Письма в ЖЭТФ, том 124, вып. 8, с. 670 – 675 © 2026 г. 25 октября

Серебряные дендриты как 3D-платформа для детектирования и индентификации бактерий на основе спектроскопии комбинационного рассеяния и метода анализа главных компонентов

Т. В. Байкова[+*], *С. А. Гончуков*[+×], *А. П. Свиридов*[°], *А. А. Тимофеев*[+], *Э. Р. Толордава*[×▽], *М. Ю. Цветков*[°1)]

[+] *Национальный исследовательский ядерный университет "МИФИ" (НИЯУ МИФИ), 115477 Москва, Россия*

[*] *Российский технологический университет МИРЭА, 119454 Москва, Россия*

[×] *Физический институт им. П. Н. Лебедева РАН, 119991 Москва, Россия*

[°] *Национальный исследовательский центр "Курчатовский институт ", 123182 Москва, Россия*

[▽] *Федеральное государственное бюджетное учреждение "Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи 123098 Москва, Россия*

Поступила в редакцию 24 июля 2026 г.
После переработки 14 сентября 2026 г.
Принята к публикации 15 сентября 2026 г.

Сообщается о детектировании бактерий с помощью поверхностно-усиленной спектроскопии комбинационного рассеяния SERS (Surface-Enhanced Raman Spectroscopy), использующей дендритные серебряные наноструктуры, полученные методом химического травления MACE (metal-assisted chemical etching). На основе метода анализа главных компонентов PCA (Principal Components Analysis) применен подход верификации бактерий по их спектрам комбинационного рассеяния, позволяющий выявить ключевые закономерности путем программной обработки набора спектров применительно к идентификации вида микроорганизма. Представленная работа направлена на выяснение возможности надежного детектирования и идентификации бактерий с использованием SERS в сочетании с простым способом формирования "горячих серебряных наноточек" методом MACE и статистической обработки экспериментальных данных.

DOI: 10.7868/S3034576626100237

1. Введение. Инфекционные заболевания, вызванные патогенными организмами – бактериями, остаются серьезной угрозой для здоровья, людей несмотря на значительные успехи в борьбе с ними. Хотя глобально смертность от всех видов инфекционных болезней снизилась за четверть века с 23 до 15 %, тем не менее, уровень смертности еще высок, а успехи распределены неравномерно и бывают неэффективными [1–4].

Создание новых подходов в части оперативного детектирования и идентификации патогенов становится актуальным, поскольку традиционные методы в микробиологии, такие как полимеразная цепная реакция (ПЦР) или метод масс-спектрометрии MALDI TOF, являются довольно сложными, дорогостоящими и могут занимать значительное время. В то же время, быстрое и точное обнаружение бактериальных патогенов может иметь решающее значение для устранения рисков в здравоохранении.

Молекулярная спектроскопия может служить надежным средством для решения задачи бактериальной диагностики. Среди них метод SERS занимает важнейшее место, поскольку позволяет проводить сравнительно быстро неинвазивные измерения малого количества вещества, находящегося в любом агрегатном состоянии. Специальной подготовки или маркировки пробы для исследований при этом не требуется, а молекулярный спектр детектируется в удобном для регистрации видимом диапазоне спектра. SERS хорошо зарекомендовала себя для обнаружения и идентификации биологических объектов: от тканей до отдельных клеток и молекул, поскольку позволяет получить своего рода молекулярный отпечаток объекта наподобие индивидуального рисунка отпечатка пальца в дактилоскопии.

Исходно низкая чувствительность спектроскопии комбинационного рассеяния (КР) существенно огра-

[1)] e-mail: mtsvet52@mail.ru

ничивала ее применение. Ситуация кардинально изменилась после обнаружения явления усиления рассеяния света от объекта на наноструктурированных поверхностях или на наночастицах (НЧ) за счет плазмонного механизма усиления рассеяния [5]. В результате, поверхностно-усиленная спектроскопия SERS стала самым востребованным методом неинвазивного исследования различных объектов на молекулярном уровне. Было показано, что за счет плазмонного механизма может быть получен огромный коэффициент усиления рассеяния вплоть до $10^{14}-10^{15}$, что соответственно повышает на порядки чувствительность молекулярной спектроскопии [5].

