

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СПЕКТРОВ КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ БИОПЛЁНОК *GARDNERELLA VAGINALIS* ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ТЕРКОНАЗОЛА НА ДЛИНАХ ВОЛН ВОЗБУЖДЕНИЯ 532 НМ И 785 НМ

А.А. Карманова¹, Д.Н. Артемьев¹

¹Самарский университет, г. Самара
e-mail: annakarmanova2004.com@gmail.com

Аннотация

Метод рамановская спектроскопии позволил визуализировать компонентные изменения в биоплёнке при терапии бактериального вагиноза терконазолом на длинах волн возбуждения 532 и 785 нм. В данной работе показано, что при 785 нм флуоресцентный фон существенно ниже, а после обработки наблюдается статистически значимое снижение интенсивности пиков, соответствующих полисахаридам и белкам внеклеточного матрикса, то есть EPS-матрикса. При возбуждении лазерного излучения с длиной волны 532 нм сохраняется больше характерных пиков биоплёнки, однако сильная флуоресценция затрудняет количественный анализ.

Ключевые слова: рамановская спектроскопия, биоплёнка, *Gardnerella vaginalis*, терконазол, 532 нм, 785 нм, бактериальный вагиноз, внеклеточный матрикс.

Введение

Бактериальный вагиноз – одно из самых распространённых гинекологических заболеваний, в основе которого лежит полимикробная биоплёночная инфекция, доминирующая *Gardnerella vaginalis* [1, 2]. Биоплёнки обладают высокой резистентностью к антибиотикам за счёт внеклеточного матрикса (EPS) [3–5]. Перспективным неинвазивным методом контроля эффективности терапии является спектроскопия комбинационного рассеяния (КР). Рамановская спектроскопия, то есть комбинационное рассеяние света, даёт молекулярный «отпечаток» образца без его разрушения и выявляет изменения при терапии [6].

Изучаемым антимикробным средством является терконазол – азольный противогрибковый препарат, который способен разрушительно воздействовать на вагинальные биоплёнки [7]. Однако молекулярные изменения компонентов биоплёнки под действием данного вещества остаются мало изученными. Поэтому в данной работе проведено сравнение влияния терконазола на спектры биоплёнок при двух длинах волн возбуждения (532 нм и 785 нм) и определены преимущества каждой из них для анализа молекулярных изменений в EPS-матриксе.

Анализ спектральных данных

Изучение материалов проводилось на рамановском микроскопе ADF E300M с длинами волн возбуждения 532 нм и 785 нм, мощностью лазерного излучения 15 мВт и 100 мВт соответственно, объективом с кратностью увеличения 50. Время экспозиции при

проведении эксперимента составляло 2000 мс в первом случае (532 нм) и 4000 мс (785 нм) во втором, а число накоплений – 10. В ходе исследования были исследованы контроль (биоплёнка без препарата), лекарственное средство – терконазол, а также смешанный образец (биоплёнка после воздействия на неё терконазолом).

Спектры образцов без предобработки, с сохранением флуоресценции, представлены на рисунке 1.

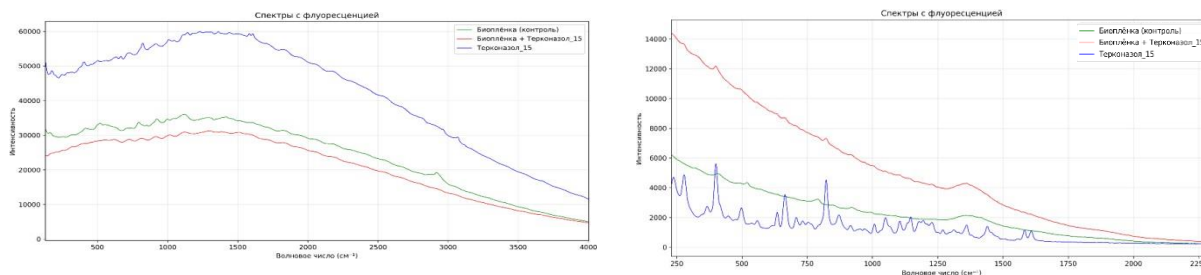


Рисунок 1 – Спектры, снятые на длинах волн возбуждения 532 и 785 нм, контроля (биоплёнки без препарата), лекарственного средства – терконазола, биоплёнка после воздействия терконазола с флуоресценцией

При возбуждении лазерного излучения с длиной волны 532 нм наблюдается высокий флуоресцентный фон, который существенно поднимает базовую линию, что усложняет коррекцию и снижает точность количественной оценки слабых изменений. При 785 нм, наоборот, флуоресцентный фон существенно меньше, что позволяет получить более четкие спектры и пики. Также улучшается соотношение сигнала и шума, что позволяет провести более качественную предобработку и анализ.

