

Перспективы разработки тест-систем, выявляющих патогенные микроорганизмы и белковые токсины с максимальными показателями экспрессности, чувствительности и специфичности

С.Г.Игнатов, И.Ю.Щит, Е.В.Баранова, А.Г.Волошин, С.Ф.Бикетов

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Московская область, Российская Федерация

Бактериальные патогены и их токсины являются одними из главных причин заболеваний и существенно влияют на здоровье населения в стране и во всем мире. Современные методы обнаружения патогенов и токсинов различаются по специфичности, скорости реакции, чувствительности, точности и стоимости. Некоторые биоаналитические системы могут обнаруживать, анализировать и количественно определять наличие биологических агентов с высокой чувствительностью, но имеют недостаточную точность или скорость. Другие требуют слишком много времени для прободготовки и поэтому не могут быть использованы для экспресс-тестирования.

В этом обзоре рассматриваются различные технологии обнаружения патогенов и токсинов для формирования подхода по разработке эффективных тест-систем, выявляющих патогенные микроорганизмы и белковые токсины. На основании проанализированных данных предполагается, что сочетание наномангнитной сепарации и петлевой изотермической амплификации (LAMP) является перспективным для выявления патогенных микроорганизмов и белковых токсинов с максимальными показателями экспрессности, чувствительности и специфичности.

Ключевые слова: тест-системы, патогенные микроорганизмы, белковые токсины

Для цитирования: Игнатов С.Г., Щит И.Ю., Баранова Е.В., Волошин А.Г., Бикетов С.Ф. Перспективы разработки тест-систем, выявляющих патогенные микроорганизмы и белковые токсины с максимальными показателями экспрессности, чувствительности и специфичности. Бактериология. 2022; 7(4): 69–73. DOI: 10.20953/2500-1027-2022-4-69-73

Prospects for the development of test systems that detect pathogenic microorganisms and protein toxins with maximum rates of rapidity, sensitivity and specificity

S.G.Ignatov, I.Yu.Shchit, E.V.Baranova, A.G.Voloshin, S.F.Biketov

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation

Bacterial pathogens and bacterial toxins are the one of the main cause of disease and significantly affect the health people of all country in the world. Pathogen and toxin detection methods can vary in specificity, reaction speed, sensitivity, accuracy and cost. The some systems can detect, analyze and quantify the presence of biological agents with high sensitivity but have insufficient precision and rapidity. Other systems to require too match time for sample preparation and can't use for express testing.

This mini review discusses various technologies for the detection of pathogens and toxins to form an approach for the development of test systems. Based on the analyzed data, it is assumed that the combination of nanomagnetic separation and loop isothermal amplification (LAMP) is a promising system for the detection of pathogenic microorganisms and protein toxins with maximum rapidity, sensitivity, and specificity.

Key words: test systems, pathogenic microorganisms, protein toxins

For citation: Ignatov S.G., Shchit I.Yu., Baranova E.V., Voloshin A.G., Biketov S.F. Prospects for the development of test systems that detect pathogenic microorganisms and protein toxins with maximum rates of rapidity, sensitivity and specificity. Bacteriology. 2022; 7(4): 69–73. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2022-4-69-73

Для корреспонденции:

Игнатов Сергей Георгиевич, доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории нанобиотехнологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
Телефон: (4967) 36-0773
E-mail: ignatov@obolensk.org

Статья поступила 10.11.2022 г., принята к печати 28.12.2022 г.

For correspondence:

Sergey G. Ignatov, PhD, DSc (Biological Sciences), Chief Researcher, Laboratory of Nanobiotechnology, State Research Center of Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор

Address: 24 «Quarter A» Territory, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, 142279, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0773
E-mail: ignatov@obolensk.org

The article was received 10.11.2022, accepted for publication 28.12.2022

Бактериальные патогены и их токсины являются одними из главных причин заболеваний и существенно влияют на здоровье населения в стране и во всем мире. Поскольку в последнее время значительное количество людей пострадало от инфекций пищевого происхождения, пищевые патогены являются актуальной проблемой здравоохранения в глобальном масштабе [1]. Основными бактериальными возбудителями пищевых инфекций являются патогенные штаммы *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Campylobacter jejuni*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* и *Bacillus cereus*. Особо опасным является возбудитель холеры *Vibrio cholera*, периодически вызывающий значительные эпидемии, в ходе которых погибает множество людей.

