

**Aktywność antagonistyczna bakterii kwasu mlekowego i ekstraktów  
z pseudoowoców oraz miąższy *Rosa* spp. – jako bioaktywnych  
składników żywności w stosunku do koagulazo-ujemnych szczepów  
*Staphylococcus* spp.**

mgr inż. Lidia Piekarska-Radzik

Promotor: prof. dr hab. inż. Elżbieta Klewicka

Promotor pomocniczy: dr inż. Joanna Milala

## STRESZCZENIE

Gronkowce to mikroorganizmy, które pomimo charakteru chorobotwórczego bardzo często klasyfikowane są jako zanieczyszczenia żywności. Wiele gatunków z rodzaju *Staphylococcus* zaliczane jest do bakterii o potencjale patogennym. Konsekwencją zakażenia gronkowcami może być wiele chorób takich jak: zapalenie kości i szpiku, zapalenie wsierdzia i żył, zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, zapalenia płuc, stany zapalne skóry oraz sepsa. Z kolei szczepy zanieczyszczające żywność bardzo często wiązane są z zatruciami pokarmowymi. Do niedawna uważano, że gronkowce koagulazo-ujemne są mniej niebezpieczne w porównaniu z gatunkami koagulazo-dodatnimi. Niemniej jednak bakterie z rodzaju *Staphylococcus*, które nie wykazują zdolności do syntezy koagulazy również stanowią poważne zagrożenie dla zdrowia ludzi i zwierząt. Wśród izolatów ze środowiska żywności pojawia się coraz więcej szczepów zaliczanych do bakterii wielolekoopornych (wykazujących oporność na co najmniej 3 różne klasy antybiotyków). Wzrost antybiooporności w przypadku koagulazo-ujemnych bakterii z rodzaju *Staphylococcus* wiąże się z koniecznością poszukiwania alternatywnych metod walki z tymi mikroorganizmami.

W pracy postawiono hipotezę badawczą, że istnieje możliwość ograniczania mechanizmu patogenezы koagulazo-ujemnych bakterii z rodzaju *Staphylococcus* za pomocą naturalnych metod, które mogą stanowić alternatywę dla związków syntetyzowanych chemicznie. Tym samym analizie poddano przeciwegronkowcowy potencjał bakterii kwasu mlekowego (ang. *lactic acid bacteria*; LAB) oraz ekstraktów z wybranych gatunków *Rosa* spp. (róż owocowych).

Pierwszy etap pracy obejmował izolację i charakterystykę bakterii z rodzaju *Staphylococcus* wyizolowanych ze środowiska. Matrycę do pozyskania szczepów stanowiła żywność: suplement diety, kiełki brokułu oraz świeże mleko krowie (niepasteryzowane). Do badań przedstawionych w niniejszej pracy wybrano 5 szczepów środowiskowych, których przynależność gatunkowa została potwierdzona za pomocą metod molekularnych z wykorzystaniem analizy sekwencji genu 16S rRNA.

Następnie przeprowadzono selekcję szczepów bakterii kwasu mlekowego, które wykazują wysoki potencjał antagonistyczny w stosunku do bakterii z rodzaju *Staphylococcus*. W tym celu z 5 szczepów bakterii kwasu mlekowego wybrano 4 szczepy o najwyższym potencjale przeciwegronkowcowym, które reprezentowały gatunki takie jak: *Lactobacillus*

*acidophilus*, *Lactocaseibacillus casei*, *Levilactobacillus brevis*, *Lactocaseibacillus rhamnosus*. Równolegle pozyskano 6 ekstraktów z popularnych w Polsce gatunków róż owocowych: *Rosa canina*, *Rosa rugosa*, *Rosa pomifera* 'Karpatia'. Ekstrakty przygotowano zarówno z całego pseudoowocu jak i mięsistej okrywy owocu właściwego – miąższu.

W pracy badawczej analizie poddano przeciwegronkowcowy potencjał wybranych bakterii kwasu mlekowego, a także supernatantów otrzymanych po ich hodowli. W supernatantach otrzymanych po hodowli bakterii kwasu mlekowego oznaczono stężenie kwasu mlekowego oraz kwasu octowego oraz oznaczono stężenie białka i jego potencjał antagonistyczny. Tym samym stwierdzono, że dwa z badanych szczepów wykazują zdolność do syntezy związków białkowych, które charakteryzują się wysokim potencjałem przeciwegronkowcowym (frakcje białkowe wyodrębniono w wyniku chromatografii jonowymiennej). W niniejszej pracy oznaczono także skład polifenolowy ekstraktów pozyskanych z pseudoowoców róż owocowych. Badane ekstrakty efektywnie hamowały wzrost badanych izolatów środowiskowych z rodzaju *Staphylococcus* (MIC: 3,125 – 500 mg liofilizatu/ml). W końcowym etapie badań nad potencjałem przeciwegronkowcowym bakterii kwasu mlekowego i ekstraktów z *Rosa* spp. wyznaczono zmiany w dynamice wzrostu lub zamierania badanych szczepów.

Następnie zbadano wpływ obu czynników na cechy związane z patogenezą bakterii z rodzaju *Staphylococcus*. Oznaczono zmiany w autoagregacji, hydrofobowości ścian komórkowych oraz właściwościach donorowo-akceptorowych ścian komórkowych badanych izolatów. Następnie analizie poddano wpływ obu czynników na zdolność tworzenia biofilmu przez badane bakterie z rodzaju *Staphylococcus* (zarówno pojedynczo jak i w układzie dwuskładnikowym).

Przeprowadzone badania nad aktywnością przeciwegronkowcową bakterii kwasu mlekowego oraz ekstraktów z *Rosa* spp. pozwoliły na zaproponowanie aplikacyjnego wykorzystania otrzymanych wyników. W pracy przedstawiono dwie propozycje przemysłowego wykorzystania bakterii kwasu mlekowego oraz ekstraktów bogatych w polifenole. Pierwsza z nich obejmowała opracowanie dwuskładniowych układów LAB-ekstrakt, które efektywnie hamowały wzrost gronkowców. Druga propozycja aplikacji aktywności przeciwegronkowcowej ekstraktów z *Rosa* spp. obejmowała opracowanie innowacyjnego produktu kosmetycznego – „tłustej bazy” stanowiącej podstawę produktu przeznaczonego do pielęgnacji ust.

Badania przedstawione w niniejszej pracy zweryfikowały pozytywnie postawioną hipotezę badawczą, iż bakterie kwasu mlekowego oraz ekstrakty z pseudoowoców róż owocowych posiadają wysoki potencjał antagonistyczny w stosunku do koagulazo-ujemnych bakterii z rodzaju *Staphylococcus*.

Ponadto wykazano, iż badane ekstrakty mogą stanowić alternatywę substancji konserwujących w produktach kosmetycznych przeznaczonych do pielęgnacji ust w układzie tłuszczowym.

**Słowa kluczowe:** *Staphylococcus* spp., gronkowce koagulazo-ujemne, *Rosa* spp., bakterie kwasu mlekowego, właściwości przeciwgronkowcowe