**Определение антибиотикорезистентности с использованием сочетания тетразолиевых красителей и спектроскопии комбинационного рассеяния**

***Мушенков В.А.1, Кукушкин В.И.2, Завьялова Е.Г.1***

*Студент, 6 курс специалитета*

*1Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
химический факультет, Москва, Россия*

*2Институт физики твердого тела имени Ю.А. Осипьяна Российской академии наук, Черноголовка, Россия*

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

Антибиотикорезистентность является одной из наиболее важных проблем современной медицины. Резистентные и мультирезистентные штаммы, к примеру метициллин – резистентный золотистый стафилококк, вызывают трудноизлечимые заболевания с высоким риском летального исхода. Однако тяжелые течения бактериальных инфекций не всегда связаны с отсутствием эффективно действующего антибиотика – нередко применяются эмпирические схемы лечения, не основанные на данных о чувствительности патогена, вследствие низкой скорости методов анализа антибиотикорезистентности. Золотым стандартом определения антибиотикорезистентности остаются фенотипические культуральные методы, требующие в среднем от 24 часов для получения результата. Ранее нами был разработан метод определения антибиотикорезистентности, использующий МТТ – тест для оценки метаболической активности бактерий и влияния антибиотика на неё [1]. МТТ – тест основан на ферментативной реакции восстановления тетразолиевого красителя МТТ в формазан. Активность восстанавливающих МТТ ферментов, и как следствие скорость реакции, сильно зависят от метаболической активности клетки, и её подавление антибиотиком приводит к снижению концентрации формазана. Для специфичного определения формазана в бактериях нами был применён метод спектроскопии комбинационного рассеяния, позволяющий определить формазан без влияния других компонентов среды на точность анализа. Разработанный метод позволяет в течение 1-2 часов получить результаты об устойчивости исследуемого штамма, показывая высокую сходимость с результатами культуральных методов, однако в случае грамположительных бактерий точность оказалась ниже. Так, при добавлении антибиотика в отдельных случаях наблюдалось повышение сигнала формазана вместо ожидаемого снижения, либо снижение сигнала формазана наблюдалось в концентрации, сильно превышающей ингибирующую. Одной из возможных причин ошибок является механизм восстановления МТТ внутри клеток. В данной работе мы предложили тетразолиевые соли XTT и WST-8, имеющие другой механизм восстановления, в качестве альтернативы МТТ для определения антибиотикорезистентности. оптимизировали метод для использования этих тетразолов, и сравнили точность результатов с МТТ – тестом. Интенсивность спектра XTT оказалась слишком низкой для его определения, WST-8 же, напротив, с высокой чувствительностью определялся как в чистом растворе, так и в бактериальной суспензии. WST-8 был протестирован на различных штаммах *S. aureus,* для которых он показывал большую сходимость с табличными данными, а повышения сигнала формазана при добавлении антибиотика, как в случае с МТТ, не происходило.

*Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-65-00015,*[*https://rscf.ru/project/24-65-00015/*](https://rscf.ru/project/24-65-00015/)

**Литература**

1. Mushenkov V., Zhigalova K., Denisov P., Gordeev A., Lukyanov D., Kukushkin V., Priputnevich T., Zavyalova E. Rapid Raman spectroscopy-based test for antimicrobial resistance // Open Biol. 2025. Vol. 15. 240258. DOI: https://doi.org/10.1098/rsob.240258