

# Mikrobiološki rizici u proizvodnji svježeg sirovog mlijeka

---

**Mrazović, Marijana**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2017**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Veterinary Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:178:056571>

*Rights / Prava:* [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-06**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of Faculty of Veterinary Medicine -  
Repository of PHD, master's thesis](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
VETERINARSKI FAKULTET**

**Marijana Mrazović**

**MIKROBIOLOŠKI RIZICI U PROIZVODNJI SVJEŽEG  
SIROVOG MLJEKA**

**DIPLOMSKI RAD**

**Zagreb, 2017.**

**VETERINARSKI FAKULTET SVEUČILIŠTA U ZAGREBU**  
**ZAVOD ZA HIGIJENU, TEHNOLOGIJU**  
**I SIGURNOST HRANE**

**Predstojnica:**

**Izv. prof. dr. sc. Vesna Dobranić**

**Mentor:**

**Izv. prof. dr. sc. Vesna Dobranić**

**Članovi povjerenstva:**

**1.Prof.dr.sc. Lidija Kozačinski**

**2.Doc. dr.sc. Nevijo Zdolec**

**3.Izv. prof.dr.sc. Vesna Dobranić**

**4.Izv. prof.dr. sc. Željka Cvrtila, zamjena**

# SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. PREGLED LITERATURE.....	3
2.1. Općenito o mlijeku.....	3
2.2. Mikroflora svježeg sirovog mlijeka.....	5
3. VRSTE MIKROORGANIZAMA.....	7
3.1. Psihrotrofna mikrobna populacija.....	8
3.2. Termorezistentna mikrobna populacija.....	10
3.3. Koliformna mikrobna populacija.....	10
3.4. Bakterije mliječne kiseline.....	11
3.5. Kvasci i plijesni.....	11
3.6. Patogeni mikroorganizmi.....	12
4. EFSA-ino MIŠLJENJE O JAVNO ZDRAVSTVENOM RIZIKU OD KONZUMACIJE SVJEŽEG SIROVOG MLIJEKA.....	14
4.1. Moguće opcije kontrole za reduciranje utjecaja na javno zdravlje koje proizlaze iz konzumacije svježeg sirovog mlijeka.....	16
5. SVJEŽE SIROVO MLIJEKO IZ MLJEKOMATA.....	19
6. TRENUTNO STANJE U RH.....	21
7. RASPRAVA.....	25
8. ZAKLJUČCI.....	27
9. LITERATURA.....	28
10. SAŽETAK.....	33
11. SUMMARY.....	34
12. ŽIVOTOPIS.....	35

## **Zahvala**

*Zahvaljujem se mentorici, izv. prof. dr. sc. Vesni Dobranić na ukazanom povjerenju i strpljenju te na iznimnoj pomoći i savjetima prilikom izrade diplomskog rada.*

*Posebna zahvala ide mojim roditeljima i sestrama koji su mi učinili razdoblje studiranja najljepšim u periodu mog obrazovanja, prvenstveno na njihovoj potpori i ohrabrenju prilikom svakog ispita.*

# 1. UVOD

Svježe mlijeko ima različitu mikrobiološku floru u kojoj mogu biti prisutni i patogeni mikroorganizmi koji se mogu prenijeti na ljude, od kojih su najznačajniji *Campylobacter spp.*, *Salmonella spp.*, *E. coli* koja proizvodi shiga toksin (STEC), *Brucella melitensis*, *Mycobacterium bovis* i virus krpeljnog encefalitisa. Interes potrošača za konzumaciju ovog mlijeka je u porastu na području Europske unije jer mnogi ljudi vjeruju u njegove dobrobiti za zdravlje. Prema higijenskim pravilima u EU, države članice mogu zabraniti ili ograničiti stavljanje na tržište svježeg sirovog mlijeka namijenjenog za ljudsku konzumaciju. U nekim zemljama članicama, kao i u Hrvatskoj, dopuštena je prodaja svježeg sirovog mlijeka u mljekomatima, ali potrošačima se uglavnom sugerira da prokuhaju mlijeko prije konzumacije.

Za smanjenje kontaminacije svježeg sirovog mlijeka neophodna je primjena dobre higijenske prakse na farmama, dok je održavanje hladnog lanca važno za sprječavanje ili usporavanje rasta bakterija u mlijeku. Međutim, ovi postupci nisu dovoljni kako bi se rizici isključili. Prokuhavanjem svježeg sirovog mlijeka prije konzumacije na najbolji način možemo uništiti bakterije koje uzrokuju bolesti.

U RH mljekomati su se pojavili unazad nekoliko godina, te do sada nije bilo podataka o mikrobiološkoj i kemijskoj kakvoći svježeg sirovog mlijeka iz mljekomata. Stoga je Znanstveni odbor Hrvatske agencije za hranu potaknuo istraživanje mlijeka iz mljekomata kako bi se utvrdio kemijski sastav (masnoća, proteini, laktoza, suha tvar) svježeg sirovog mlijeka iz mljekomata, ispitala mogućnost ostataka antibiotika i kemoterapeutika, te utvrdilo prisustvo (ili odsustvo) patogenih mikroorganizama.

Stručnjaci iz EFSA-inog Znanstvenog odbora za biološke opasnosti (BIOHAZ) u *Znanstvenom mišljenju o javno zdravstvenim rizicima povezanim sa svježim sirovim mlijekom u EU*, zaključuju kako to mlijeko može biti izvor štetnih bakterija – uglavnom *Campylobacter*, *Salmonella* i *Escherichia coli* koja proizvodi shiga toksin (STEC). U dojenčadi, djece, trudnica, starijih i osoba s oslabljenim imunološkim sustavom veći je rizik od obolijevanja prilikom konzumacije tog mlijeka. Prema europskim statistikama između 2007. i 2013. godine je potvrđeno 27 epidemija ljudi povezanih s konzumacijom sirovog mlijeka (većinom kravljeg te kozjeg), od čega je većina (21) uzrokovana bakterijama roda *Campylobacter*, zatim *Salmonella* (1), STEC (2) i virusom krpeljnog encefalitisa (3) (EFSA,

2015). U Italiji je provedena studija monitoringa sirovog mlijeka iz mljekomata tijekom razdoblja od 2009. do 2011. godine na ukupno 618 uzoraka mlijeka od 112 stada mliječnih krava i iz 131 mljekomata. U testiranim uzorcima utvrđene su *Salmonella spp.* (0,3 %), *E. coli* O:157 (0,2 %), *Campylobacter spp.* (1,5 %) i *Listeria monocytogens* (1,6 %). Nije utvrđen utjecaj sezone, prosječne dnevne temperature, veličine stada, stanice prikupljanja uzoraka ili udaljenosti između stada i mljekomata, no utvrđena je statistički značajna korelacija između prijašnjeg nalaza patogena i ponovne kontaminacije (Bianchi i sur., 2013). U SAD-u i Irskoj opisani su slučajevi listerioze zbog konzumacije sirovog mlijeka (Latorre i sur., 2011, Hunt i sur., 2012), a u Kanadi je prijavljena epidemija zbog prisutnosti *E. coli* u mlječnim proizvodima od sirovog mlijeka (Gaulin i sur., 2012).

Cilj ovog rada jest prikazati mikrobiološke rizike vezane za proizvodnju svježeg sirovog mlijeka na temelju dosadašnjih istraživanja prikazanim od strane EFSA-e te Hrvatske agencije za hrane.

## 2. PREGLED LITERATURE

### 2.1. Općenito o mlijeku

Mlijeko je biološka tekućina vrlo složena sastava žućkasto bijele boje, karakteristična okusa i mirisa, koje izlučuje mliječna žlijezda ženki sisavaca određeno vrijeme nakon poroda. Pod pojmom „mlijeko“ najčešće se podrazumijeva „kravlje mlijeko“, dok se ostale vrste mlijeka moraju istaknuti oznakom: „ovčje“, „kozje“, „bivolje“, „kobilje“, „devino“ ili drugo mlijeko. Navedene vrste mlijeka sadržavaju iste sastojke (tablica 1), ali udjeli i međusobni odnosi sastojaka, te njihova struktura mogu biti vrlo različiti. Zbog toga se vrste mlijeka razlikuju prema prehranbenim, fizikalno- kemijskim i tehnološkim osobinama.

**Tablica 1. Usporedna količina i sastav mlijeka kod pojedinih vrsta sisavaca**

Mlijeko	Ukupni proteini g/L	Kazein g/L	Proteini sirutke g/L	Masti g/L	Ugljikohidrati g/L	Pepeo g/L
Žena	1,2	0,5	0,7	3,8	7	0,2
Kobila	2,2	1,3	0,9	1,7	6,2	0,5
Krava	3,5	2,8	0,7	3,7	4,8	0,7
Bivolica	4	3,5	0,5	7,5	4,8	0,7
Koza	3,6	2,7	0,9	4,1	4,7	0,8
Ovca	5,8	4,9	0,9	7,9	4,5	0,8

(Izvor: Tratnik, 1998)

Kravljeg mlijeka po količini ima najviše te se ono koristi u proizvodnji svih mliječnih proizvoda. Stoga se kravlje mlijeko i najčešće konzumira. Međutim, u prehrani se sve više ističu prednosti kozjeg mlijeka, osobito u osoba alergičnih na proteine kravljeg mlijeka.

Mlijeko žene je savršena hrana za dojenče. Žene koje ne mogu hraniti dojenče vlastitim mlijekom, moraju koristiti industrijsku mliječnu hranu za dojenčad (kravlje mlijeko modificirano prema uzoru na sastav majčinog mlijeka). Međutim, majčino mlijeko, čak i slabije kakvoće, uvijek je bolje od industrijski proizvedene hrane za dojenčad, jer „mlijeko se ne sastavlja, ono se stvara,“ a „stvara“ se iz specifičnih sastojaka koji prelaze iz krvi u mliječnu žlijezdu, gdje se zbivaju vrlo složeni biokemijski procesi sekrecije. Neki se sastojci mlijeka sintetiziraju u mliječnoj žlijezdi od sastojaka koji potječu iz krvi. Tako u vrlo



složenim procesima biosinteze nastaje mliječna mast, mliječni šećer (laktoza) i tipični proteini mlijeka (kazein, alfalaktalbumin i betalaktoglobulin).

Ostali sastojci kao mineralne tvari, enzimi, vitamini, albumin krvnog seruma i imunoglobulini, izravno prelaze iz krvi u mliječnu žlijezdu i postaju sastojci mlijeka (Tratnik,1998).

