

# Przeżywalność *Bacillus cereus* w jelicie cienkim

ANNA BERTHOLD-PLUTA, ANTONI PLUTA, GRZEGORZ LESZCZ

Zakład Biotechnologii Mleka Katedry Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności Wydziału Nauk o Żywności SGGW,  
ul. Nowoursynowska 159c, 02-787 Warszawa

Berthold-Pluta A., Pluta A., Leszcz G.

## Survival of *Bacillus cereus* in the small intestine

### Summary

*Bacillus cereus*-mediated food poisoning of the diarrhoeal type is related to the production of the following extracellular factors by the bacteria: haemolysin BL (enterotoxin HBL), non-haemolytic toxin (NHE), and cytotoxin (CytK), as well as haemolysins IV and cereolysin O, both of which have been scarcely examined and discussed in the literature.

This article reviews the literature containing current data that revise former theories on the pathogenesis of the diarrhoeal form of *B. cereus*-mediated food poisoning. The results of *in vitro* studies confirming the survival of vegetative cells in the stomach and intestine environment prove that the biological state of the examined bacteria does not have any influence on the occurrence of the diarrhoeal syndrome. After contaminated food has been ingested, *B. cereus* spores/vegetative cells pass the stomach and reach the small intestine. There the spores can germinate to become vegetative cells that multiply and produce enterotoxins. The enterotoxins, finally, affect the intestinal epithelium, which results in diarrhoea. So far this type of food poisoning has been attributed to enterotoxin activity, excluding any kind of interaction between the host and the microorganism. However, according to the results of the latest research, the interaction between the epithelial cells and the cells of *B. cereus* contributes to the occurrence of infection symptoms, and the adhesion of *B. cereus* to the intestinal epithelium is prerequisite for the onset of the diarrhoeal syndrome.

This article illustrates different aspects of *B. cereus* survival inside the human gastrointestinal tract, paying special attention to its lower part, i. e. the small intestine. The effect of exposure to bile salts and other factors, as well as to the indigenous microflora of the gastrointestinal tract, on *B. cereus* survival has been discussed. The article also elucidates issues relating to the mechanism of bacterial-epithelial cell cross-talk (interaction), which is induced when a pathogen comes into contact with enterocytes.

**Keywords:** *Bacillus cereus*, small intestine, bile salts

Zatrucie pokarmowe powodowane przez *Bacillus cereus* przyjmuje dwie formy: wymiotną i biegunkową. Zatrucie typu biegunkowego jest znacznie bardziej niebezpieczne. Spowodowane jest ono obecnością enterotoksyn *B. cereus* w przewodzie pokarmowym człowieka i znane są przypadki zgonów. Wytworzenie toksyn w organizmie człowieka związane jest jednak z pokonaniem przez drobnoustroje bariery niskiego pH żołądka, przedostaniem się do jelita cienkiego i tam, po osiągnięciu odpowiedniej liczebności, wytworzeniem toksyny. Na przeżywalność *B. cereus* w jelicie cienkim wpływają następujące czynniki: sole żółci, zdolność adherowania do komórek nabłonka jelitowego, natywna mikroflora jelitowa i interakcje między komórkami *B. cereus* a enterocytami.

### Wpływ soli żółci i innych składników soku jelitowego na *Bacillus cereus*

Po barierze wysokiej kwasowości, jaka występuje w żołądku, kolejnym czynnikiem, który pełni funkcje

obronne przeciwko patogenom dostającym się wraz z pokarmem do jelita cienkiego, są kwasy żółciowe (18). Stężenie soli żółci w jelicie cienkim nie jest stałe, waha się od około 0,2% do 2,0% w/v, w zależności od cech osobniczych oraz rodzaju i ilości spożytego pokarmu (12). Podstawową funkcją żółci w organizmie człowieka jest ułatwienie syntezy i wchłaniania tłuszczów z przewodu pokarmowego, jednak żółć stanowi także ważne ogniwo systemu odpornościowego organizmu z powodu silnie antybakteryjnych właściwości (3).

