

ВИВЧЕННЯ КОНТАМІНАЦІЇ СИРОГО ЗБІРНОГО МОЛОКА БАКТЕРІЯМИ РОДИНИ ENTEROBACTERIACEAE, В ТОМУ ЧИСЛІ ENTEROBACTER SAKAZAKII

Бергілевич О.М.

Постановка проблеми в загальному вигляді. Україна вважається членом країн СОТ, а також має перспективи входження до співтовариства країн ЄЕС. В зв'язку з цим, на рівні нашої держави визначені пріоритетні напрями наукових розробок, що повинні сприяти ефективному входженню України як надійного торгового партнера до розвинених країн світу. Одним з таких напрямів, визначено дослідження в галузі якості та безпечності харчових продуктів [1,2].

Безпечність харчових продуктів в міжнародній торгівлі базується на узгодженості з вимогами WTO/SPS угоди – угоди по санітарним та фітосанітарним бар'єрам торгівлі. Ця угода визначає, що уряд кожної з країн не має права імпортувати харчові продукти, у випадку, коли вони можуть нести ризик для здоров'я населення. Особливо вразливою категорією населення до харчових ризиків є діти. Тому виробництво цих продуктів підлягає особливому контролю [2].

Міністерство аграрної політики України, оприлюднило проект розпорядження Кабінету Міністрів України "Про схвалення Концепції Загальнодержавної цільової соціальної програми стабілізації та розвитку виробництва вітчизняних продуктів дитячого харчування на 2010 – 2014 рік". Одним із ключових моментів в цьому проекті є забезпечення якості та безпечності харчових продуктів для дітей. Це питання повинно вирішуватись шляхом застосування сучасних міжнародних підходів щодо менеджменту безпечності харчових продуктів. Сучасні системи менеджменту харчових продуктів базуються на комплексному підході, який включає контроль всіх ланок харчового ланцюга „від ферми до столу”. Такий контроль повинен обов'язково базуватись на науковій оцінці ризику. Останні наукові дослідження міжнародного рівня свідчать про виникнення особливої небезпеки для дітей раннього віку, що пов'язана з вживанням дитячих сумішей, контамінованих мікроорганізмами з родини *Enterobacteriaceae* – *Enterobacter sakazakii*. В нашій країні цей мікроорганізм ще не вивчений, а ураховуючи його високу патогенність, проведення досліджень в цьому є дуже актуально [1,2].

Аналіз основних досліджень і публікацій, в яких започатковано розв'язання даної проблеми. Харчовим та ветеринарним законодавством України визначено, що виробництво харчових продуктів, в яких використовується сировина тваринного походження повинно обов'язково підлягати ветеринарному контролю. Тобто, харчові продукти тваринного походження підлягають ветеринарній сертифікації, і в першу чергу за показниками безпечності. Особливу стурбованість з боку суспільства, а також і ветеринарної служби викликають продукти дитячого харчування. Міністерством охорони здоров'я України оприлюднені дані стосовно того, що в нашій державі близько 60% новонароджених не мають природного згодовування молоком, а для їх годування використовують сухі дитячі суміші. Другим важливим аргументом, щодо актуальності питання безпечності сухих дитячих сумішей є той факт, що близько 65% дітей в Україні до трьох років мають проблеми з шлунково-кишковим трактом, які пов'язані із харчуванням [3,4].

Міжнародний Комітет Кодексу Аліментаріус по гігієні харчових продуктів у 2007 році запропонував нові міжнародні наукові рекомендації по санітарно-гігієнічній практиці виробництва харчових продуктів для дітей раннього віку [1]. Необхідність в таких

рекомендаціях з'явилась після ряду спалахів захворювань серед малюків, що вживали дитячі суміші. Перебіг захворювання характеризувався проявом ознак сепсису, ентероколіту та менінгіту. Ученими встановлено причину виникнення таких симптомів – це харчове отруєння сухими дитячими харчовими продуктами, які містили бактерії виду *Enterobacter sakazakii* [4,5]. Важливим є те, що найбільш сприятливі до цього отруєння є особлива група населення – це новонароджені малюки та немовлята віком до 1 року.

У зв'язку з цим Міжнародний Комітет Кодексу Аліментаріус закликає держави-члени тісно співпрацювати науковцям з виробниками для попередження виникнення та поширення патогенних мікроорганізмів, і в тому числі такого патогенна як *Enterobacter sakazakii*, через сухі молочні продукти для дитячого харчування [1]. Дуже актуальним в цьому випадку є вивчення можливих шляхів зниження ріння вмісту вищезазначеного мікроорганізму в сухих молочних сумішах для дітей. Необхідно також здійснювати розробки стандартів, регулюючих документів, методичних рекомендацій по безпечності харчових продуктів для дітей. Оскільки це захворювання у дітей пов'язане з вживанням харчових продуктів, міжнародними організаціями було рекомендовано виробникам провести корегування їх HACCP-планів з метою вирішення зазначеної проблеми. Науковці, на основі аналізу власних досліджень, повинні надавати консультації виробникам у відношенні заходів, які б могли успішно використовуватися для попередження виникнення захворюваності спричинені *Enterobacter sakazaki*. Офіційні лікарі ветеринарної медицини, що працюють на таких підприємствах повинні контролювати правильність функціонування системи HACCP [1,2,3].

