

УДК: 616-073.584:541.135:543.062

## НАНОСТРУКТУРНЫЕ ТОЧЕЧНО-КОНТАКТНЫЕ СЕНСОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ КАНЦЕРОГЕННЫХ ШТАММОВ БАКТЕРИИ *HELICOBACTER PYLORI*

Г.В. Камарчук<sup>1</sup>, А.П. Поспелов<sup>2</sup>, Д.А. Гарбуз<sup>2</sup>, В.А. Гудименко<sup>1</sup>,  
Л.В. Камарчук<sup>3</sup>, А.С. Заика<sup>1</sup>, А.М. Плетнев<sup>1</sup>, А.В. Кравченко<sup>4</sup>

- <sup>1</sup>Физико-технический институт низких температур им. Б.И. Веркина НАН Украины,  
просп. Науки, 47, г. Харьков, 61103, Украина
- <sup>2</sup>Национальный технический университет «Харьковский политехнический институт»,  
ул. Кирпичева, 21, г. Харьков, 61002, Украина
- <sup>3</sup>ГУ «Институт охраны здоровья детей и подростков» НАМН Украины,  
просп. Юбилейный, 52-А, г. Харьков, 61153, Украина
- <sup>4</sup>Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина,  
пл. Свободы, 4, г. Харьков, 61022, Украина

e-mail: kamarchuk@ilt.kharkov.ua

Поступила в редакцию 4 ноября 2017 г.

Принята 17 ноября 2017 г.

**Актуальность.** На сегодняшний день вопрос детектирования различных штаммов бактерии *H. pylori* приобрел большую значимость ввиду распространенности этой бактерии по всему миру и той роли, которую она играет в развитии множества серьезных желудочных и внежелудочных заболеваний. При этом не все штаммы бактерии *H. pylori* являются агрессивными и требуют лечения с использованием антибиотиков. Таким образом, возникает вопрос о необходимости дифференциации этих бактерий по их факторам вирулентности. Недорогой и общедоступной технологией для решения этой задачи могут стать современные сенсорные устройства.

**Цель работы.** Цель работы состоит в разработке сенсорного устройства нового типа для дифференциального распознавания штаммов *H. pylori* на основе анализа смеси газов, выдыхаемых человеком. Такое устройство может быть создано на основе точно-контактного газового сенсора.

**Материалы и методы.** Фундаментальные свойства точечных контактов, используемых в микроконтактной спектроскопии Янсона, позволили сформировать на основе соединений TCNQ точно-контактную мезоскопическую матрицу, чувствительную к малым концентрациям веществ в составе сложной газовой смеси. Анализируемым веществом служил газ, выдыхаемый человеком.

**Результаты.** Газочувствительные точно-контактные сенсоры на основе соединений TCNQ имеют сложные кривые отклика с двумя экстремумами, которые можно называть спектральными профилями сложной газовой смеси. Используя спектральные профили выдыхаемого газа различных пациентов можно дифференцировать различные состояния организма человека, вызванные бактерией *H. pylori*.

**Выводы.** Показано, что продукты метаболизма канцерогенных штаммов бактерии *H. pylori* доминантно влияют на электропроводность сенсора и определяют поведение особенностей на кривых отклика сенсоров. В результате, используя точно-контактные сенсоры на основе соединений TCNQ возможно дифференцировать штаммы *H. pylori* по их канцерогенному потенциалу.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** *H. pylori*; точечный контакт; микроконтактная спектроскопия Янсона; TCNQ; кластерный анализ; выдыхаемый газ; мезоскопическая структура.

## NANOSTRUCTURAL POINT-CONTACT SENSORS FOR DIAGNOSTICS OF CARCINOGENIC STRAINS OF *HELICOBACTER PYLORI*

G.V. Kamarchuk<sup>1</sup>, A.P. Pospelov<sup>2</sup>, D.A. Harbuz<sup>2</sup>, V. A. Gudimenko<sup>1</sup>,  
L.V. Kamarchuk<sup>3</sup>, A.S. Zaika<sup>1</sup>, A.M. Pletnev<sup>1</sup>, A.V. Kravchenko<sup>4</sup>

<sup>1</sup>B.Verkin Institute for Low Temperature Physics and Engineering of the National Academy of Sciences of Ukraine,  
47 Nauky Ave, 61103 Kharkiv, Ukraine

<sup>2</sup>National Technical University "Kharkiv Polytechnic Institute", 21 Kyrpychov Str., 61002 Kharkiv, Ukraine

<sup>3</sup>SI 'Institute for Children and Adolescents Health Care' of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine,  
52-A Yuvileinyi Ave., 61153 Kharkiv, Ukraine

<sup>4</sup>V. N. Karazin Kharkiv National University, 4 Svobody Sq., 61022 Kharkiv, Ukraine

**Background:** The problem of detecting the different strains of *H. pylori* has gained great importance today due to the worldwide prevalence of this bacterium and its role in the pathogenesis of a number of serious gastric and extragastric diseases. However, not all *H. pylori* strains are aggressive and require antibiotic treatment. Thus, the question arises about the necessity of differentiating these bacterium strains with respect to their virulence factors. In accordance with the IV Maastricht Consensus Report, among the variety of ways to diagnose *H. pylori* infection, non-invasive methods should be given preference. Most of them are based on the analysis of gas which is exhaled by a human. Mass spectrometry, gas chromatography, and IR spectroscopy are currently the mostly used ones. However, despite the obvious advantages, these techniques have a number of disadvantages that make them difficult to use in everyday medical practice. Modern sensor devices can become an inexpensive and easy to access alternative to these technologies.

**Objectives:** The aim of the work is to develop a new type of sensor device for selective recognition of *H. pylori* strains which is based on analysis of a mixture of gases exhaled by human. Such a kind of device can be designed on the basis of a point-contact gas sensor.

**Materials and methods:** Anion-radical salts of the organic conductor TCNQ were chosen as the sensitive material for point-contact sensors. The fundamental properties of point contacts which are used in the Yanson point-contact spectroscopy make it possible to create a point-contact mesoscopic matrix on the basis of this material, which is sensitive to small concentrations of components in complex gas media. The sensors were obtained by electrochemical deposition of salts from a solvent characterized by a high vapor pressure on a textolite substrate. Gas exhaled by a human served as the substance to be analyzed. The measurements were carried out following a specially developed technique. The sensor response curves were recorded by a measuring complex and original software designed by the authors.

