

Список літератури

1. Полімеразна ланцюгова реакція у практиці ветеринарної медицини / Б.Т.Стегній, А.П. Герілович, О.Ю. Лимарська та ін. — Харків, 2006. — 108с. 2. Виявлення герпесвірусу 1 типу за допомогою напівгніздового методу полімеразної ланцюгової реакції / І.В. Белендик, М.О. Беднов, О.М. Дерябін та інші. — Ветеринарна біотехнологія — № 12., Київ Дорадо, 2008. — С.28-33. 3. Діагностика респіраторних вірусних хвороб коней на основі сучасних біотехнологічних методів / М.В. Пекний, В.В. Кулікова, І.В. Белендик та інші. — Ветеринарна медицина, № 88., Харків, 2007. — С.171-174. 4. Detection of equine herpesvirus type 1 by real time PCR/ [Elia G. and all].- J.Virol Methods., April 2006.-133(1).-P.70-75. 5. Потоцький, М.К. Герпесвірусні інфекції коней / М.К. Потоцький — Ветеринарна медицина України. № 7, 2003. — С.24-25. 6. Патент України на корисну модель №30959. — МПК (2006) G01N 33/35 A61D 99/00. Спосіб виявлення ДНК вірусу ринопневмонії коней 1-го типу за допомогою ПЛР/ І.В. Белендик; Власник ІВМ УААН. — дата публікації : 25.03.2008 Бюл №6.

SPECIFIC PATHOLOGOANATOMIC CHANGES IN ABORTED FOALS FETUSES POSITIVE TO EQUINE HERPES INFECTION TYPE 1 IN NESTED PCR

Belendyk I.V., Sinitsyn V.A.
Institute of Veterinary Medicine of NAASU, Kiev

The article shows the first time detected specific pathologoanatomic changes in aborted 7-9 months foals and the results obtained during the verification of the pathological material from aborted fetuses by nested PCR for the detection of DNA of equine herpes virus type 1, and the results of viral isolation from the positive samples in Vero cell culture.

УДК 619: 636.2

ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК КІЛЬКОСТІ ПСИХРОТРОФНОЇ ТА ПСИХРОФІЛЬНОЇ МІКРОФЛОРИ МОЛОКА З ПОКАЗНИКАМИ ЙОГО ЯКОСТІ

Бергілевич О.О.¹

Сумський національний аграрний університет

*У даній статті наведено результати лабораторних досліджень проб молока коров'ячого сирого охолодженого, щодо встановлення видового та кількісного вмісту психротрофної та психрофільної мікрофлори. Аналіз отриманих результатів свідчить про те, що найбільш часто з охолодженого молока були виявлені та ідентифіковані мікроорганізми родів *Lactococcus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*. Крім того, був вивчених видовий склад асоціації виділених мікроорганізмів (*Lactococcus*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas* (13,4%), *Lactococcus*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli* (12,7%), *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas*, *E. coli* (12,3 %)). Встановлено, що наявність в пробах молока коров'ячого сирого охолодженого, що відноситься до першого гатунку мікроорганізми роду *Pseudomonas* негативно впливає на його органолептичні показники.*

Актуальність теми. Згідно з чинними в Україні вимогами молоко коров'яче сире на молокопереробні підприємства повинно поставлятися

¹ Науковий керівник — Касянчук В.В., док. вет. наук, професор Сумського НАУ

в охолодженому стані. Ветеринарно-санітарними правилами визначено, що при машинному доїнні в молокопроводі молоко повинно охолоджуватися негайно в потоці. При доїнні ж в переносні відра проміжок часу між видоюванням молока і початком його охолодження не повинен перевищувати 16-20 хв. Тривалість зберігання молока залежить від його температури (табл.1).

Таблиця 1 — Термін зберігання молока за різних температур охолодження

<i>Температура охолодження °С</i>	<i>Граничний час зберігання молока, год.</i>
8	12
6 – 8	18 – 12
4 – 6	18 – 24

За узгодженням з підприємствами молочної промисловості та іншими заготівниками, органами державного ветеринарного і санітарного нагляду допускається здача молока коров'ячого без охолодження протягом 2 годин після доїння. При цьому господарство повинне гарантувати високу санітарну якість молока, що здається.

Температура охолодженого молока не повинна перевищувати +10°С при прийманні на молокопереробні підприємства. Охолодження молока – необхідна технологічна процедура, яка застосовується виробниками сирого товарного молока з метою подовження дії бактерицидної фази молока.