В области исследования бактерий SERS занимает особое место, так как бактерии кардинально отличаются от традиционно исследуемых объектов – молекул, как размером и структурой, так и характером сопряжения с поверхностью подложки-сенсора [6]. Бактерии – одноклеточные организмы. Молекулярная сложность такой системы и, в то же время, определенная схожесть бактерий по формальному молекулярному составу и строению предъявляют особые требования к их дифференциальному детектированию. Поэтому создание новых платформ-сенсоров, которые стали бы эффективными для детектирования бактерий, а также развитие методов их надежной идентификации актуально.

Появление новых возможностей можно ожидать при использовании серебряных нанодендритов в качестве платформы для SERS-исследований бактерий. Серебряные нанодендриты обладают определенными преимуществами перед НЧ и перед наноструктурированными поверхностями, так как позволяют путем несложной технологии формировать специфический "лес" 3D структур фрактального характера с широким диапазоном форм и размеров с локализацией серебра в пространстве в нанометровом масштабе [7]. В таком случае можно получать большое число плазмонных "горячих точек" в трехмерном пространстве, позволяющих исследовать спектры КР клеток в более полной мере, чем при плоскостном детектировании.

Представленная работа направлена на выяснение возможности надежного детектирования и идентификации бактерий с использованием SERS в сочетании с простым способом формирования "горячих серебряных наноточек" методом MACE и статистической обработки экспериментальных данных [8].

2. Материалы и методы. В данной работе применялась технология химического травления MACE, позволяющая создавать дендритные структуры на кремниевых подложках с образованием наноразмерных формирований серебра [9]. Технология образования дендритных структур детально описана в нашей предыдущей работе [7].

Для демонстрации возможностей детектирования патологических микроорганизмов методом SERS с использованием дендритных серебряных наноструктур, исследования были выполнены с бактериями *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas* и *Salmonella*. Использовались штаммы бактерий РАО из коллекции лаборатории генной инженерии патогенных микроорганизмов ФГБУ НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи. Бактериальные культуры, относящиеся к 4-й группе патогенности и подготовленные для дальнейших безопасных спектральных исследований, выращивали в жидкой среде Luria-Bertani. Для получения планктонных клеток суточную бульонную культуру бактерий центрифугировали, убирали супернатант и добавляли дистиллированную воду. Бактериальную культуру наносили на поверхность кремниевых подложек с дендритными структурами серебра и высушивали при комнатной температуре.

Исследования проводились для суспензий бактерий с концентрациями 10^6, 10^7 и 10^8 КОЕ/мл. Для каждой концентрации и каждой исследуемой подложки были выполнены три независимые экспериментальные серии измерений. Под независимой серией понимался отдельный цикл подготовки бактериальной суспензии с последующим нанесением капли суспензии на подложку, ее высушивание и регистрация спектров при одинаковых параметрах эксперимента. В каждой серии регистрировали спектры от разных бактерий данного вида в пределах капли. Формирование статистической выборки при PCA-анализе проводилось по 15 спектрам. Сопоставление трех серий использовалось для оценки межсерийной воспроизводимости КР-спектров.

Спектральные измерения выполнены на спектрометре Nicolet Almega XR при облучении объекта лазером на длине волны 532 нм. Излучение фокусировалось на образец 100-кратным объективом. Мощность лазерного облучения образца не превышала 10 мВт, чтобы не приводить к выцветанию (photobleaching) и деструкции исследуемого объекта. Время экспозиции одного спектра составляло 10 с, число накоплений – 10. Спектры зарегистрированы в диапазоне 500–3500 $см^{-1}$.

