

## **Escherichia coli kao indikator higijenskih uslova u proizvodnji mleka (*Escherichia Coli* as an Indicator of Hygienic Conditions in Milk Production)**

Dr. Ivanka OTENHAJMER, Veterinarski i mlekarSKI institut  
Zavod za mlekarstvo, Novi Beograd

Izvorni znanstveni rad — Original Scientific Paper  
Prispjelo: 1. 12. 1988.

UDK: 637.579.678

### *Sažetak*

Istraživani su odnosi između načina proizvodnje i obrade mleka i nalaza *E. coli*, koja je ovde korišćena kao indikator-mikroorganizam higijene mleka. Dokazano je da je nalaz *E. coli* u 0,001 ml (Pravilnik o uslovima u pogledu mikrobiološke ispravnosti kojima moraju odgovarati životne namirnice u prometu, Sl. list SFRJ, br. 45/83), pri ručnoj muži bio pozitivan u 6,81% uzoraka, dok je pri mašinskoj iznosio 88,6%. Ovakvi podaci pokazuju da se mašine za mužu nepravilno održavaju, što omogućava implantaciju *E. coli* i kontaminaciju mleka tim mikroorganizmom.

Pri čuvanju mleka u kantama znatno manje je uzoraka u kojima je dokazana *E. coli* (19,81%) nego u bazenima gde je taj procenat prosečno iznosio 43,36%, a dostizao i 94,42% od ukupno pregledanih uzoraka mleka. Međutim, pošto je u nekim regionima procenat kontaminiranih uzoraka bio znatno manji (11,36%) proizlazi da savesnost ljudi pri obradi mleka bitno utiče na nalaz *E. coli*.

Istraživanjima mleka na rampi mlekaru dokazano je da 61,28% uzoraku sadrže *E. coli*. Porast kontaminacije mleka *E. coli* od staje do mlekaru pokazuje da se negativni uticaji na mleko superponiraju i da su oni uglavnom posledica nesavesnog rada. Nizak procenat kontaminiranih uzoraka (34,53%) utvrđen je u vremenskom periodu kada je pojačan stručni rad s proizvođačima mleka.

Upoređivanjem nalaza *E. coli* u mleku u različitim sezonama godine i u različitim geografskim područjima (brdsko-planinsko i ravničarsko) nije dokazano da ti činioci bitnije utiču na nalaz *E. coli* i higijensku ispravnost mleka.

Istraživanjem termorezistencije *E. coli* dokazano je da oko 7,0% sojeva preživi pasterizaciju, iz čega proizlazi da nalaz u pasterizovanom mleku može da zavisi od nivoa kontaminacije sirovog mleka.

### *Summary*

A relation between a method of production and treatment of milk and the incidence of *E. coli* being used as the indicator organism of hygienic quality of milk was studied. *E. coli* was tested in 0.001 ml of milk; when hand mil-

king was applied, it was found in 6.81% of samples, when machine milking was used, it amounted to 88.6%. It was suggested that the improper maintenance of milking machines enabled the implantation of *E. coli* and contamination of milk with this organism.

During milk storage in cans a lesser number of samples was *E. coli* positive (19.81%) than in milk kept in basins where the incidence of *E. coli* averaged to 43.36% and amounted up to 94.42% in relation to the total number of tested samples. Since the incidence of contaminated samples in some regions was significantly lower (11.36%), however, it is suggested that the conscience of people during milk treatment plays a significant role in regard to the total number of *E. coli*.

Of the milk samples taken at the dairy gate, 61.28% contained *E. coli*. Increased milk contamination with *E. coli* from the stable to dairy showed the accumulation of negative effects to milk and its possible dependance on the irregular methods applied in milk production. A low percentage of *E. coli* contaminated samples (34.53%) was established in the periods when milk producers were given more intensive instructions in regard to the adequate procedures to be applied in milk treatment. When the number of *E. coli* was compared during various seasons of the year and in different geographical regions (hilly versus plain regions), no proof could be found suggesting a significant effect of these factors to the isolation of *E. coli* and hygienic quality of milk.

A study of *E. coli* thermoresistancy showed that 7.0% of strains survived the pasteurization process suggesting a dependance of the results obtained in pasteurized milk upon a contamination level in raw milk.

