

# **Badania nad wymazami z pochwy kobiet przy użyciu powierzchniowo wzmocnionej spektroskopii Ramana (SERS) i metod chemometrycznych: w kierunku różnicowej diagnostyki infekcji intymnych**

## **Streszczenie popularnonaukowe**

W ramach proponowanego projektu planujemy wykorzystać powierzchniowo wzmocnioną spektroskopię Ramana (ang. Surface-enhanced Raman spectroscopy, SERS) i metody chemometryczne do analiz materiałów klinicznych (wymazy z pochwy kobiet) w kierunku infekcji intymnych wywoływanych przez różne czynniki etiologiczne – bakterie, grzyby, pierwotniaki. Szeroko stosowanym narzędziem w diagnostyce infekcji intymnych jest analiza mikroskopowa wymazów barwionych metodą Grama. Rekomendowane jest również stosowanie kryteriów Amsela w których określana jest konsystencja wydzieliny pochwowej lub dokonywana jest detekcji charakterystycznego zapachu. Techniki te polegają na wizualnej i organoleptycznej ocenie badanego materiału i wymagają dużego nakładu pracy wykwalifikowanego personelu. Dlatego też, w proponowanym projekcie zamierzamy zrozumieć jak stany infekcyjne o różnorodnym podłożu etiologicznym (bakteryjnym, grzybiczym, pierwotniakowym) wpływają na zmiany w obrazach spektralnych badanych materiałów. Dodatkowo z wykorzystaniem metod chemometrycznych (z nadzorem i bez nadzoru) stworzymy model do klasyfikacji próbek o nieznanym pochodzeniu i dokonamy jego walidacji.

Spektroskopia Ramana to technika, która wykorzystuje zjawisko nieelastycznego rozproszenia fotonów (źródłem jest wiązka lasera) przez molekuly badanej substancji. Uzyskane widma składają się z wielu pasm kodujących informacje o unikalnych oscylacjach molekularnych w danym materiale. Z tego powodu, że tylko jeden foton na milion ulega rozpraszaniu Ramana, otrzymywany sygnał jest bardzo słaby. Sytuacja zmieniła się w 1974 roku, kiedy to Martin Fleischmann wykazał, że taki sygnał ramanowski może zostać wzmocniony nawet o 6 rzędów wielkości, gdy badaną substancję umieścimy na chropowatej powierzchni srebra. Tak zmodyfikowaną technikę nazwano SERS. Od tego momentu metoda ta zdobyła zainteresowanie wielu badaczy, szczególnie w medycynie i biologii w związku z jego niedestrukcyjną i ultraczułą naturą. Jej potencjał aplikacyjny został wykazany w wielu pracach związanych z analizą różnicową materiałów biologicznych tj.: ludzkie i zwierzęce tkanki, komórki rakowe, grzyby, wirusy, gatunki i szczepy bakterii. Starając się odkryć nowe możliwości techniki SERS, proponowany projekt zawiera badania w takim aspekcie, który nigdy wcześniej nie był rozważany. W tym projekcie charakterystyka spektralna wymazów klinicznych zostanie zrealizowana według strategii bezpośredniej w której informacje o zmianach spektralnych wywoływanych danym typem infekcji będą pochodziły prosto z zarejestrowanego sygnału SERS na skutek interakcji materiału z podłożem. Z tego względu, że SERS rejestruje na poziomie molekularnym zmiany zarówno ilościowe jak i jakościowe składników biochemicznym wykazemy, że oprócz binarnego rozróżnienia (zdrowa, chora) możliwe będzie określenie czynnika etiologicznego wywołującego zapalenie (bakteryjna waginoza, kandydoza, rzesistkowica). W kolejnym kroku wyznaczmy pasma markerowe dla każdego typu infekcji, a na podstawie widm wzorcowych związków biochemicznych produkowanych przez kobiecy układ rozrodczy jak i przez mikrobiom pochwy, dokonamy ich identyfikacji. Obecnie uważa się, że infekcje intymne wynikają z przyrostu danego typu patogenu nad resztą mikroflory, co może znacząco wpływać na rejestrowany sygnał SERS danej próbki klinicznej. Dlatego, na podstawie widm wzorcowych najbardziej powszechnych mikroorganizmów pochwy (bakterie, drożdże, pierwotniaki) zarówno tych patogennych jak i komensali, możliwe będzie ustalenie ich ewentualnego wpływu na widmo badanego materiału.

Podsumowując, tematyka proponowanego projektu zaliczana jest do jednej z najbardziej rozwijających się nauk na całym świecie. Projekt ten obejmuje badania spektroskopowe nad materiałami klinicznymi w kierunku infekcji intymnych i mają one tak samo poznawcze jak i praktyczne znaczenie. Badania, które będą wykonywane z użyciem przenośnego spektrometru Ramana w połączeniu z algorytmami chemometrycznymi mogą znacząco przyczynić się do usprawnienia diagnostyki Point-of-Care jako że wizualna i sensoryczna ocena materiałów klinicznych nie będzie już potrzebna. Ponadto możliwość wykonywania częstych badań przesiewowych i trafna diagnostyka ułatwi wprowadzenie odpowiedniego leczenia, co stanowi jedyną gwarancję przed nawracającymi infekcjami.