



Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies

ISSN 2518–7554 print
ISSN 2518–1327 online

doi: 10.15421/nvlvet8722
<http://nvlvet.com.ua/>

UDC 637:614.31:616.98

Analysis of the results of the study on the presence of methicillin-resistant *Staphylococcus* (MRSA) in food products of animal origin

T. Kozytska, T. Garkavenko

State Scientific and Research Institute of Laboratory Diagnostics and Veterinary and Sanitary Expertise, Kyiv, Ukraine

Article info

Received 27.02.2018
Received in revised form
26.03.2018
Accepted 29.03.2018

State Service of Ukraine on Food
Safety and Consumer Protection
State Scientific And Research
Institute Of Laboratory Diagnostics
And Veterinary And Sanitary
Expertise, Donetsk str., 30, Kyiv,
03151, Ukraine.
Tel.: +38-097-710-72-93.
E-mail: megamicrob@ukr.net

Kozytska, T., & Garkavenko, T. (2018). Analysis of the results of the study on the presence of methicillin-resistant *Staphylococcus* (MRSA) in food products of animal origin. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. 20(87), 112–115. doi: 10.15421/nvlvet8722

The frequency of *Staphylococcus aureus* resistance to antibiotics (AB) has significant differences in different countries and geographical regions. The main problem is represented by strains of methicillin-resistant staphylococcus (MRSA), resistant to many ABs. Often, MRSA is transmitted to humans through animal food products. Purpose: investigate animal foods for *S. aureus* and detect methicillin-resistant strains. Food research was carried out according to ISO 6888-1, ISO 6888-2, MW 15.2-5.3-004:2007, State standard 10444.2. The material for further research was the isolates of *S. aureus* isolated from different groups of food products of animal origin. Disks containing methicillin (30 mg) and oxacillin (5 mg) and Müller-Hinton nutrient medium were used to determine the sensitivity to AB. The research was conducted by disc diffusion method in accordance with the Methodological Guidelines «Determination of microorganism sensitivity to antibacterial preparations» dated 12/25/2014. In addition, the data of the state veterinary report on the study of milk of cows and determination of antibiotic resistance of cultures isolated from it in 2017 were analyzed. A study on the presence of coagulase-positive *Staphylococcus* was carried out in food products of animal origin during 2016–2017. During this period, 58 isolates of *S. aureus* were identified, of which 7 were classified as MRSA, which was an average of 12.1 % of all isolated cultures. The highest amount of MRSA is isolated from chicken meat – 29.0% and meat products – 20.0%, ready-to-eat fish – 16.7% and meat mincer – 6.1%. The 2017 report on antibiotic resistance from all regions of Ukraine was also analyzed for the detection of *S. aureus* strains resistant to oxacillin. These data were available only for *S. aureus* isolated from milk from cows suffering from subclinical mastitis. Of the 47 strains of *S. aureus*, 22 (46.8%) were methicillin-resistant. MRSA poses a serious threat to the health of humans and animals and may be transmitted through food. There is no monitoring system in Ukraine on the detection of resistant strains in food products. A single list of ABs according to which laboratories conducted sensitivity tests was not approved. Therefore, in most cases, the sensitivity of *Staphylococcus* to oxacillin/methicillin is not determined. We found that, on average, MRSA from animal foods of animal origin in Ukraine is found in 12.1% of cases. Milk of animals, that suffer from subclinical forms of mastitis, can serve as a source of MRSA for humans, because it was detected in 46.8% of cases.

Key words: antibiotics, methicilin, oxacilin, resistance, staphylococcus, food products, MRSA.

