Scientific-Research Quarterly Journal of Medical Science Of
Khatam Al-Nabieen University
Volume 9, Issue 18, Wintr 2024

Types of biosensors and their application in the detection of microorganisms

Mohammad Hussain Sadaqat[1*]

1. Department of Bacteriology, Faculty of Medical Science, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
*E-mail: m.sadaqat@modares.ac.ir Tel: 0781142265

Abstract
Biosensors are devices for measuring the amount of analyte and chemical and biological reactions, which consist of a biological receptor, a transducer, an electronic part, and a display (depending on the type of biosensor). Various biosensors have been designed, the most important of which are optical biosensors, electrochemical and electronic biosensors, and mass-sensitive biosensors. Optical biosensors operate based on changes in the intensity, refraction, and reflection of light incident on a surface containing a bioreceptor and analyte (such as a microorganism), as seen in surface plasmon resonance and evanescent fiber-based biosensors. In fiber-optic biosensors, due to the large size of bacteria, the evanescent wave does not have significant penetration ability, which is increased by designing the optical fiber in a curved and U-shaped shape. In electrochemical and electronic biosensors, an electrode is used that converts the reaction into an electric current when the microorganism is attached to the bioreceptor, and in some cases, it also provides the ability to transmit information wirelessly. Mass-sensitive biosensors depend on the activity of piezoelectric materials, of which quartz is the most important material. Without a target virus or bacteria, the piezoelectric material has a certain oscillation frequency, which changes after the microorganism is attached and its value is measured. Today's standard methods such as culture, ELISA, PCR, and RT-PCR have good sensitivity and specificity but are time-consuming and expensive. In contrast, a biosensor is economically viable, easier to use, and provides instant test results.

Keywords: Biosensor, Microorganism, Detection, Analyte, Bioreceptor.

[Downloaded from kjms.knu.edu.af on 2025-04-19]

فصلنامه علمی-پژوهشی علوم طبی
دانشگاه خاتم‌النبیین(ص)
سال نهم، شماره ۱۸، زمستان ۱۴۰۳
صفحه ۴۴ - ۳۲

انواع بیوسنسورها و کاربرد آن‌ها در تشخیص میکروارگانیزم‌ها

محمدحسین صداقت[۱]

۱. دیپارتمنت باکتریولوژی، پوهنحی طب، پوهنتون تربیت مدرس، تهران، ایران

*ایمیل:m.sadaqat@modares.ac.ir شماره تماس: ۰۷۸۱۱۴۲۲۶۵

چکیده

بیوسنسورها وسایل سنجش مقدار آنالیت و واکنش‌های کیمیاویی و بیولوژیکی هستند که از گیرنده بیولوژیکی، مبدل، بخش الکترونیک و نمایشگر (بسته به نوع بیوسنسور) تشکیل شده است. انواع مختلفی از بیوسنسورها طراحی شده است که مهمترین آن‌ها بیوسنسور نوری، بیوسنسور الکتروشیمیایی، الکترونیکی و بیوسنسور حساس به جرم می‌باشند. بیوسنسور نوری براساس تغییرات در شدت، شکست و انعکاس نوری که به سطح دارای گیرنده زیستی و آنالیت (مانند میکروارگانیزم) تابیده می‌شود، فعالیت می‌کند. در بیوسنسورهای رزونانس پلاسمون سطحی و اوانسنت مبتنی بر فایبر نوری دیده می‌شوند. در بیوسنسور فایبر نوری به دلیل اندازه بزرگ باکتری، موج اوانسنت توانایی نفوذ قابل توجه نداشته که با طراحی فایبر نوری به شکل خمیده و U شکل عمق نفوذ موج بیشتر می‌شود. در بیوسنسورهای الکتروشیمیایی و الکترونیکی، از الکترود استفاده می‌شود که حین اتصال میکروارگانیزم به گیرنده، الکترود این واکنش را تبدیل به جریان الکتریکی می‌کند که در برخی توانایی ارسال اطلاعات به صورت وایرلس را نیز فراهم می‌کنند. بیوسنسور حساس به جرم وابسته به فعالیت مواد پیزو الکتریک است که کوارتز مهمترین ماده است. ماده پیزو الکتریک در حالت عدم وجود وایروس و یا باکتری هدف، فرکانس نوسان معینی داشته که بعد از اتصال میکروارگانیزم فرکانس تغییر کرده و مقدار آن سنجیده می‌شود. روش‌های استاندارد امروزی چون کشت، الایزا، PCR و RT-PCR حساسیت و اختصاصیت خوبی دارند. اما زمان‌بر و قیمت هستند. در مقابل بیوسنسور از نظر اقتصادی به صرفه بوده، کاربری آسانتری داشته و در لحظه نتیجه آزمایش را مشخص می‌کند.

واژه‌های کلیدی: بیوسنسور، میکروارگانیزم، تشخیص، آنالیت، گیرنده.

[Downloaded from kjms.knu.edu.af on 2025-04-19]

١. مقدمه

بیوسنسورها یا حسگرهای بیولوژیک وسایلی هستند که واکنش‌های کیمیاویی و بیولوژیکی را اندازه‌گیری می‌کنند. این پروسه از طریق تولید سیگنال‌های متناسب با غلظت آنالیت (ماده‌ای که مقدارش اندازه گرفته می‌شود) صورت می‌گیرد. اجزای مرتبط با بیوسنسورها شامل ۵ بخش است: ۱. آنالیت ۲. گیرنده (Bioreceptor) مانند انتی‌بادی، انزایم، آپتامر، حجرات و DNA که نقش تشخیص آنالیت را داشته که بعد از تشخیص آن تولید سیگنال‌هایی به شکل نور، گرما و همچنین تغییر Ph، شارژ و جرم می‌کند. ۳. مبدل (Transducer) که شکلی از انرژی را به شکلی دیگر (عمدتا اپتیکال یا الکتریکی) تبدیل می‌کند. ٤. بخش الکترونیک که وظیفه پروسس سیگنال‌های تبدیل شده و انتقال آن به بخش نمایشگر را بر عهده دارد. ۵. بخش نمایشگر مانند صفحه کمپیوتر و یا پرینتر (۱).

