

استفاده از تکنیک طیف‌سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز (FTIR) برای شناسایی باکتریهای شایع در آزمایشگاه های بالینی دو مرکز درمانی نزا

محمدجواد اکرمی^۱، اختر کاظمی^۲، سعید سلیمان میگوونی^۳

۱- کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی، اداره بهداشت، امداد و درمان نزا ۲- کارشناسی ارشد سم شناسی پزشکی، اداره بهداشت، امداد و درمان نزا ۳- مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی دانشگاه علوم پزشکی آجا، نویسنده مسئول.

اطلاعات مقاله	چکیده
<p>نوع مقاله پژوهشی</p>	<p>مقدمه: شناسایی سریع و دقیق عوامل بیماری زا یکی از مهم ترین و موثرترین مراحل کارتشخیص و درمان بیماری ها است. هدف از این مطالعه بررسی کارایی روش طیف سنجی فوریه مادون قرمز در شناسایی باکتری های معمول موجود در بیمارستان خانواده و درمانگاه شهید فلاحی اداره بهداشت امداد و درمان نزا است.</p> <p>روش کار: تعداد ۳۰۰ کلنی باکتری از بخش های مختلف بیمارستانی جمع آوری شد. با در نظر گرفتن برخی فیلترها تعداد ۲۰ کلنی انتخاب شده و با استفاده از طیف سنجی و تطابق داده های حاصل از طیف سنجی با داده های کتابخانه طیفی که از طیف سنجی باکتری های مرجع تهیه شده از مرکز ذخایر ژنتیکی شناسایی باکتری ها صورت گرفت. در شناسایی با استفاده از روش FTIR از نرم افزار IR solution جهت اصلاح پیک ها استفاده شد. جهت سنجش صحت شناسایی از روش های معمول بیوشیمی جهت شناسایی مجدد باکتری ها استفاده شد.</p> <p>یافته ها: نتایج حاصل از تجزیه به مولفه های اصلی در ناحیه طیفی $4000-400\text{ CM}^{-1}$ الگوی تمایزی با شش گروه به همراه باکتری های مرجع تشکیل شد. در تجربه کلاستر تعداد ۴ باکتری در کلاستر باکتری مرجع اشرفیا کلی ۴ باکتری در کلاستر کلبسیلا ۳ باکتری در کلاستر سودوموناس ۳ باکتری انتروکوکوس ۳ باکتری استافیلوکوک اورئوس و تعداد ۴ باکتری در کلاستر استافیلوکوک اپیدرمیدیس قرار گرفتند. نتایج حاصل از شناسایی به روش های بیوشیمی تایید کننده نتایج حاصل از شناسایی بوسیله تکنیک طیف سنجی FTIR بود.</p> <p>نتیجه گیری: استفاده از این تکنیک در شناسایی باکتری ها مورد مطالعه با وجود تنوع در ساختار و فیزیولوژی موفقیت آمیز بوده و توانایی این روش در شرایط اضطرار و جنگ های ناهمتر از که شناسایی سریع و دقیق مزیتی مهم محسوب می شود بسیار مهم بشمار می رود. روش FTIR به دلیل حساسیت و دقتی که در شناسایی باکتری ها با طیف های متنوع است. به دلیل حساسیت بالا داده های زیادی تولید شده که تجزیه و تحلیل را مشکل می سازد و راه حل این مشکل انجام مطالعات گسترده و بهینه سازی این تکنیک در باکتری های مختلف است.</p>
<p>تاریخچه مقاله دریافت: ۹۵/۱۲/۱۹ پذیرش: ۹۶/۳/۱۲</p>	
<p>کلید واژگان طیف‌سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز، شناسایی باکتری.</p>	
<p>نویسنده مسئول Email: dr.saeed.meigooni@gmail.com</p>	

مقدمه

در روش های معمول شناسایی از قبیل تست های سرولوژی، روش های مولکولی و ... به دلیل زمان و هزینه بالایی که صرف این روش ها می شود عموماً رضایت کافی را در شناسایی و درمان بیماری ها حاصل نمی کنند. تکنیک شناسایی باکتری ها با استفاده از طیف سنجی در محدوده مادون قرمز (FTIR) روش جدیدی در شناسایی باکتری ها است. طیف سنجی مادون قرمز بر اساس جذب تابش و بررسی جهش های ارتعاشی مولکول ها و یون های چند اتمی صورت می گیرد. این روش به عنوان روشی پر قدرت و توسعه یافته برای تعیین ساختار و

