



Zemědělská
fakulta
Faculty
of Agriculture

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH FAKULTA ZEMĚDĚLSKÁ A TECHNOLOGICKÁ

Katedra potravinářských biotechnologií a kvality zemědělských produktů

Bakalářská práce

Mikrobiologie syrového mléka a vybraných mléčných výrobků

Autorka práce: Michaela Bezányiová

Vedoucí práce: doc. MVDr. Lucie Hasoňová, Ph.D.

České Budějovice
2022

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem autorem této kvalifikační práce a že jsem ji vypracovala pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu použitých zdrojů.

V Českých Budějovicích dne

.....
Podpis

Abstrakt

Mléko je díky svému složení významnou součástí stravy lidí. Cílem bakalářské práce bylo vypracovat literární rešerši zabývající se mikrobiotou syrového kravského mléka a mléčných výrobků. Práce shrnuje problematiku primární a sekundární kontaminace mléka mikroorganismy a zabývá se vnitřními i vnějšími faktory, které růst mikroorganismů ovlivňují. Zvláštní pozornost je věnována mastitidám, které jsou hlavním zdrojem primární kontaminace mléka. Důraz je kladen na nutnost dodržování přísných hygienických předpisů při manipulaci s touto surovinou. V poslední části je pojednáno o možných zdravotních rizicích spojených s konzumací mléka a mléčných výrobků.

Klíčová slova: syrové mléko, mléčné výrobky, mikrobiota, alimentární onemocnění

Abstract

Milk is an important part of the human diet due to its composition. The aim of the bachelor thesis was to create a review focused on the microbiota of raw cow's milk and dairy products. The thesis summarizes the ways of primary and secondary microbial contamination of milk and describes the intrinsic and extrinsic factors influencing the growth of microorganisms. A particular attention is focused on mastitis, which are the main source of primary contamination of milk. The great emphasis is attended to the necessity of strict following of hygiene regulations during manipulation with this raw material. In the last part, potential health risks associated with consumption of milk and dairy products is mentioned.

Keywords: raw milk, dairy products, microbiota, alimentary diseases

Poděkování

Tímto bych ráda poděkovala doc. MVDr. Lucii Hasoňové, Ph.D. za odborné vedení mé práce, trpělivost a cenné připomínky během jejího zpracování. Děkuji též své rodině, která mi byla oporou nejen při psaní bakalářské práce, ale během celého studia.

Obsah

Úvod.....	6
1 Cíl práce	7
2 Mikrobiologie syrového kravského mléka a vybraných mléčných výrobků	8
2.1 Kontaminace mléka a mléčných výrobků mikroorganismy.....	8
2.1.1 Primární kontaminace	8
2.1.2 Sekundární kontaminace	14
2.2 Faktory ovlivňující růst mikroorganismů v mléce a mléčných výrobcích.....	16
2.2.1 Vnitřní faktory.....	17
2.2.2 Vnější faktory	25
2.3 Mikroorganismy v mléce	28
2.4 Požadavky na hygienickou kvalitu syrového mléka	30
2.5 Kažení mléka a mléčných výrobků	31
2.6 Možná rizika alimentárních onemocnění z mléka	35
Závěr	38
Seznam použité literatury.....	39
Seznam obrázků	47
Seznam tabulek	48

Úvod

Syrové kravské mléko je excelentním médiem pro růst mikroorganismů díky dostupným živinám, příznivému pH a obsahu vody společně s vysokou mírou její využitelnosti, které společně podporují i přirozeně vysokou a jedinečnou enzymatickou aktivitu mikroorganismů.

Vzhledem k velmi vhodným vnitřním faktorům mléka se v mléce vyskytují nejen mikroorganismy, které jsou pro lidský organismus prospěšné a běžně se využívají např. při výrobě mléčných výrobků, ale i ty, které mohou mléko ovlivňovat negativně ve smyslu změn složení a senzorických vlastností. Mléko může rovněž představovat zdroj původců vybraných alimentárních onemocnění. Proto se za jeden z nejvýznamnějších faktorů, které ovlivňují výslednou mikrobiální kvalitu mléka, považuje samotné získávání mléka a jeho následné ošetření, které podléhá přísným hygienickým předpisům. Je nezbytné je dodržovat a přistupovat k mléku nejen jako ke zdroji významných živin pro lidský organismus, ale také na něj nahlížet jako na potenciálně rizikovou potravinu.

1 Cíl práce

Cílem bakalářské práce bylo vypracování literární rešerše zabývající se mikrobiotou syrového kravského mléka a mléčných výrobků včetně faktorů, které mikrobiologickou kvalitou ovlivňují.

2 Mikrobiologie syrového kravského mléka a vybraných mléčných výrobků

Vzhledem k velkému množství živin, které mléko prokazatelně obsahuje, je vhodnou živnou půdou pro růst mikroorganismů, kdy vyhovuje jak prospěšným mikroorganismům, tak i těm, jež jsou z mlékárenského hlediska nežádoucí (Štípková, 2010; Fusco et al., 2020).

Z mikrobiologického hlediska je tedy mléko jednou z nejrizikovějších potravin. Nemusí se však vždy jednat pouze o kontaminující mikroorganismy, ale i o ty pro lidský organismus prospěšné. Mléčná mikrobiota tak má velký vliv na bezpečnost a kvalitu mléka a mléčných výrobků i jejich trvanlivost (Quigley et al., 2013; Erkmen a Bozoglu, 2016).

2.1 Kontaminace mléka a mléčných výrobků mikroorganismy

Mikroorganismy mohou kontaminovat mléko endogenní cestou přímo z krve či strukového kanálku infikovaného, často však klinicky zdravého zvířete, nebo cestou exogenní během jeho získávání a následného zpracování (Owusu-Kwarteng et al., 2020).

2.1.1 Primární kontaminace

Kontaminace mléka endogenní cestou se nevyskytuje často, jelikož mléko je chráněno v krvi přítomnými fagocytujícími buňkami a protilátkami (Navrátilová et al., 2012). Vlastní obrana před infekcí je obecně zajišťována různými bariérami, z nejdůležitějších lze jmenovat kůži, sliznici strukového kanálku, nespecificky solubilní faktory, fagocytózu, specificky cytotoxické lymfocyty a protilátky se schopností neutralizace bakteriálních toxinů (Toman et al., 2009). Pokud by i tak přes strukový kanálek infekce opakovaně pronikla, mohlo by dojít k oslabení této funkční obrany a opakované záněty by pak vedly ke chronickým změnám, které v četných případech způsobují trvalé poškození sekrečního parenchymu (Krejčí, 2006).

Jedním z nejvýznamnějších faktorů, které způsobují primární kontaminaci mléka bakteriemi, příp. i dalšími mikroorganismy, jsou zánětlivá onemocnění mléčné žlázy (mastitidy). Na infikování mléka patogeny, které vyvolávají mastitidy, má vliv několik faktorů, z nichž velmi významnou roli hraje strukový kanálek a jeho uzavíratelnost, samotný struk a tvorba mazové zátky strukového kanálku (laktoseba).

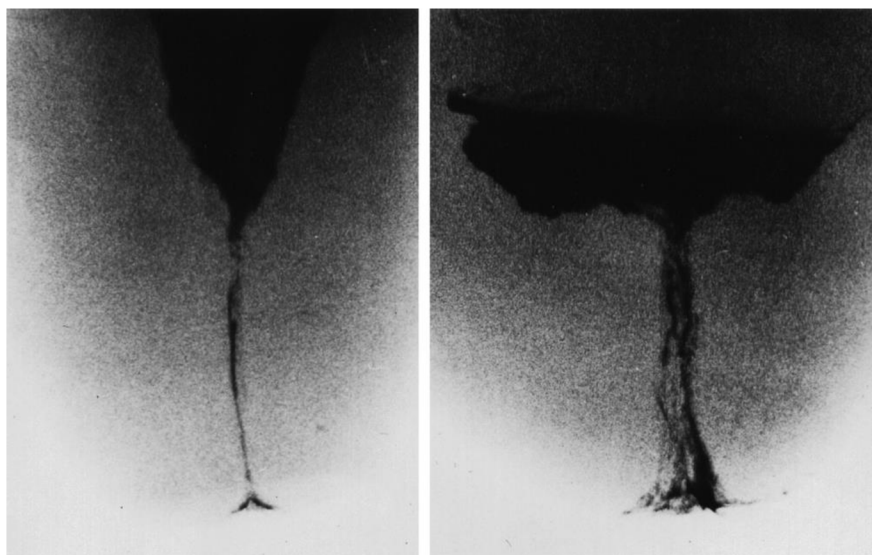
Funkce strukového kanálku

Strukový kanálek představuje spojení mezi vnějším prostředím a mléčnou žlázou a při správném fungování zajišťuje primární bariéru před průnikem mikroorganismů. Jeho průměrná délka činí 8,6 mm a šířka 1,2 mm (Davidov et al., 2011). Bylo zjištěno, že průměr strukového kanálku se fyziologicky rozšiřuje s narůstajícím počtem laktací (Obrázek 2.1.1 a) (Neijenhuis et al., 2001).

Důležitým aspektem je schopnost uzavíratelnosti strukového kanálku, která souvisí s tonizací jeho svěrače, s níž zčásti souvisí i dojitelnost. Mastitidy se tak častěji vyskytují u dojnic s extrémními hodnotami dojitelnosti (Toman, 2000). Podle některých autorů (Toman, 2000; Zavadilová et al., 2007) mají dojnice s délkou strukového kanálku kratší než 9 mm vyšší predispozici k výskytu mastitid. Naproti tomu Guarín et al. (2017) tvrdí, že délka strukového kanálku na predispozici ke vzniku mastitid vliv nemá.

Dle Baumgartnera (2011) zůstává strukový kanálek otevřený po skončení dojení jednu i více hodin. Zelinková (2008) uvádí jako čas potřebný k jeho uzavření 45 minut po dojení. Nezávisle na uváděné době nutné k uzavření je vhodné po skončení dojení provést ošetření struků baktericidním roztokem k zamezení průniku mikroorganismů. Vhodné je také nechat dojnice po dojení určitý čas stát, např. tak, že je jim podáno čerstvé krmení (Baumgartner, 2011).

Poškození konce struků, nedostatečná stimulace vemene před dojením, vysoký podtlak dojícího zařízení či omrzliny struku jsou negativními jevy, které zapříčiňují neúplné uzavření strukového kanálku, a tím vedou k vyššímu riziku intramamárních infekcí (Baumgartner, 2011).



Obrázek 2.1.1 a: Rentgenový snímek ukazuje rozšíření průměru strukového kanálku stejného struku stejné dojnice mezi první laktací (*vlevo*) a pozdější laktací (*vpravo*) (Neijenhuis et al., 2001)

Laktosebum

Antimikrobiálně působící keratin chrání mléčnou žlázu před infekcí jak mechanicky, tak chemicky, jelikož tvoří mazovou zátku strukového kanálku zvanou laktosebum, která disponuje zvýšeným obsahem určitých mastných kyselin, zejména kyseliny myristové a kyseliny laurové (Toman et al., 2009; Baumgartner, 2011). Mechanicky pak mazová zátka zabraňuje vzestupnému pronikání mikroorganismů do mléčné žlázy (Davidov et al., 2011). Tato zátka může být zničena neúměrně vysokou mírou podtlaku či předojováním, což následně zvyšuje pravděpodobnost infekce (Jones, 2009).

Laktosebum se významně podílí na ochraně mléčné žlázy v období stání na sucho. Přibližně během prvního týdne po zaprahnutí vytvoří mazová zátka bariéru uvnitř strukového kanálku, přes kterou nežádoucí mikroorganismy neproniknou. Problém však může být v tom, že k vytvoření této zátky v patřičné kvalitě nedochází vždy a u všech struků. Dle dostupných studií se laktosebum po 6 týdnech od zaprahnutí nevytvoří u 24 % struků a k jeho vytvoření nedojde během celého stání na sucho u 5 % struků (Kratochvíl, 2006). Tento problém lze řešit využitím neantibiotických tmelů, které strukový kanálek uzavrou (Seydlová, 2011).

Kvalita konce struků má výrazný vliv na kontaminaci mléka mikroorganismy. Hrubý povrch konce struku se obtížněji čistí před dojením, stává se tak vhodným

místem pro kolonizaci bakterií a zvyšuje se riziko vzniku mastitid (Neijenhuis et al., 2001).

Nadměrná produkce keratinu má za následek zatvrdnutí a zduření částí struků, dochází k tvorbě prasklin a stroupků na kůži struku a jeho nálevkovitému otevření. Hladkost kůže struku je porušena a vzniklé praskliny se snadno stanou rezervoárem patogenů (Večeřová, 1997; Seydlová, 2006).

