Praca oryginalna *Original paper*

Przeżywalność Bacillus cereus w pożywkach imitujących środowisko żołądka człowieka

ANNA BERTHOLD-PLUTA, ANTONI PLUTA, IRENA MOLSKA, EWA DOLEGA

Zakład Biotechnologii Mleka, Wydział Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159C, 02-787 Warszawa

Otrzymano 08.11.2013 *Zaakceptowano 16.01.2014*

Berthold-Pluta A., Pluta A., Molska I., Dolega E.

Study on the survival of Bacillus cereus in media simulating the human stomach environment

Summary

The aim of this study has been to determine the survival ability of B. cereus vegetative cells and spores in media simulating human stomach content after the ingestion of dairy or meat products contaminated with this species. The enterotoxic strain Bacillus cereus 228 isolated from raw milk was the subject of examination in this study. The gastric media (GM) simulating human stomach content used in the study were prepared by mixing: 4.80 g NaCl, 1.56 g $NaHCO_3$, 2.20 g KCl, 0.22 g $CaCl_2$ and 25 U/l pepsin solution with sterile UHT milk (0% and 3.2% fat content) or chicken broth in a 1:1 ratio. The pH values of the media were then adjusted and ranged from 2.0 to 4.5. Spore or vegetative cell suspensions of Bacillus cereus were added to GM to obtain the target initial populations of about 6.0 log CFU/ml. Incubation was carried out for 6 h at 37°C under aerobic conditions.

The study revealed that B. cereus bacteria entering the human gastrointestinal tract have the ability to survive in the conditions prevailing in the human stomach environment. The survival ability in such conditions depends on the form of the ingested cells (vegetative cells or spores), on pH values, and on the kind of food with which they enter the gastrointestinal tract. B. cereus spores are highly resistant to the acidity of the human stomach environment both in the presence of chyme (at pH ~4.5) and in the absence of chyme (at pH ~2.0), regardless of the kind of food the spores were ingested with. On the other hand, B. cereus vegetative cells show diversified resistance to the conditions in the human stomach environment, depending on the pH (the quantity of chyme) and on what food the bacteria were ingested with. After inoculation with vegetative cells no survival of the vegetative cells was observed in 1 ml of each of the applied gastric media having pH 2.0 and 2.5 in the second hour of incubation. The survival rate of the vegetative cells at pH 4.5 was: 85.4% in GM-milk (3.2% fat content), 34.5% in GM-milk (0% fat content) and 4.5% in GM-chicken.

Keywords: B. cereus, resistance, pH, milk, meat

Bacillus cereus to bakterie G(+), względnie beztlenowe, powszechnie występujące w środowisku roślinnym, co wpływa na zanieczyszczenie surowców i produktów spożywczych (13). Izolowano je z różnych surowców i produktów mlecznych, mięsnych, zbożowych, przypraw i produktów gotowych do spożycia. Część szczepów izolowanych z produktów spożywczych ma cechy psychrotrofowe (1, 7, 18-20, 24, 29).

Niektóre szczepy *B. cereus* mogą wywoływać u ludzi zatrucia pokarmowe dwóch typów: o przebiegu biegunkowym lub wymiotnym. Te pierwsze powodowane są przez enterotoksyny wytwarzane przez komórki *B. cereus w* jelicie cienkim, natomiast zatrucie typu wymiotnego ma charakter intoksykacji (17). Zatrucie typu biegunkowego zależy w głównej mierze od przeżywalności *B. cereus* w przewodzie pokarmowym człowieka, którą ogranicza m.in. bardzo wysoka kwasowość występująca w żołądku.

W żołądku na czczo panuje niskie pH (średnio około 2,0), jednak w czasie spożywania pokarmu może osiągnąć wartości w zakresie 4,5-5,0 (11). Przy takich podwyższonych wartościach pH w żołądku oprócz przetrwalników także komórki wegetatywne *B. cereus* mogą przetrwać pasaż przez żołądek i w konsekwencji dotrzeć do jelita cienkiego. Dodatkowo, pokonaniu bariery niskiego pH soku żołądkowego przez bakterie sprzyjać może obecność w pożywieniu związków ochronnych, takich jak np. tłuszczu czy białka.

Celem badań było określenie przeżywalności form wegetatywnych i przetrwalnych *B. cereus* w pożywkach imitujących środowisko żołądka człowieka po spożyciu zanieczyszczonych tym gatunkiem produktów mlecznych lub mięsnych.

