

RISKS ASSOCIATED WITH THE PRESENCE OF ANTIMICROBIAL DRUG RESIDUES IN MEAT PRODUCTS AND PRODUCTS OF ANIMAL SLAUGHTER

РИСКИ, СВЯЗАННЫЕ С НАЛИЧИЕМ В МЯСЕ И В ПРОДУКТАХ УБОЯ ЖИВОТНЫХ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ АНТИМИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Bataeva D.S., Zaiko E.V.

The V.M. Gorbatov All-Russian Meat Research Institute, Moscow, Russia

Ключевые слова: риски, мясо и продукты убоя животных, антибактериальные препараты, устойчивость микроорганизмов к антибактериальным препаратам.

Keywords: risks, meat and products of animal slaughter, antibacterial drugs, antibiotic resistance.

Аннотация

Определены риски, связанные с наличием в мясе и в продуктах убоя животных остаточных количеств антимикробных препаратов. Один из них это возникновение устойчивости к антимикробным препаратам патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, выделенных из мяса и продуктов убоя животных. Было установлено, что *E.coli*, микроорганизмы рода *Salmonella* и *Pseudomonas* устойчивы к ампициллину, тетрациклину, тилозину и цефалексину. Однако *L.monocytogenes* не обладали устойчивостью к этим препаратам. Также установлено, что при попадании в организм животного антимикробные вещества больше всего накапливаются в печени и в почках животного, затем в мясе и меньше всего в жире. Определено, что до 65 % исследованных образцов в той или в иной степени контаминированы антимикробными препаратами.

Abstract

The risks associated with the presence of antimicrobial drug residues in meat and products of animal slaughter were determined. One of them is the emergence of antimicrobial resistance in pathogenic and conditionally pathogenic microorganisms isolated from meat and products of animal slaughter. It was established that *Escherichia coli*, *Salmonella* and *Pseudomonas* were resistant to ampicillin, tetracycline, tylosin and cephaloxin. However, *Listeria monocytogenes* did not have resistance to these antibiotics. It was also established that when entering an animal body, antimicrobials were accumulated mostly in liver and kidneys of an animal followed by meat and, to the least degree, in fat. It was found that up to 65% of the tested samples were contaminated with antimicrobials to a greater or lesser degree.

Введение

Стратегической целью продовольственной безопасности России является обеспечение ее населения безопасной пищевой продукцией. С увеличением потребности населения в мясе и в мясных продуктах необходимо увеличивать их производство. Это возможно при определенном уровне поголовья животных и интенсификации прироста у них мышечной массы.

Прирост мышечной массы, может быть, достигнут и за счет использования стимуляторов роста, в том числе и антибактериальных препаратов (террамицин, биомицин, бацитрацин и гризин — в качестве кормовых добавок).

Антимикробные препараты (противомикробные препараты, antimicrobial agents) — это химические соединения, которые убивают микроорганизмы или угнетают их рост, но при этом они могут продуцироваться в естественных условиях как грибами (например, пенициллин), так и бактериями (например, тетрациклин) — или могут быть синтетическими или полусинтетическими веществами (например, фторхинолоны и амоксициллин, соответственно). Согласно оригинальному определению лауреата Нобелевской премии Сэлмана Ваксмана (Selman Waksman), термин

Introduction

The strategic goal of the food security of Russia is provision of its population with safe food products. With an increase in the need of the population for meat and meat products, it is necessary to increase their production. This is possible at a particular level of livestock and intensification of the muscle weight gain.

The muscle weight gain can be achieved by using growth promoters including antibacterial drugs (terramycin, biotycin, bacitracin and grisin as food additives).

Antimicrobials are chemical compounds, which destroy microorganisms or inhibit their growth. They can be produced in the natural conditions both by fungi (for example, penicillin) and bacteria (for example, tetracycline) or can be synthetic or semi-synthetic substances (for example, fluoroquinolones and amoxicillin, respectively). According to the original definition of Nobel Prize Winner Selman Waksman, the term antibiotics refers only to

антибиотики (antibiotics) относятся только к естественным продуктам микробного происхождения. Тем не менее, этот термин нередко используется как синоним термина антимикробные средства, независимо от естественного или синтетического происхождения.

Существуют определенные требования к стимуляторам роста животных: они должны иметь короткий период выведения из организма; до убоя должно произойти полное выведение их из тканей и органов животного; отсутствие токсического воздействия на организм; отсутствие отрицательного влияния на нормальную кишечную микрофлору и если в качестве стимуляторов роста используются антимикробные препараты, то они не должны вызывать устойчивости микроорганизмов к ним.

По мере увеличения сроков и масштабов практического применения антимикробных и других химиотерапевтических препаратов также нарастает и число устойчивых к ним штаммов микроорганизмов.

Частота инфекций, вызванных антибиотикорезистентными бактериями, увеличивается среди населения и в медицинских учреждениях, вследствие чего эти инфекции становятся важной медико-санитарной проблемой, которая бросает вызов системам здравоохранения многих стран. В результате чрезмерного и неправильного применения антибиотиков у бактерий, находящихся в организме людей и животных, может развиться устойчивость к этим препаратам, вследствие чего инфекционные заболевания, которые в обычных условиях хорошо поддаются лечению антибиотиками, становится трудно, а иногда и невозможно вылечить. Неудачи лечения приводят к росту заболеваемости и смертности от инфекций, а также к необходимости разрабатывать новые антибиотики, что, в конечном счете, ложится дополнительным бременем на общество. Ежегодно в странах Европейского союза свыше 25 000 человек умирают от инфекций, вызванных антибиотикорезистентными бактериями [1].

