

БИОСЕНСОРНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В МЕДИЦИНЕ: ОТ ДЕТЕКЦИИ БИОХИМИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ДО ИССЛЕДОВАНИЯ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МИШЕНЕЙ (ОБЗОР)

DOI: 10.17691/stm2020.12.6.09

УДК 61:004.418:574:543

Поступила 14.12.2019 г.



Б.Г. Андруков, д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии;
И.Н. Ляпун, к.б.н., научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии;
Е.В. Матосова, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии;
Л.М. Сомова, д.м.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии

НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова, ул. Сельская, 1, Владивосток, 690087

Инфекции являются одной из основных причин преждевременной смертности. Быстрая и точная лабораторная диагностика инфекционных заболеваний — ключевое условие своевременного начала и успешности лечения. Потенциально она способна снизить заболеваемость, а также предотвратить формирование и распространение опасных эпидемий. Традиционные методы лабораторной диагностики инфекционных заболеваний достаточно длительны и трудоемки, требуют дорогостоящего оборудования и подготовленного персонала, что в условиях ограниченных ресурсов имеет определяющее значение. Альтернативой служат быстрые методы с использованием биосенсоров, объединяющие диагностические возможности биомедицины с современными технологическими достижениями микроэлектроники, оптоэлектроники и нанотехнологий.

Современные достижения в области создания биосенсоров без меток позволяют рассматривать их в качестве перспективных диагностических инструментов, сочетающих скорость обнаружения специфических молекулярных маркеров, простоту, удобство для пользователя, эффективность, точность и экономичность с тенденцией на создание портативных платформ. Эти качества превосходят общепринятые стандарты микробиологической и иммунологической диагностики, открывают широкую перспективу использования этих аналитических систем в клинической практике непосредственно на месте оказания медицинской помощи (концепция point-of-care, ПОС).

Большое разнообразие современных конструкций биосенсоров основано на использовании широкого формата аналитических и технологических стратегий, выявлении различных регуляторных и функциональных молекулярных маркеров, связанных с инфекционными патогенами. Решение существующих проблем биосенсоринга открывает широкие перспективы для этих быстро развивающихся диагностических биотехнологий.

Ключевые слова: биосенсоры; биосенсор без меток; лабораторная диагностика; инфекционные заболевания; сенсорные стратегии; молекулярные маркеры.

Как цитировать: Andryukov B.G., Lyapun I.N., Matosova E.V., Somova L.M. Biosensor technologies in medicine: from detection of biochemical markers to research into molecular targets (review). *Sovremennye tehnologii v medicine* 2020; 12(6): 70–85, <https://doi.org/10.17691/stm2020.12.6.09>

Для контактов: Андруков Борис Георгиевич, e-mail: andrukov_bg@mail.ru

Biosensor Technologies in Medicine: from Detection of Biochemical Markers to Research into Molecular Targets (Review)

B.G. Andryukov, MD, DSc, Leading Researcher, Laboratory of Molecular Microbiology;
I.N. Lyapun, PhD, Researcher, Laboratory of Molecular Microbiology;
E.V. Matosova, Junior Researcher, Laboratory of Molecular Microbiology;
L.M. Somova, MD, DSc, Professor, Chief Researcher, Laboratory of Molecular Microbiology

G.P. Somov Institute of Epidemiology and Microbiology, 1 Selskaya St., Vladivostok, 690087, Russia

Infections are a major cause of premature death. Fast and accurate laboratory diagnostics of infectious diseases is a key condition for the timely initiation and success of treatment. Potentially, it can reduce morbidity, as well as prevent the outbreak and spread of dangerous epidemics. The traditional methods of laboratory diagnostics of infectious diseases are quite time- and labour-consuming, require expensive equipment and trained personnel, which is crucial within limited resources. The fast biosensor-based methods that combine the diagnostic capabilities of biomedicine with modern technological advances in microelectronics, optoelectronics, and nanotechnology make an alternative.

The modern achievements in the development of label-free biosensors make them promising diagnostic tools that combine rapid detection of specific molecular markers, simplicity, ease-of-use, efficiency, accuracy, and cost-effectiveness with the tendency to the development of portable platforms. These qualities exceed the generally accepted standards of microbiological and immunological diagnostics and open up broad prospects for using these analytical systems in clinical practice directly at the site of medical care provision (point-of-care, POC concept).

A wide variety of modern biosensor designs are based on the use of diverse formats of analytical and technological strategies, identification of various regulatory and functional molecular markers associated with infectious pathogens. The solution to the existing problems in biosensing will open up great prospects for these rapidly developing diagnostic biotechnologies.

Key words: biosensors; label-free biosensor; laboratory diagnostics; infectious diseases; sensory strategies; molecular markers.

Введение

С возникновением и распространением пандемий инфекций, унесших сотни миллионов жизней, связаны самые страшные трагедии человечества за последние столетия. Несмотря на очевидные успехи глобальной системы здравоохранения, опасность возникновения эпидемий известных, новых и возвращающихся инфекций остается серьезной угрозой населению планеты. Бактериальные и вирусные инфекционные болезни с фекально-оральным механизмом заражения ежегодно уносят около 2 млн. жизней. Недавние вспышки лихорадки Эболы, Зики, Денге, ближневосточного респираторного синдрома, тяжелого острого респираторного синдрома и гриппа H5N1, а также нарастающая устойчивость бактерий к антимикробным препаратам повышают актуальность поиска новых эффективных диагностических инструментов, направленных на раннее и быстрое обнаружение патогенов [1–3].

По мере углубления наших знаний о сложных биохимических процессах, лежащих в основе патогенеза инфекционных процессов, появилась необходимость в создании более чувствительных и высокоспецифичных диагностических стратегий. Они основаны на определении молекулярных маркеров, на профи-

лировании микроорганизмов без культивирования, обогащения и выделения чистых культур. Эти методы станут идеальными аналитическими инструментами для борьбы с патогенными микроорганизмами и создадут основу для выявления взаимосвязи между молекулярными структурами и биологическими процессами [1, 4, 5].

Классические микробиологические и иммунологические методы, а также современные диагностические платформы, такие как ИФА и хемилюминесцентный анализ, ПЦР, проточная цитометрия и масс-спектрометрия (MALDI), переход на которые произошел в последние десятилетия, доминируют при необходимости точной верификации возбудителей инфекций в централизованных лабораториях медицинских стационаров и центров. Однако эти диагностические инструменты требуют дорогостоящего оборудования, длительного времени тестирования и квалифицированного персонала, не всегда доступны для небольших стационаров, особенно в условиях ограниченных экономических ресурсов и децентрализованной инфраструктуры медицинских учреждений [4, 6, 7].

Появившиеся в последние годы и активно развивающиеся биосенсорные технологии служат

инновационными платформами для анализа биомаркеров инфекционного процесса, обладают высоким потенциалом, чтобы стать доступными, быстрыми и надежными в эксплуатации, высокоспецифичными и чувствительными инструментами своевременной и достоверной диагностики бактериальных и вирусных заболеваний [8, 9]. Экономическая целесообразность и простота использования этих портативных аналитических систем полностью соответствуют современной мировой концепции point-of-care testing (лабораторное тестирование по месту лечения).

Современные диагностические технологии на основе концепции point-of-care

В мировой практике диагностики инфекционных заболеваний все большее значение приобретает стратегия point-of-care, основанная в том числе и на современных молекулярных диагностических технологиях, подразумевающих проведение лабораторного тестирования медицинским персоналом у постели больного или самоконтроль определенных лабораторных показателей пациентами на дому [8, 9].

Среди диагностических платформ-предшественников этой инновационной стратегии можно назвать качественные и полуколичественные тест-системы для определения специфических антигенов [9] и антител

[10], а также продуктов генной амплификации [11, 12], основанные на латекс-агглютинации, иммунохроматографии и вариациях иммуноанализа бокового потока (lateral flow assay, LFA; lateral flow immunoassay, LFIA), которые не потеряли своего значения для диагностики инфекционных заболеваний и в наши дни [10, 11, 13–16] (рис. 1).

Например, в недавнем исследовании С.С. Jørgensen с коллегами [17] успешно протестировали первый коммерческий комбинированный тест, основанный на обнаружении в моче антигенов *Streptococcus pneumoniae* и *Legionella pneumophila* методом LFIA. Это увеличило популярность универсальной технологии, в равной степени эффективной в формате сэндвич-анализа как для высокомолекулярных антигенов микроорганизмов и антител к ним в биосубстратах, так и для низкомолекулярных аналитов [16, 18–20].

На сегодняшний день большую часть мирового сегмента лабораторной экспресс-диагностики занимают тест-системы, основанные на технологии LFIA как в стандартном, так и в мультиплексном формате [14, 16, 18, 19]. Однако при очевидной привлекательности технологий LFA и LFIA существенные недостатки иммуноанализа сдерживают расширение практического использования этих платформ при диагностике бактериальных и вирусных инфекций (табл. 1).

