

HEALTH AND HYGIENIC CONDITIONS OF EWE'S MILK PROCESSING FROM THE ASPECT OF FOOD SAFETY

Eva Dudriková, Lucia Poláková, Jana Pukáčová

ABSTRACT

Totally, 47 strains of *Staphylococcus aureus* and 578 coagulase negative staphylococci were detected in samples from raw ewe milk. The 35 out of 47 isolates of *Staphylococcus aureus* from ewe milk were positive for the presence of staphylococcal enterotoxin genes: sea (4 %), sec (48 %) and sed (48 %). *Staphylococcus epidermis* (33.04%), *Staphylococcus caprae* (21.28%) were more prevalent. *Staphylococcus chromogenes* (7.44 %), *Staphylococcus hominis* (7.09%), *Staphylococcus xylosum* (6.92 %), and *Staphylococcus warneri* (6.40 %) were isolated also in ewes milk. *Staphylococcus haemolyticus* (3.11 %), *Staphylococcus capitis* (2.94 %), *Staphylococcus simulans* (2.08 %) and *Staphylococcus saprophyticus* (1.73 %) were isolated very rarely from the taken individual milk ewe samples. Sporadically, only in few cases, the others coagulase negative staphylococci were isolated (< 1 %): *Staphylococcus cohnii*, *Staphylococcus sciuri*, *Staphylococcus closii*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus auricularis* and *Staphylococcus equorum*.

Keywords: ewe's milk; quality; safety; *Staphylococcus aureus*; staphylococci

ÚVOD

Prevažná časť oviec chovaných na Slovensku je kombinovaného zamerania. V posledných rokoch sa chovatelia zameriavajú na produkciu mlieka a jatočných jahniat, produkcia vlny je len okrajová a v súčasných nákladoch na strihanie nezisková.

Vzhľadom k stúpajúcemu trendu po dopyte výrobkov z nebovinných druhov mliek, resp. v dôsledku možnosti spracovateľov akéhokoľvek poľnohospodárskeho výrobku alebo potraviny požiadať o zápis zaručenej tradičnej špeciality, resp. „ochrany označenia pôvodu“ a „ochrany zemepisných označení na území Spoločenstva“ je nevyhnutné sa venovať nielen kvalite takýchto výrobkov (čo predstavuje hlavný cieľ spoločenstva EÚ), ale aj ich bezpečnosti z hľadiska mikrobiologického a chemického. Vzhľadom k tomu, že salašníctvo na Slovensku je rozšírené v rôznych oblastiach Slovenska, aj zloženie a kvalita ovčieho mlieka bude rozdielna (Herian, 2010).

Ovčie mlieko je unikátne svojím zložením a odlišuje sa obsahom jednotlivých zložiek od mlieka iných druhov cicavcov (Posati a Orr, 1976). Obsahuje celý rad významných účinných látok, napr. aminokyselín (20), mastných kyselín (60), minerálnych látok (45) a oligoelementov, vitamínov (25) a sacharidov (5). Obsahuje aj enzýmy a hormóny. Je to tekutina bielej farby, typickej vône a príjemnej sladkej chuti. Ovčie mlieko je bohaté na vitamín A, B₁, B₂, B₁₂ a vitamín C, významný je obsah kyseliny orotovej, ktorej sa pripisujú protirakovinové účinky, významný je aj obsah železa, a zinku (Casali et al., 1989; Dario et al., 1995; Fenyvessy a Csanadi, 1999; Margentín, 1996; Hardy, 2000).

V súčasnom období možno na Slovensku získavanie a spracovanie ovčieho mlieka rozdeliť nasledovne: (a) dojenie (ručné alebo strojové), po ktorom nasleduje spracovanie surového ovčieho mlieka na hrudkový syr; (b) dojenie (ručné alebo strojové) spojené so základným ošetrením a skladovaním mlieka v mliečnici a zvoz do bryndziarne a (c) dojenie (ručné alebo strojové) spojené s následným základným ošetrením a chladením mlieka, po ktorom nasleduje tepelné ošetrenie mlieka (pasterizácia mlieka) a výroba hrudkového syra a iných špecialít z tepelne ošetreného mlieka v salašnických podmienkach.

Každý z uvedených spôsobov má svoje výhody a nevýhody, ktoré sa môžu prejaviť v kvalite vyrábaných výrobkov z ovčieho mlieka.

