

УДК 619:616-07:618.19-002

© 2013

*Бердник В. П., доктор ветеринарних наук, професор,
Тімченко О. В., здобувач*

Полтавська державна аграрна академія

ПОРІВНЯННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ МОЛОКА КОРІВ ІЗ ДОПОМОГОЮ МАСТИДИНОВОЇ ПРОБИ ТА КУЛЬТУРАЛЬНОГО МЕТОДУ НА ВИДІЛЕННЯ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Рецензент – доктор біологічних наук С. В. Гапон

*У порівняльному аспекті наведені результати досліджень 85-и проб молока корів із застосуванням мастидинової проби і культурального методу на виділення *Staphylococcus aureus*. З допомогою мастидинової проби одержали позитивні результати в 20 (23,5 %) випадків, а культурального методу – 34 (40,0 %). Із 41 проби молока об'ємом 10,0 мл ізолювали культури *St. aureus* у 34 (82,9 %) випадках, 1,0 мл – у 25 (61,0 %) і 0,1 мл – у 22 (53,6 %) випадках. У 13 (65,0 %) із 20 проб молока, які реагували із мастидином, результати обох тестів співпали, в семи (35,0 %) – ні.*

Ключові слова: коров'яче молоко, золотистий стафілокок, мастидин, токсикози.

Постановка проблеми. Молоко є цінним харчовим продуктом для людини і незамінним кормом для молодяку тварин. Його якість у значній мірі залежить від ступеня забруднення бактерійною флорою ендogenous (запалення молочних залоз) та екзогенного походження (порушення умов утримання, годівлі та догляду; санітарно-гігієнічних умов отримання й первинної переробки молока; люди-носії стафілококів тощо) [1]. Нерідко молоко стає джерелом бактерій, небезпечних для здоров'я людей, до яких відноситься й умовно-патогенний *Staphylococcus (St.) aureus*.

Роль молока і молочних продуктів у виникненні стафілококових токсикозів постійно зростає, досягаючи нині понад 30 % від числа всіх випадків масових токсикозів людей, передусім дітей [4]. Відомо близько 30 хвороб, збудники яких можуть передаватися через молоко [2]. Вони досить поширені й спричиняють значні економічні збитки, викликані проведенням діагностичних досліджень і лікуванням хворих людей, а в тваринництві – через зменшення продуктивності тварин, їх загибель тощо.

Аналіз останніх досліджень і публікацій, у яких започатковано розв'язання проблеми. У загальній кількості бактеріальних харчових отруєнь стафілококові токсикози поступаються лише сальмонельозним токсикоінфекціям. Роль стафі-

лококів у виникненні харчових токсикозів почали вивчати із 40-х років ХХ століття [Б. Л. Бамм, 1942; К. І. Туржецький, 1955; А. С. Baird-Parker, 1960, 1965; А. Ф. Білібін, 1962; Е. А. Нечаєва, 1965; А. К. Акатов, 1976; В. М. Івченко, 1985 й ін.].

Стафілококові отруєння, що викликаються ендотоксинами ентеротоксигенних культур *St. aureus*, досить небезпечні для людей. Для накопичення в молоці ентеротоксину в небезпечній для людини дозі необхідно мати в ньому не менше 500 тис./см³ клітин ентеротоксигенних стафілококів і його температуру близько 20 °С протягом шести годин.

У молоці, що зберігається протягом декількох годин після видоювання (сирому), ентеротоксин накопичується рідко тому, що воно досить швидко піддається охолодженню й через антагоністичну дію на стафілококи інших бактерій, які є в ньому [2]. Тому стафілококові отруєння людей частіше є наслідком вживання молочних продуктів, які забруднюються *St. aureus* під час їх виготовлення [4].

Мікрофлора докільця постійно проникає в молочну залозу корови через соскові канали [1, 4]. Основна її маса знищується факторами неспецифічного захисту молочної залози, але частина з них, зокрема, *St. aureus*, виживає й бере участь у розвитку маститів [4]. Такі патогенні стафілококи продукують ентеротоксини групи А і В, які й викликають отруєння людей, особливо дітей [5].

Мета дослідження – порівняти результати досліджень молока мастидиновою пробю для виявлення прихованого маститу у корів, а також культуральним методом на виділення культур золотистого стафілокока.

Матеріали і методики дослідження. Для досліджень відібрали 85 проб сирого молока, яке зберігали за температури 18–20 °С не більше 4–7 годин після видоювання. Пробу з мастидином ставили згідно з описаною методикою [1]. *St. aureus* виявляли з допомогою бактеріологічного методу у пробах молока об'ємом 10 мл,

1,0 мл і 0,1 мл відповідно до прийнятих методик [3, 6]. Для цього застосували елективний сольовий бульйон, жовтково-сольовий агар та агар Байрд Паркера. В ході ідентифікації збудника ставили також тести на наявність ферментів каталази, ДНК-ази і коагулази, збродження глюкози, маніту і мальтози в анаеробних умовах з утворенням кислоти та альфа- і бета-гемолізу на кров'яному агарі [1].

Результати досліджень. У 41 (48,2 %) із 85 досліджених проб молока одержали позитивні результати в обох тестах, що наведено в таблиці.

Із даних таблиці видно, що з допомогою мастидинової проби одержали позитивні результати в 20 (23,5 %) випадків із 85 досліджених проб молока, а культурального методу – 34 (40,0 %). До того ж із 41 проби молока об'ємом 10,0 мл ізолювали культури *St. aureus* у 34 (82,9 %) випадках, 1,0 мл – 25 (61,0 %) і 0,1 мл – 22 (53,6 %) випадках. У 13 (65,0 %) із 20 проб молока, які реагували із мастидином, результати обох тестів співпали, в семи (35,0 %) – ні.

