МІКРОБІОЛОГІЧНИЙ МОНІТОРИНГ МЕДУ

*І. М. Кушнір, д-р вет. наук,
І. С. Семен, канд. с-г. наук,
Г. В. Колодій, канд. вет. наук,
С. Д. Мурська, канд. вет. наук,
В. І. Кушнір, канд. вет. наук,
У. З. Бербека, молодший науковий співробітник*

Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів
та кормових добавок
вул. Донецька, 11, м. Львів, 79019, Україна
ikushnir@scivp.lviv.ua

*У статті представлено результати вивчення мікробіологічних показників меду, як одного з важливих чинників, що впливає на якість та безпеку харчового продукту. Визначено кількісний та якісний склад мікрофлори меду різних регіонів України та вивчено чутливість виділених культур до антибіотиків. Основними мікробіологічними ризиками визнано підвищений рівень кількості мезофільних анаеробних факультативно анаеробних мікроорганізмів, забруднення меду патогенними та умовно-патогенними мікроорганізмами (БГКП, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Clostridium perfringens*, *B. cereus*) та мікроскопічними грибами. Встановлено, що кількість МАФАНМ становила від 70 до $6,9 \cdot 10^3$ КУО/г. Плісєневі гриби виявляли у 35,2 % випадків, при цьому їх кількість становила від 50 до 320 КУО/г. Дріжджоподібні грибки виявлено у 29,4 % зразків і їх кількість становила від 80 до $2,8 \cdot 10^3$ КУО/г. При ідентифікації виділених мікроорганізмів у досліджуваних зразках меду виявили мікроорганізми роду *Staphylococcus*, зокрема, *S. aureus*, *S. vitulinis*, *S. simulans*, *S. hominis*, *S. cohnii*, а також *Sphingomonas paucimobilis* та *Streptomyces* spp.*

*При дослідженні змивів із вуликів встановили, що кМАФАНМ становила від $2,8 \cdot 10^4$ до $1,4 \cdot 10^6$, плісєневих грибків – від $6,9 \cdot 10^3$ до $6,9 \cdot 10^4$ КУО/см³, дріжджоподібних грибків – від $1,4 \cdot 10^2$ до $2,6 \cdot 10^2$ КУО/см³. У результаті проведених досліджень із вивчення чутливості виділених стафілококів *S. vitulinis*, *S. simulans*, *S. hominis*, *S. cohnii* та *S. aureus* встановили, що вони були не чутливі або помірночутливі до стрептоміцину, амоксициліну та цефалексину, крім штаму *S. vitulinis*.*

Аналіз результатів моніторингу меду за мікробіологічними показниками, виявив негативні тенденції загального мікробного забруднення та забруднення окремими видами мікроорганізмів, зокрема виявлено БГКП, стафілококи та мікроскопічні грибки.

Для запобігання виникнення мікробіологічних ризиків необхідно встановити мікробіологічні критерії безпеки меду, розробити методологічні підходи щодо проведення бактеріологічних досліджень меду та продуктів бджільництва.

Ключові слова: МІКРОБНЕ ЗАБРУДНЕННЯ, МІКРОБІОЛОГІЧНІ РИЗИКИ, МЕД, ХАРЧОВІ ПРОДУКТИ.

MICROBIOLOGICAL MONITORING OF HONEY

I. M. Kushnir, I. S. Semen, G. V. Kolodiy, S. D. Murska, V. I. Kushnir, U. Z. Berbeka

State Scientific-Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives
11, Donetska str., Lviv, 79019, Ukraine

ikushnir@scivp.lviv.ua

The article presents the results of determination the microbiological parameters of honey as one of the important factors which influence on the quality and safety of food.. Therefore. It was determined the quantitative and qualitative composition of honey microflora from different regions of Ukraine and also was studied the sensitivity of isolated cultures to antibiotics. The main microbiological risks are the increased level of mesophilic anaerobic facultative anaerobic microorganisms, contamination of honey with pathogenic and opportunistic microorganisms (Coliforms, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Clostridium perfringens*, *B. cereus*) and microscopic fungi. It was found that total bacteria count was from 70 to $6,9 \cdot 10^3$ CFU/g. Molds were detected in 35,2 % cases, and their amount was from 50 to 320 CFU/g. Yeast-like fungi were detected in 29,4 % of samples and their amount was from 80 to $2,8 \cdot 10^3$ CFU/g. When identifying, the isolated microorganisms in the studied samples of honey was found microorganisms of the genus *Staphylococcus*, in particular, *S. aureus*, *S. vitulinis*, *S. simulans*, *S. hominis*, *S. cohnii* and also *Sphingomonas paucimobilis* and *Streptomyces* spp.

