

## تشخیص باکتری لپتوسپیروز در ادرار جوندگان با حسگر تشدید پلاسمون سطحی با استفاده از ساختارهای جاذب فرامواد

مهدی راشکی<sup>۱</sup>، محمدرضا رخشانی<sup>۲\*</sup>

۱- استادیار، گروه فیزیک، دانشکده علوم، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

۲- استادیار، گروه مهندسی برق، دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

دریافت مقاله: ۲۲ آذر ۱۴۰۱، بازنگری: ۱۰ دی ۱۴۰۱، پذیرش نهایی: ۱۰ دی ۱۴۰۱

### چکیده

لپتوسپیروز بیماری مشترک بین انسان و دام است که می‌تواند در استخر، رودخانه، آب‌های سطحی، خاک‌های مرطوب لجن‌زارها و در هوای گرم زنده بماند. لپتوسپیروز می‌تواند مستقیماً توسط تماس با ادرار اغلب جوندگان (موش صحرائی، روباه، راکون و غیره) از طریق خراش یا آسیب‌های جزئی و یا غیر مستقیم توسط آب و خاک آلوده به انسان منتقل شود. با توجه به اینکه کشت و رشد این باکتری وقت‌گیر است استفاده از حسگرهای تشدید پلاسمون سطحی با استفاده از ساختار فراماده روش مناسبی برای تشخیص سریع این بیماری است. از آنجا که باکتری لپتوسپیرا از طریق ادرار قابل شناسایی است، در این مطالعه از پنج نمونه ادرار حیوان جونده به‌عنوان ماده مورد حسگری در ساختار طراحی شده استفاده شده است. در ساختار پیشنهادی، فلز طلا به دلیل واکنش‌پذیری خیلی کم و عدم اکسید شدن به‌عنوان فلز پلاسمونی انتخاب شده است. منحنی‌های جذب برای بررسی حساسیت این افزاره به‌دست آمده و نتایج از نظر حساسیت، دقت تشخیص و ضریب کیفیت بررسی و تحلیل شده است. نتایج نشان می‌دهد این حسگر با حساسیت  $1315 \text{ nm/RIU}$  و معیار شایستگی  $63 \text{ RIU}^{-1}$  قابلیت تشخیص باکتری لپتوسپیرا را دارد.

**واژگان کلیدی:** شناسایی لپتوسپیروز، باکتری، حسگر زیستی، فراماده، حساسیت حسگر زیستی

## مقدمه

بیماری‌های قابل انتقال بین انسان و حیوان یکی از مشکلات عمده پزشکی در جوامع انسانی هستند. از آنجا که تماس بین انسان‌ها با دام اجتناب‌ناپذیر است به ناچار کنترل این عفونت‌ها تنها با جستجو و تشخیص به‌موقع عفونت‌های علامت‌دار و بدون علامت راه را برای کنترل و جلوگیری از ابتلا انسان‌ها هموار می‌سازد.

لپتوسپیروز یکی از بیماری‌های مسری مشترک بین انسان و حیوان است (۱، ۲) که توسط سرووراهای لپتوسپیرا ایجاد می‌شود و اولین بار توسط ادولف ویل به‌عنوان یک بیماری همراه با زردی و تب توصیف شد (۳، ۴).

همه‌گیری‌های گزارش شده لپتوسپیروز معمولاً در اثر تماس انسان با خاک یا آب آلوده به ادرار میزبان‌های نگهدارنده یا بیمار ایجاد می‌شود. عامل لپتوسپیروز متعلق به جنس لپتوسپیرا است که از طریق پوست نرم و مرطوب به‌خصوص سطوح مخاطی افراد در معرض خطر ابتلا مثل کارکنان کشتارگاه‌ها و جراحان دامپزشک، دامداران و کارگران شالیزار وارد می‌شود. شیوع فراوان لپتوسپیروز در گاو، گوسفند و خوک منجر به زیان‌های اقتصادی فراوانی در سراسر جهان می‌شود. سازمان بهداشت جهانی (WHO) لپتوسپیروز را یک بیماری مهم و قابل توجه معرفی کرده است (۵). این بیماری می‌تواند مستقیماً توسط تماس با ادرار اغلب جوندگان (موش صحرائی، روباه، راکون و غیره) از طریق خراش یا آسیب‌های جزئی و یا غیر مستقیم و توسط آب و خاک آلوده به انسان منتقل شود (۶، ۷). گزارشات مختلف نشان می‌دهد که بیشترین شیوع لپتوسپیروز در بین کشاورزان، دامداران، کارگران معادن، کارگران پرورش ماهی، کارگران کشتارگاه‌ها و کارگران کانال‌های آب و فاضلاب مشاهده شده است (۸، ۹). معمولاً این بیماری با علائمی چون آنفلوآنزای خفیف، تب و لرز و سردرد شدید نمایان می‌شود. در موارد شدید علائمی چون نارسایی کبدی و خونریزی و عفونت ریوی ظاهر می‌گردد که می‌تواند باعث

