

## БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ЕНТЕРОКОКІВ І ЛАКТОКОКІВ, ІЗОЛЬОВАНИХ З ТРАДИЦІЙНИХ КИСЛОМОЛОЧНИХ ПРОДУКТІВ УКРАЇНИ

*І.Л. Гармашева, Н.К. Коваленко, Л.Т. Олещенко*

*Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України,  
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ, 03143, Україна  
e-mail: garmasheva.il@gmail.com*

**Мета.** Метою роботи було вивчити біологічні властивості штамів ентерококів, що були ізольовані з традиційних кисломолочних продуктів та оцінити їх потенціал як заквасочних культур в порівнянні зі штамами лактококів. **Методи.** Здатність до росту при різних температурах та стійкість до NaCl визначали з використанням традиційних мікробіологічних методів. Рівень кислотоутворення визначали за зміною рН молока через 6 і 8 год культивування при температурі 30°C. **Результати.** Здатність до росту при 10° С виявили 66,3% штамів ентерококів і 73,4% штамів лактококів, до росту при 45° С – 30,8% і 15,0% штамів відповідно. Стійкість до 6,5% NaCl була притаманна лише 10,3% штамів ентерококів і 3,5% — лактококів. Штами ентерококів, стійкі до 6,5% NaCl, найчастіше були ізольовані зі зразків бринзи, найрідше – зі сквашеного молока. Стійкі до 6,5% NaCl лактококи були виділені з сиру кисломолочного і бринзи. Швидкі кислотоутворювачі були виявлені як серед лактококів (44% штамів), так і серед ентерококів (15% штамів). Співставлення визначених раніше профілів антибіотикорезистентності штамів ентерококів з даними щодо їх швидкості кислотоутворення показало, що серед штамів ентерококів, перспективних як заквасочні культури, лише три штами (8,4%) виду *E. durans* були стійкими до 1–2 препаратів – інгібіторів транскрипції і синтезу нуклеїнових кислот, 52,8% штамів були резистентними до 2–8 препаратів – інгібіторів синтезу білка і нуклеїнових кислот, а 38,8% – були стійкими до 4–9 антибіотиків, різних за механізмом дії, включаючи ванкоміцин. **Висновки.** За інтенсивністю кислотоутворення культури ентерококів аналогічні лактококам, що свідчить про можливість їх використання у приготуванні кисломолочних продуктів. Стійкість досліджених штамів ентерококів до антибіотиків не відповідає вимогам до промислових штамів і вказує на необхідність обов'язкового дослідження наявності факторів вірулентності, зокрема, антибіотикорезистентності, у потенційно заквасочних культур.

**Ключові слова:** ентерококи, лактококи, стійкість до NaCl, кислотоутворення, кисломолочні продукти.

Традиційні кисломолочні продукти, виготовлені з непастеризованого молока, є унікальними за складом своєї мікробіоти і привертають увагу дослідників як джерело промислових штамів молочнокислих бактерій (МКБ) для відтворення автентичних органолептичних характеристик продуктів [1–5]. Лактококи є типовими представниками мікробіоти кисломолочних продуктів, мають кислотоутворювальну, ароматоутворювальну, аутолітичну, протеолітичну активності та здавна використовуються у складі заквасок при промисловому виробництві кисломолочних продуктів [6]. Представники роду *Enterococcus* також часто представлені в самоквасних кисломолочних продуктах [4, 7]. Згідно

даних літератури ентерококи можуть приймати активну участь у процесах ферментації молочної сировини [8]. Ентерококи мають широкий спектр ферментативної активності, продукують бактеріюцини і використовуються в країнах Середземномор'я у складі заквасок при виробництві деяких видів сирів, надаючи їм типовий смак і аромат, а також як захисні культури для попередження розвитку сторонньої мікробіоти [1, 4, 5, 7]. В той же час ентерококи відносять до умовно-патогенних бактерій у зв'язку з наявністю у них факторів патогенності і вірулентності. Бактерії роду *Enterococcus* не мають статусу GRAS і на сьогоднішній день все ще є багатомисливцями щодо їх ролі у процесах ферментації

харчових продуктів та використання як заквасочних культур чи пробіотиків з точки зору їх безпечності для здоров'я споживачів [9, 10]. З одного боку, ентерококи є представниками природної мікробіоти молока і мають ряд корисних властивостей, а з іншого – їх наявність в молочних продуктах може свідчити про незадовільні санітарні умови виробництва внаслідок фекального забруднення [10–12].

В нашому попередньому дослідженні було показано, що в зразках кисломолочних продуктів домашнього приготування, відібраних в різних регіонах України, домінували представники кокових форм МБК – штами родів *Enterococcus* (60% ізолятів) і *Lactococcus* (37% ізолятів) [13]. Дослідження антибіотикорезистентності ентерококів виявило, що кисломолочні продукти, виготовлені в домашніх умовах, можуть слугувати резервуаром потенційно небезпечних для здоров'я людини мультирезистентних штамів ентерококів [14]. За даними літератури відомо, що стійкість до антибіотиків може залежати від джерела походження штамів ентерококів. Було показано, що мультирезистентність є характерною для ентерококів кишкового походження і клінічних ізолятів [11]. Враховуючи широке розповсюдження ентерококів в кисломолочних продуктах домашнього приготування, актуальним є питання, чи приймають вони активну участь в процесах ферментації, чи потрапляють в кінцевий продукт внаслідок незадовільних санітарних умов. При пошуку перспективних штамів МБК для практичного використання у

молочній промисловості першим етапом є відбір за властивостями, які дозволяють їм розвиватись в молочному середовищі, витримувати умови процесу виробництва і зберігання кисломолочних продуктів [8]. Крім властивостей, що притаманні представникам природної мікробіоти молока (здатність до зброджування молока, стійкість до високих концентрацій NaCl та широкого діапазону температур), виробничі культури ентерококів обов'язково мають відповідати критеріям безпечності [8].

**Метою** роботи було вивчити й порівняти біологічні властивості штамів ентерококів і лактококів, що були ізольовані з традиційних кисломолочних продуктів, оцінити потенціал штамів ентерококів як заквасочних культур з урахуванням даних щодо їх антибіотикорезистентності.

