

Az aerob bacilusspórák csirázóképességének vizsgálata élelmezésegészségügyi szempontból

POLÓNYI PÁL ÉS SZÁNTHA JÁNOS
Országos Élelmezés és Táplálkozástudományi Intézet, Budapest

Érkezett: 1955. szeptember 20.

Újabb ismereteink szerint a saprophyták kártevése nemcsak az élelmiszerek élvezeti és biológiai értékcsökkentésében, valamint élvezhetetlenségig menő megromlásában nyilvánul meg, hanem ez a kártevő tevékenység egyben egészségromtó mérgeanyagok termelésével is jár. Az előbbi tevékenység főképpen népgazdasági, az utóbbi inkább egészségvédelmi szempontból bír jelentőséggel.

Táplálkozásegészségügyi szempontból a saprophyták káros tevékenységében két típust különböztetünk meg. A tevékenység okozhat érzékelhető, sőt élvezhetetlenségig menő elváltozást, mely esetben az undorkeltés, a fogyasztástól való tartózkodás folytán a saprophyták egészségkárosító szerepe eltörpül. Sokkal nagyobb jelentőségük van az érzékszervileg alig vagy egyáltalán fel nem ismerhető elváltozásoknak, amikor a saprophytáktól eredő mérgező bomlási és anyagcseretermékeket tartalmazó élelmiszerek gátlás nélküli fogyasztása egészségkárosodáshoz vezet. Ez utóbbi elváltozások előidézésében nagy szerep jut az aerob spórák bacilusoknak. Káros tevékenységük lehetőségét elősegíti a spórák hőtoleranciája. Élelmezésegészségügyi szempontból értékes fegyverünk, a hőhatás alkalmazása ezen mikroorganizmusok kártevése elleni harcban nem hozza meg a kívánt eredményt, mert az iparban alkalmazott hőhatás csak a spóráktól baktériumokat és a spórák baktériumok aktiv sejtjeit öli el, de nem pusztítja el a spórákat, hanem csupán azok csirázóképességét csökkenti, vagyis a hőhatásra belőlük csak bizonyos regenerálódási időtartam elteltével fejlődik ki az aktív bacilusejt.

Élelmezésegészségügyi szempontból fontos annak tanulmányozása, hogy élelmiszereinket milyen mértékben tudjuk megvédeni hőkezeléssel a saprophyta, főképpen a spórás bacilusok kártevésével szemben.

A mikrobiológiában általánosan ismert tény, hogy a mikroorganizmusok spóráképződését a kedvezőtlen életfeltételek indítják meg. A spóráképződés megindulásához elegendő egyetlen kedvezőtlen életfeltétel behatása is. A spóráképződés a mikroorganizmus életfenntartását szolgáló folyamat, vagyis a spóra a fajfenntartást szolgáló sajátos képződmény, mely nincsen kapcsolatban a szaporodással. A spóra rendeltetésének megfelelően a vegetatív baktériumsejtnél jóval nagyobb ellenállóképességgel rendelkezik a kedvezőtlen külső behatásokkal szemben, mint terméke, a baktériumsejt, avagy a baktériumsejt anyagcsere-terméke, illetve toxinja.

Élelmiszereink, ételeink készítésénél alkalmazott hőkezelés, mint spórásodást megindító tényező, nem jöhet szóba, mert annak intenzitása folytán az aktív baktériumsejt elpusztul és a rövid ideig (maximálisan 60 percig) tartó hőbehatás a spóráképzésre nem ad lehetőséget. Tehát hőkezeléssel készült élelmiszereinkben előforduló spórák eredetét más okban kell keresnünk. Elsősorban a felhasznált nyersanyagoknak (liszt, fűszerek, zöldség stb.) már fejlett spórákat tartalmazó baktériumokkal való szennyezettsége a spórák bejutásának oka. De a spórák magában az élelmiszerben is képződhetnek a baktériumsejtekből, ha azok a mikroorganizmusok szempontjából tartós kedvezőtlen behatásnak van kitéve. Ilyen spórásító behatás lehet a füstölés, a beszárítás, az aszalás, a sózás, a pácolás stb. Azt mondhatjuk tehát, hogy élelmiszereinkben előforduló baktériumspórák lehetnek exogének és endogének. Az eddigi fejtegetés alapján kártevés szempontjából az exogén spórák veszedelmesebbek, mint az endogének. Azonban az exogén spórák kicsírázásuk gátlása miatt sem jelentenek veszélyt, ha olyan élelmiszerekbe jutnak, melyek tulajdonságaiknál fogva (kevés víztartalom, alacsony pH, erős sókoncentráció stb.) gátolja kicsírázásukat. Viszont az endogén spórák is veszélyessé válhatnak, ha azokat tartalmazó élelmiszert (csokoládé, kolbász stb.) olyan ételek (krém, bableves, hideg büféáru stb.) készítésére használják fel, melyek tulajdonsága (nagyobb víztartalom, szöveti struktúra roncsolt állapotba stb.) a csírázásnak kedvez.

