



Республика Беларусь
220012, г. Минск, ул. Академическая, 8
тел.: +375(17)320 13 74;
факс: +375(17)379 04 65
email: nmio@rspch.by

**Республиканское унитарное предприятие
«Научно-практический центр гигиены»**

**Сравнительный анализ культуральных
и молекулярно-генетических методов
обнаружения и идентификации
бактерий рода *Salmonella***

Дудчик Н.В., Науменко С.А., Адамович А.В., Емельянова О.А.

**г. Минск
Республика Беларусь**





АКТУАЛЬНОСТЬ

- Современные подходы к организации системы обеспечения безопасности объектов среды обитания человека требуют детального исследования не только фенотипических, но и генотипических особенностей эмерджентных патогенов.
- Микробные патогены проявляют комплекс взаимодействий с представителями своего вида, других видов и абиотической среды обитания. Так, представители микробиоты конкурируют за ресурсы, приводя к усилению факторов патогенности и вирулентности у условно-патогенных микроорганизмов.
- настоящее время на пищевых производствах микробная обсемененность поверхностей и объектов, контактирующих с готовыми к употреблению пищевыми продуктами микроорганизмами рода *Salmonella* регламентируется требованиями гигиенического норматива «Допустимые уровни патогенных микроорганизмов на поверхностях, контактирующих с готовыми к употреблению пищевыми продуктами при их производстве», Санитарных норм и правил «Санитарно-эпидемиологические требования к осуществлению производственного контроля при производстве, реализации, хранении, транспортировке продовольственного сырья и (или) пищевых продуктов» (в редакции постановлений Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 30.03.2015 № 32 и от 2.12.2016 № 121).



МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Культуральные методы выполняли в соответствии с ГОСТ 30519-97 и ISO 6579:2002. Для неселективного предварительного обогащения использовали забуференную пептонную воду при соотношении 1:9. Для селективного обогащения применяли магниевую, селенитовую и тетратионатную среды в соотношении 1:9. Посевы инкубировали в течение 24–48 ч. при температуре $(36 \pm 1) ^\circ\text{C}$ на магниевой и селенитовых средах, при $(43 \pm 1) ^\circ\text{C}$ – на тетратионатной среде. Далее проводили выделение и идентификацию культур на агаризованных дифференциально-диагностических средах – висмут-сульфит агаре, среде Плоскирева и среде Эндо (или среде Левина). При росте характерных колоний проводили их дальнейшее биохимическое и серологическое подтверждение принадлежности к бактериям рода *Salmonella*.

- Для проведения сравнительного анализа использовали музейные штаммы микроорганизмов *Shigella flexneri* ATCC 12022, *Shigella sonnei* ATCC 9290, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Salmonella paratyphi A* ATCC 9150, *Salmonella typhimurium* ATCC 4028, полученные из Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов.
- Для приготовления рабочих смесей для идентификации микроорганизмов готовили суспензию ночных культур микроорганизмов в равных объемных соотношениях:
- рабочая смесь 1 : *Salmonella paratyphi A* ATCC 9150, *Salmonella typhimurium* ATCC 4028 в соотношении 1:1 (объемные проценты);
- рабочая смесь 2: *Shigella flexneri* ATCC 12022, *Shigella sonnei* ATCC 9290, *Escherichia coli* ATCC 8739 в соотношении 1:1:1 (объемные проценты).

Таблица – Результаты оценки специфичности методов в отношении штаммов *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *E.coli* (рабочая смесь 2)

Содержание бактерий рода <i>Salmonella</i> в рабочей смеси 2, КОЕ/25 г	Культуральный метод (ГОСТ 30519–97)	Культуральный метод (ISO 6579:2002)	Метод ПЦР (в режиме реального времени)
0	0/6	0/6	0/6
Контроль	1/6	0/6	0/6
500 000 000	1/6	0/6	0/6
50 000 000	2/6	1/6	0/6
5 000 000	1/6	1/6	0/6
500 000	1/6	1/6	0/6
50 000	0/6	0/6	0/6
5 000	0/6	0/6	0/6
500	0/6	0/6	0/6
50	0/6	0/6	0/6
5	0/6	0/6	0/6
Единичные колонии	0/6	0/6	0/6



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследований подтвердили высокую эффективность выбранного формата молекулярно-генетического метода диагностики. Использование метода ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в реальном времени для выявления эмерджентных патогенов позволяет повысить эффективность проводимого контроля и обеспечивает получение достоверных и сопоставимых результатов при существенном сокращении времени проведения анализа. Применение данного метода позволяет снизить трудоемкость исследований и улучшить качество проводимых анализов.



Республиканское унитарное
предприятие

«Научно-практический центр

гигиены»



220012, г. Минск
ул. Академическая, 8



+375 17 347-73-70



rspch@rspch.by



+375 17 272-33-45



rspch.by
certificate.by

Образовательный центр
«МОЦНА»:

- курсы повышения квалификации;
- обучающие семинары;
- стажировки на рабочих местах.



+375 17 399-87-
34



edu@rspch.by

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!



Информация о всех разработках
Центра доступна по ссылке:
<https://rspch.by/ru/DevelopedDocuments>