Аналіз результатів дослідження щодо наявності метицилінрезистентного стафілокока (MRSA) в харчових продуктах тваринного походження

Т.Г. Козицька, Т.О. Гаркавенко

Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи,
м. Київ, Україна

Стафілококи відіграють значну роль у виникненні різноманітних захворюваннях людей. Серед них найбільш важкими інфекціями є ті, які викликані метицилінрезистентними штамами (MRSA). Харчові продукти тваринного походження, контаміновані MRSA, після споживання людьми можуть нести загрозу, навіть, летального характеру. Тому, виявлення цих мікроорганізмів набуває все більш важливого значення. Проведено дослідження щодо виявлення MRSA із харчових продуктів тваринного походження. Визначено

но види харчових продуктів, в яких найчастіше зустрічається резистентність штаму стафілококу. Встановлено, що в середньому із харчових продуктів тваринного походження MRSA виявляється у 12,1% випадках. Найчастіше метицилінрезистентні штами були присутні в м'ясній продукції 10,7%, хоча відповідно до національних нормативних документів (Обов'язкового мінімального переліку досліджень сировини, продукції тваринного та рослинного походження, комбікормової сировини, комбікормів, вітамінних препаратів та ін., які слід проводити у державних лабораторіях ветмедицини і за результатами яких видається ветсвідоцтво) визначення стафілококів в даній продукції не проводиться, дослідження проводилися на вимогу клієнтів, згідно ТУ. Молоко тварин може слугувати джерелом MRSA для людей, оскільки в ньому було виявлено 46,8% позитивних випадків. В Україні необхідно впровадити державну систему моніторингу щодо визначення антибіотикорезистентності збудників харчових токсикоінфекцій з метою врегулювання проблеми розвитку стійкості до протимікробних препаратів.

Ключові слова: антибіотики, метицилін, оксацилін, резистентність, стафілокок, харчові продукти, MRSA.

Вступ

S. aureus є одним із передових збудників гнійно-запальних інфекцій. За даними літератури в останні роки в багатьох країнах світу спостерігається ріст резистентних до антимікробних препаратів штамів *S. aureus*. Така ж ситуація відмічається і в Україні (Akotov and Zuev, 1983; Salmanov and Verner, 2014; Salmatov, 2015).

Очевидно, що необхідно володіти місцевими даними щодо резистентності *S. aureus* до різних АБП. Однак в Україні не проводились багатоцільові дослідження щодо антибіотикорезистентності *S. aureus*.

Дані літератури також свідчать, що частота резистентності *S. aureus* до АБП, має значні розбіжності в різних країнах та географічних регіонах. Основну проблему являють штами MRSA, стійкі до багатьох АБП (Barton et al., 2006; Bhavnani et al., 2006; Demihovskaja, 2012).

Так як метицилін не застосовується при лікуванні у зв'язку із частими побічними ефектами, препарат був замінений на менш токсичний і стабільний – оксацилін, проте термін метицилінрезистентний золотистий стафілокок (англ. *methicillin-resistant Staphylococcus aureus*) залишився у використанні.

Навколишнє середовище (вода, ґрунт, повітря), хворі тварини і птиця, а також продукція від них, є джерелом цього збудника. Додаткове забруднення стафілококами нерідко відбувається вже в процесі переробки продуктів тваринного походження та на різних етапах руху їх до споживача (Ivchenko, 1980; Berdnyk and Aranchii, 2005).

Неодноразово в різних країнах світу фіксували харчові отруєння, причиною яких стали ентеротоксини, вироблені стафілококами, зокрема MRSA.

Звіт про харчові отруєння, викликані MRSA надходив із Сполучених Штатів Америки (США), де троє дорослих отруїлися після того, як з'їли салат з капусти, забруднений ентеротоксином виробленим MRSA. У Нідерландах та в США штаму MRSA був інокульований із необробленої свинини, в Південній Кореї та Йорданії – з курятини. Однак не були з'ясовані джерела забруднення м'яса, так як досліджені зразки м'яса були відібрані в роздрібних магазинах та на ринках. На жаль, не було проведено жодного дослідження на виявлення MRSA-носіїства у людей, що працювали в цих місцях.

Зовсім нещодавно голандські дослідники підтвердили, що LA-MRSA (стафілококи зоонозного походження) набуває широкого розповсюдження у різних харчових продуктах. Із досліджених 2217 зразків нео-

броблених м'ясних продуктів штами MRSA було виявлено у 264 зразках (11,9%) (*Meticillin-rezestentnyj stafilocokk*).

Метою роботи було дослідити харчові продукти тваринного походження на наявність *Staphylococcus aureus* та виявити метицилінрезистентні штами.

