

Rapid Detection of Wound Pathogen by Enose with a Gas Condensation Unit *

XU Xun-tao^{1,2*}, TIAN Feng-chun^{1*}, YAN Jia¹, MA Jian-wei¹, LIU Tao¹
(1. College of Communication Engineering, Chongqing University, Chongqing 400044, China;
2. Mianyang Vocational and Technical College, MianYang Sichuan 621000, China)

Abstract : A solid trap/ thermal desorption based odorant gas condensation system has been designed and implemented for the reason that in wound pathogen detection by enose the recognition effect is bad due to the low concentrations of VOCs. The developed system consists of a flow control unit, a temperature control unit and a sorbent tube packing with multi absorbents. The results of principal component analysis and hierarchical cluster analysis of experimental data indicate that the gas condensation together with the enose system can significantly enhance the ability of distinguishing wound pathogen, and this integrated system can be used in wound infection real time detection.

Key words : enose; pathogen; solid trap/ thermal desorption; hierarchical cluster; wound infection
EEACC : 7230L

结合气体浓缩的电子鼻伤口病原菌快速检测 *

胥勋涛^{1,2*}, 田逢春^{1*}, 闫嘉¹, 马剑伟¹, 刘涛¹

(1. 重庆大学通信工程学院, 重庆 400044; 2. 绵阳职业技术学院, 四川 绵阳 621000)

摘要 : 针对在电子鼻伤口病原菌检测中, 由于特征气体浓度低, 电子鼻识别效果不好的问题, 设计并实现了一个基于固体吸附/ 热解吸技术的气体浓缩系统, 该系统由流速控制单元、温度控制单元和填充混合吸附剂的吸附管构成。对测试数据的主成分分析和层次聚类结果表明, 结合气体浓缩的电子鼻系统, 对伤口病原菌的区分能力得到明显提高, 可进一步用于伤口感染实时检测。

关键词 : 电子鼻; 病原菌; 固体吸附/ 热解吸; 层次聚类; 伤口感染

中图分类号 : TP212.2

文献标识码 : A

文章编号 : 1004-1699(2009)03-0303-04

伤口是身体中组织的功能及完整性分裂, 伤口愈合过程受到多种因素影响, 其中感染是影响伤口愈合最常见的原因, 及时快速地诊断伤口感染的细菌类型及感染程度, 有利于指导医生选择合适的疗法, 促进伤口的快速恢复, 在临床上具有重要的意义。伤口感染的传统诊断方法通常包括利用显微镜的形态学检查和一定条件下的生长测试, 这些方法至少耗时 48 小时以上, 对特定细菌的检测没有唯一的权威性标准, 测试前还必须进行一系列样本预处理, 如预浓缩、选择性富集、生化镜检等。

不同的细菌由于细菌酶不同, 从而分解能力不同造成其代谢产物不同, 另外, 由于细菌生长要经历迟缓期、对数期、稳定期、衰退期四个阶段, 所以对同一

细菌的不同生长阶段, 挥发物的浓度也有差异。综上所述, 可以根据伤口部位的挥发物气体成分及浓度对伤口感染中的细菌类型及细菌生长阶段进行监测^[1]。

通过分析细菌代谢产物鉴别细菌类型, 早期主要利用气相色谱/ 质谱仪 (GC/ MS) 分析细菌培养液顶空, 研究致病菌与其代谢物及挥发性有机物的关系^[2-3]。GC/ MS 及常规测量方法要求采用纯的培养液, 需要数小时甚至几天的时间, 而化学传感器阵列 (电子鼻) 检测方法不需要复杂的样本处理, 成本低, 操作简单。与传统的医学检验方法相比, 电子鼻具有无创性、实时性、便捷高效等特点, 在伤口感染检测方面具有潜在的优势。J. W. Gardner 等利用电子鼻对纯的细菌培养液达到了较好的分类效

基金项目 : 人事部 2005 年度留学回国人员科技活动择优资助项目 (优秀类)

