

Patogeninių mikroorganizmų identifikavimas elektronine nosimi

Identification of pathogenic microorganisms by electronic nose

Rokas Bagdonas^{*1}, Rytis Rimdeika¹, Algimantas Tamelis¹, Mindaugas Kiudelis¹, Andrius Olekas², Daiva Senulienė², Arūnas Šetkus²

¹ Kauno medicinos universiteto klinikų Chirurgijos klinika, Eivenių g. 2, LT-50009, Kaunas

² Puslaidininkių fizikos institutas, Goštauto g. 11, LT-01108 Vilnius

* El. paštas: rbagdonas@hotmail.com

¹ Kaunas Medical University Hospital, Department of Surgery, Eivenių str. 2, LT-50009, Kaunas, Lithuania

² Semiconductor Physics Institute, Goštauto str. 11, LT-01108 Vilnius, Lithuania

* E-mail: rbagdonas@hotmail.com

Įvadas / tikslas

Atlikdami įprastinius mikrobiologinius tyrimus, atsakymą apie infekcijos sukėlėją paprastai gauname per 48–72 val. Tačiau neretai toks laiko tarpas yra per ilgas, todėl visi nauji infekcijos diagnostikos metodai, leidžiantys anksčiau nustatyti žaizdos infekciją, kelia itin didelį susidomėjimą ir yra labai perspektyvūs. Mūsų eksperimentuose elektronine nosimi buvo tiriami kvapai, susiję su patogeninių mikroorganizmų augimu maitinamojoje terpėje. Mikroorganizmai buvo paimti nuo žaizdas dengiančių tvarščių. Eksperimentams buvo išskirti *Acinetobacter*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* patogeniniai mikroorganizmai.

Metodai

Atlikta 313 matavimų su skirtingais mikroorganizmais, išsėtais skirtingose terpėse, sauso ir 100% oro drėgnio sąlygomis. Palyginti elektroninės nosies varžos kitimo parametrai tiriant *Acinetobacter*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* patogeninius mikroorganizmus sauso (n-119) ir 100% santykinio oro drėgnio sąlygomis (n-194).

Rezultatai

Bendras iširtų mėginių skaičius buvo 194, jį sudarė skirtingų mikroorganizmų testavimas elektronine nosimi, naudojant 100% santykinio drėgnio nešančiojo sintetinio oro srautą. Iš visų testų mėginiams naudojant *Acinetobacter* spp. atlikti 48 matavimai, *Staphylococcus aureus* – 20, *Pseudomonas aeruginosa* – 65 ir *Escherichia coli* – 61 matavimas. Bakterijų kvapų 2, 4, 6 ir 7-ojo jutiklių atsakas statistiškai reikšmingai skyrėsi. Kiekvienam atvaizdui, įskaitant ir signalų matavimą bei jų matematinį apdorojimą, suformuoti buvo sugaišta maždaug 30–40 minučių.

Išvados

Elektroninės nosies varžos kitimo parametrai, diagnozuojant *Acinetobacter*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* patogeninius mikroorganizmus, reikšmingai skiriasi ir leidžia identifikuoti skirtingus mikroorganizmus. Elektroninė nosis gali būti tinkamas ankstyvesnio infekcijos diagnostikos nustatymo metodas.

Reikšminiai žodžiai: elektroninė nosis, dujų jutikliai, žaizdų patogeniniai mikroorganizmai, ankstyvoji diagnostika, neinvazinė diagnostika

Background / Objective

Performing the routine microbiological assays the answer about infectious agent usually comes out in 48–72 hours. However, such a long time interval generally is too long and therefore all new diagnostic methods enabling earlier identification of wound infection generate great interest and are thought to be very promising. In our experiments with electronic nose we analysed odours related to growth of pathogenic microorganisms in nutrient medium. Microorganisms were taken from the wound dressing. For the experiments there were isolated *Acinetobacter*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* pathogenic microorganisms.

Methods

There were 313 measurements performed with different microorganisms from different mediums under the conditions of dry air and 100% air humidity. A comparison of changing parameters in electronic nose resistance was made in studying *Acinetobacter*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* pathogenic microorganisms under the conditions of dry air (n-119) and 100% air humidity (n-194).

Results

Overall there were 194 specimens analysed in which different microorganisms were tested with electronic nose using 100% relative humidity carrying the flow of synthetic air. From all the specimens 48 measurements were performed using *Acinetobacter* spp., 20 – *Staphylococcus aureus*, 65 – *Pseudomonas aeruginosa*, and 61 measurement with *Escherichia coli*. The response of gas sensors 2, 4, 6 and 7 evoked by bacteria odours varied statistically significant. Composing each image took about 30–40 minutes including measuring and mathematical processing of signals.

Conclusions

The changing parameters of electronic nose resistance vary significantly in diagnosing *Acinetobacter*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* pathogenic microorganisms and it enables to identify different microorganisms. Electronic nose may be an appropriate method for the earlier diagnostics of the infection.

