

**KÖK KANALLARINDA SIKLIKLA GÖRÜLEN ÜÇ MİKROORGANİZMANIN
ELEKTRONİK BURUN SİSTEMİ KULLANILARAK SINIFLANDIRILMASI**
**Classification of Three Microorganism Species Frequently Seen in
Root Canals Using Electronic Nose System**

**Yasemin KAHRAMAN¹, Bekir Hakan AKSEBZECİ², Esmâ KAYA³,
Özgür ER⁴, Hatice ÖZBİLGE⁵**

Özet : Pulpa ve periradiküler doku hastalıklarının çoğu hem aerop hem de anaerop mikroorganizmaları içeren karışık bir mikroflora ile ilişkilidir. Hekim tedavi ile ilgili etkili bir yöntem belirleyebilmek için mikroorganizma varlığı ile endodontik hastalık arasındaki yakın ilişkiyi kavramalıdır.

Endodontik enfeksiyonlardaki bakteri türlerini ortaya çıkarmak için kültür ve moleküler metotlar kullanılmaktadır. Son yıllarda moleküler yöntemlerdeki gelişmelere rağmen her iki metodun da bir takım dezavantajları bulunmaktadır. Elektronik burun (EB) terimi, insan koku duyasunu taklit edebilen bir elektronik sistemi tanımlar. Elektronik burun sistemleri tıp alanında ve mikrobiyolojik araştırmalarda başarıyla kullanılmaktadır. Bu sistemlerinin en önemli özelliği, koku çeşitlerini çok kısa bir süre içerisinde insan burnundaki hassasiyet derecesinde algılayıp ayrıştırabilmesi ve sonucu objektif olarak sunmasıdır. Bu çalışmada, kök kanal enfeksiyonlarında sıklıkla görülen üç mikroorganizma türünün saf kültüründen elektronik burun sistemi kullanılarak koku verileri alınmıştır. Bu veriler Ayırma Analizi (AA) metotları kullanılarak sınıflandırılmış, sınıflandırma işleminde lineer, Mahalanobis ve ikinci dereceden fonksiyonlar (quadratic) olmak üzere 3 ayrı metodun performansı incelenmiştir. Mahalanobis ve ikinci dereceden fonksiyonlar kullanarak gerçekleştirilen AA ile sınıflandırmada % 100 başarı elde edilmiştir. Bu çalışma ile EB cihazının, mikroorganizma süspansiyonlarının sınıflandırılmasındaki kullanımı araştırılmıştır.

Anahtar kelimeler: Elektronik burun, kök kanal enfeksiyonu, mikrobiyoloji, bakteri, mantar

Summary: Most diseases of pulp and periradicular tissues are associated with mixed microflora including both aerobic and anaerobic microorganisms. Clinicians must understand the close relationship between the presence of microorganisms and endodontic disease process to determine an effective procedure with respect to the treatment. Culture and molecular methods are used to detect bacterial species in root canal infections. Despite the advances in molecular methods recently, both the culture and the molecular methods have several disadvantages. The term electronic nose describes an electronic system that is able to mimic the human sense of smell. Electronic nose systems have already been used with success in the medical science and microbiological research. The most important property of electronic nose systems is the ability to detect different odour types in a short period of time with almost sensitivity of human nose. Furthermore, the result of process using electronic nose system is objective. In this study, odour data was taken by using an electronic nose equipment from pure cultures of three microorganisms which are frequently seen in root canal infections. These data were classified using Discriminant Analysis (DA) and investigated the performance of several subtypes of DA algorithm namely linear, Mahalanobis and quadratic. The success rate acquired from the classification using Mahalanobis and quadratic approach of DA was 100%. In this study, the use of electronic nose in the classification of microorganism suspensions was investigated.

Keywords: Electronic nose, root canal infection, microbiology, bacteria, fungi

¹ Dt.Erciyes Ün.Diş Hek.Fak.Diş Has.ve Ted.AD, Kayseri

² Arş.Gör.Dr.Erciyes Ün.Müh.Fak.Kayseri

³ Yrd.Doç.Dr.Erciyes Ün.Eczacılık.Fak, Far.Mik. AD, Kayseri

⁴ Doç.Dr.Erciyes Ün.Diş Hek.Fak.Diş Has.Ted.AD, Kayseri

⁵ Prof.Dr.Erciyes Ün.Eczacılık.Fak, Far.Mik. AD, Kayseri

Geliş Tarihi : 27.05.2010 Kabul Tarihi : 08.07.2011

* Bu araştırma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından SBT.07.38 nolu proje ile Doktora tezi olarak desteklenmiştir.

