

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 kapsla 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 przednamnżaniu 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 dejrzane 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.

Użyty do badań szczep gronkowca złocistego nr 1339 oraz *S. typhimurium* nr 1110 otrzymano z kolekcji Instytutu Weterynarii w Puławach. Bakterie te wsiewano do bulionu odżywczego i po 24 godz. inkubacji w temperaturze 37°C uzyskiwano hodowlę wyjściową do dalszych badań. Trzy krople z tej hodowli wprowadzano do kolbek zawierających po 100 ml bulionu odżywczego w celu uzyskania bardziej rozcieńczonego inoculum. Stąd przenoszono po 1 ml do mleka butelkowego. Zakażone w ten sposób mleko przetrzymywano w temperaturze otoczenia. Oznaczenia wysokości mian *S. aureus* i *S. typhimurium* wykonywano bezpośrednio po wprowadzeniu tych bakterii do mleka i po 24 godzinach. Badania powtórzone czterokrotnie, przy czym w każdym doświadczeniu użyto 5 butelek mleka (razem 20).

Wyniki i omówienie

Uzyskane wyniki zebrano w tab. 1 i 2. Tab. 1 przedstawia obraz mikrobiologiczny mleka, jaki został stwierdzony wkrótce po jego dostarczeniu do handlu oraz po 24 godz. przechowywaniu tego samego mleka w temperaturze otoczenia w miesiącach letnich.

Obowiązująca w kraju Polska Norma (2) dopuszcza 2×10^5 bakterii w 1 ml mleka pasteryzowanego. Liczby zawarte w tab. 1 wykazują, że tylko 60 próbek na 100 zbadanych (60%) odpowiadało wymaganiom tej normy kiedy mleko znalazło się w handlu. Po 24 godz. składowania w temperaturze otoczenia ogólna liczba bakterii wzrosła wyraźnie we wszystkich butelkach i w większości próbek (84%) osiągnęła wartości 10^9 — 10^{10} .

Zgodnie z Polską Normą (2) obecność bakterii z grupy okrężnicy jest niedopuszczalna w 0,01 ml mleka spożywczego pasteryzowanego. Żadna z badanych próbek nie odpowiadała tym wymaganiom przed składowaniem mleka, a po jego 24 godz. składowaniu bakterie te stwierdzano w rozcieńczeniach od 10^{-6} do 10^{-8} .

Dane tab. 1 wykazują, że gronkowców koagulazododatnich nie stwierdzono w 1 ml, a salmoneli w 10 ml zarówno przed składowaniem, jak i po składowaniu mleka. Dlatego przeprowadzono badania dodatkowe, w których zakażano mleko sztucznie tymi bakteriami. Wyniki przedstawione w tab. 2 wskazują że liczby *S. aureus* oraz *S. typhimurium* uległy znacznemu zwiększeniu w czasie składowania tego produktu.

Zdolność do wzrostu bakterii niechorobotwórczych, jak i chorobotwórczych w żywności składowanej w temperaturze otoczenia w porze letniej wydaje się rzeczą normalną. Ale mleko jest produktem specyficznym, zawierającym dużą ilość laktozy i wraz z rozwojem w nim bakterii rozkładających ten cukier dochodzi do obniżenia pH do około 4,5. W tych warunkach wiele rodzajów bakterii przestaje się rozmnażać, a niektóre z nich powinny ulegać stopniowemu wymieraniu. Wiadomo też, że niskie pH wzmaga siłę antagonistycznego działania tzw. bakterii kwaszących na niektóre inne bakterie i że gronkowce chorobotwórcze są szczególnie wrażliwe na antagonizm bakteryjny. Liczby *S.*

Tab. 1. Wyniki badań mikrobiologicznych 100 próbek mleka bezpośrednio po dostarczeniu do laboratorium i po 24 godz. składowania w temperaturze otoczenia

Wykonane oznaczenia	Liczba próbek o danym stopniu zakażenia	
	przed składowaniem	po składowaniu
Ogólna liczba bakterii w 1 ml		
10^3 — 10^4	1	
10^4 — 10^5	49	
10^5 — 2×10^5	10	
2×10^5 — 10^6	26	
10^6 — 10^7	13	
10^7 — 10^8	1	
10^8 — 10^9		16
10^9 — 10^{10}		84
Miano pałeczek z grupy coli		
10-2	20	
10-3	52	
10-4	26	
10-5	2	
10-6		46
10-7		48
10-8		7
Miano gronkowców koagulazododatnich	nieobecne w 1 ml	nieobecne w 1 ml
<i>Salmonella</i>	nieobecne w 10 ml	nieobecne w 10 ml

