

10. Leman A. D., Glock R. D., Mengeling W. L., Penny R. H., Scholl E., Straw B.: Diseases of swine. Iowa State Univ. Press, Ames, Iowa, 1981.
11. Meissner G., Anz W.: Am. Rev. Res. Dis. 116, 1057, 1977.
12. Pavlas M., Patlakova V.: Vet. Med. Praha 22, 1, 1977.
13. Pavlas M., Patlakova V., Mesaros E.: Acta vet. Brno. 54, 217, 1985.
14. Prost E.: Medycyna Wet. 24, 658, 1968.
15. Prost E.: Higiena mięsa. PWRiL, Warszawa 1985.
16. Saitanu K.: Acta path. microbiol. scand. 85, 303, 1977.
17. Schaefer W. B.: Am. Rev. Resp. Dis. 92, 85, 1965.
18. Schliesser Th.: Prax. Pneumol. 31, 294, 1977.
19. Schliesser Th.: Wien. tierärztl. Mschr. 65, 78, 1978.
20. Spryszak A., Zięba T.: Medycyna Wet. 24, 709, 1968.
21. Szabo J.: Mh. Vet. Med. 32, 336, 1977.
22. Thoen C. O., Jarnagin B. S., William D., Richards B. S.: Am. J. Vet. Res. 36, 1383, 1975.
23. Thorel M. F.: Ann. Inst. Pasteur. 131A, 71, 1980.
24. Viallier J., Dabrigeon J., Viallier G.: Bull. Soc. Sci. Vet. Med. Comp. Lyon 78, 137, 1976.
25. Zórawski C., Karpiński T., Skwarek P.: Medycyna Wet. 30, 711, 1974.
26. Zórawski C., Skwarek P.: Metody i testy stosowane do izolowania i identyfikacji prątków kwasoopornych. I. Wet., Puławy 1980.

Adres autora: lek. wet. Krzysztof Kwiatek, ul. Kołłątaja 3/15, 24-100 Puławy

Квятек К., Журавский Ц., Войто́н В., Скварек П. — Исследования появления и этиологии туберкулезных изменений в лимфатических узлах убойных свиней Люблинского региона

Цель исследований состояла в определении частоты появления и этиологии туберкулезных и туберкулезоподобных изменений лимфатических узлов у убойных свиней Люблинского региона. Среди ис-

следованных 5721 животного болезненные изменения отметили у 287 (5,01%). Кислотоустойчивые палочки в числе 241 штамма, изолированные от 230 (80,1%) свиней, подвергли подробной идентификации с применением селекционных и биохимических проб, а также серологических исследований. Отметили, что главным фактором, вызывающим туберкулезные изменения лимфатических узлов, был *Myc. avium* (83%), а серотип 2 этого возбудителя играл доминирующую роль. Остальных 17% болезненных изменений было вызванных атипичными палочками, принадлежащими, главным образом, к III и IV группе по Руньюну.

Kwiatek K., Zórawski C., Wojtoń B., Skwarek P. — Studies on the occurrence and etiology of tuberculous lesions in the pig lymphnodes of the Lublin region

The purpose of the work was to determine the frequency of tuberculous and tuberculous-like lesions in the lymphnodes of pigs coming from the Lublin region. Of 5721 animals examined the pathological lesions were found in 287 animals (5.01%). Acid-fast bacilli (241 strains) isolated from 230 (80.1%) were identified by means of cultural, biochemical and serological tests. It was found that *Myc. avium* was the main agent of tuberculous lesions in the lymphnodes (83%), and serotype 2 played a dominant role. Atypical mycobacteria belonging to Runyon's III and IV group caused the pathological changes only in 17 percent pigs.

BOŻENA STAŃCZAK, MARCIN SZULC

## Wpływ mrożenia na przeżywalność i ciepłooporność reprezentatywnych szczepów *Pseudomonas aeruginosa*\*

Katedra Higieny Żywności Wydziału Weterynaryjnego SGGW-AR, ul. Nowoursynowska 161, 02-766 Warszawa

Palczki ropy błękitnej (*Pseudomonas aeruginosa*) odgrywają poważną rolę w patologii człowieka, będąc przyczyną infekcji przewodu pokarmowego, nerek, moczowodów, ucha środkowego, dróg oddechowych (1, 2, 4). Obok gronkowców chorobotwórczych stanowią główną przyczynę zakażeń wewnątrzszpitalnych (4, 5).

