

УДК 613.287:637.128:637.112

## ФОРМУВАННЯ БІОПЛІВОК МІКРООРГАНІЗМАМИ, ЯКІ ВИДІЛЕНІ З ДОЇЛЬНОГО УСТАТКУВАННЯ

М. Д. Кухтин<sup>1</sup>, Н. В. Крушельницька<sup>2</sup>  
kuchтын@yandex.ua, krushelnytska\_nataliya@ukr.net

<sup>1</sup>Тернопільська дослідна станція Інституту ветеринарної медицини НААН, вул. Тролейбусна, 12, м. Тернопіль, 46027, Україна

<sup>2</sup>Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок, вул. Донецька, 11, м. Львів, 79019, Україна

У статті наведено результати досліджень здатності бактерій, виділених з доїльного устаткування, формувати мікробні біоплівки. Метою нашої роботи було вивчити склад мікрофлори доїльного устаткування і свіжонадосного молока залежно від проведеної санітарної обробки та здатність цієї мікрофлори формувати біоплівки на абіогенних поверхнях. Дослідження проведені в трьох господарствах, де санітарна обробка доїльного обладнання та молочного інвентарю проводиться різними мийно-дезінфікуючими засобами. Відбір змивів з доїльного устаткування проводився перед доїнням корів, безпосередньо після проведеної його повної санітарної обробки.

Вивчення здатності мікроорганізмів формувати біоплівки та визначення їх щільності проводили у чашках Петрі, куди вносили добову тест-культуру бактерій у концентрації  $10^5$  КУО/см<sup>3</sup>, з наступним додаванням 5,0 см<sup>3</sup> МПБ та інкубуванням за  $t$  30 °С протягом 24–48 год. Здатність формувати біоплівки оцінювали візуально та мікроскопічно, щільність біоплівок визначали в одиницях, спектрофотометрично, за оптичною густиною промивного розчину спирту — до 0,5 од. низька щільність, від 0,5 до 1 од. — середня, від 1 — висока. За умов доброї та задовільної санітарної обробки доїльного устаткування мікрофлора змивів більше, ніж на 50 % була представлена грамнегативними паличками родів *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Enterobacter*, *Escherichia* та *Citrobacter* і на 40 % — коковими формами бактерій *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus* та *Micrococcus* та грампозитивними паличками. На недостатньо чистому устаткуванні склад мікрофлори в основному був представлений коковими формами і грампозитивними паличками, які становили близько 70 % всієї мікрофлори.

Результати проведених досліджень показали, що склад мікрофлори доїльного устаткування, щільність утворених біоплівок і контамінація бактеріями молока, свіжовидосного, безпосередньо залежить від якості проведеної санітарної обробки і виду мийно-дезінфікуючих засобів. Встановлено, що для одержання молока високого татунку на молочних фермах необхідно проводити ретельну санітарну обробку доїльного устаткування як лужними, так і кислотними мийно-дезінфікуючими засобами, після кожного доїння корів, незалежно від технології одержання молока.

**Ключові слова:** ДОЇЛЬНЕ УСТАТКУВАННЯ, МОЛОКО, МІКРОБНІ БІОПЛІВКИ, БЕЗПЕЧНІСТЬ

## FORMING OF BIOFILMS OF MICROORGANISMS OBTAINED FROM MILKING EQUIPMENT

М. Д. Kukhtyn<sup>1</sup>, N. V. Krushelnytska<sup>2</sup>  
kuchтын@yandex.ua, krushelnytska\_nataliya@ukr.net

<sup>1</sup>Ternopil Research Station of the Institute of Veterinary Medicine of NAAS, st. Trolleybusna 12, Ternopil, 46027, Ukraine

<sup>2</sup>State Scientific-Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives, st. Donetska, 11, Lviv, 79019, Ukraine

*The article presents the test results of bacteria capability, obtained from milking equipment, to form microbial biofilm. The aim of test was to study the influence of efficacy of sanitary processing and detergents*

*on microorganism capability to form biofilms on abiotic surfaces of milking equipment. The tests conducted on the territory of 3 husbandries where sanitary processing of milking equipment and inventory is conducted by means of different detergents. Selection of washouts from milking equipment, that was previously processed, was conducted before milking of cows.*

*Studying of microorganism capability to form biofilms and determination of their density were conducted in Petri dishes where daily bacteria test culture in concentration of  $10^5$  colony forming units/ $sm^3$  with further adding of  $5.0 sm^3$  of culture medium and incubation at  $30\text{ }^\circ\text{C}$  during 24–48 hours. The capability to form biofilms was evaluated visually and microscopically, the biofilm density was determined spectrophotometrically in units on the basis of optic density of flushing alcohol solution — low density equals to 5 units, medium one is considered to be equal to 0.5 — 1 unit, the high density — of 1 unit. Under condition of good and satisfactory sanitary processing of milking equipment washout microflora was presented by more than 50 % by gram-negative bacteria of *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Enterobacter*, *Escherichia* and *Citrobacter* and more than 40 % by coccus forms of *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus* and *Micrococcus* and gram-positive bacteria. On insufficiently clean equipment the microflora composition was presented by coccus forms and gram-positive bacteria, their quantity was equal to 70 % of microflora.*