Tab. 2. Wysokość mian *S. aureus* i *S. typhimurium* w 20 próbkach mleka bezpośrednio po zakażeniu i po 24 godz. składowania w temperaturze otoczenia

Miano	Liczba próbek o danym mianie <i>S. aureus</i>		Liczba próbek o danym mianie <i>S. typhimurium</i>	
	bezpośrednio po zakażeniu	po 24 godz.	bezpośrednio po zakażeniu	po 24 godz.
10^{-1}	16			
10^{-2}	4			
10^{-3}			11	
10^{-4}		9	9	
10^{-5}		11		2
10^{-6}				13
10^{-7}				5

aureus w badaniach własnych ulegały jednak zawsze wyraźnemu zwiększeniu w czasie składowania mleka mimo jego kwaśnienia. Prawdopodobnie rozmnażały się one w początkowej fazie składowania, kiedy mleko nie osiągnęło jeszcze pełnego zakwaszenia. Omawiany tu wpływ niskiego pH dotyczy zapewne również wielu innych bakterii jak np. salmonelle, *Cl. perfringens* oraz innych drobnoustrojów chorobotwórczych, które mogą znaleźć się w mleku przy jego naturalnym zakażeniu. Przy składowaniu kwaśnego mleka w temperaturze oto-

czenia w lecie przez okres dłuższy niż 24 godz. liczba gronkowców i niektórych innych bakterii chorobotwórczych uległaby prawdopodobnie stopniowemu obniżaniu. Jednak w sytuacji istniejącej w handlu w naszym kraju, 24 godz. skadowanie mleka stwarza szansę wyraźnego namnożenia się w nim różnych bakterii, a w tym bakterii z grupy *coli*, gronkowców złośliwych oraz salmoneli. Zważając na fakt, że w mleku znajdują się czasem wymienione bakterie, logiczne wydaje się niedopuszczenie takiego mleka do przerobu na produkty spożywcze przeznaczone dla ludzi. Trzeba jednak podkreślić, że domowa produkcja kwaśnego mleka przeznaczonego do konsumpcji oraz do produkcji twarogów stwarza podobne warunki do namnożenia omawianych bakterii. Produkcja taka z surowca pasteryzowanego lub niepasteryzowanego odbywa się od wielu lat i jest akceptowana zarówno przez konsumentów, jak i władze sanitarne w naszym kraju. Wyroby te nie wydają się przy tym być zasadniczym ogniwem w problemie zatruc pokarmowych u ludzi. Sprawa sanitarnego spojrzenia na spontanicznie kwaśniejące mleko wymaga więc chyba jeszcze większej uwagi i dalszych badań.

Wnioski

1. Mleko spożywcze pasteryzowane butelkowe w momencie jego dotarcia do sklepów wykazuje nadmierne zanieczyszczenia mikrobiologiczne i pod tym względem nie odpowiada wymaganiom Polskiej Normy PN-75/A-86003.
2. W czasie składowania mleka butelkowego w porze letniej przy temperaturze otoczenia

przez 24 godz. w znaczym stopniu wzrasta w nim ogólna liczba drobnoustrojów oraz miano bakterii z grupy *coli*; w tych warunkach mogą również wyraźnie wzrosnąć liczby gronkowców koagulazododatnich oraz salmoneli.

Piśmiennictwo

1. Kafel S.: Manual on microbiological standards for foods, food sampling, and basic procedures for enumeration of microorganisms in food. WHO Jakarta, 1981.
2. PN-75/A-86003 Mleko i przetwory mleczarskie. Mleko spożywcze.
3. PN-75/A-04024 Produkty żywnościowe. Wykrywanie i ilościowe oznaczanie gronkowców chorobotwórczych (koagulazododatnich).
4. PN-77/A-86031 Mleko i przetwory mleczarskie. Badania mikrobiologiczne.

