



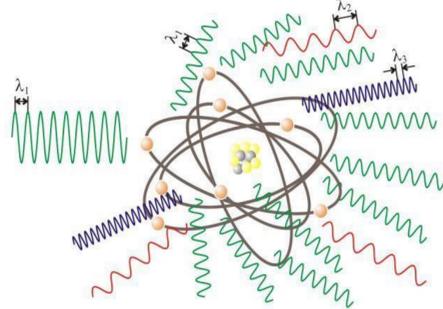
# Espectroscopía SERS en la identificación y caracterización de bacterias

Daniel Heriberto Ruiz Montesdeoca

Trabajo de Fin de Grado. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid

## Introducción

La materia, dependiendo de su naturaleza, puede provocar distintas dispersiones de la luz cuando se le incide una fuente de excitación lumínica. Esto se debe a que ese campo energético oscilante deforma la nube electrónica que rodea el núcleo de la molécula, e irradie ondas electromagnéticas de distinta naturaleza



Esparsimiento Rayleigh. La luz verde( $\lambda_1$ ) incide sobre la molécula y se re-direcciona de manera aleatoria en todas direcciones.)  
Esparsimiento Raman. La luz verde incide una longitud de onda  $\lambda_1$  y se emiten otras longitudes de onda  $\lambda_2$  y  $\lambda_3$ . (1)

La detección e interpretación de esta señal en un compuesto, permite identificar de qué especie química se trata y cómo su estructura se ve afectada al entorno químico que lo rodea, puesto que la información vibracional de los enlaces químicos es específica para cada molécula.

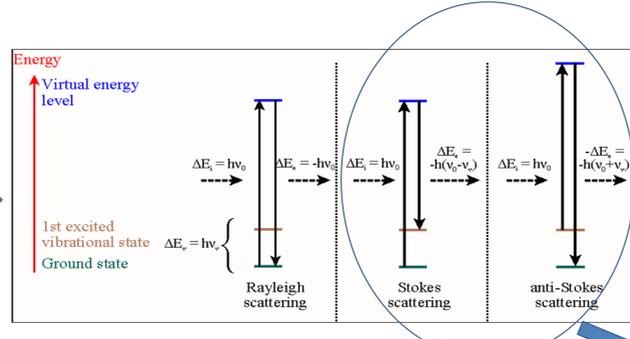
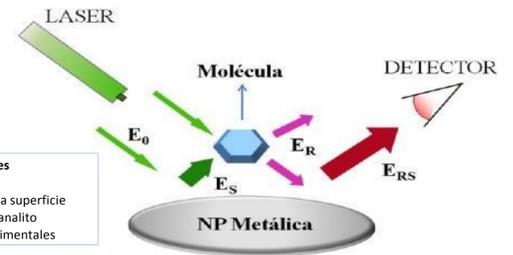


Diagrama energético de las tres formas de dispersión de la radiación electromagnética.

## "Surface-Enhancement Raman Spectroscopy"



- Factores
- Tipo de metal
  - Morfología de la superficie
  - Naturaleza del analito
  - Variables experimentales

## Mecanismos de Intensificación de la señal



## Objetivos

El propósito de este trabajo es identificar las aplicaciones de la técnica espectroscópica SERS (Surface-Enhanced Raman Spectroscopy) como herramienta para la caracterización de microorganismos patógenos.

## Materiales y Métodos

Revisión bibliográfica de tesis doctorales y artículos científicos



Palabras clave: SERS, sustrato, mecanismos de resistencia, y antígenos de superficie.

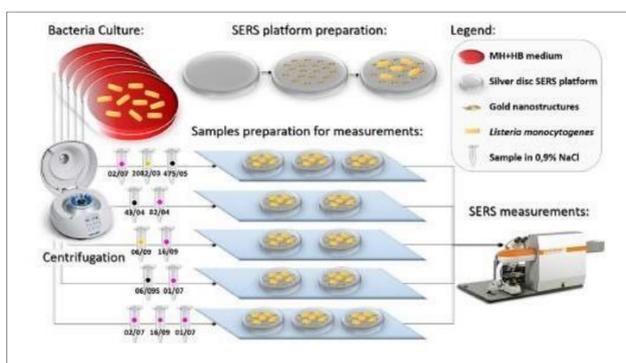
## Resultados y Discusión

### Listeria monocytogenes

Al tratarse de una infección transmitida por alimentos, supone un problema para las empresas alimentarias en las plantas de procesado. Es un organismo prioritario en los planes de análisis de peligros y puntos de control críticos en industria alimentaria.

