

电化学免疫传感器在我国畜间人兽共患病诊断中的应用

杨贝莹^{1,2}, 熊焱焱¹, 郑启鸣³, 武前悦^{1,2}, 赖芬菊³, 文阳平^{*2}, 张锦华^{*1}

1 江西农业大学 动物科学技术学院, 江西 南昌 330045

2 江西农业大学 化学与材料学院 功能材料与农业应用化学研究所, 江西 南昌 330045

3 江西农业大学 生物科学与工程学院, 江西 南昌 330045

杨贝莹, 熊焱焱, 郑启鸣, 武前悦, 赖芬菊, 文阳平, 张锦华. 电化学免疫传感器在我国畜间人兽共患病诊断中的应用[J]. 微生物学通报, 2025, 52(2): 587-600.

YANG Beiyang, XIONG Yanyan, ZHENG Qiming, WU Qianyue, LAI Fenju, WEN Yangping, ZHANG Jinhua. Application of electrochemical immunosensors in the diagnosis of zoonoses in livestock in China[J]. Microbiology China, 2025, 52(2): 587-600.

摘要: 人兽共患病(zoonoses)是指在人与脊椎动物之间自然传播的疫病。在人类已知的传染病中, 60%是动物源性的。这些疫病对世界公共卫生安全、粮食安全及生物多样性等构成威胁。亟须开发快捷、灵敏的检测方法, 在疫病发展初期进行快速诊断, 对控制传染源、预防人兽共患病传播有重要意义。电化学生物传感器是集电化学与生物技术于一体的新型分析方法, 能够快速实现对目标物质的定性、定量分析。具有操作简单、成本低廉、特异性强、检测范围广等优点。电化学免疫传感器作为电化学生物传感器的重要分支, 已经广泛应用于临床诊断、食品安全、环境监测等领域。本文介绍了电化学免疫传感器的原理与分类, 结合其在检测人兽共患细菌、病毒和寄生虫方面的研究进展, 总结了电化学免疫传感器在我国畜间人兽共患病病原体检测中的应用优势及存在的问题。

关键词: 人兽共患病; 电化学生物传感器; 电化学免疫传感器; 病原体检测

资助项目: 国家自然科学基金(32360880, 51962007); 江西省自然科学基金(20212ACB205005, 2023ACB2013019); 江西省大学生创新创业项目(S202410410056)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32360880, 51962007), the Natural Science Foundation of Jiangxi Province (20212ACB205005, 2023ACB2013019), and the Innovation and Entrepreneurship Project for College Students in Jiangxi Province (S202410410056).

*Corresponding authors. E-mail: WEN Yangping, wenyangping1980@jxau.edu.cn; ZHANG Jinhua, zhangjh1122@jxau.edu.cn

Received: 2024-08-31; Accepted: 2024-12-19; Published online: 2025-01-16

Application of electrochemical immunosensors in the diagnosis of zoonoses in livestock in China

YANG Beiyong^{1,2}, XIONG Yanyan¹, ZHENG Qiming³, WU Qianyue^{1,2}, LAI Fenju³, WEN Yangping^{*2}, ZHANG Jinhua^{*1}

1 College of Animal Science and Technology, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, Jiangxi, China

2 Institute of Functional Materials and Agricultural Applied Chemistry, College of Chemistry and Materials, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, Jiangxi, China

3 College of Bioscience and Bioengineering, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, Jiangxi, China

Abstract: Zoonoses are infectious diseases that naturally transmit between humans and vertebrates, accounting for 60% of all known human infectious diseases. These diseases pose threats to public health, food security, and biodiversity on a global scale. rapid and sensitive methods for early-stage detection are urgently needed and of great significance to controlling infection sources and preventing the spread of zoonoses. Electrochemical biosensors represent an innovative analytical technology that integrates electrochemistry with biotechnology, enabling precise qualitative and quantitative detection of target analytes. Moreover, they are praised for the simple operation, low costs, high specificity, and broad detection ranges. As a notable branch of electrochemical biosensors, electrochemical immunosensors have been extensively applied in clinical diagnosis, food safety test, and environmental monitoring. This article introduces the principles and classification of electrochemical immunosensors and reviews their advancements in detecting zoonotic bacteria, viruses, and parasites. In addition, this article summarizes the advantages and challenges of applying electrochemical immunosensors in the detection of zoonotic pathogens in livestock in China.

