

УДК 619:616.98:579.842.14С:636.4

Тімченко О.В., заступник завідувача бактеріологічним відділом
e-mail: tango_tango@i.ua
Одеський філіал Державного науково-дослідного інституту
з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи

ВІРУЛЕНТНІСТЬ КУЛЬТУР *ST. AUREUS*, ІЗОЛЬОВАНИХ ІЗ СИРОГО МОЛОКА

В статті наведенні результати бактеріологічних досліджень, щодо вірулентності культур *Staphylococcus aureus* ізольованого з сирого молока коров'ячого і козиного. Встановлено, що залежність між ознаками вірулентності *St. aureus*, є явищем непостійним, вона індивідуальна для кожного штаму. А саме, на 100% плазмокоагулюючих золотистих стафілококів припадає 100% наявності лецитинази, жовтого пігменту – 92%, ферменту ліпази – 84%, гемолізину – 76%, термостабільної ДНК-ази – 40% і патогенність до білих мишей – 20%. Тому, для встановлення результату про наявність патогенного *St. aureus* в сирому молоці, необхідно одночасно вивчати коагулазопозитивні *St. aureus* за допомогою додаткових випробувань на патогенність. Також, виявлення чи низького відсотку (від 12% до 80%) ознак вірулентності золотистого стафілококу, а саме плазмокоагулази за достатньо короткий час (1-4 год.) і лецитинази (24 год.) та швидкість лізису еритроцитів, що становила за 12 годин (24% ізолятів) свідчить про їх провідну патогенетичну роль у виникненні харчових отруєнь, особливо дітей та молодяку тварин.

Ключові слова: вірулентність, залежність, молоко сире, сукупність, патогенність, час прояву, *St. aureus*

Постановка проблеми. Стафілококові харчові отруєння – найбільш типові бактеріальні токсикози. Їх реєструють майже із такою ж частотою як і токсикози сальмонельозної природи особливо серед людей [1, 2]. Патогенним вважають переважно *St. aureus*. Але серед його культур можуть бути і високо вірулентні і авірулентні. Після вживання харчових продуктів, забруднених *St. aureus*, хворих може становити до 90-100% [2]. Були описані отруєння людей, що вживали молоко від корів, хворих на мастит. У таких хворих тварин спостерігали також ознаки гострого гастроентериту в легкій формі. Fox L. та Hancock D. (1990) відмічали в другому кварталі декілька років підряд отруєння овечим молоком, забрудненим стафілококами. Тому молоко та молочні продукти займають одне із перших місць серед джерел стафілококових токсикозів [3, 4]. В.І. Мутовін (1961–1963) виділяв культуру *St. aureus* в 50-70% проб паренхімного молока [3, 60], а В.В. Касянчук і М.Д. Кухтин (2004) – в 11,1%. За даними А. Акатова зі співав. (1983), ентеротоксигенні стафілококи є в молоці клінічно здорових корів та овець в 6-26% випадків [1].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Патогенні стафілококи володіють факторами патогенності: ферментація маніту та мальтози в анаеробних умовах; наявність золотистого пігменту та лецитинази; здатність продукувати лізоцим, ліпазу і ДНКазу; продукувати токсичні речовини, які відіграють роль в патогенетичному відношенні, а саме: коагулазу, фібринолізин та гіалуронідазу; викликати гемоліз еритроцитів [1, 5, 6]. Вірулентність штамів *St. aureus* відрізняються кількістю та різноманітністю білкових фракцій, що виділяють у культуральну рідину – ферментів, токсинів та ін. [6]. Наявність плазмокоагулази (згортає плазму крові) є важливим показником патогенності золотистого стафілококу [1, 2, 5, 7, 8]. Її наявність співпадає з патогенністю у 95,2-96,7% випадків. Чистович Г.Н. (1950) вважав, що наявність лецитинази характерно лише для 84-89%

патогенних штамів стафілококів [9], а інші науковці відмічали, що лецитиназа притамана для всіх патогенних стафілококів [20]. Для ідентифікації патогенних від непатогенних штамів стафілококів, вчені використовують тест активності на визначення ДНК-ази (деполімеризує ДНК), яка виявляється у 97,3% патогенних стафілококів на середовищі з дезоксирибонукліновою кислотою та толуїдином синім [5, 7, 8, 9]. На кров'яному агарі патогенні стафілококи викликають гемоліз, пов'язаний з тим, що в середовище виділяються гемолізини. За даними Акатова (1983) та Смірнова В.В. (1988) експоненціальна фаза росту (виражений гемоліз) стафілококу за оптимальних умов закінчується через 18-24 год.