Pulpa patolojilerinin ve periapikal lezyonların birincil etiyolojik nedeni mikroorganizmalardır (1, 2). Ağız kavitesinden 300'den fazla bakteri türünün kültürü yapılabilirken, kök kanal enfeksiyonlarında sadece sınırlı sayıda bakteri türü izole edilmektedir (3). Bu mikroorganizmalardan en sık görülenler: *Streptococcus*, *Fusobacterium*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Eubacterium*, *Peptostreptococcus*, *Bacteroides*, ve *Lactobacillus* türleridir (3, 4). Yapılan araştırmalarda, enfekte kök kanallarında zorunlu anaeroplardan baskın mikroorganizmalar oldukları, *Enterococcus faecalis* gibi fakültatif anaerop bakteriler ve ayrıca çeşitli maya hücrelerinin de bulunduğu bildirilmiştir (5, 6).

Hastalık sürecine dahil olan mikroorganizmaların hızlı ve doğru olarak belirlenmesi, yalnızca etkili bir antimikrobiyal tedavi için değil aynı zamanda hastalığın başlangıç ve ilerleyişini kavramak için de gereklidir. Patogen mikroorganizmaların belirlenmesinde kültür yapılmakta ve son yıllarda da moleküler tekniklerden sıkça faydalanılmaktadır (7). Ancak oldukça pahalı ve zahmetli yöntemler olmalarından dolayı hem kültür yöntemleri hem de moleküler yöntemler klinikte rutin olarak kullanılmamaktadır.

Kimyasal sensör sistemlerindeki ve teknolojideki ilerlemelere bağlı olarak son yıllarda geliştirilmiş olan EB sistemleri tıp, gıda, çevre vb. pek çok alanda hızlı ve basit koku analizini mümkün kılmakta ve bu sistemlerin mikroorganizmaların tespiti ve sınıflandırmasında kullanılabileceği düşünülmektedir (8). EB cihazları, kokuların ve uçucu organik bileşiklerin analizinde kullanılmaktadır. Bu cihazlar bir dizi kimyasal sensör içermektedirler. Kimyasal sensörler, "kimyasal algılama yüzeyi" ve "kimyasal etkileşimi elektriksel işarete dönüştürme birimi" olmak üzere iki kısımdır (9).

EB sistemleri tıp alanında; boşaltım sistemi enfeksiyonlarının algılanmasında (10), nefes örneklerinden solunum enfeksiyonlarının tespitinde (11), akciğer kanserinin teşhisinde (12), böbrek hastalığı teşhisinde (13) kullanılmıştır.

Ayrıca, kulak-burun-boğaz ve göz enfeksiyonlarına sebep olan bakterilerin sınıflandırılmasında (14, 15) ve kulak-burun-boğaz enfeksiyonunun klinik olarak teşhisinde (16), hastane ortamındaki *Staphylococcus aureus* enfeksiyonlarının tespitinde (17), mikroorganizmaların sınıflandırılmasında (18), koliform bakterilerin algılanması ve ayırt edilmesinde (19), anaerop bakterilerin ayırt edilmesinde (20) kullanılmıştır.

Bu çalışmanın amacı kök kanalında sıklıkla görülen mikroorganizmalardan *E. faecalis*, *Porphyromonas gingivalis* ve *Candida albicans*'ın elektronik burun sistemi kullanılarak sınıflandırılmasıdır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada 2 bakteri (*E. faecalis*, *P. gingivalis*) ve 1 maya (*C. albicans*) olmak üzere toplam 3 mikroorganizma suşu kullanıldı. *C. albicans*, *E. faecalis* ve *P. gingivalis*, ATCC (American Type Culture Collection)'den elde edilen standart suşlardır. Çalışılan mikroorganizma türleri, üreme ortamları, ekim yapılan besiyerleri, inkübasyon koşulları ve standart suş numaraları Tablo 1'de verilmiştir. Kültürde üretilen mikroorganizmaların türbidometre cihazı (BD, PhoenixSpec, Nephelometer, USA) kullanılarak 4 ml serum fizyolojik içeren ağız kapaklı steril cam tüplerde, 4 McFarland (12×10^8 cfu/ml) standart bulanıklıkta süspansiyonları hazırlandı.

