

УДК 637.075:579.678

КАСЯНЧУК В.В., д-р вет. наук, проф., e-mail: v.kasyanchuk@med.sumdu.edu.ua,

БЕРГІЛЕВИЧ О.М., д-р вет. наук, проф., e-mail: o.bergylevych@med.sumdu.edu.ua

Сумський державний університет

КУСТУРОВ В.Б.*, e-mail: v.kasyanchuk@med.sumdu.edu.ua

Сумський національний аграрний університет

ДЕРЯБІН О.М., e-mail: don.lmb@gmail.com

Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ ІЗОЛЯТІВ *ESCHERICHIA COLI*, ВИДІЛЕНИХ З ПОВЕРХНІ ТУШ СВИНЕЙ ДО АНТИБАКТЕРІАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ

*Метою даної статті є вивчення резистентності до антибактеріальних препаратів ізолятів *E. coli*, виділених із поверхні туш свиней на м'ясопереробних підприємствах Одеської та Сумської областей. Для цього використовували класичний диско-дифузійний метод з такими антибіотиками: пеніцилін, метицилін, ванкомицин, лінкоміцин, оксацилін, гентаміцин, офлоксацин, рифампіцин, ампицилін, стрептоміцин. Для ідентифікації ізолятів *E. coli* використовували MIC E-тест- HiCotb для *E. coli* (ТМ Himedia). Було встановлено, що в Одеській області в змивах антибіотикорезистентні ізоляти *E. coli* виділялись в 34,7% випадків, а в Сумській області у 53,7% випадків. Найбільшу стійкість ізоляти проявляли до ампициліну – у 67,3% та у 80,6% випадках, що були ізольовані з туш з Одеської та Сумської області відповідно. Проте виділені ізоляти не мали резистентності до офлоксацину.*

Ключові слова: антибіотикорезистентність, *E. coli*, туші свиней.

Вступ. Резистентність бактерій до антимікробних препаратів (АМР) визнано глобальною проблемою так і у гуманній, так і в ветеринарній медицині. Найважливішим фактором виникнення та поширення антимікробної резистентності є широке та безконтрольне використання антимікробних засобів для лікування людей та тварин. У тваринництві виникнення АМР спровоковано використанням антибіотиків не тільки для терапевтичних цілей, але й ще у кормах для сприяння підвищення продуктивності тварин. Вважається, що практика використання антибактеріальних засобів у кормах для тварин у більшій мірі сприяє виникненню АМР, ніж застосування антимікробних засобів для терапії тварин [3, 6, 7, 9, 10]. У зв'язку із цим, тваринництво та продукція тваринництва віднесені до більшого ризику щодо АМР, ніж використання антибіотиків у гуманній медицині.

Розвиток АМР у бактерій може бути природним, обумовленим видовими властивостями мікроорганізму і набути в результаті дії антимікробного препарату на популяцію мікроорганізмів. Набута резистентність виникає або в результаті мутації в хромосомній ДНК, або в результаті отримання мікробної клітиною мобільних генетичних елементів (плазмід, інтегрони) від інших бактерій (горизонтальне перенесення генів). [3, 12, 14, 15]. За дії

* Здобувач

антибактеріальних засобів серед бактерій шляхом селекції з'являються антибіотикорезистентні, які мають ген резистентності [3,15].

Найбільше епідеміологічне значення має збільшення кількості стійких бактерій-збудників інфекційних захворювань, спільних для людей і тварин. Такими мікроорганізмами є представники родів *Salmonella*, *Campylobacter*, а також, метицилінрезистентний стафілокок (MRS), лістерії, *E.coli*. Інфекції, викликані резистентними бактеріями викликають у людей важкі інфекції, що можуть мати смертельні наслідки [11, 12]. У багатьох країнах світу відзначено збільшення кількості резистентних штамів мікроорганізмів, виділених від тварин та із продуктів тваринного походження, які потрапляють до людського організму через харчовий ланцюг [5, 12].

В останні роки викликає тривогу швидке поширення штамів *E.coli*, які мають стійкість до антибіотиків третього і четвертого поколінь з широким спектром дії. Це особливо небезпечно в зв'язку з тим, що дані бактерії нерідко проявляють стійкість і до інших антимікробних засобів, наприклад, фторхінолонів [14]. *E.coli* відносяться до коменсальних бактерій, широко розповсюджені в довкіллі, а також часто контамінують харчові продукти [12]. *E.coli* можуть контамінувати туші забійних тварин із вмісту кишечника на момент забою, що створює проблему для забезпечення безпечності м'ясних продуктів [3, 4, 8, 10, 13, 16].