Точно оценить распространенность болезней пищевого происхождения в глобальном масштабе сложно, но известно [2], что каждый шестой житель США (или 48 млн человек) заболевает, а 3000 человек ежегодно умирают от пищевых инфекций. Высокий уровень этих болезней в странах с развивающейся экономикой создает серьезные проблемы и трудности в здравоохранении и в области безопасности пищевых продуктов, поэтому важно уметь выявлять основных патогенов, чтобы контролировать болезни пищевого происхождения.

Наряду с собственно патогенными бактериями большую роль в патогенезе играют бактериальные токсины, негативно воздействующие на организм человека. Энтеротоксины А и В, вырабатываемые такими патогенами, как золотистый стафилококк, являются частыми причинами острых пищевых отравлений. Патоген *E. coli* O157:H7 продуцирует шига-подобные токсины 1 и 2, вызывающие дизентерию, геморрагический колит и гемолитико-уремический синдром. *Listeria monocytogenes* продуцирует экзотоксин – листериолизин О, который обладает гемолитической активностью. Липополисахариды (ЛПС) на внешней мембране грамотрицательных бактерий ряда патогенов также вносят существенный вклад в патогенез кишечных инфекций.

Существует несколько традиционных методов обнаружения патогенов и токсинов, которые основаны на культивировании микроорганизмов на чашках с агаром. Все традиционные методы трудоемки и требуют от 2–3 дней для получения первых результатов. Для определения конкретных возбудителей микроорганизмов требуется до одной недели. Поэтому востребованы различные более быстрые и чувствительные методы обнаружения возбудителей.

Наряду с микробиологическими методами используются и другие разнообразные подходы – это хорошо известные методы оценки по потреблению кислорода [3, 4], молекулярно-генетические [5], иммунологические методы [6], атомно-силовая микроскопия для идентификации клеточных фрагментов [7] и идентификация бактерий по запаху (система искусственного носа) [7].

Методы обнаружения можно разделить на две основные группы: традиционные и различные сенсорные методы.

Традиционные методы

Существует несколько методов обнаружения патогенов и эндотоксинов грамотрицательных бактерий или только самого эндотоксина. Обнаружение эндотоксина определяется структурой ЛПС на внешней мембране грамотрица-

тельных бактерий. Базовая химическая структура ЛПС состоит из четырех ковалентно связанных сегментов: поверхностного углеводного полимера, центрального олигосахарида с внутренней и внешней областью и ацилированного гликолипида.

Методы обнаружения возбудителя

В традиционных методах обнаружение патогенов в основном зависит от точной идентификации микробиологических и биохимических компонентов. Существует три типа традиционных методов: метод, основанный на иммунологии, метод подсчета колоний и метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) [9].

Метод культивирования дает точные результаты благодаря своей высокой селективности и чувствительности [10]. Этот процесс требует селективного посева, предварительного обогащения, селективного обогащения и идентификации, которые занимают несколько дней для получения результатов. Этот метод обнаружения является трудоемким и длительным.

ПЦР является очень популярным методом обнаружения патогенов [11]. Для обнаружения патогенов доступны различные методы: ПЦР с обратной транскрипцией, с помощью которой можно определить даже живые бактериальные клетки [12], ПЦР в реальном времени [13] и мультиплексная ПЦР [14]. Однако для этого метода требуются дорогостоящие инструменты, а амплификация, выделение и количественная оценка технологии ДНК делают его сложным для выполнения. Кроме того, для выполнения всей процедуры требуется обученный персонал.

