

Таким чином, досліджено здатність екзопротеаз супернатантів культуральних рідин бактерій, виділених із донних осадів Чорного моря, гідролізувати колаген, а також вивчено фізико-хімічні властивості частково очищених препаратів ензимів найбільш перспективних штамів. Показано, що препарати *Bacillus subtilis* 248 і *Bacillus subtilis* 231 відрізнялися за фізико-хімічними властивостями, зокрема рН та термооптимумом. Вивчення субстратної специфічності свідчить, що *Bacillus subtilis* 248 та *Bacillus subtilis* 231 можуть бути перспективними для подальших наукових досліджень.

ВИЯВЛЕННЯ ГЕНУ МЕТАЛО-БЕТА-ЛАКТАМАЗИ НЬЮ-ДЕЛІ ЗА ДОПОМОГОЮ ПОЛІМЕРАЗНОЇ ЛАНЦЮГОВОЇ РЕАКЦІЇ

П.С. Юрко¹, Т.Б. Дідик², В.Л. Ареф'єв³

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної
ветеринарної медицини», Харків, Україна

¹ в.о. завідувача лабораторії молекулярної діагностики, yurkopolina81@gmail.com

² провідний науковий співробітник, didykmicr@ukr.net

Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів,
Київ, Україна

³ завідувач Національного центру штамів мікроорганізмів, arefiev.vasil@gmail.com

Однією із сучасних проблем біотехнології, ветеринарії та медицини є розповсюдження стійких до антибіотиків мікроорганізмів. На розв'язання даної проблеми спрямовані програми таких міжнародних організацій, як Всесвітня організація з охорони здоров'я (ВООЗ, World Health Organization, WHO), Продовольча та сільськогосподарська організація ООН (The Food and Agriculture Organization, FAO) та Всесвітня організація з охорони здоров'я тварин (World Organisation for Animal Health, OIE). Розуміння механізмів виникнення антибіотикорезистентності, передачі від однієї бактерії до іншої на молекулярному рівні є важливим кроком на шляху вирішення проблеми.

До одного із механізмів стійкості ентеробактерій до всіх бета-лактамних антибіотиків, зокрема до карбапенемів відноситься здатність до синтезу мікроорганізмами ферменту метало-бета-лактамази Нью-Делі. Ген *bla_{NDM}* (метало-бета-лактамази Нью-Делі) кодує новий, раніше невідомий фермент з групи бета-лактамаз. Цей варіант ферменту відрізняється універсальністю і дуже високою здатністю розщеплювати різні бета-лактамні антибіотики [1].

До недавнього часу вважалося, що ген, що кодує метало-бета-лактамазу Нью-Делі (*bla_{NDM}*), розповсюджений тільки в окремих регіонах світу і притаманний тільки збудникам так званих «госпітальних інфекцій» у людини [2]. Однак, останні дані літератури свідчать про те, що ген *bla_{NDM}* набуває все більшого розповсюдження серед мікроорганізмів, збудників кишкових інфекцій сільськогосподарських тварин та птиці, які виявляють у стічних водах, об'єктах тваринницьких та птаховницьких приміщень, а також від сільськогосподарської продукції, тварин та птахів. Також, з'являються повідомлення про виявлення гену *bla_{NDM}* серед диких птахів [3]. Методи дослідження, що базуються на класичних мікробіологічних підходах, є наразі трудовитратними та коштовними, не завжди інформативними. Впровадження у практику профільних лабораторій методів молекулярної біології значно підвищить ефективність встановлення відповідних маркерів резистентності, зокрема у ентеробактерій [4].

Тому метою роботи було розробити методику виявлення гену метало-бета-лактамази Нью-Делі за допомогою полімеразної ланцюгової реакції.

Із відібраних зразків ДНК екстрагували за допомогою комерційного набору «Patho Gene-spin™ DNA/RNA Extraction Kit» (iNtRON Biotechnology), для проведення ампліфікації

використовували суміш компонентів комерційного набору «DreamTaq Green PCR Master Mix (2X)» (Thermo Scientific™). Для постановки полімеразної ланцюгової реакції були використані праймери, які є специфічними для гену метало-бета-лактамази Нью-Делі [5]. Розподіл продуктів ампліфікації проводили шляхом електрофорезу у агарозному гелі, візуалізація відбувалась за допомогою етидіуму броміду в ультрафіолетовому спектрі.

Проведено визначення параметрів проведення ампліфікації з використанням праймерних систем для виявлення гену метало-бета-лактамази Нью-Делі (*bla_{NDM}*). Оптимальна температура відпалу складає 62 °С, кількість циклів – 40 (за умови використання ампліфikatorу T-3000 «Biometra»), концентрація праймерів – 1,6 мкМ. За результатами проведення первинних валідаційних випробувань встановлено високий рівень аналітичної чутливості, специфічності, повторюваності та відтворюваності методики. Для відпрацювання методики та проведення корегувальних випробувань було використано 157 штамів ентеробактерій (ешерихій, сальмонел, клебсієл), виділених з різних джерел, які попередньо протестували диско-дифузійним методом за рекомендаціями EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) на чутливість до β-лактамних антибіотиків (цефалоспоринів, імпіпенему, меропенему).

Установлено, що ген *bla_{NDM}* більш поширюється серед бактерій *Escherichia coli* та *Klebsiella pneumoniae* та значно менше – серед бактерій роду *Salmonella*, що узгоджується з даними літератури. Ген *bla_{NDM}* набуває все більшого розповсюдження серед ізолятів, виділених як від людей, так і тварин та птахів, що свідчить про необхідність моніторингу наявності зазначеного гену не тільки серед збудників «госпітальних інфекцій», але й бактеріальних інфекцій тварин та птиці.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Sun, S., Cai, M., Wang, Q., Wang, S., Zhang, L., Wang, H. // Journal of global antimicrobial resistance. 2024. 36: 26–32. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2023.11.008>
2. Sampah, J., Owusu-Frimpong, I., Aboagye, F. T., Owusu-Ofori, A. // PloS one. 2023. 18(10): e0274156. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0274156>
3. Mr Saddam, Khan, M., Jamal, M., Rahman, S. U., Qadeer, A., Khan, I., Mahmoud, M. H., Batiha, G. E., Shah, S. H. // PloS one. 2023. 18(10): e0293477. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0293477>
4. Zornic, S., Lukovic, B., Petrovic, I., Jencic, A. // Germs. 2022. 12(4): 434–443. <https://doi.org/10.18683/germs.2022.1349>
5. Feng, Y., Xue, G., Feng, J., Yan, C., Cui, J., Gan, L., Zhang, R., Zhao, H., Xu, W., Li, N., Liu, S., Du, S., Zhang, W., Yao, H., Tai, J., Ma, L., Zhang, T., Qu, D., Wei, Y., Yuan, J. // Frontiers in microbiology. 2021. 12: 691289. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.691289>