Mezinárodní skupinou odborníků byl navržen pětibodový systém hodnocení čistoty konce struků (Neijenhuis et al., 2001). Bylo zjištěno, že keratinizace konce struků a zhoršení tzv. strukového skóre až na hodnoty 3 nebo 4 dle používané klasifikace (Obrázek 2.1.1 b) zhoršuje kvalitativní parametry mléka, zejména celkový počet mikroorganismů (CPM) a počet somatických buněk (PSB) (Dvořáková, 2014).



Obrázek 2.1.1 b: Strukové skóre 1 (vlevo) a strukové skóre 4 (vpravo) (Dvořáková, 2014)

Sandrucci et al. (2014) ve své studii zjišťovali vliv teploty, pořadí laktace a procesu dojení na kondici struků, čistotu dojnic a PSB v mléce. Bylo zjištěno, že strukového skóre 3 - 4 dosahovalo 15,9 % dojnic, nejhorší výsledky pak byly zaznamenány na jaře při průměrné venkovní teplotě 12,1 °C.

Na výhřezu strukového kanálku, který vede ke vzniku hyperkeratóz, se podílí mnoho faktorů. Lze je rozdělit na ty, které souvisí s dojícím zařízením, technikou dojení a na faktory závislé přímo na dojnici (Reneau et al., 2008).

Mezi posledně jmenovanými je sledována vyšší dojivost, pomalé spouštění mléka, pořadí a fáze laktace a v neposlední řadě rozmístění, délka a zakončení struků. Bylo prokázáno, že delší struky se špičatým zakončením jsou k hyperkeratóze náchylnější (Reneau et al., 2008).

K nadměrné tvorbě keratinu a jeho částečnému odstranění ze strukového kanálku vede v některých případech nepřiměřená traumatizace struku (Zucali et al., 2008).

Nevhodný průběh dojení (nízký nebo vysoký podtlak, nesprávný počet pulzů, celková délka dojení) způsobuje nežádoucí změny vlastností struku (Reneau et al., 2008). Nevhodné působení dojícího stroje po dobu jednoho dojení vede ke změnám barvy struků, změkčení jejich konce, způsobuje otoky a dochází k mírnému otevření strukového kanálku. V případě, že není sjednána náprava a nevhodný průběh dojení se opakuje další dny až týdny, dojde ke vzniku malých krvácenin a změně barvy kůže struků. Pokud situace i nadále přetrvává, vznikne hyperkeratóza (Kirk, 2008).

Mastitidy jako zdravotní riziko

Mastitidy se celosvětově řadí k nejčastějšímu onemocnění dojných stád skotu (Volling, 2011). Nejen že snižují užitkovost, mění složení mléka, narušují plodnost dojnic a nesou s sebou značné ekonomické ztráty, ale také mohou představovat zdravotní riziko pro spotřebitele (Sharun et al. 2021).

Mléko pocházející od zcela zdravých dojnic obsahuje určité množství mikroorganismů, které do vemene pronikají z vnějšího prostředí strukovým kanálkem. Jejich množství je nejvyšší v prvních dávkách mléka, které je nutné před vlastním dojením odstříkat do speciální nádoby, kde lze díky tmavému dnu provést posouzení sekretu (Samková et al., 2012). Obvyklé množství mikroorganismů nacházejících se v mléce je podle Quigley et al. (2013) 10^2 /ml. Jaglič et al. (2014) v této souvislosti uvádí, že jejich počet nepřevyšuje 10^3 /ml.

Avšak u dojnic stížených mastitidou se množství mikroorganismů přítomných v mléce zvyšuje až na hodnoty více než 10^{7-8} /ml. Bylo zjištěno, že jejich obsah je nejvyšší v akutním stadiu nemoci, nižší pak ve stadiu chronickém či subakutním (Jaglič et al., 2014). Vysoké počty bakterií jsou zjišťovány zejména v případě klinických forem mastitid oproti formám subklinickým. Původci mastitid nejčastěji vnikají do mléčné žlázy prostřednictvím strukového kanálku. Méně častou možností je hematogenní infekce, kdy se patogen dostává do mléčné žlázy z krevního řečiště z některého z infekčních ložisek v organismu zvířete (Hofírek et al., 2009).

Rozdělení mastitid a jejich původci

Mastitidy jsou děleny dle různých hledisek. Jedním z nich je rozdělení dle symptomů na klinické a subklinické. Klinické mastitidy jsou charakteristické náhlým projevem příznaků, ke kterým patří zarudnutí a otok vemene, letargie, nechutenství a horečka. Dochází též ke změnám sensorických vlastností mléka a zvýšení CPM až na hodnotu 10^8 /ml (Hofírek et al., 2004; Zavadilová et al., 2017; Cobirka et al., 2020). Mléko z infikovaného struku je vločkovité, objevují se v něm sraženiny a/nebo má vodnatou konzistenci (Cobirka et al., 2020).

U subklinických mastitid nejsou vyjádřeny klinické příznaky, proto může být jejich detekce obtížná (Pereira et al., 2011). Dochází u nich však k poklesu dojivosti, snížení celkové kvality mléka, CPM dosahuje množství 10^4 - 10^5 /ml a PSB může dosahovat i více než miliónu buněk/ml (Hofírek et al., 2004). Uvádí se, že subklinické mastitidy se vyskytují 15 - 40krát častěji než klinické mastitidy, jejich trvání je delší a způsobují největší celkové ztráty u většiny dojných stád skotu (Cobirka et al., 2020). Prevalence subklinické mastitidy u dojnic se zvyšuje se zvýšenou produkcí mléka, nehygienickými postupy dojení a se zvyšujícím se počtem laktací (Kumari et al., 2018; Cobirka et al., 2020).

Různé patogenní mikroorganismy vyvolávají různě závažné formy mastitid. Metaanalýzou dat za období 1979 - 2019 byla zjišťována prevalence mastitidních patogenů u skotu a buvolů. Nejčastěji zjišťovaným původcem byl *Staphylococcus aureus*, který většinou způsoboval subklinické mastitidy. Dalším často prokazovaným patogenem byla *Escherichia coli* vyvolávající především klinické formy onemocnění a dále zástupci rodu *Streptococcus* způsobující mastitidy klinického i subklinického charakteru (Krishnamoorthy et al., 2021). S uvedenými údaji se shodují i další studie (Jaglič et al., 2014; Reyes-Jara et al., 2016). Sharun et al. (2021) přidávají jako další významné původce klinických mastitid také *Trueperella pyogenes* a *Streptococcus dysgalactiae*.

Mastitidy jsou dále tradičně děleny dle charakteru patogenů na kontagiózní a environmentální. Klaas a Zadoks (2017) však toto rozčlenění považují za méně vhodné, protože může být u určitých patogenů zavádějící.

Environmentální mastitidy jsou způsobeny mikroorganismy z okolního prostředí, označovanými jako environmentální patogeny, které infikují mléčnou žlázu prostřednictvím strukového kanálku (Cobirka et al., 2020).

Prostředí, ve kterém se dojnice pohybuje, pastviny a výkaly jsou pak hlavními zdroji těchto mikroorganismů, z nichž jsou jako nejběžnější patogeny uváděny environmentální streptokoky (zejména *Streptococcus uberis*), koaguláza negativní stafylokoky a koliformní bakterie (*Klebsiella* spp., *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *Serratia* spp. a *Yersinia* spp.) (Baumgartner, 2011; Erskine, 2014). Klaas a Zadoks (2017) uvádějí, že mnoho mikroorganismů, konkrétně např. *Staphylococcus aureus* a *Streptococcus agalactiae*, lze též zařadit k environmentálním původcům, přestože jsou častěji klasifikovány jako původci kontagiózních mastitid. Toto tvrzení je doloženo skutečností, že se uvedené patogeny přenášejí nejen prostřednictvím mléka infikovaných dojníc, ale také podestýlkou, výkaly, močí aj. (Cobirka et al., 2020). Podobně nejednoznačný je i pohled na patogenní řasu *Prototheca* spp. (Jánosi et al., 2001; Osumi et al., 2008).

Průběh u environmentálních mastitid bývá často klinický a v extrémních případech může dojít k úhynu dojnice. Prevence těchto mastitid je založena především na dodržování vysokého stupně hygieny na pracovišti a čistoty prostředí, ve kterém se dojnice pohybuje (Klaas a Zadoks, 2017; Kaluža a Konvalinová, 2019).

Zdrojem kontagiózních patogenů, které ke svému růstu a množení vyžadují vnitřní prostředí hostitele, je především infikovaná mléčná žláza dojnice. K přenosu mikroorganismů způsobujících kontagiózní mastitidy pak dochází následkem nedodržení hygienických postupů během získávání mléka (Jílek, 2000; Bogni et al., 2011; Erskine, 2014; Kaluža a Konvalinová, 2019). Cobirka et al. (2020) uvádí, že rezervoárem kontagiózních patogenů mohou být též oblasti konečníku, bachoru a genitálií.

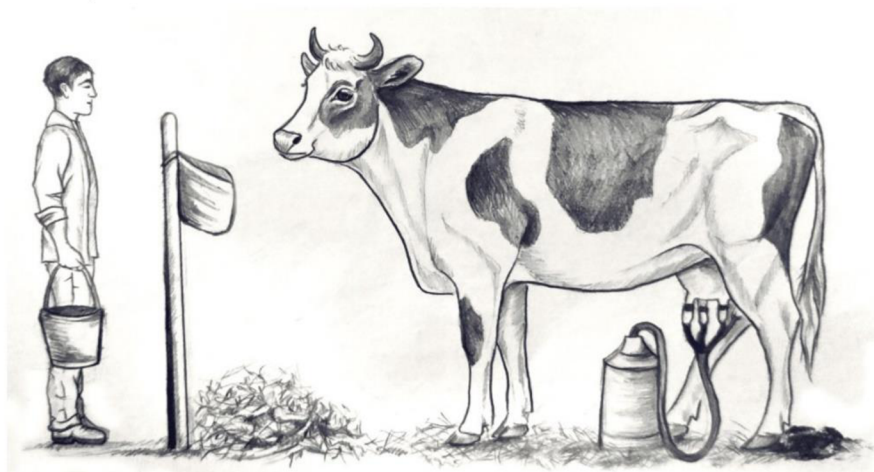
Kontagiózní mastitidy mají zpravidla subklinický charakter při souběžném poklesu nádoje a celkové kvality mléka (Bogni et al., 2011; Kaluža a Konvalinová, 2019). Mezi zástupce kontagiózních mikroorganismů lze zařadit např. *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Mycoplasma* spp. a *Corynebacterium bovis* (Cheng a Han, 2020).

2.1.2 Sekundární kontaminace

Za hlavní zdroj sekundární kontaminace mléka je považován povrch vemene, resp. struků v případě, že nedošlo k jeho řádnému očištění (Gajdůšek a Klíčnický, 1993). Důležitým faktorem je také údržba používaného dojícího zařízení, nádob a nářadí přicházejícího s mlékem do styku, jejichž nedostatečně provedené čištění může vést

ke kontaminaci mléka mikroorganismy. Zdrojem kontaminace může být i sám člověk, který s mlékem manipuluje, dále pak exkrementy, podestýlka, krmivo, vzduch ad. (Obrázek 2.1.2) (Samková et al., 2012).

	Vzduch	Vnější část vemene a struky	Parenchym mléčné žlázy
	<i>Bacillus</i> spp.	<i>Staphylococcus</i> spp.	<i>Streptococcus</i> spp.
	Plísně	<i>Streptococcus</i> spp.	<i>Staphylococcus</i> spp.
Voda	Kvasinky	Koliformní bakterie	<i>Escherichia coli</i>
Koliformní bakterie			
<i>Clostridium</i> spp.			
<i>Salmonella</i> spp.			
Lidé			
Koliformní bakterie			
<i>Salmonella</i> spp.			
<i>Staphylococcus</i> spp.			
Krmivo			
<i>Clostridium</i> spp.			
<i>Bacillus</i> spp.			
Plísně			
	Půda	Podestýlka	Dojící zařízení
	<i>Clostridium</i> spp.	<i>Clostridium</i> spp.	<i>Streptococcus</i> spp.
	<i>Bacillus</i> spp.	<i>Bacillus</i> spp.	<i>Bacillus</i> spp.
	Plísně a kvasinky		Koliformní bakterie
			Fekálie
			<i>Escherichia coli</i>
			<i>Listeria</i> spp.
			<i>Salmonella</i> spp.



Obrázek 2.1.2: Zdroje kontaminace mléka mikroorganismy (vlastní zpracování)

Velmi významnou roli zde hraje čistota prostředí, ve kterém se dojnice pohybují, se kterou přímo souvisí čistota dojnic a následně čistota samotného mléka. Bylo zjištěno, že volné boxové ustájení vybavené kvalitní podestýlkou s dojením v oddělené dojrně je vhodným způsobem, jak dosáhnout nižšího stupně kontaminace mléka (Samková et al., 2012).

