

2. Brak jest dotąd technologii zagospodarowania poszczególnych surowców, która uczyniłaby zadość wszystkim wymogom. Fakt ten postuluje potrzebę wyboru technologii, najbardziej w danych warunkach odpowiedniej.

3. W dotychczasowym postępie przetwarzania nieliczne są polskie oryginalne koncepcje techniczne i technologiczne.

4. Optymalizacja i racjonalizacja technologicznego zagospodarowania przedmiotowych surowców w Polsce wymaga zwrócenia szczególnej uwagi na surowce dotąd wcale nie zago-

spodarowane lub niedostatecznie zagospodarowane. W działaniu tym preferować trzeba technologie energooszczędne, nie wymagające dużych, szczególnie importowanych inwestycji, umożliwiające szybkie uruchomienie produkcji i stanowiące m.in. ewidentny wkład przemysłu spożywczego w lepsze pokrycie zapotrzebowania hodowcy zwierząt gospodarczych na paszę.

Adres autora: prof. dr Wincenty Pezacki, ul. Mazowiecka 22, 60-617 Poznań

JOZEF MALESZEWSKI, TERESA MACIAK *

Wpływ różnych stężeń NaCl na przeżywalność pałeczek *E. coli*

Samodzielna Pracownia Mikrobiologii i Biochemii Produktów Zwierzęcych
Instytutu Weterynarii w Puławach z siedzibą w Warszawie, ul. Zamojskiego 15, 03-801 Warszawa
* Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Lechicka 21, 02-156 Warszawa

Wykorzystanie solenia środków spożywczych, zwłaszcza mięsa i ryb do przedłużenia ich trwałości znane jest od bardzo dawna (7). Zabieg ten polega przede wszystkim na zahamowaniu wzrostu większości niepożądanych drobnoustrojów. Jak wiadomo niskie stężenia soli kuchennej warunkują prawidłowe funkcje życiowe bakterii, wyższe mogą je hamować zależnie od stężenia soli i wrażliwości komórek. Dla wzrostu drobnoustrojów halofobnych i halotolerancyjnych optymalne stężenie NaCl w podłożu wynosi 2%, natomiast dla drobnoustrojów halofilnych rozpiętość stężeń jest bardzo szeroka i wynosi dla słabo halofilnych 2 — 5%, dla umiarkowanie halofilnych 5 — 20% i dla skrajnie halofilnych powyżej 20% (5).

Przyjmując umownie powyższą klasyfikację drobnoustrojów na podstawie ich wrażliwości na NaCl należy stwierdzić, że mikroorganizmy będące przedmiotem badań w środkach spożywczych należą w zdecydowanej większości do halofobnych i słabo halofilnych. Spośród bakterii niehalofilnych wrażliwe na sól kuchenną są beztlenowce i tlenowce przetrwalnikujące. Wiele z nich nie rozmnaża się już przy 5% NaCl, a większość w obecności 10%, przy czym tolerancja form wegetatywnych na NaCl maleje wraz ze zwiększającą się kwasowością (2, 8, 9).

Drobnoustrojami często spotykanymi w środkach spożywczych, tolerującymi wysokie stężenie soli są enterokoki rozmnażające się przy 6,4 — 7% NaCl i pozostające przy życiu w nasyconych solankach (10). Również gronkowce wykazują wysoką tolerancję na NaCl. Mogą wykazywać wzrost zależnie od pH nawet przy 15% stężeniu NaCl (6). Według danych Larsena (5) granica wzrostu pałeczek gramujemnych znajduje się w zakresie stężeń 5 — 10% NaCl. Nasycone solanki działają bakterio-bójczo na pałeczki *E. coli*. Uważa się, że bakterioostatyczne działanie chlorku sodowego po-

lega na kształtowaniu aktywności wodnej w środowisku, na plazmolizie komórek, obniżeniu rozpuszczalności tlenu w środowisku, uczuleniu bakterii na CO₂, specyficznym działaniu jonów Cl⁻ i osłabieniu enzymów proteolitycznych (1, 5).