للاند کلارک (Leland Clark) اولین بیوسنسور را در سال ۱۹۵٦ میلادی اختراع کرده است و به همین دلیل او را به عنوان پدر بیوسنسور می‌شناسند. اختراع او به نام الکترود کلارک، جهت سنجش مقدار اکسیجن خون طراحی شده بود (۲). اما در سال ۱۹۷۷ میلادی واژه بیوسنسور اولین بار توسط کمن (Cammann) استفاده شد. در سال ۱۹٦۲ میلادی، کلارک بیوسنسور الکترود انزایم را جهت شناسایی گلوکز ساخت. بعدها تحقیق روی بیوسنسورها گسترش یافت. طوری که در سال‌های ۱۹٦۹ و ۱۹۷۵ بیوسنسورهایی جهت تشخیص یوریا و الکل اختراع شدند. مالک و همکاران برای یک بیوسنسور چهار ویژگی مهم گزینش‌پذیری، تکرارپذیری، ثبات و حساسیت را بیان کردند که در عملکرد ایده‌آل آن مؤثر است. مهمترین ویژگی گزینش‌پذیری است. به این معنا که بیوسنسور قابلیت تشخیص آنالیت مورد نظر در یک نمونه که حاوی ترکیبات مشابه و غیر مشابه است را داشته باشد. تکرارپذیری هم به این معنی است که در چند آزمایش تکراری، مقادیر نتایج به دست آمده یکسان و یا نزدیک به هم باشند (۳).

امروزه بیوسنسورهای مختلفی جهت شناسایی میکروارگانیزم‌هایی چون مایکوباکتریوم توبرکلوزیس، ویبریو کلرا، ترپونما پالیدوم و غیره ساخته شده‌اند که در مورد مایکوباکتریوم توبرکلوزیس، شناخته شده‌ترین بیوسنسورها از نوع سنسور نوکلئیک اسید و رزونانس پلاسمون سطحی (surface plasmon resonance=SPR) هستند. علاوه بر این، از بیوسنسورها می‌توان برای تشخیص میکروارگانیزم‌های آلوده کننده آب و غذا مانند اشریشیا کلای و سالمونلاها و همچنین تشخیص میکروارگانیزم‌های مرتبط با زراعت و پرورش دام استفاده کرد (٤). کاربردهای دیگر بیوسنسور، شناسایی بیومارکرهای مرتبط با امراض قلبی، تعیین میزان ترکیبات مختلف موجود در خون از جمله گلوکز، شناسایی بیومارکرهای سرطان و غیره می‌باشند (۵).

۲. مواد و روش‌ها

برای جمع‌آوری اطلاعات این مطالعه، از پایگاه‌های اطلاعاتی مانند PubMed و Sciencedirect و

[Downloaded from kjms.knu.edu.af on 2025-04-19]

سایت‌های مجلاتی چون Sensors و Materials استفاده شد. برای جستجو، معادل انگلیسی واژگانی مانند "بیوسنسور"، "میکروارگانیزم"، "پاتوژن"، "باکتری"، "وایروس"، "تشخیص" در ترکیب با (عملگر And) واژگان "بیوسنسور نوری"، "رزونانس پلاسمون سطحی"، "اوانسنت"، "فایبر نوری"، "لومینسنس"، "پیزوالکتریک"، "بیوسنسور الکترونیک"، "بیوسنسور الکتروشیمیایی"، "نانوسیم"، "نانوذرات طلا"، "طلا" و "بیوسنسور حساس به جرم" با فیلتر عنوان یا عنوان/چکیده به کار برده شد. فیلتر سال انتشار مقالات از ۲۰۰۵ تا ۲۰۲۵ انتخاب شد. مطالعاتی وارد شدند که به نقش بیوسنسور در تشخیص میکروارگانیزم‌ها و نحوه طراحی آن پرداخته بودند.

۳. نتایج

۳-۱. بیوسنسورهای نوری (اپتیکال)