Existuje tedy velké množství mikroorganismů kontaminujících syrové mléko. Vzhledem k tomu, že představuje výchozí surovinu pro výrobu mnoha dalších výrobků, ať už se jedná o jogurty, sýry, fermentované či sušené produkty, je důležité dbát na jeho kvalitu a zdravotní nezávadnost (Adams a Moss, 2000).

Počáteční mikrobiální kvalita syrového mléka určeného k výrobě mléčných výrobků je v tomto ohledu zcela zásadním faktorem (Reddy a Puniya, 2021). Použití

kontaminovaného mléka ve výrobě mléčných výrobků může snížit účinnost jeho pasterizace, která je ve většině případů dostačujícím opatřením zabraňující kontaminaci konečných výrobků. Vzhledem k vysokému počtu mikroorganismů v syrovém mléce a možné kontaminaci po pasterizaci však ani tato ochrana nemůže sama o sobě zaručit zdravotní nezávadnost mléka (Islam et al., 2021). Z uvedených důvodů je třeba neustále dbát na vysokou počáteční hygienickou kvalitu mléka. V souvislosti s tím lze jako příklad uvést kontaminaci syrového mléka sporami bakterií rodu *Bacillus*, které jsou pasterizací aktivovány, dochází ke germinaci a bakterie se množí, což vede ke kažení finálních výrobků. Bakteriální spory jsou ničeny až vysokoteplotním ošetřením mléka, tzv. UHT (angl. *ultra-high temperature*) (Samková et al., 2012). Bakterie čeledi *Enterobacteriaceae* jsou schopny pasterované mléko znehodnotit díky své schopnosti množit se a degradovat mléčnou bílkovinu při teplotě skladování (Tamine, 2009).

2.2 Faktory ovlivňující růst mikroorganismů v mléce a mléčných výrobcích

Na růst mikroorganismů v mléce má vliv celá řada faktorů, které jsou rozlišovány na vnitřní a vnější (Obrázek 2.2). Kombinace těchto faktorů pak ovlivňuje produkt i jeho mikrobiotu a jejich správné pochopení v praxi napomáhá k prevenci kažení mléka a mléčných výrobků i zamezení rizika vzniku alimentárních onemocnění (Banerjee et al., 2019).



Obrázek 2.2: Rozdělení faktorů ovlivňujících růst mikroorganismů v mléce (upraveno dle Hasoňová, 2022)

2.2.1 Vnitřní faktory

Živiny v mléce

Z vnitřních faktorů, které významnou měrou ovlivňují růst mikroorganismů, lze jmenovat především složení mléka, a to nejen co se týče přítomnosti živin coby stavebních látek pro růst mikroorganismů, ale také množství vody pro ně dostupné (Erickson a Kalscheur, 2020).

Mléko se skládá ze základních složek, jimiž jsou proteiny, lipidy a sacharidy a složek minoritních jako jsou vitaminy a minerální látky. Díky těmto a dalším živinám plní mléko nejen funkci nutriční, ale i další fyziologické funkce. Ačkoliv základní složky jsou pro mléko stejné, jejich podíl v mléce se může mezi druhy výrazně odlišovat (Tabulka 2.2.1 a).

Tabulka 2.2.1 a: Obsah hlavních složek (%) v mléce vybraných savců (Zdražil, 2002; Velíšek a Hajšlová, 2009; Navrátilová et al., 2012; Medhammer et al., 2021)

Druh	Sušina (%)	Tuk (%)	Bílkoviny (%)	Laktóza (%)
Skot	10,8 - 12,7	3,2 - 6,0	2,8 - 3,6	4,6 - 4,9
Člověk	12,2	3,8 - 4,5	0,9 - 1,2	6,9 - 7,1
Prase	11,8 - 18,8	6,8	2 - 4,8	5,5
Ovce	18,2 - 22,2	7,2 - 10,6	4,5 - 7,1	3,5 - 4,9
Koza	11,2 - 15,2	3,8 - 4,5	2,9 - 3,8	4,1 - 4,6
Potkan	27,6 - 32,8	9,3 - 18,3	7,2 - 11,9	2,1 - 3,7
Velryba	67,7	50 - 53,1	11,2	0,7

Bílkoviny mléka jsou svým složením zcela jedinečné. Jako nejvýznamnější lze označit kasein uspořádaný do tzv. kaseinových micel, které v celém polydisperzním systému mléka zabezpečují řadu významných vlastností. Pro výrobu sýrů je kasein zásadní svou schopností srážet se působením syřidla. Část bílkovin, která zůstane po vysrážení kaseinu v syrovátce, se označuje jako syrovátkové bílkoviny. V porovnání s kaseinem mají vyšší nutriční hodnotu (Samková et al., 2012).

Po vysrážení všech bílkovin zůstanou v roztoku nebílkovinné dusíkaté látky, které tvoří především močovina (kolem 50 % celkového množství), dále volné aminokyseliny, amoniak, kreatin a další. Z těchto látek společně s kaseinem a syrovátko-

vými bílkovinami získávají mikroorganismy dusík (Šilhánková, 2002; Samková et al., 2012; Erkmen a Bozoglu, 2016).

Mléčný cukr (laktóza) je zdrojem energie pro rychlý růst vybraných mikroorganismů s tvorbou kyseliny mléčné coby konečným produktem mléčného kysání (Štípková, 2010). Uplatňuje se tak předně při výrobě kysaných mléčných výrobků, které zajišťují bakterie mléčného kvašení (BMK), zejména *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*, *Lactobacillus helveticus* aj. (Krejsek, 2019). Výjimečnost této skupiny bakterií spočívá v tom, že na rozdíl od většiny ostatních mikroorganismů disponují laktázou (Šilhánková, 2002; Bylund, 2015; Erkmen a Bozoglu, 2016).

Mléčný tuk je uspořádán v podobě tukových kuliček o velikosti 0,5 - 30 μm , které společně s vodou vytváří emulzi. Mléko je tak z fyzikálního hlediska emulzí oleje ve vodě. Obsah tuku se u mléka pohybuje v rozmezí 3 - 5 %. Olejová fáze se skládá z polydisperzních kapiček o průměru 0,15 - 10 μm (Brocklehurst a Wilson 2000). Pokud je koncentrace kapiček vysoká, může být prostor mezi kapičkami stejného řádu jako průměr kapiček. Tento trend pak významně omezuje prostor, který je k dispozici pro růst mikroorganismů a lze jej uvést jako jeden z vnitřních faktorů (tj. disperzní systém) (Brocklehurst et al., 1995).

Jádro tukové kuličky tvoří triacylglyceroly, volné mastné kyseliny a další látky (cholesterol, glyceridy, karotenoidy, lipofilní vitamíny) a jeho obal pak fosfolipidová membrána s proteiny a cholesterolem (Lukášová et al., 1999; ČMSCH, 2021). Nekompletnost obalů zpřístupňuje obsah tukových kuliček lipolytickým enzymům přirozeně se nacházejícím v mléce. Dalším zdrojem lipáz je pak bakteriální kontaminace mléka psychrotrofní a termorezistentní mikrobiotou (např. nižší hygiena dojení aj.). K dalšímu narušení tukových kuliček dochází i mechanicky (např. při samotném dojení, transportu mléčným potrubím, přečerpáváním i nešetrným chlazením aj.). Lipolýzou vznikající volné mastné kyseliny nejsou žádoucí ani z hlediska mlékárenského zpracování na výrobky s vyšším obsahem tuku (např. máslo, smetana) a výrobu trvanlivých výrobků, jelikož termostabilní lipolytické enzymy mikrobiálního původu mohou ovlivnit kvalitu mléka i po jeho pasteraci a tím i konečných výrobků (ČMSCH, 2021). Lipáz je však využíváno i záměrně, například při výrobě sýrů, jež vyžadují specifické aroma (Salleh et al., 2006).

Vodní aktivita

Na růst mikroorganismů v mléce a mléčných výrobcích má velký vliv především přítomná voda, která podmiňuje fyzikální, chemické i mikrobiologické změny, ke kterým v mléce dochází (Fox et al., 2015). Mléko obsahuje 87,4 až 87,6 % vody. Obsah vody v mléčných výrobcích se pohybuje od 2,5 do 94 %. Zároveň platí, že aby byla voda pro mikroorganismy v mléce a mléčných výrobcích využitelná, musí mít určitou vodní aktivitu (a_w), tedy nesmí být vázaná ve sloučeninách (Šilhánková, 2002; Murphy, 2010). Znalost a_w mléka a jednotlivých mléčných výrobků v souvislosti s celkovým procentuálním zastoupením vody v nich obsažené (Tabulka 2.2.1 b) je důležitým faktorem při postupu zpracování mléka. V případě nedostatku volné vody v okolním prostředí dochází k postupné ztrátě vnitřní vody buňky. S tím pak souvisí snižování jejího metabolismu, který může být zastaven úplně, následkem čehož buňka odumírá (Brown, 2010). Bakterie obecně mají vyšší požadavky na volnou vodu (a_w 0,99 - 0,93) v porovnání s odolnějšími kvasinkami a plísněmi (a_w 0,91 - 0,70) (Šilhánková, 2002; Murphy, 2010).

Snížení vodní aktivity je využíváno při výrobě mléčných výrobků, jelikož na něm závisí omezení růstu mikroorganismů, které způsobují jejich kažení. Jednotlivé bakterie pak mají různé požadavky na a_w . Např. *Escherichia coli* 0,95, *Bacillus cereus* 0,93 nebo *Staphylococcus aureus* 0,87 - 0,83 (Rüegg, 1985).

Vodní aktivita se při výrobě různých mléčných výrobků výrazně snižuje a nízká zůstává po různě dlouhou dobu, čímž jsou výrobky účinně chráněny proti mikrobiálnímu kažení. Např. Šostakienė a Blazgienė (2010) zjistili, že a_w baleného neslazeného kondenzovaného mléka zůstává po 18 měsících skladování nezměněna (a_w 0,902), avšak ve slazeném kondenzovaném mléce se a_w po stejné době mírně zvýšila (z a_w 0,784 na a_w 0,787).

Tabulka 2.2.1 b: Hodnoty vodní aktivity (a_w) mléka a vybraných mléčných výrobků (Bylund, 2015)

Produkt	Obsah vody (%)	Vodní aktivita
Syrové mléko	86 – 88	0,98 – 0,99
Plnotučný bílý jogurt	82 – 84	0,97 – 0,99
Máslo	16	0,97
Parmazán	18 – 30	0,85 – 0,92
Slazené kondenzované mléko	27	0,77 – 0,85
Mléčné výrobky	2 – 4	0,1 – 0,3
Sušené mléko	2 – 3	0,1 – 0,2

pH a oxidačně-redukční potenciál

Z dalších významných vnitřních faktorů lze jmenovat pH prostředí. U mléka je pH téměř neutrální (6,4 - 6,6) a tím je pro mikroorganismy a jejich růst ideálním prostředím (Navrátilová et al., 2012; Erkmen a Bozoglu, 2016). Janošíková (2021) uvádí, že pH taveného sýra se vyznačuje poměrně širokým rozmezím pH, konkrétně 4,7 - 6,3, nejčastěji však 5,8 - 6,0. Jogurt má pH nižší (4,4 - 4,8), podobně tak tvaroh (pH 4,5 - 5,5), vyššího pH (6,3) dosahuje kondenzované mléko.

Oxidačně-redukční potenciál u tepelně neopracovaného mléka závisí zejména na obsahu kyslíku. Na jeho koncentraci nemají všechny mikroorganismy stejné požadavky. Aerobní mikroorganismy vyžadují pro svůj růst vysoké hodnoty rozpuštěného kyslíku, tedy pozitivní oxidačně-redukční potenciál (např. *Pseudomonas fluorescens* v rozmezí 100 až 500 mV). Anaerobní bakterie oproti tomu vyžadují negativní oxidačně-redukční potenciál (např. *Clostridium* spp. -300 mV). Bakterie fakultativně anaerobní jsou tolerantní jak k vysokým, tak k nízkým hodnotám. Např. *Staphylococcus aureus* toleruje hodnoty od -200 až +200 mV a vyšší, přičemž jeho optimem pro tvorbu toxinů a růst je +200 mV (Navrátilová et al., 2012). Pozitivní oxidačně-redukční potenciál vykazuje právě syrové mléko, jehož nejčastější hodnoty lze nalézt v intervalu 230 až 250 mV. V rámci tepelného opracování mléka dochází k poklesu tohoto ukazatele až na hodnotu 120 mV (Šilhánková, 2002; Murphy, 2010, Navrátilová et al., 2012). Ke snížení obsahu kyslíku v mléce může dojít vlivem metabolické činnosti některých mikroorganismů (*Micrococcus* spp. a *Pseudomonas* spp., fakulta-

tivně anaerobní koliformní bakterie či některé BMK). Tohoto jevu je využíváno při hodnocení mikrobiologické jakosti mléka redukčními metodami (Fox et al., 2003).