Мета дослідження. Метою нашої експериментальної роботи було встановити час та ступінь прояву традиційних патогенних факторів *St. aureus* ізольованих з молока сирого коров'ячого та козинного, а саме плазмокоагулюючу, лецитиназну активність та ДНКазну і гемолітичні властивості. Встановити залежність між сукупністю вірулентних ознак *St. aureus* та патогенністю до білих мишей.

Об'єкти та методика дослідження. з допомогою бактеріологічних методів дослідили 108 проб молока сирого згідно ДСТУ IDF 122С:2003, ГОСТ 30345-97 та ГОСТ 10444.2-94. Лецитиназну, коагулюючу щодо сироватки крові, ліпазну, т-ДНК-азну, гемолітичних і ферментативну активність щодо вуглеводів проводили за прийнятими методами [5, 11-14].

Основні результати дослідження. Під час бактеріологічного дослідження 108 проб молока сировини було виділено 25 (23,15%) культур *St. aureus*, що володіли плазмокоагулюючими ознаками – 25 культур (100%) та лецитиназними властивостями – 25 (100%), ферментували в анаеробних умовах мальтозу у 23 (92%) випадках та маніт – 25 (100%). З них 21 (84%) культура проявляли наступні ознаки патогенності: ДНК-аза у 10 (40,0%) культур, патогенність для білих мишей – 5 (20,0%), гемоліз – 19 (76,0%) та ліпаза у 21 (84,0 %) ізоляті золотистого стафілококу.

У серії дослідів проведено дослідження часу прояву плазмокоагулюючої і лецитиназної ознак та гемолізу, традиційні для ізолятів *St. aureus* (табл. 1).

Таблиця 1

Час прояву ознак патогенності культур *St. aureus*, %

Лецитиназна активність, год		Плазмокоагулазна активність, год.			Гемоліз еритроцитів крові барана, год.			
24	48	1-4	5-10	11-24	9	12	18	24
80,0	20,0	40,0	44,0	14,3	12	24	28	12

З таблиці 1 видно, що плазмокоагулазу продукували всі штами проаналізованих груп. Починаючи з перших чотирьох годин аналізу золотистий стафілокок (40%) вже згортав плазму кроля, протягом 5-10 хв – 44% і за 11-24 год. – решта культур (14,3%).

Лецитиназну активність в перші 24 год. інкубування проявляли культури, у 80% випадках, до 48 год – решта золотистих стафілококів.

Ізоляти *St. aureus* продукували β-гемоліз. При цьому виявили, що частковий прояв гемолізу починався вже з восьмої години культивування у 3 (12%) ізолятів, але повний гемоліз утворився до дев'ятої години інкубації. На 12 годину тестування продукували гемоліз з чітким їх проявом 6 (24%) ізолятів. Через 18 год. – 7 (28%), через 24 год. – 3 (12%) культур.

Після вивчення ознак патогенності у 25 епізоотичних культур *St. aureus* провели порівняльний аналіз. З урахуванням подібності цих ознак їх розділили на групи і порівняли результати, які приведені в таблиця 2.

Таблиця 2

Поділ 25 культур *St. aureus* на групи з урахуванням подібності ознак вірулентності

Групи	Плаз-моко-агулаза	Ферментація в анаеробних умовах		Жовтий пігмент	Лецитиназа	ДНК-аза	Гемолізін	Ліпаза	Біопроба на білих мишах	Всього (+), %
		манніту	мальтози							
1, n=3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	12
2, n=1	+	+	+	-	+	-	+	+	-	4
3, n=1	+	+	+	+	+	-	+	+	-	4
4, n=6	+	+	+	+	+	+	-	+	-	24
5, n=2	+	+	+	+	+	+	+	-	-	8
6, n=1	+	+	-	+	+	-	+	+	+	4
7, n=4	+	+	+	+	+	-	-	+	-	16
8, n=1	+	+	+	+	+	-	+	-	+	4
9, n=3	+	+	+	+	+	-	-	-	-	12
10, n=2	+	+	-	+	+	-	-	+	-	8
12, n=1	+	+	+	+	+	-	+	-	-	4
Всього	25	25	23	23	25	10	19	21	5	-
%	100	100	92	92	100	40	76	84	20,0	100

Примітки: + – є реакція; - - немає реакції.

