

# Antagonistyczne oddziaływanie bakterii fermentacji mlekowej na pałeczki *Salmonella* w warunkach hodowli mieszanej

JUSTYNA BAUZA-KASZEWSKA, BEATA SZALA, ZBIGNIEW PALUSZAK

Katedra Mikrobiologii Wydziału Rolniczego ATR, ul. Bernardyńska 6, 85-029 Bydgoszcz

Bauza-Kaszewska J., Szala B., Paluszak Z.

## Antagonistic effect of lactic acid bacteria on *Salmonella* in co-cultures

### Summary

The purpose of the research was to estimate the influence of lactic acid bacteria on pathogenic bacteria of *Salmonella* Senftenberg W775. The method of co-cultures was applied in order to examine the interaction between the investigated microorganisms. The results obtained indicate that 3 LAB strains (numbers 2, 3, 4) isolated from fermented plant material indicated high antibacterial activity against *Salmonella* rods. The growth of the pathogen in associated cultures was completely inhibited in 48 hours. The theoretical survival of *Salmonella* incubated in the presence of *Lactobacillus plantarum* was significantly longer and amounted to 132 hours. None of the LAB strains examined was influenced by *Salmonella* rods.

**Keywords:** *Lactobacillus*, *Salmonella*, antagonism, co-cultures

Wykorzystanie bakterii fermentacji mlekowej w przemyśle spożywczym dotyczyło najczęściej szczepów, które – z jednej strony – wpływały na odpowiednie walory smakowe danego produktu, z drugiej natomiast uniemożliwiały rozwój mikroflory powodującej jego psucie. Obecnie ogromne zainteresowanie towarzyszy przede wszystkim produkcji żywności probiotycznej, której korzystny wpływ na prawidłowe funkcjonowanie organizmu człowieka jest już naukowo udokumentowany (8, 13, 16, 17). Oddziaływanie bakterii fermentacji mlekowej z rodzaju *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* wchodzących w skład tych produktów polega głównie na syntezie różnego rodzaju metabolitów o charakterze antybakteryjnym (kwasy organiczne, bakteriocyny, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), stymulacji układu odpornościowego lub sekrecji biosurfaktantów hamujących adhezję patogenów na powierzchni tkanek gospodarza (9, 18-20). Antagonistyczne właściwości bakterii fermentacji mlekowej w stosunku do wielu patogenów sprawiają, że coraz większe zainteresowanie budzą także możliwości szerszego wykorzystania tych mikroorganizmów i produktów ich metabolizmu w rolnictwie do zwalczania fitopatogenów oraz eliminacji drobnoustrojów chorobotwórczych występujących w wykorzystywanych do celów nawozowych odchodach zwierzęcych lub osadach ściekowych (10-12, 21).

Celem przeprowadzonych badań było określenie wzajemnego oddziaływania bakterii fermentacji mlekowej z rodzaju *Lactobacillus* oraz pałeczek *Salmonella* Senftenberg W775 w warunkach hodowli mieszanej. Wyselekcjonowane w ten sposób szczepy cha-

rakteryzujące się szczególnie wysoką aktywnością antagonistyczną stanowiąc będąc materiałem do dalszych badań dotyczących zarówno efektu ich hodowli mieszanej z innymi patogenami, jak również możliwości zastosowania tych mikroorganizmów w procesie higienizacji osadów ściekowych.

### Materiał i metody

W doświadczeniu wykorzystano 4 szczepy bakterii fermentacji mlekowej z rodzaju *Lactobacillus*: *L. plantarum* 0858 z kolekcji Instytutu Technologii Fermentacji i Mikrobiologii Politechniki Łódzkiej oraz 3 szczepy wyizolowane z poddanego procesowi fermentacji materiału roślinnego, oznaczone jako 2, 3 i 4.

Izolaty z materiału roślinnego uzyskano w wyniku posiewu na podłoże wybiórcze dla *Lactobacillus* Rogosa Agar (Merck nr 5413). Bakterie ze wszystkich 3 szczepów były Gram-dodatnimi, katalazo-ujemnymi pałeczkami. Testowany szczep *Salmonella* Senftenberg W775 pochodził z Uniwersytetu Hohenheim w Stuttgarcie.