Annak felderítésére, hogy a baktériumspórák milyen szerepet játszanak élelmiszereink és ételeink megrontásában, vizsgálá-

latokat végeztünk a 602., 603., 604. sz. mesentericus és 75-os subtilis csoportba tartozó bacillusspórák csírázókétségének, illetve képességének megfigyelésére. Vizsgálati anyagul agartenyészetek spóráit használtuk fel. A spórák kifejlődéséről festett készítmény alapján győződünk meg. A kísérletekhez csak abban az esetben használtuk fel a spórákat, ha a mikroszkóp alatt a látóterben vegetatív pálcikákat nem találtunk. A spórákat ezután élettani konyhasóoldatban szuszpendáltuk és G 1-es üveg-szűrővel szűrtük a spórarögök szétválasztása céljából. A csírázás folyamatának szakaszait az időtartam függvényében húsleves-tenyészetek mikroszkópi vizsgálatával figyeltük meg.

Kísérleteink első részében hőkezeletlen virulens spórák csírázását vizsgáltuk. A vizsgálat eredményeit az I. táblázat szemlélteti.

I. táblázat.

Hőkezeletlen mesentericus és subtilis spórák csírázásának szakaszai

Az inkubálás időtar- tama percekben	V i z s g á l t t ö r z s e k			
	602	603	604	76
0	⊖	⊖	⊖	⊖
15	⊕	⊕	⊕	⊖
30	⊕	⊕	⊕	⊖
45	⊕	⊕	⊕	⊕
60	+	+	+	⊕
90	++	++	++	⊕
120	+++	+++	+++	⊕
150	+++	+++	+++	+
180	+++	+++	+++	++

Jelmagyarázat :

- ⊖ csíráatlan spórák jelenléte,
- ⊕ kezdődő csírázást mutató spórák jelenléte,
- + kifejlődött bacilusok megjelenése,
- ++ osztódó bacilusok megjelenése,
- +++ többszörösen osztódó bacilusok megjelenése.

A táblázatból látható, hogy a 602., 603., 604. sz. mesentericus törzsek spóráinál — optimális körülmények között — az első 15 perc után egyes spóráknál már megindult a csírázás. A csírázó egyedek 60 perc időtartam alatt teljesen kifejlődtek és sok esetben már osztódtak. A kifejlődött vegetatív egyedek zöménél

azonban az első osztódás 60—90 perc között zajlott le. A 76-os subtilis törzsnél a csírázás kezdete és a teljes kifejlődés szakasza az előbbi törzsekhez viszonyítva lényegesen elhúzódott. Megfigyelhető volt, hogy a csírázás csak 45 perces, a teljes kifejlődés pedig 150 perces inkubálás után következett be. A kifejlődött pálcikák zöme pedig csak 180 perc után osztódott. A megfigyelések eredményeként megállapítható továbbá, hogy ugyanazon törzs spóráinál a csírázás kezdete a megadott időnél később lepett fel. Így a mesentericus csoporthoz tartozó törzseknél még 120, a subtilis törzsnél 240 perc után is megfigyeltünk csírázást.

A fenti kísérlet eredményei élelmezésegészségügyi szempontból azt jelentik, hogy virulens mesentericus spórák bejutásától számítva az aktív sejt megjelenése folytán a bomlás már 1 óra után kezdetét veheti, míg subtilis spórák bejutásakor erre csak 2,5 óra múlva kerülhet sor. A vizsgálat folyamán megfigyelhettük azt is, hogy egy törzsen belül a spórák csírázóképesége az időtartam függvényében eltérő viselkedést mutatott a spórák különböző fejlettségű stádiumainak megfelelően. Tehát az inkubálási időtartam nagyságával egyenes arányban növekedett a csírázást mutató spórák száma.

A csírázóképeség és a tápanyag közötti összefüggést szemlélteti húslevesben és élettani konyhasóoldatban folytatott összehasonlító csíráztató kísérletünk. Ezen vizsgálatok eredményei szerint az élettani konyhasóoldatban a spórák 240 perces inkubálás után sem mutatták a csírázás jeleit. Csupán duzzadt alakot öltöttek. Ugyanakkor a húslevesben, a törzs sajátosságaitól függően, a csírázás rövidebb-hosszabb idő alatt bekövetkezett.