Keywords: zoonoses; electrochemical biosensors; electrochemical immunosensors; pathogen detection

人兽共患病是指可以在人与脊椎动物间自然传播的疫病。世界动物卫生组织提出,在引起人类疫病的病原体中,约有 60%属于人兽共患^[1-2]。约有 75%的新发传染病(emerging infectious diseases, EIDs)与动物有关,其中,超过四分之三的路原体源自野生动物^[1,3]。2003 年,严重急性呼吸综合征(severe acute respiratory syndrome, SARS)疫情暴发,随后, H5N1 禽流感、猪链球菌(*Streptococcus suis*) II型、H1N1 流感、H7N9 禽流感、中东呼吸综合征(middle east respiratory syndrome, MERS)、新型冠状病毒感染(coronavirus disease 2019, COVID-19)、猴痘等人兽共患病疫

情相继发生,对我国经济和人民健康产生了严重影响^[4]。人兽共患病是重大的世界公共卫生问题,我国畜禽饲养基数庞大,跨境流动频繁,外来疫病传入我国的风险增加。此外,野生动物源疫病跨种传播时有发生^[5]。因此,如何在疫病暴发前期检测病原体对疫情防控具有重要意义。

目前,人兽共患病病原体的检测方法主要有病原分离鉴定、基因检测技术及免疫学分析三大类。病原分离培养根据病原体的形态特征、培养特性和生化特征进行判断。然而,此方法检测周期长,难以满足临床需求。基因检测技

术如 PCR、荧光定量 PCR、环介导等温扩增等已广泛应用于动物疫病的检测,但其灵敏度与准确性仍需优化^[6]。免疫学分析方法包括酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)、免疫印迹、免疫荧光等。这些基于免疫反应的方法特异性良好,广泛用于临床检测。但免疫学分析的敏感性往往受限于抗体的质量和检测体系的优化程度,对操作人员和仪器设备的要求较高。

随着检测技术的发展,创新方法不断涌现。电化学生物传感器是一种将特定物理、化学或生物信号转化为电化学信号(电流、电压、阻抗等)输出的装置,可定量、定性分析待测物质^[7]。

具体而言,电化学生物传感器利用具备识别能力的生物活性物质(如酶、抗原、抗体、核酸、细胞、组织等)作为识别元件,固定在换能器上,通过理化反应生成可检测的电化学信号^[8]。以沙门氏菌(*Salmonella*)为例,对不同检测方法进行比较,如表 1 所示,电化学生物传感器在较短时间内完成检测的同时具有更高的灵敏度。电化学免疫传感器是电化学生物传感器中重要的分支之一,它将抗原抗体的特异性识别与电化学方法的高灵敏度相结合,具有选择性好、灵敏度高、操作简单、响应迅速等优点,广泛应用于食品安全、传染病早期诊断、临床分析、环境监测等领域^[18-20]。