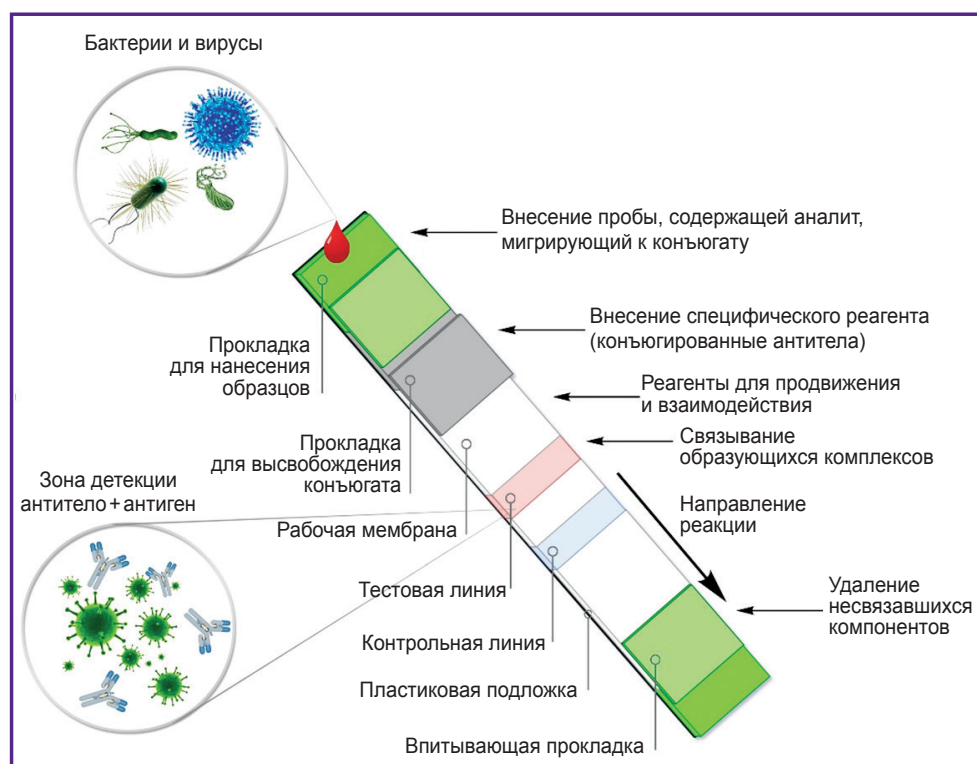


Рис. 1. Схематическое представление механизма иммуноанализа бокового потока
Образец (проба), содержащий исследуемый антиген (аналит), наносится на прокладку для нанесения образца и мигрирует к конъюгату. Специфический реагент с целевым аналитом мигрируют к тестовой линии, где образуют комплекс с антителами (рисунок авторов)

Таблица 1

Преимущества и недостатки тест-систем на платформе иммуноанализа бокового потока

| Преимущества | Недостатки | Источники |
|---|---|--|
| Дешевые, быстрые и простые в исполнении тесты; длительные сроки годности тест-систем | Подходят только для первичного скрининга и требуют подтверждения положительных результатов независимыми методами | [13, 17] |
| Не требуют специальных температурных условий хранения | Для получения количественных результатов необходимо специальное оборудование (сканеры, рефлектометры, ССD-камеры) и программное обеспечение | [16, 20] |
| Не требуют дополнительного специального оборудования | Технологическое усовершенствование метода увеличивает стоимость и продолжительность анализа | [14, 18] |
| Не нуждаются в квалифицированных специалистах; могут использоваться врачами общей практики или пациентами на дому | В конкурентном формате ответ отрицательно коррелирует с концентрацией | [15, 19, 21] |
| Визуальный результат ясен и легко различим | Возможные технические ошибки при нанесении образца могут повлиять на точность и воспроизводимость результата | [18, 19, 21] |
| Тесты обычно продаются в виде наборов с комплектом всех предметов, необходимых для выполнения теста | Повышение чувствительности тестов связано с использованием наночастиц золота и серебра или фермента, что ограничивает срок годности, увеличивает стоимость анализа и нарушает одностадийность | [15, 19, 21] |
| Возможно увеличение чувствительности тест-систем за счет использования плазмонного резонанса, рамановской спектроскопии комбинационного рассеяния (SERS), хемилюминесцентной или флуоресцентной метки | Исследуемый образец должен быть в виде раствора. Предварительное растворение сухих образцов обязательно При низком содержании аналита в растворе требуется концентрирование образца | [13, 15–17, 21] [13–15, 18, 21] |

Биосенсорные технологии

Благодаря впечатляющим успехам молекулярной биологии и нанотехнологии с начала XXI в. все большее развитие и диагностическое применение как *in vitro*, так и *in vivo* приобретают биосенсоры. За последние 10–15 лет исследование и разработка этих высокоселективных аналитических устройств стали популярным и наиболее активно развивающимся биотехнологическим трендом, наиболее привлекательной альтернативой методам иммуноанализа бокового потока [22, 23].

С внедрением в лабораторную практику этих быстродействующих, чувствительных и недорогих автономных датчиков связывают в ближайшей перспективе появление наиболее прогрессивных достижений в различных биотехнологических областях, включая здравоохранение. Биосенсоры продемонстрировали огромный потенциал для применения в медицинской лабораторной диагностике, в том числе как инструмент для одномоментного выявления в режиме реального времени нескольких маркеров бактериальных

и вирусных инфекций. Микроорганизмы состоят из широкого спектра макромолекул с электрохимически активными группами, которые могут реагировать со свободными электронами поверхности электродов [22, 23]. Контролируя эти процессы с помощью физико-химических методов, можно обнаруживать и изучать инфекционные патогены. При этом изменение температуры и pH используется как дополнительная аналитическая информация. Эти качества позволяют рассматривать биосенсоры как мощную диагностическую технологию в стратегии point-of-care для выявления инфекционных заболеваний в дебютной стадии, мониторинга развития патологического процесса и проведения эпидемиологических исследований [22, 24, 25].

Кроме того, благодаря селективной способности устройств, использующих достижения современной наноэлектроники воспринимать и трансформировать биосигналы, появилась возможность проводить количественный мониторинг инфекционного процесса [22, 24–27]. Например, к настоящему времени накоплен опыт применения биосенсоров на основе

электрохимической детекции для мониторинга формирования биопленок в режиме реального времени [22, 25, 26] и других dormantных форм бактерий [27], развития сепсиса [11, 12, 28, 29], образования спор [30–32].

Рассмотрим основные типы биосенсоров и наиболее распространенные методы биологического распознавания (биосенсинга), а также современные достижения в конструировании этих аналитических устройств. И хотя за последние годы получены впечатляющие результаты применения биосенсоров в различных областях биологии, экологии, токсикологии, паразитологии, криминалистики, медицины и микробиологии, в этом обзоре будет сделан акцент на перспективах использования современных аналитических устройств в лабораторной диагностике инфекционных заболеваний.

Основные типы биосенсоров и их функционирование

Изучение молекулярных основ патогенности микроорганизмов, а также поиск и разработка высокоэффективных и чувствительных методов индикации патогенных микроорганизмов всегда находились в центре внимания исследователей. Кроме того, своевременная лабораторная диагностика является залогом успешного лечения инфекций, а также предотвращения возникновения и распространения эпидемий. Для диагностики инфекционных заболеваний важное значение приобретает мониторинг и раннее выявление маркеров возбудителей инфекционных заболеваний. Таким образом, создание и практическое использование биосенсоров на основе современных достижений молекулярной биологии и нанотехнологий полностью соответствует актуальным целям глобальной здравоохранения и направлено на решение указанных задач [22–24, 26].

Согласно определению IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) [33], биосенсорами называются интегральные автономные устройства, представляющие количественную или полуколичественную аналитическую информацию о целевом анализе при помощи биологического элемента биораспознавания (биорецептора), находящегося в пространственной связи с преобразователем. Биосенсоры не требуют дополнительных реактивов и в этом отличаются от других аналитических систем. Таким образом, биосенсоры представляют собой портативные аналитические устройства, оснащенные биологическими элементами, потенциально способные контролировать биохимические параметры физиологических и патологических процессов, недоступные современным аналитическим инструментам [25]. Это своеобразные детекторы, действие которых основано на специфическом взаимодействии биомолекул и биорецепторов и которые применяются для детекции и идентификации минимальных концентраций самых разных аналитов

[23, 25, 26]. При связывании биорецептора с молекулой-мишенью лиганд-рецепторное взаимодействие преобразуется в оптический, спектральный или электрохимический сигнал, мощность которого пропорциональна концентрации аналита [26].

Идея создания биосенсоров появилась более полувека назад, и началась ее практическая реализация [34, 35]. Самые первые датчики были разработаны для количественного определения относительно простых биохимических аналитов (глюкозы, миоглобина, мочевины, холестерина, протромбина). Примером наиболее известных современных биосенсоров являются глюкометры различных модификаций для контроля пациентами уровня глюкозы в крови на дому. В качестве биораспознающего компонента в них используются ферменты глюкозооксидаза или глюкозодегидрогеназа, которые иммобилизуются на поверхности электрода и расщепляют глюкозу. Продукты ферментативных реакций трансформируются в физико-химический сигнал [25, 26, 36]. Однако лишь в последние годы благодаря интеграции наноэлектроники и биохимии идея биосенсинга получила широкое развитие. Появился широкий спектр биосенсоров, использующих биологические материалы с целью распознавания определенных биомаркеров инфекционного процесса, количественно определяемых с помощью оптических, микромеханических, интерферометрических и других альтернативных типов преобразователей [7, 21, 25, 26, 37].

В современном мире наблюдается значительное возрастание интереса к биосенсорным технологиям, справедливо считающимся одним из восходящих трендов научно-технической сферы [30, 38–40]. По прогнозам специалистов, через 10–15 лет рынок этих аналитических устройств превысит 70 млрд. долл. [25, 26]. Большая часть из них ориентирована на проведение лабораторных исследований биожидкостей для ранней и точной количественной экспресс-индикации молекулярных маркеров инфаркта миокарда, сахарного диабета, сепсиса, а также индикации маркеров паразитарных и инфекционных заболеваний [25, 26, 41, 42].

Конструктивно биосенсоры представляют собой комплекс, состоящий из трех основных функциональных элементов:

- 1) биорецептора (биораспознающего компонента) с расположенными на сенсорной пластине элементами распознавания целевых аналитов (молекул-мишеней), содержащихся в биосубстратах;
- 2) преобразователя (трансдуктора), действующего на физико-химических принципах (электрохимических, спектроскопических или оптических);
- 3) электронного устройства для обработки сигнала, его регистрации и отображения данных в удобном для исследователя (аналоговом или цифровом) виде (рис. 2).