Antimikrobiální složky mléka

Mléko obsahuje určité množství látek bílkovinné povahy, které vykazují antimikrobiální aktivitu a mohou tak výrazně omezit působení patogenních bakterií (Görner a Valík, 2004). Kromě imunoglobulinů (IG), které jsou součástí obranného mechanismu mléka, patří k látkám s antimikrobiální aktivitou laktoferin, lysozym, laktoperoxidázový systém a N-acetyl- β -D-glucosaminidáza (NAGáza) (Losnedahl et al., 1998).

Mezi mlezivem a mlékem jsou v množství antimikrobiálně působících složek rozdíly. Horáčková et al. (2015) zkoumali růst podmíněně patogenních mikroorganismů (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria innocua*, *Bacillus cereus* a *Enterobacter* spp.) v kravském mlezivu a mléce a zjistili statisticky významně nižší růst *Staphylococcus aureus* v mlezivu v porovnání s mlékem. Vysvětlením rozdílu je dle autorů vyšší zastoupení antimikrobiálních složek v mlezivu, které obecně slouží k ochraně mláďate proti infekci.

Glykoprotein **laktoferin** je jedním z proteinů přirozeně se vyskytujících v kravském mléce. Vykazuje silnou antimikrobiální aktivitu proti širokému spektru bakterií (grampozitivních i gramnegativních), plísním, kvasinkám i virům (Sharma et al., 2015). Bakteriostatická aktivita laktoferinu spočívá v jeho schopnosti vázat ionty železa nezbytné pro metabolismus některých patogenů přímo v mléčné žláze, kde je v přítomnosti bikarbonátu inhibuje. Byla potvrzena inhibice např. těchto mikroorganismů: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella* spp., *Salmonella* spp., *Proteus* spp., *Pseudomonas* spp., *Listeria* spp., *Bacillus* spp., *Candida albicans* (Murata et al., 2013; Superti, 2020).

Bylo zjištěno, že kombinace různých antimikrobiálních léčiv a antimikrobiálních peptidů, včetně nisinu a β -defensinu 2 zvyšují antimikrobiální aktivitu laktoferinu synergickým způsobem (Murata et al., 2013).

Dalším mechanismem dosahování antimikrobiálního efektu je vazba laktoferinu a jeho štěpných produktů na buněčnou stěnu mikroorganismů. Laktoferin se váže na lipopolysacharidy v buněčné stěně gramnegativních bakterií a na kyselinu teicho-

vou v buněčné stěně grampozitivních bakterií. Vlivem této vazby pak dochází k poškození funkce a integrity buněčné membrány (Mullan, 2003).

Laktoferin také zvyšuje baktericidní aktivitu fagocytů (Toman et al., 2009; Navrátilová et al., 2012). V mléce, které pochází ze zdravé mléčné žlázy je koncentrace laktoferinu nízká, ale zvyšuje se při její infekci. V kravském mléce je průměrný obsah laktoferinu 0,2 g/l (u člověka je to 2 až 4 g/l), v kolostru pak 0,5 až 1 g/l (u člověka 6 až 8 g/l) (Losnedahl et al., 1996).

Dalším proteinem vázajícím ionty železa v kolostru je transferin, a dále baktericidní produkty neutrofilů, makrofágy, xanthin, komplementy přecházející do mléka z krevního séra a enzymy (Losnedahl et al., 1996).

Enzym **lysozym** (N-acetyl- β -D-glukosamidáza) destruuje bakterie proteolýzou peptidoglykanu jejich buněčné stěny. Peptidoglykan grampozitivních bakterií nedisponuje vnější membránou, je tedy první složkou, která přijde do kontaktu s okolním prostředím a působením lysozymu dochází k jeho degradaci (Goering et al., 2016). Gramnegativní bakterie jsou vůči jeho působení odolnější díky vybavenosti vnější membránou. Lysozym může také omezit migraci neutrofilů do poškozené tkáně a může fungovat i jako protizánětlivá látka (Losnedahl, 1996; Toman et al., 2009; Navrátilová et al., 2012).

Lysozym má antibakteriální povahu proti řadě bakterií, navíc obvykle funguje ve spojení s laktoferinem tím, že zvyšuje jeho vazbu k buněčným stěnám bakterií. Funguje i v kooperaci s imunoglobulinem A (například proti *Escherichia coli*). Ve spojení s askorbátem nebo peroxidem, které jsou přítomny v mléce v nízkých koncentracích, způsobuje lýzu některých druhů salmonel (Losnedahl, 1996; Toman et al., 2009).

Běžně je koncentrace lysozymu v kravském mléce nízká, téměř nedetekovatelná. Oproti tomu mateřské mléko dosahuje hodnot 0,12 g/l, tedy až 1000x více než mléko kravské. Vyšší obsah lysozymu lze nalézt v případě jak kravského, tak mateřského mléka v mlezivu. Množství lysozymu je závislé na obsahu leukocytů, proto u dojnic dochází k jeho zvyšování při zánětech mléčné žlázy. Lysozym kravského mléka je také méně stabilní v porovnání s lysozymem mléka mateřského. Aktivitu lysozymu v kravském mléce lze omezit až o 25 % záhřevem na 75 °C po dobu 15 minut či mikrovlnným ozářením (Losnedahl, 1996; Toman et al., 2009).

Glykoprotein laktoperoxidáza, syntetizovaný epitelovými buňkami mléčné žlázy, hraje významnou roli v ochraně před jejím mikrobiálním napadením; enzymy peroxidázy mohou inhibovat bakterie oxidativními mechanismy (Losnedahl, 1996). V kravském mléce se tento enzym vyskytuje přirozeně v koncentraci 10 až 30 µg/ml (Losnedahl, 1996; Toman et al., 2009).

Laktoperoxidáza má široké uplatnění v mlékárenském průmyslu, zejména při konzervaci syrového mléka v případech, kde je rychlé chlazení obtížné (Silva et al., 2020).

Laktoperoxidázový systém je nespecifický mechanismus ochrany mléčné žlázy, který je přítomen u všech savců a prodlužuje trvanlivost mléka. Tento systém zahrnuje řadu chemických reakcí a sestává z laktoperoxidázy, thiokyanátového iontu a peroxidu vodíku získaného z buněčného metabolismu. Tyto tři složky jsou pro aktivaci laktoperoxidázového systému nepostradatelné. Laktoperoxidáza katalyzuje oxidaci thiokyanátu peroxidem vodíku za vzniku kyseliny hypothiokyanaté a hypothiokyanátového iontu, tedy sloučeniny, které mají antimikrobiální vlastnosti (Silva et al., 2020).

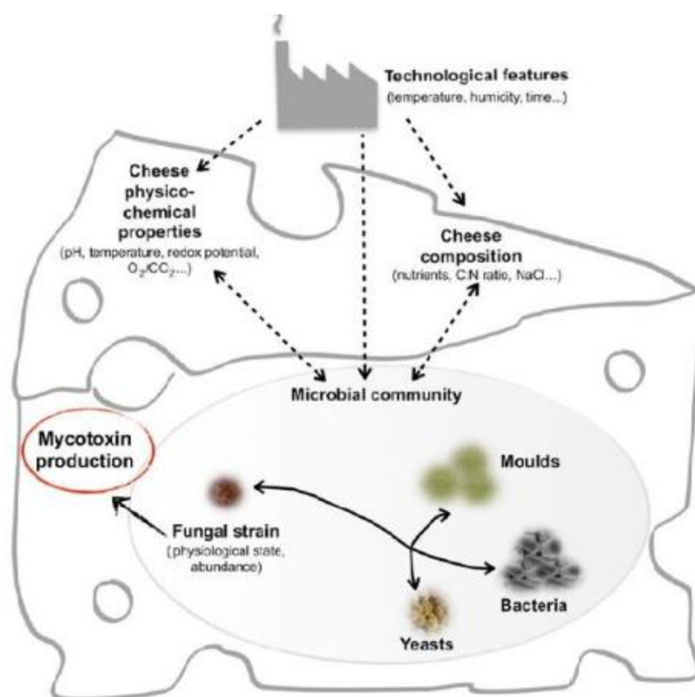
Laktoperoxidázový systém ovlivňuje řadu bakterií, u kterých vyvolává buďto reverzibilní změny, kdy jsou bakterie inhibovány pouze po určitou dobu, nebo ireverzibilní změny. Různé bakterie také vykazují různý stupeň rezistence vůči laktoperoxidáze (Navrátilová et al., 2012). K mikroorganismům, které laktoperoxidáza ovlivňuje, patří například *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus* spp., *Bacillus* spp., *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Campylobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Pseudomonas* spp., *Serratia* spp., *Proteus* spp., některé kvasinky a plísně (Kussendrager a Van Hooijdonk, 2000).

Koncentrace laktoperoxidázy roste v období infekce. V kolostru skotu je obsah laktoperoxidázy velmi nízký. Ten se 4 až 5 dní po porodu rychle zvyšuje. Úroveň aktivity laktoperoxidázy v mléce člověka je asi 20x nižší (Losnedahl, 1996; Toman et al., 2009). Jde o jeden z tepelně nejstabilnějších enzymů v mléce, jeho tepelná inaktivace byla přijata jako kritérium vysoké pasterace mléka. Při zahřevu mléka nad 75 °C se inaktivuje po 30 minutách a při zahřevu 80 °C po 30 sekundách. Dále se může jednat o myeloperoxidázu katalyzující obdobnou reakci jako laktoperoxidáza, oxidázu (Navrátilová et al., 2012).

Vztahy mezi mikroorganismy

Vztahy mezi přítomnými mikroorganismy patří mezi tzv. přidružené faktory. Jedny z nejbádanějších mikroorganismů v mléce jsou v tomto ohledu BMK, které vytvářejí nejrůznější, povětšinou synergické vztahy, vzájemně se podporují v růstu a metabolických aktivitách. Známa je také jejich činnost antimikrobiální, spočívající v produkci tzv. bakteriocinů. Nejznámějším bakteriocinem je nisin, který se dokonce těží a využívá dále v potravinářském průmyslu k ochraně potravin (Hassan et al., 2021).

Zejména v případě mléčných výrobků ovlivňuje vznik mikrobiální komunity technologii výroby, složení a fyzikálně chemické vlastnosti výrobku. Rozvoj specifických mikroorganismů v konkrétních podmínkách mléčného výrobku vede k vytvoření mikrobiálního společenství, ve kterém vzájemné vztahy mohou být prospěšné pro daný produkt, např. v případě produkce jogurtů či kefiru, nebo naopak mohou vést ke vzniku různých metabolických či toxických produktů, např. mykotoxinů (Obrázek 2.2.1) (Hymery et al., 2014).



Obrázek 2.2.1: Faktory ovlivňující mikrobiální společenství v sýrech včetně produkce mykotoxinů, Hymery et al., 2014

2.2.2 Vnější faktory

Zdraví mléčné žlázy dojníc závisí nejen na vnitřních faktorech, ale i na těch vnějších. Jejich znalost, stálá kontrola zdravotního stavu stáda a dodržování hygienických opatření a postupů při získávání mléka by měla být jedním z nedůležitějších cílů chovatele (Bouška, 2006).

Mikroorganismy se do mléka mohou dostat vlivem okolí z nejrůznějších zdrojů. Proto jsou na farmách, v mlékárenské prvovýrobě i v mlékárenských provozech zaváděny přísné hygienické normy. Přesto z výzkumů vyplývá, že mikrobiální složení na struku skotu v rámci jednotlivých farem je odlišné. To lze zdůvodnit například různými materiály podestýlky nebo odlišnými typy dojících strojů, které se mohou stát rezervoáry mikroorganismů ovlivňujících mikrobiální jakost odebraného mléka (Vacheyrou et al., 2011).

Obecnější vliv má i způsob krmení, tedy zda jsou zvířata krmena uvnitř nebo venku, kde bývá zvýšená přítomnost *Staphylococcus* spp. Mimo umístění zvířete hraje roli samotná fáze laktace. Při výzkumu byly v prostředí farmy zjištěny zástupci až 25 rodů (např. *Propionibacterium*, *Acinetobacter*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Psychrobacter*, *Brachybacterium*, *Staphylococcus*, *Ochrobactrum*, *Sphingomonas*, *Enterobacter*, *Pantoea*, *Aerococcus*, *Flavobacterium*, *Microbacterium*) (Vacheyrou et al., 2011). Vliv na rozmanitost mikrobiálního složení kravského mléka může mít dle dostupných studií i genetika (Oikonomou, 2020).

Všeobecně lze říci, že zavádění přísných hygienických norem s sebou sice přináší snížení mikrobiální zátěže mléka, ale dochází také ke snížení populací technologicky důležitých mikroorganismů, což se může projevit například nežádoucími změnami u mléčných výrobků vyráběných tradičními řemeslnými postupy. Prokázáno to bylo například u laktokoků přítomných v syrovém mléce na stejné farmě s odstupem 15 let. Naopak téměř žádná citlivost se zaváděním hygienických norem, změnou technologických procesů i vlivem času nebyla prokázána u zástupců rodů *Pseudomonas*, *Lactobacillus* a u kvasinkové populace (Quigley et al., 2013).