Cieľom práce bolo zistiť kontamináciu surového ovčieho mlieka stafylokokmi, najmä baktériou *S. aureus*, u ktorej sme zisťovali prítomnosť stafylokokových enterotoxínových génov (*sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*).

MATERIÁL A METÓDY

Na zistenie vytýčených cieľov práce sme celkovo v období rokov 2005-2009 vyšetrili 1033 individuálnych vzoriek surového ovčieho mlieka z fariem situovaných v regiónoch Slovenska.

Z jednotlivých vzoriek mlieka, sme objem 0,1 ml inokulovali na povrch Baird-Parkerovho agaru (HiMedia, India). Platne sme inkubovali za aeróbnych podmienok pri teplote 37 °C a vyšetrili po 24 a 48 hod. na bakteriálny rast stafylokokov (EN ISO 6888-1:1999). Identifikácia baktérií bola založená na typickom raste stafylokokov na Baird-Parkerovom agare. Suspektné kolónie sme prekultivovali na krvný agar obsahujúci 5 % baraních erytrocytov a inkubovali 24 hod. pri teplote 37 °C. Tieto 24 hod. kultúry sme použili na ďalšie testy. Gram pozitívne, katalázopozitívne koky sme identifikovali na základe Staphytestu 16 (Lachema Brno, ČR). Prítomnosť voľnej koagulázy sme testovali skúmkavkovou reakciou pomocou Sevatestu Stafylo PK (Imuna, Šarišské Michaľany) v 0,1 ml 18-20 hodinovej bujónovej kultúry vyšetřovaného kmeňa stafylokokov. Hodnotili sme rýchlosť a kvalitu koagulátu. Za pozitívnu reakciu sme považovali vytvorenie koagulátu do 6 hodín.

Na konfirmáciu izolátov *S. aureus* sme použili molekulárne metódy. Celkovú genomickú DNA sme izolovali z bujónovej kultúry *S. aureus* metódou podľa Hein et al. (2005). Na identifikáciu *S. aureus* sme použili multiplexovú PCR (Martineau et al., 1998; Strommenger et al., 2003).

Na detekciu enterotoxínových génov *sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see* sme použili metódu podľa Sharma et al. (2000). Ako pozitívne kontroly pre PCR sme použili tieto referenčné kmene: *S. aureus* CCM 5756 (*sea* gén), *S. aureus* CCM 5984 (*sec* gén), *S. aureus* CCM 5972 (*see* gén) (Česká kolekcia mikroorganizmov, Brno).

PCR produkty sme analyzovali pomocou elektroforézy v 1 % agarózových géloch (Invitrogen), ponorených v TAE tlmivom roztoku (Sambrook et al., 1989).

Na štatistické spracovanie nami zistených údajov bola použitá analýza rozptylu ANOVA (GraphPad Prism 5).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Zástupcovia rodu *Staphylococcus* (čľaď *Staphylococcaceae*) sú Gram pozitívne, aeróbne alebo fakultatívne anaeróbne, nepohyblivé, nesporulujúce a neopuzdrené koky, ktoré majú charakteristickú veľkosť 0,5 – 1,5 μm a usporiadanie do retiazok alebo zhlukov pripomínajúcich strapce hrozna (Bednář et al., 1999; Biggs, 2009). Podľa produkcie voľnej koagulázy sa stafylokoky delia na koagulázopozitívne (KPS): *S. aureus* subsp. *anaerobicus*, *S. aureus* subsp. *aureus*, *S. delphini*, *S. hyicus*, *S. intermedius*, *S. lutrae*, *S. schleiferi* subsp. *coagulans* a koagulázonegatívne (KNS): *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *haemolyticus*, *S. hominis* subsp. *novobiosepticus*, *S. lugdunensis*, *S. cohnii* subsp. *cohnii*, *S. cohnii urealyticus*, *S. xylosus*, *S. caprae*, *S. simulans*, *S. warneri*, atď.. Významný je najmä *S. aureus*, ale v poslednom čase narastá aj význam KNS v stádach bahnic, vzhľadom k ich možnému pôsobeniu pri vzniku subklinických mastitíd oviec.

Klasickým mikrobiologickým vyšetrením individuálnych vzoriek ovčieho mlieka sme spolu izolovali 629 Gram pozitívnych a katalázopozitívnych kokov, ktoré sme na základe výsledkov na prítomnosť voľnej koagulázy pomocou skúmvkovej reakcie Sevatestom Stafylo PK rozdelili na dve skupiny (Tab. 1).

