

EDWARD STEC

WPŁYW *ESCHERICHIA COLI* NA WZROST *BACILLUS CEREUS**THE EFFECT OF *ESCHERICHIA COLI* ON GROWTH OF *BACILLUS CEREUS*

Z Zakładu Badania Żywności i Przedmiotów Użytku Państwowego
Zakładu Higieny w Warszawie

Kierownik: prof. dr hab. H. Mazur

Zbadano wpływ 101 szczepów *Escherichia coli* na wzrost 90 szczepów *Bacillus cereus*. Tylko 9 szczepów *E. coli* hamowało wzrost *B. cereus* na podłożach stałych.

Antagonizm bakteryjny w produktach spożywczych w postaci niekontrolowanej jest zjawiskiem powszechnym [3, 4, 6]. Mimo bogatego piśmiennictwa dotyczącego działania antagonistycznego wielu rodzajów drobnoustrojów namnażanie i toksynogenność *B. cereus* w zależności od towarzyszących bakterii w produktach żywnościowych były przedmiotem bardzo nielicznych doniesień [11, 12]. Według niektórych autorów niska częstotliwość zaburzeń przewodu pokarmowego, wywołanych przez *B. cereus* może być spowodowana działaniem drobnoustrojów towarzyszących, występujących w żywności [9, 10]. Uzasadnione więc wydawało się dokładniejsze poznanie wzajemnych zależności warunkujących zachowanie się szczepów *B. cereus* i ich przetrwalników w obecności pałeczek *E. coli*.

Celem niniejszej pracy było zbadanie antagonistycznego działania *E. coli* na komórki wegetatywne i przetrwalniki *B. cereus* w hodowlach na podłożach stałych.

MATERIAŁ I METODYKA

Do doświadczeń użyto 101 szczepów *E. coli*** oraz 90 szczepów *B. cereus*. Wśród szczepów *E. coli* było 6 wzorcowych kolicynogennych oraz 80 szczepów będących przyczyną biegunek dziecięcych; 15 szczepów wyizolowano z produktów mleczarskich w Pracowni Mikrobiologii Żywności Zakładu Badania Żywności i Przedmiotów Użytkowych w PZH [7].

53 szczepy *B. cereus* wyizolowano z produktów, które spowodowały zatrucia pokarmowe oraz w toku bieżącej kontroli żywności przez Wojewódzką Stację Sanitarno-Epidemiologiczną w Zielonej Górze [13]; 33 szczepy wyizolowano w Pracowni Mikrobiologii Żywności PZH z produktów

* Praca wykonana w ramach problemu MR-12

** Autor dziękuje za udostępnienie szczepów p. doc. Misiurewicz-Stypulkowskiej i dr J. Noworycie z Zakładu Bakteriologii PZH oraz mgr A. Słubickiej z Laboratorium Kliniki Chorób Zakaźnych Wieku Dziecięcego w Instytucie Chorób Zakaźnych i Pasożytniczych Akademii Medycznej w Warszawie.

mleczarskich [14]; 4 szczepy otrzymano od *J.M. Goepferta* z Uniwersytetu Wisconsin, Madison. Wszystkie szczepy *E.coli* oraz *B.cereus* sprawdzono wg kryteriów zalecanych przez FDA [2].

Zawiesiny czystych przetrwalników laseczek *B.cereus* otrzymywano wg metody zalecanej przez *Michalską* [8]. Do każdej serii badań przygotowywano świeżą zawiesinę tego samego szczepu. Przetrwalniki bezpośrednio przed każdym doświadczeniem poddawano działaniu temperatury 80°C przez 10 minut. Liczby przetrwalników w próbkach były rzędu $10^2 - 10^3$ w 1 cm³.