## Uvod

Mikroorganizmi u mleku potiču iz mlečne žlezde ili iz spoljne sredine, tj. imaju endogeno i egzogeno poreklo (Richard, 1987). Ukoliko pripadaju patogenim vrstama, a najčešće su to mikroorganizmi endogenog porekla, tada mleko predstavlja put za prenošenje raznih bolesti sa životinja na ljude (Gleidel, 1987). Znatan deo mikroorganizama svojim metabolitima izaziva alteracije mleka usled kojih se mleko kvari (Tourneur, 1987). Iznesena grupa mikroorganizama mleka potiče uglavnom iz spoljne sredine i njihov broj u mleku pokazuje pod kakvim uslovima je mleko proizvedeno ili čuvano (Piton i Richard, 1982). Ti se mikroorganizmi nazivaju indikatorima higijenskih uslova proizvodnje hrane. Među njima se *Escherichia coli* smatra tipičnim predstavnikom (Chatelin i Richard, 1981).

*Escherichia coli* ređe izaziva oboljenja mlečne žlezde, pa je stoga izuzetno endogenog porekla. Obično se smatra indikatorom fekalne kontaminacije mleka, jer se izlučuje preko digestivnog trakta u spoljnu sredinu u kojoj se dobro održava, pa čak i razmnožava (Richard i Braquehay, 1985). To omogućava masovnu kontaktnu kontaminaciju mleka pri muži i obradi. *E. coli* ima veoma dobre fermentativne sisteme, što joj omogućava intenzivno razmnožavanje u mleku i proizvodima od mleka. Implantira se i na mljekarskoj

opremi usled čega kontaminacija mleka nastaje i pri zatvorenim sistemima muže i obrade mleka (Richard, 1983).

*Escherichia coli* se u našim propisima, kao i u mnogim stranima, koristi kao osnova u proceni bakteriološke ispravnosti namirnica. Ta odredba kod nas često stvara velike probleme mlekerskoj industriji zbog visokog procenta kontaminacije mleka i proizvoda od mleka *E. coli*. Stoga smo odlučili da istražimo kako uslovi manipulacije mlekom do mlekare utiču na nivo kontaminacije mleka *E. coli*. Cilj tih istraživanja je da se ukaže na propuste u proizvodnji mleka koji uslovljavaju higijensku neispravnost mleka i mogućnost da se takvo stanje ispravlja.

### Materijal i metode istraživanja

Kao materijal korišćeno je mleko pojedinih četvrti vimena krava, zatim zbirno mleko pojedinih proizvođača iz kanti uzeto na mestu proizvodnje i na sabirnim, odnosno otkupnim stanicama, zbirno mleko iz bazena na sabirnim stanicama i mleko iz cisterni za transport, pri prijemu mleka u mlekarama.

Dokazivanje *E. coli* u mleku rađeno je metodama propisanim Pravilnikom o metodama vršenja mikrobioloških analiza i superanaliza životnih namirnica (»Sl. list SFRJ«, br. 35/80), a procena nalaza *E. coli* na osnovu Pravilnika o uslovima u pogledu mikrobiološke ispravnosti kojima moraju odgovarati životne namirnice u prometu (»Sl. list SFRJ« br. 45/83).

### Rezultati istraživanja i diskusija

Da bismo ocenili nivo kontaminacije mleka endogenog porekla istražili smo mleko pojedinih četvrti vimena krava s četiri farme društvenog sektora. Rezultati su prikazani na tablici 1.

**Tablica 1. Nalaz *E. coli* u vimenu krava**  
**Table 1. *E. coli* Levels in Cow's Udder**

Broj krava	Broj četvrti	Nalaz	
		Broj	Escherichia coli ‰
229	916	0	0

Na osnovu rezultata prikazanih u prethodnoj tablici utvrđeno je da vime krava na predstavlja važniji izvor kontaminacije mleka *E. coli*, što ne isključuje mogućnost da se u ređim slučajevima izlučuje iz vimena.