На рисунке 1 представлены элементный состав, полученный с помощью энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии (ЭДС), и три вида серебряных комплексов дендритов, полученных на сканирующем электронном микроскопе (СЭМ) при разных

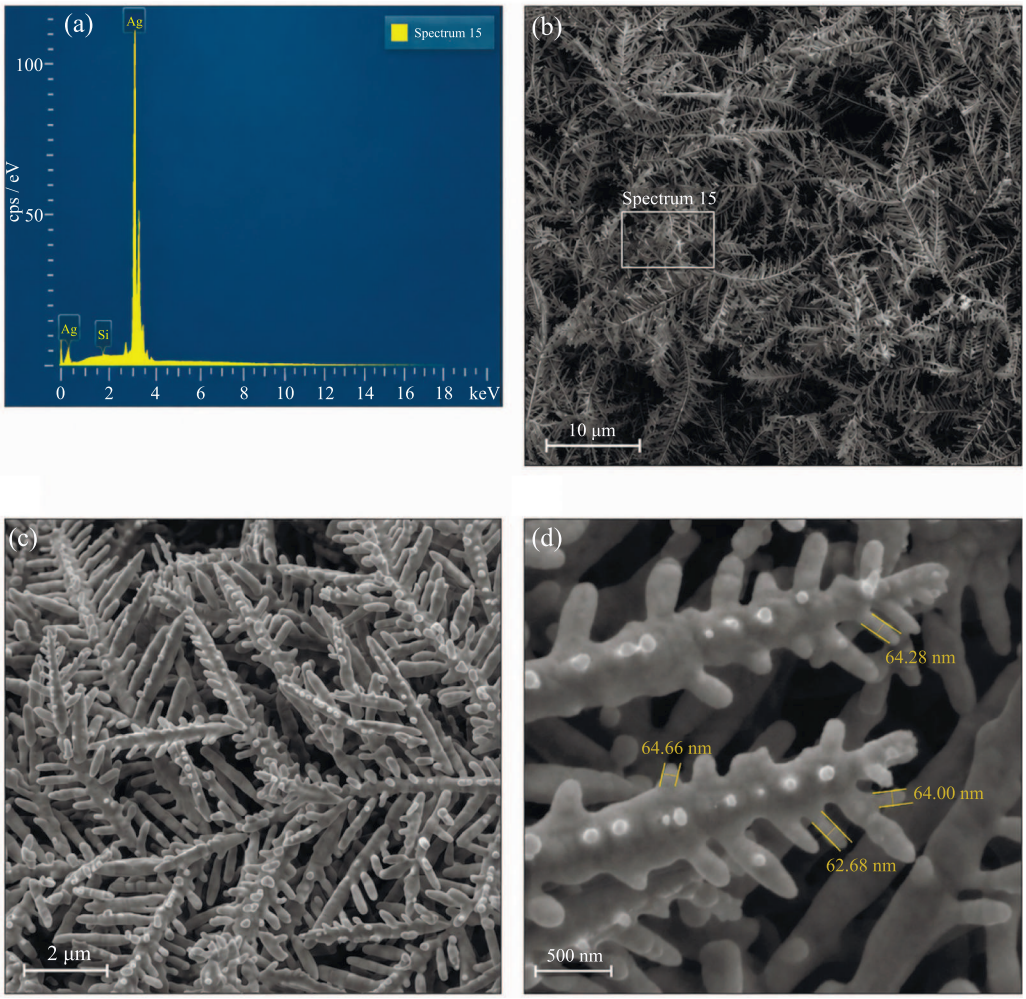

Рис. 1. (Цветной онлайн) Рентгеновский спектр ЭДС и СЭМ изображения комплексов “Ag-дендриты”, сформированных в растворе 4.8 M HF и 0.005 M $AgNO_3$ на 5 мл H_2O

увеличениях. Зарегистрированный с помощью ЭДС слабый след от кремния на рис. 1a, очевидно, связан с возможностью “увидеть” подложку через паутину дендритов.

На рисунке 2 приведены типичные исходные ненормированные спектры КР Staphylococcus aureus, зарегистрированные на серебряных дендритах и на плоской кремниевой подложке, а также спектры КР кремния и алюминия. Сопоставление спектров демонстрирует влияние материала подложки на регистрируемый сигнал и позволяет оценить усиление КР при использовании дендритных наноструктур серебра.