*The results of conducted tests showed that generic composition of microflora of milking equipment, the density of formed biofilms and contamination of milk by bacteria depended on the quality of sanitary processing and detergents. It was determined that for getting of high quality of milk on milking farms it is necessary to carry out diligent sanitary processing of milking equipment by means of alkaline and acid disinfectants after every milking of cows independently of the technology of milk getting.*

**Keywords:** MILKING EQUIPMENT, MILK, MICROBIAL BIOFILMS, SAFETY

## **ФОРМИРОВАНИЕ БИОПЛЕНОК МИКРООРГАНИЗМАМИ, ВЫДЕЛЕННЫМИ С ДОИЛЬНОГО ОБОРУДОВАНИЯ**

*М. Д. Кухтын*<sup>1</sup>, *Н. В. Крушельницькая*<sup>2</sup>  
kuchtyн@yandex.ua, krushelnyska\_nataliya@ukr.net

<sup>1</sup>Тернопольська опытная станция Института ветеринарной медицины НААН, ул. Троллейбусная, 12, г. Тернополь, 46027, Украина

<sup>2</sup>Государственный научно-исследовательский контрольный институт ветеринарных препаратов и кормовых добавок, ул. Донецкая, 11, г. Львов, 79019, Украина

*В статье приведены результаты исследований способности бактерий, выделенных из доильного оборудования, формировать микробные биопленки. Целью исследования было изучение состава микрофлоры доильного оборудования и молока сырого в зависимости от проведенной санитарной обработки та способность этой микрофлоры образовывать биопленки на абиогенных поверхностях. Исследования проведены в трех хозяйствах, где санитарная обработка доильного оборудования и молочного инвентаря производится различными моюще-дезинфицирующими средствами. Отбор смывов из доильного оборудования проводился перед доением коров, непосредственно после проведенной его полной санитарной обработки.*

*Изучение способности микроорганизмов формировать биопленки и определения их плотности проводили в чашках Петри, куда вносили суточную тест-культуру бактерий в концентрации  $10^5$  КУО/ $см^3$ , с последующим добавлением  $5,0 см^3$  МПБ и инкубированием при  $t\ 30\text{ }^\circ\text{C}$  в течении 24–48 часов. Способность формировать биопленки оценивали визуально и микроскопически, плотность биопленок определяли в единицах, спектрофотометрически, по оптической плотности промыточного раствора спирта — до 0,5 ед. низкая плотность, от 0,5 до 1 ед. — средняя, от 1 — высокая. При хорошей и удовлетворительной санитарной обработке доильного оборудования микрофлора смывов больше, чем на 50 % была представлена грамтрицательными палочками родов *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Enterobacter*, *Escherichia* и *Citrobacter* и на 40 % — кокковыми формами бактерий *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus* и *Micrococcus* и*

грамположительными палочками. На недостаточно чистом оборудовании состав микрофлоры в основном был представлен кокковыми формами и грамположительными палочками, которые составляли около 70 % всей микрофлоры.

Результаты проведенных исследований показали, что родовой состав микрофлоры доильного оборудования, плотность образованных биопленок и контаминация бактериями молока цельного напрямую зависит от качества проведенной санитарной обработки и вида моечно-дезинфицирующих средств. Установлено, что для получения молока высокого качества на молочных фермах необходимо проводить тщательную санитарную обработку доильного оборудования как щелочными, так и кислотными моечно-дезинфицирующими средствами, после каждого доения коров, независимо от технологии получения молока.

**Ключевые слова:** ДОИЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ, МОЛОКО, МИКРОБНЫЕ БИОПЛЕНКИ, БЕЗОПАСНОСТЬ

Одним із основних чинників, які впливають на якість і безпечність незбираного молока, являється мікробіологічний чинник. Найбільш важливим джерелом мікробного обміненія молока незбираного є доїльне устаткування та молочний інвентар. Більше 40 % харчових отруєнь людей спричиняються мікроорганізмами, які надходять у сировину та готові продукти з технологічного устаткування [1]. Результати останніх наукових досліджень вказують, що мікроорганізми виживають на технологічному устаткуванні завдяки надзвичайно важливій властивості — здатності формувати біоплівки [2, 3]. Біоплівка — це жива сукупність одного або декількох видів чи родів бактерій, яка постійно оновлюється, прикріплена до біогенної чи абіогенної поверхні та оточена полісахаридним матриксом [4]. Матрикс — це суміш екзополісахаридів, білків, нуклеїнових кислот і неорганічних

речовин, яка захищає бактерії від факторів навколишнього середовища [5].