اندازه گیری گونه های شیمیایی به کار می رود. همچنین این روش عمدتاً برای شناسایی ترکیبات آلی به کار می رود، زیرا طیف های این ترکیبات معمولاً پیچیده هستند و تعداد زیادی پیک های حداکثر و حداقل دارند که می توانند برای اهداف مقایسه ای به کار گرفته شوند (۱). طیف سنجی FTIR تنها برای شناسایی باکتری استفاده نمی شود بلکه برای فراهم کردن اطلاعاتی برای متابولیسم باکتری ها (۲)، فاز رشدی (۳) و مقاومت به آنتی بیوتیک ها (۴) نیز کاربرد دارد. هر گونه از باکتری ها دارای کمپلکس دیواره سلولی / غشاء پیچیده ای است که به علت کشش و ارتعاشات مولکول های

پیوندی در گروه‌های عاملی در پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک، لیپیدها، قندها و لیپوپولی ساکاریدها طیف انگشت نگار خاص خود را می‌دهد. ترکیب مولکولی از گونه‌ای به گونه‌ی دیگر و در هر نژاد متفاوت است. به همین علت است که هر باکتری دارای طیف مخصوص به خود است و هر میکرواورگانیزم بر اساس طیف FTIR خاص خود شناسایی شود (۵). نخستین ناحیه در طیف‌های ۲۸۰۰-۳۰۰۰ مربوط به اسیدهای چرب است. طیف ۱۷۰۰-۱۵۰۰ که ناحیه دوم را تشکیل می‌دهد شامل پیوندهای آمیدی ۱ و ۲ پروتئین‌ها و پپتیدهاست. ناحیه سوم که طیف ۱۵۰۰-۱۲۰۰ را در بر می‌گیرد ناحیه مخلوطی شامل لرزش‌های خمیدگی اسیدهای چرب، پروتئین‌ها و ترکیبات حاوی فسفات است. ناحیه چهارم که در بردارنده باندهای جذبی کربوهیدرات‌ها در دیواره سلولی باکتری‌ها است ناحیه ۱۲۰۰-۹۰۰ را شامل می‌شود و ناحیه پنجم ۹۰۰-۷۰۰ که ناحیه معروف به ناحیه اثر انگشت است و شامل باندهای جذبی ضعیف اما کاملاً منحصربه‌فرد است و برای شناسایی باکتری‌ها از اختصاصیت بالایی برخوردار است (۶). با در نظر گرفتن موارد فوق، مطالعه حاضر با هدف بررسی کارایی روش طیف‌سنجی فوریه مادون قرمز در شناسایی باکتری‌های معمول موجود در دو مرکز درمانی بیمارستان خانواده و درمانگاه شهید فلاحی تابعه اداره بهداشت امداد و درمان نذاجا انجام شده است.

روش کار

با توجه به گستردگی زیاد طیف باکتری‌های موجود در بیمارستان‌ها و هدف پژوهش که شناسایی ۵ جنس باکتری می‌باشد. در ابتدای تعداد ۳۰۰ کلنی از نمونه کشت‌های مربوط به بخش‌های مختلف بیمارستان به صورت تصادفی انتخاب شد. با توجه به اینکه این پژوهش با هدف سنجش کارایی تکنیک FTIR در شناسایی باکتری انجام شده است به جهت حضور کلیه باکتری‌های مورد نظر در آزمایش با استفاده از تست‌های گرم کاتالاز و شکل کلنی و سلول تعداد ۲۰ نمونه کلنی باکتری انتخاب شد. جهت ساخت کتابخانه طیف از عمومی‌ترین گونه‌های هر جنس انتخاب شد. باکتری‌های مرجع شامل باکتری‌های انتروکوکوس فاکالیس، اشرشیا کلی، کلبسیلا پنومومویه، سودوموناس آئروژیناز، استافیلوکوک اورئوس و استافیلوکوک اپیدرمیس بود. تهیه نمونه باکتری برای FTIR پس از رشد باکتری به مدت ۱۸ ساعت با استفاده از سانتریفیوژ در ۵۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ کرده و رسوب حاصل را به منظور حذف محیط کشت سه بار با استفاده از سرم فیزیولوژیک و در آخرین مرحله با استفاده از آب مقطر دو بار تقطیر شستشو داده شد. رسوب حاصل در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت

۳-۴ ساعت خشک شد. سپس رسوب حاصل در هاون مخصوص پودر شد و به همراه ۰/۲ گرم از پودر پتاسیم برومید مخلوط شده و توسط جک مخصوص به صورت قرص‌های کوچک و شفاف‌ی تثبیت شد. پس از آماده‌سازی نمونه، دیسک درون دستگاه طیف‌سنجش شیمیستو قرار داده شد و طیف حاصل از سنجش مقدار عبور در محدوده طول موج ۴۰۰-۴۰۰۰ بر سانتی‌متر و تعداد اسکن ۶۴ به دست آمد. با استفاده از نرم‌افزار IR Slution طیف‌های بدست آمده مورد پردازش قرار گرفتند. پردازش‌ها شامل اصلاح خطوط پایه و صاف نمودن طیف‌ها و مشتق‌گیری طیف‌ها بود. تست رنگ‌آمیزی گرم، تست کاتالاز، اکسیداز تولید گاز از تخمیر گلوکز، تست گواکوالاز، تست حرکت، تست اوره آز، متیل رد، سیمون سیترات، تخمیر لاکتوز، مشخصات کلنی جهت شناسایی باکتری‌ها استفاده شد.