В зависимости от характера сопряжения бактерии с поверхностью подложки-сенсора отдельные компоненты спектра КР могут заметно изменяться по интенсивности, искажая реальный спектр и затрудняя тем самым идентификацию.

Для верификации видов бактерий по их спектрам КР применялась их обработка методом анализа главных компонентов PCA. Метод PCA, уменьшая размерности данных, преобразует исходные переменные в новые, называемые главными компонентами. Это упрощает анализ и визуализацию экспериментальных данных, позволяя тем самым выделить главную часть информации [8]. Применение метода PCA для анализа спектров КР бактериальных клеток является известным хемометрическим подходом. В нашем случае он адаптирован для анализа и верификации бактериальных клеток, что ранее не использовалось при идентификации вида бактерий на серебряных дендритах, сформированных на кремнии методом MACE.

Перед проведением PCA-анализа все зарегистрированные спектры обрабатывали по единому алгоритму для диапазона 600–1800 $см^{-1}$, в пределах ко-

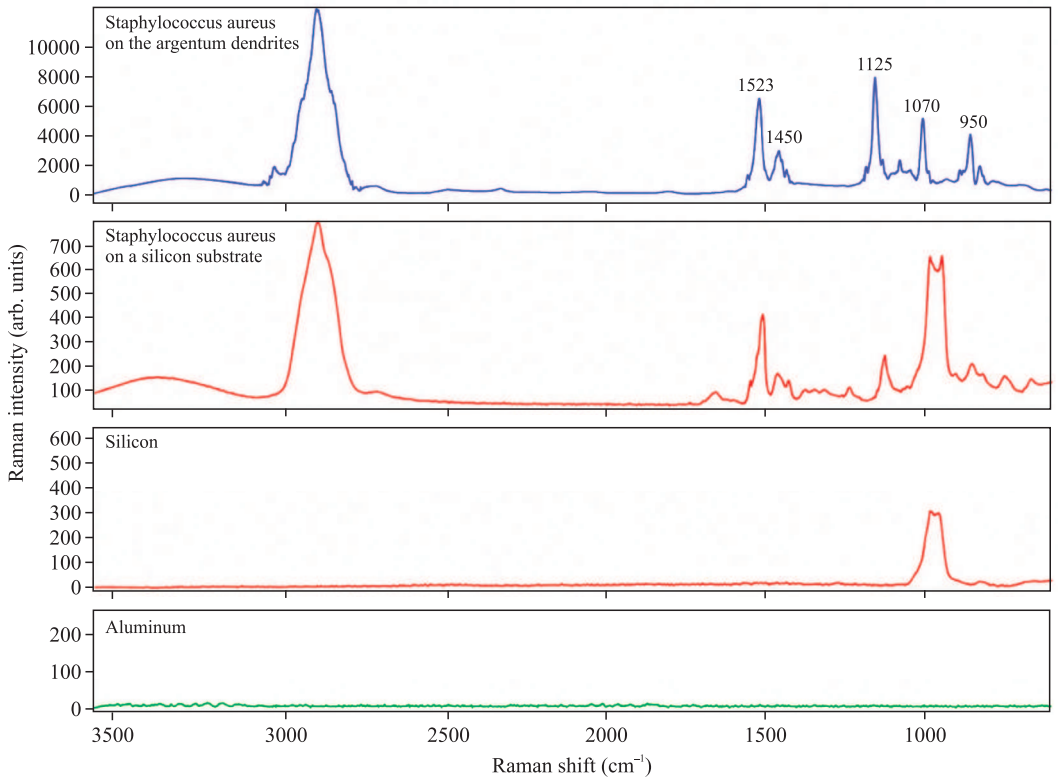

Рис. 2. (Цветной онлайн) Спектры комбинационного рассеяния (сверху вниз) бактерии *Staphylococcus* aureus на серебряных дендритах и на кремниевой подложке, а также спектры кремния и алюминия в отдельности

торого находятся обусловленные схожим молекулярным составом основные характерные линии бактерий. Далее снижение высокочастотного шума спектров сглаживалось методом Савицкого–Голея с шириной окна 15 точек и полиномами как 3-й, так и 5-й степени. Исследования показали, что и в том, и в другом случае принципиальной разницы не было замечено. Изменялось только расположение точек на диаграммах PC1-PC2 и величина достоверности диагностики – 88.8 % вместо 88.9 %.