Иммунологический метод широко используется для обнаружения патогенов [15]. Связи антиген–антитело используются для иммунологического обнаружения патогенов грамотрицательных бактерий. Этот метод был успешно использован для обнаружения *Salmonella* и *E. coli*. Иммуоферментный анализ [16], твердофазный флуоресцентный анализ (ELFA) [17], твердофазный иммуоферментный анализ (ELISA) [18], проточно-инъекционный иммуоанализ [19] и другие иммунологические методы [20] требуют меньше времени для подготовки анализа, чем метод культивирования. Однако обнаружение патогенов в режиме реального времени с помощью этого метода невозможно.

Методы обнаружения эндотоксина

Методы, основанные на пирогенности для кролика, используются для обнаружения эндотоксинов и считаются традиционными. Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) одобрило их в качестве стандартных. В 1920 г. впервые был разработан пирогенный тест на кроликах. Тестовый раствор вводят в тело кролика и некоторое время ждут изменения температуры тела для обнаружения эндотоксина. Однако группа по защите прав животных выступила против использования этого метода, требуя прекратить убивать кроликов. Кроме того, метод является трудоемким и дорогостоящим. В настоящее время он теряет популярность, и используется только тест анализа крови мечехвоста, при котором образуются сгустки в результате воздействия эндотоксинов [21].

Методы на основе биосенсоров

Датчик измеряет физические и химические параметры объекта и преобразует их в электрический сигнал. Сенсоры – это своего рода преобразователи, которые преобразуют один вид сигнала в другой. Датчик может измерять большую часть физической активности, например температуру, влажность, ускорение, расстояние и многое другое. Биосенсор – это устройство, которое использует живые организмы или биологические молекулы для обнаружения химических веществ, присутствующих в живых организмах.

Распознавание достигается в процессе взаимодействия системы узнавания сенсора при связывании с целевым патогеном. В биосенсоры были введены различные биорецепторы для повышения эффективности измерения. Биорецепторы играют важную роль в развитии биосенсоров, и различные типы биорецепторов обсуждаются в следующем разделе [22].

Обнаружение патогенов и токсинов на ранней стадии имеет решающее значение для предотвращения негативных последствий. Существуют различные методы их обнаружения. Обычные методы в основном основаны на лабораторных исследованиях и требуют много времени для обнаружения патогенов и токсинов. Было разработано много новых подходов, таких как биосенсоры на основе электрохимических, оптических и наноматериалов. Каждый разработанный метод имеет свои преимущества и недостатки. Принятый метод должен быть надежным, точным и селективным к конкретному патогену/токсину, а также достаточно быстрым для получения надежных результатов.

Анализ вышеприведенных данных по выявлению патогенных микроорганизмов и токсинов показал, что результат с максимальными показателями экспрессности, чувствительности и специфичности может быть достигнут при комбинировании магнитной сепарации и метода петлевой изотермической амплификации (LAMP).

Современные методы разделения (сепарирования) клеток являются важным инструментом в таких разнообразных областях биологических и биомедицинских исследований, как биодетекция, тестирование лекарств, тканевая инженерия, клеточная терапия и клиническая диагностика. Выделение клеточной популяции из гетерогенного образца позволяет идентифицировать, изучать и анализировать определенные типы клеток, уменьшая при этом загрязнение другими. При выборе стратегии разделения клеток необходимо учитывать множество критериев, в зависимости от способа применения и его требований и ограничений с точки зрения пропускной способности, чистоты, жизнеспособности извлеченных клеток, выхода, маркировки, простоты использования, стоимости и времени обработки

Сортировка магнитно-активированных клеток (МАК) является одним из наиболее широко используемых подходов к разделению клеток, наряду с методами градиента плотности и методологиями, основанными на адгезии [23]. Сортировщики клеток представляют собой мощное оборудование, обеспечивающее высокую скорость сортировки клеток (>50 000 клеток/с) и высокую чистоту (приближающуюся к 100%). Более того, сортировщики клеток достаточно универсальны, поскольку позволяют разделять клетки по их поверхностным маркерам, а также по размеру и зернистости на основе флуоресцентных свойств или рассеянного ими света. Метод применения магнит-

ных наночастиц (МНЧ) экономически эффективнее и быстрее многих традиционных методов выделения патогенов. Некоторые приложения, такие как иммуномагнитная сепарация, использовались в нескольких анализах в сочетании с методами ПЦР и биосенсорного анализа для быстрого определения концентрации бактерий. Однако отсутствие стандартизации МНЧ препятствует их использованию в настоящее время в качестве метода выделения пищевых патогенов. Хотя иммуномагнитная сепарация является наиболее изученным методом, ей все еще не хватает стандартизации и автоматизации, которые позволили бы широко ее использовать.