表 1 不同检测方法检测沙门氏菌的比较

Table 1 Comparison of different detection methods for detecting *Salmonella*

检测方法 Detection methods	检测环境 Detection environment	检测范围 Detection range	检测时间 Detection time	检测限 Limit of detection (LOD)
常规培养 ^[9] Conventional culture methods ^[9]	鸡肉 Chicken	—	4–7 d	—
多重 PCR ^[10] Multiple PCR ^[10]	鸡肉、鸡蛋 Chicken, eggs	4.08 pg/μL–163 ng/μL	2–3 h	8.15 pg/μL
实时荧光定量 PCR ^[11] Real-time fluorescent quantitative PCR ^[11]	水果蔬菜 Fruits and vegetables	—	3–4 h	2.49 CFU/mL
环介导等温扩增技术 ^[12] Loop-mediated isothermal amplification ^[12]	碎肉、沙拉 Minced meat and salad	1–100 CFU/25 g	1–2 h	1 CFU/25 g
DNA 微阵列 ^[13] DNA microarray-based ^[13]	绿叶蔬菜 Leafy green	—	8–11 h	6 CFU/25 g
夹心 ELISA ^[14] Sandwich ELISA ^[14]	牛奶 Milk	—	8–10 h	5×10 ⁴ CFU/mL
电化学免疫传感器 ^[15] Electrochemical immunosensor ^[15]	牛奶 Milk	(1.3×10 ²)–(1.3×10 ⁸) CFU/mL	50 min	9.4×10 ¹ CFU/mL
电化学基因传感器 ^[16] Electrochemical gene sensor ^[16]	鸡肉、猪肉 Chicken, pork	5.8 fg/mL–5.8 ng/mL	—	2.08 fg/mL
纳米酶传感器 ^[17] Nanozyme sensor ^[17]	牛奶、血清 Milk, serum	10 ⁴ –10 ⁶ CFU/mL	50 min	100 CFU/mL

—: 未提及。

—: Not mentioned.

1 电化学免疫传感器原理及分类

1975年, Janata 首次报道免疫电极^[21]。1987年, Aizawa 概述了免疫传感器的研究及其在临床中的应用^[22]。免疫传感器和免疫测定之间的区别在于免疫传感器中免疫复合物的形成和诊断是在同一平台上进行, 显著缩短了检测时间^[23]。电化学免疫传感器(electrochemical immunosensor)是一种生物亲和型传感器, 基于抗原、抗体间的特异性结合, 具有优异的特异性和灵敏度。因此, 它在一些小分子物质(半抗原、天然毒素)、大分子物质、细胞、细菌、病毒及毒素的痕量分析中能发挥重要作用^[24-25]。

电化学免疫传感器是能够实现对待测生物分子定性、定量分析的独立集成设备。电化学免疫传感器原理如图 1 所示, 其结构主要包括三部分: 与待测分子发生特异性反应的分子识别层; 将识别层的物理、生物或化学反应信号转化为电化学信号变化的信号转换器; 用于接收和分析电化学信号数据的检测装置。简单来说, 将酶、蛋白质、抗原、抗体等生物分子通过吸附法、交联法、包埋法、分子自组装等固定在感受器上, 当待测物与感受器上的生物分子发生反应时, 会引起电流、电阻、电压等变化, 通过转换器将其转化为电化学信号。最终经过电化学工作站的分析、处理, 与待测物浓

度形成可拟定的数学关系, 从而实现对待测物的定性、定量分析。

根据检测方法的不同, 电化学免疫传感器可分为直接检测法和间接检测法。直接检测法无须标记或分离步骤, 能避免因标记或多次分离导致的抗原抗体失活, 适用于快速、实时分析。但也存在因非特异性吸附造成灵敏度不高的缺点。间接检测法通过将检测抗体与标志物偶联, 并利用标志物信号进行检测, 大幅提高传感器灵敏度。标志物常为稳定性好、与抗原抗体亲和力强的酶、活性物质或纳米材料等^[26]。

此外, 根据换能器生成电信号的方式不同, 电化学免疫传感器可进一步细分为电流型、电位型、电导型、电容型和阻抗型传感器^[27]。电流型免疫传感器是使用最为广泛的一类免疫传感器。它的原理是在反应体系中施加一个恒定的电压, 反应发生时, 溶液中电活性成分发生电子转移形成相应的电流变化, 通过电流的大小反映待测物浓度^[28]。电位型免疫传感器通过测量免疫反应前后电位的变化实现对检测物的定量分析。但是, 相较于溶液电荷密度, 生物分子的电荷密度偏低, 导致电位型免疫传感器的信噪比偏低; 此外, 待测物质中的干扰组分会增加电极表面的非特异吸附, 导致电位型免疫传感器灵敏度偏低, 线性范围较窄。电导型与电容

