

**UFMS – UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL**

**INFI – INSTITUTO DE FÍSICA**

**IDENTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA  
RAMAN OU FTIR E ANÁLISE MULTIVARIADA: UMA REVISÃO  
SISTEMÁTICA**

Ana Carolina Maranni

Campo Grande – MS

2023

Ana Carolina Maranni

**IDENTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS UTILIZANDO  
ESPECTROSCOPIA RAMAN OU FTIR E ANÁLISE  
MULTIVARIADA: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado no Instituto de Física como requisito básico para a conclusão do Curso de Física Bacharelado.

Orientador (a): Prof. Dr. Cicero Rafael Cena.

Campo Grande - MS

2023

**ANA CAROLINA MARANNI**

**IDENTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS UTILIZANDO  
ESPECTROSCOPIA RAMAN OU FTIR E ANÁLISE  
MULTIVARIADA: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA**

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado pela Banca Examinadora para obtenção do Grau de Graduação, no Curso de Física Bacharelado da Universidade da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

Campo Grande, 01 de dezembro de 2023.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Cicero Rafael Cena - (UFMS) – Orientador

---

Prof. Dr. Bruno Marangoni - (UFMS)

---

Ma. Camila Calvani (UFMS)

## RESUMO

Com as infecções bacterianas por microrganismos resistentes tornando-se um problema cada vez mais presente atualmente, faz-se necessário investigar formas de detecção e identificação de patógenos que ofereçam respostas rápidas, precisas e de baixo custo. Neste cenário, espectroscopias Raman e FTIR associadas a análise multivariada de dados são amplamente exploradas, e melhorias destas técnicas são frequentemente propostas a fim de tornar os métodos mais precisos, o que torna a escolha entre eles uma tarefa difícil. Assim, este trabalho tem como objetivo determinar qual das duas técnicas espectroscópicas possuem melhor aplicabilidade na identificação das bactérias *E. coli* ou *S. aureus*. Para isso, realizou-se uma busca por artigos nas bases de dados Web of Science e Scopus, a busca estratégica focou em trabalhos que utilizaram como amostra as bactérias de interesse para análise espectroscópica Raman ou FTIR e com análise multivariada de dados. As etapas seguintes de elegibilidade dos trabalhos seguiram os protocolos PRISMA, no final do processo onze artigos foram eleitos para análise da revisão sistemática. A qualidade dos artigos foi avaliada e baseada nos resultados desta avaliação, mesmo sem verificar o risco de viés, concluiu-se que a técnica Raman é melhor empregada na identificação de bactérias que o FTIR.

Palavras-chave: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*; PCA; validação externa; LOOCV.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

EC – *Escherichia coli*;

STA – *Staphylococcus aureus*;

PCR – reação em cadeia de polimerase;

IR – infra vermelho;

FTIR – espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier;

ER – espectroscopia Raman;

SERS – espectroscopia Raman amplificada por superfície;

AM – análise multivariada;

GN – gram-negativa;

GP – gram-positiva;

NN – rede neural;

SVM – máquina de vetores de suporte;

PCA – análise de componentes principais;

PLS-DA – análise discriminante de mínimos quadrados parciais.

CDA – análise discriminante canônica;

HCA – análise de agrupamento hierárquico;

PRISMA – principais itens para relatar revisões sistemáticas e meta-análises;

LOOCV – leave one out cross-validation;

SWLDA – stepwise linear discriminant analysis.

# SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>07</b>
<b>2. JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>08</b>
2.1 BACTÉRIAS <i>E. coli</i> E <i>S. aureus</i> .....	08
2.2 ESPECTROSCOPIA RAMAN .....	09
2.3 FTIR .....	09
2.4 ANÁLISE MULTIVARIADA .....	10
<b>3. OBJETIVOS .....</b>	<b>11</b>
<b>4. METODOLOGIA.....</b>	<b>11</b>
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>12</b>
<b>6. CONCLUSÃO .....</b>	<b>16</b>
<b>7. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>17</b>

# 1. INTRODUÇÃO

A resistência aos antibióticos é responsável por 1,8 milhões de mortes a cada ano e apresenta uma ameaça séria à saúde pública global, sendo que o seu aumento se deve principalmente ao uso excessivo e indiscriminado de agentes antimicrobianos [1]. Patógenos comuns, como *Escherichia coli* (EC) e *Staphylococcus aureus* (STA), já apresentam cepas que não são afetadas por alguns dos principais antibióticos aos quais eram suscetíveis [2]. Para conter o avanço da resistência é necessário garantir a correta identificação de patógenos antes da administração de antibióticos, porém como os métodos usuais de detecção baseadas em culturas e reação em cadeia de polimerase (PCR) são elaborados e lentos [3], novas alternativas rápidas e precisas precisam ser exploradas.

