

## BAKTERIOLOŠKA KAKVOĆA I KOLIČINA SOMATSKIH STANICA U MLIJEKU STADA OVACA U OKOLICI POREČA U TOKU JEDNE LAKTACIJE

Doc. dr Mirza HADŽIOSMANOVIĆ, Darinka PRANJIĆ, dipl. vet., prof. dr Josip ŽIVKOVIĆ, prof. dr Krešimir MIKULEC, doc. dr Ivo KARADOLE — svi iz Veterinarskog fakulteta u Zagrebu; dr Berislav MAJIĆ, znanstveni suradnik, Veterinarski institut u Zagrebu.

### Sažetak

*Autori su pratili bakteriološku kakvoću i količinu somatskih stanica u mlijeku 10 ovaca iz stada križanih domaćih i sardinijskih ovaca u F<sub>1</sub> generaciji što se na ekstenzivan način drže u okolici Poreča. U toku pet mjeseci (od ožujka do srpnja), tj. od početka pa do kraja laktacije ustanovili su prekomjeran broj (> 3.000.000/ml) aerobnih mezofilnih bakterija u 86% uzoraka mlijeka, sulfitreduktivne bakterije u 33% uzoraka, vrste roda PROTEUS u 31%, vrstu ESCHERICHIA COLI u 23% i koagulaza-pozitivne stafilokoke u 6% uzoraka, dok salmonelle nisu utvrđene nijednom. Povećan broj stanica u odnosu na mjera koja vrijede za kravlje mlijeko (manje od 500.000/ml) nađen je u 8 uzoraka mlijeka koje je potjecalo od 6 ovaca.*

### Uvod

Iako se u nas ovčje mlijeko od pamtvjeka troši za prehranu ljudi, posebice u brdsko-planinskim krajevima, ili služi za proizvodnju sira, još je uvijek u našoj stručnoj literaturi malo podataka o njegovim osebina. Posebno se to odnosi na SR Hrvatsku, gdje gotovo da i nema značajnijih istraživanja o dobivanju, sastavu i iskorištavanju ovčjeg mlijeka. Pogotovo nema podataka o bakteriološkoj kakvoći ni količini stanica u ovčjem mlijeku.

U literaturi se posljednjih godina sve više ističe, da su ovčji sirevi čest uzrok otrovanja ljudi i to posebice zbog onečišćenosti enterotoksičnim stafilokokima. Pretpostavka da je ovčje mlijeko vrlo loše bakteriološke kakvoće potkrepljuje i činjenica da se ono dobiva u vrlo nečistim uvjetima mužnje u kojima je gotovo nemoguće provesti najosnovnije mjere higijene.

Prema Skvorcovu (1943.) pri nehigijenskim uvjetima dobivanja ovčje mlijeko odmah nakon mužnje sadrži 650.000 do 1.850.000 živih bakterija u 1 ml. Do prerade ta se količina bakterija u mlijeku poveća na 18 do 68 milijuna u 1 ml. Tada, prema navodima autora, ovčje mlijeko sadrži više od 600.000 enterobakterija u 1 ml. Skvorcov drži da je to razlog brzom kvarenju ovčjeg mlijeka i njegovoj slaboj održljivosti.

Broj živih bakterija u istraživanjima Fileva (1967.) u prvim mlazevima ovčjeg mlijeka koleba od 10.000 do 70.000/ml, mlazevima sredinom podoja od 20.000 do 36.000/ml i u posljednjim mlazevima od 0 do 18.000/ml. Normalna mikroflora aseptički uzetog ovčjeg mlijeka sastoji se, prema njegovim istraživanjima, gotovo isključivo od bakterija pripadnika porodice *Micrococcaceae*. Od

360 izdvojenih sojeva autor je ustanovio 174 soja mikrokoka, 152 soja vrste *Staphylococcus epidermidis*, 7 sojeva vrste *S. aureus*. U prvim i posljednjim mlazevima mlijeka prevladavali su mikrokoki (52,94% odnosno 76,81%), potom stafilokoki (32,42% odnosno 12,49%) i enterokoki 14,64% odnosno 10,70%). *S. aureus* najčešće se nalazio u prvim mlazevima ovčjeg mlijeka.

Istražujući kakvoću lečevičkog sira, što se proizvodi u P.Z. Lečevica kraj Splita, Bubić (1981.) navodi da se ukupni broj živih bakterija u njegovim uzorcima kretao od 1.100.000 do 6.000.000/ml. U svim uzorcima ovčjeg mlijeka autor je nalazio koagulaza-pozitivne stafilokoke i vrste roda *Proteus*, a u više od 50% uzoraka vrstu *Escherichia coli* u količinama što su ih dopuštali tadašnji propisi.