In the study of washes from hives found that total bacteria count was from $2,8 \cdot 10^4$ to $1,4 \cdot 10^6$, mold fungi from $6,9 \cdot 10^3$ to $6,9 \cdot 10^4$ CFU/cm³, yeast-like fungi from $1,4 \cdot 10^2$ to $2,6 \cdot 10^2$ CFU/cm³. In results of conducted studies was found that staphylococci of *S. simulans*, *S. hominis*, *S. cohnii* and *S. aureus* were not sensitive or poorly sensitive to streptomycin, amoxicillin and cephalixin, except for the strain *S. vitulinis*.

The analysis of the results of monitoring of honey by microbiological indicators revealed negative trends in general microbial contamination and contamination by certain types of microorganisms, in particular Coliforms, staphylococci and microscopic fungi.

To prevent the emergence of microbiological risks, it is necessary to establish microbiological criteria for safety of honey, to develop methodological approaches to the bacteriological studies of honey and bees products.

Keywords: MICROBIAL POLLUTION, MICROBIOLOGICAL RISKS, HONEY, FOOD.

В умовах глобалізації агропродовольчих ринків та жорсткої конкуренції надзвичайно актуальним є питання безпечності та якості продуктів харчування. Підвищення якості харчових продуктів — це об'єктивний процес, що зумовлений високим рівнем контролю, а також постійно зростаючою вимогливістю споживачів. Для вітчизняних суб'єктів господарювання питання впровадження світових систем менеджменту якості продуктів харчування є одним з першочергових, адже нерозривно пов'язане з їх конкурентоспроможністю на ринку. (Zakon Ukrainy "Pro yakist ta bezpeku kharchovykh produktiv i prodovolchoyi syrovyny", 1998; Slyva et al., 2018).

Мед, як цінний харчовий продукт та ефективний лікувальний засіб, широко застосовується у харчовій, фармацевтичній та парфумерній промисловості. Проте, більшість країн не може забезпечити внутрішнє споживання власним виробництвом меду, внаслідок обмеженого потенціалу медозбору. Тому попит на мед та інші продукти бджільництва у розвинених країнах перевищує пропозицію.

Оскільки, харчові продукти мають бути безпечними та корисними для споживачів, що визначено у відповідних національних та міжнародних законодавчих актах різних країн світу, законодавство нашої держави максимально гармонізоване до міжнародних торгових угод і Європейського співтовариства та стосується гігієни і безпечності харчових продуктів та поширюється на виробництво, переробку й обіг продукції на споживчому ринку. У цьому

аспекті надзвичайно важливе значення відводиться якості та безпечності продуктів бджільництва та меду (Pyslar, 2012; Yefimova & Kasyanchuk, 2014; DSTU 4497-2005).

Серед інших продуктів тваринного походження, мед має певні особливості щодо росту та розмноження мікроорганізмів у ньому. Він є продуктом з незначним вмістом різних видів бактерій. Бактерицидність меду визначається такими його показниками як кислотність, осмотичний тиск, ферментний склад, вміст вологи, наявність глюкозо-оксидазної активності, низький рівень протеїну також високий рівень редуруючих цукрів (Kasyanchuk, 2016).

Проте, з меду мікроорганізми все ж таки виділяються, і вони можуть впливати на показники якості та безпечності. Веgetативні види мікроорганізмів здатні зберігатися в меді в умовах холодильника декілька років (Kasyanchuk, 2009; Kahanets, 2010; Kasyanchuk et al., 2016).

Необхідно відзначити, що санітарну якість меду характеризують дріжджі роду *Saccharomyces*, наявність мікроскопічних грибків, спори бактерій роду *Bacillus spp.*, а також БГКП, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Clostridium perfringens*. Такі мікроорганізми, за певних умов, можуть викликати захворювання людей (Kahanets & Kasyanchuk, 2010; Skrebovska & Kuzmyskyu S., 2010).

При проведенні ветеринарно-санітарної експертизи продовольчих товарів та сировини, для кожної групи товарів встановлено мікробіологічні показники досліджень, за якими вони повинні досліджуватися, однак критерії оцінювання меду відсутні. Тому для наукового обґрунтування встановлення мікробіологічних критеріїв меду виникає необхідність проведення мікробіологічного моніторингу. Відсутність встановлених мікробіологічних критеріїв оцінки якості та безпечності меду, продуктів бджільництва і, відповідно, проведення мікробіологічних досліджень меду, може сприяти виникненню ризиків забруднення меду та продуктів бджільництва, зниженню конкурентоспроможності на внутрішньому та міжнародному ринку.