Sastav mlijeka može biti vrlo promjenjiv, a ovisi o velikom broju čimbenika kao što su: pasmina i zdravstveno stanje životinja, stadij laktacije, način i vrsta prehrane, sezona, vrsta mužnje (ručna, strojna) te dobi i broju mužnje, a napose o samoj jedinki (dob, tjelesna masa, kretanje i slično). Neposredno nakon poroda tijekom nekoliko dana mliječna žlijezda izlučuje kolostrum. Kolostrum sadrži veću količinu suhe tvari nego mlijeko. Osim manje količine laktoze i kazeina, on sadrži veću količinu ostalih sastojaka, a ima najveći udio proteina sirutke i veću titracijsku kiselost te nešto manju pH vrijednost (oko 6,3). Osim vitamina C, kojeg ima najmanje, kolostrum sadrži 5 do 10 puta više vitamina A, oko 5 puta više vitamina D, te oko 3 puta više vitamina E, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> i B<sub>12</sub> nego u mlijeku. Udio aminokiselina je oko 2-3 puta veći, osobito esencijalnih. U kolostrumu je značajno veća količina imunoglobulina, enzima i antioksidacijskih tvari nego u mlijeku.

Glavni su sastojci mlijeka voda, mast, proteini i laktoza. Precizan sastav razlikuje se ovisno o vrsti pa tako, primjerice, mlijeko žene ima malo proteina, a veću količinu laktoze nego kravlje mlijeko. Općenito, mali sadržaj proteina u mlijeku znači da se radi o mladoj životinji dok u starijih životinja nalazimo veću količinu proteina u mlijeku.

Oko 80 do 85% svih proteina u mlijeku čine kazeini. To su specifični mliječni proteini koji se talože kada se pH- vrijednost mlijeka smanji na 4,6. Vrijednost pH mlijeka približno se podudara s njegovom izoelektričnom točkom koja leži relativno nisko primjereno prevladavanju kiselih aminokiselina i prisutnosti fosforiliranih ostataka serina u molekulama.

Izvori ugljika u mlijeku uključuju laktozu, proteine i masti. Mnogi mikroorganizmi upotrebljavaju citrat kao izvor ugljika, ali toga kemijskog spoja nema u dostatnoj koncentraciji u mlijeku da bi došlo do značajnijeg rasta mikroorganizama.

U mlijeku se, prije svega nalaze dva tipa proteina: kazeini i proteini sirutke. Kazeini su prisutni u obliku visoko hidratiziranih micela i izravno su podložni proteolizi. Proteini sirutke (beta- laktoglobulin, alfa- laktoalbumin, albumin plazme i imunoglobulini) ostaju otopljeni u

mlijeku nakon taloženja kazeina. Oni su manje podložni mikrobnj proteolizi. Mlijeko sadrži neproteinske dušične spojeve kao što su ureja, peptidi i aminokiseline.

Mlijeko, osim toga sadrži velik broj antimikrobnih tvari koje sprječavaju nastanak infekcije vimena ili pak zaštićuju novorođenu mladunčad. One su u kravljem mlijeku, općenito prisutne u vrlo malim koncentracijama, ali iznimno značajno djeluju na održavanje njegove kakvoće ili sigurnosti. Stimulirano djelovanje laktoperoksidaze postupkom adicije egzogenog vodikova peroksida (Wolfson i Sumner.,1993), istraživalo se kao jedan od načina zaštite sirova mlijeka u zemljama gdje vladaju visoke temperature, a hlađenje često nije dostupno.

Visoki aktivitet vode, vrijednost pH blizu neutralne i bogatstvo hranjivih tvari čine mlijeko izvanrednom podlogom za rast mikroorganizama. Stoga se u proizvodnji i preradi mlijeka primjenjuju visoki standardi. Tri se izvora drže odgovornima za prisutnost mikroorganizama u mlijeku: unutrašnjost vimena, vanjska površina bradavica na vimenu i njihova neposredna okolina te mužnja i pribor za mužnju.

Najznačajniji inhibitori mikrobnog rasta u sirovu mlijeku su laktoferini i laktoperoksidazni sustav. Manje značajni prirodni inhibitori jesu lizozimi, specifični imunoglobulini, folati i sustav koji povezuje vitamin B<sub>12</sub>. Laktoferin je glikoprotein, a djeluje kao antimikrobni agens zbog vezanja željeza. Mlijeko žene sadrži više od 2 mg laktoferina po mL. U kravljem je mlijeku od manjeg značaja, jer ga ono sadrži samo 20-200 mg/mL (Masson i Heremans, 1971).

## **2.2. Mikroflora svježeg sirovog mlijeka**

Kravlje mlijeko sadrži znatnu populaciju bakterija mliječne kiseline uključujući *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* i *Enterococcus spp.* (Vacheyrou i sur., 2011; Quigley i sur., 2013). Veliki broj ostalih mikroorganizama može biti prisutan u značajnom udjelu u flori sirovog mlijeka (Ercolini i sur., 2009). Tu spadaju psihrofili kao što su *Pseudomonas*, *Acinetobacter* i *Aeromonas spp.* (Raats i sur., 2011). Bakterijska flora ovčjeg i kozjeg mlijeka je slična kravljem te dominiraju bakterije mliječne kiseline (Quigley i sur., 2013). Mlijeko *magarica*, *kobila* i *deva* je manje proučavano, ali sastav mikroflora se vjerojatno znatno razlikuju od mlijeka *krava*, *ovaca* i *koza* (Benkerroum i sl., 2013).

Sastav bogat nutrijentima i neutralan pH sirovog mlijeka čine dobar medij za preživljavanje i

rast patogena i bakterija kvarenja tijekom pohrane. Ukoliko je mlijeko propisno hlađeno rast mnogih bakterija je potisnut. Psihrofilni kao što su *Pseudomonas spp.*, *Listeria spp.* ili *Yersinia spp.* mogu se umnažati i u takvim uvjetima. Ukoliko je kontrola temperature slaba pojedini patogeni mogu rasti i/ili proizvoditi toksine. Bakterije mliječne kiseline koje se nalaze u sirovom mlijeku mogu spriječiti umnažanje mnogih drugih bakterija. Rast bakterija mliječne kiseline može rezultirati skraćanjem roka trajanja sirovog mlijeka, a uzrok leži u degradaciji mlijeka (acidifikacija, koagulacija) te na taj način postaje neupotrebljivo za konzumaciju i prije bitne proliferacije patogena.

U mlijeko tijekom dobivanja, transporta, obrade i prerade mogu dospjeti mikroorganizmi iz različitih izvora. Sirovo mlijeko, neposredno nakon higijenski provedene mužnje, obično sadržava manje od 5000 mikroorganizama/mL i manje od 250.000 somatskih stanica. Suprotno, nehigijenskom mužnjom i nehigijenskim postupcima s mlijekom nakon mužnje i u slučajevima bakterijske upale vimena, ukupan broj bakterija u mlijeku može biti i veći od 10<sup>7</sup> mL. Bakterijska upala vimena, istovremeno, uzrokuje značajno povećanje broja somatskih stanica iznad fiziološke granice, a nastaje zbog imunološkog odgovora organizma na upalni proces (Samaržija, 2015).

Do povećanja broja mikroorganizama u mlijeku dolazi nakon mužnje uslijed neadekvatne pohrane mlijeka. U procesu mužnje i pohrane mlijeka postoji nekoliko kritičnih točaka, potencijalnih izvora mikroorganizama, koje je potrebno uočiti i na njih pravovremeno i primjereno djelovati. Prljave sise, neizmuzivanje prvih mlazeva mlijeka, neispravan muzni i rashladni uređaj, najčešći su izvori kontaminacije mlijeka mikroorganizmima. Od velikog je značaja i ljudski faktor. Naime, ako se samo jedna, u nizu kritičnih točaka, adekvatno ne tretira doći će do nepovoljne higijenske kvalitete mlijeka (Božanić i sur., 2012). Osnovni preduvjeti za proizvodnju higijenski kvalitetnog mlijeka su: pranje ruku mužača, pranje vimena i sisa, izmuzivanje prvih mlazeva mlijeka u posebnu posudu, dezinfekcija sisa prije i nakon završene mužnje, temeljito čišćenje i dezinfekcija posuda i pribora nakon mužnje te hlađenje mlijeka (Antunac, 2005). Dezinfekcija sisa prije početka mužnje provodi se s ciljem dobivanja mlijeka što bolje higijenske kvalitete. Drugi cilj dezinfekcije sisa nakon završetka mužnje je da potpuno zatvori sisni kanal i spriječi prodor mikroorganizama u unutrašnjost mliječne žlijezde.

### 3. VRSTE MIKROORGANIZAMA

Mlijeko može biti kontaminirano različitim vrstama mikroorganizama ovisno o zdravstvenom stanju vimena i načinu postupanja s mlijekom nakon mužnje. Prisutnost mikroorganizama uzročnika kvarenja može uzrokovati promjene boje, mirisa, okusa i teksture mlijeka (tablica 2). Između mikrobnih uzročnika kvarenja mlijeka su najčešće izolirane bakterije ali uzročnici kvarenja mogu biti i kvasci i plijesni.

**Tablica 2. Mikrobne pogreške sirovog mlijeka**

Pogreška mlijeka		Uzročnici kvarenja
<b>Povećana kiselost</b>	T= 10-37°C	<i>Lactococcus lactis</i> , koliformne bakterije, mikrokoki, laktobacili
	T= 37-50°C	<i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Enterococcus faecalis</i>
	T ≥ 50°C	<i>Lactobacillus thermophilus</i>
<b>Stvaranje plina</b>		Koliformne bakterije, kvasci, <i>Clostridium i Bacillus spp.</i>
<b>Sluzavost</b>	Površinska	<i>Alcaligenes visiolactis</i>
	U svim slojevima	<i>L. delbrueckii supsp. bulgaricus</i> , <i>L. lactis</i> , <i>Lctobacillus plantarum</i>
<b>Promjena okusa</b>	Kiseli karamel	<i>L. lactis</i>
	Kiseli- aromatični	<i>Leuconostoc spp.</i> , streptokoki
	Oštar	Koliformne bakterije
	Gorak	Proteolitičke i koliformne bakterije
	Sapunast	<i>Pseudomonas spp.</i>
<b>Promjena boje</b>	Tamno plava	<i>Pseudomonas spp. L. lactis</i>
	Žuta boja površine	<i>Pseudomonas synxantha</i>
	Crvena boja	<i>Serratia spp.</i>
<b>Proteoliza mlijeka</b>	Kisela	Mikrokoki, streptokoki

(Izvor: prilagođeno prema Matić, 2009)

Primarni izvori patogenih bakterija u mlijeku su bolesna muzna životinja, infektivno vime i bolestan čovjek. Međutim, uzrok širenja patogenih bakterija mlijekom je uvijek posljedica nedovoljne higijene, neznanja ili nesavjesnosti radnika (Samaržija, 2011). Zbog toga je potrebno uspostaviti učinkovitu strategiju kontrole njihova rasta. Kao najučinkovitiji alat za kontrolu rasta patogenih bakterija ističe se HACCP sustav. HACCP sustav pomaže proizvođačima u svakoj fazi proizvodnje identificirati opasnosti i poduzimanje određenih koraka radi ponovne uspostave kontrole prije završetka proizvodnog procesa (Tudor Kalit, 2014). Osim HACCP sustava, preporučeni mikrobiološki kriteriji za mlijeko pomažu u provjeri postavljenih kriterija za provedbu dobre proizvođačke i higijenske prakse.