Mikroorganizma kültürlerinin kokularına göre sınıflandırılmasında Cyranose 320 (Smiths Detection, Hertfordshire, UK) adlı EB cihazı kullanıldı. Taşınabilir boyutlara sahip olan bu cihaz, 32 adet karbon-polimer sensör içermektedir. Bu sensörler kokuya maruz kaldıklarında direnç değerlerinde değişim meydana gelmektedir. Sensörlerin direnç değerleri, gerçek zamanlı olarak bilgisayara aktarıldı. EB cihazı ile koku verileri alınmaya başlamadan önce, her numune (cam tüp) kapağı açılarak 5 dakika ağız kilitli bir naylon torbada bekletildi. Daha sonra EB cihazının probu torba içerisine geçirilerek verilerin alınmasına başlandı. Mikroorganizmaların kokularının karışması olasılığına karşı her bir mikroorganizma türü farklı günlerde çalışıldı.

Tablo I. Çalışılan mikroorganizma türleri ve özellikleri

Grup no	Mikroorganizma	Türü	Üreme ortamı	Kültür besiyerleri	İnkübasyon koşulları	Standart Suş No
1	<i>C. albicans</i>	Maya	Aerop	Sabouraud dextrose agar	24-48 saat 37 °C	ATCC 90028
2	<i>P. gingivalis</i>	Gr (-) Bakteri	Anaerop	Non-selektif anaerop besiyeri	4-6 gün 37 °C	ATCC 33277
3	<i>E. faecalis</i>	Gr (+) Bakteri	Fakültatif anaerop	Kanlı agar	24 saat 37 °C	ATCC 29212

Veri seti; 3 farklı mikroorganizmanın kültür numuneleri ile saf serum fizyolojikli (SF) bir numunenin koku verilerini içermektedir. Her numuneden 5 koku verisi (sample) alınarak, toplam 20 koku verisi üzerinde çalışıldı. Veriler alınırken EB cihazının tüm sensörleri (32 sensör) aktif halde tutuldu. Bir koku verisinin alımı toplam 40 saniye sürdü. Bunun ilk 10 saniyesinde cihaz sensörlerini ortam havası ile temizledi, sonraki 20 saniye boyunca numunenin kokusunu aldı ve son 10 saniyede de tekrar sensörlerini ortam havası ile temizledi. Her bir koku verisine sensör modeli uygulanarak, her koku verisinin bir vektör matris halinde temsil edilmesi sağlandı. Bu sensör modeli; sensörlerin maksimum ve minimum direnç değerleri arasındaki farkın, minimum direnç değerine

$(R_{sample}^{max} - R_{sample}^{min})$ oranı ile elde edildi. Aşağıdaki

ifadelerde bulunan x_i ; $i=1,2,3,...,20$ olmak üzere sensör modeli uygulanmış her bir koku verisini temsil etmektedir.

$$x_i = (R_{sample}^{max} - R_{sample}^{min}) / R_{sample}^{min} \quad i = 1,2,3,...,20$$

Sensör modeli uygulanmış olan koku veri setinin örnek sayısı ($n=20$) özellik sayısına ($d=32$) göre fazla olduğu için Temel Bileşenler Analizi (Principal Component Analysis - TBA) uygulanarak, sınıflandırıcıda ilk 3 temel bileşen göz önüne alındı.

Koku verilerinin sınıflandırılmasında Ayırma Analizi (Discriminant Analysis - AA), kullanıldı. AA veri setindeki değişkenlerin k sayıda gruba ayrılmasını sağlayan ve veri setini oluşturan birimlerin gerçek gruplarına, sınıflarına optimal düzeyde atanmalarını sağlayacak fonksiyonlar türeten bir yöntemdir (21).