K nejvýznamnějším vnějším faktorům, které ovlivňují rychlost množení mikroorganismů v mléce, patří teplota. U mikroorganismů dochází k dělení v určitých časových intervalech, kdy tzv. generační čas udává dobu, za kterou se zdvojnásobí počet buněk v daném objemu kultivačního média. Generační čas závisí především na

teplotě, přičemž se stoupající teplotou se čas potřebný ke zdvojení zkracuje (Tabulka 2.2.2 a). Při zacházení s mlékem je tedy hlavní snahou co nejvíce prodloužit generační čas pomocí chladírenských teplot, které je nutno udržovat v rozmezí 6 - 8 °C závisle na svozu, jak udává Vyhláška č. 289/2007.

Tabulka 2.2.2 a: Generační čas (hod) vybraných skupin bakterií v mléce v závislosti na teplotě (Jay, 2005)

Skupina bakterií	Generační čas (hod)		
	5 °C	15 °C	30 °C
bakterie mléčného kvašení	> 20	2,1	0,5
pseudomonády	4	1,9	0,7
koliformní bakterie	8	1,7	0,45
tepelně odolné streptokoky	> 20	3,5	0,5
sporotvorné aerobní bakterie	18	1,9	0,45

Jednotlivé mikroorganismy rostou v určitém teplotním rozpětí, které je dáno minimální a maximální teplotou. Teplota či spíše teplotní rozpětí, ve kterém mikroorganismy dobře rostou a rychle se dělí, je označována jako teplota optimální. Maximální, optimální a minimální hranice citlivosti mikroorganismů k teplotě/času se u každého mikrobiálního druhu liší (Šilhánková, 2002; Murhy, 2010; Wareing et al., 2011).

Teplota skladování je důležitým faktorem ovlivňujícím mikrobiální kvalitu syrového mléka a mléčných výrobků z něj vyráběných. Obecně tedy platí, že pro udržení počáteční mikrobiální kvality je třeba skladovat syrové mléko při nízkých teplotách (tabulka 2.2.2 b). Dle Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004 je nutné mléko zchladit ihned po jeho získání na teplotu nejvýše 8 °C při každodenním svozu nebo na teplotu 6 °C pokud není svoz každý den (v zahraničí na 1 °C).

Při teplotách okolo 5 °C k pomnožování termofilních mikroorganismů v mléce nedochází, avšak stále se zde zvolna pomnožují psychofilní a psychotrofní mikroorganismy, zejména pak pseudomonády, které lze ale účinně zlikvidovat pasteurací. Teplota zchlazení nemusí být dodržena, pokud je mléko do 2 hodin dále zpracováno (Navrátilová et al., 2012).

Tabulka 2.2.2 b: Mikrobiální (MO) kvalita mléka v závislosti na teplotě skladování při počáteční mikrobiologické kvalitě $2,3 \times 10^3/\text{ml}$ (Jay, 2005)

Teplota skladování ° C	Po 24 hodinách	Dobrá MO kvalita* udržena (hod)
4	$2,5 \times 10^3$	> 100
10	$1,2 \times 10^4$	89
15	$1,3 \times 10^5$	35
20	$4,5 \times 10^6$	19
30	$1,4 \times 10^9$	11

Vysvětlivky: * $10^6/\text{ml}$

Od roku 2009 je v ČR povolen přímý prodej syrového mléka prostřednictvím mléčných automatů. Spotřebiteli je tato možnost nákupu vyhledávána, je ovšem nezbytné dodržovat pravidla správného zacházení s touto surovinou (Hasoňová, 2018). Mléko lze prodávat z mléčného automatu po dobu max. 24 hodin a jeho teplota nesmí překročit 8 °C (Havránková, 2014).

Hasoňová et al. (2017) potvrdili, že přerušení chladírenského řetězce má velmi významný vliv na růst mikroorganismů v mléce. Pomocí simulovaného přerušení chladírenského řetězce s dosažením teploty 15 °C a následným zchlazením na teplotu danou právními předpisy bylo zjištěno zvýšení CPM o 18 % (17 - 20 %) po 24 hodinách od doby odběru z mléčného automatu.

Syrové mléko je za účelem prodloužení jeho kvality tepelně ošetřováno. Různé způsoby tepelného ošetření mléka mají různý efekt na mikroorganismy, od redukce počtu vegetativních forem v případě pasterizace po likvidaci i vysoce odolných spor u UHT ošetření (Tabulka 2.2.2 c). Je však nutné si uvědomit, že tepelné ošetření by nikdy nemělo nahrazovat snahu o co nejvyšší mikrobiální kvalitu syrového mléka (Hasoňová et al., 2018).

Tabulka 2.2.2 c: Způsoby tepelného ošetření mléka a jejich vliv na vybrané ukazatele kvality mléka (Hasoňová et al., 2018)

Způsob	Teplota/čas	Vliv na MO	Další změny
termizace	57 - 68 °C /15 s	ničí většinu nesporotvorných psychrotrofních MO způsobujících kažení	nedochází k inaktivaci ALP, LP, plazminu a bakteriálních proteáz/lipáz
pasterace	63 °C/30 min	ničí nesporotvorné patogenní MO a psychrotrofní MO způsobující kažení	inaktivace ALP; nedochází k inaktivaci LP, plazminu a bakteriálních proteáz/lipáz
	72 - 74 °C /15 - 20 s		
	>80 °C/5 s		
ESL	120 - 130 °C /<1 - 4 s	ničí všechny nesporotvorné MO a většinu psychrotrofních a mezofilních spor	inaktivace ALP a LP; nedochází k inaktivaci plazminu a bakteriálních proteáz/lipáz
UHT	135 - 140 °C /3 - 5 s	ničí všechny nesporotvorné MO a všechny spory vyjma vysoce tepelně rezistentních	inaktivace ALP, lipázy, LP a většiny plazminu; nedochází k inaktivaci bakteriálních proteáz/lipáz
sterilizace v obalu	115 - 120 °C /20 - 30 min		inaktivace všech enzymů

Vysvětlivky: MO - mikroorganismy, ESL (extended shelf-life) - mléko s prodlouženou trvanlivostí, UHT (ultra-high temperature) - vysokoteplné ošetření, ALP - alkalická fosfatáza, LP - laktoperoxidáza

2.3 Mikroorganismy v mléce

Mikrobiota syrového kravského mléka obsahuje obvykle několik hlavních skupin mikroorganismů, jejichž zastoupení a počet závisí na řadě faktorů, jako je krmivo, roční období, získávání mléka a stupeň jeho zchlazení po nadojení (Parente et al., 2020).

Složení mikrobioty se též mění v závislosti na prostředí. Byla prokázána odlišná mikrobiota alpských a nížinných stád skotu. V jiné studii byla zjištěna vysoká variabilita mezi vzorky mléka zdravých dojnic ze dvou různých stád (Albonico et al., 2020).

Vzhledem k tomu, že mléko je bezprostředně po získání zchlazeno a udržováno až do dalšího zpracování při teplotě nepřesahující 10 °C, je většina mikroorganismů omezena ve svém růstu a množení. V chladírenských teplotách se však mo-

hou, byť pomaleji, pomnožovat psychrotrofní mikroorganismy, které jsou schopny růstu a množení i při teplotě 3 - 7 °C (Vyletělová et al., 2000; Ledenbach a Marshall, 2009). Většinu z těchto mikroorganismů (65 - 70 %) tvoří bakterie rodu *Pseudomonas*, zejména pak druhy *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas fragi*, *Pseudomonas putida* nebo *Pseudomonas aeruginosa*. Dále pak zástupci rodů *Micrococcus*, *Aerococcus* a *Lactococcus* a bakterie z čeledi *Enterobacteriaceae*. V menší míře se objevují i zástupci rodu *Bacillus* (např. *Bacillus coagulans*, *Bacillus circulans*, *Bacillus cereus* a *Bacillus subtilis*). Všeobecně jsou psychrotrofní mikroorganismy termolabilní, což z nich dělá u pasterovaných produktů indikátory postpasterační kontaminace (Ledenbach a Marshall, 2009). Počet psychrotrofních mikroorganismů v mléce je ovlivněn hygienou při získávání mléka, jeho ošetřením i skladováním. Jako nejvýznamnější zdroj kontaminace mléka je v případě této skupiny mikroorganismů uváděno krmivo, prach, znečištěná voda nebo nedostatečně očištěné plochy a potrubí, které přicházejí do kontaktu se syrovým mlékem (Görner a Valík, 2004; Arqués, 2015). Pro psychrotrofní mikroorganismy je typické, že dokáží vyprodukovat velké množství hydrolytických enzymů, což vyvolává řadu sensorických změn mléka a mléčných výrobků (Sorhaug a Stepaniak, 1997; Ledenbach a Marshall, 2009; Samková et al., 2009).

Z BMK se v mléce běžně vyskytují zejména rody *Lactococcus* a/nebo *Lactobacillus* a dále zástupci rodů *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Propionibacterium* a *Streptococcus* (Plocková a Horáčková, 2019). BMK zajišťují přeměnu substrátů (proteiny, sacharidy, lipidy) na metabolity ovlivňující konzistenci, vůni i chuť výsledných mléčných produktů. Jejich další funkcí využívanou při výrobě potravin je produkce metabolitů, které jsou antimikrobiálně aktivní (acetaldehyd, organické kyseliny, deriváty aminokyselin, peroxid vodíku aj.). Následkem jejich aktivity dojde k potlačení růstu nežádoucích mikroorganismů a prodloužení trvanlivosti těchto potravin (Horáčková et al., 2018). Některé z BMK jsou pro mlékárenský průmysl významnými součástmi startovacích kultur fermentovaných mléčných výrobků. Na druhou stranu však mohou způsobovat i nežádoucí změny, jako je kysnutí či jiné sensorické vady mléka i mléčných výrobků (Adams a Moss, 2000; Šilhánková, 2002).

Mléko může obsahovat další mikroorganismy, jako jsou například koliformní bakterie, jejichž výskyt svědčí o nehygienickém zacházení a v mléce by jich mělo být minimum. Obecně se jedná o aerobní a fakultativně anaerobní bakterie zkvašující laktózu při teplotách okolo 35 až 37 °C. Zdroji kontaminace mléka jsou v tomto pří-

padě voda, půda, výkaly, prach a nedostatečná hygiena a sanitace. Koliformní bakterie se vyskytují jako součást trávicího traktu teplokrevných živočichů a jsou tudíž považovány za významné indikátory úrovně hygieny. Koliformní bakterie nepřežívají pasteraci, tudíž jejich přítomnost po tepelné úpravě svědčí o pozdější kontaminaci. Nejčastějšími zástupci této skupiny jsou *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella* spp. a *Citrobacter* spp. Produkty jejich metabolismu jsou plyny (CO₂, H₂), kyselina octová a kyselina mléčná a následkem jejich činnosti dochází k různým změnám finálních produktů, např. nečistá chuť, hořknutí, táhlovitost aj. (Samková et al., 2009).

Některé mikroorganismy jsou dokonce odolné vůči vysokým teplotám (nad 60 °C) a tedy i pasteračnímu záhřevu. Tyto tzv. termorezistentní mikroorganismy mohou být aerobní, anaerobní, mezofilní, psychrotrofní i sporulující a řadí se sem jak nesporotvorné (rody *Micrococcus*, *Microbacterium*, *Enterococcus* a některé koryneformní bakterie), tak sporotvorné bakterie (rody *Bacillus* a *Clostridium*). Dobytek se jimi může nakazit skrze krmivo, půdu, vzduch a vodu. Vady vznikající v důsledku jejich aktivity se projevují jako smyslové a technologické vady jogurtů, sýrů a trvanlivého mléka (Samková et al., 2009).

2.4 Požadavky na hygienickou kvalitu syrového mléka

Kontrola mikrobiologických požadavků syrového mléka je nedílnou součástí výroby mléčných výrobků. U mléka i mléčných výrobků se v kritických bodech provádějí pravidelné kontroly formou odběru a vyšetření vzorku. Odběr vzorku se řídí plánem pro odběr vzorků, mikrobiologickým vymezením jejich hodnot a počtem vzorků, které musejí být pod mezní hodnotou, jejíž překročení může znamenat zdravotní riziko pro spotřebitele. Vyšetření vzorku zahrnuje vybrané hlavní a doplňkové hygienické ukazatele kvality mléka (Tabulka 2.4) (Ziermann, 2005; Samková et al., 2012).