З іншого боку, в 21 (51,2 %) із 41 випадку з позитивними результатами щодо виділення *St. aureus* не одержали реакції із мастидином. У процесі мікроскопії мазків із культур *St. aureus* на предметному склі спостерігали грампозитивні коки, які розміщувались у вигляді кисті винограду чи плодів смородини, як це зображено на рисунку.

Виділені культури коків володіли лецитиназною активністю щодо плазми крові кроля, розкладали глюкозу, маніт і мальтозу в анаеробних умовах, викликали деполімеризацію ДНК й мали жовтий пігмент. Їх віднесли до роду *Staphylococcus*, виду *aureus* (золотистий). Із 49 проб молока ізолювали також культури *St. epidermidis*, які не мали ферменту коагулази, не розкладали глюкозу і маніт. У частині випадків культури коків були в асоціації з стрептококами та диплококами.

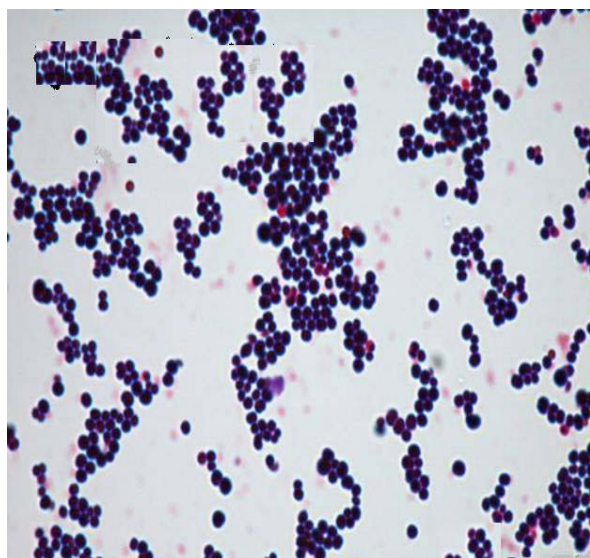


Рис. Мазок на предметному склі з агарової культури *St. aureus*. Зб. х 675.

Розбіжність результатів застосування мастидинової проби і культурального методу, ймовірно, є наслідком того, що з їх допомогою виявляють різні сторони забруднення молока. Мастидинова проба показує процес зміни якості молока через запальний процес у молочній залозі. З допомогою культурального методу виявляється значно більше джерел забруднення молока бактеріями, в тому числі і *St. aureus* – із ураженої запаленням молочної залози, під час доїння, зберігання й транспортування, тобто через контакт із посудом і руками працівників молокопереробних підприємств. Культуральний метод – значно чутливіший для індикації рівня забруднення молока бактеріями, передусім у дослідженні його проби в об'ємах у межах 1,0–10,0 мл.

Слід враховувати, що в числі збудників маститів у корів (окрім *St. aureus*) можуть бути й ентеробактерії, стрептококи, зокрема, *Streptococcus agalactiae* тощо [1].

Порівняння результатів досліджень 41 проби молока за допомогою тесту з мастидином та культурального методу на виділення *St. aureus*

Проба з мастидином	Бактеріологічне дослідження проб молока в об'ємі, мл			Варіанти результатів	
	10,0	1,0	0,1	абс. число	%
+	+	+	+	12	29,3
+	+	-	-	1	2,4
+	-	-	-	7	17,1
-	+	+	+	10	24,4
-	+	+	-	3	7,3
-	+	-	-	8	19,5
20	34	25	22	41	100,0

Примітка: + – результат позитивний ; - – негативний

Висновки:

1. У 41 (48,2 %) із 85 досліджених проб молока одержали позитивні результати в обох тестах. У тесті з мастидином реагувало 20 (23,5 %) із 85 проб молока, а *St. aureus* виділили із них у 34 (40,0 %) випадках. Позитивні результати обох тестів співпали в 65,0 % випадків; були лише із мастидином у 35,0 %, тільки в культуральному методі – в 51,2 % випадків.

БІБЛІОГРАФІЯ

1. Бердник В. П., Аранчій С. В., Бердник І. Ю. [та ін.]. Методичні рекомендації щодо діагностики, профілактики субклінічного маститу корів та боротьби з ним. – Полтава, 2005. – 54 с.
2. Ветеринарно-санітарна експертиза з основами стандартизації продуктів / О. М. Якубчак, В. І. Хоменко, С. Д. Мельничук [та ін.]. – К., 2005. – 800 с.
3. Инструкция о порядке расследования учета и проведения лабораторных исследований в учреждениях санитарно-эпидемиологической службы при пищевых отравлениях №1135-73.
4. Касянчук В., Крижанівський Я. Основні закономірності обсіменіння молока золотистим стафілококом // Ветеринарна медицина України. –

2. *St. aureus* є одним із збудників маститу у корів і продуцентом ентеротоксинів у забрудненому ним молоці, не охолодженому відразу після видоювання.

3. Для попередження токсикозів проби підозрілого молока й продуктів із нього об'ємом не менше 1,0–10,0 мл треба досліджувати на виявлення *St. aureus* культуральним методом.

№10, 2003. – С. 43–45.

5. Методические рекомендации. Лабораторная диагностика стафилококковых инфекций / Ивченко В. М. – Кишинев : Тимнул, 1980. – 20 с.

6. Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Готування досліджуваних проб, вихідної суспензії та десятикратних розведень для мікробіологічного дослідження. – Ч. 1. – Загальні правила готування вихідної суспензії та десятикратних розведень. – ДСТУ ISO 6887-1:2003.

7. Минор Т. Е., Март Е. Х. Стафилококки в пищевых продуктах / Перевод с англ. Н. С. Королевой с соавт. – М. : Пищевая промышленность, 1980. – 232 с.