Analizom odnosa kontaminacije mleka *E. coli* i uslova proizvodnje i obrade mleka do mlekare (tablica 2) ustanovili smo da je kontaminacija *E. coli* pri mašinskoj muži znatno veća nego pri ručnoj. Tačnost takvih podataka potvrđuje činjenica da su istraživanja ponavljana 6 uzastopnih godina i da se stanje nije bitno menjalo. Iz tog proizlazi zaključak da je higijensko stanje opreme za mašinsku mužu slabo i da je neophodna stručna saradnja s proizvođačima mleka koji koriste mašinsku mužu.

Tablica 2. Analiza odnosa kontaminacije mleka E. coli i uslova proizvodnje i obrade mleka  
 Table 2. Analysis of relations between E. coli contamination levels in milk conditions of milk production and treatment

Godina Year	Uzorci s E. coli (+)		Način muže Manner of milking				Način obrade Manner of milk treatment				Prijemna ramba mlekare Collection point at the dairy				
	Broj pretrađenih uzoraka Number of tested samples	Eroj N <sup>o</sup>	ručna hand milking		mašinska machine milking		kante cans		sabirni bazen collection basins		Broj pretr. uzoraka N <sup>o</sup> of tested samples	Broj pretr. uzoraka N <sup>o</sup> of tested samples			
			(+)	%	(+)	%	(+)	%	(+)	%					
1979.	260	108	49	3	6,12	106	21	19,81	44	5	11,36	105	84	80,00	
1980.	343	65	160	12	7,5				12	7	58,3	139	48	34,53	
1981.	206	122	59,22	23	0	88	72	81,31				83	43	51,80	
1982.	212	152	71,69	40	6	15,0	89	84	94,38	28	27	94,42	83	62	74,69
1983.	106	67	63,20	36	0	0	16	15	93,75	11	6	54,0	26	25	96,15
1984.	27	21	77,77									16	15	93,75	
UKUPNO:	1154	535	46,36	308	21	6,81	193	171	88,60	106	21	19,81	95	45	43,36
													452	277	61,29

(+) E. coli izolovana iz 0,001 ml mleka  
 E. coli isolated from 0,001 ml of milk

Upoređivanjem sadržaja *E. coli* u zbirnom mleku iz kanti i sabirnih bazena ispoljilo se da je u sabirnim bazenima kontaminiranost *E. coli* varirala od 11,36% do 94,42% uzoraka. U mleku iz kanti procenat kontaminiranih uzoraka je varirao od 12,9% do 47,05%, a prosečno je iznosio 19,81%. Takvi podaci pokazuju da sabiranje mleka od većeg broja proizvođača, kakav je slučaj sa sabirnim bazenima, stvara i veći rizik od kontaminacije mleka *E. coli*. Međutim, podatak da je u nekim regionima dokazan mali broj uzoraka uzetih iz sabirnih bazena u kojima je dokazana *E. coli* upućuje na zaključak da se pravilnom obradom mleka može da spreči nedozvoljeni broj *E. coli*.

Vidni porast procenta kontaminiranih uzoraka *E. coli* na rampi mlekara služi kao dokaz da transport mleka pogoršava higijensko stanje mleka. Nepovoljan uticaj transporta potvrđuju podaci kad je i pored zadovoljavajućih uslova u proizvodnji i prijemu na sabirnom mestu procenat higijenski neispravnih uzoraka na rampi mlekare iznosio 80,0% (1979. g.). Da se odgovarajućim higijenskim merama može postići pozitivan uticaj na higijensko stanje mleka pokazali su podaci iz 1980. g., kad je nivo kontaminiranih uzoraka *E. coli* na prijemnoj rampi iznosio samo 34,53%. Uticaj pouka datih proizvođačima u toj godini pozitivno se odrazio na mleko pri prijemu u mlekari. Međutim, već narednih godina kada, iz objektivnih razloga, nije održavan kontinuitet u toj saradnji, došlo je do porasta higijenski neispravnih uzoraka, tj. onih koji su sadržavali *E. coli* u nedozvoljenom broju. Ulogu higijene i pravilne obrade mleka potvrđuje i negativan nalaz *E. coli* u uzorcima uzetim s rampe tri mlekare (tablica 5). Da bismo bolje proanalizirali uticaj nehigijenskih uslova manipulacije mlekom na nivo kontaminacije mikroorganizmima, istraživali smo zastupljenost *E. coli* u mleku u različitim godišnjim intervalima, tj. u zimskim odnosno letnjim mesecima. Te podatke iznosimo u tablicama 3—5.

