

STANISŁAW ZALESKI

## ŚLEDŹ ŚWIEŻY I SOLONY JAKO ŚRODOWISKO DLA WYSOCE CIEPŁOOPORNEJ LASECZKI ZGORZELI GAZOWEJ

Z Zakładu Badania Żywności, PU Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie  
i z Katedry Higieny Środków Spożywczych Zwierzęcego Pochodzenia  
Wydziału Weterynaryjnego WSR we Wrocławiu

Tak w Polsce (1, 2), jak też poza jej granicami (3, 4, 5, 6) stwierdza się przypadki zatruc rybami, przy których albo czynnik etiologiczny nie zostaje ustalony, lub też są wyodrębniane drobnoustroje wywołujące niespecyficzne zatrucia.

Istnieją przypuszczenia, że w wolnej od tłuszczu tkance mięsnej ryb są odpowiednie warunki do rozmnażania bakterii chorobotwórczych dla człowieka.

Jak wynika z piśmiennictwa, czynnikiem, który w przypadku tkanki śledziowej mógłby mieć, obok chlorku sodowego, decydujący wpływ na rozwój tych bakterii, jest tłuszcz rybi.

Wpływ chlorku sodowego na laseczkę zgorzeli gazowej określono uprzednio (8), natomiast w dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono danych odnośnie działania tłuszczów i kwasów tłuszczowych na ten drobnoustrój. Niemniej jednak istnieje dosyć bogate piśmiennictwo co do działania nasyconych kwasów tłuszczowych na *B. leprae* (9, 10, 11, 12, 13, 14, 15).

Najsilniejsze działanie bakteriobójcze spośród badanych kwasów wykazywał kwas palmitynowy, nieco słabsze posiadał kwas stearynowy, natomiast żadnego działania bakteriobójczego nie wykazywał kwas lau-rynowy.

Również w przypadku prątka gruźlicy stwierdzono hamujące działanie kwasów tłuszczowych.

W przeglądzie piśmiennictwa na temat rybich kwasów tłuszczowych, opracowanym przez *Lovern*a (19), autor stwierdza, że rybnie kwasy tłuszczowe należą do szeregu kwasów alifatycznych jednonasycenych i posiadają ułożenie liniowe przy braku rozgałęzionych łańcuchów. W tłuszczach rybich znaleziono tylko kwasy tłuszczowe o parzystej ilości atomów węgla. Długość ich łańcucha waha się od 12 do 26, a nawet 28 atomów węgla, w odróżnieniu od zwierząt lądowych, u których występują głównie kwasy o 16 i 18 atomach węgla, a pozostałe stwierdza się w bardzo małych ilościach.

Skład chemiczny tłuszczów rybich w organizmie żywym stale ulega zmianie. Mogą one być mieszaniną estrów kwasów nasyconych i jednego lub kilku kwasów nienasyconych, czasem nawet samych kwasów

\* Obecny adres autora: Katedra Technologii Przemysłu Rybnego Wydziału Rybackiego WSR w Olsztynie.

nienasyconych; z wydłużeniem łańcucha węglowego zwiększa się stopień nienasyconienia i skład ich komplikuje się. Wiadomo jest, że mieszanina kwasów tłuszczowych o 22 atomach węgla zawiera kwasy z 1, 5 i 6 wiązaniami podwójnymi, lecz istnieją również dane o obecności 2, 3 i 4 wiązań podwójnych.

Tabela I  
Skład kwasów tłuszczowych tłuszczu z wątroby dorsza  
Procenty wagowe

Kwasy nienasycone			K w a s y n a s y c o n e				
C <sub>14</sub>	C <sub>16</sub>	C <sub>18</sub>	C <sub>14</sub>	C <sub>16</sub>	C <sub>18</sub>	C <sub>20</sub>	C <sub>22</sub>
4,0	11,0	1,2	0,1 (-2,0 H)	11,1 (-2,0 H)	27,2 (-2,5 H)	26,8 (-5,0 H)	18,6 (-7,2 H)

Uwaga: Liczba w nawiasie oznacza średni stopień nienasyconienia kwasu tłuszczowego. Na przykład do wysycenia wszystkich kwasów o 16 atomach węgla potrzeba średnio 2 atomów wodoru.

Skład chemiczny tłuszczu śledziowego jest zależny od pory roku i wiąże się z cyklem odżywiania się ryby, jak również ze stanem rozwoju gonad. Dla zobrazowania wahań w składzie chemicznym tłuszczu śledziowego w zależności od pory roku podano za *Lovernem* (19) tabelę II.