Materiał i metody

Materiałem badawczym był potencjalnie enterotoksyczny, psychrotrofowy szczep *B. cereus* 228 wyizolowany z mleka surowego, pochodzący z kolekcji Zakładu Biotechnologii Mleka SGGW.

W celu otrzymania zawiesiny przetrwalników szczep przesiewano rysowo na pożywkę Mossela (Merck nr kat. 1.05267 i sterylna zawiesina żółtka jaja, Merck nr kat. 1.03784) i inkubowano w temp. 30°C przez 72 h, po czym ezą przenoszono materiał biologiczny do 10 ml jałowego płynu Ringera i dokładnie mieszano. Otrzymaną zawiesinę ogrzewano w łaźni wodnej w temp. 80°C przez 10 min. w celu zniszczenia form wegetatywnych. W uzyskanej w ten sposób zawiesinie oznaczano liczbę przetrwalników *B. cereus* na pożywce wg Mossela, przy czym do czasu uzyskania wyników (18 h) pozostałą część zawiesiny umieszczano w wodzie lodowej o temp. 1°C ± 0,5°C.

Zawiesinę komórek wegetatywnych otrzymywano poprzez przesianie szczepu rysowo na płytkę z pożywką wg Mossela, inkubację przez 24 godziny w temperaturze 30°C, po czym przeniesienie ezą materiału biologicznego do probówki zawierającej 2 ml jałowego płynu Ringera, dokładne wymieszanie i ogrzanie w łaźni wodnej w temp. 80°C przez 10 min. w celu cieplnej aktywacji przetrwalników. Po schłodzeniu zawiesiny do temperatury pokojowej przenoszono jej 1 ml do kolby zawierającej 50 ml bulionu odżywczego i inkubowano w wytrząsarce w temp. 30°C przez 18 h przy wytrząsaniu 130 obr./min. W tak przygotowanej zawiesinie określano liczebność *B. cereus* oraz mikroskopowo wykluczano występowanie w niej przetrwalników.

Jako pożywkę imitującą środowisko żołądka stosowano Gastric Medium (GM) według Clavel i wsp. (8). Do pożywki zawierającej w 1 L: 4,80 g NaCl, 1,56 g $NaHCO_3$, 2,20 g KCl, 0,22 g $CaCl_2$ oraz 25 U pepsyny (Sigma Aldrich Chemie GmbH, nr kat. P6887) dodawano jałowe mleko UHT o zawartości tłuszczu 0% (GM-mleko 0%), 3,2% (GM-mleko 3,2%) lub wyciąg z mięsa kurczaka (GM-kurczak) w proporcji 1: 1, a następnie, za pomocą jałowego 1 M roztworu HCl, ustawiano pH (od 2,0 do 4,5).

Do kompletnej pożywki GM wprowadzano taką objętość zawiesiny przetrwalników lub komórek wegetatywnych badanego szczepu, aby początkowa liczba *B. cereus* wynosiła około 10^6 jtk/ml. Inkubację zaszczepionych GM prowadzono w temp. 37°C przez 6 h przy dostępie tlenu. Co godzinę określano ogólną liczbę *B. cereus* w GM z zastosowaniem metody płytkowej i posiewu powierzchniowego na pożywkę Chromogenic *Bacillus cereus* Agar firmy OXOID (nr kat. CM1036). Doświadczenia wykonywano w 3 powtórzeniach.

Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej z wykorzystaniem programu komputerowego StatGraphicsPlus 4.1. Przeprowadzono jednoczynnikową analizę wariancji. Do porównania istotności różnic między średnimi stosowano test Tukeya przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$.

Wyniki i omówienie

Przeżywalność spor *B. cereus*. Wprowadzenie do pożywek zawiesiny przetrwalników badanego szczepu bez względu na wariant pożywki oraz pH powodowało zmiany liczby *B. cereus* w 1 ml nie przekraczające jednego rzędu wielkości (tab. 1). W pożywkach o pH 2,0 oraz pH 2,5 stwierdzono podobny spadek liczebności *B. cereus* w wariancie pożywki zawierającej zarówno dodatek mleka odtłuszczonego, jak i wyciąg z mięsa kurczaka, natomiast istotnie mniejszy spadek – w pożywce GM-mleko 3,2%. W przypadku pożywek o kwasowości pH 3,0 i 3,5 podobne zmiany liczebności *B. cereus* stwierdzono w pożywkach GM z dodatkiem mleka, natomiast znacznie większy spadek liczebności patogenu nastąpił w pożywce GM-kurczak sięgający, podobnie jak w wariancie pożywki o pH 2,5, pół rzędu wielkości w 1 ml. W pożywce GM-mleko 3,2% oraz GM-mleko 0% o pH 4,0 nie odnotowano żadnych zmian liczebności *B. cereus*, natomiast w pożywce z dodatkiem wyciągu mięsnego liczba badanych drobnoustrojów zmniejszyła się o około 0,3 rzędu wielkości w 1 ml, podobnie jak w niższym pH. W najwyższym z badanych pH 4,5 spadek liczby *B. cereus* stwierdzono jedynie w pożywce GM-kurczak, natomiast w pożywkach z dodatkiem mleka liczebność patogenu nieznacznie wzrosła.

