefan Hertwig (Bundesinstitut für Risikobewertung) sowie den wissenschaftlichen Mitarbeiterinnen des SKLM-Sekretariats Dr. Sabine Guth, Dr. Angelika Roth und Dr. María Ascensión Villar Fernández für die wissenschaftliche Unterstützung.

Die Stellungnahme ist angelehnt an die Publikation „**Limitations and safety aspects related to the use of bacteriophages in food production**“, die von der AG „Lebensmitteltechnologie und -sicherheit“ verfasst und gemäß den Bedingungen der „Creative-Commons-Lizenz CC BY“ veröffentlicht wurde (Roth A, Franz CMAP, Hertwig S, Holzhauser T, Hertel C, Humpf H-U, Engel K-H, Schwarzenbolz U, Schlüter O, Jäger H, Aganovic K, Heinz V, 2026. FEMS Microbiology Reviews. 50, fuag002. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuag002>).

SKLM-Sekretariat

Leibniz-Institut für Arbeitsforschung an der TU Dortmund (IfADo), Ardeystr. 67, 44139 Dortmund

E-Mail: sklm@ifado.de

Deutsche Forschungsgemeinschaft e. V.

Kennedyallee 40 • 53175 Bonn

Postanschrift: 53170 Bonn

Telefon: +49 228 885-1

Telefax: +49 228 885-2777

postmaster@dfg.de

www.dfg.de

Alle Publikationen der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) werden sorgfältig erarbeitet. Dennoch übernehmen Autor*innen und Herausgeber*innen ebenso wie die DFG in keinem Fall, einschließlich des vorliegenden Werkes, für die Richtigkeit von Angaben, Hinweisen und Ratschlägen sowie für eventuelle Druckfehler irgendeine Haftung.

Die Wiedergabe von Warenbezeichnungen, Handelsnamen oder sonstigen Kennzeichen in diesem Dokument berechtigt nicht zu der Annahme, dass diese von jedermann frei benutzt werden dürfen. Vielmehr kann es sich auch dann um eingetragene Warenzeichen oder sonstige gesetzlich geschützte Kennzeichen handeln, wenn sie nicht eigens als solche markiert sind.

Der Text dieser Publikation wird unter der Lizenz Namensnennung – Weitergabe unter gleichen Bedingungen 4.0 International (CC BY-SA 4.0) veröffentlicht. Den vollständigen Lizenztext finden Sie unter: <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/legalcode.de>.

Februar 2026

Ansprechperson in der DFG Geschäftsstelle

Dr. Anke Deggerich

Gruppe Lebenswissenschaften 3: Medizin

Tel. +49 228 885 2049

anke.deggerich@dfg.de

www.dfg.de/sklm

Inhaltsverzeichnis

Kurzfassung.....	1
1 Einleitung	4
2 Grundlagen zu Bakteriophagen – eine Übersicht.....	7
2.1 Aufbau und Wirkung von Bakteriophagen.....	8
2.2 Virulente und temperente Bakteriophagen	10
2.3 Eigenschaften der Phagen mit Einfluss auf ihre Anwendung	11
2.3.1 Transduktion als unerwünschte Eigenschaft.....	11
2.3.2 Koevolution der Phagen	11
2.3.3 Stabilität außerhalb des Wirtes.....	11
2.3.4 Wirtsspezifität der Phagen	12
2.3.5 Lyse der Bakterienzellen	12
3 Phagenanwendungen im Lebensmittelbereich	12
3.1 Biokontrolle, Biokonservierung und Biosanierung	13
3.2 Phagenanwendung in der Tierhaltung und Pflanzenanzucht (Preharvest)	14
3.3 Phagenanwendung in der Lebensmittelproduktionskette (Postharvest)	15
4 Auswahl der Phagen und Anwendung in der Praxis	16
4.1 Relevante Bakterienspezies.....	16
4.2 Gewinnung der Phagen.....	18
4.3 Phagencocktails	21
4.4 Anwendung der Phagencocktails	26
5 Sicherheitsaspekte beim Einsatz von Phagen an Lebensmitteln	28
5.1 Sicherheitsaspekte bei der Herstellung von Phagen	29
5.1.1 Isolierung unbedenklicher Phagen	29
5.1.2 Veränderung/Mutation der Phagen oder Bakterien während der Fermentation.....	31
5.2 Sicherheitsaspekte bei der Anwendung von Phagen.....	32
5.2.1 Auswahl des Phagencocktails	32
5.2.2 Wirt/Phagen-Verhältnis und Effektivität der Anwendung	33
5.2.3 Resistenzentwicklung von Bakterien gegen Phagen	35
5.2.4 Risiken bei Anwendung als Dekontaminationsmittel auf Produktionsoberflächen	37
5.2.5 Freisetzung von Phagen in die Umwelt.....	38
5.2.6 Mobilisierung von genetischen Elementen und Pathogenicity Islands (PAIs)	39
5.2.7 Nachweis bakterieller Kontaminationen nach Phagenbehandlung	41
5.3 Einfluss von oral aufgenommenen Phagen auf das Darmmikrobiom	42
5.3.1 Natürlich vorkommende Phagen in Lebensmitteln und im Organismus	42
5.3.2 Gezielt eingesetzte Phagen zur Lebensmittelbehandlung und Therapie.....	44

5.4 Freisetzung von Toxinen durch Bakterienlyse	47
5.4.1 Phagenbehandlung von Lebensmitteln hinsichtlich Endotoxinen	48
5.4.2 Phagenbehandlung von Lebensmitteln hinsichtlich Exotoxinen	49
5.5 Allergenität	52
6 Rechtliche Aspekte von Phagenanwendungen	54
6.1 Mögliche Einstufungen von Bakteriophagen nach rechtlichen Grundlagen	54
6.1.1 Verarbeitungshilfsstoff	54
6.1.2 Lebensmittelzusatzstoff	55
6.1.3 Antimikrobielles Mittel auf Oberflächen von Lebensmitteln tierischen Ursprungs	56
6.2 Zulassung von Bakteriophagen als „Novel Food“	57
6.3 Gleichsetzung von Bakteriophagen mit mikrobiellen Starterkulturen	57
6.4 Zulassung von Bakteriophagen als Biozid	58
6.5 Stellungnahmen der EFSA zur Einstufung von Bakteriophagen	58
6.6 Nutzung von Phagen außerhalb der EU	59
7 Nachhaltigkeit der Phagenanwendung	60
8 Bewertungskriterien und Schlussfolgerungen	61
8.1 Übertragung von DNA	61
8.2 Enges Wirtsspektrum	61
8.3 Resistenzentwicklung der Zielbakterien	62
8.4 Nachweis von Kontaminationen an Phagen behandelten Lebensmitteln	62
8.5 Auswirkungen einer oralen Phagenaufnahme über Lebensmittel	62
8.6 Freisetzung in die Umwelt	63
9 Zusammenfassung und Forschungsbedarf	63
Glossar	66
Referenzen	68
Anhang 1	85
Anhang 2	90
Anhang 3	92

Kurzfassung

Bakteriophagen gelten als vielversprechende **natürliche antimikrobielle Agenzien** gegen pathogene aber auch verderbniserregende Bakterienspezies in der Lebensmittelherstellung und auf Lebensmitteln, da sie spezifisch Bakterien abtöten. Sie kommen ubiquitär in der Umwelt vor und lassen sich aus Habitaten ihrer jeweiligen Wirtsspezies isolieren. Phagen benötigen stoffwechselaktive Bakterienzellen, um sich zu vermehren und in Folge die Wirtszellen abzutöten. **Virulente Phagen** durchlaufen ausschließlich einen **lytischen Vermehrungszyklus**, bei dem die Phagen repliziert und nach Lyse der Wirtszelle freigesetzt werden. **Temperente Phagen** können neben dem lytischen einen **lysogenen Zyklus** einschlagen, bei dem das Phagen genom als inaktiver „Prophage“ in das Wirtsgenom integriert und mit diesem repliziert wird, ohne dass Viren gebildet werden und die Wirtszelle abgetötet wird. Temperente Phagen sind in der Lage, durch **spezialisierte Transduktion** bakterielle DNA mit aufzunehmen und zu übertragen, wodurch auch unerwünschte Gene, beispielsweise Antibiotikaresistenzen, zwischen Bakterienzellen verbreitet werden.

Phagenbehandlungen können entlang der Lebensmittelkette sowohl im **Preharvest-Bereich** (in Tierzucht und im Ackeranbau) als auch im **Postharvest-Bereich** (Behandlung von Rohware, in der Produktionskette, am fertigen Lebensmittelprodukt) erfolgen. Sie werden insbesondere zur **Biokontrolle**, d.h. der Reduzierung von Pathogenen wie z. B. Toxin bildenden *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* oder *Listeria monocytogenes* eingesetzt, aber auch zur **Biokonserverung**, d.h. gegen vorherrschende Verderbniserreger in einem Lebensmittel, wie z. B. *Pseudomonas aeruginosa* in Milch oder *Clostridium*-Spezies in Fleisch. Vorteile ergeben sich aus ihrer **hohen Spezifität** und der Möglichkeit, gezielt unerwünschte Bakterien zu reduzieren, ohne die Eigenschaften des Rohstoffes oder des Lebensmittels zu beeinflussen.

Bei der Nutzung von Phagen im Lebensmittelbereich bestehen verschiedene **Limitierungen und Unsicherheiten**, die sich unter anderem auf folgende Faktoren zurückführen lassen:

- **Enges Wirtsspektrum:** Viele Phagen infizieren nur bestimmte Stämme/Serotypen einer Spezies, was die Effektivität einschränken kann.
- **Unzureichende Kenntnis** über die auf dem zu behandelnden Lebensmittel vorherrschenden Stämme bzw. Serotypen der Zielspezies.
- Die **Wirksamkeit ist abhängig** von Umgebungsbedingungen wie Temperatur, pH-Wert sowie insbesondere vom physiologischen Zustand der Wirtszellen.
- **Beschaffenheit des Lebensmittels:** In mikrostrukturellen Vertiefungen (z.B. Furchen und Rillen) können die Wirtszellen für Phagen gegebenenfalls schwer zugänglich sein. Zudem sollte die Lebensmitteloberfläche ausreichend feucht sein, damit sich die Phagen gut verteilen.
- **Inhomogene Verteilung der Wirtszellen** auf der Oberfläche: Ein hoher Überschuss an Phagen ist erforderlich, um sicherzustellen, dass jede Wirtszelle von mindestens einem Phagen erreicht wird.
- **Unsicherheit hinsichtlich der Dauer der Phagenaktivität**, insbesondere im Fall einer Sekundärkontamination oder wiederaufkommendem Wachstum der Zielspezies nach Aufbringen der Phagen.
- **Wahl des geeigneten Anwendungszeitpunkts** entlang der Produktionskette.

Im Zusammenhang mit der Anwendung von Phagen in der Lebensmittelproduktion werden verschiedene **potenzielle Risiken** diskutiert:

- **Mögliche Resistenzentwicklung der Wirtszellen** infolge einer länger anhaltenden Koexistenz mit Phagen mit potenziellen Auswirkungen auf die Wirksamkeit nachfolgender Phagenbehandlungen.
- **Potenzielle negative Effekte auf das Darmmikrobiom** sowie auf die menschliche Gesundheit durch die Aufnahme phagenbehandelter Lebensmittel.
- **Freisetzung der Phagen in die Umwelt** und deren möglicher negativer Einfluss auf natürliche Bakterienpopulationen.
- **Mögliche Beteiligung** der eingesetzten Phagen, obwohl strikt lytisch ausgewählt, am horizontalen **DNA-Transfer** zwischen Bakterienzellen und damit einhergehende Begünstigung der Verbreitung von unerwünschten Genen.
- **Freisetzung von Endo- und Exotoxinen** auf dem Lebensmittel und im Gastrointestinaltrakt durch Lyse der entsprechenden Bakterien.
- **Potenzielle Allergenität** der Phagen
- Mögliche **Verfälschung der Ergebnisse kulturbasierter Nachweisverfahren** durch aktive Phagen, die in Proben behandelter Lebensmittel verbleiben.
- **Fehleinschätzung der Sicherheit** des behandelten Lebensmittels, sofern Phagenanwendungen als Ersatz für etablierte Entkeimungsmethoden oder Hygienemaßnahmen betrachtet werden.

Viele der genannten Limitierungen und potenziellen Risiken lassen sich durch **sachgerechte Anwendung** („good practice“) sowie **geeignete Sicherheitsmaßnahmen** eingrenzen. Dies liegt in der Verantwortung der Hersteller und/oder des Anwenders. Von zentraler Bedeutung für die Lebensmittelsicherheit ist dabei die **fundierte Kenntnis der Leistungsfähigkeit** und der **Grenzen** der Phagenanwendungen.

Vor dem Hintergrund der dargestellten Aspekte zu Limitierungen und potentiellen Risiken wird als angezeigt erachtet, jeden Phagencocktail einer **Einzelfallbewertung** zu unterziehen und entsprechend gesondert zuzulassen. Darüber hinaus empfiehlt sich die Anwendung eines **QPS-Systems** (*Qualified Presumption of Safety*), wie es bereits für die Sicherheitsbewertung von Mikroorganismen in der Lebensmittelherstellung eingesetzt wird.

Es bestehen weiterhin **offene Fragestellungen sowie Forschungsbedarf**, die im Kontext der Anwendung von Bakteriophagen in der Lebensmittelproduktion berücksichtigt werden sollten:

- Identifizierung und funktionelle Charakterisierung bislang **unbekannter Gene** im Genom des zur Anwendung vorgesehenen Phagen.
- Untersuchung einer **potenziellen Resistenzentwicklung** unter praxisrelevanten Einsatzbedingungen im Lebensmittelbereich, insbesondere bei der Behandlung von Arbeitsoberflächen. Es sollte ausgeschlossen werden, dass das Auftreten resistenter Wirtszellen die Wirksamkeit etablierter Phagencocktails beeinträchtigt.

- Systematische Untersuchungen zur **Stabilität und Dauer der Wirksamkeit der Phagen** unter verschiedenen Umgebungsbedingungen sowie auf unterschiedlichen Lebensmitteln bzw. Lebensmittelmatrices.
- Klärung des Einflusses der eingesetzten Phagen auf **kulturbasierte Nachweisverfahren** und inwieweit alternative nicht-kulturbasierte Methoden vorzuziehen sind.
- **Weiterführende tierexperimentelle und Humanstudien** zur Bewertung potenzieller negativer Auswirkungen auf das Darmmikrobiom und die menschliche Gesundheit, einschließlich der Bestätigung möglicher positiver Effekte.
- Gewährleistung, dass in Lebensmitteln eingesetzte Phagenspezies nach oraler Aufnahme **nicht systemisch aufgenommen und in physiologische Prozesse eingreifen**, wie es für einige Phagenspezies beschrieben wird.
- Klärung, ob die Freisetzung von **Endo- oder Exotoxinen aus lysierten Wirtszellen** im Lebensmittel oder im Gastrointestinaltrakt nachteilige Effekte verursachen kann.
- Ermittlung des Beitrags der Phagenanwendungen zur **Nachhaltigkeit** in der Lebensmittelherstellung und in der Sicherstellung der Lebensmittelversorgung.

Außerhalb der Europäischen Union werden in einigen Ländern kommerzielle Phagenpräparate eingesetzt, obwohl sie nicht eindeutig **als Lebensmittelzusatzstoff, Verarbeitungshilfsstoff oder Mittel zur Dekontamination von Lebensmitteloberflächen tierischen Ursprungs** eingeordnet worden sind. Ihre Zulassung basiert überwiegend auf dem **GRAS (Generally Recognized As Safe)**-Status, der von der US-FDA (Food and Drug Administration) vergeben wird. Dieser Status bewertet jedoch weder die Wirksamkeit der Phagen noch die Anforderungen für eine Zuordnung der Phagen zu den drei genannten Kategorien. In der Europäischen Union sind Phagenpräparate bisher aufgrund der Unsicherheiten in Bezug auf die Zuordnung sowie **Bedenken zu ihrer Wirksamkeit und praktischen Anwendung** nicht EU-weit zugelassen. Auf nationaler Ebene ist jedoch eine Zulassung von Phagenpräparaten als Verarbeitungshilfsstoff gegen Listerien in bestimmten Bereichen möglich.

1 Einleitung

Bakteriophagen (kurz Phagen) sind Viren, die eine hohe Wirtsspezifität aufweisen und gezielt bestimmte Bakterienspezies infizieren. Phagen wird ein großes Potential sowohl in der Human- und Tiermedizin als auch im Bereich der mikrobiologischen Lebensmittelsicherheit zugesprochen. So kann durch den Einsatz von Phagen bei der Lebensmittelherstellung oder direkt am Lebensmittel eine Belastung mit humanpathogenen oder Lebensmittel verderbenden Bakterien gezielt reduziert werden (Hagens and Loessner 2010). Aktuell wächst das Interesse an Phagen. Das liegt zum einen an der Zunahme antibiotikaresistenter Bakterienstämme, aber auch am vermehrten Auftreten von lebensmittelbedingten Infektionen, die durch Bakterien wie *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter spp.*, Shiga Toxin-produzierende *Escherichia coli* und Salmonellen verursacht werden, sowie Lebensmittelvergiftungen, die z. B. auf *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* und verschiedene *Clostridium*-Spezies zurückgehen. Zudem besteht großes Interesse an natürlich vorkommenden, antimikrobiellen Agenzien aufgrund der Skepsis vieler Verbraucher gegenüber der Verwendung chemischer Konservierungsstoffe in Lebensmitteln oder chemischen Desinfektionsmitteln auf Verarbeitungsoberflächen (Sillankorva et al. 2012).

Phagen lysieren ausschließlich Bakterienzellen, nicht jedoch die Zellen von Menschen, Tier oder Pflanze (Kutateladze and Adamia 2010). Sie kommen ubiquitär in der Natur vor und sind ein natürlicher Bestandteil der Darmmikrobiota, ihre Zahl im Darm wird mit 10^{12} bis 10^{15} angegeben (Dalmaso et al. 2014; Shkoporov and Hill 2019). Sie sind in unverarbeiteten und verarbeiteten Lebensmitteln natürlicherweise vorhanden (Hudson et al. 2005; Tsuei et al. 2007) und werden somit täglich in großer Zahl vom Menschen aufgenommen. Phagen sind seit ihrer Entdeckung im Jahr 1915 umfassend sowohl in der Human- und Tiermedizin als auch in verschiedenen, landwirtschaftlichen Bereichen in den ehemals Ostblockstaaten zur Bekämpfung von Bakterien verwendet worden (Sillankorva et al. 2012). Sie eignen sich besonders für eine Anwendung in Lebensmitteln, da sie dem Stress und den physikochemischen Bedingungen bei der Lebensmittelverarbeitung sehr gut widerstehen können, ihre Wirkung ist aber abhängig von Bedingungen, bei denen die Wirtsbakterien stoffwechselaktiv sind (Bryan et al. 2016). In der Milchindustrie können natürlicherweise vorkommende Phagen Fermentationskulturen stören und zu Produktionsausfällen führen (Połaska and Sokołowska 2019). Phagen können energie- und ressourcenschonend sowie kostengünstig in der Anwendung sein, abhängig davon, wie leicht sie zu isolieren und zu

vermehrten sind (Sillankorva et al. 2012). Sie bieten Vorteile gegenüber vielen konventionellen Entkeimungstechniken, da sie als biologisches Material ohne eigenen Stoffwechsel die Produktqualität nicht verändern und so auch auf roh verzehrten Lebensmitteln wie Obst und Gemüse angewendet werden können (Garcia et al. 2008). Phagen können sich an veränderte Abwehrmechanismen der Wirtsbakterien kontinuierlich anpassen (Koskella and Brockhurst 2014; Mattila et al. 2015), so dass wirksame Phagen kontinuierlich gegen veränderte Bakterienspezies oder neu auftretende Stämme aus der Umwelt isoliert werden können, auch wenn die Suche nach einem hochlytischen Phagen mit breitem Wirtsspektrum zeitaufwendig und anspruchsvoll sein kann (Glonti and Pirnay 2022; Meaden and Koskella 2013; Sillankorva et al. 2012).

Als Kritik an einer Phagenanwendung wird häufig angeführt, dass nicht sicher gewährleistet werden kann, dass die eingesetzten Phagen die entsprechenden Bakterienspezies hinreichend dezimieren. Dies kann an einer hohen Diversität der Stämme/Serotypen einer Bakterienspezies, an mutierten Phagen mit veränderter Wirtsspezifität oder an einer Resistenzentwicklung der Zielbakterien gegenüber den eingesetzten Phagen liegen. Darüber hinaus wird befürchtet, dass eine solche Resistenzentwicklung mit einer erhöhten Antibiotikaresistenz oder einer erhöhten Virulenz der Bakterien einher gehen könnte. Es wird auch befürchtet, dass Phagen nicht, wie vorgesehen, zusätzlich angewendet werden, sondern statt etablierter, konventioneller Methoden, die zur Gewährleistung der mikrobiologischen Sicherheit notwendig sind. Auf dem Lebensmittel verbleibende aktive Phagen könnten den kulturbasierten Nachweis ihrer Wirtsbakterien in Lebensmittelproben verfälschen. Die unkontrollierte Freisetzung von großen Mengen der eingesetzten Phagen in die Umwelt, besonders bei der Oberflächenanwendung in Tierstall und Produktionsstätten, wird ebenfalls als mögliches Risiko angeführt, da eine unkontrollierte, unter Umständen kritische Veränderung der vorhandenen Bakterienpopulationen durch die freigesetzten Phagen befürchtet wird. Auch der Transfer von Toxin- und Antibiotikaresistenzgenen wird verschiedentlich als Risiko von Phagenanwendungen im Lebensmittelbereich genannt, ist aber durch die unbedingt vorgeschriebene Auswahl virulenter Phagen, die strikt lytisch sind, unwahrscheinlich. Virulente Phagen integrieren nicht in das Bakterienchromosom und können nicht gezielt bakterielle Toxin- und Antibiotikaresistenzgene in ihr Genom und damit in die Virenkapsel aufnehmen und übertragen (spezialisierte Transduktion). Negative Effekte auf das

menschliche Darmmikrobiom oder mögliche allergische Reaktionen durch eine hohe Aufnahmemenge an Phagen werden ebenfalls als potenziell nachteilig diskutiert.

In den USA und in einer Reihe anderer Staaten werden kommerzielle Phagenpräparate bereits in der Lebensmittelproduktion eingesetzt (eine Übersicht siehe Roth et al. 2026). In der EU gibt es keine gesetzlichen Regelungen und keine Zulassung für Phagenpräparate. In einigen europäischen Ländern (Niederlande, Schweiz) dürfen Phagen gegen Listerien bei der Prozessierung von Lebensmitteln als Verarbeitungshilfsmittel, zur Dekontamination von Produktionsflächen, aber auch auf rohem Fleisch und Geflügel verwendet werden. Nach bisheriger Beurteilung durch die EFSA werden sowohl im begrenzten Wirtsspektrum der Phagen/Phagencocktails als auch in einer möglicherweise unzureichenden Wirksamkeit und dem nicht belegten Verlauf der Phagenaktivität die Hauptrisiken bei Phagenanwendungen im Lebensmittelbereich gesehen, besonders, wenn bewährte Dekontaminationsmethoden ersetzt werden sollen (EFSA 2012; EFSA 2016).

Die vorliegende Stellungnahme wird sich schwerpunktmäßig mit der Anwendung von Phagen bei der Herstellung von Lebensmitteln und am fertigen Lebensmittel befassen („Postharvest“-Bereich). Jedoch wird auch die Anwendung bei der Anzucht von Nutztieren und -pflanzen („Preharvest“-Bereich) angesprochen. Ziel ist, die möglichen Risiken, die im Zusammenhang mit dem Einsatz von Phagen bei der Lebensmittelherstellung genannt werden, auf Basis der derzeitigen wissenschaftlichen Erkenntnisse zu bewerten und gegebenenfalls Forschungsbedarf zu benennen (**siehe auch Roth et al. 2026**). Eine Einordnung der Phagen als unbelebte Partikel mit potenzieller biologischer Wirkung als Lebensmittelzusatzstoff, Verarbeitungshilfsstoff oder Mittel zur Reduzierung bakterieller Oberflächenverunreinigungen auf Lebensmitteln tierischen Ursprungs soll in dieser Stellungnahme diskutiert werden. Der therapeutische Einsatz von Phagen an Nutztieren ist nicht Thema der Stellungnahme, der therapeutische Einsatz am Menschen und die Verwendung als Probiotikum werden in der Diskussion im Zusammenhang mit der Unbedenklichkeit einer oralen Phagenaufnahme angesprochen. Ebenfalls nicht bewertet werden der Einsatz von Phagen zur Wasserreinigung und zur Identifizierung von kontaminierenden Bakterienspezies auf Lebensmitteln sowie die Anwendung von aus Phagen isolierten lytischen Enzymen.

2 Grundlagen zu Bakteriophagen – eine Übersicht

Bakteriophagen (griechisch: baktérion „Stäbchen“, phagos „Fresser“) oder kurz auch Phagen genannt, vermehren sich durch die Infektion von Bakterien oder Archaeen (Ackermann 2001). Phagen bilden somit die am häufigsten vorkommende, selbst-replizierende biologische Einheit auf der Erde (Hill et al. 2018) und die größte Gruppe von Viren (Ackermann 2001). Phagen sind ubiquitär in der Natur zu finden und es existieren schätzungsweise 10^{31} bis 10^{32} Phagen, die sich in Böden, Wasser aber auch in Lebensmitteln befinden (Emond and Moineau 2007; Połaska and Sokołowska 2019). So werden Werte von $1,5 \times 10^8$ /g landwirtschaftlich genutztem Boden, 10^6 bis 10^9 /ml Meerwasser und 7×10^6 bis $1,5 \times 10^7$ /ml Frischwasser genannt (Vikram et al. 2021). Nach Schätzungen existieren auf der Erde zehnmal mehr Phagen als Bakterien. Dabei beeinflussen Phagen die in der Umwelt sich befindende Menge an Bakterienzellen und halten diese im Gleichgewicht (Naureen et al. 2020). Phagen sind in der Lage, in- und außerhalb der Bakterienzelle zu überdauern (Batinovic et al. 2019) und zeichnen sich durch ihre hohe Spezifität gegenüber ihren Wirten aus (Połaska and Sokołowska 2019). Diese Spezifität ist auf die spezifische Bindung von Rezeptor-Bindeproteinen der Phagen an Rezeptormoleküle an der Oberfläche der Bakterien-Wirtszellen nach dem Schlüssel/Schloss-Prinzip begründet (Sharma et al. 2017).

Bereits 1896 berichtete der britische Bakteriologe Hankin über eine unbekannte, antibakterielle Aktivität gegen *Vibrio cholerae*. Zwei Jahre später beobachtete der russische Bakteriologe Gamaleya ähnliches bei *Bacillus anthracis* (Skorynina et al. 2020). Letztendlich konnte Twort 1915 in England Zersetzungsprozesse an Staphylokokken auf die Einwirkung von Phagen zurückführen (Twort 1915). Die Benennung als „Bakteriophagen“ geht auf den Kanadier Félix Hubert d’Hérelle im Jahr 1917 zurück (d’Herelle 1917). Er schlussfolgerte, dass die unregelmäßig verteilten, Bakterien-freien Stellen auf einem Bakterienrasen auf ein einfach zu isolierendes, bakteriolytisches Agens zurückzuführen seien, verursacht durch „Bakterienfresser“ bzw. „Bakteriophagen“ (d’Herelle 1930). Im Jahr 1917 wandte er die Phagentherapie erfolgreich bei Menschen an, die an dem „Ruhrbazillus“ (*Shigella dysenteriae*) erkrankt waren (Goodridge 2013). D’Hérelle spielte auch für den Aufbau des Eliava-Instituts für Phagenforschung eine große Rolle, das im Jahr 1923 von dem georgischen Mikrobiologen Prof. George Eliava in Tiflis, Georgien, gegründet wurde und noch heute existiert (<https://eliava-institute.org/>). Da die frühe therapeutische Anwendung der Phagen unzuverlässig war, obwohl das Wissen durch die Erforschung der Biologie und richtigen

Anwendung von Phagenmischungen ständig erweitert wurde (Hanlon 2007; Kutateladze and Adamia 2010), wurde ihre Verwendung in westlichen Ländern im zweiten Weltkrieg durch die breite Vermarktung von Antibiotika eingestellt, in der ehemaligen Sowjetunion jedoch fortgeführt (Kutateladze and Adamia 2010).

2.1 Aufbau und Wirkung von Bakteriophagen

Phagen besitzen generell eine einfache Struktur. Sie bestehen im Wesentlichen aus einer Virushülle (dem Kapsid), die das Phagengenom umschließt (**Abbildung 1**). Das Kapsid ist aus viralen, aggregierten Strukturproteinen (Kapsomeren) aufgebaut. Die Kapside einiger Phagen sind von einer Lipid-Membran umhüllt, die in der Regel aus der zuvor lysierten Wirtszelle stammt. Es gibt aber auch Phagen, die selbst Lipoproteine kodieren (Mäntynen et al. 2019). Beim Phagengenom kann es sich um DNA oder RNA handeln, die einzel- oder doppelsträngig sein kann und für die Replikation des Phagengenoms sowie die Synthese der Strukturproteine verantwortlich ist. Am häufigsten findet man Genome aus doppelsträngiger DNA, die eine Größe zwischen ca. 10 und 500 kbp haben können. Die weitaus größte Zahl ($\geq 90\%$) der bekannten Phagen besitzen zusätzlich zum Kopf (Kapsid) noch einen Phagenschwanz, der aus Proteinen besteht (**Abbildung 1**). Solche Phagen wurden über viele Jahre der Ordnung *Caudovirales* zugeordnet, die ursprünglich auf Basis ihrer Morphologie drei Familien enthielt (Maniloff and Ackermann 1998). Die meisten dieser Phagen gehörten zur Familie *Siphoviridae*, welche einen langen, nicht kontraktilen Schwanz aufweist (Ackermann and Prangishvili 2012). Am zweithäufigsten kommen Phagen mit einem kontraktilen Schwanz vor, die der Familie *Myoviridae* zugeordnet werden. Schließlich gibt es noch Phagen mit sehr kurzem Schwanz (*Podoviridae*). Durch die große Zahl der mittlerweile sequenzierten Phagengenome und ihre Diversität wurde deutlich, dass die herkömmliche Taxonomie nicht mehr haltbar war. Aus diesem Grund wurde eine neue Taxonomie für Phagen vorgeschlagen (Turner et al. 2021), die vom ICTV (*International Committee on Taxonomy of Viruses*) 2022 umgesetzt wurde. Demnach werden die schwanzhaltigen Phagen nun in eine Klasse (*Caudoviricetes*) eingeordnet, die eine Vielzahl von Familien und Unterfamilien enthält. Jedoch kann die Einteilung in „Siphoviren“, „Podoviren“ und „Myoviren“ zur Beschreibung der Phagenmorphologie (**Abbildung 1**) noch beibehalten werden (Turner et al. 2021).

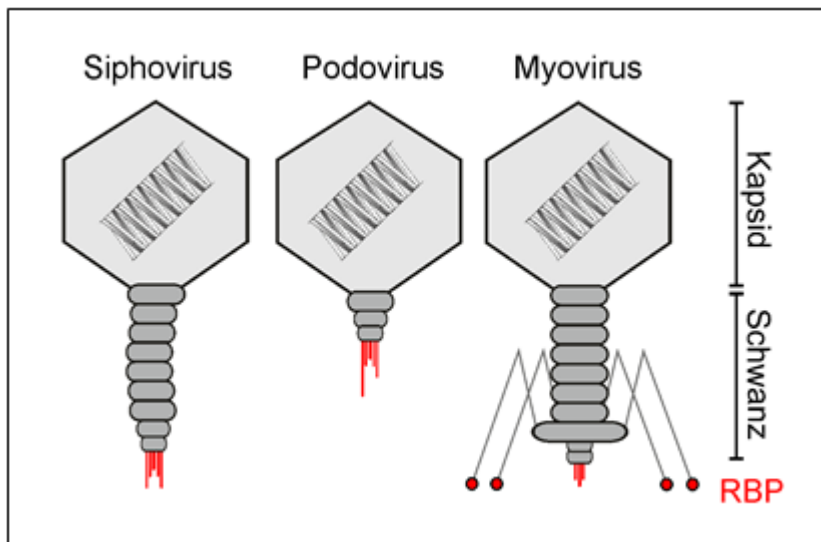


Abb. 1: Struktureller Aufbau der „Siphoviren“, „Podoviren“ und „Myoviren“

Der Phagenschwanz spielt bei der Bindung an die Wirtszelle eine bedeutende Rolle. Er enthält das Rezeptor-Bindeprotein (RBP), welches einen spezifischen Rezeptor auf der Bakterienzelle erkennt. Das RBP befindet sich meistens an den Enden von Schwanzfasern oder an Spikes der Basalplatte (**Abbildung 1**). Als Rezeptoren auf der bakteriellen Oberfläche können Proteine der äußeren Membran (z. B. Porine), Kohlenhydrate, Lipopolysaccharide, Fimbrien, Flagellen, Pili oder Komponenten einer Kapsel dienen (Stone et al. 2019). Da die Adsorption an die Wirtszelle der erste und sehr bedeutende Schritt für eine erfolgreiche Infektion ist, spielen die jeweiligen Rezeptoren der Bakterien eine entscheidende Rolle für die Wirtsspezifität der Phagen. Diese kann sehr eng, z. B. auf bestimmte Serotypen einer Spezies beschränkt sein, oder sehr weit reichen, so dass viele unterschiedliche Stämme einer Spezies, mehrere Spezies, in seltenen Fällen sogar mehrere Gattungen von Bakterien infiziert werden können.

So wie sich das Wirtsspektrum einzelner Phagen voneinander unterscheiden kann, so unterschiedlich kann auch die lytische Aktivität der Phagen sein. Wie stark Bakterien von Phagen lysiert werden, hängt von mehreren Faktoren ab. So kann die Latenzzeit, also die Zeit zwischen der Adsorption an die Wirtszelle und Freisetzung neu gebildeter Phagen weniger als 20 Minuten, aber auch mehr als eine Stunde betragen. In ähnlicher Weise kann die Wurfgröße (Zahl freigesetzter Phagen pro Zelle) von Phagen variieren. Sie liegt meist zwischen unter 10 und mehreren Hundert Phagenpartikeln. Darüber hinaus können sich die lytischen Enzyme (Endolysine), die am Ende des Infektionszyklus von den Phagen synthetisiert werden, stark in ihrer Aktivität unterscheiden. Auf der anderen Seite kann auch die infizierte Wirtszelle, z. B.

durch die Ausbildung von Resistenzen, einen großen Einfluss auf die lytische Aktivität von Phagen haben.

2.2 Virulente und temperente Bakteriophagen

Phagen werden in Abhängigkeit von ihrer „Lebensweise“ in zwei Gruppen eingeteilt, virulente und temperente Phagen (Hobbs and Abedon 2016). Virulente Phagen vermehren sich strikt lytisch, durchlaufen also immer denselben Vermehrungszyklus. Temperente Phagen hingegen können neben dem lytischen einen lysogenen Vermehrungszyklus einschlagen, bei dem sie in das bakterielle Chromosom integriert werden oder in seltenen Fällen als Plasmid in den Zellen replizieren. Bakterien, die einen temperenten Phagen in dieser Weise aufgenommen haben, werden als lysogen bezeichnet, der aufgenommene Phage heißt in diesem Zustand Prophage. Lysogene Bakterien zeichnen sich dadurch aus, dass sie immun sind gegenüber einer Superinfektion mit dem gleichen oder sehr ähnlichen Phagen. Durch Stressbedingungen (z. B. UV-Licht) kann der Prophage induziert werden. Das bedeutet, dass sein Genom aus dem Bakterienchromosom herausgeschnitten wird und der lytische Vermehrungszyklus eingeschlagen wird. Nach der Freisetzung aus der Wirtszelle kann der temperente Phage wieder neue Bakterien infizieren, wobei er sich bezüglich der Infektion entweder lytisch oder lysogen verhalten kann. Die Entscheidung über den gewählten Weg findet über einen genetischen Schalter statt, den nur temperente Phagen besitzen. Auch besitzen ausschließlich temperente Phagen ein Gen für eine Integrase, die für die Insertion des Phagengenoms in das bakterielle Chromosom benötigt wird. Daher können temperente Phagen durch DNA-Sequenzierung ihres Genoms leicht erkannt und von lytischen Phagen unterschieden werden. Grundsätzlich können alle Phagen durch Fehler bei der Verpackung der neu synthetisierten Phagengenome am Ende des lytischen Vermehrungszyklus bakterielle DNA in ihre Kapside aufnehmen und auf andere Bakterien übertragen (generalisierte Transduktion). Durch den engen Kontakt mit dem bakteriellen Chromosom sind temperente Phagen jedoch eher dazu befähigt zu transduzieren als virulente Phagen (Brabban et al. 2005). So sind nur temperente Phagen in der Lage, bakterielle DNA-Sequenzen, die benachbart zur Integrationsstelle des Prophagen liegen, durch ungenaues Ausschneiden während der Induktion aufzunehmen und auf andere Bakterien zu übertragen (spezialisierte Transduktion). Die intensive Wechselwirkung mit dem bakteriellen Chromosom führte dazu, dass einige temperente Phagen auf ihrem Genom Gene bakteriellen Ursprungs (z. B. Virulenz- oder

Antibiotikaresistenzgene), tragen. Wenn solche Phagen nach Infektion eines Bakteriums den lysogenen Vermehrungszyklus einschlagen, kann der neue Wirt diese Gene exprimieren und so ggf. seinen Phänotyp verändern (lysogene Konversion) (Brüssow et al. 2004). Aufgrund der dargestellten Unterschiede zu virulenten Phagen sind temperente Phagen für Anwendungen zur Reduktion von Krankheits- oder Verderbniserregern grundsätzlich nicht geeignet. Sie werden daher im Folgenden nicht näher betrachtet.

2.3 Eigenschaften der Phagen mit Einfluss auf ihre Anwendung

2.3.1 Transduktion als unerwünschte Eigenschaft

Wie unter 2.2 ausgeführt, wird die für die Sicherheit der Anwendung kritische Eigenschaft der temperenten Phagen, ihr Genom spezifisch ins Bakterienchromosom zu integrieren und bakterielle DNA aufzunehmen und zu verbreiten (spezialisierte Transduktion), durch die Wahl virulenter Phagen, die strikt lytisch sind und nicht ins Bakterienchromosom integrieren, ausgeschlossen. Bei virulenten Phagen kann die zufällige Verpackung bakterieller DNA in das Kapsid und deren Verbreitung (generalisierte Transduktion), je nach Phagenspezies, in seltenen Fällen vorkommen und sollte bei der Auswahl der Bakterienspezies als potenzieller Träger kritischer Gene zur Anzucht der Phagen mitberücksichtigt werden.

2.3.2 Koevolution der Phagen

Eine weitere wichtige Eigenschaft von Phagen ist ihre Fähigkeit zur Koevolution parallel zu sich verändernden Bakterienpopulationen. Diese stellt sicher, dass beständig Phagen mit passendem Wirtsspektrum isoliert werden können.

2.3.3 Stabilität außerhalb des Wirtes

Die Stabilität der Phagen außerhalb der Bakterienzelle als unbelebte, jedoch infektiöse Partikel ist von zentraler Bedeutung für die erfolgreiche Phagenanwendung. Phagen haben keinen eigenen Stoffwechsel und verändern, auf Lebensmittel aufgebracht, die Eigenschaften und damit die Qualität des Lebensmittels nicht. Material und Aufbau des Kapsids und des Phagenschwanzes bedingen die Stabilität der Phagenpartikel gegenüber pH-Wert-Änderungen, Salzgehalt, Temperatur und Austrocknung außerhalb der Bakterienzellen. Wenn eine Abtötung des Wirtes, z. B. bei erneuter Kontamination oder aufkommender Vermehrung der überlebenden Wirtszellen, während einer längeren Lagerzeit des Lebensmittels zusätzliches Ziel der Phagenanwendung ist, ist die Stabilität der Phagen von besonderer Bedeutung. Dieses Anwendungsziel kann aber, wenn überhaupt, nur erreicht werden, wenn

Phagen in Kontakt mit den Wirtszellen kommen und die Phagen nicht durch unspezifische Bindung an Oberflächen immobilisiert werden.

2.3.4 Wirtsspezifität der Phagen

Zur spezifischen Erkennung der bakteriellen Rezeptoren und der effizienten Bindung an die Wirtszelle muss der Phagenschwanz, der die Rezeptor-Bindeproteine (RBP) trägt, intakt sein. Die Erkennung der Rezeptoren macht, wie oben beschrieben, die Wirtsspezifität der Phagen aus und führt zur gezielten Infektion und Abtötung der jeweiligen Bakterienspezies bzw. bestimmter Stämme oder Serotypen der Spezies. Für das Einschleusen der Phagen-DNA zur erfolgreichen Infektion der Bakterienzelle, auf die die Synthese neuer Phagenpartikel und die Lyse und damit die Abtötung der Bakterienzellen folgen, ist ebenfalls ein intakter Phagenschwanz notwendig.