Tabela II  
Nienasycone kwasy tłuszczowe tłuszczu śledziowego  
Procenty wagowe w stosunku do ogólnej zawartości kwasów tłuszczowych

P r ó b a		C <sub>16</sub>	C <sub>18</sub>	C <sub>20</sub>	C <sub>22</sub>
miesiąc	tłuszcz w %				
Kwiecień . . . . .	8	4,6 (- 2,6 H)	22,2 (- 2,9 H)	22,0 (- 3,9 H)	27,3 (- 4,2 H)
Czerwiec . . . . .	11	7,5 (- 2,7 H)	21,1 (- 3,3 H)	27,3 (- 4,8 H)	19,5 (- 5,7 H)
Czerwiec . . . . .	16	7,0 (- 3,0 H)	21,1 (- 4,8 H)	30,0 (- 5,2 H)	21,2 (- 4,8 H)
Lipiec . . . . .	21	6,4 (- 3,4 H)	21,0 (- 4,5 H)	28,3 (- 5,5 H)	23,1 (- 4,6 H)
Październik . . . . .	19	4,9 (- 2,7 H)	20,7 (- 4,2 H)	30,1 (- 4,6 H)	23,2 (- 4,3 H)
Październik . . . . .	12	4,9 (- 2,8 H)	16,3 (- 3,6 H)	28,7 (- 4,4 H)	29,1 (- 4,1 H)

Spośród szeregu wysoko nienasyconych kwasów tłuszczowych, którym przypisuje się działanie bakteriobójcze, w śledziu występuje w stosunkowo dużej ilości kwas klupanodonowy (C<sub>22</sub>H<sub>34</sub>O<sub>2</sub> o 5 wiązaniach

podwójnych), którego procentowa zawartość wg danych *Grimma* (23) dochodzi do 9<sup>0</sup>% ogólnej ilości tłuszczu śledziowego.

Rozpatrując działanie bakteriobójcze olejów należy również brać pod uwagę zawartą w nich ilość nadtlenu. Stwierdzono bowiem, że działanie bakteriobójcze par uzyskanych z powierzchni olejów roślinnych lub zwierzęcych, poddanych działaniu ultrafioletu, jest proporcjonalna do wzrostu nadtlenu w oleju powstających podczas nasświetlania (24). Wykazano również działanie bakteriobójcze nadtlenu uzyskanych z tranu dorszowego i były one albo rozpuszczalne, albo też mieszały się z roztworami soli (25). Po dodaniu takich składników, jak cysteina lub kwas tioglikolowy zniesiono jednak ich działanie na paciorkowca hemolitycznego.

Celem przeprowadzonych badań było stwierdzenie, jakie warunki istnieją w tkance śledziowej o różnej zawartości tłuszczu i chlorku sodowego dla rozwoju laseczek zgorzeli gazowej, a tym samym czy przetwory z śledzia świeżego i solonego mogą być przyczyną zatrucia pokarmowego.

#### BADANIA WŁASNE

Pochodzenie szczepów. Do badań użyto tych samych szczepów wysoce ciepłoopornej laseczki zgorzeli gazowej, które znalazły zastosowanie przy badaniu zachowania się tej bakterii w solance śledziowej (8).

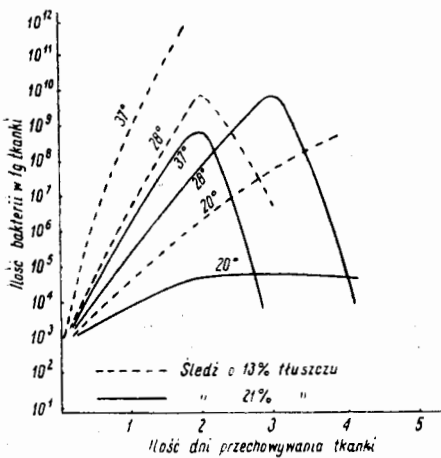
#### Śledź świeży

a) Badania nad przenikaniem laseczki zgorzeli gazowej z otoczenia do tkanki mięsnej śledzi. W celu zbadania czy laseczki zgorzeli gazowej mają zdolność przenikania przez skórę śledzia i rozmnażania się w śledziowej tkance mięsnej, rozmrożone śledzie o organoleptycznie nieuszkodzonej skórze, umieszczono w słojach 5-litrowych i zalano wodą. Do wody dodano przemytych komórek wegetatywnych laseczki zgorzeli gazowej w takiej ilości, że ich miano w wodzie wynosiło 1:1000. Słoje odstawiono w temperaturze pokojowej i codziennie badano tkankę mięsną śledzia na obecność tej bakterii. W tym celu po wyjęciu śledzi z wody płukano dokładnie ich skórę pod bieżącą wodą, a następnie suszono w bibule. Potem w doogonowym odcinku jamy ciała opalano śledzie na całym ich obwodzie i w miejscu opalenia przecinano skórę. Powierzchnię przecięcia jałowiono w płomieniu palnika gazowego i przez nią następnie pobierano próbę z bardziej doogonowo leżących warstw mięśniowych. Do badań użyto 2 gatunków śledzi o różnej procentowej zawartości tłuszczu: 13 i 21<sup>0</sup>%. Zawartość tłuszczu w tkance określono metodą ekstrakcji eterowej wysuszonej tkanki zgodnie z metodą podaną w Materiałach do Polskiego Kodeksu Żywnościowego (26).

