

Instytut Gleboznawstwa i Chemii Rolnej AR w Lublinie
Instytut Medycyny Pracy i Higieny Wsi w Lublinie

Barbara PRZYBOJEWSKA

**Badania własności antybiotycznych promieniowców pochodzących
ze stosów kompostowych z dodatkowym źródłem azotu i stosów
kontrolnych w stosunku do bakterii z rodzaju *Salmonella*, *Streptococcus*,
*Clostridium***

Изучение антибиотических свойств актиномицетов, изолированных из компостовых куч, содержащих азотные соединения, и из контрольных куч по сравнению с бактериями рода *Salmonella*, *Streptococcus*, *Clostridium*

Investigations of the Antibiotic Properties of Actinomycetes Isolated from Compost Heaps with Nitrogen Compounds Added and from Control Heaps, in Relation to Bacteria of the Genera *Salmonella*, *Streptococcus* and *Clostridium*

Zagadnienie unieszkodliwiania drobnoustrojów chorobotwórczych w procesie kompostowania nie zostało dotychczas dokładnie wyjaśnione. Z badań niektórych autorów (1, 2, 3, 5) wynika, że w kompoście znajduje się znaczny odsetek drobnoustrojów produkujących antybiotyki. Nasuwa się związek z tym przypuszczenie, że mogą one stanowić obok odpowiednio wysokiej temperatury ważny czynnik przyczyniający się do unieszkodliwiania mikroorganizmów patogennych w procesie kompostowania.

Celem pracy było wyizolowanie ze stosów kompostowych z dodatkiem związków azotowych (azotniak, mocznik, saletra wapniowa) i stosów kontrolnych (bez dodatkowego źródła azotu) promieniowców wykazujących własności antybiotyczne w stosunku do szczepów *Salmonella*, *Streptococcus*, *Clostridium* oraz zbadania ich aktywności antybiotycznej.

MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Materiał badań stanowiło 420 szczepów promieniowców wyizolowanych ze stosów kompostowych założonych na terenie Lubelskiej Kompostowni Miejskiej w okresie wiosennym i letnim r. 1970. W skład stosów kompostowych wchodziły odpadki miejskie i osad ściekowy z Lubelskiej Oczyszczalni Ścieków w ilości 30%. Część stosów kompostowych zawierała ponadto 1% N w postaci azotniaku, mocznika lub saletry wapniowej.

Badaniom poddano po 30 szczepów promieniowców pochodzących ze stosów kompostowych w 10, 38 i 84 dniu fermentacji. Wyjątek stanowił stos kompostowy z azotniakiem, z którego wyizolowano promieniowce w 10 i 84 dniu kompostowania.

Promieniowce izolowano ze stosów kompostowych na podłoże z wyciągiem glebowym (4). Ze wspomnianego podłoża po 6—7 dniach inkubacji w temp. 28°C przesiewano je na skosy agarowe z podłożem ziemniaczanym i inkubowano w podanej temperaturze przez okres 5—10 dni do uzyskania obfitej grzybni powietrznej. Czyste szczepy promieniowców poddano dalszym badaniom, których celem było oznaczenie własności antybiotycznych.

W pracy pominięto określanie przynależności systematycznej badanych szczepów promieniowców ze względu na fakt, że wytwarzanie substancji antybiotycznej jest cechą szczepową, a nie gatunkową.

Własności antybiotyczne promieniowców określano na podłożu z wyciągiem namokowym kukurydzy, będącym modyfikacją pożywki penicylinowej (4).

Szczep promieniowca wysiewano w postaci kreski na dwóch równoległych płytkach z podłożem z wyciągiem namokowym kukurydzy, a następnie inkubowano w temp. 28°C przez okres 5—6 dni, po czym posiewano prostopadle do „kreski” badanego szczepu zawiesinę bakterii *S. typhi* 986, *S. enteritidis* 639, *S. bovis* 656, *Cl. histolyticum* 220 o oznaczonej uprzednio metodą krążków bibułowych wrażliwości na niektóre antybiotyki (tab. 1).

