

УДК637.075:579.22

Гришина Є.А. СНАУ

Бергілевич О.М. СумДУ

**РОЗРОБКА ВИСОКОСПЕЦИФІЧНОГО МЕТОДУ ПЛР-ІНДИКАЦІЇ  
*ENTEROBACTER SAKAZAKII***

Grishina E.A., Berhilevych O.M.

**DEVELOPING HIGHLY SPECIFIC METHOD PCR- IDICATION OF  
*ENTEROBACTER SAKAZAKII***

Бактерія *Enterobactersakazakii* відноситься до небезпечних харчових патогенів, якій в останні декілька десятиліть на офіційному рівні почали приділяти увагу. *E.sakazakii* є однією з причин раптової смертності в новонароджених дітей, а також причиною шлунково-кишкових та нервових захворювань в людей з ослабленим імунітетом. Даний мікроорганізм не є терморезистентним і гине при температурі 58 – 60°C, але споживання недостатньо прогрітої продукції або повторне контамінування готової до споживання їжі спричиняє виникнення харчових отруень.

В Україні *E. sakazakii* недостатньо вивчена, проте розроблені вітчизняні методичні рекомендації, в яких наведено лабораторні методи виділення та підрахунку кількості бактерій цих бактерій в досліджуваних об'єктах, узагальнені дані про морфологію збудника, його культуральні та біохімічні властивості, які гармонізовані з сучасними міжнародними вимогами. Лабораторні методи, які увійшли у дані методичні рекомендації є класичними і як усі традиційні лабораторні методи, є трудомісткими, тривалими, проте не завжди достатньо специфічними. Найбільш достовірними на сьогодні вважаються молекулярно-генетичні методи, що засновані на виявленні ознак видоспецифічності та патогенності мікроорганізмів, які закодованих в їх генах. До таких методів належать полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР).

Відомо, що бактерії *E. sakazakii* мають подібні біохімічні характеристики з іншими видами з родини *Enterobacteriaceae*, і на сам перед це *Enterobactercloacae*, *Enterobacter aerogenes* та *Enterobacter (Pantoea) agglomerans*. Впершу чергу, це подібні морфологічні властивості (грамнегативні тонкі палички, розміром 0,3 – 1,0 x 0,6 – 1,0 мкм, рухливі, спор не утворюють) та культуральні (ростуть в присутності кисню та без нього на середовищах для ентеробактерій, не потребують в якості стимуляторів росту вітамінів та амінокислот), їх видова ідентифікація та диференціація повинна бути підтверджена біохімічними властивостями. Існує дві основні біохімічні відмінності між *E. sakazakii* та іншими видами ентеробактерій. По-перше, це глюкозидна активність (утворення кислоти із  $\alpha$ -метил-D-глюкозиду), інша ж відмінність – це негативна реакція на D-сорбітол. Саме на пошук та виявлення частинок генів, які відповідають за ці властивості, спрямована увага багатьох дослідників в усьому світі. В науковій літературі, в відкритих та комерційних базах даних нуклеотидних послідовностей генів існує ряд відомостей щодо їх специфічності стосовно бактерій *E. sakazakii*.

З метою розробки методу індикації *E. sakazakii* на основі ПЛР була створена власна база генів-мішеней та проведеної її детальний аналіз. Встановлено, що найчастіше для ПЛР діагностики *E. sakazakii* використовують наступні гени-мішені: 16SrRNA, gluA, ompA, dnaG, gyrB; MMSatpD, fusA, glnS, gltB, gyrB, infB, ppsA, оперон (dnaG, gpsU, groD), в яких закодована видоспецифічна інформація даного мікроорганізму (глюкозидна активність, утворення жовтого пігменту). Для методу ПЛР із зазначеної бази даних було підібрано адекватний, на думку авторів, ген для індикації та ідентифікації бактерій *E. sakazakii* та розроблено декілька пар олігонуклеотидних праймерів, специфічних різним ділянкам гена 16SrRNA, при апробації яких були отримані позитивні результати з 20 ізолятами бактерій *E. sakazakii*.