Встановлено, що *Enterobacter sakazakii* викликає захворювання усіх вікових груп, проте, найбільш часто реєструються випадки захворювання у дітей грудного та раннього віку (до 1 року). Найбільшому ризику від зараження цією бактерією піддаються новонароджені малюки (до 28 днів), недоношені або з низькою масою тіла при народженні та з ослабленим імунітетом [5].

Для запобігання контамінації дитячих сумішей *Enterobacter sakazakii* під час їх виробництва, особлива увага повинна бути приділена питанням забезпечення виробників дитячого харчування якісною сировиною. Важливим є також та створення нормативної бази по розробці продуктів здорового харчування дітей різних вікових груп [2,3].

Мета досліджень вивчити контамінацію сирого збірного молока корів мікроорганізмами родини *Enterobacteriaceae*, і в тому числі *E. sakazakii*.

Матеріал і методи досліджень. В даній роботі використовували методи аналізу наукових літературних джерел, сучасної міжнародної законодавчо - нормативної бази, методи індикації та ідентифікації мікроорганізмів родини *Enterobacteriaceae* та *E. sakazakii* відповідно до міжнародних стандартів [6,7,8].

Матеріалом слугували наукові публікації, проби збірного молока корів, що були відібрані як безпосередньо на фермі одразу після доїння, так і молокоцистерни при здаванні-прийманні молока на молокопереробному підприємстві. Всього було досліджено 52 проби молока. Крім того проводили мікробіологічні дослідження секрету вимені 35 корів, хворих на субклінічний мастит. Мастит діагностували мастидиновою пробую.

Мікроорганізми родини *Enterobacteriaceae* визначали шляхом посіву на глюкозо-жовчний агар з кристалфіолетом та нейтральним червоним. Після інкубації посівів за температури $37\pm 2^{\circ}\text{C}$ протягом 36 годин, підраховували кількість колоній, що виростили та визначили кількість колонієутворюючих одиниць в одиниці об'єму досліджуваного матеріалу (КУО/см³). Для встановлення роду мікроорганізмів з родини *Enterobacteriaceae* проводили подальші мікроскопічні та біохімічні дослідження [6].

Результати власних досліджень та їх обговорення. Сире збірне молоко корів, в залежності від рівня санітарної культури при його отриманні, а також від стану здоров'я вимені корів може містити від 3 тис КУО /см³ до кількох мільйонів КУО/см³ мікроорганізмів. Серед цих мікроорганізмів вірогідно можуть бути і патогенні. Вірогідність контамінації молока патогенними мікроорганізмами збільшується прямо пропорційно до величини КУО/см³.

Нами проведені мікробіологічні дослідження проб сирого молока корів на наявність в ньому груп патогенних мікроорганізмів, в залежності від числа КУО/см³. Результати наведені в таблиці 1.

Таблиця 1

Кількісна характеристика контамінації сирого молока корів патогенними мікроорганізмами залежно від кількості загальної мікрофлори в ньому (n=104).

Групи мікроорганізмів	Результати досліджень проб молока з вмістом мікроорганізмів до 500 тис /см ³ (n=52).		Результати досліджень проб молока з вмістом мікроорганізмів від 800 тис /см ³ до 1 млн/см ³ (n=52).	
	К-ть проб	%	К-ть проб	%
стафілококи	22	42,3	41	78,8
стрептококи	13	25	23	44,2
ешерії	9	17,3	17	32,7
ентеробактерії	20	38,5	43	82,7
псевдомони	19	36,5	30	57,8
бацилюс	18	34,6	33	63,5
сальмонели	3	5,8	13	25

Як видно з таблиці 1 найбільш частіше в сирому молоці виділялись такі групи мікроорганізмів як: стафілококи, ентробактерії, псевдомони. При чому, в молоці, в якому загальна кількість бактерій була вищою ці мікроорганізми виділялись в середньому в 1,5-2 рази частіше.

Ми звернули особливу увагу на те, що в сирому молоці досить часто виділялись мікроорганізми родини *Enterobacteriaceae*. Характерним було те що в усіх пробах виділялись різні асоціації кількох видів мікроорганізмів одночасно.