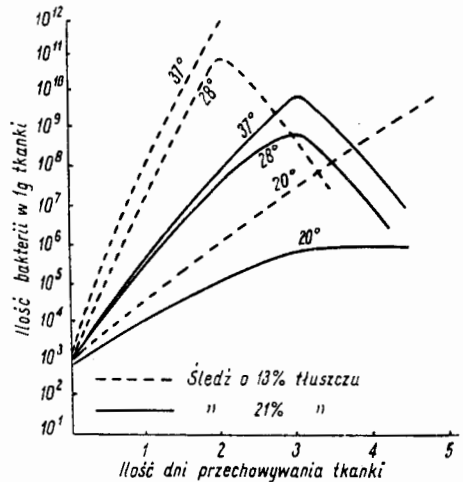
W wyniku badań stwierdzono, że laseczka zgorzeli gazowej przenika do tkanki mięsnej śledzia świeżego i na trzeci dzień po włożeniu śledzia do wody w śledziu chudym stwierdzono ją w ilości 1 miliona komórek/g tkanki. W przypadku śledzia tłustszego (zawartość tłuszczu 21<sup>0</sup>%) w tym czasie miano wynosiło 10 tys. komórek/g tkanki.

b) Wpływ temperatury i zawartości tłuszczu w tkance śledziowej na rozwój form wegetatyw-

nych i kiełkowanie zarodników laseczki zgorzeli gazowej. Dla dokładniejszego określenia, jakie warunki rozwojowe istnieją dla laseczki zgorzeli gazowej w tkance śledziowej, zmielono świeże śledzie o tej samej zawartości tłuszczu jak wyżej. Następnie tkanki mięsne o dwu różnych zawartościach tłuszczu rozdzielono każdą na dwie oddzielne próby i jedną zakażono formami wegetatywnymi, a drugą zarodnikami. Po oznaczeniu ilości komórek w 1 g tkanki, każdą z prób dzielono na trzy części i umieszczono w celu uniknięcia wysychania w oddzielnych, jałowych naczynkach ze szlifowanym korkiem, przechowując je w temperaturach 37, 28 i 20°. Badania prowadzono używając szczepów nr 3, 69 i 207. Codziennie w każdej próbie oznaczano ilość żywych komórek laseczki zgorzeli gazowej.



Ryc. 1. Rozwój form wegetatywnych laseczki zgorzeli gazowej w tkance śledzia świeżego.



Ryc. 2. Kiełkowanie zarodników laseczki zgorzeli gazowej w tkance śledzia świeżego.

W czasie badań nie stwierdzono istotnych różnic w zachowaniu się poszczególnych szczepów i z tej przyczyny wyniki ujęto wspólnie dla form wegetatywnych w rycinie 1, a dla zarodników w rycinie 2.

Jak wynika z ryciny 1, ilustrującej rozwój form wegetatywnych, w temp. 37° i 28° wystąpiło bardzo silne namnożenie w obu grupach śledzi, a ewentualne czynniki hamujące nie działały. W temp. 20° wyraźne namnożenie wystąpiło tylko w śledzi chudszej, o zawartości 13% tłuszczu w tkance. W przypadku śledzi, którego tkanka zawierała 21% tłuszczu, namnożenie w bardzo nieznacznych ilościach trwało do trzeciego dnia, a potem przez dwa dni ilość bakterii utrzymywała się na jednym poziomie.

Jak widać z ryciny 2, wyniki uzyskane podczas badania zachowania się zarodników odpowiadają bez istotnych różnic wynikom uzyskanym przy badaniu form wegetatywnych.

c) Badania nad tworzeniem się zarodników laseczki zgorzeli gazowej w czasie wysalania śledzia. W celu stwierdzenia czy w warunkach doświadczalnych znajdujące się w tkance śledziowej formy wegetatywne laseczki zgorzeli gazowej

są zdolne do wytworzenia zarodników przy zadziałaniu stężonego roztworu NaCl, śledzie, w tkance których stwierdzono te bakterie w ilości 1 miliona komórek/g, przesypano suchą solą, a następnie zalano nasyconym roztworem NaCl. Na 5. dzień od chwili zasolenia oznaczono w śledziach procentową zawartość NaCl metodą Mohra i stwierdzono, że w tkance jest 14<sup>0</sup>/<sub>0</sub> NaCl, a więc że śledź jest wysolony. Dużą szybkość wysalania się w tym przypadku śledzi, należy tłumaczyć stosunkowo wysoką temperaturą, w której odbywał się ten proces, ponieważ śledzie przez cały czas doświadczenia znajdowały się w temperaturach w granicach między 16 a 20<sup>0</sup>. Przeprowadzone na 6. dzień od chwili zasolenia badania bakteriologiczne wykazały zmniejszoną ilość komórek laseczki zgorzeli gazowej w tkance (100 tys/g), na 13. dzień było 1 tys. bakterii w 1 gramie, na 19 dzień już tylko 10 bakterii w 1 gramie, a po upływie 24 dni nie stwierdzono ich całkowicie. Należy zaznaczyć, że w żadnym z tych badań nie stwierdzono metodą posiewu tkanki pasteryzowanej w temp. 85<sup>0</sup> przez 10 minut obecności w tkance zarodników laseczki zgorzeli gazowej.

### Śledź solony

a) Charakterystyka materiału użytego do badań. W związku z wynikami, jakie uzyskano przy badaniu zdolności rozwojowej laseczki zgorzeli gazowej tak w postaci vegetatywnej, jak i zarodników w tkance mięsnej śledzia świeżego postanowiono zbadać, jak będzie się ta bakteria zachowywała w śledziach solonych, a następnie odsolonych w wodzie do różnej procentowej zawartości NaCl w tkance.

Do tego celu użyto trzech gatunków śledzi solonych, różniących się procentową zawartością tłuszczu w tkance mięsnej:

gatunek I zawierał 13<sup>0</sup>/<sub>0</sub> tłuszczu,

gatunek II zawierał 21<sup>0</sup>/<sub>0</sub> tłuszczu,

gatunek III zawierał 32<sup>0</sup>/<sub>0</sub> tłuszczu.

