

## STRESZCZENIE

*Listeria monocytogenes* to Gram-dodatnie, niewytwarzające przetrwalników pałeczki. Bakterie te wykazują zdolność adaptacji do niekorzystnych warunków. W środowisku przetwarzania żywności *L. monocytogenes* są narażone na różne czynniki stresowe. Stres ten może być letalny, powodując nieodwracalne uszkodzenie komórki lub subletalny, tj. umożliwiając przeżycie.

Celem niniejszej rozprawy była ocena wpływu czynników stresowych na zmiany cech fenotypowych i genotypowych szczepów *L. monocytogenes*.

Badaniem objęto odpowiednio po 20 izolatów z materiału klinicznego, łososia, wędlin i mrożonek warzywnych. Ocena stopnia podobieństwa genetycznego wykazała 50 różnych genetycznie szczepów. Stwierdzono, że 62,0% szczepów reprezentowało grupę serologiczną 1/2a-3a, a 60,0% miało 10 genów wirulencji (*fbpA*, *plcA*, *hlyA*, *plcB*, *inlB*, *actA*, *iap*, *inlA*, *mpl*, *prfA*). Większość (46; 92,0%) szczepów była wrażliwa na uwzględnione w badaniu antybiotyki.

W kolejnym etapie, badane szczepy poddano działaniu wybranych stresów: osmotycznego, kwasowego i zasadowego, wysokich i niskiej temperatury, cyklicznego zamrażania i rozmrażania (4 cykle) oraz wysokiej i niskiej dostępności składników odżywczych. Mediana stężenia NaCl hamującego wzrost dla szczepów ze wszystkich grup ze względu na pochodzenie wynosiła 8,0%. Mediana wartości hamowania wzrostu dla pH < 7,0 wynosiła 5,0; 4,5; 4,0 i 3,5 dla szczepów izolowanych odpowiednio z wędlin, materiału klinicznego, mrożonek warzywnych i łososia. Mediana wartości hamowania wzrostu dla pH > 7,0 wynosiła 11,0 dla szczepów klinicznych oraz 9,0 dla szczepów wyosobnionych z wędlin, mrożonek warzywnych i łososia. Nie wykazano istotnych statystycznie różnic w odpowiedzi na stres osmotyczny, kwasowy i zasadowy w zależności od pochodzenia szczepów. Pięć szczepów przeżyło 60-minutową ekspozycję na temperaturę 70°C. Wykazano, że badane szczepy przeżyły wszystkie etapy eksperymentu stresu niskiej temperatury.

Podczas stresu zamrażania-rozmrażania liczba bakterii wzrosła po pierwszym cyklu. Nie stwierdzono istotnych różnic w liczebności bakterii pomiędzy wariantem 4 cykli zamrażania-rozmrażania a wariantem rozmrażania tylko po 4. cyklu. Wykazano przeżywalność badanych szczepów przy zmiennej dostępności składników odżywczych, zarówno nadmiarze jak i niedoborze. Największą oporność na czynniki stresowe wykazały szczepy izolowane z materiału klinicznego. Najniższą tolerancję na stresory stwierdzono wśród szczepów wyisobnionych z wędlin i mrozonek warzywnych.

Dalsze doświadczenia prowadzono na dwóch szczepach oraz szczepie wzorcowym *L. monocytogenes* ATCC 19111. Oceniono wpływ wybranych stresów: cieplnego i niskiej temperatury, osmotycznego, kwasowego, zasadowego i mrożenia na cechy fenotypowe: minimalnego stężenia hamującego (ang. minimum inhibitory concentration, MIC) antybiotyków, zdolność do ruchu i zdolność tworzenia biofilmu oraz poziom ekspresji genów *sigB*, *agrA* względem genu *gap*. Wykazano zmiany w wartościach MIC uwzględnionych w badaniu antybiotyków, zmiany te były zależne od szczepu i czynnika stresowego. Szczep 472W tworzył silny biofilm po ekspozycji na większość czynników stresowych, z wyjątkiem stresu cieplnego i kwasowego. Szczep 55K, tworzył silny biofilm po ekspozycji na stres niskiej temperatury. Wykazano zwiększony poziom ekspresji genu *sigB* w stresie zasadowym (szczepy 55K i 472W) i cieplnym (szczep 472W). Z kolei, zwiększony poziom ekspresji genu *agrA* notowano w stresie zasadowym (szczep 55K). Niemniej jednak nie stwierdzono związku między zdolnością tworzenia biofilmu a ekspresją *sigB* i *agrA* po ekspozycji na stres.

Pałeczki *L. monocytogenes* są narażone na wiele różnych czynników stresowych w przemyśle spożywczym i w środowisku. Wykazano, że reakcja zarówno na warunki subletalne, jak i letalne była zróżnicowana i zależna od szczepu. Dane dotyczące odpowiedzi na warunki stresowe mogą być pomocne w uwzględnianiu prawidłowych procedur dezynfekcji w przemyśle spożywczym, budynkach opieki zdrowotnej i użyteczności publicznej.

**Słowa kluczowe:** *Listeria monocytogenes*, środowiskowe czynniki stresowe, biofilm, antybiotykooporność, ekspresja genów