E. coli розглядається як індикаторний організм антимікробної резистентності для широкого кола бактерій. Тому дослідники з багатьох країн наводять дані про АМР ізолятів *E. coli*. Більшість досліджень стосуються АМР ізолятів *E. coli* виділених із об'єктів тваринництва. Вчені зазначають, що при виборі антибіотиків для тестування АМР *E. coli* необхідно зважувати на високу геномну пластичність цих мікроорганізмів, що може змінювати їх властивості дуже часто. Крім того, до *E. coli* можуть бути перенесені гени резистентності з інших АБР штамів бактерій. Тому *E. coli* тестують на резистентність до великої кількості антимікробних препаратів, у тому числі до амоксициліну пеніциліну, рифампіцину, оациліну, ванкоміцину, метициліну, амоксициліну, тетрацикліну тощо. Причому більшість дослідників відмічають про 100% стійкість *E. coli* до оациліну, рифампіцину і пенициліну. До інших антибіотиків відмічено регіональні відмінності відносно резистентності *E. coli* до різних антибіотиків [3, 12, 14, 15]. Слід відмітити, що думки вчених сходяться, на доцільності використання антибіотиків фторхінолонового ряду для терапевтичних цілей тому що вони характеризуються широким спектром антимікробної дії та активні до багатьох збудників, в тому числі, до *E. coli* [9, 10].

Таким чином, актуальним питанням є проведення постійного моніторингу для визначення тенденцій резистентності *E. coli* до різних антибіотиків, що має важливе значення для економічного та громадського здоров'я. Оскільки продукти тваринного походження є найпоширенішою причиною захворювань, які передаються з їжею, існує актуальна необхідність

проведення досліджень на АМР основних збудників харчових захворювань у тому числі і *E. coli*.

У зв'язку із цим, в країнах ЄС проводиться постійний моніторинг за *E. coli* відповідно до пріоритетних об'єктів. До таких пріоритетів відноситься продукція тваринного походження у тому числі і свинина. Контроль за виробництвом свинини включає моніторинг поширення АБР ізолятів *E. coli* на тушах свиней.

В Україні, за офіційними даними, в останні роки серед збудників інфекційних захворювань тварин та птиці, які були віднесені до АМР, найбільша частка належить *E. coli* – близько 40%. Найбільший рівень резистентності *E. coli* проявляється до β -лактамів, а на другому місці до фторхінолонів та тетрациклінів. Рівні чутливості/резистентності мікроорганізмів до різних антибактеріальних препаратів в Україні мають відмінності залежно від регіону та збудника: відсоток виділення стійких бактерій до АМП найнижчий в Одеській області, а в Сумській він складає до 60% [2].

На міжнародному рівні для мінімізації проблеми АМР бактерій Всесвітня організація охорони здоров'я (ВООЗ), Продовольча та сільськогосподарська організація Об'єднаних націй (ФАО), Міжнародне епізоотичне бюро (МЕБ) та Комісія Кодекс Аліментаріус розробили стратегію, основою якої є проведення моніторингу за АБР бактерій. Група експертів з Європейської організації з безпечності харчових продуктів (EFSA) з оцінки біологічних ризиків, зробила висновок про те, що їжа може стати засобом для передачі резистентних бактерій до людини. Експерти EFSA розробили рекомендації з профілактики та боротьби АМР та підтвердили необхідність моніторингу за АМР у тому числі за *E. coli* у тварин і у продуктах харчування [6, 7, 11, 12, 14].

ВООЗ розробила шляхи вирішення проблеми АМР, у тому числі для стримування поширення АМР і для цього необхідно використовувати підходи, які забезпечують безпечність харчових продуктів для населення. Крім того, для розуміння причин виникнення і тенденцій поширення резистентності до антибіотиків необхідний моніторинг за стійкістю до антибіотиків зоонозних і сапрофітних бактерій, виділених від різних сільськогосподарських тварин і з продукції тваринництва. Такий моніторинг повинен включати безперервний збір інформації про частоту виділення резистентних штамів, її аналіз і публікацію результатів, що дозволить здійснювати нагляд за стійкістю до антибіотиків, а також дозволяє ідентифікувати специфічні випадки резистентності як, наприклад до *E. coli* [3, 5, 14].

Таким чином, на даний час, стійкість до антибіотиків стала актуальною проблемою для охорони громадського здоров'я більшості країн світу.