Bakterie te izolowane są z kału człowieka i zwierząt oraz ścieków, zbiorników wody i wody wodociągowej (5, 6). Izolowano je również z potraw nie poddanych obróbce termicznej, mięsa zwierząt rzeźnych i innych środków spożywczych pochodzenia zwierzęcego oraz mrożonych owoców i warzyw (2, 7, 8, 9, 11–15).

W dostępnym piśmiennictwie napotkano niewiele informacji na temat wpływu mrożenia w różnych temperaturach na przeżywalność i ciepłooporność *P. aeruginosa*. Informacje te przytoczono w rozdziale „Wyniki i omówienie”.

Celem badań było określenie przeżywalności i ciepłooporności *P. aeruginosa* przy zamrażaniu i przetrzymywaniu przez okres do 6 miesięcy w temperaturach: -10, -18 i -25°C.

### Materiał i metody

Do badań wytypowano dwa następujące szczepy pałeczki ropy błękitnej:

— *P. aeruginosa* nr 74 — wyizolowany z umywalki w hali uboju bydła,

— *P. aeruginosa* nr 187 — otrzymany z Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie.

Do doświadczeń używano 48-godzinnych hodowli bakterii w bulionie wzbogaconym enzymatycznym hydrolizatem kazeiny i ekstraktem drożdżowym.

Gęstość hodowli, po usunięciu „kożucha” z powierzchni bulionu, oznaczana zgodnie z zasadami podanymi w PN-83/A-82054 (10), wynosiła  $1,02 \times 10^8$  komórek/cm<sup>3</sup> (*P. aeruginosa* nr 74) i  $1,70 \times 10^8$  komórek/cm<sup>3</sup> (*P. aeruginosa* nr 187).

Temperatura i czas ogrzewania obu szczepów, przy oznaczaniu ich ciepłooporności, dobrano tak, aby powodowały zmniejszenie ogólnej, wyjściowej liczby bakterii o ok. 50%, wynosiły 50°C i 4 minuty.

Hodowle bulionowe badanych bakterii, o znanej gęstości i wrażliwości cieplnej, wlewano w ilości po 3 cm<sup>3</sup> do probówek i przenoszono do zamrażarek o temp. -10, -18, -25°C, na okres do 6 miesięcy.

Przeżywalność i ciepłooporność bakterii określano po 6 godzinach oraz po 2, 7, 14, 30, 60, 90, 120, 150, i 180 dniach mrożenia.

Gęstość hodowli i ciepłooporność bakterii bezpośrednio przed ich zamrożeniem były wielkościami kontrolnymi.

W każdym dniu badań wyjmowano z zamrażarek 9 probówek z hodowlą bakterii (po 3 probówki z każdej temperatury), rozmrażano przez 15 minut w

\*) Praca wykonana w ramach problemu międzyresortowego MR-II-19.

wodzie o temperaturze pokojowej i bezpośrednio po tym określano liczbę bakterii w 1 cm<sup>3</sup> hodowli, wysiewając z wykonanych rozcieńczeń po 0,2 cm<sup>3</sup> równoległe na 2 płytki z podłożem Kinga B. Posiewy inkubowano w temp. 37°C przez 24 godziny.

Dla oznaczenia ciepłoporności mrożonych szczepów *P. aeruginosa* rozmrożone hodowle bulionowe ogrzewano w ultratermostacie w temp. 50°C przez 4 minuty. Po zakończeniu próbek ochładzano w wodzie o temp. pokojowej. W celu określenia liczby bakterii mrożonych i ogrzewanych wykonywano z każdej próbki, z odpowiednich rozcieńczeń, posiewy na 2 równoległe płytki z podłożem Kinga B. Inkubację przeprowadzano — identycznie jak bakterii nieogrzewanych — w temp. 37°C przez 24 godziny.