Assim, a aplicação de técnicas espectroscópicas de infravermelho (IR) [4] e Raman [5] passaram a ser exploradas para detecção e identificação de patógenos. A técnica espectroscópica mais utilizada na região do IR é a espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), esta técnica fornece uma impressão digital altamente específica da amostra através dos dados de grupos funcionais [4,6-7].

Já a espectroscopia Raman (ER) baseia-se nos modos de vibração moleculares, gerada pela interação da luz com a amostra. Esse método possui alta especificidade química, porém apresenta fraqueza na intensidade do sinal [5,6], por isso melhorias foram feitas e a ER amplificada por superfície (SERS) conseguiu intensificar os picos Raman por meio da interação da radiação com nanopartículas e superfícies de metais nobres [5,7-8].

Apesar de ambas as técnicas apresentarem informações características e específicas, as amostras bacterianas podem oferecer um desafio a nível de identificação pois, devido às semelhanças fenotípicas e genotípicas, os espectros podem não ser visualmente diferenciáveis. Desta forma, análises de dados multivariadas mostraram-se uma ferramenta necessária e complementar importantíssima para identificar bactérias [11].

A quimiometria tem duas principais características discriminante e preditiva, na primeira os dados obtidos no método espectroscópicos são explorados a fim de encontrar padrões entre os semelhantes, isso pode ser feito de forma supervisionada ou não supervisionada. Já a segunda parte não é essencial para análise dos dados obtidos, mas estabelece um modelo de identificação para amostras futuras o que pode ser um diferencial nos estudos, esta etapa é também atribuída a machine learning [9-11].

Sendo assim, uma revisão sistemática pode apresentar um ponto de vista analítico para escolha entre os métodos espectroscópicos e análise multivariada (AM) para identificação de patógenos, estabelecendo métodos de busca específicos, seleção criteriosa de estudos e avaliação de variáveis selecionadas [12].

## 2. JUSTIFICATIVA

Para conter a evolução da resistência bacteriana em bactérias comuns como *Escherichia Coli* e *Staphylococcus aureus*, investigações por métodos espectroscópicos estão sendo muito empregados, devido ao seu baixo custo, agilidade na obtenção dos resultados, sensibilidade das técnicas e pela facilidade na preparação das amostras ou ausência de preparação.

Somado a isso, vem a crescente utilização de métodos estatísticos e matemáticos que auxiliam interpretar de forma correta os dados espectrais gerados pelas técnicas analíticas de identificação. Portanto, revisões sistemáticas como essa são de extrema importância para a academia, permitindo-nos compreender a real aplicabilidade e reprodutibilidade das técnicas em identificação de bactérias.

### 2.1 BACTÉRIAS *E. coli* E *S. aureus*

As bactérias *Escherichia coli* (EC) e *Staphylococcus aureus* (STA) representam a maior parte dos estudos de espectroscopia aplicados à identificação dos últimos anos [6], estes estudos são de alta relevância, já que o último relatório de resistência antimicrobiana da OMS relata que os níveis médios de resistência antimicrobiana foram de 42% para EC e 35% de STA [2].

A identificação das bactérias por meio da espectroscopia deve-se às diferenças estruturais, um ponto relevante a ressaltar ao diferenciá-las é a classificação por conta da parede celular. Bactérias gram-negativas (GN), como a EC, possuem a parede celular constituídas de uma fina camada de peptidoglicanos coberta por uma membrana externa rica em lipopolissacarídeos [15, 18], a qual contém proteínas chamadas porinas que possibilitam a difusão passiva através da membrana [15].

Já STA é uma bactéria gram-positiva (GP), a qual possui parede celular composta principalmente por uma espessa camada de peptidoglicano, que protege a membrana citoplasmática composta por fosfolipídios e proteínas [15]. Em algumas espécies, a membrana pode estar rodeada por uma camada externa de proteínas dispostas em uma

estrutura paracristalina [16–18]. Há também a presença de ácidos teicóicos na parede celular, com uma terminação que permite sua ligação ao peptidoglicano ou à membrana citoplasmática.

## 2.2 ESPECTROSCOPIA RAMAN

A ER é uma técnica óptica não invasiva capaz de analisar a interação entre a luz e a matéria, baseada na dispersão inelástica dos fótons. O seu funcionamento consiste em excitação de nuvens de elétrons para espalhamento usando um laser não ionizante, a luz incidente interage com a amostra provocando vibrações moleculares de frequência distinta da radiação incidente [14]. Porém, como apenas 1 em 10 milhões de fótons que atingem a amostra pode causar o espalhamento Raman [13], o seu sinal acaba sendo fraco. Assim, sua aplicabilidade é reduzida para detecção de baixas concentrações moleculares, o que é tão essencial para a diferenciação bacteriana [19].

