

Материалы международной научно-практической конференции, посвященной 130-летию С.Сейфуллина = С.Сейфуллиннің 130 жылдығына арналған халықаралық ғылыми - практикалық конференциясының материалдары. - 2024. – Ч.І.- С.96-98

УДК: 619:579.842.14(045)

## ИДЕНТИФИКАЦИЯ *SALMONELLA ENTERICA* С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РЕКОМБИНАЗНОЙ ПОЛИМЕРАЗНОЙ АМПЛИФИКАЦИИ

Акимбекова А.У, магистрант 2 курса

Абельденов С.К, PhD

Казахский агротехнический исследовательский университет им

С.Сейфуллина,

г. Астана

*Salmonella enterica* - это зоонозный патоген, представляющий серьезную угрозу для здоровья людей и животных во всем мире. *S. enterica* может успешно колонизировать животных, людей и растения, а также встречается в окружающей среде. После попадания в организм *S. enterica* проникает в эпителий кишечника в подвздошной и ободочной кишках, вызывая нейтрофильный гастроэнтерит, или распространяется по системным участкам и вызывает сепсис. Он интенсивно развивается во внутриклеточной области, обеспечивая внутреннюю устойчивость к противомикробным препаратам и в редких случаях хроническую колонизацию [1].

Сальмонеллез, вызываемый подвидом *S. enterica*, является ведущим заболеванием пищевого происхождения, оказывающим воздействие на здоровье многих носителей, включая животных, птиц, рыб и людей [2].

Большинство случаев сальмонеллёза вызвано пищей, заражённой *Salmonella enterica*, которая часто заражает крупный рогатый скот и птиц, а также домашних животных, таких как кошки или хомяки. Сырые куриные и гусиные яйца могут содержать в себе *Salmonella enterica* первоначально в яичных белках, хотя большинство яиц не заражены. По мере процесса старения яйца при комнатной температуре мембрана желтка начинает разрушаться, и *Salmonella enterica* может проникать в желток. Охлаждение и замораживание не убивают все бактерии, но существенно замедляют или останавливают их размножение. Пастеризация и облучение пищевых продуктов используются для уничтожения сальмонеллы для коммерческих продуктов питания, содержащих сырые яйца. Продукты, приготовленные в домашних условиях из сырых яиц, такие как майонез, пирожные и печенье, могут распространять сальмонеллу, если их приготовить с нарушением процесса приготовления [3].

Помимо полимеразной цепной реакции (ПЦР), которая широко использовалась при тестировании нуклеиновых кислот, важными методами тестирования нуклеиновых кислот также были методы изотермической амплификации.

Среди нескольких распространенных методов изотермической амплификации в последнее время больше внимания уделяется рекомбиназной полимеразной амплификации (англ. Recombinase Polymerase Amplification, RPA, РПА).

Она обладает такими преимуществами, как простота в эксплуатации, высокая скорость амплификации и температурой реакции при 37 - 42°C и др. Таким образом, метод является очень удобным для обнаружения в полевых условиях [4].

РПА имеет значительные преимущества по сравнению с ПЦР в условиях, где критически важна скорость, простота оборудования, возможность полевого использования и не требует особо обученного персонала, что делает этот метод перспективным для быстрого выявления *Salmonella enterica*.

В настоящее время рекомбиназная полимеразная амплификация является одним из самых быстрых методов амплификации, который может быть легко адаптирован для использования в устройствах для тестирования на месте. В последние годы RPA использовался для быстрого обнаружения в областях медицины человека и ветеринарии, пищевой промышленности и сельского хозяйства.

Продукты RPA можно визуализировать с помощью различных методов обнаружения, таких как электрофорез в агарозном геле, количественная флуоресценция в реальном времени и полоски с боковым потоком [5].

Целью работы является разработка эффективного, недорогого и высокочувствительного РПА теста для обнаружения патогена *Salmonella enterica* в различных клинических образцах.

Материалы и методы: Объектом исследования являлся референс-штамм *Salmonella enterica*. Для создания положительных контролей были сконструированы плазмиды, несущие гены патогена. Полученные плазмиды были просеквенированы. Далее проводилась рекомбиназная полимеразная амплификация с использованием разработанных олигонуклеотидов для амплификации целевых мишеней. Для оценки чувствительности РПА-теста проводилось десятикратное разбавление с плазмидной ДНК.

Выводы: в результате проведенных исследований определено, что реакция РПА сохраняется даже при разбавлении плазмидной ДНК с  $10^{10}$  до  $10^2$  степени. Установленный предел обнаружения, свидетельствует о том, что метод РПА обладает высокой чувствительностью.

Метод РПА имеет значительные преимущества по сравнению с традиционными методами, как ПЦР, микробиология. Его практическая простота облегчает получение результатов, что делает его эффективным методом для широкого спектра клинических и исследовательских применений.

## Список литературы

- 1 Leigh, A., Knodler, J., Elfenbein, R. (2019). *Trends Microbiol*, 27(11), 964-965. doi: 10.1016/j.tim.2019.05.002
- 2 Int, J. Mwanaisha, M. (2023). Prevention and Control of Human Salmonella enterica Infections: *An Implication in Food Safety*. *Food Sci*, 11:8899596. doi: 10.1155/2023/8899596
- 3 Andino, A., Hanning, I. (2015). Salmonella enterica: survival, colonization, and virulence differences among serovars. *Scientific World Journal*, 1), 1. doi: 10.1155/2015/520179
- 4 Meiyang, T., Chuan, L., Lina, L., Xueli, Y., Zihan, Zh., Guijiang, W. (2022). Recent advances in recombinase polymerase amplification: Principle, advantages, disadvantages and applications. *Front Cell Infect Microbiol*, 28:12:1019071. doi: 10.3389/fcimb.2022.1019071
- 5 Ameh, J., Joanne, M. (2015). Recombinase polymerase amplification: Emergence as a critical molecular technology for rapid, low-resource diagnostics. *Expert Rev Mol Diagn.*, 15(11),1475-1489. doi: 10.1586/14737159.2015.1090877