Дані таблиці 2 показують, що в порівняльному аспекті 3 (12%) культури коагулазопозитивних стафілококів, що виділені з молока сирого, мали одразу 9 факторів патогенності. Інші культури золотистого стафілококу одночасно не володіли вірулентними властивостями: не проявляли жовтий пігмент, ДНК-азу та непатогенні до білих мишей – 1 культура; відсутня ДНК-аза і непатогенні до мишей – 1 культура; не продукували гемолізін та не були патогенні для мишей – 6 (24%) культур; не ферментували мальтозу в анаеробних умовах, не містили термостабільну ДНК-азу та була патогенною до мишей – 2 ізоляти; не викликали гемоліз еритроцитів барана, відсутня ДНК-аза та непатогенні для організму мишей – 4 (16%) культур; відсутня ДНК-аза, ліпаза і патогенна – 1 культура; не володіли чотирма ознаками вірулентності (ферментація маніту, ДНК-аза, гемоліз, патогенність) – 8%; не виділяли лецитиназу та не володіли чотирма ознаками вірулентності (ДНК, ліпаза, гемоліз, патогенність) – 1 культура золотистого стафілококу.

Висновки. 1. Виявлення високого відсотку (від 12% до 80%) ознак вірулентності золотистого стафілококу, а саме плазмокоагулази за достатньо короткий час (1-4 год.) і лецитинази (24 год.) та швидкість лізису еритроцитів, що становила за 9 годин у 14 (24,1%) ізолятів, за 12 год. – 32 (50%), 18 год. – 60 (93,8%), а через 24 год. гемоліз відбувся у 64 (100%) культур *St. aureus*, свідчить про їх провідну патогенетичну роль у виникненні харчових отруєнь людей і молодняку тварин.

2. Встановлено, що залежність між ознаками вірулентності *St. aureus*, є явищем непостійним, вона індивідуальна для кожного штаму. Результати дослідів показують, що одного визначення наявності плазмокоагулази, ферментації маніту та мальтози в анаеробних умовах, а також жовтого пігменту не дає підстави для встановлення наявності патогенного *St. aureus*, так як плазмокоагулюючий стафілокок не завжди є патогенним для білих мишей, містить термостабільну нуклеазу та має гемолітичні властивості, що дещо змінює результати літературних даних.

3. Рівень вірулентності різних культур *St. aureus*, ізольованих із сирого молока кров'яного та козиного варіює в широких межах (до 80%).

4. Обґрунтовано та експериментально підтверджено, що в патогенезі розвитку токсикозів правомірно допустити можливість участі *St. aureus* із не повною сукупністю прояву факторів патогенності, які сприяють інвазії в тканини макроорганізму. Не всі штами коагулазопозитивних стафілококів, що виділені з сирого молока коров'ячого та козиного містять одразу усі фактори патогенності, що притаманні їм. А саме, на 100% плазмокоагулюючих золотистих стафілококів припадає 100% наявності лецитинази, жовтого пігменту – 92%, ферменту ліпази – 84%, гемолізіну – 76%, термостабільної ДНК-ази – 40% і патогенність до білих мишей – 20%. Тому, для встановлення результату про наявність патогенного *Staphylococcus aureus* в сирому молоці, необхідно одночасно вивчати коагулазопозитивні стафілококи за допомогою додаткових випробувань на патогенність.

5. Діючий «Обов'язковий мінімальний перелік досліджень сировини, продукції тваринного та рослинного походження, комбікормової сировини, комбікормів, вітамінних препаратів та ін., які слід проводити у державних лабораторіях ветеринарної медицини і за результатами яких видається ветеринарне свідоцтво (ф-2)» спрямований на дослідження харчових продуктів, в тому числі молока пастеризованого, при цьому не враховуючи незбиране (сире) молоко, а також ДСТУ 3662 «Молоко коров'яче незбиране» та Регламент ЕС №2073/2005, «Мікробіологічних критерій для встановлення показників безпечності харчових продуктів» наказ № 548 не передбачають виявлення *St. aureus*, таким чином не являють комплексну систему моніторингу молока сирого коров'ячого та козиного. Тому вважаємо за необхідне досліджувати сире молоко (сирець) на предмет виявлення патогенного *Staphylococcus aureus* та визначати його фактори агресії (термостабільна ДНК-азна активність, наявність гемолізинів, ліполітична активність та патогенність до білих мишей), який являється потенційним джерелом токсикозів людей та тварин.