### **3.1. Psihrotrofna mikrobna populacija**

Hlađenje mlijeka na temperaturu od 4°C i duža pohrana mlijeka na tim temperaturama uzrok su dominantnog rasta psihrotrofnih bakterija. Psihrotrofna mikrobna populacija potječe uglavnom iz okoline gdje se mlijeko proizvodi, od higijenski neispravne vode i nedovoljno čistih muznih uređaja, opreme za transport i pohranu mlijeka (Samaržija i sur., 2007). Osim uzročnika kvarenja određene vrste patogenih bakterija također pokazuju psihrotrofna svojstva. Tablica 3 prikazuje skupine psihrotrofnih bakterija koje često kontaminiraju mlijeko, a prema svojoj prirodi te bakterije mogu biti uzročnici kvarenja ili su one patogene bakterije.

**Tablica 3. Najzastupljenije skupine psihrotrofnih bakterija u sirovom mlijeku**

<b>Skupina</b>	<b>Patogene bakterije</b>	<b>Gram vrsta</b>
<i>Pseudomonas</i>		-
<i>Flavobacterium</i>		-
<i>Alcaligenes</i>		-
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>E. coli</i> 0157: H <i>Yersinia enterocolitica</i>	-
<i>Serratia</i>		-
<i>Actinectobacter</i>		-
<i>Aeromonas</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i>	-
<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus spp.</i>	+
<i>Clostridium</i>	<i>Clostridium spp.</i>	+
<i>Arthrobacter</i>		+
<i>Streptococcus</i>		+
<i>Corynebacterium</i>		+
<i>Micrococcus</i>		+
<b>Ostali</b>	<i>Listeria monocytogenes</i>	+

(Izvor: Moatsou i Moschopoulou, 2014)

Od ukupne gram-negativne populacije u ohlađenom mlijeku izdvaja se *Pseudomonas spp.* s izrazitom dominacijom vrste *Pseudomonas fluorescens*. U odnosu na sve gram-pozitivne i ostale gram-negativne psihrotrofne bakterije, *Pseudomonas spp.* na temperaturama nižim od 6°C karakterizira brži rast, duže vrijeme preživljavanja i kratko generacijsko vrijeme. Osim sposobnosti rasta i razmnožavanja na niskim temperaturama, većina vrsta ima sposobnost tvorbe ekstracelularnih i/ili intracelularnih hidrolitičkih termostabilnih enzima koji razgrađuju proteine, masti i fosfolipide. Upravo zbog tih osobina i svojstava, psihrotrofne bakterije se smatraju najčešćim uzročnicima kvarenja mlijeka. Kvarenje se očituje u promjeni okusa, mirisa, neželjenoj koagulaciji proteina mlijeka, te promjenom teksture. Strani okus sirovog

mlijeka, koji se opisuje kao gorak, okus po voću, kvascima ili kao metalan okus, posljedica je rasta nesporogenih proteolitičkih bakterija, *Proteus*, *Pseudomonas* (posebice *Pseudomonas fluorescens*), *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Serratia* i *Alcaligenes spp.* (Samaržija i sur., 2007). Najučinkovitije sredstvo za kontrolu psihrotrofne mikrobne populacije je strogo pridržavanje higijenskih mjera s mlijekom tijekom mužnje, pohrane i proizvodnje. Skraćivanje vremena između pohrane i prerade mlijeka smanjuje rizik od dominantnosti psihrotrofnih bakterija u sirovom mlijeku.

### **3.2. Termorezistentna mikrobna populacija**

Termorezistentna mikrobna populacija je skupina mikroorganizama koja preživljava temperature pasterizacije, ne raste na tim temperaturama, ali može rasti na niskim temperaturama. U termorezistentne mikroorganizme uključujemo i termofilne mikroorganizme koji preživljavaju najnižu temperaturu pasterizacije 63°C/30 min (Samaržija, 2011). Oni ne stvaraju spore ali mogu biti važan faktor kvarenja pasteriziranog mlijeka ako se u sirovom mlijeku nalazio povećan broj psihrotrofnih bakterija ili ako je došlo do rekontaminacije. Općenito, termorezistentna skupina bakterija slabo raste u ohlađenom mlijeku (<5°C) i jedino u slučajevima njihove pojave u mlijeku u velikom broju mogu uzrokovati kvarenje sira (Samaržija i sur., 2007). Rodovi *Bacillus*, *Clostridium*, *Arthrobacter*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Corynebacterium*, *Micrococcus* i *Microbacterium* su pripadnici ove skupine (Samaržija i sur., 2012). *Clostridium* i *Bacillus spp* mogu preživjeti visoku temperaturu u obliku spore te tako smanjiti rok trajanja mlijeka i sira. *Bacillus coagulans* može uzrokovati kiselu koagulaciju i siru sličan okus i miris steriliziranog mlijeka dok je *Bacillus subtilis* zaslužan za slatku koagulaciju mlijeka.

### **3.3. Koliformna mikrobna populacija**

Predstavnici ove skupine su mikroorganizmi iz porodice *Enterobacteriaceae*: *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Serratia* i *Citrobacter spp.* Neke vrste koliformnih bakterija pripadaju skupini enteropatogenih bakterija a njihovo pojavnost u sirovom mlijeku predstavlja potencijalnu opasnost za zdravlje čovjeka. Kada su koliformne bakterije prisutne u velikom broju uzrokuju pogrešku izgleda i okusa mlijeka radi tvorbe plina i povećanja

kiselosti (Samaržija i sur., 2007.). Sposobne su stvarati biofilm te njihova pojavnost ukazuje na nehigijenske uvjete u proizvodnji (Moatsou i Moschopoulou, 2014). Kao skupina koliformne bakterije se opisuju: nesporetvorne, oblikom štapićaste bakterije, i oksidaza negativne. Mogu biti aerobne ili fakultativno anaerobne i obično imaju sposobnost fermentirati laktozu unutar 48 sati na temperaturi od 37°C uz stvaranje kiselina i plina. U odnosu na psihrotrofne bakterije, koliformna skupina bakterija u sirovom ohlađenom mlijeku rastu sporije, ali znatno bolje od mnogih drugih u mlijeku prisutnih bakterija (Samaržija i sur., 2007).

### 3.4. Bakterije mliječne kiseline

Kvarenje sirovog mlijeka bakterijama mliječne kiseline moguće je u slučaju ako se mlijeko poslije mužnje ne pohrani na temperaturi od 4°C. To se najčešće događa u nerazvijenim zemljama gdje se mlijeko još uvijek pohranjuje ili transportira u kantama ili cisternama bez hlađenja, osobito u toplije vrijeme (Tratnik, 2012). *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* i *Enterococcus* spp. su najčešći uzročnici kvarenja neohlađenog mlijeka a pogreška se manifestira promjenom okusa i izgleda mlijeka. Bakterija *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* je glavni uzročnik kvarenja sirovog mlijeka ako se ono pohranjuje na temperaturi od 10-37 °C, sposobna je tvoriti mliječnu kiselinu te male količine octene i propionske kiseline (Moatsou i Moschopoulou, 2014). Mezofilne i veliku većinu vrsta termofilnih bakterija mliječne kiseline uništavaju temperature srednje pasterezacije 72°C/15 sekundi (Walstra i sur., 2006).

### 3.5. Kvasci i plijesni

U usporedbi s bakterijama, kontaminacija sirovog mlijeka kvascima i plijesnima je rjeđa. Najučestaliji kvasci su *Debaromyces hansenii*, *Kluyveromyces marxianus* var *marxianus*, *Kluyveromyces marxianus* var *lactis*, *Sacharomyces cerevisiae*, *Candida* spp. i *Yarrowia lipolitica* dok od plijesni prevladavaju *Penicillium*, *Rhizomucor* i *Aspergillus* (Moatsou i Moschopoulou, 2014). Mnogi kvasci proizvode alkohol i CO<sub>2</sub> te u mlijeku stvaraju okus po kvascima. Izvori kontaminacije mogu biti podovi, zidovi, police, sirarski pribor i oprema (Samaržija, 2011). Plijesni uzrokuju kvarenje mlijeka koje se manifestira širokim rasponom metaboličkih produkata koji su uzrok stranog okusa i mirisa mlijeka. Osim toga, plijesni mogu biti uzrokom vidljivih promjena boje i teksture mlijeka.



### 3.6. Patogeni mikroorganizmi

Iz sirovog mlijeka su izolirani brojni patogeni mikroorganizmi koji su sposobni uzrokovati bolesti ljudi i životinja samostalno ili preko svojih štetnih produkata. S obzirom na izvore kontaminacije, iz mlijeka su najčešće izolirane bakterije: *Salmonella spp*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Campylobacter jejuni* i *Yersinia enterocolitica*. Od sprotvornih patogenih bakterija najčešće su izolirani *Bacillus cereus* te *Clostridium perfringens*. U tablici 4 su prikazani rasponi uvjeta rasta za rast pojedinih patogenih vrsta bakterija. Sve patogene bakterije mogu rasti u širokom rasponu pH i temperatura u prisutnosti male količine soli i visokog aktiviteta vode.