**Tablica 3. Odnos načina muže i kontaminacije mleka sa *E. coli* u ‰**  
**Table 3. Relation between the manner of milking and *E. coli* contamination levels in milk (‰)**

Godišne doba Season	Područje Region	Način muže Manner of milking												
		Ručna Hand milking						Mašinska Machine milking						
		1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6
Leto Summer	Ravnica Plain	13,88	16,66	30,0	0	0			100	0	100	0	87,5	100
	Planina Mountain	0	0	16,16	0	0	2,94	0						
Zima Winter	Ravnica Plain	30	0						87,87	0	88,63		100	
	Planina Mountain	0												

Iz tabelarnog prikaza nivoa kontaminacije mleka *E. coli* pri različitim načinima proizvodnje i obrade mleka (tablica 3) vidi se da je nivo kontaminacije viši pri mašinskoj muži bez obzira na činioce uzete u razmatranje. Pri ručnoj muži kontaminacija je po pravilu niža, a varijacije uglavnom nisu zavisile od godišnjeg doba niti geografskih uslova, što navodi na zaključak da sanitacija mlekarske opreme ima prioritetni uticaj na higijensku ispravnost mleka.

**Tablica 4. Način obrade mleka i kontaminacija *E. coli* u ‰**  
**Table 4. Manner of milk treatment and *E. coli* contamination levels in milk ‰**

Godišnje doba Season	Područje Region	Način obrade Manner of milk treatment							
		Kante Cans			Proizvođač Milk producer				Bazeni Basins
		1	2	3	1	2	3	4	5
Leto Summer	Ravnica Plain	22,72	47,05	40,0	83,33	100	100	100	40,0
	Planina Mountain	22,72	47,05	40,0	0	5	40,0		
Zima Winter	Ravnica Plain				66,6	0	100		
	Planina Mountain	12,9	0		19,04				

Varijacije u nivoima kontaminacije *E. coli* mleka u kantama i bazenima (tablica 4) takođe nisu bile uslovljene sezonskim niti geografskim razlikama, što potvrđuje prethodni zaključak da je higijensko stanje mleka odraz postupka s njim i da higijenski neispravno mleko predstavlja posledicu niza propusta ljudi koji u manipulaciji s mlekom učestvuju, što se slaže s navodima Maubois i Bertrand (1987.) i drugih.

Najbolju sliku o posledicama propusta u manipulacijama s mlekom pokazuju rezultati s rampe mlekaru.

Varijacije procenata kontaminiranih uzoraka od 0% do 100% nezavisno od godišnjeg doba i geografskih uslova pokazuju da bakteriološki kvalitet mleka pri prijemu u mlekari ne zavisi samo od proizvođača, već od niza uslova kojima se mleko podvrgava od proizvođača do mlekare. Stoga Auclair i Lenoir (1987), Law (1979) i Mourges, Vassal, Auclair (1967) ističu značaj hlađenja mleka u toku transporta do mlekare, ograničavanje vremena čuvanja mleka pri niskim temperaturama, čišćenje i dezinfekciju mlekarske opreme za sabiranje i transport mleka. Autori navode da svi ti postupci moraju da budu komplementarni, i da svi učesnici u tom procesu snose odgovornost za zdravstvene i ekonomske posledice nehigijenske proizvodnje mleka.

Naši rezultati istraživanja termorezistencije *E. coli* pokazuju značaj nivoa kontaminacije sirovog mleka *E. coli* na nalaz *E. coli* u pasterizovanom mleku. Iz tablice 6. vidi se da 7,14% sojeva *E. coli* preživljava pasterizaciju i da njih-

Tablica 5. Nalaz E. coli u mleku na rampi mlekare u %  
Table 5. E. coli levels in milk at the dairy gate (%)