Матеріал та методи досліджень

Дослідження харчових продуктів проводились згідно: ISO 6888-1 (ДСТУ ISO 6888-1) (ISO 6888-1:1999), ISO 6888-2 (ДСТУ ISO 6888-2) (ISO 6888-2:1999), ISO 6888-3:2003(E) (ДСТУ ISO 6888-3) (ISO 6888-3:2003), ДСТУ IDF 138:2003 (DSTU IDF 138:2003), ГОСТ 30347-97 (GOST 30347-97), ГОСТ 10444.2.4-94 (GOST 10444.2.4-94), МВ 15.2-5.3-004:2007 (MV 15.2.-5.3-004:2007).

Матеріалом для подальших досліджень стали 58 ізолятів *S. aureus*, які були виділені з різних груп харчових продуктів тваринного походження шляхом рутинних досліджень в Державному науково-дослідному інституті з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи та в Запорізькій регіональній державній лабораторії ветеринарної медицини.

Для визначення чутливості до АБП використовувалися диски з вмістом метициліну (30 мкг) та оксациліну (1 мкг) (HiMedia, Індія) та поживне середовище Мюллер-Хинтона (HiMedia, Індія). Дослідження проводились диско-дифузним методом згідно методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» (Harkavenko et al., 2015).

Також було проаналізовано дані державної ветеринарної звітності щодо дослідження молока корів на мастит та визначення антибіотикорезистентності виділених культур за 2017 рік.

Результати та їх обговорення

Згідно чинних вимог національного законодавства «Обов'язкового мінімального переліку досліджень сировини, продукції тваринного та рослинного походження, комбікормової сировини, комбікормів, вітамінних препаратів та ін., які необхідно проводити в державних лабораторіях ветмедицини і за результатами яких видається ветеринарне свідоцтво (Ф-2)» дослідження на наявність коагулазопозитивних стафілококів проводиться у наступних харчових продуктах тваринного походження: м'ясо птиці, м'ясо тварин, напівфабрикати з м'яса птиці, ковбаси та кулінарні

вироби з м'яса та птиці, молоко, молочні та молочно-кислі вироби, сир, риба, морепродукти. Також державними лабораторіями ветеринарної медицини на замовлення клієнтів дослідження можуть проводитись на відповідність вимогам технічних умов на певний вид продукції (м'ясо, фарш м'ясний, м'ясні напівфабрикати, ковбаски, кури-гриль та ін.).

За 2016 рік Державним науково-дослідним інститутом з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи та Запорізькою регіональною державною лабораторією ветеринарної медицини було проведено 8463 досліджень різних видів продукції тваринного походження на стафілокок, в 105 випадках було виявлено присутність *S. aureus*, нами було досліджено 58 ізолятів (табл. 1).

Таблиця 1

Види харчових продуктів тваринного походження, в яких було виявлено стафілококи, які були взяті на дослідження (n = 58)

№ п/п	Вид зразка	N
1	М'ясо свини	2
2	М'ясо курки	7
3	Фарш м'ясний	33
4	Напівфабрикати м'ясні	5
5	Ковбаса з м'яса	3
6	Кури-гриль	2
7	Риба готова до споживання	6

Примітка: N – кількість досліджених зразків

Таблиця 2

Чутливість до оксациліну та метициліну ізолятів *S.aureus*, виділених з харчових продуктів тваринного походження (n = 58)

Антибактеріальний препарат	Продукт, з якого виділений <i>MRSA</i>																				
	М'ясо свини (n – 2)			М'ясо курки (n – 7)			Фарш м'ясний (n – 33)			Напівфабрикати м'ясні (n – 5)			Ковбаса з м'яса (n – 3)			Кури-гриль (n – 2)			Риба готова (n – 6)		
	Ч	П	Р	Ч	П	Р	Ч	П	Р	Ч	П	Р	Ч	П	Р	Ч	П	Р			
Оксацилін	2	0	0	3	2	2	23	8	2	3	1	1	3	0	0	0	2	1	2	3	1
Метицилін	2	0	0	3	2	2	23	8	2	3	1	1	3	0	0	0	2	1	2	3	1

Примітка: n – загальна кількість зразків; Ч – чутливі штами; П – помірно чутливі; Р – резистентні штами

Найбільше ізолятів коагулазопозитивних стафілококів було виявлено в ДНДІЛДВСЕ – 26, з них 13 (50%) склали *MRSA*. В Дніпропетровській області державними лабораторіями було виявлено 15 ізолятів *S.aureus*, з них 7 (47%) *MRSA* та в Запорізькій області з 6 виявлених штамів *S. aureus* 2 (33%) виявились резистентними до оксациліну.