**Матеріали і методи.** Об'єктами дослідження були штами молочнокислих бактерій, ізольовані з традиційних кисломолочних продуктів [13] і зберігаються в колекції культур мікроорганізмів відділу фізіології промислових мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України (табл. 1). Штами МБК зберігали при  $-50^{\circ}\text{C}$  в середовищі з 30% гліцерину. Перед дослідженнями культури активізували шляхом трьох пересівів на рідкому поживному середовищі. Для культивування штамів ентерококів використовували середовище MRS, штами лактококів вирощували на середовищі M17.

Таблиця 1

Штами молочнокислих бактерій, що були використані в роботі

Вид	Джерело виділення	Кількість штамів
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	Сквашене молоко	223
	Бринза	9
	Сметана	13
	Сир кисломолочний	12
<i>Enterococcus faecalis</i>	Сквашене молоко	338
	Бринза	1
	Сметана	12
	Сир кисломолочний	9
<i>Enterococcus durans</i>	Сквашене молоко	51
	Бринза	3
	Сметана	8
	Сир кисломолочний	22
<i>Enterococcus faecium</i>	Сквашене молоко	4
	Бринза	4
	Сметана	7
	Сир кисломолочний	13
Всього		729

Здатність до росту при температурах 10°C і 45°C визначали за культивування у відповідному середовищі протягом 14 і 7 днів відповідно. Стійкість до NaCl визначали за наявністю росту при культивуванні у середовищах з вмістом NaCl 2,0 %, 4,0 % і 6,5 % [13].

Для оцінки рівня кислотоутворення стерильне 10% відновлене молоко (рН 6,5±0,1) інокулювали добовою культурою бактерій (об'єм інокуляту – 1%) і вимірювали рН через 6 і 8 год культивування за температури 30°C. Штам вважався швидким кислотоутворювачем за зниження рН молока через 6 год нижче значення 5,3 [15] чи через 8 год – нижче значення 5,5 згідно критерію, запропонованого Roushdy зі співавторами [16].

Статистичну обробку даних проводили за загальноприйнятими методами варіаційної статистики з використанням програми Statistika 7.0.

**Результати.** Дослідження фізіологічних ознак штамів МКБ, ізольованих з кисломолочних продуктів, показало, що здатність до росту при 10° С виявили 66,3% штамів ентерококів і 73,4% штамів лактококів, до росту при 45° С – 30,8% і 15,0% штамів відповідно. Більшість досліджених в роботі ентерококів і лактококів були стійкими до 4% NaCl – 76% і 63% відповідно. Стійкість до 6,5% NaCl була притаманна лише 10,3% штамів ентерококів і 3,5% – лактококів. Типову для ентерококів здатність до росту при 45° С частіше виявляли штами виду *E. durans*. Стійкість до 6,5% NaCl частіше спостерігалась серед штамів видів *E. faecium* і *E. durans* (рис. 1).

Здатність штамів ентерококів і лактококів до росту при різних температурах і стійкість до NaCl варіювали залежно від кисломолочного продукту, з якого вони були виділені (рис. 2).

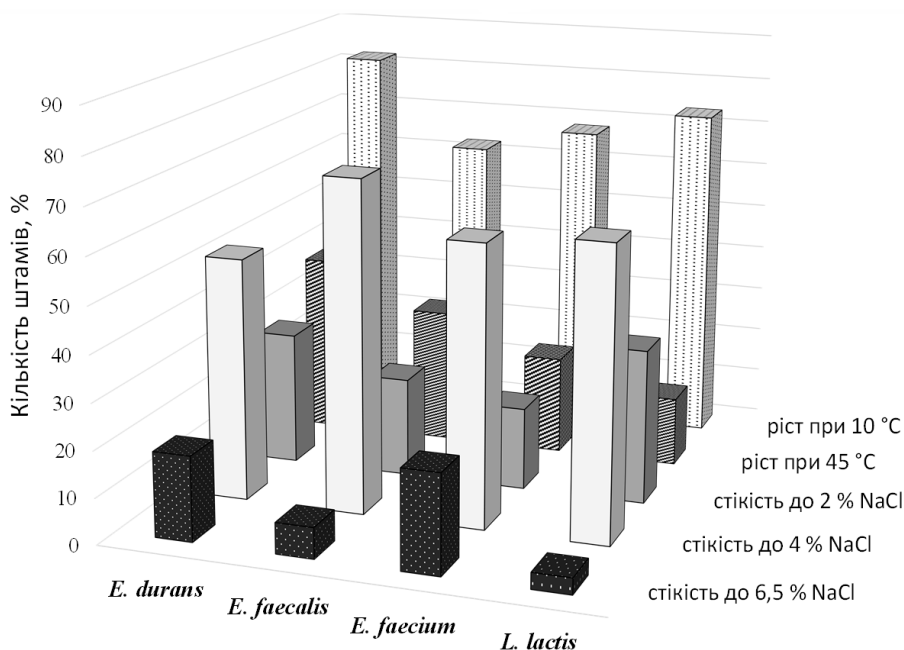
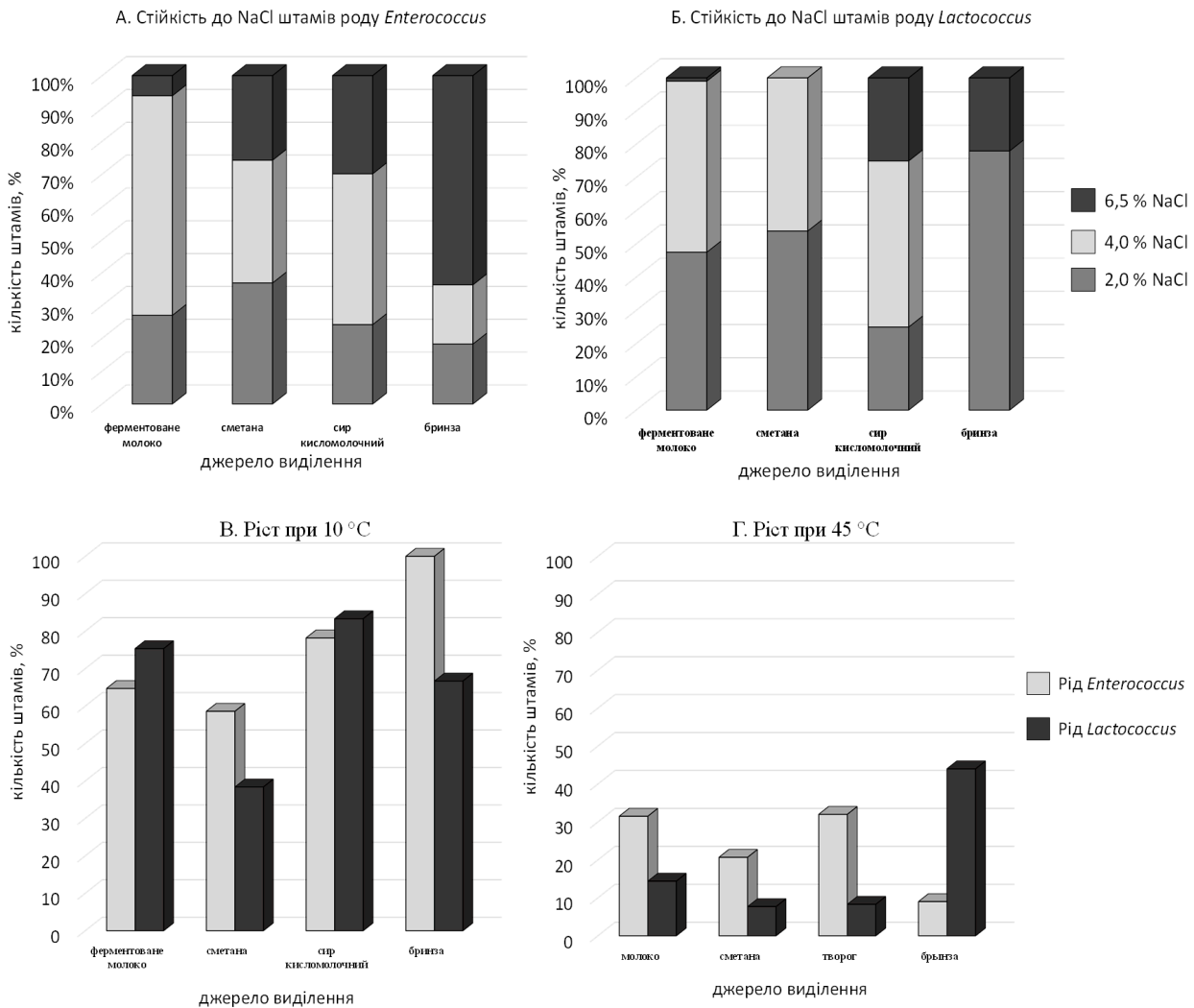


