**Определение антибиотикорезистентности методом поверхностно-усиленной рамановской спектроскопии**

***Мушенков В.А., Завьялова Е.Г.***

*Студент, 4 курс специалитета*

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,*

*химический факультет, Москва, Россия*

*E-mail: vladimir.mushenkov@mail.ru*

MTT-тест – метод, основанный на превращении клеточными ферментами 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-тетразолбромида (МТТ) в нерастворимый яркоокрашенный формазан. Данный тест широко используется для определения метаболической активности клеток, как прокариот, так и эукариот [1]. Для определения концентрации формазана обычно применяется спектрофотометрический метод. Преимущество детекции формазана при помощи SERS (Surface-enhanced Raman spectroscopy, поверхностно-усиленная рамановская спектроскопия) заключается в высокой чувствительности метода: фактор усиления сигнала на поверхности достигает 108-1011, и в некоторых случаях SERS позволяет обнаруживать отдельные молекулы [2]. Комбинация методов SERS-MTT предложена для измерения метаболической активности малого количества клеток без предварительного выращивания культур, что сократит время проведения анализа и позволит создать быстрый метод определения антибиотикорезистентности на его основе.

В текущем проекте была разработана методика определения формазана в клетках при помощи рамановской спектроскопии. Кинетика накопления формазана в клетках подтверждена данными спектрофотометрии. Далее было проведено исследование поверхностного усиления рамановского спектра формазана. В качестве усиливающей поверхности использовались Ag/Cr наночастицы, нанесённые на полиэтилентерефталатную мембрану с порами диаметром 70-90 нм. В контрольном опыте (без усиливающей поверхности) был получен существенно более низкий сигнал, и таким образом доказано многократное усиление сигнала формазана поверхностью. Были получены рамановские спектры единичных клеток *E. coli,* прокрашенных формазаном. Предложенная методика определения антибиотикорезистентности успешно применена к штаммам *E. coli* с устойчивостью к левофлоксацину, эритромицину и тетрациклину.

**Литература**

1. Grela E., Kozłowska J., Grabowiecka A. Current methodology of MTT assay in bacteria – A review //Acta histochemica. 2018. Vol. 120. №. 4. P. 303-311.

2. Schlücker S. Surface-Enhanced raman spectroscopy: Concepts and chemical applications //Angewandte Chemie International Edition. 2014. Vol. 53. №. 19. P. 4756-4795.