Czyste hodowle badanych drobnoustrojów uzyskiwano przez ich zaszczepienie na podłożu płynnym LAPTg (15). Hodowle inkubowano przez ok. 18 godz. w temperaturze 37°C w warunkach tlenowych. Koncentracja otrzymanej zawiesiny wynosiła 10<sup>7</sup>-10<sup>8</sup> j.t.k.·ml<sup>-1</sup>.

Hodowle mieszane o objętości 20 ml uzyskano przenosząc do jałowych kolbek po 10 ml hodowli czystej pałeczek *S. Senftenberg* W775 i 10 ml hodowli czystej jednego ze szczepów *Lactobacillus*. Otrzymane w ten sposób hodowle mieszane oznaczono jako: mix 1: *S. Senftenberg* W775 + *L. plantarum*, mix 2: *S. Senftenberg* W775 + *Lactobacillus* szczep 2, mix 3: *S. Senftenberg* W775 + *Lactobacillus* szczep 3, mix 4: *S. Senftenberg* W775 + *Lactobacillus* szczep 4.

Liczebność badanych drobnoustrojów w monokulturach i hodowlach mieszanych określano na podstawie wyników posiewów wykonywanych w trzech powtórzeniach. W tym celu przygotowywano szereg 10-krotnych rozcieńczeń, z których przenoszono po 0,1 ml na podłoża stałe – Mc Conkey Agar (Merck nr 5465) dla *Salmonella* i Rogosa Agar dla *Lactobacillus*. Inkubację drobnoustrojów na podłożach stałych prowadzono w warunkach tlenowych, w temperaturze 37°C przez 24 godz. (*Salmonella*) i 48 godz. (*Lactobacillus*).

W pierwszym, wstępnym etapie badań sprawdzono liczebność pałeczek *Salmonella* po 48 godzinach hodowli mieszanej z poszczególnymi szczepami *Lactobacillus*. Następnie, w celu szczegółowego zbadania aktywności antagonistycznej pałeczek fermentacji mlekowej, założono nowe doświadczenia, w trakcie których posiewy wykonywano co 6 godzin (*L. plantarum*) oraz co 2 godziny (szczepy 2, 3, 4).

Uzyskane wyniki poddano obliczeniom statystycznym z wykorzystaniem analizy wariancji. Istotność różnic między liczebnością drobnoustrojów inkubowanych w warunkach hodowli czystej i mieszanej określono za pomocą testu t-Studenta ( $p = 0,05$ ). Ponadto, posługując się równaniami prostych regresji, obliczono teoretyczną przeżywalność pałeczek *Salmonella* w każdej z testowanych hodowli mieszanych.

## Wyniki i omówienie

Zmiany liczebności badanych drobnoustrojów przedstawiono w tab. 1-5 i na ryc. 1-2.

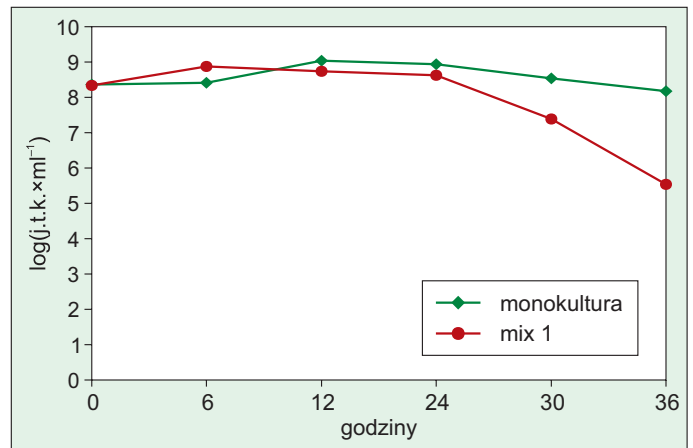
W czasie 48-godzinnej wspólnej inkubacji zawiesiny pałeczek *Salmonella* i poszczególnych szczepów *Lactobacillus* zaobserwowano całkowitą inaktywację populacji patogena w jego hodowlach mieszanych ze szczepami 2, 3 i 4 (tab. 1). Antagonistyczne oddziaływanie *L. plantarum* nie było tak silne, jakkolwiek doprowadziło do spadku liczebności pałeczek *Salmonella* z  $2,33 \times 10^7$  do  $1,39 \times 10^5$  j.t.k. $\cdot$ ml $^{-1}$ , a statystycznie istotne różnice w koncentracji komórek patogena w hodowli czystej i mieszanej (mix 1) zaobserwowano zarówno na początku, jak i na końcu doświadczenia (tab. 1). W oparciu o uzyskane rezultaty podjęto dodatkowe badania w celu dokładnego poznania dynamiki zmian populacji hodowanych wspólnie mikroorganizmów.

