

DETERMINAÇÃO DE BACTERIAS CAUSADORAS DE DST UTILIZANDO QUIMIOMETRIA E METODOS DE INTELIGENCIA ARTIFICIAL, APLICADO A ESPECTROS NO INFRAVERMELHO MÉDIO.

Jaqueline Aparecida Hidalgo dos Santos¹, Cesar Mello²

Estudante do Curso de Química; e-mail: jaqueline-ahs@hotmail.com¹

Professor da Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail: camello@umc.br²

Área do Conhecimento: Biofísica Molecular

Palavras-chave: Infravermelho médio, DST's, Inteligência Artificial

Área de conhecimento: Ciências exatas e da terra

INTRODUÇÃO

Uma situação muito comum, principalmente em países pobres e países emergentes são as doenças sexualmente transmissíveis (DST's) (FOCACCIA *et. al* 2001; PASSOS *et. al* 2002) causadas basicamente pelos microrganismos *Haemophilus ducreyi*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis* e *Candida albicans*, afetando de modo grave a população mais pobre. O fato mais perigoso é que estas infecções acometem indivíduos jovens que em boa parte dos casos são assintomáticos, nas fases iniciais da doença (principalmente as mulheres), disseminando rapidamente tais DST's. A grande dificuldade encontrada no tratamento destes casos é o tempo necessário para a identificação (DELOST, 1997) da bactéria causadora da infecção, o diagnóstico pode demorar até duas semanas, e se não houver sucesso pode levar até mais tempo, são feitos em meios de cultura que forneçam as características nutricionais e bioquímicas necessárias ao crescimento de colônias (HENRY, 1997). Uma vez desenvolvidas as colônias segue-se a análise morfológica, através de microscopia óptica e a sequencia, de várias etapas de testes bioquímicos e sorológicos utilizando uma série de reagentes, esse método exige mão de obra especializada aumentando os custos. Ainda existem outros métodos, mas muitos deles inviáveis, pois necessitam de mão de obra especializada e são técnicas de elevado custo. A perspectiva de utilização da espectroscopia no infravermelho médio (ZUPAN *et. al* 1994; CHAN *et. al* 1997) para a rápida determinação e quantificação, simultânea de bactérias em meios de cultura sólidos ou líquidos é extremamente atraente dada à simplicidade experimental dos métodos envolvidos, o não uso de reagentes, os baixos limites de detecção possíveis de serem alcançados e principalmente a possibilidade de identificar/quantificar simultaneamente bactérias de um modo extremamente rápido. Utiliza-se aplicação de métodos não lineares de classificação/calibração multivariada (MELLO *et. al* 2005) em que toda a informação contida no espectro, e não somente bandas espectrais características de cada espécie. Isto nos permite modelar sistemas em que há forte sobreposição entre os espectros, bem como relações não lineares entre a resposta espectral e a concentração e tipo dos microrganismos em questão. Elimina-se assim a necessidade de separação/crescimento diferencial dos microrganismos e abre-se a possibilidade de determinações qualitativas e quantitativas em tempos muito reduzidos. Dentre os métodos Quimiométricos não lineares mais eficientes de classificação/calibração multivariada, possíveis de serem aplicados neste caso, destacam-se as redes neurais, (MELLO *et. al* 1999; MELLO *et. al* 2001; PEREIRA FILHO *et. al* 2001) as máquinas suportadas em vetores com mínimos quadrados (LS-SVM) e a teoria da espectroscopia de correlação generalizada em duas dimensões (2D-MID).