**Tablica 4: Rast patogenih bakterija u rasponu pH, temperature, % soli i aktiviteta vode**

Patogene bakterije	Minimalni aktivitet vode	pH	Temperatura (°C)	% soli
<i>E.coli</i>	0,95	4,4-9,5	7-48	<2
<i>Salmonella spp.</i>	0,95	3,8-9,5	7-46	<2
<i>Listeria monocytogenes</i>	0,92	4,4-9,5	-1,5-45	25
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,86	4-10	7-48	15-20
<i>Campylobacter jejuni</i>	0,97	4,9-9	30-45	<2
<i>Bacillus spp.</i>		4,9	10-48	2-2,5

(Izvor: prilagođeno prema Condronu i sur, 2009 i Samaržija i sur., 2007)

Kada ove bakterije prodru kroz sisni kanal u vime, automatski se povećava broj somatskih stanica kao odgovor na upalne procese. Ne samo da se narušava zdravlje životinje, već je i higijenska kvaliteta mlijeka umanjena kao i njegova tehnološka svojstva. Bakterije koje najčešće uzrokuju mastitis su: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp.* (*agalactiae*, *dysgalactiae*, *pyogenes* i *uberis*), *Listeria monocytogenes* i *E.coli*, *Salmonella spp.* i termorezistentni *Campylobacter spp.* su najčešće izolirane bakterije s površine vimena (Chambers, 2002). Neki sojevi *S.aureus* mogu stvarati termostabilne enterotoksine koji uzrokuju trovanje hranom. Za tvorbu enterotoksina potreban je velik početni broj bakterija u mlijeku. Međutim, tvorba enterotoksina može biti smanjena primjenom niske temperature pohrane mlijeka, pasterizacije, niskim pH i antagonističkim komponentama koje stvaraju bakterije mliječne kiseline. Bakterije iz porodice *Enterobacteriaceae* su široko prisutne u

prirodi. Mlijeko se njima obično kontaminira fecesom, preko ljudi, vodom i prašinom. Uobičajene temperature pasterizacije mlijeka ih uništavaju, ali uvijek postoji rizik od neadekvatne pasterizacije ili naknadne kontaminacije. *Campylobacter jejuni* rijetko kontaminira mlijeko ali se mlijeko tom bakterijskom vrstom može kontaminirati nakon sekrecije fecesom uprljanog vimena i sisa te preko aparata za mužnju. Između patogenih bakterija *C.jejuni* je osjetljivija na toplinu,  $\text{pH} \leq 5$ , koncentraciju kisika u mediju (zahtjeva približno 5%) i dehidraciju. Zbog toga se ta bakterija relativno brzo inaktivira tehnološkim postupcima koji se koriste u mljekarskoj industriji (Samaržija i sur., 2007). *Listeria monocytogenes* je široko prisutna u prirodi te ima sposobnost kolonizacije, razmnožavanja i preživljavanja u proizvodnim pogonima mljekarske industrije i do nekoliko mjeseci. Zbog toga, predstavlja stalnu potencijalnu opasnost za moguću kontaminaciju mlijeka tijekom prerade. U uvjetima dobre proizvođačke prakse, bakterije *Listeria spp.* u sirovom mlijeku uvijek su prisutne u 3% do 5% slučajeva, ali njihov broj ne prelazi 10 cfu mL<sup>-1</sup>. Međutim, povišenjem temperature hlađenja mlijeka iznad 4°C i produženom pohranom (4-10 dana), broj bakterija će se povećati za 1000 puta (Samaržija i sur., 2007).

Bakterija *L. monocytogenes* uzročnik je bolesti listerioze, od koje prema dostupnim podacima ljudi rijetko obolijevaju, ali je smrtnost uzrokovana infekcijom te patogene bakterije i do 40%. Sporotvorne bakterije *Bacillus spp.* i *Clostridium spp.* zbog svojih psihrotrofnih svojstava mogu rasti i na temperaturama od 4°C i biti uzročnici kvarenja mlijeka. Ali zbog slabe kompetitivne sposobnosti rasta s ostalim uzročnicima kvarenja, njihova pojavnost u malom broju u mlijeku ne predstavljaju opasnost za čovjeka (Samaržija i sur., 2007). U odnosu na ostale patogene bakterije *Bacillus spp.* i *Clostridium spp.* mogu preživjeti pasterizaciju mlijeka i tvoriti toksine koji mogu uzrokovati dugotrajne posljedice na ljudski organizam.

#### **4. EFSA-ino MIŠLJENJE O JAVNO ZDRAVSTVENOM RIZIKU OD KONZUMACIJE SVJEŽEG SIROVOG MLIJEKA**

Na području Europske unije EFSA ima ključnu ulogu u procjeni rizika vezano za sigurnost hrane i hrane za životinje. Svojim znanstvenim radom i aktivnošću kontinuirano daje izniman značaj zaštiti potrošača i promicanju sigurnosti hrane i globalno pridonosi visokoj zaštiti zdravlja potrošača. Stoga je izrađeno opsežno izvješće o javno zdravstvenim rizicima povezanim sa svježim sirovim mlijekom u EU od strane stručnjaka iz EFSA-inog Znanstvenog odbora za biološke opasnosti (BIOHAZ).

Od Panela za biološke opasnosti (Biological Hazards Panel - BHP) je zatraženo da pruži znanstveno mišljenje o riziku za javno zdravlje koje je povezano za konzumaciju svježeg sirovog mlijeka. Posebice je od BHP zatraženo :1. Identificiranje glavnih mikrobioloških opasnosti za javno zdravlje koje se mogu pojaviti iz svježeg sirovog mlijeka podrijetlom od različitih vrsta životinja, 2. Procjena opasnosti za javno zdravlje koje proizlazi iz konzumacije svježeg sirovog mlijeka, 3. Procjena vjerojatnosti da je svježe sirovo mlijeko važan izvor antimikrobno otpornih bakterija, 4. Procjena ostalih rizika povezanih s prodajom svježeg sirovog mlijeka putem mljekomata i interneta, 5. Identificirati i rangirati potencijalne kontrole za smanjenje opasnosti za zdravlje ljudi koje mogu proizaći iz konzumacije svježeg sirovog mlijeka. Važno je za napomenuti kako se u mišljenju EFSA-e uzimaju u obzir samo mikrobiološke opasnosti povezane s svježim sirovim mlijekom koje proizlaze iz prijenosa zoonotskih ili ostalih mikroorganizama podrijetlom s farme.

Mikrobiološke opasnosti identificirane kao potencijalno prenosive putem mlijeka i prisutne u mliječnim životinja u EU su:

- *Bacillus cereus*
- *Brucella abortus*
- *Brucella melitensis*
- *Campylobacter spp.*
- *Listeria monocytogenes*
- *Mycobacterium bovis*
- *Salmonella spp.*

- *Staphylococcus aureus*
- *Streptococcus equi subsp. Zooepidemicus*
- *STEC*
- *Yersinia enterocolitica*
- *Yersinia pseudotuberculosis*
- *Cryptosporidium parvum*
- *Toxoplasma gondii*
- *Virus krpeljnog encefalitisa (TBEV)*

Dobivena kraća tablica je prikazana u tablici 4 i sastoji se od mikrobioloških opasnosti koje mogu biti prenesene putem konzumacije mlijeka (korak 1) i koje se mogu dogoditi u glavnim vrstama mliječnih životinja u EU (korak 2).

U tablici 4 navedene su mikrobiološke opasnosti koje mogu biti prenesene putem konzumacije mlijeka i koje se mogu dogoditi u glavnim vrstama mliječnih životinja u EU.

#### **Tablica 4. Tablica mikrobioloških opasnosti koje mogu biti prenesene putem konzumacije mlijeka**

**Table 2:** Final (short)list of microbiological hazards where there is evidence that the hazard can be transmitted to humans through milk of different species and that the hazard is present in milk-producing animals in the EU

<b>Microbiological hazards</b>	<b>Cows</b>	<b>Goats and sheep</b>	<b>Horses and donkeys</b>	<b>Camels</b>
<i>Bacillus cereus</i>	Yes	No	Yes	No
<i>Brucella abortus</i>	Yes	No	Yes	No
<i>Brucella melitensis</i>	No	Yes	No	Yes
<i>Campylobacter</i> spp. (thermophilic)	Yes	Yes	Yes	No
<i>Corynebacterium</i> spp.	Yes	No	No	No
<i>Listeria monocytogenes</i>	Yes	Yes	Yes	No
<i>Mycobacterium bovis</i>	Yes	No	Yes	No
<i>Salmonella</i> spp.	Yes	Yes	Yes	No
<i>Staphylococcus aureus</i>	Yes	Yes	Yes	No
<i>Streptococcus equi</i> subsp. <i>zooepidemicus</i>	Yes	No	Yes	No
Shigatoxin-producing <i>E. coli</i> (STEC)	Yes	Yes	Yes	No
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Yes	No	Yes	No
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	Yes	Yes	Yes	No
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Yes	No	No	No
<i>Toxoplasma gondii</i>	Yes	Yes	Yes	Yes
Tick-borne encephalitis virus (TBEV)	Yes	Yes	No	No

(Izvor: EFSA, Scientific Opinion on the public health risk related to the consumption of raw drinking milk, 2015)

15 opasnosti je povezano s *kravama*, 8 s *ovcima i kozama*, 11 s *kobilama i magaricama* i 2 s *devama*. To može biti i posljedica veće konzumacije kravljeg mlijeka u odnosu na mlijeka ostalih životinja.

Opasnosti su dodatno kategorizirane na temelju sljedećih procjena:

- veličina utjecaja na zdravlje ljudi bazirano na učestalosti potvrđenih slučajeva na ljudima prijavljenih Europskom centru za prevenciju i kontrolu bolesti (ECDC)
- ozbiljnost bolesti kod ljudi bazirano na mortalitetu
- dokaz da RDM je važan rizičan faktor za bolesti u EU

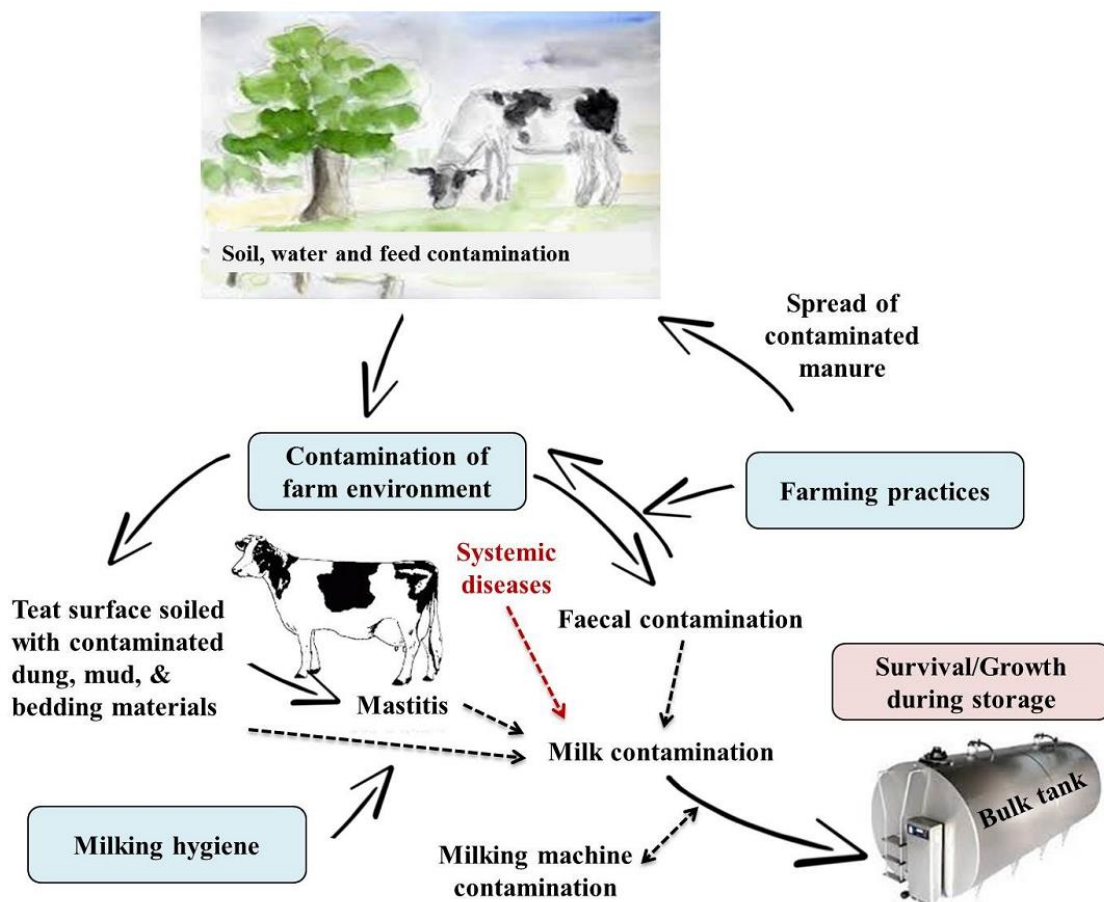
Od navedenih mikrobioloških opasnosti smatra se da su: *Campylobacter spp.*, *Salmonella spp.*, *STEC*, rasprostranjenije u EU od ostalih opasnosti, s time da je *Campylobacter spp.* vodeći uzrok pojave bolesti. Mnogobrojni putevi kojima sirovo mlijeko može doći do konzumenata moraju se uzeti u obzir u četiri procjene rizika. U mnogim zemljama EU, sirovo mlijeko može biti konzumirano na samoj farmi (scenario konzumiranje na samoj farme) ili može biti prodano na farmi, a potom konzumirano doma (scenario prodaja na samoj farme). Prodaja sirovog mlijeka putem mljekomata i konzumiranja kod kuće predstavlja scenario prodaje van farme.

