

## Antibiotici u mleku

Kako je mleko osnovna hrana razumljivo je da je zdravstvo neobično zainteresirano za njegovu kvalitetu, ali se pojavom antibiotika mnogo toga izmenilo u pozitivnom i negativnom smislu. Otkako se mastitis\* kod krava počeo lečiti antibioticima nastali su i novi problemi, kako u zdravstvu, tako i u mlekarskoj industriji. Skorija istraživanja pokazala su da procenat mleka i mlečnih proizvoda, koji sadržavaju penicilin i druge antibiotike, nije tako malen. Penicilin se najviše upotrebljava u lečenju mastitisa kod krava, iako se danas dosta primenjuju i drugi antibiotici kao: streptomycin, neomicin i tetraciklini. Prisustvo antibiotika moguće je otkriti u mleku i posle 72 časa od zadnjeg lečenja. Pasterizacija ne razara i ne inaktivira antibiotike.

U SAD npr. otkriveno je god. 1956. da je od 1706 uzoraka mleka 5,9% sadržavalo oko 0,5 i. j./ml penicilina, odnosno oko 500 i. j. na liter. Stručnjaci su mišljenja da se ova koncentracija antibiotika u mleku ne može smatrati štetnom u smislu izazivanja rezistencije, ali da tragovi antibiotika mogu senzibilizirati ljude i izazvati alergične promene kod osetljivih ljudi.

U biltenu Svetske zdravstvene organizacije iz god. 1958. statistički je obrađeno 2.500.000 bolesnika, od kojih je svaki primio 1—25 injekcija penicilina. Utvrđeno je da je 2% imalo alergične reakcije od kojih je 40 slučajeva bilo praćeno čak i anafilaktičnim šokom. U vezi s tim, kako se mleko i mlečni proizvodi troše u velikim količinama, to oni mogu biti stalni potencijalni izvor antibiotika i senzibilizacije ljudi prema antibioticima, a naročito prema penicilinu.

S druge strane ne smiju se podceniti ni tehnološki problemi koji nastaju u vezi sirenja, pripreme jogurta i mlečnih fermentiranih proizvoda usled prisustva antibiotika u mleku.

### Kako se manifestuje prisustvo antibiotika u mleku

Kontaminacija svežeg mleka s antibioticima predstavlja ozbiljan problem, jer može sprečiti normalno stvaranje mlečne kiseline, odnosno i sam rast radnih kultura. Tako su mnogi autori zapazili da je, zbog prisustva tragova antibiotika kod nekih sireva kiselost nedovoljna, a time se podstiče rast koliformnih bakterija, i kao posledica stvara se gas i loš ukus. Po pravilu niska koncentracija penicilina kod većine sireva izaziva lošu konzistenciju sira i nadimanje.

Koncentracija antibiotika u mleku kod lečenih krava varira i ovisna je o fiziološkom stanju krave i stanju vimena, odnosno sise, jer bolesne sise izlučuju više antibiotika. Nadalje je koncentracija ovisna još i o količini odnosno dozi antibiotika koja se ubrizgava oboljeloj kravi. Što je doza veća, to je i koncentracija antibiotika u mleku veća. Zatim, ona je ovisna i o periodu laktacije, tj. što je više mleka i koncentracija antibiotika je veća. Ovisna je još i o obliku penicilina koji dajemo, jer ako se daju tzv. depo-penicilini, kao što su prokain i benzatin penicilini, onda se penicilin sporije izlučuje i u manjim koncentracijama ali zato kroz duže vremensko razdoblje nego što je to slučaj s kalijevom ili natrijevom soli penicilina.

Danski autori prvi su ispitali i utvrdili god. 1951. da se penicilin izlučuje u mleku već posle 12 sati od njegova ubrizgavanja u koncentraciji od 5—20 i. j./ml.

\* zapaljenje vimena

## Osetljivost pojedinih bakterija na antibiotike

Mikroorganizmi koji se koriste u sirarstvu ili tehnologiji mleka uopšte, više ili manje su osetljivi na penicilin, što se vidi iz tabele 1.

Tabela 1

Kritična koncentracija penicilina u mleku prema pojedinim bakterijama

Vrsta bakterija	Koncentracija penicilina koja znatno sprečava njihov rast i. j./ml.
<i>Streptococcus cremoris</i>	0,05—0,10
<i>Streptococcus lactis</i>	0,10—0,30
mešana kultura streptokoka	0,10
<i>Streptococcus thermophilus</i>	0,10—0,05
<i>Streptococcus faecalis</i>	0,30
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	0,30—0,60
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	0,30—0,60
<i>Lactobacillus casei</i>	0,30—0,60
<i>Lactobacillus lactis</i>	0,25—0,50
<i>Lactobacillus helveticus</i>	0,25—0,50
<i>Leuconostoc citrovorum</i>	0,05—0,10
<i>Propionibacterium shermanii</i>	0,05—0,10

(Prema: Korsikovski F. V. i Mocquot G., Progrès de la technologie du fromage, Roma, 1958).