Rozsah a limity vyšetřování syrového mléka ke zjištění přítomnosti patogených mikroorganismů ohrožujících zdraví lidí uvádí Vyhláška č. 289/2007 Sb., o veterinárních a hygienických požadavcích na živočišné produkty, které nejsou upraveny přímo použitelnými předpisy Evropských společenství. Zmiňovaná vyhláška ve svojí příloze č. 6 pro parametr *Staphylococcus aureus* uvádí limit 500 KTJ/ml.

Tabulka 2.4: Hlavní a doplňkové hygienické ukazatele kvality syrového kravského mléka (Samková et al., 2012)

	Ukazatele	
	Hlavní	Doplňkové
CPM	≤100 tis. KTJ/ml	
Psychrotrofní		≤50 tis. KTJ/ml
Koliformní		≤1 tis. KTJ/ml
Termorezistentní		≤2 tis. KTJ/ml
Sporotvorné anaerobní		neg. v 0,1 ml
PSB		≤ 400 tis./ml

Vysvětlivky: CPM – celkový počet mikroorganismů, PSB – počet somatických buněk, KTJ - kolonie tvořící jednotky

V syrovém kravském mléce tedy CPM nesmí překročit 100 tis. zárodků na 1 ml. V ČR je průměrná hodnota počtu mikrobiálních zárodků až třikrát nižší. Někteří dodavatelé dokonce dosahují hodnot okolo 10 tis. KTJ/ml. Toto kritérium je ukazatelem čistoty stáje a hygieny získávání mléka. PSB pak vypovídá o zdravotním stavu dojníc a jejich celkové pohodě na farmě. V ČR je obvyklá hodnota celkového PSB okolo 230 tis./ml a odborníci se shodují, že se zde vyrábí vysoce jakostní mléko, které řadí Česko mezi země s nejkvalitnějším mlékem v Evropě, přičemž do nejvyšší třídy jakosti je zde řazeno 97 % vyráběného mléka. Podle technologie konkrétního mléčného výrobku jsou pak stanovována i další kritéria (Kopáček, 2018).

2.5 Kažení mléka a mléčných výrobků

Kažení potravin, tedy i mléka, je obecně běžným jevem, který je však potřeba náležitě řešit a pomocí vhodných opatření mu předcházet. Vlivem mléčného, máselného a propionového kvašení nebo degradací bílkovin či tuků, a to buď přímo mikroorganismy, nebo jejich enzymy, dochází ke kažení mléka i mléčných výrobků a jsou významně ovlivněny jejich sensorické vlastnosti (Reddy a Puniya, 2021). Typickými projevy kažení mléka a mléčných výrobků jsou změny barvy, vůně, hrudkovitost, žluknutí, plynatost, změny struktury, textury a některé další defekty (Ledenbach a Marshall, 2009; Reddy a Puniya, 2021).

Mikroorganismy se do mléka dostanou nejčastěji skrze výrobní zařízení či nepasterované přídatné složky. Ve chvíli, kdy dojde ke kontaminaci mléka nežádoucími

mikroorganismy, mění se i procesy a metabolická aktivita v mléce. Jejich vlivem může docházet k nežádoucí fermentaci mléka nebo změnám sensorických vlastností, za kterou jsou odpovědné jak bakterie (zástupci rodů *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*), tak kvasinky (*Saccharomyces*, *Kluyveromyces* a *Candida*) nebo plísně (*Mucor*, *Rhizopus*, *Penicillium* a *Aspergillus* (Tamine, 2009; Quigley et al., 2011).

Machado et al. (2017) ve své studii uvádí, že nejčastěji se vyskytujícím rodem, který způsobuje kažení syrového kravského mléka, je *Pseudomonas*. Výskyt tohoto rodu byl zjištěn na většině míst odběru vzorků bez ohledu na postupy použité při izolaci či dobu skladování mléka. Dále byli ve vzorcích detekováni zástupci rodů *Serratia*, *Enterobacter*, *Acinetobacter* a *Hafnia*.

Jak již bylo zmíněno, zástupci rodu *Pseudomonas* jsou pravděpodobně nejvýznamnějšími původci kažení mléka i výsledných mléčných výrobků (včetně syrovátky), a to díky své schopnosti růst i při nižších teplotách a produkovat silně termostabilní lipolytické a proteolytické enzymy (Němečková et al., 2020). Tyto enzymy, které jsou produkovány např. *Pseudomonas fluorescens* či *Pseudomonas fragi*, tedy mohou způsobit kažení mléka a následně mléčných výrobků i po tepelném ošetření (Reddy a Puniya, 2021). Značnou proteolytickou a lipolytickou enzymatickou aktivitou se vyznačují i zástupci rodu *Bacillus*. Druhy patřící k nejsilněji proteolytickým kmenům jsou *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus polymyxa* a *Bacillus amyloliquefaciens* (Snášelová, 2011).

Mikroorganismů způsobujících kažení mléka a mléčných výrobků je tedy poměrně široká škála a následkem jejich mikrobiální aktivity dochází ke specifickým vadám (Tabulka 2.5), kterým je třeba věnovat patřičnou pozornost. Nejvíce se nežádoucí mikroorganismy objevují u fermentovaných a slazených zahuštěných mléčných výrobků a sýrů nebo u kysaných mléčných výrobků, sýrů a másla (Erkmen a Bozoglu, 2016).

Tabulka 2.5: Přehled vybraných mikroorganismů způsobujících kažení mléka a mléčných výrobků (Smetana, 2009; Ledenbach a Marshall, 2009; Janštová, 2012; Erkmen a Bozoglu, 2016)

Mléko/mléčný výrobek	Vybraní původci mikrobiálního kažení	Vady způsobené mikroorganismy
syrové mléko	<i>Lactococcus</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Proteus</i> , <i>Aeromonas</i> , <i>Aerobacter</i> , <i>Propionibacterium</i> , <i>Pseudomonas</i> ,	nečistá chuť (kyselá, hořká, ovocná, hnilobná, sladová, rybí) a žluklá vůně, barevné vady (modrání, žloutnutí a červenání mléka), táhlovitost, spa-

	<i>Clostridium, Bacillus, Escherichia</i> , koliformní bakterie, koryneformní bakterie a kvasinky rodu <i>Candida</i>	řené a zkvašené mléko
pasterované mléko	<i>Lactococcus, Lactobacillus, Streptococcus, Micrococcus, Propionibacterium, Proteus, Pseudomonas, Clostridium, Bacillus, Flavobacterium</i>	nečistá chuť (kyselá a hořká) a vůně, tvorba sraženin
koncentrované mléko	<i>Bacillus, Clostridium, Saccharomyces, Kluyveromyces</i> a <i>Candida</i> ,	nečistá chuť (kyselá a hořká) a vůně
sušené mléko	<i>Streptococcus, Enterococcus, Bacillus, Escherichia, Salmonella, Enterobacter</i>	žluknutí
máslo	<i>Flavobacterium, Pseudomonas Micrococcus, Candida lipolytica, Torulopsis, Cryptococcus, Geotrichum, Penicillium, Aspergillus, Cladosporium, Mucor, Alternaria</i> a <i>Rhizopus</i>	nečistá chuť (jogurtová, kvasinková, kovová, rybí, sladová), změny barvy (šedavá, nazelenalá, černá, červenorůžová), žluknutí, slizovitost
jogurty a jogurtové nápoje	<i>Bacillus, Lactobacillus, Streptococcus, Aspergillus, Actinomyces, Saccharomyces, Kluyveromyces</i> a <i>Candida</i>	nadměrná kyselost, suchý povrch, tvorba vzduchových bublin, krystalizace
smetana	<i>Pseudomonas, Lactococcus, Proteus, Bacillus</i> a <i>Candida</i>	Nečistá vůně (ovocná, hořká, trpká, sladová, hnilobná), tvorba sraženin
měkké a čerstvé sýry	<i>Lactobacillus, Leuconostoc, Lactococcus, Micrococcus Pseudomonas, Serratia, Achromobacter, Flavobacterium, Escherichia, Enterobacteriaceae, Bacillus, Clostridium</i> , koliformní bakterie a kvasinky	nečistá chuť (žluklá, hořká, hnilobná, zatuchlá) a vůně (ovocná, hnilobná), slizovitost (zelený a žlutý sliz), akumulace plynu a kapaliny v obalu, krystalizace
zrající sýry	<i>Clostridium butyricum, Clostridium tyrobutyricum, Clostridium sporogenes, Aspergillus, Penicillium</i>	ztráta požadované chuti, plynatost, praskliny v sýru, duření

Rychlost kažení mléka a mléčných výrobků může být zpomalena pomocí aplikace jednoho nebo více procesů, jako je tepelné ošetření mléka (např. pasteurace, sterilace), snížení jeho pH fermentací laktózy na kyselinu mléčnou, přidáním kyselin či jiných konzervačních látek, zavedením žádoucí mikrobioty, jež omezuje růst mikroorganismů vyvolávajících kažení, dále snížením vodní aktivity přidáním cukru nebo soli, či odstraněním vody (dehydratace), balením pro omezení přístupu kyslíku či zmrazením. Zastoupení konkrétních mikroorganismů způsobujících kažení daného produktu závisí na řadě faktorů, zejména pak na konkrétním produktu, jeho vlastnostech, hygienickém zacházení při výrobě, balení, skladování v odpovídajících podmínkách, ale i distribuci a manipulaci samotnými spotřebiteli (Ledenbach a Marshall, 2009; Erkmen a Bozoglu, 2016).

2.6 Možná rizika alimentárních onemocnění z mléka

Mléko je díky svému jedinečnému složení nejen důležitou součástí zdravé výživy lidí, ale také vhodným živným a ochranným médiem pro celou řadu mikroorganismů, včetně patogenních a potencionálně patogenních druhů (Hasoňová, 2012).

Mléko a mléčné výrobky z něj vyrobené tak mohou být po požití zdrojem bakteriální infekce, intoxikace a toxikoinfekce, souhrnně označované jako alimentární infekce a intoxikace (Hasoňová, 2012). Výskyt těchto onemocnění je celosvětový (Tabulka 2.6 a) a je tedy třeba se touto problematikou zabývat a snažit se rizikům spojeným s konzumací kontaminovaného mléka a mléčných výrobků předcházet.

Tabulka 2.6 a: Příklady ohnisek vybraných alimentárních onemocnění ze syrového mléka (Fusco et al., 2020)

Onemocnění	Původce	Země	Rok	Počet případů
Salmonelóza	<i>Salmonella typhimurium</i>	USA	2007	29
Stafylokoková infekce	<i>Staphylococcus</i> , enterotoxin A	Francie	2002	43
Stafylokoková infekce	<i>Staphylococcus</i> , enterotoxin H	Rumunsko	2013/2017	36
Kampylobakterióza	<i>Campylobacter</i> spp.	USA (Utah)	2014	99
Infekce vyvolané <i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>	Francie	2019	16
Listerióza	<i>Listeria monocytogenes</i>	USA	2000-2001	13
Aflatoxikóza	Aflatoxin M1	Srbsko	2015-2016	984

Nejčastějšími původci onemocnění z mléka jsou bakterie a jejich toxiny, dále parazité, viry a v neposlední řadě také plísňe a jejich toxiny (Tabulka 2.6 b) (Malíř a Ostrý, 2003; Hasoňová, 2012). Nejčastěji se vyskytují aflatoxiny (AF), ale i fumonisiny či trichotheceny (Huang et al., 2014).

Tabulka 2.6 b: Přehled vybraných mykotoxinů detekovaných v mléce a mléčných produktech (Lopez et al., 2001; Vazquez et al., 2001; Bailly et al., 2002; Erdogan a Sert, 2004; Clark a Sneider, 2006; O'Brien et al., 2006; Murphy et al., 2006; Sengun et al., 2008; Prandini et al., 2009; Brase et al., 2009; Fallah, 2010; Duarte et al., 2012; Pattono et al., 2013; Marin et al., 2013; Gul, 2014; Hymery et al., 2014)

Mykotoxin	Producent (rody)	Zdroj
Aflatoxin M ₁	vzniká metabolickou přeměnou AFB ₁ v organismu dojnice	kravské a kozí mléko (syrové, pasterizované, UHT), jogurt, máslo, zmrzlina, sýry
Aflatoxin B ₁	<i>Aspergillus</i> spp.	parmazán
Ochratoxin	<i>Aspergillus</i> spp., <i>Penicillium</i> spp.	syrové kravské mléko, sýry
Citrinin	<i>Penicillium</i> spp., <i>Aspergillus</i> spp.	povrch poloměkkých sýrů, parmazán, kozí měkký sýr
Patulin	<i>Penicillium</i> spp.	sýry s modrou plísní, syrové kravské mléko, polotvrdé sýry
PR-toxin	<i>Penicillium</i> spp.	sýry s modrou plísní

Výskytu podmíněně patogenních mikroorganismů, vyvolávajících více či méně závažná onemocnění (Tabulka 2.6 c) je třeba zabránit s využitím přísných hygienických opatření. Jedním z nejúčinnějších prostředků, které zabraňují růstu mikroorganismů, je pasterizace. Mnozí spotřebitelé se mylně domnívají, že syrové (nepasterizované) mléko je hodnotnější, má vyšší zastoupení živin a že průmyslové zpracování má negativní vliv na jeho celkovou kvalitu (Angulo et al., 2009). Následkem pasterizace sice dojde k mírné změně složení mléka, avšak tyto změny nemají vliv na jeho nutriční hodnotu, jak ve svém výzkumu prokázal např. Tallini et al. (2015).