Методы амплификации нуклеиновых кислот (НК) очень эффективно используются для диагностики различных инфекционных заболеваний. Поскольку НК считаются важными биомаркерами заболеваний, опосредованных патогенами, методы обнаружения их присутствия обычно используются для точного обнаружения и идентификации возбудителя. ПЦР считается золотым стандартом в молекулярной диагностике на основе НК. Методы изотермической амплификации были разработаны для обнаружения НК в клинических образцах, чтобы обойти проблемы, связанные с обычной ПЦР [24]. Методы петлевой изотермической амплификации (LAMP) являются наиболее популярными методами для амплификации и обнаружения НК [25]. Они базируются на использовании трех пар праймеров для специфического связывания с ДНК-мишенью в присутствии ДНК-полимеразы. LAMP доказала свое превосходство над ПЦР за счет специфической амплификации ДНК-мишени даже при совместном присутствии нецелевых последовательностей, устраняя при этом необходимость в нескольких температурных циклах, длительном времени реакции и сложном лабораторном оборудовании. За прошедшие годы был достигнут ряд успехов в повышении эффективности анализа LAMP. Комбинация LAMP с различными молекулярными подходами, такими как методы обнаружения в реальном времени и мультиплексные методы в сочетании с различными методами колориметрического и визуального обнаружения для легкой идентификации положительных образцов, обуславливает простоту в эксплуатации скрининг образцов [26].

С момента своего появления LAMP была одним из наиболее широко применяемых методов амплификации в инструментах молекулярной диагностики. Было показано, что данный метод обнаруживает широкий спектр патогенов от простой *E. coli* [27] до новейшего SARS-CoV-2 [28]. За последние время LAMP приобрела огромную популярность как быстрый и экономичный метод обнаружения возбудителей инфекционных заболеваний. Из-за нехватки ресурсов и ограниченных лабораторных условий в этих областях LAMP оказалась революционным методом для мониторинга терапии, ранней диагностики заболеваний и отслеживания контактов.

Сочетание МНЧ и LAMP может повысить потенциал чувствительности определения патогенов при сочетании магнитофоретической хроматографии и изотермической амплификации нуклеиновых кислот.

В рамках НИОКР «Разработка экспрессных тест-систем, позволяющих выявлять патогенные биологические агенты за 60 мин» (ЩИТ) совместное применение магнитоуправляемой сепарации и изотермической амплификации нуклеиновых кислот исследовано для патогенов *V. cholerae* и *Brucella* spp.

Нуклеиновые кислоты из штаммов *V. cholerae* и *Brucella* spp. выделяли двумя способами: с предварительной пробоподготовкой на иммуномагнитных частицах с конъюгированными моноклональными антителами к поверхностным антигенам или без нее, для выделения ДНК использовали набор реагентов «РибоПреп» («ИнтерЛабСервис»). Для пробоподготовки *Brucella* spp. использовали магнитные частицы magFG11, для *V. cholerae* – magF8G12.

Для конструирования наномагнитных частиц были выбраны частицы размером 200 нм (Chemicell, Германия), поверхность которых содержит свободные карбоксильные группы. Антитела к антигенам исследуемых патогенов получали с помощью гибридной технологии. Конъюгирование моноклональных антител проводили карбодиимидным методом через карбоксилированные магнитные частицы. Суть использования наномагнитных частиц состоит в том, чтобы увеличить концентрацию патогена в анализируемом образце до уровня предела обнаружения метода детекции. Иммуномагнитная сепарация используется для улучшения чувствительности детекции патогена вместо культивирования микроорганизмов, которое может занимать продолжительное время (18–72 ч). Магнитные частицы, связанные со специфическими антителами, селективно захватывают детектируемый микроорганизм и способствуют удалению мешающих анализу примесей из сложного образца.

