

**Количественное определение условно-патогенных микроорганизмов, возбудителей пневмонии, на основе stem-loop-primer assisted изотермической амплификации**

**Научный руководитель – Кошель Елена Ивановна**

*Мударисова Р.С.<sup>1</sup>, Мальцева Ю.И.<sup>2</sup>*

1 - Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: mudarisova.regina@bk.ru*; 2 - Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: y\_maltseva@scamt-itmo.ru*

Пневмония - это тяжело протекающее заболевание, которое в последние годы часто возникает как осложнение на фоне коронавирусной инфекции. Важно точно и быстро диагностировать возбудителя, так как от его природы зависит траектория дальнейшего лечения и его эффективность. Современные методы диагностики патогенов имеют существенные недостатки: дороговизна оборудования и реактивов, длительное время анализа и зависимость от зарубежных поставок и технологий.

В данном исследовании разрабатывается новая количественная тест-система для диагностики десяти патогенов, возбудителей пневмонии, а именно *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Chlamydomphila pneumoniae*, *Bordetella pertussis*, *Legionella pneumophila* и *Mycoplasma pneumoniae*. Особенностью данной работы является применение нового метода, Stem-loop-primer assisted (SPA) изотермической амплификации [1]. Данный метод наравне с другими типами изотермической амплификации (LAMP, NASBA) имеет преимущество перед ПЦР, ввиду низкой стоимости используемого оборудования: вместо амплификатора с циклированием температуры, требуется обычный термостат. SPA амплификация подходит для количественного определения патогена в образце, что особенно важно в диагностике пневмонии, так как обычно ее вызывают условно-патогенные микроорганизмы. Эти микроорганизмы живут в верхних дыхательных путях человека в умеренном количестве, но при изменении условий или вмешательстве внешних факторов, таких как, например, коронавирус, их количество может увеличиться и спровоцировать развитие заболевания. Такие возбудители включены в вышеуказанный список.

Продукты SPA амплификации подходят для используемого способа визуальной детекции ДНК, с помощью ДНК-наномашин, специфично присоединяющихся к нуклеотидному фрагменту патогена и формирующих G-квадруплекс [2]. В присутствии данной структуры гемин становится способным к эффективному катализу реакции окисления хромогенного субстрата, например, диаминобензидина, в цветное соединение с помощью пероксида водорода. Интенсивность этого окрашивания зависит от количества амплифицированного фрагмента, и, следовательно, изначальной концентрации патогена в образце.

В будущем система будет представлять собой современное устройство point-of-care диагностики. Оно будет автоматически детектировать десять микроорганизмов прямо из клинического образца. При этом работать с данной тест-системой будет возможно без специальных навыков и дополнительного оборудования.

**Источники и литература**

- 1) Luo G., Yi T., Wang Q., Guo B., Fang L., Zhang G., Guo X. Stem-loop-primer assisted isothermal amplification enabling high-specific and ultrasensitive nucleic acid detection // Biosensors and Bioelectronics. 2021, Volume 184, 113239, ISSN 0956-5663.

- 2) Luo G., Yi T., Wang Q., Guo B., Fang L., Zhang G., Guo X. Stem-loop-primer assisted isothermal amplification enabling high-specific and ultrasensitive nucleic acid detection // Biosensors and Bioelectronics. 2021, Volume 184, 113239, ISSN 0956-5663. 2. Gorbenko D.A, Shkodenko L.V., Rubel M.S., Slita A.V., Nikitina E.V., Martens E.A., Kolpashchikov D.M. DNA nano-machine for visual detection of structured RNA and double-stranded DNA // ChemComm. In press.