

## **Růst *Bacillus cereus* v pasterovaném mléce při různých skladovacích teplotách**

**Vyletěl M.**

*Výzkumný ústav pro chov skotu, s.r.o. Rapotín*

### **Monitoring výskytu bakterií rodu *Bacillus***

*Bacillus cereus* je vzhledem ke své schopnosti tvořit termorezistentní endospóry a dále lytické enzymy determinujícím faktorem kvality mléčných produktů s tepelnou předúpravou. Rovněž tvorbou svých enterotoxinů je označován za potravní patogen a je cíleně sledován v některých výrobcích i nemléčného původu. Výskyt a identifikace bakterií rodu *Bacillus* byla provedena ve vzorcích syrového mléka v oblasti severní a střední Moravy (54 vzorků) a v oblasti Čech a Moravy (342 vzorků z Centrální laboratoře Pardubice). Celkem bylo izolováno 158 kmenů bacilů, které byly dále identifikovány v České sbírce mikroorganismů, Brno. Nejčtenější zastoupení měl *Bacillus licheniformis* (102; 64,6%), dále *Bacillus cereus* (43; 27,2%), *B. pumilus* (5; 3,2%), *B. subtilis* (2; 1,3%), *B. badius* (1; 0,6%), *B. fusiformis* (1; 0,6%), *B. sphaericus* (1; 0,6%) a *Paenibacillus glucanolyticus* (1; 0,6%). Byly rovněž izolovány dva psychrotolerantní kmeny *B. cereus*, které byly pomocí molekulárních metod určeny jako *Bacillus weihenstephanensis*. Jedná se zřejmě o první izoláty u nás. Izolace *B. stearothermophilus* a nového *B. sporothermodurans* nebyly úspěšné.

### **Teplotní podmínky růstu *Bacillus cereus***

Optimální růstová teplota *Bacillus cereus* je 30 °C. Některé druhy jsou schopné růstu při nižší teplotě 10 – 12 °C a nerostou při teplotě vyšší a naopak. V tabulce 1 je uvedena růstová aktivita *Bacillus cereus* při různých teplotách. Všechny kmeny byly izolovány ze syrového bazénového mléka.

Pro sledování růstu *B. cereus* byly vybrány skladovací teploty, při kterých je mléko běžně skladováno v obchodních sítích (cca 8 – 10 °C, 15 °C a vyšší) nebo dále v domácnostech (4 až 10 °C v chladničce nebo 15 °C a vyšší ve spížích).

### **Růstová aktivita *Bacillus cereus* v pasterovaném mléce**

Pro zjištění růstové aktivity byl vybrán kmen *Bacillus cereus* 96, který nerostl za standardních kultivačních podmínek při 7 °C (7 °C/3-4 dny). Při 10 °C však roste až po 9 dnech kultivace. Vzorky syrového bazénového mléka (100 ml) byly zaočkovány namnoženou čistou kulturou *B. cereus* 96, kultivovány v mléce při teplotě 20 °C 6 hodin a posléze pasterovány při teplotě 72 °C po dobu 20 s. Vzorky mléka byly zaočkovány tak, aby výchozí počet po pasteraci byl 0 až 5000 CFU/ml. V pravidelných 24 hodinových intervalech byl ve vzorcích sledován počet *B. cereus* při třech různých teplotách.

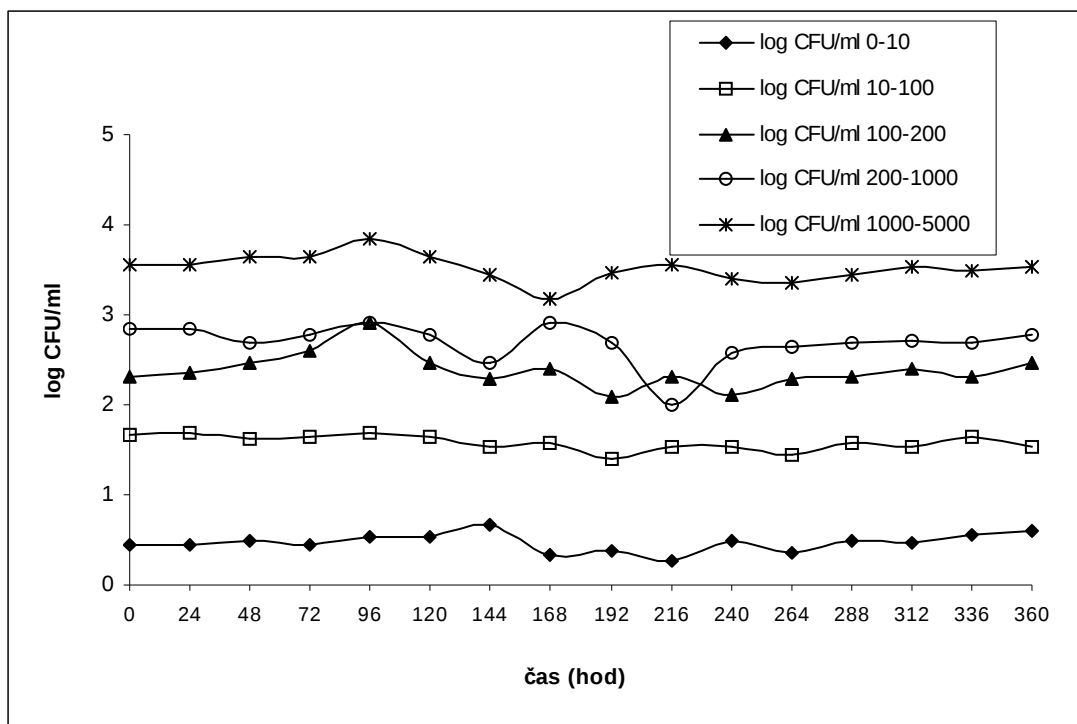
### Časový odhad dosažení hranice zdravotního rizika