Analizując wpływ pH badanych środowisk, stwierdzono podobną oporność przetrwalników *B. cereus* w pożywkach GM zawierających mleko o pH w zakresie od 3,0 do 4,5, co oznacza, że w takim zakresie pH obecność tłuszczu w mleku nie miała istotnego wpływu na przeżywalność przetrwalników *B. cereus*. W przypadku obu tych pożywek na zmniejszenie liczebności *B. cereus* istotny wpływ miało pH w zakresie 2,0-2,5. Wpływ kwasowości na przeżywalność *B. cereus* był znacznie bardziej widoczny w pożywce GM-kurczak.

Zmniejszenie liczebności przetrwalników *B. cereus*, nie przekraczające jednego rzędu wielkości w pożywce symulującej warunki żołądka o pH 2,5, stwierdzili także Wijnands i wsp. (27), natomiast Clavel i wsp. (8) nie stwierdzili tego zjawiska w czasie inkubacji

Tab. 1. Zmiany w liczebności *Bacillus cereus* 228 w zależności od rodzaju i pH pożywki imitującej środowisko żołądka człowieka, inokulowanej zawiesiną spor badanego szczepu

Pożywka	Różnica między końcową a początkową liczbą *B. cereus*, $\bar{x} \pm s_d$ (log jtk/ml)					
	pH 2,0	pH 2,5	pH 3,0	pH 3,5	pH 4,0	pH 4,5
GM-mleko 0%	$-0,80 \pm 0,04^{aA}$	$-0,52 \pm 0,04^{bA}$	$-0,10 \pm 0,02^{cB}$	$-0,05 \pm 0,10^{cB}$	$0,00 \pm 0,01^{cB}$	$0,02 \pm 0,02^{cB}$
GM-mleko 3,2%	$-0,31 \pm 0,02^{aB}$	$-0,09 \pm 0,02^{bB}$	$-0,02 \pm 0,01^{cB}$	$-0,01 \pm 0,02^{cB}$	$0,00 \pm 0,01^{cB}$	$0,01 \pm 0,02^{cB}$
GM-kurczak	$-0,77 \pm 0,06^{aA}$	$-0,53 \pm 0,04^{bA}$	$-0,51 \pm 0,04^{bcA}$	$-0,39 \pm 0,05^{cdA}$	$-0,33 \pm 0,03^{deA}$	$-0,23 \pm 0,04^{eA}$

Objaśnienia: * liczby ujemne oznaczają zmniejszenie liczby *B. cereus w* czasie doświadczenia; a, b, c, d, e – takie same małe litery w wierszach oznaczają grupy homogenne; A, B – takie same duże litery w kolumnach oznaczają grupy homogenne

Tab. 2. Zmiany w liczebności form wegetatywnych *Bacillus cereus* 228 w zależności od rodzaju i pH pożywki imitującej środowisko żołądka człowieka

Pożywka	Różnica między końcową a początkową liczbą *B. cereus*, $\bar{x} \pm s_d$ (log jtk/ml)					
	pH 2,0	pH 2,5	pH 3,0	pH 3,5	pH 4,0	pH 4,5
GM-mleko 0%	$-6{,}01 \pm 0{,}13^{aB}$	$-6{,}02 \pm 0{,}08^{aC}$	$-6{,}16 \pm 0{,}04^{aB}$	$-5{,}71 \pm 0{,}03^{bB}$	$-5{,}76 \pm 0{,}01^{bB}$	$-4{,}38 \pm 0{,}06^{cB}$
GM-mleko 3,2%	$-6{,}16 \pm 0{,}07^{aB}$	$-6{,}26 \pm 0{,}04^{aB}$	$-6{,}38 \pm 0{,}05^{aA}$	$-4{,}17 \pm 0{,}07^{bC}$	$-3{,}47 \pm 0{,}16^{cC}$	$-0{,}92 \pm 0{,}04^{dC}$
GM-kurczak	$-6{,}44 \pm 0{,}07^{aA}$	$-6{,}48 \pm 0{,}05^{aA}$	$-6{,}40 \pm 0{,}09^{aA}$	$-6{,}40 \pm 0{,}10^{aA}$	$-6{,}55 \pm 0{,}10^{aA}$	$-6{,}45 \pm 0{,}05^{aA}$