Таким чином, здатність бактерій до формування біоплівки на поверхні доїльного устаткування є важливою умовою їх виживання і, відповідно, джерелом контамінації молока та зниження його гатунку. У таблиці 1 наведені санітарно-гігієнічні нормативи чистоти доїльного устаткування і молочного інвентарю за мікробіологічними показниками, які наведені в нормативному документі [6]. Як видно з даних таблиці 1, що тільки дотримання чистоти доїльного устаткування з кількістю мікроорганізмів до 10000 КУО/см<sup>3</sup> змиву, що відповідає доброму санітарному стану, дозволяє отримати високоякісне молоко.

Сьогодні молочні господарства використовують різні мийно-дезінфікуючі засоби для санітарної обробки доїльного устаткування, як вітчизняного, так і закордонного виробництва, які не завжди є ефективні.

Таблиця 1

**Оцінка санітарного стану доїльного устаткування і молочного інвентарю за кількістю мікроорганізмів**

Мікробіологічні показники чистоти доїльного устаткування та молочного інвентарю	
оцінка санітарного стану	кількість мікроорганізмів, КУО/см <sup>3</sup> змиву
Добрий	до 10000
Задовільний	від 10000 до 50000
Незадовільний	більше 50000

Метою роботи було вивчити склад мікрофлори доїльного устаткування і свіжонадоєного молока залежно від проведеної санітарної обробки та здатність

цієї мікрофлори формувати біоплівки на абіогенних поверхнях.

## Матеріали і методи

Експериментальні дослідження проводили в лабораторіях Тернопільської дослідної станції Інституту ветеринарної медицини та на молочних фермах Тернопільської області.

Мікробіологічні дослідження молока та змивів із доїльного устаткування проводили у відповідності з вимогами ГОСТ 9225-84 [7], ДСТУ ІДФ 122С:2003 [8], ДСТУ ІДФ 100В:2003 [9], ДСТУ ІДФ 101В:2003 [10].

У всіх господарствах відбір змивів з технологічного устаткування проводили перед початком доїння корів, після попередньо проведеної його повної санітарної обробки. Проби молока відбирали в охолоджувач при досягненні ним сталої температури 4–6 °С. Після доставляння проб в термосі з льодом у лабораторію проводили висів їх на: МПА для визначення мікробного числа за температури 30 °С протягом 72 год та визначення кількості психротрофів за 6,5 °С протягом 10 діб; МПА з 5 % крові великої рогатої худоби і натрію хлориду для виділення стафілококів; МПА з 5 % крові великої рогатої худоби для виділення стрептококів; середовище Ендо для виділення кишкової палички і бактерій групи кишкової палички (БГКП); ентерококагар для виділення ентерококів; агар з 0,2 % N-цетилпіридинію хлориду для виділення синьогнійної палички. Родову ідентифікацію виділених культур проводили згідно з дев'ятим виданням визначника бактерій Берджі [11].

Для вивчення здатності мікроорганізмів формувати біоплівки та визначення їх щільності використовували стерильні одноразові пластикові чашки Петрі. Внесу у чашки Петрі в об'ємі 1,0 см<sup>3</sup> добову тест-культури мікроорганізмів у концентрації 10<sup>5</sup> КУО/см<sup>3</sup>, витримували 3 год за кімнатної температури, потім додавали 5,0 см<sup>3</sup> МПБ та інкубували за t 30 °С протягом 24–48 год. Після інкубації чашки триразово відмивали фосфатним буфером,

висушували та фіксували утворені біоплівки 96° етиловим спиртом протягом 10 хв. Потім фарбували розчином 0,1 % кристалічного фіолетового протягом 10 хв, знову промивали фосфатним буфером і висушували. У чашки додавали 2,5 см<sup>3</sup> 96° етилового спирту і добре їх відмивали. Вимірювали оптичну густину змитого розчину спирту спектрофотометрично за довжині хвилі 570 нМ [12]. При оптичній густині змитого з чашок Петрі розчину до 0,5 од. щільність сформованих біоплівок вважали низькою, від 0,5 до 1,0 од. — середньою та при густині розчину більше 1,0 од. щільність сформованої біоплівки вважали високою.

Електронно-мікроскопічні дослідження сформованих біоплівок бактеріями на склі проводили на електронному растровому мікроскопі РЕМ 106 И, Україна.

Отримані результати досліджень обробляли статистично з використанням програм Microsoft Excel і Statistika 99. Різницю вважали вірогідною за P≤0,05; P≤0,01 і P≤0,001.

## Результати й обговорення

Основна частина мікрофлори молока свіжонадоєного формується за рахунок бактерій, змитих з доїльного устаткування та молочного інвентарю. Тому, з метою вивчення закономірностей формування мікробних біоплівок на деталях доїльного устаткування, на першому етапі необхідно було дослідити склад мікрофлори доїльного устаткування та молока свіжонадоєного залежно від проведеної санітарної обробки. На другому етапі — вивчити здатність цієї мікрофлори формувати біоплівки на абіогенних поверхнях.