Tab. 1. Wrażliwość szczepów *S. typhi* 986, *S. enteritidis* 639, *S. bovis* 656, *Cl. histolyticum* 220 na 8 antybiotyków oznaczonych metodą krążków bibułowych
Sensitivity of the strains *S. typhi* 986, *S. enteritidis* 639, *S. bovis* 656 and *Cl. histolyticum* 220 to 8 antibiotics, determined by the method of filter paper discs

Antybiotyk	Strefa zahamowania wzrostu w mm oraz stopień wrażliwości							
	<i>S. typhi</i> 986		<i>S. enteri-</i> <i>tidis</i> 639		<i>S. bovis</i> 656		<i>Cl. histoly-</i> <i>ticum</i> 220	
Penicilina	0	—	0	—	25	++	48	+++
Streptomycyna	24	++	23	+	22	+	40	+++
Chloromycetyna	26	++	23	+	33	+++	30	+++
Aureomycyna	26	++	0	—	36	+++	36	+++
Terramycyna	30	+++	0	—	36	+++	36	+++
Erytromycyna	0	—	0	—	32	+++	35	+++
Tetracyklina	30	+++	0	—	33	+++	38	+++
Neomycyna	15	—	0	—	23	+	36	+++

Objaśnienie: — brak wrażliwości (lack of sensitivity), + wrażliwość słaba (weak sensitivity), ++ wrażliwość średnia (medium sensitivity), +++ wrażliwość silna (strong sensitivity).

Szczepów bakterii używano w postaci 24 godz. hodowli bulionowych.

Płytki z posiewami inkubowano w 37°C przez okres 24 godz., po czym odczytywano wyniki.

Strefę zahamowania wzrostu oznaczano w mm, przyjmując zahamowanie mniejsze niż 5 mm za wynik ujemny (0), w granicach 5—14 mm za słabe, 15—24 mm za średnie, powyżej 24 mm za silne.

OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

Badania własności antybiotycznych promieniowców pochodzących ze stosów kompostowych z dodatkiem związków azotowych i stosów kontrolnych wykazały, że w stosach tych występuje znaczny odsetek szczepów

Tab. 2. Odsetek szczepów promieniowców wykazujących własności antybiotyczne w stosunku do bakterii z rodzaju *Salmonella*, *Streptococcus*, *Clostridium*
 Antibiotic properties of the actinomycete strains studied in relation to bacteria of the genera *Salmonella*, *Streptococcus* and *Clostridium*

Skład stosu kompostowego	Okres kompostowania (dni)	Liczba badanych szczepów promieniowców	Odsetek szczepów promieniowców wykazujących własności antybiotyczne	Odsetek szczepów promieniowców wykazujących własności antybiotyczne w stosunku do poszczególnych drobnoustrojów			
				<i>S. typhi</i> 986	<i>S. enteritidis</i> 639	<i>S. bovis</i> 656	<i>Cl. histolyticum</i> 220
1							
Odpadki miejskie + osad ściekowy (30%)	10	30	56,5	16,6	10,0	23,3	33,3
+ 1% N w azotniaku	38	nb	nb	nb	nb	nb	nb
	84	30	60,0	10,0	20,0	33,3	53,3
1							
Odpadki miejskie + osad ściekowy (30%)	10	30	26,6	10,0	10,0	23,3	23,3
+ 1% N w moczniku	38	30	30,0	10,0	10,0	20,0	26,6
	84	30	42,2	26,6	16,6	23,3	40,0
1							
Odpadki miejskie + osad ściekowy (30%)	10	30	33,3	3,3	3,3	16,6	20,0
— kontrola	38	30	40,0	6,6	3,3	16,6	33,3
	84	30	43,3	13,3	13,3	30,0	40,0
2							
Odpadki miejskie + osad ściekowy (30%)	10	30	26,6	16,6	10,0	23,3	23,3
+ 1% N w saletrze wapniowej	38	30	23,3	10,0	10,0	23,3	23,3
	84	30	66,6	26,6	26,6	23,3	66,6
2							
Odpadki miejskie + osad ściekowy (30%)	10	30	33,3	6,6	6,6	23,3	30,0
— kontrola	38	30	33,3	16,6	10,0	23,3	33,3
	84	30	40,0	16,6	16,6	26,6	40,0

Objaśnienia: 1 — stosy kompostowe założone w okresie wiosennym, 2 — stosy kompostowe założone w okresie letnim, nb — nie badano.