Intensywność oddziaływania żółci na drobnoustroje zależy m.in. od jej stężenia i ilości. Wysokie stężenia soli żółci bardzo szybko powodują rozpuszczenie tłuszczu zawartych w błonie komórkowej, dysocjację zawartych w niej białek, a także uszkodzają RNA i DNA oraz enzymy uczestniczące w budowie DNA (3). Skutkuje to prawie natychmiastową śmiercią komórki. Natomiast niskie stężenia soli żółci jedynie naruszają stabilność i integralność błony komórkowej, wpływa-

ją na aktywność niektórych enzymów, transport kationów do – i z – komórki (7, 33), a także zmieniają hydrofobowość oraz potencjał elektryczny komórek drobnoustrojów (9). Wolne atomy tlenu wytwarzane przez żółć stają się potencjalnym reagentem w reakcjach oksydacyjnych. Żółć chelatuje także wapń i żelazo, co w konsekwencji prowadzi do znacznego zmniejszenia zawartości tych makroelementów wewnątrz komórki (13, 20, 21, 26).

Pomimo silnych antybakteryjnych właściwości soli żółci niektóre gatunki bakterii mogą tolerować jej wysokie stężenia. Generalnie bakterie G(+) są znacznie mniej odporne niż G(-) (3). Przykładowo, dla *Salmonella Typhi* minimalne hamujące stężenie żółci (MIC) wynosi > 18%, a minimalne bakteriobójcze stężenie żółci (MBC) – 60%, dzięki czemu bakterie te mogą kolonizować woreczek żółciowy (29). Patogeny G(+), jak *L. monocytogenes* czy *E. faecalis*, przeżywają stężenie soli żółci na poziomie 0,3%, co odpowiada mniej więcej stężeniu występującemu w jelicie cienkim człowieka (2, 6).

Zgodnie z przewidywaniami, liczba przetrwalników *B. cereus* nie zmniejsza się istotnie po 15-minutowej ekspozycji na 1% roztwór soli żółci. Natomiast stężenie 100-krotnie niższe hamuje wzrost i rozwój komórek wegetatywnych, co wskazuje, że *B. cereus* jest jednym z bardziej wrażliwych na sole żółci gatunków bakterii chorobotwórczych (12). W innych badaniach wykazano jednak zdolność kiełkowania przetrwalników i rozwój komórek wegetatywnych *B. cereus* w obecności 0,15% soli kwasów żółciowych (32).

Przetrwalniki zarówno szczepów psychrotrofowych, jak i mezofilnych zdolne są do kiełkowania w warunkach symulujących jelito cienkie, jednak dodatek do bulionów symulujących warunki panujące w jelicie pankreatyny (3,0 g/l) lub soli żółci (1,5 g/l) negatywnie wpływa na komórki wegetatywne w fazie nasycenia. Dodatek soli żółci powoduje wydłużenie czasu generacji komórek bez względu na fazę wzrostu komórek oraz ewentualne ich cechy psychrotrofowe. Podobny wpływ, choć mniej wyraźny, stwierdzano dla dodatku soku trzustkowego. Dla większości szczepów *B. cereus* obserwuje się, że łączny dodatek soli żółci i pankreatyny do bulionów symulujących warunki jelitowe ma mniejszy wpływ na liczebność drobnoustrojów niż dodatek tych substancji oddzielnie (31).

Wszystkie badania nad wpływem soli żółci na rozwój *B. cereus* przeprowadzono w warunkach *in vitro*. Należy przy tym wziąć pod uwagę, że podczas testów *ex vivo* nie jest możliwe uwzględnienie wszystkich aspektów i czynników, które mogą w warunkach *in vivo* wpływać na tolerancję żółci przez bakterie. Warunki, na które komórka bakteryjna będzie narażona w środowisku, np. w produkcie spożywczym czy w żołądku, mogą wpływać na jej oporność. Ekspozycja na niskie pH, dostęp tlenu bądź jego brak mogą rzutować na tolerancję soli żółci. Dodatkowo stężenie soli żółci w jelicie jest zmienne w czasie, w zależności od znaj-

dującego się w nim pokarmu (np. tłuste dania zwiększają ilość wydzielanej żółci).