Проте слід зазначити, що лише в ДНДІЛДВСЕ та в цих двох регіональних лабораторіях проводять визначення чутливості виділених штамів *S. aureus* до оксациліну/метициліну.

Висновки

1. *MRSA* несуть серйозну загрозу для здоров'я людей та тварин, так як частота їх виявлення складає вагомий частину від усіх штамів *S. aureus*, які виділяють із харчових продуктів тваринного походження.

Зазвичай ніхто в подальшому не вивчає чутливість виділених штамів *S. aureus* з харчових продуктів до антибактеріальних препаратів. Провівши дослідження за даним напрямком, ми виявили істотну різницю показників чутливості до оксациліну / метициліну у виділених з харчових продуктів штамів *S. aureus* (табл. 2).

Аналіз результатів лабораторних досліджень щодо чутливості ізолятів *S.aureus* до оксациліну і метициліну показав, що серед стафілококів, які були виділені із зразків харчових продуктів в середньому 12,1% складає метицилінрезистентний стафілокок (табл. 2).

Слід відмітити, що результати досліджень при використанні дисків як з оксациліном і з метициліном були ідентичні.

Найбільша кількість *MRSA* виділена з м'яса курки – 29,0% та напівфабрикатів м'ясних – 20,0%, риби готової до споживання – 16,7% та фаршу м'ясного – 6,1%. *MRSA* було виявлено в м'ясі свинини та ковбасі.

Нами були також проаналізовані офіційні звітні дані за 2017 рік по антибіотикорезистентності з усіх областей України щодо виявлення штамів *S. aureus*, резистентних до оксациліну. Ці дані були наявні лише по *S. aureus*, які були ізольовані з молока корів, хворих на субклінічні форми маститу. Із 47 штамів *S.aureus* 22 (46,8%) виявились метицилінрезистентними.

2. В Україні не моніториться ситуація щодо резистентності культур, які виділяються із харчових продуктів, зокрема стафілококів.

3. Не затверджений єдиний перелік АБП, згідно якого б лабораторії проводили дослідження щодо визначення чутливості. Так, визначення чутливості стафілококів до оксациліну/ метициліну проводилось лише в ДНДІЛДВСЕ, Запорізькій та Дніпропетровській РДЛІВМ.

4. Нами встановлено, що в середньому із харчових продуктів тваринного походження *MRSA* виявляється у 12,1% випадках.

5. Найчастіше метицилінрезистентні штами були присутні в м'ясній продукції 10,7%, хоча відповідно до національних нормативних документів (Обов'язкового мінімального переліку досліджень сировини, продукції тваринного та рослинного походження, комбікормової сировини, комбікормів, вітамінних

препаратів та ін., які слід проводити у державних лабораторіях ветмецицини і за результатами яких видається ветсвідоцтво) визначення стафілококів в даній продукції не проводиться, дослідження проводилися на вимогу клієнтів, згідно ТУ.

6. Молоко тварин може слугувати джерелом MRSA для людей, оскільки в ньому було виявлено 46,8% позитивних випадків.

В Україні необхідно впровадити державну систему моніторингу щодо визначення антибіотикорезистентності збудників харчових токсикоінфекцій з метою врегулювання проблеми розвитку стійкості до протимікробних препаратів.