Для учета медленно меняющейся фоновой составляющей проводилась коррекция базовой линии. Спектры нормировались по их максимальному значению. После такой предобработки каждый КР спектр представлял собой вектор нормированных интенсивностей при одинаковых значениях волнового числа. На основе полученной матрицы данных проводился анализ PCA, где строки соответствовали отдельным экспериментальным спектрам, а столбцы – значениям интенсивности в выбранном спектральном диапазоне. На рисунке 3 представлены результаты такой обработки в виде PC1–PC2 диаграмм, полученных с применением фильтра Савицкого–Голея с полиномом 3-й степени.

3. Результаты и их обсуждение. СЭМ-изображения формируются путем детектирования низкоэнергетических вторичных электронов, образующихся в результате взаимодействия зондирующих электронов с образцом. Поскольку сцинтилляторы преобразуют в свет электроны с энергиями 10–15 кэВ, то энергия вторичных электронов повышается дополнительно в поле с напряжением 12 кВ. Таким образом, не энергия вторичных электронов, а их количество определяет яркость и контраст получаемого изображения. Поэтому от глубоко расположенных и затененных ветвей дендритов приходит на детектор меньше вторичных электронов, чем от верхних отростков ветвей дендритов, ориентированных навстречу падающему зондирующему пучку электронов [10]. Последние из указанных отростков отображены на рис. 1d в виде ярких зерен.

Структура серебряных дендритов, формируемых методом химического травления MACE, зависит от выбранных технологических параметров. При этом, как показали измерения, размеры ветвей серебряных дендритов можно изменять от сотен до десятков нанометров. Лучший результат по усилению рассеянного излучения от бактерий был получен в растворе

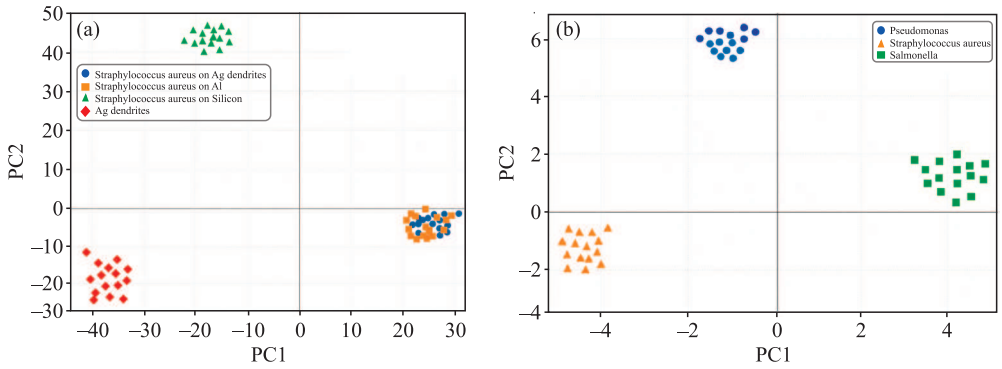

Рис. 3. (Цветной онлайн) Точечные диаграммы, иллюстрирующие результат PCA-анализа: (a) – бактерии *Staphylococcus aureus* на серебряных дендритах (синие кружки), на плоской алюминиевой подложке (оранжевые квадраты), на кремниевой подложке (зеленые треугольники), а также спектр КР серебряных дендритов без бактерий (коричневые ромбы); (b) – результаты PCA-анализа бактерий Staphylococcus aureus, Pseudomonas и Salmonella.