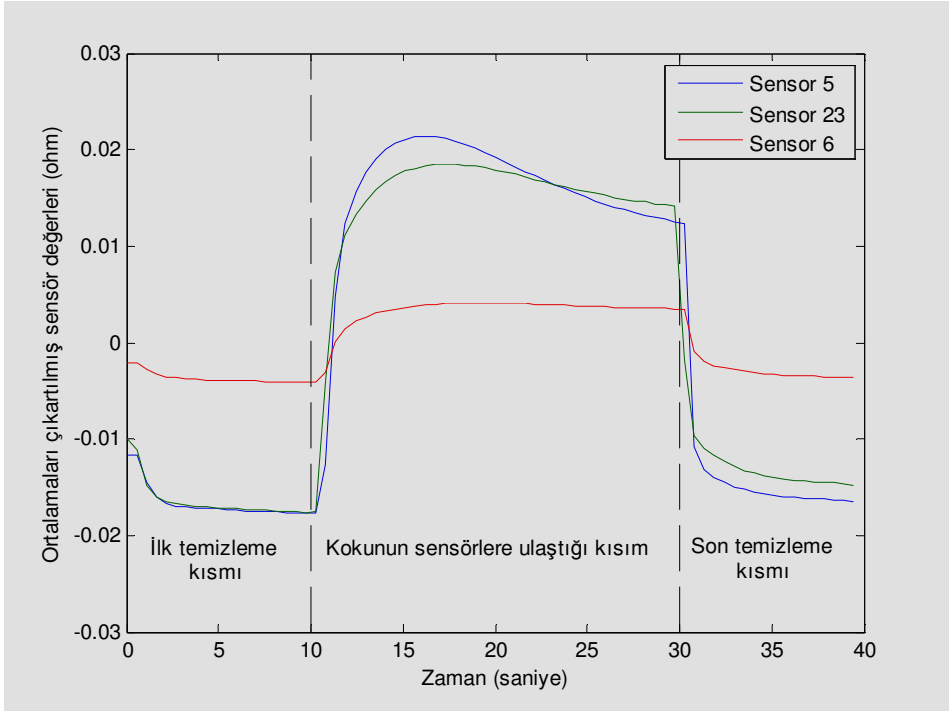
BULGULAR

Veri seti; 3 farklı mikroorganizmanın kültür numuneleri ile saf SF'li bir numunenin koku verilerini içermektedir. Şekil 1'de *C. albicans*'a ait 12×10^8 cfu/ml yoğunluktaki numuneden alınan ilk koku verisinin, en fazla direnç değişimi gösteren 3 sensörün zamana bağlı direnç değişim grafiği görülmektedir. Şekil 2'de ise koku verilerinin TBA uygulandıktan sonraki ilk iki bileşene göre dağılımı görülmektedir.

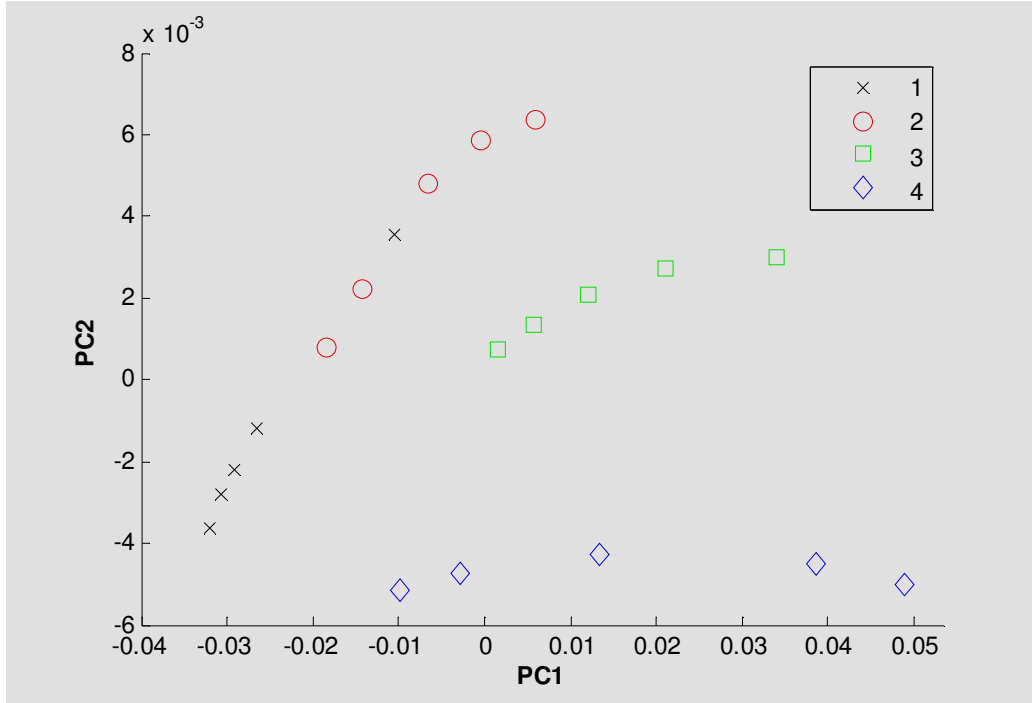
AA kullanılarak veri setleri 4 gruba sınıflandırıldı. AA ile sınıflandırma işleminde lineer, Mahalanobis ve ikinci dereceden fonksiyonlar (quadratic) olmak üzere 3 ayrı yöntem kullanıldı. Bu yöntemlere göre, veri setinin yüzde olarak sınıflandırma eğitim başarı oranları Tablo II'de verilmiştir. Bu tablodan görüldüğü üzere, lineer yöntemin haricindeki diğer iki yöntem kullanılarak verilerin sınıflandırılmasında %100 başarı elde edildi.