Ми дослідили секрет вимені корів, хворих на мастит з метою ідентифікації мікроорганізмів в ньому. Результати дослідження наведені в діаграмі на рисунку 1.

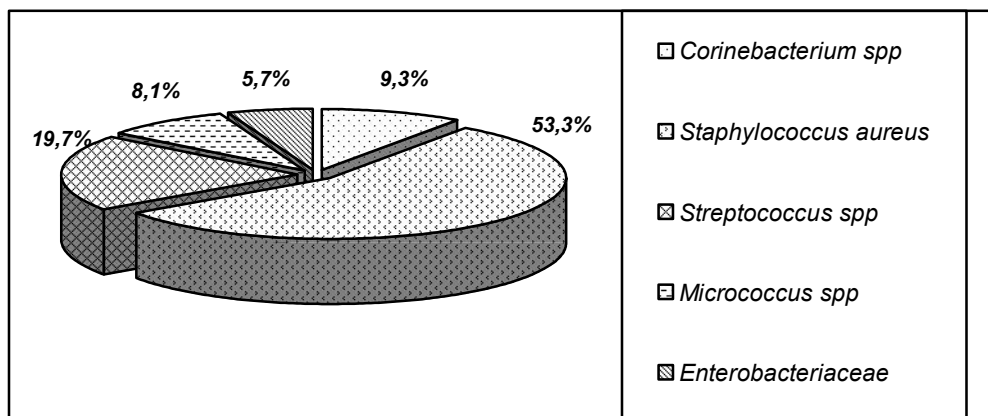


Рисунок 1 – Мікроорганізми, які ідентифіковані з секрету вимені корів хворих на мастит (n= 32).

Як видно з наведеної діаграми, найбільш часто з секрету вим'я корів хворих на масти виділялись *Staphylococcus aureus* - в 53,3% випадків, на другому місці за частотою виділення були стрептококи - 19,7% , бактерії роду *Enterobacteriaceae* були виділені в 9,3% випадків.

Отже секрет вим'я корів хворих на субклінічний масти є одним із джерел контамінації сирого молока патогенними мікроорганізмами і в тому числі мікроорганізмами родини *Enterobacteriaceae*.

Щоб зрозуміти в'язок мікроорганізмів групи родини *Enterobacteriaceae* з таким патогенним мікроорганізмом як *E. sakazakii* наводимо схему, що характеризує мікроорганізми, які входять до родини *Enterobacteriaceae* (рис. 2).

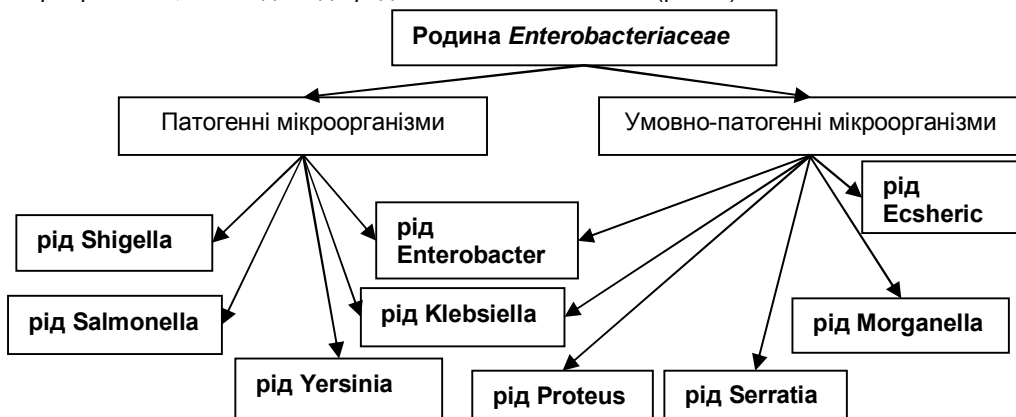


Рисунок 2 – Представники родини *Enterobacteriaceae*

Представлена схема ілюструє те що у великій родині *Enterobacteriaceae* є рід *Enterobacter* до якого і належить *E. sakazakii*.

З досліджуваних нами проб збірного молока та проб секрету вим'я корів, хворих на субклінічний мастит були виділені *E. sakazakii* в 4-х пробах. Ці мікроорганізми характеризувались наступними властивостями.

Отже, згідно наших досліджень та даних зарубіжних та вітчизняних джерел здоров'я дійних корів суттєво впливає на загальну кількість мікроорганізмів в сирому молоці, а також на видовий і кількісний склад мікрофлори родини *Enterobacteriaceae* у ньому [2,3,5].