Tab. 1 Počet izolátov Gram pozitívnych baktérií izolovaných zo vzoriek surového ovčieho mlieka (n = 629)

Koagulázopozitívne stafylokoky	Koagulázonegatívne stafylokoky
51 (8,11 %)	578 (91,89 %)

Ďalšou identifikáciou, pomocou Staphy testu 16 sme spolu v skupine koagulázopozitívnych stafylokokokov (Tab. 2) identifikovali *S. aureus* (47) a *S. hyicus* (4).

Tab. 2 Druhy koagulázopozitívnych stafylokokokov

Koagulázopozitívne stafylokoky	Počet izolátov (%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	47 (92,16)
<i>Staphylococcus hyicus</i>	4 (7,84)
Spolu	51 (100)

Počet a percentuálne zastúpenie koagulázovonegatívnych stafylokokokov uvádzame v Tab. 3. Z Tab. 3 vyplýva, že zo skupiny KNS sme najčastejšie izolovali *Staphylococcus epidermidis* (33,04%), *Staphylococcus caprae* (21,28%) a ďalej *Staphylococcus chromogenes* (7,44 %), *Staphylococcus hominis* (7,09%), *Staphylococcus xylosus* (6,92 %), a *Staphylococcus warneri* (6,40 %). Ojedinele bol izolovaný *Staphylococcus haemolyticus* (3,11 %), *Staphylococcus capitis* (2,94 %), *Staphylococcus simulans* (2,08 %) a *Staphylococcus saprophyticus* (1,73 %). Sporadicky, vo veľmi ojedinelých prípadoch sme zo vzoriek ovčieho mlieka identifikovali ostatné izoláty *Staphylococcus* spp.: (< 1 %) *Staphylococcus cohnii cohnii*, *Staphylococcus sciuri*, *Staphylococcus closii*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus auricularis* a *Staphylococcus equorum*.

Tab. 3 Druhy koagulázovonegatívnych stafylokokokov

koagulázonegatívne stafylokoky	počet izolátov (%)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	191 (33,04)
<i>Staphylococcus caprae</i>	123 (21,28)
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	43 (7,44)
<i>Staphylococcus hominis</i>	41 (7,09)
<i>Staphylococcus xylosus</i>	40 (6,92)
<i>Staphylococcus warneri</i>	37 (6,40)
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	18 (3,11)
<i>Staphylococcus capitis</i>	17 (2,94)
<i>Staphylococcus lentus</i>	15 (2,59)
<i>Staphylococcus simulans</i>	12 (2,08)
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	10 (1,73)
<i>Staphylococcus cohnii cohnii</i>	5 (0,87)
<i>Staphylococcus sciuri</i>	5 (0,87)
<i>Staphylococcus closii</i>	4 (0,69)
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	4 (0,69)
<i>Staphylococcus auricularis</i>	2 (0,35)
<i>Staphylococcus equorum</i>	1 (0,17)
Spolu	578 (100)

Z našich výsledkov vyplýva, že zastúpenie jednotlivých druhov stafylokokokov vo vzorkách surového ovčieho mlieka pravdepodobne súvisí s rôznymi klimatickými, pôdnymi podmienkami danými v jednotlivých oblastiach chovu oviec, ako aj dodržiavanými zootechnickými a zoohygienickými podmienkami chovu oviec, získavania, prvotného ošetrovania a spracovania mlieka v podmienkach Slovenska. Pri hodnotení hygienických podmienok pri dojení sme mohli konštatovať, že tieto boli na väčšine produkčných hospodárstiev a salašov splnené. Len vo výnimočných prípadoch sme zistili, že sa nevykonáva primárna toaleta vemena a neoddeľujú sa prvé streky mlieka. Na zachytávanie prvých strekov mlieka sa veľmi ojedinele používa špeciálna nádoba s čiernym dnom, resp. sa prvé streky vydávajú do osobitného vedra, určeného na tento účel. Väčšina producentov odstrekuje prvé streky mlieka na zem, a to v priestore vyhradenom na priame dojenie oviec.

Dezinfekcia strukov bahnic po ukončení dojenia sa vykonáva len u bahnic, ktorých mliečna žľaza sa dojičovi javí ako zmenená. (napr. viditeľné poranenie kože mliečnej žľazy, lézie na mliečnej žľaze, zatuhnutie parenchýmu).