Explanations: 1 — compost heaps established in spring, 2 — compost heaps established in summer, nb — not tested.

wykazujących zdolność hamowania wzrostu bakterii z rodzaju *Salmonella*, *Streptococcus*, *Clostridium* (tab. 2). Stwierdzono jednocześnie, że odsetek ten jest niejednokrotnie wyższy w stosach kompostowych z dodatkiem azotniaku, mocznika, saletry wapniowej niż w stosach kontrolnych.

Najwyższy odsetek promieniowców wyizolowanych ze stosów kompostowych z dodatkiem związków azotowych, a także stosów kompostowych kontrolnych posiadał własności antybiotyczne w stosunku do szczepu *Cl. histolyticum* 220. Było to uwarunkowane przypuszczalnie znaczną wrazliwością tego szczepu na liczne antybiotyki.

Szczególnie wysoki (66,6%) odsetek promieniowców odznaczających się zdolnością hamowania wzrostu wspomnianego szczepu bakterii notowano

w stosie kompostowym z dodatkiem saletry wapniowej w 84 dniu kompostowania.

We wszystkich badanych stosach kompostowych w 84 dniu fermentacji stwierdzono wzrost odsetka promieniowców posiadających własności antybiotyczne w stosunku do *Cl. histolyticum* 220 w porównaniu z wcześniejszym okresem kompostowania.

Własności antybiotyczne w stosunku do szczepu *S. bovis* 656 wykazywał niższy odsetek badanych promieniowców. W stosach kompostowych z dodatkiem związków azotowych utrzymywał się on w granicach 20—33,3, w stosach kontrolnych 16,6—30.

W stosie kompostowym z dodatkiem azotniaku oraz w stosach kompostowych kontrolnych odsetek promieniowców odznaczających się zdolnością hamowania wzrostu szczepu *S. bovis* 656 wzrastał w 84 dniu kompostowania w porównaniu z okresem wcześniejszym, podczas gdy w pozostałych stosach kompostowych utrzymywał się w poszczególnych etapach fermentacji na zbliżonym poziomie.

Bakterie z rodzaju *Salmonella* okazały się mało wrażliwe na antybiotyki produkowane przez badane szczepy promieniowców. Wzrost *S. typhi* 986 i *S. enteritidis* 639 hamowało 10—26,6% szczepów promieniowców pochodzących ze stosów kompostowych z dodatkiem związków azotowych i 3,3—16,6% ze stosów kontrolnych.

W stosach kompostowych z mocznikiem, saletrą wapniową oraz w stosach kompostowych kontrolnych obserwowano w 84 dniu fermentacji wzrost odsetka promieniowców posiadających zdolność hamowania wzrostu *S. typhi* 986 w porównaniu z okresem wcześniejszym, podczas gdy w stosie kompostowym z azotniakiem uległ on obniżeniu.

Własności antybiotyczne w stosunku do szczepu *S. enteritidis* 639 wykazywał w 84 dniu kompostowania wyższy odsetek promieniowców niż w 10 i 38 dniu fermentacji we wszystkich stosach kompostowych z wyjątkiem stosu kompostowego z dodatkiem mocznika.

W tab. 3 podano wyniki badania aktywności antybiotycznej szczepów promieniowców w stosunku do bakterii z rodzaju *Salmonella*, *Streptococcus*, *Clostridium*.

Badania wykazały znaczne różnice w aktywności antybiotycznej szczepów promieniowców. Stwierdzono, że posiadają one w większości przypadków słabe lub średnie własności antybiotyczne. Silną zdolność hamowania wzrostu przejawiają najczęściej w stosunku do *Cl. histolyticum* 220.

Interesujący wydaje się fakt, że w stosach kompostowych z dodatkiem azotniaku i mocznika we wszystkich prawie przypadkach notowano obecność promieniowców posiadających silne własności antybiotyczne w stosunku do wybranych szczepów bakterii z rodzaju *Salmonella*, *Streptococcus*, *Clostridium*. W stosie kompostowym z dodatkiem saletry wapniowej nie stwierdzono promieniowców posiadających silną zdolność hamowania wzrostu szczepów *Salmonella* i *Streptococcus*. Występowały w nich natomiast szczepy promieniowców wykazujące silne własności antybiotyczne w stosunku do szczepu *Clostridium*. Najwyższy ich odsetek (16,6%) notowano w 84 dniu kompostowania.