Obecność pokarmu w jelicie cienkim powoduje zwiększenie oporności bakterii na sole żółci. Dzieje się tak, gdyż niestrawiony pokarm może tworzyć swoiste mikrośrodowiska, dzięki którym komórki bakterii nie są bezpośrednio narażone na aktywność soli żółci. Ponadto niektóre składniki żywności wiążą sole żółci, zmniejszając ich bakteriobójcze działanie. Wpływ obecności białek mięsa i soi na zwiększenie oporności na sole żółci zaobserwowano u *Lactobacillus curvatus* i *Bifidobacterium breve* (8, 27). Antybakteryjne właściwości żółci *in vivo* mogą być słabsze od tych *in vitro*, gdyż część soli żółci, tworząc micelle z fosfolipidami, nie jest w stanie wchodzić w interakcje z komórkami bakterii (3). Wpływ rodzaju pokarmu, z którym bakterie dostają się do jelita cienkiego, na ich przeżywalność i możliwości rozwoju w tych warunkach wykazano również u *B. cereus* (4). Największą opornością cechowały się komórki hodowane w pożywkach z dodatkiem warzyw lub mleka, w których wzrost *B. cereus* stwierdzono przy stężeniach soli żółci niewiele mniejszych niż średnie stężenie żółci występujące w jelicie cienkim człowieka.

Krótką wstępną ekspozycja przetrwalników i komórek wegetatywnych *B. cereus* na temperaturę 10°C imitująca przechowywanie zanieczyszczonej żywności w warunkach chłodniczych nie wpływa na zachowanie się tych drobnoustrojów w pożywkach symulujących transfer żołądkowo-jelitowy (31).

Obecność soli żółci w środowisku wpływa na ekspresję różnych genów *B. cereus*. Geny związane z opornością na stres powodowany solami żółci, w tym typowe białka stresowe i geny regulujące transkrypcję RNA były bardziej aktywne. Geny te w większości należą do klasy genów transportujących i metabolizujących węglowodany, odpowiedzialnych za transkrypcję, obroty białkami oraz chaperony. Natomiast geny powiązane z ruchliwością komórek, ścianą komórkową, biogenezą błony komórkowej, replikacją i naprawą DNA są tłumione. W badaniach nad bakteriami występującymi naturalnie w jelicie ludzkim (a więc tolerującymi wysokie stężenia żółci), wykazano znacznie wyższą ekspresję wymienionych genów (12). Zjawisko to może częściowo tłumaczyć słabszą oporność *B. cereus* na sole żółci.

### **Wpływ mikroflory natywnej jelit na przeżywalność *Bacillus cereus***

W każdym z poszczególnych odcinków przewodu pokarmowego człowieka znajdują się mikroorganizmy przystosowane do określonych warunków czy to skrajnie niskiego pH żołądka, czy obecności bakteriobójczych substancji, takich jak żółć.

Autochtoniczna mikroflora jelitowa spełnia określone funkcje metaboliczne oraz ochronne, które wynikają przede wszystkim z ich antagonistycznego działania na bakterie chorobotwórcze. Bakterie fermentacji mle-

kowej, głównie z rodzaju *Lactobacillus*, wytwarzając kwas mlekowy i bakteriocyny, zapobiegają rozwojowi patogenów. Poza tym bakteriostatyczne właściwości mikroflory natywnej wynikają również z faktu zasiedlenia nabłonka jelitowego, przez co bakterie chorobotwórcze nie mają wolnego miejsca do rozwoju (14). W pracach tych, dotyczących wpływu szczepów *Lactobacillus* i *Lactococcus* na wzrost *B. cereus*, stwierdzono, że wzrost komórek wegetatywnych *B. cereus* oraz kiełkowanie przetrwalników były hamowane przez bakterie mlekowe, co tłumaczy się zakwaszeniem środowiska (24, 25).