Ciepłoporność bakterii w poszczególnych okresach badań wyrażano w wartościach względnych (%), określając stosunek liczb bakterii mrożonych i ogrzewanych do liczb bakterii mrożonych.

### Wyniki i omówienie

Wyniki badań przeżywalności i ciepłoporności *Pseudomonas aeruginosa*, mrożonych w temp. -10, -18 i -25°C, przedstawiono w tab. 1 i 2.

Otrzymane wyniki zostały opracowane statystycznie. Zastosowano dwuczynnikową analizę wariancji i test t-Studenta, przeprowadzając wnioskowanie na poziomie istotności  $p < 0,01$ .

Przeżywalność badanych szczepów *P. aeruginosa* jest różna (tab. 1 i 2), przy czym szczep nr 187 — pochodzący z Państwowego Zakładu Higieny, jest wyraźnie oporniejszy niż szczep nr 74 — wyizolowany z umywalki w hali uboju bydła.

Najszybsza i najbardziej intensywna redukcja pałeczek *P. aeruginosa* obu badanych szczepów następowała w temp. -10°C, a najbardziej powolna — w temp. -25°C.

Podczas procesu zamrażania (pierwszych 6 godzin mrożenia) następował już bardzo wyraźny spadek liczby bakterii, wynoszący przy szczepie nr 74 od ok. 2 do 3 rzędów wielkości i przy szczepie nr 187 od ok. 1 do prawie 2 rzędów wielkości.

Po 30 dniach mrożenia szczepu nr 74 w temp. -10°C i -18°C nie stwierdzono wzrostu bak-

Tab. 1. Przeżywalność i ciepłoporność *P. aeruginosa* nr 74 przy mrożeniu w temperaturach: -10, -18 i -25°C (wartości średnie)

Okres przetrzymywania próbek (dni)	Bakterie mrożone (M) (log liczby bakterii w 1 cm <sup>3</sup> )			Bakterie mrożone i ogrzane (MO) (log liczby bakterii w 1 cm <sup>3</sup> )			Ciepłoporność $\frac{MO}{M} \times 100$ %		
	-10°C	-18°C	-25°C	-10°C	-18°C	-25°C	-10°C	-18°C	-25°C
0	8,00ax	8,00ax	8,00ax	7,76ax	7,76ax	7,76ax	59,14ax	59,14ax	59,14ax
6 h	6,12bx	5,49by	5,26bz	4,93bx	4,61by	4,40bz	8,47bx	13,42bxy	19,07bxy
2	2,70cx	4,39cy	3,06cz	1,71cx	3,10cy	3,30cz	10,00bxy	5,27bey	17,61bxz
7	1,61dx	2,53dy	2,78dz	0dx	1,40dy	2,08dz	0cx	7,32bcx	19,78by
14	0ex	1,41ey	2,72dz	0dx	0ex	2,02dy	0cx	0cx	19,86by
30	0ex	0fx	0,84ey	0dx	0ex	0ex	0cx	0cx	0cx
60	0ex	0fx	0ey						
90	0ex	0fx	0fx						

Objaśnienia: a, b, c, d, e, f — liczby w tej samej kolumnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy  $p < 0,01$ ; x, y, z — liczby w tym samym wierszu (przy oddzielnym porównaniu średnich dla bakterii mrożonych (M), mrożonych i ogrzewanych (MO) i ciepłoporności) oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy  $p < 0,01$ .

Tab. 2. Przeżywalność i ciepłoporność *P. aeruginosa* nr 187 przy mrożeniu w temperaturach: -10, -18 i -25°C (wartości średnie)