Pośród promieniowców pochodzących ze stosów kompostowych kontrolnych silne własności antybiotyczne wykazywało jedynie 13,3—16,6% szczepów w stosunku do *Cl. histolyticum* 220 w 84 dniu kompostowania

Tab. 3. Wyniki badań aktywności antybiotycznej promieniowców w stosunku do badanych szczepów bakterii z rodzaju *Salmonella*, *Streptococcus*, *Clostridium*Results of tests of antibiotic activity of actinomycetes in relation to selected bacteria strains of the genera *Salmonella*, *Streptococcus* and *Clostridium*

Skład stosu kompostowego	Drobnoustrój	Okres kompostowa- nia (dni)	Liczba badanych szczepów promie- niowców	Odsetki szczepów pro- mieniowców wykazują- cych aktywność antybiotyczną			
				brak (-)	słaba (+)	średnia (+)	ściśła (+)
1	2	3	4	5	6	7	8
Odpadki miejskie + osad ścieko- wy (30%) + 1% N w azotniaku	<i>S. typhi</i> 986	10	30	83,3	3,3	10,0	3,3
		38	nb	nb	nb	nb	nb
		84	30	80,0	10,0	10,0	0
	<i>S. enteritidis</i> 639	10	30	90,0	3,3	3,3	3,3
		38	nb	nb	nb	nb	nb
		84	30	80,0	13,3	0	6,6
	<i>S. bovis</i> 656	10	30	76,6	20,0	0	3,3
		38	nb	nb	nb	nb	nb
		84	30	83,3	13,3	13,3	0
	<i>Cl. histolyticum</i> 220	10	30	66,6	20,0	6,6	6,6
		38	30	nb	nb	nb	nb
		84	30	43,3	30,0	16,6	10,0
Odpadki miejskie + osad ścieko- wy (30%) + 1% N w moczniku	<i>S. typhi</i> 986	10	30	90,0	0	6,6	3,3
		38	30	90,0	6,6	0	3,3
		84	30	73,3	16,6	6,6	3,3
	<i>S. enteritidis</i> 639	10	30	83,3	3,3	0	13,3
		38	30	90,0	6,6	0	3,3
		84	30	83,3	10,0	6,6	0
	<i>S. bovis</i> 656	10	30	76,6	20,0	0	3,3
		38	30	80,0	16,6	0	3,3
		84	30	83,3	13,3	3,3	0
	<i>Cl. histolyticum</i> 220	10	30	76,6	23,3	0	0
		38	30	73,3	16,6	6,6	3,3
		84	30	60,0	10,0	6,6	23,3
Odpadki miejskie + osad ścieko- wy (30%) — kontrole	<i>S. typhi</i> 986	10	30	96,6	3,3	0	0
		38	30	93,3	6,6	0	0
		84	30	86,6	6,6	6,6	0
	<i>S. enteritidis</i> 639	10	30	96,6	0	0	3,3
		38	30	96,6	3,3	0	0
		84	30	86,6	6,6	6,6	0
	<i>S. bovis</i> 656	10	30	83,3	16,6	0	0
		38	30	83,3	13,3	3,3	0
		84	30	70,0	20,0	10,0	0
	<i>Cl. histolyticum</i> 220	10	30	83,3	16,6	0	0
		38	30	63,3	20,0	16,6	0
		84	30	56,6	6,6	16,6	16,6

1	2	3	4	5	6	7	8
Odpadki miejskie + osad ścieko- wy (30%) + 1% N w saetrze wapniowej	<i>S. typhi</i> 986	10	30	83,3	16,6	3,3	0
		38	30	90,0	6,6	0	0
		84	30	73,3	26,6	0	0
	<i>S. enteritidis</i> 639	10	30	96,6	3,3	0	0
		38	30	90,0	10,0	0	0
		84	30	73,3	16,6	10,0	0
	<i>S. bovis</i> 656	10	30	80,0	6,6	13,3	0
		38	30	76,6	16,6	6,6	0
		84	30	76,6	16,6	6,6	0
	<i>Cl. histolyticum</i> 220	10	30	76,6	6,6	10,0	6,6
		38	30	76,6	16,6	3,3	3,3
		84	30	33,3	43,3	6,6	16,6
	<i>S. typhi</i> 986	10	30	83,3	6,6	0	0
		38	30	83,3	16,6	0	0
		84	30	90,0	6,6	10,0	0
Odpadki miejskie + osad ścieko- wy (30%) — — kontrole	<i>S. enteritidis</i> 639	10	30	96,6	3,3	0	0
		38	30	90,0	10,0	0	0
		84	30	83,3	6,6	10,0	0
	<i>S. bovis</i> 656	10	30	76,6	23,3	0	0
		38	30	76,6	20,0	3,3	0
		84	30	80,0	16,6	10,0	0
	<i>Cl. histolyticum</i> 220	10	30	73,3	13,3	13,3	0
		38	30	63,3	16,6	20,6	0
		84	30	60,0	16,6	10,0	13,3