Враховуючи те, що в Україні незначна кількість досліджень у даному напрямку, а також те, що всесвітньо визначена актуальність проведення моніторингу антибіотикорезистентності, ми вирішили провести дослідження по вивченню поширення АМР *E. coli* при виробництві свинини.

Метою даної роботи є вивчення резистентності до антибіотиків ізолятів *E. coli*, виділених із поверхні туш свиней на м'ясопереробних підприємствах Одеської та Сумської областей.

Матеріал та методи досліджень. Матеріалом для досліджень були стійкі до АБП ізоляти *E. coli*, виділені із змивів з туш та подрібненого м'яса свиней. Відбір проб змивів проводили на м'ясопереробних підприємствах Одеської та Сумської областей. Мікробіологічні дослідження проводили в Одеській регіональній лабораторії ветеринарної медицини та в мікробіологічній лабораторії кафедри громадського здоров'я Сумського державного університету.

Відбір проб змивів здійснювали протягом 2017 р. Було відібрано 645 проб змивів згідно з вимогами ISO 17604. Проби відбирали у холодильній камері двічі: перед охолодженням туш свиней та не менше як через 12 год. після забою методом тампону з площі 100 см². Відбір змивів проводили із наступних 4-х місць поверхні туш свиней: задня голяшка, зовнішня поверхня тазостегнового відрубу, середина зовнішньої поверхні спинно – поперекового відрубу, внутрішня поверхня падини. Відбір проб змивів проводили щотижня. Кожного тижня у різний день проводили відбір проб від туш, щоб кожен день тижня був охоплений контролем. Проби змивів відбирали випадковою вибіркою, згідно чинних нормативних вимог від 3–5 туш щоденно. Змиви відбирали відповідно правил асептики, використовували фізіологічний розчин. Змиви досліджували в лабораторії протягом 2-х год після відбору змивів.

Мікробіологічні дослідження змивів з метою виділення ізолятів *E. coli* проводили шляхом посіву 5-го десятикратного розведення на одноразові чашки Петрі «Compact Dry» з селективним агаром для колиформ та *E. coli* (виробник NISSUI pharma). Посіви інкубували протягом 48 год при 37°C. До загальних *E. coli* відносили блакитні колонії, які в подальшому досліджували мікроскопічно та біохімічними тестами згідно чинних вимог.

Антимікробну резистентність *E. coli* визначали диско-дифузійним методом в чашках Петрі на Мюллер-Хінтон агарі, який попередньо був засіяний суспензією із ізолятів *E. coli* щільністю 0,5 по МакФарленду. Після нанесення 0,5 мл суспензії на поверхню агара через 30–45 хв розміщували наступні диски антибіотиків: пеніцилін (10 мкг), метицилін (15 мкг), ванкоміцин (30 мкг), лінкоміцин (15 мкг), оксацилін (10 мкг), гентаміцин (30 мкг), офлоксацин (10 мкг), рифампіцин (25 мкг), ампицилін (10 мкг), стрептоміцин (20 мкг).

На кожну чашку розміщали по 4 диски антибіотиків. Досліджували у двократному повторі. Через 24 год інкубування за температури 37±2°C вимірювали лінійкою діаметри зон затримки росту в мм. Оцінку рівнів резистентності оцінювали згідно до критеріїв інтерпретації результатів визначення рівня чутливості до антибіотиків [1].

Крім диско-дифузійного методу, визначали значення мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) для виділених АМР ізолятів *E. coli*, для чого використовували смужки Е-тесту HiComb, МІС-Test для *E. coli* (ТМ Himedia),

які містять різні концентрації досліджуваного антибіотика від максимальної до мінімальної. Ми дослідили Е-тестом два антибіотики: ампіцилін (β -лактамна група) до якого нами була виявлена висока стійкість досліджуваних ізолятів *E. coli* та офлоксацин (фторхінолонова група), до якого була встановлена найбільша чутливість цих ізолятів.

Ступінь чутливості визначали у найвужчому місці еліпсоїдної зони пригнічення росту у мм відповідно до значень, наведених у таблиці 1.

Таблиця 1

Критерії оцінювання рівня чутливості ізолятів *E. coli* до офлоксацину та ампіциліну

Назва антибіотику	Критерії оцінки мм		
	Чутливий \leq	Проміжний	Стійкий \geq
Офлоксацину	2	4	8
Ампіциліну	8	16	32

Згідно з інструкцією, якщо зони затримки росту не виявлено, тоді МІК більша за найвищу концентрацію, що зазначена на смужці, а якщо зона інгібування менша за найнижчу концентрацію, тоді вважають, що МІК нижча за найнижчу концентрацію.