收稿日期 : 2008-09-26 **修改日期 :** 2008-11-28

果^[4-6],但由于临床环境中细菌挥发物的浓度较低,环境干扰较大,尚未能实现在临床环境下利用电子鼻对病原菌的有效识别。

1 伤口病原菌检测电子鼻

基于电子鼻的伤口病原菌检测系统由伤口顶空气体采样、传感器阵列、信号调理电路、数据采集处理等环节构成。传感器阵列中的气体传感器依据其对伤口感染常见病原菌挥发性产物的敏感能力选择,包括六只金属氧化物传感器(TGS822, TGS2602, TGS2600, TGS2620, GSB T-11, QS-01)和一只电化学传感器(4ETO),各气体传感器敏感特性如表1所示。为提高系统抑制环境干扰的能力^[7],传感器阵列中添加了温度、湿度、压力传感器各一只,以同步采集操作环境温度、湿度和压力数据。传感器阵列在伤口顶空气氛中获得的响应信号经调理电路后由数据采集卡采集保存,模式识别软件根据传感器阵列的不同响应模式检测伤口感染中的细菌类型和感染程度。

表1 气体传感器敏感特性表

型号	类型	敏感气体
TGS2600	MOS	Air contaminants, Methane, Carbon monoxide, Iso-butane, Ethanol, Hydrogen
TGS2602	MOS	VOCs and odorous gases, Ammonia, H ₂ S, toluene, Ethanol
TGS2620	MOS	Vapors of organic solvents, combustible gases, Methane, Carbon monoxide, Iso-butane, Hydrogen, Ethanol
TGS822	MOS	Methane, Carbon monoxide, Iso-butane, n-Hexane, Benzene, Ethanol, Acetone
QS-01	MOS	Hydrogen, Carbon monoxide, methane, iso-butane, ethanol, ammonia
GSB T11	MOS	VOCs, HC, Smoke, Organic compounds
4ETO	EC	Ethylene oxide, Ethanol, Methyl-ethylketone, Toluene, Carbon monoxide

注:MOS-金属氧化物气体传感器,EC-电化学气体传感器

2 浓缩系统与实验分析方法

气体浓缩系统结构如图1所示,由流速控制单元、温度控制单元和吸附管等部分组成。流速控制单元由稳压阀、稳流阀、针阀、和转子流量计构成,实现吸附阶段和解吸附阶段的流量控制;温度控制单元由石英加热器和铂耳帖制冷器构成,实现吸附阶段和解吸附阶段的吸附管温度控制;吸附管选用外径1/4 inch、长7 inch的标准吸附管,内部填充 Carbo-packTM B 和 Tenax GR 混合吸附剂,实现目标成

分的捕集。在吸附阶段,气体采集袋中的样本气体在流速控制单元的作用下,以一定流速通过由铂耳帖制冷器控制处于低温状态的吸附管,样本气体中的目标成分被保留在吸附管的吸附剂中;在解吸附阶段,六孔二相阀切换到操作位置二(1-6,2-3,4-5分别连通),吸附管被石英加热器急速升温,吸附剂中保留的目标成分被快速解吸附,由高纯氮气导入电子鼻中进行测试。

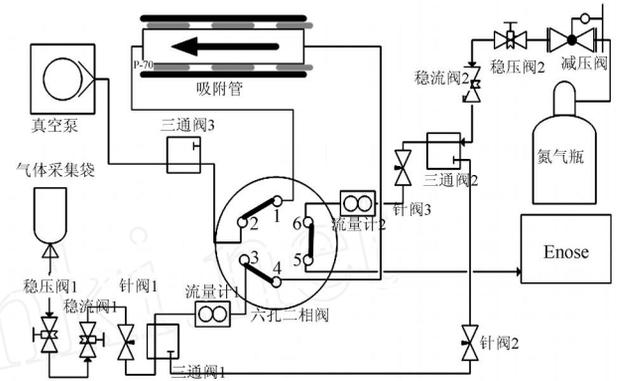
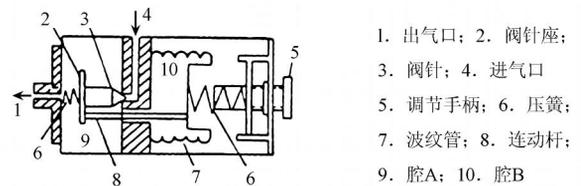