Key words: electronic nose, gas sensors, pathogenic microorganisms of the wound, early diagnostics, noninvasive diagnostics

Įvadas

Atlikdami įprastinius mikrobiologinius tyrimus, atsakymą apie infekcijos sukėlėją paprastai gauname per 48–72 val. Tačiau neretai toks laikas yra per ilgas, todėl visi nauji infekcijos diagnostikos metodai, leidžiantys anksčiau nustatyti žaizdos infekciją, kelia itin didelį susidomėjimą ir yra labai perspektyvūs. Tikimasi, kad per ateinančius 10 metų dauguma iš jų bus tiek iširti ir pagrįsti, kad galės pakeisti arba bent papildyti įprastinius mikrobiologinius infekcijos diagnostikos metodus. Tai leistų greičiau ir tiksliau

identifikuoti infekcijos sukėlėją. Greičiau nustatius infekciją nudegimus patyrusiems pacientams, būtų galima anksčiau pradėti tinkamai gydyti. Vadinasi, pagerėtų pacientų gydymo kokybė, sumažėtų jų mirštamumas. Greitas, t. y. tą pačią dieną, patogeninio mikroorganizmo aptikimas ir sugebėjimas nukenkinti toksinus yra pagrindinis tiek praktikos gydytojų, tiek mokslininkų tikslas [1].

Ankstyvųjų tyrimo darbų [2–4] rezultatai parodė, kad daugelis ligų ar užkrėtimų paprastai yra susiję su

tam tikrais cheminiais pokyčiais aplinkoje, t. y. tiek audiniuose, tiek greta jų. Taigi buvo galima daryti išvadą, kad aptinkami cheminiai junginiai, o ypač jų mišiniai, akivaizdžiai skiriasi (tai priklauso nuo ligos ar užkrato), todėl labai suintensyvėjo tyrimai, kad tokie cheminiai požymiai būtų naudojami anksčiau medicininei diagnostikai. Atsižvelgiant į palyginti didelį lakiųjų komponentų, aptinkamų analizuojant cheminius užkrato požymius, kiekį, dujų jutiklių pagrindu konstruojamų dirbtinių kvapo atpažinimo sistemų taikymas tokiems požymiams identifikuoti atrodo itin patrauklus dėl palyginti aukšto šiuo metu egzistuojančių tokių sistemų technologinio lygio, palyginti paprasto jų naudojimo, universalumo, mobilumo, trumpo analizės laiko, galimybių sukurti individualiam pacientui skirtus modulius ir nuolat „stebėti“ to paciento būklę.

Bene pirmas bandymas pademonstruoti tokių sistemų tinkamumą anksti identifikuoti infekciją buvo komercinių elektroninių nosių *AromaScan A323* [5] naudojimas kojų venų opų infekcijai aptikti klinikiniais testais [6]. Vėlesnių tyrimų apžvalga yra paskelbta neseniai pasirodžiusioje publikacijoje [7].

Standartiniai negyjančių veninių opų paviršiaus tepinėliai ir biopsijos mėginiai buvo lyginami su specialiai tokiais diagnostikai paruoštos elektroninės nosies pateikiamais kvapo įvertinimo duomenimis. Atlikus standartinius mikrobiologinius testus nustatyta, kad *S. aureus*, beta hemoliziniai streptokokai ir peptostreptokokai buvo išskirti iš opų biopsijos mėginių, bet ne iš paviršiaus tepinėlių. Elektronine nosimi analizuojant tepinėlių ir mėginių kvapus paaiškėjo, kad 13 iš 15 pacientų kvapų įvertinimo duomenys koreliavo ne tik su skirtingomis bakterijų grupėmis, aptiktomis naudojant įprastinį mikrobu testavimą, bet ir su vėlesniu bakterijų išnaikinimu tinkamai gydant antibiotikais.

Vėliau buvo atliekami klinikiniai nudegusių pacientų tyrimai. Žaizdų tvarsčių mėginių ir paviršiaus tepinėlių analizė parodė, kad ir tokių žaizdų atveju elektroninė nosis pakankamai gerai skiria įvairių bakterijų sukeltas infekcijas vieną nuo kitos. Tačiau dėl santykinai mažo mėginių skaičiaus atliekant šiuos tyrimus nebuvo galima sudaryti elektroninei nosiai tinkamo etaloninio kvapo aprašo ir dėl to identifikuoti infekci-

ją sukėlusios bakterijos tipo ir sukurti skirtingų bakterijas atitinkančių kvapų etaloninių aprašų, tinkamų įtraukti į kvapo atpažinimo sistemos biblioteką. Ateityje šiuo metodu bus įmanoma pažinti skirtingas bakterijas tik pagal jų „vietą“ kvapų „žemėlapyje“, sudarytame iš etaloninių aprašų visumos. Šis metodas pasižymi trumpu analizės laiku (rezultatus galima gauti per 35 min.), yra neinvazinis, nes mėginiai imami nuo žaizdų tvarsčių perrišant, o ne iš paties žaizdos audinio. Būtina pažymėti, kad elektroninės nosies perspektyvumas labiau siejamas su tuo, kad lakiuosius cheminius junginius galima surinkti specialia kvapų įsiurbimo sistema tiesiogiai per tvarstį, neatidengiant pačios žaizdos. Šio parengtinio tyrimo rezultatai parodė, kad taip pat įmanoma atskirti MASA nuo MJSA, kadangi kvapų būdingieji aprašai buvo lengvai vienas nuo kito atskiriami [1; 8].