Adres autora: dr Mieczysław Radkowski, ul. Ostfińskiego 19 m. 14, 10-010 Olsztyn

Кафель С., Радковский М. — Исследования роста избранных бактерий в пищевом молоке во время его складирования в торговле

Исследовали возможности роста общего числа бактерий, бактерий из группы *coli*, *Staphylococcus aureus*, а также *Salmonella typhimurium* в пищевом, бутылочном молоке, складированном в торговле 24 часа в температуре окружающей среды в летние месяцы. Отметили значительный рост всех исследуемых групп микроорганизмов в рассматриваемых условиях. Результаты представили в таб. 1 и 2.

Kafel S., Radkowski M.: — Investigations on the possibility of growth of selected bacteria in bottled milk during its storage in retail

Investigations were done on the possibility of growth, a total count of bacteria, coliforms, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhimurium* number in pasteurized bottled milk during its storage at ambient temperatures in summer for 24 hours.

It was found that all these bacteria considerably grew in numbers under these conditions. Results are presented in Tables 1 and 2.

ELLAS B., MAGYAR T., GERLEY P., BOROS G., VAERO R.: Badania epizootiologiczne nad zanikowym zapaleniem nosa u świń. VII. Badania nad etiologią i miejscową odpowiedzią immunologiczną. (Epizootiological studies on porcine atrophic rhinitis. VII. Study of the aetiology and the local immune response). Zbl. Vet. Med. B, 32, 557—566, 1985 (8)

Stosując metodę immunofluorescencji zbadano odpowiedź miejscową błony śluzowej jamy nosowej u prosiąt SPF z doświadczalnym zanikowym zapaleniem nosa po zakażeniu donosowym zjadliwym szczepem *Bordetella bronchiseptica*, wytwarzającą endotoksynę *Pasteurella multocida* i po donosowym podaniu oczyszczonej chromatograficznie endotoksyny *P. multocida*. Zarówno po zakażeniu *B. bronchiseptica*, jak i *P. multocida* dochodziła do lokalnej proliferacji komórek plazmatycznych produkujących IgGAM i wydzielania tej klasy immunoglobulin, podczas gdy w następstwie podania samej endotoksyny było stymulowane wytwarzanie IgG i IgM. Przeciwciała zawarte w IgGAM pojawiły się też w śluzie jamy nosowej po zakażeniu niezjadliwym szczepem *B. bronchiseptica*, jednakże nie były one wydzielane do przestrzeni międzykomórkowych. Wydzielnicze IgA występujące w śluzie jamy nosowej reagowały wyłącznie z antygenem *B. bronchiseptica*, zaś przeciwciała zawarte w klasie IgG i IgM reagowały wyłącznie z antygenem *Pasteurella*.

G.

JOHNSON R. P., POVEY R. C.: Szczepienie przeciwko wirusowemu zapaleniu nosa i tchawicy u kociąt posiadających swoiste przeciwciała przeciwko tej chorobie przekazane przez matki. (Vaccination against feline viral rhinotracheitis in kittens with maternally derived feline viral rhinotracheitis antibodies). J. Am. vet. med. Ass. 186, 149—152, 1985 (2)

Skuteczność zmodyfikowanej donosowej żywej szczepionki oraz szczepionki zabitej z adjuwantem do stosowania parenteralnego, w indukowaniu swoistej odporności przeciwko wirusowemu zapaleniu nosa i tchawicy przebadano na kociątach wolnych od nabytych biernie przeciwciała przeciwko temu wirusowi. Szczepionkę donosową stosowano jednorazowo w wieku 5 tygodni życia, szczepionkę parenteralną dwukrotnie w wieku 5 i 7 tygodni życia. U kociąt wykazujących miano swoistych przeciwciała przed podaniem szczepionki serokonwersja była opóźniona o 5—10 dni. Jednakże występowała ona u wszystkich szczepionych kociąt w wieku 8 tygodni życia. Challenge przy użyciu zjadliwego szczepu wirusa zapalenia nosa i tchawicy wykazał, że szczepienia chronią przed wystąpieniem choroby, ale nie zapobiegają zakażeniu wirusem. Obydwie szczepionki można stosować u kociąt posiadających swoiste przeciwciała dla wirusa zakaźnego zapalenia nosa i tchawicy przekazane na drodze biernej od matek.

G.