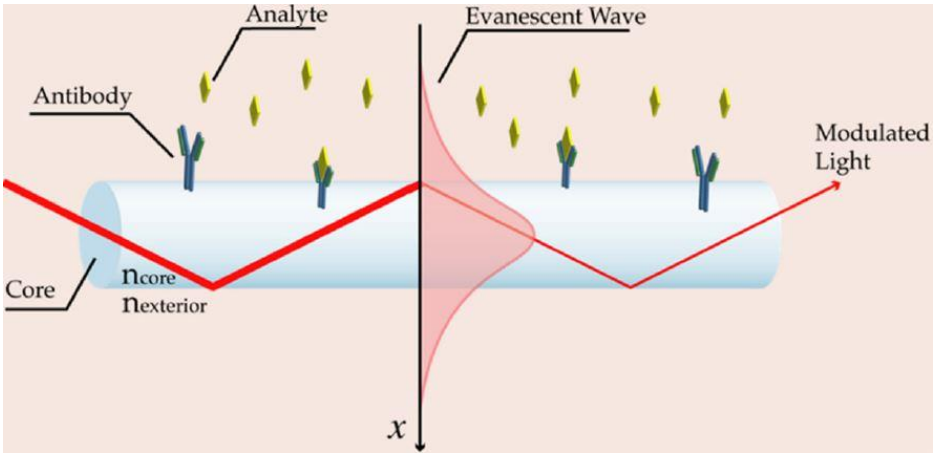
این نوع بیوسنسور تغییرات در ویژگی‌های نور مانند ضریب شکست، جذب، فلوئورسنس و پراکندگی نور حاصل واکنش آنالیت و گیرنده را شناسایی و اندازه‌گیری می‌کند. متناسب با غلظت آنالیت و به واسطه گیرنده‌های چون انزایم، انتی‌بادی و غیره، سیگنال تولید شده و پروسس می‌شود (٦). سیگنال نوری در مقایسه با دیگر سیگنال‌های تولید شده (گرمایی، الکتریکال و ...) در دیگر بیوسنسورها، به دلیل داشتن ویژگی هایی چون حساسیت بالا، ایمن بودن در برابر اختلال‌گر خارجی، ثبات و نویز پایین، بیوسنسور نوری را بیشتر مورد توجه قرار می‌دهد. در نتیجه بیوسنسور نوری قابلیت قابل توجهی در تشخیص مواد بیولوژیکی داشته که می‌توان از آن در تشخیص کلینیکال، کشف دوا، کنترل پروسس غذا و نظارت بر محیط زیست استفاده کرد (۷). بیوسنسور نوری براساس نوع مبدل، انواع مختلفی دارد که به بیوسنسور رزونانس پلاسمون سطحی، بیوسنسور مبتنی بر موج اوانسنت و بیوسنسور لومینسنت می‌توان اشاره کرد(۸).

در بیوسنسور رزونانس پلاسمون سطحی (SPR)، گیرنده مانند انتی‌بادی روی سطحی فلزی مانند طلا قرار می‌گیرد که در زیر سطح فلزی جریانی از نمونه مورد نظر عبور می‌کند. در طرف دیگر سطح فلزی، نور عبور کرده از منشور (Prism) به سطح فلز برخورد کرده و بازتاب می‌کند. در حالت عادی بازتاب نور طول موج و شدت خاصی داشته و در صورتی که آنالیت مورد نظر در نمونه به گیرنده متصل شود، طول موج و شدت تغییر می‌کند که توسط آشکارساز (Detector) شناسایی و کمپیوتر آن را به صورت نمودار نشان می‌دهد (۹, ۱۰). این نوع بیوسنسور نیاز به برچسب جهت تشخیص نداشته و به صورت ریل تایم (یا در لحظه) نتایج را نشان می‌دهد. بیوسنسور SPR در مقایسه با روش‌های معمول تشخیص باکتری‌های پاتوژن مانند کشت باکتری، PCR و الایزا ساده‌تر و سریعتر می‌باشد. در مطالعات مختلف، بیوسنسور SPR برای تشخیص باکتری‌هایی چون اشریشیا کلای (سویه O157:H7)، سالمونلا و لیستریا مونوسایتوژنز طراحی شده است (۱۱). در یک روش مبتنی بر SPR، علاوه بر ورق طلا، از لایه نازک گرافن نیز جهت تشخیص DNA

[Downloaded from kjms.knu.edu.af on 2025-04-19]

مایکوباکتریوم توبرکلوزیس استفاده شده است. در این نوع، گرافن روی طلا قرار می‌گیرد و روی گرافن DNA تک رشته که مکمل DNA مایکوباکتریوم توبرکلوزیس بوده و به لیبل یا برچسب از نوع طلا نانو اورچین (gold nano urchin = GNu) متصل می‌باشد. لیبل GNu نقش تقویت کنندگی سیگنال را دارد. DNA روی گرافن به واسطه نیروی π-π به گرافن متصل است. زمانی که نمونه حاوی DNA مایکوباکتریوم توبرکلوزیس داخل دستگاه جریان پیدا کند و به DNA روی گرافن متصل شود، به دلیل غلبه نیروی پیوند هایدروجنی دو رشته مکمل هم بر نیروی π-π، باعث جدا شدن DNA از گرافن شده و شدت سیگنال SPR کاهش می‌یابد. بنابراین در این مدل هر چقدر مقدار DNA مایکوباکتریوم توبرکلوزیس در نمونه بیشتر باشد، شدت SPR کاهش می‌یابد (۱۲).

در روش اوانسنت مبتنی بر فایبر نوری، نور داخل فایبر تابیده شده و در هنگام برخورد به دیواره بخشی از آن منعکس می‌شود. در حالی که قسمتی از آن عبور کرده و وارد قسمت محیطی با جنس متفاوت شده و ایجاد موجی الکترومقناطیسی به نام موج اوانسنت می‌کند. در بیوسنسورهای مرتبط، در سطح خارجی فایبر نوری انتی‌بادی قرار داده می‌شود تا به آنالیت در صورت وجود متصل شود. در صورت وجود آنالیت، در نور منعکس شده و همچنین موج اوانسنت تغییر به وجود آمده که توسط دستگاه آنالیز و شناسایی می‌شود. توانایی تشکیل موج اوانست در محیط اطراف با افزایش فاصله کاهش می‌یابد (شکل ۱) (۱۳, ۱٤). بنابراین در صورتی که آنالیت مورد نظر باکتری باشد، از آنجایی که باکتری اندازه بزرگی دارد، موج اوانست در حالت عادی توانایی پوشش باکتری را نخواهد داشت. با تغییر در فایبر نوری از حالت صاف و مستقیم به شکل خمیده و U شکل، علاوه بر افزایش عمق موج اوانسنت، شدت آن نیز بیشتر شده که مجموعا باعث شناسایی بهتر باکتری می‌شوند (۱۵).