Рис. 1. Ріст за різних температур та стійкість до NaCl штамів ентерококів та лактококів

Штами ентерококів, стійкі до 6,5% NaCl, найчастіше були ізольовані зі зразків бринзи, найрідше – зі сквашеного молока. Стійкі до 6,5% NaCl лактококи були виділені з сиру кисломолочного і бринзи. Здатність до росту при 10°C в меншій мірі була притаманна ізолятам зі сметани. Ентерококи, що росли при 45°C, були ізольовані з усіх досліджених продуктів, але найменша їх кількість спостерігалась серед ізолятів з бринзи. В той же час здатність до росту при 45° С у лактококів була притаманна в основному штамам, ізольованим з бринзи.

Швидкість кислотоутворення штамами МКБ є одним з найважливіших критеріїв відбору заквасочних культур. Серед досліджених штамів МКБ 18 (6,56%) штамів лактококів [17] і один штам *E. faecalis* знижували рН молока через 6 годин до значень, менших, ніж 5,3 і є швидкими кислотоутворювачами згідно критерію Cogan [15]. При оцінці результату через 8 годин культивування згідно критерію Rousby [16] кількість штамів – швидких кислотоутворювачів збільшилась і складала 111 (43 %) штамів роду *Lactococcus* і 71 (15 %) штам – роду *Enterococcus*,



**Рис. 2. Ріст за різних температур та стійкість до NaCl штамів ентерококів та лактококів залежно від джерела виділення**

а саме – 49 (14 %) штамів виду *E. faecalis*, 18 (21 %) штамів *E. durans* і 4 (14 %) штами *E. faecium* (рис. 3).

Таким чином, за кислотоутворювальною здатністю перспективними для використання у складі заквасок виявились штами, що належать як до виду *L. lactis*, так і до різних видів ентерококів. Однак, на відміну від лактококів, ентерококи не мають статусу GRAS. Умовою їх використання у складі заквасок є відсутність факторів патогенності і вірулентності, одним з яких є стійкість до антибіотиків. Стійкість до антибіотиків використаних в даній роботі штамів ентерококів була визначена в нашому попередньому дослідженні і виявлено, що більше 60% ізолятів були стійкими до еритроміцину, норфлоксацину, ципрофлоксацину і рифампіцину, а 56,76% культур виявили стійкість до 5–11 антибактеріальних препаратів [14]. Співставлення профілів антибіотикорезистентності

штамів ентерококів з даними щодо їх швидкості кислотоутворення показало, що швидкі кислотоутворювачі були чутливими до тейкопланіну, хлорамфеніколу, нітрофурантоїну і високих концентрацій гентаміцину. В той же час переважна більшість культур, незалежно від видової належності, були стійкими до ципрофлоксацину і еритроміцину. Резистентними до препаратів, що пригнічують синтез клітинної стінки, а також до тетрацикліну і доксіцикліну були штами виду *E. faecalis*. Стійкість до рифампіцину і лінкоміцину проявляли штами видів *E. faecalis* і *E. durans* (рис. 4). Серед штамів ентерококів, перспективних як заквасочні культури, лише три штами (8,4%) виду *E. durans* були стійкими тільки до 1–2 препаратів – інгібіторів транскрипції і синтезу нуклеїнових кислот. Всі інші штами ентерококів проявляли множинну стійкість до різних за механізмом дії антибіотиків (рис. 5). Так, 52,8% штамів були резистентні