#### **4.1. Moguće opcije kontrole za reduciranje utjecaja na javno zdravlje koje proizlaze iz konzumacije svježeg sirovog mlijeka**

Važan korak u higijenskoj proizvodnji mlijeka opisano je u detalje u literaturi (Castle i Watkins, 1984). Toplinska obrada (npr. visoka temperatura kroz kratko vrijeme pasterizacije) je dobar način za kontrolu mikrobioloških opasnosti prisutnih u sirovom mlijeku, ali takvi postupci su izvan područja ovog mišljenja, jer mijenjaju unutrašnje karakteristike sirovog mlijeka. Također, ostale metode obrade koje ne uključuju toplinsku obradu, kao što su ultrafiltracija ili visoki pritisak (Walking-Ribeiro i sur., 2011; Yang i sur., 2012) su također izvan područja ovog mišljenja i neće biti uzete u obzir kao opcije potencijalne kontrole. Codex Alimentarius higijenske prakse za mlijeko i proizvođače mlijeka ističe važnost dobre poljoprivredne prakse (Good Agricultural Practices - GAP), GHP i dobre stočarske prakse (Good Animal Husbandry Practices - GAHP) na nivou farme ali priznaje da tu ima

ograničenja s punom primjenom HACCP principa na nivou primarne proizvodnje (CAC, 2004). Ovaj vodič, kada se u potpunosti implementira, pruža polazište za usporedbu s opcijama dodatnih kontrola (gdje su dostupne). Kontaminacija mlijeka mikroorganizmima može proizaći iz velikog broja različitih izvora uključujući unutarnju kontaminaciju proizašlu iz infekcija same životinje prije dojenja i vanjske kontaminacije proizašle iz okolišnih uvjeta s fekalnim materijalom same životinje za vrijeme dojenja ili indirektno preko opreme za dojenje, farmskih uvjeta na mjestu upotrebe (Cousins i Bramley, 1981; Moatsou i Moschopoulou, 2014). Potencijalni izvori farmske kontaminacije i njihov međusobni odnos prikazan je na shemi 1.

**Shema 1. Potencijalni izvori farmske kontaminacije i njihov međusobni odnos**



**Figure 8:** Schematic diagram to show potential on-farm sources of contamination with microbiological hazards associated with the production of raw drinking milk. The solid arrows are considered to be the main source of contamination.

(Izvor: EFSA, Scientific Opinion on the public health risk related to the consumption of raw drinking milk, 2015)

Unutrašnja kontaminacija može proizaći iz kontaminacije mlijeka sistemskim oboljenjima životinja koja se izlučuju u mlijeku. Općenito, osim ako ne postoji intramamarna infekcija ili životinja ima sistemsku bolest, mlijeko u mliječnoj žlijezdi ne sadrži bakterije ili njihove toksine. Kada se mlijeko izdaja iz sisa može doći do kontaminacije sa površine vimena ili opreme za dojenje (Cousins i Bramley, 1981; Castle, 1985).

Ova kontaminacija može biti humanog ili animalnog podrijetla, tla ili fekalnih mikroorganizama koja kontaminiraju površinu vimena i posebno površinu kože sise ili površine epitela sisnog kanala koji provodi mlijeko iz mliječne žlijezde do otvora na sisi (Castle, 1985). Patogeni koji se nalaze u mlijeku mogu potjecati od klinički zdravih životinja ili iz okolišnih uvjeta do koje dolazi prilikom prikupljanja ili pohrane mlijeka. Iako se mogu poduzeti različiti koraci da se minimizira pojava patogena i uzročnika kvarenja u sirovom mlijeku nije moguće ih eliminirati u potpunosti. Istovremeno, nizak nivo zdravlja životinja i kontrole higijene potencijalno vodi povećanju rizika iz svježeg sirovog mlijeka.

Nada i sur. (2012) zaključuju da do poboljšanja u kvaliteti sirovog kravljeg mlijeka dolazi kroz implementaciju GAP principa na farmama i uvažavanja opsega ostalih faktora, kao što su hranjenje, zdravlje i dobrobit životinja, sanitacija, dojenje, održavanje opreme te hlađenje, pohrana i transport sirovog mlijeka.

Piepers i sur. (2014) su dokazali da praksa upravljanja utječe na broj bakterija u sirovom mlijeku, ali ta informacija u odnosu na dojenje, zdravlje životinja i upravljanja suhostajem sugerira da postoje i ostali neidentificirani faktori koji su također važni u kontaminaciji mlijeka.

## 5. SVJEŽE SIROVO MLIJEKO IZ MLJEKOMATA

U Republici Hrvatskoj (RH) i ostalim zemljama EU, bilježi se povećanje broja ljudi koji konzumiraju svježe sirovo mlijeko. Ljudi koji konzumiraju takvo mlijeko smatraju kako ono ima bolje nutritivne odlike, boljeg je okusa i ima veću dobrobit za ljudsko zdravlje te ga na osnovu takvih razmišljanja konzumiraju populacija koja ima slabiji imunitet, veoma mlade ili veoma stare osobe, osobe s imunokompresijom i osobe s posebnim prehrambenim potrebama. Međutim, svježe sirovo mlijeko može biti kontaminirano s različitim patogenima, što potvrđuju mnoga istraživanja i dokumentirani proboji bolesti unazad nekoliko godina.

U RH mljekomati su se pojavili unazad nekoliko godina, te do sada nije bilo podataka o mikrobiološkoj i kemijskoj kakvoći svježeg sirovog mlijeka iz mljekomata. Stoga je Znanstveni odbor Hrvatske agencije za hranu potaknuo istraživanje mlijeka iz mljekomata kako bi se utvrdio kemijski sastav (masnoća, proteini, laktoza, suha tvar) svježeg sirovog mlijeka iz mljekomata, ispitala mogućnost ostataka antibiotika i kemoterapeutika, te utvrdilo prisustvo (ili odsustvo) sljedećih patogenih mikroorganizama:

- *Listeria monocytogenes*
- *Mycobacterium avis subsp. paratuberculosis*
- enterotoksični *Staphylococcus aureus*
- *Campylobacter jejuni/coli*
- *Escherichia coli* 0157 (VTEC/STEC)
- *Salmonella spp.*
- *Yersinia enterocolitica*
- *virus enzootske leukoze goveda*
- *Coxiella burnetti*

U uzorcima sirovog mlijeka nisu utvrđene bakterije *C. Jejuni/coli*, *E. coli* 0157 (VTEC ili STEC), *Salmonella spp.*, *Y. enterocolitica*, *M. avium subsp. paratuberculosis* i *virus enzootske leukoze goveda*. Prema rezultatima mikrobioloških analiza mlijeko iz mljekomata bilo je najčešće kontaminirano s *L. mononcytogenes*, *S. aureus* i *C. burnetti*, patogenim mikroorganizmima koji mogu dovesti do oboljenja ljudi. Model predviđanja rasta patogenih bakterija u sirovom mlijeku iz mljekomata prikazan je za *L. mononcytogenes* i *S. aureus*, pri



čemu je korišten software ComBase. Utvrđeno je da postoji mogućnost rasta *L. monocytogenes* u sirovom mlijeku, pa njezin broj do trenutka konzumacije naraste preko 100 cfu/ml, dok *S. aureus* niti u slučaju najveće utvrđene kontaminacije neće se namnožiti preko 10<sup>5</sup> cfu/ml, vrijednosti koja se smatra graničnom potrebnom za proizvodnju stafilokoknih enterotoksina u količini opasnoj za ljudsko zdravlje (HAH, znanstveno mišljenje o javno zdravstvenom riziku vezanom za konzumaciju sirovog mlijeka, 2016).

Proizvođači mlijeka postavljaju mljekomate koji omogućavaju automatsko točenje sirovog mlijeka iz spremnika. Uređaji mogu biti postavljeni blizu farmi ili na nekoj drugoj lokaciji, kao što su ulazi u supermarkete. Radi potencijalnog mikrobiološkog rizika Belgijska agencija za sigurnost hrane (FASFC) zahtijeva od proizvođača sirovog mlijeka da striktno primjenjuju dobru higijensku praksu (Good Hygienic Practices - GHP) i implementiraju samokontrolu baziranu na HACCP principu (Hazard Analysis and Critical Control Points). Dužni su na mljekomatima istaknuti upozorenje da je sirovo mlijeko *“potrebno termički obraditi prije konzumacije”* i *“skladištiti na temperaturi 0 – 4°C”* te je zabranjeno miješanje mlijeka s više različitih farmi u jednom mljekomatu.

