

УДК 637.075

## БІОТИПИ ЗОЛОТИСТОГО СТАФІЛОКОКУ, ЯКІ ВИДІЛЕНІ З МОЛОКА СИРОГО ТА МОЛОЧНИХ ПРОДУКТІВ «ДОМАШНЬОГО» ВИРОБНИЦТВА, ТА ЇХ ЧУТЛИВІСТЬ ДО АНТИБАКТЕРІАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ

Горюк Ю. В. аспірант<sup>8</sup> goruky@mail.ru

Тернопільська дослідна станція Інституту ветеринарної медицини НААН, м. Тернопіль

**Анотація.** Наведено результати дослідження молока сирого та молочних продуктів «домашнього» виробництва, які реалізуються на агропродовольчих ринках міст Тернополя та Кам'янця-Подільського. Найчастіше з молока сирого та молочних продуктів «домашнього» виробництва виділяються золотисті стафілококи двох біотипів: *S. aureus* var. *bovis* і *S. aureus* var. *hominis*. З молока сирого виділяється практично однакова кількість біотипів великої рогатої худоби та людського (в співвідношенні 1:1,1). З сметани «домашнього» виробництва виділяється *S. aureus* var. *hominis* в 1,8 раз (p≤0,005) більше, порівняно з *S. aureus* var. *bovis*. З сиру кисломолочного та рук продавців, виділяється *S. aureus* var. *hominis*, в межах 90 %.

**Ключові слова:** молоко, молочні продукти, стафілококи, біотипи, антибіотикостійкість.

**Актуальність проблеми.** Профілактика захворювань харчового походження відноситься до пріоритетних завдань системи охорони здоров'я у цілому світі. Адже протягом останніх десятиріч кількість захворювань, викликаних мікроорганізмами, які передаються через харчові продукти, значно збільшилась [1, 2]. Так за даними Єфімочкиної Н. Р. особливого значення набувають емерджентні харчові патогени (*Listeria*, *Salmonella*, *enterohemorrhagic Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* та ін.), які контамінують харчові продукти і об'єкти навколишнього середовища [3]. Нині в зв'язку з складною економічною ситуацією, цінова політика сприяє тому, що населення віддає перевагу продуктам «домашнього» виробництва, які реалізуються на агропродовольчих ринках. Ці продукти, зокрема молочні, не досліджуються за мікробіологічними показниками [4] і віднесені до високої категорії ризику.

Оскільки люди часто є носіями стафілококів на слизових оболонках, шкірі та руках, то вони можуть ставати джерелом забруднення харчових продуктів [1, 5], особливо молочних, які виготовлені у «домашніх» умовах. Адже у домашніх умовах не завжди забезпечується дотримання санітарно-гігієнічних вимог.

Крім того, вважається, що в розповсюдженні антибіотикорезистентних штамів стафілококів через молочні продукти велику роль відіграє безконтрольне і системне застосування антибіотиків у ветеринарній медицині. Так як стафілококи легко набувають стійкість до нових антимікробних препаратів за рахунок природного механізму набуття, накопичення і передачі генів, що детермінують резистентність до антибіотиків, як у межах роду, так і між родами шляхом переносу плазмід, транспозонів, хромосомним обміном або внаслідок мутацій [2, 6].

Отже, вивчення біологічного походження золотистого стафілококу, який контамінує молоко сире і молочні продукти в домашніх умовах, визначення його патогенності та чутливості до антибактеріальних препаратів дозволить більш детально виявити джерела забруднення і попередити шляхи обсіменіння.

**Завдання дослідження.** Визначити біотипи, патогенні властивості та чутливість до антибактеріальних препаратів у золотистих стафілококів виділених з молока сирого та молочних продуктів «домашнього» виробництва, які реалізуються на агропродовольчих ринках міст Тернополя та Кам'янця-Подільського.

<sup>8</sup> Науковий керівник – Кухтин М. Д., доктор ветеринарних наук

**Матеріал і методи дослідження.** Робота виконана в Тернопільській дослідній станції Інституту ветеринарної медицини НААН України. Відбирання проб, доставляння їх у лабораторію проводили згідно з ДСТУ 7357:2013 [7].