Obzirom na navedene podatke i mi smo se u ovom radu prihvatili zadatka da istražimo bakteriološku kakvoću ovčjeg mlijeka. Za to istraživanje odabrali smo stado križane domaće istarske i sardinijske ovce u F<sub>1</sub> generaciji što ga na ekstenzivan način drže u okolici Poreča radi proizvodnje ovčjeg sira. Bakteriološku kakvoću ovčjeg mlijeka pratili smo tijekom 5 mjeseci (od ožujka do srpnja god. 1983.), tj. od početka pa do završetka laktacije. Osim toga pratili smo promjene u kakvoći mlijeka koje nastaju kao posljedica upalnih promjena mliječne žlijezde određivanjem ukupnog broja stanica u mlijeku.

### Materijal i metode rada

Uzorke mlijeka za bakteriološku pretragu uzimali smo jednom na mjesec iz pripremljenih muzilica nakon potpunog ručnog izmuzivanja vimena svake pojedine ovce. Mlijeko smo promiješali mješalicom i potom prelijevali u sterilne bočice od 50 ml. Bočice, napunjene mlijekom, spremali smo u prenosni hladionik, a mlijeko bakteriološki pretraživali najkasnije 24 sata nakon uzimanja, postupcima što ih za kravlje mlijeko propisuje Pravilnik o načinu obavljanja mikrobioloških analiza i superanaliza namirnica (PMA) (Sl. list SFRJ 25/80), a zabilježene rezultate protumačili prema čl. 4 i 18 (u svezi s čl. 2) Pravilnika o uvjetima u pogledu mikrobiološke ispravnosti kojima moraju udovoljavati namirnice u prometu (PMI) (Sl. list SFRJ 45/83).

Uzorke mlijeka za određivanje broja stanica uzimali smo također iz promiješanog mlijeka u bočice od 50 ml u koje smo prije toga dodali po 0,2 ml zasićene otopine kalijeva bikromata. Ukupan broj stanica u ovčjem mlijeku određivali smo fluorescentno-optičkoelektronskim postupkom u aparatu Fossmatic tvrtke »Fos-electric« Danmark, a zabilježene rezultate protumačili smo prema uputama za rad s mastitis reagensom za prosudbu poremećene sekrecije vimena krava.

Ukupno smo pretražili 50 uzoraka mlijeka pomuzenog od 10 ovaca.

### Rezultati i razmatranje

U tablici 1. prikazani su naši rezultati određivanja broja živih bakterija u ovčjem mlijeku tijekom laktacije u trajanju od 5 mjeseci. Očito je da je početna onečišćenost ovčjeg mlijeka aerobnim mezofilnim bakterijama vrlo jaka; koлебala je u mjesečnom prosjeku od 15.000.000 do više od 1 milijarde u 1 ml. Od ukupno 48 pretraženih uzoraka ovčjeg mlijeka samo 7 (14%) uzoraka zado-

Tablica 1

Prikaz rezultata određivanja broja živih bakterija u ovcjem mlijeku malog stada ovaca tijekom jedne laktacije u godini 1983. (30° C/48 sati)

| Redni broj ovce | Broj aerobnih mezofilnih bakterija u 1 ml mlijeka (prema mjesecu laktacije) |                   |                     |                   |                   |          |
|-----------------|---|-------------------|---------------------|-------------------|-------------------|----------|
|                 | ožujak  | travanj           | svibanj             | lipanj            | srpanj            |          |
| 1.              | →   | $1 \times 10^6$   | $8 \times 10^7$     | $> 10^9$          | $1,2 \times 10^7$ | $> 10^9$ |
| 2.              |   | $3,2 \times 10^7$ | $9 \times 10^7$     | $> 10^9$          | $3,4 \times 10^7$ | $> 10^9$ |
| 3.              |   | —                 | $1,8 \times 10^7$   | $> 10^9$          | $8,9 \times 10^7$ | $> 10^9$ |
| 4.              | →   | $1 \times 10^6$   | $1,7 \times 10^8$   | $> 10^9$          | $2,5 \times 10^7$ | $> 10^9$ |
| 5.              | →   | $1 \times 10^6$   | → $2,6 \times 10^6$ | $> 10^9$          | $2 \times 10^7$   | $> 10^9$ |
| 6.              |   | $6,8 \times 10^7$ | → $1 \times 10^6$   | $> 10^9$          | $5 \times 10^6$   | $> 10^9$ |
| 7.              | →   | $1 \times 10^6$   | $1,5 \times 10^8$   | $> 10^9$          | $1,2 \times 10^8$ | $> 10^9$ |
| 8.              | →   | $3 \times 10^6$   | $1,5 \times 10^8$   | $> 10^9$          | $2,8 \times 10^8$ | $> 10^9$ |
| 9.              |   | —                 | $2,4 \times 10^7$   | $1,3 \times 10^8$ | $9 \times 10^7$   | $> 10^9$ |
| 10.             |   | $1,4 \times 10^7$ | $5,6 \times 10^6$   | $> 10^9$          | $5 \times 10^8$   | $> 10^9$ |
| U pro-sjeku     |   | $1,5 \times 10^7$ | $6,9 \times 10^7$   | $> 10^9$          | $1,9 \times 10^8$ | $> 10^9$ |