Wszystkie badane śledzie były całkowicie wysolone, ponieważ oznaczone w ich tkance mięsnej procentowe zawartości chlorku sodowego wahały się w granicach między 14 a 16,4<sup>0</sup>/<sub>0</sub> NaCl.

b) Wpływ procentowej zawartości chlorku sodowego i tłuszczu oraz temperatury na rozwój form vegetatywnych i kiełkowanie zarodników laseczki zgorzeli gazowej w tkance śledziowej. Dla przeprowadzenia badań każdy gatunek śledzi odsalano w zwykłej wodzie, często zmienianej przez różne okresy czasu, do uzyskania niskiego stopnia zasolenia tkanki. Następnie tkankę mięsną każdego gatunku oddzielnie mielono, oznaczano w niej procentową zawartość NaCl i zakażano obliczoną ilością form vegetatywnych lub zarodników. Po zakażeniu każdą próbę, której waga wynosiła ok. 60 g, dzielono na 3 części i każdą z nich wkładano do oddzielnego naczynka ze szlifowanym korkiem. Każde naczynko umieszczano w innej temperaturze 37, 28 i 20<sup>0</sup>. Z powstałych w ten sposób nowych próbek pobierano codziennie po dokładnym zmieszaniu 2 g tkanki i oznaczano w niej ilościowo laseczkę zgorzeli gazowej.

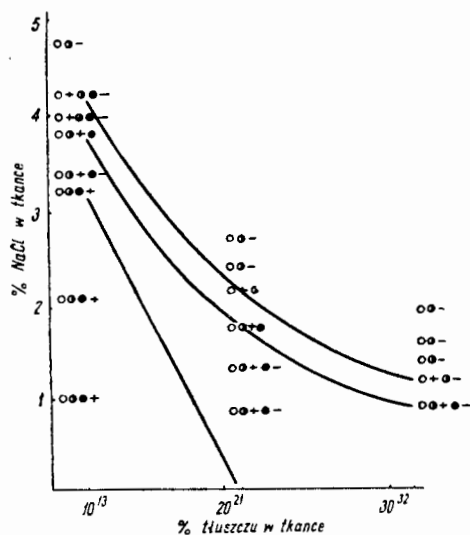
Podobnie jak poprzednio, do badań użyto szczepów Nr 3, 69 i 207 i ze względu na brak istotnych różnic w ich zachowaniu wyniki ujęto

wspólnie dla form wegetatywnych w rycinie 3, a dla zarodników w rycinie 4.

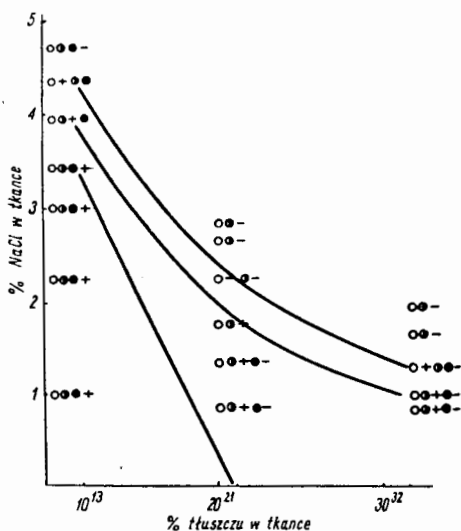
Jak widać z ryciny 3, w śledziu o 13% tłuszczu stwierdzono jeszcze wzrost w temp. 37° przy 4,3% NaCl w tkance, w temp. 28° — przy 3,9% NaCl i w temp. 20° — przy 3,4% NaCl.

W przypadku śledzia średniotłustego (21% tłuszczu w tkance) nastąpiło obniżenie zdolności rozwojowych laseczek zgorzeli gazowej i w temp. 37° rozwijały się one przy 2,3% NaCl, w temp. 28° — przy 1,9%, a w temp. 20° ich rozwój był całkowicie zahamowany.

W odniesieniu do śledzia pełnotłustego (32% tłuszczu w tkance) rozmnażane form wegetatywnych miało miejsce w temp. 37° jeszcze przy 1,3% NaCl, w temp. 28° — przy 0,9% NaCl, a w temp. 20°, jak przy śledziach średniotłustych, zwiększania się ilości tych bakterii nie stwierdzono.



Ryc. 3. Rozwój form wegetatywnych laseczki zgorzeli gazowej w solonej tkance śledziowej. 1) temp. 37°, O — temp. 28°, □ temp. 20°; 2) + obecność wzrostu, — brak wzrostu.



Ryc. 4. Kielkowanie zarodników laseczki zgorzeli gazowej w solonej tkance śledziowej. 1) temp. 37°, O — temp. 28°, □ temp. 20°; 2) + obecność wzrostu, — brak wzrostu.

Równocześnie godny podkreślenia jest stwierdzony fakt, że w przypadku gdy nie stwierdzono zwiększania się ilości laseczek zgorzeli gazowej, ilość ich utrzymywała się na jednym poziomie nie dłużej niż przez 1 — 2 dni, a potem występowało wyraźne zmniejszenie się ilości żywych komórek. W zależności od procentu chlorku sodowego i procentu tłuszczu w tkance, wymieranie występowało szybciej lub wolniej i prowadziło do całkowitego uwolnienia tkanki od laseczek zgorzeli gazowej.