Burdová et al. (2007) uvádzajú, že práve dezinfekcia strukov po dojení schváleným dezinfekčným prípravkom je významným krokom, ktorý redukuje prestup mikroorganizmov cez strukový kanál do cisterny, resp. ďalej do parenchýmu vemena po ukončení dojenia, kedy je sfinkter strukového vývodu otvorený najmenej 30 minút.

Používanie princípov toalety vemena, ktoré popisujú Burdová et al. (2007) pri zvyšovaní kvality kravského mlieka na farme platia aj pre bahnice. Dodržanie všetkých hygienických zásad pri dojení bude mať vždy za následok získania vysokokvalitného mlieka a zníženie finančnej straty pri získavaní a prvotnom ošetrovaní ovčieho mlieka v poľnohospodárskej prvovýrobe. Paape et al. (2001), Contreras et al. (2003) uvádzajú, že u malých prežúvavcov sa dezinfekcia strukov vykonáva len u vysoko infikovaného stáda. Pritom kontrola kvality

dezinfekčného používaného prípravku je tiež veľmi dôležitá, pretože niektoré vzplanutia mastitíd poukázali na nedostatočnú dezinfekciu, následkom čoho došlo napr. u oviec k vzniku mastitíd baktériou *Serratia marcescens* (Tzora a Fthenakis, 1999).

Prítomnosť *S. aureus* v mlieku, sa dáva do pozornosti nielen z dôvodu možného vzniku kontagiózneho mastitídy oviec, ale aj z dôvodu možnej produkcie stafylokokových enterotoxínov, ktoré sú nebezpečné pre ľudí.

Zistilo sa, že aj stafylokoky iné ako *Staphylococcus aureus* môžu za určitých podmienok produkovať enterotoxíny (Laffan et al., 1996; Udo et al., 1999). Druhy, ktoré sú menej obvykle označované ako patogénne zahŕňujú *Staphylococcus cohnii*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus schleiferi*, *Staphylococcus simulans* a *Staphylococcus warneri*.

Druhy stafylokokov, ktoré sú ojedinele izolované u pacientov v humánnej medicíne sú *Staphylococcus auricularis*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus carnosus*, *Staphylococcus lentus* a *Staphylococcus xylosus*. Koagulázonegatívne stafylokoky izolované zo zdrojov zvierat zahŕňujú *Staphylococcus arlettae*, *Staphylococcus caprae*, *Staphylococcus carnosus*, *Staphylococcus caseolyticus*, *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus equorum*, *Staphylococcus gallinarum*, *Staphylococcus hyicus* (koagulázo variabilný), *Staphylococcus kloosii*, *Staphylococcus lentus* a *Staphylococcus sciuri* a *Staphylococcus intermedius* (Edwards et al., 1997; Bautista et al., 1988), pričom *Staphylococcus*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus simulans* a *Staphylococcus chromogenes* patria medzi najčastejšie izolované KNS pri perzistujúcich intramamárných infekciách oviec a kôz (Contreras et al., 2003; Bergonier et al., 2003).

Výskyt KNS v individuálnych vzorkách ovčieho mlieka môže signalizovať výskyt subklinickej mastitídy v stáde oviec, nakoľko táto skupina mikroorganizmov predstavuje vysoko prevalentné patogény podieľajúce sa na vzniku tohto ochorenia. Aj keď KNS sú menej patogénne ako *S. aureus*, práve KNS môžu vyvolávať perzistentne sa vyskytujúcu subklinickú mastitídu (Contreras et al., 1997, Ariznabarreta et al., 2002). Navyše, patogenita KNS vyvolávajúca intramamárne infekcie u malých prežúvavcov je veľmi rozdielna a pritom nie je mechanizmus patogenity subklinických infekcií dostatočne známy (Gonzalo et al., 2002; Winter et al., 2002; Leintner et al., 2004).

Z vyšetrených vzoriek surového ovčieho mlieka sme izolovali kmene *S. aureus*, z ktorých 35 izolátov bolo nositeľmi stafylokokových enterotoxínových génov *sea* (4 %), *sec* (48 %) a *sed* (48 %). Holečková et al. (2002) uvádzajú vo svojich prácach vysokú variabilitu v detekcii enterotoxínových génov PCR metódou. Tkáčiková et al. (2003) izolovali z 87 izolátov *S. aureus* zo vzoriek ovčieho syra tri enterotoxínové gény (*seb*, *sec*, *sed*), a to vo frekvencii *sec* 33,3 %, *sec* 33,3 % a *sec* + *sed* 33,3 %. Výsledky poukazujú na to, že väčšina enterotoxín pozitívnych stafylokokov je nositeľmi génov pre produkciu enterotoxínov typu *sec* a *sed*.