— = uzorci mlijeka nijesu bakteriološki pretraženi; → uzorci zadovoljavaju odredbe Pravilnika o uvjetima u pogledu mikro-biološke ispravnosti kojima moraju udovoljavati namirnice u prometu (1983) za bakterio'ošku kakvoću kravljeg mlijeka ( $< 3.000.000/\text{ml}$ ).

voljilo je odredbe čl. 18 PMI-a koje se u tom pogledu odnose na kravlje mlijeko (manje od 3.000.000 bakterija u 1 ml).

Naši rezultati broja živih bakterija u ovčjem mlijeku u toku prva dva mjeseca laktacije podudaraju se s onima u radu Skvorcova (1943.), dok su u posljednja tri mjeseca znatno viši od onih u navedenog autora. Onečišćenost ovčjeg mlijeka bakterijama u našim istraživanjima također je znatno veća od one što ju je zabilježio Bubić (1981.).

Od specifičnih i nespecifičnih bakterija koje izazivaju otrovanje ljudi i koje obuhvaća PMI (tablica 2.) najčešće su bili zastupljeni u pretraženim uzorcima ovčjeg mlijeka sulfitoreduktivni klostridiji i vrste roda *Proteus* (33% odnosno 31%), pa zatim *E. coli* (23%), a najrjeđe koagulaza-pozitivni stafilokoki (6%) u prekoračenim količinama, što ih ne dopuštaju odredbe navedenog Pravilnika. Jedino nismo našli *Salmonelle* u propisanoj količini od 25 ml mlijeka. Prikazani rezultati u skladu su s istraživanjima Bubića (1981.) kao i očiglednom činjenicom o jakoj onečišćenosti ovčjeg mlijeka specifičnim i nespecifičnim bakterijama koje izazivaju otrovanja ljudi.

Prema broju stanica zadovoljilo je 42 (84%) od ukupno 50 pretraženih uzoraka ovčjeg mlijeka (tablica 3) zakonske odredbe koje se u tom pogledu odnose na kravlje mlijeko (manje od 500.000 u ml). Upadljiv je vrlo velik raspon u broju staničnih elemenata koji se kreće od 7.000 pa čak do 6.132.000 u 1 ml mlijeka. Nadalje, količina stanica (s iznimkom od 8 uzoraka s prekomjernim brojem) u prosjeku je bila podjednaka u svim mjesecima s tim da jedino u prvom mjesecu laktacije nije ni jednom premašila 500.000/ml. Pripominjemo da u literaturi nismo našli podatke o uzajamnom odnosu broja stanica u ovčjem mlijeku i poremećena lučenja vimena u ovaca. S time u vezi naše rezultate treba uzeti samo orijentacijski i nastaviti istraživanja utjecaja poremećene sekrecije vimena ovaca na kakvoću ovčjeg mlijeka.

**Tablica 2**

**Prikaz rezultata određivanja nekih bakterija koje pripadaju skupini specifičnih i nespecifičnih trovača u ovčjem mlijeku stada ovaca tijekom jedne laktacije u godini 1983.**

| Skupina ili vrsta bakterija                   | Broj pozitivnih uzoraka mlijeka (n = 50) |         |         |        |        | *  |
|---|--|---------|---------|--------|--------|----|
|   | ožujak                                   | travanj | svibanj | lipanj | srpanj |    |
| Koagulaza — pozitivni stafilokoki (u 0,01 ml) | 3  | Ø       | Ø       | Ø      | Ø      | 3  |
| Sulfitoreduktivni klostridiji (0,01 ml)       | Ø  | 1       | 8       | 2      | 5      | 16 |
| <i>Proteus</i> vrste                          | 1  | Ø       | 6       | 3      | 5      | 15 |
| <i>Escherichia coli</i> (0,001 ml)            | 2  | 3       | 1       | 2      | 3      | 11 |
| <i>Salmonella</i> u 25 ml                     | Ø  | Ø       | Ø       | Ø      | Ø      | Ø  |

\* = prekoračene dopustive količine bakterija prema odredbama za bakteriološku kakvoću kravljeg mlijeka Pravilnika o uvjetima u pogledu mikrobiološke ispravnosti kojima moraju udovoljavati namirnice u prometu (1983).