Znalost potencionálních rizik plynoucích z konzumace syrového mléka a snaha zamezit kontaminaci a růstu patogenních mikroorganismů je zcela zásadní. Důležité je nejen dodržování přísných hygienických opatření při manipulaci s mlékem, ale také patřičné tepelné ošetření syrového mléka před jeho samotnou konzumací (Hasoňová, 2012).

Tabulka 2.6 c: Vybraní původci onemocnění z mléka a mléčných výrobků (upraveno dle: Jičínská a Havlová, 1995; Navrátil, 2008; Hasoňová, 2012; Rozsypal et al., 2013; Bártová, 2015; Lukáš a Hoch, 2018; Králíková, 2019; Kolář et al., 2020)

Onemocnění	Původce	Cesty kontaminace mléka a ml. výrobků	Inkubační doba
Významní původci onemocnění z mléka			
Kampylobakterióza	<i>Campylobacter jejuni</i> , <i>Campylobacter coli</i>	mastitidy, hygienicky závadná voda, nedostatečná hygiena při dojení	až 8 dnů
Enterotoxikóza vyvolaná <i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>	mastitidy, nepasterované mléko, kontaminace vody/prostřednictvím výkalů	3 - 4 dny
Listerióza	<i>Listeria monocytogenes</i>	nedostatečně prokysané siláže, chronické mastitidy, nedostatečná pasterace mléka, nedostatečná hygiena a sanitace, lidsší/zvířecí přenašeči patogenů	1 den až 3 měsíce
Syndrom zvracení Syndrom průjmu	<i>Bacillus cereus</i>	nedostatečná pasterace mléka/sterilace/UHT ohřev	0,5 - 6 h 8 - 16 h
Stafylokoková enterotoxikóza	<i>Staphylococcus aureus</i>	nedostatečná pasterace mléka/sterilace/UHT ohřev	1 - 2 dny
Méně častí původci onemocnění z mléka			
Salmonelóza	<i>Salmonella</i> spp.	mastitidy, sekundární kontaminace během dojení/po nadojení/během průmyslového zpracování	6 - 48 hodin
Virus klíšťové encefalitidy	<i>Flavivirus</i>	vylučování viru do mléka při infekci zvířete	7 - 14 dnů

Závěr

Mléko je díky svému jedinečnému složení velmi hodnotnou složkou stravy lidí. Vyznačuje se příznivým zastoupením živin, snadnou stravitelností a je významným zdrojem vápníku. Není proto překvapivé, že se poptávka po mléku a mléčných výrobcích stále zvyšuje.

Společně se zvyšujícím se zájmem je nutné znát a sledovat rizika spojená s jeho kontaminací. K té může dojít nejen skrze infikovanou mléčnou žlázu dojnice, ale také následkem neadekvátní manipulace s mlékem. Dodržení hygienických postupů při jeho získávání, vhodná teplota a čas skladování, přeprava i následné tepelné ošetření jsou faktory, které ovlivňují mikrobiologickou kvalitu mléka.

S ohledem k vnitřním charakteristikám mléka jako je vysoký podíl snadno dostupných živin a vysoká vodní aktivita, které činí mléko atraktivním pro většinu mikroorganismů, je nezbytné se problematikou mikrobiální kontaminace důkladně zabývat. Samostatnou kapitolu tvoří potenciální rizika spojená s alimentárními původci, které rovněž mohou mléko kontaminovat a zejména u oslabených jedinců vyvolat různě závažná onemocnění.

Seznam použité literatury

- Bouška, J. et al. (2006). *Chov dojného skotu*. Profi Press, Praha. ISBN 80-86726-16.
- Adams, M.R. a Moss, M O. (2000). *Food Microbiology*. Royal Society of Chemistry, Cambridge. (ISBN neuvedeno).
- Albonico, F. et al. (2020). Raw milk and fecal microbiota of commercial alpine dairy cows varies with herd, fat content and diet. *PLOS One*, 15 (8): e0237262.
- Angulo, F.J. et al. (2009). Unpasteurized milk: a continued public health threat. *Clinical Infectious Diseases*, 48(1): 93-100.
- Arqués, J.L. et al. (2015). Antimicrobial activity of lactic acid bacteria in dairy products and gut: effect on pathogens. *BioMed Research International*, 1-9.
- Banerjee, D. et al. (2019). Factors affecting microbial growth in livestock products: A review. *International Journal of Chemical Studies*, 7(3): 4017-4022.
- Bártová, J. (2015). *Přehled patologie*. Univerzita Karlova v Praze, nakladatelství Karolinum. ISBN 9788024627458.
- Baumgartner, M. (2011). Patogeneze, epizootologické aspekty a strategie profylaxe klinické a subklinické mastitidy. In: *Mastitidy skotu*. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno.
- Bogni, C. et al. (2011). War against mastitis: Current concepts on controlling bovine mastitis pathogens. *World Scientific*, 483–94.
- Brocklehurst, T.F. a Wilson, P.D.G. (2000). The role of lipids in controlling microbial growth. *Grasas y Aceites*, 51(1-2): 66-73.
- Brocklehurst, T.F. et al. (1995). The effect of transient temperatures on the growth of *Salmonella typhimurium* LT2 in gelatin gel. *International Journal of Food Microbiology*, 27(1): 45-60.
- Brown, C.A. (2010). *Understanding Food: Principles and Preparation*. Cengage Learning, Boston. ISBN 0538734981.
- Bylund, G. (2003): *Dairy processing handbook*. Tetra Pak Processing Systems AB, Lund, Sweden. ISBN 9163134276.
- Cobirka, M. et al. (2020). Epidemiology and classification of mastitis. *Animals (Basel)*, 10(12): 2212.
- CTPP (2019). *Bakterie mléčného kvašení, probiotika a fermentované mléčné výrobky*. Potravinářská komora České republiky, Praha. ISBN 978-80-88019-37-4.
-

ČMSCH (2021). Rozbory zpeněžování. [online] Hradištko: Českomoravská společnost chovatelů, a.s. [cit. 22. 3. 2022]. Dostupné z: <https://www.cmsch.cz/laboratore/lrm-laborator-pro-rozbor-mleka/rozbory-mleka/rozbory-zpenezovani/>.

Davidov, I. et al. (2011). Odnos različitih debljina keratinskog sloja ductus papillaris-a i infiltrata leukocita u parenhimu vimena krava. [online] [cit. 22. 8. 2022]. Dostupné z: <http://scindeks-clanci.ceon.rs/data/pdf/0350-2457/2011/0350-24571106359D.pdf>

Dvořáková, K. (2014). *Monitoring mastitid a faktory ovlivňující zdraví mléčné žlázy*. Diplomová práce, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta.

Erickson, P.S. a Kalscheur, K.F. (2020). Nutrition and feeding of dairy cattle. [online] *Animal Agriculture* [cit. 24. 2. 2022]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128170526000094>

Erkmen, O. a Bozoglu, F. (2016). *Principles of food spoilage*. Food microbiology: Principles into practice, Wiley and sons, USA. ISBN 978-1-119-23776-1.

Erskine, R. (2014). Mastitis control in dairy herds. *Herd Health Food Animal Production Medicine*, 397-433.

Fox P.F. et al. (2015). *Water in milk and dairy products*. Dairy Chemistry and Biochemistry. Springer International Publishing, Switzerland. ISBN 978-3-319-14891-5.

Fusco, V. et al. (2020). Microbial quality and safety of milk and milk products in the 21st century. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(4): 2013-2049.

Gajdůšek, S. a Klíčnick, V. (1993). *Mlékařství*. Vysoká škola zemědělská, Brno. ISBN 80-71570-73-7.

Görner, F. a Valík, L. (2004). *Aplikovaná mikrobiológia požívatin: princípy mikrobiológie požívatin, potravinársky významné mikroorganizmy a ich skupiny, mikrobiológia potravinárskych výrob, ochorenia mikrobiálneho povodu, ktorých zárodoky sú prenášané požívatinami*. Malé centrum, Bratislava. ISBN 80-967064-9-7.

Guarín, J.F. et al. (2017). Association of anatomical characteristics of teats with quarter-level somatic cell count. *Journal of Dairy Science*, 100(1): 643-652.

Hajšlová, J. a Velíšek, J. (2009). *Chemie potravin*. OSSIS, Tábor. ISBN 978-80-86659-16-9.

Hasoňová, L. (2012). Potencionální zdravotní rizika konzumace mléka a mléčných výrobků. In: *Mléko: produkce a kvalita: vědecká monografie*. První vydání. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta. ISBN 978-80-7394-383-7.

Hasoňová, L. et al. (2017). Změny v hodnotách celkového počtu mikroorganismů při skladování syrového kravského mléka. *Mlékařské listy*, 28(2): 1-3.

Hasoňová, L. et al. (2018). Od Pasteura zpět? Aneb tepelné ošetření mléka a jeho význam. *Výživa a potraviny*, 73(5): 114-117.

Hasoňová, L. (2022). *Faktory ovlivňující růst mikroorganismů v potravinách. Potravinářská mikrobiologie*. [přednáška]. České Budějovice, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta zemědělská a technologická.

Hassan, H. et al. (2021). Impact of nisin and nisin-producing *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* on *Clostridium tyrobutyricum* and bacterial ecosystem of cheese matrices. *Food*, 10(4): 898.

Hofírek, B et al. (2009). *Nemoci skotu*. Noviko, Brno. ISBN 978-80-86542-19-5.

Horáčková, Š. et al. (2018). Metabolismus a význam bakterií mléčného kvašení ve fermentovaných mléčných výrobcích. *Mlékařské listy*, 29(5): 22-24.

Huang, L.C. et al. (2014). Simultaneous determination of aflatoxin M1, ochratoxin A, zearalenone and α -zearalenol in milk by UHPLC-MS/MS. *Food Chemistry*, 146: 242-9.

Cheng, W.N. a Han, S.G. (2020). Bovine mastitis: risk factors, therapeutic strategies and alternative treatments. A review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 33(11): 1699-1713.

Islam, M. et al. (2021). Microbiological quality assessment of raw and commercial milk available in the local market and its acceptability. *International Journal of Food Microbiology*, 16: 1-8.

Jaglič, Z. et al. (2014). Prevalence bakteriálních původců subklinických mastitid v České republice. *Veterinářství*, 64: 142–145.

Jánosi, S. et al. (2001). Epidemiology: *Prototheca zopfii* mastitis in dairy herds under continental climatic conditions. *Veterinary Quarterly*, 23(2): 80-83.

Janošíková, E. (2021). *Vliv draselných tavicích solí na viskoelastické vlastnosti taveného sýra během skladování*. Diplomová práce, Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická.

Jay, J.M. et al. (2005). *Modern food mikrobiologie*. Springer, New York. ISBN 978-0-387-23180-8.

Jičínská, E. a Havlová, J. (1995). *Patogenní mikroorganismy v mléce a mlékárenských výrobcích*. Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha. ISBN 80-85120-47-x.

Jones, G.M. (2009). The role of milking equipment in mastitis. *Milk Quality & Milking Management*, 404-742.

Kadlec, P. et al. (2012). *Přehled tradičních potravinářských výrob: technologie potravin: Monografie*. Key Publishing, Ostrava. ISBN 978-80-7418-145-0.

Kaluža, M. a Konvalinková, J. (2019). Nemoci hospodářských a potravinových zvířat. [online] VFU Brno [15. 4. 2022]. Dostupné z: <https://cit.vfu.cz/nz/NHZ/NZ.html>

Kirk, H.J. (2008). A system for scoring teat end condition. [online] [cit. 6. 8. 2022]. Dostupné z: <https://en.engormix.com/MA-dairy-cattle/news/system-scoring-teat-end-t13602/p0.htm>

Klaas, I.C. a Zadocks, R.N. (2017). An update on environmental mastitis: Challenging perceptions. *Transboundary and Emerging Diseases*, 65: 166-185.

Kopáček, J. (2018). V ČR vyrábíme a zpracováváme jedno z nejkvalitnějších mlék v Evropě. [online] Českomoravský svaz mlékárenský [cit. 13. 3. 2022]. Dostupné z: <http://cmsm.cz/prispevek-2018-vyrabime-a-zpracovavame-jedno-z-nejkvalitnejsich-mlek-v-Evrope.html>.

Kratochvíl, J. (2006). Kombinace antibiotické a neantibiotické léčby v zaprahlosti-cesta ke snížení výskytu mastitid. *Mastitidy skotu*. Hotel Voroměř, Brno, pp. 25-26. (ISBN neuvedeno).