Nors klinikinių tyrimų rezultatai teigiami, iki šiol lieka daug neiškumų, susijusių su sudėtingos sistemos charakterizavimu, pagrįstu dujų jutiklių grupės atsako signalų rinkiniu. Kol kas nėra aiškiai įrodyta, ar kvapo atpažinimas yra priklausomas nuo tvarsčių, vietinio arba sisteminio poveikio vaistų, pavyzdžiui, antibiotikų, paciento mitybos, gyvenimo būdo ir panašių aplinkybių. Daugelio iš šių problemų išsiaiškinti klinikinėmis sąlygomis neįmanoma, bent jau šiuo tyrimų etapu. Dėl to mūsų tyrimai buvo grįsti laboratoriniais eksperimentais, naudojant daugiafunkcį eksperimentinį įrenginį, kuriuo įmanoma tirti kintantį dujų jutiklių atsaką, o nešiojamosios elektroninės nosies tokių galimybių neturi. Toks naujas, palyginti su rinkoje parduodamais prietaisais, metodas leidžia gauti papildomų parametrų aplinkos ypatybėms aprašyti, nedidinant jutiklių skaičiaus elektroninėje nosyje, o to paprastai reikia naudojant daugumą komercinių prietaisų.

Mūsų tyrimų metu dujų jutiklių elektrinė varža kito pasikeitus atmosferos sudėčiai [9]. Varžos kitimo priklausomybę nuo laiko tinkamai išreiškus eksponentinių rinkiniu [10; 11], kiekvienam jutikliui vietoje vienos stacionarios varžos vertės, kaip būtų naudojant įprastus elektroninėms nosims metodus, buvo gauti parametrų rinkiniai, žymimi ($a_0, a_1, a_2, a_3, t_1, t_2, t_3$) ir savo prasmėmis atitinkantys individualaus poveikio aspektų intensyvumą (a_1) ir būdingąsias trukmes (t_1).

Šių parametrų pagrindu, naudojant originalią metodiką, buvo sudaryti kiekvieno kvapo „portretai“ – parametrų dvimatis daugiasluoksnis grafinis atvaizdas [11].

Mes eksperimentiškai tyrėme kvapus, susijusius su patogeninių mikroorganizmų augimu maitinamojoje terpėje. Mikroorganizmai buvo paimiti nuo žaizdas dengiančių tvarščių. Eksperimentams buvo išskirti *Acinetobacter*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* patogeniniai mikroorganizmai.

Metodai

Darbas buvo atliktas Kauno medicinos universiteto klinikose (KMUK) ir Puslaidininkių fizikos institute (PFI, Vilnius).

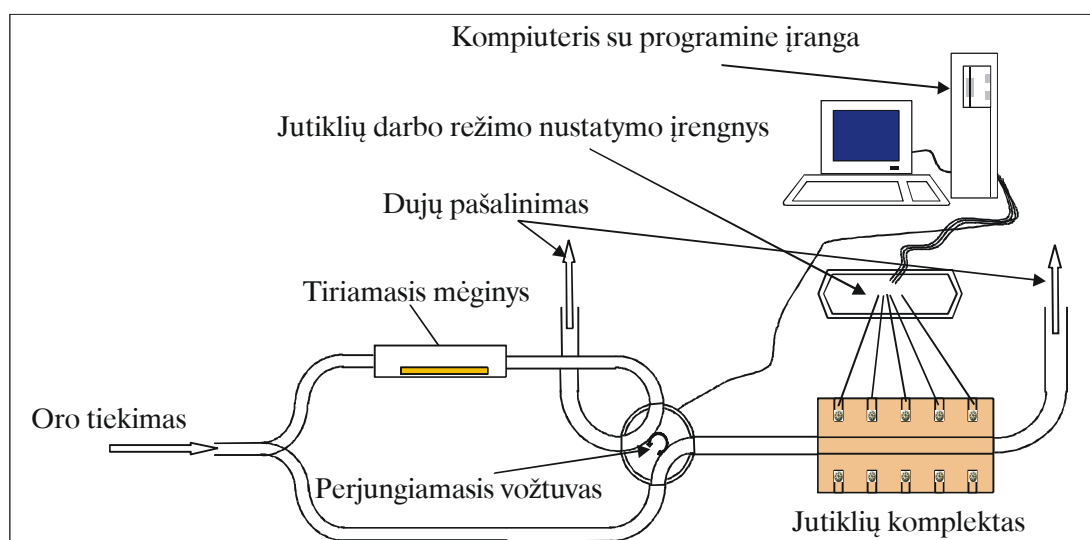
KMUK Mikrobiologijos laboratorijoje *Acinetobacter* spp., *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* mikroorganizmai buvo išsėti Miulerio-Hintono terpėje, inkubuojami 35 °C temperatūroje 24 val. Paskui maitinamosios terpės su išsėtais mikroorganizmais atskirai įpakuotos į sandarius celofaninius maišus ir per 4–8 val. nugabentos 10–20 °C temperatūroje į PFI, kur atlikti eksperimentiniai tyrimai naudojant elektroninę nosį (1–2 pav.).