Результати досліджень та обговорення. Із досліджуваних 645 проб змивів з поверхонь туш свиней: 318 з Одеської області та 327 із Сумської області, відповідно були виділені ізоляти *E. coli* у 15,3% (49 проб) та 19,2% (63 проб) випадків. Результати досліджень ізолятів *E. coli* на наявність у них резистентності до антибіотиків наведено в таблиці 2.

Таблиця 2

Результати досліджень ізолятів *E. coli*, виділених із поверхні туш свиней на резистентність до антибактеріальних препаратів

Антибіотики	Кількість ізолятів з Одеської області			Кількість ізолятів з Сумської області		
	Досліджених	Виявлено АМР	%	Досліджених	Виявлено АМР	%
Пеніцилін	49	25	51,1	63	47	74,6
Метицилін	49	29	59,2	63	45	71,4
Ампіцилін	49	33	67,3	63	51	80,6
Ванкоміцин	49	9	18,4	63	26	41,3
Лінкоміцин	49	11	22,4	63	33	52,4
Оксацилін	49	21	42,9	63	42	66,7
Гентаміцин	49	12	24,5	63	28	44,4
Офлоксацин	49	2	4,1	63	3	4,8
Рифампіцин	49	10	20,4	63	26	41,3
Стрептоміцин	49	18	36,7	63	37	58,7

Дані таблиці 2 свідчать про те, що у змивах з поверхонь туш свиней з Одеської області були виділені стійкі до антибіотиків ізоляти *E. coli* у середньому в 34,7% випадків, а в Сумській області у 53,7%. Усього при тестуванні 10 антибіотиків з ізолятами *E. coli* з Одеської області було

проведено 490 досліджень (40 ізолятів *E. coli* дослідили на чутливість стійкість до 10 антибіотиків), а з ізолятами із Сумської області – 630 (63 ізоляти *E. coli* дослідили на чутливість стійкість до 10 антибіотиків). При цьому, в змивах з поверхні туш свиней з Одеської області було виявлено 170 антибіотикорезистентних штамів *E. coli*, що складає 34,7%, а в змивах із Сумської області виявлено 338 антибіотикорезистентних штамів *E. coli* (53,7%). Більша кількість випадків прояву резистентності в ізолятах *E. coli* була виявлена по відношенню до пеніциліну, метициліну, ампіциліну (від 46,9% до 67,3% випадків) в Одеській області, а в Сумській – пеніциліну, метициліну, ампіциліну, оксациліну та стрептоміцину (від 71,4% до 80,6% випадків).

В межах 18,4–24,5% ізоляти *E. coli* були стійкими до ванкоміцину, лінкоміцину, гентаміцину, рифампіцину (Одеська область), а Сумській області до цих антибіотиків *E. coli* проявляли стійкість у 41,3% до 52,4% випадків.

Необхідно звернути увагу на те, що стійкі ізоляти *E. coli* до АБП, які були виділені з туш в Одеській області, та ті, що були виділені у Сумській області не мали резистентності до офлоксацину у 95,9% та 95,2% випадків відповідно, що може свідчити про високу антибактеріальну ефективність цього антибіотику щодо АБР *E. coli*.

Отже досліджувані ізоляти *E. coli* були стійкими до бета-лактамних антибіотиків та чутливі фторхінолонів (офлоксацин).

Слід відмітити, АБР ізоляти *E. coli* проявляли як моно- так і мультирезистентність до досліджуваних нами антибіотиків (табл. 3).

Таблиця 3

Кількість моно- та мультистійких ізолятів *E. coli* до АБП, що були виділені із туш свиней

К-ть АБР ізолятів <i>E. coli</i>	Кількість антибіотиків, до яких проявляли стійкість АБР ізоляти <i>E. coli</i> , (к-ть ізолятів /%)			
	1	2	3	4
Одеська область				
49	22/44,9	17/34,7	5/10,2	5/10,2
Сумська область				
63	31/49,3	19/30,1	7/11,1	6/9,5
Всього				
112	53/47,4	36/32,1	12/10,7	11/9,8

Із таблиці 3 видно, що найбільша кількість АБР ізолятів *E. coli* проявляла моностійкість до антибіотиків (від 44,9% до 47,4%). Найбільш часто АБР ізоляти *E. coli* були резистентними до двох антибіотиків, що склало 32,1%. В меншій мірі досліджувані ізоляти *E. coli* проявляли одночасну стійкість 4-х антибіотиків.