Анализ литературных источников демонстрирует интерес к разработке и использованию этих аналитических устройств в области экологии, токсикологии, сельского хозяйства, биобезопасности и медицины,

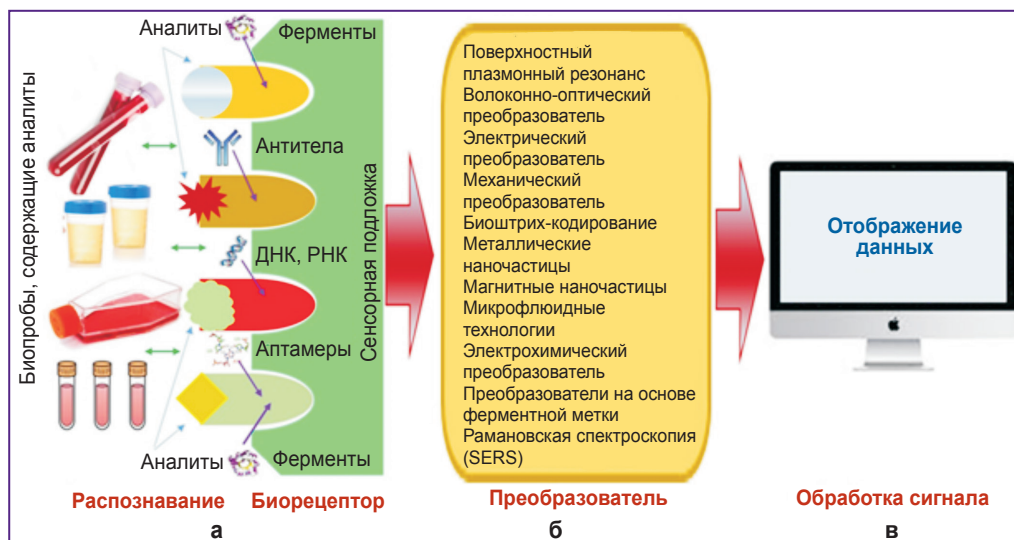


Рис. 2. Принципиальная схема строения биосенсоров

Основными частями являются биорецептор с элементами распознавания для селективного (специфического) связывания целевых аналитов, содержащихся в биосубстратах (а); преобразователь (б); а также электронное устройство для обработки сигнала и отображения данных (в) (рисунок авторов)

в том числе в клинической диагностике инфекционной патологии и септических состояний. За десятилетия развития технологии биосенсирования предложено большое количество конструктивно отличающихся датчиков и попыток их систематизации [25, 26, 41–43].

На сегодняшний день биосенсоры классифицируют в зависимости от природы используемого биохимического компонента, решаемых аналитических задач, типа преобразователя сигнала, областей предполагаемого применения и генерируемого сигнала. Технические стратегии, обуславливающие способ дальнейшего обнаружения (преобразования) сигнала/события, определяют основной принцип разделения аналитических устройств [43, 44].

По этому принципу в одной из предложенных классификаций IUPAC [33] все биосенсоры разделены на две большие группы на основании технических стратегий и конструктивных отличий, используемых при разработке методов обнаружения аналитическими устройствами: без меток и на основе меток (рис. 3).

Общими для всех типов биосенсоров, используемых

в биомедицинской диагностике, являются элементы распознавания (биорецепторы): иммуноглобулины (антитела), ферменты (или гомогенаты микробных клеток), нуклеиновые кислоты (ДНК, РНК, ПНК — пептидонуклеиновые кислоты) [45–47], микробные клетки



Рис. 3. Классификация биосенсоров на основании конструктивных стратегий методов обнаружения: использующих метки и без них (адаптировано по [33])

(микроорганизмы) [5, 42, 44] и аптамеры (короткие олигонуклеотиды ДНК и РНК, способные специфически связываться с определенными мишенями-молекулами) [3, 40, 48]. Эти рецепторные биомолекулы в концентрациях 1–5 мг/мм² иммобилизуются на твердой сенсорной подложке (матрице) с помощью ковалентного связывания или биотин-авидинового взаимодействия. Они служат для селективного связывания и идентификации целевых аналитов (лигандов) в биологических жидкостях (цельная кровь, сыворотка, плазма, моча, слюна, ликвор, экстракты тканей и клеточных культур) [3, 5, 49–51].

При конструировании высокочувствительных биосенсоров ключевое значение имеет правильный выбор матрицы и условий иммобилизации биорецепторов. При использовании нековалентного связывания рецептор сохраняется на сенсорной подложке трансдуктора за счет электростатических, ван-дер-Ваальсовых или ионных взаимодействий, достаточно прочно удерживающих биомолекулы. Основное преимущество этого типа иммобилизации — отсутствие влияния матрицы на биологические свойства рецептора [25, 26]. При ковалентном связывании с поверхностью сенсорной матрицы рецептора биомолекулы удерживаются прочно, что препятствует их вымыванию из матрицы, а это имеет ключевое значение при конструировании многократного биосенсора [40, 42, 52, 53].

В составе устройств нового поколения все чаще используются наноматериалы, уникальную каталитическую эффективность и адсорбционные свойства которых обеспечивают оптимальные физико-химические характеристики поверхности сенсорной подложки [26, 40, 54]. При этом ни биорецепторы, ни аналиты не претерпевают конформационных изменений и потери биологической активности, что в конечном счете обеспечивает эффективное взаимодействие лиганда с рецептором, которое передается в виде специфического эквивалентного усиленного сигнала [25, 26, 54, 55].

Механизм передачи сигнала лиганд-рецепторного взаимодействия и его преобразования является другим важнейшим функциональным элементом биосенсоров. Передача осуществляется с помощью электродов (золотого, серебряного, платинового, ртутного и других с различными модификациями поверхности) и графитовых паст [25, 53, 56, 57]. Этот биохимический процесс обнаруживается и преобразуется в количественно детектируемые физические параметры с помощью одного из нескольких типов физико-химических преобразователей, обеспечивающих оптический (реагируют на изменения физико-оптических параметров), пьезоэлектрический (технология микробаланса кварцевых кристаллов), электрохимический (действует по принципу измерения электрического тока) или микромеханический сигналы, которые на выходе обрабатываются процессором и анализируются [26, 54–56] (см. рис. 3).

Принцип работы биорецепторов также можно представить в виде трех последовательных этапов: рас-

познавание целевого лиганда в биосубстрате специфическим биоэлементом, находящимся на сенсорной панели; преобразование информации о биохимической реакции в форму электрохимического сигнала; преобразование этого сигнала в форму, удобную для считывания или обработки исследователем [26, 51, 55, 56].

Например, в биосенсорах, где в качестве элемента распознавания на сенсорных пластинах иммобилизованы ферменты, субстраты из биоматериала в присутствии катализаторов вступают с ними в биохимическую реакцию. Образующийся продукт определяется с помощью электрода, преобразующего биохимическую реакцию в электрохимический сигнал, величина которого пропорциональна количеству субстрата в исследуемом биоматериале [22, 57, 58].

В последние десятилетия ключевой задачей междисциплинарных исследований при конструировании современных биосенсоров (по сути, представляющих собой первое поколение биоэлектронных устройств) является улучшение параметров тесного взаимодействия биохимического и физического функциональных элементов с целью повышения их чувствительности, селективности и снижения пределов обнаружения целевых аналитов [40, 59, 60]. Указанные характеристики этих аналитических систем имеют ключевое значение при диагностике инфекционных заболеваний.

Прогресс в сфере развития биосенсорной диагностики бактериальных и вирусных инфекций достигнут главным образом вследствие современных усовершенствований используемых методов индикации специфических маркеров [22, 61–64].

Кроме уже используемых аналитических устройств, где в качестве биорецептора применяются иммуноглобулины и ферменты в виде бактериальных гомогенатов, в последние годы в практику вошли цельноклеточные микробные биосенсоры, в которых живые природные или сконструированные микроорганизмы (например, *Escherichia coli* или *Staphylococcus aureus*), интегрированные на сенсорной подложке, ассимилируют из биосубстратов целевые органические соединения (например, антитела из сыворотки крови), сами выступая как чувствительный механизм [25, 61, 64]. При этом положительная реакция на промотор целевой молекулы после его транспорта через клеточную мембрану и диффузии внутри бактериальной клетки вызывает экспрессию репортёрного гена, что регистрируется в виде количественного ответа с помощью оптических [7, 20, 23, 63, 64] или электрохимических сигналов [45, 46, 65].

Использование репортёрных генов для выявления факторов, запускающих генетические реакции в живых микроорганизмах, предложено в середине прошлого века [34, 35], когда были описаны функционирование лактозного оперона *E. coli* (*lac*-оперона) и его связь с паттернами метаболизма и роста микробов. Эти фундаментальные исследования были подтверждены в последующие годы изучением роли и струк-

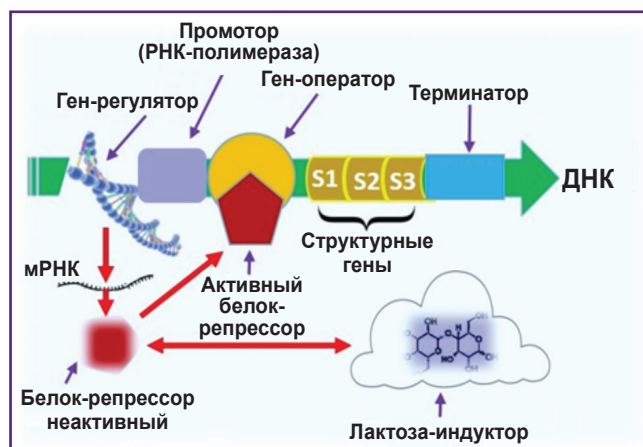


Рис. 4. Схема функционирования лактозного *lac*-оперона *E. coli* в микробных биосенсорах (рисунок авторов)

туры ДНК и других репортёрных генов, таких как *luxI* и *tfdA*, которые в настоящее время активно используются в качестве биофизической модели для экологических исследований [26, 66, 67] (рис. 4).

Х. Liu с коллегами [60] сообщили о конструировании биосенсора, в котором в качестве новых распознающих биорецепторов используются синтетические антимикробные пептиды. Предложенное аналитическое устройство в сочетании с импедансометрическим методом распознавания позволило проводить быструю и количественную индикацию бактериальных патогенов в биосубстратах (*E. coli*, *S. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus epidermidis*) в концентрации от 10^2 КОЕ/мл. Кроме того, этот датчик позволял дифференцировать живых бактерий от мертвых.

Другая группа исследователей предложила конструкцию биосенсора для высокочувствительной и быстрой идентификации *S. aureus*, где в качестве рецептора использовался бактериофаг с диапазоном обнаружения от $4 \cdot 10^8$ КОЕ/мл [68].

Дальнейшее совершенствование микробных биосенсоров обусловлено появлением регулирующего биосенсинга, связанного с достижениями молекулярно-генетических технологий и открытиями новых механизмов обнаружения различных вне- и внутриклеточных сигналов, а также их последующего оптического и электрохимического преобразования [45, 46, 69, 70]. Следствием развития новых технологий и успехов в синтетической биологии стало появление биосенсоров с рекомбинантными рецепторами нуклеиновых кислот и аптамеров, успешно используемых для инфекционной диагностики [5, 40, 71, 72]. Данные технологии позволили повысить чувствительность этих аналитических устройств путем аллостерического регулирования метаболических сигнальных путей микроорганизмов, направленного на селективное обнаружение специфических биомаркеров — малых молекул микробного происхождения [40, 45, 69–72].