Для проведення досліджень було вибрано три господарства, де проводять санітарну обробку доїльного устаткування та молочного інвентарю різними мийно-дезінфікуючими засобами. Характеристики мийно-дезінфікуючих засобів та їх ефективність наведено нижче.

У господарстві № 1 використовували: лужний мийно-дезінфікуючий засіб San alcalin (діючі речовини: гіпохлорит натрію та натрію гідроксид) і кислотний — San acidum (фосфорна і сірчана кислоти) бельгійського виробництва. Санітарні показники чистоти доїльного устаткування за умови обробки цими засобами становили  $2,8 \pm 0,3$  тис. КУО/см<sup>3</sup> змиву мезофільних бактерій і  $1,1 \pm 0,2$  КУО/см<sup>3</sup> психротрофів. Молоко одержували з вмістом мезофільних бактерій  $25,7 \pm 4,2$  і  $10,3 \pm 2,2$  тис. КУО/см<sup>3</sup> психротрофів.

У господарстві № 2 використовували: лужний мийно-дезінфікуючий засіб Basix (діючі речовини: гіпохлорит натрію та натрію гідроксид) і кислотний — Sid (фосфорна і сірчана кислоти) виробництва фірми De Laval. За цих умов у змивах із доїльного устаткування мезофільні бактерії становили  $15,7 \pm 3,3$  і  $4,8 \pm 1,1$  тис. КУО/см<sup>3</sup> психротрофи. У молоці свіжонадоєному вміст мікроорганізмів становив  $63,1 \pm 8,1$  тис. КУО/см<sup>3</sup> мезофільних

бактерій і  $29,0 \pm 5,6$  тис. КУО/см<sup>3</sup> психротрофів.

У господарстві № 3 для санітарної обробки устаткування використовували кальциновану соду. За цих умов кількість мезофільних бактерій у 1 см<sup>3</sup> змиву з обладнання становила  $77,2 \pm 15,1$  і  $32,5 \pm 5,9$  тис. КУО/см<sup>3</sup> психротрофів. У молоці їх кількість становила  $164,3 \pm 24,7$  і  $98,6 \pm 19,3$  тис. КУО/см<sup>3</sup> відповідно.

Отже, проведені дослідження вказують, що мікробіологічна чистота доїльного устаткування була добра у господарстві № 1, задовільна — в № 2 і не задовільна — в господарстві № 3. Також можна відзначити, що, навіть, за використання закордонних мийно-дезінфікуючих засобів, на доїльному устаткуванні залишається мікрофлора, яка є джерелом контамінації молока.

Результати досліджень складу мезофільної мікрофлори доїльного устаткування та сирого молока наведено на рисунках 1 та 2.

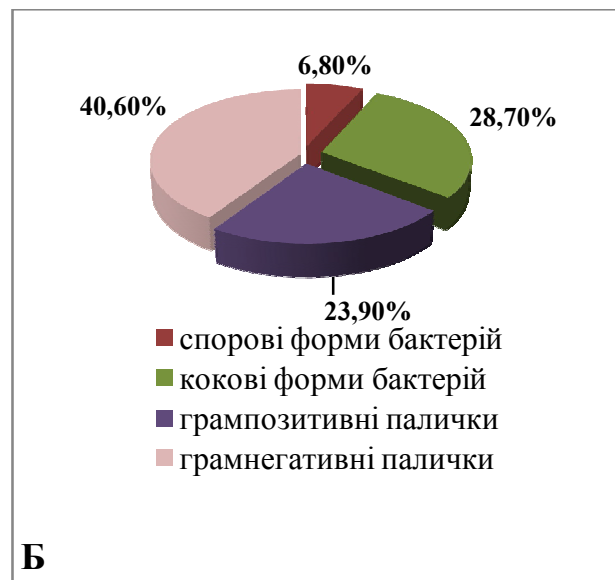
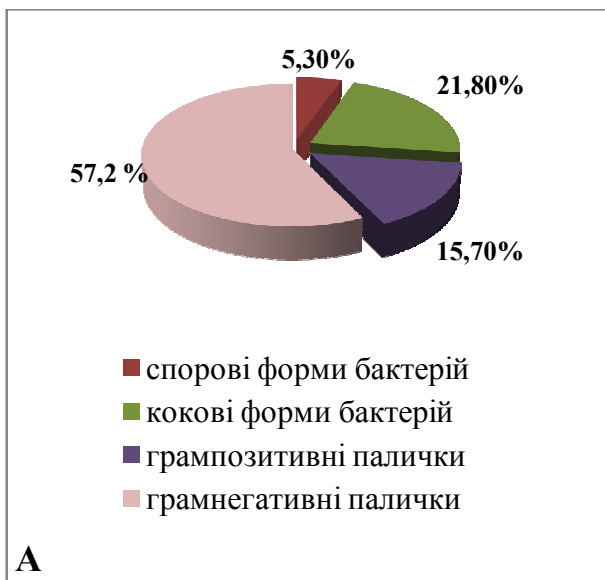