2.3.5 Lyse der Bakterienzellen

Es werden zwei Wege der Abtötung durch Phagen beschrieben: 1. Spezifische Bindung der Phagen an die Bakterienzelle, Injektion der DNA, Vermehrung der Phagen in der Zelle und Lyse der Zellen; 2. Spezifische Bindung der Phagen im Überschuss an die Bakterienzelle und Schädigung der Zellwand unter Mitwirkung von lysierenden Enzymen. Diese als “lysis from without” bezeichnete Abtötung erfolgt, ohne dass Phagen-DNA in die Bakterienzelle gelangt und Phagen vermehrt werden, sondern allein durch Schädigung der bakteriellen Zellwand (Abedon 2011). Nicht alle Phagenspezies können Bakterien durch Adsorption im Überschuss abtöten. Man geht davon aus, dass die für eine Abtötung durch Phagenüberschuss nötigen Phagenmengen pro Bakterienzelle bei Anwendungen schwer erreichbar sind, da dieser Überschuss pro Zelle mit aufgetragenen Phagen nicht erreicht wird bzw. eine massive Vermehrung der Phagen auf dem Lebensmittel nicht stattfindet.

Ein kommentiertes Glossar zentraler Begriffe und Definitionen zur Phagenbiologie, deren Kenntnis hilfreich zur Beurteilung von Phagen und deren Anwendung in der Lebensmittelproduktion, aber auch Phagentherapie, sein könnte, kann online abgerufen werden (Abedon 2025).

3 Phagenanwendungen im Lebensmittelbereich

Auch für die im Lebensmittelbereich relevanten humanpathogenen bzw. verderbniserregenden Bakterienspezies gibt es spezifische, virulente Phagen (Endersen et al. 2014; O'Sullivan et al. 2019). Grundsätzlich können sie zu verschiedenen Zeitpunkten während der

Lebensmittelherstellung bis hin zur Behandlung des Endproduktes in der Verpackung angewendet werden (Endersen and Coffey 2020; Greer 2005). Eine Übersicht über Review-Artikel zum Einsatz von Phagen im Lebensmittelbereich sowie einer Gewichtung ihrer thematischen Schwerpunkte sind dem Supplementary Material von Roth et al. 2026 zu entnehmen (**Anhang 3**). Derzeit ist die Reduzierung von humanpathogenen Bakterien-spezies auf Lebensmitteln das Hauptziel der Phagenanwendung (Moye et al. 2018). Sie ersetzt konventionelle Konzepte zur Bakterienreduktion und Haltbarmachung von Lebensmitteln nicht, kann aber zur gezielten Reduzierung bestimmter Bakterienspezies ergänzend eingesetzt werden (Cooper 2016; Hagens and Loessner 2010; Singh 2018).

Phagenanwendungen werden, je nach zeitlichem Einsatz, dem sogenannten Preharvest- oder Postharvest-Bereich zugeordnet (Moye et al. 2018; Sommer et al. 2019). Dabei wird zwischen der Anwendung auf dem Feld vor der Ernte bzw. im Tierstall vor der Schlachtung und der Anwendung in der Wertschöpfungs- bzw. Lebensmittelproduktionskette unterschieden (**Abbildung 2**). Unter den Preharvest-Bereich fallen Phagenanwendungen zur spezifischen Keimreduzierung im Tier und im Tierstall, z. B. auf Oberflächen, in Tränken, Futtertrögen, oder auf Oberflächen von Nutzpflanzen. Der Postharvest-Bereich beginnt bei der Aufbereitung von geernteten Rohstoffen und umfasst Phagenanwendungen während der Lebensmittelprozessierung bis hin zum Endprodukt, unabhängig davon, ob Oberflächen der Produktionsstätten oder direkt Rohstoffe und Zwischenprodukte in Produktionslinien oder das fertige Lebensmittel behandelt werden. Die Abgrenzung zwischen den Bereichen Preharvest und Postharvest stellt die Ernte der Pflanzen bzw. die Schlachtung der Nutztiere dar. Das Besprühen von Nutzpflanzen kurz vor oder nach der Ernte würde demzufolge auch bei Anwendung gleicher Phagenpräparate dem Pre- oder dem Postharvest-Bereich zugeordnet werden.

3.1 Biokontrolle, Biokonservierung und Biosanierung

Dem Ziel ihres Einsatzes entsprechend lassen sich Phagenanwendungen der Biokontrolle, Biokonservierung oder Biosanierung zuordnen. Der Einsatz von Phagen gegen bestimmte humanpathogene Bakterienspezies zielt auf die Erhöhung der Lebensmittelsicherheit ab und fällt unter den Begriff Biokontrolle, während die Reduzierung von Lebensmittelverderbern zur Erhöhung der Haltbarkeit der Produkte zur Biokonservierung zählt (Goodridge and Bisha 2011; Kazi and Annapure 2016; Mahony et al. 2020; Vikram et al. 2020).

Die Biokontrolle stellt die wichtigste Zielsetzung einer Phagenanwendung auf Lebensmitteln dar. Durch die hohe Spezifität von Phagen ohne Auswirkungen auf die Qualität des Lebensmittels begegnet die Biokontrolle vielen Herausforderungen, mit denen traditionelle Verfahren zur Gewährleistung der Lebensmittelsicherheit konfrontiert sind. Allerdings sind durch die hohe Spezifität der Phagen Anwendungen limitiert, so dass bei Vorkommen verschiedener Stämme und Spezies eines Krankheitserregers der Einsatz von Phagencocktails mit Phagen verschiedener bzw. ergänzender Spezifität für ein breites Wirtsspektrum erforderlich sind.

Der mikrobiologische Verderb von Lebensmitteln, der im Gegensatz zu einer Kontamination mit humanpathogenen Bakterien eine Veränderung der Lebensmittelmatrix und der rheologischen Eigenschaften zur Folge hat, ist komplex und die beteiligten Bakterienspezies sind vielfältig (Pérez Pulido et al. 2016). Diese enorme Diversität an Mikroorganismen erschwert grundsätzlich den Einsatz von Phagen zur Biokonservierung. Dennoch können Phagen Bestandteil eines Hürdenkonzeptes zur Haltbarmachung von Lebensmitteln werden. Allerdings stehen bisher nur bestimmte kritische bzw. dominierende Verderbniserreger im Fokus. Der Einsatz von Phagen kann sinnvoll sein, wenn unter bestimmten ökologischen Bedingungen eine Bakterienspezies in einem Lebensmittel die dominante Verderbnismikrobiota ausmacht, wie z. B. *Pseudomonas* spp. in Rohmilch (Hu et al. 2016) oder *Brochothrix thermosphacta* im Schweinefleisch (Greer and Dilts 2002).

Unter die Biosanierung fällt die Dekontamination von verkeimten Oberflächen und Geräten, z. B. im Tierstall oder an Produktionsstätten (de Melo et al. 2018; Motlagh et al. 2016; Nannapaneni and Soni 2015). Bei der Biosanierung von Oberflächen ist die Reduzierung von Biofilmen von besonderem Interesse (Cha et al. 2019b; de Ornellas Dutka Garcia et al. 2017; Gong and Jiang 2017; Sadekuzzaman et al. 2018; Sadekuzzaman et al. 2017). Dieselben Phagen wären beim Einsatz zur Biokontrolle oder Biokonservierung im Lebensmittel ein Verarbeitungshilfsstoff oder Lebensmittelzusatzstoff, beim Einsatz zur Biosanierung von Oberflächen ein Biozidprodukt (Sevilla-Navarro et al. 2020; Vengarai Jagannathan et al. 2020).

3.2 Phagenanwendung in der Tierhaltung und Pflanzenanzucht (Preharvest)

Phagenanwendungen können am Tier und im Tierstall (Atterbury et al. 2020; Lu et al. 2020; Shebs-Maurine et al. 2020; Żbikowska et al. 2020) oder auf Pflanzenoberflächen (Huang and Nitin 2020) humanpathogene Bakterienspezies reduzieren und damit die Übertragung in die

Wertschöpfungskette vermindern und die Lebensmittelsicherheit erhöhen (Gildea et al. 2022). Phagen können auch zur Behandlung von Pflanzenkrankheiten eingesetzt werden und somit zur Verhinderung von Ernteaufällen durch Bakterienbefall (**Anhang 2**). Die Phagentherapie an Nutztieren und die Phagenanwendung in der Aquakultur (Carvalho et al. 2017; Gigante and Atterbury 2019; Sieiro et al. 2020; Żaczek et al. 2020) sind nicht Gegenstand dieser Stellungnahme.

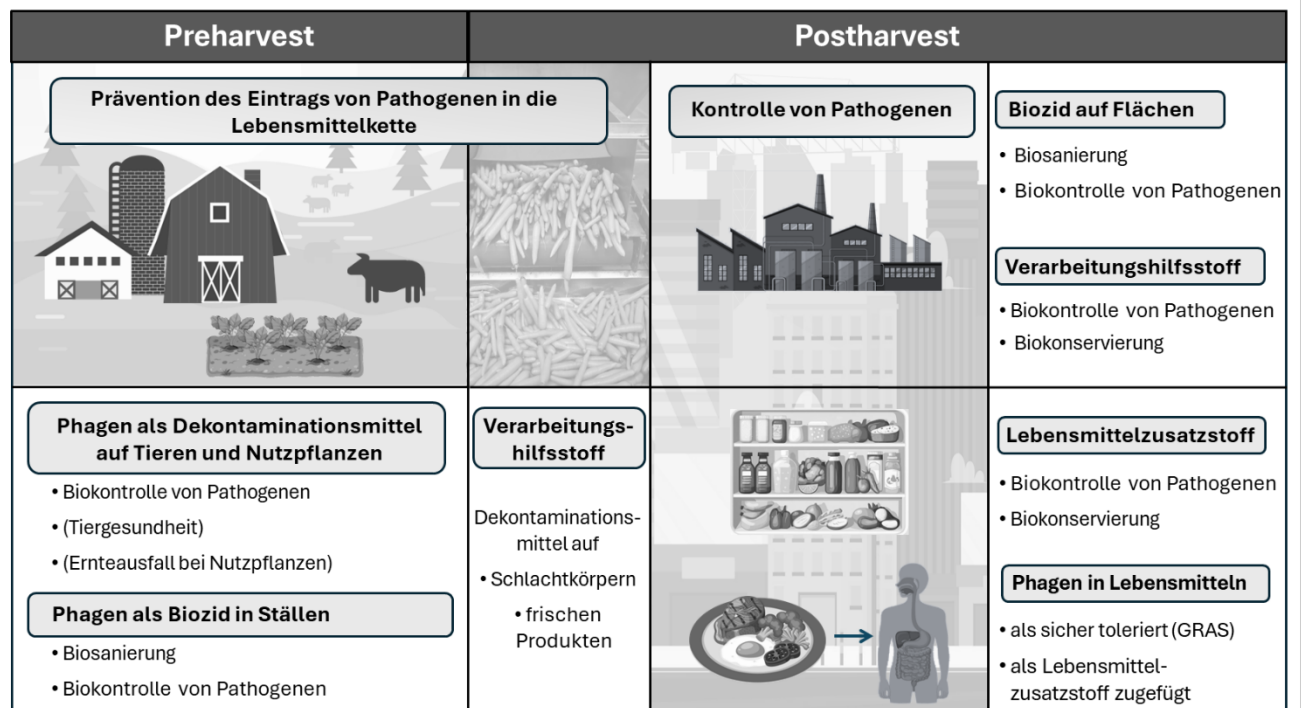


Abb. 2: Anwendungsbereiche für Phagen in der Lebensmittelherstellung

Links: Anwendung im Preharvest-Bereich; **Mitte:** Anwendung kurz nach Ernte und Schlachtung;

Rechts: Anwendung im Postharvest-Bereich; **Unten rechts:** Phagen als Verarbeitungshilfsstoff im Lebensmittel toleriert (außerhalb der EU) oder als Lebensmittelzusatzstoff mit Absicht zugefügt (modifiziert aus Roth et al. 2026).

3.3 Phagenanwendung in der Lebensmittelproduktionskette (Postharvest)

Im Postharvest-Bereich werden Phagen vorwiegend zur Biokontrolle eingesetzt, können aber auch ergänzend bei der Konservierung eine Rolle spielen (**siehe Anhang 3: Supplementary Material von Roth et al. 2026**) (Endersen et al. 2014; Endersen and Coffey 2020; Gutierrez et al. 2019; Kazi and Annapure 2016; Moyo et al. 2018). Die Anwendung kann einerseits im Produktionsprozess, andererseits auf dem verkaufsfertigen Lebensmittel vor der Verpackung oder durch Zugabe in die Verpackung erfolgen (Ahmadi et al. 2020). In der Produktionslinie, z. B. an Lebensmitteloberflächen wie Schlachtkörpern angewendet, könnte eine nachfolgende Beseitigung bzw. Inaktivierung der Phagen aufgrund nachfolgender Prozessierungsschritte für die Einordnung und Zulassung als Verarbeitungshilfsstoff hilfreich sein. Im Gegensatz zu einer

Anwendung in der Produktionslinie ist eine Beseitigung bzw. Inaktivierung der Phagen auf dem verkaufsfertigen Lebensmittel, wie Obst, geschnittene Fleischwaren, Käse, Frucht- und Gemüseprodukte, Getränke und „ready to eat“-Produkte (RTE), aufgrund des Erhalts der Lebensmitteleigenschaften oder einer angestrebten anhaltenden Wirksamkeit der Phagen nicht vorgesehen, so dass intakte Phagen vom Verbraucher mit dem Produkt aufgenommen werden, wie es, wenn als Lebensmittelzusatzstoff zugelassen, erlaubt wäre. Die Phagenbehandlung kann nicht eingesetzt werden, um bereits stark mit Bakterien belastete Lebensmittel wieder verkehrsfähig zu machen, da eine Reduzierung einer hohen Bakterienlast zwar möglich ist (Jayamanne and Foddai 2025), aber nicht ausreichend, um ein sicheres Lebensmittel zu garantieren. Die Phagenbehandlung ist eine zusätzliche Methode, die mikrobiologische Sicherheit von Lebensmitteln, die nach guter Herstellungspraxis dekontaminiert und kühl gehalten werden, zu erhöhen.

Die Phagenanwendung kann auch mit anderen antimikrobiellen Konzepten zusammen angewendet werden. So wurde die Phagenbehandlung von Lebensmitteln mit Bacteriocinen (Pediocin, Nisin) oder Bacteriocin-produzierenden Bakterien, komplexen Tanninen und *trans*-Zimtaldehyd kombiniert (Alves et al. 2020; Bumunang et al. 2020; Duc et al. 2020; Heo et al. 2018; Kim et al. 2019; Komora et al. 2020; Viazis et al. 2011). Auch die Immobilisierung von Phagen an Verpackungsmaterial oder Pads, die in die Verpackung zum Produkt gelegt werden, (Gouvêa et al. 2016; Lone et al. 2016), oder die Einbettung der Phagen in einen Überzug aus Alginate oder Xanthan wurde beschrieben (Alves et al. 2019; Radford et al. 2017).

4 Auswahl der Phagen und Anwendung in der Praxis

4.1 Relevante Bakterienspezies

Bedeutende humanpathogene Bakterien auf Lebensmitteln sind die vier wichtigsten Vertreter der *Enterobacteriaceae*, *S. enterica*, toxinbildende *E. coli*, *Yersinia enterocolitica* und *Shigella* spp., aber auch Bakterienarten wie *L. monocytogenes*, *Campylobacter* spp. und *S. aureus* (**Tabelle 1 und Anhang 1**) (Bai et al. 2016; Moye et al. 2018; Sommer et al. 2019; Vikram et al. 2021).

Salmonella, *E. coli* und *Campylobacter*, sind sowohl im Preharvest- als auch im Postharvest-Bereich Ziel von Phagenanwendungen. Für *Shigella* spp. und *L. monocytogenes* gibt es ebenfalls kommerziell erhältliche Phagenpräparate, wobei *Shigella* in Deutschland keine große Bedeutung für die Lebensmittelsicherheit hat. *Campylobacter jejuni* ist die

bedeutendste humanpathogene Bakterienspezies in Deutschland und Europa, die über Geflügelprodukte lebensmittelbedingte Infektionen auslöst (Olson et al. 2021). Im Jahr 2024 identifizierte die EFSA *L. monocytogenes* (in den Sektoren Fleisch, Fisch und Meeresfrüchte, Milchprodukte sowie Obst und Gemüse), *S. enterica* (in den Sektoren Futtermittel, Fleisch, Eier und Lebensmittel mit niedriger Wasseraktivität) und *Cronobacter sakazakii* (im Sektor der Lebensmittel mit niedriger Wasseraktivität) als die für die öffentliche Gesundheit relevantesten bakteriellen Lebensmittelsicherheitsgefahren, die mit einer Persistenz in der Lebensmittel- und Futtermittelverarbeitungsumgebung verbunden sind (EFSA 2024). Lange Zeit konnten keine Phagenpräparate gegen *Campylobacter* spp. für die Anwendung in der Praxis entwickelt werden. In wissenschaftlichen Untersuchungen hatte sich immer wieder gezeigt, dass die bisher isolierten Phagen nur in unzureichendem Maß *Campylobacter* lysierten, was teilweise auf die hohe Diversität der Subpopulationen von z. B. *C. jejuni* zurückgeführt wurde (Ushanov et al. 2020). *Campylobacter* Spezies sind in der Lage, ihre Kapsel zu variieren, was zum Teil auf Phasenvarianzen aufgrund von repetitiven Elementen in den Gensequenzen zurückgeführt wird (Van Der Woude and Bäuml 2004). Bereits Reinkulturen von *Campylobacter*-Zellen weisen eine hohe Kapseldiversität auf, obwohl die Zellen genetisch identisch sind. Kapselvarianten führen nicht zu Wachstumsnachteilen, zeigen aber eine unterschiedliche Sensitivität gegenüber kapselspezifischen Phagen. Aufgrund der Kapselvarianz werden resistente Zellen häufig in *Campylobacter*-Kulturen zur Anzucht von Phagen nachgewiesen, führen aber ausgleichend auch zu einer Anpassung der kapselspezifischen Phagen (Sorensen et al. 2021). Da *Campylobacter* spp. mikroaerophil und thermophil und damit schwer kultivierbar sind, wird die Anzucht zur Gewinnung großer Phagenmengen als schwierig erachtet (Hofreuter 2014; Jäckel et al. 2019; Ushanov et al. 2020). Aufgrund ihrer Ansprüche sind *Campylobacter*-Zellen auf Lebensmitteln oft nicht stoffwechselaktiv und somit nicht empfänglich für eine Phageninfektion, was eine Abtötung durch Phagen erschwert. Seit 2021 gibt es einen Phagencocktail gegen *C. jejuni* und *C. coli*, der GRAS-Status hat und in den USA für die Behandlung von rohem, roten Fleisch und Geflügel vorgesehen ist. Gegen *Y. enterocolitica*, eine Bakterienspezies, die insbesondere im Schweinefleisch vorkommt und Darminfektionen auslöst (mehr als 2.000 gemeldete Fälle pro Jahr in Deutschland), gibt es noch keine zugelassenen Phagencocktails. Einige Phagenisolate, die diese Spezies lysieren, wurden auf verschiedenen Lebensmitteln bereits als aussichtsreich getestet (Jun et al. 2018; Leon-Velarde et al. 2019; Orquera et al. 2012) (**Anhang 1**).

Auch für *S. aureus*, *B. cereus* und *C. sakazakii* wurden bereits potenziell einsetzbare Phagen beschrieben. *S. aureus* und *B. cereus* können Lebensmittel verderben und Toxine in bestimmten Lebensmitteln produzieren, die zu Lebensmittelvergiftungen führen. Beide bilden Biofilme auf Oberflächen und Gerätschaften, die für Kontaminationen von Lebensmitteln bei der Produktion verantwortlich gemacht werden. Es wurden bereits vielversprechende Phagenisolate gegen *S. aureus* beschrieben (**Anhang 1 und 2**), die allein und in Kombination mit Nisin wirksam sind (Cha et al. 2019a; Duc et al. 2020). Für *B. cereus*, der ubiquitär in Boden und Staub vorkommt und bei Vermehrung in Lebensmitteln oder im Darm, besonders von Säuglingen und Kleinkindern, Enterotoxine bildet, sind nur wenige Phagen bekannt. In einzelnen Studien wurde die Wirksamkeit einiger Phagen gegen *B. cereus* auf Lebensmitteln untersucht (**Anhang 1**) (Bandara et al. 2012; Hock 2019; Nakonieczna et al. 2015; Oh et al. 2017). *C. sakazakii* wurde in Milch und Milchpulver nachgewiesen und kann in Säuglingen u.a. schwere Darminfektionen hervorrufen. Bisher wurden Phagenisolate beschrieben, die gegen *C. sakazakii* wirksam sind (Endersen et al. 2017). Weitere Phagenpräparate gibt es gegen Spezies der Gattungen *Xanthomonas*, *Pseudomonas* und *Aeromonas*, die teilweise für Pflanzenkrankheiten, teilweise für Lebensmittelverderb verantwortlich sind (**Anhang 1 und 2**) (Moye et al. 2018; Sommer et al. 2019).

4.2 Gewinnung der Phagen

Die Phagenspezies, die im Lebensmittelbereich eingesetzt werden, sind natürlich vorkommende Phagen, die meist aus der Umgebung ihrer Wirtsbakterien isoliert wurden. Sie gehören morphologisch zu den schwanzhaltigen Phagen der Klasse *Caudoviricetes*, die früher in die Myoviren, Siphoviren und Podoviren aufgeteilt wurden (**Abbildung 1**). Sie sind natürlicherweise hochspezifisch und meist nur gegen wenige Stämme und Serovaren einer Bakterienspezies wirksam. Für die meisten pathogenen Bakterien können geeignete Phagen aus der Natur isoliert werden. Auch bei einer Verschiebung hin zu anderen Stämmen, Serotypen oder Serovaren einer Spezies im Einsatzbereich der Phagen können aufgrund der damit einhergehenden Änderung des natürlichen Phagenpools die entsprechenden Phagen isoliert werden.

Es wird nach Phagen mit möglichst breitem Wirtsspektrum gesucht, die eine hohe lytische Aktivität aufweisen. Die Phagenisolate werden vereinzelt und auf ihre Wirtsspezifität und Effektivität der Zelllyse überprüft. Von 40 Phagenisolaten, die mit *S. enterica* ATCC 13311,

einer pathogenen Referenzspezies für „Multidrug“-Studien, als Wirt selektioniert wurden, waren 9 Isolate gegen mehr als 5 von 11 getesteten *Salmonella* Serovaren und ein Phagenisolat gegen alle 11 Serovare aktiv (Islam et al. 2020).

Eine wichtige sicherheitsrelevante Voraussetzung ist, dass die isolierten Phagen keine Antibiotikaresistenz- oder Virulenzgene in ihrem Genom enthalten. Nicht alle Gene eines Phagen-genoms sind bezüglich ihrer Funktion eindeutig identifizierbar, sodass bisher unbekannte Antibiotikaresistenz- oder Virulenz-assoziierte Gene vorhanden sein könnten. Es gibt bisher aber keine Hinweise, dass virulente Phagen Träger solcher Gene sind (Jebri et al. 2020). Weitere wichtige Eigenschaften der Phagen sind die Toleranz gegenüber einem breiten pH-Bereich, thermische Stabilität und eine hohe Reproduktionsaktivität mit einer kurzen Latenzzeit und einer möglichst hohen Wurfgröße (Islam et al. 2019). Eine Wurfgröße von 100 Phagenpartikeln pro Bakterienzelle wird angestrebt, eine Wurfgröße von 5 bis 50 pro Zelle gilt als zu gering, um große Mengen an Phagen zu produzieren. Manche Phagenspezies können Wurfgrößen von bis zu 300 Phagenpartikel pro Zelle erreichen.

Zur Mengenherstellung der isolierten Phagen wird ein Wirtsstamm gewählt, in dem sich die Phagen effektiv vermehren können. Das Wirtsbakterium zur Anzucht sollte möglichst keine Antibiotikaresistenz- bzw. Virulenzgene enthalten, um einen Transfer grundsätzlich auszuschließen. Wenn die angestrebte Wirtsspezifität dadurch nicht beeinträchtigt ist, sollten „harmlose“ Laborstämme oder nicht-virulente Stämme einer Bakterienspezies, vorgezogen werden. Das Genom des Wirtsbakteriums sollte möglichst vollständig sequenziert sein, um auch Gene unbekannter Funktion (ORFs, *Unknown Open Reading Frames*), die in den Bakteriengenomen in unterschiedlichem Maß vorhanden sind und durch generalisierte Transduktion übertragen werden könnten, ausschließen zu können. Grundbedingung ist, dass die Phagen mit der angestrebten Wirtsspezifität sich effizient genug mit den gewählten Stämmen vermehren lassen. Den Laborstämmen fehlen oft Oberflächenstrukturen wie Fimbrien, Pili, LPS, Kapselstrukturen, Teichonsäuren, bei denen es sich einerseits um Virulenzfaktoren handeln kann, die vermieden werden sollten, die aber andererseits je nach Phage als Rezeptoren fungieren und damit zur Infektion und Phagenanzucht notwendig sind. Somit kann je nach Wirtsspezifität des Phagen bei dem Schritt der Phagenherstellung der Einsatz von Bakterienstämmen mit unerwünschten Genen bzw. Eigenschaften nicht vermieden werden. Mit *S. enterica* ATCC13311, der keine stabil integrierten, klinisch relevanten Antibiotika-resistenzgene trägt, lassen sich Phagen gegen verschiedene

Salmonella-Serovare, einschließlich einiger Serovare, die Antibiotikaresistenzgene aufweisen, anziehen (Islam et al. 2019).

Für die Phagenanzucht zur Herstellung kommerzieller Phagencocktails werden Kulturen mit einem Volumen von 100 L beschrieben. Die Kultur wird zu Beginn der logarithmischen Wachstumsphase bei einer OD₆₀₀ von etwa 0,3 (je nach Bakterienart ~ 10⁷ bis 10⁸ Bakterienzellen/ml) mit 1 L Phagenpräparation infiziert. Um eine MOI (*multiplicity of infection*) von 1 bis 5 (d.h. 1 bis 5 Phagenpartikel pro Zielzelle) zu erreichen, müsste die Phagensuspension 10⁹ bis 10¹⁰ Phagenpartikel/ml enthalten. Der optimale MOI-Wert ist u.a. abhängig von der Phagenspezies und kann höher oder niedriger liegen. Es werden auch Bakterien-Phagenkulturen beschrieben, die in 3 Schritten von 100 µl auf 1 L hochskaliert und dann zur Infektion einer 100 L Kultur eingesetzt werden. Je nach Wurfgröße, mindestens aber 100 freigesetzte Phagenpartikel pro Bakterienzelle, werden nach einem Filtrationsschritt der Kultur Phagensuspensionen mit mehr als 10¹⁰ Phagenpartikeln/ml erreicht (García et al. 2019). Phagen werden durch aufeinanderfolgende Filtrations- und Zentrifugationsschritte gereinigt, bei denen intakte Bakterien und, abhängig von ihrer Größe, Membranfragmente abgetrennt werden. Weitere Reinigungsschritte umfassen Fällung (z. B. mit Polyethylenglykol), Ultrazentrifugation, Dialyse und Affinitätschromatographie. Diese Methoden haben das Potenzial, Makromoleküle wie Endo- und Exotoxine sowie niedermolekulare Bestandteile zu entfernen, auch wenn einige von ihnen für eine Produktion im großen Maßstab schwierig umzusetzen sein können (Bourdin et al. 2014; Branston et al. 2012; Fouladvand et al. 2020; Hietala et al. 2019).

Bei der als „*in-vitro* Evolution“ bezeichneten Methode können durch Koinfektion von Bakteriensuspensionen mit verschiedenen Phagenspezies rekombinierte Phagen erhalten werden (Poullain et al. 2008). Phagen mit verbesserten Eigenschaften zur Reduktion phagenresistenter *L. monocytogenes* wurden durch Koinfektion von *L. monocytogenes*-Suspensionen mit Phagen eines Orthoclusters gewonnen, deren Sequenzhomologie von mehr als 90% die Rekombination allerdings erleichterte (Peters et al. 2020). Es gibt Studien, in denen isolierte, natürliche Phagen gezielt genetisch verändert wurden, um bessere Eigenschaften für ihre Anwendung zu erzielen (Dunne et al. 2019; Kilcher and Loessner 2019). Die kommerzielle Verwendung solcher gentechnisch veränderten Phagen wäre in der EU nicht zulässig (Verordnung (EG) Nr. 1829/2003 über genetisch veränderte Lebens- und Futtermittel) und ist für die USA oder andere Nicht-EU Länder bisher nicht beschrieben worden. Auch die

Neukonstruktion von Phagen, die die für einen Phagen essenziellen Gene für die Erkennung, Infektion und Lyse der Wirtszelle sowie den Aufbau und die Vermehrung des Phagen besitzen und auf bestimmte Anforderungen zugeschnitten sind, wird erforscht (Lenneman et al. 2021).

4.3 Phagencocktails

Die in wissenschaftlichen Publikationen getesteten Phagen sind entweder (i) als Bestandteile kommerzieller Phagenprodukte durch die FDA (*Food and Drug Administration*) als „*Generally Recognized As Safe*“ (GRAS) beurteilt und zum Teil in verschiedenen Ländern außerhalb der EU zugelassen (**Tabelle 1**), (ii) an bestimmten Lebensmitteln erprobt, aber ohne GRAS-Status und noch in keinem Staat zugelassen (**Anhang 1**), oder (iii) bisher nur wissenschaftlich charakterisiert, d.h., ihre Spezifität für relevante Bakterienspezies und ihre Abtötungseffizienz wurden experimentell getestet. Eine Übersicht über Reviews, die Informationen zu Phagenpräparaten und -isolaten zusammengestellt haben, können dem Supplementary Material von Roth et al. 2026 entnommen werden (**Anhang 3**).

Um Kontaminationen unterschiedlicher Stämme und Serotypen einer pathogenen Bakterienspezies, die auf den für sie typischen Lebensmitteln zu erwarten ist, ausreichend zu minimieren und um möglicherweise aufkommenden Phagenresistenzen zu begegnen, werden Phagencocktails aus mehreren Phagenspezies eingesetzt. Andererseits kann ein Phagencocktail nur aus einer begrenzten Anzahl an Phagenspezies bestehen, da ein hoher Titer einer jeden Phagenspezies in der gebrauchsfertigen Phagenlösung erreicht werden muss und nur ein bestimmtes Volumen an fertiger Phagenlösung auf das Lebensmittel aufgebracht werden kann. Jede weitere Phagenspezies führt zur Verdünnung aller anderen Phagenspezies des Cocktails. In der Regel bestehen Phagencocktails aus Phagen, die ausschließlich gegen jeweils eine Bakterienspezies bzw. gegen einiger ihrer dominanten Stämme bzw. Serotypen, wirksam ist (**Tabelle 1**). Phagencocktails enthalten meist 3 bis 6 Phagen, höchstens 10, die ein möglichst breites Wirtsspektrum abdecken und möglichst effektiv wirken. Es wurde z. B. ein Phagencocktail aus 10 Phagenisolaten beschrieben, der gegen die drei *Salmonella enterica*-Serovare Typhimurium, Enteritidis und Kentucky gerichtet ist (Zhang et al. 2010). Für bereits zugelassene Phagencocktails werden kontinuierlich neue Phagenisolate erprobt, um das Spektrum an Stämmen oder Serotypen der jeweiligen Bakterienspezies, die abgetötet werden sollen, anzupassen oder zu erweitern und die Effektivität der Phagencocktails somit zu erhöhen.

Phagenpräparate werden als konzentrierte Suspensionen (10^{10} - 10^{11} PFU (*Plaque Forming Unit*)/ml) angeboten, die zur Anwendung verdünnt werden. Die verdünnten Suspensionen sollen innerhalb von zwei Wochen verbraucht werden. Nach Herstellerangaben enthalten Phagenpräparate keine Konservierungsstoffe. Die Haltbarkeit der unverdünnten Ausgangssuspension wird mit sechs Monaten bei 2 bis 8 °C angegeben. Danach wird empfohlen, die Wirksamkeit alle sechs Monate vor Einsatz der Suspension zu überprüfen. Ob die Phagensuspensionen weitere Begleitstoffe enthalten, wird nicht angegeben.

Von EcoShield™ und SalmoFresh™, wirksam gegen *E. coli* O157:H7 bzw. *Salmonella* spp., werden nach Herstellerangaben 1 bis 4,4 ml der verdünnten Suspension (1×10^9 PFU/ml) pro 1 kg Lebensmittelprodukt benötigt (Carter et al. 2012) und für Phageguard S, bestehend aus zwei Phagen und wirksam gegen *Salmonella* spp., 1 bis 3 ml/kg mit 10^8 PFU/ml. *Salmonella*-Zellen sollen um mehr als 1 log bis hin zu 2,4 log abgetötet werden, was laut Hersteller einer Reduzierung um 90 bis 99,6 % entspricht. Der Phagencocktail PhageGuard E, bestehend aus zwei Phagen und wirksam gegen viele Stämme von *E. coli* O157, kann auf ganzen Salatköpfen, auf Salatblättern und anderen Blattgemüsen sowie auf geschnittenem „ready to eat“ Salat und auf Schlachtkörpern und Frischfleisch angewendet werden. Der Cocktail tötet *E. coli* O157 um bis zu 3 log ab, was einer Reduzierung um 99,9 % entspricht. Die Phagen sollen nach Aufsprühen 6 bis 18 Stunden aktiv sein.

Das Phagenpräparat PhageGuard L (ehemals Listex), bestehend aus einem Phagen (P100) mit einer Konzentration von 2×10^{11} PFU pro ml, soll alle Stämme von *L. monocytogenes* abtöten. Das Präparat wird auf 0,2 bis 5 % verdünnt, auf gekochtem Fleisch, „ready to eat“ Produkten (mit Fleisch-, Käse- oder Milchproduktanteil), Käse, Schrimps und Produktionsflächen angewendet und soll Listerien-Zellen um mehr als 1 log abtöten. Auf Oberflächen sollen innerhalb von drei Stunden, je nach Material, eine Abtötung von 1,8 bis 3,3 log erreicht werden. Auch frische und alte Biofilme aus *L. monocytogenes* sollen abgetötet werden können. Für ListShield™, bestehend aus 6 Phagen und ebenfalls wirksam gegen *L. monocytogenes*, werden 1 bis 2 ml fertiger Suspension pro 250 cm² Oberfläche angegeben. Shigashield™, bestehend aus fünf Phagen gegen *Shigella*, soll mit einer Konzentration von 10^5 – 10^8 PFU/g auf Fleisch und Wurstwaren angewendet werden. CampyShield™, bestehend aus 3 bis 8 Phagen (mindestens drei Phagen sind enthalten, zur Erweiterung des Wirtsspektrums können weitere Phagen hinzukommen) und wirksam gegen *C. jejuni* und *C. coli*, hat unverdünnt einen Gesamttiter von mehr als 10^{10} PFU/ml und wird auf rohem, rotem Fleisch

und Geflügel, einschließlich Schlachtkörpern und Teilstücken, verdünnt in einer Konzentration von bis zu 1×10^8 PFU/g Fleisch angewendet. Ziel der Anwendung, bei 10 °C durchgeführt, soll eine statistisch signifikante Reduzierung einer Belastung mit *C. jejuni* und *C. coli* sein. Bei Tests durch den Hersteller wurden von 61 *C. jejuni* und *C. coli*-Stämmen 67 % lysiert (Phagenpräparate im Postharvest-Bereich **siehe Tabelle 1 und Anhang 1**).

Finalyse™, Ecolicide PX™, BacWash™, Finalyse™ Sal, BAFASL und SalmoFree sind Präparate gegen *E. coli* und *Salmonella* spp. im Preharvest-Bereich, die auf das Fell von Nutztieren aufgetragen oder ins Futter beigemischt werden und eine Kontamination von Fleisch nach der Schlachtung verringern sollen. Finalyse™ und Finalyse™ Sal Suspensionen sollen die Belastung mit *E. coli* O157:H7 und anderen Shiga-Toxin produzierenden *E. coli* (STEC) bzw. *Salmonella* auf Tieren innerhalb von fünf Minuten reduzieren. Eine Behandlung der Tiere vor der Etablierung im Stall soll auch die Belastung der Ställe mit diesen Bakterienspezies merklich reduzieren. BacWash™ ist ein Phagencocktail, der als Waschlösung auf Tierhäuten aufgetragen wird und gegen Shiga-Toxin bildende *E. coli* wirken soll. Weitere Phagenpräparate im Preharvest-Bereich sind INT-401™ gegen *Clostridium perfringens*, eine Spezies, die im Stall vorkommt, Krankheiten bei Geflügel und Schweinen verursacht und Frischfleisch kontaminiert, iPhage-V gegen *Vibrio parahaemolyticus/Vibrio* spp., die Fische und Meeresfrüchte kontaminieren, sowie Phagencocktails gegen einige Erreger von Pflanzenkrankheiten, wie Biolyse®-PB gegen *Pectobacterium*, ein Fäulniserreger bei der Kartoffellagerung und verschiedene Agriphage-Cocktails gegen *Xanthomonas campestris* und *Pseudomonas syringae*, Bakterienspezies, die Blattflecken, Fruchtflecken und Stängelkrebs an Paprika und Tomaten hervorrufen (El-Hendawy et al. 2005), gegen *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, Verursacher von Geschwüren an Tomatenpflanzen, gegen *Erwinia amylovora*, Verursacher von Feuerbrand an Apfel- und Birnbäumen und gegen *Xanthomonas citri* spp. *citri*, Verursacher von Geschwüren an Zitronenbäumen (**Anhang 2**).

Tabelle 1: Kommerzielle Phagenprodukte zur Anwendung auf Lebensmitteln (siehe auch Anhang 1 und 2)

Bakterien-spezies	Kommerzieller Phagencocktail	Anzahl Phagen	GRAS-Status	Erlaubt in	Einsatzbereich laut Hersteller	Endkonzentration	Abtötung
<i>Listeria monocytogenes</i>	PhageGuard L™ (Listex P100)	1	GRN 198 GRN 218*	USA, Kanada, Israel, Schweiz, Niederlande, Australien, Neuseeland	Gekochtes Fleisch, Fisch, Schrimps, Käse, RTE- Produkte mit Fleisch-, Käse- oder Milchproduktanteil	4x10 ⁸ - 1x10 ¹⁰ PFU/ml; 10 ⁷ - 10 ⁹ PFU/g	Auf Lebensmitteln bis 1 Log Einheit, auf Produktionsflächen bis zu 3,3 Log- Einheiten
	ListShield™	6	GRN 528	USA, Kanada, Israel	RTE-Fleisch, Gemüse	10 ⁷ PFU/cm ²	1,7 - 2,1 Log- Einheiten
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	PhageGuard E™	2	GRN 757	USA	Salatköpfen, Salatblättern, Blattgemüsen, geschnittener RTE-Salat, auf Schlachtkörpern und Frischfleisch	nicht verfügbar	Bis zu 3 Log-Einheiten
	EcoShield PX™ (früher Ecolicide)		GRN 834	USA, Kanada, Israel	Fleisch, Geflügel, Salat, Obst, Gemüse	10 ⁶ - 10 ⁷ PFU/g	
	BacWash						
	Finalyse™		-	-	Preharvest	-	-
<i>Salmonella spp.</i>	PhageGuard S™ (früher Salmorex)	2	GRN 468 GRN 859*	USA, Kanada, Israel, Indien, Ägypten	Fleisch & Geflügel, Meeresfrüchte & Fisch, pflanzliche Lebensmittel, Milch- & Molkereiprodukte	10 ⁷ - 10 ⁸ PFU/g	1 - 2 Log-Einheiten
	SalmoFresh™ (früher SalmoShield)	6	GRN 435	USA, Kanada, Israel	Geflügel, Fleisch, Fisch und Schalentiere, Obst, Gemüse	10 ⁷ - 10 ⁸ PFU/g	1 - 3 Log-Einheiten
	SalmoPro®,	2	GRN 603 GRN 752*	USA	-	-	-
	PhageFend™	6	GRN 1163	USA, Kanada	-	-	-
	Applied Phage Meat S2	6	GRN 1038	-	Fleischoberflächen	-	-

Bakterien-spezies	Kommerzieller Phagenscocktail	Anzahl Phagen	GRAS-Status	Erlaubt in	Einsatzbereich laut Hersteller	Endkonzentration	Abtötung
	Applied Phage Vegetable S2	6	GRN 1070	-	Gemüseoberflächen	-	-
	OvaPhage	-	-	Kanada	Schalen von frischen Eiern	-	-
	Finalyse™ Sal	-	-	-	Preharvest: auf Tieren, Oberflächen	-	-
	SalmoFREE	3-6	-	-	Preharvest: auf Legehennen, Tierfutter	-	-
	SalmoLyse®,	-	-	-	Tierfutter	-	-
<i>Shigella</i>	ShigaShield™	5	GRN 672	USA	Fleisch- und Wurstaufschnitt,	10 ⁵ - 10 ⁸ PFU/g	0,25 - 1 Log-Einheiten
<i>Campylobacter jejuni</i> , <i>C. coli</i>	Campyshield™	3-6	GRN 966	-	Rohes Fleisch	-	-

*um neue Phagen ergänzt

GRAS: *Generally Recognized As Safe*; GRN: GRAS Notice Number; PFU: *Plaque Forming Unit*; RTE: *Ready To Eat*

Informationen zusammengestellt aus öffentlichen Herstellerquellen, staatlichen Quellen und verschiedenen Reviews (Chaudhary et al. 2024; Costa et al. 2023; Cristobal-Cueto et al. 2021; Ge et al. 2022; Jaglan et al. 2022; Li et al. 2022; Liu et al. 2023; Moye et al. 2018; Pinto et al. 2020; Połaska and Sokołowska 2019; Sommer et al. 2019; Vikram et al. 2021); **siehe auch Anhang 3: Supplementary Material** (Roth et al. 2026)

4.4 Anwendung der Phagens Cocktails

Die Mengen, die bei einem umfassenden Einsatz in bestimmten Lebensmittelbereichen gebraucht würden, können aufgrund der Mengenangaben der Hersteller (1 bis 4 ml fertige Phagensuspension mit 10^9 bis 10^{10} PFU/ml für 1 kg Fleischgut) wie folgt angegeben werden: In der Primärproduktion wären für etwa 600 Millionen Brathähnchen (je 1,5 kg), die pro Jahr in Deutschland produziert werden, mindestens 0,9 Millionen Liter Phagenscocktail nötig, für etwa 60 Millionen gemästete Schweine (je 110 kg) 5 Millionen Liter. In der Fleischverarbeitung würden für z. B. 7.200 Tonnen Speckwürfel etwa 7.200 Liter Phagenscocktail benötigt.