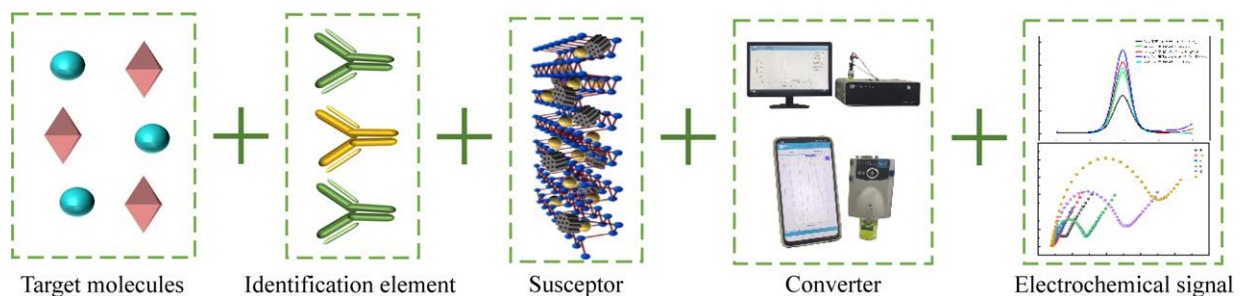


图 1 电化学免疫传感器的原理

Figure 1 Principles of electrochemical immunosensors.

型传感器分别通过检测溶液导电性或电容变化,适用于非标记分析。阻抗型免疫传感器基于免疫反应过程中传感界面阻抗的变化进行检测分析。抗原、抗体及其复合物连接在电极表面使得其导电性下降,阻抗增加,阻抗信号变化的大小与检测物浓度呈现相应的线性关系^[29]。

2 电化学免疫传感器在人兽共患病诊断中的应用

2.1 细菌引起的人兽共患病

2.1.1 沙门氏菌病

沙门氏菌(*Salmonella*)是一种人兽共患的食源性致病菌,在自然界中分布广泛,可引起多种肠道疾病,是全球食源性传染病的主要致病菌^[30]。因此,有必要开发高效、敏感的方法来识别、检测沙门氏菌。Zhan 等^[15]开发了一种简单的基于 PtNP-Co/Zn-ZIF-8@C-MWCNTs 的新型无标记电化学免疫传感器,用于检测鼠伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhimurium*),复合材料的制备如图 2A 所示,免疫传感器的组装过程如图 2B 所示。相较于单一金属有机框架(metal organic frameworks, MOF),双金属 MOF (Co/Zn-ZIF-8)和碳纳米管(carbon nanotube, CNT)的复合材料表现出优异的导电性与稳定性;并且, CNT、PtNPs 和 Co-Zn 双金属 MOF 之间的协同作用显著增强了电化学信号,拓宽了检测范围,增加了免疫传感器的灵敏度;使用该方法检测沙门氏菌仅需要 50 min,与传统方法相比显著缩短了检测时间^[15]。相比之下,标记法能够提高传感器的准确性与灵敏度。量子点具有独特的光学电子特性,在生物医学中常被用作标志物^[32]。Murasova 等^[33]开发了一种电化学免疫传感器,用于检测鼠伤寒沙门氏菌,使用树枝状大分子负载电化学活性 CdTe/COOH 量子点对沙门氏菌特异性 IgG 抗体进行标记。当抗体

识别细菌后,使用方波阳极溶出伏安法来检测和量化量子点在酸性溶液中溶出后释放的金属离子,金属离子产生的电信号与细菌细胞数量成比例相关,该方法检测牛奶样本中的沙门氏菌的检测限可低至 4 CFU/mL^[33]。该方法是一种快速筛选沙门氏菌污染的可靠工具。