Dotychczasowe dane doświadczalne o inhibitującym działaniu chlorku sodowego na wzrost wielu drobnoustrojów nie wyjaśniają jeszcze mechanizmów tego zjawiska. W odniesieniu do bakterii gramujemnych wykazano, że inhibitujące działanie NaCl polega głównie na plazmolizie. Mianowicie drobnoustroje te posiadają bardzo szczelną ścianę komórkową zbudowaną z dużej ilości konglomeratów wielocukrowych, co utrudnia przepuszczalność soli. Uniemożliwia to wyrównanie ciśnienia osmotycznego plazmy komórki z otoczeniem, w związku z czym następuje jej odwodnienie. Należy przypomnieć, że plazmoliza traktowana jest jako uszkodzenie komórki, która może być procesem przejściowym, jeśli w porę zostanie wyrównane ciśnienie osmotyczne komórki i środowiska.

W środkach spożywczych, a zwłaszcza w przetworach mięsnych i rybnych stężenie soli kuchennej waha się od kilku do kilkunastu procent, zależnie od rodzaju produktu. Niskie zawartości soli w produkcie mogą sugerować, że stężenia te bardziej sprzyjają rozwojowi mikroflory niż go hamują. Rozważając ten aspekt należy mieć na uwadze inne składniki, a zwłaszcza zawartość wody w produkcie, bowiem względem drobnoustrojów ważne jest stężenie NaCl w fazie wodnej. Przykładowo: jeśli % wody w produkcie wynosi 56,4%, a NaCl — 3,6%, to % zawartości soli w fazie wodnej obliczony ze stosunku % soli do % wody i soli $\times 100$ wynosi 6%, co ma znaczący wpływ inhibitujący na wzrost wielu rodzajów bakterii niepożądanych w środkach spożywczych (3).

Wobec skąpych informacji na temat wrażli-

wości pałeczek *E. coli* na NaCl uznano za celowe określenie przeżywalności i możliwości rozwoju pałeczek *E. coli* w środowisku zawierającym różne stężenie soli kuchennej i w związku z tym wyjaśnienie, czy liczebność tych drobnoustrojów w zasolonym środowisku wynika z możliwości rozwoju.

Materiał i metody

Do badań użyto 15 szczepów *E. coli* wyizolowanych z mięsa. Środowisko, w którym sprawdzono wzrost i przeżywalność szczepów stanowił bulion o pH 7,2 z dodatkami 3, 5, 10, 15 i 20% NaCl. Przebieg doświadczeń był następujący: w pierwszej fazie badań każdy szczep *E. coli* posiewano do bulionu zwykłego i inkubowano w temp. 37°C, w ciągu 24 godz. Z uzyskanej hodowli bulionowej pobierano po 0,2 i 0,5 cm³ materiału i wprowadzano do 10 cm³ bulionu zawierającego 10, 15 i 20% soli kuchennej, a następnie inkubowano w temp. 37°C w ciągu 24 godzin. Po tym czasie sprawdzano czy nastąpił wzrost (zmętnienie bulionu), a następnie próbki pozostawiano w temperaturze pokojowej ok. 18 ± 1°C oraz oddzielnie w temp. 4 — 5°C. Żywotność badanych szczepów sprawdzano codziennie posiewając materiał z probówek na stałe podłoże z agarem odżywcym. Obserwacje szczepów przeprowadzano do momentu aż przesiewy nie wykazywały wzrostu.