مرگ شود (۱۰). دوره کمون این بیماری اغلب ۳ تا ۷ روز است و در این دوره بدون آن که علائمی از بیماری ظاهر شود این باکتری در بدن رشد و تکثیر می‌یابد (۱۱). مطالعات نشان داده است که ظرف ۲۴ ساعت تعداد این باکتری در خون ۱۰ برابر می‌شود. این بیماری در آب و هوای گرم بیشتر شایع است، زیرا این باکتری در محیط‌های گرم و مرطوب بیشتر زنده می‌ماند به همین دلیل در فصل‌های سرد سال کمتر دیده می‌شود (۱۲).

در مورد تعداد افراد مبتلا به لپتوسپیروز آمار جهانی وجود ندارد و یا قابل اعتماد نیست زیرا بسیاری از موارد این بیماری در مناطقی اتفاق می‌افتد که تشخیص و گزارش‌دهی به صورت ناقص صورت می‌گیرد. اما سالانه هزاران مورد از این بیماری گزارش می‌شود که نشان می‌دهد کشورهای در حال توسعه بیشتر تحت تأثیر این بیماری قرار دارند. کاستا و همکاران در مقاله‌ای در سال ۲۰۱۵ گزارش داده‌اند که تقریباً ۱/۰۳ میلیون مورد از این بیماری در جهان وجود داشته که از این تعداد حدود ۵۸۹۰۰ مورد مرگ به ثبت رسیده است (۱۳).

تاکنون تشخیص‌های آزمایشگاهی سنتی مختلفی برای باکتری لپتوسپیروز در زیر دسته‌های: میکروسکوپ، سرولوژی (آنتی‌بادی و آنتی‌ژن) و مولکولی گزارش شده است. این روش‌های سنتی، آهسته، غیر قابل تکرار، نیاز به نمونه بزرگ، پیچیده و دارای حساسیت کم هستند (۱۴). در مقابل، حسگر تشدید پلاسمون سطحی (SPR) یک تکنیک تشخیص بدون برچسب است. حسگر SPR توانایی تشخیص حضور تک مولکول زیستی با حساسیت بالا را دارد. علاوه بر این، این تکنیک سریع و قابل تکرار است. این حسگرها کاربردهای مختلفی در صنایع، معادن، ایمنی مواد غذایی، تحقیقات دارویی، سنتز مواد و غیره دارند (۱۵، ۱۶). علاوه بر این، حسگرهای مبتنی بر SPR برای مطالعه برهمکنش بین گونه‌های مختلف زیستی، به‌عنوان مثال، اسید نوکلئیک، آنتی‌بادی‌ها، باکتری‌ها و قارچ‌ها نیز استفاده می‌شوند. پراستفاده‌ترین فلزات پلاسمونی برای تولید پلاسمون‌های سطحی، طلا، نقره، مس، آلومینیوم،