图1 气体浓缩系统

系统采用稳压阀、稳流阀、针阀、和转子流量计相结合实现较为精确的流量控制。U 稳压阀保证输出压力的稳定,其工作原理如图2所示,稳压阀的腔A与腔B通过连动杆与孔的间隙相通,右旋调节手柄至一定位置时,系统达到平衡。A 进气压力有微小的上升时,则腔B 的压力随之增加,波纹管向右伸张,压缩弹簧,阀针同时右移、减少了阀针与阀针座的间隙,气流阻力增大,则出口压力保持原有的平衡压力;同样进气口压力有微小下降时,系统也将自动恢复平衡状态,达到稳压效果。



1. 出气口; 2. 阀针座; 3. 阀针; 4. 进气口 5. 调节手柄; 6. 压簧; 7. 波纹管; 8. 连动杆; 9. 腔A; 10. 腔B

图2 稳压阀工作原理示意图

稳流阀用以稳定载气或待测气体的流速。稳流阀的工作原理如图3所示。当输入压力为 p 时,在节流孔 G_1 通过的压力是 p ,阀盖上的腔体压力也是 p ,这时调节计形阀杆为一定位置,则在节流孔 G_2 处产生一个压力 p_1 。该阀门中压缩弹簧本身有一向上作用力,膜片受 p 的作用,有一个向下的压力,由于 p_1 克服膜片向下的压力,使密封橡胶与阀门间有一个不断振动的距离,这时在阀门中则有一个压

力 p_2 输出。由于膜片不断地振动,使出口处有一个恒定的流量输出。

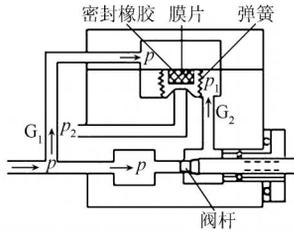


图3 稳流阀工作原理示意图

样本气体或高纯氮气首先经过稳压阀,以保证当样本气体或高纯氮气压力变化时,提供到后级稳流阀的压力保持不变;稳流阀抑制了当气路内温度变化造成气阻变化而引起流量变化的趋势,最后通过带刻度盘的针阀来精密调节流量。为保证气密性,系统气路采用3毫米不锈钢管,系统气路与管件之间采用卡套连接。

根据吸附理论,温度越低,吸附剂与被吸附物之间的吸附力越强;随着温度的升高,吸附剂与被吸附物之间的吸附力减弱,升温速率越快,最终温度越高,解吸速度就越快。热解吸温度太低可能会使样本中组分解吸不完全,温度太高也可能会使某些组分由于对热的不稳定性而使回收率降低,可见吸附阶段和解吸阶段吸附剂的温度都会对固体吸附/热解吸系统的气体浓缩效果产生明显影响,要保证系统实验的可重复性,系统必须能够较为精密的实现吸附阶段和解吸阶段温度控制。系统根据所选吸附剂及待浓缩气体样本特点,将热解吸温度范围定为100-325℃可调,吸附温度定为5-20℃可调。加热箱容积2000 mL,采用石英灯管加热,加热功率600 W,加热器采用铂电阻测温,模糊PID温度控制,控温精度为0.1℃。利用半导体铂耳帖器件实现吸附时的制冷,制冷功率60 W,制冷器采用铜电阻测温,控温精度0.1℃。

主成分分析(PCA)的实质是通过降维,利用较少的相互独立的变量来最大可能的代表原变量包含的信息,每一个新变量是原变量的线性组合,主成分按照变异最大的方向选择。

聚类分析(cluster analysis)的基本思想是根据样本间的相关程度进行类别聚合,根据某种距离测度,同一类中的个体具有较大的相似性,不同类中的个体差异很大。