Okres przetrzymywania próbek (dni)	Bakterie mrożone (M) (log liczby bakterii w 1 cm <sup>3</sup> )			Bakterie mrożone i ogrzane (MO) (log liczby bakterii w 1 cm <sup>3</sup> )			Ciepłoporność $\frac{MO}{M} \times 100$ %		
	-10°C	-18°C	-25°C	-10°C	-18°C	-25°C	-10°C	-18°C	-25°C
0	8,23ax	8,23ax	8,23ax	7,97ax	7,97ax	7,97ax	56,72ax	56,72ax	56,72ax
6 h	6,90bx	6,74by	6,45bz	6,08bx	5,95by	5,77bz	15,95bx	16,58bx	21,25bx
2	5,51cx	4,77cy	5,63cz	4,78cx	3,88cy	4,81cz	19,86bx	12,80bey	15,48bexy
7	4,91dx	4,12dy	4,62dz	4,21dx	3,21dy	3,75dz	19,58bx	12,41bey	13,40cdxy
14	4,25ex	3,20ey	4,35ez	3,48ex	2,31ey	3,47ez	17,13bx	12,70bcx	13,39cdx
30	2,08fx	3,15ey	3,30fz	0fx	2,24ey	2,43fz	0cx	12,60bey	13,96cdx
60	0gx	3,13ey	2,97gz	0fx	1,98fy	2,09gz	0cx	7,00cdy	13,10cdy
90	0gx	3,08ey	2,93gz	0fx	1,75gy	2,04gz	0cx	4,72dex	12,99cdy
120	0gx	1,82fy	2,62hz	0fx	0hx	1,71hy	0cx	0ex	12,16cdy
150	0gx	0gx	2,44iy	0fx	0hx	1,31iy	0cx	0ex	7,46dy
180	0gx	0gx	1,38iy	0fx	0hx	0jx	0cx	0ex	0ex

Objaśnienia: a, b, c, d, e, f, g, h, i, j — liczby w tej samej kolumnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy  $p < 0,01$ ; x, y, z — jak w tab. 1.

terii, a w temp.  $-25^{\circ}\text{C}$  obserwowano obniżenie ich liczby o ok. 7 rzędów wielkości.

Analogiczne wartości dla mrożonego przez 30 dni w temp.  $-10^{\circ}\text{C}$ ,  $-18^{\circ}\text{C}$  i  $-25^{\circ}\text{C}$  szczepu nr 187 wskazują na obniżenie liczby pałeczek od ok. 5 do 6 rzędów wielkości.

W następnych okresach przetrzymywania bakterii w stanie zamrożonym obserwowano dalsze zmniejszenie się liczby żywych komórek. Po 90 dniach mrożenia szczepu nr 74 w temp.  $-25^{\circ}\text{C}$  i po 150 dniach mrożenia szczepu nr 187 w temp.  $-10^{\circ}\text{C}$  i  $-18^{\circ}\text{C}$  — nie stwierdzono żywych komórek, a 180-dniowe mrożenie w temp.  $-25^{\circ}\text{C}$  szczepu nr 187 powodowało obniżenie liczby pałeczek o ok. 7 rzędów wielkości.

Przeprowadzona analiza statystyczna wyników wskazuje, że obserwowane i omówione różnice przeżywalności obu szczepów *P. aeruginosa* w trzech różnych temperaturach mrożenia oraz w poszczególnych okresach przetrzymywania są statystycznie istotne ( $p < 0,01$ ).

Konfrontacja uzyskanych wyników z danymi piśmiennictwa na temat przeżywalności pałeczek *P. aeruginosa* przy mrożeniu w warunkach zbliżonych do stosowanych w opisywanej pracy jest trudna, ponieważ w dostępnym piśmiennictwie nie spotkano porównywalnych informacji. Calcott i wsp. (3) określali żywotność bakterii, m. in. *P. aeruginosa*, w roztworach soli fizjologicznej oraz w wodzie i wykazali większą przeżywalność przy zamrażaniu bakterii w wodzie. Z badań Pogorzelskiej (11) wynika, że pałeczki *P. aeruginosa* przeżywają w mięsie wołowym okres 6-miesięcznego mrożenia w temp.  $-23^{\circ}\text{C}$ .