شکل ۱. بیوسنسور اوانسنت فایبر نوری. نور تابیده شده به داخل فایبر در برخورد با دیواره منعکس شده و بخشی که از دیواره عبور کرده تشکیل موج اوانسنت می‌دهد. در صورت اتصال آنالیت به اتنی‌بادی، تغییرات ایجاد شده در نور منعکس شده و موج اوانسنت سنجش شده و پی به وجود و مقدار آنالیت می‌برند.

[Downloaded from kjms.knu.edu.af on 2025-04-19]

بیوسنسورهای لومینسنت عموما بر اساس فعالیت انزایم لوسیفراز طراحی می‌شوند. لوسیفراز با اکساید کردن مالیکول لوسیفرین تولید نور می‌کند که توسط دستگاه می‌توان شناسایی کرد (١٦). مالیکول‌های سیگنالی به نام دیگوانوزین مونوفسفات حلقوی (cyclic di-guanosine monophosphate = c-di-GMP) توسط برخی باکتری‌ها تولید می‌شوند که در تجمع و تشکیل بیوفیلم باکتریایی نقش دارند. Dippel و همکاران بیوسنسور لومینسنتی طراحی کرده‌اند که در آن پروتئین YcgR (به دست آمده از باکتری اشریشیا کلای) به قسمت لوسیفرازی بیوسنسور متصل است. این پروتئین نقش گیرنده را داشته و با چسبیدن به c-di-GMP، این مالیکول را می‌تواند شناسایی کند (١٧). سم اکراتوکسین (Ochratoxin)، سمی است که توسط قارچ‌ها تولید شده و مواد غذایی را آلوده می‌کند که این برای مصرف کنندگان از نظر صحی مضر می‌باشد. در تحقیقی توسط Zangheri و همکاران، دستگاهی طراحی شده است که به واسطه مواد لومینسنت و انتی‌بادی ضد اکراتوکسین، این دستگاه توانایی شناسایی سم اکراتوکسین در نمونه‌هایی غذایی مانند قهوه و غیره را دارا است. نکته مورد توجه این است که شناساگر در این مورد تلفن هوشمند می‌باشد که لنز تلفن به این کارتریج متصل شده و با شناسایی رنگ لومینسنت حاصل، مقدار سم اکراتوکسین به دست می‌آید (١٨).

٣-٢. بیوسنسور الکتروشیمیایی و الکترونیکی

در این نوع بیوسنسورها از الکترود رسانا و یا نیمه رسانا به عنوان مبدل استفاده می‌شود. قسمت گیرنده مانند دیگر بیوسنسورها انتی‌بادی، پروتئین، آپتامر و ... می‌تواند باشد که در بیوسنسورهای الکتروشیمیایی و الکترونیکی به مبدلی از نوع الکترود متصل است. الکترود می‌تواند به شکل مسطح، سیم، فایبر و یا به شکل نانو و جنس آن فلزی (طلا و پلاتینیوم)، سرامیک رسانا و نیمه رسانا و ... باشد. طرحی کلی به این صورت است که نمونه حاوی آنالیت یا میکروارگانیزم وارد بیوسنسور می‌شود. بعد از اتصال آنالیت به گیرنده متصل به الکترود، انرژی الکتریکی تولید شده و توسط دستگاه آنالیز می‌شود. نمونه‌های مختلفی از جمله آب دریاچه، رودخانه و چاه، هوا، انواع مواد غذایی، خون انسان و سایر جانداران را توسط این بیوسنسورها از نظر حضور میکروارگانیزم‌های مریضی‌زا می‌توان بررسی کرد (١٩).

بیوسنسور الکترونیکی یکبار مصرف توسط Shawkat Ali و همکاران مورد بررسی و توسعه قرار گرفت که قابلیت شناسایی پاتوژن‌های غذایی مانند سالمونلا تیفی موریوم و اشریشیا کلای را دارد. بیوسنسور از الکترود شانه مانند از جنس نقره تشکیل شده که در فضای بین الکترودها نیز نانوسیم‌هایی از جنس نقره حضور دارد که حساسیت تشخیص را بالا می‌برد. مجموعه الکترود و نانوسیم بر روی ورقه نازکی از جنس پلاستیک شفاف و نرم قرار می‌گیرد که این پلاستیک توسط پرینترهای خاص ساخته می‌شود. زمانی که نمونه‌های حاوی باکتری‌های مختلف با غلظت یکسان روی بیوسنسور ریخته می‌شود، ایمپدانس متفاوتی ایجاد می‌شود که بر اساس ایمپدانس،

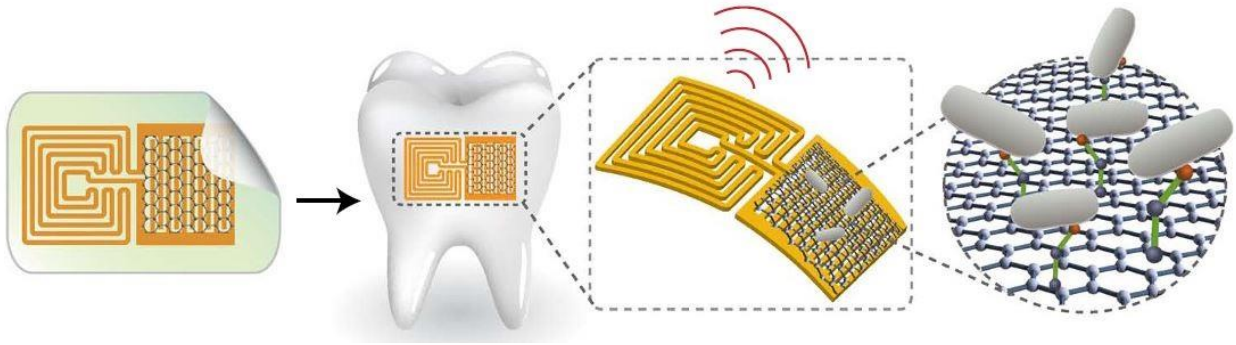
[Downloaded from kjms.knu.edu.af on 2025-04-19]