Wpływ *L. plantarum* na populację *Salmonella* określono na podstawie wyników 6 posiewów wykonanych w odstępach 6-godzinnych. Pierwsze wyniki dotyczące liczebności pałeczek *Salmonella* w hodowli czystej ( $2,56 \times 10^8$  j.t.k. $\cdot$ ml $^{-1}$ ) i mieszanej ( $7,54 \times 10^8$  j.t.k. $\cdot$ ml $^{-1}$ ) zaobserwowane po 6 godzinach doświadczenia sugerowały niewielką stymulację liczebności patogena pod wpływem pałeczek fermentacji mlekowej, jednak kolejne analizy nie potwierdziły tej tendencji, a stwierdzone różnice nie okazały się istotne statystycznie (tab. 2). Wyniki ostatniego posiewu wykonanego po 36 godzinach dowiodły natomiast inhibicyjnego działania *L. plantarum* w stosunku do pałeczek *Salmonella*, czego efektem był spadek ich koncen-

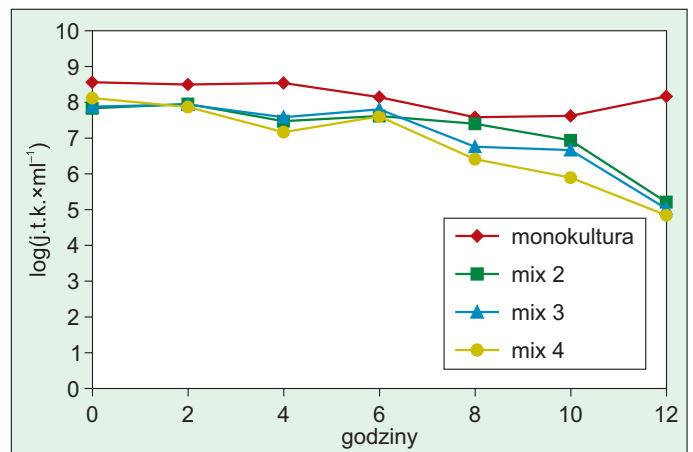
Tab. 2. Liczebność pałeczek *Salmonella* w hodowli czystej i hodowli mieszanej z *L. plantarum* (mix 1) w czasie 36-godzinnej inkubacji (j.t.k. $\cdot$ ml $^{-1}$ )

Warunki hodowli	Okres inkubacji (godz.)					
	0	6	12	24	30	36
Monokultura	$2,32 \times 10^8$ a	$2,56 \times 10^8$ a	$1,08 \times 10^9$ a	$8,60 \times 10^8$ a	$3,44 \times 10^8$ a	$1,49 \times 10^8$ a
Mix 1	$2,16 \times 10^8$ a	$7,54 \times 10^8$ a	$5,44 \times 10^8$ a	$4,26 \times 10^8$ a	$2,44 \times 10^7$ b	$3,44 \times 10^5$ b

Objaśnienia: jak w tab. 1



Ryc. 1. Dynamika zmian liczebności populacji pałeczek *Salmonella* w warunkach hodowli czystej (monokulturowa) i hodowli mieszanej z *L. plantarum* (mix 1) w czasie 36-godzinnej inkubacji [log (j.t.k. · ml $^{-1}$ )]



Ryc. 2. Dynamika zmian liczebności populacji pałeczek *Salmonella* w warunkach hodowli czystej (monokulturowa) i hodowli mieszanych (mix 2, 3, 4) w czasie 12-godzinnej inkubacji [log (j.t.k. · ml $^{-1}$ )]

Tab. 1. Liczebność pałeczek *Salmonella* w hodowli czystej i hodowlach mieszanych po 48 godzinach inkubacji (j.t.k. $\cdot$ ml $^{-1}$ )