Objaśnienia: * liczby ujemne oznaczają zmniejszenie liczby *B. cereus w* czasie doświadczenia; a, b, c – takie same małe litery w wierszach oznaczają grupy homogenne; A, B, C – takie same duże litery w kolumnach oznaczają grupy homogenne

w GM-mleko i GM-kurczak o pH od 1,0 do 5,2. Zmniejszenie liczby przetrwalników *B. cereus* (spadek o około 1,5 rzędu log jtk/ml) zaobserwowali po 6-godzinnej inkubacji jedynie w pożywce GM z dodatkiem przecieru warzywnego przy najniższym badanym pH ~1,0. Znaczną oporność przetrwalników *B. cereus* w warunkach symulujących pasaż żołądkowy (zakres pH od 2,0 do 5,0) wykazali również Ceuppens i wsp. (3, 5) oraz Wijnands i wsp. (28).

Przeżywalność form wegetatywnych *B. cereus*. W przypadku wprowadzenia do pożywek zawiesiny komórek wegetatywnych szczepu *B. cereus* 228 zmniejszenie liczby tych drobnoustrojów przekraczające nieznacznie 6 rzędów logarytmicznych w 1 ml stwierdzono w obu pożywkach GM-mleko w zakresie pH od 2,0 do 3,0 (tab. 2.). W pożywkach GM-mleko 0% o pH 3,5 i 4,0 stwierdzono podobne zmniejszenie liczby *B. cereus* wynoszące około 5,7 rzędu wielkości w 1 ml. Przy takim samym zakresie kwasowości, w drugiej pożywce GM-mleko zmiany liczby drobnoustrojów były istotnie mniejsze. Większa zawartość tłuszczu w pożywce GM-mleko miała istotny wpływ na zwiększenie oporności *B. cereus* na warunki inkubacji w pożywkach o pH od 3,5 do 4,5. Inaczej natomiast przedstawiały się zmiany liczebności oznaczanych drobnoustrojów w pożywce GM-kurczak, w której bez względu na kwasowość stwierdzono zmniejszenie liczby *B. cereus* o około 6,5 rzędu wielkości w 1 ml.

Można było spodziewać się znacznie większej przeżywalności przetrwalników niż komórek wegetatywnych w warunkach imitujących te panujące w żołądku człowieka, przetrwalniki *Bacillus* sp. są bowiem od 10- do 75-krotnie bardziej oporne na różne czynniki stresu niż komórki wegetatywne odpowiednio tych samych szczepów (16, 23).