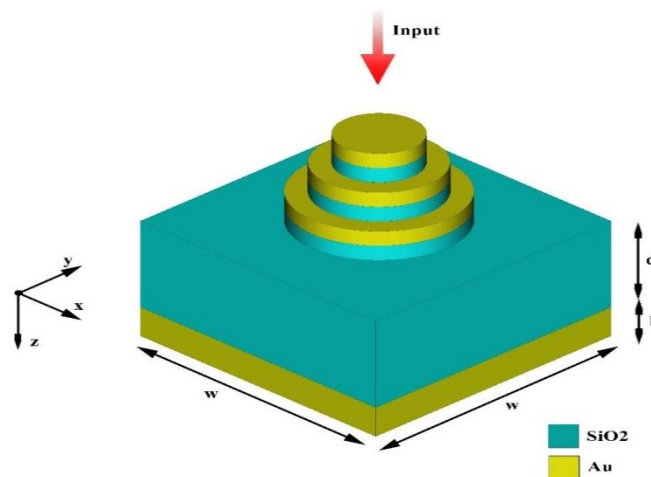
۱ نشان داده شده‌اند. در ساختار این حسگر از دو ماده  $\text{SiO}_2$  (دی‌اکسید سیلیکون) و طلا استفاده شده است. در این ساختار طلا به‌عنوان فلز پلاسمونی استفاده و بکارگیری شده است. دیسک‌های آبی‌رنگ در شکل ۱ هر کدام از ماده  $\text{SiO}_2$  و دیسک‌های طلایی رنگ نیز از ماده طلا ساخته شده‌اند. شبیه‌سازی با استفاده از ماژول FDTD نرم‌افزار لومریکال و به‌صورت سه بعدی انجام شده است. با فرض این که در محیط بالایی این حسگر آب قرار گرفته است، ضریب شکست فضای بالای این حسگر برابر ضریب شکست آب (۱/۳۳) در نظر گرفته شده است. شرایط مرزی در محیط شبیه‌سازی در راستای  $x$  و  $y$  به‌صورت متناوب و در راستای  $z$  از لایه‌های کاملاً جاذب (PML) انتخاب شده است. شبیه‌سازی در مدت زمان ۳۰۰۰۰ فمتو ثانیه و در دمای ۳۰۰ درجه کلوین انجام می‌شود. برای پرتودهی از موج الکترومغناطیسی تخت در راستای  $z$  استفاده شده که از بالای ساختار تابیده می‌شود.

سدیم و ایندیم هستند (۱۷). ایندیم بسیار گران است، سدیم واکنش‌پذیر است و نقره، مس و آلومینیوم بسیار قابل اکسید شدن هستند. در مقابل، طلا به‌عنوان بهترین فلز پلاسمونی انتخاب شده است.

در این مقاله، ضرایب شکست مختلف مربوط به غلظت‌های مختلف باکتری لپتوسپیروز در ادرار آلوده جوندگان بررسی شده است. پارامترهای طراحی و پارامترهای عملکرد در بخش مواد و روش‌ها تعریف شده‌اند. سپس نتایج مورد بحث قرار گرفته و در انتها مقاله با نتیجه‌گیری به پایان می‌رسد.

### مواد و روش‌ها

در این مقاله برای تشخیص باکتری لپتوسپیروز از حسگر زیستی مبتنی بر ساختار جاذب فراماده که دارای ساختار سه بعدی دیسکی شکل می‌باشد، استفاده شده است. در شکل ۱ طرح‌واره سه بعدی سلول واحد این ساختار نشان داده شده که برای انجام شبیه‌سازی استفاده می‌شود. مقادیر پارامترهای فیزیکی این ساختار در جدول



شکل ۱- ساختار حسگر زیستی مبتنی بر جاذب فراماده دیسکی شکل

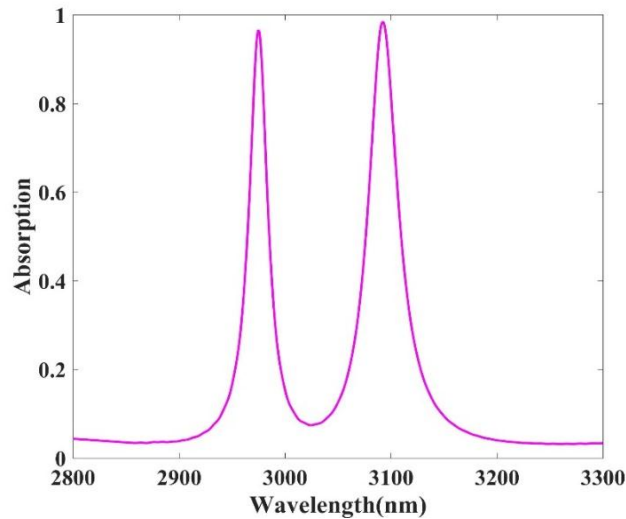
جدول ۱- مقادیر پارامترهای فیزیکی ساختار ارایه شده در شکل (۱)

مقدار	واحد	پارامتر
۲۱۵۰	nm	w
۹۰۰	nm	d
۱۰۰	nm	h

### نتایج

همان‌طور که در این شکل ملاحظه می‌شود بیشینه جذب در دو طول موج ۲۹۷۵nm و ۳۰۹۲/۵nm رخ می‌دهد که مقدار جذب به ترتیب برابر ۹۷ و ۹۹ درصد است.

شکل ۲ نمودار طیف جذب را برای ساختار حسگر معرفی شده در بازه ۲۸۰۰nm تا ۳۴۰۰nm نشان می‌دهد.