Warunki hodowli	Okres inkubacji (godz.)	
	0	48
Monokultura	$3,27 \times 10^8$ a	$2,23 \times 10^7$ a
Mix 1	$2,33 \times 10^7$ b	$1,39 \times 10^5$ b
Mix 2	$3,33 \times 10^7$ b	ns
Mix 3	$2,67 \times 10^7$ b	ns
Mix 4	$6,67 \times 10^7$ b	ns

Objaśnienia: a, b – średnie w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy  $p \leq 0,05$ ; ns – nie stwierdzono

tracji w hodowli mieszanej z wartości początkowej rzędu  $8 \log_{10}$  do  $5 \log_{10}$ . Zarówno w ostatnim, jak i wykonanym 6 godzin wcześniej posiewie, liczebność *Salmonella* w hodowli mieszanej była istotnie niższa niż w monokulturze (ryc. 1). Gęstość zawiesiny komórek patogena w hodowli czystej od początku do końca doświadczenia utrzymywała się na poziomie  $10^8$  j.t.k. $\cdot$ ml $^{-1}$  (tab. 2).

W kolejnym cyklu badano interakcję między pałeczkami *S. Senftenberg* W775 a wyizolowanymi z materiału roślinnego szczepami *Lactobacillus* 2, 3, 4. Biorąc pod uwagę wyniki wstępnego doświadczenia 48-godzinne (tab. 1), sugerującego potencjalnie wysoką aktywność antagonistyczną tych mikroorganizmów, zdecydowano się na określenie tempa inaktywacji liczebności pałeczek *Salmonella* w hodowlach mieszanych co 2 godziny. Przez 8 godzin różnice między ich liczebnością w hodowli czystej i mieszanej były niewielkie i dopiero w 10. godzinie osiągnęły wartości rzędu 1-2  $\log_{10}$  (ryc. 2). Gęstość zawiesiny patogena po 12 godzinach hodowli mieszanych wyniosła od  $6,70 \times 10^4$  j.t.k. $\cdot$ ml $^{-1}$  (szczep nr 4) do  $1,55 \times 10^5$  j.t.k. $\cdot$ ml $^{-1}$  (szczep nr 2). Analizy statystyczne dowiodły, że właśnie w czasie ostatniego posiewu liczebność pałeczek *Salmonella* we wszystkich hodowlach mieszanych osiągnęła wartości istotnie niższe niż w monokulturze (tab. 3). Teoretyczny czas całkowitej inaktywacji pałeczek *Salmonella* obliczony na podstawie równań regresji był najkrótszy w przypadku szczepu nr 4 (32 godziny), najdłuższy natomiast w przypadku szczepu nr 1 (48 godzin) (tab. 5).

W żadnym z przeprowadzonych cykli doświadczalnych wspólna hodowla pałeczek *S. Senftenberg* W775 i bakterii fermentacji mlekowej nie spowodowała spadku liczebności *Lactobacillus* przekraczającego 1  $\log_{10}$ . Koncentracja tych mikroorganizmów w badanej zawieszynie utrzymywała się niezmiennie na poziomie

Tab. 3. Liczebność pałeczek *Salmonella* w hodowli czystej i hodowlach mieszanych (mix 2, 3, 4) w czasie 12-godzinnej inkubacji (j.t.k. $\cdot$ ml $^{-1}$ )

Warunki hodowli	Okres inkubacji (godz.)						
	0	2	4	6	8	10	12
Monokultura	$3,47 \times 10^8$ a	$3,00 \times 10^8$ a	$3,30 \times 10^8$ a	$1,33 \times 10^8$ a	$3,67 \times 10^7$ a	$4,00 \times 10^7$ a	$1,40 \times 10^8$ a
Mix 2	$6,53 \times 10^7$ b	$8,57 \times 10^7$ a	$2,85 \times 10^7$ b	$3,95 \times 10^7$ a	$2,41 \times 10^7$ ab	$8,27 \times 10^6$ ab	$1,55 \times 10^5$ b
Mix 3	$7,23 \times 10^7$ ab	$8,23 \times 10^7$ a	$3,65 \times 10^7$ b	$6,10 \times 10^7$ a	$5,50 \times 10^6$ bc	$4,41 \times 10^6$ bc	$1,01 \times 10^5$ b
Mix 4	$1,25 \times 10^8$ ab	$7,03 \times 10^7$ a	$1,40 \times 10^7$ b	$3,85 \times 10^7$ a	$2,45 \times 10^6$ c	$7,50 \times 10^5$ c	$6,70 \times 10^4$ b