Die Phagen werden in hohem Überschuss auf das Lebensmittel appliziert, damit möglichst viele Bakterienzellen, die weit und inhomogen verteilt sein können, von mindestens einem Phagen erreicht werden (Studien zu Modellsystemen der Phagen-Wirt-Dynamik auf festen Oberflächen siehe Roth et al. 2026). Eine Abtötung der Bakterienzelle allein durch Adsorption ("lysis from without") (Abedon 2011) ist nicht auszuschließen, aber der dafür nötige Phagenüberschuss wird bei Phagenanwendungen kaum erreicht. In zu hohen Mengen können Phagen, je nach Bedingungen, wie z.B. Salzgehalt, verklumpen und ihre Infektiosität reversibel verlieren (Szermer-Olearnik et al. 2017). Wenn bakterielle Zellen Klumpen bilden, können die Effekte unterschiedlich sein. Bestehen diese Klumpen ausschließlich aus Zielwirtszellen (klonale bakterielle Klumpen), kann die Phagenaktivität sogar zunehmen, da die hohe lokale Dichte metabolisch aktiver Zellen aufeinanderfolgende lytische Zyklen erleichtert (Abedon 2017). Im Gegensatz dazu können Zellcluster aus mehreren Spezies die Wirksamkeit von Phagen beeinträchtigen. Wenn Wirtszellen von Nicht-Wirtsbakterien umgeben oder abgeschirmt sind, erreichen Phagen möglicherweise nicht die erforderliche lokale Dichte an Wirtszellen, die für den Beginn einer produktiven Infektion notwendig ist, wodurch die lytische Aktivität reduziert oder verhindert werden kann.

Für die Durchführung der Phagenbehandlung werden Techniken wie Eintauchen des zu behandelnden Gutes oder das Besprühen und Benetzen beschrieben, flüssigen Lebensmitteln werden die Phagensuspensionen zugegeben. Bei Anwendungen auf Oberflächen fester Lebensmittel liegt die Konzentration in der Regel bei 10^7 bis 10^8 PFU pro cm^2 , in flüssigen Lebensmitteln bei 10^6 pro ml. Für blättrige Gemüse wurden bis zu 10^9 Phagenpartikel pro g beschrieben (Truchado et al. 2020). Für Rindfleischstücke wurde eine Anzahl von bis zu 10^9 PFU/g bei einer Kontamination durch *E. coli* O157:H7 von 10^3 PFU/g als notwendig

genannt (O'Flynn et al. 2004). In Flüssigkeit wurde für den *Salmonella*-Phagen P7 beschrieben, dass nach 120 Minuten mit $1,8 \times 10^4$ PFU bei $4,6 \times 10^2$ CFU (*Colony Forming Unit*)/ml eine Abtötung von 9,7 % erreicht wurde, mit $1,1 \times 10^7$ PFU eine Abtötung von 98, % (Bigwood et al. 2009). Alle in den Studien genannten Abtötungsraten durch Phagencocktails (sowie durch einzelne Phagenisolate) wurden an inokulierten Lebensmitteln bestimmt. Dabei beziehen sich die angegebenen PFUs und CFUs sowie der daraus berechnete MOI auf die Mengen an aufgetragenen Bakterien und Phagen (eine Übersicht zur Wirksamkeit von Phagenanwendungen in Lebensmittelmodellsystem siehe Jayamanne and Foddai 2025). In der praktischen Anwendung hingegen ist das Verhältnis von PFU pro Fläche (z. B. pro cm^2) oder Masse (z. B. pro g) des Lebensmittels maßgeblich, während der für Phagen-Bakterien-Suspensionen klassische MOI eher von untergeordneter Bedeutung ist (Abedon 2016; Roth et al. 2026).

Die Lebensmittelmatrix ist für die Wirkung der Phagen entscheidend. Eine feuchte Umgebung und glatte Oberflächen ohne mikrostrukturelle Vertiefungen sind vorteilhaft für die vollständige Benetzung mit Phagen und damit für ihre Effektivität. Furchen und Poren an der Oberfläche sind ungünstig, da dort Bakterienzellen schlecht von der Phagensuspension erreicht werden. Auch pH-Wert und Salzgehalt sind Faktoren, die die Infektion der Wirtszellen durch Phagen beeinflussen können (Liu et al. 2023; Ranveer et al. 2024). Ein Temperaturbereich von 2 °C bis 42 °C wird für viele Phagencocktails von den Herstellern für eine erfolgreiche Wirkung der Phagen genannt. Bei niedrigen Lagertemperaturen teilen sich die meisten Bakterien nur langsam oder nicht. Wenn das Wirtsbakterium, abhängig von der Spezies, bei starker Kühlung nicht stoffwechselaktiv ist, ist der Phage nicht wirksam (Bryan et al. 2016). Es ist vorstellbar, dass die an Zielbakterien bereits adsorbierten Phagen diese lysieren, wenn die Umgebungstemperatur des Lebensmittels wieder steigt.

Die Dauer der Wirkung nach Aufbringen der Phagen ist neben der Phagenspezies abhängig von vielen Faktoren, wie Art, Menge und Verteilung der Bakterienspezies, vorhandene Stoffwechselaktivität der Bakterienzellen und Umgebungsbedingungen. So werden in verschiedenen Untersuchungen unterschiedliche Zeitspannen angegeben. Einerseits wird beschrieben, dass Phagen innerhalb einer begrenzten Zeitspanne von bis zu 24 Stunden aktiv sind, andererseits, dass durch Phagen, die mehr als 24 Stunden vorher appliziert wurden, eine erneute Kontamination mit Wirtszellen abgetötet werden kann. Auf festen Lebensmitteln sind

aufgetragene Phagen aber immobil und bewegen sich nicht aktiv auf Zielzellen zu, so dass Sekundärkontaminationen nur in sehr begrenztem Umfang abgetötet werden können.

5 Sicherheitsaspekte beim Einsatz von Phagen an Lebensmitteln

Phagen lysieren ausschließlich Bakterienzellen und nicht humane oder andere eukaryotische Zellen. Für die Befürworter sind Phagen eine natürliche, biologische Möglichkeit, Produktions- und Lebensmitteloberflächen zu dekontaminieren und pathogene Bakterienspezies auf Lebensmitteln zu kontrollieren. Als Bestätigung der Einschätzung als natürliches Mittel wird u. a. mit der hohen Zahl an Phagen, die in der Natur und im Menschen, besonders im Darmtrakt, natürlicherweise zu finden sind, und mit der täglichen Aufnahme hoher Phagenmengen, die natürlicherweise erfolgt, argumentiert (Sieiro et al. 2020; Vikram et al. 2021). Ein weiterer Vorteil ist, dass der Einfluss von Phagen auf Geschmack und Qualitätsmerkmale des Lebensmittels vernachlässigbar ist (García et al. 2019; Moye et al. 2018; O'Sullivan et al. 2019). Daneben werden verschiedene Limitierungen und Sicherheitsaspekte der Anwendung von Phagen in der Lebensmittelherstellung diskutiert (**Tabelle 2**) (Fister et al. 2019; Moye et al. 2018; Połaska and Sokołowska 2019; Sommer et al. 2019).

Tabelle 2: Verantwortlichkeiten von Forschung, Herstellern und Anwendern im Hinblick auf Herausforderungen, Limitierungen, Unsicherheiten und potenzielle Risiken des Einsatzes von Phagen im Lebensmittelbereich (siehe auch die Zusammenstellung von Roth et al. 2026).

Herausforderungen, Limitierungen, Unsicherheiten, potenzielle Risiken	Verantwortung für sicherheitsorientierte bzw. risikominimierende Lösungen
Herausforderungen	
Anpassung der Phagenproduktion im Labormaßstab an großtechnische Produktion und Aufreinigung	Verantwortung der Hersteller
Bestimmung des geeigneten Zeitpunkts des Phageneinsatzes	Verantwortung des Herstellers und des Anwenders
Kenntnis der kontaminierenden Bakterienspezies bzw. deren Stämme/Serotypen	Verantwortung der angewandten Forschung/des Herstellers/des Anwenders
Einschränkungen	
Enges Wirtsspektrum	Verantwortung der angewandten Forschung und des Herstellers
Dauer der Wirksamkeit ist begrenzt.	Klärung in der Verantwortung der angewandten Forschung und des Herstellers
Keine Daten zu Phagenanwendungen auf natürlicherweise kontaminierten Lebensmitteln	Verantwortung der angewandten Forschung und des Herstellers
Reduzierung von Bakterien spezifisch und geringer als mit konventionellen Methoden	Verantwortung des Anwenders, zu berücksichtigen, dass Phagenanwendungen eine zusätzliche Maßnahme sind

Herausforderungen, Limitierungen, Unsicherheiten, potenzielle Risiken	Verantwortung für sicherheitsorientierte bzw. risikominimierende Lösungen
Aktivität der Phagen abhängig von Lebensmittel/Lebensmittelmatrix	Klärung in der Verantwortung der angewandten Forschung und des Herstellers
Aktivität der Phagen abhängig von Umgebungsbedingungen (pH-Wert, Salzgehalt, Temperatur)	Klärung in der Verantwortung der angewandten Forschung und des Herstellers
Aktivität der Phagen abhängig vom Stoffwechselstatus der Wirtszelle	Klärung in der Verantwortung der Forschung/der angewandten Forschung
Unsicherheiten	
Relevanz der Ergebnisse mit inokulierten Lebensmittelmodellen für die Praxis	Verantwortung der angewandten Forschung
Ausreichende Phagenkonzentration auf dem Lebensmittel	Klärung in der Verantwortung der angewandten Forschung; Umsetzung in der Verantwortung des Herstellers und des Anwenders
Zugänglichkeit der Wirtszellen auf verschiedenen Lebensmitteln kann unterschiedlich sein	Verantwortung der angewandten Forschung
Hemmung der Phagenaktivität durch Lebensmittelbestandteile	Klärung in der Verantwortung der Forschung/der angewandten Forschung
Resistenzentwicklung der Wirtszellen in Abhängigkeit von Einsatzbedingungen	Klärung in der Verantwortung der Forschung/der angewandten Forschung
Dauer der Phagenaktivität: Langfristiger Schutz gegen Sekundärkontamination oder wieder aufkommendes Wachstum der Wirtszelle eher unwahrscheinlich	Klärung in der Verantwortung der angewandten Forschung und des Herstellers
Verbraucherakzeptanz	Verantwortung der angewandten Forschung/des Herstellers/des Anwenders
Diskutierte bzw. potenzielle Risiken	
Etablierung resistenter Wirtszellen in der Produktionskette sowie in Tierhaltungs- und Lebensmittelbetrieben	Verantwortung der angewandten Forschung
Einfluss freigesetzter Phagen auf Bakterienpopulationen in der Umwelt	Verantwortung der Forschung
Falsch negativer Nachweis des pathogenen Wirtes in Proben phagenbehandelter Lebensmittel	Verantwortung der angewandten Forschung
Unbekannte, kritische Gene eingesetzter Phagen	Verantwortung der Forschung
Einfluss der chronischen Aufnahme von Phagen auf die Darmmikrobiota und die Gesundheit	Verantwortung der Forschung
Verbreitung von Phagen im menschlichen Organismus und ihre physiologischen Auswirkungen	Verantwortung der Forschung
Freisetzung proinflammatorischer Verbindungen/Endotoxine und Toxine aus lysierten Bakterien	Verantwortung der Forschung

5.1 Sicherheitsaspekte bei der Herstellung von Phagen

5.1.1 Isolierung unbedenklicher Phagen

Bereits bei der Suche und dem Screening potenziell einsetzbarer Phagen müssen Sicherheitsaspekte beachtet werden, um Risiken bei der späteren Anwendung zu minimieren.

Hierzu zählt der kategorische Ausschluss von temperenten Phagen, um einen Transfer von Genen, wie z. B. Antibiotikaresistenzgene und Virulenzgene, zwischen Bakterien zu minimieren bzw. auszuschließen. Es sollten strikt virulente Phagen mit möglichst breitem Wirtsspektrum isoliert werden. Die Phagen sollten bei unterschiedlichen Umwelt- bzw. den bei der Lebensmittelproduktion und auf Lebensmitteln vorherrschenden Bedingungen aktiv sein. Das Genom der Phagen muss vollständig sequenziert werden, um Temperenz oder andere unerwünschte Eigenschaften ausschließen zu können. Bei Genen mit unbekannter Funktion stellt sich die Frage, ob sicherheitsbedenkliche Eigenschaften mit ihnen einhergehen können. Unter dem Gesichtspunkt „good practice“ sollte sichergestellt sein, dass Phagen nach diesen Eigenschaften gescreent worden sind und eine routinemäßige Kontrolle der Phagenprodukte erfolgt ist.

Es stellt sich weiterhin die Frage, ob sich Risiken aus der Auswahl der Bakterienstämme zur Anzucht der Phagen ergeben, die die Lebensmittelsicherheit betreffen und Vorgaben notwendig machen. Welche Bakterienstämme zur Anzucht ausgewählt werden, liegt in den Händen des Herstellers. Ob bestimmte Stämme/Serotypen einer Bakterienspezies für Anzuchtkulturen geeignet sind, ist überwiegend für den Hersteller von Bedeutung, wie auch das Maß an Sicherheitsvorkehrungen, die bei der Fermentation von pathogenen Bakterienspezies eingehalten werden müssen. Dass sich aus der Auswahl pathogener Bakterien zur Anzucht ein Infektionsrisiko durch mit den Phagen behandelte Lebensmittel ergibt, ist unwahrscheinlich, da die Phagen aufgereinigt werden. Bakterienspezies ohne Antibiotikaresistenz- oder Virulenzgene sollten bevorzugt verwendet werden, um einen, wenn auch unwahrscheinlichen, Transfer von unerwünschten Genen ausschließen zu können. Es kann davon ausgegangen werden, dass zur Anzucht Reinkulturen einer Bakterienspezies eingesetzt werden und Nachteile oder Risiken aufgrund undefinierter Bakterienkulturen nicht bestehen.

Bei der Aufreinigung der Phagen müssen die Wirtszellen, Reste lysierter Bakterienzellen und Fermentationsrückstände abgetrennt werden. Im Fall der Gram-negativen *Enterobacteriaceae* werden bei der Phagenanzucht und -ernte durch Lyse der Bakterienzellen Lipopolysaccharide/Endotoxine, die als Bestandteil der äußeren Zellwand vorkommen, freigesetzt. Es werden unterschiedliche Methoden zur Abtrennung von Endotoxinen beschrieben, die nicht alle im technischen Maßstab einsetzbar sind (Hietala et al. 2019). Grundsätzlich werden gesundheitliche Risiken durch die orale Aufnahme von Endotoxinen im

Zusammenhang mit Phagenanwendungen als gering eingeschätzt (Bertók 2004; Grootjans et al. 2010), werden aber als mögliches Risiko diskutiert (**siehe Kapitel 5.4**).

5.1.2 Veränderung/Mutation der Phagen oder Bakterien während der Fermentation

Die Eigenschaften von Phagen können durch Mutationen in ihrer DNA verändert werden. Mutationen erfolgen bei der Phagenanzucht spontan, mit einer höheren Mutationsfrequenz als bei der Replikation bakterieller Genome. Mit den Anzuchtbedingungen (Temperatur, pH-Wert, bakterieller Wirtstamm) kann ein evolutionärer Druck aufgebaut werden, bei dem Phagen mit Mutationen sich u. U. durchsetzen (Wichman et al. 2005), was aber durch optimale Anzuchtbedingungen für den Phagen vermieden wird (García et al. 2019). Aufgrund der ausgesuchten Bakterienspezies in Reinkultur wird die Wirtsspezifität der Phagen keinem Selektionsdruck, der Infektion und Lyse der Bakterien beeinträchtigen würde, unterliegen. Dass Mutationen, z. B. in Phagengenomen unbekannter Funktion, stattfinden, die die Sicherheit der Anwendung betreffen, ist unwahrscheinlich.

Da Bakterienzellen aus der Anzuchtkultur bei der Aufreinigung der Phagen abgetrennt werden, hätten mutierte Bakterien keine Bedeutung. Auch kann ein Wachstumsvorteil einer anderen Bakterienspezies gegenüber der relevanten Spezies ausgeschlossen werden, da Phagen mit Reinkulturen angezogen werden. Mutationen in bakteriellen Genen, die die Infektion durch Phagen beeinflussen bis hin zur Phagenresistenz, könnten die Ausbeute an Phagen verringern, werden in der Praxis aber nicht beobachtet. Die spontane Mutationsfrequenz für Bakterien liegt bei etwa 10^{-6} pro Gen pro Generation (Borin et al. 2021; Lee et al. 2012). Wenn eine Bakterienkultur mit 5×10^8 CFU/ml startet, kann entsprechend der spontanen Mutationsrate höchstens mit einem Anteil in der Größenordnung von 10^2 Bakterien/ml, die eine Mutation in einem bestimmten Gen tragen, gerechnet werden. Da es mehrere Gene gibt, in denen eine Mutation zu einer Resistenz gegenüber Phagen führen kann, würde sich die Rate an resistenten Bakterien erhöhen. Die Produkte dieser Gene können an der Synthese der Bakterienkapsel beteiligt sein, Strukturen der Zellwand oder der Phagenrezeptoren betreffen oder für die erfolgreiche Phagenvermehrung notwendig sein (Labrie et al. 2010; Mutalik et al. 2020). Da nicht jede Mutation in einem beteiligten Gen zu einer Phagenresistenz führt, ist die oben genannte Rate an resistenten Bakterien, die durch Mutation pro Generation und Gen entstehen könnten, als zu hoch anzusehen. Bakterien mit erworbener Resistenz teilen sich ebenfalls, sind aber nach einer einstündigen Kultivierung kaum nachweisbar (Beale 1948; Lenski and Levin 1985). Bei *Campylobacter*-Kulturen werden

am Ende einer Kultivierung phagenresistente Bakterienzellen nachgewiesen, was an der oben beschriebenen Kapselvarianz liegt (**siehe Kapitel 4.1.**) und die Phagenausbeute verringern kann.

Grundsätzlich sind für eine niedrige Mutationsrate sowohl im Phagen- als auch Bakteriengenom wenige aufeinanderfolgende Kulturen von der Anzucht der Bakterienkultur bis zur Phagenvermehrung von Vorteil. Laut Aussagen von Herstellern werden drei aufeinanderfolgende Bakterienkulturen (10 ml, 1 L, 100 L) benötigt, um das Volumen der Fermentationskultur zu erreichen. Es werden auch kontinuierliche Bakterienkulturen zur Anzucht von Phagen beschrieben (García et al. 2019), bei denen aber mit einer höheren Mutationsrate der geernteten Phagen gerechnet werden kann (Jurač et al. 2019), die möglicherweise die Ausbeute an Phagen oder ihre Spezifität beeinflussen.

5.2 Sicherheitsaspekte bei der Anwendung von Phagen

5.2.1 Auswahl des Phagenscocktails

Bei der Anwendung von Phagen zur Erhöhung der mikrobiellen Sicherheit des Lebensmittels stellt sich die Frage, welche pathogenen Bakterienspezies zu welchem Zeitpunkt der Prozessierung abgetötet werden sollen (**Abbildung 3**). Sind es Spezies, die nach konventionellen, z. B. thermischen Verfahren nur unzureichend abgetötet wurden, oder Sekundärkontaminationen? Bei Rohware kann mit den üblichen kontaminierenden Bakterienspezies gerechnet werden, wie z. B. *Salmonella* und *Campylobacter* auf Geflügelfleisch. Trotz des erweiterten Wirtsspektrums stellt sich die Frage, ob die vorhandenen Phagenscocktails hinreichend wirksam sind, wenn nicht alle möglicherweise vorkommenden Stämme/Serotypen/Serovare, wie z. B. von *Salmonella*, *Escherichia* und *Shigella*, durch den Phagenscocktail abgedeckt sind, oder andere als die üblichen Stämme/Serotypen/Serovare vorherrschend auftreten. Als ein mögliches Risiko wird das Überleben einzelner Stämme/Serotypen/Serovare, die nicht durch das Wirtsspektrum abgedeckt waren, beschrieben, die sich aufgrund eines Wachstumsvorteils auf dem behandelten Lebensmittel vermehren könnten, z. B. bei einer unterbrochenen Kühlkette. Man kann aber davon ausgehen, dass sich aufgrund der meist niedrigen Zellzahlen pathogener Bakterien am Lebensmittel ein Wachstumsvorteil für überlebende Stämme oder Serovare nicht ergibt. Die Phagenbehandlung ist kein Ersatz für eine einzuhaltende Kühlkette oder andere Hygienemaßnahmen, sondern eine zusätzliche Maßnahme in einem Hygienekonzept, sodass

ein unkontrolliertes Wachstum und eine explosionsartige Vermehrung möglicherweise verbleibender Stämme/Serotypen/Serovaren wenig wahrscheinlich ist. Unklar ist, ob die Angaben zu den Phagenprodukten für einen sinnvollen Einsatz ausreichen, in welchem Ausmaß mit anderen pathogenen Bakterienspezies oder nicht durch den Cocktail abgedeckten Stämmen/Serotypen/Serovaren gerechnet werden muss, und ob die Wirksamkeit routinemäßig überprüft werden sollte. Auch wird diskutiert, ob der Einsatz von Phagencocktails in der Produktionskette dokumentiert werden muss, um Folgeanwendungen unter dem Gesichtspunkt eines bereits erfolgten Phageneinsatzes sinnvoll auswählen zu können.

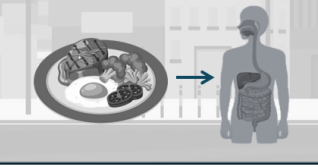
Preharvest	Postharvest
	Oberflächen in Betrieben • Freisetzung von Phagen • Auftreten und Persistenz von phagenresistenten Bakterien Lebensmittelproduktion • Wirksamkeit und Effektivität? • Auftreten von phagenresistenten Bakterien und ihr Übertrag entlang der Produktionslinie
Nutztiere, Tierställe und Nutzpflanzen • Wirksamkeit und Effektivität? • Phagenresistente Bakterien • Freisetzung von Phagen in die Umwelt • Auftreten und Persistenz von phagenresistenten Bakterien • Einfluss auf Bakterienpopulationen in der Umwelt	 Transport und Lagerung • Wirksamkeit und Effektivität? • Anhaltende Wirksamkeit?  Aufnahme über Lebensmittel • Einfluss auf die Gesundheit • Einfluss auf das Darmmikrobiom • Freisetzung von bakteriellen Toxinen

Abb. 3: Limitierungen und potenzielle Risiken von Phagenanwendungen

Links: Limitierungen und potenzielle Risiken von Phagenanwendungen im Preharvest-Bereich (Tierhaltung und Pflanzenanbau): hohe Phagenbelastungen auf Oberflächen in Stallanlagen bzw. auf Tieren und Kulturpflanzen sowie deren mögliche Freisetzung in die Umwelt mit unbekannten Folgen für Bakterienpopulationen; eingeschränkte Wirksamkeit aufgrund eines begrenzten Wirtsspektrums, phagenresistenter Bakterien oder Kontaminationen, die durch die Phagen nicht abgedeckt sind; Verbreitung phagenresistenter Bakterien.

Rechts: Limitierungen und potenzielle Risiken von Phagenanwendungen im Postharvest-Bereich (Verarbeitung und Endprodukte): hohe Phagenbelastungen auf Betriebsoberflächen, die eine mögliche Zunahme phagenresistenter Bakterien sowie deren Persistenz in Betrieben und Produktionslinien begünstigen könnten; eingeschränkte Wirksamkeit infolge eines begrenzten Wirtsspektrums, phagenresistenter Bakterien oder anderer Kontaminationen mit direkten Konsequenzen für die Lebensmittelsicherheit; Aufnahme von Phagen über Lebensmittel mit potenziellen Auswirkungen auf die Darmmikrobiota und die menschliche Gesundheit (modifiziert aus Roth et al. 2026).

5.2.2 Wirt/Phagen-Verhältnis und Effektivität der Anwendung

Abhängig von den eingesetzten Phagen und den unterschiedlichen Umgebungsbedingungen, wie flüssige oder feste Lebensmittel bzw. glatte oder gefurchte Oberflächen, werden

unterschiedliche Phagenmengen benötigt. In flüssigen Lebensmitteln werden Bakterienzellen und Phagen gut durchmischt. Auf festen Oberflächen muss, unabhängig von der vorhandenen Zahl an Zielzellen, die auf Lebensmitteln eher niedrig einzuschätzen ist, eine große Menge an Phagen zugefügt werden, damit möglichst auf jede Zielzelle mindestens ein Phage trifft (Hagens and Loessner 2010). Um weit und inhomogen verteilte Zielzellen zu erreichen, werden Phagensuspensionen durch Besprühen oder Eintauchen flächendeckend auf das Lebensmittelgut aufgebracht. Wichtig ist festzuhalten, dass sich auf feste Lebensmittel einmal aufgebrachte Phagenpartikel nicht aktiv zu Bakterienzellen hinbewegen.

Es ist zu beachten, dass das Lebensmittel durch eine Phagenbehandlung nicht steril wird, da der Phagencocktail nur bestimmte Stämme/Serotypen/Serovare einer Bakterienspezies lysiert und auch diese in der Regel nicht vollständig abtötet. Die entscheidende Frage ist, in welcher Größenordnung die Zellzahl der Zielbakterien abgesenkt werden kann und inwieweit die mikrobiologische Sicherheit des behandelten Lebensmittels erhöht wird (**Abbildung 3**). Laut Herstellern kann durch Phagen eine Reduzierung zwischen 1 und 4 log-Einheiten (Cristobal-Cueto et al. 2021) erreicht werden, wobei diese Zahlen an beimpften Lebensmittelmodellsystemen ermittelt wurden (Jayamanne and Foddai 2025).

Es muss unterschieden werden zwischen der Stabilität der Phagen, d.h. wie lange ihre Fähigkeit zu Infektion und Lyse erhalten bleibt, und der Aktivität der Phagen, d.h. wie lange sie nach dem Auftragen wirksam sind und Wirtszellen infizieren und lysieren. Für den Phagen P100 der kommerziell erhältlichen Phagensuspension PhageGuard Listex™ („single-phage“ Produkt) wurde beschrieben, dass er in Schmierwasser bei Temperaturen von 4 bis 10 °C über 120 Tage überdauerte und wieder aktive Phagen isoliert werden konnten (Fister et al. 2019). Die Zeitspanne, in der aufgebrachte Phagen aktiv sind, hängt von der Phagenspezies, der zu reduzierenden Bakterienspezies und ihre Verteilung sowie den physikalisch-chemischen Faktoren (z. B. Temperatur, Salzgehalt, Wassergehalt, pH-Wert) des Lebensmittelhabitats ab und kann daher sehr unterschiedlich sein (weniger als eine Stunde bis mehrere Tage). Die Bakterienzellen müssen stoffwechselaktiv sein, damit die Phagen sie abtöten können (Bryan et al. 2016). Für einige Anwendungen wird beschrieben, dass die Phagen nach Aufbringen auf bereits beimpfte Lebensmitteloberflächen für eine Zeitspanne von einigen Stunden Bakterienzellen abtöteten („cells-first“ Szenario), dabei aber nicht wesentlich vermehrt wurden. Für andere Anwendungen wird beschrieben, dass einmal aufgebrachte Phagen auch nachfolgende Kontaminationen mit der Wirtsspezies abtöten („phages-first“ Szenario) und die

Phagen sich auf dem Lebensmittel vermehren. Es wird aber auch angegeben, dass eine Vermehrung der Phagen während einer Anwendung nur 1 % der zugesetzten Phagenmenge ausmacht (Guenther et al. 2012).

Die Aktivität der Phagen ist nicht allein von ihrer Stabilität und den Umgebungsbedingungen abhängig, sondern auch von ihrer Immobilisierung an Oberflächen, die die Infektiosität der Phagen reversibel hemmt. Nach Ablösen immobilisierter Phagen von Oberflächen können wieder aktive Phagen nachgewiesen werden (Leppänen et al. 2019). In flüssigen Lebensmitteln hängt die Immobilisierung von der Menge und der Größe von festen Schwebstoffen ab, in klaren Flüssigkeiten ist eine Immobilisierung und Inaktivierung durch Bindung an Oberflächen nicht gegeben. Bei Anwendung in der Lebensmittelverpackung beeinflussen die Lagerbedingungen, wie z. B. Feuchtigkeit in der Verpackung, Lagertemperatur und Dauer der Lagerung sowie die Bedingungen auf der Lebensmitteloberfläche die Wirksamkeit der Phagen. Von den unterschiedlichen Gegebenheiten hängt ab, ob die Phagen während des Verpackens oder auch während der Lagerung wirken, wie lang sie wirken und ob Sekundärkontaminationen durch aufgebrauchte, persistierende Phagen vermindert werden können. Es ist davon auszugehen, dass auf feste Lebensmittel einmal aufgebrauchte Phagen gegen eine später einsetzende Welle des Bakterienwachstums, beispielsweise bei unterbrochener Kühlkette, nur begrenzt wirksam sind. Auch bei Anwendungen während der Verpackung und Lagerung ist zu berücksichtigen, dass einmal aufgebrauchte Phagen sich nicht aktiv auf Zellen zubewegen und an Oberflächen gebunden sein können, sodass eine Sekundärkontamination während der Lagerung nicht reduziert wird.

5.2.3 Resistenzentwicklung von Bakterien gegen Phagen

Die mögliche Resistenzentwicklung von Bakterien gegen Phagen wird als problematisch diskutiert (**Abbildung 3**) (Sommer et al. 2019). Bei der Anzucht könnte die Ausbeute an Phagen vermindert sein, da resistent gewordene Bakterien nicht infiziert werden, oder es werden modifizierte Phagen geerntet, die bei Einsatz gegen die vorgesehenen Zielbakterien nicht wirken, was beides jedoch durch die Überprüfung der Effektivität der geernteten Phagen und durch eine Wiederholung der Anzucht mit dem Ausgangsstamm kontrollierbar ist. Bei der Anwendung sind zwei Szenarien denkbar. Entweder erfolgte die Resistenzentwicklung der Zielbakterien zu einem unbekannten Zeitpunkt vor der Kontamination des Lebensmittels aufgrund der natürlichen Koexistenz der Bakterien mit dem aus der Umwelt der Zielbakterien

bereits isolierten Phagen, oder die Resistenzentwicklung der Zielbakterien erfolgt während der Anwendung in der Produktion oder im fertigen Lebensmittel. Im ersten Fall wäre der Phagencocktail mit diesem Phagen nur bedingt aktiv (aufgrund mehrerer Phagenspezies aber wahrscheinlich nicht völlig inaktiv) und der Einsatz eines anderen (modifizierten) Phagencocktails anzuraten.

Die Häufigkeit einer Resistenzbildung von Wirtsbakterien wird abhängig von der Phagenspezies auf ungefähr 10^{-4} bis 10^{-7} geschätzt (Fernández et al. 2018). Wenn dieser Rate der Resistenzbildung die niedrigen Zellzahlen, die für pathogene Bakterien auf Lebensmitteln beobachtet werden, gegenübergestellt werden, sollte das Auftreten von resistenten Bakterienzellen bei Anwendungen auf Lebensmitteln sehr selten sein. Zudem vermehren sich Phagen auf festen Lebensmitteln nicht (oder nicht wesentlich), was eine Resistenzentwicklung der Wirtszellen eher unwahrscheinlich macht. Bei hohen MOIs wurde in Studien von einer verstärkten Resistenzentwicklung berichtet, wie z.B. bei hohen Titern eines einzelnen Phagen gegen *Salmonella* in inokuliertem Hühnerfleisch (Atterbury et al. 2007), sowie *in vitro* mit *Enterococcus faecalis* bei einem MOI von 10 (Topka-Bielecka et al. 2021). Hohe MOIs in Kombination mit bakterieller Vermehrung treten in der Praxis auf Lebensmitteln in der Regel nicht auf, außer es kommt zu einem signifikanten Wachstum der pathogenen Bakterien aufgrund fehlender anderer Hygienemaßnahmen in Kombination mit einer hohen Phagenanzahl. Darüber hinaus war die in den zitierten Studien beobachtete Phagenresistenz nicht stabil. Viele resistente Isolate kehrten nach mehreren Passagen ohne Phagenexposition wieder zu einem phagensensitiven Phänotyp zurück. Dies kann auf Fitnesskosten der Zielzelle zurückzuführen sein, die mit der Resistenz verbunden sind (Meaden et al. 2015). Dabei ist mindestens eine physiologische Funktion beeinträchtigt, wodurch die Mutanten in Abwesenheit des Phagen weniger konkurrenzfähig sind.

Da nicht nur ein Phagentyp, sondern meist Phagencocktails eingesetzt werden, wird die Häufigkeit einer Resistenzentwicklung gegen einen bestimmten Phagen weiter reduziert. Auch der wechselnde Einsatz verschiedener Phagencocktails wird als Mittel genannt, das Risiko einer Resistenzentwicklung zu reduzieren. Aufgrund des bisherigen Wissens wird davon ausgegangen, dass bei einem Auftreten von phagenresistenten Stämmen/Serovaren/Serotypen in der Umgebung von Lebensmittelproduktionsstätten wieder Phagen, abhängig von der Bakterienspezies, isoliert werden können, die in der Lage sind, diese zu lysieren (Meaden and Koskella 2013).

Es gibt Befürchtungen, dass eine Phagenresistenz gleichzeitig auch zu einer Antibiotikaresistenz oder erhöhten Virulenz der Bakterien führen könnte, was bisher wissenschaftlich nicht belegt werden konnte. In therapeutischem Kontext werden Phagen auch zusammen mit Antibiotika verabreicht. Ein Zusammenhang zwischen Phagenresistenz mit Antibiotikaresistenz wurde vereinzelt beschrieben, ist aber eher ein multifaktorielles Phänomen innerhalb dynamisch wachsender bakterieller Populationen und nicht die Folge einer spezifischen Veränderung an einem einzelnen Resistenzloкус (Allen et al. 2017; McGee et al. 2023). Für Anwendungen in Lebensmitteln können kombinierte Effekte nicht angenommen werden, da Antibiotika, wenn überhaupt, nur in Spuren in bestimmten Lebensmitteln wie Fleisch vorkommen und keine aktiv wachsenden bakteriellen Kulturen zu erwarten sind.

Eine Antibiotikaresistenz oder -sensitivität infolge einer Resistenzentwicklung gegenüber Phagen ist grundsätzlich nicht zu erwarten, da sich Phagenrezeptoren von den Angriffspunkten der Antibiotika und Resistenzmechanismen gegen Phagen sich von denen gegen Antibiotika unterscheiden. Dennoch wurden Phagen isoliert, die TolC, eine Antibiotika-Effluxpumpe der Wirtszelle, als Rezeptor nutzen. In solchen Fällen können Mutationen, die Phagenresistenz vermitteln, auch die Resistenz oder Sensitivität der Wirtszelle gegenüber Tetracyclin verändern (Burmeister et al. 2020). Neben Fitnessverlusten wurde unter dem Einfluss von Phagen auch eine Abnahme der Virulenz (de Melo et al. 2024) und in einigen Fällen eine Verminderung der Antibiotikaresistenz pathogener Bakterien berichtet (Chan et al. 2016; Li et al. 2024). Für *L. monocytogenes* Serotyp 4b wurde beschrieben, dass die Virulenz des Bakteriums durch eine Resistenzentwicklung gegen Phagen abnahm (Sumrall et al. 2019).

5.2.4 Risiken bei Anwendung als Dekontaminationsmittel auf Produktionsoberflächen

Phagencocktails können auch auf Geräten und Arbeitsflächen aus Plastik und Stahl angewendet werden. Das Aufbringen großer Mengen einzelner Phagenspezies auf Produktionsoberflächen wird ebenfalls als Risiko angesehen (**Abbildung 3**), da aufgrund einer längeren Koexistenz eine Resistenzentwicklung der Zielbakterien in Produktionsstätten für Lebensmittel befürchtet wird, die bei Übertragung auf Lebensmittelgut bei nachfolgenden Phagenanwendungen nicht mehr mit den im Handel befindlichen Phagencocktails abgetötet werden können (Sommer et al. 2019). Es wird deshalb diskutiert, ob die Phagen nach der Anwendung auf Oberflächen inaktiviert werden müssen. Dieses würde dem ursprünglichen Sinn der Phagenanwendung zur Biosanierung widersprechen, wenn danach Inaktivierungs-

schritte mit Chemikalien, Hitze etc. durchgeführt werden müssen. Die in den Cocktails verwendeten Phagen aus der Klasse *Caudoviricetes* besitzen meist keine Lipidhülle. Deswegen sind Dekontaminationsmittel, die membranaktiv sind, zur Abtötung der Phagen eventuell unwirksam (Sommer et al. 2019). Systematische Untersuchungen an Phagen, die gegen Lactobacillen wirken und schädlich für Fermentationskulturen sind, haben aber gezeigt, dass viele Phagen sich mit handelsüblichen Desinfektionsmitteln inaktivieren lassen (Hayes et al. 2017). Allerdings stellt sich bei einem nachfolgenden Einsatz von Desinfektionsmitteln wie Alkoholen, z. B. Ethanol und Isopropanol, Aldehyden, Säuren und Basen, Chlor und Chlor freisetzenden Agenzien und Peroxiden die Frage, welchen Mehrwert eine Phagenanwendung hätte. Man kann annehmen, dass eine gleichzeitige und vor allem stabile Resistenzentwicklung der Zielbakterien gegenüber allen Phagen eines Cocktails unwahrscheinlich ist und, falls notwendig, dieser durch Verwendung alternativer Phagen begegnet werden kann.

5.2.5 Freisetzung von Phagen in die Umwelt

Der Einsatz großer Mengen einzelner Phagenspezies wird kontrovers diskutiert (Sommer et al. 2019). Die aufgebrachten Phagenmengen bei Phagenanwendungen auf Lebensmitteln werden im Vergleich zu der Menge an natürlicherweise vorhandenen Phagen als gering beschrieben (Vikram et al. 2021). Die zugelassene Menge an Phagen liegt je nach Produkt bei maximal 10^9 PFU/g (meist bei 10^7 - 10^8 PFU/g). Hochgerechnet auf die Gesamtmenge an Fleisch, die in den USA pro Jahr produziert wird (ca. 45 Milliarden kg), entspräche dies $\sim 4,5 \times 10^{22}$ PFU, einem Anteil von 0,000005 % der geschätzten Mindestzahl an Phagen von 1×10^{30} PFU auf der Erde. Tatsächlich würde die Menge an Phagen, die in die Umwelt gelangen, niedriger sein, da die meisten Phagenprodukte in einer Konzentration von 10^8 PFU/g angewendet werden und längst nicht alle auf dem Fleisch aufgebrachten Phagen in die Umwelt gelangen. Auch kann davon ausgegangen werden, dass ein Großteil der Phagen nach der Anwendung inaktiv ist, z. B. durch Kochen oder Verdauung im Magen-Darmtrakt.