OBJETIVO

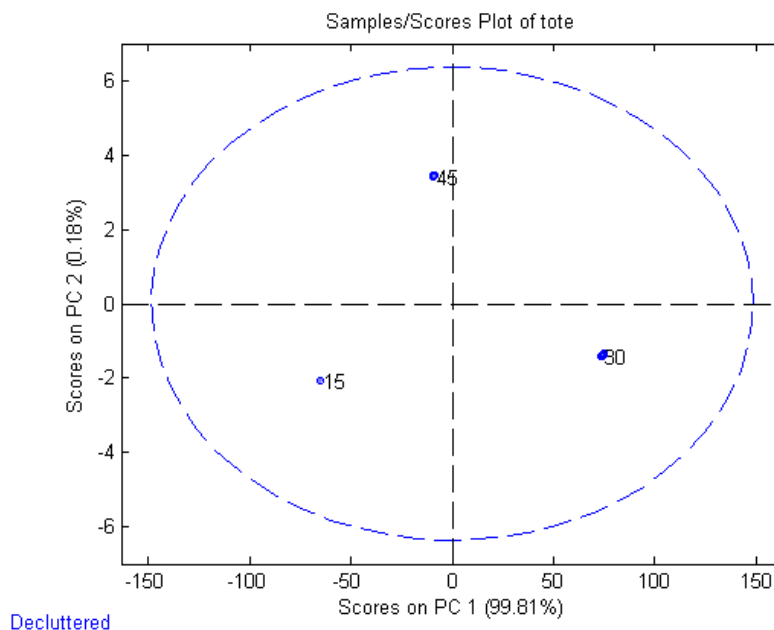
Determinar de modo rápido e eficiente as bactérias causadoras de doenças sexualmente transmissíveis, utilizando infravermelho médio e máquinas suportadas em vetores com mínimos quadrados (LS-SVM)

METODOLOGIA

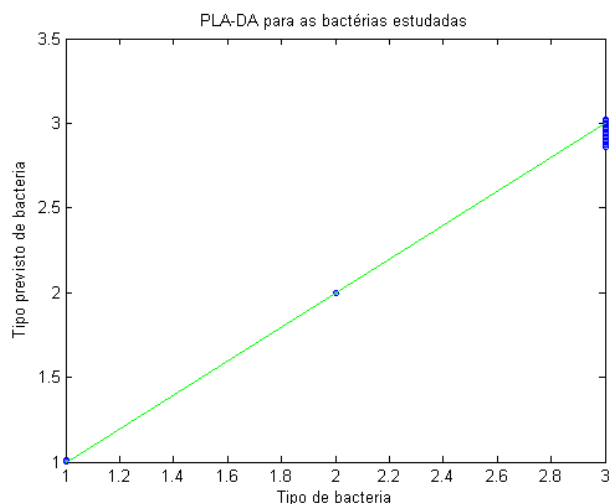
Foram realizadas as culturas das bactérias, cada uma em seu meio e condições adequadas. Após a cultura das bactérias foi obtidos os espectros no infravermelho. Com a alça descartável retiramos algumas colônias (sempre tendo o cuidado de não pegar o meio de cultura junto, para que não ocorresse interferência nos resultados) e espalhamos sobre a placa de ATR multiponto. Cada bactéria foi sujeita ao mesmo processo de análise.

RESULTADOS/DISCUSSÕES

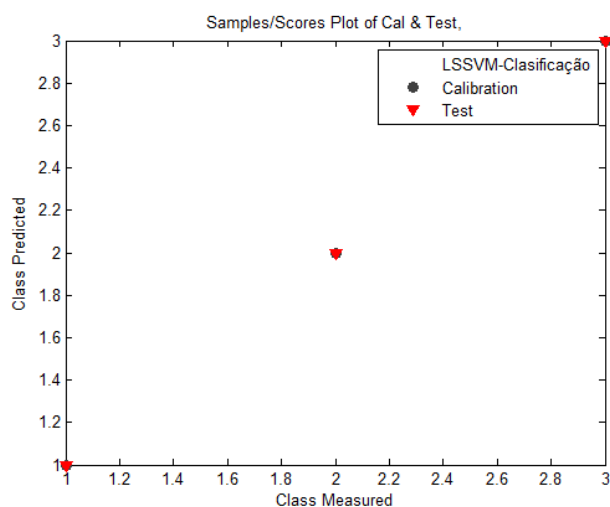
Os espectros de todas as bactérias foram obtidos entre 650 cm^{-1} e 4000 cm^{-1} . Para cada tipo de bactéria foram obtidos 15 espectros sendo que cada espectro foi tomado como a média de três espectros, perfazendo 45 espectros por bactérias. Uma vez obtidos os espectros das bactérias o próximo passo foi efetuar o pré-processamento, dos mesmos para a normalização e a remoção de ruído. O ruído foi minimizado com o filtro de transformada de Fourier e a normalização foi feita entre 0 e 1. Após o pré-processamento passamos para o modelamento de dados e o primeiro método utilizado foi à análise de componentes principais (PCA) para observar se há separação de grupos e a formação de clusters, o resultado está apresentado na Figura abaixo.