Рис. 1. Склад мікрофлори доїльного устаткування (А) та молока сирого (Б) в господарствах № 1 та № 2 (добрий та задовільний санітарний стан доїльного устаткування)

Як видно з даних рисунка 1 та 2, склад мікрофлори молока свіжонадоєного безпосередньо залежить від чистоти доїльного устаткування. За умови доброї та

задовільної санітарної обробки доїльного устаткування мікрофлора змивів у 57,2 % була представлена грамнегативними паличками, в 37,5 % — коковими формами

бактерій і грампозитивними паличками і в 5,7 % споровими форми. У молоці свіжонадоєному відмічали збільшення у 1,3–1,5 раза кокових форм бактерій та грампозитивних паличок та спорових форм мікроорганізмів у 1,7 раза, порівняно із доїльним устаткуванням. Збільшення

кокових форм бактерій, грампозитивних паличок і спорових форм у свіжонадоєному молоці, пов'язане із надходженням їх із молочної залози та шкіри дійок вимені корів під час доїння, де ці мікроорганізми становлять основну мікрофлору.

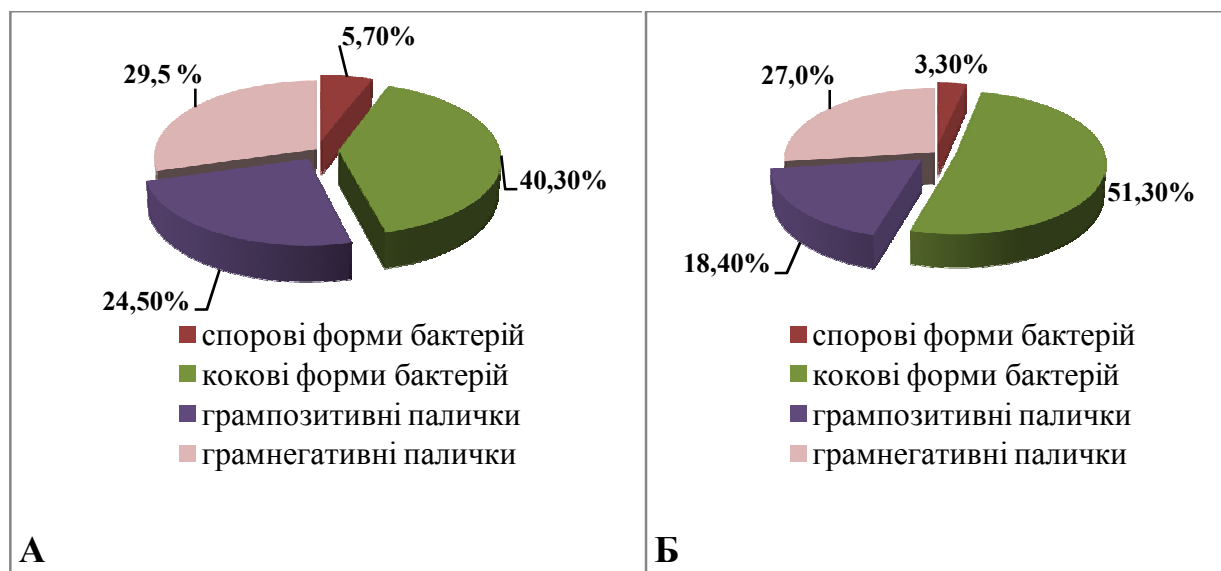


Рис. 2. Склад мікрофлори доїльного устаткування (А) та молока сирого (Б) в господарстві № 3 (незадовільний санітарний стан доїльного устаткування)

На недостатньо чистому доїльному устаткуванні (господарство № 3), з кількістю мезофільних мікроорганізмів у змивах  $77,2 \pm 15,1$  тис. КУО/см<sup>3</sup>, відмічали зміну складу мікрофлори на обладнанні і в молоці незбираному свіжонадоєному. Її склад, в основному, був представлений коковими формами мікроорганізмів та грампозитивними паличками, які становили 64,8–69,7 % всієї мікрофлори. Зростання грампозитивної мікрофлори пов'язуємо із наявністю молочних залишків на доїльному устаткуванні, яке є добрим живильним середовищем для розмноження цих мікроорганізмів.

Вивчення родового складу мезофільної аеробної і факультативно анаеробної мікрофлори (МАФАНМ) доїльного устаткування і молока незбираного показало, що грамнегативні палички представлені бактеріями роду: *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Enterobacter*, *Escherichia* та *Citrobacter*. Кокові форми мікроорганізмів

представлені: *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus* та *Micrococcus*. Спорові форми мікроорганізмів: *Bacillus* і *Clostridium*.