**Results:** A set of 350 active-type TCNQ-based sensors was studied under the influence of a mixture of breath gases. Gas-sensitive sensors based on TCNQ compounds are characterized by a complex response curve with two extrema. Since the temporal variation in electrical conductivity of the sensor correlates well with the dependence of its resistance on the energy of the adsorbed components of the gas mixture, the resulting response curves of point-contact sensors can be called *spectral profiles* of a complex gas mixture. It is possible to differentiate among the various states of human body caused by the *H. pylori* bacterium by using spectral profiles of the gas exhaled by different patients. As a result, the developed sensors were shown to be an effective tool for analyzing breath gas exhaled in real time mode. They demonstrated a high sensitivity and selectivity to the products of activity of different *H. pylori* strains.

**Conclusions:** It was shown that the products of metabolism of carcinogenic *H. pylori* strains had a dominant influence on electrical conductivity of the sensor and thus shaped the behavior of the features on sensor response curves. As a result, it is possible to differentiate *H. pylori* strains with respect to their carcinogenic potential using point-contact sensors based on TCNQ compounds. Thus, an effective portable tool was created in this work for the first time to develop innovative screening technologies for non-invasive diagnosis of human body conditions characterized by gastroduodenal pathology and to distinguish carcinogenic strains of *H. pylori* from tolerant ones.

**KEYWORDS:** *H. pylori*; point-contact; Yanson point-contact spectroscopy; TCNQ; cluster analysis; exhaled gas; mesoscopic structure.

## НАНОСТРУКТУРНІ ТОЧКОВО-КОНТАКТНІ СЕНСОРИ ДЛЯ ДІАГНОСТИКИ КАНЦЕРОГЕННИХ ШТАМІВ БАКТЕРІЇ *HELICOBACTER PYLORI*

Г.В. Камарчук<sup>1</sup>, О.П. Поспелов<sup>2</sup>, Д.О. Гарбуз<sup>2</sup>, В.О. Гудименко<sup>1</sup>,  
Л.В. Камарчук<sup>3</sup>, О.С. Заїка<sup>1</sup>, О.М. Плетньов<sup>1</sup>, А.В. Кравченко<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Фізико-технічний інститут низьких температур ім. Б.І. Веркіна НАН України,  
просп. Науки, 47, м. Харків, 61103, Україна

<sup>2</sup>Національний технічний університет «Харківський політехнічний інститут»,  
вул. Кирпичова, 21, м. Харків, 61002, Україна

<sup>3</sup>ДУ «Інститут охорони здоров'я дітей та підлітків» НАМН України,  
просп. Ювілейний, 52-А, м. Харків, 61153, Україна

<sup>4</sup>Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, пл. Свободи, 4, м. Харків, 61077, Україна

**Актуальність.** На сьогоднішній день проблема детектування різних штамів бактерії *H. pylori* набула великої значимості у зв'язку з поширеністю цієї бактерії по всьому світу та тієї ролі, яку вона відіграє у розвитку багатьох серйозних шлункових та позашлункових захворювань. При

цьому не усі штамми бактерії *H. pylori* є агресивними і потребують лікування з використанням антибіотиків. Таким чином, виникає питання про необхідність диференціації цих бактерій за їх факторами вірулентності. Недорогою і загальнодоступною технологією для вирішення цієї задачі можуть стати сучасні сенсорні пристрої.

**Мета роботи.** Мета роботи полягає у розробці сенсорного пристрою нового типу для диференційного розпізнавання штамів *H. pylori* на основі аналізу сумішей газів, що видихаються людиною. Такий пристрій може бути створений на основі точково-контактного газового сенсора.

**Матеріали і методи.** Фундаментальні властивості точкових контактів, що використовуються в мікроконтактній спектроскопії Янсона, дозволили сформувати на основі сполук TCNQ точково-контактну мезоскопічну матрицю, чутливу до малих концентрацій речовин у складі складної газової суміші. Речовиною, що аналізується, служив газ, який видихається людиною.

**Результати.** Газочутливі сенсори на основі сполук TCNQ мають складні криві відгуку з двома екстремумами, які можна назвати спектральними профілями складної газової суміші. Використовуючи спектральні профілі видихуваного газу різних пацієнтів можна диференціювати різні стани організму людини, викликані бактерією *H. pylori*.

**Висновки.** Показано, що продукти метаболізму канцерогенних штамів бактерії *H. pylori* мають домінуючий вплив на електропровідність сенсора і визначають поведінку особливостей на кривих відгуку сенсорів. В результаті, використовуючи точково-контактні сенсори на основі сполук TCNQ, можливо диференціювати штамми *H. pylori* по їх канцерогенному потенціалу.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** *H. pylori*; точковий контакт; мікроконтактна спектроскопія Янсона; TCNQ; кластерний аналіз; видихуваний газ; мезоскопічна структура.

В настоящее время проблема обнаружения и эрадикации бактерии *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) является особенно острой ввиду широкого распространения данной инфекции по всему миру и ее роли в патогенезе множества серьезных желудочных и внежелудочных заболеваний [1, 2]. Гастродуоденальная патология, связанная с *H. pylori*, имеет хроническое рецидивирующее течение. Всемирная организация здравоохранения признает бактерию *H. pylori* основным причинным фактором развития язвенной болезни и рака желудка [1, 3]. Было доказано, что существует прямая взаимосвязь между заболеваемостью *H. pylori* и раком желудка [1, 4]. Однако стоит отметить, что не все штаммы *H. pylori* одинаково опасны и вызывают развитие патологических изменений слизистой оболочки желудка. Различные штаммы *H. pylori* имеют разные канцерогенные потенциалы, которые зависят от факторов вирулентности [1, 5, 6]. Таким образом, не все штаммы инфекции являются агрессивными и требуют лечения с использованием антибиотиков. Данный факт является существенным препятствием в ходе диагностики инфекции, так как возникает необходимость в дифференциации различных штаммов *H. pylori* для выбора эффективного лечения.

Согласно IV Маастрихтскому консенсусу (the Maastricht IV/ Florence Consensus Report) [1] среди всего разнообразия способов диагностики инфекции *H. pylori*, предпочтение отдается неинвазивным методам. В основном они базируются на исследовании газа, выдыхаемого человеком. Выдыхаемый газ представляет собой сложную смесь газов, имеющих различное эндогенное происхождение и секретлируемые в дыхательные пути, желудочно-пищеварительный тракт и ротовую полость, однако на его состав влияют и внешние факторы, такие как курение или загрязнение окружающей среды. Такая смесь состоит более чем из 2000 летучих компонентов, при этом концентрация некоторых из них очень мала и не превышает уровня долей ppm [7]. Часть этих компонентов являются маркерами различных состояний организма человека, ввиду чего чувствительность метода их анализа играет ключевую роль в диагностике.