2.1.2 牛结核病

牛结核病是由牛分枝杆菌(*Mycobacterium bovis*, MTB)引起的一种人兽共患的慢性传染病,严重危害养牛业,对其他家畜和人类健康构成威胁^[34]。T 细胞释放的牛干扰素 γ (BoIFN- γ) 在结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*)感染的早期诊断和牛结核病的控制中起着非常重要的作用^[35]。Yang 等^[36]开发了一种无标记基于阻抗的电化学免疫传感器,用于高灵敏度测定 BoIFN- γ 。通过简单水热法合成圆柱形二氧化钛(TiO₂)纳米棒,因其较高的表面积和良好的亲水性,能加快传感界面的电荷传输;将抗 BoIFN- γ 单克隆抗体固定在 TiO₂ 纳米棒修饰的电极上制备传感界面;免疫传感器的检测范围为 0.000 1–0.1 ng/mL,检测限为 0.1 pg/mL,相较于传统 ELISA 方法,该方法拓宽了检测范围^[36]。基于 BoIFN- γ 的免疫传感器具有更高的灵敏度以及可靠的重复性,为牛分枝杆菌感染早期临床检测提供了参考。

2.1.3 布鲁氏菌病

布鲁氏菌病是一种常见的人兽共患病,对许多发展中国家的畜牧业和公共卫生构成巨大威胁^[37]。人们食用未经消毒的乳制品或直接接触患病动物感染。布鲁氏菌(*Brucella*)的精准检测对布鲁氏菌病的临床早期诊断与有效治疗具有重要意义。迟宇等^[38]制备了普鲁士蓝-多壁碳纳米管-金纳米粒子复合物(PB-MWCNTs-AuNPs),修饰电极后连接抗体构建免疫传感器,用于检测牛血清中流产布鲁氏菌;在 10–10⁵ CFU/mL 范围内,传感器电流信号与细菌浓度呈线性关