Поскольку эта устойчивость не имеет экологических, отраслевых или географических границ, ее появление в одной отрасли или в одной стране приводит к формированию резистентности в других отраслях и в других странах. Предупреждение и сдерживание устойчивости к антибиотикам требует принимать во внимание все факторы риска формирования и распространения такой устойчивости в контексте всех условий, отраслей, учреждений от медицины до использования в производстве пищевых продуктов животного происхождения.

ВОЗ уже давно считает, что применение антибиотиков у сельскохозяйственных животных, масштабы которого во многих странах превышают масштабы использования антибиотиков для лечения больных людей, вносит существенный вклад в формирование проблемы устойчивости к антибиотикам в здравоохранении.

the natural products of microbial origin. Nevertheless, this term is often used as a synonym of the term antimicrobial agents independent of their natural or synthetic origin.

There are specific requirements to animal growth promoters: a short withdrawal period; full elimination from animal tissues and organs before slaughter; absence of a toxic effect on a body; absence of a negative effect on the normal gut microflora and if antimicrobial agents are used as growth promoters, they should not lead to resistance of microorganisms to them.

With an increase in duration and scale of the practical use of antimicrobial and other chemotherapeutic agents, the number antibiotic resistant strains also increase.

Occurrence of infections caused by antibiotic resistant bacteria is increasing in communities and in health care facilities; because of this, these infections have become an important medical and sanitary problem, which challenges the health care systems in many countries. As a result of the excessive and inappropriate use of antibiotics, resistance to these preparations can be developed in bacteria, which reside in a human or animal body. As a consequence, it becomes difficult and sometimes impossible to treat infectious diseases, which are well treated with antibiotics under usual conditions. Failures in therapy lead to an increase in morbidity and mortality due to infections, as well as to a need to develop new antibiotics, which, eventually, present an additional burden for a society. Over 25 000 people die of infections caused by antibiotic resistant bacteria every year [1].

As this resistance does not have ecological, sector or geographical borders, its emergence in one sector or in one country leads to formation of resistance in other sectors and other countries. Prevention and containment of antibiotic resistance require taking into account all risk factors for formation and spread of such resistance in a context of all conditions, sectors, health-care facilities before production of food products of animal origin.

WHO has considered for a long time that the use of antibiotics in farm animals, which scale exceeds the scale of the use of antibiotics for treating human patients, makes a significant contribution to the emergence of the problem of antibiotic resistance in healthcare. This situation requires information of the society and development of

ранении. Эта ситуация требует информирования общества и выработке специальной политики для сдерживания резистентности к антибиотикам с позиций безопасности пищевых продуктов, обращая особое внимание на распространение резистентности через пищевую цепь, которое играет важную, хотя нередко и скрытую роль. Резистентность связанных с пищевыми инфекциями зоонозных бактерий родов *Salmonella* и *Campylobacter* несомненно связана с применением антибиотиков у сельскохозяйственных животных; пищевые инфекции, вызванные такими резистентными бактериями, многократно документированы у людей. Возбудители кампилобактериоза очень легко приобретают устойчивость к антибиотикам. Во многих странах кампилобактерии, выделенные из мяса птиц, были резистентны к антибактериальным препаратам, включая фторхинолоны [2].

Заболевания у людей, вызванные штаммами кампилобактерий, устойчивыми к антибиотикам, представляют усугубляющуюся проблему здравоохранения.

Эпидемиология устойчивости к антибиотикам осложняется способностью генов, детерминирующих такую устойчивость, распространяться между различными типами бактерий. Кроме того, резистентные к антибиотикам бактерии могут преодолевать барьеры между сферами деятельности, учреждениями и территориями. Такое распространение может быть связано с людьми, животными, пищевыми продуктами животного происхождения и контаминированными объектами внешней среды.

Особую тревогу вызывает устойчивость к так называемым «критически важным антибиотикам», используемым в медицине.

Поскольку было показано, что применение антибиотиков в качестве стимуляторов роста связано с угрозой для здоровья людей, с 2006 г. в странах Европейского союза прекращено использование всех антибиотиков в качестве стимуляторов роста. Прекращение использования антибиотиков для стимуляции роста животных снижает опасность для здоровья людей без какого-либо вреда для здоровья животных или экономических потерь в производстве продуктов животного происхождения.

Очень важной частью работы по сдерживанию резистентности является нормативная регламентация применения антибиотиков у сельскохозяйственных животных. Предлагается, чтобы ветеринарные, сельскохозяйственные и фармацевтические органы рассмотрели возможность принятия следующих мер: прекращение использования антибиотиков в качестве стимуляторов роста животных; применение антибиотиков у животных только по назначению ветеринара; применение антибиотиков, имеющих чрезвычайное значение в медицине (особенно фторхинолонов и цефалоспоринов третьего и четвертого поколений)

the special policy for the containment of antibiotic resistance in the context of food safety paying special attention to spread of resistance through food chain, which plays an important, although quite often an invisible, role. Resistance in zoonotic bacteria of the genera *Salmonella* and *Campylobacter*, which are associated with food infections, is undoubtedly linked with the use of antibiotics in farm animals; food infections in humans caused by these resistant bacteria have been documented many times. The causative agents of campylobacteriosis easily acquire antibiotic resistance. In many countries, campylobacteria isolated from poultry meat were resistant to antibacterial drugs including fluoroquinolones [2].

Human infections caused by antibiotic resistant strains of campylobacteria present an aggravating problem in healthcare.