Wpływ *E. coli* na wzrost *B. cereus* badano w dwuwarstwowej hodowli, stosowanej w badaniach innych drobnoustrojów [1, 3, 5]. W metodzie tej 24-godzinne bulionowe hodowle *E.coli* posiewano punktowo na powierzchni agaru odżywczego w płytkach *Petriego*, nakraplając je na nałożone jałowe krążki bibułowe. Po 42-godzinnej inkubacji w temp. 37°C wyrosłe kolonie zalewano 7 cm³ 0,7% agaru sojowego z dodatkiem 5% krwi baraniej oraz ok. 10² komórek *B.cereus* w 1 ml. Po 20-godzinnej inkubacji odczytywano wyniki mierząc strefę zahamowania wzrostu szczepu wrażliwego.

WYNIKI I OMÓWIENIE

Uzyskane wyniki badań zestawiono w tabelach I i II.

Tabela I. Wpływ szczepów *E.coli* na wzrost *B.cereus*.
The effect of *E.coli* strains on *B.cereus*

Numery szczepów <i>E.coli</i> hamujących wzrost <i>B.cereus</i>	Liczba wrażliwych szczepów <i>B.cereus</i>	Średnie strefy zahamowania wzrostu w mm*
7	90	6
2	51	6
1A	8	4
3	7	4
3A	3	4
176	6	4
055	2	3
74	2	10
684 a	1	4

Przebadano 101 szczepów *E.coli* i 90 szczepów *B.cereus*

* - średnia z 3 oznaczeń

Tabela I ilustruje antagonistyczne działania szczepów *E.coli* na wzrost wegetatywnych komórek *B.cereus*. Tylko 9 szczepów *E.coli* spośród 101 przebadanych wykazywało to działanie, dając strefy zahamowania w granicach 3-10 mm. Na uwagę zasługują szczepy z grupy kolicynogennych nr 2 i nr 7 powodujące zahamowanie największej liczby wrażliwych szczepów *B.cereus*. Pozostałe szczepy *E.coli* hamowały wzrost tylko nielicznych szczepów.

Badając zahamowanie rozwoju przetrwalników 5 wybranych szczepów *B. cereus* (tabela II) stwierdzono, że przetrwalniki były mniej wrażliwe niż komórki wegetatywne. Nie zaobserwowano wyraźnie zaznaczających się zmian dookoła kolonii szczepów wrażliwych; występowało jedynie zahamowanie wzrostu *B.cereus* w obrębie samych kolonii bakteryjnych *E. coli*. Najwyraźniejsze zmiany powodowały kolicynogenne szczepy nr 2 i nr 7.

Tabela II. Działanie antagonistyczne szczepów *E. coli* na kiełkowanie przetrwalników *B. cereus*
Antagonistic action of *E. coli* strains on spore germination of *B. cereus*

Numery szczepów <i>E. coli</i> hamujących wzrost <i>B. cereus</i>	Przetrwalniki szczepów <i>B. cereus</i>				
	43/70	41/79	16482	36 Benz	60/78
7	+	—	—	+	+
2	+	—	+	+	+
1A	—	—	—	—	—
3	—	—	—	—	—
3A	—	—	—	—	—
176	+	—	—	+	—
055	+	—	+	—	—
74	+	—	+	+	+
684 a	—	—	—	—	—

+ zahamowanie wzrostu

— brak zahamowania wzrostu

Tabela III. Wpływ pochodzenia szczepów *E. coli* na ich antagonizm dla *B. cereus*
Significance of origin of *E. coli* strains on their antagonism for *B. cereus*

Pochodzenie szczepów <i>E. coli</i>	Liczba szczepów <i>E. coli</i>	
	zbadanych	hamujących wzrost <i>B. cereus</i>
Kolicynogenne	6	5
Ze środków spożywczych	15	2
Z przypadków chorobowych (biegunki dziecięce)	80	2

Porównanie aktywności szczepów *E. coli* w zależności od ich pochodzenia zebrano w tabeli III. Najbardziej hamujący wpływ miały wzorcowe szczepy kolicynogenne, w mniejszym stopniu szczepy pochodzące ze środków spożywczych. Na uwagę zasługuje liczba szczepów związanych ze stanem chorobowym, hamujących wzrost *B. cereus*.