Podobne wyniki jak przy formach wegetatywnych, z nieznacznymi różnicami, uzyskano również, jak widać z ryciny 4, przy badaniu zdolności kiełkowania zarodników i ich dalszego rozmnażania. Hamujące rozwój ilości chlorku sodowego i tłuszczu były podobne, jednak przy

braku kiełkowania ilość zarodników podczas 5-dniowej obserwacji nie zmniejszała się, a tylko przez cały czas utrzymywała się na jednym poziomie.

c) Wpływ procentowej zawartości chlorku sodowego i tłuszczu śledziowego oraz temperatury na rozwój form wegetatywnych i zarodników laseczki zgorzeli gazowej *in vitro*. Dla zbadania działania tłuszczu śledziowego na laseczki zgorzeli gazowej *in vitro*, zmielono śledzie średniotłuste, o zawartości 21% tłuszczu w tkance mięsnej i po rozłożeniu w cienkiej warstwie suszono tkanekę mięsną w cieplarni przy 37° przez 2 dni. Po jej całkowitym wyschnięciu ekstrahowano tłuszcz eterem naftowym o temperaturze wrzenia do 50°, a następnie eter odparowywano na łaźni wodnej o temp. ok. 60°.

Uzyskany tłuszcz posiadał liczbę nadtlenkową 3,14, kwasowość 28°, a próba na zjęczenie aldehydowe Kreisa była ujemna. Odpowiadał on więc wymaganiom stawianym dla tłuszczu śledziowego (27).

Równocześnie sporządzono agar z dodatkiem 2% glikozy, w skład którego wchodził również chlorek sodowy w różnych stężeniach. Do podłoża o każdym stężeniu NaCl dodawano ilościowo tłuszczu śledziowego w następujących procentach: 2,5, 5, 10 i 20%. W przypadku niższej procentowej zawartości tłuszczu w podłożu niż 20%, ilość podłoża uzupełniano jałową parafiną płynną tak, by we wszystkich kombinacjach podłoż były porównywalne zawartości NaCl. Końcowe stężenia NaCl w podłożach wynosiły 0,5, 1, 2, 3, 4 i 5%. Jako kontrolnych użyto podłoży z różną zawartością chlorku sodowego, do których dodano 20% jałowej parafiny płynnej. Podłoża kontrolne były zasiewane równolegle z podłożami o różnej zawartości tłuszczu śledziowego. Podłoża przed rozlaniem wstrząsano silnie przez taki okres czasu, aż uzyskano galaretkę agarową, w której kuleczki tłuszczu nie były widoczne gołym okiem.

Tak uzyskane galaretki agarowe, z dodatkiem różnych procentowych zawartości NaCl i tłuszczu śledziowego oraz kontrolne, rozlewano do cienkich rurek, zatopionych na jednym końcu i do niezestalonego jeszcze podłoża wprowadzano 1 kroplę, przemytej płynem fizjologicznym hodowli bakteryjnej z pipety pasterowskiej. Po zestaleniu się podłoża wszystkie posiewy w postaci agarów słupkowych zalewano parafiną płynną i równoległe pod względem składu rozmieszczano w temperaturach 37, 28 i 20°. Obecność wzrostu na podłożach kontrolowano codziennie przez obserwowanie wyglądu słupka agarowego. Za wynik dodatni uważano popękanie lub wysadzenie agaru.

Badaniu poddano tak formy wegetatywne, jak i zarodniki szczepów oznaczonych nr 3, 69 i 207. Ze względu na brak istotnych różnic w zachowaniu się poszczególnych szczepów wyniki badań skomasowano w jednej tabeli dla form wegetatywnych (tabela III), w drugiej — dla zarodników (tabela IV).

Jak widać z tabeli III, posiane formy wegetatywne laseczki zgorzeli gazowej rozwijały się przy równocześnie niższych stężeniach NaCl i tłuszczu w podłożu niż w tkance śledziowej. W temp. 37° wystąpił wzrost przy 20% tłuszczu i 1% NaCl w podłożu. Przy tym samym procencie tłuszczu w obecności 2% NaCl w podłożu wzrostu już nie obserwowano, mimo że przy takich stężeniach składników w tkance śledzio-

wej wzrost był wyraźny. Również w tej temperaturze w obecności 10% tłuszczu w podłożu obserwowano wzrost tylko w obecności 2% NaCl, podczas gdy w przypadku tkanki śledziowej przy stężeniu 13% tłuszczu wzrost wystąpił jeszcze w obecności 4,6% NaCl. Przy tak wysokich stężeniach chlorku sodowego wzrost form vegetatywnych występował tylko przy niższych stężeniach tłuszczu w podłożu (2,5%).

Tabela III

Rozmnażanie form vegetatywnych laseczki zgorzeli gazowej na podłożu agarowym z dodatkiem chlorku sodowego i tłuszczu śledziowego

Procent tłuszczu w podłożu	Procent chloru sodowego w podłożu																	
	0,5			1,0			2,0			3,0			4,0			5,0		
	w temperaturach																	
	20°	28°	37°	20°	28°	37°	20°	28°	37°	20°	28°	37°	20°	28°	37°	20°	28°	37°
2,5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-
5,0	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-
10,0	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20,0	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Parafina (kontrolna)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Uwaga: + = stwierdzono obecność wzrostu.