В настоящее время в качестве неинвазивных способов диагностики инфекции *H. pylori* используется ряд методов для анализа выдыхаемого газа. В первую очередь к ним относятся масс-спектрометрия, газовая хроматография, ИК-спектроскопия [8-10]. Несмотря на то, что эти методы обеспечивают получение достаточно точных данных,

они обладают рядом недостатков, в числе которых большая стоимость экспериментального оборудования и его громоздкость, необходимость высокой квалификации персонала ввиду сложности эксплуатации такого оборудования. Следует отметить, что существенная сложность в анализе выдыхаемого газа заключается также и в том, что различные компоненты данной газовой смеси могут взаимодействовать между собой, ввиду чего важным требованием является проведение анализа *in situ*. Эти недостатки являются значительной преградой для использования указанных методов в повседневной медицинской практике. Недорогой и общедоступной альтернативой данным технологиям могут стать современные сенсорные устройства. Поэтому в последнее время особое внимание уделяется разработке специализированных газовых сенсоров [11-13]. Принципы детектирования, используемые при дизайне современных сенсоров, как правило, позволяют создавать устройства, ориентированные на обнаружение какого-либо определенного газа – так называемого маркера. Ввиду наличия взаимодействия между компонентами газа, выдыхаемого человеком, диагностика, построенная на выявлении отдельных маркеров, может приводить к ложноположительным или ложноотрицательным результатам, особенно при детектировании бактерии *H. pylori* [14].

Вышеперечисленные факторы обуславливают цель нашей работы, которая состоит в разработке сенсорного устройства нового типа для дифференциального распознавания штаммов *H. pylori* на основе анализа смеси газов, выдыхаемых больными, имеющими в анамнезе инфицированность бактерией. В перечень требований к такому устройству входят также низкая стоимость, высокая чувствительность, возможность работы *in situ*, малогабаритность и простота обслуживания. Всем этим требованиям может отвечать устройство, имеющее в своей основе точечно-контактный газовый сенсор [13]. В соответствии с этим целесообразно рассмотреть и проанализировать результаты исследований созданных нами точечно-контактных газовых сенсоров.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В основе точечно-контактного сенсорного устройства лежат точечные контакты (микрконтакты) Янсона, принципы работы которых детально изучены в рамках микрконтактной спектроскопии Янсона [15]. Такие контакты обладают рядом фундаментальных свойств, делающих их перспективными для создания сенсорных устройств [13]. Точечный контакт Янсона представляет собой электрический контакт между двумя массивными электродами, осуществленный на площади, сопоставимой с длиной свободного пробега носителей заряда. Следовательно, такой контакт представляет собой типичный нанообъект, размер которого может быть сопоставим с размерами одного атома. Разумно предположить, что даже одна молекула газа, адсорбированная на поверхности такого контакта в области сужения, будет влиять на проводимость контакта существенным образом, обуславливая его высокую сенсорную чувствительность [16, 17]. Важная особенность точечного контакта Янсона как объекта, пригодного для использования в качестве газового сенсора, наряду с его геометрическими размерами, заключается в распределении носителей заряда, которое значительно отличается от распределения в массивном проводнике [18]. Изменение электрического потенциала в контакте такого рода осуществляется непосредственно в области сужения, где и формируется сопротивление всей точечно-контактной структуры [18]. В результате, сопротивление массивных контактирующих электродов не влияет на сопротивление системы в целом благодаря быстрому растеканию тока в них. Другая уникальная особенность точечного контакта заключается в способности

сохранять устойчивость при большой плотности тока в канале проводимости, которая может достигать величины  $10^8$  А/см<sup>2</sup> при комнатных температурах, обуславливая быструю десорбцию молекул газа с поверхности и возврат сенсора в исходное состояние [16].

В качестве чувствительного вещества сенсора были выбраны анион-радикальные соли на основе соединений 7,7,8,8-тетрацианохинодиметана (TCNQ) с N-алкилхинолинием (N-Alk-Qn) и N-алкилизохинолинием (N-Alk-iso-Qn) [19]. Эти вещества относятся к классу синтетических органических проводников. Фактором, определяющим возможность использования этих соединений в качестве чувствительного материала, послужила особенность их кристаллической структуры. Она заключается в том, что в процессе кристаллизации эти вещества растут в виде игл или пластин, молекулы же вещества укладываются в стопки. При этом проводимость осуществляется за счет перекрытия  $\pi$ -волновых функций электронов внутри стопки, разные же стопки слабо связаны между собой. Это, в свою очередь, приводит к формированию квазиодномерной проводимости, осуществляемой вдоль оси стопки, с низкой вероятностью электронных переходов между разными стопками. Таким образом, анизотропия повышает чувствительность проводимости кристалла к адсорбционным процессам, происходящим под воздействием выдыхаемого газа.

Для получения высокочувствительного сенсорного материала была разработана оригинальная технология, с помощью которой была синтезирована анион-радикальная соль  $[C_4H_9\text{-iso-Qn}](TCNQ)_2$  [20].

Образцы сенсоров были изготовлены на текстолитовой подложке, покрытой медной фольгой с обеих сторон. Площадь подложки –  $5 \times 10$  мм<sup>2</sup>. На материале фольги формировались электродные сопряжения с газочувствительным слоем. Кроме того, фольга служила в качестве токоподводящих электродов. Во время приготовления образцов часть фольги с размерами  $0,15 \times 5$  мм<sup>2</sup> была удалена с подложки для формирования межэлектродного пространства. Точечно-контактные образцы соединения TCNQ были изготовлены в этом зазоре в качестве мезоструктуры. Для того чтобы получить газочувствительный элемент, был использован насыщенный раствор соли  $[C_4H_9\text{-iso-Qn}](TCNQ)_2$  в органическом растворителе с высокой упругостью паров. Это обуславливало быстрое испарение растворителя при нормальных (комнатных) условиях. Чувствительные элементы были изготовлены с использованием оригинальной электрохимической технологии [21], которая позволяла формировать мезоскопическую микроконтактную мультиструктуру. Мультиструктура состояла из точечно-контактных элементов (рис. 1), которые были образованы между краями или боковыми поверхностями игольчатых кристаллов соединения TCNQ аналогично формированию точечных контактов по сдвиговой методике Чубова [22] в микроконтактной спектроскопии Янсона [13, 23]. Каждый из точечно-контактных элементов представляет собой единичный точечно-контактный датчик. Массив точечно-контактных датчиков (мультиструктура) может включать в себя до 200-300 точечных контактов на площади  $0,15 \times 5$  мм<sup>2</sup>. Совокупность полученных таким образом микроконтактов, соединенных друг с другом и с токоподводящими электродами, обеспечивает значительный уровень выходного сигнала.