Предобработка включала следующие этапы: стандартную нормализацию (SNV – Standard Normal Variate), удаление флуоресцентного фона методом Asymmetric Least Squares (ALS) и сглаживание с помощью скользящего среднего. Для спектров снятых на длине волны возбуждения 785 нм дополнительно осуществлено вычитание фона стекла, поскольку при работе с данной длиной волны стекло дает широкий пик в диапазоне 1300–1450 см^{-1} , который полностью или частично перекрывает слабый сигнал от исследуемого вещества.

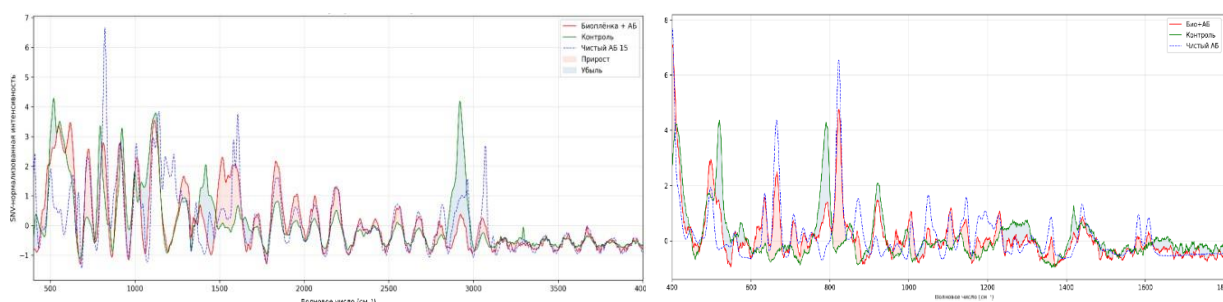


Рисунок 2 – Спектры, снятые на длинах волн возбуждения 532 и 785 нм, контроля (биоплёнки без препарата), лекарственного средства – терконазола, биоплёнка после воздействия терконазола

На рисунке 2 представлено сравнение нормализованных спектров контроля, биоплёнки после воздействия терконазола и чистого действующего вещества – терконазол при возбуждении с длинами волн 532 нм и 785 нм.

Под действием терконазола наблюдается значительное уменьшение интенсивности рамановских пиков биоплёнки при обоих длинах волн. Однако между спектрами, снятыми при возбуждении лазерного излучения с длинами волн 532 нм и 785 нм есть некоторые различия, обусловленные особенностями возбуждения.

Так, при 532 нм в разностном спектре детектировано меньшее число пиков, но с более высокой интенсивностью, чем при 785 нм (например, 478, 619, 726, 820, 1015, 1179, 1214, 1250, 1288, 1318, 1420, 1448, 1516, 1550, 1575, 1656, 1680, 1713, 1734, 1775 см^{-1}).

При этом на 785 нм в аналогичных областях наблюдается больше пиков с меньшей интенсивностью, что соответствует более информативному спектральному составу биоплёнки.

В диапазоне 1100–1400 см^{-1} спектр от лазерного излучения с длиной волны 532 нм показывает пики в окрестностях 1179, 1214, 1250, 1288, 1318 см^{-1} , тогда как от 785 нм выделяет ряд малых пиков 1104, 1146, 1175, 1197, 1218, 1244, 1259, 1276, 1294, 1316, 1332 см^{-1} , что соответствует деформационным и угловым колебаниям углерод-углерода, углерод-водорода и углерод-кислорода связей полисахаридов и белков матрикса [8]. Похожая тенденция прослеживается и в области 1400–1800 см^{-1} , где от лазерного излучения с длиной волны 532 нм даёт несколько широких пиков, соответствующих колебаниям амидных и углерод-кислородных связей (1420, 1448, 1516, 1550, 1575, 1656, 1680, 1713, 1734, 1775 см^{-1}), а от 785 нм – более низкоинтенсивные и многочисленные пики (1441, 1476, 1524, 1565, 1581, 1599, 1656, 1671, 1687, 1703, 1719, 1735, 1751, 1767, 1788, 1796 см^{-1}), связанные с амидными и ароматическими колебаниями [8].

