

Obecnie odnotowuje się wzrost konsumpcji żywności pochodzenia morskiego należących do grupy produktów gotowych do spożycia. Głównie jest to spowodowane ich pozytywnym wpływem na zdrowie; powyższe produkty są źródłem wysoko strawnego białka, wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, należących do rodziny omega-3 oraz jodu, cynku, wapnia czy witaminy D. Konsekwencją zwiększonej konsumpcji ryb jest intensyfikacja ich hodowli, którą osiągnięto poprzez prewencyjne podawanie antybiotyków. Najbardziej rozpowszechnionym i dostępnym w handlu gatunkiem ryb jest łosoś atlantycki, który poddany procedurze wędzenia na zimno, należy do produktów gotowych do spożycia. W tej technologii efekt trwałości konsumpcyjnej wyrobu jest głównie osiągany poprzez dodatek soli, usuwanie wody, wędzenie, a czasem pakowanie w modyfikowanej atmosferze o obniżonej zawartości tlenu. Jednak ze względu na obecne trendy związane głównie z ograniczeniem zawartości soli w żywności, powszechne staje się występowanie drobnoustrojów chorobotwórczych w produktach pochodzenia morskiego.

Biorąc pod uwagę wysokie ryzyko obecności niepożądanego mikroflory w minimalnie przetworzonych produktach na bazie ryb, przeprowadziliśmy wstępne badania w celu oszacowania ich jakości mikrobiologicznej. Pośród specyficznej mikroflory psującej powyższe wyroby, dominującym gatunkiem był *Pseudomonas aeruginosa*. Jest to Gram-ujemna bakteria o zróżnicowanych zdolnościach adaptacyjnych, warunkujących przetrwanie komórek w ekosystemie żywności. Jest to również drobnoustroj oportunistycznie chorobotwórczy, wywołujący ostre i chroniczne infekcje poprzez syntezę licznych czynników wirulencji, regulowanych systemem *quorum sensing*. Problemy zdrowotne u konsumentów spowodowanych spożyciem zanieczyszczonych *Pseudomonas aeruginosa* ryb szacuje się na poziomie 11.5% w Europie i 17% w krajach rozwijających się. Z tego powodu konieczne staje się opracowanie skutecznych metod zabezpieczania żywności pochodzenia morskiego przed pałeczkami *Pseudomonas aeruginosa*, a także przeprowadzenie ich dogłębnej charakterystyki. Odnotowuje się również potrzebę przeprowadzenia badań, oceniających wpływ alternatywnych środków przeciwdrobnoustrojowych, które można wprowadzić w technologii minimalnego przetwarzania na fizjologię bakterii i ocenę potencjalnego mechanizmu oporności bakterii na zastosowane czynniki. W celu kompleksowego oszacowania tych zmian kluczowe znaczenie ma wykorzystanie analizy transkryptomu.

Głównym celem projektu będzie analiza transkryptomu i odpowiedzi fizjologicznej izolatów *Pseudomonas aeruginosa* na wybrane stężenia alternatywnych środków przeciwdrobnoustrojowych, które można zastosować w technologii minimalnego przetwarzania żywności pochodzenia morskiego - chlorek potasu (KCl) i sole sodowe kwasów organicznych - mleczan sodu (NaL), cytrynian sodu (NaC) i octan sodu (NaA). Hodowle drobnoustrojów prowadzone będą w warunkach mikroaerofilnych symulujących atmosferę modyfikowaną produktu. Ponieważ *Pseudomonas aeruginosa* jest drobnoustrojem, który może być przenoszony przez żywność, w pierwszym etapie badań zostanie oceniona faktyczna oporność na antybiotyki wszystkich badanych szczepów. Następnie, po potraktowaniu komórek wybranymi stężeniami alternatywnych środków przeciwdrobnoustrojowych, zdolność do przeżycia i żywotność komórek będą badane techniką cytometrii przepływowej, która skanuje hodowlę „komórka po komórce”. Powyższa analiza zagwarantuje selekcję najbardziej opornych/wrażliwych szczepów, które poddane zostaną analizie transkryptomu. Zagwarantuje to wgląd w zestaw genów, które ulegają ekspresji i jak istotna jest odpowiedź komórek na obecność danych stężeń środków przeciwdrobnoustrojowych i w warunki mikroaerofilne hodowli. Poziomy ekspresji tych genów będą analizowane *in vitro* techniką ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym (RT-qPCR). Dodatkowo przeprowadzenie eksperymentów *in situ* scharakteryzuje aktywność metaboliczną *Pseudomonas aeruginosa* w ekosystemie żywności.