С целью создания сенсоров активного типа, имеющих в своем составе источник тока, был использован ряд оригинальных технологических приемов и «know how» [24]. Процесс изготовления включал в себя поляризацию границ раздела «токоподводящий металл–газочувствительное вещество» в процессе формирования мультиструктуры. Это обеспечивало сохранение во времени остаточного потенциала и формирование источника энергии. В то время как продукты катодной поляризации были

нестабильными и распадались в течение нескольких минут, продукты анодной поляризации были достаточно устойчивы, вследствие чего остаточная разность потенциалов сохранялась во времени [21].

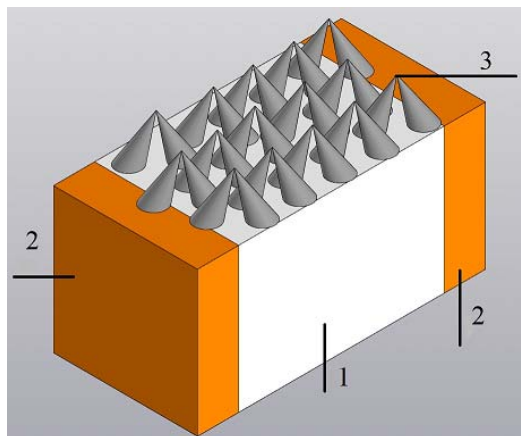


Рис. 1. Модельное изображение точечно-контактной мультиструктуры.  
1 – текстолит, 2 – медная фольга, 3 – точечный контакт.

В качестве анализируемого газообразного агента использовалась смесь газов, выдыхаемых человеком. Следует отметить, что для получения реальных данных о метаболическом состоянии человека и стабильной воспроизводимости результатов было необходимо придерживаться специально разработанной методики исследований [25].

Регистрация изменения проводимости газочувствительных сенсоров под воздействием газовой смеси проводилась путем измерения падения напряжения на прецизионном резисторе (С2-29В-0, 125-1М, НПО «ЕРКОН», Россия) с сопротивлением 1 МОм, подключенном в электрическую цепь последовательно с самим сенсором.

Для измерений был создан измерительный комплекс, который включал в себя мультиметр Keithley 2000, специально разработанный держатель сенсора и персональный компьютер, на который производилась запись полученных результатов в реальном времени при помощи оригинального программного обеспечения.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В то время как для традиционных газовых сенсоров под действием газа, выдыхаемого человеком, наблюдается монотонное изменение сигнала отклика с одним пиком (см., например, обзор [12] и цитированную в нем литературу), газочувствительные сенсоры на основе соединений TCNQ показывают более сложную кривую отклика с двумя экстремумами (рис. 2). При этом один из экстремумов проявляется в период экспозиции, а второй находится в релаксационной части кривой отклика, то есть той части, которая соответствует периоду времени после окончания воздействия выдыхаемого газа [25]. Сопротивление сенсора на воздухе без предварительного воздействия газа превышает 200 МОм, при этом можно допустить, что в ждущем режиме насколько-либо значимый ток, текущий через сенсор, отсутствует. Под действием же выдыхаемого газа сопротивление сенсора падает на 3 порядка ниже значения в 0,5 МОм, что значительно уменьшает сопротивление электрической цепи сенсора и приводит к появлению в ней электрического тока, задаваемого источником внутренней энергии сенсора. Это позволяет регистрировать

изменение электропроводности сенсора от времени, обусловленное взаимодействием с выдыхаемым газом, путем измерения падения напряжения на прецизионном резисторе, включенном в цепь последовательно с сенсором. После прекращения воздействия газа сопротивление сенсора возвращается к исходному значению в течение 1-5 минут без применения каких-либо дополнительных мер, что обеспечивает значительную привлекательность сенсора в качестве объекта для повсеместного использования в режиме реального времени.

Полное отсутствие симметрии между экспозиционной и релаксационной фазами кривой отклика указывает на различную природу формирования сигнала. Экспозиционная фаза характеризуется, в частности, адсорбцией молекул газа на поверхности точечного контакта. Адсорбция компонентов выдыхаемого газа увеличивает проводимость сенсора до определенного уровня, что характеризуется кривой отклика с насыщением. Процессы, происходящие в релаксационной фазе, могут быть описаны следующей моделью. Под действием тока большой плотности, адсорбированные молекулы компонентов выдыхаемого газа необратимо десорбируются с поверхности газочувствительного материала. Процесс десорбции стимулируется носителями заряда, которые при протекании тока в точечно-контактной мультиструктуре испытывают многократные неупругие столкновения с адсорбированными молекулами. В процессе такого взаимодействия электроны передают часть своей энергии молекулам газа, и, когда накопленной энергии становится достаточно для того, чтобы преодолеть энергию связи молекулы с поверхностью, адсорбированный газ десорбируется. Так как избыточная энергия адсорбированной частицы растет с увеличением времени, при анализе кривых отклика с определенной степенью уверенности можно говорить о том, что изменение электропроводности сенсора во времени коррелирует с зависимостью его сопротивления от энергии адсорбированных частиц [13, 14]. Этот факт предоставляет возможность называть полученные кривые отклика точечно-контактных сенсоров спектральными профилями сложной газовой смеси.

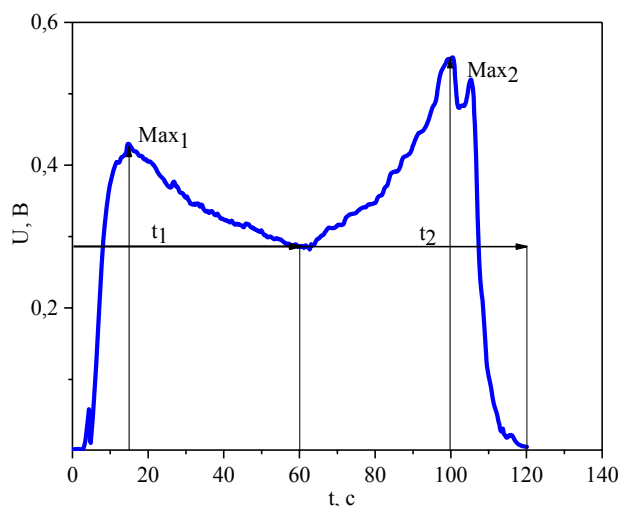


Рис. 2. Типичная кривая отклика сенсора на основе соединений TCNQ под действием газа, выдыхаемого условно здоровым человеком. Время экспозиции равно 60 сек.