Sauso ir 100% drėgnumo oro sąlygomis atlikta 313 matavimų su skirtingais mikroorganizmais, išsėtais įvairiose terpėse. Palyginti elektroninės nosies varžos kitimo parametrai tiriant *Acinetobacter*, *Escherichia coli*,

Pseudomonas aeruginosa, *Staphylococcus aureus* patogeninius mikroorganizmus sauso (n-119) ir 100% drėgno oro sąlygomis (n-194).

194 matavimai atlikti elektronine nosimi 100% drėgno oro sąlygomis išsėjus skirtingus mikroorganizmus Miulerio-Hintono terpėje. Išsėjus *Acinetobacter* spp. atlikti 48 matavimai, *Staphylococcus aureus* – 20, *Pseudomonas aeruginosa* – 65, *Escherichia coli* – 61 matavimas.

Miulerio-Hintono terpė su joje išsėtu mikroorganizmu įdėta į specialią talpyklą, į kurią buvo pučiamas 100% drėgno 28 °C temperatūros sintetinio oro srautas. Konteinerį perėjęs bakterijomis užteršto oro srautas tyrimo metu buvo paleidžiamas į laikiklį su aštuoniais skirtingais dujų jutikliais. Varžos jutiklių signalų kitimas dėl šuolinio aplinkos dujų sudėties pokyčio buvo matuojamas penkių kartų per sekundę dažniu ir aprašytas naudojant daugiaekspontės relaksacijos metodiką. Visi matavimai atlikti naudojant aštuonis jutiklius, pagamintus InSnO ir SnO₂ pagrindu, legiruotus skirtingais metalais ir dirbančius skirtingoje temperatūroje (300–450 °C). Priklausomybės nuo laiko išreikštos eksponentėmis, naudojantis programa FAST. Atsako kinetikos skaidymas į komponentus leido ne tik analizuoti jutiklio legiravimo ir technologijos įtaką paviršiniams cheminiams procesams, bet ir sukurti grafinį daugiakomponentį kvapo atvaizdą [10; 11].



1 pav. Elektroninės nosies struktūrinė schema

Mokslinį tyrimą patvirtino Kauno medicinos universiteto Bioetikos komitetas. Duomenų analizė atlikta naudojantis *Statistica 5.0* (*StatSoft Inc.*, JAV) programų paketu. Darbe pateikti kiekybinių kintamųjų vidurkiai ir standartinės paklaidos. Elektroninės nosies jutiklių atsako skaitinėms charakteristikoms pa-

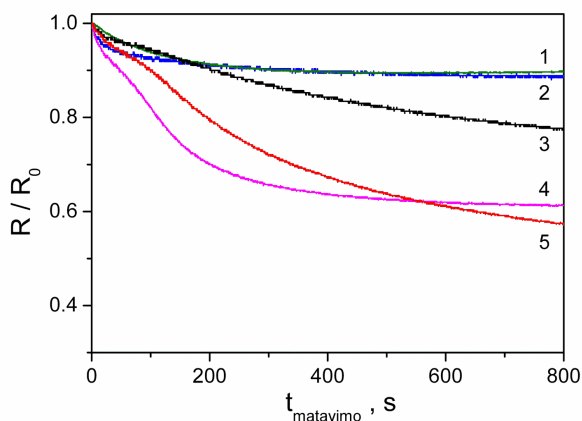


2 pav. Laboratorinė sistema dirbtinei atmosferai bandymų kameroje sukurti, sujungta su elektroninės nosies modulių (pažymėtas apskritimu)

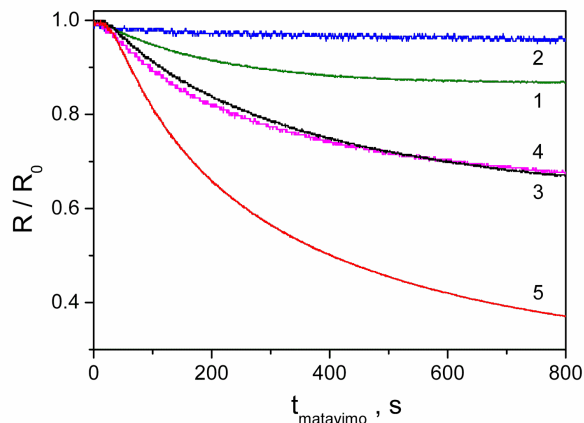
lyginti buvo skaičiuojami vidurkio pasikliautiniai intervalai. Naudodami *Shapiro-Wilk* testą, patikrinome normaliojo kintamųjų skirstinio hipotezę. Nustačius normalųjų kintamųjų skirstinį, vidurkių skirtumai grupėse lyginti pagal *Studento* (*t*) kriterijų tarp nepriklausomų imčių, o nustačius nenormalųjį skirstinį, – atliekant *Mann Whitney U* testą. Statistiškai reikšminga laikėme *p* vertę, mažesnę už 0,05.