- = wzrostu nie stwierdzono

Tabela IV

Kiełkowanie i rozmnażanie zarodników laseczki zgorzeli gazowej na podłożu agarowym z dodatkiem chlorku sodowego i tłuszczu śledziowego

Procent tłuszczu w podłożu	Procent chlorku sodowego w podłożu																	
	0,5			1,0			2,0			3,0			4,0			5,0		
	w temperaturach																	
	20°	28°	37°	20°	28°	37°	20°	28°	37°	20°	28°	30°	20°	28°	37°	20°	28°	37°
2,5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-
5,0	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10,0	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20,0	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Parafina (kontrolna)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Podczas termostataowania posiewów w temp. 28° wzrost występował przy podobnych stężeniach składników, jak w temp. 37°, jednak w niektórych przypadkach obserwowano pewne utrudnienie we wzroście. Można je było obserwować przez powstawanie w podłożu zmian dopiero na 3. lub 4., a nie 2. dzień po posiewie.

W temp. 20° wzrost wystąpił przy najwyższym równoczesnym stężeniu 10% tłuszczu i 1% NaCl, które również są dużo niższe od obserwowanych stężeń w tkance śledziowej, w obecności których wystąpił wzrost.

Jak widać również z tabeli III, kontrole przygotowane z parafiną płynną nie wykazały hamującego działania tego związku na rozwój form vegetatywnych laseczek zgorzeli gazowej. Wzrost w postaci popękania



słupka agaru obserwowano przy obecności 20% parafiny i 5% chlorku sodowego w podłożu, niezależnie od zastosowanej temperatury termostatowania (20, 28 i 37°).

Uzyskanie wzrostu form wegetatywnych na podłożach sztucznych z dodatkiem tłuszczu śledziowego przy dużo niższych stężeniach tłuszczu i NaCl niż w tkance można prawdopodobnie tłumaczyć innym rozprężeniem tłuszczu w podłożu i tkance, gdzie tłuszcz leży wewnątrzkomórkowo. Prócz tego w tkance działają na laseczkę zgorzeli gazowej czynniki ochronne (17), których w podłożu brak.

Tabela IV, obrazująca kiełkowanie i rozwój zarodników na podłożach z dodatkiem tłuszczu i chlorku sodowego, różni się nieznacznie od tabeli III, co może świadczyć, że stworzone warunki w podobny sposób wpływały na rozwój form wegetatywnych, jak również na kiełkowanie ich zarodników.

d) Badania nad działaniem ochronnym oleju sojowego na laseczkę zgorzeli gazowej w rozdrobnionej tkance mięsnej śledzia solonego. Najczęściej spotykanymi przetworami ze śledzia solonego są marynaty i śledź w oleju lub oliwie. W związku z tym, że prawidłowo przygotowana marynata powinna mieć pH niższe niż 4,5 (28), a laseczka zgorzeli gazowej przy tym stężeniu jonów wodorowych już się nie rozwija (8), wydaje się, że przy prawidłowym przygotowaniu tego rodzaju produktu, nie istnieje niebezpieczeństwo zatruc tym drobnoustrojem.

Ponieważ w piśmiennictwie znajdują się dane o wykorzystaniu przez bakterie w niektórych przypadkach kwasów tłuszczowych jako jedynego źródła węgla (17), jak również stwierdzenia, że można uzyskać pobudzenie wzrostu *H. pertussis* działając nienasyconymi kwasami tłuszczowymi, obecnymi w korkach z bawełny (29), przebadano wpływ oleju sojowego na wzrost laseczek zgorzeli gazowej w tkance śledziowej.

W tym celu powtórnie przygotowano próby ze zmielonej tkanki mięsnej śledzi o trzech różnych zawartościach tłuszczu i różnym stopniu zasolenia. Do przygotowanych próbek dodawano oleju sojowego w ilości 50%, a następnie zakażano formami wegetatywnymi lub zarodnikami laseczki zgorzeli gazowej szczepów nr 3, 69 i 207. Po dokładnym zmieszaniu obliczano ilość komórek w 1 g próby, a następnie każdą próbę dzielono na 3 części, które odstawiano do różnych temperatur — 20, 28 i 37°.

Badania przeprowadzone w odstępach 24 godz. nie wykazały istotnych różnic w zachowaniu się tak form wegetatywnych, jak i zarodników w porównaniu z zarodnikami przy badaniu odsolonej tkanki śledziowej bez dodatku oleju sojowego, a więc z wynikami podanymi w rycinie 3 i 4.

Z powyższego wynika, że w przypadku laseczki zgorzeli gazowej olej sojowy nie działał ochronnie na tę bakterię i nie chronił jej przed niekorzystnym oddziaływaniem solonej tkanki śledziowej.

#### OMÓWIENIE WYNIKÓW

Chociaż przypadki masowych zatruc rybami są notowane stosunkowo w niewielkiej ilości (1, 3, 4 i 5) i opinie niektórych badaczy (30, 31) idą raczej w kierunku, że ze strony pokarmu rybnego bardzo rzadko zagra-

za konsumentowi niebezpieczeństwo, to jednak takie przypadki są notowane. Również pojawiające się od czasu do czasu doniesienia podają przypadki szczególnie groźnych zatruc po spożyciu ryb (2, 6).