Epidemiology of antibiotic resistance is complicated by the ability of genes determining this resistance to spread among different types of bacteria. In addition, antibiotic resistant bacteria can overcome barriers between spheres of activities, enterprises and territories. This spread can be associated with humans, animals, food products of animal origin and contaminated environmental objects.

Resistance to, so-called, critically important antibiotics used in medicine is of special concern.

Since it was shown that the use of antibiotics as growth promoters is associated with the threat to human health, the use of all antibiotics as growth promoters has been terminated in the EU countries since 2006. Termination of the use of antibiotics for animal growth promotion reduces the hazard for human health without any harm to health of animals or economical losses in production of animal food products.

An important part of the work on containment of antibiotic resistance is the normative regulation of the use of antibiotics in farm animals. It is proposed that veterinary, agricultural and pharmaceutical bodies consider the possibility to take the following measures: termination of the use of antibiotics as animal growth promoters; the use of antibiotics in animals only on the prescription of a veterinarian; the use of antibiotics of critical importance in healthcare (especially third- and fourth-generation cephalosporins and fluoroquinolones) in farm animals only on reasonable grounds.

у сельскохозяйственных животных только при наличии для этого веских оснований.

Кроме того, антибиотики и продукты их метаболизма могут стать причиной аллергии и симптомов отравления, угнетать активность полезной микрофлоры, способствовать развитию грибковых заболеваний. У человека, регулярно питающегося продуктами, содержащими антибиотики, перегружаются печень и почки, в связи с чем возрастает риск развития хронических заболеваний, лечение которых осложняется все той же устойчивостью микроорганизмов к антибиотикам.

Использование при производстве сырокопченой продукции, мяса даже с остаточными количествами антибактериальных препаратов влечет за собой невозможность производства качественной и безопасной продукции, т.к. процессы естественной и направленной ферментации и созревания будут ими ингибированы [3].

Целью данной работы являлось определение рисков, связанных с наличием в мясе и в продуктах убоя животных остаточных количеств антимикробных препаратов и выявление антибиотикоустойчивых штаммов.

В соответствии поставленной цели были определены следующие задачи:

1. Провести исследование мяса и продуктов убоя животных на наличие остаточных количеств антимикробных препаратов.
2. Установить чувствительность микроорганизмов, выделенных из мяса и продуктов убоя, к антимикробным препаратам.

Материалы и методы

В качестве объектов при исследовании наличия остаточных количеств антимикробных препаратов были использованы мясо (область шейного зареза) и продукты убоя (печень, почки и внутренний жир) крупного рогатого скота (КРС) из 5 хозяйств Центральной части России. В качестве тест-агара для определения остаточных количеств антимикробных препаратов использовали плотную культуральную среду по Кундрату со спорами *Bacillus stearothermophilus*. Устойчивость к антибиотикам (ампициллин, тетрациклин, тилозин, цефалексин) определяли следующих микроорганизмов: *E.coli*, *L.monocytogenes*, *Salmonella*, *Pseudomonas spp.*

Отбор образцов мяса и продуктов убоя животных проводили в цехе убоя деструктивным методом. Каждый отобранный образец упаковывали в индивидуальную упаковку, охлаждали и затем доставляли в лабораторию на исследование. Образцы отбирали от 5 животных из каждого хозяйства.

Пробоподготовку проводили, отбирая с поверхности и глубины (суммарно) лабораторной пробы с помощью стерильных ножниц и пинцетов анализи-

Moreover, antibiotics and products of their metabolism can be a cause of serious allergy and symptoms of poisoning, suppress an activity of beneficial microflora and facilitate development of fungal diseases. When individuals regularly eat products contained antibiotics, their liver and kidney are overloaded; in this connection, the risk of development of chronic diseases grows up and their treatment becomes complicated due to the same antibiotic resistance.

The use of meat even with the residual amounts of antibacterial preparations in production of uncooked smoked products results in the failure to produce quality and safe products since the processes of natural and targeted fermentation and ageing will be inhibited [3].

The aim of this work was assessment of the risks associated with the presence of antimicrobial drug residues in meat products and products of animal slaughter and detection of antibiotic resistant strains.

According to the set goal, the following tasks were determined:

1. To carry out analysis of meat and products of animal slaughter on the presence of antimicrobial drug residues.
2. To determine the sensitivity of the microorganisms isolated from meat and products of animal slaughter to antimicrobials.

Materials and methods

In analysis of the presence of the antimicrobial drug residues, cattle meat (sticking piece) and products of cattle slaughter (liver, kidneys and visceral fat) obtained from 5 enterprises in the central part of Russia were used. Kundra agar with the spores of *Bacillus stearothermophilus* was used as a test-agar for determination of the antimicrobial drug residuals. Resistance to antibiotics (ampicillin, tetracycline, tylosin, cefaloxin) was tested for the following microorganisms: *E.coli*, *L.monocytogenes*, *Salmonella*, *Pseudomonas spp.*

Sampling of meat and products of animal slaughter was carried out in the slaughter floor by the destructive method. Each taken sample was packed in an individual package, chilled and then delivered to the laboratory for analysis. Samples were taken from 5 animals in each enterprise.

Sample preparation was carried out by taking a test sample (50.0–100.0 g) from the surface and deep layers

руемую пробу массой 50,0–100,0 г и измельчая ее на ротационном гомогенизаторе.

В пакет для гомогенизации вносили ($25,0 \pm 0,5$) г измельченной анализируемой пробы добавляли 25 cm^3 физиологический раствор и тщательно перемешивали, получая при этом исходную суспензию. Затем емкость с исходной суспензией выдерживали в термостате при температуре (37 ± 1) °C в течение 90 мин, периодически тщательно перемешивая.