Rezultatai

Mūsų naudotų dujų jutiklių atsakas į mėginio su bakterijomis kvapą paprastai buvo jutiklių elektrinės varžos sumažėjimas. Kiekvieno jutiklio, įjungto į mūsų dinaminės elektroninės nosies jutiklių grupę, varžos pokytis dažniausiai buvo skirtingas. Tipiškas penkių akivaizdžiausiai vienas nuo kito besiskiriančių jutiklių varžos kitimas laiko atžvilgiu, per dujų kamerą paleidus oro srautą su mėginio kvapu, parodytas 3 ir 4 paveiksluose. Skirtumas tarp rezultatų 3 ir 4 pav. yra susijęs su paties mėginio (auginimo terpės su bakterijomis) laikymo sąlygomis eksperimento metu. Atsako signalai 3 pav. buvo išmatuoti, kai kvapas nuo mėginio paviršiaus buvo nunešamas sauso sintetinio oro srauto, o 4 pav. parodyti rezultatai gauti, kai mėginio paviršių apipūsdavo drėgno (santykinis drėgnis – 100%) sintetinio oro srautas. Srauto dydis visų matavimų metu buvo vienodas ir lygus 150 ml/min.



3 pav. Tipiškos keleto jutiklių elektrinės varžos atsako priklausomybės nuo laiko, kai jutikliai paveikiami dujų mišiniu, nusiurbtu nuo mėginio su *S. aureus*, esančio sausame ore. Jutikliai: 1 – SnMo600; 2 – SR22Mo; 3 – S26–3p6; 4 – SO1Au; 5 – S26–21p6c



4 pav. Jutiklių atsakas į mėginio su *S. aureus* kvapą, kai mėginys laikomas 100% santykinio drėgnumo ore (jutikliai tie patys kaip 3 pav.)

Išsamiai lyginant 3 ir 4 pav. pavaizduotus signalus, galima pastebėti skirtumus tarp jutiklių atsako į kvapą signalų laiko priklausomybių. Šį skirtumą akivaizdžiai lemia jutiklių jautrumas drėgmei (vandens garams). Tai paaiškina santykinai didelius jutiklių atsako signalų ilgalaikius kitimus, kai mėginys apipučiamas sausu sintetiniu oru. Džiūvant augimo terpei, į aplinką iš terpės garuojančios drėgmės kiekis mažėja, vadinasi, ir jutiklių atsako signalai nuolat kinta. Šitokio nepageidaujamo kitimo nebuvo, kai terpė buvo apipučiamą drėgnu sintetiniu oru. Dėl šios priežasties toliau straipsnyje aprašyti tyrimų rezultatai buvo gauti tik naudojant drėgno oro nešantįjį srautą.

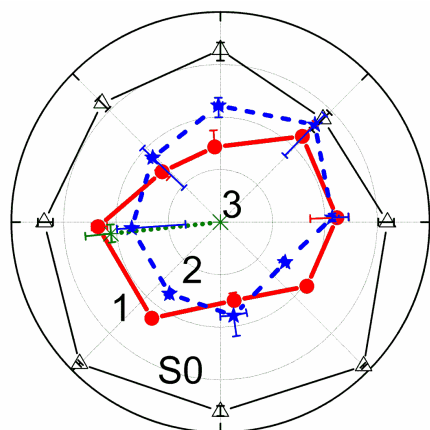
Bendras ištirtų mėginių skaičius buvo 194, jį sudarė skirtingų mikroorganizmų testavimas elektroniškai nosimi, naudojant 100% santykinio drėgumo nešančiojo sintetinio oro srautą. Iš visų testų mėginams naudojant *Acinetobacter* spp. atlikti 48 matavimai, *Staphylococcus aureus* – 20, *Pseudomonas aeruginosa* – 65 ir *Escherichia coli* – 61 matavimas.

Acinetobacter spp. bakterijų išskiriamų lakiųjų komponentų, t. y. kvapo, tyrimo elektroniškai nosimi su aštuoniais jutikliais parametru (svorio koeficientai arba amplitudės a_0, a_1, a_2 ir atitinkamų eksponenčių charakteringieji dažniai f_1, f_2) dvimatis grafinis atvaizdas, sudarytas pagal originalią autorių metodiką [12], pavaizduotas 5 pav. Skirtingų žymėjimų kontūrai vaiz-