Osim toga, putem on-line ankete provelo se istraživanje o motiviranosti građana za kupnju mlijeka iz mljekomata, te provjeravanje njihova znanja o opasnostima kod konzumacije ovakve vrste proizvoda i dobre higijenske prakse u vlastitom domaćinstvu, kako bi se smanjio rizik od izazivanja bolesti. (dr.sc. Brigita Hengl; 1. hrvatska konferencija o procjeni rizika porijeklom iz hrane; Osijek, 2015)

## 6. TRENUTNO STANJE U RH

Prema podacima dobivenim iz Ministarstva poljoprivrede, Uprave za veterinarstvo i sigurnost hrane, na dan 03.02.2016. je u Republici Hrvatskoj u Upisnik registriranih objekata u poslovanju s hranom životinjskog podrijetla upisano 29 mljekomata. Registracija mljekomata pri Upravi za veterinarstvo i sigurnost hrane je postala obavezna tek objavom Pravilnika o registraciji subjekata te registraciji i odobravanju objekata (NN, br. 84/15) u kolovozu 2015.

Prema Pravilniku o kakvoći svježeg sirovog mlijeka (NN 102/00, 111/00, 74/08) mlijeko mora udovoljavati sljedećim parametrima:

- da sadrži najmanje 3,2% mliječne masti;
- da sadrži najmanje 3,0% bjelančevina;
- da sadrži najmanje 8,5% suhe tvari bez masti;
- da mu je gustoća od 1,028 - 1,034 g/cm<sup>3</sup> na temperaturi 20°C;
- da mu je kiselinski stupanj od 6,6 - 6,8°SH, a pH vrijednost od 6,5 - 6,7;
- da mu točka ledišta nije viša od -0,5170°C;
- da mu je rezultat alkoholne probe s 72% etilnim alkoholom negativan

Sirovo mlijeko uzorkovano je tijekom jeseni 2014. godine (od 20. listopada do 17. studenog; ukupno u razdoblju od 28 dana), zime 2015. (od 17. do 26. veljače; ukupno 9 dana) i u proljeće/ljeto 2015. (od 9. do 29. lipnja; ukupno 20 dana). U prvom uzorkovanju prikupljeno je ukupno 30 uzoraka sirovog mlijeka, u drugom 28, a u trećem 29 uzoraka. Naknadno je u prosincu 2015. godine uzorkovano mlijeko iz mljekomata te su napravljene analize na prisutnost aflatoksina M1 u mlijeku. Tom prigodom prikupljeni su uzorci iz 30 mljekomata. Analizirano je ukupno 87 uzoraka mlijeka prikupljenih iz mljekomata

### Rezultati mikrobioloških analiza

Na temelju dobivenih rezultata mikrobioloških analiza (tablica 5) utvrđeno je kako niti jedan od 87 uzoraka sirovog mlijeka iz mljekomata nije bio pozitivan na *C. jejuni/coli*, *E. coli* O157 (VTEC ili STEC), *Salmonella* spp. i *Y. enterocolitica*. Niti jedan od 57 uzoraka nije bio pozitivan na *M. avium* subsp. *paratuberculosis*, niti jedan od 28 uzoraka nije bio pozitivan na virus enzooske leukoze goveda. Od 87 pretraženih uzoraka mlijeka na *L. monocytogenes* pozitivna su bila ukupno četiri uzorka. Dva uzorka bila su pozitivna kod uzorkovanja u

listopadu, dva u veljači, dok u lipnju nije bilo pozitivnih nalaza. U prvom uzorkovanju radilo se o istom proizvođaču mlijeka koji je distribuirao svoje mlijeko preko dva mljekomata, a u drugom uzorkovanju isti je proizvođač ponovno bio pozitivan na *L. monocytogenes* (uzorak na njegovom drugom mljekomatu nije uzet - mljekomat je vjerojatno bio uklonjen). Ovaj nalaz dokaz je kako su kontaminacije s *L. monocytogenes* perzistentne te higijenske mjere koje se poduzimaju moraju biti temeljito provedene. Uzorci pozitivni na *L. monocytogenes* u prvom i drugom uzorkovanju slani su na potvrdu kontaminacije u Hrvatski veterinarski institut, koji je potvrdio prvotni nalaz, te je obaviještena sanitarna inspekcija. Identifikacija *C. burnetti* provedena je na ukupno 57 uzoraka mlijeka prikupljenih u zimskom i ljetnom uzorkovanju.

Korištenjem metode lančane reakcije polimerazom (konvencionalni PCR i Real-Time PCR) bilo je pozitivno 10 uzoraka (17,54 %), ili po pet u svakom uzorkovanju te je prevalencija u zimskom uzorkovanju iznosila 17,86 %, a u ljetnom 17,24 %. Pozitivni uzorci utvrđeni su kod ukupno 4 proizvođača mlijeka. U oba uzorkovanja kod tri proizvođača mlijeka, od kojih su dvojica distribuirala u isto mjesto, a treći u dva mljekomata u 2 različita mjesta. Jedan proizvođača imao je pozitivan uzorak samo u zimskom uzorkovanju, dok je u ljetnom (dakle nakon zimskog) od istog proizvođača uzorak bio negativan (HAH, znanstveno mišljenje o javno zdravstvenom riziku vezanom za konzumaciju sirovog mlijeka, 2016.).

**Tablica 5. Prikaz rezultata mikrobioloških analiza za sva tri uzorkovanja**

<i>Mikrobiološki parametar</i>	<i>Ukupno uzoraka</i>	<i>Pozitivni nalazi</i>	<i>Komentar</i>
<i>Salmonella spp./25 mL</i>	87 (30; 28; 29)*	-	
<i>Listeria monocytogenes/25 mL</i>	87 (30; 28; 29)*	4 (2/2/0)**	Uzorkovanje u listopadu bilo je pozitivno u 2 uzorka, ali od istog proizvođača. Kako je u jednom uzorku potvrđeno 400 cfu/mL, obaviještena je sanitarna inspekcija. U uzorkovanju u veljači isti je proizvođač imao pozitivan nalaz na L.m., ali se radilo o 20 cfu/mL. Osim u ovom slučaju L.m. utvrđena je kod još jednog proizvođača, ali <10 cfu/mL.
<i>Staphylococcus aureus/mL</i>	87 (30; 28; 29)*	18 (5/13/15)**	Ovaj kriterij nije propisan Uredbom 2073/2005, već se koristila preporuka iz Vodiča za mikrobiološke kriterije S.a. <10. Pozitivni nalazi odnose se na >100 cfu/mL, a broj cfu se kreće u rasponu 200-6000.
<i>Yersinia enterocolitica/25 mL</i>	87 (30; 28; 29)*	-	
<i>Campylobacter spp./mL</i>	87 (30; 28; 29)*	-	
<i>Escherichia coli 0157:H7/mL</i>	87 (30; 28; 29)*	-	
<i>Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis</i>	57 (28; 29)*	-	Analiza na ove parametre planirana je u veljači i lipnju 2015. Stoga je broj uzoraka manji.
<i>Coxiella burnetti</i>	57 (28; 29)*	10 (5/5)*	Analiza na ove parametre planirana je u veljači i lipnju 2015. Stoga je broj uzoraka manji. Od 5 pozitivnih 2 su od istog proizvođača mlijeka. Ovaj m.o. nije propisan Uredbom 2073/2005, ali s obzirom da su zabilježeni slučajevi obljenja od Q groznice u ljudi, nakon konzumacije konzumiranog sirovog mlijeka obaviještena je sanitarna inspekcija, a kako se radi o bolesti koja se suzbija po zakonu obaviještena je i veterinarska inspekcija.
<i>Virus enzootske leukoze goveda</i>	28	-	Analiza na ove parametre planirana je u veljači i lipnju 2015. Stoga je broj uzoraka manji.
<i>Antimikrobni lijekovi</i>	87 (30; 28; 29)*	6 (2/4/0)**	Kod uzorkovanja u listopadu 2 su uzorka, od istog proizvođača, bili pozitivni na nalaz antimikrobnih lijekova. Kod uzorkovanja u veljači sva 4 pozitivna uzorka bila su od različitih proizvođača.

\*Prvi se broj odnosi na broj uzoraka uzorkovanih u listopadu, drugi u veljači, a treći u lipnju

\*\*Prvi se broj odnosi na broj pozitivnih uzoraka u listopadu, drugi u veljači, a treći u lipnju

(Izvor: HAH, znanstveno mišljenje o javno zdravstvenom riziku vezanom za konzumaciju sirovog mlijeka, 2016)

## **Rezultati analiza na ostatke antimikrobnih lijekova**

Analizom je utvrđena pozitivna reakcija brzim testom TwinsensorBT BT00660+ u ukupno šest uzoraka (6,74 %). Ako se gleda po vremenu uzimanja u jesenskom uzorkovanju bila su dva (6,66 %) pozitivna uzorka, oba kod istog proizvođača koji prodaje mlijeko na dva odvojena mljekomata, ali u istom mjestu. U zimskom uzorkovanju bila su četiri pozitivna uzorka (14,28 %), svaki kod drugog proizvođača. U ljetnom uzorkovanju nije bilo pozitivnih uzoraka (od ukupno 29 uzoraka mlijeka). Pozitivna reakcija odnosi se na skupinu beta laktamskih antibiotika (penicilin G, cefalosporin, penicilin G, kloksacilin, cefapirin, cefalonij, cefazolin, cefoperazon i cetiofur) i klortetraciklin koji se nalaze na listi farmakološki djelatnih tvari kojih ne smije biti u mlijeku; Uredba komisije (EZ) br. 37/2010 od 22. prosinca 2009. o farmakološki djelatnim tvarima i njihovoj klasifikaciji u odnosu na najveće dopuštene količine rezidua u hrani životinjskog podrijetla).

Kako je riječ o brzom testu koji ne govori o količini određene antimikrobnog lijeka, nije moguće uspoređivati podatke s prihvatljivim dnevnim unosom niti procijeniti rizik. Međutim, ovi podaci ukazuju na činjenicu da se ne može isključiti mogućnost prisutnosti ostataka antimikrobnih lijekova i u većim količinama, pa se rezultati trebaju koristiti kao upozorenje da je u mlijeku moguće utvrditi ostatke antimikrobnih lijekova bez obzira na zakonske propise o upotrebi farmakološki djelatnih tvari i poštivanju karencije (HAH, znanstveno mišljenje o javno zdravstvenom riziku vezanom za konzumaciju sirovog mlijeka, 2016.).

## 7. RASPRAVA

U mnogim Europskim zemljama, kao što su Njemačka, Francuska, Nizozemska, Belgija, Danska, Italija, Irska i dijelovi Ujedinjenog Kraljevstva(UK) sirovo kravlje mlijeko smije se prodavati na farmi direktno potrošačima. U pojedinim zemljama EU (Španjolska, Poljska, Norveška) takva prodaja nije dozvoljena. U pojedinim zemljama dozvoljena je direktna prodaja na farmama sirovog mlijeka koza, ovaca i bufala. Podaci o prodaji svježeg mlijeka podrijetlom od drugih životinja osim krava, ovaca i koza su veoma ograničena. Prodaja mlijeka kobila je dopuštena u UK, Francuske, Belgije i Češke, a u Francuskoj dodatno i mlijeka magarica.