Виділення стафілококів із молока сирого, сметани та кисломолочного сиру проводили на агарі з 5 % крові ВРХ і 5 % натрію хлориду. До роду *Staphylococcus* відносили кокові форми бактерій, які фарбувалися за Грамом позитивно, продукували каталазу та ферментували глюкозу в середовищі Хью-Лейфсона. Здатність коагулювати плазму визначали класичним методом з використанням плазми кролика. Ідентифікацію стафілококів проводили на основі їх біохімічної активності з використанням комерційних тест-систем: "STAPHY-test 16", (LACHEMA, Чехія). Біотипування золотистого стафілококу визначали за Меєром [8].

Визначення чутливості виділених штамів золотистого стафілококу до антимікробних препаратів проводили диско-дифузійним методом Bauer-Kirbi з використанням стандартних комерційних дисків з антибактеріальними препаратами: ампіциліну (10,0 мкг), амоксициліну (10,0 мкг), цефтріаксону (30,0 мкг), цефтазидіму (30,0 мкг), гентаміцину (10,0 мкг), стрептоміцину (10,0 мкг), канаміцину (30,0 мкг), лінкоміцину (15,0 мкг), тетрацикліну (10,0 мкг), норфлоксацину (10,0 мкг), офлоксацину (5,0 мкг), левофлоксацину (5,0 мкг), фурамагу (300,0 мкг) на середовищі Мюллер-Хінтон (HiMedia, India). Приготування мікробних суспензій проводили відповідно до оптичного стандарту каламутності 1,0 одиниць за шкалою McFarland з використанням приладу Densi-LaMeter (PLIVA-Lachema Diagnostika, Чехія) [9].

Було досліджено 58 проб молока сирого, 180 проб сметани, 47 проб сиру кисломолочного «домашнього» виробництва, які реалізується на агропродовольчих ринках м. Тернополя та м. Кам'янець-Подільський та 35 змивів з рук продавців молочних продуктів. Виділено та ідентифіковано 322 культури *S. aureus*. Статистичну обробку одержаних результатів досліджень проводили за допомогою комп'ютерної програми Microsoft Excel 2007.

**Результати дослідження.** На рисунку 1 наведено результати досліджень з визначення біотипів золотистого стафілококу виділених з молока сирого та молочних продуктів «домашнього» виробництва, які реалізуються на агропродовольчих ринках, а також із змивів рук продавців.

Як видно з даних рисунку 1, у молоці сирому та молочних продуктах «домашнього» виробництва, які реалізуються на агропродовольчих ринках циркулюють два біотиби золотистого стафілококу: *S. aureus var. bovis* та *S. aureus var. hominis*. Проте, частка їх виділення з даних продуктів різна. Так, з молока сирого виділяли  $46,6 \pm 3,1$  % культур золотистого стафілококу, які були віднесені до біотипу великої рогатої худоби (*S. aureus var. bovis*), а  $53,4 \pm 3,7$  % - до людського ековару (*S. aureus var. hominis*). Очевидно, виділення практично однакової кількості золотистого стафілококу людського і коров'ячого біотипів із молока сирого пов'язана з ручним доїнням корів, за якого *S. aureus var. hominis* надходить з рук людей, а *S. aureus var. bovis* з шкіри дійок і молочної залози корів.

У той же час, з сметани «домашнього» виробництва виділяли  $64,3 \pm 4,7$  % *S. aureus var. hominis*, що в 1,8 раз ( $p \leq 0,005$ ) більше, порівняно з *S. aureus var. bovis*. Переважання золотистих стафілококів людського типу над великої рогатої худоби, на нашу думку, пов'язане з додатковим надходженням його від людей, які не дотримуються належної гігієни і санітарії під час виготовлення і реалізації сметани.

Із сиру «домашнього» виробництва, в основному виділявся *S. aureus var. hominis* в  $91,5 \pm 4,2$  %. Домінування у сирі людського ековару пов'язане з обсіянням його після виготовлення та під час пакування і реалізації. Специфіка виготовлення кисломолочного сиру в «домашніх» умовах полягає у тривалій термічній обробці кислого молока, під час якої гине практично вся мезофільна вегетативна мікрофлора, в тому числі і золотистий стафілокок.