Для изотермической амплификации возбудителей холеры и бруцеллеза использовали наборы праймеров, которые направляют синтез фрагментов генов, специфических для данных микроорганизмов: ген-мишень для детекции возбудителя холеры – *ctxA*, бруцеллеза – *omp25*.

В результате проведенного анализа установлено, что аналитическая чувствительность метода при сочетании магнитоуправляемой сепарации и изотермической амплификации составила не менее 1×10^2 кл./мл *V. cholerae* и не менее 1×10^3 кл./мл *Brucella* spp. Без предварительной пробоподготовки на наномагнитных частицах чувствительность анализа была на порядок ниже и не превышала 1×10^3 кл/мл для *V. cholerae* и 1×10^4 кл/мл для *Brucella* spp.

Информация о финансировании

Работа выполнена по НИОКР 3.2 в рамках государственного задания.

Financial support

The work was carried out within the framework of R&D 3.2 within the framework of the state assignment.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest

Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

Литература / References

- Oliver SP, Jayarao BM, Almeida RA. Foodborne pathogens in milk and the dairy farm environment: food safety and public health implications. *Foodborne Pathog Dis.* 2005 Summer;2(2):115-29. DOI: 10.1089/fpd.2005.2.115
- Services U.S.D.O.H.H. Cdc: Estimates of Foodborne Illness in the United States. [(accessed on 14 August 2017)]; Available online: <https://www.cdc.gov/foodborneburden/2011-foodborne-estimates.html>
- Ignatov SG, Krasilnikov VA, Perelygin VV, Kapreliants AS, Ostrovskii DN. Functional and structural changes of *E. coli* membranes induced by low temperature freezing]. *Biokhimiia.* 1981Nov;46(11):1996-2003.
- Ignatov SG, Andreeva OV, Evdokimova OA, Artsatbanov VYu, Perelygin VV. Repair of membrane damage caused by low temperature freezing of *E. coli* cells. *Biokhimiia.* 1982 Oct;47(10):1621-8.
- Goncharova YO, Bogun AG, Bahtejeva, IV, et al. Allelic Polymorphism of Anthrax Pathogenicity Factor Genes as a Means of Estimating Microbiological Risks Associated with Climate Change. *Appl Biochem Microbiol.* 2022;58:382-93.
- Korolyova-Ushakova AG, Baranova EV, et al. Comparative Characteristics of the Diagnostic Potential of Mycobacterial Synthetic Antigens for the Serodiagnosis of Lepra and Tuberculosis. *Appl Biochem Microbiol.* 2019;55:696-703. DOI: 10.1134/S0003683819060097
- Dubrovina EV, Fedyukina GN, Kraevsky SV, Ignatyuk TE, Yaminsky IV, Ignatov SG. AFM Specific Identification of Bacterial Cell Fragments on Biofunctional Surfaces. *Open Microbiol J.* 2012;6:22-8. DOI: 10.2174/1874285801206010022
- Shannon E. Stitzel, Keith J. Albert, Sergei G. Ignatov, David R. Walt. Artificial nose employing microsphere sensors for detection of volatile organic compounds. *Proceedings Volume 4575, Chemical and Biological Early Warning Monitoring for Water, Food, and Ground; (2002)* DOI: 10.1117/12.456916
- Lee K-M, Runyon M, Herrman TJ, Phillips R, Hsieh J. Review of salmonella detection and identification methods: Aspects of rapid emergency response and food safety. *Food Control.* 2015;47:264-276. DOI: 10.1016/j.foodcont.2014.07.011
- Leoni E, Legnani PP. Comparison of selective procedures for isolation and enumeration of *Legionella* species from hot water systems. *J Appl Microbiol.* 2001;90:27-33. DOI: 10.1046/j.1365-2672.2001.01178.x
- Oh SJ, Park BH, Jung JH, Choi G, Lee DC, Seo TS. Centrifugal loop-mediated isothermal amplification microdevice for rapid, multiplex and colorimetric foodborne pathogen detection. *Biosens Bioelectron.* 2016;75:293-300. DOI: 10.1016/j.bios.2015.08.052
- Chen M, Lan X, Zhu L, Ru P, Xu W, Liu H. PCR Mediated Nucleic Acid Molecular Recognition Technology for Detection of Viable and Dead Foodborne Pathogens. *Foods.* 2022 Sep 2;11(17):2675. DOI: 10.3390/foods11172675
- Lambertz ST, Nilsson C, Hallanvuori S, Lindblad M. Real-time PCR method for detection of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in food. *Appl Environ Microbiol.* 2008;74:6060-6067. DOI: 10.1128/AEM.00405-08
- Mukhopadhyay A, Mukhopadhyay UK. Novel multiplex PCR approaches for the simultaneous detection of human pathogens: *Escherichia coli* O157: H7 and *Listeria monocytogenes*. *J Microbiol Methods.* 2007;68:193-200. DOI: 10.1016/j.mimet.2006.07.009
- Gracias KS, McKillip JL. A review of conventional detection and enumeration methods for pathogenic bacteria in food. *Can J Microbiol.* 2004;50:883-890. DOI: 10.1139/w04-080
- Chapman PA, Malo ATC, Siddons CA, Harkin M. Use of commercial enzyme immunoassays and immunomagnetic separation systems for detecting *Escherichia coli* O157 in bovine fecal samples. *Appl Environ Microbiol.* 1997;63:2549-53.
- De Giusti M, Tufi D, Aurigemma C, Del Cimmuto A, Trinti F, Mannocci A, Boccia A. Detection of *Escherichia coli* O157 in raw and cooked meat: Comparison of conventional direct culture method and enzyme linked fluorescent assay (ELFA) Ital. *J Public Health.* 2011;8:28.
- Song C, Liu C, Wu S, Li H, Guo H, Yang B, et al. Development of a lateral flow colloidal gold immunoassay strip for the simultaneous detection of *Shigella boydii* and *Escherichia coli* O157:H7 in bread, milk and jelly samples. *Food Control.* 2016;59:345-351. DOI: 10.1016/j.foodcont.2015.06.012
- Abdel-Hamid I, Ivnitiski D, Atanasov P, Wilkins E. Highly sensitive flow-injection immunoassay system for rapid detection of bacteria. *Anal Chim Acta.* 1999;399:99-108. DOI: 10.1016/S0003-2670(99)00580-2

