

ANTIBIOTIC RESISTANCE OF MICROBIOTA OF DRINKING MILK SOLD IN ST. PETERSBURG AND LENINGRAD REGION

Alexander E. Noskov¹, student
Elena Ig. Prikhodko², PhD of Veterinary Sciences, Docent
Xenia Dm. Martynova², student

¹Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms, G.K. Scriabin RAS, Russia
²St. Petersburg University of Veterinary Medicine, Russia

In view of the increasing interest in the issues of antibiotic resistance of opportunistic microorganisms, there is a need for a closer study of bacteria isolated from animal products. Such bacteria can carry genes for resistance to antimicrobial drugs, including those used to treat human diseases [4, 10]. In this case, drinking milk is of particular interest, because the antibiotic-resistant bacteria contained in it can freely enter the body in the absence of additional heat treatment before consumption.

The work took into account the requirements of the Technical Regulations of the Customs Union (TR CU) 021/2011 "On food safety" and TR CU 033/2013 "On the safety of milk and dairy products", as well as the recommendations of the European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing EUCAST and the Interregional Association for clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy MACMAC.

As a result of the research, the presence of resistance to antibacterial drugs was determined in 36 bacterial isolates from milk sold in St. Petersburg and the Leningrad Region. It was found that the most common resistance to ampicillin (24 cases) and tetracycline (6 resistant isolates, 8 with intermediate values). There were also cases of resistance and intermediate results of isolates in relation to other antibiotics, including cephalosporins.

Key words: control of the spread of antibiotic resistance; drinking milk; food safety.

REFERENCES

1. Batrakov A.Ya., Videnin V.N. Measures to prevent udder diseases in cows and improve the quality of milk // Veterinary pharmacological bulletin. 2017; 1:57-61.
2. Kulmagambetov I.R., Sarsenbayeva S.S., Ramazanova Sh.Kh., Esimova N.K. Modern approaches to the control and containment of antibiotic resistance in the world. Medical Sciences. 2015; 9:54-59.
3. Makavchik S.A. Hypermucoid phenotypes of *Klebsiella pneumoniae* and problems of antibiotic therapy in farm animals // Questions of legal regulation in veterinary medicine. 2019. No. 4.S. 48-51.
4. Makavchik, S.A. Laboratory methods for the control of multiresistant pathogens of bacterial animal diseases and the rational use of antimicrobial drugs: monograph Makavchik S.A., Sukhinin A.A., Engashev S.V., Krotova A.L. St. Petersburg, 2021.-152p.
5. Popov P.A. Residual content of veterinary drugs in milk in different countries. Problems of veterinary sanitation, hygiene and ecology. 2020; 2(34): 158-164.

6. Sulyan, O.S. Associated resistance to polymyxin and beta-lactams of *Escherichia coli* isolated from humans and animals / Sulyan O.S., Ageevets V.A., Sukhinin A.A., Ageevets I.V., Abgaryan S.R., Makavchik S. A., Kameneva O.A., Kosyakova K.G., Mrugova T.M., Popov D.A., Puchenko O.E., Sidorenko S.V.//Antibiotics and chemotherapy.- 2021.- T. 66.- No. 11-12.- S. 9-17.
7. Tatarnikova N.A., Maul O.G. Antibiotics in food. Biological Sciences. 2014; 5(49): 208-211.
8. Shitova M.A., Kondaleev G.N., Malovasty K.S. The quality of milk in the treatment of animals with antibiotics. Scientific problems of livestock production and improvement of its quality. 2014; 18-21.
9. Pantozzi F.L., Ibar M.P., Nieves V.F., Vigo G.B., Moredó F.A., Giacoboni G.I. Wild-type minimal inhibitory concentration distributions in bacteria of animal origin in Argentina. Revista Argentina de Microbiología. 2014; 46(1): 34-40.
10. Tillotson G.S., Zinner S.H. Burden of antimicrobial resistance in an era of decreasing susceptibility. Expert Review of Anti-infective Therapy. 2017; 15(7): 663-676.