Kísérleteink második részében 100°-os hőhatással kezelt spórák csírázóképeségét vizsgáltuk. Ezen kísérleteknek eredményét a II. összesítő táblázat szemlélteti. A táblázat eredményeiből látható, hogy a 602., 603. és 604. sz. mesentericus törzsek spóráinál 15 perces hőkezelés után csak 8 órai inkubálás elteltével lehetett kifejlődött vegetatív egyedeket találni. A 76-os subtilis törzsnél ettől eltérő viselkedést tapasztaltunk, mert 15 perces hőkezelés alkalmazásakor a csírázás nem 8, hanem csak 10 órás inkubálás után kezdődött. Midőn a spórák számát, mely 10 és 40 millió között mozgott, tízszeresére emeltük és G 1-es üvegszűrőn a szuszpenziót nem szűrtük meg, azt tapasztaltuk, hogy a vegetatív alakká fejlődés 15 perces hőkezelés esetén már 5—6 óra múlva bekövetkezett. Azonban 5 óránál előbb optimális feltételek mellett sem volt csírázás megfigyelhető.

A 100 C°-os hőkezelés mesentericus és subtilis bacillusporák esírázását kísérletelő hatásának adatai

A esírázásig eltelt inkubációs órák száma	A h ő k e z e l é s i d ő t a r t a m a p e r c e k b e n																											
	0				15				30				45				60				120				180			
	v i z s g á l t t ö r z s e k																											
	602	603	604	76	602	603	604	76	602	603	604	76	602	603	604	76	602	603	604	76	602	603	604	76				
1	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
6	++	++	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
7	++	++	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
8	++	++	++	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
9	++	++	++	++	++	++	++	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
10	++	++	++	++	++	++	++	+	++	++	-	-	++	++	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-				
11	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	-	-	++	++	-	-	++	++	-	-	-	-	-	-				
12	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	-	+	++	++	+	+	++	++	-	-	-	-	-	-				
13	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	-	++	++	++	-	++	++	++	-	+	-	-	-	-				
14	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	-	++	++	++	-	++	++	++	-	+	-	-	-	-				
15	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	-	++	++	++	-	++	++	++	-	++	-	++	-	-				
16	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	-	++	++	++	-	++	++	++	-	++	-	++	-	-				
16—24	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	-	++	++	++	-	++	++	++	-	++	-	++	-	-				
240	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	-	++	++	++	-	++	++	++	-	++	-	++	-	-				

A hőkezelt, tehát csökkent virulenciájú spóráknál az aktív spórákhoz hasonlóan sem kezdődött egy időben a csírázás. A vizsgálatok során megfigyeltük, hogy a 602., 603., 604. sz. mesentericus törzsek spóráinál az első vegetatív egyedek megjelenését követő további 120 perc után, a 76-os subtilis törzs spóráinál pedig további 240 perces inkubálás után is lehetett újabb csírázó spórákat találni. Sőt a hőkezelt 602-es mesentericus törzs spóráival végzett kísérlet eredményei igazolják, hogy az első vegetatív egyedek megjelenését követő 10 órás, tehát az inkubálás kezdetétől számított 22 óra eltelte után is volt észlelhető csírásnak induló spóra.

Kísérleteinkben a hőkezeletlen spórák esetében a mesentericus törzseknél az irodalmi adatokkal [Mühlschlegel (1), Bunge (2), Preiss (3), Aujeszky (4), Fjodorov (5), Bergey (6)] közel megegyezőleg 60 perc alatt fejlődik ki az új osztódóképes, vegetatív egyed. A subtilis csoportba tartozó törzsnél az első vegetatív egyedek megjelenése nem 60, hanem 150 perc alatt következett be. Ebből a megfigyelésből azt a tanulságot vonhatjuk le, hogy táplálékainkba jutott hőkezeletlen, tehát virulens spórák esetében 60, illetve 150 perc elteltével számolhatunk a spórás aerob bacilusok kártevő tevékenységének megindulásával, mely azok biológiai és élvezeti értékének csökkentése mellett káros bomlási és anyagcseretermékek felhalmozódásához vezet. Ezen lehetőségek fennforgásával kell számolnunk a hideg büféárunknál és mindazon ételeknél, amelyek alkotórészeit nyersanyagok képezik.

Hőkezelt (inaktívált) spórák esetében 15 perces 100 C°-os hőkezelés a törzs természetétől függően 8, illetve 10 órával késlelteti a csírázás megindulását. A spórák számának növelése és spórarögök előfordulása esetén a csírázás már 5 óra múlva is bekövetkezhet. Ebből arra következtethetünk, hogy ételeink, melyekben előforduló spórák 15 percig tartó hőbehatásnak vannak kitéve, legkorábban csak 5 órai állás után indulhatnak romlásnak. 15 percnél hosszabb ideig tartó 100 C°-os hőbehatás fokozza a spórák inaktíválódását. Általánosságban azt tapasztaltuk, hogy az általunk vizsgált törzseknél minden 15 perces 100 C°-os hőkezelés 1 órai késést okozott a csírázásban.

