

## 2 Zielsetzung der Arbeit

Im Rahmen dieser Arbeit sollten durch die Anwendung von verschiedenen schwingungsspektroskopischen Methoden wie der Fourier-Transform Infrarot-(FTIR)-Spektroskopie, der FTIR-Mikroskopie und der FT-RAMAN-Spektroskopie humanpathogene Mikroorganismen und zwar sowohl Prokaryoten als auch Eukaryoten, charakterisiert und differenziert werden. Diese schwingungsspektroskopischen Methoden sollten es ermöglichen, Untersuchungen an intakten mikrobiellen Zellen durchzuführen. Ein Schwerpunkt der Arbeit sollte auf dem Vergleich der verschiedenen Techniken bezüglich ihres Informationsgehaltes bzw. der Differenzierbarkeit der verschiedenen Organismen liegen. Dabei sollten die folgenden Fragestellungen, die in schwingungsspektroskopischer als auch mikrobiologischer Hinsicht relevant sind, geklärt werden:

- Optimierung und Standardisierung der Wachstumsparameter, wie Wachstumszeit, -temperatur und Auswahl des Nährmediums in Abhängigkeit von der Reproduzierbarkeit der Spektren.
- Methodenentwicklung: Speziell die Probenvorbereitung zur FTIR-Mikroskopie sollte weiterentwickelt und getestet werden mit dem Ziel der Erarbeitung einer ortstgetreuen Replikatechnik zur Übertragung von Mikrokolonien auf optische Materialien. Das Ziel der Optimierung sollte sein, dass die Spektren der Mikrokolonien reproduzierbar sind und ein gutes Signal/Rausch-Verhältnis aufweisen.
- Es sollte eine Auswahl an Prokaryonten und Eukaryoten getroffen werden, die eine Bedeutung hinsichtlich ihrer klinischen Relevanz aufweisen. Dabei sollten sowohl Referenzstämme, als auch klinische Isolate und klinische Proben vergleichend untersucht werden.
- Die Differenzierung der Mikroorganismen auf der Basis ihrer Spektren, die einen komplexen, biochemischen Fingerabdruck liefern, sollte unter Anwendung von chemometrischen Methoden erfolgen. Sowohl nicht-überwachte Klassifizierungsmethoden, wie hierarchische Clusteranalyse, Hauptkomponentenanalyse und Faktoranalyse, als auch überwachte Methoden, wie z.B. künstliche neuronale Netze sollten zur Differenzierung in Analogie zu bestehenden taxonomischen Schemata herangezogen und vergleichend bewertet werden. Die Differenzierbarkeit und Identifizierbarkeit von Mikroorganismen auf verschiedenen taxonomischen Ebenen sollte an einem mit Hilfe von klassischen phänotypischen und genotypischen Methoden gut charakterisierten Datensatz untersucht und bewertet werden.

## 2 Zielsetzung der Arbeit

- Einen weiteren Schwerpunkt der Arbeit sollte die Untersuchung der Wechselwirkung von antibiotischen Wirkstoffen mit mikrobiellen Zellen bilden. Ziel der spektroskopischen Untersuchungen von umfassend charakterisierten klinischen Isolaten war es, wenn möglich, spezifische spektrale Unterschiede zwischen antibiotikaresistenten und -empfindlichen Stämmen *per se* zu detektieren. Die Auswertung sollte dabei neben den schon genannten chemometrischen Auswerteverfahren auch anhand von so genannten Markerbanden, die z. B. spezifisch für den Proteingehalt sind, erfolgen. Die Untersuchungen sollten Messungen sowohl an unbehandelten Zellen, als auch an mit Wirkstoffen behandelten Zellen, die eine dazu geeignete Methodenentwicklung umfasste, beinhalten.