Ефективність виявлення стійкості бактерій, традиційним диско-дифузним методом дозволяє лише опосередковано зробити висновок про величину МІК, а результатом цього дослідження є віднесення мікроорганізму до однієї з категорій чутливості (моночутливість, полістійка антибіотикорезистентність),

тому ці дослідження рекомендується підтверджувати додатковими тестами [8, 15].

Для підтвердження ефективності диско-дифузійного методу, ми використали Е-тест для *E. coli* на чутливість до офлоксацину (до нього висока чутливість досліджуваних ізолятів) та до ампіциліну (висока стійкість досліджуваних ізолятів). Результати досліджень проілюстровані на рисунку 1.

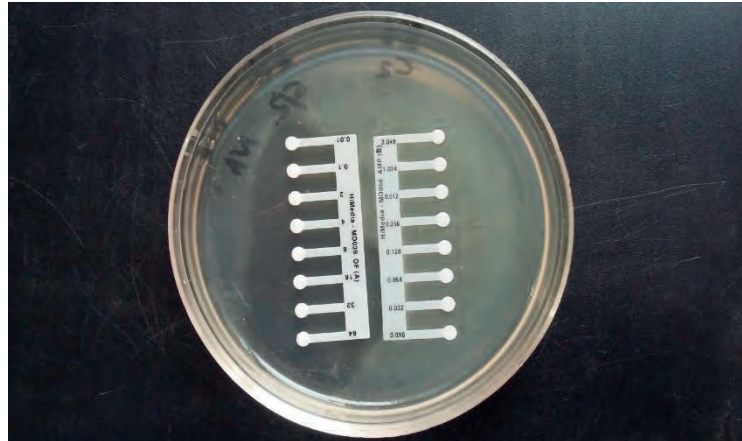


Рис. 1. Дослідження ізолятів *E. coli*, виділених із змивів з поверхні туш свиней Е-тестом.

Примітки: Смужка зліва – ізолят *E. coli* чутливий до офлоксацину (OF), смужка справа – ізолят *E. coli*, резистентний до ампіциліну (AMP).

Як видно із рисунку 1, по відношенню до офлоксацину зона затримки росту досліджуваних ізолятів *E. coli* має форму еліпсу. У найвужчій зоні цього еліпсу визначали значення МІК, яке у даному випадку для AMP ізолятів *E. coli*, становить 0,01 мкг/мл, що є найменшою концентрацією цього антибіотику на даній Е-тест смужці. Це підтверджує ті результати про високу чутливість ізолятів *E. coli* до офлоксацину, які були отримані нами дисковим методом. Е-тестом підтверджено також високу резистентність досліджуваних ізолятів *E. coli* до ампіциліну.

За результатами вимірювання зони затримки росту ізолятів *E. coli* у найвужчому місці еліпсу в Е-тесті відносно офлоксацину, було встановлено, що вона є меншою ніж 2 мм (МІК дорівнює 0,01 мкг/мл), що свідчить про те, що ізоляти слід віднести до чутливих до даного антибіотику (табл. 1).

Отже, як показали наші дослідження, більшість ізолятів AMP *E. coli*, були стійкими до бета-лактамних антибіотиків, тобто мали здатність продукувати бета-лактамази. Особливо інтенсивно проявлялась дія бета-лактамаз у досліджуваних ізолятів *E. coli* по відношенню до ампіциліну. Слід підкреслити те, що ампіцилін відноситься до групи амінопеніцилінів широкого спектру дії та використовується як для лікування людей так і у ветеринарній практиці та вважається як «критично важливий» для контролю за AMP бактеріями.

Бактерії, що мають здатність виробляти бета-лактамази вважаються великою проблемою для громадського здоров'я особливо ті, що виробляють *E. coli*.

Висновки та перспективи подальших досліджень:

1. Результати досліджень свідчать, що в Одеській області в змивах з поверхонь туш свиней було виділено АМР ізоляти *E. coli* у середньому в 34,7% випадків, а в Сумській області у 53,7%, найбільшу стійкість ізоляти проявляли до ампіциліну – у 67,3% випадках в Одеській області, та у 80,6% – Сумській.

2. АБР ізоляти *E. coli* у середньому від 45–47% випадків проявляли моностійкість до антибіотиків та – 32% випадків були стійкими до 2-х антибіотиків і в найменшій їх стійкість проявлялась до 4-х антибіотиків.

3. АБР ізоляти *E. coli*, які були виділені з туш в Одеської та Сумської областей не мали резистентності до офлоксацину у 95,9% та 95,2% випадків.