Список використаної літератури

1. Акатов А.К. Стафилококки [Текст] / А.К. Акатов, В.С. Зуева. М.: Медицина, 1983. – 256 с.
2. Будагян Ф.Е. Пищевые токсикозы, токсикоинфекции и их профилактика [Текст] / Ф.Е. Будагян. М. «Медицина», – 1972. – 213 с.
3. Бергілевич О.М. Мікробіологія молока і молочних продуктів з основами ветеринарно-санітарної експертизи [Текст] / О.М. Бергілевич, В.В. Касянчук, В.З. Салата та ін.: Навч. посібн. [за ред. д. вет. н., проф. Касянчук В.В.]. – Суми: Університет. Книга, 2010. – 320 с.
4. Карташова В.М. Разработка ускоренного метода индикации патогенных стафилококков в молоке коров с помощью РДПА [Текст] / В.М. Карташова, А.А. Гинзбург // Дезинфекция в промышленном животноводстве. М., 1980. – С. 14-17.
5. Методические рекомендации. Лабораторная диагностика стафилококковых инфекции [Текст] / Ивченко В.М. – Кишинев: Тимнул, 1989. – 20с.
6. Смирнов В.В. Стафилококки. / В.В. Смирнов, А.Е. Вершигора, Н.Е. Вихоть и др. / Киев: Наук. думка, 1988. – 248 с.
7. Методичні рекомендації щодо діагностики, профілактики субклінічного маститу корів та боротьбі з ним [Текст] / В.П. Бердник, С.В. Аранчій, І.Ю. Бердник, О.Б. Киричко, О.О. Бублик. Полтава, 2005. – 54 с.
8. Липковский В.Ф. Стафилококковые пищевые токсикозы и энтероколиты [Текст] / В.Ф. Липковский, Р.П. Наумова, Л.С. Богданюк. «Здоровье». Киев, 1976. – 110 с.
9. Черкес Ф.К. Микробиология [Текст] / Ф.К. Черкес, Л.Б. Богоявленская, Н.А. Бельская – М: Медицина, – 1986 – 512 с.
10. Молоко і молочні продукти. Готування проб і розведень для мікробіологічного досліджування (IDF 122:1996, IDT): ДСТУ IDF 122С:2003. – [Чинний від 2005-01-

- 01]. – К.: Держспоживстандрт України, 2005. – 8 с.186.
11. Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества Staphylococcus aureus: ГОСТ 10444.2-94. – [дата введения 1996-01-01]. – К.: Госуд. Комитет Укр. по вопросам технич. регулирования и потребительской политики, 1998. – 11 с.
12. Молоко и молочные продукты. Методы определения Staphylococcus aureus: ГОСТ 30347-97. – [дата введения 1996-07-01]. – К.: Госстандарт Украины, 1998. – 7 с.
13. Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Горизонтальний метод підрахування коагулазо-позитивних стафілококів. Ч.1. Метод з використанням агарового середовища Беард Паркера (ISO 6888-1:1999, IDT): ДСТУ ISO 6888-1: 2003. – [Чинний від 2004-10-01]. – К.: Держспоживстандрт України, 2005. – 10 с.
14. Молоко і молочні продукти. Стандартний метод визначення термонуклеази, продукованої коагулазопозитивними стафілококами у молоці та молочних продуктах (IDF 83:1978, IDT): ДСТУ IDF 83:2003. – [Чинний від 2004-07-01]. – К.: Держспоживстандрт України, 2004. – 5 с.
-