شکل ۲- طیف جذب ساختار حسگر ارائه شده مبتنی بر جاذب فراماده دیسکی شکل

نوع پلی‌اوری است که ضریب شکست آنها مطابق با جدول ۲ به‌دست آمده است (۱۸).

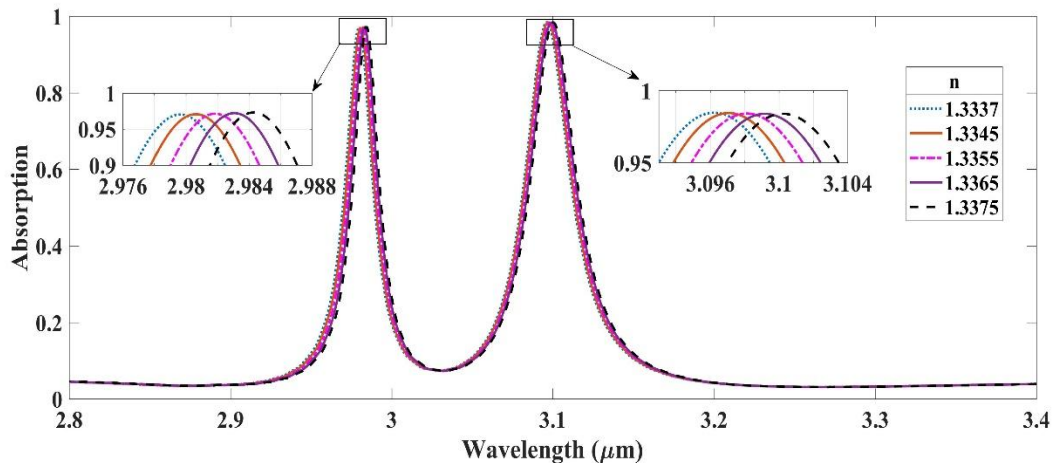
برای نشان دادن حسگری باکتری، در این ساختار از نمونه ادرار پنج موش صحرایی که در ادرار آنها باکتری لپتوسپیروز وجود دارد استفاده شده است. این نمونه‌ها از

جدول ۲- ضریب شکست ادرار موش‌های صحرایی مختلف از دسته پلی‌اوری

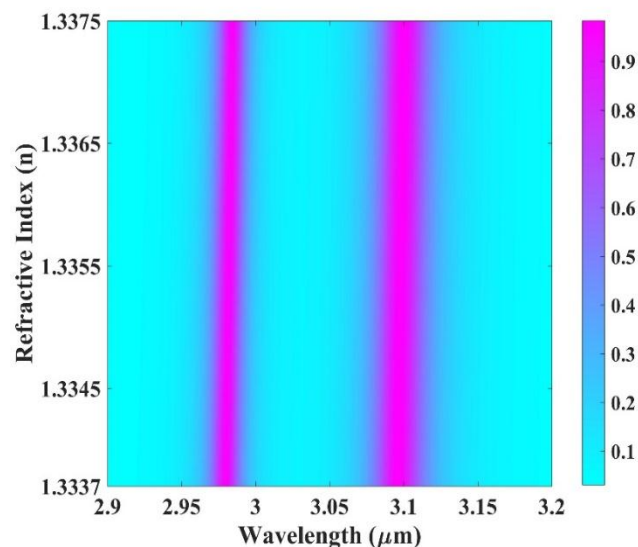
شماره موش صحرایی	مقدار آب (ml)	مقدار ادرار (ml)	ضریب شکست (RI)
۱	۱۶۴	۱۳۶	۱/۳۳۳۷
۲	۸۸	۶۳	۱/۳۳۴۵
۳	۴۸	۳۲	۱/۳۳۵۵
۴	۴۰	۱۹	۱/۳۳۶۵
۵	۴۰	۲۱	۱/۳۳۷۵

تشدید دوم از ۳۰۹۶nm به ۳۱۰۰nm تغییر پیدا کرده است که تغییرات قابل توجهی است. شکل ۴ نمودار جاروب توان و طول موج تشدید را بر حسب ضریب شکست و طول موج نشان می‌دهد.