Wyniki przedstawione w tab. 1 i 2 wskazują, że oba badane szczepy *P. aeruginosa* charakteryzowały się wyjściowo (przed zamrożeniem), bardzo podobną ciepłoopornością. Mimo pewnych wahań wartości poszczególnych wyników można stwierdzić, że ciepłooporność obu badanych szczepów ulegała stałemu i stopniowemu zmniejszaniu w miarę ich przetrzymywania w stanie zamrożonym. Już sam proces zamrażania powodował bardzo znaczny, bo 2—6-krotny spadek ciepłooporności pałeczek, w zależności od badanego szczepu i temperatury mrożenia. Większość wyników wskazuje na najmniejszy spadek ciepłooporności pałeczek mrożonych w temp.  $-25^{\circ}\text{C}$ , a największy — w temp.  $-10^{\circ}\text{C}$ . Przy zamrażaniu i przetrzymywaniu w temp.  $-10^{\circ}\text{C}$ ,  $-18^{\circ}\text{C}$  i  $-25^{\circ}\text{C}$ , pałeczki *P. aeruginosa* nr 74 cechowało znacznie intensywniejsze obniżenie ciepłooporności, w porównaniu z pałeczkami szczepu nr 187. Zasluguje to na podkreślenie, ponieważ ciepłooporność wyjściowa obu szczepów była zbliżona. W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono danych o wpływie mrożenia na ciepłooporność *P. aeruginosa*.

#### Wnioski

1. W okresie zamrażania i przetrzymywania w temperaturach  $-10^{\circ}\text{C}$ ,  $-18^{\circ}\text{C}$  i  $-25^{\circ}\text{C}$  pałeczek *P.*

*aeruginosa* (szczepy nr 74 i nr 187) następuje stałe obumieranie tych bakterii; bardzo intensywne obumieranie, wyrażające się zmniejszeniem liczby bakterii średnio o 2 rzędy wielkości (z poziomu ok.  $18^8/\text{mc}^3$ ), zachodzi już w czasie 6-godzinowego zamrażania.

2. Różne szczepy *P. aeruginosa* cechują się różną przeżywalnością przy zamrażaniu i przetrzymywaniu w stanie zamrożonym; szczep *P. aeruginosa* nr 74 obumiera znacznie szybciej niż szczep nr 187.

3. Przeżywalność pałeczek *P. aeruginosa* jest uzależniona od temperatury mrożenia; najmniejszą przeżywalność obserwuje się przy mrożeniu w temp.  $-10^{\circ}\text{C}$ , większą w temp.  $-18^{\circ}\text{C}$  i największą w temp.  $-25^{\circ}\text{C}$ .

4. Pałeczki *P. aeruginosa* zamrażane i przetrzymywane w temp.  $-10^{\circ}\text{C}$ ,  $-18^{\circ}\text{C}$  i  $-25^{\circ}\text{C}$  cechują się mniejszą ciepłoopornością, niż przed zamrożeniem.

5. Ciepłooporność badanych szczepów *P. aeruginosa* jest niemal identyczna przed ich zamrożeniem, natomiast różna po zamrożeniu; szczep nr 187 charakteryzuje się w okresie mrożenia większą ciepłoopornością niż szczep nr 74.

6. Stopień obniżenia się ciepłooporności badanych pałeczek *P. aeruginosa* jest uzależniony od temperatury ich zamrożenia i przetrzymywania w stanie zamrożonym. Największą ciepłoopornością cechują się bakterie zamrożone w temp.  $-25^{\circ}\text{C}$ , a najmniejszą — zamrożone w temp.  $-10^{\circ}\text{C}$ .

#### Piśmiennictwo

- Burzyńska H., Maciejka K.: Roczniki PZH 25, 229, 1974.
- Burzyńska H. i wsp.: Roczniki PZH 25, 641, 1974.
- Calcott P. H., Lee S. K., McLeod R. A.: Can. J. Microbiol. 22, 106, 1976.
- Dzierżanowska D.: Postępy Mikrobiol. 19, 215, 1980.
- Furwicz A., Nowakowski W., Matuszczyk S.: Medycyna Wet. 36, 268, 1980.
- Kooij D., van der Oranje J. P., Hijnen W. A. M.: Appl. environ. Microbiol. 44, 1086, 1982.
- Kozłowski S.: Medycyna Wet. 27, 234, 1971.
- Oblinger J. L., Kennedy J. E.: J. Fd Prot. 41, 251, 1978.
- Otte J., Hahn G., Tolle A.: Milchwiss. 33, 737, 1978.
- Pogorzelska E.: Medycyna Wet. 35, 273, 1979.
- Polska Norma: PN-33/A-82054. Mięso i przetwory mięsne. Badania bakteriologiczne.
- Radziłowska B.: Występowanie pałeczek *P. aeruginosa* w mięsie i produktach mięsnych oraz charakterystyka wyizolowanych szczepów. Praca dokt., SGGW-AR, Warszawa 1985.
- Speck M. L., Ray B.: J. Fd Prot. 40, 333, 1977.
- Splitstoesser D. F., Sergen B.: Milk Fd Technol. 33, 500, 1970.
- Splitstoesser D. F.: Fd Technol. 27, 54, 1973.