Ein Einsatz von Phagencocktails zur Biosanierung in der Produktionskette, besonders bei der Oberflächenanwendung in Tierstall und Produktionsstätten (**Abbildung 3**), könnte zu einer Freisetzung größerer Mengen einiger weniger Phagenspezies in die Umwelt führen (Meaden and Koskella 2013). Dies könnte zu einem Shift der üblicherweise vorkommenden Bakterienpopulation führen, der eine verminderte Wirkung von Antibiotika aufgrund anderer aufkommender Bakterienspezies und -stämmen zur Folge haben könnte. Auch könnte es

hierdurch zu einer verminderten Wirkung folgender Phagenanwendungen aufgrund anderer aufkommender Bakterienstämme oder einer Resistenzentwicklung der Zielbakterien gegen die Phagen kommen. Auch wird diskutiert, ob in die Umwelt freigesetzte Phagen einen Einfluss auf das natürliche Gleichgewicht von Phagen- und Bakterienspezies haben können. Diese Diskussionen sind sehr spekulativ, da es keine Daten dazu gibt und diese wegen der Komplexität des Bakterien-Phagen-Ökosystems, das nur wenig erforscht ist (Czajkowski et al. 2019), schwer zu generieren sind. Es wird aber davon ausgegangen, dass die Freisetzung großer Mengen weniger Phagenspezies, die gegen pathogene Bakterien wirken, kein signifikantes Risiko darstellt, da auch natürlicherweise einzelne Phagenspezies in großen Mengen auftreten können, wenn ihre Wirtsspezies in der Bakterienpopulation dominant vertreten ist. Ebenso nehmen die Mengen an Phagen natürlicherweise wieder ab, wenn ihre Zielbakterien nicht mehr vorhanden sind und sich andere Bakterienspezies durchsetzen, was typische „Raubtier-Beute“ Dynamiken widerspiegelt (Chevallereau et al. 2022). Die in den Cocktails eingesetzten Phagen sind natürlicherweise vorkommende Phagen, was hier gegen ein erhöhtes Risiko spricht, dass die natürlicherweise vorhandene Dynamik in Bakterienpopulationen sicherheitsrelevant verändert wird. Zusätzlich ist die Wirkung gegen pathogene Bakterienspezies als entscheidender Vorteil anzusehen. Die pathogenen Zielspezies haben außerdem nur einen kleinen Anteil an der Gesamtpopulation, was gegen eine grundlegende Änderung der Bakterienpopulationen bzw. des natürlichen Bakterien/Phagen-Gleichgewichts spricht.

5.2.6 Mobilisierung von genetischen Elementen und Pathogenicity Islands (PAIs)

Aufgrund ihres Einsatzes im Lebensmittelsektor sowie als Therapeutika wird auch über das mögliche Potenzial virulenter Phagen zur horizontalen Übertragung genetischer Elemente sowie zur Mobilisierung chromosomaler DNA diskutiert (Doub 2021). Die Auswahl virulenter Phagen zielt darauf ab, eine spezialisierte Transduktion auszuschließen, trotzdem steht der Beitrag virulenter Phagen zum horizontalen Gentransfer unter Beobachtung (Doub 2021; Waddell et al. 2009).

Das Vorliegen eines Phagengenoms als Plasmid ähnliches, nicht integriertes Element (Pseudolysogenie) ist typischerweise eine Eigenschaft bestimmter temperenter Phagen (Abedon 2009) und wird oft bei hungernden Bakterienzellen beobachtet. Es wird vermutet, dass die langfristige Aufrechterhaltung extrachromosomaler Phagengenome in der Wirtszelle während der Pseudolysogenie eine potenzielle Rolle beim horizontalen Gentransfer spielen

kann. Für *Pseudomonas aeruginosa* wurde eine plasmidähnliche Persistenz von vier virulenten Phagen beschrieben (Latino et al. 2016), deren funktionelle Bedeutung bislang jedoch unklar ist. Phagen sind während der Pseudolysogenie nicht lytisch aktiv (Venturini et al. 2022), was für hungernde Zellen auf Lebensmittelmatrizes relevant sein könnte.

Für *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium wurde ein virulenter Phage beschrieben, der in der Lage ist, bakterielles DNA-Material, gesteuert durch eine chromosomale pac-Sequenz zu transduzieren. Pac-Typ-abhängige Phagen zeigen bekanntermaßen variable Effizienzen und Eigenschaften bei der Mobilisierung chromosomaler DNA-Segmente (Wolput et al. 2024).

Satellitensysteme, bei denen mobile genetische Elemente (Satelliten) parasitisch mit Helferphagen, typischerweise temperenten Phagen, koexistieren, wurden ebenfalls im Zusammenhang mit virulenten Phagen beschrieben. Für *Vibrio cholerae* konnte unter Laborbedingungen gezeigt werden, dass nach Einsatz eines virulenten Phagen ein chromosomal lokalisiertes genetisches Element aktiviert wurde, welches zur sofortigen Phagenresistenz des infizierten Bakteriums führte, gleichzeitig wurde die Resistenzdeterminante aktiv als Plasmid verbreitet (McKitterick and Seed 2018). Von virulenten Phagen abhängige Satellitensysteme wurden auch für *Streptomyces* (deCarvalho et al. 2023) sowie für weitere *Vibrio*-Spezies (Barcia-Cruz et al. 2024) beschrieben.

Für gramnegative und grampositive bakterielle Pathogene wie *Escherichia coli* oder *Staphylococcus aureus* sind Pathogenicity Island-Helferphagen-Systeme gut beschrieben. Pathogenicity Islands (PAIs) sind genetische Elemente, die unter anderem für Virulenzfaktoren und Antibiotikaresistenzen codieren. In diesen Systemen werden PAIs mobilisiert und in Transduktionspartikel verpackt, die aus Proteinen eines temperenten Helferphagen zusammengesetzt sind (Christie and Dokland 2012; Gal-Mor and Finlay 2006). Nach unserem Kenntnisstand wurden bislang keine virulenten Phagen beschrieben, die als Helferphagen fungieren oder die Mobilisierung von Pathogenitätsinseln in *E. coli* oder *Salmonella* beeinflussen (Desvaux et al. 2020; She et al. 2025).

Es ist unwahrscheinlich, dass die unter experimentellen Bedingungen beobachtete Mobilisierung von genetischen Elementen durch virulente Phagen (McKitterick and Seed 2018) bei der Anwendung von Phagen auf Lebensmitteln oder in Produktionsanlagen von Bedeutung ist. Im Gegensatz zu natürlichen Bedingungen werden hier die meisten Zielbakterien durch die Verwendung von Phagencocktails lysiert, so dass eine Mobilisierung

genetischer Elemente unwahrscheinlich ist. Risiken im Zusammenhang mit virulenten Phagen, die theoretisch als Helfer-Phagen fungieren könnten, sind daher eher theoretisch und für die Praxis nicht nachvollziehbar. Generalisierte Transduktion, Pseudolysogenie und Helferphagen-Systeme können als treibende Kräfte des DNA-Transfers bei langfristiger Koexistenz innerhalb bakterieller Gemeinschaften in Umweltsettings wirken. Ob die Anwendung hoher Dosen virulenter Phagen in der Tierhaltung und deren Freisetzung in die Umwelt bakterielle Gemeinschaften in dieser Hinsicht signifikant beeinflussen und ob daraus Sicherheitsbedenken entstehen, ist derzeit unklar (**siehe auch 5.2.6**).

5.2.7 Nachweis bakterieller Kontaminationen nach Phagenbehandlung

Ein Problem wird darin gesehen, dass in kulturbasierten Verfahren der Nachweis der pathogenen Zielbakterien in Lebensmittelproben durch die Phagen, die zu ihrer Dezimierung auf das Lebensmittel aufgebracht wurden, verfälscht wird. Bei Kultivierung der Lebensmittelproben könnten die möglicherweise noch aktiven Phagen die nachzuweisenden Bakterien infizieren und lysieren. Dieses könne zu falsch negativen Ergebnissen für die entsprechenden Bakterien führen. Das Produkt würde somit fälschlicherweise als mit dieser Bakterienspezies unbelastet und damit unbedenklich eingestuft werden (zusammengefasst von Fister et al. 2019; Sommer et al. 2019). Wenn die Phagenanwendung in einem Zwischenschritt der Lebensmittelproduktion erfolgt, wird angemerkt, dass die Phagen in die weiteren Produktionsschritte verschleppt werden können, ohne dass nachfolgende Hersteller Kenntnis davon haben und nicht sensibilisiert sind für ein falsch-negatives Ergebnis beim Nachweis von Kontaminanten. Wissenschaftlich belegt wurden diese Szenarien bisher nicht; eine generelle Bewertung ist schwierig, da die Art der Bakterienspezies, die Einsatzmenge und die Eigenschaften der eingesetzten Phagen, die verbleibende Anzahl aktiver Phagenpartikel und die Eigenschaft des Lebensmittels sehr unterschiedlich sein können. Aufgrund der generell niedrigen Zellzahlen, z. B. 100 Listerienzellen pro cm^2 Lebensmittel, würden trotz einer höheren Anzahl an aufgetragenen Phagen (um 10^6) nur 100 Listerienzellen Phagen produzieren. Aufgrund der niedrigen Lagertemperaturen und der damit verbundenen niedrigen Teilungsraten der Bakterienzellen geht man maximal von einer Wurfgröße von 10 aus, was nicht zu einer exponentiellen Phagenvermehrung führt. Aufgrund der bei den kulturbasierten Nachweismethoden durchgeführten Verdünnung werden die möglicherweise vorhandenen, intakten Phagen verdünnt, und eine Infektion und Abtötung der nachzuweisenden Bakterienzellen während des Nachweisverfahrens wird damit als eher

unwahrscheinlich bewertet. Bei einer Phagenbehandlung mit einer Konzentration von 10^6 PFU/ml und einer Reduzierung um zwei Log-Einheiten, die in der Praxis mit Phagenanwendungen erreicht werden, kann eine Listerienmenge von 1 CFU/ml mit einem kulturbasierten Verfahren nachgewiesen werden. Im Zweifelsfall können kulturunabhängige Nachweismethoden eingesetzt werden, wie etwa quantitative Real-Time-PCR- oder ELISA-Verfahren, die häufig sensitiver sind als kulturbasierte Ansätze (Dwivedi and Jaykus 2011; Liu et al. 2019).

Es gibt Hinweise darauf, dass bei der Prüfung der Wirksamkeit von Phagenanwendungen in Modellsystemen mit inokulierten Lebensmitteln unter Verwendung kulturbasierter Nachweisverfahren verbleibende aktive Phagen zu scheinbar höheren Abtötungsraten führen (Chibeu and Balamurugan 2018; Dhowlaghar and Denes 2023). Allerdings sind Zellzahlen, Phagenkonzentrationen und Effizienznachweise nicht mit den Bedingungen und Methoden der routinemäßigen Lebensmittelüberwachung vergleichbar. Im Zusammenhang mit dem Pathogennachweis in Lebensmitteln ist anzumerken, dass Bestrebungen bestehen, Phagen oder Phagenproteine selbst für den Nachweis von Pathogenen auf Lebensmitteln zu etablieren (Foddai and Grant 2020). Ob vorausgegangene Phagenbehandlungen solche Nachweisverfahren beeinflussen können, ist ungeklärt.

5.3 Einfluss von oral aufgenommenen Phagen auf das Darmmikrobiom

5.3.1 Natürlich vorkommende Phagen in Lebensmitteln und im Organismus

Phagen gehören zum natürlichen Darmmikrobiom und werden täglich in großer Menge mit der Nahrung aufgenommen. Die orale Aufnahme intakter Phagen gilt für Lebensmittel, die frisch und nicht thermisch behandelt verzehrt werden. Die Menge an Phagen im Darm wird mit 10^{12} bis 10^{15} Phagenpartikeln pro Darm und mit bis zu 10^9 bis 10^{10} Partikel pro Gramm Faeces, Darminhalt und Darmmucosa angegeben (Shkoporov and Hill 2019). Es liegen keine genauen Zahlen für natürlicherweise vorhandene Phagen auf Lebensmitteln vor. Man kann aber davon ausgehen, dass bei Anwesenheit von Bakterien auf/in Lebensmitteln auch Phagen zu finden sind und dass eine Koevolution, teils symbiotischer Art, erfolgt. Dies gilt insbesondere für fermentierte Produkte, bei denen seit Langem bakterielle Fermentation als Teil einer traditionellen Strategie zur Haltbarmachung angewendet wird (Vogel et al. 2011). Aufgrund der Spezifität der Phagen wird aber nur die Menge an Phagen ermittelt, auf die mittels Lyse der Zielbakterien getestet wird. Für rohes Fleisch, Geflügelfleisch, Fisch und

Meeresfrüchte wurden Phagenmengen bis zu 10^3 PFU/g, die spezifisch Enterobakterien lysierten, nachgewiesen. Auf kühl gelagerten Lebensmitteln, wie rohem Rinderhack, Wurstwaren, Rohmilch und Austern, wurden bis zu 10^7 Phagen/g, die für *Pseudomonas*, *Leuconostoc* oder Enterobakterien lytisch waren, bestimmt. In anderen Untersuchungen wurden für fertige Wurstprodukte weniger als 10^3 PFU/100 g genannt (EFSA 2009). Mit der Aufnahme von direkt mit Phagen behandelten Lebensmitteln kämen pro g oder ml Lebensmittel etwa 10^7 Phagen dazu, bei einer Portion von 100 g bzw. ml wären das 10^9 Phagenpartikel, demgegenüber stehen 10^{12} bis 10^{15} Phagenpartikel im Darm.

Genauso vielfältig wie die Bakterienspezies sind auch die Phagen, die natürlicherweise im Darm vorhanden sind. Sie beeinflussen das mikrobielle Gleichgewicht im Darm, es kann aber nicht abschließend bewertet werden, welche Auswirkung das auf die Gesundheit des Menschen hat (Gogokhia et al. 2019; Sweere et al. 2019). Durch die Analyse von 28.060 weltweit gewonnenen, humanen Darm-Metagenomen wurden 142.809 nicht redundante Phagen Genome identifiziert und in einer Datenbank zusammengestellt (Camarillo-Guerrero et al. 2021), auch wenn die systematische Einteilung der identifizierten Phagen nicht geklärt ist (Adriaenssens 2021). Ebenso wurde ein Genomkatalog aller 189.680 DNA-Viren, die aus öffentlich zugänglichen Daten von 1.810 humanen Stuhlmetagenomen identifiziert wurden, erstellt; 75 % der Genome sollen doppelsträngige DNA-Phagen präsentieren, die Vertreter der Bakterienklassen *Bacteroidia* und *Clostridia* infizieren (Nayfach et al. 2021). Die auch als Darmphageom bezeichnete Gesamtheit aller Phagen soll über die Regulierung des Darmmikrobioms sowohl einen großen Einfluss auf den Erhalt der Darmgesundheit als auch durch eine Veränderung des Darmmikrobioms auf die Entwicklung von Krankheiten haben (Carding et al. 2017). Temperente Phagen sollen einen höheren Anteil am Phageom haben, obwohl solche Schätzungen hauptsächlich Prophagen widerspiegeln, die in bakteriellen Genomen identifiziert wurden, und nicht für frei zirkulierende Virionen (Pei et al. 2024). Freie temperente Phagen, die lytisch aktiv sind, sind vermutlich deutlich weniger häufig als virulente Phagen (Avellaneda-Franco et al. 2023; Shkoporov and Hill 2019). Wegen der Fähigkeit temperenter Phagen sowohl zur generalisierten als auch spezialisierten Transduktion und damit zum Gentransfer zwischen Bakterienzellen wird ihnen eine besondere Rolle im Darm zugesprochen. So soll der Wechsel einer großen Anzahl temperenter Phagen aus lysogenen Bakterien des Darmmikrobioms in den lytischen Zustand über die Lyse einer großen Menge

an Bakterien zu einer Veränderung des Darmmikrobioms führen, die mit Krankheiten assoziiert sein könnten (Bakhshinejad and Ghiasvand 2017).

In der Mukusschicht des Darms sollen natürlicherweise vorkommende Phagen angereichert sein, die durch lytische Aktivität die bakterielle Belastung der Darmmukosa verringern. Es wird auch eine Aufnahme bestimmter Phagen durch das Darmepithel postuliert (Nguyen et al. 2017). Durch Phagozytose und durch Zellzwischenräume der Darmepithelzellen soll ein sehr kleiner Teil der Phagen die Darmmukosa passieren und in Lymphe und Blut gelangen können. Es gibt Vorstellungen, dass Strukturen des Kapsids bestimmter Phagen mit eukaryotischen Zellen bzw. Geweben interagieren, ohne diese zu „infizieren“ oder zu lysieren. So sollen sie auch von eukaryotischen Zellen aufgenommen und abgebaut sowie ihre Gene transkribiert werden können. Phagen wurden als natürliche Immunmodulatoren beschrieben, die mit dem mukosalen Immunsystem interagieren und nach dem Eintritt in Lymphknoten, den Blutkreislauf und verschiedene Organe sowohl die angeborene als auch die adaptive Immunantwort beeinflussen. Durch diese Wechselwirkungen mit verschiedenen Immunzellen wird angenommen, dass sie zur Aufrechterhaltung der Immunhomöostase beitragen (zusammengefasst von Barr 2017; Dery et al. 2021; Jariah and Hakim 2019). In einem experimentellen Mausmodell konnte gezeigt werden, dass Phagen eine Colitis über den Toll-like-Rezeptor 9 verstärken, was weitere Hinweise darauf liefert, dass natürlich vorkommende Phagen das Immunsystem modulieren können, auch wenn in diesem Fall unerwünschte Signale ausgelöst wurden (Gogokhia et al. 2019). Es ist jedoch unwahrscheinlich, dass lebensmittelübertragene virulente Phagen zu solchen Effekten beitragen. Es gibt keine Hinweise darauf, dass Phagen selbst Virulenz gegenüber menschlichen oder anderen eukaryotischen Zellen besitzen oder als menschliche Pathogene wirken (Kutateladze and Adamia 2010).

5.3.2 Gezielt eingesetzte Phagen zur Lebensmittelbehandlung und Therapie

In therapeutischen Ansätzen werden Phagen gezielt eingesetzt, um unerwünschte Bakterienspezies zu dezimieren und somit Infektionen zu bekämpfen und um das Darmmikrobiom positiv zu beeinflussen und die natürliche Darmmikrobiota zu unterstützen (Abedon et al. 2021; Abedon et al. 2011; Brussow 2017; Dahlman et al. 2021; Galtier et al. 2016; Hong et al. 2016; Hu et al. 2018; Rasmussen et al. 2020). Bei der therapeutischen Anwendung geht man davon aus, dass Phagen bei Gabe direkt mit den Zielbakterien in Kontakt kommen, da die Diffusion von Phagen, die als Nanopartikel angesehen werden könnten, im

Körper und in Geweben als sehr gering angenommen wird (Cui et al. 2019). Es gibt viele Publikationen, die die Effizienz einer Phagengabe und die Verbreitung von Phagen nach oraler Aufnahme, Inhalation, Injektion oder Hautauftragung untersucht haben (zusammengefasst von Cui et al. 2019; Dabrowska 2019; Dabrowska and Abedon 2019; Luong et al. 2020). Die Injektion von Phagen in die Blutbahn könnte aufgrund einer systemischen Verteilung, auch in Organe, und möglicher Abwehrreaktionen, wie Phagozytose und Antikörperbildung, die sich nachteilig auf Phagentherapien auswirken (El-Shibiny and El-Sahhar 2017; Podlacha et al. 2021), die kritischste Anwendung darstellen. Sie ist im Lebensmittelbereich nicht gegeben. Auf oralem Weg ist eine systemische Aufnahme von Phagen sehr gering. Die Magenpassage soll, abhängig von der Phagenspezies, einen Großteil der Phagen durch Säure und/oder Verdauung inaktivieren. Bei der Phagentherapie im Gastrointestinaltrakt wird daher häufig der Magensaft neutralisiert oder die Phagen in Kapseln verabreicht (Rotman et al. 2020). Untersuchungen zeigten, dass von oral aufgenommenen Phagen weniger als 0,1 % systemisch aufgenommen werden (Dabrowska 2019). Die Dauer der Studien zur Verträglichkeit oral aufgenommener Phagen liegt meist bei einigen Tagen, die Einzeldosis beträgt 10^7 bis 10^9 Phagenpartikel, 10^6 Phagenpartikel gilt als niedrige Dosis (Febvre et al. 2019; Gindin et al. 2019; McCallin et al. 2013; McCallin et al. 2018; Sarker et al. 2017; Sarker et al. 2012; Sarker et al. 2016). In knapp 70 Einzelfallbeschreibungen von humanen, therapeutischen Anwendungen wurden die Phagen in 7 Fällen oral verabreicht, über wenige Tage bis hin zu 16 Wochen, ohne dass Nebenwirkungen beobachtet wurden (Suh et al. 2022). Eine weitere Studie entwickelte neue phagenbasierte Therapieansätze in der Behandlung chronisch entzündlicher Darmerkrankungen (Federici et al. 2022). In vier regional unterschiedlichen Studien mit Patienten wurde *Klebsiella pneumoniae* als erkrankungsassoziierte Spezies identifiziert, und stammspezifische Phagen für *Klebsiella pneumoniae* waren in der Lage die Erkrankungsintensität in Tiermodellen zu reduzieren. Eine erste Plazebo-kontrollierte Studie in 18 gesunden Probanden zeigte (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04737876>), dass die therapielevanten Phagen die gastro-intestinale Passage überleben und keinen dysbiotischen „off-target“ Einfluss auf die mikrobielle Zusammensetzung im Darm der gesunden Individuen haben. Die bisherigen Humanstudien zeigen, dass eine tägliche, orale Aufnahme über einen begrenzten Zeitraum keine nachteiligen, gesundheitlichen Auswirkungen hatte.

In zwei Studien an Ratten wurde mit käuflichen Phagencocktails aus Russland, die oral verabreicht wurden, eine beeinträchtigte Darmdurchlässigkeit und entzündungsfördernde Zytokine beobachtet und die Sicherheit oral aufgenommener Phagen in Frage gestellt (Tetz and Tetz 2016; Tetz et al. 2017). Ein Phagencocktail gegen 11 Serotypen von *Salmonella enterica* und ein Phagencocktail gegen *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Proteus mirabilis* und *P. vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* und *Escherichia coli* wurden gemeinsam, je in einer Konzentration von $1,5 \times 10^6$ Phagen/Tier, täglich, 10 Tage lang, fünf Ratten oral verabreicht. Nach 10 Tagen wurde eine erhöhte Permeabilität der Darmmukosa (gemessen am Verhältnis von Laktulose und Mannitol im 24 h-Urin nach Gabe dieser Zucker durch eine Magensonde am 10. Tag) und eine höhere Menge an zirkulierenden Immunkomplexen (in der ersten Studie durch unspezifische, spektrophotometrische Messungen, in der zweiten durch Messung von TNF- α , IL-6 und IL-1 β mit ELISA-Technik bestimmt) als vor der Phagengabe gemessen. Die beiden Studien haben starke Mängel, da nur 5 Tiere getestet wurden und die Kontrolle die Werte der behandelten Tiere vor der Phagengabe war. Die Messungen wurden nur einmal nach 10 Tagen durchgeführt. In einem der beiden durchgeführten Experimente wurde nach 10 Tagen auch eine Abnahme an *Bifidobacteriaceae*, *Clostridiaceae*, *Erysipelotrichaceae*, *Lachnospiraceae*, *Lactobacillaceae*, and *Prevotellaceae* und eine Zunahme an *Veillonellaceae* und *Ruminococcaceae* beschrieben (Tetz and Tetz 2016). Von den gleichen Autoren wurde ein Zusammenhang zwischen Phagen im Darm und Parkinson und anderen neurodegenerativen Krankheiten sowie Autoimmunkrankheiten postuliert (Tetz et al. 2018; Tetz et al. 2020; Tetz and Tetz 2018), eine These, für die wissenschaftliche Grundlagen fehlen.

Ob sich die zusätzliche, orale Aufnahme großer Mengen einiger, weniger Phagenspezies, die spezifisch zur Reduktion der Keimlast pathogener Bakterienspezies auf Lebensmitteln eingesetzt werden, über Jahre hinweg nachteilig auf das humane Darmmikrobiom oder die Gesundheit auswirkt, wurde bis jetzt nicht abschließend wissenschaftlich untersucht. Aufgrund der Ergebnisse der bisherigen Studien zur gezielten, oralen Phagenaufnahme (Duan et al. 2022; Liu et al. 2021) und der weltweiten Phagenanwendungen im Lebensmittelbereich, bei denen keine nachteiligen Auswirkungen beschrieben wurden, ist sie wenig wahrscheinlich. In ihrem systematischen Review schließen Liu et al. (2021), dass sich die Phagentherapie in den bisherigen Studien als sicher und gut verträglich gezeigt hat, aber ein umfassendes Verständnis der Interaktionen von Phagen mit dem menschlichen Körper fehlt. Duan et al.

(2022) fordern für therapeutische Behandlungen von Darmerkrankungen eine sorgfältige Sicherheitsanalyse der unter GMP-Bedingungen produzierten Phagen sowie grundlegende, präklinische und nach Qualitätsstandards konzipierte, klinische Studien (Duan et al. 2022). Ob oder inwieweit die Zusammensetzung des Darmmikrobioms und der breite Phagenpool, der natürlicherweise vorhanden ist, durch Phagen, die auf verzehrsfertigen Lebensmittelprodukten verbleiben und mitgegessen werden, so verändert wird, dass gesundheitliche Risiken entstehen, wurde bisher in Humanstudien nicht untersucht. Aufgrund der pathogenen Zielbakterien ist aber von positiven Effekten auszugehen. Salmonellen, Listerien und *Campylobacter* spp. sind Infektionserreger und nicht Teil der natürlichen Darmmikrobiota. Phagencocktails gegen sie sollten somit keine negativen, sondern eher positive Auswirkungen auf den Darm haben. *E. coli* sind prävalente Kommensale im menschlichen Darm, auf tierischen und pflanzlichen Lebensmitteln kommen jedoch Pathovaren dieser Spezies vor (z. B. enterohämorrhagische *E. coli*, EHEC; siehe auch 5.4), die gesundheitsgefährdend sind. Hier stellt sich die Frage, inwieweit Phagen gegen *E. coli* sich auf die Colibakterien im Darm auswirken (von Strempel et al. 2022). Bei der Auswahl der Phagen wären enge Wirtsspektren gegen STEC vorteilhaft. Es gibt spezifische Phagen, die nur die im Lebensmittelbereich vorherrschenden O157:H7 Serovare, Hauptvertreter der EHEC-Serovare, infizieren. Zudem gibt es Untersuchungen, die zeigen, dass die orale Gabe von Phagen gegen *E. coli* die Anzahl der natürlicherweise im Darm vorkommenden *E. coli* nicht beeinflusst (Bruttin and Brussow 2005; Sarker et al. 2017). Aspekte zum Darmphageom, der Bedarf an antimikrobiellen Wirkstoffen mit engem Wirkspektrum sowie die potenziellen Vorteile von Phagen werden an anderer Stelle diskutiert (Hassan et al. 2021; Mills et al. 2017; Pinto et al. 2020).

5.4 Freisetzung von Toxinen durch Bakterienlyse

Es wird derzeit diskutiert, ob bakterielle Toxine (Exotoxine oder Endotoxine) freigesetzt werden, wenn Bakterien während der Phagentherapie (Dufour et al. 2017; Lu and Koeris 2011) oder durch Phagenanwendungen auf Lebensmitteln lysiert werden, und ob es durch den Verzehr solcher Lebensmittel zu einer gesundheitlichen Beeinträchtigung kommen kann (Garvey 2022). Exotoxin-bildende Bakterien können über Lebensmittel in den Darm gelangen und dort zu Toxi-Infektionen führen (Noor 2019). Exotoxine können auch im Lebensmittel gebildet werden und bei Aufnahme der Lebensmittel Intoxikationen verursachen. Im Zusammenhang mit einer Anwendung lytischer Phagen in Lebensmitteln sind bisher weder Intoxikationen noch Toxi-Infektionen beschrieben worden. Auch eine Aufnahme Endotoxin-

haltiger Lebensmittel konnte bisher nicht mit einer Endotoxämie in Verbindung gebracht werden. Aufgrund des mangelnden Wissensstandes sollen nachfolgend beispielhaft für Endotoxine und das Shiga-Toxin, ein Exotoxin, aktuelle Erkenntnisse diskutiert werden.

5.4.1 Phagenbehandlung von Lebensmitteln hinsichtlich Endotoxinen

Endotoxine sind Bestandteile (Lipid A) von Lipopolysacchariden (LPS) der Zellwand Gram-negativer Bakterien, die hitzestabil und schwach toxisch sind. Sie kommen überall da vor, wo Gram-negative Bakterienzellen lysieren, werden aber auch bei der Zellteilung freigesetzt. Aufgrund des Darmmikrobioms, dem größten natürlichen Reservoir für Endotoxine im Körper (André et al. 2019), kommen sie natürlicherweise in hohen Mengen (ca. 1 g) im Darmlumen (Moreira et al. 2012) und in geringen Mengen im Blut (bis ca. 30 pg/ml Blutplasma) gesunder Individuen vor ¹ (Brown 2019; Erlanson-Albertsson and Stenkula 2021; Erridge et al. 2007; Ghanim et al. 2009; Munford 2016; Nádházi et al. 1998). Patienten mit Sepsis zeigen höhere Konzentrationen von bis zu 0,8 ng/ml im Blutplasma (Opal et al. 1999). Das Vorhandensein von Endotoxinen im Darmlumen hat unter normalen Bedingungen keine Auswirkungen auf die menschliche Gesundheit (Moreira et al. 2012). Kritisch werden Endotoxine erst, wenn sie in großen Mengen in den Blutkreislauf gelangen, was als Endotoxämie bezeichnet wird. Verursacht wird dies durch eine gestörte Darmbarriere, z. B. bei Darminfektionen, oder durch systemische oder sonstige bakterielle Infektionen. Außerdem können die Endotoxine pathogener, Gram-negativer Bakterien zu deren Pathogenese beitragen (Moran 2010).

Im Hinblick auf Lebensmittel wurde eine sogenannte metabolische, diätetische oder auch postprandiale Endotoxämie beschrieben (André et al. 2019; Erlanson-Albertsson and Stenkula 2021; Kelly et al. 2012; Moreira et al. 2012). Bestimmte Lebensmittel können die Zusammensetzung der Darmmikrobiota verändern und/oder zur Erhöhung der intestinalen Permeabilität beitragen, wodurch es zu einer Erhöhung des Endotoxingehaltes im Blut kommt. Hierbei spielen die Zusammensetzung der Mahlzeit und insbesondere eine fettreiche bzw. hoch energiereiche Mahlzeit eine bestimmte Rolle (André et al. 2019; Erlanson-Albertsson and Stenkula 2021; Kelly et al. 2012). Auch ernährungsbedingte Veränderungen im Darm-Mikrobiom durch Verschiebung der Balance von LPS-produzierenden und nicht-LPS-produzierenden Mikroorganismen werden als Ursache diskutiert (Kelly et al. 2012). In beiden

¹ 1 ng LPS entspricht 10 bis 15 EU [Endotoxin Unit: bestimmte Stärke der Wirkung im Limulus amoebocyte lysate assay (LAL-test)], im Vergleich: 1 ng LPS *E.coli* 055:B5 entspricht 10 EU, <https://acila.com/acilaeng/produkte/endotoxine/endotoxinfo.htm>

Fällen ist es das intestinale Endotoxin, was zur Erhöhung des Endotoxingehaltes im Blut beiträgt. Allerdings gibt es keine Daten dazu, inwieweit eine orale Aufnahme von Endotoxinbildenden Bakterien oder freigesetzten Endotoxinen über Lebensmittel auch einen Beitrag zur Endotoxämie leisten kann. Gram-negative Bakterien mit Potenzial zur Endotoxinfreisetzung kommen natürlicherweise in Lebensmitteln vor und die Toxine bleiben auch nach einer Prozessierung mit Potenzial zur Zelllyse, wie z. B. eine Hitzebehandlung, meist erhalten. Aufgrund des bereits hohen Gehaltes an freien Endotoxinen im Darmlumen scheint die Aufnahme dieser Bakterien bzw. deren Endotoxine keine Rolle zu spielen. Allerdings wird für Babynahrung diskutiert, ob nicht die enthaltenen Endotoxine bei zu hohen Gehalten wegen der noch nicht voll ausgebildeten Darmbarriere der Kleinkinder zu gesundheitlichen Beeinträchtigungen führen können (Wu et al. 2021). Außerdem verbleibt unklar, inwieweit die orale Aufnahme eines Endotoxins, das durch phageninduzierte Bakterienlyse im Lebensmittel freigesetzt wird, ein gesundheitliches Risiko darstellt. Die gleiche Frage könnte auch für andere Konservierungsmethoden gestellt werden, bei denen Endotoxine freigesetzt werden, z. B. Erhitzung oder Hochdruckbehandlung, bei denen ebenfalls Bakterien zerstört und Endotoxine freigesetzt werden (Machado et al. 2019). Aufgrund der zu erwartenden niedrigen Zellzahlen an pathogenen Bakterien im Lebensmittel, gegen die die Phagen gerichtet sind, dürfte eine mögliche Erhöhung des Endotoxingehaltes im Darmlumen eher nicht ins Gewicht fallen. Die Endotoxinfreisetzung durch Phagenbehandlung sollte nicht über das Maß der Freisetzung bei Anwendung anderer Konservierungsmethoden hinausgehen, sodass kein erhöhtes Risiko zu erwarten ist.

5.4.2 Phagenbehandlung von Lebensmitteln hinsichtlich Exotoxinen

Einer der weltweit größten Ausbrüche einer Infektion mit *E. coli* O104:H4 in Deutschland im Jahr 2011, welcher in 22 % der Fälle zum „*E. coli*–induced hemolytic uremic syndrome“ (eHUS), einer potenziell tödlich verlaufenden Schädigung der Nieren, geführt und mehr als 50 Todesopfer zur Folge hatte (Burger 2012; Frank et al. 2011; Page and Liles 2013), hat Überwachungsbehörden für Shiga-Toxin-bildende *E. coli* Stämme (STEC) bzw. enterohämorrhagische *E. coli* (EHEC) sensibilisiert. Shiga-Toxin produzierende *E. coli* Stämme sind Träger von Prophagen, in deren Genom die Toxine codiert sind (Rodríguez-Rubio et al. 2021). Die Bakterienzellen vermehren sich im Darm, binden an die Darmschleimhaut und setzen die Shiga-Toxine Stx 1 und Stx 2 und/oder deren Varianten frei (Muniesa et al. 2012). Die Expression der Shiga-Toxin-Gene findet während des Wechsels der Prophagen (Herold et al.

2004; Wagner et al. 2002) vom lysogenen in den lytischen Zustand statt. In der Spätphase als Prophage werden die Gene transkribiert und durch Lyse der Bakterien freigesetzt (Rodríguez-Rubio et al. 2021; Wagner et al. 2002). Teils wird beschrieben, dass die Toxine nach Freisetzung direkt in die Blutbahn gelangen, teils, dass sie erst in das Darmlumen ausgeschieden werden und bakterielle Enzymaktivitäten die Expression des Stx2-Rezeptors GB₃ (Globotriaosylceramid) in den Darmendothelzellen induzieren. Darauf folgt die Rezeptor-vermittelte Toxinaufnahme über Endozytose (Gyles 2007; Obrig et al. 2003; Schüller 2011). Diese Aufnahme (Makropinocytose) erfolgt unabhängig von dem für die EHEC-Infektion wichtigen Typ-3 Sekretionssystem (In et al. 2013). Es wurde jedoch gezeigt, dass die Aufnahme des Toxins in die Zelle auf der Sezernierung einer Serinprotease EspF beruht und die EHEC-Infektion somit sowohl die Toxin-Endozytose als auch die Transcytose stimuliert (In et al. 2013; Tran et al. 2018).

Die Phagenbehandlung wird als Möglichkeit gesehen, Lebensmittel auch in Hinsicht auf das Vorkommen von EHEC und andere Exotoxin-produzierende *E. coli* Stämme sicherer zu machen (Necel et al. 2021; Pinto et al. 2020). Andererseits wird befürchtet, dass die Bakterienzellen, wenn in großer Anzahl vorhanden, bei Lyse im oder auf dem Lebensmittel Exotoxine, die hitzelabil (LT) und hitzestabil (ST) sein können (EFSA 2020), freisetzen und diese oral aufgenommen werden können. Es wird beschrieben, dass Stx 1 und Stx 2 sowohl hitze- als auch säurelabil sind, aber es gibt widersprüchliche Aussagen dazu (Rasooly and Do 2010; Rasooly et al. 2014). So soll Stx2 hitzestabil sein und bei Pasteurisierung nicht inaktiviert werden (Rasooly and Do 2010). Bei Annahme, dass die Toxine nicht durch Hitze oder bei roh verzehrten Lebensmitteln nicht durch die Magenpassage inaktiviert werden, stellt sich die Frage, ob bei phagenbehandelten Lebensmitteln EHEC und STEC Exotoxine in einer für eine Intoxikation ausreichenden Menge in den Darm gelangen und gesundheitlich bedenkliche Folgen haben können. In einer Studie mit Labormäusen konnte gezeigt werden, dass eine einzige Dosis von 50 µg Stx 2 durch eine Magensonde appliziert, alle 5 Mäuse dieser Dosisgruppe tötete (Rasooly et al. 2010). Eine Intoxikation durch direkt auf Lebensmitteln freigesetzte Shiga-Toxine ist bisher für den Menschen nicht beschrieben worden. Wenn eine größere Menge Shiga-Toxine oral von Menschen aufgenommen wird, weil eine große Anzahl an Bakterienzellen auf dem Lebensmittel lysiert wurde (was eher unwahrscheinlich ist), stellt sich die Frage, ob die Konzentration ausreicht, um im Darmlumen an die Zellen der Darmschleimhaut zu gelangen und in die Blutlaufbahn aufgenommen zu werden. Es wird

beschrieben, dass freigesetzte Shiga-Toxine erst in die Blutbahn gelangen, wenn die Infektion der Darmschleimhaut durch die Bakterienzellen zu einer blutigen Diarrhoe geführt hat (Butler 2012). Hier wäre auch noch zu klären, inwieweit sich die Aufnahme von Shiga-Toxin aus Lebensmitteln in die Darmzellen mit der Endocytose und Transcytose im Rahmen einer EHEC-Infektion mit gleichzeitiger Sezernierung von Esp Serinproteasen vergleichen lässt.

Ebenfalls wird diskutiert, ob Shiga-Toxin codierende Phagen auf dem Lebensmittel bei Lyse der entsprechenden *E. coli*-Stämme durch Phagenbehandlung freigesetzt werden und nach oraler Aufnahme im Darm andere *E. coli* Stämme infizieren könnten. Die Shiga-Toxin codierenden Prophagen müssten während der durch eine Infektion mit virulenten Phagen verursachten Lyse induziert werden und *E. coli* Stämme lysogenisieren, um sie in STEC oder EHEC umzuwandeln. Diese müssten jedoch bereits Träger von Genen für weitere Virulenzfaktoren sein (Muniesa et al. 2012; Prager et al. 2011; Rodríguez-Rubio et al. 2021), was den Weg der Intoxikation mit Shiga-Toxinen weniger wahrscheinlich macht. Eine stabile Akquirierung der Shiga-Toxin codierenden, lambdoiden Phagen wird selten beobachtet (Tozzoli et al. 2014) und für den Bereich Lebensmittel liegen keine Daten vor. Die Historie des EHEC-Infektionsgeschehens weltweit zeigt aber, dass es evolutionär zu erfolgreichen und stabilen Neukombinationen von Virulenzfaktoren, inklusive Prophagen, gekommen ist. Beispiele hierfür sind die „Big Five“ der großen epidemiologisch bedeutsamen EHEC Serogruppen, die weltweit zu sporadischen Erkrankungsfällen und Ausbrüchen führen (Eichhorn et al. 2015). Auch wurde eine Übertragung von Shiga-Toxin-codierenden Phagen auf verschiedene *E. coli* Stämme von verschiedenen Arbeitsgruppen gezeigt (Acheson et al. 1998; Imamovic et al. 2009; Schmidt et al. 1999; Tóth et al. 2003). Es kann davon ausgegangen werden, dass solche Ereignisse eher im natürlichen Reservoir der STEC-Bakterien, d.h. im Darm der Tiere, als im Lebensmittel vorkommen.

Andererseits gibt es Hinweise, dass unter Laborbedingungen die Infektion des *E. coli* O157:H7 Stammes EDL933 mit lytischen T4-ähnlichen Phagen sowohl zu einer erniedrigten Freisetzung von Shiga-Toxin, als auch Shiga-Toxin codierender Phagen im Vergleich zu einer Kontrolle ohne Phageninfektion führte (Howard-Varona et al. 2018). Da das Ergebnis solcher Experimente aber von vielen Parametern abhängig ist, wie z. B. Bakterienstamm, Phagentyp, Infektionsmultiplizität, etc., kann daraus nicht sicher geschlussfolgert werden, dass bei der Anwendung von lytischen Bakteriophagen im Lebensmittel keine Gefahr einer erhöhten Toxinfreisetzung besteht.