Jest wielce prawdopodobne, że w wielu przypadkach, gdy przyczyna zatrucia nie zostaje ustalona lub gdy zatrucie ma przebieg krótkotrwały i łagodny, czynnikiem etiologicznym jest wysoce ciepłooporna laseczka zgorzeli gazowej. Choć naturalne źródło tej bakterii nie zostało do chwili obecnej definitywnie ustalone, to jednak występowanie jej w 60—100% badanych prób wód ściekowych, jak również częsta obecność u much (32), wskazują na jej silne rozprzestrzenienie.

Przyjmując pogląd Hobbs i współpr. (33), którzy uważają, że zatrucie na tle laseczki zgorzeli gazowej może wystąpić, gdy znajdzie się ona w pokarmie w dużej ilości, należy stwierdzić, że warunki dla jej rozwoju w śledziach są zależne od procentowej zawartości tłuszczu i chlorku sodowego w tkance oraz temperatury przechowywania. Im więcej tłuszczu, tym większe trudności rozwojowe dla tej bakterii i im bardziej temperatura zbliża się do optymalnej dla laseczki zgorzeli gazowej, tym słabsze jest działanie hamujące tłuszczu śledziowego.

W przypadku śledzia solonego hamująco na wzrost laseczki zgorzeli gazowej wpływa również chlorek sodowy.

Wymienione wyżej ewentualności wystąpią równocześnie wówczas, gdy do produkcji zostanie użyty surowiec niepełnowartościowy, a produkt będzie przechowywany w warunkach antyosanitarnych. Wtedy laseczka zgorzeli gazowej znajdzie odpowiednie warunki do rozwoju i namnoży się szybko.

#### WNIOŚKI

1. Temp. 37 i 28° umożliwia silne namnożenie form wegetatywnych, jak również kiełkowanie i dalsze rozmnażanie zarodników wysoce ciepłoopornej laseczki zgorzeli gazowej w tkance mięsnej świeżych śledzi o zawartości 13 i 21% tłuszczu w tkance. W temp. 20° powyższe stwierdza się u śledzi o zawartości 13% tłuszczu w tkance, natomiast u śledzi o zawartości 21% tłuszczu obserwuje się jedynie bardzo nieznaczne namnażanie i kiełkowanie.

2. Solenie śledzia świeżego, którego tkanka mięsna zawiera formy wegetatywne wysoce ciepłoopornej laseczki zgorzeli gazowej, powoduje zabicie tych bakterii.

3. Rozmnażanie form wegetatywnych tej laseczki w tkance mięsnej śledzia solonego jest zależne od temperatury środowiska oraz od procentu chlorku sodowego i tłuszczu w tkance. Występuje ono u:

- a) śledzi zawierających 13% tłuszczu w tkance
  - w temp. 37° przy 4,3% NaCl,
  - w temp. 28° przy 3,9% NaCl,
  - w temp. 20° przy 3,4% NaCl;
- b) śledzi zawierających 21% tłuszczu w tkance
  - w temp. 37° przy 2,3% NaCl,
  - w temp. 28° przy 1,9% NaCl,
  - w temp. 20° — nie stwierdzono rozmnażania przy 1,0% NaCl w tkance;

c) śledzi zawierających 32% tłuszczu w tkance  
 w temp. 37° przy 1,3% NaCl,  
 w temp. 28° przy 1,0% NaCl,  
 w temp. 20° — nie stwierdzono rozmnażania przy 1,0% NaCl  
 w tkance.

4. Zależność temperatury, procentu NaCl i tłuszczu w tkance dla kiełkowania i dalszego rozmnażania zarodników wysoce ciepłopornej laseczki zgorzeli gazowej w tkance śledziowej była podobna do zależności dla form wegetatywnych.

5. Formy wegetatywne tej laseczki zgorzeli giną, gdy w solonej tkance śledziowej istnieją nieodpowiednie warunki dla ich rozmnażania, zarodniki natomiast utrzymują się w niezmienionej ilości przez 5 dni.

6. Wyekstrahowany tłuszcz śledziowy dodany do podłoża, działa w połączeniu z NaCl silnie hamująco na rozwój form wegetatywnych i zarodników wysoce ciepłopornej laseczki zgorzeli gazowej.

7. Olej sojowy nie wpływa na zachowanie się form wegetatywnych i zarodników tej laseczki w solonej tkance śledziowej.

8. Solone śledzie, szczególnie chude, mogą być przyczyną zatruc pokarmowych na tle wysoce ciepłopornej laseczki zgorzeli gazowej w przypadku anty-sanitarnych warunków produkcji i rozprowadzania.

C. З а л е с к и

#### СВЕЖАЯ И СОЛЕНАЯ СЕЛЕДКА КАК ПИТАТЕЛЬНАЯ СРЕДА ДЛЯ ТЕПЛОУСТОЙЧИВОЙ ПАЛОЧКИ *CL. PERFRINGENS*

##### С о д е р ж а н и е

Целию удостоверения какие обстоятельства содействуют развитию теплоустойчивой палочки *Cl. perfringens* в мясе селедки исследовано как сохраняются эти бактерии в свежих и соленых селедках.