نوع باکتری تشخیص داده می‌شود. تشخیص سریع و در لحظه، ارزان بودن، یکبار مصرف و قابل پرینت بودن این نوع بیوسنسور، از مزایای آن می‌باشند (۲۰). در مطالعه دیگری که توسط Yoo انجام شده است نیز به نقش نانوسیم‌ها در افزایش حساسیت قابل توجه بیوسنسورهای الکترونیکی اشاره شده است. نانوسیم این مطالعه از جنس طلا با قطر ۱۰۰ تا ۲۰۰ نانومتر و طول چند میکرومتر بوده که بر روی آن DNAهای مکمل DNA چهار قارچ آسپرژیلوس فومیگاتوس (Aspergillus fumigatus)، کاندیدا گلابراترا (Candida glabrata)، کاندیدا کروزئی (Candida Krusei) و کریپتوکوکس نئوفورمنس (Cryptococcus neoformans) قرار گرفته است. بنابراین این بیوسنسور در واقع قابلیت تشخیص DNA چهار قارچ ذکر شده را دارد. به دلیل استفاده از نانوتکنولوژی (طراحی نانوسیم) حساسیت بیوسنسور بسیار بالا بوده به اندازه‌ای که حداقل مقدار DNA قابل تشخیص ۱۰۰ فمتو مولار می‌باشد (۲۱).

در علم نانوتکنولوژی، توجه به ساخت موادی است که حداقل یکی از ابعاد آن کمتر از ۱۰۰ نانومتر اندازه داشته باشد. یک ماده در اندازه نانو خواص فیزیکی و کیمیاویی متفاوتی در مقایسه با مواد بزرگتر از خود داشته که دلیل آن افزایش نسبت سطح به حجم و اثر کوانتوم وابسته به اندازه می‌باشد. افزایش نسبت سطح به حجم در بیوسنسور متعاقبا باعث افزایش حساسیت به تغییرات شده که به خاطر افزایش سطح درگیر با آنالیت می‌باشد. نانومواد‌های مختلفی ساخته شدند که شامل نانوسیم‌ها، کاربن نانوتیوب‌ها و نانوذرات می‌باشند. کاربن نانوتیوب‌ها روش ساخت سخت و کاربری محدودی داشته، اما نانوسیم‌ها آسانتر تولید شده و حساسیت بالایی نیز دارند (۲۲, ۲۳). در میان نانوپارتیکل‌ها، نانوپارتیکل طلا بیشترین استفاده را در بیوسنسورهای الکتروشیمیایی جهت شناسایی پاتوژن‌ها دارند. این به خاطر سازگاری و رسانایی (انتقال سریع الکترون‌ها بین محلول الکترولیتی و مبدل) بالای نانوپارتیکل طلا می‌باشد (۲٤). همچنین در صورتی که نانوپارتیکل طلا جدا از ساختار الکترود استفاده شود، نقش تقویت کنندگی سیگنال تشخیص را می‌تواند داشته باشد. نانوپارتیکل طلا را می‌توان به عنوان مبدل در آزمایشات شناسایی انتی‌جن – انتی‌بادی مانند الایزا به کار برد که علاوه بر نقش مبدل، نانوپارتیکل طلا با اتصال مقادیر بیشتری انتی‌بادی بر روی خود باعث افزایش سطح تشخیص می‌شود (۲۵).

Mannoor و همکاران بیوسنسوری طراحی کرده‌اند که در آن از پپتاید ضد میکروبی به عنوان گیرنده استفاده شده است. پپتاید ضد میکروبی بر روی صفحه‌ای از گرافن و طلا قرار گرفته که این صفحه متصل به قطعه‌ای است که ارتباط وایرلس با تلفن همراه و یا سایر دستگاه‌ها برقرار می‌کند. کل این مجموعه ورقی نازک است که بر سطح دندان قرار می‌گیرد. زمانی که باکتری مانند هلیکوباکتر پیلوری بر روی پپتید ضد میکروبی (گیرنده) قرار می‌گیرد، بیوسنسور به صورت وایرلس سیگنال می‌فرستد (شکل ۲)(۲٦).

[Downloaded from kjms.knu.edu.af on 2025-04-19]



شکل ۲. بیوسنسور الکترونیکی. این نوع بیوسنسور از صفحه نازکی از طلا تشکیل شده که گرافن بر روی آن قرار گرفته است. پپتاید ضد میکروبی روی گرافن، نقش گیرنده را دارد. بعد از اتصال باکتری هلیکوباکتر پیلوری به گیرنده، الکترود که از جنس طلا است فعال شده و از طریق قسمت مارپیچ مانند سیگنال وایرلس به تلفن همراه می‌فرستد و حضور و مقدار باکتری را اطلاع می‌دهد.