Podaci o potrošnji sirovog mlijeka u Europi su slabo dokumentirani. Proizvodnja mlijeka u EU-27 u 2011. je ukupno iznosila 156 000 000 tona. Od toga je ogroman dio (96,8%) kravlje mlijeko, iako u pojedinim zemljama članicama iz Istočne Europe značajan dio zauzima mlijeko ovaca, koza i bufala. 5 zemalja (Grčka, Španjolska, Francuska, Italija i Rumunjska) proizvode oko 92% ukupne proizvodnje EU ovčjeg mlijeka. Italija je najveći proizvođač (88%) mlijeka bufala u EU. Mljekare su preuzele 142 000 000 tona, a od toga je 98% kravlje mlijeko, kao mlijeko za piće obrađeno je 31 000 000 tona, 14 000 000 tona sirovog mlijeka je obrađeno na farmi, a samo mali dio je prodano kao RDM.

S druge strane, u pojedinim dijelovima Europe mljekomati se koriste za prodaju svježeg sirovog mlijeka, a mogu biti smješteni na farmama ili na drugim mjestima. Podaci o točnom broju mljekomata i količini prodanog svježeg sirovog mlijeka su nekompletni. Pojedine zemlje ne dozvoljavaju prodaju RDM putem mljekomata (Danska, Irska, Grčka, Nizozemska, Španjolska i UK). Najveći broj mljekomata u zemljama koje dozvoljavaju ima Italija (1066 u 2013.), Slovačka (182 u 2012.), Austrija (121 u 2013.), Francuska (93 u 2013.), Češka (14 u 2013.) i Litva (6 u 2013.). Premda su dostupni podaci limitirani ne ukazuju na povećanje broja mljekomata u EU. Čini se kako se u mljekomatima prodaje isključivo mlijeko krava iako se u Češkoj prodaje i kozje mlijeko.

S obzirom na jednostavni pristup internetu, socijalnim medijima kao što su blogovi, kao i internet stranice prodavača svježeg sirovog mlijeka, u porastu je i sama prodaja putem interneta. Takav način zasigurno omogućava pristup svježeg sirovog mlijeka bez odlaska na

farme. Ne postoje objavljeni podaci o prodaji svježeg sirovog mlijeka putem interneta, kakvi su trendovi, načinima dostave te da li se prodaje svježe ohlađeno ili zamrznuto. Kako je broj internet pretraživanja općenito u porastu ne može se točno odrediti da li je potraga za pojmom sirovo mlijeko dio takvog općenitog porasta.

Opasnosti podrijetlom iz hrane su definirane od strane Codex Alimentarius Commission (CAC) kao biološka, kemijska ili fizička opasnost ili svojstvo hrane koje ima potencijal izazvati štetan učinak na zdravlje (CAC, 1999). U mikrobiološke opasnosti svježeg sirovog mlijeka mogu proizaći iz infekcije mliječnih životinja, fekalne kontaminacije i od mikroorganizama iz okoliša farme. Raznolik opseg mikrobioloških opasnosti može potencijalno biti povezan s kontaminacijom sirovog mlijeka, a to je dokumentirano i u literaturi, posebice za *kravlje* mlijeko (Gilmour i Rowe, 1981; Claeys i sur., 2013; Moatsou i Maschopoulou, 2014; Verraes i sur., 2014). Premda različite mliječne životinje dijele slične opasnosti povezane s mlijekom postoje razlike između životinja, posebno obzirom na infekcije, neke od kojih mogu biti prenesene putem mlijeka. Iz tih razloga, smatra se veoma važnim početno razmatranje opasnosti povezanih sa svakom od glavnih vrsta mliječnih životinja relevantnih u EU. To su goveda (prvenstveno krave) mali preživači (uključujući ovce i koze), kopitari (kobile i magarice) i kamelidi (deve). Iako je broj deva u EU mali važno je u procjenu uzeti i tu grupu jer mlijeko *deva* postaje dostupno diljem svijeta.

Na području Europske unije EFSA ima ključnu ulogu u procjeni rizika vezano za sigurnost hrane i hrane za životinje. Svojim znanstvenim radom i aktivnošću kontinuirano daje izniman značaj zaštiti potrošača i promicanju sigurnosti hrane i globalno pridonosi visokoj zaštiti zdravlja potrošača.

Stoga je izrađeno opsežno izvješće o javno zdravstvenim rizicima povezanim sa svježim sirovim mlijekom u EU od strane stručnjaka iz EFSA-inog Znanstvenog odbora za biološke opasnosti (BIOHAZ).

## 8. ZAKLJUČCI

1. Mikrobiološke opasnosti koje su identificirane kao prenosive putem mlijeka i prisutne u mliječnim životinja koje postoje u EU jesu bakterije *Bacillus cereus*, *Brucella abortus*, *Brucella melitensis*, *Campylobacter spp.*, *Listeria monocytogenes*, *Mycobacterium bovis*, *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus*, *Escherichia coli* koja proizvodi shiga toksin (STEC), *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis*, paraziti *Cryptosporidium parvum* i *Toxoplasma gondii* te virus krpeljnog encefalitisa (TBEV);
2. U Republici Hrvatskoj u uzorcima sirovog mlijeka nisu utvrđene bakterije *C. jejuni/coli*, *E. coli O157 (VTEC ili STEC)*, *Salmonella spp.*, *Y. enterocolitica*, *M. avium subsp. paratuberculosis* i virus enzootske leukoze goveda.
3. Prema rezultatima mikrobioloških analiza mlijeko iz mljekomata bilo je najčešće kontaminirano s *L. monocytogenes*, *S. aureus* i *C. burnetti*, patogenim mikroorganizmima koji mogu dovesti do oboljenja ljudi.
4. Na temelju dobivenih podataka, potrebno je educirati potrošače o mikrobiološkim opasnostima u mlijeku, o postupanju s mlijekom nakon kupnje (obavezna termička obrada mlijeka, maksimalno skratiti vrijeme od kupnje do pohrane mlijeka u hladnjaku, koristiti prijenosni hladnjak kod transporta).
5. Potrošačima svježeg mlijeka prenesena informacija kako se isto mora prokuhati prije konzumacije, kako bi se eliminirali mikrobiološki rizici.



## 9. LITERATURA

1. Anonimno (2000): Pravilnik o kakvoći svježeg sirovog mlijeka (NN 102/00, 111/00, 74/08); dostupno na: [http://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2000\\_10\\_102\\_1998.html](http://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2000_10_102_1998.html)
2. Anonimno (2015): Pravilnik o registraciji subjekata te registraciji i odobravanju objekata u poslovanju s hranom (NN 84/15) ; dostupno na: [http://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2015\\_07\\_84\\_1641.html](http://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2015_07_84_1641.html)
3. Antunac, N. (2005): Značaj higijenske kvalitete mlijeka u proizvodnji sira, Sedmo savjetovanje uzgajivača ovaca i koza u Republici Hrvatskoj i Šesta izložba ovčjih i kozjih sireva, Zadar, 41-58.
4. Austin, J., Bergeron, G. (1995): Development of bacterial biofilms in dairy processing lines. *Journal Of Dairy Research*, 62, 509-519.
5. Bianchi D. M., Barbaro A., Gallina S., Vitale N., Chiavacci L., Caramelli M., Decastelli L. (2013): Monitoring of foodborne pathogenic bacteria in vending machine raw milk in Piedmont, Italy. *Food Control*, 32, 436-439.
6. Božanić, R., Bašić, Z., Konjačić, M., Antunac, N., Đermadi, J., Volarić, V. (2012): Kemijska i higijenska kvaliteta mlijeka na farmama mliječnih krava u tri hrvatske regije. *Mljekarstvo* 62, 251- 260.
7. CAC (Codex Alimentarius Commission) (1999): Principles and guidelines for the conduct of microbiological risk assessment. CAC/GL 30-1999.  
Available at: <http://www.codexalimentarius.org>
8. CAC (Codex Alimentarius Commission) (2004): Code of hygienic practice for milk and milk products. CAC/RCP 57-2004.  
Available at: <http://www.codexalimentarius.org>

9. Castle M. E and Watkins P. (1984): Modern milk production. Latimer Trend and Company Ltd. Plymouth, UK.
10. Chambers, J.V. (2002): The microbiology of raw milk. U knjizi, Dairy Microbiology Handbook 3rd edition, Robinson, R.K., John Wiley & Sons, New York, 39–90.
11. Claeys WL., Verraes C., Cardoen S., De Block J., Huyghebaert A., Raes K., Dewettinck K. and Herman L. (2013): Consumption of raw or heated milk from different species: an evaluation of the nutritional and potential health benefits. Food Control, 42, 188–201.
12. Cousins CM. and Bramley AJ. (1981): The microbiology of raw milk. In: Dairy microbiology. Vol. I. Ed. Robinson RK. Applied Science Publishers, Barking, England, 119-163.
13. EFSA (European Food Safety Authority) (2012): External scientific report: Microbiological contaminants in food in the European2004-2009:  
Available at: <http://www.efsa.europa.eu/en/supporting/doc/249e.pdf>
14. EFSA (European Food Safety Authority) (2015): Scientific Opinion on the public health risk related to the consumption of raw drinking milk; EFSA Journal 2015; 13(1):3940
15. Ercolini D., Russo F., Ferrocino I., Villani F. (2009): Molecular identification of mesophilic and psychrotropic bacteria from raw cow's milk. Food Microbiology, 2, 228-231.
16. FSANZ (Food Standards Australia New Zealand) (2009): Microbiological risk assessment of raw cow milk. Risk Assessment Microbiology Section. December  
Available at: <http://www.foodstandards.gov.au/code/proposals/documents/P1007%20PPPS%20for%20raw%20milk%201AR%20SD1%20Cow%20milk%20Risk%20Assessment.pdf>
17. Gaulin C., Levac E., Ramsay D., Dion R., Ismaïl J., Gingras S., Lacroix C. (2012): *Escherichia coli* O157:H7 outbreak linked to raw milk cheese in Quebec, Canada: Use of

exact probability calculation and case-case study approaches to foodborne outbreak investigation. *J. Food Prot.*, 75, pp. 812-818.

18. Gibson AM., Bratchell N. and Roberts TA. (1988): Predicting microbial growth: growth responses of *Salmonellae* in a laboratory medium as affected by pH, sodium chloride and storage temperature. *International Journal of Food Microbiology*, 6, 155–178.