یافته‌ها

در شکل ۱ شمای کلی از طیف مرجع هر کدام از پنج جنس مورد مطالعه ارائه می‌شود. همانگونه که مشاهده می‌شود بدون اصلاح و تجزیه تحلیل کامپیوتری امکان ایجاد تمایز بین جنس‌ها بسیار سخت است. با استفاده از نرم‌افزار IR slution ابتدا طیف‌ها صاف (smooth) و سپس با استفاده از نرم‌افزار مشتق دوم هر طیف بدست آمد شکل ۲ طیف‌های پردازش شده را نمایش می‌دهد.

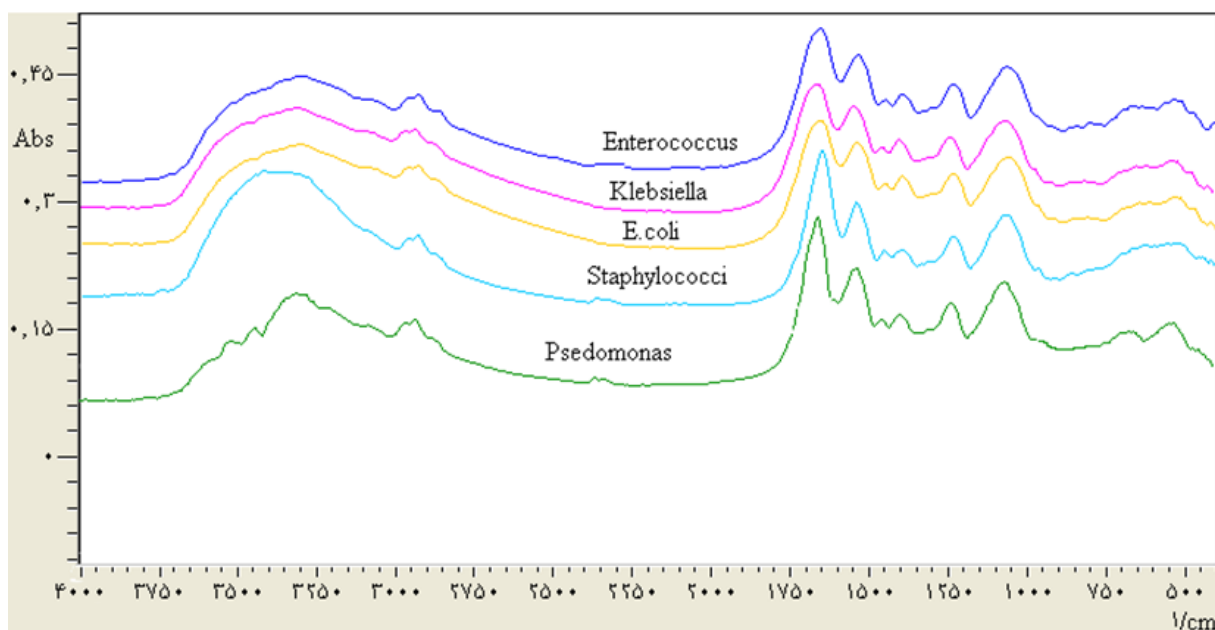
گروه‌های الکلی

L رامنوز یک قند متیل پنتوز است که عموماً در گلیکوزیدهای (LPS) سودوموناس آئروژیناز وجود دارد. که گروه الکلی هیدروکسیل در این مولکول‌ها وجود دارد. طیف‌سنجی رامنوز آبدار چندین پیک را در ناحیه ۱۲۰۰-۹۵۰ مربوط به C-O است را نشان می‌دهد. وجود این پیک باعث پیچیده شدن شناسایی پیک‌ها می‌شود وجود پیک‌های قوی مربوط به پیوندهای C-O، C-C، C-H و باعث پهن تر شدن پیک‌ها در این ناحیه شده و تفکیک پیک‌ها را سخت می‌کند.