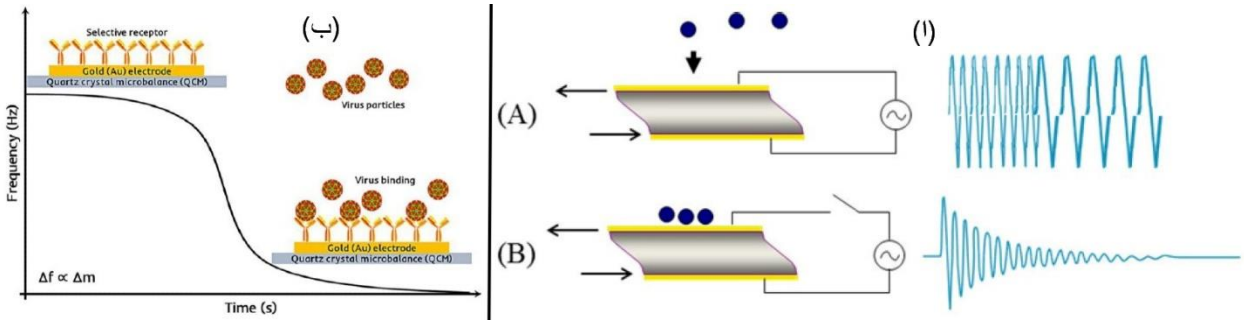
نوع دیگری بر اساس سنجش تغییرات ایمپدانس جهت شناسایی وایروس آنفلوانزای پرندگان زیر گروه H5N1 ساخته شده است. وایروس H5N1 باعث آلودگی در پرندگان از جمله مرغ، حیوانات اهلی و همچنین انسان می‌شود. میزان مرگ ومیر موارد آلوده شده، در پرندگان ۱۰۰ فیصد و انسان ٦۰ فیصد است. این وایروس سابقه ایجاد پاندمی جهانی و ضررهای اقتصادی قابل توجه را دارد. روش تشخیص استندارد طلایی برای H5N1، کشت و جداسازی وایروس و rRT-PCR می‌باشد. اما از آنجایی که این روش قیمت است و نیاز به زمان و تجهیزات دارد، روشی مانند سنجش ایمپدانس علاوه بر حساسیت و اختصاصیتی که دارد، سریع نیز انجام می‌شود. در بیوسنسور تشخیص دهنده H5N1 که مطابق با این روش طراحی شده است، از میکرو الکترودهایی از جنس طلا استفاده شده که بر روی آن انتی‌بادی ضد قسمت N1 وایروس قرار گرفته است. انتی‌بادی ضد قسمت H5 وایروس همراه با نمونه وجود دارد که نقش آن جداسازی وایروس از مابقی مالیکول‌ها و میکروارگانیزم‌ها می‌باشد. اتصال وایروس به انتی‌بادی سطح میکرو الکترود، باعث تغییرات در ایمپدانس شده و توسط دستگاه اندازه‌گیری می‌شود. حجرات سرخ خون مرغ تمایل به اتصال به وایروس H5N1 دارند. اضافه کردن این حجرات به نمونه، باعث تشکیل کمپلکس بزرگتر از حجرات خونی مرغ، وایروس و انتی‌بادی شده که به تقویت سیگنال ایمپدانس کمک می‌کند (۲۷, ۲۸).

۳-٤. بیوسنسور حساس به جرم

جرم آنالیت مورد نظر در این بیوسنسور به واسطه اثر پیزو الکتریک سنجیده می‌شود که به این دلیل به این نوع بیوسنسورها، بیوسنسور پیزو الکتریک نیز گویند. مکانیزم فعالیت مبدل بیوسنسور حساس به جرم از طریق تبدیل فشار یا نیروی مکانیکی (مانند اثر جرمی آنالیت) به نیروی الکتریکی می‌باشد. به طور دقیقتر بیوسنسور از دو الکترود تشکیل شده که در بین آن‌ها ماده‌ای با خاصیت پیزو الکتریک قرار دارد. ولتاژ متناوب داده شده به دو الکترود بیوسنسور باعث تکان خوردن و نوسان ماده پیزو الکتریک شده و فرکانس

[Downloaded from kjms.knu.edu.af on 2025-04-19]

نوسان توسط دستگاه اندازه‌گیری می‌شود. روی الکترودی که در قسمت بالای ماده پیزوالکتریک قرار گرفته است، معمولا انتی‌بادی جهت شناسایی آنالیت یا میکروارگانیزم حضور داشته و با اتصال میکروارگانیزم به آن به دلیل جرمی که دارد روی ماده پیزوالکتریک فشار آورده و باعث تغییر و کاهش فرکانس نوسان آن شده و مطابق آن به میزان آنالیت یا میکروارگانیزم پی برده می‌شود (شکل ۳)(۲۹, ۳۰).



شکل ۳. **(ا)** ماده پیزو الکتریک در بیوسنسور حساس به جرم، زمانی که آنالیت قرار نگرفته است، تحت ولتاژ دستگاه دارای فرکاس نوسان بیشتری است. زمانی که آنالیت شناسایی شد و روی الکترود قرار گرفت، به دلیل افزایش جرم و فشار، فرکانس نوسان ماده پیزو الکتریک کاهش پیدا می‌کند و مطابق با آن مقدار آنالیت سنجش می‌شود (۳۱). **(ب)** طرح کلی از بیوسنسور حساس به جرم جهت شناسایی وایروس. الکترود از جنس طلا و ماده پیزو الکتریک از کوارتز می‌باشد. با اتصال وایروس به انتی‌بادی روی الکترود و ایجاد جرم بیشتر، فرکانس نوسان کاهش پیدا کرده و مقدار وایروس سنجیده می‌شود (۳۰).