Таблиця 2

Основні характеристики *E. sakazakii*

Морфологія	• Грам негативна паличка • Рухлива (перетрих) • Спор та капсул не утворює
Культуральні властивості	• Факультативний анаероб • Температурні межі росту 5 – 47 °C(мінімальні 5 - 8 °C, максимальні 45 - 47°C, оптимальні 37 - 44°C) • Утворює жовті колонії на триптон-соевому агарі

Отримані результати досліджень свідчать, також, про те, що такі патогенні мікроорганізми, як *E. sakazakii* можуть виділятися з сирого молока та з секрету вим'я корів, хворих на мастит.

Висновки: 1. В сирому збірному молоці корів виділяли такі групи мікроорганізмів як стафілококи, ентеробактрії, псевдомони. При чому, в молоці, в якому загальна

кількість бактерій була від 800 тис КУО/см³ до 1 млн КУО/см³ ці мікроорганізми виділялись в 1,5- 2 рази частіше порівняно з молоком в якому було до 500 тис КУО/см³.

1. Серед виділених груп мікроорганізмів сирого збірного молока найбільш часто виділялись стафілококи – від 42,3 % до 78,8%, а на другому місці по частоті виділення були ентеробактерії від 38,5% до 82,7%

2. Встановлено, що в секреті вимені корів хворих на масти виділялись такі мікроорганізми: *Staphylococcus aureus* в 53,3% випадків, стрептококи – 19,7% , бактерії роду *Enterobacteriaceae* – 9,3% випадків

3. Суттєвим джерелом контамінації сирого молока бактеріями родини *Enterobacteriaceae* є секрет вимені корів, що хворі на мастит.

4. З досліджуваних 104 проб сирого збірного молока в 4-х пробах були виділені такі мікроорганізми як *E. sakazakii*, які були ідентифіковані за показниками визначеними в показнику Берджі.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Безопасное приготовление, хранение и обращение с сухой детской смесью. //Руководящие принципы. Всемирная Организация Здравоохранения и Продовольственная, Сельскохозяйственная организация ООН, 2007. – 32 с.
2. Бергілевич О.М. Обґрунтування необхідності дотримання нових мікробіологічних критеріїв при виробництві сухих молочних продуктів [Текст]/ О. М. Бергілевич., В.В. Касянчук // Збірник наукових праць Харківської зооветеринарної академії «Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини». Серія «Ветеринарні науки». Вип. 19, Ч. 2 (Том 1)., 2009. – Суми. – С. 266 – 271.
3. Бергілевич О.М. Методологічні підходи щодо оцінки мікробіологічного ризику *Enterobacter sakazakii* [Текст] / О. М. Бергілевич // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С.З. Гжицького. Том 11 №2 (41). Ч. 4., 2009. – Львів— С. 3 – 7.
4. FAO/WHO *Enterobacter sakazakii* and other microorganisms in powdered infant formula. [Text]/Meeting Report. Microbiological risk assessment series, 2004. – 6 с.
5. Lehner, A. Microbiological, epidemiological and food safety aspects of *Enterobacter sakazakii*. [Text] / Lehner, A.; Stephan, R //Journal of Food Protection. Vol.67(12), 2004. – P.2850-2857
6. Detection and Enumeration of *Enterobacteriaceae*/ National Standard Method F18, 2005.
7. (E) Milk and milk products – Detection of *Enterobacter sakazakii* ISO/TS 22964:2006(E) IDF/RM 210:2006.
8. Method of Isolation and Enumeration of *Enterobacter sakazakii* from Dehydrated Powdered Infant Formula (U. S. Food and Drug Administration - FDA- Method), 2002.

УДК 579.672

ВИВЧЕННЯ ДИНАМІКИ РОЗМНОЖЕННЯ ПСИХРОФІЛЬНОЇ МІКРОФЛОРИ СИРОГО ОХОЛОДЖЕНОГО МОЛОКА В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ВМІСТУ ЖИРУ, БІКУ ТА ВПЛИВУ ТЕМПЕРАТУРИ

Бергілевич О.О.*

Постановка проблеми у загальному вигляді. В сире молоко за певних причин можуть потрапляти різні види мікроорганізми, одні з них є технічно-корисними (молочнокислі мікроорганізми), інші – технічно-небажаними (мікроорганізми псування: маслянокислі й гнильні бактерії, дріжджі та плісняві гриби). Крім того, в молоці можуть виявлятися і патогенні мікроорганізми – збудники інфекційних хвороб людини і тварин [1,3,4].

В сирому охолоджену молоці при тривалому його зберіганні за низьких температур досить часто трапляються психрофільні мікроорганізми, які відносяться до групи технічно – небажаних, так як викликають появу вад молока і роблять його технологічно непридатним [1,2,3]. Кількість цих мікроорганізмів особливо зростає у випадку, коли недостатньо промиті та продезінфіковані ємності для зберігання сирого

* Науковий керівник: д.в.н., професор Касянчук В.В.