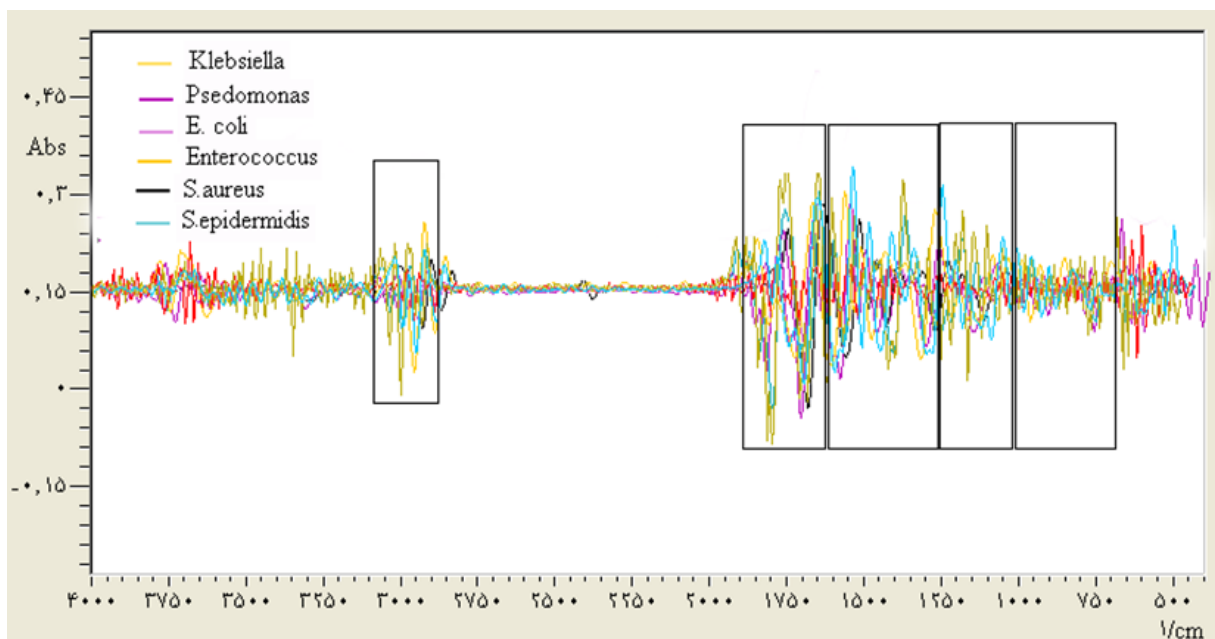
گروه‌های کربوکسیلیک اسید

D گلوکرونیک اسید که به طور طبیعی هم دارای کربوکسیلیک اسید و هم هیدروکسیل اسید که قابل قیاس با تیکونیک اسید موجود در دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت است. D گلوکرونیک از نظر ساختمانی بسیار شبیه رامنوز است و در ناحیه ۱۸۰۰-۱۲۰۰ و ۹۰۰-۱۲۰۰ گروه‌های عاملی کربوکسیلیک اسید و الکلی را نمایش می‌دهد. و پیوندهای C=O، C-OH و COOH- را در ناحیه ۱۷۲۸ و ۱۲۶۸ نشان می‌دهد.

شکل ۱: شمای کلی از طیف مرجع پنج جنس انتروکوکوس، کلبسیلا، اشرشیاکلی، استافیلوکوکو و سودوموناس



شکل ۲: مشتق دوم حاصل از طیف باکتری های انتروکوکوس، کلبسیلا، اشرشیاکلی، استافیلوکوکو و سودوموناس