4. Методом Е-тесту встановлено значення МІК до офлоксацину, що становить 0,01 мкг/мл і є найменшою концентрацією цього антибіотику у даному тесті. Е-тестом підтверджено резистентність досліджуваних АМР *E. coli* до ампіциліну, що дає підставу рекомендувати обмежене використання цього антибіотику у гуманній та ветеринарній медицині.

Перспективою подальших робіт передбачено проведення досліджень щодо встановлення розповсюдження АМР *E. coli* в ланцюгу виробництва м'ясопродуктів із свинини та наукове обґрунтування заходів по стримуванню поширення цих мікроорганізмів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів/ Методичні вказівки № 9.9.5-143-2007/Міністерство охорони здоров'я України, Державна санітарно-епідеміологічна служба, Київ. – 2007. – 10 с.
2. Гаркавенко Т.О., Бергілевич О.М. Вивчення антибіотикорезистентності основних збудників бактеріальних захворювань тварин та птиці до β-лактамів в Україні / Бюлетень «Ветеринарна біотехнологія», 2017. – Вип. 31. – С. 33–45.
3. Aubry-Damon Y. Antimicrobial Resistance in Commensal Flora of Pig Farm / Y. Aubry-Damon, K. Grenet // Emerging Infectious Diseases. – 2004. – No. 10(5). – P. 8773–8779.
4. Blagojevic B. Ratio between carcass-and skin-microflora as an abattoir process hygiene indicator / B. Blagojevic, D.Antic, M.Ducic // Food Control. – 2011. – 22. – P. 186–190.
5. Collignon P. (2009) Resistant Escherichia coli – we are what we eat / P. Collignon // Clinical Infectious diseases. – No. 49(2). – P. 202–204
6. European Food Safety Authority. Report of the Task Force of Zoonoses Data Collection including guidance for harmonized monitoring and reporting of antimicrobial resistance in commensal Escherichia coli and Enterococcus spp. from food animals. EFSA Journal. – 2008. – 141. – P. 1–44. Retrieved from: <http://efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/141r.pdf>.
7. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2009 [Electronic resource] // Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). – 2010. – 208 p.
8. Hara-Kudo Y. Detection of Verotoxigenic *Escherichia coli* O157 and O26 in food by plating methods and LAMP method: a collaborative study / Y. Hara-Kudo, N. Konishi, K. Ohtsuka // Int. J. Food Microbiol. – 2008. – Vol. 122(1–2). – P. 156–161.
9. Mevius M. Monitoring of antimicrobial resistance and antimicrobial usage in animals in the Netherlands in 2008 / M. Mevius // Lelystad, Veterinary Antibiotic Usage and Resistance

Working Group. – 2010. Retrieved from <http://www.cvi.wur.nl/NR/rdonlyres/DDA15856-1179-4CAB-BAC6 28C4728ACA03/>

10. McEwen S.A. and Fedorka-Cray P.J. Antimicrobial use and resistance in animals. Clin Infect Dis. – 2002. – P. 34.

11. Report from the Task Force on Zoonoses Data Collection including guidance for harmonized monitoring and reporting of antimicrobial resistance in commensal *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. from food animals 1 (Question No EFSA-Q-2007-131). Adopted by the Task Force on 11–12 March, 2008. – The EFSA Journal. – 2008. – №141. – P. 1–44.

12. Van Boeckel T.P. Global trends in antimicrobial use in food animals // T.P. Van Boeckel, C. Brower, M. Gilbert, B.T. Grenfell, et al. / Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2015. – №112(18). – P. 5649–5654.

13. Shao-Hung W. *Escherichia coli* contamination of pork carcasses in UK slaughterhouses: PhD thesis / W. Shao-Hung. – University of Nottingham, 2013. – 125 p.

14. Critically important antimicrobials for human medicine: categorization for the development of risk management strategies to contain antimicrobial resistance due to non-human antimicrobial use: report of the second WHO, Copenhagen [Expert Meeting]. (29–31 May 2007). ISBN 978 92 4 159574 2.

15. Zhao J. Prevalence and dissemination of *oqxAB* in *Escherichia coli* isolates from animals, farmworkers, and the environment // J. Zhao, Z. Chen, S. Chen, et al. // Antimicrob. Agents Chemother. – 2010. – No. 54. – P. 4219–4224.

16. Valerie M. Bohaychuk. Microbiological baseline study of beef and pork carcasses from provincially inspected abattoirs in Alberta, Canada / Valerie M. Bohaychuk, Gary E. Gensler, Pablo R. Barrios // Can Vet J. – 2011. – Vol. 52(10). – P. 1095–1100.

РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ИЗОЛЯТОВ *ESCHERICHIA COLI*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ПОВЕРХНОСТИ ТУШ СВИНЕЙ К АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМ ПРЕПАРАТАМ /
Касянчук В.В., Бергилевич А.Н., Кустуров В.Б., Дерябин О.Н.

*Целью данной статьи является изучение резистентности к антибиотикам изолятов *E. coli*, выделенных с поверхности туш свиней на мясоперерабатывающих предприятиях Одесской и Сумской областей. Для установления АМР *E. coli* использовали классический метод с использованием дисков таких антибиотиков: пенициллин, метициллин, ванкомицин, линкомицин, оксацилин, гентамицин, офлоксацин, рифампицин, ампициллин, стрептомицин. Кроме этого использовали МИК Е-тест HiCotb для *E. coli* (ТМ Himedia). Было установлено, что в Одесской области в смывах АМР изоляты *E. coli* выделялись в 34,7% случаев, а в Сумской области в 53,7% случаев. Наибольшую устойчивость изоляты *E. coli* проявляли к ампициллину – в 67,3% случаев в Одесской области, и в 80,6% – Сумской. Изоляты АМР *E. coli*, выделенных из туш в Одесской и Сумской областях, не имели резистентности к офлоксацину в 95,9% и 95,2% случаев.*

Ключевые слова: антибиотикорезистентность, *E. coli*, туши свиней.

RESISTANCE OF *ESCHERICHIA COLI* ISOLATES FROM THE SURFACE OF THE PORK CARCASSES TO THE ANTIBACTERIAL PREPARATIONS /
Kasianchuk V.V., Berhilevich O.M., Kusturov V.B., Deryabin O.M.

Introduction. Taking into account that in Ukraine there is insignificant amount of research in this direction, we decided to carry out a study on the distribution *E. coli* (AMR), isolated from pork production resistance to antibiotics.

The goal of the work was to study resistance of *E. coli* isolates to antibiotics that were isolated from the surface of pork carcasses at meat processing factories (slaughterhouses) of Odessa and Sumy regions.

Materials and methods. Sampling was carried out at slaughterhouses of Odessa and Sumy oblasts in 2017. Microbiological studies were carried out at the Odessa regional laboratory of veterinary medicine and in the accredited microbiological laboratory of the Department of Public Health of Sumy State University.

Results of research and discussion. The 645 samples from surfaces of pig carcasses were investigated: 318 from the Odessa region and 327 from the Sumy region.

The samples were taken twice: before the chilling of pig carcasses and at least in 12 hours after slaughtering, making swabs from the area of 100 cm². 645 samples were taken randomly from 3–5 carcasses according to the rules of asepsis and ISO 17604, using a physiological solution. The samples were investigated in the laboratory in the first 2 hours after sampling. To isolate *E.coli* were carried out using the “Compact Dry” Petri dishes with a selective agar for coliforms and *E.coli* (NISSUI pharma).

Disk diffusion method was used to determinate resistance of *E.coli* isolates to 10 antibiotics (penicillin (10 mcg), methicillin (15 mcg), vancomycin (30 mcg), lincomycin (15 mcg), oxacalin (20 mcg), gentamicin (10 mcg), onloxacin (10 mcg), rifampicin (15 µg), ampicillin (10 µg), streptomycin (10 µg)). In addition to the disk diffusion method, antibiotic susceptibility testing of isolates was performed by the MIS E-test-HiComb for *E.coli* (TM Himedia). In this case, the values of MIC (minimal inhibitory concentration) for isolates of *E.coli* were determined.

The *E. coli* were isolated in 15,3% (49) samples and 19,2% (63) samples respectively. *E.coli* was detected in 15,3% of samples from Odessa oblast and 19,2% ones from Sumy oblast.

In the swabs from the surfaces of pig carcasses, isolated from the Odessa oblast were isolated AMR *E.coli* in average 34.7% of cases, and samples from Sumy oblast in 53.7%, the greatest resistance of isolates were shown to ampicillin – 67.3% in Odessa oblast, and 80.6% in Sumy oblast. A greater number of resistance in *E. coli* isolates was found in relation to penicillin, methicillin, ampicillin from 46.9% to 67.3% of cases in the Odessa oblast, and to penicillin, methicillin, ampicillin, oxacalin and streptomycin 71.4–80.6% of cases in Sumy oblast. Isolates of AMP *E. coli* ranged from 45% to 47% of cases showed resistance to antibiotics in 32% of cases, they were resistant to 2 antibiotics and showed the lowest level resistance to 4 antibiotics. Isolates of AMP *E.coli*, which were isolated from carcasses in Odessa and Sumy oblasts, had no resistance to ofloxacin in 95.9% and 95.2% of cases.