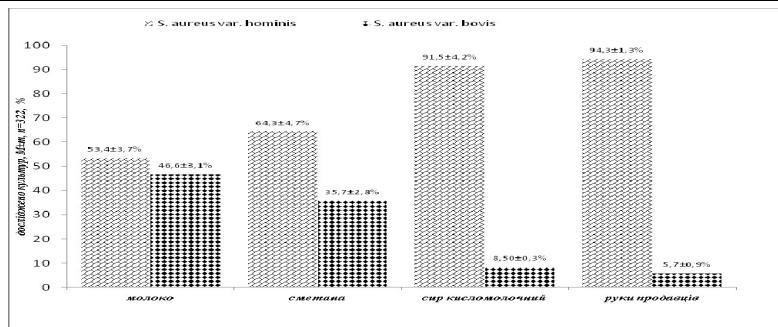


Рис. 1. Біотики золотистих стафілококів, виділені з молока сирого і молочних продуктів, що реалізуються на агропродовольчих ринках та рук продавців

Про те, що руки людей-продавців молочних продуктів «домашнього» виробництва є джерелом *S. aureus var. hominis* вказують дані рисунку 1, згідно яких на руках в  $94,5 \pm 1,5$  % переважає людський ековар.

Отже, одержані дані з біологічного типування золотистого стафілококу виділені з молока сирого і молочних продуктів «домашнього» виробництва, які реалізуються на агропродовольчих ринках, вказують на наявність постійного джерела обсіменіння молочних продуктів *S. aureus var. hominis* – людей-виробників і продавців цих продуктів. Це вимагає постійного контролю задля профілактики харчових токсикозів стафілококової етіології.

Нами також було досліджено наявність деяких ознак патогенності у золотистого стафілококу різного біологічного походження виділені з молока і молочних продуктів, які реалізуються на агропродовольчих ринках. Результати наведено у таблиці.

Таблиця

**Патогенні властивості *Staphylococcus aureus* різних біотипів, виділені з молока сирого і молочних продуктів «домашнього» виробництва, які реалізуються на агропродовольчих ринках,  $M \pm m$ ,  $n=322$ , %**

Виділені біотики золотистого стафілококу	Кількість досліджених культур, n	Термостабільна ДНК-аза	Лецитиназа	Гемолізину	Фосфатаза	Терморезистентність
<i>S. aureus var. bovis</i>	98	$94,9 \pm 2,2$	$23,5 \pm 1,9$	$95,3 \pm 2,1$	$89,8 \pm 4,5$	$90,8 \pm 2,8$
<i>S. aureus var. hominis</i>	224	100	100	$96,9 \pm 1,4$	100	$93,5 \pm 2,6$

Як видно з даних таблиці 1, *S. aureus var. hominis*, порівняно з *S. aureus var. bovis*, в більшій мірі проявляє ознаки патогенності. У 100 % випадків він продукував ДНК-азу, лецитиназу, фосфатазу. У той же час, ековар великої рогатої худоби ДНК-азу і фосфатазу продукував у  $94,9 - 89,8$  %, та відповідно лецитиназу - у  $23,5 \pm 1,9$  % випадків. Терморезистентність два біотики проявляли практично однакову, в межах  $90,8 - 93,5$  %.

Проведені дослідження вказують на високу продукцію ферментів патогенності у золотистого стафілококу, виділеного з молока сирого і молочних продуктів «домашнього» виробництва. Це вимагає від органів з контролю за безпечністю продуктів харчування проведення постійного моніторингу виробництва і реалізації цих продуктів з метою профілактики стафілококових токсикозів у людей.

Нами було проведено визначення стійкості до найбільш поширених у ветеринарній медицині антибактеріальних препаратів у золотистого стафілококу біотипу великої рогатої худоби і людини. Результати наведено на рисунку 2.

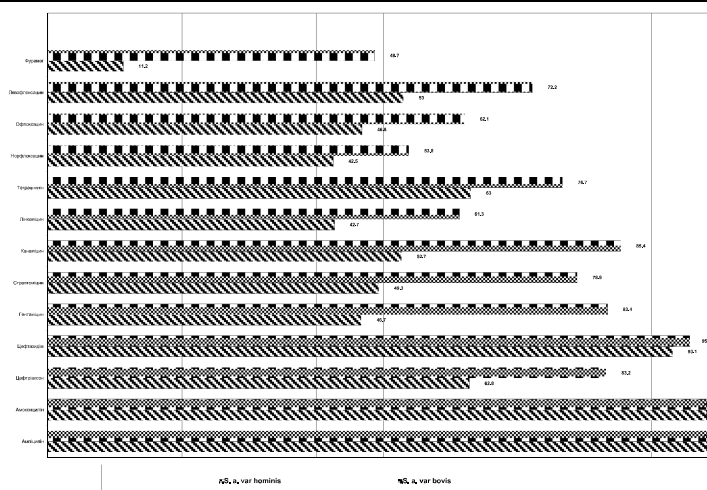


Рис. 2. Резистентність до антибактеріальних препаратів золотистих стафілококів різних біотипів

Стійкість *S. aureus var. hominis* до тетрацикліну складала 76,7 % а до *S. aureus var. bovis* 63,0 %. Лінокліцин також в 1,5 рази ( $p \leq 0,05$ ) був активнішим по відношенню до *S. aureus var. bovis*, хоча тільки 57,3 % цих штамів були чутливими до нього.