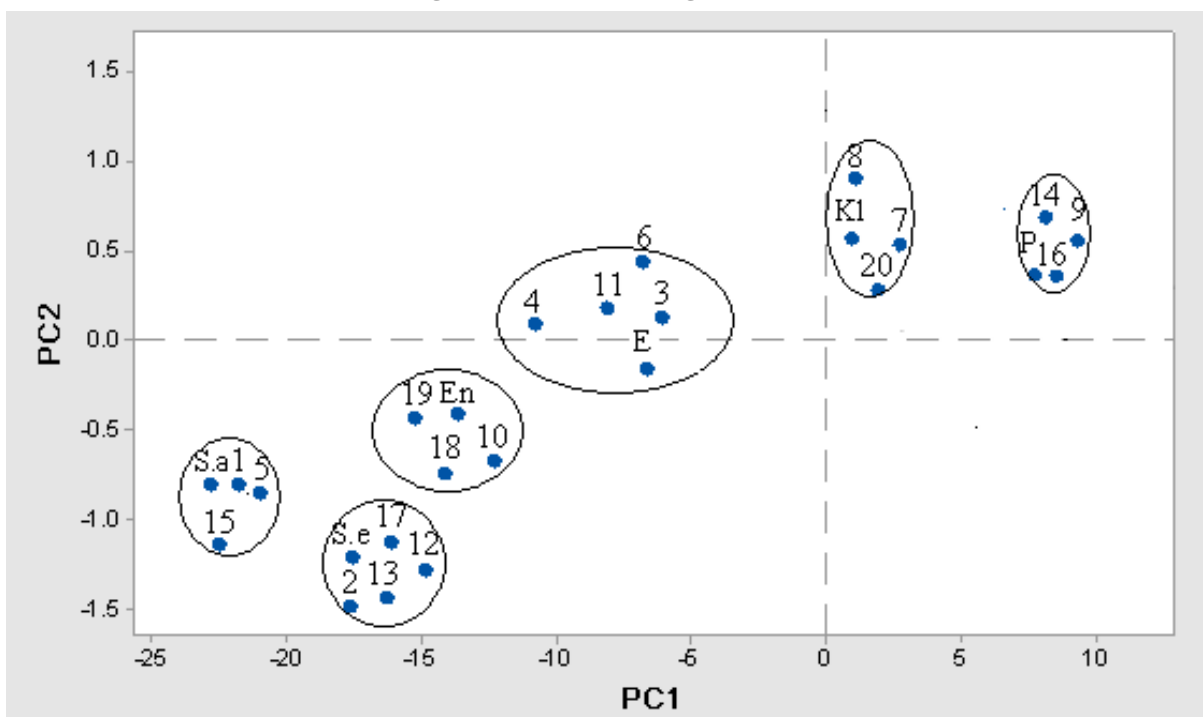


گروه های فسفات

گروه های فسفات در چند فرم مختلف وجود دارند فسفات غیر معدنی شامل ارتوفسفات و الیگو فسفات و فرم معدنی آن منو و دی فسفات است. PO_4^{3-} در ناحیه ۹۳۵-۱۰۱۰ مشاهده می شود. PO با بار مثبت در ناحیه ۱۰۷۷، ۱۱۵۵ و ۱۱۷۴ مشاهده می شوند که به ترتیب مربوط به HPO_4 ، H_2PO_4 و H_3PO_4 هستند. فسفات های الیگومری شامل $O_3P-O-PO_4^3$ و تری پلی فسفات $O_3P-O-PO_3-PO_3$ در ناحیه ۱۲۴۰-۱۱۶۰ مشاهده می شوند. پیک های موجود در ناحیه ۱۶۴۰ و ۱۵۴۰ مربوط به پیوندهای

آمیدی و ۱۲۱۵ مربوط به فسفات است. ناحیه ۱۱۰-۹۵۰ مربوط به کربوهیدرات ها است. پیک مربوط به پیوند $C=O$ کربوکسیلیک اسید را در ناحیه ۱۷۲۶ مشاهده می شود. پیوند متقارن در COO^- در محدوده ۱۵۹۳ و ۱۴۰۰ دیده می شود. برخی از پیک های مربوط به کربوهیدرات ها در ۱۰۵۰-۱۱۱۰ بوضوح دیده می شود. که وجود همپوشانی بین این پیک ها باعث دشوار شدن تفسیر می شود. آنالیزهای آماری: نتایج حاصل از تجزیه به مولفه های اصلی حاصل از داده طیف ها در شکل ۳ نمایش داده شده است.

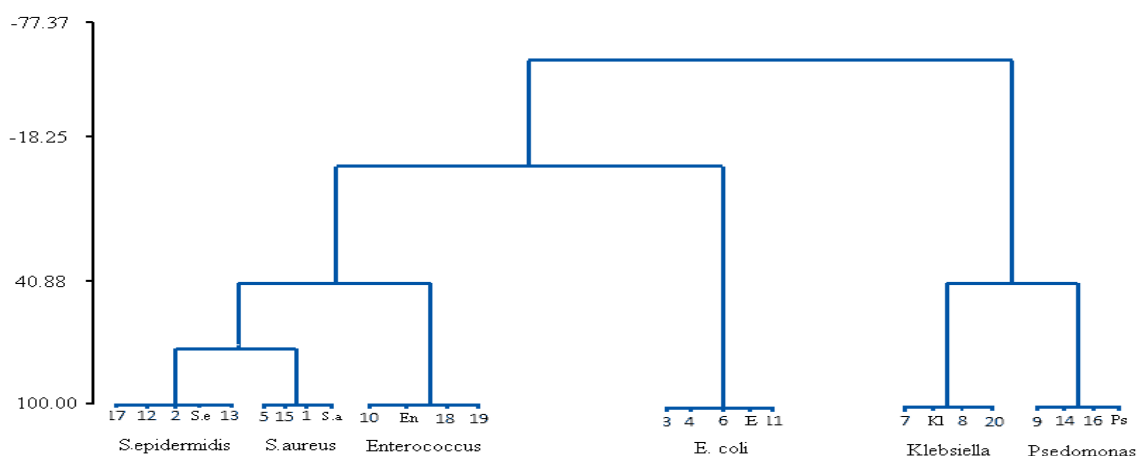
شکل ۳: نتایج حاصل از تجزیه به مولفه اصلی حاصل از داده های نواحی ۱۷۰۰-۷۰۰ و ۳۰۰۰-۲۸۰۰ طیف ها