Охолодження молока під час його зберігання сприяє дотриманню ветеринарно-санітарних вимог до його показників якості та безпечності, й, в першу чергу, таких показників безпечності, як оптимальний вміст мікроорганізмів.

Температура охолодження молока, сприяє затримці росту та розмноженню мікроорганізмів, що відносяться до термофільних та мезофільних. Але, в той же час, в охолодженому молоці протягом терміну зберігання за температури охолодження відбувається розмноження психрофільних та психротрофних мікроорганізмів.

Психрофільні мікроорганізми – це мікроорганізми, що розвиваються за низьких температур, які є сприятливими (оптимальними) для їх росту, розмноження та розвитку. До психрофілів відносять мікроорганізми родів *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Enterobacterium* and *Acinetobacter* та плісняві гриби й дріжджі. Проте, найбільш швидко в молоці охолодженому серед вищезазначених розмножуються представники роду *Pseudomonas* [1,6].

Психротрофні мікроорганізми – це ті мікроорганізми, що адаптувались до існування в умовах низьких температур і довготривалий час залишаються життєздатними за низьких температур, а при потраплянні у сприятливі для їх росту та розмноження умови починають активно розмножуватись. Так, серед стафілококів, стрептококів, мікрококів, клостридій, бацил, пропіоновокислих бактерій є психротропні. Більша кількість патогенних або небезпечних для людини бактерій, теж є псих-

ротрофами — це *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella* та інші [1, 2, 5].

Розвиток психрофільних і психротрофних мікроорганізмів в сирому охолодженому молоці є небажаним, оскільки вони продукують такі ферменти, як протеаза та ліпаза, що спричиняє появу гіркоти, ослизнення, зміни кольору [2, 3].

Контроль психрофільних та психротрофних мікроорганізмів під час зберігання сирого молока дозволяє оцінити якість та безпеку такого молока для переробки і вживання, що є обов'язковим відповідно до вимог ЄС та СОТ. У вітчизняних нормативних документах не зазначено вимог щодо наявності психрофільних мікроорганізмів у сирому охолодженому молоці. Це можна пояснити недостатністю обґрунтованих наукових даних щодо необхідності контролю цих мікроорганізмів у сирому молоці. Вищезазначене свідчить про актуальність вивчення психрофільних та психротрофних мікроорганізмів в сирому охолодженому сирому молоці.

Метою роботи було: дослідити видовий та кількісний склад психрофільної та психротрофної мікрофлори молока коров'ячого сирого охолодженого та вплив цих мікроорганізмів на його органолептичні показники.

Матеріали і методи. Дослідження проводили на кафедрі ветеринарно-санітарної експертизи Сумського НАУ та в Сумській регіональній лабораторії ветеринарної медицини.

Було досліджено 58 проб молока коров'ячого сирого охолодженого, яке направлялось на переробку на молокопереробні підприємства в Сумській області. Вибір проб молока здійснювали з приймальної ємності відповідно до ДСТУ ISO 707:2002 та ГОСТ 9225 — 84. Відібрані проби сирого охолодженого збірного молока досліджували одразу чи зберігали в холодильнику не більше 2 годин. Відбирали проби молока, в яких загальне мікробне забруднення було в межах 500 тис КУО/см³. Кількість психрофільної та психротрофної мікрофлори визначали шляхом посіву розведень сирого охолодженого молока на чашки Петрі з МПА та культивували при температурі 6,5 °С протягом 10 діб.

Для встановлення видового складу психрофільної та психротрофної мікрофлори вивчали в мазках морфологічну будову мікробних клітин, отриманих з колоній при рості на поживному середовищі, мазки фарбували за Граму, наявність спор, рухливість та культуральні властивості, виду ідентифікацію виділених мікроорганізмів встановлювали шляхом порівняння отриманих ознак з покажчиком Берджі [4].

Ферментативні властивості виділених ізолятів мікроорганізмів визначали в чашках Петрі на середовищах Spirit Blue Agar (Himedia, M445) для виявлення ліполітичних ферментів та на середовищі Nutrient Gelatin (Himedia, M060) для виявлення протеолітичних ферментів. Утворені зони просвітління навколо отриманих колоній мікроорганізмів свідчило про наявність тих чи інших ферментів.