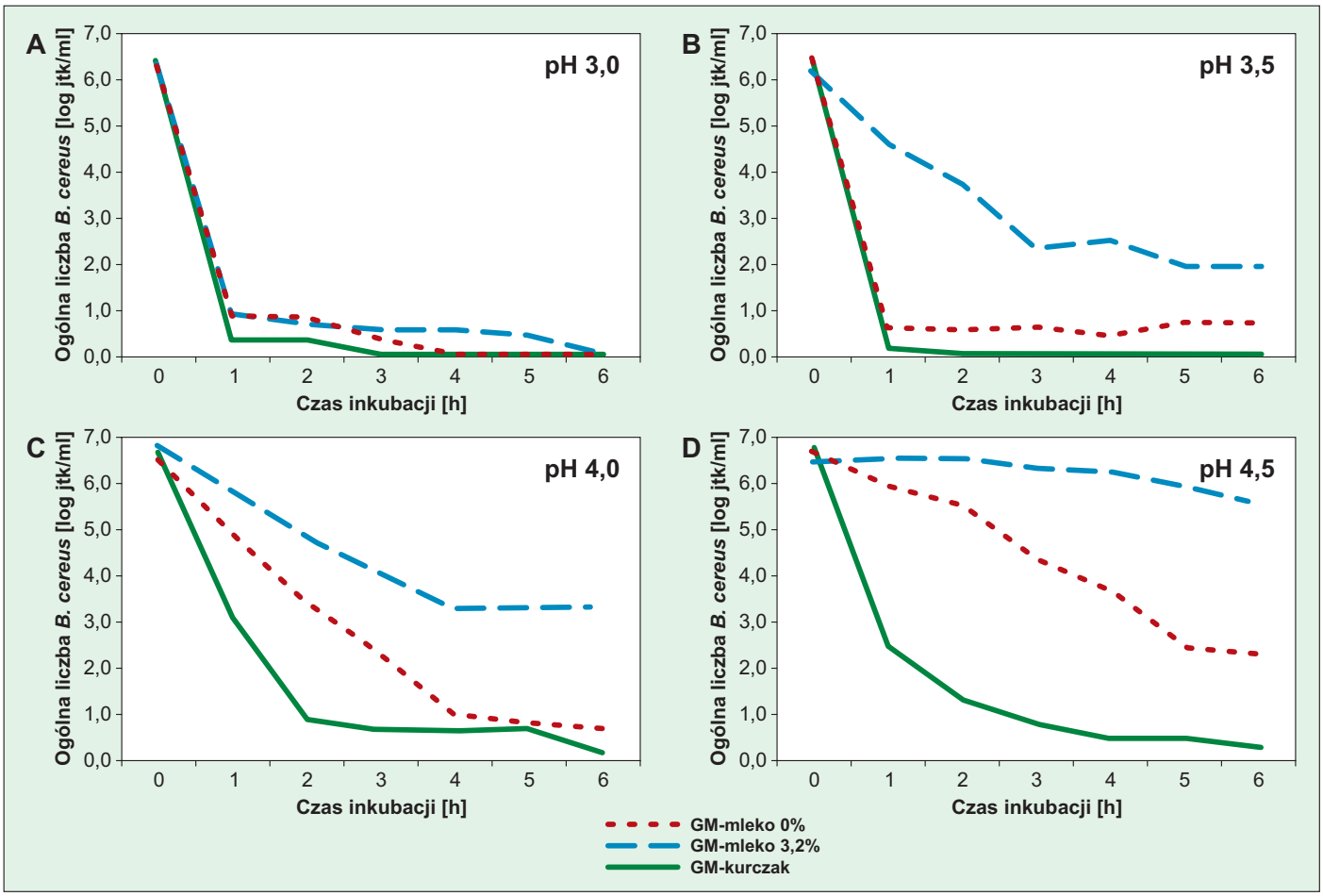
We wszystkich wariantach pożywek GM o pH 2,0 i 2,5 w przypadku wprowadzenia inokulum komórek wegetatywnych *B. cereus* liczba tych drobnoustrojów zmniejszyła się o 4-5 rzędów wielkości już w pierwszej godzinie inkubacji. Od drugiej godziny do końca okresu inkubacji nie stwierdzono już obecności *B. cereus* w 1 ml pożywek.

W przypadku pożywki GM-kurczak o pH 3,0 po pierwszej godzinie inkubacji liczba *B. cereus* zmniejszyła się o 6 rzędów logarytmicznych, a w kolejnych godzinach nie stwierdzono już obecności tych bakterii w 1 ml pożywki (ryc. 1A). W pożywce GM-mleko 0% o tej samej kwasowości odnotowano podobnie gwałtowne zmniejszenie się liczby patogenów, lecz ich obecność na poziomie około 10^0-10^1 jtk/ml odnotowano jeszcze w trzeciej godzinie inkubacji. Natomiast w pożywce GM-mleko o większej zawartości tłuszczu bakterie były stwierdzone jeszcze w piątej godzinie inkubacji.

Zmiany liczby *B. cereus* w pożywce GM-kurczak o pH 3,5 przebiegały bardzo podobnie, jak w przypadku tej samej pożywki, ale o niższym pH; od drugiej godziny inkubacji nie zaobserwowano już obecności *B. cereus* w 1 ml pożywki (ryc. 1B). W pożywce GM-mleko 0% w pierwszej godzinie inkubacji nastąpiło zmniejszenie liczby *B. cereus* o ponad 5 rzędów wielkości, ale obecność *B. cereus* na poziomie kilkudziesięciu komórek w 1 ml odnotowano nawet w ostatniej, 6. godzinie doświadczenia. Odmiennie przedstawiały się zmiany liczebności badanego szczepu w pożywce GM-mleko 3,2%. Liczba *B. cereus* zmniejszyła się o ok. 4 rzędy wielkości po trzeciej godzinie i na niezmiennym poziomie ok. 10^2-10^3 jtk/ml pozostała do końca doświadczenia.