Auch das Chromosom von *Salmonella enterica* enthält neben mobilen genetischen Elementen verschiedene Prophagen (Thomson et al. 2004; Wahl et al. 2019), die auch Träger von Virulenzfaktoren und damit Exotoxinen sein können. Hier wird ebenfalls diskutiert, ob der routinemäßige Phageneinsatz gegen Salmonellen in Lebensmitteln zur Freisetzung von Virulenzfaktoren und temperenten Phagen führen kann und in Folge zum horizontalen Gentransfer zwischen verschiedenen *Salmonella enterica* Serotypen (Bawn et al. 2020; Figueroa-Bossi et al. 2001; Worley et al. 2018).

Auch andere Bakterien, z. B. *Staphylococcus aureus* können Phagen-codierte Exotoxine aufweisen, die bei Phagenanwendung freigesetzt werden könnten (Argudín et al. 2010; Dietrich et al. 2021; Hennekinne et al. 2012; Miyamoto and Nagahama 2016; Peck 2006). Phagencocktails gegen diese Spezies sind allerdings bisher noch nicht etabliert.

Abschließend sollte bei der Betrachtung der Exotoxinfreisetzung aufgrund von Phagenanwendungen in Lebensmitteln berücksichtigt werden, dass auch übliche Konservierungsverfahren, die bereits zur Haltbarmachung und Erhöhung der Lebensmittelsicherheit eingesetzt werden, ähnliche Folgen bei Vorhandensein der genannten, toxinbildenden Bakterienspezies mit sich bringen würden. So kann z. B. durch milde Konservierungsverfahren der Lebenszyklus des für *Staphylococcus aureus* spezifischen temperenten Phagen, der das Exotoxin A Gen besitzt, angeregt werden, ein Vorgang, der mit der Bildung des Exotoxins einhergehen kann (Schelin et al. 2011). Auch im Zusammenhang mit den Exotoxinen gilt, dass Exotoxin-bildende Bakterien möglichst effizient auf dem Lebensmittel abgetötet werden sollten, da eine Toxi-Infektion oder Intoxikation durch sich im Darmtrakt bzw. Lebensmittel vermehrende Toxin-Ausscheider die weitaus größeren Risiken darstellen.

5.5 Allergenität

Bisher gibt es keine Hinweise, dass der Einsatz von Phagen an Lebensmitteln ein allergenes Risiko für den Verbraucher darstellt. Phagenproteine an sich scheinen nicht allergen zu sein. Die *in silico* Analyse der Primärstruktur (Aminosäuresequenz) von Phagenproteinen zeigte keinen Hinweis auf Ähnlichkeiten zu bekannten Allergenen (Ramirez et al. 2018).

Es wird festgestellt, dass Phagen ubiquitär sind und täglich große Mengen mit der Nahrung aufgenommen werden, ohne dass bis jetzt gesundheitlich bedenkliche Effekte beschrieben wurden (Hagens and Loessner 2010).

Viren, und damit Phagen, begünstigen eine adaptive immunologische Antwort unter Beteiligung von Th1 Lymphozyten, während Allergien insbesondere einem immunologischen Pathomechanismus unter Beteiligung von Th2 Lymphozyten unterliegen (Klimek et al. 2018). In ersten klinischen Studien wurde untersucht, ob mithilfe von virusähnlichen Partikeln ein Th2-zu-Th1-Wechsel zur Immuntherapie von Allergien genutzt werden kann (Kirtland et al. 2020; Klimek et al. 2018). Virusähnliche Partikel (VLP) entsprechen morphologisch einem nativen Virus, sind aber mangels genetischen Materials nicht selbst replizierend, so dass pathogene Infektionen oder Mutationen ausgeschlossen werden können. Sie bestehen lediglich aus den repetitiven Proteineinheiten viraler Kapside (Holzhauser et al. 2020). Die im Folgenden beschriebenen Ansätze basieren auf dem Phagen Q β -VLP, welcher zusätzlich mit nicht methyliertem CpG-Oligodesoxynucleotid als toll-like-receptor-9-Ligand gefüllt wurde. Demnach konnten wiederholte subkutane Injektionen von Q β -VLP gegenüber Placebo im kombinierten Symptom-Medikations-Score eine Verbesserung der Rhinokonjunktivitis-Symptomatik von Hausstaubmilbenallergikern bewirken (Klimek et al. 2011). In einer anderen Studie mit Patienten mit mildem bis moderatem allergischen Asthma bronchiale führte die wiederholte, subkutane Injektion von Q β -VLP zu signifikanten Verbesserungen in verschiedenen Parametern wie beispielsweise dem *Asthma-Symptom-and-Medication-Score* (Beeh et al. 2013). Wenn bislang auch nur wenige Daten hierzu vorliegen, deuten diese nicht in Richtung Allergenität von Phagen, im untersuchten Fall von Bakteriophagen-VLP, hin.

Aufgrund der begrenzten Datenlage kann nicht abschließend geklärt werden, wie kritisch die Ausbringung großer Mengen einzelner Phagenspezies, die natürlicherweise vorkommen, in die Umwelt ist. Bei einer Anwendung an Lebensmitteln, welche im Fokus dieser Publikation steht, wird die Freisetzung in die Umwelt als gering eingeschätzt. Bei einer Anwendung im Tierstall oder auf Oberflächen in Produktionsstätten werden pathogene Bakterienspezies dezimiert, was ein positiver Effekt ist. Es könnten sich aber, auf die Lokalität begrenzt, phagenresistente Vertreter der anvisierten Bakterienspezies durchsetzen. Eine Dokumentation der Phagenanwendungen könnte hilfreich sein, um in dieser Hinsicht möglicherweise aufkommende Problematiken nachvollziehen zu können und weitere Erkenntnisse für die Praxis zu gewinnen.

6 Rechtliche Aspekte von Phagenanwendungen

6.1 Mögliche Einstufungen von Bakteriophagen nach rechtlichen Grundlagen

Der Einsatz von Phagen in der Lebensmittelproduktion kann rechtlich grundsätzlich folgendermaßen eingestuft werden: als Verarbeitungshilfsstoff, als Lebensmittelzusatzstoff und als Mittel zur Entfernung von Oberflächenverunreinigungen bei Lebensmitteln tierischen Ursprungs.

6.1.1 Verarbeitungshilfsstoff

Verarbeitungshilfsstoffe sind Stoffe, die bei der Verarbeitung von Rohstoffen, Lebensmitteln oder deren Zutaten aus technologischen Gründen während der Be- oder Verarbeitung verwendet werden. Sie werden grundsätzlich nicht als Lebensmittel verzehrt, können aber, wie auch ihre Abbauprodukte, im Enderzeugnis als unvermeidliche Rückstände vorhanden sein, wenn diese gesundheitlich unbedenklich sind und sich technologisch nicht auf das Enderzeugnis auswirken. Die Einordnung als Verarbeitungshilfsstoff erfolgt gemäß Art. 3 Abs. 2b der VO (EG) 1333/2008 ². Sie sind nicht kennzeichnungspflichtig.

Wenn Phagen als Verarbeitungshilfsstoff während der Produktion des Lebensmittels eingesetzt würden, dürften nach der Definition im Endprodukt nur inaktive Phagen in nicht vermeidbaren, niedrigen Mengen vorhanden sein. Dass Phagen Viren sind, die in Bakterienzellen biologisch aktiv werden, macht die Einstufung als Verarbeitungshilfsstoff, wie in vielen Ländern außerhalb der EU bereits geschehen, schwierig. Phagen werden an Oberflächen absorbiert und durch Änderungen der Bedingungen auf dem Lebensmittel möglicherweise wieder biologisch aktiv, so dass sie sich vermehren könnten. Aufgrund einer möglichen Aktivierung der auf dem Lebensmittel verbliebenen Phagen kann eine technologische Wirkung auf das Enderzeugnis nicht ausgeschlossen werden. Die lebensmittelrechtliche Einstufung von Phagen (wie das Präparat Listex) als Verarbeitungshilfsstoff wird aktuell in den Kommissionssitzungen der EU (KOM-Arbeitsgruppe Lebensmittelzusatzstoffe (WGA)) durch die Mitgliedstaaten diskutiert. Im Ergebnis wurde

² Verordnung (EC) Nr. 1333/2008 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 16 Dezember 2008 zu Verarbeitungshilfsstoffen, Art. 3, Abs. 2(b)*: „*Verarbeitungshilfsstoff*“: ein Stoff, der i) nicht als Lebensmittel verzehrt wird, ii) bei der Verarbeitung von Rohstoffen, Lebensmitteln oder deren Zutaten aus technologischen Gründen während der Be- oder Verarbeitung verwendet wird und iii) unbeabsichtigte, technisch unvermeidbare Rückstände des Stoffes oder seiner Derivate im Enderzeugnis hinterlassen kann, sofern diese Rückstände gesundheitlich unbedenklich sind und sich technologisch nicht auf das Enderzeugnis auswirken;

*<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/TXT/?uri=celex%3A32008R1333>

festgehalten, dass Bakteriophagen mehrheitlich von der WGA nicht als Verarbeitungshilfsstoff angesehen bzw. akzeptiert werden.

6.1.2 Lebensmittelzusatzstoff

Lebensmittelzusatzstoffe sind Stoffe, die einem Lebensmittel aus technologischen Gründen bei der Herstellung, Verarbeitung, Zubereitung, Behandlung, Verpackung, Beförderung oder Lagerung zugesetzt werden und mit oder ohne Nährwert sein können. In der Regel werden sie selbst weder als Lebensmittel verzehrt noch als charakteristische Lebensmittelzutat verwendet. Lebensmittelzusatzstoffe müssen gemäß Art. 4 VO (EG) 1333/2008 (Zusatzstoff-Verordnung) ³ zugelassen sein und sind kennzeichnungspflichtig.

Bei Einsatz als Lebensmittelzusatzstoff (vgl. Art. 3 (2) a) der VO (EU) Nr. 1333/2008) wären Phagen Bestandteil des verzehrfertigen Lebensmittels, da eine Entfernung nicht vorgesehen ist. Hier würde eine Unterscheidung, ob die Phagen aktiv oder inaktiv sind, entfallen, da eine Inaktivierung ebenfalls nicht vorgesehen ist. Zusatzstoffe werden in verschiedene Funktionsklassen eingeteilt. Phagen würden auf Grund ihrer angestrebten Wirkung unter die Konservierungsmittel fallen. Diese werden als Stoffe definiert, die die Haltbarkeit von Lebensmitteln verlängern, indem sie diese vor den schädlichen Auswirkungen von Mikroorganismen schützen, und/oder das Wachstum pathogener Mikroorganismen inhibieren. Aufgrund der hohen Spezifität für bestimmte Bakterienspezies können Phagencocktails den üblichen Konservierungsstoffen nicht gleichgesetzt werden. Phagen erhöhen gezielt die Sicherheit spezieller Lebensmittel durch Minimierung der auf ihnen typischerweise vorkommenden Bakterien (z. B. Listerien in Milchprodukten). Da aktuell in der KOM-WGA über die Einstufung von mikrobiologischen Kulturen zur Haltbarmachung als Zusatzstoff diskutiert wird, wäre auch die Einstufung von Phagen zur Haltbarmachung als Lebensmittelzusatzstoff vorstellbar. Das Ergebnis der Diskussion zur Einstufung der Mikroorganismen ist bisher noch offen. Eine wichtige Forderung wäre, dass jeder Phage/Phagencocktail individuell zugelassen wird, bei der Spezifität, Wirksamkeit und Wirkdauer belegt und aufgrund der Spezifität mögliche Anwendungen benannt werden.

³ Verordnung (EC) Nr. 1333/2008 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 16 Dezember 2008 zu Lebensmittelzusatzstoffen, Art. 3, Abs. 2(a)*: „Lebensmittelzusatzstoff“: ein Stoff mit oder ohne Nährwert, der in der Regel weder selbst als Lebensmittel verzehrt noch als charakteristische Lebensmittelzutat verwendet wird und einem Lebensmittel aus technologischen Gründen bei der Herstellung, Verarbeitung, Zubereitung, Behandlung, Verpackung, Beförderung oder Lagerung zugesetzt wird, wodurch er selbst oder seine Nebenprodukte mittelbar oder unmittelbar zu einem Bestandteil des Lebensmittels werden oder werden können;

6.1.3 Antimikrobielles Mittel auf Oberflächen von Lebensmitteln tierischen Ursprungs

Beim Einsatz als Mittel zur Entfernung von mikrobiellen Oberflächenverunreinigungen bei Lebensmitteln tierischen Ursprungs gelten besondere Regelungen gemäß VO (EG) Nr. 853/2004. Auf Schlachtkörpern sind zurzeit nur Trinkwasser und, bei Rinderschlachtkörpern, auch Milchsäuren erlaubt.

Bisher hat die Europäische Kommission Phagen nicht als Mittel zur Reduzierung von Bakterien auf Lebensmitteloberflächen tierischen Ursprungs zugelassen und das Inverkehrbringen in der EU als Verarbeitungshilfsstoff zum Zweck der Entfernung von Oberflächenverunreinigungen untersagt. Als ein Grund wurde angeführt, dass Phagen nicht zusätzlich, sondern anstelle von Hygienemaßnahmen angewendet werden könnten, eine ausreichende Wirkung von Phagen auf Lebensmitteln aber nicht belegt ist. Zudem wurde argumentiert, dass zu viele Mitgliedsstaaten der EU eine ablehnende Haltung zum Einsatz von Phagen zur Behandlung von Lebensmitteln einnehmen ⁴. Der Europäische Gerichtshof hat Klagen eines Herstellers gegen die Entscheidung der Kommission wiederholt abgewiesen, zuletzt am 18.12.2020, aber 2019 mangels eines europäischen Rechtsrahmens einen Gerichtsbeschluss veröffentlicht, der es den einzelnen Ländern überlässt, Lebensmittelherstellern nach nationalem Recht zu erlauben, Bakteriophagen gegen Listerien bei der Herstellung von Lebensmitteln einzusetzen ⁵. Ende 2025 veröffentlichte die EFSA den Entwurf „EFSA Draft ... on the safety and efficacy of substances for the removal of microbial surface contamination of foods of animal origin intended for human consumption“ ⁶ zur öffentlichen Konsultation. Darin wird angedeutet, dass Phagen in den kommenden Jahren möglicherweise als Dekontaminationsmittel für Lebensmitteloberflächen tierischen Ursprungs in der EU zugelassen werden könnten.

⁴ Curia.europa.eu, paragraph 55: From the discussions with Member States, it became clear that there was too much opposition against Listex™ P100 to allow the application for its approval any possibility of obtaining political support. In that regard, by letter dated 19th February 2018, the Commission (Note: EU-Commission, represented by B. Eggers, W. Farrell and I. Galindo Martín, acting as Agents) informed Microcos Food Safety of its decision that it did not intend to pursue the evaluation of the application file.

⁵<https://curia.europa.eu/juris/document/document.jsf?mode=DOC&pageIndex=0&docid=236221&part=1&doclang=EN&text=&dir=&occ=first&cid=6675830> (Paragraph 131 and Paragraph 55)

⁶ Die öffentliche Konsultationsphase der EFSA ist beendet; das Dokument ist nun ausschließlich hier zugänglich: <https://cot.food.gov.uk/EFSA%20Draft%20Guidance%20for%20Public%20Consultation%3A%20submission%20of%20data%20for%20the%20evaluation%20of%20the%20safety%20and%20efficacy%20of%20substances%20for%20the%20removal%20of%20microbial%20surface%20contamination%20-%20Introduction%20and%20Background>

6.2 Zulassung von Bakteriophagen als „Novel Food“

Es gibt Überlegungen, Bakteriophagen, die zur Anwendung auf Lebensmitteln bestimmt sind, als neuartige Lebensmittel (Novel Food) im Sinne der Verordnung (EU) 2015/2283 einzustufen. Nach Artikel 3 dieser Verordnung gelten Lebensmittel als neuartig, wenn sie vor dem 15. Mai 1997 in nicht nennenswertem Umfang in der Europäischen Union für den menschlichen Verzehr verwendet wurden. Für solche Lebensmittel ist vor dem Inverkehrbringen eine Sicherheitsbewertung durch die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) sowie eine Zulassung durch die Europäische Kommission erforderlich. Da Bakteriophagen Lebensmitteln gezielt zugesetzt werden, um eine technologische oder antimikrobielle Wirkung zu erzielen, sind sie nicht als eigenständige Lebensmittel im klassischen Sinne anzusehen. Würde ihre Anwendung als Novel Food eingestuft, könnte dies dazu führen, dass ein mit Phagen behandeltes konventionelles Lebensmittel als neuartiges Lebensmittel gilt und somit einer Zulassungspflicht unterliegt. Ein solcher regulatorischer Ansatz könnte unter spezifischen Bedingungen für einzelne Produkte geprüft werden, passt jedoch nicht zu einer breiten oder routinemäßigen Anwendung von Phagen im Lebensmittelbereich.

6.3 Gleichsetzung von Bakteriophagen mit mikrobiellen Starterkulturen

Eine Anwendung von spezifischen Phagenkulturen als gesundheitlich unbedenkliche Mikroorganismen⁷, wie es für Bakterienspezies von Starterkulturen in der Lebensmittelherstellung ohne Zulassung als Ausnahmehereich zum Zusatzstoffverbot traditionell üblich ist (Vogel et al. 2011), steht nicht zur Diskussion. Als Argument für den Einsatz von Phagen im Sinne unbedenklicher Mikroorganismen werden die natürlicherweise in Starterkulturen vorhandenen Phagen genannt, unabhängig davon, dass natürlich vorhandene Phagenspezies gegen Bakterienspezies der Starterkulturen gerichtet sein können und eine Fermentation stören würden. Da sowohl der Zweck einer Phagenanwendung sich vom Zweck der Starterkulturen unterscheidet als auch der gezielte Einsatz von Phagenkulturen nicht traditionell begründet werden kann, ist der Vergleich mit der Anwendung von Starterkulturen/mikrobiellen Kulturen nicht gerechtfertigt.

⁷ <https://www.micreos.com/upload/content/file/Das%20Grosse%20Fressen%20ZLR%201-2007.pdf>

6.4 Zulassung von Bakteriophagen als Biozid

Stoffe und Stoffgemische, die zur Entfernung von mikrobiellen Oberflächenverunreinigungen von Arbeits- und Produktionsoberflächen bzw. von Gefäßen und Zuleitungen verwendet werden, fallen unter die Verordnung (EU) Nr. 528/2012 zur Verwendung von Biozidprodukten einschließlich ihrer Bereitstellung auf dem Markt⁸. In dieser Verordnung wird auch die Anwendung von Bioziden im Lebensmittelbereich geregelt. Der Anwendung von Phagen in diesem Bereich, besonders gegen Biofilme auf Lebensmittelkontaktflächen (und auch auf Oberflächen im medizinischen Bereich), wird ebenfalls ein hohes Potential zugeschrieben (Bhandare and Goodridge 2021; Gutiérrez et al. 2016; Vikram et al. 2021). Die Zulassung von Phagen als Biozid für Arbeits- und Produktionsoberflächen ist nicht Gegenstand dieses Kapitels.

6.5 Stellungnahmen der EFSA zur Einstufung von Bakteriophagen

Die EFSA kam 2009 in einer Stellungnahme im Auftrag der Europäischen Kommission zur Anwendung und Wirkungsweise von Bakteriophagen auf Lebensmitteln tierischen Ursprungs (Schlachtkörper, Fleisch oder Milchprodukte) zu dem Schluss, dass nicht genügend Daten vorhanden waren, um die Effizienz und die Dauer der Wirkung, auch gegen Sekundärkontaminationen in Fertiglebensmitteln, zu beurteilen, hat aber Phagen bei ausgesuchten Anwendungen in Abhängigkeit von Phage, Bakterienspezies und Lebensmittel ein hohes Potential zugesprochen (EFSA 2009). Sowohl 2012 (Phagenprodukt gegen *Listeria monocytogenes* auf Oberflächen von rohem Fisch) als auch 2016 (Gleiches Phagenprodukt gegen *Listeria monocytogenes* auf „ready to eat“ Lebensmitteln mit Fleisch, Fisch oder Milchprodukten) hat die EFSA angemerkt, dass keine ausreichenden Daten vorhanden waren, die eine weitreichende Beseitigung von Listerien durch das zur Evaluierung vorliegende Phagenprodukt auf den angegebenen Lebensmitteln belegen (EFSA 2012; EFSA 2016). Es wurde ein Risiko darin gesehen, dass gegen das Phagenprodukt resistente Listerien, die zu einem gewissen Prozentsatz natürlicherweise vorhanden sind, überleben. Zudem wurden Untersuchungen zur Wirksamkeit des Phagenprodukts an natürlicherweise mit Listerien kontaminierten „ready to eat“ Lebensmitteln gefordert. Es sollte auch der molekulare Mechanismus untersucht werden, der dem beobachteten Phänomen zugrunde liegt, dass Zellen, die eine Resistenz gegen bestimmte Antibiotika aufwiesen, durch den Erwerb einer

⁸ <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2012/528/oj>

Resistenz gegen das Phagenprodukt gegenüber diesen Antibiotika sensitiv wurden. Im Mai 2021 befand die EFSA einen Phagencocktail aus vier Phagen, der gegen *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Gallinarum B/00111 wirkt, als unbedenklich für Vögel und Geflügel, wenn er als Futterzusatzstoff eingesetzt wird. Auch das Geflügel, das mit dem Phagencocktail behandelten Futter ernährt wurde, wurde als unbedenklich für den Konsumenten eingestuft (EFSA 2021; 2023). Für den Fall, dass der Cocktail zugelassen wird, empfiehlt die European Food Safety Authority (EFSA) außerdem einen Post-Market-Monitoring-Plan, um der möglichen Selektion und Ausbreitung von gegen Bafasal® resistenten Varianten von *Salmonella* zu begegnen (EFSA 2023).

6.6 Nutzung von Phagen außerhalb der EU

Die FDA hat GRAS-Notifizierungen für viele von Unternehmen entwickelte Phagencocktails ausgestellt (**Tabelle 2**) und somit als sicher für den menschlichen Verzehr anerkannt, dabei aber nur die Sicherheit der Phagen an sich und nicht die Wirksamkeit betrachtet. Als GRAS eingestuft dürfen die Phagen gemäß festgelegten Bedingungen im fertigen Lebensmittel verbleiben und müssen nicht wie Verarbeitungshilfsstoffe entfernt werden. Zur regulatorischen Klarstellung der Anwendung in der Fleisch- und Geflügelproduktion wurden einige dieser Produkte auch vom Food Safety and Inspection Service (FSIS) des United States Department of Agriculture (USDA) als Verarbeitungshilfsstoffe für spezifische Anwendungen bewertet und gelistet (z. B. ListShield™, PhageGuard E™, SalmoFresh™); eine Entfernung der Phagen aus dem Endprodukt ist hier aufgrund des GRAS Status nicht gefordert. In Kanada sind viele von den Cocktails mit GRAS-Status als Verarbeitungshilfsstoff zugelassen, in Australien, Israel und Schweiz vereinzelte.

Nahezu alle weltweit zugelassenen Phagencocktails verfügen über einen GRAS-Status der US-amerikanischen FDA (**Tabelle 2**), wodurch diese Behörde bei der Phagenzulassung eine führende Rolle einnimmt. Während die FDA die meisten Phagenprodukte als GRAS notifiziert hat, ohne eine Verpflichtung zu deren Entfernung vorzusehen, stufen Behörden anderer Länder dieselben Produkte als Verarbeitungshilfsstoffe ein, wobei die Pflicht zur Entfernung von den jeweiligen nationalen Regelungen abhängt. Die Zulassung von Phagenprodukten als Verarbeitungshilfsstoffe durch das USDA dient in erster Linie als zusätzliches regulatorisches Instrument, um ihre sachgerechte Anwendung auf Schlachtkörpern, rohem Fleisch, Geflügel und anderen Erzeugnissen tierischen Ursprungs sicherzustellen. Die Inkonsistenzen bei der

Zulassung als Verarbeitungshilfsstoff verdeutlichen die regulatorischen Herausforderungen und Unsicherheiten, die die Zulassung von Phagenprodukten in der Europäischen Union erschweren (siehe auch Roth et al. 2026).

7 Nachhaltigkeit der Phagenanwendung

Abschließend stellt sich die Frage, ob der Einsatz von Phagen neben der mikrobiologischen Sicherheit auch die Nachhaltigkeit der Lebensmittelherstellung erhöht. Auf der einen Seite sind Energieverbrauch, Ressourceneinsatz, z. B. für die Anzucht, und Aufwand der Herstellung der Präparate, z. B. Sicherheitskontrolle, Lagerung und Verpackung, zu nennen (Torres-Acosta et al. 2019). Dem gegenüber steht die mögliche Einsparung von Ressourcen durch Verringerung des Lebensmittelabfalls, die durch den Einsatz von Phagen erreicht werden kann. An oberster Stelle werden Milch und Milchprodukte genannt, die weltweit 40 bis 65 % des Lebensmittelabfalls verursachen. Auch der Einsatz an Schlachtkörpern und rohem Fleisch hat das Potential, die Ressourcen-intensive Herstellung von tierischen Lebensmitteln durch Verhinderung von Verderb und Kontamination nachhaltiger zu gestalten (Gutierrez et al. 2019). Die mögliche Bekämpfung von Biofilmen in der Produktion, z. B. in Tanks und Behältern, wird im Vergleich zu Desinfektions- und Spülschritten ebenfalls als nachhaltig beschrieben (Gutiérrez et al. 2016). Der Vergleich der Kosten verschiedener Lebensmittelprozessierungen weist ebenfalls darauf hin, dass die Phagenbehandlungen Energie- und Ressourcen-sparender sind. So liegen beispielsweise die Kosten für schonende Behandlungen zur Dekontamination von Lebensmitteln (z. B. Bestrahlung und HPP) zwischen 22 und 66 Cent/kg Lebensmittel. Im Gegensatz dazu wurden für die Dekontamination mithilfe von Phagen Kosten zwischen 2,2 und 8,8 Cent/kg Lebensmittel, ähnlich den Kostenspannen für stärkere chemische Desinfektionsmittel, errechnet (Vikram et al. 2021). Bei der Phagentherapie im Nutztierbereich, die nicht Gegenstand dieser Stellungnahme ist, wird die Vermeidung von Antibiotikabehandlungen als vorteilhaft und nachhaltig genannt (Gutierrez et al. 2019), ebenso die Verringerung von Ernteaussfällen bei einer Behandlung von Nutzpflanzen (Alvarez and Biosca 2017; Buttner et al. 2017). Eine Verringerung der Kosten für medizinische Behandlungen von lebensmittelbedingten Krankheiten kann ebenfalls eine vorteilhafte Folge des Einsatzes von Phagen sein. Beispielsweise wird erwartet, dass eine Verringerung der *Campylobacter*-Kontamination auf Broiler-Schlachtkörpern um 2 Log-Stufen die Häufigkeit von *Campylobacter*-Infektionen deutlich reduziert (Rosenquist et al. 2013).

8 Bewertungskriterien und Schlussfolgerungen

Die verschiedenen Bewertungskriterien, die bei einer Nutzung von Phagen im Lebensmittelbereich als sicherheitsrelevant aufgeführt werden, können unterschiedlich gewichtet werden (**Tabelle 2**).

8.1 Übertragung von DNA

Die Übertragung von DNA und damit möglicherweise von Antibiotikaresistenzgenen oder anderen kritischen Genen wird durch die Auswahl von virulenten Phagen minimiert. Es ist davon auszugehen, dass die meisten Zielbakterien durch die Phagen lysiert werden, so dass nur wenige Empfängerzellen für ggf. von den Phagen aufgenommene Fremdgene vorhanden sind. Durch Kontrollen des Herstellers und durch die Zulassungsbehörden muss gewährleistet sein, dass nur virulente Phagen zum Einsatz kommen. Der sicherste Ausschluss lysogenisierender und anderer bekannter, sicherheitsrelevanter Eigenschaften ist die Sequenzierung der isolierten Phagen.

8.2 Enges Wirtsspektrum

Es gibt Bedenken, dass Phagencocktails ein zu enges Wirtsspektrum haben und nicht alle auftretenden, pathogenen Varianten einer Spezies an den jeweiligen Stellen in der Produktionskette oder im Lebensmittel abtöten. Zur Überprüfung sollten Phagencocktails an einem möglichst breiten Spektrum an Stämmen/Serotypen/Serovaren der zu dezimierenden Bakterienspezies, die dort vorkommen, wo die Phagencocktails eingesetzt werden sollen, getestet werden. Zur Erweiterung des Wirtsspektrums könnten, unter Berücksichtigung einer möglichen Verdünnung der einzelnen Phagenspezies, mehrere kommerziell verfügbare Phagencocktails kombiniert oder hintereinander angewendet werden. Es wäre zu fordern, dass der Anwender genaue Kenntnisse über die sicherheitsrelevanten Bakterienspezies in seinem Anwendungsbereich hat, sodass er die passenden Phagencocktails einsetzen kann. Dazu gehören auch regelmäßige Kontrollen, ob sich andere Stämme/Serotypen der Zielspezies in bestimmten Anwendungsbereichen durchgesetzt haben, um dementsprechend angepasste Phagencocktails einzusetzen. Grundsätzlich ist aber festzustellen, dass sich eine 100 %ige Abtötung pathogener Bakterien mit keiner bis jetzt zugelassenen Methode entlang der Lebensmittelkette erzielen lässt. Auch mit Phagen können realistisch nur deutliche Reduktionen, nicht aber eine Eradikation der Zielbakterien erreicht werden.

8.3 Resistenzentwicklung der Zielbakterien

Die Resistenzentwicklung von Bakterien gegenüber Phagen ist ein natürlicher Prozess und kann auch bei einer Anwendung von Phagen bei einer längeren Koexistenz mit stoffwechselaktiven Zielbakterien unter bestimmten Umständen (insbesondere bei flüssigen Lebensmitteln, Flüssigkeit auf der Oberfläche von festen Lebensmitteln und geeigneten Temperaturen) vorkommen. Es sollte für die verschiedenen Phagenprodukte geklärt sein, wie lange die Phagen bei welchen Anwendungen/Lagerbedingungen aktiv sind. Besonders bei einer Behandlung von Lebensmittelgut in der Produktionskette könnte die Dokumentation des Phageneinsatzes sinnvoll sein, da resistent gewordene Bakterien in der Produktionskette verschleppt werden könnten, was einen Einfluss auf darauffolgende Phagenanwendungen hätte. Für Oberflächenbehandlungen in Tierställen und Produktionsstätten sollten Standards der Anwendung entwickelt werden, um das Auftreten phagenresistenter Bakterien zu dokumentieren und dementsprechend wirksame Phagencocktails wählen bzw. neu entwickeln zu können.

8.4 Nachweis von Kontaminationen an Phagen behandelten Lebensmitteln

Falsch negative Befunde bei Lebensmittelkontrollen mittels kulturbasierter Nachweismethoden nach einer Phagenanwendung werden zwar als unwahrscheinlich bewertet, können aber aufgrund unterschiedlicher Zielspezies und Lebensmittelcharakteristika nicht vollständig ausgeschlossen werden. Angesichts der Komplexität, insbesondere hinsichtlich Einsatzmenge und Eigenschaften der Phagen, der verbleibenden Anzahl aktiver Phagenpartikel, der Eigenschaften des Lebensmittels, der Bakterienspezies und der Nachweismethode erscheint anwendungsbezogene Forschungsarbeit sinnvoll, um geeignete Anwendungsstandards zu entwickeln und das Risiko falsch negativer Befunde auszuschließen.

8.5 Auswirkungen einer oralen Phagenaufnahme über Lebensmittel

Nach bisherigem Kenntnisstand stellen Phagen kein allergenes Risiko dar. Auch die bei der Lyse der Zielbakterien während der Produktion von Phagen möglicherweise freigesetzten Endo- und Exotoxine, die durch Wahl der Anzuchtbakterien und durch Aufreinigung der Phagen ausgeschlossen werden können, wurden nicht als Risiko von Phagenanwendungen identifiziert, die Freisetzung auf Lebensmitteln und im Darm durch dem Lebensmittel zugegebene Phagen steht zur Diskussion. Der Einfluss der eingesetzten Phagen auf das

Darmmikrobiom ist bisher wenig untersucht. Mit dem wachsenden Interesse an dem menschlichen Darmmikrobiom ist auch die Aufmerksamkeit für Phagen und das „Phageom“ des Darms gestiegen. Die wissenschaftlichen Daten zum Einfluss des Darmmikrobioms auf Krankheiten und Krankheitsverläufe sind lückenhaft und einige Thesen nicht bewiesen. Hier wäre zu überprüfen, ob virulente Phagen, die in der Lebensmittelindustrie eingesetzt werden bzw. Kandidaten für einen solchen Einsatz sind, das Darmmikrobiom und den Darm aufgrund der Dezimierung von pathogenen Spezies positiv beeinflussen, oder negative Effekte haben können. Die natürlicherweise bedingte, tägliche Aufnahme von Phagen, die Verwendung von Phagen in Nicht-EU-Ländern und die bisherigen Studien zur gezielten, oralen Phagengabe für therapeutische Zwecke deuten jedoch darauf hin, dass nicht mit einer Gefährdung der Gesundheit zu rechnen ist.

8.6 Freisetzung in die Umwelt

Bei einer Anwendung am Lebensmittel ist bei der Menge der eingesetzten Phagen und unter Berücksichtigung der Begrenzung auf das Lebensmittel, welches in der Herstellung weiter prozessiert oder als Endprodukt verzehrt wird, die Freisetzung von Phagen in die Umwelt vernachlässigbar. Anders ist es bei einem großflächigen Einsatz auf Oberflächen in Produktionsstätten und Tierställen. Hier könnte ein Risiko in der Freisetzung großer Mengen weniger Phagenspezies in einem lokal begrenzten Raum hinsichtlich einer möglichen Resistenzentwicklung der Zielspezies bzw. Auswirkungen auf Bakterienpopulationen gesehen werden. Eine Dokumentationspflicht von Phagenanwendungen wie auch Standardanweisungen zur Anwendung der Phagen wären sinnvoll. Bei allen geforderten Vorsichtsmaßnahmen bei Phagenanwendungen sollte auch im Auge behalten werden, dass Phagen direkt die pathogenen Bakterien dezimieren und dass hingegen Antibiotika, die in großen Mengen verwendet werden, einen viel größeren Einfluss auf Bakterienpopulationen haben und Antibiotikaresistenzen aufgrund natürlich vorhandener Gentransfer-Mechanismen ungehindert verbreitet werden können.

9 Zusammenfassung und Forschungsbedarf

Viele der potenziellen Risiken, die im Zusammenhang einer Nutzung von Phagen in der Lebensmittelherstellung genannt werden, können durch ein Qualitätsmanagementsystem mit Standardanweisungen zur Phagenisolierung und -anwendung verringert oder vermieden werden, wie z. B. das Risiko eines DNA-Transfers oder einer verminderten Wirksamkeit der

eingesetzten Phagen. Beständige Kontrollen der Wirtsspezifität und der Wirksamkeit der Phagencocktails sowie Angaben für den Anwender zur Überprüfung der Wirksamkeit sollten Bestandteil des Managements sein. Grundsätzlich ist die Einzelzulassung jedes Phagencocktails notwendig. Es wäre ein QPS-System, wie für die Sicherheitsbewertung von Mikroorganismen, die in der Lebensmittelherstellung eingesetzt werden, zu empfehlen. Der erfolgreiche Einsatz von Phagen in der Lebensmittelindustrie außerhalb der EU legt die Vermutung nahe, dass die mit der Nutzung von Phagen im Lebensmittelbereich verbundenen Risiken beherrschbar sind. Trotz dieser Einschätzung besteht Klärungsbedarf zu einigen offenen Punkten.

Bestehender Forschungsbedarf:

1. Um die Sequenzierung des vollständigen Phagengenoms als Mittel zur Sicherheitsbewertung weiter zu etablieren, sollte angestrebt werden, die Funktion unbekannter Gene der Phagen, die verwendet werden/verwendet werden sollen, zu ermitteln.
2. Es sollte untersucht werden, ob und inwieweit eine Resistenzentwicklung der relevanten Bakterienspezies gegenüber Phagen bei den für den Lebensmittelbereich typischen Einsatzbedingungen, besonders bei der Behandlung von Arbeitsoberflächen, stattfindet, ob dieses kein Risiko darstellt (z. B., weil mit einer bestimmten, wenn auch niedrigen Rate eine Reversion zum phagensensitiven Phänotyp auftritt) und welche Einsatzbedingungen eine Resistenzentwicklung ausschließen.
3. Es sollte abgeklärt werden, welches Potenzial Gram-negative Mikroorganismen bzw. durch phageninduzierte Lyse freigesetzte Endotoxine im Lebensmittel zur Erhöhung des Endotoxingehaltes im Darmlumen und Blut besitzen und ob dies zur Ausbildung einer metabolischen Endotoxämie beitragen könnte.
4. Es sollte abgeklärt werden, ob durch phageninduzierte Lyse Exotoxine oder Exotoxincodierende, temperente Phagen auf und in fertigen Lebensmitteln freigesetzt werden und der Verzehr dieser Lebensmittel negative gesundheitliche Auswirkungen haben könnte.
5. Es sollte untersucht werden, ob aktive Phagen, die auf dem fertigen Lebensmittel verbleiben, den kulturbasierten Nachweis von Kontaminationen mit dem Wirtsbakterium beeinflussen und inwieweit hier nicht-kulturbasierte Nachweise

vorzuziehen wären, auch wenn solche Untersuchungen aufgrund der sehr variablen Bedingungen der Phagenanwendung auf unterschiedlichen Lebensmitteln nur begrenzt möglich sind.

6. Es sollte in weiteren Tier- und Humanstudien untersucht werden, ob eine immer wieder erfolgende Aufnahme hoher Phagenmengen einzelner Phagenspezies, die an Lebensmitteln angewendet werden, keinen negativen Einfluss auf Darm, Darmmikrobiom und Gesundheit haben, bzw. ob sie, da sie sich gegen Krankheitserreger, die nicht im Darm vorkommen, richten, einen positiven Einfluss auf die Gesundheit haben.
7. Die Infektion von Menschen mit Phagen durch spezifische Bindung und Lyse von eukaryotischen Zellen wird wissenschaftlich ausgeschlossen (Barr 2017), ebenso dass Phagen spezifisch und unabhängig von einem Einfluss auf das menschliche Mikrobiom bestimmte Krankheiten fördern oder auslösen. Sollten anfängliche Hinweise bestätigt werden, dass einige bestimmte Phagenspezies auch mit eukaryotischen Zellen bzw. Geweben interagieren, sollte dies für Phagen, die im Lebensmittelbereich eingesetzt werden, ausgeschlossen werden. Vorstellbar ist, dass bestimmte Strukturen des Kapsids bestimmter Phagen mit eukaryotischen Zellen interagieren, ohne dass diese, wie dies für Bakterienzellen spezifisch erfolgt, „infiziert“ und lysiert werden.
8. Es sollte untersucht werden, ob Phagen, die einem (festen) Lebensmittel zugegeben wurden („phages first“ Szenarium), bei einer Sekundärkontamination mit dem Zielbakterium auch gegen diese aktiv sind.
9. Es sollte überprüft werden, ob Phagenanwendungen, auch wenn sie überwiegend als zusätzliche Maßnahme empfohlen werden, zur Nachhaltigkeit in der Lebensmittelherstellung und in der Versorgung mit Lebensmitteln beitragen.