Z dosiahnutých výsledkov vyplýva, že stafylokoky sa v surovom ovčom mlieku vyskytujú pravidelne, sú rôzneho biotypu a môžu sa podieľať na vzniku

subklinických mastitíd u oviec. Rovnako sa ukázalo, že potvrdené izoláty *S. aureus* z ovčieho mlieka sú nositeľmi enterotoxínových génov *sec*, *sed* a *sec* + *sed* takmer v rovnomernom zastúpení.

Mlieko a mliečne výrobky predstavujú vhodné médium pre rast patogénnych mikroorganizmov, nevynímajúc enterotoxigénne kmene *Staphylococcus aureus*. Už Minor a Marth (1976) zhrnuli vo svojej práci informácie o prítomnosti *Staphylococcus aureus* a jeho syntéze enterotoxínov v mlieku a mliečnych výrobkoch. Táto práca zahŕňa diskusiu nielen o možných stafylokokových enterotoxikózach, ale aj o faktoroch, ktoré ovplyvňujú rast stafylokokov a produkciu enterotoxínov. Mlieko sa nepodieľa na vzniku veľkého počtu ochorení na rozdiel od iných druhov mliečnych výrobkov, ako napr. sušené mlieko a syry. Nedávna stafylokoková enterotoxikóza v Japonsku ale potvrdila, že aj pasterizované mlieko môže predsa byť príčinou hromadnej stafylokokovej enterotoxikózy, a to v prípade, ak sa hrubo zanedbá úroveň sanitácie v mliekarenskom závode. Z toho vyplýva, že problematike kvality a bezpečnosti ovčieho mlieka sa musí venovať veľká pozornosť zo strany kontrolných orgánov. Ovčie mlieko predstavuje veľmi cennú surovinu v zmysle svojho spracovania predovšetkým na hrudkový syr a bryndzu. Bryndza získava na popularite a atraktivnosti nielen na slovenskom území, ale aj v ďalších členských krajinách EÚ. Získané poznatky sú využiteľné priamo v praxi, pretože poskytujú ucelený prehľad o výskyte KNS stafylokokov v oblasti Slovenska, kde je najviac sústredené získavanie a spracovanie ovčieho mlieka na hrudkový syr a bryndzu.

Z hľadiska dodržiavania hygienického spôsobu získavania a spracovania ovčieho mlieka je potešiteľné, že spracovatelia ovčieho mlieka poznajú základné hygienické pravidlá získavania a spracovania ovčieho mlieka a vo väčšine prípadov ich aj dodržiavajú. Aj pri ručnom dojení oviec sa možno stretnúť s používaním utierok na očistenie vemena pred dojením, s odstriekavaním prvých strekov mlieka a zmyslovým posúdením mlieka, ktoré sú rutinnou záležitosťou pri strojovom dojení bahníc, rovnako ako dezinfekcia strukov po ukončení dojenja, aj keď v tomto prípade je tento úkon používaný len v prípade viditeľných klinických zmien na mliečnej žľaze.

S dodržiavaním hygienického programu dojenja súvisí aj mikrobiologická kvalita surového ovčieho mlieka, ktorá sa následne odrazí v kvalite finálneho výrobku, t. j. ovčieho hrudkového syra, resp. bryndze. V čerstvo nadojenom mlieku získanom od zdravých oviec možno zistiť nasledovné skupiny mikroorganizmov: mikrokoky z vemena oviec; mikroorganizmy, ktoré nevyvolávajú zmeny mlieka a nie sú nebezpečné pre človeka. V ojedinelých prípadoch môžu na povrchu mlieka vyvolať rôzne farebné zmeny, ako napr. *Pseudomonas* spp., *Sarcina* spp., *Saccharomyces* spp.). Dôležitú skupinu tvoria baktérie mliečného kvasenia, najmä rod *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, ktoré majú význam z hľadiska zabezpečenia správneho priebehu kvasenia a zrenia hrudkového syra. Pri predzretí ovčieho hrudkového syra pôsobia najmä baktérie typu *Streptococcus lactis* a *Lactobacillus* spp. a syr dosahuje pH 4,9. Vlastné zrenie môže mať primárny charakter, kedy dochádza k štiepeniu bielkovín a sekundárny, pri ktorom dochádza k oxidácii kyseliny mliečnej, ale aj k štiepeniu