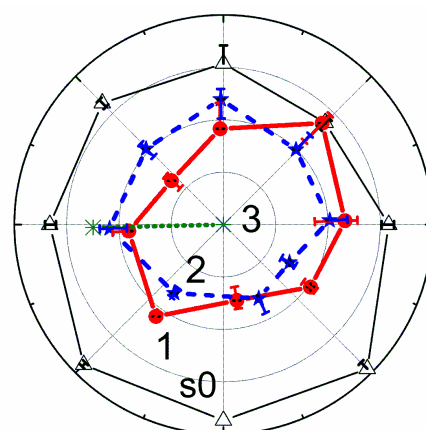
duoja skirtingus daugiasluoksnių kvapo „atvaizdus“ sluoksnius. Kiekvieno sluoksnio kontūrą (5 pav. sluoksniai atitinkamai pažymėti: S0, 1, 2 ir 3) sudaro linijomis sujungtų taškų rinkinys. Kiekvienas taškas bet kuriame kontūre (sluoksnyje) atitinka individualų jutiklį ir jo atsaką aprašančių susietųjų parametru porą. Parametru porų, vadinasi, ir atvaizdo sluoksnių skaičius priklauso nuo jutiklio savybių ir jutiklio paviršiaus sąveikos su cheminiais junginiais pobūdžio [10–12]. Mūsų tyrimų metu šis skaičius paprastai buvo keturi. Be to, atvaizde prie kiekvieno taško yra nubrėžtos atkarpos, kurių ilgis atitinka individualaus taško standartinį nuokrypį, vertinant visus tos rūšies mėginių tyrimus. Tokie grafiniai kvapo „atvaizdai“ yra vaizdūs ir patogūs palyginti vizualiai. Mūsų straipsnyje tokie atvaizdai yra laikomi pagrindiniu dinaminės elektroninės nosies kvapo analizės rezultatu ir išsamiai aptariami toliau.

Escherichia coli bakterijų išskiriamų lakiųjų komponentų kvapo dvimatis grafinis atvaizdas matomas 6 paveiksle. Kaip ir *Acinetobacter* spp. atveju, grafinį atvaizdą sudaro keturi sluoksniai. Svarbu pažymėti, kad parametru sklaida šiame atvaizde yra mažesnė negu 5 paveiksle.

Staphylococcus aureus bakterijoms būdingo kvapo grafinis atvaizdas nubrėžtas 7 paveiksle. Reikia pripažinti, kad praktiškai visų jutiklių atsako signalai šiuo at-



5 pav. Dinaminės elektroninės nosies, turinčios aštuonis jutiklius, sukurtas dvimatis grafinis kvapo atvaizdas, mėginiui naudojant *Acinetobacter* spp.



6 pav. *Escherichia coli* mėginio kvapo grafinis atvaizdas

veju buvo daug mažesni už atsaką į kitų tirtų bakterijų kvapą. Šį faktą iliustruoja kontūro S0 ribojamas plotas, kuris 7 pav. yra akivaizdžiai mažesnis negu analogiškų kontūrų apriboti plotai kituose atvaizduose.

Pseudomonas aeruginosa bakterijas apibūdinantis kvapas grafiškai yra pavaizduotas 8 paveiksle. Daugiasluoksnis dvimatis grafinis atvaizdas ir šuo atveju yra sudarytas iš keturių sluoksnių.

Jutiklių parametrų vidurkiai lyginti naudojant t kriterijų. Stacionarias jutiklių atsako vertes atitinkantis atvaizdo kontūras S0 patikimai skyrėsi *Staphylococcus aureus* ir *Pseudomonas aeruginosa* mikroorganizmų. Lengviausiai pastebimas skirtumas yra ties 2, 4, 6, 7-ojo jutiklių žymėmis (jutiklių numerį galima atrinkti atvaizde, skaičiuojant prieš laikrodžio rodyklę taškus, pradedant nuo 3-iosios valandos žymos). Skirtumas tarp *Acinetobacter* spp. ir *Staphylococcus aureus* atvaizdų lengviausiai pastebimas ties 6-ojo jutiklio žyme.

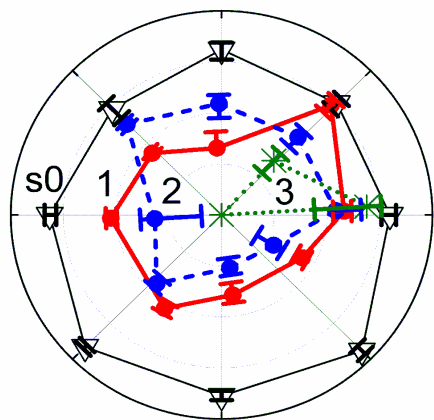
Dinaminį jutiklių atsaką atitinkantys kontūrai 1, 2 ir 3 gali būti nesunkiai atskirti vienas nuo kito, lyginant skirtingų mikroorganizmų būdingųjų kvapų atvaizdus. Pavyzdžiui, kontūro 1 forma ir plotas tarp *Escherichia coli* ir *Pseudomonas aeruginosa* mikroorganizmų akivaizdžiausiai skiriasi ties 7-ojo jutiklio žyme, kaip ir tarp *Acinetobacter* spp. ir *Pseudomonas aeruginosa* bei tarp *Staphylococcus aureus* ir *Pseudomonas aeruginosa* mikroorganizmų.