Tablo II. Veri setinin AA ile 4 gruba sınıflandırılmasındaki yüzde olarak eğitim başarı oranları

Yöntem	Sınıflandırma başarı oranı
Lineer	%90
Mahalanobis	%100
Quadratic	%100



Şekil 1. *C. albicans*'a ait bir numuneden alınan koku verisinin, en fazla değişim gösteren 3 sensöre göre grafiği



Şekil 2. Koku verilerinin TBA uygulandıktan sonraki ilk iki bileşene göre grafiği.
(1: SF, 2: *C. albicans*, 3: *P. gingivalis*, 4: *E. faecalis*)

TARTIŞMA

Pulpa ve periradiküler hastalıklara mikroorganizmaların neden olduğu bilinmektedir (22, 23). Bu mikroorganizmaların doğru olarak belirlenmesi tedavinin başarısı bakımından önemlidir.

E. faecalis kök kanal başarısızlığında genellikle yüksek oranda bulunmakta ve kök kanalında tek mikroorganizma olarak veya floranın major komponenti olarak yaşayabilmektedir (24).

P. gingivalis, apseli dişleri de kapsayan semptomatik periradiküler lezyonlarla ilişkilendirilmiştir (25, 26).

C. albicans daha önce tedavi edilmemiş enfekte kök kanallarında ya da tedavisi başarısız olmuş vakaların yer aldığı çeşitli çalışmalarda tespit edilmiştir (27, 28).

Bu çalışmada kök kanalında görülen mikroorganizmalardan *E. faecalis*, *P. gingivalis*, *C. albicans* geleneksel kültür yöntemleri ve moleküler yöntemlerden farklı olarak EB sistemi ile sınıflandırılmıştır. EB, ne olduğu bilinmeyen gaz halindeki maddelerde bulunan kimyasalların hızla tasnif edilmesi için geliştirilmiş elektronik bir alettir. Bu alet, "koklayabilen" ve farklı kokular için farklı profiller ortaya çıkaran sensör teknolojisine dayanır (29).

Günümüzde EB sistemleri, askeri alanda, uzay araştırmalarında, gıda, çevre sağlığı ve tıp alanında kullanılmakla birlikte, son yıllarda medikal teşhis alanı bu sistem için gelecek vadeden bir uygulama alanı olarak ortaya çıkmaktadır. Halen EB sisteminin klinik uygulamaları ya da diğer bir deyişle hastalıkları teşhis etme yeteneği konusunda büyük bir merak vardır. Bazı hastalıklar karakteristik kokularla ilişkilendirilmiştir, örneğin, diyabet nefeste bir aseton kokusuna neden olur ya da mide rahatsızlıkları ağız kokusu ile ilişkilendirilir. Akciğer, karaci-

ğer ya da bağırsak kanserleri gibi diğer hastalıklar da karakteristik kokulara neden olurlar (12).