Часть исходной суспензии после термостатирования переносили в центрифужные пробирки и центрифугировали при 3000 об/мин в течение 10 мин. Полученную надосадочную жидкость отбирали в стерильные пробирки.

Наличие остаточных количеств антимикробных препаратов определяли следующим образом: надосадочную жидкость вносили параллельно в две лунки культуральной среды по Кундрату с помощью автоматической пипетки по $0,05 \text{ cm}^3$.

Чашки Петри с исследуемым материалом выдерживали при комнатной температуре не менее 30 мин для диффузии надосадочной жидкости в агар, затем инкубировали в термостате при температуре (65 ± 1) °C в течение ($3,5 \pm 0,5$) ч крышками вверх.

Отсутствие роста тест-культуры, подтверждаемое сохранением синего цвета среды в зоне шириной 2,0 мм и более, оценивали как положительный результат, т. е. как наличие антибиотиков или других антимикробных химиотерапевтических веществ в анализируемой пробе.

Отсутствие роста тест-культуры, подтверждаемое сохранением синего цвета среды в зоне шириной менее 2,0 мм, или наличие роста тест-культуры с изменением цвета среды с синего на желтый, оценивали как отрицательный результат, т.е. как отсутствие антибиотиков или других антимикробных химиотерапевтических веществ в анализируемой пробе.

Устойчивость микроорганизмов к антимикробным препаратам изучали с помощью макрометода серийных разведений в бульоне. Для определения наличия роста микроорганизма пробирки с посевами просматривают в проходящем свете. Рост культуры в присутствии антимикробных препаратов сравнивали с референтной пробиркой («отрицательный» контроль), содержащей исходный инокулюм.

Результаты и обсуждение

При исследовании мяса и продуктов убоя от КРС из пяти хозяйств на наличие остаточных количеств антимикробных препаратов были получены результаты, представленные на рисунке 1.

Прежде всего, данные представленные на рисунке 1 показывают, что существует проблема в использовании антимикробных препаратов в нашей стране, т.к. только в одном хозяйстве из пяти исследованных, полностью отсутствовали эти препараты в мясе

(pooled) of samples using sterile scissors and forceps and mincing it in a rotational homogenizer.

The minced test sample ($25,0 \pm 0,5 \text{ g}$) was put into a bag for homogenization and 25 cm^3 of the physiological solution was added; they were thoroughly mixed obtaining an initial suspension. Then, the container with the initial suspension was held in a thermostat at a temperature of (37 ± 1) °C for 90 min. with intermittent mixing.

A part of the initial suspension after incubation was put into centrifugal tubes and centrifuged at 3000 rpm for 10 min. The obtained supernatant was transferred into sterile tubes.

The presence of the antimicrobial drug residuals was detected as follows: the supernatant was transferred in parallel into two wells with Kundrat agar using automatic pipettes in an amount of 0.05 cm^3 each.

The Petri dishes with the test material were kept at room temperature not less than 30 min. for diffusion of the supernatant liquid into agar; then, they were turned upside down and incubated in a thermostat at a temperature of (65 ± 1) °C for (3.5 ± 0.5) h.

The absence of the test culture growth confirmed by retention of the blue color in a zone with a width of 2.0 mm and more was considered a positive result, i.e., the presence of antibiotics or other antimicrobial chemotherapeutic substances in a test sample.

The absence of the test culture growth confirmed by retention of the blue color in a zone with a width of less than 2.0 mm or the presence of the test culture growth with a change in the medium color from blue to yellow was considered a negative result, i.e., the absence of antibiotics or other antimicrobial chemotherapeutic substances in a test sample.

Antimicrobial resistance was studied with broth macrodilution method. To detect the growth of microorganisms, the inoculated tubes were examined using transmitted light. The growth of a culture in the presence of antimicrobials was compared with the reference tube (a negative control) contained the initial inoculum.

Results and discussion

When studying meat and the products of cattle slaughter from five enterprises on the presence of antimicrobial drug residues, the results presented in Fig.1 were obtained.

The data presented in Fig. 1 show above all that there is a problem of using antimicrobials in our country as these preparations were fully absent in meat and products of animal slaughter only in one out of five enterprises (No.3).