Objaśnienia: jak w tab. 1

Tab. 4. Liczebność pałeczek *Lactobacillus* w hodowlach czystych i mieszanych (mix 1, 2, 3, 4) w czasie 48- (I), 36- (II) i 12- (III) -godzinnej inkubacji (j.t.k. $\cdot$ ml $^{-1}$ )

Szczep <i>Lactobacillus</i>		Okres inkubacji (godz.)					
		I		II		III	
		0	48	0	36	0	12
<i>L. plantarum</i>	Monokultura	$2,47 \times 10^8$ a	$1,76 \times 10^8$ a	$3,96 \times 10^8$ a	$3,04 \times 10^8$ a		
	Mix 1	$6,33 \times 10^7$ b	$1,39 \times 10^8$ a	$1,60 \times 10^8$ b	$2,74 \times 10^8$ a		
2	Monokultura	$1,12 \times 10^8$ a	$1,20 \times 10^7$ a			$3,13 \times 10^7$ a	$5,67 \times 10^7$ a
	Mix 2	$2,07 \times 10^7$ b	$2,07 \times 10^7$ b			$5,27 \times 10^7$ a	$7,00 \times 10^7$ a
3	Monokultura	$1,10 \times 10^8$ a	$2,53 \times 10^7$ a			$6,83 \times 10^7$ a	$1,06 \times 10^7$ a
	Mix 3	$3,73 \times 10^7$ b	$1,80 \times 10^7$ a			$1,57 \times 10^7$ b	$7,67 \times 10^7$ a
4	Monokultura	$4,17 \times 10^7$ a	$2,23 \times 10^7$ a			$9,43 \times 10^7$ a	$8,00 \times 10^7$ a
	Mix 4	$1,83 \times 10^7$ b	$3,00 \times 10^7$ a			$2,17 \times 10^7$ b	$1,10 \times 10^8$ a

Objaśnienia: jak w tab. 1

Tab. 5. Równania regresji i przeżywalność pałeczek *Salmonella* w hodowlach mieszanych z poszczególnymi szczepami *Lactobacillus* (mix 1, 2, 3, 4)

Badany szczep	Równanie regresji	Współczynnik regresji r	Współczynnik determinacji r <sup>2</sup> (%)	Przeżywalność (godz.)
Mix 1	$y = -0,0687x + 9,0846$	$r_1 = -0,74$	55	132
Mix 2	$y = -0,1681x + 8,1509$	$r_2 = -0,77$	60	48
Mix 3	$y = -0,2157x + 8,3383$	$r_3 = -0,87$	75	38
Mix 4	$y = -0,2609x + 8,3729$	$r_4 = -0,94$	88	32

$10^7$ - $10^8$  j.t.k. $\cdot$ ml $^{-1}$ , a różnice liczebności będące efektem hodowli mieszanej z *Salmonella* nie były statystycznie istotne (tab. 4).

Zbliżone wyniki dowodzące inhibicyjnego działania pałeczek fermentacji mlekowej w stosunku do *Salmonella* potwierdzone były przez doświadczenie Fernandez i wsp. (6), w którym inaktywacja *Salmonella Choleraesuis* przez *L. acidophilus* i *L. gasseri* następowała już po 7 godzinach wspólnej hodowli. Te same szczepy bakterii mlekowych nie wpływały jednak na inne drobnoustroje, zarówno te stanowiące element typowej mikroflory układu pokarmowego człowieka, jak i groźne z epidemiologicznego punktu widzenia patogeny. Dowodzi to konieczności poszerzenia zakresu prowadzonych badań własnych i objęcia nimi większej liczby mikroorganizmów chorobotwórczych występujących w osadach ściekowych.