References

- Akatov, A.K., & Zuev, V.S. (1983). *Staphylococcus*. M. Medicine.
- Salmatov, A.H. (2015). Antymikrobná rezystentnist ta infektsii, asotsiiovani z medychnoiu dopomohoiu v Ukraini. Epidemiolohichniy zvit multitsentrovoho doslidzhennia (2010–2014 rr.). Monohrafiia. K.: Ah-rar Media Hrup (in Ukrainian).
- Salmanov, A.H., & Verner, O.M. (2014). Antybiotyko-rezystentnist v khirurhichnykh statsionarakh Ukrainy. Aktualni problemy vnutrishno likarnianykh infektsii: antybiotyko -rezystentnist, dezinfektsiia ta sterylizatsiia: materialy mizhnarodnoi naukovo-praktychnoi konferentsii, 18 kvitnia 2014. Kyiv, S.15–17 (in Ukrainian).
- Demihovskaja, E.V. (2012). MRSA – znamenatel'nyj i neizvestnyj meticillin-rezestentnyj S.aureus: mehanizmy rezestentnosti, laboratornaja diagnostika, klinika i jepidemiologija. Zhurnal «Bolezni i antibi-otiki». 2(7). Rezhim dostupu do resursu: <http://www.mif-ua.com/archive/article/34693> (in Russian).
- Barton, M., Hawkes, M., Moore, D. et al. (2006). Guidelines for the prevention and management of community – associated methicillin – resistant *Staphylococcus aureus*: A perspective for Candian health care practitioners The Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology. 17, 4–24. doi: 10.1155/2006/402361.
- Bhavnani, S.M. Ambrose, P.G., Craig, W.A., Dudley, M.N., & Jones, R.N. (2006). Outcomes evaluation of patients with ESBL – and non – ESBL – producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* species as defined by CLSI reference methods. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 54(3), 231–236. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2005.09.011.
- Berdnyk, V.P., & Aranchii, S.V. (2005). *Metodychni rekomendatsii shchodo diahnostryky, profilaktyky subklinichnoho mastytu koriv ta borotby z nym*. Pol-tava (in Ukrainian).
- Ivchenko, V.M. (1980). *Metodicheskie rekomendacii. Laboratornaja diagnostika stafilokokkovih infekcij*. Kishinjov: Timnul (in Russian).
- Meticillin-rezestentnyj stafilokokk. [Elektronnij resurs]. Rezhim dostupu do resursu: <http://dic.academic.ru/dic.nsf/ruwiki/1388574> (in Ukrainian).
- ISO 6888-1:1999. Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) -- Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium. <https://www.evs.ee/products/iso-6888-1-1999>.
- ISO 6888-2:1999. Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) -- Part 2: Technique using rabbit plasma fibrinogen agar medium. <https://www.evs.ee/products/iso-6888-2-1999>.
- ISO 6888-3:2003. Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) -- Part 3: Detection and MPN technique for low numbers. <https://www.evs.ee/products/iso-6888-3-2003>.
- DSTU IDF 138:2003. Sukhe moloko. Vyznachennia *Staphylococcus aureus*. Metodyka pidrakhunku kolonii za temperatury 37 °C (in Ukrainian).
- GOST 30347-97. Moloko i molochnye produkty. Metody opredelenija *Staphylococcus aureus*. <http://www.vashdom.ru/gost/30347-97/> (in Russian).
- GOST 10444.2.4-94. Produkty pishhevye. Metody vyjavlenija i opredelenija kolichestva *Staphylococcus aureus*. <http://docs.cntd.ru/document/1200021067> (in Russian).
- MV 15.2.-5.3-004:2007. Vyznachennia mikrobiolohichnykh pokaznykoiv pid chas provedennia sanytar-nomikrobiolohichnoho kontroliu vyrobnytstva produktsii z ryby ta inshykh vodnykh zhyvykh resursiv na pidpriem-stvakh ta sudnakh, zatverdzeni Derzhavnym komitetom rybnoho hospodarstva Ukrainy 24.12.2007 r. (in Ukrainian).
- Harkavenko, T.O., Nevolko, O.M., Kozytska, T.H., Ordynska, D.O., & Mezhenska, N.A. (2015). Vyznachennia chutlyvosti mikroorhanizmiv do antybakterialnykh preparativ: Metodychni vkazivky. Kyiv, DNDILDVSE (in Ukrainian).