Godišne doba	M L E K A R A														
	Dairy														
Season	P R O I Z V O Đ A Ć														
	Milk producer														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Leto	100	100	0	21,42	100	100	100	0	100	100	100	100	100	100	85,71
Summer	100	100	85,70	42,85	85,70	100									
Zima	39,28	45,71	57,14	78,57	100	100	82,75	100	100	100	0	100			
Winter	33,33	30,76	71,42	8,33	100	100									

Tablica 6. Uticaj pasterezacije (63° C 30 min.) i dužine inkubacije na preživljavanj  
E. coli u mleku

Table 6. Effect of pasteurization (63° C during 30 min) and incubation duration on E. coli survival in milk

Broj sojeva	Početni broj E. coli	Pozitivan porast posle inkubacije Positive growth after incubation	
		24 h	48 h
Strain count	Initial count of E. coli	Broj N <sub>2</sub>	Broj N <sub>2</sub>
		%	%
28	$2,5 \times 10^5$	—	2
		—	7,14

va reanimacija nastaje u toku 48 časova. Proizlazi da pri višoj kontaminaciji sirovog mleka postoji i viši nivo razlika za pasterizovano mleko, što se slaže s navodima Yang i Jones (1969), Read, Schwartz, Litsky (1961), Litsky, Vacchionacce, Bassette i Metha (1979) da koncentracija bakterijskih ćelija utiče na vreme njihove termalne destrukcije.

### Zaključci

1. *Escherichia coli* pripada grupi mikroorganizama indikatora higijenskih uslova proizvodnje mleka. Nalaz *E. coli* u mleku pri prijemu u mlekarama kre-  
tao se od 0 do 100% uzoraka, što pokazuje razlike u higijenskim uslovima pro-  
izvodnje i obrade mleka do mlekare.

2. Ispoljen je viši stepen kontaminacije mleka *E. coli* pri mašinskoj muži nego pri ručnoj.

3. Dokazan je veći broj uzoraka mleka kontaminiranih *E. coli* iz bazena za sabiranje mleka (43,36%), nego iz kanti (19,81%), što pokazuje propuste pri obradi mleka u bazenima.

4. Nije dokazan bitniji uticaj niskih spoljnih temperatura i geografskih razlika na nivo kontaminacije mleka *E. coli*, iz čega proizlazi da su nehigijenski uslovi pri muži i obradi mleka značajan uzrok higijenske nesipravnosti mleka.

### Literatura

- AUCLAIR, J. (1987): Le lait matière première de l'industrie laitière. CEPIL-INRA Publication (Institut national de la Recherche agronomique), Paris, 231—239.
- AUCLAIR, J., LENOIR, J. (1980): Génie rural, Mai 11—15.
- BERTRAND, F. (1987): Le lait matière première de l'industrie laitière. CEPIL-INRA Publication (Institut national de la Recherche agronomique), Paris, 281—296.
- CHATELIN, Y. M., RICHARD, J. (1981): *Lait* 61, 80—94.
- GLEDEL, J. (1987): Le lait matière première de l'industrie laitière. CEPIL-INRA, Paris, 213—221.
- LAW, B. A. (1979): *J. Dairy Res.* 46, 573—558.
- MAUBOIS, J. L. (1987): Le Lait matière première de l'industrie laitière. CEPIL-INRA, Paris, 275—280.
- MOURGUES, R., VASSAL, L., AUCLAIR, J. (1976): 12-ème Congrès Intern. Froid.
- PITON, C., RICHARD, J. (1982): *Lait* 62, 67—74.
- READ, R. B., JR. C. SCHWARTZ, W. LITSKY (1961): *Appl. Microbiol.* 9, 415.
- RICHARD, J. (1983): *Lait* 63, 148—170.
- RICHARD, J., BRAQUEHAYE, C. (1985): *Sci. Aliments* 5, HS 4, 21—24.
- RICHARD, J. (1987): Le Lait matière première de l'industrie laitière. CEPIL-INRA, Paris, 186—191.
- TOURNEUR COLETT (1987): Le lait matière première de l'industrie laitière. CEPIL-INRA, Paris, 192—200.
- VECCHIONACCE, R., BASSETTE, R. A., METHA, R. S. (1978): *J. Dairy Sci.* 61, 1704—1708.
- YANG, H., JONES (1969): *J. Milk and Food Technol.* 32, 102.