

УДК 579.61 + УДК 531.7

РАЗРАБОТКА АЛГОРИТМА ОБРАБОТКИ СТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ МОРФОЛОГИИ БАКТЕРИЙ НА ОСНОВЕ АСМ-ИЗОБРАЖЕНИЙ

Банков А.А. (Университет ИТМО)

Научный руководитель – к.т.н., м.н.с., Жуков М.В.

(Институт аналитического приборостроения Российской академии наук)

Введение. В связи с выработкой различных механизмов устойчивости бактериальных штаммов к используемым в клинической практике антибиотикам существует потребность в поиске эффективных способов детекции, предупреждающего анализа и мониторинга антибиотикорезистентности микроорганизмов [1]. Одним из вариантов решения проблемы является ускорение процедуры непосредственного определения необходимого антибиотика за счёт альтернативных методов. В частности, перспективными являются методики, основанные на атомно-силовой микроскопии, позволяющие с высокой точностью детектировать структурные изменения объектов [2]. Однако существенно ограничивают данный подход к исследованию трудности, вызванные отсутствием универсального подхода к измерению параметров структуры исследуемых штаммов, что сказывается на точности получаемых результатов и их сопоставимости с классическими подходами проверки антибиотикорезистентности. При постоянных внешних условиях оказываемое воздействие антибиотика на бактерию с высокой точностью идентифицируется с помощью атомно-силовой микроскопии, так как структура микроорганизмов при воздействии внешних факторов подвержена изменению. Сравнение АСМ-изображений до и после воздействия антибиотика позволяет определить среднее отклонение геометрии бактерий [3].

Основная часть.

Для измерения топографии бактерий использовались сканирующие зондовые микроскопы (СЗМ) NanoEducator II и Ntegra Aura (НТ-МДТ, Россия). В качестве модельных объектов были выбраны бифидобактерии, сорбированные на частицах активированного угля (не менее 5×10^7 колониеобразующих единиц), которые выделялись из сухого вещества бифидумбактерина путем его растворения и последующей промывки. Впоследствии бактерии подвергались воздействию бактерицидного антибиотика и наносились на поверхность подготовленной подложки, выдерживались до момента высыхания, промывались дистиллированной водой и помещались в СЗМ. Измерения проводились методом атомно-силовой микроскопии (АСМ) в полуконтактной моде для уменьшения инвазивности метода.

Полученные АСМ-данные подвергались обработке в программах Gwyddion и Image J для упрощения изменений морфологии бактерий и повышения экспрессности метода, проводились следующие шаги:

1. Сегментация изображений для выделения бактерий по методам водораздела, по краю, методу Оцу и т.п. Выделение оптимального метода под каждый конкретный случай.
2. Выделение бактерий по пороговому значению высот (выделение и анализ слоев изображения по оси Z). Построение и анализ гистограмм распределения высот.
3. Проведение алгебраических операций (сложение, вычитание, умножение) с СЗМ-данными для выявления изменения морфологии бактерий.

Выполнение данных задач исследования поможет в разработке полноценного алгоритма обработки структурных изменений морфологии бактерий на основе полученных АСМ-изображений. В дальнейшем планируется проведение исследований антибиотикорезистентности и отработки алгоритма на штаммах *Escherichia Coli*.

Выводы. Предложена концепция алгоритма обработки данных структуры бактерий, позволяющая определять эффективность антибактериального препарата за малый промежуток времени при использовании метода АСМ.

Список использованных источников:

1. Кузьменков А. Ю., Виноградова А. Г. Мониторинг антибиотикорезистентности: обзор информационных ресурсов // Бюллетень сибирской медицины. – 2020. – Т. 19. – №. 2. – С. 163-170.
2. Банков, А. А. Экспресс способ оценки антибиотикорезистентности бактерий / А. А. Банков // Современные тенденции развития функциональных материалов: Сборник тезисов докладов Международной молодежной научной конференции, Сочи, 11–13 ноября 2021 года. – СОЧИ: Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования "Научно-технологический университет "Сириус", 2021. – С. 18.
3. Ierardi V. et al. *Klebsiella pneumoniae* antibiotic resistance identified by atomic force microscopy // Journal of biosciences. – 2017. – Т. 42. – С. 623-636.