3 结果与分析

文献[8-9]研究表明伤口感染常见病原菌包括绿脓杆菌(*P. aeruginosa*),大肠埃希菌(*E. coli*),鲍

氏不动杆菌(*A. bacter* sp),金黄色葡萄球菌(*S. aureus*),表皮葡萄球菌(*s. epidermidis*),肺炎克雷伯菌(*K. pneumoniae*)和化脓性链球菌(*s. pyogenes*)等。选择其中的金黄色葡萄球菌和绿脓杆菌进行结合气体浓缩的电子鼻测试效果对比实验。实验菌种来自中国药品生物制品检定所,购回的菌种经过连续3代继代培养达到稳定后接种到斜面培养基试管内生长。培养基采用普通肉汤培养基,成分为:蛋白胨10 g,氯化钠5 g,牛肉粉15 g,加入蒸馏水1 L,煮沸至完全溶解,制成普通肉汤培养基。在每100 mL肉汤培养基中加入琼脂2 g,高压灭菌15 min后趁热将装入培养基的试管斜置,制成斜面培养基试管。两种菌种各采用两只斜面培养基试管培养,然后将四只试管的病原菌顶空气体各600毫升分别导入四只气体采集袋中(用真空泵以30 mL/min的流速将病原菌顶空气体吸入采集袋,持续20 min),各采集袋已先充入高纯氮气4200 mL,即气体采集袋中样本气体体积浓度被稀释为对应斜面培养基试管顶空气体的1/8。待采集袋中的气体完全混合均匀后,首先利用电子鼻直接测试四只采集袋中的气体各3次,每次测试采用基线段3 min,吸附段3 min,吹扫段4 min,样本气体和吹扫气体的流速均为50 mL/min;然后通过浓缩系统先对各采集袋的样本气体进行浓缩,再导入电子鼻进行测试。浓缩的具体实验过程如图1所示。第1阶段,低温吸附,采集袋中的样本气体在稳压阀1、稳流阀1和针阀1的控制下,以100 mL/min的稳定流速被真空泵驱动通过填装混合吸附剂的吸附管,此时吸附管被铂耳帖制冷器控制在20℃的恒定温度,样本气体中的目标成分被保留在吸附剂中;第2阶段,密闭恢复,吸附管移开铂耳帖制冷器,六孔二相阀切换到位置2(1-6,2-3,4-5分别连通),关闭流量计2和电子鼻出气口,使吸附管在静止状态恢复至室温;第3阶段,密闭升温,吸附管装入石英加热器,被急速升温至200℃,吸附管吸附的目标成分被热解吸;第4阶段,导入电子鼻测试,开启流量计2和电子鼻出气口,高纯氮气在稳压阀2、稳流阀2和针阀3的控制下以50 mL/min的稳定流速通过吸附管到达电子鼻,吸附管中的目标成分被导入电子鼻与气体传感器阵列响应;第5阶段,电子鼻吹扫恢复,通过针阀3调节高纯氮气流速为100 mL/min,对电子鼻吹扫10 min,使气体传感器恢复至基线状态。各次实验的电子鼻响应数据以110 Hz的采样频率采样保存到计算机中,两类样本共得到直接测试数据12组,浓缩后测试数据12组。

对金属氧化物传感器采用分压法采集各阶段气体传感器的电阻变化所引起的电压变化,对电化学传感器采集固定电阻上的反应传感器输出电流变化的电压变化。原始响应曲线通过平滑滤波后提取各样本电子鼻响应曲线吸附阶段的最大值作为特征,进一步通过主成分分析和层次聚类方法来比较浓缩前后电子鼻对于两种病原菌的区分能力。

图4所示为浓缩前后电子鼻对两种病原菌稀释顶空气体测试结果的主成分分析图。在图4(a)中,利用电子鼻分别直接测试金黄葡萄球菌和绿脓杆菌的稀释顶空气体,由于气体浓度较低,电子鼻对两种病原菌的区分能力不够,造成两类样本的相互混叠。在图4(b)中,首先利用气体浓缩系统对两类病原菌的稀释顶空气体进行浓缩,再将浓缩后的顶空气体导入电子鼻进行测试,可见系统分类能力大为改善,两类病原菌样本线性可分。

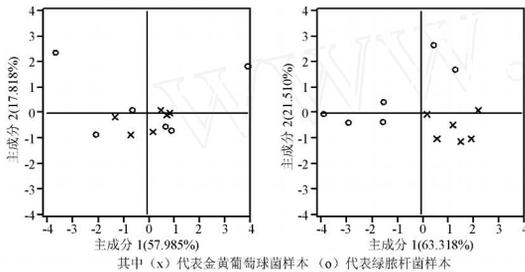
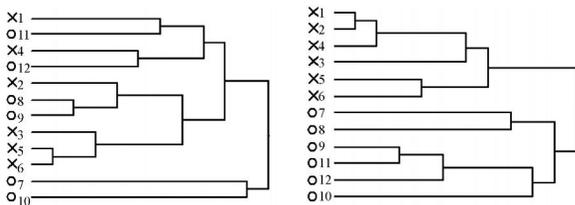