W pożywce GM-mleko 0% o pH 4,0 liczba komórek badanego szczepu do czwartej godziny inkubacji zmniejszała się średnio o jeden rząd wielkości na godzinę, ale nawet na koniec doświadczenia w pożywce stwierdzono obecność żywych drobnoustrojów (ryc. 1C). W pożywce GM-kurczak w pierwszych dwóch godzinach inkubacji nastąpiło znaczne zmniejszenie liczby *B. cereus* (o ponad 5 rzędów wielkości) i nawet w szóstej godzinie inkubacji bakterie te były obecne w 1 ml pożywki. W pożywce GM-mleko 3,2% zmniejszenie liczebności *B. cereus* (o około 4 rzędy wielkości w 1 ml) stwierdzono po czterech godzinach inkubacji, natomiast w dalszych godzinach liczba badanych drobnoustrojów pozostawała na niezmiennym poziomie ok. 10^3 jtk/ml.

W najwyższym z badanych pH 4,5 (ryc. 1D) jedynie w pożywce zawierającej wyciąg z mięsa kurczaka stwierdzono znaczne zmniejszenie liczebności *B. cereus* sięgające około 6 rzędów wielkości. Natomiast w pożywce zawierającej mleko o zawartości tłuszczu 3,2%, liczba *B. cereus* w czasie 6 h inkubacji zmniejszyła się tylko o jeden rząd wielkości. W pożywce GM-mleko 0% spadek liczebności był większy niż w przypadku dodatku mleka o zawartości tłuszczu



Ryc. 1A-1D. Zmiany w liczebności form wegetatywnych *B. cereus* 228 w pożywkach GM o różnym pH imitujących środowisko żołądka

3,2% i osiągał 4 rzędy wielkości po 6 godzinach inkubacji.

Clavel i wsp. (8) wykazali, że wprowadzanie komórek wegetatywnych do pożywek GM o pH < 3,5 zmniejsza ich liczebność bez względu na zastosowany dodatek (mleka, wyciągu mięsnego lub warzyw) do pożywki. Podobnie, jak w niniejszych badaniach, największą przeżywalność *B. cereus* przy pH 3,5-4,0 stwierdzili w pożywce z dodatkiem mleka, a najmniejszą – w pożywce z dodatkiem wyciągu mięsnego. Niską przeżywalność form wegetatywnych *B. cereus* potwierdziły także badania z udziałem szczepów ATCC14579 oraz wyizolowanych z żywności i źródeł klinicznych (3, 4). Jedynie 10-23% komórek wegetatywnych tych szczepów przeżywało w pożywce symulującej środowisko żołądka, przy czym tylko przy pH > 4,0. Dla porównania, w niniejszych badaniach, przeżywalność komórek wegetatywnych przy pH 4,0 wynosiła 48,7% w pożywce GM-mleko 3,2%, 10,8% w pożywce GM-mleko 0% i 2,6% w pożywce GM-kurczak. Przy nieco wyższym pH (4,5) przeżywalność ta widocznie wzrosła i w środowiskach analogicznych do ww. wynosiła, odpowiednio, 85,4%, 34,5% i 4,5%. Efekt ochronny składników suchej masy mleka tłumaczy się tworzeniem kompleksów tłuszczowo-białkowych, które otaczając bakterie, chronią je przed wpływem różnych czynników stresowych, np. niskim pH. Taki mechanizm oporności na warunki panujące w żołądku po spożyciu produktów mlecznych potwierdzono dla *Lactobacillus i Bifidobacterium* (6), *Lactococcus lactis* (12) oraz *Salmonella* (10), a także dla szczepów *B. cereus* wyizolowanych z przypadków zatruć pokarmowych i żywności (27).

W warunkach laboratoryjnych *B. cereus* jest zdolny do wzrostu w pH między 4,3 a 9,0 (15). W żywności działanie wysokiej kwasowości jest mniej drastyczne niż w warunkach laboratoryjnych. Ponadto minimalne pH dla wzrostu *B. cereus* jest różne dla różnych szczepów i zależy także od rodzaju czynnika zakwaszającego (26).

Przeżywalność komórek *B. cereus* przy wysokiej kwasowości środowiska może tłumaczyć fakt, że bakterie zdolne są do przeżycia w środowisku o niskim pH, jeżeli wcześniej zostały narażone na działanie słabo kwaśnego pH, co doprowadziło do wywołania reakcji tolerancji kwasowej (acid tolerance responce, ATR) (9). W badaniach nad wpływem niskiego pH na komórki *B. cereus* w żywności stwierdzono, że blisko 100% komórek przeżyło działanie pH 4,6 po wcześniejszym poddaniu ich działaniu pH 6,3 (2). Indukcja ATR u różnych szczepów *B. cereus* zachodzi w późnej fazie stacjonarnej przy pH od 5,5 do 7,0 (14, 22, 25). Oporność *B. cereus* na stres kwasowy zależy także od fazy wzrostu, a zwiększoną wrażliwością charaktery-

zują się komórki we wczesnej logarytmicznej fazie wzrostu (5, 21).