### Interakcje *Bacillus cereus* z komórkami nabłonka jelita cienkiego

Adhezja przetrwalników jest przedmiotem badań z zakresu bezpieczeństwa produkcji żywności, szczególnie dotyczących zagadnień zanieczyszczenia powierzchni, które mają kontakt z surowcem/produktem w czasie produkcji. Wykazano, że przetrwalniki *B. cereus* mają zdolność adherowania do wielu różnych powierzchni abiotycznych, tj. metalu, szkła i tworzyw sztucznych (5, 19, 23). W badaniach nad mechanizmem toksyczności *B. cereus* wykazano także zdolność adherowania przetrwalników (1, 31) oraz komórek wegetatywnych (17, 31) do komórek Caco-2 i Hep-2. Jest to istotne odkrycie dla wyjaśnienia mechanizmu toksykoinfekcji wywoływanej przez *B. cereus*. Po dojściu komórek wegetatywnych lub przetrwalników do jelita cienkiego, jako konsekwencji przedostania się do przewodu pokarmowego zanieczyszczonej żywności, ich adhezja do enterocytów jest warunkiem wstępnym wystąpienia objawów zatrucia typu biegunkowego. Mechanizm tej adhezji nie jest do końca wyjaśniony. Niektóre mikroorganizmy, takie jak np. *L. monocytogenes*, wykorzystują występowanie specyficznych receptorów (adhezyn) na komórkach nabłonka do adherowania do ich powierzchni (11), jednakże obecności związków o takiej aktywności na powierzchni przetrwalników czy komórek wegetatywnych *B. cereus* do tej pory nie stwierdzono.

Ostrzejsze objawy zatruc enterotoksyną mogą być spowodowane przyłączeniem się przetrwalników *B. cereus* do komórek nabłonka jelitowego i kolonizowaniem tego środowiska. Przetrwalniki przylegające do komórek nabłonka kiełkują, tworząc komórki wegetatywne, które z kolei wytwarzają enterotoksyny w bezpośrednim kontakcie z komórkami organizmu człowieka (1, 22, 30). Jednym z sygnałów środowiskowych mających wpływ na wytwarzanie enterotoksyny HBL przez *B. cereus* jest pH. Toksyna HBL wytwarzana jest w zakresie pH od 5,5 do 10,0, z optimum w pH 8,0, tj. w zakresie kwasowości w jelicie cienkim człowieka (28).

W badaniach *in vitro* wykazano, że wspólna inkubacja hodowli ludzkich enterocytów z bezkomórkowymi filtratami pochodzonymi lub komórkami wegetatywnymi *B. cereus* prowadzi do wywołania różnych

zmian w komórkach nabłonka. Zmiany te obejmują zmniejszenie aktywności dehydrogenazy mitochondrialnej, znaczne zmiany w morfologii komórek oraz rozkład aktywny i uszkodzenie błony komórkowej, prowadzące do zaburzenia jej przepuszczalności. Ponadto, niektóre szczepy *B. cereus* powodują naruszenie monowarstwy hodowli enterocytów, co także uważa się za dodatkowy mechanizm odpowiedzialny za wirulencję tych drobnoustrojów (16, 17).

Zjawisko adhezji przetrwalników *B. cereus* do komórek nabłonka jelitowego zostało dokładniej zbadane (1, 22). Wykazano zależność między hydrofobowością przetrwalników a zdolnością przyłączania się do komórek jelita cienkiego. W przypadku komórek wegetatywnych *B. cereus* nie odnotowano żadnej adhezji względem komórek Caco-2. Adherowanie przetrwalników *B. cereus* do komórek Caco-2 tłumaczy się tym, że spory posiadają „wypustki”, których występowanie w połączeniu z odpowiednio wysoką hydrofobowością warunkuje zdolność adhezji.

Stwierdzono ponadto, że toksyczność *B. cereus* zależy w dużej mierze od ekspresji genu *plcR*, kodującego wytwarzanie większości spośród białek toksycznych dla komórek nabłonka jelitowego (22). Interesujące jest również, że aktywacja ekspresji genu *plcR* u *B. thuringiensis* związana jest z wytwarzaniem peptydu sygnałowego działającego jako efektor zjawiska quorumsensing, co oznacza, że adherowanie komórek patogenów do komórek nabłonka może powodować powstawanie na nim stref o wysokim skupieniu bakterii, co z kolei ułatwia pojawienie się interakcji pomiędzy drobnoustrojami (10).