Vzorky byly rozděleny podle výchozího počtu *B. cereus* do pěti skupin:  $0 \leq 10$ ,  $10 \leq 100$ ,  $100 \leq 200$ ,  $200 \leq 1000$  a  $1000 \leq 5000$  CFU/ml. Pomocí aproximace byla v grafu na ose x zjištěna doba, při které dosáhly jednotlivé vzorky dolní hranice  $10^5$  CFU/ml, která představuje počáteční stav možného vzniku zdravotních problémů tvorbou diarrhoeálního enterotoxinu. Vzorky mléka uchovávané při  $4^\circ\text{C}$  zůstaly po celou dobu sledování téměř beze změn (obr. 1). Počet *B. cereus* při teplotě  $10^\circ\text{C}$  nedosáhl po celou dobu sledování v případě nízkých výchozích počtů  $0 \leq 10$  CFU/ml kritickou hranici. Teprve v případě výchozích počtů  $10 \leq 100$  CFU/ml bylo hranice dosaženo po 304 hod, při počtu  $100 \leq 200$  CFU/ml po 329 hodinách, při  $200 \leq 1000$  CFU/ml po 250 hodinách a  $1000 \leq 5000$  CFU/ml po 228 hodinách (obr. 2). Velké rozdíly v nárůstu byly i podle výchozího počtu koncentrace CFU/ml při teplotě  $15^\circ\text{C}$ . Při této teplotě překročily vzorky mléka i hranici  $10^7$ , představující zdravotní problémy v případě emetického enterotoxinu. Vzorky s obsahem  $0 \leq 10$  CFU/ml dosáhly kritickou hranici  $10^5$  a  $10^7$  CFU/ml po 61,5 a 140 hodinách, při počtu  $10 \leq 100$  CFU/ml dosahovaly hranici po 57 a 144 hod, mléka s počtem  $100 \leq 200$  CFU/ml po 45 a 61,5 hod,  $200 \leq 1000$  po 45 a 63 hodinách a vzorky mléka s počtem vyšším jak 1000 CFU/ml překročily hranici již po 30,5 a 54 hodinách (obr. 3).

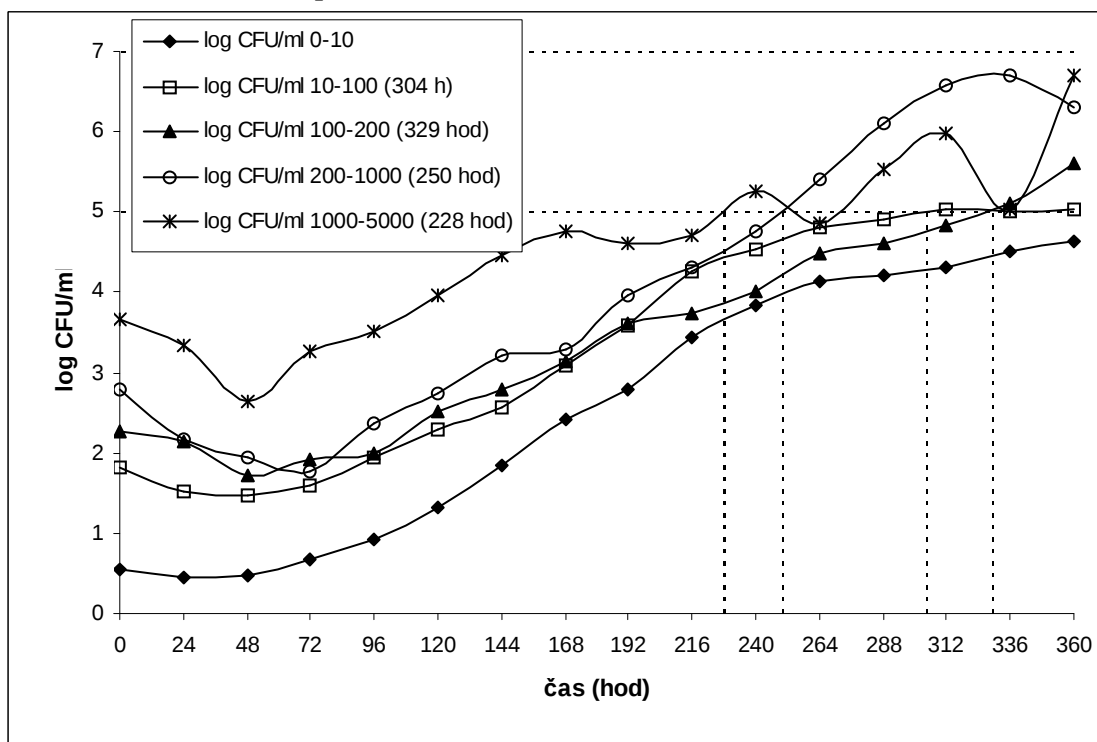
Tabulka 1: Růst *B. cereus* při různých teplotách