Glossar

Bacteriocine	Antibiotisch wirkende Peptide oder Proteine, die von bestimmten Bakterienstämmen gebildet werden und das Wachstum anderer, meist nah verwandter Bakterienstämme inhibieren.
Biokonservierung	Haltbarmachung von Lebensmitteln und anderen vom Verderb bedrohten Produkten durch biologische Verfahren.
Biokontrolle	Bekämpfung von tier- oder humanpathogenen Bakterien durch biologische Hilfsmittel.
Biosanierung	Dekontamination von nicht biologischem, nicht zum Verzehr vorgesehenem Material, wie Arbeitsflächen oder Werkzeuge, mit biologischen Hilfsmitteln.
CFU	„Colony forming unit“ entspricht einer Bakterienzelle, die durch Zellteilung zu einer Bakterienkolonie wird, deren Zellen genetisch identisch sind.
Darmmikrobiota	Gesamtheit aller Mikroorganismen im Darm.
Darmmikrobiom	Gesamtheit aller DNA-Sequenzen der im Darm befindlichen Mikroorganismen.
Endolysine	Hydrolytische Enzyme, die im Phagengenom codiert sind und in der Bakterienzelle während der Phagenvermehrung synthetisiert werden.
Fimbrien	Fadenförmige Zellanhänge von Bakterienzellen zur Adhäsion (Anheftung) an Zelloberflächen.
Flagellen	Fadenförmige Gebilde (Zellorganellen) an der Oberfläche von Bakterienzellen, die durch Bewegung die Bakterienzelle fortbewegen können.
GMP	good manufacturing practice (gute Herstellungspraxis)
Gram-negativ	Die Anfärbung der bakteriellen Zellwand nach H.C. Gram mit bestimmten basischen Farbstoffen (z. B. Gentianaviolett) ist negativ, d.h. sie wird durch Ethanol wieder ausgewaschen, da keine Teichonsäuren und eine nur einlagige Mureinhülle vorhanden sind und der Farbstoff in der Zellwand nicht zurückgehalten wird.
Gram-positiv	Die Anfärbung der bakteriellen Zellwand nach H.C. Gram mit bestimmten basischen Farbstoffen (z. B. Gentianaviolett) ist positiv, d.h. sie kann durch Ethanol nicht mehr ausgewaschen werden, da Teichonsäuren und eine mehrlagige Mureinhülle den Farbstoff in der Zellwand zurückhalten.
Integrase	Enzyme zum Einbau viraler DNA in das Chromosom der Wirtszelle.
Kapsel	Zusätzliche geleeartige Schutzschicht von Bakterienzellen außerhalb der Zellwand, aufgebaut aus Polysacchariden.
Kapsid	Virushülle, die das Genom des Bakteriophagen umschließt; bezeichnet auch Phagenkopf bestehend aus Virushülle und umschlossenem Phagengenom.
Kapsomere	Strukturproteine, die durch Aggregation die Virushülle (Kapsid) bilden.
Lipopolysaccharide	Hauptbestandteil der äußeren Zellwand von Gram-negativen Bakterien.
Lyse	Auflösung der Bakterienzelle durch Schädigung der Zellmembran.
“lysis from without”	Lyse der Bakterienzelle durch Bindung von Phagen im Überschuss an die Zelloberfläche des Wirtsbakteriums.

lysogen	Bakterien, in deren Chromosom ein Phagengenom integriert ist, sind lysogen.
lytisch	Phagen, die Bakterienzellen infizieren und lysieren, sind lytisch.
Mikrobiom	Gesamtheit aller DNA-Sequenzen der in einer bestimmten Umgebung befindlichen Mikroorganismen.
Mikrobiota	Gesamtheit aller Mikroorganismen in einer bestimmten Umgebung.
Nisin	Antibiotisch wirksames Peptid aus der Gruppe der Lanthionin haltigen Antibiotika, das von dem Milchsäurebakterium <i>Lactococcus lactis</i> gebildet wird, ein enges Wirkungsspektrum gegen bestimmte Bakterienspezies hat und in roher Milch vorkommt.
Pathogenicity Islands (PAIs)	Genetische Elemente im bakteriellen Chromosom, die unter anderem für Virulenzfaktoren und Antibiotikaresistenzen codieren.
Pediocin	Antibiotisch wirkende Proteine, die von Pediokokken, einer Gattung aus der Familie der <i>Lactobacillaceae</i> , gebildet werden und das Wachstum anderer Bakterienarten inhibieren.
PFU	„Plaque forming unit“ entspricht einem Phagenpartikel, der in einem Bakterienrasen zu einem kreisrunden Lysehof (Plaque) führt.
Phagengenom	Gesamtheit aller DNA-Sequenzen eines Phagen.
Phageom	Gesamtheit aller DNA-Sequenzen der in einer bestimmten Umgebung befindlichen Phagen.
Phasenvarianz	Veränderte Transkriptionsprodukte und damit Proteine, durch repetitive Elemente in der Gensequenz, die entweder im offenen Leserahmen (ORF) eines Gens, innerhalb des Promotorbereichs oder in der Nähe des Promotors lokalisiert sein. Durch Addition oder Deletion der Elemente kommt es zum veränderten Leserahmen für die Transkription.
Pilus, <i>pl. pili</i>	Bei Bakterien vorkommender fadenförmiger Zellfortsatz zur Anheftung an belebte oder unbelebte Oberflächen.
Porine	Proteine in Zellmembranen, die Poren zum Stoffaustausch bilden.
Postharvest	Nach der Ernte
Preharvest	Vor der Ernte
Prophage	Zustand eines temperenten Phagen, wenn sein Genom in das Bakterienchromosom integriert ist.
“ready to eat” (RTE)	Lebensmittelprodukte, die zum sofortigen Verzehr geeignet, in Kühlregalen der Supermärkte angeboten werden.
Serotyp	Untergruppe innerhalb einer Spezies oder eines Stammes, die sich durch charakteristische Oberflächenantigene (z. B. O-, H- oder K-Antigene) auszeichnet; häufig verwendet in der Diagnostik und Epidemiologie
Serovar	Taxonomische Einteilung innerhalb einer Spezies, die auf Unterschieden in den antigenen Merkmalen beruht; inhaltlich weitgehend gleichbedeutend mit dem Begriff „Serotyp“, überwiegend in der biologischen Systematik verwendet.

Shiga-Toxin	Toxine, die von <i>Shigella dysenteriae</i> und einigen <i>E.coli</i> -Stämmen produziert werden und durch Hemmung der Proteinsynthese zum Zelltod eukaryotischer Zellen führen.
spp.	Subspezies (Unterart)
temperant	Phagen sind temperante Phagen, wenn sie sowohl in der Bakterienzelle vermehrt werden und diese lysieren, als auch ihr Genom in das Bakterienchromosom integrieren können und dadurch als Prophage existieren
Transduktion	Übertragung von DNA von einer Bakterienzelle zur anderen durch Phagen (generalisierte Transduktion: bakterielle DNA wird unspezifisch und zufällig ins Phagenkapsid verpackt; spezialisierte Transduktion: DNA-Sequenzen, die benachbart zur Integrationsstelle des Prophagen liegen, werden durch ungenaues Ausschneiden des Prophagen mit ins Phagenkapsid verpackt)
Virushülle	Proteinhülle, in die das Phagen-genom und gegebenenfalls phageneigene Enzyme, verpackt sind

Referenzen

- Abedon ST (2009) Disambiguating bacteriophage pseudolysogeny: an historical analysis of lysogeny, pseudolysogeny, and the phage carrier state. Nova Science Publishers
- Abedon ST (2011) Lysis from without. *Bacteriophage* 1(1):46-49 doi:10.4161/bact.1.1.13980
- Abedon ST (2016) Phage therapy dosing: The problem(s) with multiplicity of infection (MOI). *Bacteriophage* 6(3):e1220348 doi:10.1080/21597081.2016.1220348
- Abedon ST (2017) Active bacteriophage biocontrol and therapy on sub-millimeter scales towards removal of unwanted bacteria from foods and microbiomes. *AIMS microbiology* 3(3):649-688 doi:10.3934/microbiol.2017.3.649
- Abedon ST (2025) Phage therapy annotated glossary. Preprints org:1-73 doi:10.20944/preprints202508.0347.v1
- Abedon ST, Danis-Wlodarczyk KM, Alves DR (2021) Phage Therapy in the 21st Century: Is There Modern, Clinical Evidence of Phage-Mediated Efficacy? *Pharmaceuticals (Basel)* 14(11) doi:10.3390/ph14111157
- Abedon ST, Kuhl SJ, Blasdel BG, Kutter EM (2011) Phage treatment of human infections. *Bacteriophage* 1(2):66-85 doi:10.4161/bact.1.2.15845
- Acheson DW, Reidl J, Zhang X, Keusch GT, Mekalanos JJ, Waldor MK (1998) In vivo transduction with shiga toxin 1-encoding phage. *Infect Immun* 66(9):4496-8 doi:10.1128/iai.66.9.4496-4498.1998
- Ackermann H-W, Prangishvili D (2012) Prokaryote viruses studied by electron microscopy. *Archives of virology* 157(10):1843-1849 <https://doi.org/10.1007/s00705-012-1383-y>
- Ackermann HW (2001) Frequency of morphological phage descriptions in the year 2000. Brief review. *Arch Virol* 146(5):843-57 doi:10.1007/s007050170120
- Adriaenssens EM (2021) Phage Diversity in the Human Gut Microbiome: a Taxonomist's Perspective. *mSystems* 6(4):e0079921 doi:10.1128/mSystems.00799-21
- Ahmadi H, Barbut S, Lim LT, Balamurugan S (2020) Examination of the Use of Bacteriophage as an Additive and Determining Its Best Application Method to Control *Listeria monocytogenes* in a Cooked-Meat Model System. *Front Microbiol* 11:779 doi:10.3389/fmicb.2020.00779

- Allen RC, Pfrunder-Cardozo KR, Meinel D, Egli A, Hall AR (2017) Associations among antibiotic and phage resistance phenotypes in natural and clinical *Escherichia coli* isolates. *mBio* 8(5):e01341-17 doi:doi:10.1128/mbio.01341-17
- Alvarez B, Biosca EG (2017) Bacteriophage-based bacterial wilt biocontrol for an environmentally sustainable agriculture. *Front Plant Sci* 8:1218 doi:10.3389/fpls.2017.01218
- Alves D, Cerqueira MA, Pastrana LM, Sillankorva S (2020) Entrapment of a phage cocktail and cinnamaldehyde on sodium alginate emulsion-based films to fight food contamination by *Escherichia coli* and *Salmonella Enteritidis*. *Food research international* (Ottawa, Ont) 128:108791 doi:10.1016/j.foodres.2019.108791
- Alves D, Marques A, Milho C, et al. (2019) Bacteriophage ϕ IBB-PF7A loaded on sodium alginate-based films to prevent microbial meat spoilage. *Int J Food Microbiol* 291:121-127 doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2018.11.026
- André P, Laugerette F, Féart C (2019) Metabolic Endotoxemia: A Potential Underlying Mechanism of the Relationship between Dietary Fat Intake and Risk for Cognitive Impairments in Humans? *Nutrients* 11(8) doi:10.3390/nu11081887
- Argudín MÁ, Mendoza MC, Rodicio MR (2010) Food Poisoning and *Staphylococcus aureus* Enterotoxins. *Toxins* 2(7):1751-1773 <https://doi.org/10.3390/toxins2071751>
- Atterbury RJ, Gigante AM, Tinker D, Howell M, Allen VM (2020) An improved cleaning system to reduce microbial contamination of poultry transport crates in the United Kingdom. *Journal of applied microbiology* 128(6):1776-1784 doi:10.1111/jam.14576
- Atterbury RJ, Van Bergen MA, Ortiz F, et al. (2007) Bacteriophage therapy to reduce *Salmonella* colonization of broiler chickens. *Appl Environ Microbiol* 73(14):4543-9 doi:10.1128/aem.00049-07
- Avellaneda-Franco L, Dahlman S, Barr JJ (2023) The gut virome and the relevance of temperate phages in human health. *Front Cell Infect Microbiol* 13 doi:10.3389/fcimb.2023.1241058
- Bai J, Kim YT, Ryu S, Lee JH (2016) Biocontrol and Rapid Detection of Food-Borne Pathogens Using Bacteriophages and Endolysins. *Frontiers in microbiology* 7:474 doi:10.3389/fmicb.2016.00474
- Bakhshinejad B, Ghiasvand S (2017) Bacteriophages in the human gut: Our fellow travelers throughout life and potential biomarkers of health or disease. *Virus Res* 240:47-55 doi:10.1016/j.virusres.2017.07.013
- Bandara N, Jo J, Ryu S, Kim KP (2012) Bacteriophages BCP1-1 and BCP8-2 require divalent cations for efficient control of *Bacillus cereus* in fermented foods. *Food microbiology* 31(1):9-16 doi:10.1016/j.fm.2012.02.003
- Barcia-Cruz R, Goudenège D, Moura de Sousa JA, et al. (2024) Phage-inducible chromosomal minimalist islands (PICMIs), a novel family of small marine satellites of virulent phages. *Nat Commun* 15(1):664 doi:10.1038/s41467-024-44965-1
- Barr JJ (2017) A bacteriophages journey through the human body. *Immunol Rev* 279(1):106-122 doi:10.1111/imr.12565
- Batinovic S, Wassef F, Knowler SA, et al. (2019) Bacteriophages in Natural and Artificial Environments. *Pathogens* (Basel, Switzerland) 8(3) doi:10.3390/pathogens8030100
- Bawn M, Alikhan N-F, Thilliez G, et al. (2020) Evolution of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium driven by anthropogenic selection and niche adaptation. *PLoS genetics* 16(6):e1008850-e1008850 doi:10.1371/journal.pgen.1008850
- Beale GH (1948) A Method for the Measurement of Mutation Rate from Phage Sensitivity to Phage Resistance in *Escherichia coli*. *Microbiology* 2(2):131-142 <https://doi.org/10.1099/00221287-2-2-131>
- Beeh KM, Kannies F, Wagner F, et al. (2013) The novel TLR-9 agonist QbG10 shows clinical efficacy in persistent allergic asthma. *J Allergy Clin Immunol* 131(3):866-74 doi:10.1016/j.jaci.2012.12.1561
- Bertók L (2004) Bile acids in physico-chemical host defence. *Pathophysiology* 11(3):139-145 <https://doi.org/10.1016/j.pathophys.2004.09.002>

- Bhandare S, Goodridge L (2021) Bacteriophages as bio-sanitizers in food production and healthcare settings. *Bacteriophages: Biology, Technology, Therapy*:769-788 <https://doi.org/10.1007/978-3-319-41986-2>
- Bigwood T, Hudson JA, Billington C (2009) Influence of host and bacteriophage concentrations on the inactivation of food-borne pathogenic bacteria by two phages. *FEMS Microbiol Lett* 291(1):59-64 doi:10.1111/j.1574-6968.2008.01435.x
- Borin JM, Avrani S, Barrick JE, Petrie KL, Meyer JR (2021) Coevolutionary phage training leads to greater bacterial suppression and delays the evolution of phage resistance. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 118(23):e2104592118 doi:doi:10.1073/pnas.2104592118
- Bourdin G, Schmitt B, Guy LM, et al. (2014) Amplification and purification of T4-Like *Escherichia coli* phages for phage therapy: from laboratory to pilot scale. *Appl Environ Microbiol* 80(4):1469-1476 doi:doi:10.1128/AEM.03357-13
- Brabban A, Hite E, Callaway T (2005) Evolution of foodborne pathogens via temperate bacteriophage-mediated gene transfer. *Foodborne Pathogens & Disease* 2(4):287-303 <https://doi.org/10.1089/fpd.2005.2.287>
- Branton S, Stanley E, Keshavarz-Moore E, Ward J (2012) Precipitation of filamentous bacteriophages for their selective recovery in primary purification. *Biotechnol Prog* 28(1):129-136 doi:10.1002/btpr.705
- Brown GC (2019) The endotoxin hypothesis of neurodegeneration. *Journal of Neuroinflammation* 16(1):180 doi:10.1186/s12974-019-1564-7
- Brussow H (2017) Phage therapy for the treatment of human intestinal bacterial infections: soon to be a reality? *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 11(9):785-788 doi:10.1080/17474124.2017.1342534
- Brüssow H, Canchaya C, Hardt W-D (2004) Phages and the evolution of bacterial pathogens: from genomic rearrangements to lysogenic conversion. *Microbiol Mol Biol Rev* 68(3):560-602 doi:doi:10.1128/mmbr.68.3.560-602.2004
- Bruttin A, Brussow H (2005) Human volunteers receiving *Escherichia coli* phage T4 orally: a safety test of phage therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 49(7):2874-8 doi:10.1128/AAC.49.7.2874-2878.2005
- Bryan D, El-Shibiny A, Hobbs Z, Porter J, Kutter EM (2016) Bacteriophage T4 infection of stationary phase *E. coli*: life after log from a phage perspective. *Front Microbiol* 7:1391 doi:10.3389/fmicb.2016.01391
- Bumunang EW, Ateba CN, Stanford K, Niu YD, Wang Y, McAllister TA (2020) Activity of Bacteriophage and Complex Tannins against Biofilm-Forming Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* from Canada and South Africa. *Antibiotics (Basel, Switzerland)* 9(5) doi:10.3390/antibiotics9050257
- Burger R (2012) EHEC O104:H4 in Germany 2011: Large outbreak of bloody diarrhea and haemolytic uraemic syndrome by shiga toxin-producing *E. coli* via contaminated food in: NCBI Bookshelf. A service of the National Library of Medicine, National Institutes of Health. Institute of Medicine (US). Improving Food Safety Through a One Health Approach: Workshop Summary. Washington (DC): National Academies Press (US).
- Burmeister AR, Fortier A, Roush C, et al. (2020) Pleiotropy complicates a trade-off between phage resistance and antibiotic resistance. *Proc Natl Acad Sci U S A* 117(21):11207-11216 doi:10.1073/pnas.1919888117
- Butler T (2012) Haemolytic uraemic syndrome during shigellosis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 106(7):395-9 doi:10.1016/j.trstmh.2012.04.001
- Buttimer C, McAuliffe O, Ross RP, Hill C, O'Mahony J, Coffey A (2017) Bacteriophages and Bacterial Plant Diseases. *Frontiers in microbiology* 8:34 doi:10.3389/fmicb.2017.00034
- Camarillo-Guerrero LF, Almeida A, Rangel-Pineros G, Finn RD, Lawley TD (2021) Massive expansion of human gut bacteriophage diversity. *Cell* 184(4):1098-1109 e9 doi:10.1016/j.cell.2021.01.029
- Carding SR, Davis N, Hoyles L (2017) Review article: the human intestinal virome in health and disease. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 46(9):800-815 doi:10.1111/apt.14280

- Carter CD, Parks A, Abuladze T, et al. (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 doi:10.4161/bact.22825
- Carvalho C, Costa AR, Silva F, Oliveira A (2017) Bacteriophages and their derivatives for the treatment and control of food-producing animal infections. *Critical reviews in microbiology* 43(5):583-601 doi:10.1080/1040841x.2016.1271309
- Cha Y, Chun J, Son B, Ryu S (2019a) Characterization and Genome Analysis of *Staphylococcus aureus* Podovirus CSA13 and Its Anti-Biofilm Capacity. *Viruses* 11(1) doi:10.3390/v11010054
- Cha Y, Son B, Ryu S (2019b) Effective removal of staphylococcal biofilms on various food contact surfaces by *Staphylococcus aureus* phage endolysin LysCSA13. *Food microbiology* 84:103245 doi:10.1016/j.fm.2019.103245
- Chan BK, Sistrom M, Wertz JE, Kortright KE, Narayan D, Turner PE (2016) Phage selection restores antibiotic sensitivity in MDR *Pseudomonas aeruginosa*. *Sci Rep* 6(1):26717 doi:10.1038/srep26717
- Chaudhary V, Kajla P, Lather D, et al. (2024) Bacteriophages: a potential game changer in food processing industry. *Crit Rev Biotechnol* 44(7):1325-1349 doi:10.1080/07388551.2023.2299768
- Chevallereau A, Pons BJ, van Houte S, Westra ER (2022) Interactions between bacterial and phage communities in natural environments. *Nat Rev Microbiol* 20(1):49-62 doi:10.1038/s41579-021-00602-y
- Chibeu A, Balamurugan S (2018) Application of a virucidal agent to avoid overestimation of phage kill during phage decontamination assays on ready-to-eat meats. *Methods Mol Biol* 1681:97-105 doi:10.1007/978-1-4939-7343-9_8
- Christie GE, Dokland T (2012) Pirates of the *Caudovirales*. *Virology* 434(2):210-21 doi:10.1016/j.virol.2012.10.028
- Cooper IR (2016) A review of current methods using bacteriophages in live animals, food and animal products intended for human consumption. *J Microbiol Methods* 130:38-47 doi:10.1016/j.mimet.2016.07.027
- Costa MJ, Pastrana LM, Teixeira JA, Sillankorva SM, Cerqueira MA (2023) Bacteriophage delivery systems for food applications: opportunities and perspectives. *Viruses* 15(6):1271 doi:10.3390/v15061271
- Cristobal-Cueto P, Garcia-Quintanilla A, Esteban J, Garcia-Quintanilla M (2021) Phages in Food Industry Biocontrol and Bioremediation. *Antibiotics (Basel)* 10(7) doi:10.3390/antibiotics10070786
- Cui Z, Guo X, Feng T, Li L (2019) Exploring the whole standard operating procedure for phage therapy in clinical practice. *J Transl Med* 17(1):373 doi:10.1186/s12967-019-2120-z
- Czajkowski R, Jackson RW, Lindow SE (2019) Editorial: Environmental Bacteriophages: From Biological Control Applications to Directed Bacterial Evolution. *Front Microbiol* 10:1830 doi:10.3389/fmicb.2019.01830
- d'Herelle F (1930) *The bacteriophage and its clinical applications*. Springfield, IL: Charles C Thomas.
- d'Herelle F (1917) On an invisible microbe antagonistic to dysentery bacilli. *CR Acad Sci Paris* 165:373-5
- Dabrowska K (2019) Phage therapy: What factors shape phage pharmacokinetics and bioavailability? Systematic and critical review. *Med Res Rev* 39(5):2000-2025 doi:10.1002/med.21572
- Dabrowska K, Abedon ST (2019) Pharmacologically Aware Phage Therapy: Pharmacodynamic and Pharmacokinetic Obstacles to Phage Antibacterial Action in Animal and Human Bodies. *Microbiol Mol Biol Rev* 83(4) doi:10.1128/MMBR.00012-19
- Dahlman S, Avellaneda-Franco L, Barr JJ (2021) Phages to shape the gut microbiota? *Curr Opin Biotechnol* 68:89-95 doi:10.1016/j.copbio.2020.09.016
- Dalmasso M, Hill C, Ross RP (2014) Exploiting gut bacteriophages for human health. *Trends Microbiol* 22(7):399-405 doi:10.1016/j.tim.2014.02.010
- de Melo AG, Levesque S, Moineau S (2018) Phages as friends and enemies in food processing. *Current opinion in biotechnology* 49:185-190 <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2017.09.004>

- de Melo AG, Morency C, Moineau S (2024) Virulence-associated factors as targets for phage infection. *Curr Opin Microbiol* 79:102471 doi:10.1016/j.mib.2024.102471
- de Ornellas Dutka Garcia KC, de Oliveira Corrêa IM, Pereira LQ, et al. (2017) Bacteriophage use to control *Salmonella* biofilm on surfaces present in chicken slaughterhouses. *Poultry science* 96(9):3392-3398 doi:10.3382/ps/pex124
- deCarvalho T, Mascolo E, Caruso SM, et al. (2023) Simultaneous entry as an adaptation to virulence in a novel satellite-helper system infecting *Streptomyces* species. *ISME J* 17(12):2381-2388 doi:10.1038/s41396-023-01548-0
- Dery KJ, Górski A, Międzybrodzki R, Farmer DG, Kupiec-Weglinski JW (2021) Therapeutic perspectives and mechanistic insights of phage therapy in allotransplantation. *Transplantation* 105(7):1449-1458 doi:10.1097/tp.0000000000003565
- Desvaux M, Dalmasso G, Beyrouthy R, Barnich N, Delmas J, Bonnet R (2020) Pathogenicity factors of genomic islands in intestinal and extraintestinal *Escherichia coli*. *Front Microbiol* 11:2065 doi:10.3389/fmicb.2020.02065
- Dhowlaghar N, Denes TG (2023) Control of residual phage in the evaluation of phage-based food safety applications. *Crit Rev Food Sci Nutr*:12127-12133 doi:10.1080/10408398.2023.2258210
- Dietrich R, Jessberger N, Ehling-Schulz M, Märklbauer E, Granum PE (2021) The Food Poisoning Toxins of *Bacillus cereus*. *Toxins (Basel)* 13(2) doi:10.3390/toxins13020098
- Doub JB (2021) Risk of bacteriophage therapeutics to transfer genetic material and contain contaminants beyond endotoxins with clinically relevant mitigation strategies. *Infect Drug Resist* 14:5629-5637 doi:10.2147/idr.S341265
- Duan Y, Young R, Schnabl B (2022) Bacteriophages and their potential for treatment of gastrointestinal diseases. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 19(2):135-144 doi:10.1038/s41575-021-00536-z
- Duc HM, Son HM, Ngan PH, et al. (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 doi:10.1007/s00253-020-10581-4
- Dufour N, Delattre R, Ricard JD, Debarbieux L (2017) The lysis of pathogenic *Escherichia coli* by bacteriophages releases less endotoxin than by β -lactams. *Clin Infect Dis* 64(11):1582-1588 doi:10.1093/cid/cix184
- Dunne M, Rupf B, Tala M, et al. (2019) Reprogramming bacteriophage host range through structure-guided design of chimeric receptor binding proteins. *Cell Rep* 29(5):1336-1350.e4 doi:10.1016/j.celrep.2019.09.062
- Dwivedi HP, Jaykus L-A (2011) Detection of pathogens in foods: the current state-of-the-art and future directions. *Crit Rev Microbiol* 37(1):40-63 doi:10.3109/1040841X.2010.506430
- EFSA (2009) The use and mode of action of bacteriophages in food production. *EFSA Journal* 1076:1-26 <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1076>.
- EFSA (2012) Scientific Opinion on the evaluation of the safety and efficacy of Listex™ P100 for the removal of *Listeria monocytogenes* surface contamination of raw fish. *EFSA Journal* 10(3):2615 <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2012.2615>
- EFSA (2016) Evaluation of the safety and efficacy of Listex™ P100 for reduction of pathogens on different ready-to-eat (RTE) food products. *EFSA Journal* 14(8):4565 <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2016.4565>
- EFSA (2020) Pathogenicity assessment of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and the public health risk posed by contamination of food with STEC. *EFSA Journal* 18(1):5967 <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2020.5967>
- EFSA (2021) Safety and efficacy of a feed additive consisting on the bacteriophages PCM F/00069, PCM F/00070, PCMF/00071 and PCM F/00097 infecting *Salmonella Gallinarum*B/00111 (Bafasal®) for all avian species (Proteon Pharmaceuticals S.A.). *EFSA Journal* 19(5):6534 <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6534>
- EFSA (2023) Safety and efficacy of a feed additive consisting of the bacteriophages PCM F/00069, PCM F/00070, PCM F/00071 and PCM F/00097 (Bafasal®) for all avian species (Proteon Pharmaceuticals S.A.). *EFSA Journal* 21:7861.

- <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.7861>
- EFSA (2024) Persistence of microbiological hazards in food and feed production and processing environments. EFSA Journal 2024;22:8521. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2024.8521>.
- Eichhorn I, Heidemanns K, Semmler T, et al. (2015) Highly Virulent Non-O157 Enterohemorrhagic Escherichia coli (EHEC) Serotypes Reflect Similar Phylogenetic Lineages, Providing New Insights into the Evolution of EHEC. Appl Environ Microbiol 81(20):7041-7 doi:10.1128/aem.01921-15
- El-Hendawy HH, Osman ME, Sorour NM (2005) Biological control of bacterial spot of tomato caused by Xanthomonas campestris pv. vesicatoria by Rahnella aquatilis. Microbiol Res 160(4):343-52 doi:10.1016/j.micres.2005.02.008
- El-Shibiny A, El-Sahhar S (2017) Bacteriophages: the possible solution to treat infections caused by pathogenic bacteria. Can J Microbiol 63(11):865-879 doi:10.1139/cjm-2017-0030
- Emond E, Moineau S (2007) Bacteriophages and food fermentations. Bacteriophage: genetics and molecular biology:93-123
- Endersen L, Buttner C, Nevin E, et al. (2017) Investigating the biocontrol and anti-biofilm potential of a three phage cocktail against *Cronobacter sakazakii* in different brands of infant formula. Int J Food Microbiol 253:1-11 doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2017.04.009
- Endersen L, Coffey A (2020) The use of bacteriophages for food safety. Curr Opin Food Sci 36:1-8 doi:10.1016/j.cofs.2020.10.006
- Endersen L, O'Mahony J, Hill C, Ross RP, McAuliffe O, Coffey A (2014) Phage therapy in the food industry. Annual review of food science and technology 5:327-49 doi:10.1146/annurev-food-030713-092415
- Erlanson-Albertsson C, Stenkula KG (2021) The Importance of Food for Endotoxemia and an Inflammatory Response. International journal of molecular sciences 22(17) doi:10.3390/ijms22179562
- Erridge C, Attina T, Spickett CM, Webb DJ (2007) A high-fat meal induces low-grade endotoxemia: evidence of a novel mechanism of postprandial inflammation. The American journal of clinical nutrition 86(5):1286-92 doi:10.1093/ajcn/86.5.1286
- Febvre HP, Rao S, Gindin M, et al. (2019) PHAGE Study: Effects of Supplemental Bacteriophage Intake on Inflammation and Gut Microbiota in Healthy Adults. Nutrients 11(3) doi:10.3390/nu11030666
- Federici S, Kredo-Russo S, Valdes-Mas R, et al. (2022) Targeted suppression of human IBD-associated gut microbiota commensals by phage consortia for treatment of intestinal inflammation. Cell 185(16):2879-2898 e24 doi:10.1016/j.cell.2022.07.003
- Fernández L, Gutiérrez D, Rodríguez A, García P (2018) Application of bacteriophages in the agro-food sector: a long way towards approval. Frontiers in cellular and infection microbiology 8:296 <https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00296>
- Figuerola-Bossi N, Uzzau S, Maloriol D, Bossi L (2001) Variable assortment of prophages provides a transferable repertoire of pathogenic determinants in Salmonella. Molecular Microbiology 39(2):260-272 doi:https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2001.02234.x
- Fister S, Mester P, Witte AK, Sommer J, Schoder D, Rossmanith P (2019) Part of the problem or the solution? Indiscriminate use of bacteriophages in the food industry can reduce their potential and impair growth-based detection methods. Trends in Food Science & Technology 90:170-174 <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.02.031>
- Foddai ACG, Grant IR (2020) Methods for detection of viable foodborne pathogens: current state-of-art and future prospects. Appl Microbiol Biotechnol 104(10):4281-4288 doi:10.1007/s00253-020-10542-x
- Fouladvand F, Bemani P, Mohammadi M, Amini R, Azizi Jalilian F (2020) A review of the methods for concentrating M13 phage. J Appl Biotechnol Rep 7(1):7-15 doi:10.30491/JABR.2020.105916
- Frank C, Werber D, Cramer JP, et al. (2011) Epidemic Profile of Shiga-Toxin–Producing Escherichia coli O104:H4 Outbreak in Germany. New England Journal of Medicine 365(19):1771-1780 doi:10.1056/NEJMoa1106483

- Gal-Mor O, Finlay BB (2006) Pathogenicity islands: a molecular toolbox for bacterial virulence. *Cellular microbiology* 8(11):1707-19 doi:10.1111/j.1462-5822.2006.00794.x
- Galtier M, De Sordi L, Maura D, et al. (2016) Bacteriophages to reduce gut carriage of antibiotic resistant uropathogens with low impact on microbiota composition. *Environ Microbiol* 18(7):2237-45 doi:10.1111/1462-2920.13284
- Garcia P, Martinez B, Obeso J, Rodriguez A (2008) Bacteriophages and their application in food safety. *Letters in applied microbiology* 47(6):479-485 <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2008.02458.x>
- García R, Latz S, Romero J, Higuera G, García K, Bastías R (2019) Bacteriophage Production Models: An Overview. *Front Microbiol* 10:1187 doi:10.3389/fmicb.2019.01187
- Garvey M (2022) Bacteriophages and food production: biocontrol and bio-preservation options for food safety. *Antibiotics* 11(10):1324 doi:10.3390/antibiotics11101324
- Ge H, Fu S, Guo H, et al. (2022) Application and challenge of bacteriophage in the food protection. *Int J Food Microbiol* 380:109872 doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109872
- Ghanim H, Abuaysheh S, Sia CL, et al. (2009) Increase in plasma endotoxin concentrations and the expression of Toll-like receptors and suppressor of cytokine signaling-3 in mononuclear cells after a high-fat, high-carbohydrate meal: implications for insulin resistance. *Diabetes care* 32(12):2281-7 doi:10.2337/dc09-0979
- Gigante A, Atterbury RJ (2019) Veterinary use of bacteriophage therapy in intensively-reared livestock. *Virology journal* 16(1):155 doi:10.1186/s12985-019-1260-3
- Gildea L, Ayariga JA, Robertson BK (2022) Bacteriophages as biocontrol agents in livestock food production. *Microorganisms* 10(11):2126 doi:10.3390/microorganisms10112126
- Gindin M, Febvre HP, Rao S, Wallace TC, Weir TL (2019) Bacteriophage for gastrointestinal health (PHAGE) Study: evaluating the safety and tolerability of supplemental bacteriophage consumption. *J Am Coll Nutr* 38(1):68-75 doi:10.1080/07315724.2018.1483783
- Glonti T, Pirnay J-P (2022) *In vitro* techniques and measurements of phage characteristics that are important for phage therapy success. *Viruses* 14(7):1490 doi:10.3390/v14071490
- Gogokhia L, Buhrke K, Bell R, et al. (2019) Expansion of bacteriophages is linked to aggravated intestinal inflammation and colitis. *Cell Host Microbe* 25(2):e285-299.e8 doi:10.1016/j.chom.2019.01.008
- Gong C, Jiang X (2017) Application of bacteriophages to reduce Salmonella attachment and biofilms on hard surfaces. *Poultry science* 96(6):1838-1848 doi:10.3382/ps/pew463
- Goodridge LD (2013) Bacteriophages for managing Shigella in various clinical and non-clinical settings. *Bacteriophage* 3(1):e25098 doi:10.4161/bact.25098
- Goodridge LD, Bisha B (2011) Phage-based biocontrol strategies to reduce foodborne pathogens in foods. *Bacteriophage* 1(3):130-137 doi:10.4161/bact.1.3.17629
- Gouvêa DM, Mendonça RCS, Lopez MES, Batalha LS (2016) Absorbent food pads containing bacteriophages for potential antimicrobial use in refrigerated food products. *LWT-Food Science and Technology* 67:159-166 <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.11.043>
- Greer GG (2005) Bacteriophage control of foodborne bacteriat. *J Food Prot* 68(5):1102-11 doi:10.4315/0362-028x-68.5.1102
- Greer GG, Dilts BD (2002) Control of *Brochothrix thermosphacta* spoilage of pork adipose tissue using bacteriophages. *Journal of food protection* 65(5):861-863 <https://doi.org/10.4315/0362-028x-65.5.861>
- Grootjans J, Thuijls G, Verdam F, Derikx JP, Lenaerts K, Buurman WA (2010) Non-invasive assessment of barrier integrity and function of the human gut. *World J Gastrointest Surg* 2(3):61-9 doi:10.4240/wjgs.v2.i3.61
- Guenther S, Herzig O, Fieseler L, Klumpp J, Loessner MJ (2012) Biocontrol of Salmonella Typhimurium in RTE foods with the virulent bacteriophage FO1-E2. *International Journal of Food Microbiology* 154(1-2):66-72 <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.12.023>
- Gutierrez D, Fernandez L, Rodriguez A, Garcia P (2019) Role of Bacteriophages in the Implementation of a Sustainable Dairy Chain. *Front Microbiol* 10:12 doi:10.3389/fmicb.2019.00012

- Gutiérrez D, Rodríguez-Rubio L, Martínez B, Rodríguez A, García P (2016) Bacteriophages as Weapons Against Bacterial Biofilms in the Food Industry. *Front Microbiol* 7:825 doi:10.3389/fmicb.2016.00825
- Gyles CL (2007) Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: an overview. *Journal of animal science* 85(13 Suppl):E45-62 doi:10.2527/jas.2006-508
- Hagens S, Loessner MJ (2010) Bacteriophage for biocontrol of foodborne pathogens: calculations and considerations. *Curr Pharm Biotechnol* 11(1):58-68 doi:10.2174/138920110790725429
- Hanlon GW (2007) Bacteriophages: an appraisal of their role in the treatment of bacterial infections. *International journal of antimicrobial agents* 30(2):118-128 <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2007.04.006>
- Hassan AY, Lin JT, Ricker N, Anany H (2021) The age of phage: friend or foe in the new dawn of therapeutic and biocontrol applications? *Pharmaceuticals* 14(3):199 doi:10.3390/ph14030199
- Hayes S, Murphy J, Mahony J, et al. (2017) Biocidal inactivation of *Lactococcus lactis* bacteriophages: Efficacy and targets of commonly used sanitizers. *Frontiers in microbiology* 8:107 <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00107>
- Hennekinne J-A, De Buyser M-L, Dragacci S (2012) *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. *FEMS microbiology reviews* 36(4):815-836 <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00311.x>
- Heo S, Kim MG, Kwon M, Lee HS, Kim GB (2018) Inhibition of *Clostridium perfringens* using Bacteriophages and Bacteriocin Producing Strains. *Korean journal for food science of animal resources* 38(1):88-98 doi:10.5851/kosfa.2018.38.1.88
- Herold S, Karch H, Schmidt H (2004) Shiga toxin-encoding bacteriophages--genomes in motion. *International journal of medical microbiology : IJMM* 294(2-3):115-21 doi:10.1016/j.ijmm.2004.06.023
- Hietala V, Horsma-Heikkinen J, Carron A, Skurnik M, Kiljunen S (2019) The Removal of Endo- and Enterotoxins From Bacteriophage Preparations. *Front Microbiol* 10:1674 doi:10.3389/fmicb.2019.01674
- Hill C, Mills S, Ross RP (2018) Phages & antibiotic resistance: are the most abundant entities on earth ready for a comeback? *Future Microbiol* 13:711-726 doi:10.2217/fmb-2017-0261
- Hobbs Z, Abedon ST (2016) Diversity of phage infection types and associated terminology: the problem with 'Lytic or lysogenic'. *FEMS microbiology letters* 363(7) fnw047. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnw047>
- Hock L (2019) Biocontrol of *Bacillus cereus* by bacteriophages for improving food safety. UCL-Université Catholique de Louvain
- Hofreuter D (2014) Defining the metabolic requirements for the growth and colonization capacity of *Campylobacter jejuni*. *Front Cell Infect Microbiol* 4:137 doi:10.3389/fcimb.2014.00137
- Holzhauser T, Schuler F, Dudek S, Kaul S, Vieths S, Mahler V (2020) Recombinant allergens, peptides, and virus-like particles for allergy immunotherapy *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz* 63(11):1412-1423 doi:10.1007/s00103-020-03231-7
- Hong Y, Thimmapuram J, Zhang J, et al. (2016) The impact of orally administered phages on host immune response and surrounding microbial communities. *Bacteriophage* 6(3):e1211066 doi:10.1080/21597081.2016.1211066
- Howard-Varona C, Vik DR, Solonenko NE, et al. (2018) Fighting Fire with Fire: Phage Potential for the Treatment of *E. coli* O157 Infection. *Antibiotics (Basel, Switzerland)* 7(4) doi:10.3390/antibiotics7040101
- Hu YOO, Hugerth LW, Bengtsson C, et al. (2018) Bacteriophages Synergize with the Gut Microbial Community To Combat Salmonella. *mSystems* 3(5) doi:10.1128/mSystems.00119-18
- Hu Z, Meng X-C, Liu F (2016) Isolation and characterisation of lytic bacteriophages against *Pseudomonas* spp., a novel biological intervention for preventing spoilage of raw milk. *International Dairy Journal* 55:72-78 <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2015.11.011>