References

1. Akatov A.K. Stafilokokki [Tekst] / A.K. Akatov, V.S. Zueva. M.: Medicina, 1983. – 256s.
2. Budagyan F.E. Pishchevye toksikozy, toksikoinfekcii i ih profilaktika [Tekst] / F.E. Budagyan.: M. «Medicina», – 1972. – 213 s.
3. Bergilevich O.M. Mikrobiologiya moloka i molochnih produktiv z osnovami veterinarno-sanitarnoi ekspertizi [Tekst] / O.M. Bergilevich, V.V. Kasyanchuk, V.Z. Salata ta in.: Navch. posibn. [za red. d. vet. n., prof. Kasyanchuk V.V.]. – Sumi: Universitet. Kniga, 2010. – 320 s.
4. Kartashova V.M. Razrabotka uskorennoogo metoda indikacii patogennyh stafilokokkov v moloke korov s pomoshch'yu RDPA [Tekst] / V.M. Kartashova, A.A.Ginzburg // Dezinfekciya v promyshlennom zhivotnovodstve. M., 1980. — S. 14-17.
5. Metodicheskie rekomendacii. Laboratornaya diagnostika stafilokokkovykh infekcii [Tekst] / Ivchenko V.M. Kishinev. Timnul, 1989. – 20 s.
6. Smirnov V.V. Stafilokokki. / V.V. Smirnov, A.E. Vershigora, N.E. Vihot' i dr. / Kiev: Nauk. dumka, 1988. – 248 s.
7. Metodichni rekomendacii shchodo diagnostiki, profilaktiki subklinichnogo mastitu koriv ta borot'bi z nim [Tekst] / V.P.Berdnik, S.V. Aranchij, I.YU. Berdnik, O.B. Kirichko, O.O. Bublik. Poltava, 2005. – 54 s.
8. Lipkovskij V.F. Stafilokokkovye pishchevye toksikozy i ehnterokolity [Tekst] / V.F. Lipkovskij, R.P. Naumova, L.S. Bogdanyuk. «Zdorov'e». Kiev, 1976. – 110 s.
9. Cherkes F.K. Mikrobiologiya [Tekst] / F.K. Cherkes, L.B. Bogoyavlenskaya, N.A. Bel'skaya – Moskva: Medicina, – 1986 – 512 s.
10. Moloko i molochni produkti. Gotuvannya prob i rozveden' dlya mikrobiologichnogo doslidzhuvannya (IDF 122:1996, IDT): DSTU IDF 122S:2003.– [CHinnij vid 2005-01-01]. – К.: Derzhspozhivstandrt Ukraïni, 2005. – 8 s.
11. Produkty pishchevye. Metody vyyavleniya i opredeleniya kolichestva Staphylococcus aureus: GOST 10444.2-94. – [data vvedeniya 1996-01-01]. – К.: Gosud. Komitet Ukr. po voprosam tekhnich. regulirovaniya i potrebitel'skoj politiki, 1998. – 11s.
12. Moloko i molochnye produkty. Metody opredeleniya Staphylococcus aureus: GOST 30347-97. - [data vvedeniya 1996-07-01]. – К.: Gosstandart Ukrainy, 1998. – 7s.
13. Mikrobiologiya harchovih produktiv i kormiv dlya tvarin. Gorizont'al'nij metod pidrahuvannya koagulazo-pozitivnih stafilokokiv. CH.1. Metod z vikoristannyam agarovogo seredovishcha Beard Parkera (ISO 6888-1:1999, IDT): DSTU ISO 6888-1:
-

2003. – [СНиний вид 2004-10-01]. – К.: Derzhspozhivstandrt Ukraïni, 2005. – 10 s.
14. Moloko i molochni produkti. Standartnij metod viznachennya termonukleazi, produkovanoï koagulazopozitivnimi stafilokokami u moloci ta molochnih produktah (IDF 83:1978, IDT): DSTU IDF 83:2003. – [СНиний вид 2004-07-01]. – К.: Derzhspozhivstandrt Ukraïni, 2004. – 5 s.
-

УДК 619:616.98:579.842.14С:636.4

Тимченко О.В., заместитель заведующего бактериологическим отделом
e-mail: tango_tango@i.ua
*Одесский филиал Государственного научно-исследовательского
института по лабораторной диагностике и
ветеринарно-санитарной экспертизы*