Sendo assim, técnicas melhoradas de ER, como o SERS têm sido cada vez mais usuais. Esta técnica utiliza substratos metálicos, normalmente NPs de materiais nobres, e sua interação com a luz para melhorar o campo elétrico e a polarizabilidade molecular e que por fim amplia os sinais Raman em 4 a 14 ordens de grandeza [20]. O SERS apresenta inúmeras vantagens para estudos de bactérias, ele é um método não destrutivo, rápido e com preparação de amostra simples. Além disso, as amostras líquidas podem ser estudadas já que a água não interfere no sinal [21].

O SERS é uma ferramenta de análise poderosa a qual pode ser facilmente empregada para detecção bacteriana. Recentemente, Witkowska et al. [24] estabeleceram que os substratos de prata (Ag) fornecem a maior intensidade de sinal SERS em comparação com outros. Porém, este tem rápida liberação de íons, possuindo como característica a atividade antimicrobiana [23]. Portanto, novas abordagens estão sendo implementadas nos últimos anos, fornecendo substratos aprimorados que podem ser usados para detecção bacteriana. Chen et al. [22] obteve resultados melhores que os de Ag usando um sistema bimetálico em forma de filme de Ag e tântalo (Ta), o qual exibiu melhor biestabilidade sem atividade antimicrobiana.

## 2.3 FTIR

As regiões do infravermelho no espectro eletromagnético são subdivididas em: NIR, MIR e FIR (que são as regiões próximo, médio e distante, respectivamente), sendo a região do infravermelho médio,  $400 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ , a mais utilizada para análise bacteriana. O FTIR é

a técnica analítica química de IR médio mais aplicada, a qual baseia-se em espectros de absorvância de diferentes grupos funcionais para amostras expostas a radiação na faixa de IR [7], por meio de técnicas matemáticas a resposta do equipamento é transformada em picos característicos da amostra [6].

O FTIR é uma técnica analítica que está cada vez mais popular para caracterização e identificação de bactérias. Isso se dá pelo seu baixo custo, alta confiabilidade, rapidez na obtenção dos resultados, simplicidade de preparação de amostras e velocidade de análise. Com o advento do FTIR e análise computacional no final dos anos 1980 e 1990, Naumann e colaboradores retomaram este método para análise de células bacterianas e análise espectral complexa para identificar, diferenciar e classificar bactérias [25, 26]. Desde então, FTIR tem sido aplicado com sucesso para detecção, discriminação, identificação e classificação de bactérias pertencentes a diferentes espécies, particularmente patógenos de origem alimentar, como EC [27] e STA [28].

## 2.4 ANÁLISE MULTIVARIADA

A AM é um braço da química que possui grande importância nos estudos de interpretações químicas. Isso porque esta área utiliza de métodos estatísticos e matemáticos para analisar e compreender dados com grande complexidade. Suas principais aplicações são discriminar e prever dados [29], sendo que para isso os métodos são separados em supervisionados e não supervisionados [9].

Os métodos não supervisionados são métodos exploratórios de dados espectrais sem conhecimento de partida sobre a amostra, o análise de componentes principais (PCA) é um dos métodos mais antigos e mais utilizados, tendo como objetivo a redução das dimensões dos conjuntos de dados em seus componentes ou pontuações mais dominantes, mantendo o máximo de informações estatísticas [9-11, 29]. Outro método é a análise de agrupamento hierárquico (HCA) que utiliza a distância entre os espectros e o algoritmo de agregação. Este método é usado para mostrar similaridade entre os espectros por meio de dendrogramas, no caso de identificação de microrganismos pode-se assimilar espectros com o mesmo gênero, espécie ou até a suscetibilidade a um antibiótico. Além de encontrar semelhanças entre bactérias, uma bactéria desconhecida pode ser identificada calculando a distância espectral entre ela e bactérias conhecidas ou introduzindo-as no HCA [9, 29].

Métodos supervisionados são métodos em que cada dado espectral é atribuído a uma classe já definida, de forma que os dados qualitativos são adicionados aos dados espectrais quantitativos e, então, são tratados e obter a relação entre os dados e a classe considerada. Existem diversos métodos para serem aplicados, como a análise discriminante (DA), ou a análise de variáveis canônicas (CVA), análise discriminante de mínimos quadrados parciais (PLS-DA), máquina de vetores de suporte (SVM) e rede neural (NN) [9-11, 29]. Estas técnicas são constantemente usadas para previsão de dados e por isso se enquadram em técnicas de treinamento de máquinas, na maioria das vezes seus resultados são quantitativos expressando o sucesso das previsões.

### **3. OBJETIVOS**

O objetivo deste trabalho é constatar através de uma revisão sistemática da literatura, qual a melhor técnica para identificação de bactérias *E. Coli* e *S. Aureus*, sendo elas as técnicas espectroscópicas Raman ou FTIR e análise multivariada. A partir desta informação, objetivos específicos foram estabelecidos. Sendo eles:

- Criar filtros de pesquisa para as plataformas de publicações científicas;
- Estabelecer critérios de inclusão de artigos no estudo;
- Definir os dados quantitativos e qualitativos relevantes para avaliar os trabalhos;
- Realizar o estudo sistematizados dos periódicos enquadrados nos critérios por meio dos dados coletados.