19. Gilmour A., Rowe MT. (1981): Micro-organisms associated with milk. In: Robinson, R.K. (Ed.), *Dairy Microbiology*. Applied Science Publishers, London, pp. 119–164

20. HAH (2016): Znanstveno mišljenje o javno zdravstvenom riziku vezanom za konzumaciju sirovog mlijeka; dostupno na: <http://www.hah.hr/wp-content/uploads/2016/12/znanstveno-misljenje-o-javno-zdravstvenom-riziku-vezanom-za-konzumaciju-sirovog-mlijeka.pdf>

21. Hempten M. (2015): Procjena rizika: EFSA-ino mišljenje o javno zdravstvenom riziku od konzumacije svježeg sirovog mlijeka. 1. hrvatska konferencija o procjeni rizika porijeklom iz hrane; Osijek, 6.-7. listopada 2015.

22. Hengl B. (2015): Procjena rizika: svježe sirovo mlijeko iz mljekomata u RH. 1. hrvatska konferencija o procjeni rizika porijeklom iz hrane; Osijek, 6.-7. listopada 2015.

23. Hunt K., Fox E., O'Brien M., Jordan K. (2012): *Listeria monocytogenes* in Irish Farmhouse cheese processing environments. *Int J Food Microbiol*, 145(Suppl 1): 39–45

24. Latorre AA., Pradhan AK., Van Kessel JA., Karns JS., Boor KJ., Rice DH., Mangione KJ., Gröhn YT., Schukken YH. (2011): Quantitative risk assessment of listeriosis due to consumption of raw milk. *J Food Prot.* 74(8):1268-81.

25. Masson, P. L., J. F. Heremans (1971): Lactoferrin and milk from different species. *Comp. Biochem. Physiol.* 39b: 119 -129.

26. Moatsou G. and Moschopoulou E. (2014): Microbiology of raw milk. In: *Dairy microbiology and biochemistry: recent developments*. 1st edition. Eds Özer BH and Akdemir-Evrendilek G. CRC Press, 464 pp.

27. Nada S., Djekic I., Tomasevic I, Miocinovic J and Gvozdenovic R (2012): Implication of food safety measures on microbiological quality of raw and pasteurized milk. *Food Control*, 25, 728-731.
28. Piepers S., Zrimšek P., Passchyn P., De Vliegher S. (2014): Manageable risk factors associated with bacterial and coliform counts in unpasteurized bulk milk in Flemish dairy herds. *J Dairy Science*(6):3409-19.
29. Quigley L., O’Sullivan O., Stanton C., Beresford TP, Ross RP, Fitzgerald GF and Cotter PD (2013): The complex microbiota of raw milk. *FEMS Microbiology Reviews*, 37, 664–698.
30. Raats D., Offek M., Minz D., Halpern M. (2011): Molecular analysis of bacterial communities in raw cow milk and the impact of refrigeration on its structure and dynamics. *Food Microbiology*, 2, 465-71
31. Samaržija D. (2011): *Biološki kontaminanti mlijeka i mliječnih proizvoda*. Zagreb: Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 2011
32. Samaržija D. (2015): *Fermentirana mlijeka*, Zagreb: Hrvatska mljekarska udruga, 2015
33. Samaržija, D., Podoreški, M., Sikora, S, Skelin, A., Pogačić, T. (2007): Mikroorganizmi - uzročnici kvarenja mlijeka i mliječnih proizvoda. *Mljekarstvo* 57, 251-273.
34. Samaržija D., Zamberlin, Š., Pogačić, T. (2012): Psihrotrofne bakterije i njihovi negativni utjecaji na kvalitetu mlijeka i mliječnih proizvoda. *Mljekarstvo*, 62, 77-96.
35. Sarno E, Santoro AML, Di Palo R and Costanzo N (2012): Microbiological quality of raw donkey milk from Campania Region. *Italian Journal of Animal Science*, 11, 266–269.
36. Tratnik, Lj. (1998): *Mlijeko-tehnologija, biokemija i mikrobiologija*, HMU, Zagreb
37. Tratnik, Lj. (2012): *Sirovo mlijeko*. U knjizi, *Mlijeko i mliječni proizvodi*, Tratnik, Lj., Božanić, R., Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb, 19-82.

38. Tudor-Kalit, M. (2014): HACCP sustav i pristup analize rizika u hrani. U knjizi, Sigurnost hrane od polja do stola, Havranek, J., Tudor-Kalit, M., M.E.P. d.o.o., Zagreb, 166-196.
39. Vacheyrou M, Normand AC, Guyot P, Cassagne C, Piarroux R and Bouton Y (2011): Cultivable microbial communities in raw cow milk and potential transfers from stables of sixteen French farms. *International Journal of Food Microbiology*, 146, 253–262.
40. Verraes C., G. Vlaemynck G., Van Weyenber S., De Zutter L., Daube G., Sindic M., Uyttendaele M, Herman L. (2015): A review of the microbiological hazards of dairy products made from raw milk, *International Dairy Journal*, 50, 32
41. Walkling-Ribeiro M., Rodriguez-Gonzalez O., Jayaram S. and Griffiths MW. (2011): Microbial inactivation and shelf life comparison of ‘cold’ hurdle processing with pulsed electric fields and microfiltration, and conventional thermal pasteurisation in skim milk. *International Journal of Food Microbiology*, 144, 379–386.
42. Walstra, P., Wouters, J., Geurts, T. (2006): Microbial defects. U knjizi, Dairy Science and Technology, Second Edition, Walstra, P., Wouters, J., Geurts, T., CRC Taylor & Francis Group, USA. 677-686.
43. Wolfson, L. M., S. S. Sumner (1993): Antibacterial activity of the lactoperoxidase system: a review. *J. FOOD PROT.*, 56: 887-892.
44. Yang B., Shi Y., Xia X., Xi M., Wang X., Ji B. and Meng J. (2012): Inactivation of foodborne pathogens in raw milk using high hydrostatic pressure. *Food Control*, 28, 273–278.

## 10. SAŽETAK

### NASLOV: MIKROBIOLOŠKI RIZICI U PROIZVODNJI SVJEŽEG SIROVOG MLIJEKA

U Republici Hrvatskoj (RH) i ostalim zemljama EU, bilježi se povećanje broja ljudi koji konzumiraju svježe sirovo mlijeko. Ljudi koji konzumiraju takvo mlijeko smatraju kako ono ima bolje nutritivne odlike, boljeg je okusa i ima veću dobrobit za ljudsko zdravlje te ga na osnovu takvih razmišljanja konzumiraju populacija koja ima slabiji imunitet, veoma mlade ili veoma stare osobe, osobe s imunokompresijom i osobe s posebnim prehrambenim potrebama. Međutim, svježe sirovo mlijeko može biti kontaminirano s različitim patogenima, što potvrđuju mnoga istraživanja i dokumentirani proboji bolesti unazad nekoliko godina od kojih su najznačajniji *Campylobacter spp.*, *Salmonella spp.*, *E. coli* koja proizvodi shiga toksin (STEC), *Brucella melitensis*, *Mycobacterium bovis* i virus krpeljnog encefalitisa, *L. monocytogenes*, *S. aureus* i *C. burnetti*. To je mlijeko koje nije podvrgnuto nikakvoj termičkoj obradi tj. nije zagrijavano na temperaturu višu od 40°C, a može se kupiti u mljekomatima ili direktnim putem kod proizvođača mlijeka.

Stoga je izrađeno opsežno izvješće o javno zdravstvenim rizicima povezanim sa konzumacijom svježeg sirovog mlijeka u EU od strane stručnjaka iz EFSA-inog Znanstvenog odbora za biološke opasnosti (BIOHAZ) i Znanstveni odbor Hrvatske agencije za hranu u Republici Hrvatskoj.

Na temelju dobivenih podataka, potrebno je educirati potrošače o mikrobiološkim opasnostima u mlijeku, o postupanju s mlijekom nakon kupnje (obavezna termička obrada mlijeka, maksimalno skratiti vrijeme od kupnje do pohrane mlijeka u hladnjaku, koristiti prijenosni hladnjak kod transporta). Potrošačima svježeg mlijeka prenesena je informacija kako se isto mora prokuhati prije konzumacije, kako bi se eliminirali mikrobiološki rizici.

**Ključne riječi:** svježe sirovo mlijeko, ljudsko zdravlje, prehrambene potrebe, mikrobiološke opasnosti

## 11. SUMMARY

### **TITLE: MICROBIOLOGICAL RISKS IN PRODUCING FERROUS RAW MILK**

In Croatia and in other EU countries, there is an increase in the number of people consuming fresh raw milk. People who consume such milk consider it to have a better nutritional quality, a better taste, and a greater benefit to human health, and because of such thoughts it is usually consumed by a population with a lower immune system, very young or very old persons, persons with immune suppression and persons with special nutritional needs. However, fresh raw milk can be contaminated with various pathogens, which is confirmed by many research and documented disease breakdowns over a few years of which the most important are *Campylobacter spp.*, *Salmonella spp.*, *E. coli producing shiga toxin (STEC)*, *Brucella melitensis*, *Mycobacterium bovis* and tickling encephalitis virus *L. monocytogenes*, *S. aureus* and *C. burnetti*. It is a milk that has not undergone any heat treatment, i.e. it is not heated to a temperature higher than 40 ° C and can be purchased in automats for milk or directly from milk producers.

Therefore, an extensive report on public health risks related to the consumption of fresh raw milk in the EU has been prepared by experts from the EFSA Scientific Committee on Biological Hazards (BIOHAZ) and the Scientific Committee of the Croatian Food Agency in Croatia.

Based on the obtained data, it is necessary to educate consumers about microbiological hazards in milk, about milk treatment after purchase (mandatory thermal processing of milk, maximally shortage of time from purchase to storage of milk in refrigerator, use of transportable transport refrigerator). The consumers of fresh milk have been informed that they have to boil it well before consumption to eliminate microbiological risks.

**Key words: fresh raw milk, human health, nutritional needs, microbiological hazards**

## 12. ŽIVOTOPIS

Marijana Mrazović rođena je 24. lipnja 1992. godine u Zaboku. Osnovnu školu "Zlatar Bistrica" pohađala je u rodnom mjestu te je 2008. godine upisala školu za medicinske sestre "Mlinarska" u Zagrebu. Odmah po završetku srednjoškolskog obrazovanja, 2011. godine, upisuje integrirani preddiplomski i diplomski studij na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu.

Tijekom cijelog studiranja bila je aktivni član Fakultetskog vijeća Veterinarskog fakulteta te je redovito pohađala zakazane sjednice. Sudjelovala je u raznim studentskim aktivnostima. Uvelike je pridonijela organizaciji Veterinarskog kongresa 2016. godine na matičnom fakultetu. 2017. godine, uz nekolicinu ostalih kolega, predstavljala je fakultet na Smotri Sveučilišta u Zagrebu.

Također je ostvarila ,uz životno, vrlo značajno radno iskustvo preko Studentskog servisa istaknuvši se u promotivnim aktivnostima u farmaceutskoj industriji te industriji hrane za male životinje.