W drugiej fazie badań z hodowli bulionowej bez dodatkowych ilości NaCl pobierano materiał, rozcieńczano bulionem tak, aby uzyskać *inoculum* 10⁵ — 10⁶/cm³, które wprowadzano do bulionu z dodatkową ilością soli od 3 do 20%. Wszystkie badane szczepy *E. coli* jako zawiesiny przygotowane w powyższy sposób przetrzymywano w temperaturze 18 ± 1°C oraz oddzielnie w temp. 4 — 5°C. Codziennie z każdej próbki przesiewano materiał na powierzchnię stałego podłoża z agarem odżywcym, sprawdzając, czy drobnoustroje pozostają jeszcze żywe oraz intensywność wzrostu przez określenie ich liczebności w 1 cm³. We wszystkich fazach badań kontrolę stanowiły zawiesiny szczepów w bulionie bez dodatkowych ilości soli kuchennej.

Wyniki i omówienie

Rezultaty pierwszej części badań wykazały, że przy wprowadzeniu do bulionu z dodatkową ilością NaCl pałeczek *E. coli* w ilości 0,5 cm³ hodowli, wszystkie szczepy wykazywały wzrost po jednodniowej inkubacji. Natomiast przy *inoculum* 0,2 cm³ hodowli tylko niektóre rozmnażały się w bulionie z dodatkiem 10 i 15% NaCl. Przy stężeniu 20% NaCl wzrostu nie zaobserwowano. Przy mniejszym *inoculum* pałeczki *E. coli* po jednodniowej inkubacji w temp. 37°C, przetrzymywane następnie w temp. 18°C przeżywały 12 — 23 dni, a przy większym *inoculum* 31 — 40 dni zależnie od szczepu. Przetrzymywane po inkubacji w temp. 4 — 5°C pozostawały żywe odpowiednio 24 — 51 dni oraz 33 — 62 dni. Zauważono, że jedne szczepy ginęły szybciej przy 10% stężeniu NaCl niż inne w bulionie z 20% dodatkiem soli.

Wyniki następnej części badań, kiedy do 10 cm³ bulionu z dodatkowymi ilościami soli kuchennej wprowadzano 10⁵⁻⁶ komórek *E. coli* wykazywały, że w bulionie z 3% NaCl wszystkie badane szczepy rozmnażały się zarówno

w temp. 4 — 5°C, jak i w temp. 18°C. W niższej temperaturze, jak było do przewidzenia, wzrost następował wolniej. Dla osiągnięcia liczebności komórek rzędu 10⁸/cm³ bulionu wystarczyło w temp. 18°C 24 godziny, podczas gdy w temp. 4 — 5°C — 72 godz.

Przy 5% stężeniu NaCl i w temp. 18°C następował wzrost, a pałeczki *E. coli* pozostawały żywe przez cały okres obserwacji tj. 90 dni. Po tym okresie ich liczebność kształtowała się na poziomie 10⁶⁻⁷/cm³. W temp. 4 — 5°C nie następował wzrost. Po 3 — 4 dniach zaobserwowano stopniowe zmniejszenie się liczby żywych komórek. Szczepy ginęły po 14 — 36 dniach.

Przeżywalność pałeczek *E. coli* w bulionie z 10% soli kuchennej wynosiła w temp. 18°C 2 — 3 dni (tylko w jednym przypadku 6 dni), natomiast w temp. 4 — 5°C, niektóre szczepy przeżywały kilkanaście do 22 dni. Zarówno w niższej, jak i wyższej temperaturze obumieranie komórek następowało szybko, bowiem już po 24 godzinach liczebność komórek wszystkich badanych szczepów zmniejszała się do poziomu 10²⁻³/cm³. W następnych dniach pozostawały żywe tylko pojedyncze komórki.

W bulionie z dodatkiem 15 i 20% NaCl pałeczki *E. coli* pozostawały żywe w temp. 18°C tylko 1 — 2 dni, natomiast w niższej temperaturze zależnie od stężenia soli kuchennej odpowiednio 2 — 12 dni oraz 1 — 8 dni. Dane dotyczące przeżywalności poszczególnych szczepów ilustruje tab. 1.