tuku a bielkovín. Okrem toho, počas vlastného zrenia dochádza k rastu a enzymatickej činnosti mikroskopických húb rodu *Geotrichum*, kvasiniek a aeróbných baktérií na povrchu syra a anaeróbných baktérií vo vnútri syra. Činnosťou celej tejto širokej skupiny mikroorganizmov sa v priebehu zrenia syra vytvárajú charakteristické senzorické vlastnosti syra. V prípade nedodržania hygienických podmienok pri získavaní a ošetrovaní a spracovaní ovčieho mlieka na hrudkový syr sa môžu nachádzať v ovčom mlieku nežiaduce mikroorganizmy, ktoré možno charakterizovať ako nežiaduce z hľadiska technologického a nežiaduce z hľadiska hygienického. Svojou prítomnosťou a činnosťou môžu vyvolať rôzne chyby ovčieho hrudkového syra. Do tejto skupiny mikroorganizmov môžeme zaradiť koliformné baktérie ako indikátor nedostatočnej hygieny pri získavaní a ošetrovaní ovčieho mlieka, hnilobné baktérie, sporujúce aeróbne a anaeróbne baktérie, plesne a kvasinky iné ako *Geotrichum candidum*. Poslednú skupinu tvoria patogénne mikroorganizmy (najmä *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Shigella* spp., *E. coli*, *Staphylococcus aureus*), ktoré sa môžu v ovčom mlieku vyskytovať v prípade hrubého porušenia zásad správnej výrobných praxe a môžu byť príčinou vzniku alimentárnych toxikoinfekcií a enterotoxikóz (**Dudriková, 2000**).

Okrem koliformných baktérií zo surového ovčieho mlieka možno najčastejšie izolovať stafylokoky, a to najmä *S. capitis*, *S. caprae*, *S. cohnii cohnii*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* *S. hominis*, *S. chromogenes*, *S. saprophyticus*, *S. sciuri*, *S. simulans*, *S. warneri*, *S. xylosum*, *S. aureus*. V ojedinelých prípadoch možno v ovčom mlieku izolovať napr. *Aerococcus viridans*, *Micrococcus luteus*, *Lactobacillus lactis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Pantotaea* spp. a pod. Z mikroskopických vláknitých húb v ovčom mlieku sa zisťujú najmä rody *Cladosporium*, *Penicillium* a *Acremonium*, *Aspergillus*, *Microsporium*, *Paecilomyces* a *Scopulariopsis*.

Uvedené skupiny mikroorganizmov, ktoré tvoria typickú i netypickú mikroflóru surového ovčieho mlieka netreba v žiadnom prípade podceňovať. V mnohých prípadoch možno nález nežiaducich skupín mikroorganizmov dať do súvislosti s hygienickými podmienkami na jednotlivých salašoch.

Najčastejšie chyby z hygienického hľadiska, ktoré sme zistili na salašoch boli pavučiny tak v ustajňovacích priestoroch, ako aj v dojárnach a mliečniciach, nedostatočné utesnenia dverí a okien, prítomnosť nežiaduceho hmyzu, najmä múch, špinavé podlahy a steny, v horúcom letnom období vyššie teploty v skladoch určených na zretie syra ako je povolená norma, nedostatočná hygiena zamestnancov, nedostatočná čistota tela dojných oviec.

ZÁVER

Naše výsledky poukazujú na to, že v chovoch oviec sa na Slovensku najviac izolujú koagulázovo negatívne stafylokoky, ktoré pri nedodržaní všetkých hygienických zásad získavania, prvotného ošetrovania a spracovania ovčieho mlieka môžu predstavovať problém najmä v zmysle vzniku perzistentných subklinických mastitíd oviec.

Na druhej strane, pomerne nízky výskyt *S. aureus* v nami odobratých individuálnych vzorkách surového ovčieho mlieka, z ktorých až 35 izolátov bolo nositeľmi stafylokokových enterotoxínových génov *sea* (4 %), *sec* (48 %) a *sed* (48 %) naznačuje, že je potrebné tejto problematike venovať pozornosť aj naďalej, pretože v prípade nedodržania podmienok spracovania mlieka a najmä doby zretia hrudkového ovčieho syra môže v syre dochádzať k takému pomnoženiu baktérie *S. aureus*, ktoré bude mať za následok tvorbu stafylokokových enterotoxínov.