Iz tabele 1 vidi se da su laktobacili otporniji prema peniclinu od streptokoka. Slično delovanje imaju i ostali antibiotici.

Maló je poznato iz literature o kritičnim koncentracijama antibiotika u mleku koje su nepovoljne za proizvodnju sireva. Ovo je sasvim razumljivo s obzirom na specifičnost pojedinih radnih kultura, koje se koriste u proizvodnji raznih sireva, te je prema tome i koncentracija antibiotika specifična za svaku vrstu sira. Npr. sirevi koji se dobivaju s pomoću propionskih bakterija kao ementalac, grijer i dr., ne bivaju oštećeni za vreme zrenja, ukoliko koncentracija penicilina ne prelazi 0,005 i. j./ml. Međutim, pri koncentraciji od 0,01 i. j./ml. mleka mogu se pojaviti poteškoće a dolazi i do oštećenja. Ova osetljivost pri zrenju potiče u stvari od osetljivosti *L. bulgaricus* i *Str. thermophilus*, koji igraju veliku ulogu pri zrenju.

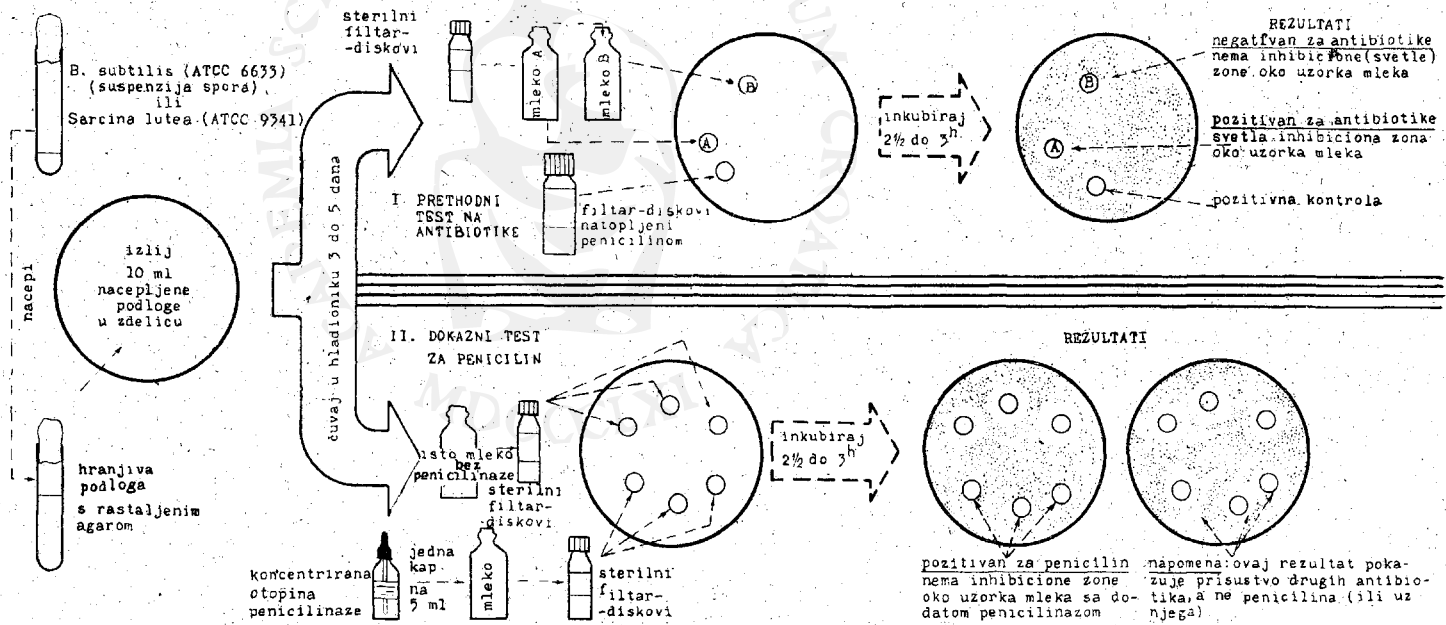
### Otkrivanje antibiotika u mleku

Sve veća primena antibiotika u lečenju mastitisa kod krava zahteva potrebu da se pronađu najpogodnije metode za utvrđivanje prisustva antibiotika u mleku i mlečnim proizvodima. U vezi s tim istraživalo se u dva pravca: indirektna, brza metoda za otkrivanje antibiotika u mleku pri mužnji posle primene antibiotika u lečenju obolelih krava; i druga, direktna metoda za otkrivanje rezidualnog antibiotika u konzumnom mleku.