های با کد ۱۶، ۹ و ۱۴ مربوط به جنس سودوموناس باکتری های ۷، ۸ و ۲۰ مربوط به جنس کلبسیلا باکتری های کد ۳ و ۴ و ۶ و ۱۱ مربوط به جنس اشرشیا کلی، باکتری های با کد ۱۰ و ۱۸ و ۱۹ مربوط به جنس انتروکوکوس و باکتری های ۵ و ۱۵ مربوط به جنس و گونه استافیلوکوک اورئوس و باکتری های ۱۲، ۱۳ و ۱۷ مربوط به جنس و گونه استافیلوکوک اپیدرمیدیس هستند.

جهت ایجاد تمایز و شناسایی قطعی باکتری ها داده های طیف سنجی جهت دسته بندی باکتری ها در تحلیل خوشه ای به کار رفت. نتایج حاصل از تحلیل خوشه (تجزیه کلاستر) به صورت دندوگرام در شکل ۴ نشان داده شده است. همانگونه که مشاهده می شود باکتری های مورد آزمایش به همراه باکتری های مرجع در کلاس های مختلفی قرار گرفته است. بر اساس نتایج حاصل از این مرحله بدون توجه به نتایج حاصل از شناسایی بوسیله تست های کلاسیک می توان نتیجه گرفت که باکتری

شکل ۴: نتایج حاصل از تجزیه کلاستر داده های FTIR برای باکتری های مورد مطالعه



می گیرد. کاربردی ترین استفاده ای که تاکنون از نتایج FTIR شده است استفاده از طیف های حاصل جهت بررسی حضور و با عدم حضور ماده و یا مواد در ترکیبات است این جنبه از کاربرد FTIR به صورت گسترده در شیمی کاربرد دارد و در حال

بحث و نتیجه گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان دهنده کارایی کافی تکنیک FTIR در ایجاد تمایز بین باکتری های رایج بیمارستانی است. عموماً نتایج حاصل از طیف سنجی در دو بعد مورد بررسی قرار

حاضر در بسیاری از تحقیقات حوزه نانو جهت ردیابی و یا اطمینان از سنتز مواد مورد استفاده قرار می گیرد (۷). در مورد استفاده از این داده ها در حوزه محیطی و زیستی تحقیقاتی توسط دیگو و همکاران در سال ۲۰۰۹ انجام شد. موارد استفاده از FTIR را در تحقیقات بیولوژیک مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل از تحقیق نشان داد که استفاده از FTIR و بررسی نتایج با استفاده از استخراج اطلاعات مربوط به وضعیت پیک ها به دلیل نبود استاندارد واحد در استفاده از FTIR و تنوعات بوجود آمده در اثر برخی عوامل باعث ایجاد خطا در نتایج می شود (۲۴). از طرفی تجزیه تحلیل اینگونه داده ها بسیار مشکل و وقت گیر است و تجزیه و تحلیل داده ها نیازمند وجود افراد و متخصصین باتجربه ای می طلبد. در حوزه میکروبیولوژی نیز اینگونه تحقیقات بسیار مورد توجه قرار گرفته است. نومن و همکاران در سال ۲۰۰۰ در مقاله ای به بحث درباره استفاده از FTIR در میکروبیولوژی پرداختند. بر اساس اطلاعات بدست آمده توسط این پژوهشگران با استفاده از تکنیک FTIR می توان تفاوت های موجود در ساختار دیواره سلولی باکتری شامل مواد موجود در دیواره مواد ذخیره ای و اندوسپور از مشخص کرد از دیگر کاربردهای FTIR در میکروبیولوژی می توان به مواد حاصل از متالوبولیسیم باکتری شامل CO₂ و ... را مشخص کرد همچنین تاثیر مواد بر رشد باکتری شامل دارو و سایر بازدارنده های رشد را مورد بررسی قرار داد تمامی عوامل موثر بر طیف ها شامل مواد موجود و مواد متابولیسمی باعث بوجود آمدن طیف بسیار اختصاصی و ویژه ای در باکتری می شود که می توان از آن جهت دسته بندی و طبقه بندی باکتری ها استفاده کرد (۵۶). عدد موج مربوط به هر پیوند بسیار اختصاصی است. و از آن می توان به عنوان یک اثر انگشت در شناسایی باکتری ها استفاده کرد. بزرگترین مشکل در استفاده از این روش در شناسایی باکتری ها عدم وجود روشی استاندارد و یکسان در تمامی مراحل کار شامل تهیه نمونه طیف سنجی و تجزیه و تحلیل داده ها است. این مشکل باعث می شود که محققان نتوانند از نتایج حاصل از تحقیقات یکدیگر استفاده کنند. مقایسه نتایج حاصل از تعیین هویت پیک ها و مشخص کردن نوع پیوند مربوط به هر پیک در پژوهش حاضر با نتایج حاصل از جدول نتایج نومن و همکاران نشان می دهد که پیک مربوط به پیوند در محدوده ای مشخص واقع شده است ولی اختلافات موجود مربوط به تفاوت روش انجام کار می باشد. در پژوهشی که توسط مک کلاند و همکاران در سال ۱۹۹۲ صورت گرفت تاثیر استفاده از روش های مختلف طیف سنجی و همچنین استفاده از روش های مختلف را بر نتایج مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که استفاده از روش های مختلف باعث بوجود آمدن نتایجی با اختلاف جزئی می شود. محققان دلیل این اختلافات تاثیر مواد و شرایط تهیه نمونه بر نمونه دانستند (۳۶). با وجود این اختلافات جزئی استفاده از یک روش یکسان برای تمامی نمونه ها هیچگونه