Tab. 1. Przeżywalność pałeczek *E. coli* w bulionie z NaCl przy *inoculum* 10⁵⁻⁶ komórek w 1 cm³ (dni).

Nr szczepu	5% NaCl		10% NaCl		15% NaCl		20% NaCl	
	18°C	4-7°C	18°C	4-7°C	18°C	4-7°C	18°C	4-7°C
1		14	3	2	1	2	1	1
2		18	2	2	1	2	1	1
3		21	2	1	1	2	1	1
4		19	2	4	2	4	2	3
5		27	3	8	1	6	1	6
6		29	3	4	2	4	2	3
7		31	3	6	1	4	1	5
8		17	2	3	1	2	1	2
9		32	3	11	1	11	1	8
10		26	2	5	1	5	1	3
11		31	3	12	1	7	2	5
12		36	6	22	1	12	1	5
13		22	2	3	1	3	1	2
14		18	2	13	2	11	2	6
15		27	2	9	2	6	1	4

Porównując uzyskane wyniki z rezultatami badań Harrlera (4), który badał przeżywalność różnych szczepów pałeczek rodzaju *Salmonella* w podobnych warunkach i tych samych stężeniach NaCl należy stwierdzić, że pałeczki *E. coli* są bardziej wrażliwe na sól kuchenną niż pałeczki *Salmonella*. Na przykład koncentracja 10% NaCl powodowała obumieranie pałeczek *Salmonella* w temp. 18°C po 28 — 83 dniach, a w temp. 4 — 7°C po 120 dniach. Również przy wyższych stężeniach NaCl 15 — 20% pałeczki te ginęły znacznie później, choć wykazywały znaczne zróżnicowanie zależnie od szczepu. Jedne szczepy ginęły po 7 dniach, a

inne po 81 dniach przy stężeniu NaCl wynoszącym 15% i temp. 18°C; podobnie w niższej temperaturze i wyższej koncentracji soli kuchennej.

Wyniki cytowanej pracy, jak i uzyskane w niniejszej wskazują, że istnieje bardzo duże różnicowanie wrażliwości pałeczek z rodzaju *Salmonella* i pałeczek *E. coli* na koncentracje soli kuchennej powyżej 5%. Być może z tego względu nie podaje się w piśmiennictwie zakresów stężeń NaCl, które warunkują przeżywalność tych drobnoustrojów.

Wnioski

1. W środowisku bulionowym, zawierającym 10 do 20% soli kuchennej czas przeżywalności pałeczek *E. coli* zależy od wielkości *inoculum*.

2. Przy *inoculum* $10^5 - 10^6$ w cm^3 przeżywalność pałeczek *E. coli* w bulionie z 10 do 20% NaCl, w temp. 18°C wynosi 1 do 6 dni, natomiast w temperaturze 4 — 5°C od 1 do 22 dni zależnie od szczepu.

3. W środowisku zawierającym w fazie wodnej wyższe stężenie NaCl niż 5%, liczebność pałeczek *E. coli* odpowiadać może początkowemu zakażeniu lub mniejszemu, zależnie od upływu czasu.

Piśmiennictwo

1. Castellani A. G., Niven C. F.: Appl. Microbiol. 3, 154, 1955.
2. Emodi A. S., Lechowich R. V.: J. Fd Sci. 34, 78, 1969.
3. Halvorson H. D.: Annls Inst. Pasteur, Lille 7, 53, 1955.
4. Harrier H.: Praca doktorska, Berlin 1958.
5. Larsen H.: Halophilism. The bacteria, t. 4. Academic Press, New York 1962.
6. Farfentjev I. A., Catelli A. R.: J. Bact. 88, 1, 1964.

7. Prost E.: Medycyna Wet. 6, 232, 1950.
8. Raemori M., Genigeorgis C.: Appl. Microbiol. 29, 68, 1975.
9. Segner W. P., Schmidt C. F., Boltz I. K.: Appl. Microbiol. 22, 1025, 1971.
10. Zaleski S.: Roczniki PZH 4, 339, 1953.