Kök kanal enfeksiyonları zorunlu ve fakültatif anaerop bakterilerin baskın olduğu karışık ve semispesifik enfeksiyonlardır (30). Enfekte kök kanalı ortalama 1-12 farklı tür bakterinin bulunduğu polimikrobiyal bir floradan oluşur (31). Bu çalışmada endodontik patojen mikroorganizmalardan 2 bakteri (*E. faecalis*, *P. gingivalis*) ve 1 maya (*C. albicans*) kullanıldı. Bu mikroorganizmalardan *E. faecalis* fakültatif anaerop, *P. gingivalis* anaerop ve *C. albicans* aerop olup kök kanal enfeksiyonlarının polimikrobiyal doğası ile uyumludur.

Çalışmanın *in vitro* yapılmasının nedeni, bu konuda kök kanal patojenleri ile yapılmış çalışma bulunmaması ve elde edilen sonuçlara göre ileride yapılacak *in vivo* çalışmalara rehberlik etmesidir. Ayrıca ilk etapta hastaya ve ortama bağlı faktörlerin elimine edilebilmesi için kök kanal patojeni olduğu bilinen mikroorganizmalar laboratuvar ortamında test edilmiştir.

Bazı endodontik enfeksiyonlarda karşılaşılan kötü koku, araştırmacının subjektifliği nedeni ile çok fazla araştırılmamıştır. Bu çalışmada endodontik patojen mikroorganizmalardan üç tanesinin kokuları EB sistemi ile objektif olarak test edilmiştir.

Çalışmada bütün mikroorganizmalar kendi üreme şartlarına uygun besi yerlerinde üretildikten sonra, EB sisteminde besi yerlerinin çeşitliliğinden kaynaklanabilecek koku farklarını ortadan kaldırmak ve standardizasyonu sağlamak için her bir mikroorganizma serum fizyolojik içeren tüplere inokule edildi. Çeşitli bakterilerin EB sistemi ile değerlendirildiği benzer çalışmalarda (15, 16, 32, 33) da serum fizyolojik tercih edilmiştir.

Bu çalışma ile EB cihazının, mikroorganizma süspansiyonlarının Mahalonobis ve quadratic yöntemlerle sınıflandırılmasında %100 başarı elde edilmiştir. Veri setinin küçüklüğü yüzünden bu çalışmada test için veri ayrılmamıştır. Sınıflandırma başarısının yüksekliği bu yüzden fazla iyimser bir sonuç olarak düşünülebilir. Bundan sonraki çalışmalarda, veri setindeki örnek sayısı artırılarak, bu çalışmada iyi sonuçlar elde edilen sınıflandırma yöntemlerinin kullanılması düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Nair PN, Sjögren U, Gunthild K, Kahnberg K.E, Sundqvist G. Intraradicular bacteria and fungi in root-filled, asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: A long-term light and electron microscopic follow-up study. *J Endod* 1990; 16: 580- 588.
2. Miller W. An introduction in the study of the bacteriopathology of the dental pulp. *Dent Cosmos* 1894; 36: 505- 527.
3. Sundqvist G. Taxonomy, ecology, and pathogenicity of the root canal flora. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1994; 78: 522- 530.
4. Le Goff A, Bunetel L, Mounton C, Bonnaure-Mallet M. Evaluation of root canal bacteria and their antimicrobial susceptibility in teeth with necrotic pulp. *Oral Microbiol Immunol* 1997; 12: 318- 322.
5. Chavez de Paz L. Gram-Pozitive organisms in endodontic infections. *Endod Topics* 2004; 9: 79- 96.
6. Waltimo TM, Siren EK, Torkko HL, Olsen I, Haapasalo MP. Fungi in therapy-resistant apical periodontitis. *Int Endod J* 1997; 30: 96- 101.
7. Zambon JJ, Haraszthy VI. The laboratory diagnosis of periodontal infections. *Periodontol* 2000 1995; 7: 69- 82.
8. Röck F, Barsan N, Weimar U. Electronic nose: current status and future trends. *Chem Rev* 2008; 108: 705- 725.
9. James D, Scott SM, Zulfiqur A, O'Hare WT. Chemical sensors for electronic nose systems. *Microchimica Acta* 2005; 149: 1- 17.
10. Pavlou A.K, Magan N, McNulty C, Jones J.M, Sharp D, Brown J, Turner A.P.F. Use of an electronic nose system for diagnoses of urinary tract. *Biosens Bioelectron* 2002; 17: 893- 899.