Биосенсоры без меток

С развитием современных технологий в инфекционной диагностике и эпидемиологии все большее распространение приобретают биосенсоры без меток, которые позволяют проводить скрининг межмолекулярных взаимодействий и клеточных реакций, давать подробную информацию о селективности действия бактериальных экзотоксинов и специфичности действия антимикробных средств, взаимодействия антигена с антителом, а также о кинетике воспалительного процесса, иммунологических и серологических реакциях [60, 73].

В настоящее время существует широкий ряд аналитических устройств для анализа биоспецифического лиганд-рецепторного взаимодействия в биосенсорах без меток. В этих высокочувствительных и функциональных системах реакции связывания целевого аналита с биорецептором могут быть изучены без использования каких-либо ферментных, радиоактивных или флуоресцентных меток [11, 61, 74, 75]. Такие биосенсоры не нуждаются в дорогостоящих реагентах и маркерах, что обеспечивает их рентабельность. Эти аналитические системы способны мониторировать реакции лиганд-рецепторного взаимодействия, которые происходят, когда целевые аналиты связываются с молекулярными элементами, иммобилизованными на сенсорной подложке (антитела, ферменты, нуклеиновые кислоты, аптамеры) [61, 62, 76, 77].

Для этого типа биосенсоров требуется только один элемент распознавания, что приводит к упрощению схемы анализа, сокращению его продолжительности и снижению затрат на реагенты. Современное поколение биосенсоров без меток позволяет проводить количественные измерения продуктов биомолекулярных реакций в режиме реального времени, что дает возможность осуществлять непрерывную регистрацию данных, позволяющую проводить кинетический мониторинг параметров процесса распознавания лиганд-рецепторного взаимодействия [27, 78].

Важным преимуществом использования биосенсоров без меток является и то, что целевые аналиты обнаруживаются в их естественной форме, без маркировки и химической модификации, а значит, могут быть сохранены для дальнейшего анализа (табл. 2).

В последние десятилетия были предприняты многочисленные исследования, направленные на разработку новых типов рецепторов [60, 68, 73] и методов распознавания в биосенсорах без меток, способных генерировать сигнал непосредственно после привязки к элементу распознавания. В этом контексте было предложено много физико-химических типов преобразователей, трансформирующих результаты биорецепторного связывания целевых мишеней (например, увеличение массы, удельного сопротивления, показателей преломления

Таблица 2

Преимущества современных биосенсоров без меток перед аналогичными аналитическими устройствами на основе меток

| Преимущества | Источники |
|---|------------------------------|
| Упрощенная схема анализа | [3, 46, 48, 73, 79, 80] |
| Сокращенное время анализа (быстрое время отклика) | [7, 78, 81, 82] |
| Меньшая стоимость анализа | [7, 59, 83, 84] |
| Снижение потребления органических растворителей | [30, 61, 77, 85] |
| Портативность и компактность | [30, 40, 71, 80] |
| Отсутствие необходимости в квалифицированном медицинском персонале | [3, 7, 36, 61, 80, 82, 85] |
| Возможность количественного измерения биомолекул в режиме реального времени | [25, 26, 77, 82, 84] |
| Обнаружение целевых аналитов в естественных формах, без модификаций и меток | [22, 30, 71, 81, 83] |
| Высокая чувствительность | [22, 25, 26, 40, 61, 80, 82] |
| Прямое измерение аналита | [40, 48, 61, 83] |
| Возможность обнаружения малых молекул | [3, 7, 25, 26, 40, 78] |
| Возможность мультиплексирования | [59, 61, 73, 85] |
| Обеспечение доступа к кинетическим и термодинамическим параметрам | [22, 26, 36, 80, 83] |

поверхности), которые распознаются различными способами [64, 70, 73, 77, 86].

Одними из перспективных методов распознавания сигналов лиганд-рецепторного взаимодействия в биосенсорах без меток, используемых для диагностики различных инфекционных заболеваний, являются оптические, (пьезо)электрические или (микро)механические преобразователи (транзьюсеры). Эти методы биосенсинга усиливаются посредством поверхностного плазмонного резонанса (SPR) [78], поверхностной рамановской спектроскопии (SERS) [36, 38, 39], микробаланса кварцевых кристаллов [86] и микроканальных датчиков [78, 87, 88].

Биосенсоры с оптическими преобразователями, считающиеся основным инструментом для восприятия сигналов, являются одними из наиболее мощных инструментов обнаружения и анализа, широко используемых в биомедицинских исследованиях и в практической медицине [8, 9, 72, 88, 89]. Эти преобразо-

ватели основаны на измерении изменения оптических свойств в присутствии анализируемого вещества, таких как поглощение, отражательная способность, излучение или интерферометрический рисунок, которые могут регистрироваться фотоприемником. Они невосприимчивы к электромагнитным помехам, способны выполнять дистанционное зондирование и обладают рядом преимуществ, включая высокую чувствительность, прямое измерение в режиме реального времени и возможность мультиплексирования (одномоментного обнаружения нескольких аналитов). Микробные биосенсоры, которые обнаруживают взаимодействия между микроорганизмами и целевыми мишенями-лигандами, не являются исключением [5, 42–44, 54].

Разнообразие методов обнаружения с помощью используемых оптических преобразователей в биосенсорах без меток огромно, поэтому в обзоре авторы ограничились только разработками, которые успешно зарекомендовали себя в детекции возбудителей инфекционных заболеваний. Передовые технологии в области конструирования оптических биосенсоров без меток с акцентом на диагностику бактериальных инфекций связаны с развитием современных методов трансдукции (волоконно-оптические и системы затухающего электромагнитного поля, поверхностного плазмонного резонанса, спектроскопии комбинационного рассеяния или интерферометрии) и новых распознающих элементов (молекулярно-импринтированные полимеры) [69, 78, 88, 90–92] (рис. 5).

Среди современных технологий, применяемых для клинической диагностики бактериальных и вирусных инфекций, представляют интерес разработки электрохимических методов оптического биосенсирования

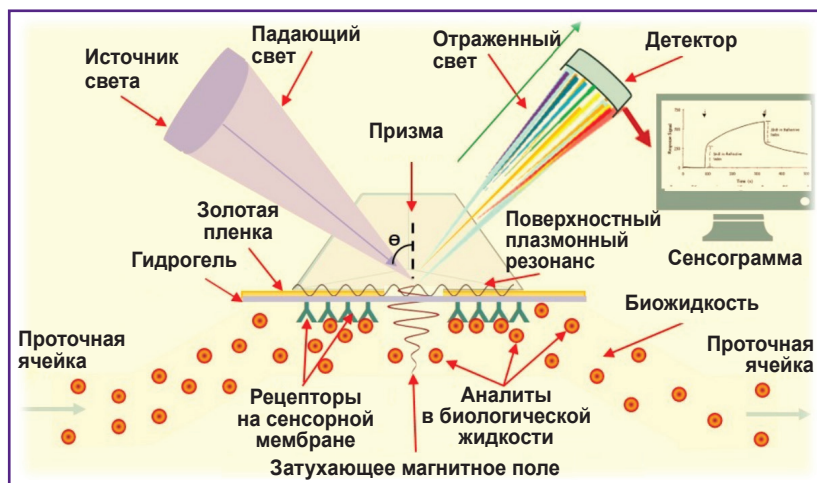


Рис. 5. Современные системы трансдукции в оптических биосенсорах, основанные на эффекте поверхностного плазмонного резонанса и затухающего электромагнитного поля (рисунок авторов)

на основе нуклеиновых кислот. Элементы распознавания, используемые в этих типах аналитических устройств, включают в себя ДНК, РНК, ПНК и аптамеры. Например, в наши дни набирает популярность сенсорная технология ДНК-гибридизации, которая, опираясь на электрохимические (импедансная спектроскопия) и оптические методы, распознает комплементарную целевую цепь ДНК патогенного микроорганизма [46, 47, 71]. С учетом простоты в обращении и высокой чувствительности в последние годы для обнаружения инфекционных патогенов наибольшее распространение получили электрохимические биосенсоры без метки (табл. 3).

Появление биосенсоров на основе аптамеров (аптасенсоров) и рекомбинантных нуклеиновых кислот в качестве элементов распознавания стало следствием развития новых технологий и успехов в синтетической биологии аптамеров [3, 40, 48]. Эти типы аналитических устройств являются весьма перспективными вследствие высокой специфичности и стабильности нуклеиновых рецепторов, их низкой стоимости, а также потенциальной возможности создания различных сенсорных платформ [40, 48].

Например, в недавнем исследовании L. Sheng с коллегами [3] сконструирован биосенсор без меток с РНК-аптамером, позволяющий проводить быстрое

Таблица 3

Примеры современных конструкций биосенсоров без метки для детекции патогенных бактерий и вирусов