- Huang K, Nitin N (2020) Food-Grade Microscale Dispersion Enhances UV Stability and Antimicrobial Activity of a Model Bacteriophage (T7) for Reducing Bacterial Contamination (*Escherichia coli*) on the Plant Surface. *Journal of agricultural and food chemistry* 68(39):10920-10927 doi:10.1021/acs.jafc.0c02795
- Hudson JA, Billington C, Carey-Smith G, Greening G (2005) Bacteriophages as biocontrol agents in food. *Journal of food protection* 68(2):426-437 <https://doi.org/10.4315/0362-028X-68.2.426>
- Imamovic L, Jofre J, Schmidt H, Serra-Moreno R, Muniesa M (2009) Phage-mediated Shiga toxin 2 gene transfer in food and water. *Applied and environmental microbiology* 75(6):1764-8 doi:10.1128/aem.02273-08
- In J, Lukyanenko V, Foulke-Abel J, et al. (2013) Serine protease EspP from enterohemorrhagic *Escherichia coli* is sufficient to induce shiga toxin macropinocytosis in intestinal epithelium. *PLoS One* 8(7):e69196 doi:10.1371/journal.pone.0069196
- Islam MS, Zhou Y, Liang L, et al. (2019) Application of a Phage Cocktail for Control of *Salmonella* in Foods and Reducing Biofilms. *Viruses* 11(9) doi:10.3390/v11090841
- Islam MS, Zhou Y, Liang L, et al. (2020) Application of a Broad Range Lytic Phage LPST94 for Biological Control of *Salmonella* in Foods. *Microorganisms* 8(2) doi:10.3390/microorganisms8020247
- Jäckel C, Hammerl JA, Hertwig S (2019) *Campylobacter* Phage Isolation and Characterization: What We Have Learned So Far. *Methods and protocols* 2(1) doi:10.3390/mps2010018
- Jaglan AB, Anand T, Verma R, et al. (2022) Tracking the phage trends: a comprehensive review of applications in therapy and food production. *Front Microbiol* 13:993990 doi:10.3389/fmicb.2022.993990
- Jariah ROA, Hakim MS (2019) Interaction of phages, bacteria, and the human immune system: Evolutionary changes in phage therapy. *Rev Med Virol* 29(5):e2055 doi:10.1002/rmv.2055
- Jayamanne MN, Foddai ACG (2025) Use of bacteriophages for biocontrol of pathogens in food and food-contact surfaces: a systematic review of the literature. *Sustain Microbiol* 2(1):qvaf005 doi:10.1093/sumbio/qvaf005
- Jebri S, Rahmani F, Hmaied F (2020) Bacteriophages as antibiotic resistance genes carriers in agro-food systems. *J Appl Microbiol* doi:10.1111/jam.14851
- Jun JW, Park SC, Wicklund A, Skurnik M (2018) Bacteriophages reduce *Yersinia enterocolitica* contamination of food and kitchenware. *International journal of food microbiology* 271:33-47 <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.02.007>
- Jurač K, Nabergoj D, Podgornik A (2019) Bacteriophage production processes. *Appl Microbiol Biotechnol* 103(2):685-694 doi:10.1007/s00253-018-9527-y
- Kazi M, Annapure US (2016) Bacteriophage biocontrol of foodborne pathogens. *Journal of food science and technology* 53(3):1355-62 doi:10.1007/s13197-015-1996-8
- Kelly CJ, Colgan SP, Frank DN (2012) Of microbes and meals: the health consequences of dietary endotoxemia. *Nutr Clin Pract* 27(2):215-25 doi:10.1177/0884533611434934
- Kilcher S, Loessner MJ (2019) Engineering Bacteriophages as Versatile Biologics. *Trends Microbiol* 27(4):355-367 doi:10.1016/j.tim.2018.09.006
- Kim SG, Lee YD, Park JH, Moon GS (2019) Synergistic Inhibition by Bacteriocin and Bacteriophage against *Staphylococcus aureus*. *Food science of animal resources* 39(6):1015-1020 doi:10.5851/kosfa.2019.e95
- Kirtland M, Layhadi JA, Shamji MH (2020) Adjuvants in Allergen-Specific Immunotherapy, In *EAACI Allergen Immunotherapy User's Guid*, *Pediatric Allergy and Immunology* 31 (Suppl. 25) Chapter 13, 1–101.
- Klimek L, Kündig T, Kramer MF, et al. (2018) Virus-like particles (VLP) in prophylaxis and immunotherapy of allergic diseases. *Allergo Journal International* 27:245–255 <https://doi.org/10.1007/s40629-018-0074-y>
- Klimek L, Willers J, Hammann-Haenni A, et al. (2011) Assessment of clinical efficacy of CYT003-QbG10 in patients with allergic rhinoconjunctivitis: a phase IIb study. *Clin Exp Allergy* 41(9):1305-12 doi:10.1111/j.1365-2222.2011.03783.x

- Komora N, Maciel C, Pinto CA, et al. (2020) Non-thermal approach to *Listeria monocytogenes* inactivation in milk: The combined effect of high pressure, pediocin PA-1 and bacteriophage P100. *Food microbiology* 86:103315 doi:10.1016/j.fm.2019.103315
- Koskella B, Brockhurst MA (2014) Bacteria-phage coevolution as a driver of ecological and evolutionary processes in microbial communities. *FEMS Microbiol Rev* 38(5):916-31 doi:10.1111/1574-6976.12072
- Kutateladze M, Adamia R (2010) Bacteriophages as potential new therapeutics to replace or supplement antibiotics. *Trends in biotechnology* 28(12):591-595 <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2010.08.001>
- Labrie SJ, Samson JE, Moineau S (2010) Bacteriophage resistance mechanisms. *Nature Reviews Microbiology* 8(5):317-327 doi:10.1038/nrmicro2315
- Latino L, Midoux C, Hauck Y, Vergnaud G, Pourcel C (2016) Pseudolysogeny and sequential mutations build multiresistance to virulent bacteriophages in *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiology* 162(5):748-763 doi:10.1099/mic.0.000263
- Lee H, Popodi E, Tang H, Foster PL (2012) Rate and molecular spectrum of spontaneous mutations in the bacterium *Escherichia coli* as determined by whole-genome sequencing. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109(41):E2774-E2783 <https://doi.org/10.1073/pnas.1210309109>
- Lenneman BR, Fernbach J, Loessner MJ, Lu TK, Kilcher S (2021) Enhancing phage therapy through synthetic biology and genome engineering. *Current Opinion in Biotechnology* 68:151-159 doi:https://doi.org/10.1016/j.copbio.2020.11.003
- Lenski RE, Levin BR (1985) Constraints on the Coevolution of Bacteria and Virulent Phage: A Model, Some Experiments, and Predictions for Natural Communities. *The American Naturalist* 125(4):585-602 doi:10.1086/284364
- Leon-Velarde CG, Jun JW, Skurnik M (2019) *Yersinia* Phages and Food Safety. *Viruses* 11(12) doi:10.3390/v11121105
- Leppänen M, Maasilta IJ, Sundberg LR (2019) Antibacterial Efficiency of Surface-Immobilized *Flavobacterium*-Infecting Bacteriophage. *ACS Appl Bio Mater* 2(11):4720-4727 doi:10.1021/acsabm.9b00242
- Li 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 doi:10.1002/jsfa.11505
- Li L, Zhou M, Yu M, et al. (2024) Correlation between the development of phage resistance and the original antibiotic resistance of host bacteria under the co-exposure of antibiotic and bacteriophage. *Environ Res* 252:118921 doi:10.1016/j.envres.2024.118921
- Liu D, Van Belleghem JD, de Vries CR, et al. (2021) The Safety and Toxicity of Phage Therapy: A Review of Animal and Clinical Studies. *Viruses* 13(7) doi:10.3390/v13071268
- Liu S, Quek S-Y, Huang K (2023) Advanced strategies to overcome the challenges of bacteriophage-based antimicrobial treatments in food and agricultural systems. *Crit Rev Food Sci Nutr* 64(33):12574-12598 doi:10.1080/10408398.2023.2254837
- Liu Y, Cao Y, Wang T, Dong Q, Li J, Niu C (2019) Detection of 12 common food-borne bacterial pathogens by TaqMan real-time PCR using a single set of reaction conditions. *Front Microbiol* 10:222 doi:10.3389/fmicb.2019.00222
- Lone A, Anany H, Hakeem M, et al. (2016) Development of prototypes of bioactive packaging materials based on immobilized bacteriophages for control of growth of bacterial pathogens in foods. *Int J Food Microbiol* 217:49-58 doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2015.10.011
- Lu T, Marmion M, Ferone M, Wall P, Scannell AGM (2020) On farm interventions to minimise *Campylobacter* spp. contamination in chicken. *British poultry science* doi:10.1080/00071668.2020.1813253
- Lu TK, Koeris MS (2011) The next generation of bacteriophage therapy. *Curr Opin Microbiol* 14(5):524-531 doi:10.1016/j.mib.2011.07.028

- Luong T, Salabarria AC, Roach DR (2020) Phage Therapy in the Resistance Era: Where Do We Stand and Where Are We Going? *Clin Ther* 42(9):1659-1680 doi:10.1016/j.clinthera.2020.07.014
- Machado KIA, Roquette AR, Moura CS, de Souza Lopes A, Cristianini M, Amaya-Farfan J (2019) Comparative impact of thermal and high isostatic pressure inactivation of gram-negative microorganisms on the endotoxic potential of reconstituted powder milk. *Lwt* 106:78-82 <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.02.064>
- Mahony J, Casey E, van Sinderen D (2020) The Impact and Applications of Phages in the Food Industry and Agriculture. *Viruses* 12(2) doi:10.3390/v12020210
- Maniloff J, Ackermann H-W (1998) Taxonomy of bacterial viruses: establishment of tailed virus genera and the other Caudovirales. *Archives of virology* 143(10):2051-2063 <https://doi.org/10.1007/s007050050442>
- Mäntynen S, Sundberg L-R, Oksanen HM, Poranen MM (2019) Half a century of research on membrane-containing bacteriophages: bringing new concepts to modern virology. *Viruses* 11(1):76 <https://doi.org/10.3390/v11010076>
- Mattila S, Ruotsalainen P, Jalasvuori M (2015) On-demand isolation of bacteriophages against drug-resistant bacteria for personalized phage therapy. *Front Microbiol* 6:1271 doi:10.3389/fmicb.2015.01271
- McCallin S, Alam Sarker S, Barretto C, et al. (2013) Safety analysis of a Russian phage cocktail: from metagenomic analysis to oral application in healthy human subjects. *Virology* 443(2):187-96 doi:10.1016/j.virol.2013.05.022
- McCallin S, Sarker SA, Sultana S, Oechslin F, Brussow H (2018) Metagenome analysis of Russian and Georgian Pyophage cocktails and a placebo-controlled safety trial of single phage versus phage cocktail in healthy *Staphylococcus aureus* carriers. *Environ Microbiol* 20(9):3278-3293 doi:10.1111/1462-2920.14310
- McGee LW, Barhoush Y, Shima R, Hennessy M (2023) Phage-resistant mutations impact bacteria susceptibility to future phage infections and antibiotic response. *Ecol Evol* 13(1):e9712 doi:10.1002/ece3.9712
- McKitterick AC, Seed KD (2018) Anti-phage islands force their target phage to directly mediate island excision and spread. *Nat Commun* 9(1):2348 doi:10.1038/s41467-018-04786-5
- Meaden S, Koskella B (2013) Exploring the risks of phage application in the environment. *Front Microbiol* 4:358 doi:10.3389/fmicb.2013.00358
- Meaden S, Paszkiewicz K, Koskella B (2015) The cost of phage resistance in a plant pathogenic bacterium is context-dependent. *Evolution* 69(5):1321-8 doi:10.1111/evo.12652
- Mills S, Ross RP, Hill C (2017) Bacteriocins and bacteriophage; a narrow-minded approach to food and gut microbiology. *FEMS Microbiol Rev* 41(Supp_1):S129-153 doi:10.1093/femsre/fux022
- Miyamoto K, Nagahama M (2016) Clostridium: Food Poisoning by Clostridium perfringens. In: Caballero B, Finglas PM, Toldrá F (eds) *Encyclopedia of Food and Health*. Academic Press, Oxford, p 149-154
- Moran AP (2010) The role of endotoxin in infection: Helicobacter pylori and Campylobacter jejuni. *Sub-cellular biochemistry* 53:209-40 doi:10.1007/978-90-481-9078-2_10
- Moreira AP, Texeira TF, Ferreira AB, Peluzio Mdo C, Alfenas Rde C (2012) Influence of a high-fat diet on gut microbiota, intestinal permeability and metabolic endotoxaemia. *The British journal of nutrition* 108(5):801-9 doi:10.1017/s0007114512001213
- Motlagh AM, Bhattacharjee AS, Goel R (2016) Biofilm control with natural and genetically-modified phages. *World journal of microbiology & biotechnology* 32(4):67 doi:10.1007/s11274-016-2009-4
- Moye ZD, Woolston J, Sulakvelidze A (2018) Bacteriophage applications for food production and processing. *Viruses* 10(4):205 doi:10.3390/v10040205
- Munford RS (2016) Endotoxemia—menace, marker, or mistake? *Journal of Leukocyte Biology* 100(4):687-698 doi:https://doi.org/10.1189/jlb.3RU0316-151R

- Muniesa M, Hammerl JA, Hertwig S, Appel B, Brüssow H (2012) Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4: a new challenge for microbiology. *Appl Environ Microbiol* 78(12):4065-73 doi:10.1128/aem.00217-12
- Mutalik VK, Adler BA, Rishi HS, et al. (2020) High-throughput mapping of the phage resistance landscape in *E. coli*. *PLoS Biol* 18(10):e3000877 doi:10.1371/journal.pbio.3000877
- Nádházi Z, Takáts A, Offenmüller K, Bertók L (1998) [Plasma endotoxin level in healthy blood donors]. *Orvosi hetilap* 139(48):2889-91 PMID: 9868903
- Nakoneczna A, Cooper CJ, Gryko R (2015) Bacteriophages and bacteriophage-derived endolysins as potential therapeutics to combat Gram-positive spore forming bacteria. *J Appl Microbiol* 119(3):620-31 doi:10.1111/jam.12881
- Nannapaneni R, Soni KA (2015) Use of bacteriophages to remove biofilms of *Listeria monocytogenes* and other foodborne bacterial pathogens in the food environment. *Biofilms in the Food Environment*:131-144 <https://doi.org/10.1002/9781118864036>
- Naureen Z, Dautaj A, Anpilogov K, et al. (2020) Bacteriophages presence in nature and their role in the natural selection of bacterial populations. *Acta Biomed* 91(13-S):e2020024 doi:10.23750/abm.v91i13-S.10819
- Nayfach S, Paez-Espino D, Call L, et al. (2021) Metagenomic compendium of 189,680 DNA viruses from the human gut microbiome. *Nat Microbiol* 6(7):960-970 doi:10.1038/s41564-021-00928-6
- Necel A, Bloch S, Nejman-Faleńczyk B, et al. (2021) A Validation System for Selection of Bacteriophages against Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Contamination. *Toxins* 13(9) doi:10.3390/toxins13090644
- Nguyen S, Baker K, Padman BS, et al. (2017) Bacteriophage Transcytosis Provides a Mechanism To Cross Epithelial Cell Layers. *mBio* 8(6) doi:10.1128/mBio.01874-17
- Noor R (2019) Insight to foodborne diseases: Proposed models for infections and intoxications. *BBRJ* 3(3):135-139 doi:10.4103/bbrj.bbrj_86_19
- O'Flynn G, Ross RP, Fitzgerald GF, Coffey A (2004) Evaluation of a cocktail of three bacteriophages for biocontrol of *Escherichia coli* O157:H7. *Applied and environmental microbiology* 70(6):3417-24 doi:10.1128/AEM.70.6.3417-3424.2004
- O'Sullivan L, Bolton D, McAuliffe O, Coffey A (2019) Bacteriophages in Food Applications: From Foe to Friend. *Annual review of food science and technology* 10:151-172 doi:10.1146/annurev-food-032818-121747
- Obrig TG, Seaner RM, Bentz M, et al. (2003) Induction by sphingomyelinase of shiga toxin receptor and shiga toxin 2 sensitivity in human microvascular endothelial cells. *Infect Immun* 71(2):845-849 doi:10.1128/IAI.71.2.845-849.2003
- Oh H, Seo DJ, Jeon SB, et al. (2017) Isolation and Characterization of *Bacillus cereus* Bacteriophages from Foods and Soil. *Food and environmental virology* 9(3):260-269 doi:10.1007/s12560-017-9284-6
- Olson EG, Micciche AC, Rothrock MJ, Jr., Yang Y, Ricke SC (2021) Application of Bacteriophages to Limit *Campylobacter* in Poultry Production. *Frontiers in microbiology* 12:458721 doi:10.3389/fmicb.2021.458721
- Opal SM, Scannon PJ, Vincent JL, et al. (1999) Relationship between plasma levels of lipopolysaccharide (LPS) and LPS-binding protein in patients with severe sepsis and septic shock. *The Journal of infectious diseases* 180(5):1584-9 doi:10.1086/315093
- Orquera S, Golz G, Hertwig S, et al. (2012) Control of *Campylobacter* spp. and *Yersinia enterocolitica* by virulent bacteriophages. *J Mol Genet Med* 6:273-8 doi:10.4172/1747-0862.1000049
- Page AV, Liles WC (2013) Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Infections and the Hemolytic-Uremic Syndrome. *Medical Clinics* 97(4):681-695 doi:10.1016/j.mcna.2013.04.001
- Peck MW (2006) *Clostridium botulinum* and the safety of minimally heated, chilled foods: an emerging issue? *Journal of applied microbiology* 101(3):556-570 doi:10.1111/j.1365-2672.2006.02987.x
- Pei Z, Liu Y, Chen Y, et al. (2024) A universe of human gut-derived bacterial prophages: unveiling the hidden viral players in intestinal microecology. *Gut Microbes* 16(1):2309684 doi:10.1080/19490976.2024.2309684

- Pérez Pulido R, Grande Burgos MJ, Gálvez A, Lucas López R (2016) Application of bacteriophages in post-harvest control of human pathogenic and food spoiling bacteria. *Crit Rev Biotechnol* 36(5):851-861 doi:10.3109/07388551.2015.1049935
- Peters TL, Song Y, Bryan DW, Hudson LK, Denes TG (2020) Mutant and recombinant phages selected from in vitro coevolution conditions overcome phage-resistant *Listeria monocytogenes*. *Appl Environ Microbiol* doi:10.1128/aem.02138-20
- Pinto G, Almeida C, Azeredo J (2020) Bacteriophages to control Shiga toxin-producing *E. coli* - safety and regulatory challenges. *Crit Rev Biotechnol* 40(8):1081-1097 doi:10.1080/07388551.2020.1805719
- Podlacha M, Grabowski L, Kosznik-Kawsnicka K, et al. (2021) Interactions of Bacteriophages with Animal and Human Organisms-Safety Issues in the Light of Phage Therapy. *Int J Mol Sci* 22(16) doi:10.3390/ijms22168937
- Pońska M, Sokołowska B (2019) Bacteriophages-a new hope or a huge problem in the food industry. *AIMS microbiology* 5(4):324-346 doi:10.3934/microbiol.2019.4.324
- Poullain V, Gandon S, Brockhurst MA, Buckling A, Hochberg ME (2008) The evolution of specificity in evolving and coevolving antagonistic interactions between a bacteria and its phage. *Evolution* 62(1):1-11 doi:10.1111/j.1558-5646.2007.00260.x
- Prager R, Fruth A, Busch U, Tietze E (2011) Comparative analysis of virulence genes, genetic diversity, and phylogeny of Shiga toxin 2g and heat-stable enterotoxin STIIa encoding *Escherichia coli* isolates from humans, animals, and environmental sources. *International journal of medical microbiology : IJMM* 301(3):181-91 doi:10.1016/j.ijmm.2010.06.003
- Radford D, Guild B, Strange P, Ahmed R, Lim LT, Balamurugan S (2017) Characterization of antimicrobial properties of *Salmonella* phage Felix O1 and *Listeria* phage A511 embedded in xanthan coatings on Poly(lactic acid) films. *Food microbiology* 66:117-128 doi:10.1016/j.fm.2017.04.015
- Ramirez K, Cazarez-Montoya C, Lopez-Moreno HS, Castro-Del Campo N (2018) Bacteriophage cocktail for biocontrol of *Escherichia coli* O157:H7: Stability and potential allergenicity study. *PLoS One* 13(5):e0195023 doi:10.1371/journal.pone.0195023
- Ranveer SA, Dasriya V, Ahmad MF, et al. (2024) Positive and negative aspects of bacteriophages and their immense role in the food chain. *NPJ Sci Food* 8(1):1 doi:10.1038/s41538-023-00245-8
- Rasmussen TS, Koefoed AK, Jakobsen RR, et al. (2020) Bacteriophage-mediated manipulation of the gut microbiome - promises and presents limitations. *FEMS microbiology reviews* 44(4):507-521 doi:10.1093/femsre/fuaa020
- Rasooly R, Do PM (2010) Shiga toxin Stx2 is heat-stable and not inactivated by pasteurization. *Int J Food Microbiol* 136(3):290-4 doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2009.10.005
- Rasooly R, Do PM, Griffey SM, Vilches-Moure JG, Friedman M (2010) Ingested Shiga toxin 2 (Stx2) causes histopathological changes in kidney, spleen, and thymus tissues and mortality in mice. *Journal of agricultural and food chemistry* 58(16):9281-6 doi:10.1021/jf101744z
- Rasooly R, Hernlem B, He X, Friedman M (2014) Microwave Heating Inactivates Shiga Toxin (Stx2) in Reconstituted Fat-Free Milk and Adversely Affects the Nutritional Value of Cell Culture Medium. *Journal of agricultural and food chemistry* 62(14):3301-3305 doi:10.1021/jf500278a
- Rodríguez-Rubio L, Haarmann N, Schwidder M, Muniesa M, Schmidt H (2021) Bacteriophages of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* and Their Contribution to Pathogenicity. *Pathogens (Basel, Switzerland)* 10(4) doi:10.3390/pathogens10040404
- Rosenquist H, Boysen L, Krogh AL et al. (2013) *Campylobacter* contamination and the relative risk of illness from organic broiler meat in comparison with conventional broiler meat. *Int J Food Microbiol* 162:226-230. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.01.022>
- Roth A, Franz CM, Hertwig S, et al. (2026) Limitations and safety aspects related to the use of bacteriophages in food production. *FEMS microbiology reviews*:fuag002 <https://doi.org/10.1093/femsre/fuag002>
- Rotman SG, Sumrall E, Ziadlou R, et al. (2020) Local Bacteriophage Delivery for Treatment and Prevention of Bacterial Infections. *Front Microbiol* 11:538060 doi:10.3389/fmicb.2020.538060

- Sadekuzzaman M, Mizan MFR, Yang S, Kim HS, Ha SD (2018) Application of bacteriophages for the inactivation of *Salmonella* spp. in biofilms. *Food science and technology international = Ciencia y tecnologia de los alimentos internacional* 24(5):424-433 doi:10.1177/1082013218763424
- Sadekuzzaman M, Yang S, Mizan MFR, Ha SD (2017) Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 in Biofilms Using Bacteriophage BPECO 19. *Journal of food science* 82(6):1433-1442 doi:10.1111/1750-3841.13729
- Sarker SA, Berger B, Deng Y, et al. (2017) Oral application of *Escherichia coli* bacteriophage: safety tests in healthy and diarrheal children from Bangladesh. *Environ Microbiol* 19(1):237-250 doi:10.1111/1462-2920.13574
- Sarker SA, McCallin S, Barretto C, et al. (2012) Oral T4-like phage cocktail application to healthy adult volunteers from Bangladesh. *Virology* 434(2):222-32 doi:10.1016/j.virol.2012.09.002
- Sarker SA, Sultana S, Reuteler G, et al. (2016) Oral phage therapy of acute bacterial diarrhea with two coliphage preparations: a randomized trial in children from Bangladesh. *EBioMedicine* 4:124-37 doi:10.1016/j.ebiom.2015.12.023
- Schelin J, Wallin-Carlquist N, Cohn MT, Lindqvist R, Barker GC, Rådström P (2011) The formation of *Staphylococcus aureus* enterotoxin in food environments and advances in risk assessment. *Virulence* 2(6):580-92 doi:10.4161/viru.2.6.18122
- Schmidt H, Bielaszewska M, Karch H (1999) Transduction of enteric *Escherichia coli* isolates with a derivative of Shiga toxin 2-encoding bacteriophage phi3538 isolated from *Escherichia coli* O157:H7. *Applied and environmental microbiology* 65(9):3855-61 doi:10.1128/aem.65.9.3855-3861.1999
- Schüller S (2011) Shiga toxin interaction with human intestinal epithelium. *Toxins* 3(6):626-39 doi:10.3390/toxins3060626
- Sevilla-Navarro S, Catalá-Gregori P, García C, Cortés V, Marin C (2020) *Salmonella* Infantis and *Salmonella* Enteritidis specific bacteriophages isolated from poultry faeces as a complementary tool for cleaning and disinfection against *Salmonella*. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases* 68:101405 doi:10.1016/j.cimid.2019.101405
- Sharma S, Chatterjee S, Datta S, et al. (2017) Bacteriophages and its applications: an overview. *Folia Microbiol (Praha)* 62(1):17-55 doi:10.1007/s12223-016-0471-x
- She T, Tan D, Balcazar JL, et al. (2025) Phage-mediated horizontal transfer of *Salmonella enterica* virulence genes with regulatory feedback from the host. *iMeta* 4(4):e70042 doi:https://doi.org/10.1002/imt2.70042
- Shebs-Maurine EL, Torres ES, Yeh-Parker Y, de Mello AS (2020) Application of MS bacteriophages on contaminated trimmings reduces *Escherichia coli* O157 and non-O157 in ground beef. *Meat science* 170:108243 doi:10.1016/j.meatsci.2020.108243
- Shkoporov AN, Hill C (2019) Bacteriophages of the human gut: the "known unknown" of the microbiome. *Cell Host Microbe* 25(2):195-209 doi:10.1016/j.chom.2019.01.017
- Sieiro C, Areal-Hermida L, Pichardo-Gallardo Á, et al. (2020) A Hundred Years of Bacteriophages: Can Phages Replace Antibiotics in Agriculture and Aquaculture? *Antibiotics (Basel, Switzerland)* 9(8) doi:10.3390/antibiotics9080493
- Sillankorva SM, Oliveira H, Azeredo J (2012) Bacteriophages and their role in food safety. *Int J Microbiol* 2012:863945 doi:10.1155/2012/863945
- Singh VP (2018) Recent approaches in food bio-preservation-a review. *Open veterinary journal* 8(1):104-111 https://doi.org/10.4314/ovj.v8i1.16
- Skorynina AV, Pilgrimova EG, Kazantseva OA, et al. (2020) *Bacillus*-infecting bacteriophage Izhevsk harbors thermostable endolysin with broad range specificity. *PloS one* 15(11):e0242657 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0242657>
- Sommer J, Trautner C, Witte AK, et al. (2019) Don't Shut the Stable Door after the Phage Has Bolted-The Importance of Bacteriophage Inactivation in Food Environments. *Viruses* 11(5) doi:10.3390/v11050468

- Sorensen MCH, Vitt A, Neve H, et al. (2021) Campylobacter phages use hypermutable polyG tracts to create phenotypic diversity and evade bacterial resistance. *Cell reports* 35(10):109214 doi:10.1016/j.celrep.2021.109214
- Stone E, Campbell K, Grant I, McAuliffe O (2019) Understanding and Exploiting Phage-Host Interactions. *Viruses* 11(6) doi:10.3390/v11060567
- Suh GA, Lodise TP, Tamma PD, et al. (2022) Considerations for the Use of Phage Therapy in Clinical Practice. *Antimicrob Agents Chemother* 66(3):e0207121 doi:10.1128/AAC.02071-21
- Sumrall ET, Shen Y, Keller AP, et al. (2019) Phage resistance at the cost of virulence: *Listeria monocytogenes* serovar 4b requires galactosylated teichoic acids for InlB-mediated invasion. *PLoS Pathog* 15(10):e1008032 doi:10.1371/journal.ppat.1008032
- Sweere JM, Van Belleghem JD, Ishak H, et al. (2019) Bacteriophage trigger antiviral immunity and prevent clearance of bacterial infection. *Science (New York, NY)* 363(6434):eaat9691 doi:10.1126/science.aat9691
- Szermier-Olearnik B, Drab M, Mąkosa M, et al. (2017) Aggregation/dispersion transitions of T4 phage triggered by environmental ion availability. *J Nanobiotechnology* 15(1):32 doi:10.1186/s12951-017-0266-5
- Tetz G, Brown SM, Hao Y, Tetz V (2018) Parkinson's disease and bacteriophages as its overlooked contributors. *Sci Rep* 8(1):10812 doi:10.1038/s41598-018-29173-4
- Tetz G, Brown SM, Hao Y, Tetz V (2020) Author Correction: Parkinson's disease and bacteriophages as its overlooked contributors. *Sci Rep* 10(1):12078 doi:10.1038/s41598-020-69086-9
- Tetz G, Tetz V (2016) Bacteriophage infections of microbiota can lead to leaky gut in an experimental rodent model. *Gut Pathog* 8:33 doi:10.1186/s13099-016-0109-1
- Tetz G, Tetz V (2018) Bacteriophages as New Human Viral Pathogens. *Microorganisms* 6(2) doi:10.3390/microorganisms6020054
- Tetz GV, Ruggles KV, Zhou H, Heguy A, Tsirigos A, Tetz V (2017) Bacteriophages as potential new mammalian pathogens. *Scientific reports* 7(1):7043 doi:10.1038/s41598-017-07278-6
- Thomson N, Baker S, Pickard D, et al. (2004) The Role of Prophage-like Elements in the Diversity of *Salmonella enterica* Serovars. *Journal of Molecular Biology* 339(2):279-300 doi:https://doi.org/10.1016/j.jmb.2004.03.058
- Topka-Bielecka G, Nejman-Falenczyk B, Bloch S, et al. (2021) Phage-bacteria interactions in potential applications of bacteriophage vB_EfaS-271 against *Enterococcus faecalis*. *Viruses* 13(2) doi:10.3390/v13020318
- Torres-Acosta MA, Clavijo V, Vaglio C, Gonzalez-Barrios AF, Vives-Florez MJ, 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 doi:10.1002/btpr.2852
- Tóth I, Schmidt H, Dow M, Malik A, Oswald E, Nagy B (2003) Transduction of porcine enteropathogenic *Escherichia coli* with a derivative of a shiga toxin 2-encoding bacteriophage in a porcine ligated ileal loop system. *Applied and environmental microbiology* 69(12):7242-7 doi:10.1128/aem.69.12.7242-7247.2003
- Tozzoli R, Grande L, Michelacci V, et al. (2014) Shiga toxin-converting phages and the emergence of new pathogenic *Escherichia coli*: a world in motion. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 4 doi:10.3389/fcimb.2014.00080
- Tran SL, Jenkins C, Livrelli V, Schuller S (2018) Shiga toxin 2 translocation across intestinal epithelium is linked to virulence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in humans. *Microbiology (Reading)* 164(4):509-516 doi:10.1099/mic.0.000645
- Truchado P, Elsser-Gravesen A, Gil MI, Allende A (2020) Post-process treatments are effective strategies to reduce *Listeria monocytogenes* on the surface of leafy greens: A pilot study. *Int J Food Microbiol* 313:108390 doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108390
- Tsuei A-C, Carey-Smith GV, Hudson JA, Billington C, Heinemann JA (2007) Prevalence and numbers of coliphages and *Campylobacter jejuni* bacteriophages in New Zealand foods. *International journal of food microbiology* 116(1):121-125 <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.12.028>

- Turner D, Kropinski AM, Adriaenssens EM (2021) A roadmap for genome-based phage taxonomy. *Viruses* 13(3):506 <https://doi.org/10.3390/v13030506>
- Twort FW (1915) An investigation on the nature of ultra-microscopic viruses. *Lancet* 186:1241-1243 [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(01\)20383-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(01)20383-3)
- Ushanov L, Lasareishvili B, Janashia I, Zautner AE (2020) Application of Campylobacter jejuni Phages: Challenges and Perspectives. *Animals : an open access journal from MDPI* 10(2) doi:10.3390/ani10020279
- Van Der Woude MW, Bäumlér AJ (2004) Phase and antigenic variation in bacteria. *Clinical microbiology reviews* 17(3):581-611 <https://doi.org/10.1128/cmr.17.3.581-611.2004>
- Vengarai Jagannathan B, Kitchens S, Vijayakumar PP, Price S, Morgan M (2020) Potential for Bacteriophage Cocktail to Complement Commercial Sanitizer Use on Produce Against Escherichia coli O157:H7. *Microorganisms* 8(9) doi:10.3390/microorganisms8091316
- Venturini C, Petrovic Fabijan A, Fajardo Lubian A, Barbirz S, Iredell J (2022) Biological foundations of successful bacteriophage therapy. *EMBO Mol Med* 14(7):e12435 doi:10.15252/emmm.202012435
- Viazis S, Akhtar M, Feirtag J, Diez-Gonzalez F (2011) Reduction of Escherichia coli O157:H7 viability on leafy green vegetables by treatment with a bacteriophage mixture and trans-cinnamaldehyde. *Food microbiology* 28(1):149-57 doi:10.1016/j.fm.2010.09.009
- Vikram A, Tokman JI, Woolston J, Sulakvelidze A (2020) Phage Biocontrol Improves Food Safety by Significantly Reducing the Level and Prevalence of Escherichia coli O157:H7 in Various Foods. *J Food Prot* 83(4):668-676 doi:10.4315/0362-028x.jfp-19-433
- Vikram A, Woolston J, Sulakvelidze A (2021) Phage biocontrol applications in food production and processing. *Curr Issues Mol Biol* 40:267-302 doi:10.21775/cimb.040.267
- Vogel RF, Hammes WP, Habermeyer M, Engel K-H, Knorr D, Eisenbrand G (2011) Microbial food cultures – opinion of the Senate Commission on Food Safety (SKLM) of the German Research Foundation (DFG). *Molecular nutrition & food research* 55(4):654-662 doi:https://doi.org/10.1002/mnfr.201100010
- von Strempel A, Weiss AS, Wittmann J, et al. (2022) Bacteriophages targeting protective commensals impair resistance against *Salmonella* Typhimurium infection in gnotobiotic mice. *bioRxiv*:2022.09.28.509654 doi:10.1101/2022.09.28.509654
- Waddell TE, Franklin K, Mazzocco A, Kropinski AM, Johnson RP (2009) Generalized transduction by lytic bacteriophages. In: Clokie MRJ, Kropinski AM (eds) *Bacteriophages: methods and protocols, Vol 1: isolation, characterization, and interactions*. Humana Press, Totowa, NJ, p 293-303
- Wagner PL, Livny J, Neely MN, Acheson DW, Friedman DI, Waldor MK (2002) Bacteriophage control of Shiga toxin 1 production and release by Escherichia coli. *Mol Microbiol* 44(4):957-70 doi:10.1046/j.1365-2958.2002.02950.x
- Wahl A, Battesti A, Ansaldi M (2019) Prophages in Salmonella enterica: a driving force in reshaping the genome and physiology of their bacterial host? *Molecular microbiology* 111(2):303-316 doi:10.1111/mmi.14167
- Wichman HA, Millstein J, Bull JJ (2005) Adaptive molecular evolution for 13,000 phage generations: a possible arms race. *Genetics* 170(1):19-31 doi:10.1534/genetics.104.034488
- Wolput S, Lood C, Fillol-Salom A, et al. (2024) Phage-host co-evolution has led to distinct generalized transduction strategies. *Nucleic Acids Research* 52(13):7780-7791 doi:10.1093/nar/gkae489
- Worley J, Meng J, Allard MW, Brown EW, Timme RE (2018) Salmonella enterica Phylogeny Based on Whole-Genome Sequencing Reveals Two New Clades and Novel Patterns of Horizontally Acquired Genetic Elements. *mBio* 9(6):e02303-18 doi:doi:10.1128/mBio.02303-18
- Wu H, Wang Y, Li H, Meng L, Zheng N, Wang J (2021) Effect of Food Endotoxin on Infant Health. *Toxins* 13(5):298 <https://doi.org/10.3390/toxins13050298>
- Żaczek M, Weber-Dąbrowska B, Górski A (2020) Phages as a Cohesive Prophylactic and Therapeutic Approach in Aquaculture Systems. *Antibiotics (Basel, Switzerland)* 9(9) doi:10.3390/antibiotics9090564

- Żbikowska K, Michalczuk M, Dolka B (2020) The Use of Bacteriophages in the Poultry Industry. *Animals* : an open access journal from MDPI 10(5) doi:10.3390/ani10050872
- Zhang J, Kraft BL, Pan Y, Wall SK, Saez AC, Ebner PD (2010) Development of an anti-Salmonella phage cocktail with increased host range. *Foodborne Pathog Dis* 7(11):1415-9 doi:10.1089/fpd.2010.0621

Anhang 1

Lebensmittel relevante Bakterienpezies sowie Phagencocktails/Phagenisolate und ihre Anwendung auf verschiedenen Lebensmitteln im Postharvest-Sektor

Postharvest		
Bakterienspezies	Kommerzielle Phagenprodukte für den Lebensmittelbereich in Anwendung oder Erprobung)	Lebensmittel in wissenschaftlicher Testung mit Phagenisolaten
<i>Escherichia coli</i>	EcoShield™, PhageGuard E™, (Secure Shield E1, Vermarktung nicht sicher bestätigt)	Wurstwaren, Rohmilch, UHT-Milch, Milchpulver, RTE*-Produkte
	Tomaten, Brokkoli, Spinat, Melonenstücke, Salat, Kopfsalat, grünes Blattgemüse, Erdbeeren, (rohes) Rindfleisch, Rindfleischfilet, Rinderhack, Hühnerbrust, gekochtes Huhn, Lachs	
<i>Salmonella spp.</i>	SalmoFresh™ (früher Salmoshield), SalmoLyse®, PhageGuard S™ (ehemals Salmonalex), Applied Phage Meat S2, Applied Phage Vegetable S2, S. Enteritidis Phage Prep. (Chinese product) SalmoPro™, Biotector®S1, Biotector®S4	Schlachtkörper Huhn und Truthahn, Hühnerhaut, geschnittene Truthahnbrust, Geflügelwürstchen, Rohmilchkäse, Käse, Melonenstücke, Apfelstücke, Fruchtsaft, Apfelsaft, Sprossen. Schokoladenmilch, gemischte Meeresfrüchte, Hotdogs, Blattsalat, Hühnerbrust, entrahmte und Vollmilch, flüssiges Ei, Schweinemett, frische Eier, Schweinehaut, Milch ¹ , RTE*-Fleisch, RTE-Produkte ² , rohes und gekochtes Rindfleisch ³
	Hühnerbrustfilet, Hühnerbrust, Hühnerflügel und –beine, Rinderhack, Geflügelprodukte mit und ohne Haut, Milch, Blattsalat, Gurke, Sprossen	
<i>Shigella spp.</i>	ShigaShield™	Fleisch, Rinderhackfleisch (<i>Shigella flexneri</i>) ⁴
	Vorgekochtes Hühnchenfleisch, gewürzte Hühnerstücke, geräucherter Lachs, Cornedbeef, Blattsalat, Melone, RTE*-Lebensmittel	
<i>Listeria monocytogenes</i>	ListShield™, PhageGuard L™ (früher Listex P 100)	Huhn in Vakuumverpackung, Meeresfrüchte ⁶ , gekochtes Fleisch ⁷
	Käse, gereifter Rotschmierkäse, Mozzarellaabruhe, Schlachtkörper vom Huhn, geschnittenes Truthahnfleisch, geschnittener Schweineschinken, Hotdogs, geräucherter Lachs, gemischte Meeresfrüchte, rohes Fischfilet, Melonenstücke,	

Postharvest		
Bakterienspezies	Kommerzielle Phagenprodukte für den Lebensmittelbereich in Anwendung oder Erprobung)	Lebensmittel in wissenschaftlicher Testung mit Phagenisolaten
	Apfelstücke, Pfirsichstücke, Orangensaft, geschnittener Kohl, Eisbergsalatblätter, Krautsalat ⁵ , Kakaomilch, RTE*-Roastbeef, RTE*-Produkte	
<i>Campylobacter jejuni</i>	Campyshield™ Ganze rohe Geflügelkörper und -teile, rohes Rind- und Schweinefleisch	Rohes und gekochtes Rindfleisch ³ , rohes Huhn- und Schweinefleisch ⁸ , Hühnerhaut ⁹
<i>Yersinia enterocolitica</i>		RTE*-Produkte, rohes Huhn- und Schweinefleisch ⁸ , rohes Schweinehackfleisch, gegrillte Schweinelende und Milch ^{10, 11} , rohes Fleisch und Milch ¹²
<i>Staphylococcus aureus</i>		Rindfleisch, Gemüse, Quark, Käse, Rohmilch u. Milch ¹³
<i>Enterobacter ludwigii</i>		Minimal prozessierte pflanzliche Produkte ¹⁴
<i>Enterobacter cloacae</i>		Minimal prozessierte pflanzliche Produkte ¹⁴
<i>Citrobacter freundii</i>		Minimal prozessierte pflanzliche Produkte ¹⁴
<i>Cronobacter sakazakii</i>		Säuglingsmilch ¹⁵
<i>Bacillus cereus</i>		Sojabohnenpaste ¹⁶ , Reis und Milch ^{17, 18} , Kartoffelbrei ¹⁹
<i>Bacillus weihenstephanensis</i>		Milch und Milchreis ²⁰
<i>Brochothrix thermosphacta</i>		Schweinstücke, Fleischmodelle (Schweinefettgewebe) ²¹ , Fleisch und Fleischprodukte ²² , Fisch und Meeresfrüchte ²³
<i>Enterococcus faecalis</i>		Milchprodukte ²⁴

Bisher keine kommerziellen Phagenpräparate zur Anwendung auf Lebensmitteln

Postharvest		
Bakterienspezies	Kommerzielle Phagenprodukte für den Lebensmittelbereich in Anwendung oder Erprobung)	Lebensmittel in wissenschaftlicher Testung mit Phagenisolaten
<i>Serratia</i>		minimal prozessierte pflanzliche Produkte (<i>Serratia fonticola</i>) ¹⁴ , Makrelenfilet (Verderb, <i>Serratia fonticola</i> und <i>S. proteamaculans</i>) ²⁵
<i>Vibrio cholerae</i>		Lachs und Muscheln ⁴ , Fischfilet und Schrimp-Fleisch ²⁶
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>		Meeresfrüchte, rohe RTE*-Fischprodukte ²⁷ , Lachsfilet ²⁸ , Austern ^{29, 30} , Muscheln ³¹ , Flußkrebs ³²
<i>Vibrio vulnificus</i>		Potential für Austern ³³ , Seeohr (Abalone) ³⁴
<i>Vibrio alginolyticus</i>		Garnelen, Tintenfisch und Lachs ³⁵
<i>Pseudomonas fluorescens</i>		Hühnerbrustfilet ³⁶ , Milch ^{37, 38} , Potential für Rohmilch und Milchprodukte ^{39, 40}
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		Pasteurisierte Milch ⁴¹ , Käse ⁴² , Milch und Rindfleischextrakt ⁴³

*RTE: ready to eat

Ein Überblick über Reviews, die Phagencocktails und Phagenisolate thematisieren, siehe auch Anhang 3: Supplementary Material (Roth et al. 2026)

Daten der Tabelle aus folgenden Reviews:

Goodridge et al., 2011; Cooper et al., 2016; Kazi and Annapure, 2016; Moye et al., 2018; Sommer et al., 2019; O'Sullivan et al., 2019; Endersen und Coffey, 2020; Ngene et al., 2020; Lewis et al., 2020; Vikram et al., 2021 (Siehe Referenzen)

Weitere Daten der Tabelle aus folgenden Publikationen:

- Phongtang, W., et al., *Bacteriophage control of Salmonella Typhimurium in milk*. Food Sci Biotechnol, 2019. **28**(1): p. 297-301.
- Guenther, S., et al., *Biocontrol of Salmonella Typhimurium in RTE foods with the virulent bacteriophage FO1-E2*. Int. J. Food Microbiol., 2012. **154**(1-2): p. 66-72.
- Bigwood, T., et al., *Phage inactivation of foodborne pathogens on cooked and raw meat*. Food Microbiology, 2008. **25**(2): p. 400-406.
- Ahmadi, H., et al., *Biocontrol of Shigella flexneri in ground beef and Vibrio cholerae in seafood with bacteriophage-assisted high hydrostatic pressure (HHP) treatment*. Food and Bioprocess Technology, 2015. **8**(5): p. 1160-1167.
- Lewis, R., et al., *The effect of a commercially available bacteriophage and bacteriocin on Listeria monocytogenes in coleslaw*. Viruses, 2019. **11**(11): p. 977.
- Lasagabaster, A., et al., *Bacteriophage biocontrol to fight Listeria outbreaks in seafood*. Food Chem Toxicol, 2020. **145**: p. 111682.