Эти различия могут быть обусловлены физикой возбуждения лазеров с длиной волны 532 нм и 785 нм, где различная энергия приводит к усилению или ослаблению отдельных колебательных связей молекул, что в свою очередь влияет на интенсивность пиков и сдвиг максимумов.

Заключение

Различия спектров от лазерного излучения с длинами волн 532 и 785 нм обусловлены различиями в механизмах возбуждения при разных длинах волн и флуоресцентном фоне. В результате одни и те же молекулярные компоненты биоплёнки демонстрируют разную интенсивность и ширину рамановских пиков. Наиболее показательным примером является пик 1656 см^{-1} , который соответствует валентным колебаниям углерод-кислорода в белковых структурах внеклеточного матрикса [8]. На спектре, снятом с помощью лазера с длиной волны 532 нм, в данной области наблюдается широкий и интенсивный пик (1656 см^{-1}) с амплитудой 1.085, в то время как на спектре от лазера 785 нм регистрируется более чёткий пик (1656 см^{-1}), с меньшей шириной и интенсивностью 0.535.

Таким образом, 532 нм лучше подходит для качественной визуализации интенсивных пиков полисахаридов и липидов, а 785 нм — для точного количественного анализа изменений белковых и нуклеиновых компонентов EPS-матрикса благодаря низкому фону и выраженности пиков.

Список использованных источников

1. Полимикробные инфекции на примере синдрома бактериального вагиноза: прошлое, настоящее и будущее / А. В. Свидзинский, С. В. Свидзинская, И. А. Аполихина [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2025. – № 6. – С. 63–73.
2. Бактериальный вагиноз. Новая парадигма. – URL: <https://aig-journal.ru/articles/Bakterialnyi-vaginoz-Novaya-paradigma.html> (дата обращения: 23.03.2026).
3. Биоплёнки – стадии формирования и свойства. – URL: <https://antiage-expert.com/ru/blog/bioplenki/> (дата обращения: 04.12.2025).
4. Марданова, А. М. Биоплёнки: учебное пособие / А. М. Марданова, Д. А. Кабанов, М. Р. Шарипова; Казан. (Приволж.) федер. ун-т. – Казань: КФУ, [б.г.]. – 128 с. – URL: <https://kpfu.ru/portal/docs/F1250326711/...> (дата обращения: 04.12.2025).
5. Микробные биоплёнки и проблемы антибиотикотерапии // Антибиотики и химиотерапия. – 2015. – Т. 60, № 11–12. – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/mikrobnnye-bioplenkii> (дата обращения: 04.12.2025).
6. Unveiling the Molecular Secrets: A Comprehensive Review of Raman Spectroscopy in Biological Research / A. Chandra, V. Kumar, U. C. Garnaik [et al.] // ACS Omega. – 2024. – V. 9. – P. 50049–50063. – DOI: 10.1021/acsomega.4c00591.
7. A Raman spectroscopic study of complexes of terconazole with several cyclodextrins / T. Iliescu [et al.] // Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. – 2014. – V. 122. – P. 694–700.
8. De Gelder, J. Reference database of Raman spectra of biological molecules / J. De Gelder, K. De Gussem, P. Vandenabeele, L. Moens // Journal of Raman Spectroscopy. – 2007. – V. 38. – P. 1133–1147.

COMPARATIVE ANALYSIS OF RAMAN SPECTRA OF GARDNERELLA VAGINALIS BIOFILMS UNDER TERCONAZOLE EXPOSURE AT 532 NM AND 785 NM EXCITATION WAVELENGTHS

A.A. Karmanova¹, D.N. Artemyev¹

¹Samara University, Samara
e-mail: annakarmanova2004.com@gmail.com

Abstract

Raman spectroscopy revealed component changes in *Gardnerella vaginalis* biofilms treated with terconazole at 532 and 785 nm. 785 nm showed lower fluorescence background suitable for quantitative analysis; 532 nm better visualizes intense extracellular matrix peaks.

Keywords: Raman spectroscopy, biofilm, *Gardnerella vaginalis*, terconazole, 532 nm, 785 nm, extracellular matrix.