УДК: 637.5.075(470.23-25)

DOI: 10.52419/issn2782-6252.2023.2.56

ДОМИНИРУЮЩАЯ САНИТАРНО ЗНАЧИМАЯ МИКРОФЛОРА МЯСА И ФАРША

Смирнова Любовь Ивановна, канд.ветеринар.наук, доцент
Макаров А.В., студент

Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, Россия

РЕФЕРАТ

Провели бактериологическое исследование проб говядины охлаждённой мелкокусковой, а также фарша свиного, говяжьего, домашнего. Применяли бактериологический, бактериоскопический и протеомный методы исследования. Определяли общую бактериальную обсеменённость, показатели свежести, наличие возбудителей бактериальных болезней, условно-патогенных микроорганизмов и представителей доминирующей сапрофитной микрофлоры. Установили отсутствие сальмонелл, листерий, синегнойной палочки, золотистого стафилококка, протей, дрожжей и плесеней. Доминирующей микрофлорой мяса являлись энтеробактерии рода *Citrobacter*, *Enterococcus faecium*, *Micrococcus sp.* Результаты свидетельствуют о доброкачественности мясных продуктов.

Ключевые слова: мясо, фарш, *Citrobacter*, *Enterococcus*, доминирующая микрофлора.

ВВЕДЕНИЕ

Мясо и мясные продукты являются хорошей средой для обитания многих микроорганизмов, которые могут обсеменять мясо как эндогенно, так и экзогенно[1]. В мясе и мясных продуктах

потенциально имеют возможность размножаться бактерии, вызывающие токсикоинфекции и токсикозы, кроме того, ксенобиотическая микрофлора мяса при ненадлежащих условиях хранения и реализации продукта может вызвать его преждевременную порчу, значительно ухудшить

его органолептические показатели. Чаще всего при бактериологических исследованиях мяса выделяют психрофильные псевдомонады, флаво-бактерии, бактерии родов *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Acinetobacter*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Staphylococcus*, колиформные, коринеформные, молочнокислые бактерии, микробактерии, а также дрожжевые и плесневые грибы различных видов[1]. Эти микроорганизмы имеют разное санитарное значение. Согласно действующим нормативным документам КМАФАНМ полуфабрикатов мясных бескостных охлаждённых мелкокусковых не должно превышать 1×10^6 КОЕ/г, масса продукта в которой не допускается наличие БГКП (колиформы) – 0,001г. В 25 г мелкокусковых мясных полуфабрикатов не допускается содержание сальмонелл, листерий, протей, а также возбудителей опасных антропозоонозных болезней. В фарше говяжьего и свиного КМАФАНМ не должно превышать 5×10^6 КОЕ/г, БГКП должны отсутствовать в 0,0001г[2]. Количество микрококков, псевдомонад, аэромонасов, сарцин, лактобактерий и других сапрофитных бактерий в свежем мясе не регламентируется[3].

Цель работы: выявление и идентификация доминирующей и имеющей санитарное значение микрофлоры свежего мяса и фарша, определение его доброкачественности по бактериологическим показателям.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве материала для исследования использовали пробы говядины мелкокусковой (10 проб) и фарша свиного, говяжьего, домашнего (16 проб), приобретенные в пунктах реализации животноводческой продукции Московского, Невского, Красносельского, Выборгского района, посёлка Парголово. Пробы оценивали органолептически, в том числе в пробе варки. Суспензии мяса и фарша для дальнейшего исследования были изготовлены при добавлении стерильного 0,9%-го раствора NaCl в соотношении 1:10.

Применяли бактериологический, бактериоскопический и протеомный методы исследования. Посевы для выявления общей бактериальной загрязнённости проводили качественно – отпечатками предварительно профламбированных с поверхности срезов проб (при исследовании мелкокускового мяса), и количественно – суспензией десятичных разведений проб, поверхностным посевом по 0,1 мл и глубинным посевом, по 1 мл разведения. Посевы проводили, используя универсальную среду «Питательный агар», среду Кода, Эндо, XLD, энтерококк-агар, а также среду ЖСА Чистовича, после чего колонии, напоминающие колонии возбудителей токсикоинфекций, были пересеяны на среду трехсахарный агар и среду Симмонса. Для выявления сальмонелл дополнительно использовали среду накопления RVS, для выявления листерий – среды накопления ПБЛ-1 и ПБЛ-2 (при внесении 25 г измельчённой пробы в 225 мл среды), для выявления стафилококка – солевой бульон. Общую микробную обсеменённость определяли качественно – в крестах и количественно, в КОЕ/г[1]. Дифференцировали бактерии по характерному

росту на универсальных и элективных питательных средах, морфологическим, тинкториальным и биохимическим свойствам. Окончательную идентификацию представителей доминирующей микрофлоры, в отдельных случаях проводили протеомным методом MALDI

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Все пробы мелкокускового мяса и фарша имели хорошие органолептические показатели, в том числе в пробе варки, не содержали *Proteus* sp., отсутствовал рост дрожжей и плесеней, что свидетельствует о свежести продукции.