مواد مختلفی اثر پیزو الکتریکی دارند که شامل کوارتز، تورمالین (tourmaline)، لیتیوم نیوبات (lithium niobate)، زینک اکساید و آلومینیوم نیترید می‌باشد که کوارتز بیشتر رایج است (۳۲). در مطالعه‌ای که توسط *Eshun* و همکاران انجام شده است، از کوارتز و طلا در صفحه بیوسنسور استفاده شده است. بر روی صفحه بیوسنسور به جای انتی‌بادی، مشتقات قند مانوز مانند ٤-ان-مانوزیل بنزوئیک اسید (4-N-mannosyl benzoic acid = 4-NMBA) و ٤-تیوفنیل-ان-مانوز (4-thiophenyl-N-mannose = 4-TNM) به کار برده شده است که این قندها به عنوان لیگاند به پیلی نوع ۱ (FimH) *اشریشیا کلای* متصل شده و این باکتری را در بیوسنسور شناسایی می‌کند. حداقل مقدار باکتری که بیوسنسور از نوع 4-NMBA و 4-TNM توانایی شناسایی دارد به ترتیب ۳,۷ CFU/mL و ٦,٦ CFU/mL می‌باشد(۳۳). در مطالعه دیگری بیوسنسور کوارتزی و دارای گیرنده از نوع انتی‌بادی مونوکلونال جهت شناسایی *سالمونلا تیفی موریوم* (*Salmonella typhimurium*) طراحی شده بود. علاوه بر این روش که مستقیم است روش‌های دیگر مانند ساندویچ و ساندویچ کونژوگه با نانوپارتیکل طلا نیز استفاده کرده بودند. در روش ساندویچ، انتی‌بادی پلی کلونال ثانویه که آزاد است و متصل به بیوسنسور نیست نیز اضافه می‌شود تا با اتصال به قسمت دیگر باکتری باعث شناسایی دقیق‌تر به خاطر افزایش جرم شود. در

[Downloaded from kjms.knu.edu.af on 2025-04-19]

صورتی که انتی‌بادی ثانویه متصل به نانوپارتیکل طلا باشد، جرم بیشتر شده و حداقل مقدار باکتری که بیوسنسور می‌تواند شناسایی کند کاهش پیدا می‌کند و به عبارتی به مقادیر کمتر باکتری بیوسنسور حساستر می‌شود. به همین خاطر در این مطالعه آستانه (حداقل مقدار) شناسایی در مدل مستقیم CFU/mL ۱۸۳، در مدل ساندویچ CFU/mL ۱۰۱ و در مدل ساندویچ کونژوگه با نانوپارتیکل طلا CFU/mL ۲۰-۱۰ گزارش شده است که بنابراین در مدل آخر بیوسنسور بیشترین حساسیت را دارد (۳٤).

نتیجه‌گیری

امروزه با وجود روش‌های دقیق و استندارد طلایی (gold standard) جهت تشخیص میکروارگانیزم‌ها، مانند کشت، الایزا، روش‌های مالیکولی چون PCR و RT-PCR و غیره، به مرور زمان وسایل تشخیصی چون بیوسنسور در حال مطرح شدن هستند. روش‌های استندارد نیاز به زمان و هزینه بالا دارند اما بیوسنسور در لحظه (Real time) و با هزینه پایینتری نتیجه آزمایش را مشخص می‌کند. آسان بودن استفاده از بیوسنسور از دیگر مزایای آن است که مثال آن ارسال سیگنال و اطلاعات به صورت وایرلس به تلفن همراه در لحظه تشخیص باکتری و یا استفاده از لنز تلفن همراه در تشخیص رنگ حاصل از واکنش میکروارگانیزم با اجزای بیوسنسور می‌باشد. همچنین نمونه‌های متفاوت از آب دریاچه و رودخانه تا مواد غذایی و نمونه‌های حیوانی و انسانی مانند خون و غیره، قابل استفاده در بیوسنسور هستند که قابلیت آن را نشان می‌دهند.

[Downloaded from kjms.knu.edu.af on 2025-04-19]

فهرست منابع

1. Bhalla N, Jolly P, Formisano N, Estrela P. Introduction to biosensors. Essays in biochemistry. 2016;60(1):1-8.
2. Heineman WR, Jensen WB. Leland C. Clark Jr. (1918–2005). Biosensors and Bioelectronics. 2006;21(8):1403-4.
3. Malik S, Singh J, Goyat R, Saharan Y, Chaudhry V, Umar A, et al. Nanomaterials-based biosensor and their applications: A review. Heliyon. 2023;9(9):e19929.
4. Nayak M, Kotian A, Marathe S, Chakravortty D. Detection of microorganisms using biosensors-a smarter way towards detection techniques. Biosensors & bioelectronics. 2009;25(4):661-7.
5. Haleem A, Javaid M, Singh RP, Suman R, Rab S. Biosensors applications in medical field: A brief review. Sensors International. 2021;2:100100.
6. Garzón V, Pinacho DG, Bustos RH, Garzón G, Bustamante S. Optical Biosensors for Therapeutic Drug Monitoring. Biosensors. 2019;9(4).
7. Chen C, Wang J. Optical biosensors: an exhaustive and comprehensive review. The Analyst. 2020;145(5):1605-28.
8. Damborský P, Švitel J, Katrlík J. Optical biosensors. Essays in biochemistry. 2016;60(1):91-100.
9. Nguyen HH, Park J, Kang S, Kim M. Surface plasmon resonance: a versatile technique for biosensor applications. Sensors (Basel, Switzerland). 2015;15(5):10481-510.
10. Piliarik M, Vaisocherová H, Homola J. Surface plasmon resonance biosensing. Methods in molecular biology (Clifton, NJ). 2009;503:65-88.
11. Huang CJ, Knoll W, Sessitsch A, Dostalek J. SPR bacterial pathogen biosensor: the importance of fluidic conditions and probing depth. Talanta. 2014;122:166-71.
12. Prabowo BA, Alom A, Secario MK, Masim FCP, Lai H-C, Hatanaka K, et al. Graphene-based Portable SPR Sensor for the Detection of Mycobacterium tuberculosis DNA Strain. Procedia Engineering. 2016;168:541-5.
13. Rafael V-B, Esmeralda R-M, Gabriel H-P. Evolution and Expectations of Enzymatic Biosensors for Pesticides. In: Soundararajan RP, editor. Pesticides. Rijeka: IntechOpen; 2012. p. Ch. 14.
14. Soares MS, Vidal M, Santos NF, Costa FM, Marques C, Pereira SO, et al. Immunosensing Based on Optical Fiber Technology: Recent Advances. Biosensors. 2021;11(9):305.
15. Bharadwaj R, Sai VV, Thakare K, Dhawangale A, Kundu T, Titus S, et al. Evanescent wave absorbance based fiber optic biosensor for label-free detection of E. coli at 280 nm wavelength. Biosensors & bioelectronics. 2011;26(7):3367-70.
16. Yeh HW, Ai HW. Development and Applications of Bioluminescent and Chemiluminescent Reporters and Biosensors. Annual review of analytical chemistry (Palo Alto, Calif). 2019;12(1):129-50.