LITERATÚRA

- ARIZNABARETTA, A., GONZALO, C., PRIMITIVO, F. S. 2002. Microbiological quality and somatic cell count of ewe milk with special reference to staphylococci. In *J. Dairy Sci.*, vol. 85, 2002, p. 1370-1375.
- BAUTISTA, L. et al. 1988. A quantitative study of enterotoxin production by sheep milk staphylococci. In *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 54, 1988, 56-65.
- BEDNÁŘ, M., FRAŇKOVÁ, V., SCHINDLER, J., SOUČEK, A., VÁVRA, J. 1996. *Lékařská mikrobiologie*. Praha, Marvil, ISBN 80 217 0282 6.
- BERGONIER, D., BERTHELOT, X. 2003: new advances in epizootology and control of ewe mastitis. In *Livestock Prod. Sci.*, vol. 79, 2003, p. 1-16.
- BIGGS, A. 2009. *Mastitis in cattle*. Crowood Press Ltd. Ramsbury, Marlborough. ISBN 978 1 84797 0 71 8.
- BURDOVÁ, O., LAUKOVÁ, A., KORÉNEKOVÁ, B., BARANOVÁ, M., BENGIN, V., PAŽÁKOVÁ, J. 2007. *Staphylococcus aureus* – biologické riziko v procese zretia hrudkového syra. IN: Zb. Hygiena Alimentorum XXVIII. Štrbské Pleso, 2.-4. mája 2007, p. 248-253.
- CASALI, C., DURANTI, E., MORBINI, L., PANELLA, F., VIZIOLI, V. 1989. Quantitative and compositional variations of Massese sheep milk by parity and stage of lactation. In *Small Ruminant Res.*, vol. 2, 1989, p. 47-62.
- CONTRERAS, A., CORRALES, J. C., SÁNCHEZ, A., SIERRA, D. 1997. Persistence of subclinical intramammary pathogens in goats throughout lactation. In *J. Dairy Sci.*, vol. 80, 1997, p. 2815-2819.
- CONTRERAS, A., LUENGO, C., SÁNCHEZ CORRALES, J. C. 2003. The role of the intramammary pathogens in dairy goats. In *Livestock Prod. Sci.*, vol. 79, p. 273-283.
- DARIO, C., LAUDADIO, V., BUFANO, G. 1995. Characteristics of Leccese sheep. II. Quantitative and qualitative variations in milk during lactation. In *Latte*, 20, 1995, 1266-1269.
- LEINTNER, G., CHAFFER, M., SHAMAY, A., SHAPIRO, F., MERIN, U., EZRA, E., SARAN, A., SILANIKOVE, S. 2004. Changes in milk composition as affected by subclinical mastitis in sheep. In *J. Dairy Sci.*, vol. 87, 1995, p. 46-52.
- DUDRIKOVÁ, E. 2000. Vplyv mikrobiálnej kontaminácie mlieka a reziduí niektorých antibiotík na hygienickú a technologickú kvalitu surového kravského mlieka. Habilitačná práca, Košice, 2000, 169 p.
- EDWARDS, V.M. et al. 1997. Characterization of the canine type C enterotoxin produced by *Staphylococcus intermedius* pyoderma isolates. In *Infect. Immun.*, 65, p. 2246-2352.
- FENYVESSY, J., CSANADI, J. 1999. Nutritional evaluation of components of small ruminants' (ewe's, goat's) milk. In *Tejgazdasag*, vol. 59, 1999, p. 23-26.