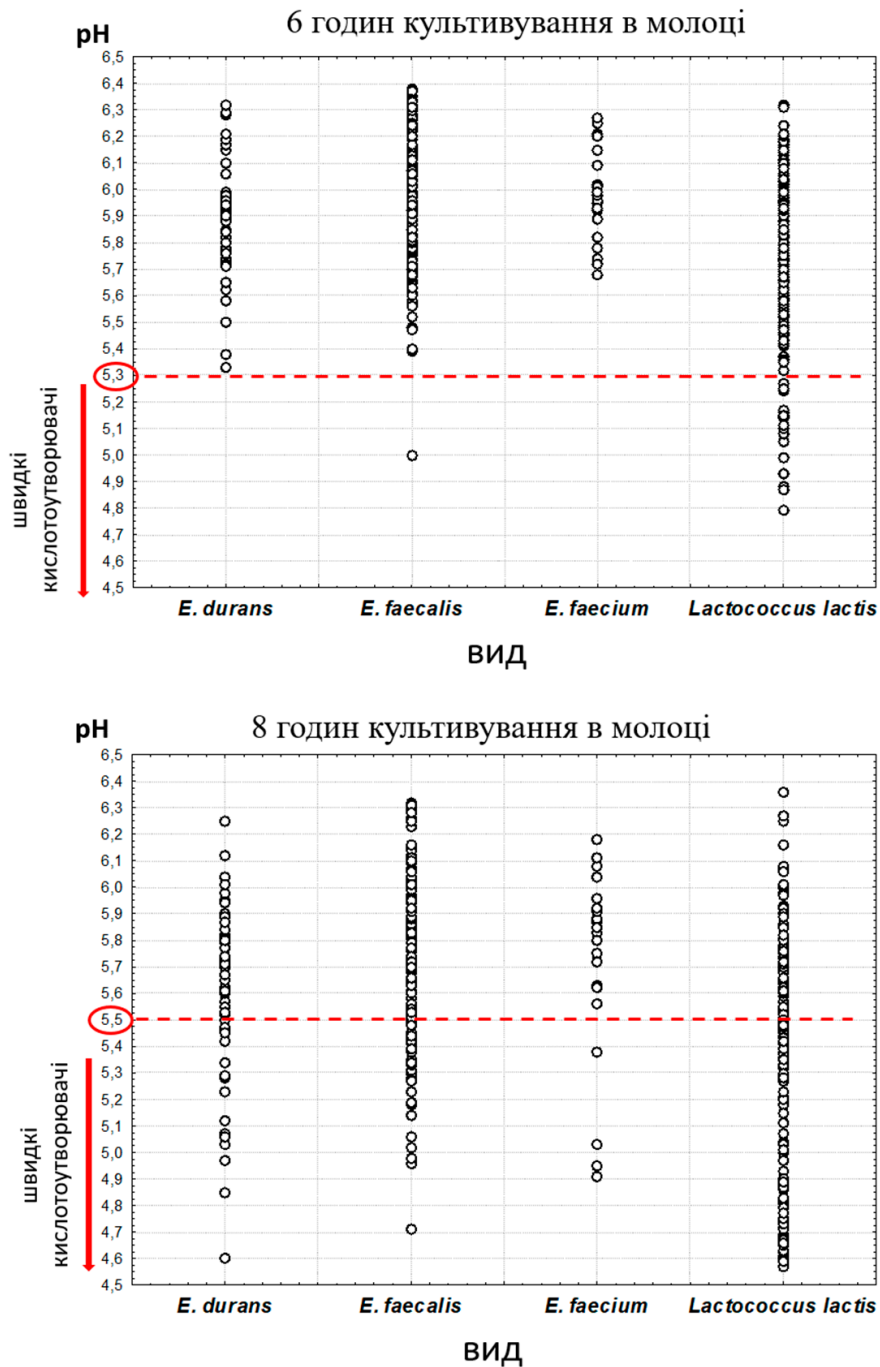


Рис. 3. Розподіл штамів лактококів і ентерококів за рівнем кислотоутворення при культивуванні в молоці при 30° С протягом 6 і 8 годин

до 2–8 препаратів – інгібіторів синтезу білка і нуклеїнових кислот, а 38,8 % – були стійкими до 4–9 антибіотиків різних за механізмом дії, включаючи ванкоміцин.

**Обговорення.** Фізіологічні властивості молочнокислих бактерій, а саме ріст при різних температурах та стійкість до натрію хлориду, досліджуються як при фенотиповій ідентифікації, так і є критерієм відбору штамів, перспективних для використання у складі заквасок.

Здатність до росту при 10°С, 45°С і стійкість до 6,5% NaCl довгий час вважались диференційними ознаками представників роду *Enterococcus*. Однак багаточисельні дослідження показали, що такі властивості можуть бути притаманні представникам інших родів молочнокислих коків і в той же час – бути відсутніми у ентерококів, що може ускладнювати фенотипову ідентифікацію [18]. Серед досліджених в роботі представників родів *Enterococcus* і *Lactococcus*, що були ідентифіковані нами раніше