Дані рисунку 2 вказують на істотні відмінності щодо чутливості до антимікробних препаратів між штамми золотистого стафілококу біотипів великої рогатої худоби та людини. Резистентність людського ековару до нітрофуранового препарату – фурамагу складала 48,7 %, а до ековару великої рогатої худоби 11,2 %. Висока чутливість *S. aureus var. bovis* до нітрофуранів, очевидно пов'язана із тривалою заборонаю цих препаратів у ветеринарній медицині.

Серед трьох досліджених препаратів фторхінолонового ряду норфлоксацин виявився найдієвішим, порівняно з офлоксацином і левофлоксацином, як до *S. aureus var. bovis*, так і до *S. aureus var. hominis*. Так, до левофлоксацину і офлоксацину були чутливими всього від 27,8 до 37,9 % штамів *S. aureus var. hominis*, що в 1,7 - 1,4 рази ( $p \leq 0,05$ ) менше ніж зі штамми *S. aureus var. bovis*. До норфлоксацину кількість чутливих штамів людського біотипу складала 46,2 %, а штамів біотипу великої рогатої худоби 57,5 %. На нашу думку, дуже висока резистентність *S. aureus* до левофлоксацину пов'язана з широким їх використанням, як у гуманній, так і ветеринарній медицині.

Слабоактивними виявилися і аміноглікозиди (канаміцин, гентаміцин, стрептоміцин). Чутливість *S. aureus var. hominis* до цих антибіотиків не перевищувала 16,6%, а до *S. aureus var. bovis* - 50,7 %.

Неефективними на даний час до *S. aureus* двох біотипів виявилися  $\beta$ -лактанні антибіотики - ампіцилін і амоксицилін, які в 100 % проявляли резистентність. Також достатньо стійкими стафілококи були і до цефалоспоринів III покоління - цефтазидину і цефтріаксону. Так, цефтазидин пригнічував ріст всього 4,3 - 6,9 % штамів золотистого стафілококу двох біотипів, а цефтріаксон – 6,8 % людського біотипу і 37,2 % біотипу великої рогатої худоби.

Загалом слід відзначити надзвичайно високий рівень резистентності штамів золотистих стафілококів, виділених з молока сирого та молочних продуктів «домашнього» виробництва, які реалізуються на агропродовольчих ринках міст Тернополя та Кам'янця-Подільського. Крім цього, золотисті стафілококи людського біотипу виявилися у 1,5 - 3,0 і більше рази стійкішими до антимікробних препаратів, порівняно з штамми золотистого стафілококу біотипу великої рогатої худоби.

### Висновки

1. З молока сирого та молочних продуктів (сметани, сиру кисломолочного) «домашнього» виробництва, які реалізуються на агропродовольчих ринках виділяється *S. aureus* двох біотипів: *S. aureus var. bovis* і *S. aureus var. hominis*. З молока сирого виділяється практично однакова кількість біотипів великої рогатої худоби та людського, в межах 50 %. З сметани «домашнього» виробництва виділяється  $64,3 \pm 4,7$  % *S. aureus var. hominis*, що в 1,8 раз ( $p \leq 0,005$ ) більше, порівняно з *S. aureus var. bovis*. З сиру кисломолочного та рук продавців, в основному виділяється *S. aureus var. hominis* від  $91,5 \pm 4,2$  % до  $94,3 \pm 1,3$  %.

2. Встановлено, що *S. aureus var. hominis*, порівняно з *S. aureus var. bovis*, в більшій мірі проявляє ознаки патогенності, зокрема він у 100 % випадків продукує ДНК-азу, лецитиназу, фосфатазу.