[Downloaded from kjms.knu.edu.af on 2025-04-19]

17. Dippel AB, Anderson WA, Evans RS, Deutsch S, Hammond MC. Chemiluminescent Biosensors for Detection of Second Messenger Cyclic di-GMP. ACS chemical biology. 2018;13(7):1872-9.

18. Zangheri M, Di Nardo F, Calabria D, Marchegiani E, Anfossi L, Guardigli M, et al. Smartphone biosensor for point-of-need chemiluminescence detection of ochratoxin A in wine and coffee. Analytica Chimica Acta. 2021;1163:338515.

19. Cesewski E, Johnson BN. Electrochemical biosensors for pathogen detection. Biosensors & bioelectronics. 2020;159:112214.

20. Ali S, Hassan A, Hassan G, Eun C-H, Bae J, Lee CH, et al. Disposable all-printed electronic biosensor for instantaneous detection and classification of pathogens. Scientific Reports. 2018;8(1):5920.

21. Yoo SM, Kang T, Kang H, Lee H, Kang M, Lee SY, et al. Combining a nanowire SERRS sensor and a target recycling reaction for ultrasensitive and multiplex identification of pathogenic fungi. Small (Weinheim an der Bergstrasse, Germany). 2011;7(23):3371-6.

22. Wang Z, Lee S, Koo Ki, Kim* K. Nanowire-Based Sensors for Biological and Medical Applications. IEEE Transactions on NanoBioscience. 2016;15(3):186-99.

23. Liao Z, Wang J, Zhang P, Zhang Y, Miao Y, Gao S, et al. Recent advances in microfluidic chip integrated electronic biosensors for multiplexed detection. Biosensors & bioelectronics. 2018;121:272-80.

24. Vu QK, Tran QH, Vu NP, Anh T-L, Dang TTL, Matteo T, et al. A label-free electrochemical biosensor based on screen-printed electrodes modified with gold nanoparticles for quick detection of bacterial pathogens. Materials Today Communications. 2021;26:101726.

25. Davis D, Guo X, Musavi L, Lin C-S, Chen S-H, Wu VC. Gold nanoparticle-modified carbon electrode biosensor for the detection of Listeria monocytogenes. Industrial biotechnology. 2013;9(1):31-6.

26. Mannoor MS, Tao H, Clayton JD, Sengupta A, Kaplan DL, Naik RR, et al. Graphene-based wireless bacteria detection on tooth enamel. Nature Communications. 2012;3(1):763.

27. Lum J, Wang R, Lassiter K, Srinivasan B, Abi-Ghanem D, Berghman L, et al. Rapid detection of avian influenza H5N1 virus using impedance measurement of immuno-reaction coupled with RBC amplification. Biosensors and Bioelectronics. 2012;38(1):67-73.

28. Chen Y-S, Huang C-H, Pai P-C, Seo J, Lei KF. A Review on Microfluidics-Based Impedance Biosensors. Biosensors. 2023;13(1):83.

29. Pohanka M. Overview of Piezoelectric Biosensors, Immunosensors and DNA Sensors and Their Applications. Materials (Basel, Switzerland). 2018;11(3).

30. Afzal A, Mujahid A, Schirhagl R, Bajwa SZ, Latif U, Feroz S. Gravimetric Viral Diagnostics: QCM Based Biosensors for

[Downloaded from kjms.knu.edu.af on 2025-04-19]

Early Detection of Viruses. Chemosensors. 2017;5(1):7.

31. McNew CP, Kananizadeh N, Li Y, LeBoeuf EJ. The attachment of colloidal particles to environmentally relevant surfaces and the effect of particle shape. Chemosphere. 2017;168:65-79.
32. Samota S, Rani R, Chakraverty S, Kaushik A. Biosensors for simplistic detection of pathogenic bacteria: A review with special focus on field-effect transistors. Materials Science in Semiconductor Processing. 2022;141:106404.
33. Eshun GB, Crapo HA, Yazgan I, Cronmiller L, Sadik OA. Sugar-Lectin Interactions for Direct and Selective Detection of Escherichia coli Bacteria Using QCM Biosensor. Biosensors. 2023;13(3).
34. Salam F, Uludag Y, Tothill IE. Real-time and sensitive detection of Salmonella Typhimurium using an automated quartz crystal microbalance (QCM) instrument with nanoparticles amplification. Talanta. 2013;115:761-7.

[Downloaded from kjms.knu.edu.af on 2025-04-19]