Rezultaty przeprowadzonych doświadczeń wykazały, że w przypadku najbardziej aktywnych szczepów *Lactobacillus* pochodzących z materiału roślinnego (nr 3 i 4) istotna redukcja liczebności patogena nastąpiła po około 6 godzinach wspólnej inkubacji (ryc. 2). Bielecka i wsp. (1) zaobserwowali znaczne obniżenie liczby pałeczek *Salmonella Enteritidis* pod wpływem bakterii fermentacji mlekowej między 12. a 16. godziną hodowli mieszanej, przy czym dalsze tempo inaktywacji patogena było różne, w zależności od zastosowanego szczepu antagonistycznego. W badaniach własnych również odnotowano różnice w aktywności testowanych pałeczek fermentacji mlekowej. W porównaniu ze szczepami 2, 3, 4 eliminacja *S. Senftenberg* W775 pod wpływem *L. plantarum* następowała znacznie wolniej, a istotne zmiany liczebności patogena będące efektem oddziaływania *Lactobacillus* odnotowano dopiero po 30 godzinach wspólnej hodowli (tab. 2). Z kolei Draksler (5) i Breasher (2) zaobserwowali gwałtowną lub całkowitą eliminację *Salmonella* spp. po 24 godzinach inkubacji z pałeczkami *Lactobacillus* spp.

Niewielkie różnice między liczebnością badanych szczepów *Lactobacillus* rosnących w hodowli czystej i mieszanej wskazują na ograniczony wpływ pałeczek *Salmonella* na wzrost ich populacji (tab. 4). Obserwacje te znajdują potwierdzenie w rezultatach wielu prac naukowych i dotyczą również braku wpływu pałeczek *Salmonella* na inne rodzaje bakterii fermentacji mlekowej (1, 4). Podobnie jak w badaniach własnych, tendencja ta była niezmienna bez względu na czas trwania doświadczenia.

Badania dotyczące oddziaływania bakterii fermentacji mlekowej na mikroorganizmy patogenne prowadzone są od dawna i dowodzą one ich antagonistycznego wpływu na drobnoustroje ważne z epidemiologicznego punktu widzenia (pałeczki *Salmonella* sp., enteropatogenne szczepy *E. coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*). W badaniach *in vitro* wykorzystywane są różne metody doświadczalne, z których część oparta jest na zjawisku dyfuzji wytwarzanych przez te mikroorganizmy metabolitów w podłożu agarowym, część z kolei skupia się na interakcjach zachodzących między potencjalnymi antagonistami hodowanymi wspólnie na podłożach płynnych (7, 11). Zastosowanie tych ostatnich umożliwia nie tylko potwierdzenie aktywności antagonistycznej badanych mikroorganizmów, ale pozwala również na dokładne określenie dynamiki zmian ich populacji (1).

Testowany szczep *S. Senftenberg* W775 charakteryzuje się dużą odpornością na wysokie temperatury i dzięki specyficznej strukturze antygenowej stosunkowo łatwo można go oznaczyć (14). Dzięki tym właściwościom wykorzystywany jest często jako mikroorganizm wskaźnikowy w badaniach nad skutecznością technologii mających gwarantować higienizację m.in. osadów ściekowych przeznaczonych do celów rolniczych (3). Szczególna wrażliwość *S. Senftenberg* W775

na działanie szczepów *Lactobacillus* wyizolowanych z materiału roślinnego, które prowadziły do inaktywacji tych mikroorganizmów w ciągu 48 godzin, uzasadnia celowość badań nad możliwością wykorzystania bakterii fermentacji mlekowej i ich metabolitów do redukcji patogenów zawartych w osadach lub nawozach naturalnych (11). Dotyczy to szczególnie tych sytuacji, gdy z różnych powodów niemożliwe jest zastosowanie metod higienizacyjnych opartych na działaniu wysokiej temperatury.