Результати досліджень. У результаті мікробіологічного дослідження 58 проб молока коров'ячого сирого охолодженого, яке надходило для переробки, встановлено, що загальна кількість психрофільних та психротрофних мікроорганізмів коливалась від 33-39 тис.КУО/см³ до

393-484 тис. КУО/см³, що співвідношенні до загальної кількості мікроорганізмів становило від 68-82 тис. КУО/ см³ до 393- 484 тис. КУО/ см³, а у відсотковому відношенні їх кількість в молоці коливалась в межах від 8,5 % до 18,1 % .

При мікроскопічному вивченні ізолятів психрофільних та психротрофних мікроорганізмів було виявлено як кокоформи, так і паличкоподібні форми. Серед паличкоподібних форм реєстрували як спороутворюючі грампозитивні, так і неспороутворюючі грамнегативні мікроорганізми.

При детальному вивченні культуральних властивостей, виділених ізолятів встановлювали їх видову належність. Результати досліджень наведено в таблиці 2.

Як видно з таблиці 2, було встановлено, що в дослідних пробах молока коров'ячого сирого охолодженого найбільш часто зустрічалися такі мікроорганізми як лактококи, ентерококи, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas*. Кількість всіх виділених мікроорганізмів обліковувалась у тисячах.

Бактеріальні ізоляти були виділені в асоціаціях, які представлені в таблиці 3.

Таблиця 2 — Ізоляти, виділені з проб молока коров'ячого сирого охолодженого (n=58)

<i>Ізоляти</i>	<i>Кількість проб, в яких було виділено мікроорганізми</i>	<i>Кількість, середнє значення КУО в см³</i>	<i>%</i>
<i>Lactococcus</i>	56	8,9x10 ³	18,5
<i>Staphylococcus aureus</i>	45	6,4x10 ³	10,3
<i>E. coli</i>	52	7,9x10 ³	14,2
<i>Bacillus cereus</i>	36	4,9x10 ³	5,4
<i>Pseudomonas</i>	43	5,9x10 ³	8,4
<i>Proteus vulgaris</i>	42	5,1 x10 ³	7,2
<i>Enterococcus</i>	48	8,2 x10 ³	15,1

Таблиця 3 — Асоціації ізолятів, виділені з проб молока коров'ячого сирого охолодженого (n=58)

<i>Асоціації ізолятів</i>	<i>Кількість проб, в яких було виділено асоціації мікроорганізмів</i>	<i>середнє значення у %</i>
<i>Lactococcus, Staphylococcus aureus, Pseudomonads</i>	11	13,4
<i>Lactococcus, Staphylococcus aureus, E. coli</i>	10	12,7
<i>Staphylococcus aureus, Pseudomonas, Bacillus cereus</i>	8	9,8
<i>Staphylococcus aureus, Pseudomonas, E. coli</i>	9	12,3
<i>Bacillus cereus, Staphylococcus aureus</i>	7	7,6
<i>Pseudomonas, E. coli</i>	9	9,4

При аналізі асоціацій-кластерів виділених ізолятів відмічено, що найчастіше вони склалися з трьох видів мікроорганізмів, причому з шести встановлених нами асоціацій вид *Pseudomonas* був присутній в 4-х кластерах.

Протеолітичні та ліполітичні властивості виділених ізолятів представлені в таблиці 4.

Таблиця 4 — Протеолітичні та ліполітичні властивості ізолятів, виділені з проб молока коров'ячого сирого охолодженого (n=58)

<i>Ізоляти</i>	<i>Протеолітична активність</i>	<i>Ліполітична активність</i>
<i>Lactococcus</i>	+	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	+
<i>E. coli</i>	-	-
<i>Bacillus cereus</i>	+	+
<i>Pseudomonas</i>	+	+
<i>Proteus vulgaris</i>	-	+
<i>Enterococcus</i>	+	+

Як видно з таблиці 4 ліполітичну та протеолітичну властивість мали види *Bacillus cereus*, *Pseudomonas* та ентерококи, а *E. coli* — не проявляли цих властивостей.

Проби молока з вмістом *Pseudomonas* були досліджені органолептично в динаміці. Для цього 7 проб молока коров'ячого сирого охолодженого, що мали загальне мікробне забруднення в межах 500 тис. КУО/см³, а вміст *Pseudomonas* в них у середньому був у межах $5,9 \times 10^3$ зберігали в стерильних умовах за температури 5 ± 1 °С. Динаміка змін органолептичних показників залежно від терміну зберігання охолодженого молока показано в таблиці 5.