| Распознающий биорецептор | Метод преобразования | Тест-модели патогенов (чувствительность) | Ссылки |
|---|---|---|--------------------|
| Бактериофаг | ФотOLUMИнесценция | <i>S. aureus</i> ($4 \cdot 10^8$ КОЕ/мл) | [68, 92] |
| Антимикробные пептиды | Импедансометрия | <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. epidermidis</i> (10^2 КОЕ/мл) | [60, 73, 91] |
| Антибактериальные наночастицы Zn-CuO и оксид графена Man/MUA-MH/Au* | Импедансометрия Спектроскопия электрохимического импеданса | <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> (50 КОЕ/мл); антибактериальный эффект — 100% за 30 мин | [36, 79, 85, 87] |
| Тиолированный белок G на золотых электродах и золотых наночастицах | Циклическая вольтамперометрия Спектроскопия электрохимического импеданса | <i>S. typhimurium</i> ($2,16 \cdot 10^6$ КОЕ/мл) <i>E. coli</i> ($50-10^3$ КОЕ/мл) | [93] |
| Ферменты | Электрохимический | <i>E. coli</i> O157:H7 (150 КОЕ/мл) | [55, 57, 58] |
| Нуклеиновые кислоты (ДНК, РНК) | Электрохимический | <i>S. aureus</i> (140 КОЕ/мл) <i>S. typhimurium</i> (48 КОЕ/мл) | [11, 18, 71] |
| Нуклеиновые кислоты (ДНК, РНК) | Электрохимический | <i>S. aureus</i> , <i>M. tuberculosis</i> | [11, 45–47] |
| Аптамер на наночастицах золота | Тушение аутофлуоресценции | <i>S. typhimurium</i> (48 КОЕ/мл) | [3, 5, 40] |
| Моноклональные антитела | Оптический | <i>S. enteritidis</i> (80 КОЕ/мл) <i>Listeria monocytogenes</i> | [14, 16, 88, 94] |
| Тиолированный аптамер | Импедансометрия | <i>Shigella dysenteriae</i> | [8, 95] |
| Нуклеиновые кислоты (ДНК, РНК) | Спектроскопия электрохимического импеданса | <i>M. tuberculosis</i> | [62, 88, 96] |
| Моноклональные антитела | Поверхностный плазмонный резонанс | <i>Enterococcus faecalis</i> (10^4-10^8 КОЕ/мл) | [86, 90] |
| Аптамер | Импедансометрия | <i>Bacillus cereus</i> (10^4-10^6 КОЕ/мл) <i>Bacillus anthracis</i> (споры) | [3, 5, 30, 40, 48] |
| Нуклеиновые кислоты (ДНК) | Циклическая вольтамперометрия Спектроскопия электрохимического импеданса | <i>Salmonella</i> spp. | [71] |
| Имитатор фермента (квантовые точки графена) | Электрохимический | <i>Yersinia enterocolitica</i> (5 (молоко)–30 (сыворотка) КОЕ/мл) | [48, 80, 97] |
| Моноклональные антитела (длиннопериодные волоконные решетки) | Поверхностный плазмонный резонанс | <i>S. aureus</i> (224 КОЕ/мл, 30 мин) | [69, 78, 90] |
| Моноклональные антитела | Визуализация | <i>Salmonella enteritidis</i> (10^2-10^8 КОЕ/мл) | [81] |
| Нуклеиновые кислоты (ДНК, аптамер) | Электрохимический | Вирус птичьего гриппа H5N1 (AIV) | [45] |
| Нуклеиновые кислоты (ДНК) | Электрохимический импеданс | Вирус Зика ($25,0 \pm 1,7$ нмоль) | [46] |
| Аптамер (rGO-TiO ₂) | Электрохимический | <i>Salmonella enterica</i> , <i>typhimurium</i> ($10-10^8$ КОЕ/мл) | [80] |

| Распознающий биорецептор | Метод преобразования | Тест-модели патогенов (чувствительность) | Ссылки |
|---------------------------|-----------------------------------|--|----------|
| Нуклеиновые кислоты (ДНК) | Пьезоэлектрический | <i>Clostridium difficile</i> (чувствительность — 95%, специфичность — 95%) | [85] |
| Моноклональные антитела | Поверхностный плазмонный резонанс | <i>M. tuberculosis</i> (10^2 – 10^6 КОЕ/мл) | [88, 96] |
| Аптамер | Флуоресцентный | <i>Salmonella typhimurium</i> (6–10 КОЕ/мл) | [82] |
| Моноклональные антитела | Потенциометрия | <i>Salmonella typhimurium</i> (10^6 КОЕ/мл) | [84] |
| Нуклеиновые кислоты (ДНК) | Электрохимический импеданс | <i>M. tuberculosis</i> (10^2 – 10^6 КОЕ/мл) | [47] |
| Аптамер (РНК) | Флуоресцентный | <i>S. aureus</i> (10^2 – 10^6 КОЕ/мл) | [3] |

* — Ман/МUA-МН/Аи — манноза/11-меркаптоундекановая кислота/6-меркапто-гексанол/золото.

количественное распознавание пищевых патогенов. В предложенном аптосенсоре РНК-аптамер выступает в качестве «антител против нуклеиновых кислот» целевых микроорганизмов. Олигонуклеотидная природа аптамеров дает возможность амплифицировать или химически синтезировать нужный пул с высокой частотой и в любом количестве, что позволяет создавать высокоспецифичные гомогенные датчики, позволяющие проводить точную количественную детекцию нуклеиновых цепей патогенов [50, 51, 80, 82, 95].

Авторы [3] продемонстрировали эффективное и быстрое обнаружение в пище и воде *S. aureus*, выбранного в качестве целевого патогена для своего аптосенсора. Количественная оценка лиганд-рецепторного взаимодействия в предложенном варианте биосенсора проводилась с использованием специфических флуоресцентных красителей для нуклеиновых кислот (Sybr Gold и Sybr Green I). Примечательно, что оперативное обнаружение патогена не требовало специальной пробоподготовки (очистки, обогащения).

Перечисленные современные инновации делают оптические биосенсоры более универсальными по сравнению с другими видами сенсорных технологий [62, 72, 74, 76]. Они позволяют не только количественно определять низкомолекулярные органические молекулы (менее 1000 Да), но и проводить раннюю диагностику, количественный анализ течения инфекционных заболеваний, а также осуществлять эпидемиологический мониторинг [98, 99].

В оптических биосенсорах распространено использование метода трансдукции, основанного на эффекте поверхностного плазмонного резонанса (surface plasmon resonance) и явлении полного внутреннего отражения света [69, 78, 84, 90]. Этот эффект возникает, когда угол падения света выходит за пределы критического угла при изменении показателя преломления, что происходит при связывании лиганда с рецептором и увеличении массы вещества на сенсорной пластине и при обратном процессе — снижении массы — при диссоциации лиганд-рецепторного комплекса. В этом случае возникает элек-

тромагнитная исчезающая волна, которая, затухая, проникает в среду с меньшим показателем преломления и создает так называемое затухающее электромагнитное поле (см. рис. 5).

Если на гидрогелевую пластину напылить золото (или серебро), то возникает другое явление, связанное с наличием у этого металла (-ов) свободных электронов, на которые при освещении начинает воздействовать переменное электрическое поле. Эти электроны способны коллективно колебаться и резонировать, подстраиваясь под частоту падающего света (такие колебания электронов в наночастицах благородных металлов называют плазмонными [61, 62, 69, 87]), а собственные уникальные свойства нанометаллов повышают чувствительность и селективность биосенсоров [71, 90, 95]. Таким образом, плазмонный резонанс существенно усиливает затухающее электромагнитное поле, снижает интенсивность отраженного плоскополяризованного света, а также позволяет обнаруживать целевые аналиты в очень низких концентрациях в различных биосубстратах без предварительной пробоподготовки [71, 80, 81, 95].

Среди семейства оптических биосенсоров без метки SPR является одной из самых доступных, развитых и наиболее успешно используемых в последние годы технологий для диагностики инфекционной патологии и септических состояний. Это связано с высокой чувствительностью и универсальностью такого типа датчиков, которые к тому же позволяют проводить детекцию в режиме реального времени и прямое измерение кинетики молекулярного лиганд-рецепторного взаимодействия [71, 80]. Например, в последние годы рядом исследователей [61, 62, 78, 88, 96] были предложены биосенсорные конструкции SPR для обнаружения и мониторинга в моче биомолекул *M. tuberculosis* и нетуберкулезных микобактерий, таких как CFP10 и MPT64, которые среди многочисленных антигенов микобактерий наиболее сильно взаимодействуют с родственными анти-CFP10 и анти-MPT64 антителами на иммуносенсорной матрице.

Единственным недостатком оптических биосенсоров без метки, использующих эффекты призма-

тического преломления света и SPR, считаются их относительно большие размеры, несовместимые с мобильным использованием в режиме point-of-care [80, 81]. Поэтому современной перспективной альтернативой этому типу оптических датчиков являются волоконно-оптические биосенсоры, превосходно подходящие для создания миниатюрных переносных устройств, имеющие низкую стоимость и успешно зарекомендовавшие себя для клинической диагностики [80].

Оптические биосенсоры без меток стали стабильно использоваться для характеристики и скрининга молекулярных взаимодействий в клинических лабораториях. Так, В. Golichenari с коллегами [61] представили подробный обзор успешных примеров использования наиболее перспективных оптических биосенсоров без меток для быстрого, высокоэффективного и доступного обнаружения и количественного определения *M. tuberculosis*, микобактериальных белков и цитокина IFN- γ в качестве важнейших маркеров в ранней диагностике туберкулеза.

Большинство современных биосенсоров, предназначенных для детекции инфекционных патогенов, основаны на электрохимическом преобразовании сигнала. Эти датчики основаны на измерении изменений тока, электрохимического потенциала и импедансометрии как средства преобразования биохимических реакций [46, 47, 85]. При конструировании современных электрохимических биосенсоров для детекции бактериальных патогенов большое внимание уделяется биоэлектродам. Среди наиболее широко используемых материалов — тонкие полимерные пленки, наноструктурированные оксиды металлов, самоорганизующиеся монослои органических молекул (SAM) и углеродные наноструктуры (нанотрубки, фуллерены, графены) [48]. Например, SAM считаются идеальным материалом для иммобилизации нуклеиновых кислот при конструировании биосенсоров для обнаружения бактерий [48, 80, 97].

К преимуществам этих устройств следует отнести пригодность для достижения портативности и простую измерительную аппаратуру. Помимо своей экономичности, высокой чувствительности и большого диапазона линейности обнаружения, электрохимические датчики способны работать с маленькими объемами проб, кроме того, на результат не влияет мутность образцов в отличие от оптических методов, основанных на спектроскопической трансдукции [74, 100].

Заключение

Анализ результатов исследований, опубликованных за последние годы, показал, что развитие методов молекулярной биологии с использованием нанотехнологий открывает широкие перспективы для создания новых биосенсорных платформ с высокоэффективным, высокочувствительным и высокосе-

лективным обнаружением молекулярных инфекционных биомаркеров.

Медицинские биосенсоры как новый тип диагностических инструментов находятся на начальном этапе своего развития. Однако уже первые десятилетия практического применения этих аналитических устройств в здравоохранении показали их безусловную привлекательность и перспективность для детекции бактериальных и вирусных патогенов. Развитие и внедрение в клиническую лабораторную практику биосенсорных технологий является современной безальтернативной стратегией для снижения инфекционной заболеваемости в регионах с невысоким уровнем здравоохранения, где дешевая и высокоэффективная диагностика способна играть ключевую роль в своевременной верификации возбудителей. Важностью диагностики инфекционной патологии на доклиническом этапе обусловлена необходимость разработки недорогих и доступных для клинической диагностики аналитических устройств с более низкими пределами обнаружения патогенов. В этой связи интересными представляются успешные опыты конструирования и использования биосенсоров для выявления споровых и некультивируемых бактерий с оценкой их жизнеспособности [31, 32, 79, 81, 87, 101].