Pod wpływem bezkomórkowych filtratów pochodzących większości badanych szczepów *B. cereus* obserwowano odłączanie enterocytów oraz silny efekt cytotacyjny. Odsetek zniszczonych enterocytów był szczepozależny i sięgał nawet  $78 \pm 7\%$ . Nie stwierdzono zależności między występowaniem u szczepu *B. cereus* sekwencji kompleksu *hbl* a ich zdolnością odłączania komórek Caco-2 (15).

Komórki Caco-2 wytwarzają substancję indukującą kiełkowanie przetrwalników *B. cereus*, która najprawdopodobniej jest związkiem niskocząsteczkowym ze względu na ciepłooporność (jej aktywność obserwowano również po ogrzaniu hodowli w temperaturze  $100^\circ\text{C}/5$  minut). Równocześnie nie stwierdzono wytwarzania tego typu substancji przez komórki Hep-2 (31).

### Podsumowanie

Patogeneza syndromu biegunkowego występuje po spożyciu żywności zanieczyszczonej przetrwalnikami lub komórkami wegetatywnymi *B. cereus*, które po przebyciu bariery żołądka docierają do jelita cienkiego, gdzie przetrwalniki *B. cereus* mogą kiełkować, a powstające komórki wegetatywne mnożyć i wytwarzać enterotoksyny. W konsekwencji enterotoksyny uszkadzają nabłonek jelitowy, wywołując biegunkę. Na podstawie aktualnych danych piśmiennictwa przed-

stawionych w niniejszym opracowaniu wydaje się, że należy zrewidować dotychczasowe poglądy dotyczące mechanizmu zatrucia biegunkowego, mówiące o udziale jedynie przetrwalników *B. cereus* w toksykoinfekcji. Wyniki badań *in vitro* świadczące o możliwości przeżycia komórek wegetatywnych w środowisku żołądkowym, a także w warunkach jelitowych dowodzą, że postać życiowa drobnoustrojów nie ma wpływu na wystąpienie objawów chorobowych.

Chociaż syndrom biegunkowy zatrucia pokarmowego wywołanego przez *B. cereus* charakteryzowano do tej pory jako skutek wpływu wytwarzanych enterotoksyn bez żadnej interakcji między gospodarzem a mikroorganizmem, to w świetle przedstawionych wyników badań taka interakcja między komórkami *B. cereus* a enterocytami może występować i wpływać na pojawienie się objawów chorobowych. Ponadto wydaje się, że adhezja *B. cereus* do nabłonka jelitowego jest warunkiem koniecznym patogenezy. Występowanie zjawiska adhezji jest potwierdzone także faktem, że bez jego występowania przetrwalniki czy komórki wegetatywne *B. cereus* byłyby usuwane wraz z treścią jelitową. Należy również zwrócić uwagę na fakt, że enterotoksyny HBL oraz NHE są dość szybko inaktywowane w warunkach jelitowych, a więc do wywołania przez nie zmian chorobowych konieczny jest bezpośredni kontakt z nabłonkiem. Adhezja jest więc nie tylko warunkiem koniecznym do skolonizowania nabłonka jelitowego przez *B. cereus* i pozostania w tym środowisku w czasie wystarczającym do namnożenia do odpowiednio dużej liczebności, ale także do zapewnienia wytworzenia enterotoksyn w bliskości nabłonka, tak aby zapobiec ich inaktywacji. Nowym zjawiskiem, jeszcze nie opisanym dokładniej, które może mieć wpływ na przebieg początkowych etapów zatrucia, jest prawdopodobne wytwarzanie przez enterocyty substancji indukujących proces kiełkowania przetrwalników *B. cereus*.