Так как и жир селедки и хлористый натрий препятствуют развитию этих бактерий — констатировано что условия для ее развития зависят от процентного содержания этих элементов и от температуры хранения. И чем больше в мясной оболочке селедки жира и хлористого натрия тем более трудные условия для развития этих бактерий. Влияние температуры на хранение мясной оболочки селедки заключается в том, что чем она ближе оптимальной для теплоустойчивой палочки *Cl. perfringens* тем слабее тормозящее влияние селедочного жира и хлористого натрия.

По этой причине в благоприятных условиях — и в свежих и соленых селедках может выступить размножение теплоустойчивых палочек *Cl. perfringens* и пищевые „отравления” этими бактериями являются возможными.

S. Zaleski

#### FRESH AND SALTED HERRING AS A MEDIUM FOR GROWTH OF HIGHLY THERMORESISTANT CLOSTRIDIUM WELCHII

##### S u m m a r y

The growth of *Clostridium welchii* (B. *Perfringens*) when inoculated in the tissue of fresh and salted herrings has been studied. Both sodium chloride and fish fat act as inhibitors, thus the growth was dependent on its percentage and the tempe-

perature. Closer the temperature of incubation to the optimal temperature for the *Clostridium* smaller the inhibiting effect of both other factors. It is stated, that the possibility exists for the occurrence of food poisoning due to the presence of *Clostridium welchii* in these products.

#### PIŚMIENNICTWO

1. *Kocznorowski H.*: Informacja ustna, 1958. — 2. *Zaleski S.*: *Med. Wet.*, 357, 1953. — 3. *Farchmin G.*: Informacja ustna, 1958. — 4. *Feig M.*: *Am. J. Publ. Health*, 40, 1372, 1950. — 5. *Meyer K. F.*: *New England J. Med.*, 249, 765, 804, 843, 1953. — 6. *Nowitzky E.*: *Zentrbl. Bakt. I. Orig.*, 148, 357, 1942. — 7. *Zaleski S., Stec E.*: w opracowaniu. — 8. *Zaleski S.*: *Roczniki PZH* — w druku. — 9. *Adams R., Stanley W. M., Ford S. G., Peterson W. R.*: *J. am. Chem. Soc.*, 49, 2934, 1927. — 10. *Adams R., Stanley W. M., Stearns H. A.*: *J. Am. Chem. Soc.*, 50, 1475, 1928.
11. *Armendt B. F., Adams R.*: *J. Am. Chem. Soc.*, 52, 1289, 1930 — 12. *Arvin J. A., Adams R.*: *J. Am. Chem. Soc.*, 50, 1983, 1928. — 13. *Ford S. G., Adams R.*: *J. Am. Chem. Soc.*, 52, 2540, 1930. — 15. *Stanley W. M., Jay M. S., Adams R.*: *J. Am. Chem. Soc.*, 51, 1261, 1929. — 16. *Dubos R. J., Davies B. D.*: *J. Exp. Med.*, 83, 409, 1946. — 17. *Youmans A. S., Loumans G. P.*: *J. Bact.*, 67, 731, 1954. — 18. *Partnode R. A., Hudgins P. C.*: *Am. Rev. Tuberc. Pulm. Dis.*, 75, 630, 1957. — 19. *Lovern J. A.*: *Tre Biochemistry of Fish.* Biochemical Society, 1951. — 20. *Prickett P., Wiehle W. E.*: *Appl. Microbiol.*, 3, 26, 1955.
21. *Emmerie A., Engel Chr., Klip W.*: *J. Sci. Food Agric.*, 3, 264, 1952. — 22. *Nelis P.*: *Compt. Rendes Soc., Biol.*, 429, 1939 na podst. *Farmacja*, 3, 267, 1939. — 23. *Grimme*: *Chem. Umschau*, 28, 17, 1921, na podst. *Halston A. W.*: *Fatty acids and their derivatives.* *J. Wiley and sons*, New York, str. 147, 1948. — 24. *Harris, Bunker, Miles*: *Ingust. Engin. Chem.*, 24, 1181, 1932, na podst. *Stevens F. A.*: *J. Inf. Dis.*, 58, 185, 1936. — 25. *Stevens F. A.*: *J. Inf. Dis.*, 58, 185, 1946. — 26. *Krauze S.*: *Materiały do Polskiego Kodeksu Żywnościowego.* Farmaceutyczny Instytut Wydawniczy, Warszawa 1948. — 27. *Müller L.*: *Własności i analiza tłuszczów D. O. K. VIII Toruń* 1929. — 28. *Seelet T.*: *Allg. Fischwirtschaft*, 1, 232, 1949. — 29. *Pollock M. R.*: *Nature Lond.*, 853, 1948. — 30. *Behre A.*: *Deutsche Med. Wochenschrift*, 77, 53, 1952.
31. *Schonberg F.*: *Fleischwirtschaftl*, 1, 232, 1949. — 32. *MacLenan L. D.*: *Ann. New York Ac. Sci.*, 66, 162, 1956. — 33. *Hobbs B. C., Smith M. E., Oackley C. L., Warrack G. H., Cruiskhank J. C.*: *J. Hyg.*, 51, 75, 1953.

Wpłynęło 5.VI.1959 r.