Conclusion and prospects for further research. The prospect of further work is to carry out research on the distribution of *E. coli* AMP in the pork meat production chain and to substantiate the measures to control spreading of these microorganisms.

Keywords: antibiotic resistance, *E.coli*, carcasses of pigs.

REFERENCES

1. Vyznachennja chutlyvosti mikroorganizmiv do antybakterial'nyh preparativ (2007). [Determination of the sensitivity of microorganisms to antibacterial drugs]. *Guidelines* No. 9.9.5-143-2007. Kyiv: Ministry of Health of Ukraine, State Sanitary and Epidemiological Service [in Ukrainian].
2. Garkavenko, T.O. & Berhilevych, O.M. (2017). Vyvchennja antybiotykozystentnosti osnovnyh zbudnykiv bakterial'nyh zahvorjuvan' tvaryn ta ptyci do β-laktamiv v Ukraini [Study of antibiotic resistance of the main pathogens of bacterial diseases of animals and poultry to β-lactams in Ukraine]. *Bjuleten' «Veterynarna biotekhnologija» – Bulletin “Veterinary Biotechnology”*, Vol. 31, 33–45 [in Ukrainian].
3. Aubry-Damon, Y. & Grenet, K. (2004). Antimicrobial Resistance in Commensal Flora of Pig Farm. *Emerging Infectious Diseases*, Vol. 10(5), 8773–8779.
4. Blagojevic, B., Antic, D. and Ducic, M. (2011). Ratio between carcass-and skin-microflora as an abattoir process hygiene indicator. *Food Control*, Vol. 22, 186–190.
5. Collignon, P. (2009). Resistant *Escherichia coli* – we are what we eat. *Clinical Infectious diseases*, Vol. 49(2), 202–204.
6. European Food Safety Authority. Report of the Task Force of Zoonoses Data Collection including guidance for harmonized monitoring and reporting of antimicrobial resistance in

commensal *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. from food animals. *EFSA Journal*. – 2008. – 141. – P. 1–44. Retrieved from <http://efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/141r.pdf>.

7. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2009. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network. (2010), Stockholm: ECDC.

8. Hara-Kudo, Y., Konishi, N. & Ohtsuka, K. (2008). Detection of Verotoxigenic *Escherichia coli* O157 and O26 in food by plating methods and LAMP method: a collaborative study. *Int. J. Food Microbiol.*, Vol. 122(1-2), 156–161.

9. Mevius, M. (2010). Monitoring of antimicrobial resistance and antimicrobial usage in animals in the Netherlands in 2008. Lelystad, Veterinary Antibiotic Usage and Resistance Working Group.

10. McEwen, S.A. & Fedorka-Cray, P.J. (2002). Antimicrobial use and resistance in animals. *Clin Infect Dis*, 34.

11. Report from the Task Force on Zoonoses Data Collection including guidance for harmonized monitoring and reporting of antimicrobial resistance in commensal *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. from food animals 1. (2008). The EFSA Journal, Vol. 141, 1–44.

12. Van Boeckel, T.P., Brower, C., Gilbert, M., Grenfell, B.T., Levin, S.A., Robinson, T.P., et. al (2015). Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Vol. 112(18), 5649–5654.

13. Shao-Hung, W. (2013). *Escherichia coli* contamination of pork carcasses in UK slaughterhouses. Candidate's thesis. University of Nottingham.

14. Critically important antimicrobials for human medicine: categorization for the development of risk management strategies to contain antimicrobial resistance due to non-human antimicrobial use: report of the second WHO (2007). Expert Meeting, Copenhagen.

15. Zhao, J., Chen, Z., Chen, S., Deng, Y., Liu, Y., Tian, W., et. al. (2010). Prevalence and dissemination of *oqxAB* in *Escherichia coli* isolates from animals, farmworkers, and the environment. *Antimicrob. Agents Chemother.* Vol.54, 4219–4224.

16. Bohaychuk, V.M., Gensler, G.E., & Barrios, P.R. (2011). Microbiological baseline study of beef and pork carcasses from provincially inspected abattoirs in Alberta, Canada. *Can Vet J.*, Vol. 52(10), 1095–1100.