Было доказано, что различные вариации параметров кривой отклика соответствуют различным метаболическим состояниям организма человека, чей выдыхаемый газ

анализируется [13]. В числе таких параметров находятся: значения максимумов экспозиции и релаксации; значение сигнала сенсора в точке начала релаксации; отношение высоты релаксационного максимума, измеряемой в точке начала релаксации, к его абсолютной величине; отношение значения релаксационного максимума к экспозиционному; время релаксации. Таким образом, можно дифференцировать различные состояния организма человека, вызванные бактерией *H. pylori*, используя анализ кривых отклика, полученных под действием газа, выдыхаемого различными пациентами.

Мы изготовили и исследовали 350 сенсоров активного типа на основе соединения  $[C_4H_9\text{-iso-Q}_n](TCNQ)_2$  под воздействием смеси газов, выдыхаемых человеком. Период экспозиции составлял 60 секунд. Выбор продолжительности периода экспозиции обусловлен стремлением достичь оптимальной информативности получаемых кривых [25]. Для каждого сенсора было проведено по 5 параллельных экспериментов, что обеспечивало достаточные условия для статистической обработки данных.

Так как каждый изготовленный сенсор характеризуется определенными параметрами мезоскопической структуры (количество и конфигурация точечных контактов), трудно достичь полной идентичности изделий даже в пределах одной выпускаемой партии. Вследствие этого партии формировались на основе данных кластерного анализа. В качестве критерия схожести чувствительных образцов использовались евклидовы расстояния по ряду метрологических параметров. Кластерный анализ заключался в разбиении объектов на группы по определенным признакам, при этом различие между двумя объектами в одной группе должно быть значительно меньше различия двух наиболее «похожих» объектов из разных групп [26, 27].

Для выполнения кластерного анализа необходимо перевести неоднородно масштабируемые случайные величины  $X$ , которые представляют наши параметры датчика, в стандартизированные путем масштабирования исходного набора данных. Для этого нам необходимо заменить все случайные величины ( $P_1$  и  $P_2$ ) их стандартизированными аналогами  $U$ , которые характеризуются нулевым математическим ожиданием  $M(U) = 0$  и единичной дисперсией  $D(U) = 1$ :

$$U = \frac{X - M(X)}{\sigma(X)} \quad (1)$$

Здесь  $M(X)$  – математическое ожидание для случайной величины, а  $\sigma(X)$  – дисперсия.

Таким образом, все наши расчеты параметров кластерного анализа производятся для двумерного евклидова пространства восстановленных случайных величин  $U_1$  и  $U_2$ , связанных с выбранными параметрами  $P_1$  и  $P_2$  с помощью следующих уравнений:

$$U_1^{(i)} = \frac{(P_1^{(i)} - \bar{P}_1)}{\sigma_1} \quad (2)$$

$$U_2^{(i)} = \frac{(P_2^{(i)} - \bar{P}_2)}{\sigma_2} \quad (3)$$

После этого рассчитывается евклидово расстояние между объектами 1 и 2 в двумерном пространстве по формуле:

$$d = \sqrt{(U_1^{(1)} - U_1^{(2)})^2 + (U_2^{(1)} - U_2^{(2)})^2} \quad (4)$$

В общем виде такой подход позволяет найти общее расстояние между двумя любыми объектами как квадратный корень из суммы квадратов их параметров.

Кластерный анализ проводился по следующим критериям: абсолютная интенсивность экспозиционного максимума превышала 0,5 В; время релаксации;



отношение интенсивности экспозиционного максимума к релаксационному и отношение интенсивности релаксационного максимума, отсчитываемого от точки окончания экспозиции, к абсолютной величине этого максимума. Были сформированы кластеры с евклидовым расстоянием между двумя наиболее отдаленными объектами в них не более 0,6 единиц. Параметры кривых отклика, которые характеризуют отобранные сенсоры, приведены в таблице 1.

Таблица 1

Характеристики сенсоров, входящих в кластер с евклидовым расстоянием 0,6

Наименование сенсора	Время релаксации $t$ , с	$Max_1/Max_2$	$(Max_2 - P_{12})/Max_2$
P13	68	0,86	0,21
NC8	72	0,84	0,23
1/22	73	0,79	0,28
W/32	68	0,82	0,24
W/44	70	0,81	0,27
W/47	73	0,84	0,27

Здесь  $Max_1/Max_2$  – отношение интенсивности экспозиционного максимума к релаксационному;  $(Max_2 - P_{12})/Max_2$  – отношение интенсивности релаксационного максимума, отсчитываемого от точки окончания экспозиции, к абсолютной величине этого максимума.

При сравнении двух кривых отклика, полученных от разных сенсоров из сформированного кластера, можно убедиться, что эти кривые подобны как по качественным признакам, так и по их количественным значениям (рис. 3.). Следует отметить, что представленные кривые приведены до нормировки кривых отклика, что показывает их высокую схожесть даже в абсолютных величинах интенсивности и времен релаксации. Небольшие расхождения в поведении отдельных участков кривых отклика могут быть обусловлены изменением метаболического профиля выдыхаемого газа человека в течение одного часа, соответствовавшего промежутку времени между измерениями, что является вполне естественным для данной сложной биологической среды.

Выбранные образцы сенсоров с максимально близкими характеристиками были использованы для детектирования канцерогенных штаммов бактерии *H. pylori*. В качестве примера приведем результаты детектирования выдыхаемого газа пациентов с различной патологией.

Исследования проводились в Институте охраны здоровья детей и подростков НАМН Украины [14]. В качестве испытуемых волонтеров выступали пациенты, госпитализированные в связи с жалобами диспептического характера. С помощью точечно-контактных газовых сенсоров были получены кривые отклика для 142 подростков. В качестве группы сравнения выступал 31 здоровый доброволец. Для контроля состояния инфицированности *H. pylori* были параллельно использованы методы иммуноферментного анализа (ELISA) и аммиачный дыхательный тест (HELIC ABT). В результате проведенных исследований было показано, что состоянием организма, инфицированного различными штаммами *H. pylori*, соответствуют сенсорные кривые отклика с различными характеристическими параметрами (рис. 4, см. также [14]).