В этом обзоре сделан акцент на многочисленной группе биосенсоров, которые являются более доступными и не нуждаются в метках для воспроизводимого сигнала, но имеют достаточно сложные системы трансдукции. Однако будущее — за более простыми и портативными диагностическими аналитическими системами, не требующими сложных платформ преобразования (поверхностного плазмонного резонанса и поверхностной рамановской спектроскопии) и способными выявлять сразу несколько патогенов на основе мультитиплексного анализа. Такие биосенсоры смогут решить глобальную задачу эффективной борьбы с инфекционными заболеваниями.

Современные направления развития биосенсорных медицинских технологий связаны с созданием новых материалов для конструирования преобразователей и условий для более эффективной связи лиганд-рецепторного взаимодействия. Перспективы расширения практических приложений биосенсорных технологий связаны с клинической диагностикой, что отвечает потребностям персонализированной медицины, и одинаково привлекательны для врачей и пациентов, особенно при верификации возбудителей инфекционных заболеваний.

Кроме того, одним из ключевых современных направлений развития клинической лабораторной диагностики является неинвазивность тестирования, которая не предполагает забора крови. В этом смысле высокочувствительные, миниатюрные и портативные медицинские биосенсоры с их возможностью непрерывного *in vivo* мониторинга метаболитов, лекарственных препаратов и молекулярных маркеров инфекционного процесса уже в ближайшее время смогут сыграть ведущую роль.

Вклад авторов: Б.Г. Андрюков — руководство проектом, концепция, методология, утверждение итогового варианта обзора; И.Н. Ляпун — сбор материала, подготовка черновика текста, подготовка иллюстраций; Е.В. Матосова — сбор и анализ литературы, подготовка черновика рукописи; Л.М. Сомова — редактирование и валидация статьи, сбор и анализ литературных данных.

Финансирование исследования и конфликт интересов. Исследование не финансировалось какими-либо источниками, и конфликты интересов, связанные с данным исследованием, отсутствуют.

Литература/References

- Havelaar A.H., Kirk M.D., Torgerson P.R., Gibb H.J., Hald T., Lake R.J., Praet N., Bellinger D.C., De Silva N.R., Gargouri N., Speybroeck N., Cawthorne A., Mathers C., Stein C., Angulo F.J., Devleeschauwer B.; World Health Organization Foodborne Disease Burden Epidemiology Reference Group. World Health Organization global estimates and regional comparisons of the burden of foodborne disease in 2010. *PLoS Med* 2015; 12(12): e1001923, <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001923>.
- Matea C.T., Mocan T., Tabaran F., Pop T., Mosteanu O., Puia C., Iancu C., Mocan L. Quantum dots in imaging, drug delivery and sensor applications. *Int J Nanomedicine* 2017; 12: 5421–5431, <https://doi.org/10.2147/ijn.S138624>
- Sheng L., Lu Y., Deng S., Liao X., Zhang K., Ding T., Gao H., Liu D., Deng R., Li J. A transcription aptasensor: amplified, label-free and culture-independent detection of foodborne pathogens via light-up RNA aptamers. *Chem Commun (Camb)* 2019; 55(68): 10096–10099, <https://doi.org/10.1039/c9cc05036a>.
- ВОЗ. Информационные бюллетени об инфекционных болезнях. URL: https://www.who.int/topics/infectious_diseases/factsheets/ru/.
- WHO. *Fact sheets: infectious diseases*. URL: https://www.who.int/topics/infectious_diseases/factsheets/ru/.
- Su L., Jia W., Hou C., Lei Y. Microbial biosensors: a review. *Biosens Bioelectron* 2011; 26(5): 1788–1799, <https://doi.org/10.1016/j.bios.2010.09.005>.
- Sin M.L., Mach K.E., Wong P.K., Liao J.C. Advances and challenges in biosensor-based diagnosis of infectious diseases. *Expert Rev Mol Diagn* 2014; 14(2): 225–244, <https://doi.org/10.1586/14737159.2014.888313>.
- Peltomaa R., Glahn-Martinez B., Benito-Peña E., Moreno-Bondi M.C. Optical biosensors for label-free detection of small molecules. *Sensors (Basel)* 2018; 18(12): 4126, <https://doi.org/10.3390/s18124126>.
- Zarei M. Infectious pathogens meet point-of-care diagnostics. *Biosens Bioelectron* 2018; 106: 193–203, <https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.02.007>.
- Kozel T.R., Burnham-Marusch A.R. Point-of-care testing for infectious diseases: past, present, and future. *J Clin Microbiol* 2017; 55(8): 2313–2320, <https://doi.org/10.1128/jcm.00476-17>.
- Kim H., Chung D.R., Kang M. A new point-of-care test for the diagnosis of infectious diseases based on multiplex lateral flow immunoassays. *Analyst* 2019; 144(8): 2460–2466, <https://doi.org/10.1039/c8an02295j>.
- Fabri-Faja N., Calvo-Lozano O., Dey P., Terborg R.A., Estevez M.C., Belushkin A., Yesilköy F., Duempelmann L., Altug H., Pruneri V., Lechuga L.M. Early sepsis diagnosis via protein and miRNA biomarkers using a novel point-of-care photonic biosensor. *Anal Chim Acta* 2019; 1077: 232–242, <https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.05.038>.
- Min J., Nothing M., Coble B., Zheng H., Park J., Im H., Weber G.F., Castro C.M., Swirski F.K., Weissleder R., Lee H. Integrated biosensor for rapid and point-of-care sepsis diagnosis. *ACS Nano* 2018; 12(4): 3378–3384, <https://doi.org/10.1021/acsnano.7b08965>.
- Safenkova I.V., Panferov V.G., Panferova N.A., Varitsev Y.A., Zherdev A.V., Dzantiev B.B. Alarm lateral flow immunoassay for detection of the total infection caused by the five viruses. *Talanta* 2019; 195: 739–744, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.12.004>.
- Zhao Y., Zhang Q., Meng Q., Wu F., Zhang L., Tang Y., Guan Y., An L. Quantum dots-based lateral flow immunoassay combined with image analysis for semiquantitative detection of IgE antibody to mite. *Int J Nanomedicine* 2017; 12: 4805–4812, <https://doi.org/10.2147/IJN.S134539>.
- Boisen M.L., Oottamasathien D., Jones A.B., Millett M.M., Nelson D.S., Bornholdt Z.A., Fusco M.L., Abelson D.M., Oda S., Hartnett J.N., Rowland M.M., Heinrich M.L., Akdag M., Goba A., Momoh M., Fullah M., Baimba F., Gbakie M., Safa S., Fonnier R., Kanneh L., Cross R.W., Geisbert J.B., Geisbert T.W., Kulakosky P.C., Grant D.S., Shaffer J.G., Schieffelin J.S., Wilson R.B., Saphire E.O., Branco L.M., Garry R.F., Khan S.H., Pitts K.R.; Viral Hemorrhagic Fever Consortium. Development of prototype filovirus recombinant antigen immunoassays. *J Infect Dis* 2015; 212(Suppl 2): S359–S367, <https://doi.org/10.1093/infdis/jiv353>.
- Nielsen K., Yu W.L., Kelly L., Bermudez R., Renteria T., Dajer A., Gutierrez E., Williams J., Algire J., de Eschaide S.T. Development of a lateral flow assay for rapid detection of bovine antibody to *Anaplasma marginale*. *J Immunoassay Immunochem* 2008; 29(1): 10–18, <https://doi.org/10.1080/15321810701734693>.
- Jørgensen C.S., Uldum S.A., Sørensen J.F., Skovsted I.C., Otte S., Elverdal P.L. Evaluation of a new lateral flow test for detection of *Streptococcus pneumoniae* and *Legionella pneumophila* urinary antigen. *J Microbiol Methods* 2015; 116: 33–36, <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2015.06.014>.
- Rohrman B.A., Leautaud V., Molyneux E., Richards-Kortum R.R. A lateral flow assay for quantitative detection of amplified HIV-1 RNA. *PLoS One* 2012; 7(9): e45611, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045611>.
- Kamphee H., Chaiprasert A., Prammananan T., Wiriyachaiyorn N., Kanchanatavee A., Dharakul T. Rapid molecular detection of multidrug-resistant tuberculosis by PCR-nucleic acid lateral flow immunoassay. *PLoS One* 2015; 10(9): e0137791, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0137791>.
- Pilavaki E., Demosthenous A. Optimized lateral flow immunoassay reader for the detection of infectious diseases in developing countries. *Sensors (Basel)* 2017; 17(11): 2673, <https://doi.org/10.3390/s17112673>.
- Posthuma-Trumpie G.A., Korf J., van Amerongen A. Lateral flow (immuno)assay: its strengths, weaknesses, opportunities and threats. A literature survey. *Anal Bioanal Chem* 2008; 393(2): 569–582, <https://doi.org/10.1007/s00216-008-2287-2>.
- Bhalla N., Jolly P., Formisano N., Estrela P. Introduction

to biosensors. *Essays Biochem* 2016; 60(1): 1–8, <https://doi.org/10.1042/ebc20150001>.

23. Ragavan K.V., Kumar S., Swaraj S., Neethirajan S. Advances in biosensors and optical assays for diagnosis and detection of malaria. *Biosens Bioelectron* 2018; 105: 188–210, <https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.01.037>.

24. Patel S., Nanda R., Sahoo S., Mohapatra E. Biosensors in health care: the milestones achieved in their development towards lab-on-chip-analysis. *Biochem Res Int* 2016; 2016: 3130469, <https://doi.org/10.1155/2016/3130469>.

25. *Biomaterials nanoarchitectonics*. Ebara M. (editor). Elsevier Inc; 2016; 362 p., <https://doi.org/10.1016/c2014-0-02556-7>.

26. *Biopolymer composites in electronics*. Sadasivuni K.K., Ponnamma D., Kim J., Cabibihan J.-J., AlMaadeed M.A. (editors). Elsevier Inc; 2017; 544 p., <https://doi.org/10.1016/c2014-0-04575-3>.

27. Fan X., White I.M., Shopova S.I., Zhu H., Suter J.D., Sun Y. Sensitive optical biosensors for unlabeled targets: a review. *Anal Chim Acta* 2008; 620(1–2): 8–26, <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.05.022>.