- GONZALO, C., ARIZNABARRETA, A., CARRIEDO, J. A., PRIMITIVO, F. S. 2002. Mamary pathogens and their relationship to somatic cell count and milk yield losses in dairy ewes. In *J. Dairy Sci.*, vol. 85, p. 1460-1467.
- HARDY, G. 2000. The nutritional value of sheep milk: a natural supplement for clinical nutrition. In: Proceed. Int. Development Strategy for the Sheep and Goat Dairy Sector, Nicosia, Cyprus, April 13-14, 2000, Brit. Sheep Dairy News, vol. 17, no 1, p. 23-24.
- HEIN, I., JØRGENSEN, H. J., LONCAREVIC, S., WAGNER, M. 2005. Quantification of *Staphylococcus aureus* in unpasteurised bovine and caprine milk by real-time PCR. In *Res. Microbiol.*, 156, p. 554-563.
- HERIAN, K. 2007. Súčasnosť a perspektíva ovčieho a kozieho mliekarstva na Slovensku. In: Zborník Hygiena Alimentorum XXVIII, Štrbské Pleso - Vysoké Tatry, 2., 4. máj, 2007, s. 51-57.
- HOLEČKOVÁ, B., HOLODA, E., FOTTA, M., KALINÁČOVÁ, V., GONDOL, J., GROLMUS, J. 2002. Occurrence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in food. In *Ann. Agric. Environ. Med.*, vol. 9, p. 179-182.
- LAFFAN, J. J., PETRAS, P., LAMBE, D.W. Jr. 1996. A high molecular weight protein from *Staphylococcus intermedius* cross-reacts with *Staphylococcus aureus* enterotoxin enterotoxin antibodies. In *Microbios*, vol. 88, 1996, p. 237-251.
- MARGENTÍN, M. 1996. Present state in sheep breeding in Slovakia, with regard to somatic cell counts. In: Proceed. Int. Symposium Somatic cells and milk of small ruminants. Bella, Italy, Sept. 25-27, 1996, p. 321-322.
- MARTINEAU, F. et al. 1998. Species-specific and ubiquitous-DNA-based assays for rapid identification of *Staphylococcus aureus*. In *J. Clin. Microbiol.*, vol. 36, p. 618-623.
- MINOR, T. E., MARTH, E. H. 1976. Staphylococci and their significance in food. Theodor E. Minor and Elmer H. Marth Elsevier Scientific Pub. Co., Amsterdam, New York, ISBN 13 9780 4444 13390.
- PAAPE, M. J., POULTREL, B., CONTRERAS, A., MARCO, J. C., CAPUCO, A. V. 2001. Milk somatic cells and lactation in small ruminants. *J. Dairy Sci.*, vol. 84 (Suppl.), 2001, p. E237-E244.
- POSATI, L. P., ORR, M. L. 1976. Composition of foods, dairy and egg products. USDA-ARS, Consumer & Food Economics Inst. Publ., Washington, D.C., Agr. Handbook, No. 8-1, p. 77-109.
- SAMBROOK, J., FRITSCH, E. F., MANIATIS. T. 1989. *Molecular Cloning: A laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory. Cold Spring Harbor. New York, 253 p.
- STROMMINGER, B., KETTLITZ, C., WERNER, G., WITTE, W. 2003. Multiplex PCR assay for simultaneous detection of nine clinically relevant antibiotic resistance genes in *Staphylococcus aureus*. In *J. Clin. Microbiol.*, vol. 41, p. 4089 – 4094.
- TKÁČIKOVÁ, Ľ., TESHAYE, A., MIKULA, I. 2003. Detection of genes for *Staphylococcus aureus* enterotoxin by PCR. In *Acta Vet. Brno*, vol. 72, 2003, p. 627-630.
- TZORA, A., FTHENAKIS, G. C. 1999. Mastitis associated with *Serratia marcescens* in dairy ewes. In 6th International Symposium on the milking small ruminants. Atenas (Grecia). Milking and milk production of dairy sheep and goats. Ed. Barillet, F., Zervas, N.P., Wageningen Pers., p. 142-143.
- UDO, E. E., AL-BUSTAN, M. A., JACOB, L. E., CHUGH, T. D. 1999. Enterotoxin production by coagulase-negative staphylococci in restaurant workers from Kuwait City may be a potential case of food poisoning. In *J. Medical Microbiol.*, vol. 48, 1999, p. 819-823.
- WINTER, P., SCHILCHER, F., BAGO, Z., SCHODER, D., EGERBACHER, M., BAUMGARTNER, W., WAGNER, M. 2004. Clinical and histopathological aspects of naturally occurring mastitis caused by *Listeria monocytogenes* in cattle and ewes. In *J. Vet. Med., Series B* 51, 2004, p. 176-179.

Pod'akovanie: práca bola riešená o.i. aj projektom KEGA MŠ SR č. 3/128-001UVL-4/2010 a VEGA VEGA MŠ SR č. 1/0638/09.

Kontaktná adresa:

doc. MVDr. Eva Dudriková, PhD., University of Veterinary Medicine and Pharmacy, Institute of Hygiene and technology of milk, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovakia, e-mail: dudrikova@uvm.sk

MVDr. Lucia Poľáková, University of Veterinary Medicine and Pharmacy, Institute of Hygiene and technology of milk, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovakia, e-mail: polakova@uvm.sk

MVDr. Pukáčová Jana, Regional Veterinary and Food Administration Dolný Kubín, Pelhřimovská 2055/7, 02601 Dolný Kubín, Slovakia, e-mail: jana.pukacova@gmail.com