Таблиця 5 — Органолептичні показники проб молока коров'ячого сирого охолодженого в залежності від вмісту мікроорганізмів роду *Pseudomonas* spp та терміну зберігання за температури 5 ± 1 °С

<i>Проби молока з вмістом</i>	<i>Органолептичні показники (колір консистенція, запах)</i>			
	<i>На початку дослідження</i>	<i>Через 12 год зберігання</i>	<i>Через 18 год зберігання</i>	<i>Через 24 год зберігання</i>
<i>Pseudomonas</i>	Колір білий, консистенція однорідна, запах приємний, притаманний сирому охолодженому молоці	Колір молока білий з ледь помітним блакитним відтінком, в шарі вершків ледь помітні прогалини, запах та консистенція притаманні сирому молоці	Колір молока білий з блакитним відтінком, в шарі вершків добре помітні прогалини, консистенція молока однорідна, злегка водяниста	Колір молока блакитно білий, в шарі вершків значні прогалини та здуття, запах молока кислотний-спиртовий консистенція з вмістом окремих дрібних пластівців

Як видно з таблиці 5, протягом терміну зберігання відібраних проб молока коров'ячого сирого охолодженого, його органолептичні показники почали змінюватися в бік погіршення з 18 години зберігання при низькій температурі. При цьому відмічено зміни в кольорі й запаху молока.

Висновки. 1. У досліджуваних пробах молока коров'ячого сирого охолодженого, яке надходило для переробки на молокопереробні підприємства, яке відноситься до 1 гатунку за ДСТУ 3662-97, найчастіше були виділені психрофільні (*Pseudomonas*) та психротрофні (лактококи, *E. coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, ентерококи) мікроорганізми.

2. Найбільш часто серед виділених мікроорганізмів зустрічалися лактококи, ентерококи, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas*.

3. Психрофільні та психротрофні мікроорганізми в дослідних пробах утворювали асоціації в наступних комбінаціях: а) *Lactococcus*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas* (13,4 %), б) *Lactococcus*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli* (12,7 %), в) *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas*, *E. coli* (12,3 %).

4. Встановлено, що наявність у пробах молока коров'ячого сирого охолодженого, яке відноситься до першого гатунку мікроорганізму роду *Pseudomonas* у кількості $5,9 \times 10^3$ негативно впливають на його органолептичні показники через 18 годин холодильного зберігання.

Список літератури

1. Катупіна, Т.А., Дудчик, Н.В., Мельникова, Л.А. Зависимость качества сырого молока от соотношения индикаторных групп микроорганизмов // Сб. докладов IV Международной научно-практической конференции «Технологии и продукты здорового питания». – Часть 1. – М. – 2006. – С. 87-91.
2. Кузнецова, Ж.Ю., Бусилова, Л.А., Шемелева, М.В. Исследование психротрофной микрофлоры молока и влияние на качество молочных продуктов // Екотрофологія. Сучасні проблеми. – Біла Церква. – БДАУ. – 2005. – С.16-17.
3. Кухтин, М.Д. Вплив психротрофної мікрофлори молока сирого на вміст вільних жирних кислот // Збірник наукових праць «Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини». – Харків. – Харківська державна зооветеринарна академія. – Випуск 19. – частина 2. – том 1 «Ветеринарні науки». – 2009. – С.287. – 290.
4. Определитель бактерий Берджи. Пер. с англ. / Под. ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита и др. – М.: Мир, 1997. – Т.2.
5. Czempirkowa R. Psychrotrophic vs. total bacterial counts in bulk milk samples // Vet. Med. Czech. – 2002. – №8. – P. 47–51.
6. Urbanov E. A rapid method of detection Psychrotrophic bacteria in raw milk. Vet Med (Praha). – 1993. – №38(2). – P. 83–88.

LINK NUMBER PSYCHROTROPHIC AND PSYCHROFILIC MICROFLORA MILK WITH ITS QUALITY

Bergilevych O.A.
Summy National Agrarian University

In article describes results of laboratory research samples milk cow raw refrigerated on species and quantitative content of psychrotrophic and psychrofilic microflora. Analysis of the results showed that most of the milk samples were allocated such microorganisms as Lactococcus, Staphylococcus, Pseudomonas. In addition, explored the species composition of associations selected microorganisms (Lactococcus Staphylococcus aureus, Pseudomonas, (13.4 %), Staphylococcus aureus, Lactococcus, E. coli (12.7 %), Staphylococcus aureus, Pseudomonas, E. coli (12.3 %)). It was found that the presence of Pseudomonas in the studied samples negatively affect its organoleptic indicators.