Conforme podemos observar, as bactérias formam três grupos absolutamente distintos, os espectros “caíram” sobrepostos, pois o número de espectros era reduzido e o HATH funcionou muito bem. Assim sendo podemos construir um modelo do tipo PLS-DA.



Pode-se observar neste gráfico, que existe uma excelente correlação entre o tipo de bactéria previsto com o observado, havendo uma leve dispersão para a *Cândida Albicans*. Conforme proposto no projeto inicial, conseguimos modelar o sistema com as LSSVM, o modelo foi um pouco melhor que o PLS-DA, pois não houve aquela pequena dispersão para o grupo 3 (*Cândida Albicans*), a qual foi observada no modelo PLS-DA, como apresenta o gráfico abaixo.



CONCLUSÕES

O método de análise utilizando infravermelho médio se demonstrou eficaz na identificação e diferenciação das bactérias, principalmente da *Haemophilus ducreyi*, *Neisseria gonorrhoeae* e *Candida albicans*, pois através dos espectros obtidos é possível diferenciar as bactérias, usando métodos de inteligência Artificial, ou seja, LSSVM e PLS-DA.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FOCACCIA, Roberto; MARQUES Bruno Pompeu e Luis Alberto V. dos Santos, Atlas de DST/EST: Guia Prático e Dificuldade no Diagnóstico, Ed. Atheneu, 2001.

PASSOS, Mauro Romero Leal; ALMEIDA Gutemberg Leão. Atlas de DST e Diagnóstico Diferencial, Ed. Revinter, 1º ed., 2002.

DELOST, Maria Dannesa; "Introduction to diagnostic microbiology", Mosby inc., Saint Louis, 1997.

HENRY, John Bernard, "Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais", Manole, São Paulo, 3^oed., 1997.

ZUPAN, J.; NOVIC, M.; LI, X.; GASTEIGER J. Classification of multicomponent analytical data of olive oils using different neural networks. Anal. Chim. Acta. 292, p. 219-234 1994.

CHAN, Helen; BUTLER, Alexander, FALCK David M.; FREUND; Michael S. Artificial Neural Network Processing of Stripping Analysis Responses for Identifying and Quantifying Heavy Metals in the Presence of Intermetallic Compound Formation. Anal. Chem., Pennsylvania, v 69, p. 2373-2378, 1997.

MELLO, Cesar, LIMA, Silvio L. T.; POPPI, Ronei Jesus. PLS Pruning: a New Approach to Variable Selection for Multivariate Calibration Based on Hessian Matrix of Errors. Anais da 25a RBA Saberes e praticas antropológicas, desafios para o século XXI, USA, v. 76, p. 73-78, 2005.

MELLO, Cesar, ANDRADE, João Carlos de; POPPI, Ronei Jesus; CANTARELLA, H. Pruning Neural Networks for Architecture Optimizations Applied to Near – Infrared Reflectance Spectroscopic Measurements. Determination of the Nitrogen Content in wheat leaves. The Analyst, v. 124, p. 1663-1669, 1999.

MELLO, Cesar; CERQUEIRA, E.O; ANDRADE, João Carlos de; POPPI, Ronei Jesus. Redes Neurais e suas aplicações em calibração multivariada. Química Nova, v. 24, p. 863-864, 2001.

PEREIRA FILHO, Edenir R.; MELLO, Cesar; COSTA FILHO, Paulo A.; POPPI, Ronei J.; ARRUDA, Marco A. Z. Neuro-Genetic approach for Optimisation of the spectrophotometric catalytic determination of cobalt. Analytica Chimica Acta, v. 433,p. 111-117, Amsterdã, 2001.