### **4. METODOLOGIA**

Uma busca nas bases de dados Web of Science e Scopus foi realizada para o desenvolvimento desta revisão sistemática, nela utilizou-se palavras chave com objetivo de obter apenas publicações que envolvessem as técnicas espectroscópicas, bactérias e análise de dados de interesse. Para isso o conjunto de termos estratégicos e conectivos booleanos utilizado foi: “(*Escherichia coli* OR *Staphylococcus aureus*) and (Raman spectroscopy OR FTIR) and (multivariate analysis)”. Além disso, os resultados foram filtrados limitando os resultados a artigos em inglês publicados entre janeiro de 2018 e dezembro de 2022.

Nesta revisão sistemática utilizou os passos da metodologia sugeridos pela lista de verificação PRISMA [30]. A triagem dos artigos identificados consistiu na exclusão das duplicatas, que ocorreram devido a busca em diferentes bancos de dados, e de artigos que não se enquadraram nos filtros estabelecidos na busca. Em seguida, na primeira

etapa da elegibilidade, analisou-se os artigos restantes por meio de título, palavras-chave e resumo. Para estes fragmentos de texto, o critério de inclusão foi conter os termos da busca ou equivalentes.

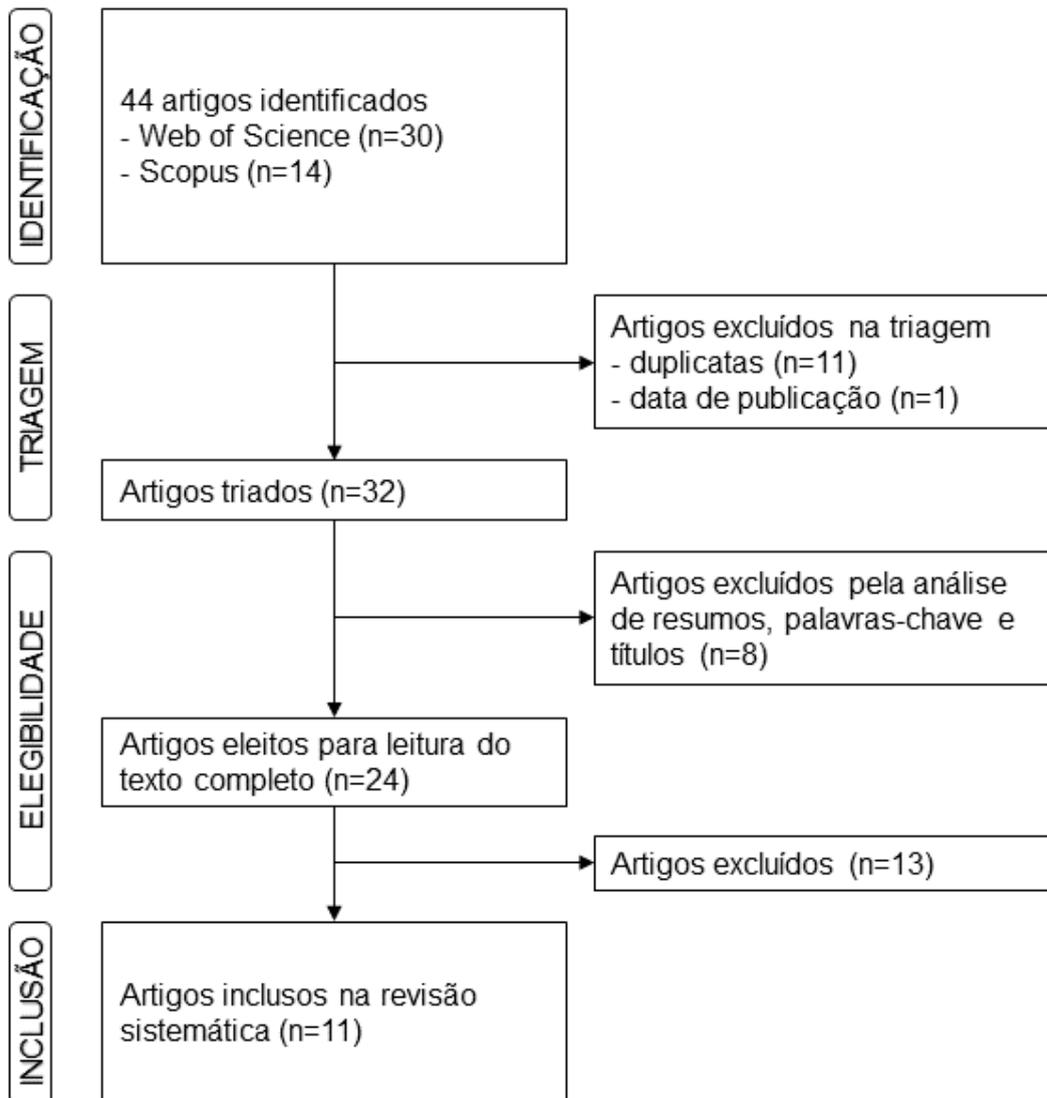
Por fim, lidos os artigos completos, selecionou-se somente os que utilizaram o sistema bacteriano completo como amostra e os que tinham como objetivo a identificação das bactérias. Os seguintes dados foram coletados dos artigos (I) Nível de discriminância (II) Discriminância visual (III) Tipo de validação (IV) Acurácia dos métodos de previsão das bactérias de interesse, além do nome do autor e ano de publicação do artigo. A partir deles desenvolveu-se a discussão a respeito dos métodos espectroscópicos e de análise, para assim determinar qual apresenta a melhor prospecção para ser utilizado como método diagnóstico.