## Piśmiennictwo

1. Bielecka M., Biedrzycka El., Biedrzycka E., Smoragiewicz W., Śmieszek M.: Interaction of Bifidobacterium and Salmonella during associated growth. Int. J. Food Microbiol. 1998, 45, 151-155.
2. Breasher M. M., Durre W. A.: Antagonistic action of *Lactobacillus lactis* toward *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* O157:H7 during growth and refrigerated storage. J. Food Prot. 1999, 62, 1336-1340.
3. Collieran E.: Hygienic and sanitation requirements in biogas plants treating animal manures or mixtures of manures and other organic wastes, [w:] Anaerobic Digestion: Making energy and solving modern waste problems. Wyd. H. Ørtenblad. AD-NETT, Herning Municipal Authorities, Denmark 2000, 77-86.
4. Drago L., Gismondo M. R., Lombardi A., de Haën C., Gozzini L.: Inhibition of *in vitro* growth of enteropathogens by new *Lactobacillus* isolates of human intestinal origin. FEMS Microbiol. Lett. 1997, 153, 455-463.
5. Draksler D., González S., Oliver G.: Preliminary assays for the development of a probiotic for goats. Reprod. Nutr. Dev. 2004, 44, 397-405.
6. Fernández M. F., Boris S., Barbés C.: Probiotic properties of human lactobacilli strains to be used in gastrointestinal tract. J. Appl. Microbiol. 2003, 94, 449-455.
7. Fooks L. J., Gibson G. R.: *In vitro* investigation of the effect of probiotics and prebiotics on selected human intestinal pathogens. FEMS Microbiol. Ecol. 2002, 39, 67-75.
8. Forestier C., De Champs C., Vatoux C., Joly B.: Probiotic activities of *Lactobacillus casei rhamnosus*: *in vitro* adherence to intestinal cells and antimicrobial properties. Res. Microbiol. 2001, 152, 167-173.
9. Kot B., Jakubczak A., Bukowski K.: Antagonistyczne działanie bakterii fermentacji mlekowej w stosunku do wybranych drobnoustrojów. Medycyna Wet. 2000, 56, 53-57.
10. Lauková A.: *In vitro* treatment of different isolates from cattle dung and pig slurry by nisin. Acta Vet. Brno 2000, 69, 147-151.
11. Ligocka A., Paluszak Z.: Capability of lactic acid bacteria to inhibit pathogens in sewage sludge subjected to biotechnological processes. Bull. Vet. Inst. Pulawy 2005, 49, 23-27.
12. Ligocka A., Paluszak Z., Hermann J.: Wpływ czynników fizykochemicznych na skuteczność działania bakteriocyn bakterii mlekowych na patogeny osadów pościekowych. Medycyna Wet. 2005, 61, 1413-1416.
13. Oberauskas V., Kantautaitė J., Sutkeviciene R., Sederevicius A., Monkeviciene I., Zelyte R., Ramanauskiene J., Laugalis J., Kabasinskiene A.: Investigations of the properties of probiotic *Lactobacillus plantarum* U-14 and *Lactobacillus fermentum* U-5 strains and their evaluation during lyophilization. Medycyna Wet. 2004, 60, 1278-1282.
14. Obiger G.: Untersuchungen über die Thermostabilität bedeutsamer Infektionserreger unter den Bedingungen der Milchpasteurisation. Arch. Lebensmittelhyg. 1978, 27, 121-160.
15. Raibaud P., Caulet M., Galpin J. V., Mocquot G.: Studies on the bacterial flora of the alimentary tract of pigs. II. Streptococci: selective enumeration and differentiation of the dominant groups. J. Appl. Bacteriol. 1961, 24, 285-291.
16. Reid G.: The scientific basis for probiotic strains of *Lactobacillus*. Minireview. Appl. Environ. Microbiol. 1999, 65, 3763-3766.
17. Santos A., San Mauro M., Sanchez A., Torres J. M., Marquina D.: The antimicrobial properties of different strains of *Lactobacillus* spp. isolated from kefir. System. Appl. Microbiol. 2003, 26, 434-437.
18. Saxelin M., Tynkkynen S., Mattila-Sandholm T., de Vos W. M.: Probiotic and functional microbes: from markets to mechanisms. Curr. Opin. Biotechnol. 2005, 16, 204-211.
19. Servin A. L.: Antagonistic activities of lactobacilli and bifidobacteria against microbial pathogens. FEMS Microbiol. Rev. 2004, 28, 405-440.
20. Soomro A. H., Masud T., Anwaar K.: Role of lactic acid bacteria (LAB) in food preservation and human health – a review. Pak. J. Nutr. 2002, 1, 20-24.
21. Visser R., Holzapfel W. H., Bezuïdenhout J. J., Kotzé J. M.: Antagonism of lactic acid bacteria against phytopathogenic bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 1986, 52, 552-555.

Adres autora: dr inż. Justyna Bauza-Kaszewska, ul. Bernardyńska 6, 85-029 Bydgoszcz; e-mail: mikro@atr.bydgoszcz.pl