| Počet kmenů <i>B. cereus</i> | Růst při            |                       |                    |                    |                    |                    |
|------------------------------|---------------------|-----------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
|                              | $4-7^\circ\text{C}$ | $10-12^\circ\text{C}$ | $30^\circ\text{C}$ | $37^\circ\text{C}$ | $40^\circ\text{C}$ | $43^\circ\text{C}$ |
| 20                           | -                   | +                     | +                  | +                  | -/+                | -                  |
| 36                           | -                   | -                     | +                  | +                  | +                  | +                  |

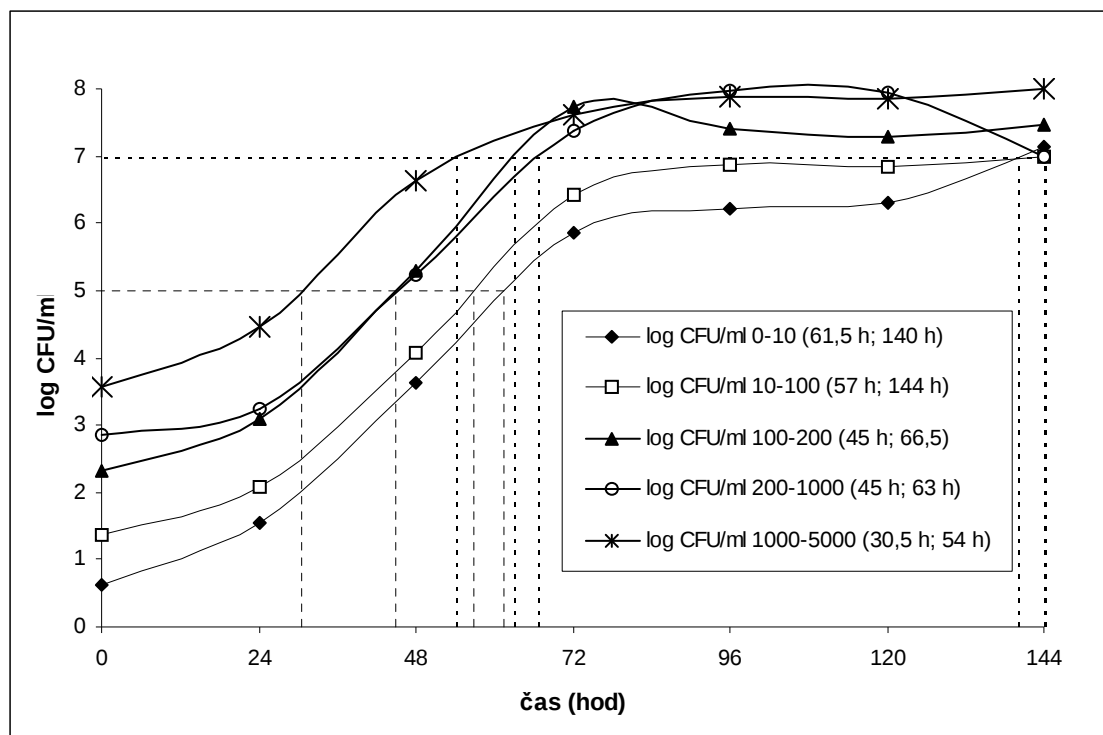
Obr. 1: Růst *B. cereus* při  $4^\circ\text{C}$



Obr. 2: Růst *B. cereus* při 10 °C



Obr. 3: Růst *B. cereus* při 15 °C



Řešeno v rámci úkolu EP9058 pro NAZVE MZe