## **5. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Ao todo 44 artigos foram obtidos nas pesquisas nas bases de dados, onze artigos foram excluídos na primeira etapa devido à duplicidade e um por ter sido publicado em um período fora do filtro estabelecido. Por meio das informações do título, resumo e palavras-chave foram removidos 8 textos. Já da leitura do texto completo eliminou-se treze artigos: 11 por não identificarem bactérias e 2 por que não usaram como base da amostra a estrutura bacteriana. Um fluxograma da inclusão dos estudos nesta revisão sistemática é apresentado na Figura 1, o que resulta em um total de 11 artigos incluídos - Tabela 1.

No intervalo de tempo de cinco anos - 2018 a 2022 - o cenário encontrado é de predominância da espectroscopia Raman em estudos de identificação de bactérias nos mais diferentes níveis biológicos, dos 11 artigos deste estudo 9 deles utilizaram este método [31, 33, 35-41], ou seja 81,8%. A técnica mais empregada foi o SERS, o que corresponde a previsões apresentadas em estudos sobre a espectroscopia na área de microbiologia, segundo elas este é o método com maior desenvolvimento de precisão e sensibilidade devido ao avanço dos materiais utilizados [8]. Como é o caso do chip de membrana de filtro multifuro de polidimetilsiloxano (PMDS) combinado com AgNPs apresentado por Y. Zhu [40], criado a fim de homogeneizar a distribuição das nanopartículas na amostra garantindo resultados mais precisos. Ou ainda da aplicação de partículas bimetálicas carregadas positivamente Ag/Au no método SERS, realizado por O. Prakash [36] para melhorar a absorção da NPs pelas bactérias.

Figura 1: Diagrama PRISMA do processo de seleção de artigos



Fonte: Adaptada de MOHER, D. [30]

Dos artigos sobre espectroscopia Raman, cinco artigos realizaram estudos com bactérias EC [33, 35-38], sendo que três artigos realizaram estudos a nível de espécie, E. Akanny [33] obteve separação visual total das espécies bacterianas estudadas pela técnica discriminante PCA, estudou também a previsão de resultados por PLS-DA o que resultou em 100% de acurácia para validação LOOCV. Já R. Breuch [35] aplicou validação externa do modelo CDA e obteve acurácia de 97,5% e não teve resultados de clusterização visual, por conta da diversidade dos grupos bacterianos (sete espécies).

Tabela 1 – Artigos eleitos para revisão sistemática

Autor	Ano	Nível de discriminância	Bactéria	Tipo de espectroscopia	Assinatura	Análise multivariada
D. Prochazka [31]	2018	Espécie e cepa	EC e STA (cepa)	Espectroscopia Raman	Carotenoide	PCA, NN (SOM)
S. Ji [32]	2019	Espécie	EC	FO-FTIR	--	PCA e LR, MLP, SVM
E. Akanny [33]	2020	Espécie	EC	SERS	Fosfolipídios, lipídios, carboidratos, peptidoglicano, adenina, purina e proteína.	PCA e PLS-DA
S. Wongthong [34]	2020	Cepa	STA (cepa)	FTIR – ATR	Carboidrato, proteína, fosfolipídios e ácido teicóico	PCA e PLS-DA
R. Breuch [35]	2020	Espécie	EC	SERS	--	PCA e CDA
O. Prakash [36]	2020	Espécie	EC	SERS	Proteína, polissacarídeo, adenina, DNA, carboidratos e amida III	PCA e CDA
S. Bashir [37]	2021	Cepa	EC (cepa)	SERS	Carboidratos, proteína, DNA/RNA, lipídio e aminoácidos	PCA, HCA e PLS-DA
S. Bashir [38]	2021	Cepa	EC (cepa)	SERS	Ácidos nucleicos, aminoácidos, proteínas, carboidratos e lipídios	PCA, HCA e PLS-DA
A. H. Arslan [39]	2022	Espécies	EC e STA	SERS	Adenina, guanina, lipídio e amida II	PCA e HCA
Y, Zhu [40]	2022	Espécies	STA	SERS	Amida II e III, ácido nucleico, lipídios, e carboidrato	PCA e SWLDA
A. P. Lister [41]	2022	Espécies e cepas	STA (cepa)	SERS	Carotenoide	PCA e SVM

Fonte: Autoral

Por fim, O. Prakash [36] obteve apenas separação visual parcial aglomerando bactérias gram-positivas em um mesmo cluster e isolando apenas a bactéria gram-negativa EC, apesar disso seu modelo CDA foi validado por LOOCV com acurácia 100%.