КМАФАНМ мяса бескостного охлаждённого мелкокускового не превышало $1,8 \times 10^5$ КОЕ/г, БГКП отсутствовали в 0,001г. В фарше говяжьего и свиного КМАФАНМ не превышало $4,6 \times 10^6$ КОЕ/г, БГКП отсутствовали в 0,0001г, то есть пробы имели микробное обсеменение, не превышающее допустимые в нормативных документах показатели.

Во всех пробах отсутствовали патогенные бактерии: сальмонеллы, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Результаты определения доминирующей микрофлоры мяса и фарша, имеющей санитарное значение, представлены в таблице 1.

1. Все бактерии, напоминающие по своим культуральным и биохимическим свойствам сальмонеллы, идентифицированы протеомным методом MALDI как *Citrobacter diversus* и *Citrobacter freundii*. Лактозоположительные и лактозоотрицательные цитробактеры в небольшом количестве присутствовали во всех пробах мяса и фарша, являясь представителями доминирующей микрофлоры. Доминирующей сапрофитной микрофлорой мяса и фарша являлись также присутствующие во всех пробах микрококки и энтерококки *E. faecium*.

2. Только в одной пробе выявлено содержание почвенных бацилл, то есть практически не было загрязнения почвой, грунтом, дорожной пылью. Это указывает на правильные условия хранения, перевозки, измельчения и реализации мяса[1].

3. По результатам исследования только в одной пробе фарша установлено присутствие бактерий вида *Escherichia coli*. Все остальные изоляты, дающие сходный с эшерихиями рост на среде XLD (желтые колонии) и Эндо (малиновые колонии с металлическим блеском и без него, красные и темно-розовые колонии с красным центром), по результатам идентификации отнесены к видам: *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter agglomerans*, *Citrobacter freundii*, *Rahnella* sp., *Kluyvera* sp., *Pantoea* sp. Бактерии, образующие слизистые лактозоположительные и лактозоотрицательные колонии, отнесены к виду *Klebsiella oxitoca*.

4. При исследовании проб идентифицированы представители группы «неферментёров» *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*, *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter calcoaceticus*. Их количество в пробах было незначительным. Это свидетельствует об отсутствии продолжительного хранения мяса и фарша в условиях холодильника[3].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Все исследованные пробы мелкокускового

Таблица 1.

Представители доминирующей микрофлоры проб охлаждённого мяса и фарша, имеющей санитарное значение.

№ пробы	Бациллы	Микрококки, стафилококки и кокурии	Энтеробактерии		Группа неферментёров		Энтерококки
			Лактозонегативные колонии на среде Эндо	Лактозопозитивные колонии на среде Эндо			
1	-	<i>M. luteus</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	-	<i>E. faecium</i>	
2	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>M. luteus</i>	<i>Citrobacter diversus</i> <i>Serratia odorifera</i>	-	-	<i>E. faecium</i>	
3	-	-	<i>Citrobacter diversus</i>	-	-	<i>E. faecium</i>	
4	-	-	<i>Citrobacter diversus</i>	-	-	<i>E. faecium</i>	
5	-	-	<i>Citrobacter diversus</i>	<i>K. oxitoca</i>	-	<i>E. faecium</i>	
6	-	<i>M. roseus</i>	<i>Citrobacter freundii</i> <i>Kluyvera sp.</i> + <i>K. oxitoca</i>	<i>K. oxitoca</i>	<i>Pseudomonas putida</i> , <i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>E. faecium</i>	
7	-	-	<i>Citrobacter freundii</i> <i>Citrobacter diversus</i> <i>Kluyvera sp</i>	<i>K. oxitoca</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>E. faecium</i>	
8	-	-	<i>Citrobacter freundii</i>	-	-	<i>E. faecium</i>	
9	-	-	<i>Citrobacter diversus</i> <i>Enterobacter agglomerans</i>	<i>K. oxitoca</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>E. faecium</i>	
10	-	<i>M. varians</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	-	-	<i>E. faecium</i>	
11	-	<i>M. varians</i>	<i>Citrobacter freundii</i> <i>Enterobacter cloacae</i> <i>Pantoea sp</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> <i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>E. faecium</i>	
12	-	<i>Kocuria sp.</i> <i>Staph. epidermidis</i>	<i>Citrobacter diversus</i>	-	-	<i>E. faecium</i>	
13	-	<i>Kocuria sp.</i> <i>Staph. epidermidis</i>	<i>Citrobacter diversus</i> <i>Citrobacter freundii</i>	-	-	<i>E. faecium</i>	
14	-	<i>Kocuria varians</i>	<i>Enterobacter agglomerans</i>	-	-	<i>E. faecium</i>	
15	-	<i>Kocuria sp.</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	-	-	<i>E. faecium</i>	
16	-	<i>Staph. equorum</i>	<i>Citrobacter diversus</i> <i>Citrobacter freundii</i>	<i>Citrobacter freundii</i> <i>E. coli</i>	-	<i>E. faecium</i>	
17	-	<i>Staph. sp.</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	-	-	<i>E. faecium</i>	
18	-	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	-	-	<i>E. faecium</i>	