Adres autora: doc. dr hab. Józef Maleszewski, ul. Sobieskiego 113 m. 21, 00-763 Warszawa

Малешевский Ю., Мацяк Т. — Влияние различных концентраций *N* на выживаемость палочек *E. coli*

Исследовали возможность развития и выживаемость палочек *E. coli* в бульоне с pH — 7,2 с добавкой 3, 5, 10, 15 и 20% NaCl в temp. 18°C и 4—5°C отметили, что при концентрации NaCl свыше 5% возможность развития и выживаемость *E. coli* зависит от величины *inoculum*. При *inoculum* $10^5 - 10^6/\text{cm}^3$ и концентрации 10% NaCl палочки *E. coli* выживали в temp. 18°C 2—3 дня в зависимости от штамма, в temp. 4—5°C до 22 дней. В бульоне с 15 и 20% NaCl микроорганизмы выживали 1—2 дня в temp. 18°C и 2—12 дней в temp. 4—5°C. В бульоне с 10, 15 и 20% NaCl палочки *E. coli* не размножались в исследуемых диапазонах температуры.

Maleszewski J., Maciak T. — Influence of different NaCl concentrations on the survival rate of *E. coli*

There were examined the possibility of *E. coli* growth and its survival rate in broth (at pH = 7.2) with the addition of 3, 5, 10, 15, and 20 per cent of NaCl at 18°C and 4—5°C. It was found that at the concentration of NaCl above 5% the growth and survival rate of *E. coli* depended on the number of bacterial cells. At *inoculum* $10^5 - 10^6$ per ml at the concentration of 10% NaCl *E. coli* survived for 2—3 days at 18° and for 22 days at 4—5°C. In broth with 15—20 per cent of NaCl the bacterial cells were alive for 1—2 days at 18°C and for 2—12 days at 4—5°C. *E. coli* did not multiply in broth with 10—20 per cent of NaCl at the mentioned temperatures.

CHOROBY ZAKAŻNE I INWAZYJNE

KRYSTYNA WAWRZKIEWICZ, JANUSZ WAWRZKIEWICZ

Ocena właściwości immunogennych szczepionek żywych i inaktywowanej przeciwko trychofitozie bydła

Instytut Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych Wydziału Weterynaryjnego AR,
ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

Trudności w zwalczaniu i zapobieganiu grzybicy skórnej, wywołanej przez *Trichophyton verrucosum*, spowodowane są m.in. specyficznym zachowaniem się zarazka w ustroju gospodarza. Obszar bowiem aktywnego wzrostu grzyba ogranicza się do warstwy zrogowiałej naskórka, gdzie kompozycja aminokwasów pochodzących z potu i rozpadu keratyny stwarza dogodne środowisko odżywcze dla dermatofita (5, 10). Skuteczność terapii uwarunkowana jest więc albo możliwością penetracji leku poprzez ochronną barierę keratyny przy stosowaniu miejscowym bądź, przy stosowaniu ogólnym, zdolnością przenikania preparatu aż do warstw naskórka i atakowania grzyba jakby

od wewnątrz. W ten sposób działa m.in. gryzeofulwina, która po doustnym podaniu w ciągu 4—8 godzin pojawia się w *stratum corneum*, a w jej roznoszeniu istotną rolę odgrywają pot i woda śródskórna (18).

Na ogół nie jest łatwo uzyskać preparat, który spełniałby te wymagania, a tym samym mógł być przydatny w profilaktyce i terapii trychofitozy. Stąd od wielu lat opracowuje się różnego rodzaju swoiste immunopreparaty, których mechanizm działania w większym stopniu gwarantuje skuteczność. W Polsce, podobnie jak w innych krajach, stosuje się w tym celu żywe szczepionki, takie jak „Trichovac” — produkowaną przez Zakłady Przemysłu Biowete-