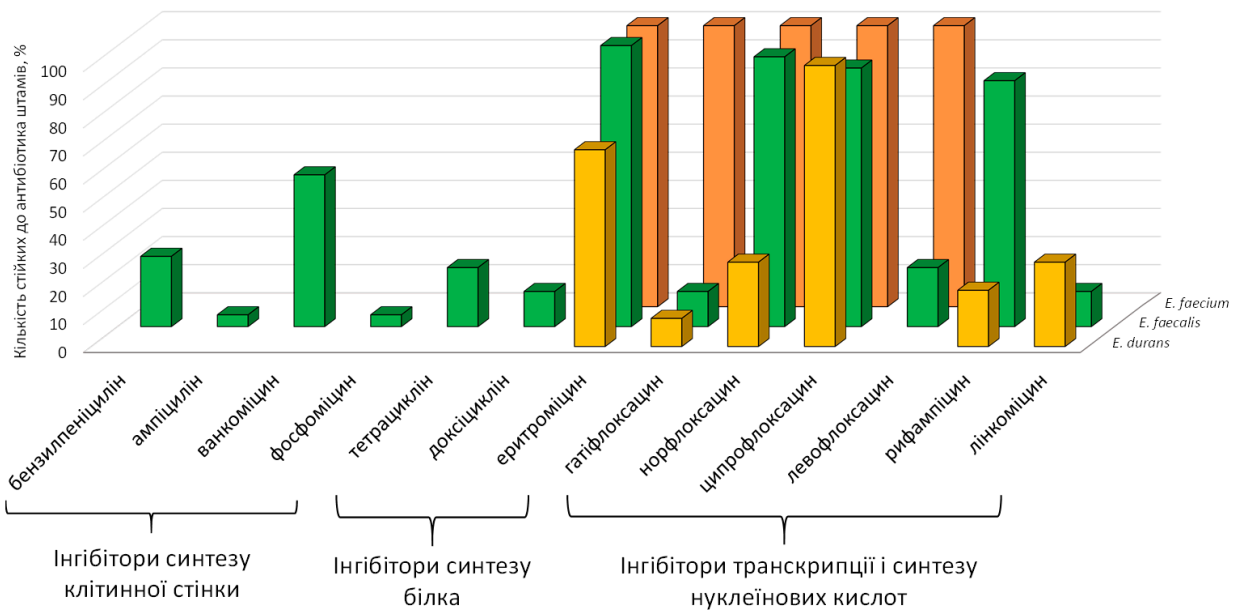


Рис. 4. Частота виявлення стійкості до антибіотиків [14] серед штамів ентерококів, які є перспективними як кислотоутворювачі у складі заквасок

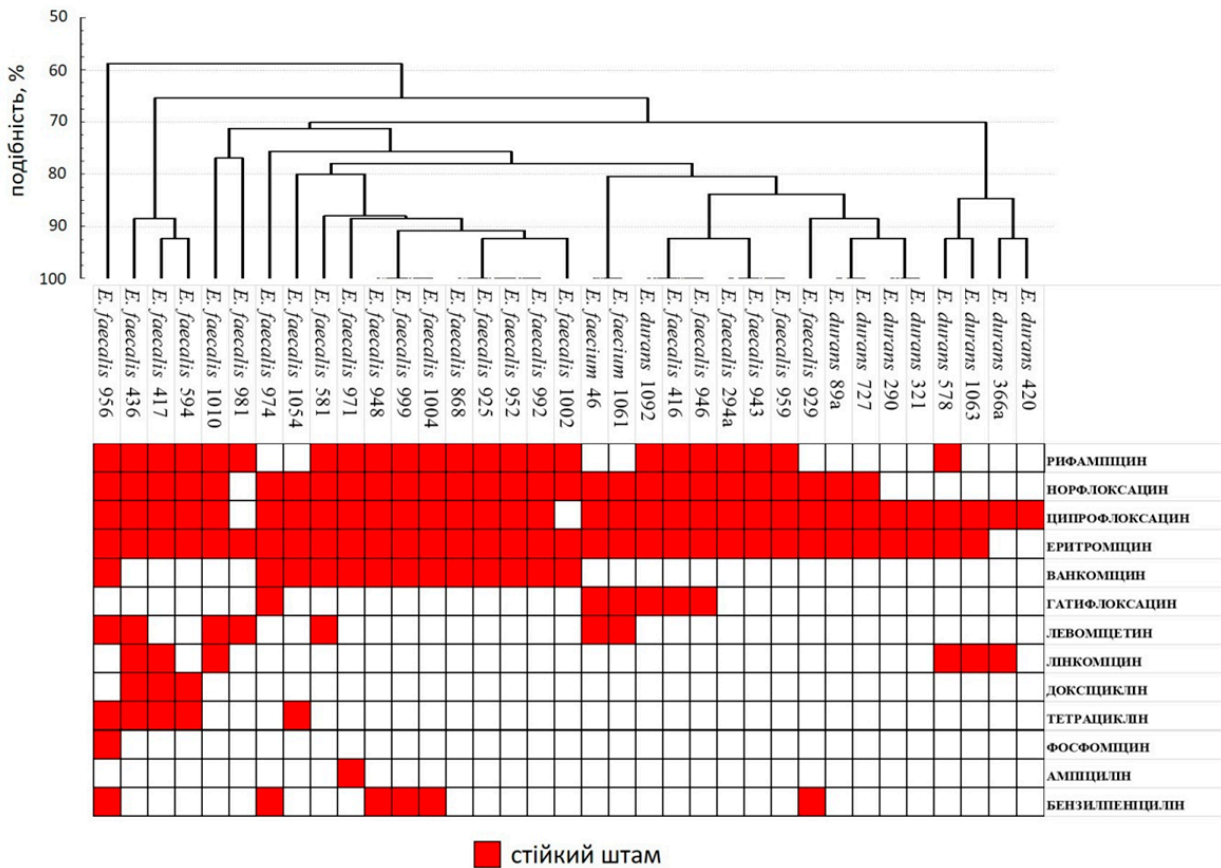


Рис. 5. Профілі антибіотикорезистентності штамів ентерококів [14], які є перспективними як кислотоутворювачі у складі заквасок

з використанням полімеразної ланцюгової реакції [13], здатність до росту при температурах 10°C і 45°C, а також стійкість до 6,5% NaCl не залежала від видової належності. Однак слід відмітити, що стійкість до 6,5% NaCl частіше була притаманна ізолятам з бринзи. Крім того, штами лактококів, що росли за температури 45°C, також були виділені зі зразків бринзи. Це може бути обумовлене різним вмістом солі в досліджених зразках кисломолочних продуктів, а також температурними режимами виготовлення і зберігання. Стійкість до NaCl є важливою вимогою до промислових штамів МКБ, особливо тих, що використовуються у виробництві сирів [7, 9]. За даними літератури більшість штамів ентерококів, ізолюваних з сирів, є стійкими до високих концентрацій солі (6% NaCl), а Ribeiro зі співавторами [19] повідомляли про штами *E. faecalis*, що були ізолювані з сиру Pico у Португалії, росли при 10% NaCl. Штами *L. lactis*, стійкі до 6,5% NaCl, були ізолювані авторами зі зразків сиру Pecorino Sardo [20]. Стійкі до 6,5% NaCl і термотолерантні штами лактококів також були ізолювані з алжирського кисломолочного продукту Лабан [18].