Таблица 1. (Продолжение)

19	-	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Enterobacter sp.</i>	-	-	<i>E. faecium</i>
20	-	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Citrobacter diversus</i> <i>Rahnella sp</i>	-	-	<i>E. faecium</i>
21	-	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Citrobacter diversus</i> <i>Enterobacter cloacae</i> <i>Enterobacter agglomerans</i>	<i>Enterobacter agglomerans</i>	-	<i>E. faecium</i>
22	-	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Citrobacter diversus</i> <i>Enterobacter cloacae</i>	-	-	<i>E. faecium</i>
23	-	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Citrobacter freundii</i> <i>Enterobacter cloacae</i> <i>Rahnella sp.</i> <i>K. oxitoca</i>	<i>K. oxitoca</i> <i>Rahnella sp.</i>	-	<i>E. faecium</i>
24	-	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	-	-	<i>E. faecium</i>
25	-	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Citrobacter diversus</i> <i>Citrobacter freundii</i> <i>agglomerans</i>	-	-	<i>E. faecium</i>
26	-	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	-	-	<i>E. faecium</i>

мяса и фарша в микробиологическом отношении были доброкачественными. КМАФАнМ и содержание БГКП не превышало норму. Отсутствовали патогенные микроорганизмы – возбудители «пищевых» инфекций, токсикоинфекций и токсикозов, а также возбудители порчи – мицелиальные и дрожжевые грибы. Доминирующей частью сапрофитной микрофлоры, имеющей санитарное значение, являлись энтерококки, микрококки и энтеробактерии *Citrobacter sp.*

ЛИТЕРАТУРА

1. Смирнова Л. И. Микробиологическая безопас-

ность объектов внешней среды и пищевых продуктов / Л. И. Смирнова, А. А. Сухинин, Е. И. Приходько. – Санкт-Петербург: ВВМ, 2013. – 452 с. – ISBN 978-5-9651-0792-6

2. ТР ТС 034/2013 О безопасности мяса и мясной продукции.

3. Макавчик С.А. Лабораторные методы контроля полирезистентных возбудителей бактериальных болезней животных и рациональное применение антимикробных препаратов: монография/С.А.Макавчик, А.А.Сухинин, С.В.Енгашев, А.Л. Кротова – Санкт-Петербург: изд-во ВВМ, 2021.-С.78 с: ил.

DOMINANT SANITARY SIGNIFICANT MICROFLORA OF MEAT

Lubov I. Smirnova, PhD in Veterinary Sciences, Docent

A.V. Makarov, student

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, Russia

We conducted bacteriological study of samples of small-sized beef, as well as minced pork, beef, homemade, purchased in retail chains. Bacteriological, bacterioscopic and proteomic research methods were used. The total bacterial contamination, freshness indicators, the presence of pathogens of bacterial diseases, opportunistic microorganisms and representatives of the dominant saprophytic microflora were determined. The absence of *Salmonella*, *listeria*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus*, yeast and molds was established. The dominant microflora of meat are *Enterobacteria* of the genus *Citrobacter*, *Enterococcus faecium*.

Key words: meat, minced meat, *Citrobacter*, *Enterococcus*, dominant microflora.

REFERENCES

1. Smirnova L. I. Microbiological safety of environmental objects and food products / L. I. Smirnova, A. A. Sukhinin, E. I. Prihodko. – Saint Petersburg: VVM, 2013. – 452 p. – ISBN 978-5-9651-0792-6
2. TR TU 034/2013. On the safety of meat and meat products.

3. Makavchik SA Laboratory methods of control of multiresistant bacterial pathogens of animal diseases and rational use of antimicrobial agents: monograph / Makavchik SA, Sukhinin AA, Engashev SV, Krotova AL - St. Petersburg: BBM Publishing House, 2021.- P.78 p.: ill.