3. Встановлено надзвичайно високий рівень резистентності штамів золотистого стафілококу, виділених з молока сирого та молочних продуктів «домашнього» виробництва. При чому, золотистий стафілокок людського біотипу виявилися у 1,5 - 3,0 і більше разів стійкішими до антимікробних препаратів, порівняно, з штамми золотистого стафілококу біотипу великої рогатої худоби.

#### Література

1. Nawras N. Jaber. Isolation and biotyping of *Staphylococcus aureus* from white cheese in basrah local markets. – Bas.J.Vet.Res. – 2011. – 88(10) – P. 56-65.
2. Normanno G. Occurrence, characterization and antimicrobial resistance of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolated from meat and dairy products //International Journal of Food Microbiology. – 2007. – Т. 115. – №. 3. – С. 290-296.
3. Ефимочкина Н. Р. Новые бактериальные патогены в пищевых продуктах: экспериментальное обоснование и разработка системы контроля с применениями методов микробиологического и молекулярно-генетического анализа. Дис. док. биологических наук/ Ефимочкина Наталья Рамазановна. - Москва. – 2010. – 249 с.
4. Наказ № 49 від 20.04.2004 Правила ветеринарно-санітарної експертизи молока і молочних продуктів та вимоги щодо їх реалізації. – Міністерство Аграрної політики України. – 22 с.
5. Кухтин М.Д. Ветеринарно-санітарна експертиза молока коров'ячого сирого за вмістом *Staphylococcus aureus*. Дис. канд. вет. наук. / Кухтин Микола Дмитрович. – Львів. – 2004. – 156 с.
6. Сидоренко С. В. Клиническое значение антибиотикорезистентности грамположительных микроорганизмов // Инфекции и антимикробная терапия. – 2003. – Т. 5. – №. 2. – С. 28-32.
7. Молоко та молочні продукти. Методи мікробіологічного контролювання: ДСТУ 7357:2013. – [Чинний від 2013–08–22]. – К.: Мінекономрозвитку України, 2014. – 34, [3] с. – (Національний стандарт України).
8. Mayer S. Eigenschaften von aus Kuhmilch isolaten Staphylokokken in Hinblick auf die Beurteilung von Milch. – Milchwissenschaft. - 1999. - № 30. - 607 – 608 p.
9. Наказ МОЗ України № 167 від 05.04.2007 “Про затвердження методичних вказівок щодо визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів”. – К: МОЗ України, 2007. – 63 с. (на підставі інформаційного листа №189 від 2005 року “Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів” і методичних вказівок “Уніфікація методу визначення чутливості мікроорганізмів до антибіотиків”; автори Авдєєва Л.В., Поліщук О.І., Покас О.В.).

#### БИОТИПЫ ЗОЛОТИСТОГО СТАФИЛОКОККА, ВЫДЕЛЕННЫЕ З МОЛОКА СЫРОГО И МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ «ДОМАШНЕГО» ПРОИЗВОДСТВА И ИХ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМ ПРЕПАРАТАМ

Горюк Ю. В., [goruky@mail.ru](mailto:goruky@mail.ru)

Тернопольская исследовательская станция Института ветеринарной медицины НААН, г. Тернополь

Анотация. Приведены результаты исследования молока сырого и молочных продуктов «домашнего» производства, которые реализуются на агропродовольственных рынках городов Тернополя и Каменец-Подольского. Чаще всего из молока сырого и молочных продуктов «домашнего» производства выделяются золотистые стафилококки двух биотипов: *S. aureus var. bovis* и *S. aureus var. hominis*. Из молока сырого выделяется практически одинаковое количество биотипов крупного рогатого скота и человеческого (в соотношении 1: 1,1). Из сметаны «домашнего» производства выделяли *S. aureus var. hominis* в 1,8 раза ( $p \leq 0,005$ ) больше по сравнению с *S. aureus var. bovis*. С творога и рук продавцов, выделяется *S. aureus var. hominis*, в пределах 90 %.

Ключевые слова: молоко, молочные продукты, стафилококки, биотипы, антибиотикостойчивость.

#### BIOTYPES OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS ISOLATED FROM RAW MILK AND DAIRY PRODUCTS "HOMEMADE" PRODUCTION AND THEIR SENSITIVITY TO ANTIBIOTICS

Horyuk Yu. V., [goruky@mail.ru](mailto:goruky@mail.ru)

Ternopil research station of the Institute of veterinary medicine, NAAS, Ternopil

**Summary.** Prevention of foodborne diseases is among the priorities of the health care system in the world. *Staphylococcus aureus* belongs to conditionally pathogenic microorganisms, which often contaminate raw milk and dairy products and can cause toxicosis. The study of the biological origin of *Staphylococcus aureus* that contaminate raw milk and dairy products of "homemade" production, determination of its pathogenicity and sensitivity to antimicrobial drugs will allow to identify the sources of pollution and ways to prevent contamination in more details.