Az irodalmi adatok [Schönberg (7), Kopplov (8), Meyer (9)] és saját tapasztalataink szerint gyakoribb a mesentericus baktériumoktól megrontott ételektől eredő mérgezések száma, mint a subtilis csoport tagjaitól eredőké. Ennek okát a fentiek sze-

rint a mesentericus spórák gyorsabb csírázóképeségével magyarázhatjuk.

ÖSSZEFOGLALÁS:

Optimális körülmények között a hőkezeletlen mesentericus spórák 15 perc után, míg a subtilis spórák 60 perc után indulnak csírázásnak. Az első osztódó vegetatív egyedeket a mesentericus spóráknál 60 perc, a subtilis spóráknál 150 perc eltelte után figyeltük meg. Hőkezelt spórák esetében 100 C°-os 15 percig tartó hőbehatás a mesentericus spórák csírázását 8, a subtilis spórák csírázását pedig 10 órával késlelteti. A hőbehatás tartama egyenes arányban késlelteti a spórák csírázását. A spóraszám emelkedésével és a spórarögök jelenlétében a 15 percig tartó 100 C°-os hőkezelés kisebb mértékben volt képes késleltetni a spórák csírázását és ennek következtében a csírázás már 5 óra után bekövetkezett. A mesentericus bacilusok spóráinak a subtilis spórákéknál gyorsabb csírázására vonatkozó észlelésünk a két válfaj elkülönítéséhez diagnosztikai célból felhasználható. Ugyanazon törzsön belül a spórák inkubációs időtartama nagy szórádást mutat.

П. Полонь: Исследование способности проростания спор аэробных бацилл с точки зрения гигиены питания

В оптимальных условиях споры „mesentericus” начинают прорастать без термообработки после 15 минут, а споры „subtilis” после 60 минут. Появление первых отделившихся вегетативных самостоятельных клеток можно наблюдать после истечения 60 минут у спор „mesentericus”, а у спор „subtilis”, после истечения 150 минут.

После термообработки при 100° С в течении 15 минут, прорастание спор „mesentericus” замедляется до 8, а спор „subtilis” до 10 часов. Срок термообработки прямо пропорционально замедлению проростания спор. Если число спор больше и споры находятся в группах, термообработка при 100° С в течении 15 минут замедляет проростание в меньшей мере и поэтому проростание начинается уже после 5 часов.

Различие в скорости проростания спор „mesentericus” и „subtilis” можно применить при разделении этих видов. — Срок инкубации спор для одного и того же штамма дает большие отклонения.

P. Polónyi: Untersuchung der Keimungsfähigkeit der aeroben Bazillensporen von ernährungshygienischem Gesichtspunkte.

Unter optimalen Umständen fangen die mit Hitze nicht behandelten Mesentericussporen nach 15. Minuten, die Subtilissporen nach 60 Minuten an zu keimen. Die ersten sich teilenden vegetativen Individuen beobachteten wir bei den Mesentericussporen nach Ablauf von 60 Minuten, bei den Subtilissporen nach 150 Minuten. Im Falle mit Hitze behandelter Sporen verzögert eine Hitzeeinwirkung von 15 Minuten auf 100 C° die Keimung der Mesentericussporen um 8, diejenige der Subtilissporen um 10 Stunden. Die Dauer der Hitzeeinwirkung hält die Keimung der Sporen in geradem Verhältnis auf. Mit der Erhöhung der Sporenzahl und in Gegenwart von Sporenklumpen war eine 10 Minuten lange Hitzebehandlung auf 100 C° in geringem Masse imstande die Keimung der Sporen aufzuhalten.

ten, infolgedessen erfolgte die Keimung bereits nach 5 Stunden. Unsere Beobachtung über die schnellere Keimung der Sporen von *Bacillus mesentericus* im Vergleich zu den Subtilissporen kann bei der Absonderung der beiden Abarten zu diagnostischen Zwecken verwendet werden. Innerhalb desselben Stammes weist die Inkubationszeit der Sporen grosse Verschiedenheiten auf.

IRODALOM:

- (1) Hivatkozás: Kolle—Kraus—Uhlenhut: Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, I. 1929.
- (2) Hivatkozás: Kolle—Kraus—Uhlenhut: Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, I. 1929.
- (3) Hivatkozás: Kolle—Kraus—Uhlenhut: Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, I. 1929.
- (4) *Aujeszky A.*: Általános bakteriológia, 1924.
- (5) *V. M. Fjodorov*: Mikrobiologia, 1951.
- (6) *Bergey*: Manuel of determinative Bakteriology, 1948.
- (7) *F. Schönberg*: Zbl. Bakt. I. Ref. 156, 1/3—8, 1955.
- (8) *E. Kopplov*: Zbl. Bakt. I. Ref. 156, 1/3—8, 1955.
- (9) *R. Meyer*: Zbl. Bakt. I. Ref. 1/3—33., 1955.