Krejčí, J. (2006). Imunita mléčné žlázy. In: *Mastitidy skotu*. Hotel Voroměř, Brno, pp. 20-21. (ISBN neuvedeno).

Krejsek, J. (2019). *Bakterie mléčného kvašení, probiotika a fermentované mléčné výrobky*. Potravinářská komora České republiky, Praha. ISBN 978-80-88019-37-4.

Krishnamoorthy, P. et al. (2021) An understanding of the global status of major bacterial pathogens of milk concerning bovine mastitis: A systematic review and meta-analysis (Scientometrics). *Pathogens*, 10(5): 545.

Kumari, T. et al. (2018). A review on subclinical mastitis in dairy cattle. *International Journal of Pure and Applied Bioscience*, 6(2): 1291-1299.

Kussendrager, K.D. a Van Hooijdonk, A.C.M. (2000). Lactoperoxidase: physico-chemical properties, occurrence, mechanism of action and applications. *British Journal of Nutrition*, 84(S1): 19-25.

Ledenbach, L.H. a Marshall, R.T. (2009). Microbiological spoilage of dairy products. In: Sperber, W. a Doyle, M. (Eds.), *Compendium of the microbiological spoilage of foods and beverages*. První vydání, Springer, New York, pp. 41-67. ISBN 978-1-4419-0825-4. pp 41-67

Losnedahl, K.J. et al. (1996). Antimicrobial factors in Milk. *Illinois Dairy Report*, 38.

Lukášová J. (1999). *Hygiena a technologie produkce mléka*. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno. ISBN 80-85114-53-4.

Machado, S.G. et al. (2017). The biodiversity of the microbiota producing heat-resistant enzymes responsible for spoilage in processed bovine milk and dairy products. *Frontiers in Microbiology*, 8: 302.

Malíř, F., a Ostrý, V. (2003). *Vláknité mikromycety (plísňe), mykotoxiny a zdraví člověka*. Národní centrum ošetrovatelství a nelékařských zdravotnických oborů, Brno. ISBN 80-7013-395-3.

Matějová, H. (2021). *Mléko a mléčné výrobky: rozdíly a souvislosti s výrobky rostlinnými*. Potravinářská komora České republiky, Praha. ISBN 978-80-88019-43-5.

Medhammar, E. et al. (2012). Composition of milk from minor dairy animals and buffalo breeds: a biodiversity perspective. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(3): 445-474.

Mullan, W.M.A. (2003). Major antimicrobial proteins in milk. [online] Dairy science food technology [cit. 12. 7. 2022]. Dostupné z: <https://www.dairyscience.info/index.php/exploitation-of-anti-microbial-proteins/52-antimicrobial-proteins.html?jjj=1661186189333>

Murata, M. et al. (2013). Identification of milk proteins enhancing the antimicrobial activity of lactoferrin and lactoferricin. *Journal of Dairy Science*, 96(8): 4891-4898.

Murphy, S.C. (2010). Basic dairy bacteriology. *Dairy Foods Science Notes*, Cornell University.

Navrátilová, P. et al. (2012). *Hygiena produkce mléka*. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno. ISBN 978-80-7305-624-7.

Neijenhuis, F. et al. (2001). Relationship between teat-end callosity and occurrence of clinical mastitis. *Journal of Dairy Science*, 84: 2664-2662.

Němečková, I. et al. (2020). Psychrotrofní mikroorganismy jako producenti nežádoucích enzymů v syrovátce pro další potravinářské zpracování. *Mlékařské listy*, 31(2): 9-13.

Oikonomou, G. et al. (2020). Milk microbiota: What are we exactly talking about? *Frontiers in Microbiology*, 11(60).

Osumi, T. et al. (2008). *Prototheca zopfii* genotypes isolated from cow barns and bovine mastitis in Japan. *Veterinary Microbiology*, 131(3-4): 419-423.

Owusu-Kwarteng, J. et al. (2020). Microbial safety of milk production and fermented dairy products in Africa. *Microorganism*, 8(5).

Parente, E. et al. (2020). The microbiota of dairy milk: A review. *International Dairy Journal*, 107: 104714.

Pereira, U.P. et al. (2011). Efficacy of *Staphylococcus aureus* vaccines for bovine mastitis: A systematic review. *Veterinary microbiology*, 148(2-4): 117-124.

Plocková, M. a Horáčková, Š. (2019). Aktuální pohled na pasteraci mléka. *Mlékařské listy*, 30(3): 6-9.

Qigley, L. et al. (2013). The complex microbiota of raw milk. *FEMS Microbiology Reviews*, 37(5): 664-698.

Reddy, S. a Puniya, A.K. (2021). Introductory dairy microbiology. [online] IARI Top-pers [cit. 2022-5-27]. Dostupné z: <http://ecoursesonline.iasri.res.in/course/view.php?id=460>

Reneau, J. (2008). Teat end condition matters. [online] The dairy site [cit. 28. 5. 2022]. Dostupné z: <https://www.thedairysite.com/articles/1483/teat-end-condition-matters/>

Reyes-Jara, A. et al. (2014). Antibacterial effect of copper on microorganisms isolated from bovine mastitis. *Frontiers in Microbiology*, 7: 626.

Rüegg, M. (1985). *Water in dairy products related to quality, with special reference to cheese*. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht. ISBN 978-94-010-8756-8.

Salleh, A.B. et al. (2006). *New lipases and proteases*. Nova Publisher, New York. ISBN 1-600-21068-6.

Samková, E. et al. (2009). *Faremní zpracování mléka v ekologickém zemědělství. Kvalita mléka, hygienické požadavky na jeho zpracování, přímý prodej. Zásady ekologického chovu skotu, ovcí a koz. Metodika pro praxi*. Bioinstitut, Olomouc. ISBN 978-80-904174-5-8.

Samková, E. et al. (2012). *Mléko: produkce a kvalita: vědecká monografie*. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta. ISBN 978-80-7394-383-7.

Sandrucci, A. et al. (2014). Management factors and cow traits influencing milk somatic cell counts and teat hyperkeratosis during different seasons. *Animal Production Systems And Agribusiness*, 43(9).

Seydlová, R. (2006). Řešení problematiky environmentálních mastitid v zemědělských provozech. *Sborník referátů odborného semináře - Mastitidy skotu*, Brno.

Seydlová, R. (2011). Lze řešit zdravotní stav mléčné žlázy v období zaprahování. *Náš chov*, 2: 72-74.

Sharun, K. et al. (2021). Advances in therapeutic and managemental approaches of bovine mastitis: A comprehensive review. *Veterinary Quarterly*, 41(1): 107-136.

Silva, E. et al. (2020). Lactoperoxidase system in the dairy industry: Challenges and opportunities. *Czech Journal of Food Science*, 38(6): 337-346.

Smetana, P. (2009). *Faremní zpracování mléka v ekologickém zemědělství: kvalita mléka, hygienické požadavky na jeho zpracování, přímý prodej mléka: zásady ekologického chovu skotu, ovcí a koz*. Metodika pro praxi, Bioinstitut, Olomouc. ISBN 978-80-904174-5-8.

Snášelová, J. (2011). Vybrané poznatky v oblasti mikrobiologie syrového kravského mléka v ČR. *Mlékařské listy*, 22: 4-9.

Sorhaug, T. a Stepaniak, L. (1997). Psychrotrophs and their enzymes in milk and dairy products: Quality aspects. *Trends in Food Science & Technology*, 8(2): 35-41.

Superti, F. (2020). Lactoferrin from bovine milk: A protective companion for life. *Nutrients*, 12(9): 2562.

Šilhánková, L. (2002). *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. Akademie věd České republiky, Praha. ISBN 80-200-1024-6.

Šostakienė, I. a Blazgienė, J. (2010). Water activity influence on the safe aging period of condensed milk. *Annals. Food Science and Technology*, 11(1): 22-24.

Štípková, J. (2010). Zakysané mléčné výrobky a nápoje - spotřebitelský fenomén. *Potravinářská revue*, 2: 9–12.

Tallini, R.A. et al. (2015). Effects of pasteurization and ultra-high temperature processes on proximate composition and fatty acid profile in bovine milk. *American Journal of Food Technology*, 10(6): 265-272.

Tamine, A.Y. (2009). *Milk processing and quality management*. Blackwell Publishing Ltd., Malden. ISBN 978-1-405-14530-5.

Tamine, A.Y. a Thomas, L.V. (2018). *Probiotic dairy products*. John Wiley & Sons, Australia Lt. ISBN 1119214106.

Teplý, M. (1984). *Čisté mlékařské kultury: výroba, kontrola, použití*. Praha: SNTL. (ISBN neuvedeno).

Toman, M. et al. (2009). *Veterinární imunologie*. Grada, Praha. ISBN 978-80-247-2464-5.

Vacheyrou, M. et al. (2011). Cultivable microbial communities in raw cow milk and potential transfers from stables of sixteen French farms. *International Journal of Food Microbiology*, 146(3): 253-262.

Volling, O. (2011). *Udder health management in dairy herds with very low bulk milk somatic cell counts in Lower Saxony*. Disertační práce, Univerzita Göttingen, Fakulta zemědělských věd.

Wareing, P. et al. (2011). *The working companion for food microbiologists*. Royal Society of Chemistry, Cambridge. ISBN 978-1-905224-84-5.

Zadrazil, K. (2002). *Mlékařství*. [přednáška]. Živočišná výroba, Česká zemědělská univerzita, Praha. ISBN 80-86642-15-1.

Zavadilová, L. et al. (2007). Genetic parameters for clinical mastitis, fertility and somatic cell score in Czech Holstein cattle. *Annals of Animal Science*, 17: 1007-1018.

Zelinková, G. (2008). Mastitidy a problematika počtu somatických buněk - jejich řešení na úrovni stáda. *Veterinářství*, 58: 234–243.

Ziermann, A. (2005). *Mikrobiologische Kriterien für Milch, Milchprodukte und andere Lebensmittel in Europa*. Disertační práce, Mnichovská univerzita, Fakulta veterinárního lékařství.

Zucali, M. et al. (2008). Effects of liner compression on teat-end hyperkeratosis. *Annual International Meeting*, 1-5.

Seznam legislativních předpisů

ICBP (2021). *Codex Alimentarius – základní informace*. [online] Bezpečnostpotravin [cit. 13. 3. 2022]. Dostupné z: <https://www.bezpecnostpotravin.cz/kategorie/codex-alimentarius-zakladni-informace.aspx>

Nařízení Komise (ES) č. 853/2004 Evropského parlamentu a rady, kterým se stanoví zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu.

Vyhláška č. 289/2007 Sb., o veterinárních a hygienických požadavcích na živočišné produkty, které nejsou upraveny přímo použitelnými předpisy Evropských společenství.

Vyhláška č. 397/2016 Sb., o veterinárních požadavcích na mléko na mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje.

Seznam obrázků

Obrázek 1.1.1 a: Rentgenový snímek ukazuje rozšíření průměru strukového kanálku stejného struku stejné dojnice mezi první laktací (<i>vlevo</i>) a pozdější laktací (<i>vpravo</i>)	10
Obrázek 2.1.1 b: Strukové skóre 1 (<i>vlevo</i>) a strukové skóre 4 (<i>vpravo</i>)	11
Obrázek 2.1.2: Zdroje kontaminace mléka mikroorganismy	15
Obrázek 2.2: Rozdělení faktorů ovlivňujících růst mikroorganismů v mléce	16
Obrázek 2.2.1: Faktory ovlivňující mikrobiální společenství v sýrech včetně produkce mykotoxinů	24

Seznam tabulek

Tabulka 2.2.1 a: Obsah hlavních složek (%) v mléce vybraných savců	17
Tabulka 2.2.1 b: Hodnoty vodní aktivity (a_w) mléka a vybraných mléčných výrobků	20
Tabulka 2.2.2 a: Generační čas (hod) vybraných skupin bakterií v mléce v závislosti na teplotě	26
Tabulka 2.2.2 b: Mikrobiální (MO) kvalita mléka v závislosti na teplotě skladování při počáteční mikrobiologické kvalitě $2,3 \times 10^3/\text{ml}$	27
Tabulka 2.2.2 c: Způsoby tepelného ošetření mléka a jejich vliv na vybrané ukazatele kvality mléka	28
Tabulka 2.4: Hlavní a doplňkové hygienické ukazatele kvality syrového kravského mléka	31
Tabulka 2.5: Přehled vybraných mikroorganismů způsobujících kažení mléka a mléčných výrobků	32
Tabulka 2.6 a: Příklady ohnisek vybraných alimentárních onemocnění ze syrového mléka	35
Tabulka 2.6 b: Přehled vybraných mykotoxinů detekovaných v mléce a mléčných produktech	36
Tabulka 2.6 c: Vybraní původci onemocnění z mléka a mléčných výrobků	37