Adres autora: dr Bożena Stańczak, ul. Zamiany 6 m 32, 02-786 Warszawa

Станьчак Б., Шульц М. — Влияние морозения на выживаемость и теплоустойчивость *Pseudomonas aeruginosa*

Определяли выживаемость и теплоустойчивость *P. aeruginosa* (2 штамма — nr 74 и nr 187) при замораживании и хранении до 6 мес. в температурах:  $-10^{\circ}\text{C}$ ,  $-18^{\circ}\text{C}$  и  $-25^{\circ}\text{C}$ .

Для опытов использовали 48-часовые бульонные культуры. Выживаемость и теплоустойчивость исследуемых бактерий определяли через 6 часов, а также через 2, 7, 14, 30, 60, 90, 120, 150 и 180 дней морозения.

Для определения теплоустойчивости размороженных бульонных культур обогревали в temp.  $50^{\circ}\text{C}$  в течение 4 мин.

Посевы замораживаемых, а также замораживаемых и обогреваемых бактерий на среде Кинга В инкубировали в темп. 37°C 24 часа.

Отметили, что морозение обоих штаммов *P. aeruginosa* в темп. -10, -18 и -25°C ведет к постоянной редукции бактерий, причем очень интенсивное их отмирание происходит уже во время 6-часового замораживания.

Наименьшую выживаемость исследуемых штаммов наблюдают при морозении в темп. -10°C, а наибольшую — в темп. -25°C.

Исследуемые бактерии, замороженные и хранимые в темп. -10, -18 и -25°C, отличаются меньшей теплоустойчивостью чем до заморозения.

Наибольшее понижение теплоустойчивости происходило при морозении штаммов в темп. -10°C, а наименьшее — при морозении в темп. -25°C.

Stańczak B., Szulc M. — Influence of freezing on the survival rate and thermoresistance of *Pseudomonas aeruginosa*

The survival rate and thermoresistance of *Ps. aeruginosa* (two strains № 74 and № 187) were tested after freezing and storage at -10°C, -18°C and -25°C for 6 months. For this purpose broth cultures 48 hours old were employed. The survival rate and thermoresistance of the bacteria were determined after 6 hours and after 2, 7, 14, 30, 60, 90, 120, 150 and 180 days of freezing. The cultures were heated at 50°C for 4 minutes to determine their resistance to temperature. Inoculations of the frozen and frozen and heated bacteria were made on King's B media which were incubated at 37°C for 24 hours. It was found that freezing two strains of *Ps. aeruginosa* at -10, -18 and -25°C lead to a constant reduction of the bacteria; an intensive drop in the number of the bacteria was noticed after freezing for 6 hours. The least survival rate of the bacteria was found at -10°C and the highest at -25°C. After freezing and storage at -10, -18 and -25°C they were less thermoresistant than before freezing. The highest decrease of thermoresistance took place at freezing at -10° and the least at -25°C.

STANISŁAW KAFEL, MIECZYSLAW RADKOWSKI

## Badania wzrostu wybranych bakterii w mleku spożywczym w czasie jego składowania w handlu

Katedra Higieny Produktów Zwierzęcych Wydziału Weterynaryjnego AR-T, 10-957 Olsztyn-Kortowo

Duża podaż mleka występująca w ostatnich latach w naszym kraju oraz brak urządzeń chłodniczych w sklepach spożywczych sprawiły, że w miesiącach letnich znaczne ilości tego produktu pozostają nie sprzedane do następnego dnia. Mleko to ulega zwykle skwaśnieniu, a jego zagospodarowanie pociąga za sobą duże trudności i stanowi też pewien problem higieniczny. Kompetentne władze sprawujące nadzór nad dystrybucją żywności nie wyrażają zgody na przerób takiego mleka na produkty spożywcze przeznaczone dla ludzi zakładając, że w obecnych warunkach przechowywania mleka w handlu może dojść do znacznego namnożenia w nim różnych bakterii, w tym również bakterii chorobotwórczych.