Antrame kontūre skirtumus galima patikimai pastebėti tik tarp *Acinetobacter* spp. ir *Pseudomonas aeruginosa* mikroorganizmų ties 7-ojo jutiklio žyme.

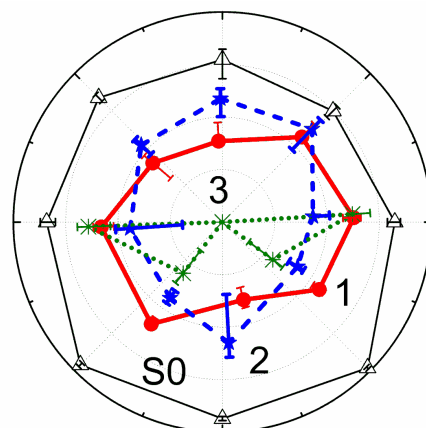
Šiuos skirtumus tarp atitinkamų kontūrų ties 2, 4, 6, 7-ojo jutiklių žymėmis akivaizdžiai matome, vizualiai lygindami mikroorganizmų kvapo grafinius atvaizdus (5–8 pav.). Apibendrinami šio eksperimento rezultatus galime teigti, kad bakterijų kvapų 2, 4, 6 ir 7-ojo jutiklių atsakas statistiškai reikšmingai skyrėsi. Būtina pabrėžti, kad kiekvienam atvaizdui, įskaitant ir signalų matavimą bei jų matematinį apdorojimą, suformuoti buvo sugaišta maždaug 30–40 minučių. Labiausiai tikėtina, kad pagrindinė palyginti lėto tyrimo priežastis yra mažokas sunkių organinės kilmės molekulių sąveikos su jutiklių paviršiumi tempo. Kita vertus, testų skaičių labai riboja santykinai ilga (iki 30 min.) paruošimo naujam matavimui trukmė. Specialiais eksperimentais nustatyta, kad labiausiai tikėtina šio apribojimo priežastis yra palyginti lėta tų sunkiųjų molekulių desorbcija nuo tyrimo sistemos sienelių. Šių techninio pobūdžio trūkumų tikimasi išvengti naudojant specialios konstrukcijos sistemą, pagamintą iš tinkamai parinktų medžiagų.

Diskusija

Atlikdami įprastinius mikrobiologinius tyrimus, atsakymą apie infekcijos sukėlėją galime gauti per 48–72 val. Tačiau neretai toks laikas yra per ilgas, todėl visi nauji infekcijos diagnostikos metodai, leidžiantys anksčiau nustatyti žaizdos infekciją ir pradėti gydyti, yra labai svarbūs ir perspektyvūs. Per ateinančius 10 metų dauguma iš jų turėtų pakeisti įprastinius mik-



7 pav. *Staphylococcus aureus* mėginio kvapo grafinis atvaizdas



8 pav. *Pseudomonas aeruginosa* mėginio kvapo grafinis atvaizdas

robiologinius infekcijos diagnostikos metodus, o tai leistų skubiau ir tiksliau nustatyti infekcijos sukėlėją. Greičiau nustatčius infekciją nudegimus patyrusiems pacientams, būtų galima anksčiau pradėti tinkamai gydyti, pagerėtų gydymo kokybė ir išgyvenamumas [1].

Šiuo metu literatūroje yra aprašoma keletas metodų (GPR, nepalietos ląstelių masės spektrometrijos ir kvapų skenavimo technologijos), kuriais įmanoma anksčiau identifikuoti patogeninį mikroorganizmą. Tačiau kiekvienas turi savo pranašumų ir trūkumų, jie nėra iki galo įdiegti į klinikinę praktiką.

Polimerazės grandininės reakcijos metodas yra labai brangus, palyginti su įprastinėmis mikrobiologinėmis procedūromis. Šio metodo modifikacijomis būtų galima nustatyti diagnozę ir MASA genotipą iš vieno mėginio, tai labai pagerintų infekcijų kontrolę. Gali būti, kad jei ši technologija tobulės ir pils, ateityje ji bus taikoma visoms infekcijoms diagnozuoti [13].

Šiuo metu tiriama, ar nepalietos ląstelių masės spektrometrijos metodas tinkamas aptikti mikroorganizmų padermėms tiesiogiai iš klinikinių mėginių, naudojant trumpalaikes kultūras. Jei paaiškės, kad įmanoma, bus galima tuo pačiu metu ir tą pačią dieną tiesiai iš mėginių aptikti mikroorganizmus ir nustatyti jų tipus. Dabar visame pasaulyje keletas tyrėjų grupių vertina šios metodikos pritaikomumą mikrobiologijai, pirmiausia epidemiologijos ir identifikavimo sritims. Taip pat kuriama duomenų bazė, leidžianti identifikuoti šį projektą ir pritaikyti klinikinėje praktikoje [14].