Zgodnie z modelem matematycznym opracowanym przez Wijnands i wsp. (28), opisującym liczbę komórek wegetatywnych *B. cereus* przeżywających pasaż przez ludzki żołądek, w zależności od wieku konsumenta, od 3% do 12% (u ludzi młodych) i od 6% do 26% (u ludzi starszych) spożytych komórek wegetatywnych *B. cereus* dotrze do jelit.

Wyniki przeprowadzonych doświadczeń oraz dane z piśmiennictwa wskazują, że na przeżywalność *B. cereus* w środowisku żołądka człowieka wpływają m.in.: rodzaj pokarmu – nośnik patogenu, w tym zwłaszcza obecność czynników ochronnych, tj. tłuszcz i białko, kwasowość żołądka (zależna od jego wypełnienia, rodzaju treści pokarmowej, cech osobniczych, zaburzeń w funkcjonowaniu, wieku, itp.) oraz faza wzrostu bakterii, szczepozależna oporność na stres kwasowy i „historia" komórek (np. wcześniejsze narażenie komórek na stres kwasowy lub inny).

Wnioski

1. Bakterie *B. cereus* dostające się do przewodu pokarmowego człowieka zdolne są do przetrwania warunków panujących w środowisku żołądka. Przeżywalność w tych warunkach zależy od formy komórek (komórki wegetatywne lub przetrwalniki), pH środowiska oraz rodzaju pokarmu, z jakim dostają się do przewodu pokarmowego.

2. Przetrwalniki *B. cereus* są wysoce oporne na kwasowość środowiska żołądka człowieka zarówno wypełnionego treścią pokarmową (pH 4,5), jak i niewypełnionego (pH 2,0), bez względu na rodzaj pokarmu, z którym zostały wprowadzone.

3. Komórki wegetatywne *B. cereus* wykazują zróżnicowaną oporność na warunki panujące w środowisku żołądka człowieka, w zależności od wysokości pH (stopnia wypełnienia żołądka treścią pokarmową) oraz rodzaju pokarmu, z jakim bakterie te zostają do niego wprowadzone.

4. W obecności mleka o zawartości tłuszczu 3,2%, komórki wegetatywne *B. cereus* wykazują podobną oporność na pH 4,5, jak przetrwalniki tego gatunku.