Отже, результати цих досліджень вказують на те, що склад мікрофлори доїльного устаткування залежить від ефективності проведеної санітарної обробки і виду мийно-дезінфікуючих засобів, які використовуються в господарствах. Тому, з метою з'ясування, властивостей, які допомагають мікроорганізмам виживати на доїльному устаткуванні під час проведення санітарної обробки, вивчали здатність формувати біоплівки бактеріями, які були виділені з доїльного устаткування в цих господарствах.

Результати досліджень вивчення здатності мікроорганізмів, виділених з доїльного устаткування в різних господарствах, формувати біоплівки наведено в таблиці 2. З даних таблиці 2 видно, що основні роди мікроорганізмів,

виділені або ізольовані з обладнання в господарствах із добрими і задовільними санітарними умовами одержання молока, формують протягом 24 годин, в основному, мікробні біоплівки середньої та високої щільності. Серед досліджених грампозитивних бактерій золотистий стафілокок більше як у 70 % випадків формували біоплівку високої щільності, коагулазонегативні стафілококи, мікрококи, ентерококи і грампозитивні палички від 51,6 до 65,4 % утворювали біоплівки середньої щільності, а від 18,2 до 42,6 % — високої щільності. Серед грамнегативних мікроорганізмів біоплівки високої щільності найбільше формували культури синьогнійної палички — 69,2±4,3 %, бактерії родів *Acinetobacter*,

*Alcaligenes*, *Enterobacter* та *Escherichia* біля 70 % випадках формували біоплівки середньої щільності, а від 14,2 до 27,3 % — високої щільності.

При дослідженні щільності сформованих біоплівок у мікроорганізмів, які виділені у господарствах із незадовільними умовами одержання молока встановлено, що бактерії формують, в основному, біоплівки низької та середньої щільності. І тільки золотистий стафілокок та синьогнійна паличка більше як у 50 % формували біоплівки високої щільності, тоді як роди бактерій *Enterococcus*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes* та *Enterobacter* не формували біоплівки високої щільності.

Таблиця 2

**Здатність формувати біоплівки мікроорганізмами, які виділені з деталей доїльного устаткування в різних господарствах (M±m, n=256)**

Досліджені бактерії	Кількість мікроорганізмів, які формували біоплівки зі щільністю, %		
	низька	середня	висока
<i>Господарства з добрими та задовільними санітарними умовами одержання молока</i>			
Стафілококи: <i>S. aureus</i> коагулазонегативні	12,5±2,3	13,8±2,7	73,7±8,2
	5,8±1,1	51,6±6,5	42,6±7,1*
<i>Micrococcus</i>	16,6±2,2	58,3±5,6	25,1±2,7**
<i>Enterococcus</i>	16,4±2,4	65,4±1,3	18,2±2,6**
Грампозитивні палички	14,0±2,1	62,0±6,2	24,0±3,5**
<i>P. aeruginosa</i>	0	30,8±2,7	69,2±4,3
<i>Acinetobacter</i>	11,1±1,8	66,7±5,2	22,2±1,9**
<i>Alcaligenes</i>	14,2±1,7	71,6±7,3	14,2±1,7**
<i>Enterobacter</i>	11,1±1,6	66,7±7,5	22,2±2,3**
<i>Escherichia</i>	20,3±2,5	52,4±4,7*	27,3±3,1
<i>Господарства із незадовільними санітарними умовами одержання молока</i>			
Стафілококи: <i>S. aureus</i> коагулазонегативні	13,0±2,1	21,7±2,7	65,3±6,9
	34,6±3,7	40,1±3,3	25,3±3,1
<i>Micrococcus</i>	27,1±2,9	61,7±5,9	11,2±1,6
<i>Enterococcus</i>	64,3±6,7	36,7±3,5	0
Грампозитивні палички	27,3±3,2	62,0±6,2	10,7±2,1
<i>P. aeruginosa</i>	0	44,1±3,4	55,9±4,9
<i>Acinetobacter</i>	38,6±3,9	61,4±6,5	0
<i>Alcaligenes</i>	33,7±3,1	66,3±7,3	0
<i>Enterobacter</i>	41,2±3,8	58,8±5,2	0
<i>Escherichia</i>	26,6±2,7	56,7±5,4	16,7±2,3

Примітка: \* — P≤0,05; \*\* — P≤0,001 відносно до господарств із незадовільними санітарними умовами одержання молока

При порівнянні щільності біоплівок, утворених бактеріями, які виділені в господарствах із задовільними та незадовільними санітарними умовами одержання молока, відмічали різну здатність

до їх формування в одних і тих же видів мікроорганізмів. Відмінності залежали від ефективності проведеної санітарної обробки і виду мийно-дезінфікуючих засобів, що використовували в цих господарствах.