Kvapų skenavimo metodas yra labai greitas (rezultatus galima gauti per 35 min.), neinvazinis, ir mėginiai imami iš tvarščių, nuimtų nuo žaizdų, o ne iš paties žaizdos audinio. Reikia tolesnių tyrimų, kad būtų galima įvertinti ir pagrįsti šį metodą. Be to, nuolat naudoti jį neleidžia mobilumo ir sąnaudų problemos [5].

LITERATŪRA

1. Edwards-Jones V, Greenwood JE. What's new in burn microbiology? James Laing Memorial Prize Essay 2000. Burns 2003; 29 (1): 15–24.
2. Zlatkis A, Brazell RS, Poole CF. The role of organic volatile profiles in clinical diagnosis. 27 ed. 1981.

Nurodyti elektroninės nosies technologijos taikymo medicininei diagnostikai keblumai yra susiję su mūsų naudotos sistemos techninio pobūdžio trūkumais. Turime pripažinti, kad šiuo tyrimo etapu nesiekėme sukurti optimizuotos sistemos, tinkamos klinikiniams eksperimentams. Mūsų tyrimai buvo pradėti turint galvoje, kad dauguma pasaulyje vykdytų klinikinių bandymų su komercinėmis elektroninėmis nosimis dažniausiai negalėdavo išsamiau aprašyti taikymą ribojančių tiek techninių, tiek fundamentinių priežasčių dėl to, kad rinkoje parduodamų prietaisų technologijos yra apgintos patentų, vadinasi, nėra atskleidžiamos vartotojui. Šiuo tyrimų etapu mes mėginome nustatyti galimybes atskirti su taikymo metodika susijusias problemas nuo prietaiso techninių ir konstravimo problemų, nuo apribojimų, grįstų fundamentiniais dėsniais apibrėžtu prietaiso veikimo mechanizmu. Mūsų tyrimai parodė, kad daugumą elektroninės nosies taikymo diagnozuojant žaizdų infekciją trūkumų galima pašalinti techniniais ir technologiniais patobulinimais, o šiems būtini papildomi eksperimentiniai tyrimai.

Išvados

1. Elektroninės nosies varžos kitimo parametrai, diagnozuojant *Acinetobacter*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* patogeninius mikroorganizmus, reikšmingai skiriasi ir leidžia identifikuoti skirtingus mikroorganizmus.
2. Elektroninė nosis gali būti tinkamas ankstyvesnio infekcijos diagnostikos nustatymo metodas.

Padėka

Autoriai yra dėkingi prof. G. Sberveglieriui ir jo vadovaujamai laboratorijai (Brescios universitetas, Italija) už atiduotus tyrimams dujų jutiklius, kurie šiame darbe sudarė dalį jutiklių rinkinio.

3. Zlatkis A, Poole CF, Brazell R, Lee KY, Hsu F, Singha-wangcha S. Profiles of organic volatiles in biological fluids as an aid to the diagnosis of disease. 106 ed. 1981.
4. Stitt WZ, Goldsmith A. Scratch and sniff. The dynamic duo. 131 ed. 1995.

5. Persaud KC. Electronic gas and odours detectors that mimic chemoreceptors in animals. *Ugeskr Laeger* 1992; 11 (5): 61–67.
6. Parry A, Chadwick P, Simon D, Oppenheim B, McCollum C. Leg ulcer odour detection identifies beta-haemolytic streptococcal infection. *J Wound Care* 1995; 4: 404–406.
7. Greenwood JE, Crawley BA, Clark SL, Chadwick PR, Ellison DA, Oppenheim BA, et al. Monitoring wound healing by odour. *J Wound Care* 1997; 6 (5): 219–221.
8. Buettner JA, Glusman G, Ben-Arie N, Ramos P, Lancet D, Evans GA. Organization and evolution of olfactory receptor genes on human chromosome 11. *Genomics* 1998; 53 (1): 56–68.
9. Galdikas A, Kaciulis S, Mattogno G, Pandolfi L, Senulienė D, Setkus A. Effect of Ag-dopant concentrations on the parameters of SnO thin film gas sensors. In: Booklet of abstracts of international workshop on materials and technologies for chemical sensors (Brescia, Italy). 2001.
10. Setkus A. Heterogeneous reaction rate based description of the response kinetics in metal oxide gas sensors. *Sensors and Actuators B* 2002; 87 (4): 348–359.
11. Galdikas A, Mironas D, Senulienė D, Setkus A. Specific set of time constants for characterisation of organic volatile compounds in the output of metal oxide sensors. *Sensors and Actuators B* 2000; 68: 335–343.
12. Galdikas A, Kancleris Z, Senulienė D, Setkus A. Influence of heterogeneous reaction rate on response kinetics of metal oxide gas sensors: application to the recognition of an odour. 71 ed. 2003.
13. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res* 1996; 6 (10): 986–994.
14. Demirev PA, Ho YP, Ryzhov V, Fenselau C. Microorganism identification by mass spectrometry and protein database searches. *Anal Chem* 1999; 71 (14): 2732–2738.

Gauta: 2005 04 02

Priimta spaudai: 2005 08 07