

изображения к изображению позволит делать прогнозы разрастания популяции микроорганизмов или её деградации.

Список использованных источников

1. Крохмаль, В.И. Применение визуализирующего флуориметра для оценки состояния биологических объектов в закрытых экосистемах [Электронный ресурс] / В.И. Крохмаль, А.И. Попов, В.Н. Гришанов. - XXII Всероссийская молодежная Самарская конкурс-конференция по оптике, лазерной физике и физике плазмы: сборник тезисов (Самара, 12–16 ноября 2024 г.) [Электронное издание]. – М.: Тривант, 2024. – С. 160 – 162.\

Крохмаль Владимир Игоревич, студ. гр. 6231-120404D, baki.retard@gmail.com
Гришанов Владимир Николаевич, к.т.н., доцент, доцент каф. ЛБС, vladgrishanov@yandex.ru

УДК 543.421/424

АНАЛИЗ СПЕКТРОВ КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ В БЛИЖНЕМ ИНФРАКРАСНОМ ДИАПАЗОНЕ БИОПЛЁНОК ЗАДНЕЙ СТЕНКИ ВЛАГАЛИЩА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ПРОТИВОМИКРОБНЫМ СРЕДСТВОМ

Д.Н. Артемьев, А.А. Карманова

«Самарский национальный исследовательский университет имени
академика С.П. Королёва», г. Самара

Ключевые слова: Рамановская спектроскопия, бактериальный вагиноз, *Gardnerella vaginalis*, биоплёнка, терконазол, 785 нм.

Биоплёнки являются одной из главных причин хронических и рецидивирующих бактериальных заболеваний, в числе которых и бактериальный вагиноз (БВ). Они обладают повышенной устойчивостью ко многим антибиотикам из-за внеклеточного матрикса или EPS-матрикса, который образует барьер, защищающий бактерии. В связи с этим усложняется контроль, диагностика и лечение БВ у женщин. Перспективным методом быстрой и неразрушающей диагностики является спектроскопия комбинационного рассеяния (КР), позволяющая получать информацию о составе биологических веществ [1].

В данной работе проведен анализ Рамановских спектров вагинальных биоплёнок *Gardnerella vaginalis* при длине волны возбуждения 785 нм. Исследованы три типа образцов: контроль (биоплёнка без препарата), чистое действующее вещество — терконазол, а также контроль после воздействия на него терконазолом. Выполнена предобработка: вычитание фона стекла, SNV-нормализация и удаление флуоресцентного фона. Также выявлено уменьшение интенсивности Рамановских пиков с обнаружением новых. Метод КР-спектроскопии позволяет визуализировать компонентные

изменения в биоплёнке при терапии бактериального вагиноза терконазолом.

Изучаемым антимикробным средством является терконазол — противогрибковый препарат, который, согласно некоторым исследованиям, способен разрушительно воздействовать на вагинальные биоплёнки. Однако молекулярные изменения компонентов биоплёнки под действием данного препарата остаются недостаточно изученными.

Изучение материалов проводилось на Рамановском микроскопе ADF E300M с длиной волны возбуждения 785 нм, мощностью лазерного излучения 100 мВт, объективом с кратностью увеличения 50. Время экспозиции при проведении эксперимента составляло 4000 мс, а число накоплений — 10. В ходе исследования были исследованы контроль (биоплёнка без препарата), лекарственное средство — терконазол, а также образец биопленки после воздействия на неё терконазолом. Данные спектры содержат 2670 точек в диапазоне 197–2358 см⁻¹.

Предобработка включала несколько этапов. Первый включает вычитание фона стекла. Так как стекло при работе с 785 длиной волны дает широкий пик в диапазоне 1300–1400 см⁻¹, который полностью или частично перекрывает слабый биологический сигнал от исследуемого вещества. Коррекция фона осуществлялась по формуле (1) ниже:

$$I_{corrected}(v) = I_{sample}(v) - \alpha \cdot I_{glass}(v), \quad (1)$$

где коэффициент α подбирался индивидуально для каждого спектра. Для того, чтобы пик стекла исчез, но при этом полезный сигнал сохранился.

Далее для приведения спектров к единому виду была применена SNV-нормализация. Она позволила привести все спектры к единому масштабу.

Также был проведён этап удаления флуоресцентного фона, который создает плавный и сильный подъем интенсивности пиков. Фон аппроксимировался полиномом 5-го порядка по формуле (2):

$$f(v) = a_5v^5 + a_4v^4 + a_3v^3 + a_2v^2 + a_1v + a_0 \quad (2)$$

Коэффициенты a_i подбирается методом наименьших квадратов по точкам, лежащим вне Рамановских пиков. Затем фон вычитается по формуле (3):

$$(v) = I_{raw}(v) - f(v) \quad (3)$$

После проведения этапов обработки остаются полезные Рамановские пики без вклада стекла.