11. Gardner J.W, Shin H.W, Hines E.L. An electronic nose system to diagnose illness. *Sensor Actuat B-Chem* 2000; 70: 19- 24.
12. Natale C.D, Macagnano A, Martinelli E, Paolesse R, D'Arcangelo G, Roscioni CA, Agro F, D'Amico A. Lung cancer identification by the analysis of breath by means of an array of non-selective gas sensors. *Biosens Bioelectron* 2003; 18: 1209- 1218.
13. Lin Y.J, Guo H.R, Chang Y.H, Kao M.T, Wang H.H, Hong R.I. Application of the electronic nose for uremia diagnosis. *Sensor Actuat B-Chem* 2001; 76: 177- 180.
14. Dutta R, Hines EL, Gardner JW, Boilot P. Bacteria classification using Cyranose 320 electronic nose. *BioMed Eng OnLine* 2002; 1: 1- 4.
15. Boilot P, Hines EL, Gardner JW, Pitt R, John S, Mitchell J, Morgan DW. Classification of bacteria responsible for ENT and eye infections using the Cyranose system. *IEEE Sens J* 2002; 2: 247- 253.
16. Shykhon ME, Morgan DW, Dutta R, Hines EL, Gardner JW. Clinical evaluation of the electronic nose in the diagnosis of ear, nose and throat infection: a preliminary study. *2004 J Laryngol Otol* 118; 706- 709.
17. Dutta R, Morgan D, Baker N, Gardner JW, Hines EL. Identification of *Staphylococcus aureus* infections in hospital environment: electronic nose based approach. *Sensor Actuat B-Chem* 2005; 109: 355- 362.
18. Gibson TD, Prosser O, Hulbert JN, Marshall RW, Corcoran P. Detection and simultaneous identification of microorganisms from headspace samples using an electronic nose. *Sensor Actuat B-Chem* 1997; 44: 413- 422.
19. McEntegart CM, Penrose WR, Strathmann S, Stetter JR. Detection and discrimination of coliform bacteria with gas sensor arrays. *Sensor Actuat B-Chem* 2000; 70: 170- 176.
20. Pavlou A, Turner APF, Magan N. Recognition of anaerobic bacterial isolates in vitro using electronic nose technology. *Lett Appl Microbiol* 2002; 35: 366- 369.
21. Özdamar K. Paket programlar ile istatistiksel veri analizi. 5. Baskı. Kaan kitabevi, Eskişehir, 2004; ss 355- 415.
22. Baumgartner JC, Hutter JW. Endodontic microbiology and treatment of infections. In Cohen S, Hargreaves KM eds. *Pathways of the pulp 9th edn*, Mosby, Philadelphia, 2006; pp 580- 607.
23. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg* 1965; 20: 340- 349.
24. Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ. *Enterococcus faecalis*: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. *J End* 2006; 32: 93- 98.
25. Sundqvist G, Söhanesson E, Sjögren U. Prevalance of black pigmented bacteriodes species in root canal infections. *J Endod* 1989; 15: 13- 19.
26. Roças IN, Siqueira JF Jr, Andrade AFB, Uzeda M. Identification of selected putative oral pathogens in primary root canal infections associated with symptoms. *Anaerobe* 2002; 8: 200- 208.
27. Baumgartner JC, Watts CM, Xia T. Occurrence of *Candida albicans* in infections of endodontic origin. *J Endod* 2000; 26: 695- 698.
28. Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjögren U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998; 85: 86- 93.
29. Neiders M, Brigitte R. Operation of bad breath clinics. *Proceedings of the Third International Conference on Breath Odor. Quintessence Int* 1999; 30: 295- 301.

30. Siqueira JF Jr. Endodontic infections: concepts, paradigms, and perspectives. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002; 94: 281- 293.
31. Sundqvist G, Figdor D. Life as an endodontic pathogen. *Endod Topics* 2003; 6: 3- 28.
32. Lai SY, Deffenderfer OF, Hanson W, Philips MP, Thaler ER. Identification of upper respiratory bacterial pathogens with the electronic nose. *The Laryngoscope* 2002; 112: 975- 979.
33. Dutta R, Das A, Stocks NG, Morgan D. Stochastic resonance-based electronic nose: A novel way to classify bacteria. *Sensor Actuat B -Chem* 2006;115:17- 27.