همان‌طور که در شکل ۳ نشان داده شده است، با تغییر ضریب شکست از مقدار ۱/۳۳۳۷ (معادل نمونه شماره ۱ با ۱۶۴ml آب و ۱۳۶ml ادرار) به مقدار ۱/۳۳۷۵ (معادل نمونه شماره ۱ با ۴۰ml آب و ۲۱ml ادرار)، طول موج تشدید اول از ۲۹۷۹nm به ۲۹۸۴nm و طول موج



شکل ۳- طیف جذب ساختار حسگر ارائه شده وقتی در معرض پنج نمونه ادرار موش صحرایی قرار می‌گیرد



شکل ۴- نمودار توان باز تاب شده بر حسب ضریب شکست و طول موج

FWHM عرض کامل در نصف مقدار بیشینه طیف خروجی است. در این ساختار SPR با نور با قطبش TM تحریک می‌شود. نتایج برای دو طول موج تشدید در جدول ۳ نشان داده شده است. مطابق با نتایج به دست آمده، طول موج تشدید اول دارای حساسیت و ضریب شایستگی بهتر  $1315 \text{ nm/RIU}$  و  $63 \text{ RIU}^{-1}$  است.

برای بررسی عملکرد ساختار، پارامترهای حساسیت و

ضریب شایستگی از روابط زیر تعریف می‌شوند:

$$S = \frac{\Delta\lambda}{\Delta n} \quad (1)$$

$$FOM = \frac{S}{FWHM} \quad (2)$$

که در آن  $\Delta\lambda$  جابجایی طول موج تشدید پلاسمون سطحی،  $\Delta n$  تغییرات ضریب شکست در محیط حسگری و

جدول ۳- نتایج شبیه‌سازی مطابق با شکل (۳)

اطلاعات تشدید دوم	اطلاعات تشدید اول	طول موج تشدید بیشینه دوم (nm)	طول موج تشدید بیشینه اول (nm)
S=۱۰۵۲ (nm/RIU)	S=۱۳۱۵ (nm/RIU)	۳۰۹۶	۲۹۷۹
FWHM=۳۳nm	FWHM=۲۱nm	۳۰۹۷	۲۹۸۰
FOM=۳۲RIU <sup>-1</sup>	FOM=۶۳RIU <sup>-1</sup>	۳۰۹۸	۲۹۸۲
		۳۰۹۹	۲۹۸۳
		۳۱۰۰	۲۹۸۴

وجود باکتری لپتوسپیروز را به خوبی تشخیص دهد. نتایج این شبیه‌سازی نشان می‌دهد که حسگر زیستی پیشنهادی می‌تواند برای تشخیص زودهنگام بیماری‌های مرتبط با باکتری لپتوسپیروز با حساسیت و دقت بالا مورد استفاده قرار گیرد.

#### سپاسگزاری

این کار با حمایت از پژوهانه دانشگاه زابل با شماره‌های UOZ-GR-6230 و UOZ-GR-8357 انجام شده است.

#### References

1- Izurieta R, Galwanker S, Clem A. Leptospirosis: themysterious mimic. *J emerg trauma shock*. 2008; 1(1): 21-33.

2- Ko AI, Goarant C, Picardeau M. Leptospirosis: the dawn of the molecular genetics era for an emerging zoonotic pathogen. *Nat Rev Microbiol*. 2009; 7: 736-47.

3- Levett PN. Leptospirosis. *Clin Microbiol*. 2001; 14: 296-326.

4- Plank R, Dean D. Overview of the epidemiology, microbiology, and pathogenesis of *Leptospira* spp. in humans. *Microbes and infection*. 2000; 2(10): 1265-76.

5- Terpstra, WJ. Human Leptospirosis: Guidance for Diagnosis, Surveillance & Control. *WHO, International Leptospirosis Society*. 2003.

6- Packchianian A. Susceptibility and resistance of certain species of American deer mice, genus *Peromyscus*, and other rodents to *Leptospira Icterohaemorrhagiae*. *Public Health Reports* (1896-1970). 1940: 1389-402.

7- Babamahmoodi F, Motamed N, Mahdavi M, Nikkhhah F, Ghavi Bonye K. Epidemiology of leptospirosis in rural area of Ghaemshahr, Ma-

#### نتیجه‌گیری

در این مقاله حسگر زیستی SPR مبتنی بر جاذب فراماده به شکل دیسک‌های عمود بر هم پیشنهاد و جهت شناسایی و تشخیص باکتری لپتوسپیروز موجود در ادرار جوندگان شبیه‌سازی نوری و مورد تحلیل و بررسی قرار گرفت. در این مطالعه نمونه ادرار پنج موش صحرائی با درصد‌های متفاوت آب بررسی شد. در تحلیل نمودارهای طیف جذب ناشی از تغییر ضریب شکست بر حسب طول موج پرتو ورودی مشخص شد که این حسگر با حساسیت ۱۳۱۵nm/RIU و معیار شایستگی ۶۳RIU<sup>-1</sup> می‌تواند

zandaran, during September-October 2004. *J Mazandaran Uni Med Sci*. 2006; 16(53): 51-6. [In Persian]