Objaśnienie: nb — nie badano (not examined).

oraz w jednym ze stosów kompostowych kontrolnych 3,3% w stosunku do *S. enteritidis* 639 w 10 dniu fermentacji.

Należy zaznaczyć, że odsetek szczepów promieniowców wykazujących własności antybiotyczne uzyskany w niniejszej pracy jest niższy w porównaniu z wynikami poprzedniej publikacji (5). Wydaje się, że wypływa to z faktu zastosowania w tej ostatniej drobnoustrojów testowych odznaczających się w większości przypadków silniejszą wrażliwością na liczne antybiotyki w stosunku do szczepów bakterii wykorzystanych w niniejszej pracy.

WNIOSKI

1. Odsetek szczepów promieniowców wykazujących własności antybiotyczne w stosunku do bakterii z rodzaju *Salmonella*, *Streptococcus*, *Clostridium* jest wyższy w stosach kompostowych z dodatkiem związków azotowych niż w stosach kontrolnych.

2. Badane szczepy promieniowców posiadają w większości przypadków słabe lub średnie własności antybiotyczne w stosunku do wybranych drobnoustrojów testowych.

3. Silną aktywność antybiotyczną wykazują badane szczepy promieniowców najczęściej w stosunku do *Cl. histolyticum* 220.

4. Antybiotyki produkowane przez promieniowce występujące w stosach kompostowych z dodatkiem związków azotowych i w stosach kontrolnych odgrywają niewątpliwie pewną rolę w procesie unieszkodliwiania drobnoustrojów chorobotwórczych w kompoście.

PIŚMIENNICTWO

1. Fuller J. E., Litsky W.: Sewage Industr. Wastes, 22, 853, 1950.
2. Keller P.: Publ. Hlth. Johannesburg, 15, 11, 1951.
3. Knoll K. H.: Die Auforderung der Hygiene bei Beseitigung städtischer Abfallstoffe. Städtehygiene, 12, 55—99, 1961.
4. Paszkiewicz A.: Poszukiwanie promieniowców antybiotycznych. Medycyna Doświadczalna i Mikrobiologia, 2, 177—186, 1955.
5. Przybojewska B.: Badania własności antybiotycznych promieniowców występujących w kompoście produkowanym z odpadków miejskich. Biuletyn Służby Sanitarno-Epidemiologicznej woj. katowickiego. 2/55, XII, 141, 148, 1969.

РЕЗЮМЕ

Определялись антибиотические свойства 420 штаммов актиномицетов, изолированных из компостных куч, содержащих азотные соединения, и из контрольных куч, по сравнению с бактериями рода *Salmonella*, *Streptococcus*, *Clostridium*.

Установлено, что процент актиномицетов, обладающих антибиотическими свойствами, по сравнению с так называемыми микробами, обычно выше в компостовых кучах, содержащих азотные удобрения. Кроме того, в этих кучах чаще, чем в контрольных, наблюдается присутствие штаммов актиномицетов, обладающих сильными антибиотическими свойствами.

SUMMARY

Determinations were made of the antibiotic properties of 420 strains of actinomycetes isolated from compost heaps with nitrogen compounds added and from control heaps, in relation to bacteria of the genera *Salmonella*, *Streptococcus* and *Clostridium*.

It was found that the percentage of actinomycetes with antibiotic properties in relation to the microorganisms mentioned above is on the whole higher in compost heaps with nitrogen compounds added, and that in these heaps actinomycete strains with strong antibiotic properties occur more often than in control heaps.