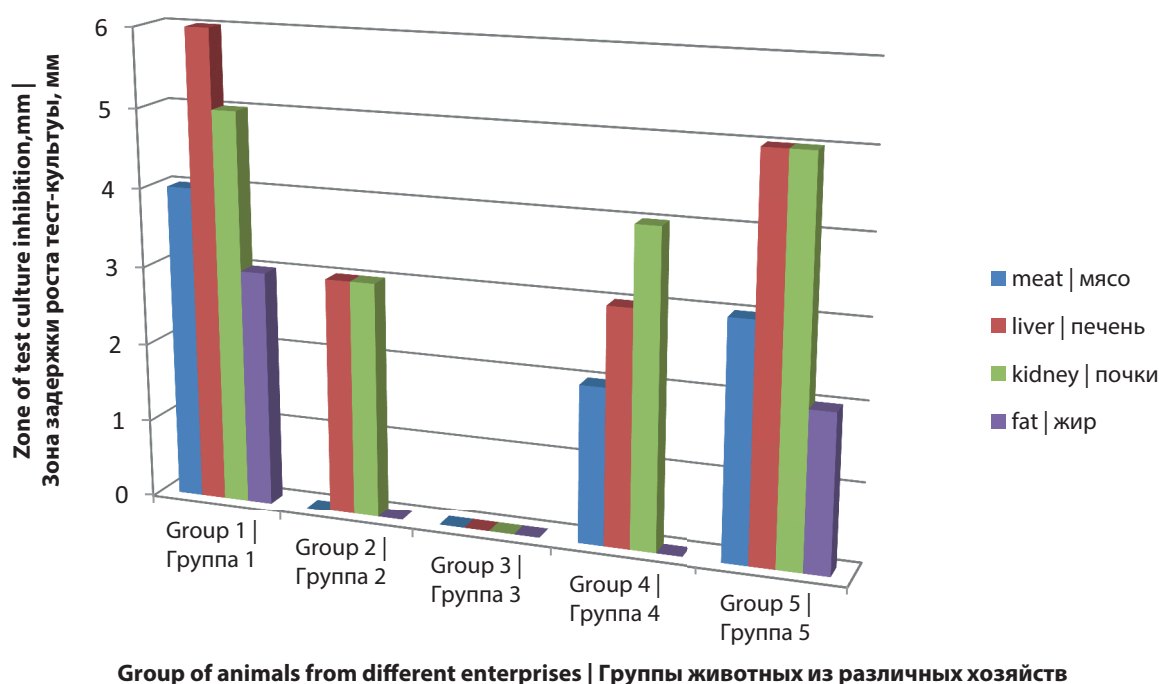


Figure 1. Results of analysis of meat and products of cattle slaughter for the presence of different amounts of antimicrobials
Рис. 1. Результаты исследования мяса и продуктов убоя КРС на наличие остаточных количеств антимикробных препаратов

и в продуктах убоя животных (№ 3). Однако и в мясе и в продуктах убоя, полученных от животных из хозяйства № 1 и 5, они были выявлены.

Анализируя эти данные (рис. 2 и 3), было установлено, что распределение антимикробных препаратов в мясе и продуктах убоя от одного животного следующее: в печени — 33 %, в почках — 28–33 %, в мясе — 20–22 %, и меньше всего в жире — 14–17 %.

Например, в работе Закревского В.В. и Лелеко С.Н., которые проводили оценку мясного сырья, поступающего на мясоперерабатывающие предприятия Санкт-Петербурга из разных стран мира, приведены данные исследования говядины, произведенной в РФ, на наличие остаточных количеств антибиотиков (тетрацилин, стрептомицин и левомицетин). Авторами было установлено, что 25 % исследованных образцов говядины были загрязнены [4].

В наших исследованиях был использован скрининговый метод, с помощью которого можно обнаружить

However, they were revealed both in meat and products of animal slaughter obtained from the animals from enterprises No. 1 and 5.

When analyzing these data (Fig. 2 and 3), it was found that distribution of antimicrobials in meat and products of animal slaughter from an individual animal was as follows: 33 % in liver, 28–33 % in kidney, 20–22 % in meat, and the least amount (14–17 %) in fat.

Zakrevsky V.V. and Leleko S.N., who assessed meat raw material delivered to meat processing enterprises of Saint Petersburg from different parts of the world, presented in their works the data on examination of beef produced in the RF on the presence of the antibiotic residues (tetracycline, streptomycin and levomycetin). The authors established that 25% of the tested samples were contaminated [4].

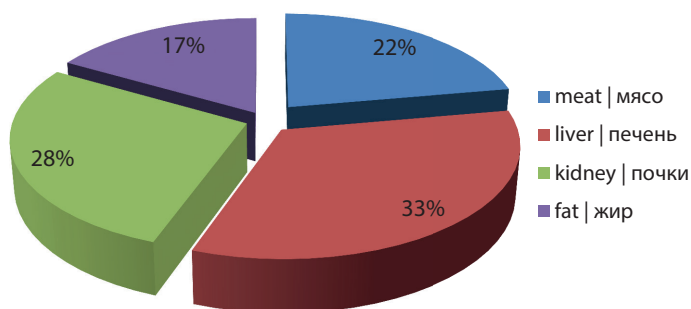


Figure 2. Diagram of antimicrobial distribution in meat and products of cattle slaughter from enterprise No.1

Рис. 2. Диаграмма распределения остаточных количеств антимикробных препаратов в мясе и продуктах убоя КРС из хозяйства № 1

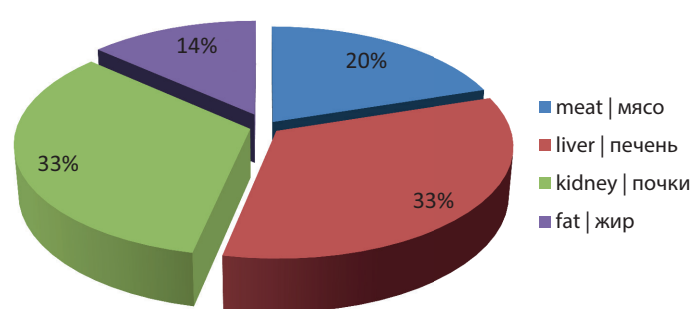


Figure 3. Diagram of antimicrobial distribution in meat and products of cattle slaughter from enterprise No.5

Рис. 3. Диаграмма распределения остаточных количеств антимикробных препаратов в мясе и продуктах убоя КРС из хозяйства № 5

не только эти антибиотики. Поэтому, мы предполагаем, что процент контаминированных образцов по результатам наших исследований был больше.

На основании вышеизложенного можно сказать что, мясо и продукты убоя КРС контаминированы антимикробными препаратами, и чтобы исключить переработку и реализацию такого сырья, необходимо проводить оценку на наличие остаточных количеств антибиотиков и других антимикробных химиотерапевтических веществ [5].