اختلافی را بین نمونه ها از نظر موقعیت پیک های هر پیوند مشاهده نشد. این نتایج اهمیت استفاده از روش یکسان را در طیف سنجی نشان می دهد.

نتایج پژوهش نشان داد که FTIR توانایی تفکیک و تمایز بین باکتری ها را به خوبی دارد ولی در گراف حاصل از تجزیه کلاستر باکتری های گروه ایکلای الگوی تمایزی با آنچه که مورد انتظار بود اختلافاتی داشت. عموماً تاثیرگذارترین ناحیه در ایجاد تمایز بین باکتری ها ناحیه ۹۰۰-۱۲۰۰ می باشد که این ناحیه مربوط به کربوهیدرات ها است. به همین علت باکتری های گرم منفی از گرم مثبت تمایز قابل توجهی را نشان می دهد ولی آنچه مشاهده شد تمایز مناسب ولی قرار گیری باکتری ایکلای در گروه باکتری های گرم مثبت است. براساس پژوهش اوبرتو و همکاران در سال ۲۰۰۱ استفاده از FTIR در شناسایی باکتری ها الگوی تمایزی در سطح جنس گونه و زیرگونه دارای تنوعاتی نسبت به سایر روش های شناسایی است. این محققان دلیل این تنوع را این دانستند که در شناسایی و ترسیم روابط باکتری ها از خصوصیات مولکولی استفاده می شود و در اینگونه شناسایی ها از یک خصوصیت واحد ارزیابی صورت می گیرد ولی در روش FTIR تمامی خصوصیات شامل خصوصیات ساختاری، بیوشیمیایی و در ایجاد الگوی تمایز اثر گذار هستند (۵۸).

در حال حاضر روش های مختلفی برای شناسایی باکتری ها از جمله روش های سرولوژیکی و مولکولی مورد استفاده قرار می گیرند. استفاده از روش هایی که دارای حساسیت و سرعت بالایی دارند در شرایط اضطرار بخصوص در جنگ های ناهمتراز و حملات بیوتروریستی بسیار ارزشمند و مهم است. تمامی محققانی که درباره استفاده از FTIR در شناسایی باکتری ها پژوهش انجام داده اند به این نکته اذعان داشته اند که این روش کمترین و کم هزینه ترین امکانات را جهت شناسایی لازم دارد. و در صورت انجام تحقیقات جهت ارائه روشی جامع در تهیه نمونه و انجام آنالیز این روش را می توان به عنوان روشی بسیار مناسب در آزمایشگاههای سیار و یا آزمایشگاههای بیمارستان های صحرائی به کاربرد. همانگونه که گفته شد FTIR روش بسیار مناسبی برای تشخیص و ردیابی آلودگی ها می باشد. آزمایشگاه هایی که در جنگ های ناهمتراز و میکروبی جهت شناسایی و رفع آلودگی استفاده می شود.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از روسای محترم بیمارستانهای خانواده و کلینیک شهید فلاحی که در انجام این طرح با ما همکاری داشتند قدردانی می گردد. این مطالعه منتج از پروژه کسری خدمت آقای محمد جواد اکرمی کارشناس ارشد بیوتکنولوژی بود. که در سال ۹۵ انجام شد.