28. Kumar S., Tripathy S., Jyoti A., Singh S.G. Recent advances in biosensors for diagnosis and detection of sepsis: a comprehensive review. *Biosens Bioelectron* 2019; 124–125: 205–215, <https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.10.034>.

29. McLinden T., Sargeant J.M., Thomas M.K., Papadopoulos A., Fazil A. Component costs of foodborne illness: a scoping review. *BMC Public Health* 2014; 14: 509, <https://doi.org/10.1186/1471-2458-14-509>.

30. Mazzaracchio V., Neagu D., Porchetta A., Marcoccio E., Pomponi A., Faggioni G., D'Amore N., Notargiacomo A., Pea M., Moscone D., Palleschi G., Lista F., Arduini F. A label-free impedimetric aptasensor for the detection of Bacillus anthracis spore simulant. *Biosens Bioelectron* 2019; 126: 640–646, <https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.11.017>.

31. Waller D.F., Hew B.E., Holdaway C., Jen M., Peckham G.D. Rapid detection of Bacillus anthracis spores using immunomagnetic separation and amperometry. *Biosensors (Basel)* 2016; 6(4): 61, <https://doi.org/10.3390/bios6040061>.

32. Wynn D., Deo S., Daunert S. Engineering rugged field assays to detect hazardous chemicals using spore-based bacterial biosensors. *Methods Enzymol* 2017; 589: 51–85, <https://doi.org/10.1016/bs.mie.2017.02.005>.

33. *Compendium of chemical terminology*. Nič M., Jiráť J., Košata B., Jenkins A., McNaught A. (editors). Oxford: Blackwell Scientific Publications; 1997, <https://doi.org/10.1351/goldbook>.

34. Novick A., Weiner M. Enzyme induction as an all-or-none phenomenon. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1957; 43(7): 553–566, <https://doi.org/10.1073/pnas.43.7.553>.

35. Jacob F., Monod J. Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins. *J Mol Biol* 1961; 3: 318–356, [https://doi.org/10.1016/s0022-2836\(61\)80072-7](https://doi.org/10.1016/s0022-2836(61)80072-7).

36. Wu X., Xu C., Tripp R.A., Huang Y.W., Zhao Y. Detection and differentiation of foodborne pathogenic bacteria in mung bean sprouts using field deployable label-free SERS devices. *Analyst* 2013; 138(10): 3005–3012, <https://doi.org/10.1039/c3an00186e>.

37. van der Meer J.R., Belkin S. Where microbiology meets microengineering: design and applications of reporter bacteria. *Nat Rev Microbiol* 2010; 8(7): 511–522, <https://doi.org/10.1038/nrmicro2392>.

38. Marks H., Schechinger M., Garza J., Locke A., Coté G. Surface enhanced Raman spectroscopy (SERS) for in vitro diagnostic testing at the point of care. *Nanophotonics* 2017; 6(4): 681–701, <https://doi.org/10.1515/nanoph-2016-0180>.

39. Kahraman M., Mullen E.R., Korkmaz A., Wachsmann-Hogiu S. Fundamentals and applications of SERS-based bioanalytical sensing. *Nanophotonics* 2017; 6(5): 831–852, <https://doi.org/10.1515/nanoph-2016-0174>.

40. Urmann K., Reich P., Walter J.G., Beckmann D., Segal E., Scheper T. Rapid and label-free detection of protein a by aptamer-tethered porous silicon nanostructures. *J Biotechnol* 2017; 257: 171–177, <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2017.01.005>.

41. Qiu C., Zhai H., Hou J. Biosensors design in yeast and applications in metabolic engineering. *FEMS Yeast Res* 2019; 19(8): foz082, <https://doi.org/10.1093/femsyr/foz082>.

42. González-Pabón M.J., Figueredo F., Martínez-Casillas D.C., Cortón E. Characterization of a new composite membrane for point of need paper-based micro-scale microbial fuel cell analytical devices. *PLoS One* 2019; 14(9): e0222538, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222538>.

43. Lim J.W., Ha D., Lee J., Lee S.K., Kim T. Review of micro/nanotechnologies for microbial biosensors. *Front Bioeng Biotechnol* 2015; 3: 61, <https://doi.org/10.3389/fbioe.2015.00061>.

44. Lei Y., Chen W., Mulchandani A. Microbial biosensors. *Anal Chim Acta* 2006; 568(1–2): 200–210, <https://doi.org/10.1016/j.aca.2005.11.065>.

45. Lee T., Park S.Y., Jang H., Kim G.H., Lee Y., Park C., Mohammadniaei M., Lee M.H., Min J. Fabrication of electrochemical biosensor consisted of multi-functional DNA structure/porous au nanoparticle for avian influenza virus (H5N1) in chicken serum. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 2019; 99: 511–519, <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.02.001>.

46. Faria H.A.M., Zucolotto V. Label-free electrochemical DNA biosensor for zika virus identification. *Biosens Bioelectron* 2019; 131: 149–155, <https://doi.org/10.1016/j.bios.2019.02.018>.

47. Teengam P., Siangproh W., Tuantranont A., Vilaivan T., Chailapakul O., Henry C.S. Electrochemical impedance-based DNA sensor using pyrrolidiny peptide nucleic acids for tuberculosis detection. *Anal Chim Acta* 2018; 1044: 102–109, <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.07.045>.

48. Zhang S., Ma L., Ma K., Xu B., Liu L., Tian W. Label-free aptamer-based biosensor for specific detection of chloramphenicol using AIE probe and graphene oxide. *ACS Omega* 2018; 3(10): 12886–12892, <https://doi.org/10.1021/acsomega.8b01812>.

49. Zhang F.Z., Keasling J. Biosensors and their applications in microbial metabolic engineering. *Trends Microbiol* 2011; 19(7): 323–329, <https://doi.org/10.1016/j.tim.2011.05.003>.

50. Dietrich J.A., McKee A.E., Keasling J.D. High-throughput metabolic engineering: advances in small-molecule screening and selection. *Annu Rev Biochem* 2010; 79: 563–590, <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-062608-095938>.

51. Durrieu C., Lagarde F., Jaffrezic-Renault N. Nanotechnology assets in biosensors design for environmental monitoring. In: Brayner R., Fiévet F., Coradin T. (editors). *Nanomaterials: a danger or a promise?* London: Springer; 2013; p. 189–229, https://doi-org-443.webvpn.jnu.edu.cn/10.1007/978-1-4471-4213-3_7.

52. Yagi K. Applications of whole-cell bacterial sensors in biotechnology and environmental science. *Appl Microbiol Biotechnol* 2007; 73(6): 1251–1258, <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0718-6>.
53. Renella G., Giagnoni L. Light dazzles from the black box: whole-cell biosensors are ready to inform on fundamental soil biological processes. *Chem Biol Technol Agric* 2016; 3: 8, <https://doi.org/10.1186/s40538-016-0059-3>.
54. Park M., Tsai S.L., Chen W. Microbial biosensors: engineered microorganisms as the sensing machinery. *Sensors (Basel)* 2013; 13(5): 5777–5795, <https://doi.org/10.3390/s130505777>.
55. Roy V., Adams B.L., Bentley W.E. Developing next generation antimicrobials by intercepting AI-2 mediated quorum sensing. *Enzym Microb Technol* 2011; 49(2): 113–123, <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2011.06.001>.
56. Mangwani N., Dash H.R., Chauhan A., Das S. Bacterial quorum sensing: functional features and potential applications in biotechnology. *J Mol Microb Biotechnol* 2012; 22(4): 215–227, <https://doi.org/10.1159/000341847>.
57. Amine A., Arduini F., Moscone D., Palleschi G. Recent advances in biosensors based on enzyme inhibition. *Biosens Bioelectron* 2016; 76: 180–194, <https://doi.org/10.1016/j.bios.2015.07.010>.
58. Rocchitta G., Spanu A., Babudieri S., Latte G., Madeddu G., Galleri G., Nuvoli S., Bagella P., Demartis M.I., Fiore V., Manetti R., Serra P.A. Enzyme biosensors for biomedical applications: strategies for safeguarding analytical performances in biological fluids. *Sensors (Basel)* 2016; 16(6): 780, <https://doi.org/10.3390/s16060780>.
59. Sang S., Wang Y., Feng Q., Wei Y., Ji J., Zhang W. Progress of new label-free techniques for biosensors: a review. *Crit Rev Biotechnol* 2016; 36(3): 465–481, <https://doi.org/10.3109/07388551.2014.991270>.
60. Liu X., Marrakchi M., Xu D., Dong H., Andreescu S. Biosensors based on modularly designed synthetic peptides for recognition, detection and live/dead differentiation of pathogenic bacteria. *Biosens Bioelectron* 2016; 80: 9–16, <https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.01.041>.
61. Golichenari B., Velonia K., Nosrati R., Nezami A., Farokhi-Fard A., Abnous K., Behravan J., Tsatsakis A.M. Label-free nano-biosensing on the road to tuberculosis detection. *Biosens Bioelectron* 2018; 113: 124–135, <https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.04.059>.
62. Golichenari B., Nosrati R., Farokhi-Fard A., Faal Maleki M., Gheibi Hayat S.M., Ghazvini K., Vaziri F., Behravan J. Electrochemical-based biosensors for detection of Mycobacterium tuberculosis and tuberculosis biomarkers. *Crit Rev Biotechnol* 2019; 39(8): 1056–1077, <https://doi.org/10.1080/07388551.2019.1668348>.
63. Mowbray S.E., Amiri A.M. A brief overview of medical fiber optic biosensors and techniques in the modification for enhanced sensing ability. *Diagnostics (Basel)* 2019; 9(1): 23, <https://doi.org/10.3390/diagnostics9010023>.
64. Gharatape A., Yari Khosroushahi A. Optical biomarker-based biosensors for cancer/infectious disease medical diagnoses. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2019; 27(4): 278–286, <https://doi.org/10.1097/PAI.0000000000000586>.
65. Russell C., Ward A.C., Vezza V., Hoskisson P., Alcorn D., Steenson D.P., Corrigan D.K. Development of a needle shaped microelectrode for electrochemical detection of the sepsis biomarker interleukin-6 (IL-6) in real time. *Biosens Bioelectron* 2019; 126: 806–814, <https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.11.053>.
66. Abisado R.G., Benomar S., Klaus J.R., Dandekar A.A., Chandler J.R. Bacterial quorum sensing and microbial community interactions. *mBio* 2018; 9(5): e01749-18, <https://doi.org/10.1128/mbio.01749-18>.
67. Sin M.L., Mach K.E., Wong P.K., Liao J.C. Advances and challenges in biosensor-based diagnosis of infectious diseases. *Expert Rev Mol Diagn* 2014; 14(2): 225–244, <https://doi.org/10.1586/14737159.2014.888313>.
68. Bhardwaj N., Bhardwaj S.K., Mehta J., Kim K.H., Deep A. MOF-bacteriophage biosensor for highly sensitive and specific detection of Staphylococcus aureus. *ACS Appl Mater Interfaces* 2017; 9(39): 33589–33598, <https://doi.org/10.1021/acsami.7b07818>.
69. Nasrin F., Chowdhury A.D., Takemura K., Lee J., Adegoke O., Deo V.K., Abe F., Suzuki T., Park E.Y. Single-step detection of norovirus tuning localized surface plasmon resonance-induced optical signal between gold nanoparticles and quantum dots. *Biosens Bioelectron* 2018; 122: 16–24, <https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.09.024>.
70. Damborský P., Švitel J., Katrlík J. Optical biosensors. *Essays Biochem* 2016; 60(1): 91–100, <https://doi.org/10.1042/ebc20150010>.
71. Nquyet N.T., Yen L.T.H., Doan V.Y., Hoang N.L., Van Thu V., Lan H., Trung T., Pham V.H., Tam P.D. A label-free and highly sensitive DNA biosensor based on the core-shell structured CeO₂-NR@Ppy nanocomposite for Salmonella detection. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 2019; 96: 790–797, <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.11.059>.
72. Campuzano S., Yáñez-Sedeño P., Pingarrón J.M. Molecular biosensors for electrochemical detection of infectious pathogens in liquid biopsies: current trends and challenges. *Sensors (Basel)* 2017; 17(11): 2533, <https://doi.org/10.3390/s17112533>.
73. Liu Y., Zhou H., Hu Z., Yu G., Yang D., Zhao J. Label and label-free based surface-enhanced Raman scattering for pathogen bacteria detection: a review. *Biosens Bioelectron* 2017; 94: 131–140, <https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.02.032>.
74. Barreiros dos Santos M., Aguil J.P., Prieto-Simón B., Sporer C., Teixeira V., Samitier J. Highly sensitive detection of pathogen Escherichia coli O157:H7 by electrochemical impedance spectroscopy. *Biosens Bioelectron* 2013; 45: 174–180, <https://doi.org/10.1016/j.bios.2013.01.009>.
75. Zhang J., Oueslati R., Cheng C., Zhao L., Chen J., Almeida R., Wu J. Rapid, highly sensitive detection of gram-negative bacteria with lipopolysaccharide based disposable aptasensor. *Biosens Bioelectron* 2018; 112: 48–53, <https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.04.034>.
76. Huang Y., Xu J., Liu J., Wang X., Chen B. Disease-related detection with electrochemical biosensors: a review. *Sensors (Basel)* 2017; 17(10): 2375, <https://doi.org/10.3390/s17102375>.
77. Zanchetta G., Lanfranco R., Giavazzi F., Bellini T., Buscaglia M. Emerging applications of label-free optical biosensors. *Nanophotonics* 2017; 6(4): 627–645, <https://doi.org/10.1515/nanoph-2016-0158>.
78. Dudak F.C., Boyaci I.H. Rapid and label-free bacteria detection by surface plasmon resonance (SPR) biosensors. *Biotechnol J* 2009; 4(7): 1003–1011, <https://doi.org/10.1002/biot.200800316>.
79. Yang F., Chang T.L., Liu T., Wu D., Du H., Liang J., Tian F. Label-free detection of Staphylococcus aureus bacteria using long-period fiber gratings with functional polyelectrolyte