Strain	Source of isolation	Genoserogroup*	bcrABC	cadA1	cadA2	BC**	Cd <sup>2+</sup> ***
475/05	Pork neck	gr IIa	-	-	-	□	□
43/04	Broccoli	gr IIa	-	+	-	□	■
06/09/S	Cold cuts	gr IIa	+	-	+	■	■
2082/03	Smoked salmon	gr IIc	-	-	-	□	□
06/09	Dumplings	gr IIc	-	-	+	□	■
02/07	Smoked blue wachou	gr IVb	-	-	-	□	□
82/04	Raw salad	gr IVb	-	+	-	□	■
16/09	Dumplings	gr IVb	-	-	+	□	■
01/07	Smoked herring	gr IVb	+	-	+	■	■

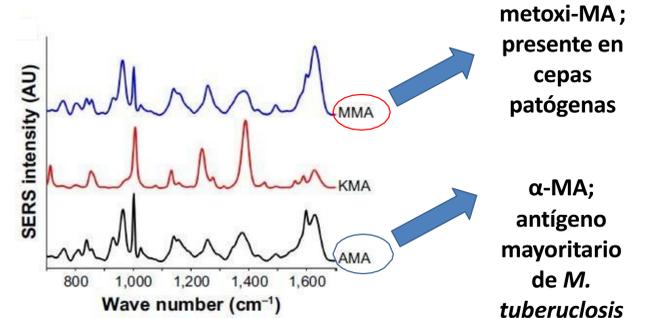
(+) present; (-) absent  
\* gr IIa - (serotypes 1/2a-3a), gr IIc (serotypes 1/2c-3c), and IVb (serotypes 4b-4d-4e);  
\*\* BC - benzalkonium chloride;  
\*\*\* Cd<sup>2+</sup> - cadmium cation;  
□ - sensitive (growth inhibited on MH+HB medium supplemented with 10 µg/ml benzalkonium chloride and/or 75 µg/ml cadmium chloride);  
■ - resistant (confluent growth on MH+HB medium supplemented with 10 µg/ml benzalkonium chloride and/or 75 µg/ml cadmium chloride)



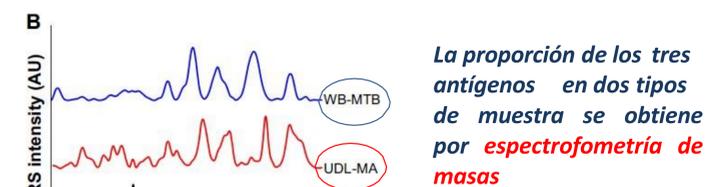
Esquema del ensayo para obtención de los espectros de las distintas cepas. Los serogrupos al que pertenece cada cepa se idéntica por colores (grupo IIa negro, grupo IIc amarillo, y grupo IVb rosa).

### Mycobacterium tuberculosis

Para este ensayo, se propuso aumentar la sensibilidad de la prueba diagnóstica, identificando marcadores específicos de este patógeno, como son los ácidos micólicos (MA).



Espectro de los tres tipos de ácidos micólicos puros. Se obtienen por SERS utilizando un sustrato de Si recubierto por nanopartículas de Ag.

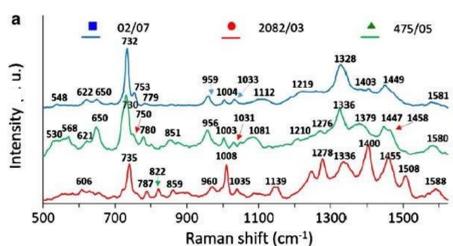


La proporción de los tres antígenos en dos tipos de muestra se obtiene por espectrofotometría de masas

- DL-MA:
- 59% AMA
  - 28% KMA (ceto-MA)
  - 13% MMA

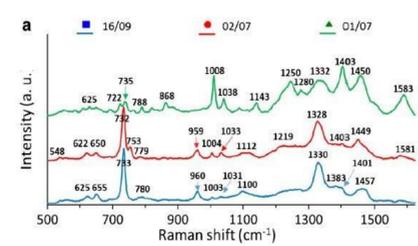
- UDL-MA:
- 53% AMA
  - 33% KMA (ceto-MA)
  - 14% MMA

### 1. Diferencias entre los espectros de distintos genoserogrupos.



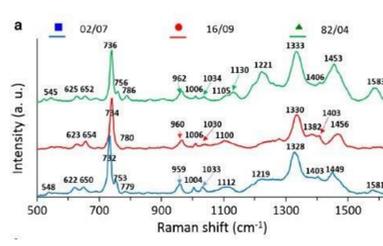
Espectros de grupos control obtenidos por espectroscopía SERS en sustrato bimetalico Au-Ag. Se empleó, como fuente de excitación lumínica, un láser de 0,5mW a una longitud de onda de 785nm.

### 2. Diferencias entre los espectros de cepas dentro de un mismo genoserogrupos.



Espectro de las cepas pertenecientes al genoserogrupos IVb. Se obtienen mediante SERS utilizando un sustrato bimetalico Ag-Au, y Se emplea un láser de 0,5mW de potencia como fuente de excitación lumínica.

### 3. Espectros que describen la expresión de genes de resistencia.



Espectro de las cepas del genoserogrupos IVb. Las cepas resistentes se cultivaron en un medio contaminado con Cd<sup>2+</sup>.

## Conclusiones

- La técnica SERS es precisa para caracterizar patógenos, ya que logra identificar antígenos de superficie implicados en los mecanismos de patogenicidad y de resistencia a distintos bactericidas.
- Las muestras infectadas por *M. tuberculosis* se puede analizar, directamente, del esputo de un paciente. Sería una alternativa prometedora para el diagnóstico de la tuberculosis en países en vías de desarrollo, ya que es un método sencillo y de bajo coste.
- Cuando los espectros de dos compuestos son similares, se requiere un tratamiento estadístico adicional para establecer diferencias significativas entre ambos.

## Bibliografía



Referencias Bibliográficas