Далее перейдем к сравнительному анализу спектров. На рисунке 1 представлено сравнение SNV-нормализованных спектров: контроль, биоплёнка после воздействия терконазола и чистое действующее вещество — терконазол.

Для количественной оценки изменений рассчитан разностный спектр, где вычитается из контроля биоплёнка после воздействия терконазола. Он представлен на рисунке 2.



Рисунок 1 – Спектры контроля (биоплёнки без препарата), лекарственного средства — терконазола, биоплёнка после воздействия терконазола

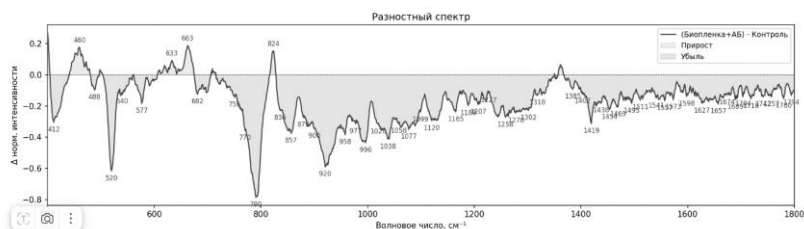


Рисунок 2 – Разностный спектр в диапазоне 400–1800 см^{-1}

Под действием терконазола наблюдается значительное уменьшение интенсивности Рамановских пиков биоплёнки. Однако сохраняются положительные пики 460, 633, 663, 824 см^{-1} , которые не соответствуют спектральным особенностям чистого терконазола, прямого переноса пиков препарата не выявлено.

Пик, соответствующий волновому числу 460 см^{-1} . Эта область деформационных колебаний S–S связей, то есть дисульфидные мостики в белках. Также в области 633 см^{-1} выделяется интенсивность, которую чаще всего относят к аминокислоте тирозин. Пик 663 см^{-1} является маркером нуклеиновых кислот ДНК или РНК, что относится к кольцевым колебаниям азотистых оснований тимина и гуанина. Это один из самых ярких маркеров сохранения бактериальной составляющей —EPS матрикса. Также выделен пик 824 см^{-1} , который является еще одним маркером аминокислоты тирозин [2, 3].

В разностном спектре преобладают отрицательные пики. Это явно заметно в областях 850–960 см^{-1} , что соответствует снижению пиков полисахаридов и 500–550 см^{-1} , что указывает на уменьшение белковых компонентов. Это свидетельствует о частичном разрушении внеклеточного матрикса (EPS) под действием терконазола[2, 3].

КР-спектроскопия при использовании лазера с длиной волны 785 нм

позволяет регистрировать подавление интенсивности пиков вагинальной биоплёнки *Gardnerella vaginalis* под действием терконазола, что свидетельствует об уменьшении метаболической активности и разрушении некоторых структур внеклеточного матрикса. При этом сохраняются некоторые пики 460, 633, 663, 824 см⁻¹, относящиеся к белковому и нуклеиновому компоненту биопленок.

Исходя из приведенных данных можно выдвинуть гипотезу о том, что терконазол негативно воздействует на клеточные белки и полисахаридный EPS. Он разрушает защитную структуру микробного сообщества, что приводит к ослаблению устойчивости бактерий к антимикробным средствам и повышает эффективность терапии, снижая риск рецидива БВ.

Список использованных источников

1. Современные представления о биоплёнках микроорганизмов // Фарматека. – 2020. – № S5. – URL: <https://pharmateca.ru/ru/archive/article/39178> (дата обращения: 20.01.2026).
2. Ivleva N.P. et al. Towards a nondestructive chemical characterization of biofilm matrix by Raman microscopy // Analytical and Bioanalytical Chemistry. – 2009. – Vol. 393, № 1. – P. 197–206.
3. De Gelder J. et al. Reference database of Raman spectra of biological molecules // Journal of Raman Spectroscopy. – 2007. – Vol. 38. – P. 1133–1147.

УДК 004.891.3:543.424.2:616-71

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТОДОВ МАШИННОГО ОБУЧЕНИЯ ДЛЯ СПЕКТРАЛЬНОГО АНАЛИЗА ОПТИЧЕСКОЙ БИОПСИИ СЫВОРОТКИ КРОВИ

Е.А. Бешанова

«Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королёва», г. Самара

Ключевые слова: нейронные сети, машинное обучение, рамановская спектроскопия, сыворотка крови, хроническая сердечная недостаточность.

Современные методы медицинской диагностики стремительно развиваются. В наши дни одним из самых прогрессивных направлений является неинвазивная и высокочувствительная диагностика заболеваний. Одним из таких методов является рамановская спектроскопия [1]. Рамановские спектры биологических жидкостей (плазмы и сыворотки крови) содержат значимую информацию для диагностики заболеваний, в особенности, для диагностики хронической сердечной недостаточности (ХСН), которая остается одним из самых распространенных сердечно-сосудистых заболеваний в мире.

В исследовании использовались спектры сыворотки и плазмы крови, полученные с применением технологии поверхностно-усиленной рамановской