ВОЗ подготовила список антибиотиков «критически важных» для медицины. К таким приоритетным антибиотикам, в отношении которых нужно срочно осуществлять стратегии снижения риска, относятся фторхинолоны, цефалоспорины третьего и четвертого поколений и макролиды [1]. Это означает, что если к этим препаратам разовьется устойчивость у микроорганизмов.

При определении рисков, связанных с наличием остаточных количеств антимикробных препаратов была изучена устойчивость к антибиотикам микроорганизмов выделенных из мяса и в продуктах убоя животных. Результаты представлены в таблице 1.

На основании проведенных исследований установлено, что Грамотрицательная микрофлора, выделенная из мяса и продуктов убоя животных, обладает устойчивостью к антимикробным препаратам: *E. coli*, *Salmonella* и *Pseudomonas* к ампициллину в дозировке 1–10 мкг/см³, к тилозину в дозировке 1–30 мкг/см³, а *Pseudomonas* устойчив еще и к цефалолексину в дозировке 10–100 мкг/см³, к тетрациклину в дозировке 0,1–1,0 мкг/см³. Один из исследованных штаммов *Salmonella* устойчив еще и к тетрациклину в дозировке 0,1–5,0 мкг/см³, а другой только в дозировке 0,1 мкг/см³. Штаммы

In our investigations, we used the screening method, with which it was possible to detect not only these antibiotics. Thus, we suppose that the percentage of the contaminated samples was higher according to our results.

Based on the foregoing, it can be said that meat and products of cattle slaughter are contaminated with antimicrobials and it is necessary to assess the content of residuals of antibiotics and other antimicrobial chemotherapeutic substances to exclude processing and realization of such raw material [5].

WHO has prepared the list of critically important antimicrobials for human medicine. These top priority antimicrobials, which require urgent implementation of the risk mitigation strategies, include third- and fourth-generation cephalosporins and fluoroquinolones, and macrolides [1].

In assessment of risks associated with the presence of the antimicrobial drug residuals, antibiotic resistance of microorganisms isolated from meat and products of animal slaughter was determined. The results are presented in Table 1.

Based on the performed research, it was established that gram-negative microflora isolated from meat and products of animal slaughter had resistance to antimicrobials: *E. coli*, *Salmonella* and *Pseudomonas* to ampicillin in a dose of 1–10 µg/ cm³, to tylosin in a dose of 1–30 µg/ cm³; *Pseudomonas* was also resistant to cefalolexin in a dose of 10–100 µg/ cm³ and tetracycline in a dose of 0.1–1.0 µg/ cm³. One of the tested strains of *Salmonella* was also resistant to tetracycline in a dose of 0.1–5.0 µg/ cm³, another in

Table 1 | Табл. 1

№	Microorganism Наименование микроорганизма	ampicillin, µg/ml Ампициллин, мкг/мл			tetracycline, µg/ml Тетрациклин, мкг/мл			tylosin, µg/ml Тилозин, мкг/мл			cefalolexin, µg/ml Цефалолексин, мкг/мл		
		1	5	10	0,1	1	5	1	10	30	10	50	100
1	<i>E.coli</i>	+	+	+	+	–	–	+	+	+	–	–	–
2	<i>L.monocytogenes</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
3	<i>L.monocytogenes</i>	±	–	–	±	–	–	–	–	–	–	–	–
4	<i>L.monocytogenes</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
5	<i>L.monocytogenes</i>	–	–	–	–	–	–	±	–	–	±	–	–
6	<i>L.monocytogenes</i>	±	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
7	<i>Pseudomonas spp.</i>	+	+	+	+	+	–	+	+	+	+	+	+
8	<i>Pseudomonas spp.</i>	+	+	+	+	–	–	+	+	+	+	+	±
9	<i>Salmonella spp.</i>	+	+	+	+	–	–	+	+	+	–	–	–
10	<i>Salmonella spp.</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–	–	–
11	<i>Salmonella spp.</i>	+	±	±	+	–	–	+	+	+	+	+	±

Note: «+» — a microorganism have resistance to a drug in the indicated concentration;

«–» — a microorganism do not have resistance to a drug in the indicated concentration

«±» — an antibacterial preparation has a bacteriostatic effect on a microorganism

Примечание: «+» — микроорганизм обладает устойчивостью к препарату в указанной концентрации; «–» — микроорганизм не обладает устойчивостью к препарату в указанной концентрации; «±» — антибактериальный препарат оказывает на микроорганизм бактериостатический эффект.

L.monocytogenes не обладали устойчивостью к антибиотикам.

Например, штаммы *E. coli* животного и водного происхождения, контаминирующие пищевые продукты, могут быть носителями генов резистентности, которые могут быть переданы бактериям, обитающим в организме людей, или другим патогенным микроорганизмам во время их пребывания в кишечнике. Если устойчивый штамм *E. coli* колонизирует организм человека и вызывает развитие заболевания или передает гены резистентности патогенным бактериям, обычное лечение будет неэффективным, что приведет более длительному и тяжелому течению заболеванию.

Косвенные угрозы возникают, когда гены резистентности передаются в организме животных от устойчивых бактерий — таких как *E. coli* или представители рода *Enterococcus* — к бактериям, патогенных для людей. Гены резистентности могут легко передаваться от одних бактерий к другим, обитающих у наземных животных, рыб и людей. Более того, такой перенос может происходить в различных условиях окружающей среды, например на кухнях, в помещениях для содержания животных или в водоемах [6].