7. Ahmadi, H., et al., *Examination of the use of bacteriophage as an additive and determining its best application method to control Listeria monocytogenes in a cooked-meat model system*. Front. Microbiol., 2020. **11**: p. e779.
8. Orquera, S., et al., *Control of Campylobacter spp. and Yersinia enterocolitica by virulent bacteriophages*. J Mol Genet Med, 2012. **6**: p. 273-8.
9. Olson, E.G., et al., *Application of Bacteriophages to Limit Campylobacter in Poultry Production*. Front Microbiol, 2021. **12**: p. 458721.
10. Jun, J.W., et al., *Bacteriophages reduce Yersinia enterocolitica contamination of food and kitchenware*. Int. J. Food Microbiol., 2018. **271**: p. 33-47.
11. Leon-Velarde, C.G., J.W. Jun, and M. Skurnik, *Yersinia phages and food safety*. Viruses, 2019. **11**(12): p. 1105.
12. Wang, Z., et al., *Characterization of a novel phage vB_YenP_WW2 for the inhibition against Yersinia enterocolitica biofilm and application in raw meat and milk*. Int J Food Microbiol, 2026. **444**: p. 111468.
13. Gharieb, R.M.A., et al., *Characterization of two novel lytic bacteriophages for reducing biofilms of zoonotic multidrug-resistant Staphylococcus aureus and controlling their growth in milk*. LWT, 2020. **124**: p. 109145.
14. Wójcicki, M., et al., *Characterization and Genome Study of Novel Lytic Bacteriophages against Prevailing Saprophytic Bacterial Microflora of Minimally Processed Plant-Based Food Products*. International Journal of Molecular Sciences, 2021. **22**(22): p. 12460.
15. Endersen, L., et al., *Investigating the biocontrol and anti-biofilm potential of a three phage cocktail against Cronobacter sakazakii in different brands of infant formula*. Int J Food Microbiol, 2017. **253**: p. 1-11.
16. Shin, H., et al., *Prevalence of Bacillus cereus bacteriophages in fermented foods and characterization of phage JBP901*. Research in Microbiology, 2011. **162**(8): p. 791-797.
17. Li, Y., et al., *Isolation and characteristic of Bacillus cereus phage Z3 and its application in rice and milk*. LWT, 2024. **198**: p. 116022.
18. Tan, S., et al., *Characterization of the novel phage vB_BceP_LY3 and its potential role in controlling Bacillus cereus in milk and rice*. International Journal of Food Microbiology, 2024. **421**: p. 110778.
19. Lee, W.J., et al., *Isolation and characterization of phages infecting Bacillus cereus*. Lett Appl Microbiol, 2011. **52**(5): p. 456-64.
20. Hock, L., et al., *Biocontrol potential of phage Deep-Blue against psychrotolerant Bacillus weihenstephanensis*. Food Control, 2019. **102**: p. 94-103.
21. Greer, G.G. and B.D. Diltz, *Control of Brochothrix thermosphacta spoilage of pork adipose tissue using bacteriophages*. J. Food Prot., 2002. **65**(5): p. 861-863.
22. Karaynir, A., et al., *Isolation and characterization of Brochothrix phage ADU4*. Virus Res, 2022. **321**: p. 198902.
23. Tang, A.-q., et al., *Isolation, characterization and application of a novel bacteriophage BtpYZU01 against Brochothrix thermosphacta in aquatic products*. LWT, 2023. **182**: p. 114774.
24. El-Telbany, M., et al., *Potential application of phage vB_EfKS5 to control Enterococcus faecalis and its biofilm in food*. AMB Express, 2023. **13**(1): p. 130.
25. Hernández, I., *Bacteriophages against Serratia as fish spoilage control technology*. Frontiers in microbiology, 2017. **8**: p. 449.
26. Hao, Q., et al., *Screening and Identification of Vibrio cholerae Bacteriophages VC3 and Its Role in the Inhibition and Removal of Biofilms in Seafood*. Foodborne Pathog Dis, 2025.
27. You, H.J., et al., *Tackling Vibrio parahaemolyticus in ready-to-eat raw fish flesh slices using lytic phage VPT02 isolated from market oyster*. Food Research International, 2021. **150**: p. 110779.
28. Zheng, X., et al., *Control of Vibrio parahaemolyticus in Seafood Using the Combination of Lytic Phages and Citric Acid*. Foods, 2025. **14**(1): p. 37.
29. Jun, J.W., et al., *Eating oysters without risk of vibriosis: application of a bacteriophage against Vibrio parahaemolyticus in oysters*. International journal of food microbiology, 2014. **188**: p. 31-35.
30. Zhang, H., et al., *Application of a phage in decontaminating Vibrio parahaemolyticus in oysters*. Int J Food Microbiol, 2018. **275**: p. 24-31.
31. Chang, H.-J., et al., *Growth inhibitory effect of bacteriophages isolated from western and southern coastal areas of Korea against Vibrio parahaemolyticus in Manila clams*. Applied Biological Chemistry, 2016. **59**(3): p. 359-365.

32. Teng, L., et al., *Phage controlling method against novel freshwater-derived Vibrio parahaemolyticus in ready-to-eat crayfish (Procambarus clarkii)*. Food Res Int, 2022. **162**(Pt A): p. 111986.
33. Pelon, W., R.B. Luftig, and K.H. Johnston, *Vibrio vulnificus Load Reduction in Oysters after Combined Exposure to Vibrio vulnificus–Specific Bacteriophage and to an Oyster Extract Component†*. Journal of Food Protection, 2005. **68**(6): p. 1188-1191.
34. Kim, H.J., et al., *Characterization of bacteriophage VVP001 and its application for the inhibition of Vibrio vulnificus causing seafood-borne diseases*. Food Microbiology, 2020. **94**: p. 103630.
35. Xu, J., et al., *Reduction of Vibrio alginolyticus Contamination in Raw Seafood by a Novel Phage vB_Va_ZWPVA056*. Journal of Food Protection, 2025: p. 100672.
36. Alves, D., et al., *Bacteriophage ϕ IBB-PF7A loaded on sodium alginate-based films to prevent microbial meat spoilage*. Int J Food Microbiol, 2019. **291**: p. 121-127.
37. Tayyarcı, E.K. and I.H. Boyacı, *Isolation, characterization, and application of bacteriophage cocktails for the biocontrol of Pseudomonas fluorescens group strains in whole and skimmed milk*. Brazilian Journal of Microbiology, 2023. **54**(4): p. 3061-3071.
38. Qin, X., et al., *Psychrophilic phage phiGM22-3 efficiently controls Pseudomonas fluorescens contamination in cold-stored milk*. International journal of food microbiology, 2024. **411**: p. 110525.
39. Yuan, L., et al., *Effectiveness of a bacteriophage YZU_PF006 in controlling dairy spoilage caused by Pseudomonas fluorescens*. Journal of Dairy Science, 2025. **108**(2): p. 1326-1338.
40. do Nascimento, E.C., et al., *Lytic bacteriophages UFJF_PfDIW6 and UFJF_PfSW6 prevent Pseudomonas fluorescens growth in vitro and the proteolytic-caused spoilage of raw milk during chilled storage*. Food Microbiology, 2022. **101**: p. 103892.
41. Aghajani, M., et al., *Isolation and Characterization of Phage Cocktails (Phps1+ Phps4) with Broad Lytic Activity Against Multidrug-Resistant Pseudomonas aeruginosa Strain PSM01, Isolated from Dairy Products*. microbiology, 2025. **5**: p. 6.
42. Khan, A. and H. Joshi, *Isolation and Characterization of Stress-Tolerant Bacteriophages for Effective Biocontrol of Foodborne Pathogen*. Food and Bioprocess Technology, 2025. **18**(8): p. 7443-7457.
43. Yang, X., et al., *A new type of Pseudomonas aeruginosa phage with potential as a natural food additive for eradicating biofilms and combating multidrug-resistant strains*. Food Control, 2025. **168**: p. 110888.

Anhang 2

Bakterienpezies sowie Phagencocktails/Phagenisolate und ihre Anwendung in verschiedenen Einsatzbereichen im Preharvest-Sektor

Preharvest		
Bakterienspezies	Einsatzbereiche kommerzieller Produkte in Anwendung oder Erprobung	Einsatzbereiche von Phagenisolaten in wissenschaftlicher Testung
<i>Escherichia coli</i>	EcolicidePX™, Finalyse®	Blattoberflächen (Biokontrolle), Geflügel, Schaf (therapeutisch)
	Haut von Kälbern vor Schlachtung, Geflügelverarbeitung (therapeutisch: Atemwege bei Geflügel; Kolitis bei Schaf)	
<i>Salmonella spp.</i>	BAFASAL®, SalmoFREE®, PLSV-1™	Gegen <i>Salmonella enteritidis</i> für lebende Hühner (therapeutisch), Schwein, (intestinal zur Biokontrolle (therapeutisch), Schweinegülle zur Keimreduktion auf Pflanzen (Biokontrolle)
	Lebende Hühner (intestinal zur Biokontrolle, nicht therapeutisch)	
<i>Campylobacter jejuni</i>	Campyshield™	Lebende Hühner (intestinal zur Biokontrolle, auch therapeutisch)
	Lebende Hühner (intestinal zur Biokontrolle und therapeutisch)	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Bisher keine kommerziellen Phagenpräparate	Rind (therapeutisch)
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	VibrioShield (in Entwicklung)	Aquakulturen ¹
<i>Vibrio anguillarum</i> <i>Vibrio harveyi</i>	iPhage-V	Fisch, Krabben (therapeutisch)
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> und weitere in Aquakulturen	
<i>Clostridium perfringens</i>	INT-401™	Geflügel (therapeutisch, nekrotische Enteritis)
	Geflügel (therapeutisch, nekrotische Enteritis)	
<i>Pectobacterium atrosepticum</i>	Biolys®-PB (<i>Pectobacterium spp.</i>)	Kartoffelknolle (Lagerung) ²
	Kartoffelabpackung	
<i>Dickeya solani</i>	Bisher keine kommerziellen Phagenpräparate	Kartoffel ³
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bisher keine kommerziellen Phagenpräparate	Auf Pflanzen/Tieren vor Ernte/ Schlachtung, Aquakulturen
<i>Pseudomonas plecoglossicida</i>	Bisher keine kommerziellen Phagenpräparate	Fisch (therapeutisch)
<i>Aeromonas</i>	Bafador®	-
	Aquakulturen (therapeutisch)	
<i>Xanthomonas campestris</i> , <i>vesicatoria</i> , <i>citri</i> und <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i>	Agriphage™	Verderb von Kohl (gegen Xanthomonas)
	Ersatz für Bakterizide auf Pfeffer und Tomaten	
<i>Xanthomonas citri</i> subsp. <i>citri</i>	Agriphage™ CC	-
	Zitruskrebs	

Preharvest		
Bakterienspezies	Einsatzbereiche kommerzieller Produkte in Anwendung oder Erprobung	Einsatzbereiche von Phagenisolaten in wissenschaftlicher Testung
<i>Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis</i>	Agriphage™CMM	-
	Tomatenkrebs	
<i>Erwinia amylovora</i>	Agriphage™, FireBligh, Erwiphage PLUS	-
	Äpfel- und Pfirsichbaum-feuerbrand	

Zusammengefasst aus: Goodridge et al., 2011; Cooper et al., 2016; Kazi and Annapure, 2016; Moye et al., 2018; Sommer et al., 2019; O'Sullivan et al., 2019; Endersen und Coffey, 2020; Ngene et al., 2020; Lewis et al., 2020; Vikram et al., 2021; siehe auch Anhang 3: Supplementary Material (Roth et al. 2026)

Weitere Daten der Tabelle aus:

1. Yin, Yujie, et al. "Bacteriophage potential against *Vibrio parahaemolyticus* biofilms." *Food Control* 98 (2019): 156-163.
2. Carstens, Alexander Byth, et al. "A novel six-phage cocktail reduces *Pectobacterium atrosepticum* soft rot infection in potato tubers under simulated storage conditions." *FEMS Microbiology Letters* 366.9 (2019): fnz101.
3. Carstens, Alexander B., et al. "Unlocking the potential of 46 new bacteriophages for biocontrol of *Dickeya solani*." *Viruses* 10.11 (2018): 621.

Für eine Übersicht über Phagen gegen Pflanzenkrankheiten siehe Holtappels et al., 2019. Weitere Erreger von verschiedenen Nutzpflanzen, die durch Phagen bekämpft werden können, sind *Pantoea stewartii*, *Ralstonia solanacearum*, *Xylella fastidiosa*, *Xanthomonas axonopodis* and *Pseudomonas syringae*

Anhang 3

Supplementary Material aus Roth et al. 2026

Overview of 52 reviews on phage application in the food sector. The topics essential for the use of phages in the food sector are identified by different symbols. (✓: presented comprehensively; ✓: presented, ✓: presented briefly or in excerpts; - : not subject of the review (*¹referred as “reduction of pathogens”; *²referred as “prevention of spoilage”; *³referred as “decontamination of surfaces in animal housing and production facilities”; *⁴single phages or phage mixtures characterised; *⁵phage cocktails, commercially available)

1. Pre-harvest a) therapy b) bacteria load reduction 2. Post-harvest			Biocontrol* ¹ Biopreservation* ² Packaging Biosanitation* ³ Reduction of biofilms					Relevant bacterial strains of the food sector	Isolated phages* ⁴ / Phage* ⁵ cocktails / lytic phage enzymes	MOI / efficacy	Listed food items: general / detailed	Use along production line of food / legal classify- cation of phage use	State- ments of: FDA / EFSA	Risks / Benefits / risk analysis / research needs	Human phage therapy / micro- biom of intestine	Biology of phages / History of phage use	Reference
a)	b)																
✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓ / ✓ / -	✓ / ✓	✓ / ✓	✓ / -	- / -	✓ / ✓ / - / -	- / -	✓ / ✓	(Amjad et al. 2024)
-	-	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓ / ✓ / ✓	✓ / ✓	✓ / -	✓ / -	✓ / -	✓ / ✓ / ✓ / ✓	✓ / -	✓ / ✓	(Brovko, Anany and Griffiths 2012)
-	✓	✓	✓	-	-	✓	✓	✓	✓ / ✓ / -	✓ / ✓	✓ / ✓	✓ / -	- / -	- / ✓ / - / -	- / -	✓ / -	(Bumunang et al. 2023)
✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓ / ✓ / ✓	- / ✓	✓ / ✓	✓ / -	✓ / -	✓ / ✓ / - / -	✓ / -	- / ✓	(Chaudhary et al. 2024)
✓	✓	✓	✓	-	✓	-	✓	✓	- / ✓ / ✓	✓ / ✓	✓ / -	✓ / -	✓ / -	✓ / ✓ / - / ✓	- / -	- / ✓	(Cooper 2016)
✓	✓	✓	✓	✓	-	✓	-	✓	✓ / ✓ / -	✓ / ✓	- / -	✓ / ✓	✓ / ✓	- / ✓ / - / ✓	- / -	✓ / ✓	(Costa et al. 2023)

1. Pre-harvest a) therapy b) bacteria load reduction 2. Post-harvest			Biocontrol* ¹ Biopreservation* ² Packaging Biosanitation* ³ Reduction of biofilms					Relevant bacterial strains of the food sector	Isolated phages* ⁴ / Phage* ⁵ cocktails / lytic phage enzymes	MOI / efficacy	Listed food items: general / detailed	Use along production line of food / legal classifi- cation of phage use	State- ments of: FDA / EFSA	Risks / Benefits / risk analysis / research needs	Human phage therapy / micro- biom of intestine	Biology of phages / History of phage use	Reference
1.		2.															
a)	b)																
✓	-	-	✓	✓	-	✓	✓	✓	- / ✓ / -	- / ✓	✓ / ✓	✓ / -	- / -	✓ / ✓ / - / -	- / -	✓ / ✓	(Cristobal-Cueto et al. 2021)
✓	-	✓	✓	-	✓	-		✓	✓ / ✓ / -	- / -	- / -	- / -	✓ / -	✓ / ✓ / ✓ / -	✓ / -	- / ✓	(de Melo, Levesque and Moineau 2018)
-	-	-	✓	-	✓	-	✓	✓	✓ / - / ✓	- / -	- / -	- / -	✓ / -	- / - / - / -	✓ / -	- / ✓	(El-Shibiny and El-Sahhar 2017)
✓	✓	✓	✓	✓	-	✓	✓	✓	✓ / ✓ / -	- / ✓	✓ / -	✓ / -	✓ / -	✓ / ✓ / ✓ / -	- / -	✓ / ✓	(Endersen et al. 2014)
✓	✓	✓	✓	✓	-	-	-	✓	✓ / ✓ / ✓	✓ / ✓	✓ / -	✓ / -	✓ / -	✓ / ✓ / - / -	- / -	- / -	(Endersen and Coffey 2020)
✓	✓	✓	✓	✓	-	✓	-	✓	✓ / ✓ / ✓	- / -	- / -	✓ / ✓	✓ / -	✓ / ✓ / - / -	- / -	✓ / ✓	(Fernandez et al. 2018)
-	-	-	✓	✓	-	-	✓	✓	- / - / -	- / -	- / ✓	✓ / -	- / -	✓ / ✓ / ✓ / ✓	- / -	- / -	(Fister et al. 2019)
✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	- / - / -	✓ / ✓	✓	✓ / -	✓ / -	✓ / ✓ / ✓ / ✓	- / -	- / -	(García et al. 2008)
-	-	-	-	-	-	-	-	✓	✓ / ✓ / -	✓ / ✓	diary	- / -	- / -	✓ / - / - / -	- / -	✓ / -	(García-Anaya et al. 2020)
✓	✓	✓	✓	✓	-	✓	✓	✓	✓ / ✓ / ✓	- / ✓	✓ / ✓	✓ / -	✓ / -	✓ / ✓ / - / -	- / -	- / ✓	(Garvey 2022)
-	✓	✓	✓	-	-	✓	✓	✓	✓ / ✓ / ✓	✓ / ✓	✓ / ✓	✓ / -	✓ / -	✓ / ✓ / ✓ / -	- / ✓	- / -	(Ge et al. 2022)

1. Pre-harvest a) therapy b) bacteria load reduction 2. Post-harvest			Biocontrol ^{*1} Biopreservation ^{*2} Packaging Biosanitation ^{*3} Reduction of biofilms					Relevant bacterial strains of the food sector	Isolated phages ^{*4} / Phage ^{*5} cocktails / lytic phage enzymes	MOI / efficacy	Listed food items: general / detailed	Use along production line of food / legal classify- cation of phage use	State- ments of: FDA / EFSA	Risks / Benefits / risk analysis / research needs	Human phage therapy / micro- biom of intestine	Biology of phages / History of phage use	Reference
1.		2.															
a)	b)																
✓	✓	✓	✓	-	-	✓	✓	✓	✓ / ✓ / ✓	- / ✓	- / -	✓ / -	✓ / -	✓ / ✓ / - / -	- / -	✓ / ✓	(Gildea, Ayariga and Robertson 2022)
✓	✓	✓	✓	-	-	-	-	✓	✓ / ✓ / -	✓ / ✓	✓ / -	✓ / -	✓ / -	✓ / ✓ / - / ✓	- / -	- / -	(Goodridge and Bisha 2011)
✓	✓	✓	✓	✓	-	-	-	✓	- / - / -	- / ✓	✓ / -	✓ / -	- / -	✓ / ✓ / ✓ / ✓	- / -	- / -	(Greer 2005)
✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓ / ✓ / ✓	✓ / ✓	diary	✓ / ✓	- / -	- / ✓ / - / -	- / -	- / -	(Gutiérrez et al. 2019)
-	✓	✓	✓	-	-	-	-	✓	✓ / ✓ / -	✓ / ✓	✓ / ✓	✓ / -	✓ / -	✓ / ✓ / ✓ / -	- / -	✓ / -	(Hagens and Loessner 2010)
✓	-	✓	✓	-	-	-	✓	✓	✓ / ✓ / -	- / ✓	✓ / ✓	✓ / -	✓ / -	✓ / ✓ / ✓ / ✓	✓ / ✓	✓ / ✓	(Hassan et al. 2021)
-	✓	✓	✓	✓	-	✓	✓	✓	✓ / ✓ / ✓	✓ / ✓	- / -	✓ / -	- / -	✓ / ✓ / ✓ / ✓	- / -	✓ / ✓	(Hudson et al. 2005)
-	-	-	✓	-	✓		✓	✓	✓ / ✓ / -	✓ / ✓	✓ / ✓	✓ / -	✓ / ✓	✓ / ✓ / - / -	- / -	✓ / ✓	(Hyla, Dusza and Skaradzińska 2022)
-	-	✓	✓	-	✓	✓	✓	✓	✓ / ✓ / ✓	✓ / ✓	✓ / -	- / -	✓ / -	- / - / ✓ / ✓	- / -	✓ / ✓	(Imran et al. 2023)

1. Pre-harvest a) therapy b) bacteria load reduction 2. Post-harvest			Biocontrol* ¹ Biopreservation* ² Packaging Biosanitation* ³ Reduction of biofilms					Relevant bacterial strains of the food sector	Isolated phages* ⁴ / Phage* ⁵ cocktails / lytic phage enzymes	MOI / efficacy	Listed food items: general / detailed	Use along production line of food / legal classify- cation of phage use	State- ments of: FDA / EFSA	Risks / Benefits / risk analysis / research needs	Human phage therapy / micro- biom of intestine	Biology of phages / History of phage use	Reference
1.		2.															
a)	b)																
-	✓	✓	✓	✓	-	✓	✓	✓	✓ / ✓ / -	✓ / ✓	✓ / ✓	✓ / -	✓ / -	✓ / ✓ / - / -	- / -	✓ / ✓	(Jagannathan, Dakoske and Vijayakumar 2022)
✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓ / ✓ / ✓	- / ✓	- / -	- / -	✓ / -	✓ / ✓ / - / ✓	✓ / ✓	✓ / ✓	(Jaglan et al. 2022)
✓	✓	✓	✓	✓	-	✓	✓	✓	✓ / ✓ / ✓	✓ / ✓	✓ / ✓	✓ / -	- / -	- / ✓ / - / -	- / -	✓ / -	(Kazi and Annapure 2016)
✓	✓	✓	✓	-	-	-	✓	✓	✓ / ✓ / -	✓ / ✓	✓ / ✓	✓ / ✓	- / -	✓ / ✓ / ✓ / -	- / -	✓ / -	(Lavilla et al. 2023)
-	-	-	✓	-	✓	-	✓	✓	- / ✓ / ✓	- / ✓	✓ / -	- / -	✓ / -	✓ / ✓ / - / -	- / -	✓ / ✓	(Lee, Kim and Ryu 2023)
✓	✓	✓	✓	✓	-	-	✓	✓	✓ / ✓ / -	✓ / ✓	✓ / ✓	- / -	✓ / -	✓ / ✓ / ✓ / -	- / -	✓ / -	(Lewis and Hill 2020)
✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	- / ✓ / -	- / ✓	✓ / ✓	✓ / -	✓ / ✓	✓ / ✓ / ✓ / -	- / -	- / -	(Li et al. 2022)
-	-	-	-	-	-	-	-	✓	- / ✓ / -	✓ / ✓	✓ / -	- / -	✓ / -	- / - / - / -	- / -	✓ / ✓	(Liu, Quek and Huang 2023)
✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓ / ✓ / ✓	✓ / ✓	✓ / ✓	✓ / -	✓ / -	✓ / ✓ / - / -	✓ / ✓	✓ / -	(Mills, Ross and Hill 2017)

1. Pre-harvest a) therapy b) bacteria load reduction 2. Post-harvest			Biocontrol ^{*1} Biopreservation ^{*2} Packaging Biosanitation ^{*3} Reduction of biofilms					Relevant bacterial strains of the food sector	Isolated phages ^{*4} / Phage ^{*5} cocktails / lytic phage enzymes	MOI / efficacy	Listed food items: general / detailed	Use along production line of food / legal classifi- cation of phage use	State- ments of: FDA / EFSA	Risks / Benefits / risk analysis / research needs	Human phage therapy / micro- biom of intestine	Biology of phages / History of phage use	Reference
1.		2.															
a)	b)																
-	✓	✓	✓	-	✓	-	-	✓	✓ / ✓ / -	✓ / ✓	✓ / ✓	✓ / -	✓ / -	✓ / ✓ / - / -	- / -	- / -	(Moye, Woolston and Sulakvelidze 2018)
✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓ / ✓ / ✓	- / ✓	✓ / ✓	✓ / -	✓ / -	- / ✓ / - / -	- / -	✓ / ✓	(O'Sullivan et al. 2019)
-	-	✓	✓	✓	-	✓	✓	✓	✓ / ✓ / -	✓ / ✓	✓ / ✓	- / -	✓ / -	- / ✓ / - / -	- / -	- / -	(Pérez Pulido et al. 2016)
-	-	-	✓	-	-	-	-	<i>E.coli</i>	- / ✓ / -	✓ / ✓	✓ / -	- / -	✓ / ✓	✓ / ✓ / - / -	- / ✓	✓ / -	(Pinto, Almeida and Azeredo 2020)
✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓ / ✓ / ✓	- / ✓	✓ / ✓	✓ / -	✓ / ✓	✓ / ✓ / - / -	- / -	- / -	(Połaska and Sokołowska 2019)
-	-	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓ / ✓ / ✓	- / ✓	diary	✓ / -	✓ / ✓	✓ / ✓ / - / -	- / -	✓ / -	(Poonia, Mishra and Rai 2020)
-	-	-	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓ / ✓ / ✓	- / -	diary	- / -	- / -	- / ✓ / - / -	- / -	✓ / -	(Pujato, Quiberoni and Mercanti 2019)
✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓ / ✓ / ✓	- / -	✓ / ✓	✓ / -	- / -	✓ / ✓ / ✓ / -	- / -	✓ / -	(Ramos-Vivas et al. 2021)

1. Pre-harvest a) therapy b) bacteria load reduction 2. Post-harvest			Biocontrol* ¹ Biopreservation* ² Packaging Biosanitation* ³ Reduction of biofilms					Relevant bacterial strains of the food sector	Isolated phages* ⁴ / Phage* ⁵ cocktails / lytic phage enzymes	MOI / efficacy	Listed food items: general / detailed	Use along production line of food / legal classifi- cation of phage use	State- ments of: FDA / EFSA	Risks / Benefits / risk analysis / research needs	Human phage therapy / micro- biom of intestine	Biology of phages / History of phage use	Reference
1.		2.															
a)	b)																
✓	✓	✓	✓	✓	-	✓	✓	✓	✓/✓/✓	- / ✓	✓/✓	✓ / -	- / -	✓ / ✓ / - / -	✓ / ✓	✓ / ✓	(Ranveer et al. 2024)
✓	✓	✓	✓	-	✓	✓	✓	✓	- / ✓ / -	- / -	✓/✓	✓ / -	✓ / -	✓ / ✓ / ✓ / -	✓ / -	✓ / ✓	(Sarhan and Azzazy 2015)
✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓ / ✓ / -	✓ / ✓	✓ / ✓	✓ / -	✓ / -	✓ / ✓ / - / -	- / -	- / -	(Sillankorva, Oliveira and Azeredo 2012)
✓	✓	✓	✓	✓	-	✓	✓	✓	✓ / ✓ / ✓	✓ / ✓	✓ / ✓	✓ / ✓	✓ / -	✓ / ✓ / - / -	✓ / -	✓ / -	(Suja (Suja and Gummadi 2024)
-	✓	✓	✓	-	-	✓	-	✓	✓ / ✓ / -	- / ✓	✓ / ✓	- / ✓	✓ / -	✓ / ✓ / - / -	- / -	- / -	(Sulakvelidze 2013)
✓	✓	✓	✓	-	-	-	✓	✓	- / ✓ / -	- / ✓	✓ / ✓	✓ / -	✓ / -	✓ / ✓ / ✓ / -	- / -	✓ / ✓	(Tan, Chan and Lee 2014)
-	✓	✓	✓	-	✓	✓	✓	✓	✓ / ✓ / -	✓ / ✓	✓ / ✓	✓ / -	✓ / -	✓ / ✓ / - / -	- / -	- / ✓	(Vikram, Woolston and Sulakvelidze 2021)
-	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓ / ✓ / -	✓ / ✓	✓ / -	✓ / -	✓ / -	✓ / ✓ / - / -	- / -	✓ / -	(Wang and Zhao 2022)
✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	- ✓ / ✓ / ✓	- / ✓	✓ / ✓	✓ / -	✓ / -	✓ / ✓ / - / -	- / -	- / -	(Xu 2021)

- Amjad N, Naseer MS, Imran A et al. A mini-review on the role of bacteriophages in food safety. *CyTA-J Food* 2024;**22**:e2357192. <https://doi.org/10.1080/19476337.2024.2357192>
- Brovko LY, Anany H, Griffiths MW. Bacteriophages for detection and control of bacterial pathogens in food and food-processing environment. *Adv Food Nutr Res* 2012;**67**:241-88. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-394598-3.00006-x>
- Bumunang EW, Zaheer R, Niu D et al. Bacteriophages for the targeted control of foodborne pathogens. *Foods* 2023;**12**:2734. <https://doi.org/10.3390/foods12132734>
- Chaudhary V, Kajla P, Lather D et al. Bacteriophages: a potential game changer in food processing industry. *Crit Rev Biotechnol* 2024;**44**:1325-49. <https://doi.org/10.1080/07388551.2023.2299768>
- Cooper IR. A review of current methods using bacteriophages in live animals, food and animal products intended for human consumption. *J Microbiol Methods* 2016;**130**:38-47. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2016.07.027>
- Costa MJ, Pastrana LM, Teixeira JA et al. Bacteriophage delivery systems for food applications: opportunities and perspectives. *Viruses* 2023;**15**:1271. <https://doi.org/10.3390/v15061271>
- Cristobal-Cueto P, García-Quintanilla A, Esteban J et al. Phages in food industry biocontrol and bioremediation. *Antibiotics* 2021;**10**:786. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10070786>
- de Melo AG, Levesque S, Moineau S. Phages as friends and enemies in food processing. *Curr Opin Biotechnol* 2018;**49**:185-90. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2017.09.004>
- El-Shibiny A, El-Sahhar S. Bacteriophages: the possible solution to treat infections caused by pathogenic bacteria. *Can J Microbiol* 2017;**63**:865-79. <https://doi.org/10.1139/cjm-2017-0030>
- Endersen L, apos, Mahony J et al. Phage therapy in the food industry. *Annu Rev Food Sci Technol* 2014;**5**:327-49. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-030713-092415>
- Endersen L, Coffey A. The use of bacteriophages for food safety. *Curr Opin Food Sci* 2020;**36**:1-8. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.10.006>
- Fernandez L, Gutierrez D, Rodriguez A et al. Application of bacteriophages in the agro-food sector: a long way toward approval. *Front Cell Infect Microbiol* 2018;**8**:296. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00296>
- Fister S, Mester P, Witte AK et al. Part of the problem or the solution? Indiscriminate use of bacteriophages in the food industry can reduce their potential and impair growth-based detection methods. *Trends Food Sci Technol* 2019;**90**:170-4. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.02.031>
- García-Anaya MC, Sepulveda DR, Sáenz-Mendoza AI et al. Phages as biocontrol agents in dairy products. *Trends Food Sci Technol* 2020;**95**:10-20. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.10.006>
- García P, Martínez B, Obeso JM et al. Bacteriophages and their application in food safety. *Lett Appl Microbiol* 2008;**47**:479-85. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2008.02458.x>
- Garvey M. Bacteriophages and food production: biocontrol and bio-preservation options for food safety. *Antibiotics* 2022;**11**:1324. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11101324>
- Ge H, Fu S, Guo H et al. Application and challenge of bacteriophage in the food protection. *Int J Food Microbiol* 2022;**380**:109872. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109872>

- Gildea L, Ayariga JA, Robertson BK. Bacteriophages as biocontrol agents in livestock food production. *Microorganisms* 2022;**10**:2126. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10112126>
- Goodridge LD, Bisha B. Phage-based biocontrol strategies to reduce foodborne pathogens in foods. *Bacteriophage* 2011;**1**:130-7. <https://doi.org/10.4161/bact.1.3.17629>
- Greer GG. Bacteriophage control of foodborne bacteriat. *J Food Prot* 2005;**68**:1102-11. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-68.5.1102>
- Gutiérrez D, Fernández L, Rodríguez A et al. Role of bacteriophages in the implementation of a sustainable dairy chain. *Front Microbiol* 2019;**10**:12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00012>
- Hagens S, Loessner MJ. Bacteriophage for biocontrol of foodborne pathogens: calculations and considerations. *Curr Pharm Biotechnol* 2010;**11**:58-68. <https://doi.org/10.2174/138920110790725429>
- Hassan AY, Lin JT, Ricker N et al. The age of phage: friend or foe in the new dawn of therapeutic and biocontrol applications? *Pharmaceuticals* 2021;**14**:199. <https://doi.org/10.3390/ph14030199>
- Hudson JA, Billington C, Carey-Smith G et al. Bacteriophages as biocontrol agents in food. *J Food Prot* 2005;**68**:426-37. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-68.2.426>
- Hyla K, Dusza I, Skaradzińska A. Recent advances in the application of bacteriophages against common foodborne pathogens. *Antibiotics* 2022;**11**. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11111536>
- Imran A, Shehzadi U, Islam F et al. Bacteriophages and food safety: an updated overview. *Food Sci Nutr* 2023;**11**:3621-30. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3360>
- Jagannathan BV, Dakoske M, Vijayakumar PP. Bacteriophage-mediated control of pre- and post-harvest produce quality and safety. *LWT* 2022;**169**:113912. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113912>
- Jaglan AB, Anand T, Verma R et al. Tracking the phage trends: a comprehensive review of applications in therapy and food production. *Front Microbiol* 2022;**13**:993990. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.993990>
- Kazi M, Annapure US. Bacteriophage biocontrol of foodborne pathogens. *J Food Sci Technol* 2016;**53**:1355-62. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1996-8>
- Lavilla M, Domingo-Calap P, Sevilla-Navarro S et al. Natural killers: opportunities and challenges for the use of bacteriophages in microbial food safety from the one health perspective. *Foods* 2023;**12**:552. <https://doi.org/10.3390/foods12030552>
- Lee C, Kim H, Ryu S. Bacteriophage and endolysin engineering for biocontrol of food pathogens/pathogens in the food: recent advances and future trends. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2023;**63**:8919-38. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2059442>
- Lewis R, Hill C. Overcoming barriers to phage application in food and feed. *Curr Opin Biotechnol* 2020;**61**:38-44. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2019.09.018>
- Li J, Zhao F, Zhan W et al. Challenges for the application of bacteriophages as effective antibacterial agents in the food industry. *J Sci Food Agric* 2022;**102**:461-71. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11505>
- Liu S, Quek S-Y, Huang K. Advanced strategies to overcome the challenges of bacteriophage-based antimicrobial treatments in food and agricultural systems. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2023;**64**:12574-98. <https://doi.org/10.1080/10408398.2023.2254837>
- Mills S, Ross RP, Hill C. Bacteriocins and bacteriophage; a narrow-minded approach to food and gut microbiology. *FEMS Microbiol Rev* 2017;**41**:S129-53. <https://doi.org/10.1093/femsre/fux022>
- Moye ZD, Woolston J, Sulakvelidze A. Bacteriophage applications for food production and processing. *Viruses* 2018;**10**:205. <https://doi.org/10.3390/v10040205>

- O'Sullivan L, Bolton D, McAuliffe O et al. Bacteriophages in food applications: from foe to friend. *Annu Rev Food Sci Technol* 2019;**10**:151-72. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-032818-121747>
- Pérez Pulido R, Grande Burgos MJ, Gálvez A et al. Application of bacteriophages in post-harvest control of human pathogenic and food spoiling bacteria. *Crit Rev Biotechnol* 2016;**36**:851-61. <https://doi.org/10.3109/07388551.2015.1049935>
- Pinto G, Almeida C, Azeredo J. Bacteriophages to control shiga toxin-producing *E. coli* - safety and regulatory challenges. *Crit Rev Biotechnol* 2020;**40**:1081-97. <https://doi.org/10.1080/07388551.2020.1805719>
- Połaska M, Sokołowska B. Bacteriophages-a new hope or a huge problem in the food industry. *AIMS Microbiol* 2019;**5**:324-46. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2019.4.324>
- Poonia A, Mishra A, Rai C. Scope and Applications of Bacteriophage in Dairy Industry. *ResearchGate* 2020. http://www.researchgate.net/publication/348275436_Scope_and_Applications_of_Bacteriophage_in_Dairy_Industry
- Pujato SA, Quiberoni A, Mercanti DJ. Bacteriophages on dairy foods. *J Appl Microbiol* 2019;**126**:14-30. <https://doi.org/10.1111/jam.14062>
- Ramos-Vivas J, Elexpuru-Zabaleta M, Samano ML et al. Phages and enzybiotics in food biopreservation. *Molecules* 2021;**26**:5138. <http://https://www.mdpi.com/1420-3049/26/17/5138>
- Ranveer SA, Dasriya V, Ahmad MF et al. Positive and negative aspects of bacteriophages and their immense role in the food chain. *NPJ Sci Food* 2024;**8**:1. <https://doi.org/10.1038/s41538-023-00245-8>
- Sarhan WA, Azzazy HM. Phage approved in food, why not as a therapeutic? *Expert Rev Anti Infect Ther* 2015;**13**:91-101. <https://doi.org/10.1586/14787210.2015.990383>
- Sillankorva SM, Oliveira H, Azeredo J. Bacteriophages and their role in food safety. *Int J Microbiol* 2012;**2012**:863945. <https://doi.org/10.1155/2012/863945>
- Suja E, Gummati SN. Advances in the applications of Bacteriophages and phage products against food-contaminating bacteria. *Critical reviews in microbiology* 2024;**50**.
- Sulakvelidze A. Using lytic bacteriophages to eliminate or significantly reduce contamination of food by foodborne bacterial pathogens. *J Sci Food Agric* 2013;**93**:3137-46. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6222>
- Tan T, Chan K, Lee L. Application of bacteriophage in biocontrol of major foodborne bacterial pathogens. *J Mol Biol Mol Imaging* 2014;**1**:9. <http://www.austinpublishinggroup.com/molecular-biology/fulltext/jmbmi-v1-id1004.pdf>
- Vikram A, Woolston J, Sulakvelidze A. Phage biocontrol applications in food production and processing. *Curr Issues Mol Biol* 2021;**40**:267-302. <https://doi.org/10.21775/cimb.040.267>
- Wang Z, Zhao X. The application and research progress of bacteriophages in food safety. *J Appl Microbiol* 2022;**133**:2137-47. <https://doi.org/10.1111/jam.15555>
- Xu Y. Phage and phage lysins: new era of bio-preservatives and food safety agents. *J Food Sci* 2021;**86**:3349-73. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15843>