图4(a) 直接测试结果 主成分分析 图4(b) 浓缩后测试结果 主成分分析

图5所示为浓缩前后电子鼻对两种病原菌顶空气体测试结果的层次聚类图。可见,由于金黄葡萄球菌和绿脓杆菌培养液的稀释顶空气体浓度较低,在图5(a)中利用电子鼻直接测试时,两类12个样本相互混杂,不能实现正确的聚类;在图5(b)中通过浓缩系统先将顶空气体浓缩,再由电子鼻测试,由于浓缩系统抑制了同类样本间的差异性,扩大了不同类样本之间的差异性,所以12个样本可以被正确的聚为两类。



其中X1-X6为金黄葡萄球菌样本, X7-X12为绿脓杆菌样本

图5(a) 直接测试结果的层次聚类 图5(b) 浓缩后测试结果的层次聚类

4 结论

及时快速的诊断伤口感染细菌类型及感染程度在临床上具有重要的意义,基于气体传感器阵列的

电子鼻在伤口感染检测方面具有潜在的优势。但由于伤口顶空气体浓度较低,现有气体传感器直接检测效果差。本文提出并实现了一个结合气体浓缩的电子鼻伤口病原菌检测系统,利用该系统对实验室培养病原菌的稀释顶空气体进行测试,其主成分分析及聚类分析结果表明,新的系统可以极大的提高对伤口病原菌的区分能力,可以进一步用于伤口感染实时检测。

参考文献:

- [1] Jan Carlsson, Simplified Gas Chromatographic Procedure for Identification of Bacterial Metabolic Products[J]. Applied microbiology, 1973, 25(2), 287-289.
- [2] Sherwood L. Gorbach, James W. Mayhew, Rapid Diagnosis of Anaerobic Infections by Direct Gas-Liquid Chromatography of Clinical Specimens[J]. The Journal of Clinical Investigation, 1976, 57, 478-484.
- [3] Hayward N J, Jeavons T H, Nicholson A J C. Development of Specific Tests for Rapid Detection of Escherichia Coli and All Species of Proteus in Urine[J]. Journal of Clinical Microbiology, 1977, 6(3), 195-201.
- [4] Hines E L, Llobet E, Gardner J W. Electronic Noses: a Review of Signal Processing Techniques[C]// IEE Proc.-Circuits Devices Syst. 1999, 146, 297-310.
- [5] Gardner J W. The Prediction of Bacteria Type and Culture Growth Phase by an Electronic Nose with a Multi-Layer Perceptron Network[J]. Meas. Sci. Technol. 1998, 9:120-127.
- [6] Gardner J W, Hyun Woo Shin, Evor L. Hines, An Electronic Nose System to Diagnose Illness[J]. Sensors and Actuators B, 2000, 70, 19-24.
- [7] 张敏, 田逢春, 气体传感器阵列温度漂移抑制的研究[J]., 传感技术学报, 2007, (20)6, 1237-1239.
- [8] Giacometti A, Cirioni O, Schimizzi A M. Epidemiology and Microbiology of Surgical Wound Infections [J]. Journal of Clinical Microbiology, 2000, 38, 918-922.
- [9] Arunas Setkus, Algirdas-Jonas Galdikas, Zilvinas Andrius Kancleris, Featuring of Bacterial Contamination of Wounds by Dynamic Response of SnO₂ Gas Sensor Array[J]. Sensors and Actuators B, 2006, 115, 412-420.



胥勋涛(1971-), 讲师, 博士生, 研究方向为人工嗅觉技术及电子设计自动化, myxxtao@126.com



田逢春(1963-), 重庆大学教授, 博士, 博士生导师, 加拿大 GUELPH 大学兼职教授、研究生导师, 《重庆大学学报(英文版)》编委。主要研究方向为图像信息处理、生物医学与生物信息处理、现代信号处理, FengchunTian@cqu.edu.cn