Piśmiennictwo

1. *Birgitta S., Kerstin E., Hiroshi O., Anders Ch.*: Characterization of Bacillus cereus isolated from milk silo tanks at eight different dairy plants. Int. Dairy J. 2004, 14, 17-27.
2. *Browne N., Dowds B.*: Acid stress in the food pathogen Bacillus cereus. J. Appl. Microbiol. 2002, 92, 3, 404-414.
3. *Ceuppens S., Uyttendaele M., Drieskens K., Rajkovic A., Boon N., Wiele T. V.*: Survival of Bacillus cereus vegetative cells and spores during in vitro simulation of gastric passage. J. Food Prot. 2012, 75, 690-694.
4. *Ceuppens S., Uyttendaele M., Hamelink S., Boon N., Wiele T. V.*: Inactivation of Bacillus cereus vegetative cells by gastric acid and bile during in vitro gastrointestinal transit. Gut Pathogens 2012, 4, 11-17.
5. *Ceuppens S., Wiele T., Rajkovic A., Ferrer-Cabaceran T., Heyndrickx M., Boon N., Uyttendaele M.*: Impact of intestinal microbiota and gastrointestinal conditions on the in vitro survival and growth of Bacillus cereus. Int. J. Food Microbiol. 2012, 155, 241-246.
6. *Charteris W., Kelly P., Morelli L., Collins J.*: Development and application of an in vitro methodology to determine the transit tolerance of potentially probiotic Lactobacillus and Bifidobacterium species in the upper human gastrointestinal tract. J. Appl. Microbiol. 1998, 84, 759-768.
7. *Christiansson A.*: Bacillus cereus, [w:] Roginski H., Fuquay J., Fox P. (red.): Encyclopedia of Dairy Sciences. Academic Press, Amsterdam 2003, s. 123--127.
8. *Clavel T., Carlin F., Lairon D., Nguyen-The C., Schmitt P.*: Survival of Bacillus cereus spores and vegetative cells in acid media simulating human stomach. J. Appl. Microbiol. 2004, 97, 214-219.
9. *Cotter P., Hill C.*: Surviving the acid test: responses of Gram-positive bacteria to low pH. Microbiol. Mol. Biol. R. 2003, 67, 429-453.
10. *D'Aoust J.*: Infective dose of Salmonella Typhimurium in Cheddar cheese. Am. J. Epidemiol. 1985, 122, 717-719.
11. *Dressman J., Berardi R., Dermentzoglou L., Russel T., Schmalts S., Barnett J., Jarvenpaa K.*: Upper gastrointestinal (GI) pH in young, healthy men and women. Pharm. Res. 1990, 7, 756-761.
12. *Drouault S., Corthier G., Ehrlich D., Renault P.*: Survival, physiology and lysis of Lactococcus lactis in the digestive tract. Appl. Environ. Microbiol. 1999, 65, 11, 4881-4886.
13. *Garrity G., Winteras M., Searles D.* (red.): Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Wyd. 2. Ed. Williams and Wilkins Baltimore, USA 2001, 1104--1139.
14. *Jobin M., Clavel T., Carlin F., Schmit P.*: Acid tolerance response in low-pH and late-stationary growth phase inducible in Bacillus cereus TZ415. Int. J. Food Microbiol. 2002, 79, 65-73.
15. *Lund B.*: Foodborne disease due to Bacillus and Clostridium species. Lancet 1990, 336, 982-986.
16. *Nicholson W., Munakata N., Horneck G., Melosh H., Setlow P.*: Resistance of Bacillus endospores to extreme terrestrial and extraterrestrial environments. Microbiol. Mol. Biol. R. 2000, 64, 548-572.
17. *Nothermans S., Te Giffel M.*: Bacillus cereus: its toxins and their significance. Bulletin FIL/IDF 2000, 357, 43-46.
18. *Pirhonen T., Andersson M., Jääskeläinen E., Salkinoja-Salonen M., Honkanen T., Johansson T.*: Biochemical and toxic diversity of Bacillus cereus in a pasta and meat dish associated with a food-poisoning case. Food Microbiol. 2005, 22, 87-91.
19. *Rajkovic A., Uyttendaele M., Courtens T., Heyndrickx M., Debevere J.*: Prevalence and characterisation of Bacillus cereus in vacuum packed potato puree. Int. J. Food Sci. Tech. 2006, 41, 878-884.
20. *Rosenquist H., Smidt L., Andersen S., Jensen G., Wilcks A.*: Occurrence and significance of Bacillus cereus and Bacillus thuringiensis in ready-to-eat food. FEMS Microbiol. Lett. 2005, 250, 129-136.
21. *Rössland E., Andersen B., Langsrud T., Sörhaug T.*: Inhibition of Bacillus cereus by strains of Lactobacillus and Lactococcus in milk. Int. J. Food Microbiol. 2003, 103, 67-77.
22. *Senouci-Rezkallah K., Schmitt P., Jobin M.*: Amino acids improve acid tolerance and internal pH maintenance in Bacillus cereus ATCC14579 strain. Food Microbiol. 2011, 28, 364-372.
23. *Setlow P.*: DNA in dormant spores of Bacillus species is in an A-like conformation. Mol. Microbiol. 1992, 6, 563-567.
24. *Te Giffel M., Beumer R., Leijendekkers S., Rombouts F.*: Incidence of Bacillus cereus and Bacillus subtilis in foods in the Netherlands. Food Microbiol. 1996, 13, 53-58.
25. *Thomassin S., Jobin P., Schmitt P.*: The acid tolerance response of Bacillus cereus ATCC14579 is dependent on culture pH, growth rate and intracellular pH. Arch. Microbiol. 2006, 186, 229-239.
26. *Valero M., Fernández P., Salmerón M.*: Influence of pH and temperature on growth of Bacillus cereus in vegetable substrates. Int. J. Food Microbiol. 2003, 82, 71-79.
27. *Wijnands L., Dufrenne J., Zwietering M., van Leusden F.*: 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.
28. *Wijnands L., Pielaat A., Dufrenne J., Zwietering M., van Leusden F.*: Modeling the number of viable vegetative cells of Bacillus cereus passing through the stomach. J. Appl. Microbiol. 2009, 106, 258-267.
29. *Zhou G., Liu H., He J., Yuan Y., Yuan Z.*: The occurrence of Bacillus cereus, B. thuringiensis and B. mycoides in Chinese pasteurized full fat milk. Int. J. Food Microbiol. 2008, 121, 195-200.

Adres autora: dr inż. Anna Berthold-Pluta, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-787 Warszawa; e-mail: anna_berthold@sggw.pl