8- Rafiei A, Hedayati Zadeh-Omran A, Babamahmoodi F, Alizadeh Navaei R, Valadan R. Review of Leptospirosis in Iran *J Mazand Univ Med Sci*. 2012; 22(94): 113-24. [In Persian]

9- Babamahmoodi F, Salmani Mojaveri M, Babamahmoodi A. Seroepidemiology of leptospirosis in workers of high risk occupation in Mazandaran province – Iran 2007-2008. *J Mazand Univ Med Sci*. 2009; 19(73): 11-5. [In Persian]

10- S. Faine, B. Adler, C. Bolin, and P. Perolat, *Leptospira and leptospirosis*. Melbourne, Australia: MediSci, 1999.

11- Longo D, Fauci A, Kasper D, Hauser S, Jameson J, Loscalzo J. Leptospirosis in: Harrison's principles of internal medicine (18th edition). *McGraw-Hill Medical Pub Division*. 2011.

12- Victoriano AFB, Smythe LD, Gloriani-Barzaga N, Cavinta LL, Kasai T, Limpakarnjarat K, et al. Leptospirosis in the Asia Pacific region. *BMC Infect Dis*. 2009; 9: 1-9.

13- Costa F, Hagan JE, Calcagno J, Kane M,

**Torgerson P, Martinez-Silveira MS, et al.** Global morbidity and mortality of leptospirosis: a systematic review. *PLoS neglected tropical diseases*. 2015; 9(9): e0003898.

**14- Ahmed SN, Shah S, Ahmad FMH.** Laboratory diagnosis of leptospirosis. *Journal of Postgraduate Medicine*. 2005; 51(3): 195.

**15- Rakhshani MR.** Narrowband plasmonic absorber using gold nanoparticle arrays for refractive index sensing. *IEEE Sensors Journal*. 2022; 22(5): 4043-50. [In Persian]

**16- Rakhshani MR, Rashki M.** Metamaterial perfect absorber using elliptical nanoparticles in a

multilayer metasurface structure with polarization independence. *Optics Express*. 2022; 30(7): 10387-99. [In Persian]

**17- Maurya JB, Prajapati YK.** A comparative study of different metal and prism in the surface plasmon resonance biosensor having MoS<sub>2</sub>-graphene. *Optical and Quantum Electronics*. 2016; 48(5): 1-12.

**18- Kitagawa YF, Takahashi T, Hayashi H.** Relationship between the refractive index and specific gravity of the rat urine. *Experimental Animals*. 1981; 30(3): 307-11.

# Detection of Leptospirosis Bacteria in Rodent Urine Using Metamaterial Absorber Based Surface Plasmon Resonance (SPR) Sensor

Mahdi Rashki<sup>1</sup>, Mohammad Reza Rakhshani<sup>\*2</sup>

1- Assistant Professor, Department of Physics, Faculty of Science, University of Zabol, Zabol, Iran.

2- Assistant Professor, Department of Electrical Engineering, Faculty of Engineering, University of Zabol, Zabol, Iran.

Receive: December 13, 2022; Revise: December 31, 2022; Accept: December 31, 2022

## Summary

---

Leptospirosis is a common disease between humans and animals that can survive in swimming pools, rivers, surface waters, moist soils, swamps, and hot weather. Leptospirosis can be transmitted to humans directly through contact with the urine of most rodents (rats, foxes, raccoons, etc.) by scratches or minor injuries, or indirectly through contaminated water and soil. Considering that the cultivation and growth of this bacterium is time-consuming, the use of surface plasmon resonance sensors using metamaterial structure is a suitable method for rapid diagnosis of this disease. Ordinary, leptospirosis bacteria can be detected by urine. In this article, we apply five rodent urine samples as the sensing material in the designed biosensor. In the proposed structure, gold metal has been chosen as a plasmonic metal due to its resistant against air oxidation. To check the sensitivity of this device and the results, we find absorption curves and analyze them in terms of sensitivity, detection accuracy, and quality factor. The results show that this sensor can detect leptospirosis bacteria with a sensitivity of 1315nm/RIU and a figure of merit (FOM) of 63RIU<sup>-1</sup>.

**Key words:** *Detection of Leptospirosis, Bacteria, Biosensors, Metamaterial, Biosensor Sensitivity*