ВИРУЛЕНТНОСТЬ КУЛЬТУР ST. AUREUS ИЗОЛИРОВАННЫХ ИЗ СЫРОГО МОЛОКА

В статье наведены результаты бактериологических исследований, касательно вирулентности культур *Staphylococcus aureus* изолированного из сырого молока коровьего и козьего. Установлено, что зависимость между признаками вирулентности *St. aureus*, является непостоянным явлением, она индивидуальна для каждого штамма. В частности, на 100% плазмокоагулирующих золотистых стафилококков приходится 100% наличия лецитиназы, желтого пигмента – 92%, фермента липазы – 84%, гемолизина – 76%, термостабильной ДНК-азы – 40% и патогенность к белым мышам – 20%. Поэтому, для установления результата о наличии патогенного *St. aureus* в сыром молоке, необходимо одновременно изучать коагулазоположительные *St. aureus* с помощью дополнительных испытаний на патогенность. Также, выявление высокого процента (от 12% до 80%) признаков вирулентности золотистого стафилококка, а именно плазмокоагулазы за достаточно короткое время (1-4 ч) и лецитиназы (24 ч), скорость лизиса эритроцитов, составила до 12 часов (24% изолятов), свидетельствует об их ведущей патогенетической роли в возникновении пищевых отравлений, особенно детей и молодняка животных.

Ключевые слова: вирулентность, зависимость, молоко сырое, совокупность, патогенность, время проявления, *St. aureus*

UCC 619:616.98:579.842.14С:636.4

Timchenko O.V., Deputy head of the bacteriological department
*Odessa branch of the State Research Institute of Laboratory
Diagnostics and Veterinary Expertise*

VIRULENCE OF CULTURES ST. AUREUS ISOLATED FROM RAW MILK

Coagulation of blood plasma coincides with *S. aureus* pathogenicity of 95.2-96.7% of cases. GN Chistovich (1950) believed that the presence of is characteristic enzyme lecithinase only for 84-

89% of pathogenic strains of *Staphylococcus aureus* [9], and other scholars have noted that lecithinase is typical for all the pathogenic *Staphylococcus aureus* [20]. Thermostable DNA activity researchers detected in 97.3% the pathogenic strains of staphilococci [5, 7, 8, 9]. According to data A.K. Akatova (1983) and V.V. Smirnov (1988) exponential growth phase (pronounced hemolysis) *Staphylococcus* under optimal conditions ends in 18-24 hours. The article presents the results of bacteriological studies concerning the virulence of *Staphylococcus aureus* isolated from raw cow milk and goat milk. It was found that the correlation between of virulence factors of *Staphylococcus aureus* is unstable phenomenon, they are the individual for each of the strains. Not all strains of coagulase positive of staphilococci allocated from raw cow's and goat's milk have simultaneously all the factors of pathogenicity inherent in them. In particular, the 100% plasma positive *Staphylococcus aureus* owns by the presence enzyme lecithinase 100 %, 92% the yellow pigment, 84% the lipase, the hemolysis 76%, 40% the heat-resistant DNA-polymerase and 20% the pathogenicity for white mice. Therefore, to establish the result of the presence of pathogenic *Staphylococcus aureus* in raw milk must simultaneously examine coagulase-positive *Staphylococcus aureus* with extra tests pathogenicity. The results of our experimental studies confirm and provide an opportunity to substantiate, that in the pathogenesis development of toxicosis through raw milk, legitimately recognize the possibility of participation *Staphylococcus aureus* with not a complete set of manifestations of pathogenic factors, promoting invasion of host tissue. The detection of a high percentage (from 12% to 80% of cases) of virulence factors of *Staphylococcus aureus*, namely plasmocoagulase in a short time (1-4 hours) and enzyme lecithinase (24 hours) and the rate of lysis of erythrocytes, was 12 hours (24% of isolates) which indicated their leading pathogenetic role in the occurrence of food poisoning, especially in children and young animals. For conducting complex monitoring systems of raw milk cow and goat in the market implementing we consider it necessary examine raw milk to detect of the pathogenic *Staphylococcus aureus* and to determine its of aggression factors (thermostable DNA activity the presence hemolysins, the lipolytic activity and the pathogenicity for white mice), which is the a potential source of toxicosis in people and animals.

Keywords: virulence, dependence, raw milk, aggregate, pathogenicity, manifestation time, *St. aureus*

*Рецензент: Лютка Г.І., кандидат с.-г. наук, доцент
Вінницький національний аграрний університет*