coatings. *Biosens Bioelectron* 2019; 133: 147–153, <https://doi.org/10.1016/j.bios.2019.03.024>.

80. Muniandy S., Teh S.J., Appaturi J.N., Thong K.L., Lai C.W., Ibrahim F., Leo B.F. A reduced graphene oxide-titanium dioxide nanocomposite based electrochemical aptasensor for rapid and sensitive detection of Salmonella enterica. *Bioelectrochemistry* 2019; 127: 136–144, <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2019.02.005>.

81. Wang Z., Yao X., Wang R., Ji Y., Yue T., Sun J., Li T., Wang J., Zhang D. Label-free strip sensor based on surface positively charged nitrogen-rich carbon nanoparticles for rapid detection of Salmonella enteritidis. *Biosens Bioelectron* 2019; 132: 360–367, <https://doi.org/10.1016/j.bios.2019.02.061>.

82. Srinivasan S., Ranganathan V., DeRosa M.C., Murari B.M. Label-free aptasensors based on fluorescent screening assays for the detection of Salmonella typhimurium. *Anal Biochem* 2018; 559: 17–23, <https://doi.org/10.1016/j.ab.2018.08.002>.

83. Zhang Y., Tian J., Li K., Tian H., Xu W. Label-free visual biosensor based on cascade amplification for the detection of Salmonella. *Anal Chim Acta* 2019; 1075: 144–151, <https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.05.020>.

84. Silva N.F.D., Magalhães J.M.C.S., Barroso M.F., Oliva-Teles T., Freire C., Delerue-Matos C. In situ formation of gold nanoparticles in polymer inclusion membrane: application as platform in a label-free potentiometric immunosensor for Salmonella typhimurium detection. *Talanta* 2019; 194: 134–142, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.10.024>.

85. Han S., Soyulu M.C., Kirimli C.E., Wu W., Sen B., Joshi S.G., Emery C.L., Au G., Niu X., Hamilton R., Krevolin K., Shih W.H., Shih W.Y. Rapid, label-free genetic detection of enteropathogens in stool without genetic isolation or amplification. *Biosens Bioelectron* 2019; 130: 73–80, <https://doi.org/10.1016/j.bios.2019.01.025>.

86. Lin P.H., Huang S.C., Chen K.P., Li B.R., Li Y.K. Effective construction of a high-capacity boronic acid layer on a quartz crystal microbalance chip for high-density antibody immobilization. *Sensors (Basel)* 2019; 19(1): 28, <https://doi.org/10.3390/s19010028>.

87. Wu R., Ma Y., Pan J., Lee S.H., Liu J., Zhu H., Gu R., Shea K.J., Pan G. Efficient capture, rapid killing and ultrasensitive detection of bacteria by a nano-decorated multi-functional electrode sensor. *Biosens Bioelectron* 2018; 101: 52–59, <https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.10.003>.

88. Kimuda S.G., Biraro I.A., Bagaya B.S., Raynes J.G., Cose S. Characterising antibody avidity in individuals of varied Mycobacterium tuberculosis infection status using surface plasmon resonance. *PLoS One* 2018; 13(10): e0205102, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205102>.

89. Rebelo R., Barbosa A.I., Caballero D., Kwon I.K., Oliveira J.M., Kundu S.C., Reis R.L., Correlo V.M. 3D biosensors in advanced medical diagnostics of high mortality diseases. *Biosens Bioelectron* 2019; 130: 20–39, <https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.12.057>.

90. Erdem Ö., Saylan Y., Cihangir N., Denizli A. Molecularly imprinted nanoparticles based plasmonic sensors for real-time Enterococcus faecalis detection. *Biosens Bioelectron* 2019; 126: 608–614, <https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.11.030>.

91. Hoyos-Nogués M., Gil F.J., Mas-Moruno C. Antimicrobial peptides: powerful biorecognition elements to detect bacteria in biosensing technologies. *Molecules* 2018; 23(7): 1683, <https://doi.org/10.3390/molecules23071683>.

92. Liébana S., Brandão D., Alegret S., Pividori M.I. Electrochemical immunosensors, genosensors and phagosensors for Salmonella detection. *Anal Methods* 2014; 6(22): 8858–8873, <https://doi.org/10.1039/c4ay01373e>.

93. Cui F., Xu Y., Wang R., Liu H., Chen L., Zhang Q., Mu X. Label-free impedimetric glycan biosensor for quantitative evaluation interactions between pathogenic bacteria and mannose. *Biosens Bioelectron* 2018; 103: 94–98, <https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.11.068>.

94. Bu T., Huang Q., Yan L., Zhang W., Dou L., Huang L., Yang Q., Zhao B., Yang B., Li T., Wang J., Zhang D. Applicability of biological dye tracer in strip biosensor for ultrasensitive detection of pathogenic bacteria. *Food Chem* 2019; 274: 816–821, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.066>.

95. Zarei S.S., Soleimani-Zad S., Ensafi A.A. An impedimetric aptasensor for Shigella dysenteriae using a gold nanoparticle-modified glassy carbon electrode. *Mikrochim Acta* 2018; 185(12): 538, <https://doi.org/10.1007/s00604-018-3075-0>.

96. Chuensirikulchai K., Laopajon W., Phunpae P., Apiratmateekul N., Surinkaew S., Tayapiwatana C., Pata S., Kasinrerak W. Sandwich antibody-based biosensor system for identification of Mycobacterium tuberculosis complex and nontuberculous mycobacteria. *J Immunoassay Immunochem* 2019; 40(6): 590–604, <https://doi.org/10.1080/15321819.2019.1659814>.

97. Savas S., Altintas Z. Graphene quantum dots as nanozymes for electrochemical sensing of Yersinia enterocolitica in milk and human serum. *Materials (Basel)* 2019; 12(13): 2189, <https://doi.org/10.3390/ma12132189>.

98. Chang H.J., Voyvodic P.L., Zúñiga A., Bonnet J. Microbially derived biosensors for diagnosis, monitoring and epidemiology. *Microb Biotechnol* 2017; 10(5): 1031–1035, <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12791>.

99. Kuss S., Amin H.M.A., Compton R.G. Electrochemical detection of pathogenic bacteria—recent strategies, advances and challenges. *Chem Asian J* 2018; 13(19): 2758–2769, <https://doi.org/10.1002/asia.201800798>.

100. Singh R., Mukherjee M.D., Sumana G., Gupta R.K., Sood S., Malhotra B.D. Biosensors for pathogen detection: a smart approach towards clinical diagnosis. *Sens Actuators B Chem* 2014; 197: 385–404, <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.03.005>.

101. Zhou Q., Son K., Liu Y., Revzin A. Biosensors for cell analysis. *Annu Rev Biomed Eng* 2015; 17: 165–190, <https://doi.org/10.1146/annurev-bioeng-071114-040525>.