Tablica 3

Prikaz rezultata određivanja broja stanica u ovčjem mlijeku stada ovaca tijekom jedne laktacije u godini 1983.

| Redni broj ovce | Broj stanica u 1 ml mlijeka (prema mjesecu laktacije) |            |          |          |                      |
|-----------------|---|------------|----------|----------|----------------------|
|                 | ožujak  | travanj    | svibanj  | lipanj   | srpanj               |
| 1.              | 81 000  | 48 000     | 558 000* | 234 000  | 550 000 <sup>2</sup> |
| 2.              | 78 000  | 196 000    | 41 000   | 78 000   | 397 000              |
| 3.              | 306 000   | 173 000    | 119 000  | 70 000   | 90 000               |
| 4.              | 380 000   | 115 000    | 182 000  | 634 000* | 7 000                |
| 5.              | 426 000   | 86 000     | 234 000  | 237 000  | 139 000              |
| 6.              | 186 000   | 92 000     | 29 000   | 229 000  | 202 000              |
| 7.              | 62 000  | 525 000*   | 697 000* | 134 000  | 285 000              |
| 8.              | 464 000   | 337 000    | 28 000   | 363 000  | 1 058 000*           |
| 9.              | 169 000   | 6 132 000* | 56 000   | 356 000  | 172 000              |
| 10.             | 380 000   | 115 000    | 182 000  | 634 000* | 7 000                |

\* prekoručena dopustiva količina stanica prema odredbama Pravilnika o načinu obavljanja stalnoga veterinarsko-sanitarnoga pregleda životinja za klanje i proizvoda životinjskog podrijetla (1978): Službeni list SFRJ, broj 47 od 25. kolovoza 1978. (500 000 stanica/ml).

Prema rezultatima istraživanja bakteriološke kakvoće i broja stanica u ovčjem mlijeku moguće je donijeti ove zaključke:

1. Skupni uzorak mlijeka ovaca u svim fazama laktacije sadrži znatno veći broj bakterija u odnosu na odredbe naših propisa koje se odnose na sirovo kravlje mlijeko. Ukupni broj bakterija u ovčjem mlijeku varira zavisno od vanjskih temperaturnih uvjeta, pa je tako najniži u ožujku, a najveći u kasnim proljetnim i ljetnim mjesecima.
2. U uzorcima ovčjeg mlijeka našli smo gotovo sve uzročnike bakterijskih otrovanja ljudi koji su limitirani našim propisima izuzev *Salmonella*. 16 uzoraka sadržavalo je sulfitreduktivne klostridije, 15 vrsta roda *Proteus*, 11 *E. coli* i 3 koagulaza pozitivne stafilokoke.
3. Povećan broj stanica u odnosu na kriterije koji se odnose na kriterije za kravlje mlijeko zabilježili smo u 8 uzoraka mlijeka koje je potjecalo od 6 ovaca.

#### Summary

*Study of bacteriological quality and number somatic cells was carried out in ewe's milk. During lactation period it was found more than  $3 \times 10^6$ /ml aerobic mesophilic bacteria in 86% samples, 33% samples contained sulphitreducing bacteria in 0,01 ml, 31% *Proteus* kinds in 0,001 ml, 23% *Escherichia coli* in 0,001 ml and 6% samples coagulasa positive staphilococci in 0,01 ml. More than 500.000/ml somatic cells contained 8 samples milk from 6 ewes.*

#### Literatura

- BUBIĆ, M. (1981): Prilog poznavanju kakvoće i proizvodnje lećevičkog sira. Magistarska rasprava. Veterinarski fakultet, Zagreb, 1982. Str. 34.
- FILEV, F. (1967): Microbiological studies of ewe's milk. I. Mikroflora in aseptically obtained ewe's milk. Veterinarnomedicinski nauki 4 (5) 65—70.
- PRAVILNIK O NAČINU OBAVLJANJA MIKROBIOLOŠKIH ANALIZA I SUPERANALIZA NAMIRNICA (1980): Službeni list SFRJ broj 25 od 9. svibnja 1980.
- PRAVILNIK O UVJETIMA U POGLEDU MIKROBIOLOŠKE ISPRAVNOSTI KOJIMA MORAJU UDOVOLJAVATI NAMIRNICE U PROMETU (1983): Službeni list SFRJ 45 od 26. kolovoza 1983.
- PRAVILNIK O NAČINU OBAVLJANJA STALNOGA VETERINARSKO-SANITARNOG PREGLEDA ŽIVOTINJA ZA KLANJE I PROIZVODA ŽIVOTINJSKOG PODRIJETLA (1978): Službeni list SFRJ, broj 47 od 25. kolovoza 1978.
- SKVORCOV, M. (1943): Proizvodstvo brinji. Moskva, 1943. (Cit. Zdanovski, 1947).
- ZDANOVSKI, N. (1947): Ovčje mljekarstvo. Poljoprivredni nakladni zavod, Zagreb, 1947.