Швидке зниження рН молока відіграє ключову роль в процесі виготовлення кисломолочних продуктів шляхом забезпечення кислотної коагуляції казеїну та попередження розвитку сторонньої мікробіоти. Кількість швидких кислотоутворювачів серед лактококів складала 6,56% і 43% через 6 і 8 год відповідно. Отримані нами дані частково збігаються з даними, що наведені в літературі [20, 21]. Серед досліджених в роботі штамів ентерококів тільки один штам виду *E. faecalis* знижував рН молока більш, ніж на 1,2 одиниці через 6 год і може вважатись швидким кислотоутворювачем за критерієм Cogan et al. [15]. За критерієм Roushbi [16] швидкими кислотоутворювачами є 15% штамів ентерококів, які знижують рН молока через 8 годин культивування при 30°C більше, ніж на 2,0 одиниці. Слід відмітити, що швидкі кислотоутворювачі серед досліджених в роботі представників роду *Enterococcus* частіше зустрічались серед штамів виду *E. durans* (21%) в порівнянні зі штамми видів *E. faecium* і *E. faecalis* (14% штамів). Авторами повідомлялось, що ентерококи кисломолочного походження зазвичай є слабкими кислотоутворювачами [9, 22, 23]. Серед досліджених авторами [24] ентерококів різного походження жоден штам не знижував рН молока більш, ніж на 1 одиницю через 6 год. Крім того, не було виявлено різниці у кислотоутворюючій

активності між штамами видів *E. faecium* і *E. faecalis* через 24 і 48 год культивування [24]. Автори наводять дані щодо зниження рН молока штамами ентерококів нижче 5,0 тільки через 24 год культивування при 30°C [7, 8, 25].

За даними багатьох досліджень ентерококи широко розповсюджені в кисломолочних продуктах, виготовлених з непастеризованого молока шляхом спонтанного бродіння [26]. Питання щодо ролі і шляхів потрапляння ентерококів в такі продукти постало давно, але все ще залишається недостатньо вивченим. Була показана циркуляція штамів ентерококів між сирим молоком, обладнанням, що використовується при його переробці, готовою продукцією і кишечником людей, що її виготовляли та споживали [12]. Авторами була виявлена певна кореляція між джерелом виділення штамів ентерококів і наявністю у них стійкості до антибіотиків та інших факторів вірулентності. Вірулентні та резистентні до антибіотиків штами виділялись в основному з молока та поверхні обладнання, тоді як з готового сиру резистентні штами не виділялись [11]. Відібрані в роботі штами ентерококів, що можуть бути перспективними як швидкі кислотоутворювачі, були стійкими до 1–9 антибіотиків. Слід відмітити, що штами виду *E. durans* виявляли резистентність до 1–3 препаратів, в основному до еритроміцину і ципрофлоксацину. Штами виду *E. faecalis* були стійкими до більш широкого спектру антибіотиків, включаючи ванкоміцин, бензилпеніцилін, тетрациклін, доксіциклін, еритроміцин, ципрофлоксацин, норфлоксацин, рифампіцин. За даними літератури стійкість до еритроміцину, ципрофлоксацину, тетрацикліну є розповсюдженою серед ізолятів з кисломолочних продуктів [11]. При пошуку перспективних для промислового використання штамів МКБ першим етапом є відбір за корисними властивостями, такими як швидкість кислотоутворення, ароматоутворення, антагоністична активність та ін. Бактерії роду *Enterococcus* не мають статусу GRAS, тому умовою для їх практичного використання є відсутність факторів ризику для здоров'я. Отже обов'язковим етапом їх відбору є визначення наявності факторів вірулентності і патогенності [9, 10]. В літературі описані випадки, коли в результаті скринінгу були відібрані штами ентерококів, що за своєю біологічною активністю є перспективними для використання у складі заквасочних чи захисних культур, але в результаті вивчення їх безпечності виявлялось, що вони є стійкими до деяких з клінічно важливих антибі-

отиків. Це потребує більш поглибленого вивчення їх безпечності або фактично унеможливує їх практичне використання [27, 28]. В багатьох країнах ентерококи широко розповсюджені в продуктах, виготовлених шляхом спонтанного бродіння, і є невід'ємною частиною природної мікробіоти багатьох традиційних кисломолочних продуктів, особливо сирів [1, 7]. Визначена в даній роботі динаміка зниження рН в молоці, заквашеному культурами ентерококів, в порівнянні з лактококами показала, що вони є співставними за інтенсивністю кислотоутворення. Швидкі кислотоутворювачі були виявлені як серед лактококів (44% штамів), так і серед ентерококів (15% штамів). Отже, ентерококи можуть приймати активну участь у ферментації сирого молока при непромисловому приготуванні традиційних кисломолочних продуктів на території України. В той же час практично всі перспективні штами ентерококів виявили стійкість хоча б до одного з клінічно важливих антибіотиків, що не відповідає вимогам до промислових шта-

мів. Отже, зважаючи на високу вірогідність наявності у штамів ентерококів факторів патогенності і вірулентності, при пошуку штамів для промислового використання більш доцільним є початковий відбір за критеріями безпечності, зокрема – відсутності стійкості до клінічно важливих антибіотиків. Окрім того, що стійкість до антибіотиків вважається одним із факторів патогенності ентерококів, існує ризик передачі генів антибіотикорезистентності від штамів ентерококів до збудників інфекційних захворювань [10]. Досить висока частота виділення з традиційних кисломолочних продуктів домашнього приготування стійких до антибіотиків штамів ентерококів, що мають прийнятну для промислових заквасочних штамів кислотоутворювальну активність, вимагає більш поглибленої уваги до цієї проблеми і потребує вживання заходів з метою попередження розповсюдження мультирезистентних штамів ентерококів з кисломолочними продуктами.

## БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЭНТЕРОКОККОВ И ЛАКТОКОККОВ, ИЗОЛИРОВАННЫХ ИЗ ТРАДИЦИОННЫХ КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ УКРАИНЫ

*И.Л. Гармашева, Н.К. Коваленко,  
Л.Т. Олещенко*

*Институт микробиологии и вирусологии  
им. Д.К. Заболотного НАН Украины,  
ул. Академика Заболотного, 154, Киев, 03143,  
Украина*

### Резюме

**Цель.** Целью работы было изучение биологических свойств штаммов энтерококков, которые были изолированы из традиционных кисломолочных продуктов, и оценка их потенциала как заквасочных культур в сравнении со штаммами лактококков. **Методы.** Способность расти при разных температурах и устойчивость к NaCl определяли с использованием традиционных микробиологических методов. Уровень кислотообразования определяли по изменению рН молока через 6 и 8 ч культивирования при температуре 30°C. **Результаты.** Способность к росту при 10° С проявили 66,3% штаммов энтерококков и 73,4% штаммов лактококков, к росту при 45° С –

30,8% и 15,0% штаммов соответственно. Устойчивость к 6,5% NaCl была присуща только 10,3% штаммам энтерококков и 3,5% – лактококков. Штаммы энтерококков, устойчивые к 6,5% NaCl, чаще всего были изолированы из образцов брынзы, реже – из сквашенного молока. Устойчивые к 6,5% NaCl лактококки были выделены из сыра кисломолочного и брынзы. Быстрые кислотообразователи были выявлены как среди лактококков (44% штаммов), так и среди энтерококков (15% штаммов). Сопоставление определенных ранее профилей антибиотикорезистентности штаммов энтерококков с данными про их скорость кислотообразования показало, что среди штаммов энтерококков, перспективных как заквасочные культуры, три штамма (8,4%) вида *E. durans* были устойчивы к 1–2 препаратам – ингибиторам транскрипции и синтеза нуклеиновых кислот, 52,8% штаммов были резистентны к 2–8 препаратам – ингибиторам синтеза белка и нуклеиновых кислот, а 38,8% – устойчивыми к 4–9 антибиотикам, разных по механизму действия, включая ванкомицин. **Выводы.** По интенсивности кислотообразования культуры энтерококков идентичны лактококкам, что свидетельствует о возможности их использования в приготовлении кисломолочных продуктов. Устойчивость изученных штаммов энтерококков к антибиотикам не соответствует требованиям к



промышленным штаммам и указывает на необходимость обязательного определения наличия факторов вирулентности, в частности, антибиотикорезистентности, у потенциально заквасочных культур.

**Ключевые слова:** энтерококки, лактококки, устойчивость к NaCl, кислотообразование, кисломолочные продукты.

## BIOLOGICAL TRAITS OF ENTEROCOCCI AND LACTOCOCCI ISOLATED FROM TRADITIONAL DAIRY PRODUCTS OF UKRAINE

I. L. Garmasheva, N. K. Kovalenko,  
L. T. Oleschenko

Zabolotny Institute of Microbiology and Virology,  
NAS of Ukraine,  
154, Akad. Zabolotny Str, Kyiv, 03143, Ukraine

### Summary

**Aim.** The purpose of the study was to investigate biological properties of enterococci strains isolated from traditional dairy products and to evaluate their potential as starter cultures compared with lactococci strains. **Methods.** Ability to grow at different temperature and NaCl resistance were determined by traditional microbiological methods. Level of acid production was determined by change of milk pH after 6 and 8 h of incubation. **Results.** The ability to grow at 10 °C revealed 66.3% of enterococci strains and 73.4% of lactococci strains, to grow at 45 °C – 30.8% and 15.0% of strains respectively. Resistance to 6.5% NaCl was observed only in 10.3% of enterococci strains and 3.5% of lactococci strains. Enterococci strains resistant to 6,5% NaCl were most often isolated from bryndza samples, and rarely – from fermented milk. Resistant to 6.5% NaCl lactococci were isolated from cottage cheese and bryndza. Fast acid producer strains were found both among lactococci (44% of strains) and among enterococci (15% of strains). **Conclusion.** According to the intensity of acid production, strains of enterococci are identical to lactococci, which indicates the possibility of their use in the preparation of fermented milk products. The resistance of the studied enterococci strains to antibiotics does not meet the requirements for industrial strains and indicates the need for mandatory determination of the presence of virulence factors, in particular, resistance to antibiotics, in potentially starter cultures.

**Keywords:** enterococci, lactococci, resistance to NaCl, acid production, dairy products.

1. Banwo K, Sanni A, Tan H. Technological properties and probiotic potential of *Enterococcus faecium* strains isolated from cow milk. J Appl Microbiol. 2013; 114(1):229–241 doi:10.1111/jam.12031
2. Carafa I, Clementi F, Tuohy K, Franciosi E. Microbial evolution of Traditional Mountain cheese and characterization of early fermentation cocci for selection of autochthonous dairy starter strains. Food Microbiol. 2016; 53:94–103.
3. Durlu-Ozkaya F, Xanthopoulos V, Tu-nail N, Litopoulou-Tzanetaki E. Technologically important properties of lactic acid bacteria isolates from Beyaz cheese made from raw ewes' milk. J Appl Microbiol. 2001; 91:861–870.
4. Imran J, Ahmed S, Ali MI, Ahmad B, Ghumro PB, Hameed A, Chaudry GJ. Bacteriocinogenic potential of newly isolated strains of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* from dairy products of Pakistan. J Microbiol Biotechnol. 2010; 20(1):153–160. doi: 10.4014/jmb.0904.04024
5. Worsztynowicz P, Olejnik-Schmidt A, Białas W, Grajek W. Identification and partial characterization of proteolytic activity of *Enterococcus faecalis* relevant to their application in the dairy industry. Acta Biochimica Polonica. 2019; 66(1):61–69. doi.org/10.18388/abp.2018\_2714
6. Parente E, and Cogan TM. Starter cultures: general aspects, p. 123–147. In: P. O. Fox, editor. Cheese: chemistry, physics and microbiology, 3rd ed. 2004. Elsevier, Oxford, United Kingdom.
7. Andrighetto C, Knijff E, Lombardi A, Torriani S, Vancanneyt M, Kersters K, Swings J, Dellaglio F. Phenotypic and genetic diversity of enterococci isolated from Italian Cheeses. J Dairy Res. 2001; 68:303–316.
8. Giraffa G. Functionality of enterococci in dairy products. Int J Food Microbiol. 2003; 88:215–222. doi: 10.1016/S0168-1605(03)00183-1