W piśmiennictwie odczuwa się wyraźny niedobór informacji określających w jakim stopniu poszczególne rodzaje bakterii mogą namnożyć się w mleku w temperaturze miesięcy letnich w czasie jego przechowywania w sklepach przez jedną dobę. Dla wyjaśnienia tej kwestii podjęto badania, których celem było określenie możliwości wzrostu w mleku w opisanych wyżej warunkach ogólnej liczby bakterii, bakterii z grupy *coli*, gronkowców koagulazododatnich oraz pałeczek *Salmonella*.

### Materiał i metody

I. Materiał do posiewów stanowiło pasteryzowane mleko spożywcze, butelkowane, o zawartości 2% tłuszczu, nabywane w godzinach rannych w sklepie spożywczym po przywiezieniu go z zakładu mleczarskiego.

Bezpośrednio po dostarczeniu mleka do laboratorium przeprowadzano badania bakteriologiczne w kierunku ogólnej liczby drobnoustrojów, miana bakterii z grupy *coli*, miana gronkowców koagulazododatnich

oraz obecności drobnoustrojów z rodzaju *Salmonella*. W tym celu każdą butelkę z mlekiem odwracano 10-krotnie dla jednolitego rozprowadzenia znajdujących się w nim drobnoustrojów. Następnie po otwarciu kapsła pobierano pipetą próbki i posiewano je do odpowiednich pożywek bakteriologicznych.

Ogólną liczbę bakterii określano na agarze odżywcym metodą kropelkową (1).

Miano bakterii z grupy *coli* oznaczano w podłożu z żółcią i zielenią brylantową według metody podanej w Polskiej Normie „Mleko i przetwory mleczarskie”. Badania mikrobiologiczne (4).

Miano gronkowców koagulazododatnich określano przy użyciu podłoży Giolitti-Cantoni oraz Baird-Parkera metodą opisaną w Polskiej Normie „Produkty żywnościowe”. Wykrywanie i ilościowe oznaczenie gronkowców chorobotwórczych (3).

Przy badaniu obecności drobnoustrojów z rodzaju *Salmonella* materiał w ilości 10 ml poddawano uprzedniemu przednamażaniu w 90 ml zbuforowanej wody peptonowej, w temperaturze 37°C do następnego dnia. Stąd przenoszono po 1 ml uzyskanej hodowli do próbek zawierających po 9 ml podłoża z czterotionianem sodowym wg Müller-Kauffmana (MK) i po 9 ml podłoża z kwaśnym seleninem sodowym i cystyną (SF). Podłoże MK inkubowano w temperaturze 43°C; a podłoże SF w temperaturze 37°C przez 24 godziny. Po inkubacji rozsiewano ten materiał za pomocą oczka bakteriologicznego na powierzchnię podłoży stałych SS oraz agar z zielenią brylantową i czerwieńią fenolową (BGA). Posiewy na płytkach inkubowano w temperaturze 37°C w ciągu 24 godzin. Po dejrzone kolonie potwierdzano serologicznie.

Po wykonaniu opisanych posiewów, butelki z mlekiem zamykano jałową folią aluminiową i pozostawiano je na stole w temperaturze otoczenia (od maja do października) na 24 godz. Po tym czasie przeprowadzano powtórnie wszystkie badania przy użyciu podanych metod. W opisany sposób przebadano w 20 seriach ogółem 100 butelek mleka, używając w każdej serii 5 butelek.

II. W drugiej części badań mleko w butelkach zakażano sztucznie gronkowcami oraz pałeczkami *Salmonella* (*S. typhimurium*), ponieważ drobnoustrojów tych nie stwierdzono w naturalnie zakażonym mleku.