O estudo de cepas de EC por SERS foi realizado por S. Bashir, que apresentou dois trabalhos e em ambos estudou SERS aplicados a cepas de *E. coli*, no primeiro [37] estudou a resistência a carbapenem, antibiótico utilizado em último caso para tratamento de infecções graves [42], e no outro [38] a tigeciclina, o qual atua em amplo espectro e é frequentemente utilizado em *S. aureus* resistentes a meticilina [43]. Ambos os trabalhos apresentaram 100% de acurácia com validações externas para modelos PLS-DA e separações completas em clusters para modelo PCA.

O último estudo envolvendo apenas EC apresentado é de S. Ji [32] o qual utiliza FTIR, em seu estudo não houve clusterização dos dados por meio do PCA, porém realizou diversas classificações preditivas e obteve melhor acurácia, 92,5%, para regressão logística (LR) com validação LOOCV. O método LR tem sido usado para detectar o crescimento de bactéria devido à alta capacidade de estimar relações entre variáveis [44].

Nos estudos de SERS aplicados a EC que realizaram associação de sinais espectroscópicos a estruturas biológicas, observa-se como assinaturas as proteínas, essas moléculas vitais para o funcionamento dos organismos e são essenciais para a entrada de nutrientes nas paredes celulares das bactérias GN [15], podendo ser usadas como marcadores. O único estudo de FTIR aplicado a EC não realizou estudos de assinatura biológica, além disso foi a técnica com resultados preditivos com pior acurácia para validação LOOCV [32].

Os artigos de Y. Zhu [40], A. P. Lister [41] e S. Wongthong [34] estabeleceram interesse na bactéria STA, Y. Zhuo diferenciou a nível de espécie por SERS e não só obteve separação total por PCA, como também utilizou LOOCV para o modelo SWLDA e obteve 100% de especificidade e sensibilidade. Já S. Wongthong aplica FTIR-ATR para identificar resistência a vancomicina em bactérias *S. aureus*, estudo de cepas, como resultado foi apresentado isolamento completo das cepas resistentes e susceptíveis, vale ressaltar que não se diferenciou as cepas individualmente, apenas como grupo. Para o modelo de classificação PLS-DA com validação externa obtiveram uma acurácia de 100%.

A. P. Lister realizou dois estudos independentes utilizando SERS, um de identificação a nível de espécie e outro a nível de cepa, em ambos obteve separação visual total por PCA mas realizou classificação por SVM apenas para cepas, a acurácia para validação externa obtida foi de 99,75%. A assinatura utilizada para diferenciação neste trabalho foi o carotenóide, pigmento presente em algumas cepas de STA [2].

Apesar do estudo de S. Wongthong ter a melhor acurácia entre os estudos de STA, a análise de previsão focou apenas na separação de bactérias resistentes e suscetíveis e não nas cepas individualmente. Logo, os estudos com SERS de aplicados a *S. aureus* já mostram vantagens sobre os de FTIR.

Para estudos conjuntos de EC e STA temos D. Prochazka [31] e A. H. Arslan [39], o primeiro realiza diferenciação a nível de cepa e espécie simultaneamente, não só utilizando a espectroscopia Raman isolada, mas também mesclando os dados com a técnica LIBS. Para o Raman individual o resultado do PCA apresentou clusterização para STA e uma cepa MSSA (*Staphylococcus aureus* – methicillin sensitive) e realizou-se modelagem preditiva por NN com validação externa e acurácia de 87,5%. Já para os dados sobrepostos, houve separação visual total e para o mesmo método de classificação a acurácia obtida foi de 100%. A. H. Arslan obteve resultados de clusterização por PCA e HCA de todas as espécies estudadas, mas não estudou a aplicação de métodos preditivos.

## 7. CONCLUSÕES

Os estudos analisados apresentaram homogeneidade e consistência em seus resultados, já que as assinaturas espectroscópicas atribuídas às bandas características de cada bactéria condizem com a literatura [2, 9]. Além disso, nota-se que as técnicas Raman, especificamente SERS, dominaram em número os estudos incluídos neste trabalho.

Após analisar os dados baseando-se em nível de discriminância, discriminância visual, tipo de validação e acurácia dos métodos de previsão pode-se afirmar que a técnica FTIR não é indicada para a identificação de bactérias. S. Wongthong e S. Ji foram os dois únicos trabalhos utilizando FTIR que incluiu-se nesta revisão sistemática, o primeiro aplicado a STA e o segundo a EC e ambos foram superados pelos trabalhos realizados com SERS.