To determine the biotypes of pathogenic properties and sensitivity to antibiotics in *Staphylococcus aureus* allocated from raw milk and dairy products of "homemade" production, which are sold in the agri-food markets.

The work is done in Ternopil research station of the Institute of veterinary medicine NAAS of Ukraine. The sample delivery to the laboratory was performed according to DSTU 7357:2013. The identification of staphylococci was performed using test systems: "STAPHY-test 16", (LACHEMA, Czech Republic). Determination of types of *Staphylococcus aureus* was determined by the Meer. Determining of the susceptibility of strains of *Staphylococcus* to antimicrobial agents was carried out according to Bauer-Kirbi.

There are two biotypes of *Staphylococcus aureus*: *S. aureus* var. *bovis* and *S. aureus* var. *hominis* in raw milk and dairy products of "homemade" production, which are sold in the agri-food markets.

From raw milk almost the same number of biotypes was allocated from cattle and human, in the range of 50 %.  $64,3 \pm 4,7$  % of *S. aureus* var. *hominis* that is in 1,8 times ( $p \leq 0,005$ ) compared to *S. aureus* var. *bovis*, was allocated from sour cream of "homemade" production. Mostly *S. aureus* var. *hominis* from  $91,5 \pm 4,2$  % to  $94,3 \pm 1,3$  % was allocated from cheese dairy and the hands of sellers. It is established that *S. aureus* var. *hominis*, in comparison with *S. aureus* var. *bovis*, showed higher levels of pathogenicity, specifically in 100 % of cases this pathogen produced DNA, lecithinase, phosphatase. *Staphylococcus aureus* of human biotype as in 1,5 to 3,0 times more resistant to antimicrobials compared to of *Staphylococcus aureus* strains biotype of cattle. The data obtained indicate the presence of a permanent source of dairy products by contamination *S. aureus* var. *hominis* – people-manufacturers and sellers of these products.

Key words: milk, dairy products, staphylococci, biotype, antimicrobial resistance.

УДК [637.05](#): 637.075

## **СУЧАСНІ МІЖНАРОДНІ МЕТОДИ ОЦІНКИ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ БЕЗПЕЧНОСТІ СВИНИНИ**

Касянчук В.В. д.вет. н., професор, [v.kasyanchuk@med.sumdu.edu.ua](mailto:v.kasyanchuk@med.sumdu.edu.ua)  
Бергілевич О.М., д.вет. н., професор, [o.bergylevych@med.sumdu.edu.ua](mailto:o.bergylevych@med.sumdu.edu.ua)

Сумський державний університет, м. Суми

Кустуров В.Б., здобувач

Сумський національний аграрний університет, м. Суми

**Анотація.** У статті проаналізовано сучасні міжнародні вимоги до контролю мікробіологічної безпеки свинини. Встановлено, що вітчизняні вимоги відрізняються у стратегії відбору проб та методах відбору проб, а саме згідно міжнародних вимог відбір проб для контролю на відповідність мікробіологічним критеріям проводиться виробником на основі наукової оцінки ризику, відбір проб проводиться у встановлених місцях на поверхні туші, обов'язково визначається тренд результатів досліджень. Ці вимоги на Україні ще необхідно впроваджувати.

**Ключові слова:** туші свиней, мікробіологічні критерії, відбір проб, тренд, патогенні мікроорганізми, технологія забою.

**Актуальність проблеми.** Мікробіологічній безпеці м'яса та, у тому числі свинини, в Європейському Союзі та у інших розвинених країнах надають важливої уваги. Потенційні біологічні небезпеки у м'ясі включають бактерії, токсини, віруси, найпростіші та паразити. Із мікробіологічних ризиків, найбільш важливими є бактерії. Бактерії спричиняють левову частку (близько 90 %) серед усіх хвороб харчового походження. Мікробіологічні небезпеки у м'ясі та м'ясопродуктах спричиняють найбільшу небезпеку для здоров'я людини [1, 2]. В різних країнах світу реєструються випадки