20. Valdivieso-Garcia A, Desruisseau A, Riche E, Fukuda S, Tatsumi H. Evaluation of a 24-h bioluminescent enzyme immunoassay for the rapid detection of *Salmonella* in chicken carcass rinses. *J Food Protect.* 2003;66:1996-2004. DOI: 10.4315/0362-028X-66.11.1996
21. Bang FB, Frost J.L. The toxic effect of a marine bacterium on limulus and the formation of blood clots. *Mar Biol Lab.* 1953;105:361-2.
22. Jeon Y, Lee Y, Kim K, Jang G, Yoon Y. Transcription Factor-Based Biosensors for Detecting Pathogens. *Biosensors (Basel).* 2022 Jun 29;12(7):470. DOI: 10.3390/bios12070470
23. Tomlinson MJ, Tomlinson S, Yang XB, Kirkham J. Cell separation: Terminology and practical considerations. *J Tissue Eng.* 2013;4:2041731412472690. DOI: 10.1177/2041731412472690
24. Keikha M. LAMP Method as One of the Best Candidates for Replacing with PCR Method. *Malays J Med Sci.* 2018 Feb;25(1):121-123. DOI: 10.21315/mjms2018.25.1.15
25. Mori Y, Notomi T. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): a rapid, accurate, and cost-effective diagnostic method for infectious diseases. *J Infect Chemother.* 2009 Apr;15(2):62-9. DOI: 10.1007/s10156-009-0669-9
26. Wong YP, Othman S, Lau YL, Radu S, Chee HY. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): a versatile technique for detection of micro-organisms. *J Appl Microbiol.* 2018 Mar;124(3):626-643. DOI: 10.1111/jam.13647
27. Teh CS, Chua KH, Lim YA, Lee SC, Thong KL. Loop-mediated isothermal amplification assay for detection of generic and verocytotoxin-producing *Escherichia coli* among indigenous individuals in Malaysia. *ScientificWorldJournal.* 2014;2014:457839. DOI: 10.1155/2014/457839
28. Chaouch M. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): An effective molecular point-of-care technique for the rapid diagnosis of coronavirus SARS-CoV-2. *Rev Med Virol.* 2021 Nov;31(6):e2215. DOI: 10.1002/rmv.2215