### Piśmiennictwo

- Andersson A., Granum P. E., Rønner U.: The adhesion of *Bacillus cereus* spores to epithelial cells might be an additional virulence mechanism. *Int. J. Food Microbiol.* 1998, 39, 93-99.
- Begley M., Gahan C. G. M., Hill C.: Bile stress response in *Listeria monocytogenes* LO28: adaptation, cross-protection and identification of genetic loci involved in bile resistance. *Appl. Environ. Microbiol.* 2002, 68, 6005-6012.
- Begley M., Gahan C. G. M., Hill C.: The interaction between bacteria and bile. *FEMS Microbiol. Rev.* 2005, 29, 625-651.
- Clavel T., Carlin F., Dargaignaratz C., Lairon D., Nguyen-The C., Schmitt P.: Effects of porcine bile on survival of *Bacillus cereus* vegetative cells and Haemolysin BL enterotoxin production in reconstituted human small intestine media. *J. Appl. Microbiol.* 2007, 103, 1568-1575.
- Faille C., Jullien C., Fontaine F., Bello-Fontaine M., Benezech T.: Adhesion of *Bacillus cereus* spores and *Escherichia coli* cells to inert surfaces: role of surface hydrophobicity. *Can. J. Microbiol.* 2002, 48, 728-738.
- Flahaut S., Giard J. C., Benachour A., Boutibonnes P., Auffray A.: Defense against lethal treatments and de novo protein synthesis induced by NaCl in *Enterococcus faecalis* ATCC 19433. *Arch. Microbiol.* 1996, 165, 317-324.
- Fujisawa T., Mori M.: Influence of bile salts on  $\beta$ -glucuronidase activity of intestinal bacteria. *Lett. Appl. Microbiol.* 1996, 22, 271-274.
- Gänzle M. G., Hertel C., van der Vossen J. M. B. M., Hammes W. P.: Effect of bacteriocin-producing lactobacilli on the survival of *Escherichia coli* and *Listeria* in a dynamic model of the stomach and the small intestine. *Int. J. Food Microbiol.* 1999, 48, 21-35.
- Gomez-Zavaglia A., Kociubinski G., Perez P., Disalvo E., De Antonio G.: Effect of bile on the lipid composition and surface properties of bifidobacteria. *J. Appl. Microbiol.* 2002, 93, 794-799.
- Gominet M., Slamti L., Gilois N., Rose M., Lereclus D.: Oligopeptide permease is required for the expression of the *Bacillus thuringiensis* plcR regulon and for virulence. *Mol. Microbiol.* 2001, 40, 963-975.
- Jaradat Z. W., Bhunia A. K.: Adhesion, invasion and translocation characteristics of *Listeria monocytogenes* serotypes in Caco-2 cell and mouse models. *Appl. Environ. Microbiol.* 2003, 69, 3640-3645.
- Kristoffersen S. M., Ravnun S., Tourasse N. J., Økstad O. A., Kolstø A.-B., Davies W.: Low concentrations of bile salts induce stress responses and reduce motility in *Bacillus cereus* ATCC 14570. *J. Bacteriol.* 2007, 189, 5302-5313.
- Leverrier P., Dimova D., Pichereau V., Auffray Y., Boyaval P., Jan G.: Susceptibility and adaptive response to bile salts in *Propionibacterium freudenreichii*: physiological and proteomic analysis. *Appl. Environ. Microbiol.* 2003, 69, 3809-3818.
- Libudzisz Z.: Mikroflora przewodu pokarmowego człowieka i jej wpływ na organizm, [w:] Gawęcki J., Libudzisz Z. (red.): Mikroorganizmy w żywności i żywieniu. Wydawnictwo Akademii Rolniczej, Poznań 2006, 31-41.
- Minnaard J., Delfederico L., Vasseur V., Hollmann A., Rolny I., Semorile L., Perez P. F.: Virulence of *Bacillus cereus*: A multivariate analysis. *Int. J. Food Microbiol.* 2007, 116, 197-206.
- Minnaard J., Humen M., Perez P. F.: Effect of *Bacillus cereus* exocellular factors on human intestinal epithelial cells. *J. Food Prot.* 2001, 64, 1535-1541.