9. Nieto-Arribas P, Sesena S, Poveda JM, Chicon R, Cabezas L, Palop L. *Enterococcus* populations in artisanal Manchego cheese: biodiversity, technological and safety aspects. *Food Microbiol.* 2011; 28:891–899.
10. Terzić-Vidojević A, Veljović K., Begović J, Filipić B, Popović D, Tolinački M, Miljković M, Kojić M, Golić N. Diversity and antibiotic susceptibility of autochthonous dairy enterococci isolates: are they safe candidates for autochthonous starter cultures? *Front Microbiol.* 2015; 6:1–10. doi: 10.3389/fmicb.2015.00954
11. Gaglio R, Couto N, Marques C, Silva Lopes MF, Moschetti G, Pomba C, Settanni L. Evaluation of antimicrobial resistance and virulence of enterococci from equipment surfaces, raw materials, and traditional cheeses. *Int J Food Microbiol.* 2016; 236:107–114.
12. Gelsomino R, Vancanneyt M, Cogan TM, Condon S, Swings J. Source of enterococci in a farmhouse raw-milk cheese. *Appl Environ Microbiol.* 2002; 68(7):3560–3565.
13. Garmasheva I. Isolation and characterization of lactic acid bacteria from Ukrainian traditional dairy products. *AIMS Microbiol.* 2016; 2(3):372–387.
14. Garmasheva IL, Kovalenko NK, Oleschenko LT. [Resistance to antibiotics, decarboxylase and haemolytic activities of enterococci isolated from traditional dairy products]. *Mikrobiol Z.* 2018; 80(1):3–14. Ukrainian.
15. Cogan TM, Barbosa M, Beuviel E, Bianchi-Salvadore B, Cocconcelli PH, Fernandez PS, et al. Characterisation of the lactic acid bacteria in artisanal dairy products. *J Dairy Res.* 1997; 64(3):409–21.
16. Roushdy IM. Molecular and phenotypic characterization of lactic acid bacteria isolated from laban rayeb. *Ann Agricult Sci.* 1999; 44(2):617–30.
17. Garmasheva IL, Kovalenko NK, Oleschenko LT, Vasyliuk OM. [Properties of lactococci strains, isolated from traditional dairy products]. *Mikrobiol Z.* 2017; 79(6):3–12. Ukrainian.
18. Bensalah F, Delorme C, Renault P. Characterisation of thermotolerant cocci from indigenous flora of ‘Leben’ in Algerian Arid Area and DNA identification of atypical *Lactococcus lactis* strains. *Curr Microbiol.* 2009; 59:139–146. doi:10.1007/s00284-009-9411-1
19. Ribeiro SC, Coelho MC, Todorov SD, Franco B, Dapkevicius MLE, Silva CCG. Technological properties of bacteriocin-producing lactic acid bacteria isolated from Pico cheese an artisanal cow’s milk cheese. *J Appl Microbiol.* 2014; 116:573–585.
20. Mannu L, Paba A, Pes M, Scintu MF. Genotypic and phenotypic heterogeneity among lactococci isolated from traditional Pecorino Sardo cheese. *J Appl Microbiol.* 2000; 89(2):191–197.
21. Psoni L, Kotzamanidis C, Yiangou M, Tzane-takis N, Litopoulou-Tzanetaki E. Genotypic and phenotypic diversity of *Lactococcus lactis* isolates from Batzos, a Greek PDO raw goat milk cheese. *Int J Food Microbiol.* 2007;114(2):211–220.
22. Fortina MG, Ricci G, Borgo F, Manachini PL, Arends K, Schiwon K, Abajy MY and Grohmann E. A survey on biotechnological potential and safety of the novel *Enterococcus* species of dairy origin, *E. italicus*. *Int J Food Microbiol.* 2008; 123:204–211.
23. Morandi S, Silveti T, Brasca M. Biotechnological and safety characterization of *Enterococcus lactis*, a recently described species of dairy origin. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 2013; 103:239–249.
24. Jaouani I, Abbassi MS, Ribeiro SC, Khemiri M, Mansouri R, Messadi L, Silva CC. Safety and technological properties of bacteriocinogenic enterococci isolates from Tunisia. *J Appl Microbiol.* 2015; 119(4):1089–100. doi: 10.1111/jam.12916
25. Foulquie-Moreno MR, Rea MC, Cogan TM, De Vuyst L. Applicability of a bacteriocin-producing *Enterococcus faecium* as co-culture in Cheddar cheese manufacture. *Int J Food Microbiol.* 2003; 81:73–84.

26. Favaro L, Basaglia M, Casella S, Hue I, Dousset X, Gombossy de Melo Franco BD, Todorov SD. Bacteriocinogenic potential and safety evaluation of non-starter *Enterococcus faecium* strains isolated from home made white brine cheese. *Food Microbiol.* 2014; 38:228–239.
27. El-Ghaish S, El-Baz A, Hwanhlem N, Zommaro M, Ayad E, Choiset Y, Haertlé T, Chobert JM. Bacteriocin production and safety evaluation of non-starter *Enterococcus faecium* IM1 and *Enterococcus hirae* IM1 strains isolated from homemade Egyptian dairy products. *Eur Food Res Technol.* 2015. doi:10.1007/s00217-015-2424-z.
28. Dos Santos KM, Vieira AD, Salles HO, Oliveira Jda S, Rocha CR, Borges Mde F, Bruno LM, Franco BD, Todorov SD. Safety, beneficial and technological properties of *Enterococcus faecium* isolated from Brazilian cheeses. *Braz J Microbiol.* 2015;46(1):237–249. doi :http://dx.doi.org/10.1590/S1517-838246120131245.

Отримано 26.06.2019