4.8 M HF и 0.005 M $AgNO_3$ на 5 мл H_2O для суспензий бактерий с концентрацией 10^8 КОЕ/мл. Как видно на рис. 1d, в таком случае образуются отростки ветвей дендритов с размерами на уровне 60 нм, обладающие высокой кривизной поверхности и поэтому вносящие главный вклад в формирование плазмонных "горячих точек" SERS.

О выигрыше в чувствительности спектральной регистрации бактерии Staphylococcus aureus при использовании серебряных дендритов можно судить из рис. 2. Как видно, он не менее полутора порядков по сравнению с данными, полученными на плоской кремниевой подложке. Из данных, приведенных на рис. 2, следует также, что выбор простой ненаноструктурированной подложки (например, чистого алюминия) может быть вполне приемлемым, если чувствительность регистрирующей аппаратуры достаточна для ее детектирования. В том же случае, когда линии КР спектра подложки совпадают с диапазоном 600–1800 $см^{-1}$ и являются помехой (как в случае кремния), то их влияние может быть учтено при PCA.

Перекрывающиеся сильные линии на рис. 2 в окрестности 2800–3000 $см^{-1}$, связаны с CH_2 и CH_3 колебаниями протеинов и липидов и свойственны вообще органическим соединениям. Поэтому при дифференциальном анализе такие линии в расчет не принимались. Наблюдаемая спектральная линия 950 $см^{-1}$ обусловлена продольными колебаниями молекул аминокислот и полисахаридов, линия 1070 $см^{-1}$ – с колебаниями азотистых оснований и линия 1450 $см^{-1}$ – с изгибными колебаниями протеинов. Характерными для золотистого стафилококка являются линии 1125 $см^{-1}$ и 1523 $см^{-1}$, связанные с валентными колебаниями C–C и C=C каротиноидов β-каротина и ликопина соответственно [11].

Анализ главных компонентов, выполненный для бактерии *Staphylococcus aureus*, показал, что первая и вторая главные компоненты объясняют 61.1 и 34.5 % общей дисперсии соответственно, а их суммарный вклад составил 95.6 %. При использовании PCA-признаков в сочетании с линейным дискриминантным анализом точность классификации по схеме скользящего контроля кросс-валидации составила 88.8 % для этой бактерии.

На рисунке 3 результаты PCA-анализа представлены в виде точечной диаграммы PC1–PC2. Каждая точка на ней соответствует одному измерению. Их разброс характеризует вариативность детектируемых спектров. Каждая группа точек занимает свою область, которая не перекрывается с другими областями, поскольку связана с конкретной бактерией или видом подложки. При этом, как следует из рис. 3a, область бактерии сохраняется неизменной независимо от вида подложки (серебряные дендриты или алюминиевая пластина). Данные PCA-анализа бактерии на подложке, оказывающей влияние на КР спектр (кремниевая подложка), также образуют свою характерную локальную область, но учет и исключение помехи от кремния при обработке приводит к смещению этой области на диаграмме. На рисунке 3a приведены результаты PCA-анализа серебряных дендритов, которые также можно идентифицировать по своему локальному расположению на диаграмме PC1–PC2.

На рисунке 3b представлены результаты PCA-анализа трех разных бактерий, нанесенных на подложку с серебряными дендритами. Видно, что все бактерии занимают свои неперекрывающиеся области, показывая, тем самым, что хотя они и подобны по составу и структуре, но просто детерми-

нируются на поле PC1–PC2 раздельно с помощью PCA-анализа.

4. Заключение. В данной работе продемонстрирована возможность детектирования и идентификации бактерий с помощью поверхностно-усиленной спектроскопии комбинационного рассеяния в сочетании с простым способом формирования "горячих серебряных наноточек" методом MACE и статистической обработки экспериментальных данных. Полученные результаты могут служить основанием для применения данного подхода при дифференциальном детектировании и идентификации различных микроорганизмов. Ожидаемая точность идентификации высока. Так, в случае при исследовании бактерии *Staphylococcus aureus*, она составила 88.8 %.