Prva, indirektna metoda bazirana je na principu ubrizgavanja antibiotika oboleloj kravi uz primenu fiziološki inaktivnih boja. U ovom pravcu se radilo malo.

Direktna metoda obuhvata mikrobiološke i fiziko-hemiske metode. Među fiziko-hemiskim metodama primenjuje se spektrofotometrija, kolorimetrija i kromatografija. Mikrobiološke metode su najinteresantnije i najčešće su u upotrebi. U principu koriste se tečne i krute podloge.

POSTUPAK OTKRIVANJA PENICILINA U MLEKU



a) Metode koje koriste tečne hranjive podloge:

Princip ove metode zasniva se na dokazu usporenog kiseljenja ili izostanka kiseljenja i grušanja (koagulacije) mleka u kojem se nalaze antibiotici, jer se u principu kao podloga koristi samo mleko.

Sam test provodi se na ovaj način: 10 ml uzorka mleka zagrije se 5 minuta na 85°C i ohladi, a potom nacepi (inokulira) s radnim kulturama koje su osetljive na antibiotike koje želimo dokazati, a koje su sposobne da izazovu brzo kiseljenje i koagulaciju mleka pod normalnim uslovima. U toku inkubacije na određenoj temperaturi, optimalnoj za rast test-organizama, gleda se svakih 20 minuta i ukoliko su antibiotici u mleku prisutni normalno vreme kiseljenja, odnosno, koagulacije mleka bit će ili produženo, ili će potpuno izostati. Na ovaj način mogu se otkriti koncentracije penicilina od 0,05—0,01 i. j./ml, streptomicina 2—0,25 mikrogr./ml, klortetraciklina 4—0,06 mikrogr./ml i kloramfenikola od 2—0,03 mikrogr./ml. Ova se metoda najčešće kombinira s indikatorima kao što su metilensko modriilo, bromkrezol-purpur, tetrazolklorid, rezaurin itd. Kao test-organizmi koriste se **Str. thermophilus**, **L. bulgaricus**, **Str. lactis** i **Str. cremoris**.

b) Druga metoda koja koristi krute podloge je tzv. difuziona metoda (cilinder ili disk).

Metoda se zasniva na tome, da se papirni filter-diskovi, koji sadržavaju antibiotike stave na ravni agar, prethodno nacepljen osetljivim test-organizmom na antibiotike (**Bacillus subtilis**, **Staphilococcus aureus**, **Sarcina lutea** itd.). Posle određenog vremena inkubacije oko diska, odnosno cilindra, stvara se svetla zona. Antibiotik difundira radijalno kroz agar i sprečava rast mikroorganizama, stvaraju se svetle, inhibicione zone gde se bakterije ne razvijaju. Veličina prečnika zone je proporcionalna koncentraciji antibiotika. Kao test-organizmi služe sojevi iz nekih nacionalnih kolekcija mikroorganizama, kao npr. ATCC (American Type Culture Collection).

Način izvođenja testa: u 100 ml otopljene podloge s agarom zagrejane na 50°C doda se 1 ml 24 sata stare tekuće kulture test-organizma. Po 10 ml ove tople mešavine razlije se u sterilne Petrijeve zdelice i ostavi da se ohladi i skrutne. S pomoću pincete stavljaju se tada na agar diskovi već natopljeni poznatim koncentracijama antibiotika koji se ispituje, ili natopljeni mlekom koje je prethodno zagrejano na 82°C kroz 5 minuta. Tako se poreda nekoliko diskova veličine 6 mm i inkubira 2½—3 sata na odgovarajućoj temperaturi. Posle se mere diametri inhibicionih zona i prema poznatim koncentracijama izračuna koncentracija antibiotika u uzorku mleka.

### Zaključak

Teško je zamisliti neki efikasan program za borbu protiv rezidualnog prisustva antibiotika u mleku. Uobičajene operacije u mlekarestvu ne mogu razoriti antibiotike, a nešto jače izvršile bi temeljite promene i u samom mleku.

Budući ciljevi trebali bi biti ovi: ograničiti ili neutralizirati efekte antibiotika naučnim metodama ili vaspitnim merama proizvođača i odgovarajućim propisima.

Naučni put za mlekarestvo jest iznalaženje radnih kultura mikroorganizama rezistentnih na antibiotike ili upotreba enzima za inaktivaciju antibiotika (penicilinaza).