З огляду на це, метою роботи було провести мікробіологічні дослідження зразків меду різних регіонів України та оцінити ризики безпеки меду.

Матеріали і методи. З метою оцінки ризиків безпеки меду провели мікробіологічні дослідження 17 зразків з різних регіонів України за такими показниками: кількість МАФАНМ, БГКП, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.*, *Clostridium perfringens*, *B. cereus*, дріжджі та плісняві грибки. Мікробіологічні дослідження проводили загальновизнаними методами. Ідентифікацію виділених мікроорганізмів проводили на мікробіологічному аналізаторі VITEK 2. Чутливість виділених культур до антибіотиків визначали диско-дифузійним методом.

Результати й обговорення. Мікробіологічний моніторинг меду дозволяє встановити основні мікробіологічні ризики та оцінити поширеність патогенних мікроорганізмів й теоретично обґрунтувати необхідність удосконалення ветеринарно-санітарних заходів у процесі виробництва меду та продуктів бджільництва. Забруднення меду у більшості випадків пов'язано з порушеннями санітарних вимог після видобутку, зокрема, через повітря приміщення, де проходить його обробка та пакування, тару, обладнання та перехресна контамінація у разі змішування різних партій тощо. Проте, чинники зовнішнього середовища пилок, нектар, повітря, стінки вулика, збудники інфекційних захворювань бджіл також є джерелами контамінації меду і безпосередньо впливають на мікробіологічні показники.

При дослідженні 17 проб меду, отриманого з різних регіонів України, визначили кількісний та якісний склад мікрофлори меду (табл. 1).

Таблиця 1

Мікробне забруднення зразків меду

№ зразків	Виявлені мікроорганізми, КУО/г			
	кМАФАнМ	БГКП, <i>E. coli</i>	Плісеневі грибки	Дріжджоподібні грибки
1	$3,2 \cdot 10^3$	<10	$1,1 \cdot 10^2$	<10
2	$3,2 \cdot 10^3$	<10	<10	<10
3	$3,1 \cdot 10^2$	<10	<10	<10
4	$3,3 \cdot 10^3$	<10	<10	<10
5	$1,2 \cdot 10^3$	<10	$3 \cdot 10^2$	<10
6	$1,9 \cdot 10^2$	<10	$3,2 \cdot 10^2$	<10
7	$6,7 \cdot 10^2$	<10	$3,1 \cdot 10^2$	<10
8	$5,2 \cdot 10^2$	40	<10	<10
9	$2 \cdot 10^2$	<10	<10	$1,2 \cdot 10^2$
10	$2 \cdot 10^3$	<10	<10	$2,5 \cdot 10^2$
11	$2,3 \cdot 10^3$	<10	50	<10
12	$8 \cdot 10^2$	<10	90	<10
13	$6,8 \cdot 10^3$	<10	<10	80
14	$1 \cdot 10^3$	<10	<10	<10
15	<10	<10	<10	<10
16	70	<10	<10	<10
17	$6,9 \cdot 10^3$	<10	<10	$2,8 \cdot 10^3$

Аналізуючи отримані результати досліджень (табл. 1), встановлено, що лише в одному зразку меду кількість МАФАнМ була <10 КУО, у 16 зразках кількість МАФАнМ становила від 70 до $6,9 \cdot 10^3$ КУО/г. В одному зразку виявлено БГКП та кишкову паличку, Плісеневі гриби виявляли у 35,2% випадків, при цьому їх кількість становила від 80 до 320 КУО/г. Дріжджі виявлено у 23,5% зразків і їх кількість становила від 25 до $2,8 \cdot 10^3$ КУО/г.