Авторы благодарят за поддержку и предоставленные ресурсы МИРЭА – Российский технологический университет, Национальный исследовательский ядерный университет "МИФИ", Национальный исследовательский центр "Курчатовский институт" в части изготовления дендритных серебряных наноструктур, а также Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени Н. Ф. Гамалеи в части подготовки бактериальных образцов для спектральных исследований.

Финансирование работы. Данная работа финансировалась за счет средств бюджетов Национального исследовательского ядерного университета "МИФИ", МИРЭА – Российского технологического университета, Национального исследовательского центра "Курчатовский институт" и Национального исследовательского центра эпидемиологии и микробиологии имени Н. Ф. Гамалеи. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

Конфликт интересов. Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

1. R. Laxminarayan, A. Duse, C. Wattal et al. (Collaboration), "Antibiotic resistance–the need for global solutions", The Lancet Infectious Diseases **13**(12), 1057 (2013); doi: 10.1016/S1473-3099(13)70318-9.
2. B. Behera, R. Singh, K. Sharma, A. Rai, S. Singh, and B. Balan, "A comprehensive review of advanced strategies to combat antimicrobial resistance", Arch. Microbiol. **207**, 281 (2025); doi:10.1007/s00203-025-04464-3.
3. F. R. Cairoli, D. Tordrup, and C. Bishop, "Antimicrobial resistance: a global public health threat", Journal of Pharmaceutical Health Services Research **17**(2), (2026); rmag010. https://doi.org/10.1093/jphsr/rmag010.
4. Н. Д. Омельченко, И. А. Иванова, Н. Е. Гаевская, А. В. Тюрина, А. В. Филиппенко, А. А. Труфанова, "Современные подходы к бактериофаготерапии инфекционных болезней", Проблемы особо опасных инфекций **1**, 54 (2025) [N. D. Omel'chenko, I. A. Ivanova, N. E. Gaevskaya, A. V. Tyurina, A. V. Filippenko, and A. A. Trufanova, "Sovremennye podkhody k bakteriofagoterapii infektsionnykh bolezney", Problemy Osobo Opasnykh Infektsii **1**, 54 (2025)] [in Russian)]; DOI: 10.21055/0370-1069-2025-1-54-64.
5. *Поверхностно-усиленная рамановская спектроскопия: аналитические, биофизические и биомедицинские приложения*, под ред. С. Шлюкер, (ТЕХНОСФЕРА, М., 2017) [*Surface Enhanced Raman Spectroscopy: Analytical, Biophysical and Life Science Applications*, ed. by Schlücker (Wiley-VCH, Weinheim, 2011)]; DOI: 10.1002/9783527632756.
6. S. Pahlow, S. Meisel, D. Cialla-May, K. Weber, P. Rosch, and J. Popp, "Isolation and identification of bacteria by means of Raman spectroscopy", Adv. Drug Deliv. Rev. **89**, 105 (2015); http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2015.04.006.
7. M. Yu. Tsvetkov, and A. P. Sviridov, "Dendritic Silver Structures for the SERS Diagnostics of Liquids", Nanobiotechnology Reports **19**(3), 351 (2024); DOI: 10.1134/S2635167624601608.
8. I. T. Jolliffe, *Principal Component Analysis*, 2nd ed. (Springer, N.Y., 2002).
9. X. Li and P. W. Bohn, "Metal-assisted Chemical Etching", Appl. Phys. Lett. **77**, 2572 (2000); https://doi.org/10.1063/1.1319191.
10. *Практическая растровая электронная микроскопия*, под ред. Дж. Гоулдстейна, Х. Яковица, (Мир, М., 1978) [*Practical Scanning Electron Microscopy: Electron and Ion Microprobe Analysis*, ed. by J. I. Goldstein and H. Yakowit (Plenum Press, N.Y., 1975)]; DOI: 10.1007/978-1-4613-4422-3.
11. Z. Movasaghi, S. Rehman, and I. U. Rehman, "Raman spectroscopy of biological tissues", Appl. Spectrosc. Rev. **42**(5), 493 (2007); DOI: 10.1080/05704920701551530.