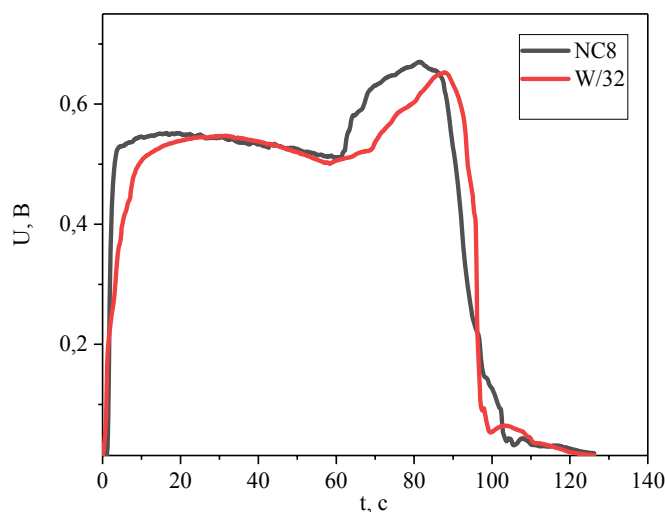


Рис. 3. Кривые отклика для двух сенсоров (NC8 и W/32) под действием газа, выдыхавшегося одним добровольцем.

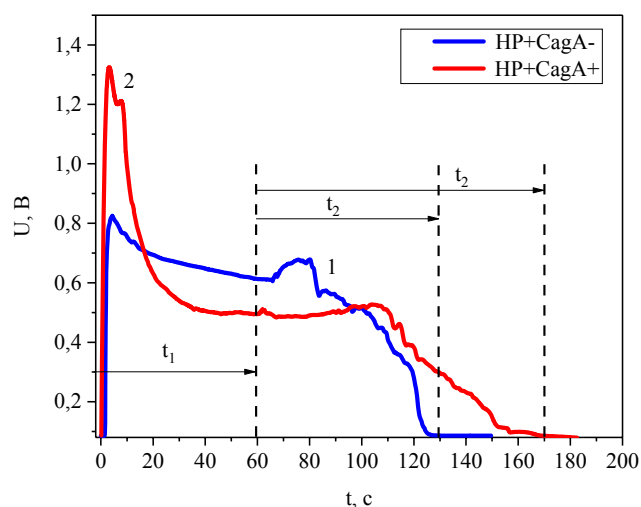


Рис. 4. Кривые отклика для пациентов, зараженных различными штаммами бактерии *H. Pylori*. 1 - пациент Б.К. (HP+CagA-), 2 – пациент Н.В. (HP+CagA+).  $t_1$  – время экспозиции,  $t_2$  – время релаксации.

Мы обнаружили, что один из этих параметров, а именно, время релаксации ( $t_2$  на рис. 4) обладает диагностическими возможностями для анализа выдыхаемого газа пациентов с гастродуоденальной патологией и позволяет детектировать состояния, обусловленные инфекцией *H. pylori*. При инфицировании организма бактерией *H. pylori* время релаксации сенсора под действием выдыхаемого газа достоверно превосходит время релаксации в случае анализа выдыхаемого газа здоровых добровольцев. В случае инфицирования организма цитотоксичными Cag A штаммами бактерии наблюдается ярко выраженный эффект увеличения времени релаксации сенсора не только по отношению к случаю здоровых добровольцев, но и по сравнению с ситуацией инфицированности нетоксигенными штаммами бактерии *H. pylori*. Существенную разницу в величине параметра  $t_2$  для последних двух случаев

демонстрируют кривые на рис. 4. Очевидно, что продукты метаболизма канцерогенных штаммов бактерии *H. pylori* доминантно влияют на электропроводность сенсора и определяют поведение особенностей на кривых отклика сенсоров, в частности, приводят к значительному увеличению времени релаксации после воздействия выдыхаемого газа инфицированных пациентов. Таким образом, используя точечно-контактные сенсоры на основе соединений TCNQ, возможно дифференцировать штаммы *H. pylori* по их канцерогенному потенциалу.

### ВЫВОДЫ

В ходе данной работы были созданы и исследованы 350 точечно-контактных газовых сенсоров на основе соединений TCNQ. Применение оригинальных технологических приемов позволило сформировать сенсоры активного типа, которые включали в себя миниатюрный источник тока и, следовательно, могли работать в автономном режиме без внешнего источника питания. Для отбора чувствительных элементов с максимально близкими параметрами был использован математический метод кластерного анализа, что позволило обеспечить высокую достоверность результатов при работе сенсоров в сложных газовых средах. Используя специальную методику сбора экспериментальных данных, мы исследовали кривые отклика этих сенсоров под воздействием газа, выдыхаемого человека. Было показано, что разработанные сенсоры являются эффективным инструментом для анализа выдыхаемого газа пациентов в режиме реального времени и демонстрируют высокую чувствительность и избирательность по отношению к продуктам жизнедеятельности различных штаммов бактерии *H. pylori*. Таким образом, в данной работе впервые создан эффективный портативный инструмент для разработки инновационных скрининговых технологий неинвазивной диагностики состояний организма человека, характеризующихся гастродуоденальной патологией, и дифференциации толерантных и канцерогенных штаммов инфекции *H. pylori*.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Malfertheiner P., Megraud F., O'Morain C. A., Atherton J., Axon A. T., Bazzoli F., Gensini G. F., Gisbert J. P., Graham D. Y., Rokkas T., El-Omar E. M., Kuipers E. J. Management of *Helicobacter pylori* infection – the Maastricht IV/ Florence Consensus Report // *Gut*. 2012. Vol. 61(5). P. 646-664.
2. Garza-González E., Perez-Perez G.I., Maldonado-Garza H.J., Bosques-Padilla F.J. A review of *Helicobacter pylori* diagnosis, treatment, and methods to detect eradication // *World J Gastroenterol*. 2014. Vol. 20(6). P. 1438-1449.
3. IARC Working Group. *Helicobacter pylori* Eradication as a Strategy for Preventing Gastric Cancer // Lyon: International Agency for Research on Cancer. 2014. (IARC Working Group Reports, Vol. 8). P. 181 Available from: [http://www.iarc.fr/en/publications/pdfs-online/wrk/wrk8/Helicobacter\\_pylori\\_Eradication.pdf](http://www.iarc.fr/en/publications/pdfs-online/wrk/wrk8/Helicobacter_pylori_Eradication.pdf).
4. Graham D.Y., *Helicobacter pylori* infection is the primary cause of gastric cancer // *J. Gastroenterol*. 2000. Vol. 35(12). P. 90-97.
5. Wroblewski L.E., Peek R. M., Jr., Wilson K. T. *Helicobacter pylori* and gastric cancer: factors that modulate disease risk // *Clinical microbiology reviews*. 2010. Vol. 23(4). P. 713-739.
6. Palframan S.L., Kwok T., Gabriel K. Vacuolating cytotoxin A (VacA), a key toxin for *Helicobacter pylori* pathogenesis // *Front Cell Infect Microbiol*. 2012. Vol. 2(92). P. 9.
7. Costello B.d.L., Amann A., Al-Kateb H., Flynn C., Filipiak W., Khalid T., Osborne D., Ratcliffe N.M. A review of the volatiles from the healthy human body // *J. Breath Res*. 2014. Vol. 8(1). P. 014001 (29 pp).
8. Smith D., Španěl P. Selected ion flow tube mass spectrometry (SIFT-MS) for on-line trace gas analysis // *Mass Spectrom Rev*. 2005. Vol. 24(5). P. 661-700.
9. Ishimaru M., et al. Analysis of volatile metabolites from cultured bacteria by gas chromatography /atmospheric pressure chemical ionization-mass spectrometry // *J Breath Res*. 2008. Vol. 2(3). P. 037021.
10. Graham D.Y., et al. *Campylobacter pylori* detected noninvasively by the <sup>13</sup>C-urea breath test // *Lancet*. 1987. Vol. 1(8543). P. 1174-1177.
11. Iniewski K. *Smart Sensors for Industrial Applications. Devices, Circuits, and Systems*. Boca Raton: CRC Press, 2013. 598 p.