Найменш щільні біоплівки формували бактерії, виділені в господарстві, де санітарний стан доїльного устаткування був незадовільним і загальне бактеріальне обсіменіння 1 см<sup>3</sup> змиву устаткування становило від 50 тис. до 500 тис. КУО. У господарствах із добрим і задовільним санітарним станом доїльного устаткування виділяли в 1,6–2,4 рази ( $P \leq 0,05$ ) більше мікроорганізмів, які формували біоплівки високої щільності. При цьому загальне бактеріальне обсіменіння 1 см<sup>3</sup> змиву було від 100 до 5000 КУО/см<sup>3</sup>. Це вказує на те, що

при належній санітарній обробці доїльного устаткування на ньому залишаються тільки стійкі відселекційовані мікроорганізми, які мають здатність продукувати біоплівку високої щільності, яка захищає їх від дії мийно-дезінфікуючих засобів під час проведення санітарної обробки і допомагає їм вижити на доїльному устаткуванні.

Результати електронно-мікроскопічних досліджень бактерій, які виділені з доїльного устаткування та молока сирого і перебувають в сформованій біоплівці, наведено на рисунку 3.

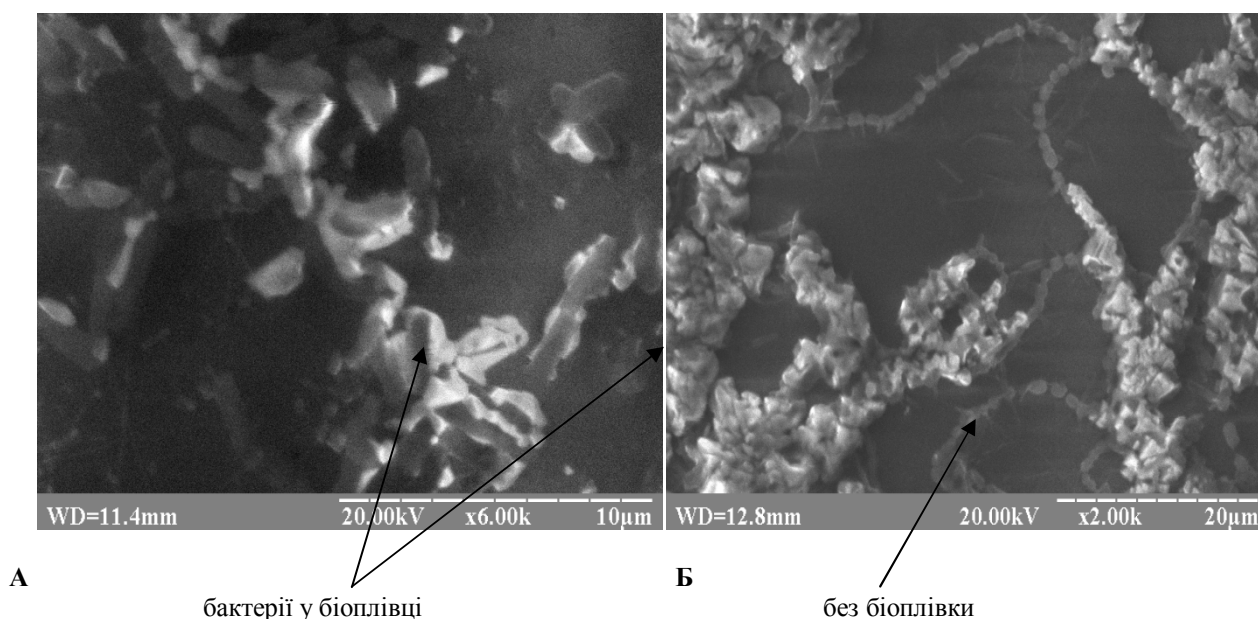


Рис. 3. Електронно-мікроскопічні зображення мікроорганізмів, які перебувають у біоплівці.  
А) *E. coli*, Б) *S. agalactiae*

Як видно з рисунка 3 мікроорганізми, які перебувають у біоплівці, мають вигляд суцільних кластерів. Формуючи клітинні кластери, бактерії у біоплівці мають більші шанси вижити в несприятливих умовах навколишнього середовища.

Узагальнюючи проведені дослідження, можна відзначити, що, навіть, при проведенні ефективної санітарної обробки доїльного устаткування закордонними мийно-дезінфікуючими засобами на доїльному устаткуванні виживають мікроорганізми завдяки здатності формувати біоплівки, які є джерелом обсіменіння молока. Очевидно, для боротьби з бактеріями, які сформовані

у біоплівці, необхідно розробляти нові мийно-дезінфікуючі засоби з речовинами, які б руйнували екзополісахаридний матрикс для кращої дії дезінфікуючих речовин з клітинами мікроорганізмів. Для цієї мети, на нашу думку, могли б підійти ензими.