References

- 1- Ackman, J. (2012) *The Microbe: The Basics of Structure, Morphology, and Physiology as They Relate to Microbial Characterization and Attribution in Chemical and Physical Signatures for Microbial Forensics* pp. 13-34, Springer.
- 2- Al-Holy M, Lin M, Cavinato AG, Rasco BA. The use of Fourier transform infrared spectroscopy to differentiate *Escherichia coli* O157:H7 from other bacteria inoculated into apple juice. *Food Microbiol.* 2006; 23:162-168.
- 3- Asch, P, Haensch, W, Naumann, D. and Diem, M. 2004. Imaging of colorectal adenocarcinoma using FT-IR microspectroscopy and cluster analysis. *Biochimica ET Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1688: 176-186.
- 4- Becker, K., Al Laham, N., Fegeler, W., Proctor, R., Peters, G. and von Eiff, C. 2006. Fourier-transform infrared spectroscopic analysis is a powerful tool for studying the dynamic changes in *Staphylococcus aureus* small-colony variants. *Journal of clinical microbiology*, 44: 3274-3278.
- 5- berreuter, H., Charzinski, J. and Scherer, S. (2002) Intraspecific diversity of *Brevibacterium linens*, *Corynebacterium glutamicum* and *Rhodococcus erythropolis* based on partial 16S rDNA sequence analysis and Fourier-transform infrared (FT-IR) spectroscopy. *Microbiology* 148: 1523-1532.
- 6- Davis R, Irudayaraj J, Reuhs BL, Mauer LJ. Detection of *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef using Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy and chemometrics. *J. Food Sci.* 2010; In press
- 7- L-Qadiri HM, Al-Alami N, Al-Holy MA, Rasco BA. Using Fourier transform infrared (FT-IR) absorbance spectroscopy and multivariate analysis to study the effect of chlorine-induced bacterial injury in water. *J. Agri. Food Chem.* 2008; 56:8992-8997.
- 8- Miali, N., Mulvey, M., Berger-Bächi, B., Sedman, J., Simor, A. and Ismail, A. 2008. Evaluation of Fourier transforms infrared spectroscopy for the rapid identification of glycopeptide-intermediate *Staphylococcus aureus*. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 61: 95-102.
- 9- Naumann D, Helm D, Labischinski, H. Microbiological characterizations by FT-IR spectroscopy. *Nature.* 1991; 351:81-82.
- 10- Naumann D. Infrared spectroscopy in Microbiology. Meyers RA. Ed. *Encyclopedia of Analytical Chemistry*. John Wiley & Sons, Chichester, UK, 2000:102-131.
- 11- Rehm-Stecher BF, Johnson EA. Single-cell Microbiology: tools, technologies, and applications. *Microbiol. Mol Biol. Rev.* 2004; 68:538-559.
- 12- Rodriguez-Saona LE, Khambaty F, Fry F, Dubois J, Calvey EM. Detection and identification of bacteria in a juice matrix with Fourier transform-near infrared spectroscopy and multivariate analysis. *J. Food Prot.* 2004; 67:2555-2559.
- 13- urgula Y, Reuhs BL, Mauer LJ. Rapid FT-IR methods for detection of *Escherichia coli* O157:H7 in fruit juices.
- 14- Uygu, D., Baykal, T., Acikgoz, I. and Yildiz, K. (2009) Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy for biological studies. *Gazi University Journal of Science* 22: 117-121.

Using Fourier transform infra-red technic for detection of common bacteria in the laboratory of two medical center of NEZAJA

Akrami MJ (Msc), Kazemi A (Msc), Soleiman-Meigooni S (MD, MPH)*

Abstract

Introduction: rapid detection of pathogenic organisms is crucial in diagnosis and treatment of the diseases. The aim of this study was to evaluate efficiency of Fourier transform infra-red (FTIR) in detection of common bacteria in Khanevadeh hospital and Fallahi clinic, from NEZAJA military of health organization.

Methods: we use 300 colony of bacteria from different wards of these two centers. 20 colony was finally selected using some filters. These isolates were compared with literature and reference stoked bacteria using FTIR. The software IR solution used for peak correction. Finally, biochemical methods used for re-detection of bacteria.

Results: there constituted six group of references bacteria from decomposition to the main component in the spectrum field CM^{-1} . There were four bacteria in the reference cluster of E.Coli, four bacteria in the reference cluster of Klebsiella, three bacteria in the reference cluster of Pseudomonas, Three bacteria in the reference cluster of Enterococcus, three bacteria in the reference cluster of Staphylococcus Aureus, and three bacteria in the reference cluster of Staphylococcus Epidermidis. Biochemical detection methods confirmed FTIR in detection of bacteria.

Conclusion: this technic for detection of bacteria was successful despite variation in bacteria structure and physiology. It may be used in some critical situation such as war, which need to rapid and exact diagnosis. FTIR method has various sensitivity and specificity which may result confusing in analysis. So it's necessary to optimize this method using some another study.

Keywords: FTIR, Infra red, Bacterial detection

*Corresponding Author. Infectious disease research center, AJA University of medical Sciences, Tehran, Iran. Email: dr.saeed.meigooni@gmail.com