12. Kamarchuk G.V., Pospelov A.P., Kushch I.G. Sensors for exhaled gas analysis: an analytical review, in Volatile biomarkers: non-invasive diagnosis in physiology and medicine / eds. A. Amann and D. Smith. Amsterdam: Elsevier, 2013. P. 265-300.
13. Kamarchuk G.V., Pospelov A.P., Kamarchuk L.V., Kushch I.G. Point-Contact Sensors and Their Medical Applications for Breath Analysis: A Review, In Nanobiophysics: Fundamentals and Applications / ed. V.A. Karachevtsev. Philadelphia: Pan Stanford Publishing Pte. Ltd., 2015. P. 327-379.
14. Kushch I., Korenev N., Kamarchuk L., Pospelov A., Kravchenko A., Bajenov L., Kabulov M., Amann A., Kamarchuk G., On the importance of developing a new generation of breath tests for Helicobacter pylori detection // J. Breath Res. 2015. Vol. 9(4). P. 047109 (15 pp).
15. Naidyuk Yu.G., Yanson I.K. Point-contact spectroscopy. New York: Springer, 2005. 300 p.
16. Kamarchuk G.V., Pospelov O.P., Yermenko A.V., Faulques E., Yanson I.K. Point-Contact Sensors: New Prospects for a Nanoscale Sensitive Technique // Europhys. Lett. 2006. Vol. 76(4). P. 575-581.
17. Kamarchuk G.V., Kolobov I.G., Khotkevich A.V., Yanson I.K., Pospelov A.P., Levitsky I.A., Euler W.B. New chemical sensors based on point heterocontact between single wall carbon nanotubes and gold wires // Sensors and Actuators B. 2008. Vol. 134 (2). P. 1022-1026.
18. Кулик И.О., Омелянчук А.Н., Шехтер Р.И. Электропроводность точечных микроконтактов и спектроскопия фононов и примесей в нормальных металлах // ФНТ. 1977. Т. 3, № 12. С. 1543-1558.
19. Kravchenko A.V., Starodub V.A., Kazachkov A.R., Khotkevich A.V., Pyshkin O.S., Kamarchuk G.V. Spectral and electrophysical characteristics of anion-radical salts of TCNQ and methyl-TCNQ with N-alkylpyrazinium cations, in Spectroscopy of Emerging Materials / eds. E.C. Faulques, D.L. Perry, A.V. Yermenko. Boston / Dordrecht / London: Kluwer Academic Publishers, 2004. P. 319-330.
20. Pyshkin O., Kamarchuk G., Yermenko A., Kravchenko A., Pospelov A., Alexandrov Yu., Faulques E. Evidence for sensory effects of a 1D organic conductor under gas exposure // J. Breath Res. 2011. Vol. 5(1). P. 016005 (9 pp).
21. Пospelov A.П., Кушч Е.Г., Александров Ю.Л., Плетнев А.М., Камарчук Г.В. Сенсоры активного типа для анализа выдыхаемого газа // Сенсорна електроніка і мікросистемні технології. 2007. № 2. С. 49-54.
22. Чубов П.Н., Янсон И.К., Акименко А.И. Электрон-фононное взаимодействие в алюминиевых микроконтактах // ФНТ. 1982. Т. 8. № 1. С. 64-80.
23. Khotkevich A.V., Yanson I.K. Atlas of Point Contact Spectra of Electron-Phonon Interactions in Metals. Boston / Dordrecht / London: Kluwer Academic Publishers, 1995. 168 p.
24. Твердотельный газовый сенсор: пат. 17424 Україна № U 2006 04253 ; заявл. 17.04.2006 ; опубл. 15.09.2006, Бюл. № 9. 90 с.
25. Kushch I.G., Korenev N.M., Kamarchuk L.V., Pospelov A.P., Alexandrov Y.L., Kamarchuk G.V. Sensors for Breath Analysis: An Advanced Approach to Express Diagnostics and Monitoring of Human Diseases, in Biodefence. NATO Science for Peace and Security Series A: Chemistry and Biology, A.K. / ed. S. Mikhalovsky. Luxembourg: Springer Science+Business Media, 2011. P. 63-75.
26. Jeffers J.N.R. An introduction to systems analysis: with ecological applications. London: Edward Arnold, 1978. 198 p.
27. Орлов А.И. Математика случая: Вероятность и статистика - основные факты. Москва: МЗ-Пресс, 2004. 110 с.

#### REFERENCES

1. Malfertheiner, P., Megraud, F., O'Morain, C. A., Atherton, J., Axon, A. T., Bazzoli, F., Kuipers, E. J. (2012). Management of Helicobacter pylori infection – the Maastricht IV/ Florence Consensus Report. *Gut*, 61(5), 646-664. doi: 10.1136/gutjnl-2012-302084.
2. Garza-González, E., Perez-Perez, G.I., Maldonado-Garza, H.J. & Bosques-Padilla, F.J. (2014). A review of Helicobacter pylori diagnosis, treatment, and methods to detect eradication. *World J Gastroenterol*, 20(6), 1438-1449. doi: 10.3748/wjg.v20.i6.1438.
3. IARC Helicobacter pylori Working Group (2014). *Helicobacter pylori Eradication as a Strategy for Preventing Gastric Cancer*. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer (IARC Working Group Reports, No. 8). Available from: [http://www.iarc.fr/en/publications/pdfs-online/wrk/wrk8/Helicobacter\\_pylori\\_Eradication.pdf](http://www.iarc.fr/en/publications/pdfs-online/wrk/wrk8/Helicobacter_pylori_Eradication.pdf).
4. Graham, D.Y. (2000). Helicobacter pylori infection is the primary cause of gastric cancer. *J Gastroenterol*, 35(12), 90-97.
5. Wroblewski, L.E., Peek, R. M., Jr. & Wilson, K. T. (2010). Helicobacter pylori and gastric cancer: factors that modulate disease risk. *Clinical microbiology reviews*, 23(4), 713-739. doi: 10.1128/CMR.00011-10.
6. Palframan, S.L., Kwok, T., Gabriel, K. (2012). Vacuolating cytotoxin A (VacA), a key toxin for Helicobacter pylori pathogenesis. *Front Cell Infect Microbiol.*, 2(92), 9. doi: 10.3389/fcimb.2012.00092.