Информация о соавторах:

Щит Ирина Юрьевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Баранова Евгения Владимировна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Волошин Александр Григорьевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории нанобиотехнологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Бикетов Сергей Фёдорович, кандидат биологических наук, главный научный сотрудник отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Information about co-authors:

Irina Yu. Shchit, PhD (Biological Sciences), Senior Researcher, Department of Immunobiology of Pathogenic Microorganisms, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation

Evgenia V. Baranova, PhD (Biological Sciences), Leading Researcher of Department of Immunobiology of Pathogenic Microorganisms, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation

Alexandr G. Voloshin, PhD (Biological Sciences), Senior Researcher, Laboratory of Nanobiotechnology, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation

Sergey F. Biketov, PhD (Biological Sciences), Leading Researcher of Department of Immunobiology of Pathogenic Microorganisms, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation

НОВОСТИ НАУКИ

Как микроорганизмы, обнаруженные в нашем кишечнике, могут усугублять опасные инфекции *Clostridioides difficile*

Clostridioides (ранее *Clostridium*) *difficile* – это бактерия, которая может вызывать потенциально смертельные инфекции, особенно у пожилых людей и людей, длительно принимающих антибиотики. Инфекции характеризуются диареей, тошнотой и лихорадкой. Возбудитель поражает более 350 тыс. американцев в год. После заражения пациенты склонны к повторному заражению.

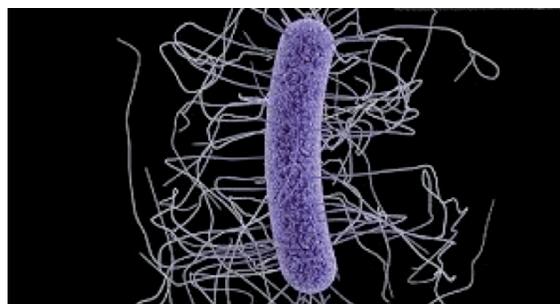
Исследователи из University of Virginia School of Medicine определили, что группа устойчивых к антибиотикам «условно-патогенных» энтерококков, обнаруженных в кишечнике, называемых энтерококками, может сделать *C. difficile* более мощным и опасным.

Энтерококки – это бактерии, которые сами по себе могут вызывать опасные инфекции, трудно поддающиеся лечению: менингит, инфекции мочевыводящих путей (которые могут быть очень серьезными у пожилых людей), болезненный дивертикулит желудочно-кишечного тракта и др.

Энтерококки продуцируют аминокислоты, в том числе лейцин и орнитин, что делает *C. difficile* более серьезной угрозой для пациентов, состав кишечника которых был нарушен антибиотиками.

Мощные компьютерные модели помогли исследователям понять и предсказать сложные изменения в кишечнике. Установлено, что энтерококки могут резко изменить метаболизм в кишечнике, что в конечном итоге перепрограммирует клетки *C. difficile* и усилит их болезнетворное поведение.

Полагают, что, лучше поняв, как *C. difficile* взаимодействует с энтерококками и другими микроорганизмами в кишечнике, врачи смогут лучше бороться с этой распространенной и серьезной инфекцией.



Potentially deadly infection has dangerous ally lurking in our guts: Researchers reveal how gut bacteria put people at risk for severe *C. difficile* – ScienceDaily [Электронный ресурс]. URL: <https://www.sciencedaily.com/releases/2022/12/221221105755.htm>