### Висновки

1. Аналіз проведених досліджень дозволив встановити, що кількісний і якісний склад мікрофлори доїльного устаткування і молока сирого залежить від ефективності проведеної санітарної обробки. За умов доброї та задовільної санітарної обробки доїльного устаткування мікрофлора змивів у 57,2 % була представлена грамнегативними



паличками, в 37,5 % — коковими формами бактерій та грам-позитивними паличками і в 5,7 % споровими форми. У молоці сирому за цих умов виявили у 1,5 раза більше грам-позитивної мікрофлори, очевидно, через надходження її із молочної залози і шкіри дійок під час доїння.

2. Встановлено, що в господарствах з добрим та задовільним санітарним станом з доїльного устаткування виділені бактерії у 80 % і більше формували біоплівки високої та середньої щільності, що у 1,6–2,4 раза більше, порівняно з господарствами з незадовільним санітарним станом.

3. Незалежно від санітарного стану доїльного устаткування бактерії *S. aureus* та *P. aeruginosa* в 55,9–71,7 % формують біоплівки високої щільності. Коагулазонегативні стафілококи, мікрококи, ентерококи, грам-негативні палички, БГКП, роди *Alcaligenes* та *Acinetobacter*, в основному, формують біоплівки середньої щільності.

4. За доброї і задовільної санітарної обробки доїльного устаткування на ньому залишаються тільки відселекційовані мийно-дезінфікуючими засобами бактерії, які мають здатність формувати біоплівку високої і середньої щільності, яка захищає їх під час проведення санобробки. Мікроорганізми у біоплівках є джерелом обміненія молока і зниження його гатунку.

**Перспективи подальших досліджень.** Отримані дані будуть використані при розробці способів руйнування мікробних біоплівок.

1. Haeghebaert S., Le Querrec F., Vaillant V. Food poisoning incidents in France in 1998. *Bull Epidemiol Hebdomad*, 2001, p. 65–70.

2. Lequette Y., Boels G., Clarisse M., Faille C. Using enzymes to remove biofilms of bacterial isolates sampled in the food-industry. *Biofouling*, 2010, vol. 26, № 4, p. 421–431.

3. Perez-Rodriguez F., Valero A., Carrasco E. Understanding and modelling bacterial transfer to foods: a review. *Trends Food Sci. Technol.*, 2008, p. 131–144.

4. Costerton J. W., Veeh R., Shirtliff M. The application of biofilm science to the study and control of chronic bacterial infections. *J. Clin. Invest*, 2003, vol. 112 (10), p. 1466–1477.

5. Kolter R., Greenberg E. P. Microbial sciences: the superficial life of microbes. *Nature*, 2006, vol. 441, p. 300–302.

6. Yakubchak O. M., Khomenko V. I., Bondar T. O. та in. *Rekomendacii shhodo sanitarno-mikrobiologichnogo doslidzhennya zmyviv z poverkhon test-obyektiv ta obyektiv veterinarnogo naglyadu i kontrolyu* [Recommendations for the sanitary and microbiological studies swabs from surfaces of test objects and veterinary supervision and control]. Kiev, 2005. 18 p. (In Ukrainian).

7. *GOST 9225-84. Moloko i molochnye produkty. Metody mikrobiologicheskogo analiza*. [State Standart 9225-87. Milk and milk products. Methods for microbiological analysis]. Moscow, Standartinform Publ., 1984. 25 p. (In Russian).

8. *DSTU IDF 122C:2003. Moloko i molochni produkty. Hotuvannia prob i rozveden dlia mikrobiologichnoho doslidzhennia* [State Standart 122C:2003. Milk and milk products. Preparation of samples and dilutions for microbiological examination [Access from 2005–01–01]. Kiev, State standard of Ukraine, 2005. 12 p. (In Ukrainian).

9. *DSTU IDF 100B:2003. Moloko i molochni produkty. Vyznachennia kilkosti mikroorhanizmiv. Metod pidrakhunku kolonii za temperatury 30 °C* [State Standart 100B:2003. Milk and milk products. Determination of microorganisms. The method of counting the colonies at a temperature of 30 °C [Access from 2005–01–01]. Kiev, State standard of Ukraine, 2005. 11 p. (In Ukrainian).

10. *DSTU IDF 101 A:2003. Moloko i molochni produkty. Vyznachennia kilkosti psykhrotrofnykh mikroorhanizmiv. Metod pidrakhunku kolonii za temperatury 6,5 °C* [State Standart 101 A:2003. Milk and milk products. Determination of psychrotrofnyh microorganisms. The method of counting the colonies at a temperature of 6.5 °C [Access from 2005–01–01]. ]. Kiev, State standard of Ukraine, 2005. 6 p. (In Ukrainian).

11. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Ninth edition. Moscow, 1997. 799 [1] p.

12. Stepanovic S., Vurovic D., Duric I., Savic B. A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *J. Microbiol. Methods*, 2000, vol. 40, p. 175–179.