7. Costello, B.d.L., Amann, A., Al-Kateb, H., Flynn, C., Filipiak, W., Khalid, T., Ratcliffe, N. M. (2014). A review of the volatiles from the healthy human body. *J. Breath Res*, 8(1), 014001 (29 pp). doi: 10.1088/1752-7155/8/1/014001.
8. Smith, D. & Španěl, P. (2005). Selected ion flow tube mass spectrometry (SIFT-MS) for on-line trace gas analysis. *Mass Spectrom Rev.*, 24(5), 661-700. DOI: 10.1002/mas.20033.
9. Ishimaru M., et al. (2008). Analysis of volatile metabolites from cultured bacteria by gas chromatography/atmospheric pressure chemical ionization-mass spectrometry. *J Breath Res.*, 2(3), 037021. doi: 10.1088/1752-7155/2/3/037021.
10. Graham D.Y., et al. (1987). *Campylobacter pylori* detected noninvasively by the <sup>13</sup>C-urea breath test. *Lancet*, 1(8543), 1174-1177.
11. Iniewski, K. (2013). *Smart Sensors for Industrial Applications. Devices, Circuits, and Systems*. Boca Raton: CRC Press.
12. Kamarchuk, G.V., Pospelov, A.P. & Kushch, I.G. (2013). Sensors for exhaled gas analysis: an analytical review. In Amann, A. & Smith, D. (Eds), *Volatile biomarkers: non-invasive diagnosis in physiology and medicine* (pp. 265-300). Amsterdam: Elsevier.
13. Kamarchuk, G.V., Pospelov, A.P., Kamarchuk, L.V. & Kushch, I.G. (2015). Point-Contact Sensors and Their Medical Applications for Breath Analysis: A Review. In V. A. Karachevtsev (Ed.), *Nanobiophysics: Fundamentals and Applications* (pp. 327-379). Philadelphia: Pan Stanford Publishing Pte. Ltd.
14. Kushch, I., Korenev, N., Kamarchuk, L., Pospelov, A., Kravchenko, A., Bajenov, L., Kamarchuk G. (2015). On the importance of developing a new generation of breath tests for *Helicobacter pylori* detection *J. Breath Res.*, 9(4), 047109 (15 pp). doi: 10.1088/1752-7155/9/4/047111.
15. Naidyuk, Yu.G. & Yanson, I.K. (2005). *Point-contact spectroscopy*. New York: Springer.
16. Kamarchuk, G.V., Pospelov, O.P., Yeremenko, A.V., Faulques, E. & Yanson, I.K. (2006). Point-Contact Sensors: New Prospects for a Nanoscale Sensitive Technique. *Europhys. Lett.*, 76(4), 575-581. doi: 10.1209/epl/i2006-10303-6.
17. Kamarchuk, G.V., Kolobov, I.G., Khotkevich, A.V., Yanson, I.K., Pospelov, A.P., Levitsky, I.A. & Euler W.B. (2008). New chemical sensors based on point heterocontact between single wall carbon nanotubes and gold wires. *Sensors and Actuators B.*, 134(2), 1022-1026. doi: 10.1016/j.snb.2008.07.012
18. Kulik, I. O., Omelyanchuk, A. N. & Shekhter, R. I. (1977). Electric conductivity of point contacts and spectroscopy of phonons and impurities in normal metals. *Fizika Nizkikh Temperatur*, 3, 1543-1558.
19. Kravchenko, A.V., Starodub, V.A., Kazachkov, A.R., Khotkevich, A.V., Pyshkin, O.S. & Kamarchuk G.V. (2004). Spectral and electrophysical characteristics of anion-radical salts of TCNQ and methyl-TCNQ with N-alkylpirazinium cations. In E.C. Faulques, D.L. Perry, & A.V. Yeremenko (Eds.), *Spectroscopy of Emerging Materials* (pp. 319-330). Boston/Dordrecht/London: Kluwer Academic Publishers.
20. Pyshkin, O., Kamarchuk, G., Yeremenko, A., Kravchenko, A., Pospelov, A., Alexandrov, Yu. & Faulques E. (2011). Evidence for sensory effects of a 1D organic conductor under gas exposure. *J. Breath Res.*, 5(1), 016005 (9 pp). doi:10.1088/1752-7155/5/1/016005
21. Pospelov, A. P., Kushch, I. G., Alexandrov, Yu. L., Pletnev, A. M. & Kamarchuk, G. V. (2007). Active type sensors for breath gas analysis. *Sensor Electronics and Microsystem Technologies*, 2, 49-54.
22. Chubov, P. N., Yanson, I. K. & Akimenko, A. I. (1982). Electron-phonon interaction in aluminum point contacts. *Sov. J. Low Temp. Phys.*, 8, 32-42.
23. Khotkevich, A.V., Yanson, I.K. (1995). *Atlas of Point Contact Spectra of Electron-Phonon Interactions in Metals*. Boston/Dordrecht/London: Kluwer Academic Publishers.
24. Declaration patent of Ukraine „Solid-state gas sensor” #17424, Bull. #9, 15.09.2006.
25. Kushch, I.G., Korenev, N.M., Kamarchuk, L.V., Pospelov, A.P., Alexandrov, Y.L. & Kamarchuk G.V. (2011). Sensors for Breath Analysis: An Advanced Approach to Express Diagnostics and Monitoring of Human Diseases. In S. Mikhalovsky (Ed.), *Biodefence. NATO Science for Peace and Security Series A: Chemistry and Biology* (pp. 63-75). Luxembourg: Springer Science+Business Media.
26. Jeffers, J.N.R. (1978). *An introduction to systems analysis: with ecological applications*. London: Edward Arnold.
27. Orlov, A. I. (2004). *Mathematics of Chance: Probability and Statistics*. Moscow: MZ-Press.