Apesar deste resultado, um estudo de risco de viés seria adequado para conclusões mais precisas. Com ele seria possível analisar se houve, em cada etapa dos estudos de cada artigo incluído, algum tipo de manipulação que pudesse gerar tendência dos dados.

## 8. REFERÊNCIAS

- [1] WANG, H.; et. al. Simultaneous capture, detection, and inactivation of bacteria as enabled by a surface-enhanced Raman scattering multifunctional chip. *Angew. Chem.* **2015**, 54 (7), 5221–5225.
- [2] Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS) report 2022. *World Health Organization.* **2022**.
- [3] LESHMANN, L.; et. al. A multiplex real-time PCR assay for rapid detection and differentiation of 25 bacterial and fungal pathogens from whole blood samples. *Med Microbiol Immunol.* **2008**, 197, 313–324.
- [4] MAQUELIN, K.; et al. Prospective study of the performance of vibrational spectroscopies for rapid identification of bacterial and fungal pathogens recovered from blood cultures. *J Clin Microbiol.* **2003**, 41(1), 324-329.
- [5] NOUREEN, S.; et al. Raman spectroscopy and multivariate regression analysis in biomedical research, medical diagnosis, and clinical analysis. *Ap. Spec. Ver.* **2021**, 56 (8-10), 615-672.
- [6] RAMZAN, M.; et. al. Recent studies on advanced spectroscopy techniques for the identification of microorganisms: A review. *Arab. Jour.Chem.* **2023**, 16 (3), 2-20.
- [7] JANSSON, M.; et al. Vibrational spectroscopy and its future applications in microbiology. *Ap. Spec. Ver.* **2021**, 58 (2), 132-158.
- [8] HUSSAIN. M.; et. al. Recent Progress in Spectroscopic Methods for the Detection of Foodborne Pathogenic Bacteria. *Biosensors.* **2022**, 12(10), 869-887.
- [9] MARIETY, L.; SIGNOLLE, J.; TRAVERT, A. Discrimination, classification, identification of microorganisms using FTIR spectroscopy and chemometrics. *Vib. Spect.* **2001**, 26, 151-159.
- [10] JOLLIFFE, I.; CADIMA, J. Principal component analysis: a review and recente developments. *Phil. Trans. R. Soc.* **2016**, 374 (2065).
- [11] GROREYSHI, Y.; et. al. Multi-resistant diarrheagenic *Escherichia coli* identified by FTIR and machine learning: a feasible strategy to improve the group classification. *RSC Adv.* **2023**, 13 (36).

- [12] FAUR, F.; et. al. Raman spectroscopy in oral cavity and oropharyngeal cancer: a systematic review. *Oral Maxillofac. Surg.* **2022**, 51, 1375-1581.
- [13] YOGESHA, M.; et. al. A micro-Raman and chemometric study of urinary tract infection-causing bacterial pathogens in mixed cultures. *Anal. Bio. Chem.* **2019**, 411, 3165-3177.
- [14] TU, Q.; CHANG, C.,. Diagnostic applications of Raman spectroscopy. *Nanomed.: Nanotechnol. Biol. Med.* **2012**, 8 (5), 545–558.
- [15] JARVIS, R.; BROOKER, A.; GOODACRE, R. Surface-enhanced Raman scattering for the rapid discrimination of bacteria. *Faraday Discuss.* 2006, 132, 281-292.
- [16] DELCOUR, J.; et. al. The biosynthesis and functionality of the cell-wall of lactic acid bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek.* **1999**, 76 (1-4), 159-184.
- [17] NAVARRE, W.; SCHNEEWIND, O. Surface proteins of gram-positive bacteria and mechanisms of their targeting to the cell wall envelope. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **1999**, 63(1), 174-229.
- [18] TRIPATHI, P.; et. al. Towards a nanoscale view of lactic acid bacteria. *Micron.* **2012**, 43(12), 1323-1330.
- [19] BODELON, G.; et. al. Surface-Enhanced Raman Scattering Spectroscopy for Label-Free Analysis of *P. aeruginosa* Quorum Sensing. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* **2018**.
- [20] ZHENG, Y.; et. al. Phase Controlled SERS Enhancement. *Sci. Rep.* **2019**, 9, 1–9.
- [21] ZHU, X.; et. al. Technical Development of Raman Spectroscopy: From Instrumental to Advanced Combined Technologies. *Appl. Spectrosc. Rev.* **2014**, 49 (1,) 64–82.
- [22] CHEN, D.; et. al. Ta@Ag Porous Array with High Stability and Biocompatibility for SERS Sensing of Bacteria. *ACS Appl. Mater. Interfaces.* **2020**, 12, 20138–20144.
- [23] YANG, Y.; et. al. Highly Sensitive Surface-Enhanced Raman Spectroscopy Substrates of Ag@PAN Electrospinning Nanofibrous Membranes for Direct Detection of Bacteria. *ACS Omega.* **2020**, 5, 19834–19843.
- [24] WITKOWSKA, E.; et. al. Sources of Variability in SERS Spectra of Bacteria: comprehensive Analysis of Interactions between Selected Bacteria and Plasmonic Nanostructures. *Anal. Bioanal. Chem.* **2019**, 411, 2001–2017.
- [25] NAUMANN, D.; HELM, D.; LABISCHINSKI, H. Microbiological characterizations by FT-IR spectroscopy. *Nature.* **1991**, 351 (6321), 81-82.
- [26] NAUMANN, D.; et. al. FT-IR Spectroscopy and FT-Raman Spectroscopy are powerful analytical tools for the non-invasive characterization of intact microbial cells. *J. Mol. Struct.* **1995**, 347, 399-406.