Таблиця 2

Виділені мікроорганізми з досліджуваних зразків меду

№ зразків	Виділені та ідентифіковані мікроорганізми
1	<i>S. vitulinus</i> , <i>Aspergillus spp.</i>
2	<i>S. vitulinus</i> , <i>S. aureus</i>
3	–
4	<i>S. aureus</i> , <i>S. simulans</i> , <i>Sphingomonas paucimobilis</i>
5	<i>Aspergillus spp.</i> , <i>Mucor spp.</i>
6	<i>S. hominis</i> , <i>Mucor spp.</i>
7	<i>Mucor spp.</i>
8	<i>E. coli</i> , БГКП
9	<i>S. cohnii</i> , дріжджоподібні грибки
10	<i>S. vitulinus</i> , дріжджоподібні грибки
11	<i>Mucor spp.</i>
12	<i>Mucor spp.</i>
13	Дріжджоподібні грибки
14	–
15	–
16	–
17	Дріжджоподібні грибки

При ідентифікації виділених мікроорганізмів у досліджуваних зразках меду виявили мікроорганізмами роду *Staphylococcus spp.*, зокрема, *S. aureus*, *S. vitulinus*, *S. simulans*, *S. hominis*, *S. cohnii*, а також *Sphingomonas paucimobilis*, *Streptomyces spp.* При цьому мікроорганізмів *Salmonella spp.*, *Clostridium perfringens*, *B. cereus* у всіх досліджуваних зразках не виявляли.

Для повної інформації про шляхи забруднення меду провели мікробіологічні дослідження змивів з 10 вуликів на наявність БГКП, коліформи, *Salmonella spp.* та плісеневі

грибки, дріжджі та кМАФАНМ. Встановили, що кМАФАНМ становила від $2,8 \cdot 10^4$ до $1,4 \cdot 10^6$, плісневих грибків від $6,9 \cdot 10^3$ до $6,9 \cdot 10^4$ КУО/см³, дріжджоподібних грибків від $1,4 \cdot 10^2$ до $2,6 \cdot 10^2$ КУО/см³. У змивах БГКП та *Salmonella spp.* не виявили.

Крім того, визначили кількісний і якісний склад мікроорганізмів у 5 зразках інвертованого сиропу за такими показниками кМАФАНМ, БГКП, *Salmonella spp.* та плісневі і дріжджоподібні грибки. Встановили, що кМАФАНМ становить від 1,5 до $2,5 \cdot 10^2$ КУО/г, плісневі грибки в межах 15-70 КУО/г. У зразках інвертованого сиропу не виявили *Salmonella spp.*, БГКП та дріжджів.

У зв'язку із застосуванням великої кількості ветеринарних лікарських засобів для попередження та ліквідації інфекційних захворювань бджолиних сімей, є великий ризик виникнення антибіотикорезистентних штамів мікроорганізмів, які можуть потрапити у мед. Тому було проведено визначення чутливості виділених культур мікроорганізмів із зразків меду до антимікробних препаратів. Аналіз чутливості було проведено на прикладі виділених мікроорганізмів роду *Staphylococcus spp.* Результати досліджень подано у таблиці 3.

Таблиця 3

Чутливість культур мікроорганізмів до антимікробних препаратів, (М ± m, n=3)

Диски з антибіотиками	<i>S. vitulinis</i>	<i>S. simulans</i>	<i>S. hominis</i>	<i>S. cohnii</i>	<i>S. aureus</i>
Хлорамфенікол	19,6±0,33	10,6±0,33	21,6±0,66	21,6±0,33	22,6±0,33
Еритроміцин	30±0,57	11,6±0,66	28,6±0,33	24,6±0,33	22±0,57
Стрептоміцин	18,6±0,66	14,6±0,33	16,6±0,33	15±0,57	16,6±0,33
Амікацин	21,6±0,6	20,6±0,33	24,6±0,66	24,6±0,66	20,6±0,33
Канаміцин	26±0,57	20±0,57	25±0,57	25,6±0,66	20,6±0,33
Доксициклін	22,6±0,33	22,6±0,33	22±0,57	22±0,57	22,6±0,66
Ампіцилін	30,6±0,66	20,6±0,66	20,6±0,33	17,6±0,33	24,6±0,33
Норфлоксацин	30,6±0,33	28±0,57	28,6±0,66	28,6±0,33	26,6±0,33
Нітрофурантоїн	20,6±0,33	24,6±0,66	24,6±0,66	25,6±0,33	22,6±0,66
Тилозин	22,6±0,66	24,6±0,66	22,6±0,33	22,6±0,33	22,6±0,33
Амоксицилін	28±0,57	10,6±0,33	24±0,57	22,6±0,33	28±0,57
Гентаміцин	24,6±0,33	30±0,57	24,6±0,33	28±0,57	20±0,33
Оксацилін	34,6±0,66	20,6±0,33	20±0,57	16±0,57	24±0,57
Неоміцин	20,3±0,66	20,6±0,66	21,6±0,33	23,6±0,66	16,6±0,66
Рифампіцин	26±0,57	30±0,57	34±0,57	26,6±0,66	28,6±0,66
Цефалексин	25,6±0,33	11,6±0,66	15,6±0,33	14,6±0,33	28,6±0,33
Цефазолін	28±0,57	22,6±0,33	24±0,57	24,6±0,66	24,6±0,66
Тетрациклін	27,6±0,33	28±0,57	26,6±0,66	30±0,57	30,6±0,33