Пищевые продукты, преимущественно животного происхождения, являются важным резервуаром антибиотикорезистентных сальмонелл, которые могут передаваться от сельскохозяйственных животных к человеку. Более того, среди некоторых сероваров сальмонелл широко распространена полирезистентность (устойчивость к антибиотикам более чем четырех классов), особенно среди штаммов *S. typhimurium* — как в глобальных масштабах, так и в Европейском регионе [7].

Выводы

Установлено что:

1. На переработку поступает мясо и продукты убой животных контаминированных антимикробными препаратами;
2. Микроорганизмы, выделенные из мяса и продуктов убой животных, обладают устойчивостью к антимикробным препаратам.
3. Распределение антимикробных препаратов в мясе и продуктах убой животного следующее: в печени — 33 %, в почках — 28–33 %, в мясе — 20–22 %, в жире — 14–17 %.
4. Почти 80 % животноводческих хозяйств не выдерживают сроки перед направлением на убой КРС после использования антимикробных препаратов

Таким образом, есть определенный риск при наличии антибиотиков и других антимикробных химиотерапевтических веществ в мясе и в продуктах убой животных, как для здоровья человечества, так и для переработчиков мяса. Риск заключается в том что, бесконтрольное использование антимикробных препаратов в ветеринарии и в животноводстве приведет

a dose of only 0.1 µg/ cm³. *L.monocytogenes* strains did not have resistance to antibiotics.

E. coli strains of animal and water origin contaminating food products can be carriers of resistance genes, which can be transferred to bacteria inhabiting a human body or other pathogenic microorganisms during their presence in gut. If a resistant strain of *E. coli* colonizes a human body and causes a disease, or transfers resistance genes to pathogenic bacteria, than usual treatment will be ineffective leading to more durable and severe course of a disease.

Indirect threats occur when resistance genes are transferred to an animal body from resistant bacteria (such as *E. coli* or representatives of the genus *Enterococcus*) to human pathogenic bacteria. Resistance genes can be easily transferred from bacteria to bacteria that inhabit terrestrial animals, fish and humans. Moreover, this transfer can occur in different environmental conditions, for example, in kitchens, in facilities for animal keeping or in water reservoirs [6].

Food products, mainly of animal origin, are an important reservoir of antibiotic resistant *Salmonella*, which can be transferred from farm animals to humans. Moreover, multi-resistance (resistance to more than four classes of antibiotics) is widely distributed among some *Salmonella* serovars, especially among *S. typhimurium* strains, both on a global scale and in the European region [7].

Conclusions

It was established that:

1. Meat and products of animal slaughter contaminated with antimicrobials came for processing;
2. Microorganisms isolated from meat and products of animal slaughter had antimicrobial resistance.
3. Distribution of antimicrobials in meat and products of animal slaughter was as follows: 33 % in liver, 28–33 % in kidney, 20–22 % in meat, 14–17 % in fat.
4. Almost 80 % of animal husbandry enterprises did not adhere to the terms of withdrawal periods before sending cattle for slaughter after using antimicrobials.

Therefore, there is a certain risk both for human health and for meat processors when antibiotics and other antimicrobial chemotherapeutic substances are present in meat and products of animal slaughter. The risk resides in the fact that uncontrolled use of antimicrobials in veterinary medicine and animal husbandry will lead to an increase in

к увеличению устойчивых к антибиотикам штаммов микроорганизмов, а у переработчиков мяса возникнут проблемы с выпуском качественной и безопасной продукции.

Полученные результаты исследований позволяют рекомендовать на ветеринарной точке осмотра внутренних органов проводить отбор проб печени, почек, жира и мяса для качественной оценки наличия остаточных количеств антибиотиков и других антимикробных химиотерапевтических веществ.

Такой анализ можно провести, используя экспресс-метод, представленный и использованный при выполнении данной работы. Он позволяет, не имея дорогостоящего оборудования, в условиях производственной лаборатории провести испытание мяса и продуктов убоя животных и в течение 5–6 часов определить остаточные количества антибиотиков и других антимикробных химиотерапевтических веществ без видовой и количественной идентификации и принять быстрое решение о дальнейшем использовании мясного сырья.

antibiotic resistant strains of microorganisms, while processors will have problems with manufacturing quality and safe products.

The obtained results of the study make it possible to recommend sampling of liver, kidneys, fat and meat at a veterinary point of inspection of internal organs to qualitatively assess the presence of residues of antibiotics and other antimicrobial chemotherapeutic substances..