- [27] KIM, S.; et. al. Differentiation of crude lipopolysaccharides from strains using Fourier transform infrared spectroscopy and chemometrics. *J. Food Sci.* **2006**; 71, M57-M61.
- [28] LAMPRELL, H.; et. al. Discrimination of strains from different species of using Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. *Int. J. Food Microbiol.* **2006**, 108, 125-129.
- [29] DAVIS, R.; MAUER, L. Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy: A rapid tool for detection and analysis of foodborne pathogenic bacteria. *Current research, technology and education topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology.* **2010**, 2, 1582-1594.
- [30] MOHER, D.; et. al. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. *PLoS Medicine.* **2009**, 6 (7), 1-7.
- [31] PROCHAZKA, D.; et. al. Combination of laser-induced breakdown spectroscopy and Raman spectroscopy for multivariate classification of bacteria. *Spectro. Acta Part B.* **2018**, 139, 6-12.
- [32] JI, S.; et. al. Signature Infrared Bacteria Spectra Analyzed by an Advanced Integrative Computational Approach Developed for Identifying Bacteria Similarity. *IEEE J. Sel. Top. Quan. Elect.* **2019**, 25 (1), 1-8.
- [33] AKANNY, E.; et. al. Surface-enhanced Raman spectroscopy using uncoated gold nanoparticles for bacteria discrimination. *J. Raman Spectr.* **2020**, 1-11.
- [34] WONGTHONG, S.; et. al. Attenuated total reflection: Fourier transform infrared spectroscopy for detection of heterogeneous vancomycin—intermediate *Staphylococcus aureus*. *J. Micro. Biotec.* **2020**, 36 (22), 1-12.
- [35] BREUCH, R.; et. al. Differentiation of meat-related microorganisms using paper-based surface-enhanced Raman spectroscopy combined with multivariate statistical analysis. *Talanta*, **2020**, 1-7.
- [36] PRAKASH, O.; et. al. Direct Detection of Bacteria Using Positively Charged Ag/Au Bimetallic Nanoparticles: A Label-free Surface-Enhanced Raman Scattering Study Coupled with Multivariate Analysis. *J. Phys. Chem.*, **2020**, 124, 861-869.
- [37] BASHIR, S.; et. al. Rapid and sensitive discrimination among carbapenem resistant and susceptible *E. coli* strains using Surface Enhanced Raman Spectroscopy combined with chemometric tools. *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* **2021**, 34, 1-12.
- [38] BASHIR, S.; et. al. Surface-enhanced Raman spectroscopy for the identification of tigecycline-resistant *E. coli* strains. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2021**, 258, 1-13.

- [39] ARSLAN, A.; et. al. Discrimination of waterborne pathogens, *Cryptosporidium parvum* oocysts and bacteria using surface-enhanced Raman spectroscopy coupled with principal component analysis and hierarchical clustering. *Spec. Acta Part A: Mol. Biomol. Spect.*, **2022**, 267 (1), 1-9.
- [40] ZHU, Y.; et. al. Preparation of an AgNPs@Polydimethylsiloxane (PDMS) multi-hole filter membrane chip for the rapid identification of food-borne pathogens by surface-enhanced Raman spectroscopy. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2022**, 267, 1-9.
- [41] LISTER, A.; et. al. Multi-Excitation Raman Spectroscopy for Label-Free, Strain-Level Characterization of Bacterial Pathogens in Artificial Sputum Media. *Anal. Chem.* **2022**, 94, 669-677.
- [42] EL-GAMAL, M.; OH, C. Current status of carbapenem antibiotics. *Curr. Top. Med. Chem.* **2010**, 10 (18) , 1882-1897.
- [43] SUN, Y.; et. al. The emergence of clinical resistance to tigecycline. *Intern. Jour. Antim. Agents.* **2013**, 41, 110-116.
- [44] BOLTON, I.; FRANK, J. Defining the growth/no-growth interface for listeria monocytogenes in mexican-style cheese based on salt, ph, and moisture content. *J. Food Protection.* **1999**, 62 (6), 601-609.