- Minnaard J., Lievin-Le Moal V., Coconnier M. H., Servin A. L., Perez P. F.: Disassembly of F-actin cytoskeleton after interaction of *Bacillus cereus* with fully differentiated human intestinal Caco-2 cells. *Inf. Immun.* 2004, 72, 3106-3112.
- Neumann M., Goderska K., Grajek K., Grajek W.: Modele przewodu pokarmowego *in vitro* do badań nad biodostępnością składników odżywczych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość* 2006, 46, 30-45.
- Peng I. S., Tsai W. C., Chou C. C.: Surface characteristics of *Bacillus cereus* and its adhesion to stainless steel. *Int. J. Food Microbiol.* 2001, 65, 105-111.
- Powell A. A., LaRue J. M., Martinez J. D.: Bile acid hydrophobicity is correlated with induction of apoptosis and/or growth arrest in HTC116 cells. *Biochem. J.* 2001, 356, 481-486.
- Rajagopalan N., Lindenbaum S.: The binding of  $Ca^{2+}$  to taurine and glycine-conjugated bile salts micelles. *Biochem. Biophys.* 1982, 711, 66-74.
- Ramarao N., Lereclus D.: Adhesion and cytotoxicity of *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* to epithelial cells are FlhA and PlcR dependent, respectively. *Microbes Infection* 2006, 8, 1483-1491.
- Rønner U., Husmark U., Henriksson A.: Adhesion of *Bacillus* spores in relation to hydrophobicity. *J. Appl. Bacteriol.* 1990, 75, 550-556.
- Rosslund E., Andersen Borge G. I., Langsrud T., Sørhaug T.: Inhibition of *Bacillus cereus* by strains of *Lactobacillus* and *Lactococcus* in milk. *Int. J. Food Microbiol.* 2003, 89, 205-212.
- Rosslund E., Langsrud T., Granum P. E., Sørhaug T.: Production of antimicrobial metabolites by strains of *Lactobacillus* or *Lactococcus* co-cultured with *Bacillus cereus* in milk. *Int. J. Food Microbiol.* 2005, 98, 193-200.
- Sanyal A., Shiffman M. L., Hirsch J. I., Moore E. W.: Premicellar taurocholate enhances ferrous iron uptake from all regions of rat small intestine. *Gastroenterology* 1991, 101, 382-388.
- Shimakawa Y., Matsubara S., Yuki N., Ikeda M., Ishikawa F.: Evaluation of *Bifidobacterium breve* Yakult-fermented soymilk as a probiotic food. *Int. J. Food Microbiol.* 2003, 81, 131-136.
- Sutherland A. D., Limond A. M.: Influence of pH and sugars on the growth and production of diarrhoeagenic toxin by *Bacillus cereus*. *J. Dairy Res.* 1993, 60, 2330-2335.
- Velkinburgh J. C. van, Gunn J. S.: PhoP-PhoQ-regulated loci are required for enhanced bile resistance in *Salmonella* ssp. *Inf. Immun.* 1999, 67, 1614-1622.
- Wijnands L. M., Dufrenne J. B., van Leusden F. M., Abee T.: Germination of *Bacillus cereus* spores is induced by germinants from differentiated Caco-2 cells, a human cell line mimicking the epithelial cells of the small intestine. *Appl. Environ. Microbiol.* 2007, 73, 5052-5054.
- Wijnands L. M., Dufrenne J. B., van Leusden F. M.: *Bacillus cereus*: characteristics, behavior in the gastro-intestinal tract and interaction with Caco-2 cells. The National Institute for Public Health and the Environment, Bilthoven 2005, Report RIVM 250912003/2005.
- Wijnands L. M., Dufrenne J. B., Zwietering M. H., van Leusden F. M.: Spores from mesophilic *Bacillus cereus* strains germinate better and grow faster in simulated gastro-intestinal conditions than spores from psychrotrophic strains. *Int. J. Food Microbiol.* 2006, 112, 120-128.
- Zarate G., Gonzalez S., Chaia A. P., Olivier G.: Effect of bile on the  $\beta$ -galactosidase activity of dairy propionibacteria. *Lait* 2000, 80, 267-276.

Adres autora: dr inż. Anna Berthold-Pluta, ul. Nowoursynowska 159c, 02-787 Warszawa; e-mail: anna.berthold@wp.pl