

Streszczenie

Wykorzystanie potencjału bakteriofagów w biokontroli wybranych bakterii z rzędu *Enterobacterales* występujących w łańcuchu żywnościowym

Konwencjonalne metody utrwalania nie zawsze skutecznie zapewniają jakość i bezpieczeństwo mikrobiologiczne żywności minimalnie przetworzonej pochodzenia roślinnego, dlatego poszukuje się nowych alternatyw. Zastosowanie bakteriofagów może spełnić oczekiwania konsumentów dotyczące żywności o minimalnym stopniu przetworzenia poprzez wydłużenie jej okresu przydatności do spożycia bez wpływu na zmiany właściwości fizycznych oraz zawartość składników bioaktywnych. Dlatego, stawiając za główny cel ocenę możliwości wykorzystania bakteriofagów litycznych w biokontroli żywności minimalnie przetworzonej pochodzenia roślinnego, określono skalę problemu występowania szczepów antybiotykoopornych w łańcuchu żywnościowym oraz podjęto próbę wyizolowania i scharakteryzowania autochtonicznych, wirulentnych bakteriofagów ukierunkowanych na eradykację tych bakterii.

Wśród bakterii saprofitycznych prawie 20% stanowiły szczepy wielolekooporne (MDR), co wskazuje na konieczność monitorowania antybiotykooporności w łańcuchu żywnościowym. Pałeczki z rodzaju *Salmonella* wykazały fenotypową oporność na wiele antybiotyków (ponad 50% szczepów MDR) i kodowały liczne geny związane z opornością na środki przeciwdrobnoustrojowe (ARGs). Duża liczba bakterii opornych z rodzaju *Salmonella* w połączeniu z wieloma ARGs potwierdziła wieloletnie nieracjonalne stosowanie antybiotyków. Analiza genomów nowo wyizolowanych bakteriofagów wykazała brak sekwencji genów kodujących czynniki wirulencji i toksyn, a więc można je sklasyfikować jako bakteriofagi obligatoryjnie lityczne. Zastosowanie koktajlu fagowego w trzech testowanych produktach (tj. rukoli, mieszance sałat z marchewką oraz mieszance sałat z burakiem) skutecznie ograniczyło rozwój bakterii saprofitycznych podczas przechowywania (redukcja nawet o 99,9% w porównaniu do prób kontrolnych). Nie zaobserwowano pozytywnego wpływu zastosowanego koktajlu fagowego na redukcję liczby bakterii w dwóch rodzajach szpinaku, co może świadczyć o niedostatecznej w stosunku do mikrobioty bakteryjnej produktu bioróżnorodności fagów w opracowanym biopreparacie. Zastosowanie bakteriofagów do utrwalania soków warzywno-owocowych istotnie (o 90%) obniżyło poziom zanieczyszczenia pałeczkami *Salmonella* w porównaniu z sokami kontrolnymi.

Charakterystyka zjadliwości i brak możliwych czynników wirulencji sprawiają, że nowo wyizolowane bakteriofagi mogą w przyszłości stać się potencjalnymi kandydatami do biokontroli żywności.

Słowa kluczowe: bakteriofagi, jakość żywności, bezpieczeństwo żywności, *Salmonella* spp., bakterie saprofityczne, antybiotykooporność, biokontrola, żywność minimalnie przetworzona

Abstract

Using the potential of bacteriophages in the biocontrol of selected bacteria from *Enterobacterales* order present in the food chain

Conventional preservation methods are not always effectively ensure the quality and microbiological safety of plant-based minimally processed food, therefore developing alternative methods is being sought. Bacteriophage biocontrol is a promising natural method of food preservation and food safety. Bacteriophages can enhance food safety by reducing the risk of bacterial contamination and extending the shelf life without significantly affecting the sensory attributes and nutritional content of the food products. Therefore, the bacteriophage-based method can meet consumer expectations. The main goal of the doctoral thesis was to assess the possibility of using lytic bacteriophages in the biocontrol of plant-based minimally processed food. The research was divided into three tasks: 1) the occurrence of antibiotic resistant bacterial strains in the food chain; 2) the isolation and morphological and genomic characterization of autochthonous, virulent bacteriophages; 3) the application of phage cocktail to eradicate bacterial contamination in minimally processed plant-based food products.

Among saprophytic bacteria, almost 20% were multidrug resistant (MDR) strains, which indicates the need to monitor antibiotic resistance in the food chain. *Salmonella* strains showed phenotypic resistance to many antibiotics (over 50% of MDR strains) and encoded numerous genes associated with antimicrobial resistance (ARGs). A large number of resistant bacteria of the *Salmonella* genus combined with many ARGs indicate many years of irrational use of antibiotics. Genome analysis of the newly isolated bacteriophages showed a lack of genes encoding virulence and toxin factors, so they can be classified as obligate lytic bacteriophages. Application of a phage cocktail in the three tested products (i.e. rucola, mixed leaf salad with carrot and mixed leaf salad with beetroot) effectively limited the development of the saprophytic bacteria during storage (reduction by up to 99.9% compared to control samples). No positive effect of the phage cocktail to reduce the bacterial counts observed in the two types of spinach may indicate that its biodiversity was insufficient in relation to the bacterial microbiota present in this product. However, the significant effect of the phage cocktail on the reduction of *Salmonella* contamination in vegetable and fruit juices (90%) compared to the control juices has been noticed.

In summary, lytic properties and the lack of possible virulence factors suggest that the newly isolated bacteriophages could be potential candidates for food biocontrol in the future.

Keywords: bacteriophages, food quality, food safety, *Salmonella* spp., saprophytic bacteria, antibiotic resistance, biocontrol, minimally processed food

Marta Wójcik