This analysis can be carried out using the express method, which was presented and used in this work. It enables analysis of meat and products of animal slaughter in the laboratory conditions without expensive equipment, detection of residues of antibiotics and other antimicrobial chemotherapeutic substances during 5–6 hours without identification of a type or quantity, and making prompt decision on the further use of meat raw material.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. European Centre for Disease Prevention and Control. The bacterial challenge: time to react — a call to narrow the gap between multidrug-resistant bacteria in the EU and the development of new antibacterial agents. Stockholm, 2009. — 54P. www.ecdc.europa.eu www.emea.europa.eu.
2. European Food Safety Authority. The Community summary report on antimicrobial resistance in zoonotic agents from animals and food in the European Union in 2004–2007. EFSA Journal, 2010, 8(4):1309–1615.
3. Басова Е. Война миров: антибиотики в сельском хозяйстве. Информационное агентство DairyNews (ООО «Новости молочного рынка»), 2012.
4. Закревский, В.В. Современная лабораторная диагностика антибиотиков и нитрофуранов в мясных продуктах / В.В. Закревский, С.Н. Лелеко // Материалы девятой Международной научной конференции «Донозология — 2013. Факторы риска и здоровье населения при использовании наноматериалов и нанотехнологий» / под общ. ред. д.м.н., проф. М.П. Захарченко. — СПб.: Кризмас+, 2013. — С. 136–138.
5. Минаев М.Ю., Батаева Д.С., Еремцова А.А. Технологические риски, связанные с образованием стафилококкового энтеротоксина при производстве сухих сырокопченых колбасах, выработанных с применением стартовых культур // Мясная индустрия. 2015. № 12. с.24–28.
6. Kruse H, Sørum H. Transfer of multiple drug resistance plasmids between bacteria of diverse origins in natural microenvironments. Applied and Environmental Microbiology, 1994, 60(11): 4015–4021.
7. European Centre for Disease Prevention and Control et al. Joint opinion on antimicrobial resistance (AMR) focused on zoonotic infections. Scientific Opinion of the European Centre for Disease Prevention and Control; Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards; Opinion of the Committee for Medicinal Products for Veterinary Use; Scientific Opinion of the Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks. EFSA Journal, 2009, 7(11):1372 (<http://www.efsa.europa.eu/it/efsa-journal/doc/1372.pdf>, accessed 21 January 2011).

REFERENCES

1. European Centre for Disease Prevention and Control. The bacterial challenge: time to react — a call to narrow the gap between multidrug-resistant bacteria in the EU and the development of new antibacterial agents. Stockholm, 2009. — 54P. www.ecdc.europa.eu www.emea.europa.eu.
2. European Food Safety Authority. The Community summary report on antimicrobial resistance in zoonotic agents from animals and food in the European Union in 2004–2007. EFSA Journal, 2010, 8(4):1309–1615.
3. Basova E. The war of the worlds: antibiotics in animal husbandry. Information agency DairyNews (LLC «News in dairy market»), 2012.
4. Zakrevsky, V.V. Modern laboratory diagnostics of antibiotics and nitrofurans in meat products/ V.V. Zakrevsky, S.N. Leleko // Proceedings of the 9th International scientific conference «Donosology –2013. Risk factors and population health upon the use of nanomaterials and nanotechnologies»/ under the general editorship of doctor of medical sciences, prof. M.P. Zakharchenko. Saint Petersburg: Christmas-plus, 2013.- pp. 136–138.
5. Minaev M.Yu., Bataeva D.S., Eremtsova A.A. Technological risks associated with formation of staphylococcal enterotoxin in production of dry uncooked smoked sausages manufactured with the use of starter cultures// Meat Industry. 2015. No. 12. pp.24–28.
6. Kruse H, Sørum H. Transfer of multiple drug resistance plasmids between bacteria of diverse origins in natural microenvironments. Applied and Environmental Microbiology, 1994, 60(11): 4015–4021.
7. European Centre for Disease Prevention and Control et al. Joint opinion on antimicrobial resistance (AMR) focused on zoonotic infections. Scientific Opinion of the European Centre for Disease Prevention and Control; Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards; Opinion of the Committee for Medicinal Products for Veterinary Use; Scientific Opinion of the Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks. EFSA Journal, 2009, 7(11):1372 (<http://www.efsa.europa.eu/it/efsa-journal/doc/1372.pdf>, accessed 21 January 2011).

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Принадлежность к организации

Батаева Дагмара Султановна — кандидат технических наук, доцент, руководитель направления микробиологии, ведущий научный сотрудник лаборатории «Гигиена производства и микробиология», Всероссийский научно-исследовательский институт мясной промышленности им. В.М.Горбатова
109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26
Тел.: 8-495-676-60-11
E-mail: b.dagmara@inbox.ru

Зайко Елена Викторовна — старший лаборант лаборатории «Гигиена производства и микробиологии», Всероссийский научно-исследовательский институт мясной промышленности им. В.М.Горбатова
109316 г. Москва, ул. Талалихина 26,
Тел.: 8-495-676-60-11
E-mail: el.zaiko@yandex.ru

Критерии авторства

Ответственность за работу и предоставленные сведения несут все авторы.

Все авторы в равной степени участвовали в этой работе.

Батаева Д.С. разрабатывала научно-методические подходы к проведению работ, определяла объем исследований, анализировала полученные данные, выполняла описательную часть и корректировала после подачи в редакцию.

Зайко Е.В. отбирала объекты исследования, выполняла исследования.

Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 11.08.2016

AUTOR INFORMATION

Affiliation

Bataeva Dagmara Sultanovna — candidate of technical sciences, docent, Head of the Direction of Microbiology, leading scientific worker of the Laboratory «Hygiene of production and microbiology», The V.M. Gorbato All-Russian Meat Research Institute
109316, Moscow, Talalikhina str., 26
Tel.: 8-495-676-60-11
E-mail: b.dagmara@inbox.ru

Zaiko Elena Victorovna — senior research technician of the Laboratory «Hygiene of production and microbiology», The V.M. Gorbato All-Russian Meat Research Institute
109316, Moscow, Talalikhina str., 26
Tel.: 8-495-676-60-11
E-mail: el.zaiko@yandex.ru

Contribution

All authors bear responsibility for the work and presented data.
All authors made an equal contribution to the work.

Bataeva D.S. developed the scientific methodical approaches to performing the work, determined the volume of investigation, analyzed the obtained data, performed the descriptive part and made corrections after submission to the editorial office.

Zaiko E.V. sampled the subjects of the investigation and performed the analysis.

The authors were equally involved in writing the manuscript and bear the equal responsibility for plagiarism.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Received 11.08.2016