Uzyskane wyniki na podłożach stałych wykazały, że zdecydowana większość szczepów *E. coli* nie miała wpływu na wzrost *B. cereus*. Również nie wszystkie szczepy *B. cereus*, których wzrost był hamowany wykazywały jednakową wrażliwość, przy uwzględnieniu tych samych wartości czasu i temperatury.

Niewielka liczba badanych szczepów nie pozwala na wyciąganie ogólniejszych wniosków. Powyższe wyniki wskazują jednak, że rozmnażanie *B. cereus* w produktach żywnościowych mogłoby być w pewnym stopniu hamowane przez niektóre szczepy *E. coli*. Wyjaśnienie powyższego wymagałoby jednak dalszych badań przy uwzględnieniu różnych rodzajów żywności.

WNIOSKI

1. Pewien procent szczepów *E. coli* działa antagonistycznie na *B. cereus*, przy czym zjawisko to występuje szczególnie wśród szczepów kolicynogennych.

Edward Stec

THE EFFECT OF *ESCHERICHIA COLI* ON GROWTH OF *BACILLUS CEREUS*

Summary

The effect of 101 *Escherichia coli* strains on growth of 90 *Bacillus cereus* strains on solid media was investigated. Only 9 *E. coli* strains (in particular the colicin-generating ones) were antagonistic towards *B. cereus*, giving distinct growth-inhibition zones around the colonies.

PIŚMIENNICTWO

1. Brandis H., Brandis U.: Über einem Bakteriocinartigen Stoff aus Enterokokken, Path. Microbiol. 1962, 25, 632. – 2. FDA: Bacteriological Analytical Manual for Foods, July 1976. – 3. Fredericq P.: Colicins. Ann. Rev. Microbiol., 1957, 11, 7. – 4. Gillisen G.: Untersuchungen über verschiedene Antagonismusformen, Ztbl. Bact. I. Orig., 1952, 159. 94. – 5. Jennings M.A., Sharp A., E.: Antibacterial activity of the Staphylococcus, Nature 1947, 159, 133. – 6. Kafel S., Ayres J.C.: The antagonism of enterococci on other bacteria in canned hams. J. Appl., Bacteriol. 1969, 32, 217. – 7. Maciejaska-Roczan K., Burzyńska H.: Występowanie różnych gatunków bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* w wybranych produktach mleczarskich, Roczn. PZH 1981, 32, 107. – 8. Michalska J.: The influence of medium upon pregermination of *Bacillus subtilis* spores, Acta Microbiol. Pol. 1963, 12, 331. – 9. Mossel D.H.A.: Physiological and acetabolic attributes of microbial groups associated with foods, J. Appl. Bacteriol. 1971, 34, 95-118. – 10. Nikodemusz J., Bouquet D.: Hygienisch-epidemiologische und bakteriologische Untersuchungen bei einer durch *Bacillus cereus* verursachten Lebensmittelvergiftung. Zeitschrift F. Hygiene 1961, 147, 327-335.

11. Prokopowa L.L.: Rozmnożenie i toksigenost *Bacillus cereus* w piszczewych produktach pri različnych temperaturnych usłowijach ich chranienija, Vop. Pit. 1970, 29, 56. – 12. Prokopowa L.L.: Wlijanie kiszczenoj pałaczki i stafilokokka na rozmnożenie i toksigenost *Bacillus cereus* w niekotorych piszczewych produktach, Vrach Delo 1972, z. 12, 125. – 13. Smykal B., Rokoszewska J.: *Bacillus cereus* jako czynnik etiologiczny w zatruciach pokarmowych, Roczn. PZH, 1976, 27, 47. – 14. Stec E.: Porównanie podłoży do ilościowego wykrywania laseczek *Bacillus cereus* w niektórych środkach spożywczych, Roczn. PZH, 1980, 31, 407.

Dn. 15.04.1990

00-791 Warszawa, ul. Chocimska 24