У результаті проведених досліджень встановили, що виділений мікроорганізм *S. simulans* не чутливий до хлорамфеніколу, еритроміцину, стрептоміцину, амоксициліну та цефалексину. Штам мікроорганізму *S. hominis* помірночутливий до стрептоміцину та цефалексину, а *S. cohnii* помірночутливий до стрептоміцину, ампіциліну, оксациліну, цефалексину. Крім цього встановили, що *S. aureus* помірночутливий до стрептоміцину та неоміцину.

ВИСНОВКИ

1. Аналіз результатів моніторингу меду за мікробіологічними показниками, виявив негативні тенденції загального мікробного забруднення та забруднення окремими видами мікроорганізмів, зокрема виявлено БГКП, стафілококи та мікроскопічні грибки.

2. Для запобігання виникнення мікробіологічних ризиків необхідно встановити мікробіологічні критерії безпеки меду, розробити методологічні підходи щодо проведення бактеріологічних досліджень меду та продуктів бджільництва.

Перспективи досліджень. Поглиблений мікробіологічний моніторинг меду та продуктів бджільництва.

References

- DSTU 4497-2005. Med naturalnyy. Natsionalnyy standart Ukrayiny. Med naturalnyy [in Ukraininan].
- Kasyanchuk, V.V., 2009. Ekspertyzu medu - na mikrobiolohichnyy riven. Veterynarna medytsyna Ukrayiny. 6 (36-37). [in Ukraininan].
- Kahanets, O.O., Kasyanchuk, V.V. (2010). Vdoskonalennya veterynarno-sanitarnoho kontrolyu bdzholynoho medu shlyakhom zaprovadzhennya systemnoho doslidzhennya mikrobiolohichnykh ryzykiv.11 mizhnar. Nauk. prak. Konf «Ahrarnyy forum-2010. Sumy. Visnyk SNAU. Vyp.3 (26).65-70. [in Ukraininan].
- Kahanets, O.O. (2010). Vzayemozvyazok rivnya sanitariyi pry vyrobnytstvi medu bdzholynoho iz yoho mikrobiolohichnym zabrudnennnyam. Nauk Visnyk Lvivskoho nats..un-tu vet. Med. im. S.Z. Hzhyskoho.tom 12.4 (46). 65-68. [in Ukraininan].
- Kasyanchuk, V.V. Berhilevych, O.M., Nehay, I.V. (2016). Vplyv vmistu volohy ta kyslotnosti na mikrobiolohichni pokaznyky bdzholynoho medu. Problemy zooinzheneriyi ta veterynarnoyi medytsyny. Vyp. 32(2).195-198. [in Ukraininan].
- Pyslar, H.V. (2012). Yakist produktsiyi bdzhilnytstva: svitovyy dosvid ta vitchyznyana praktyka. Visnyk Zhytomyrskoho natsionalnoho ahroekolohichnoho universytetu. 2(2). 296-307. [in Ukraininan].
- Skrebovska, S.V., Kuzmynskyy, S. (2010). Identyfikatsiya mikroskopichnykh hrybiv, znaydenykh u kharchovykh produktakh. Problemy kharchuvannya. 1/2. 56-58. [in Ukraininan].
- Slyva, Y.U., Starikova, L., Matselyukh, I., Krasnov, I., Koval, M., Barbelyuk, V. (2018). Zabezpechennya bezpechnosti i yakosti ahrarnoyi ta kharchovoyi produtsiyi vidpovidno do vymoh Uhody pro asotsiatsiyu.«Ahromehapolis». 36. [in Ukraininan].
- Yefimova, O.M., Kasyanchuk, V.V. (2014). Analiz mikrobiolohichnoyi bezpeky natsionalnoyi produktsiyi tvarynnoho pokhodzhennya, pryznachenoyi dlya eksportu. Veterynarna medytsyna Ukrayiny.1(215).30-34. [in Ukraininan].
- Zakon Ukrayiny “Pro yakist ta bezpeku kharchovykh produktiv i prodovolchoyi syrovyny” 1998. [in Ukraininan].