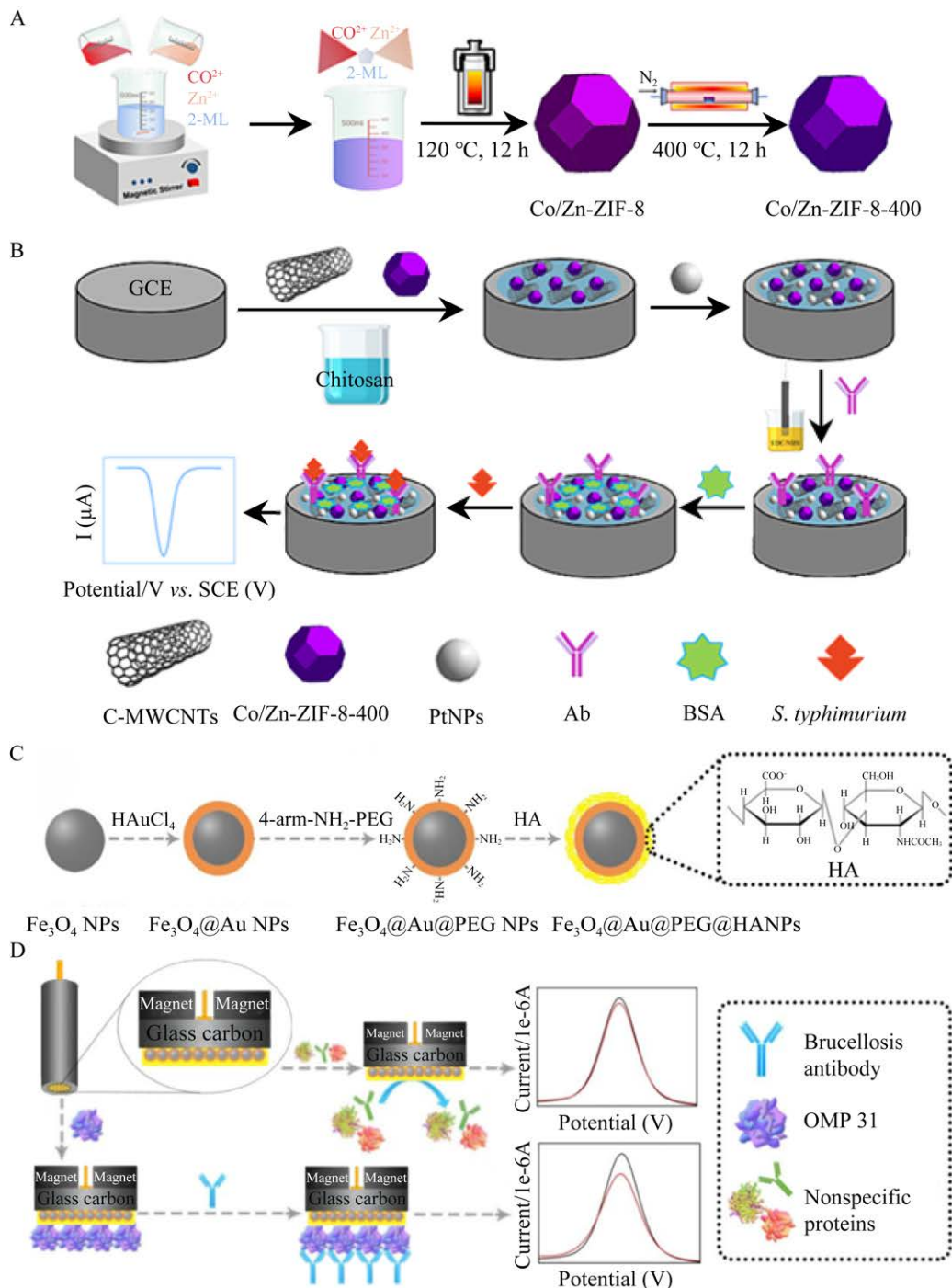


图 2 免疫传感器的构建过程 A: Co/Zn-ZIF-8-400 的合成过程^[15]; B: 鼠伤寒沙门氏菌免疫传感器的制备过程^[15]; C: 布鲁氏菌电化学免疫传感器制备示意图^[31]; D: Fe_3O_4 @Au@PEG@HANPs 的制备过程^[31]。GCE: 玻碳电极; SCE: 饱和氯化汞电极; BSA: 牛血清白蛋白; HA: 透明质酸。

Figure 2 Immunosenor construction process. A: Co/Zn-ZIF-8-400 synthesis process^[15]; B: *Salmonella typhimurium* immunosenor preparation process^[15]; C: Schematic diagram of preparation of *Brucella* electrochemical immunosenor^[31]; D: Preparation process of Fe_3O_4 @Au@PEG@HANPs^[31]. GCE: Glassy carbon electrode; SCE: Saturated calomel electrode; BSA: Bovine serum albumin; HA: Hyaluronic acid.

系。但在环境复杂的生物样本中,非特异性吸附会降低检测的准确性。因此需要开发具有防污功能的传感界面以减少蛋白的非特异性吸附。Lv 等^[31]在使用聚乙二醇包覆金纳米粒子改性的四氧化三铁($\text{Fe}_3\text{O}_4@AuNPs$)的基础上,使用透明质酸对其进行修饰生产 $\text{Fe}_3\text{O}_4@Au@PEG@HANPs$,材料合成步骤如图 2C 所示。以此修饰电极连接布鲁氏菌外膜蛋白 OMP31,构建检测血清中布鲁氏菌抗体的免疫传感器,构建步骤见图 2D;在最佳试验条件下,传感器在血清样本中的检测范围为 10^{-15} – 10^{-11} g/mL,检测限为 0.36 fg/mL^[31]。由于透明质酸的修饰,传感界面具有优异的防污性能,适用于在血清、体液或分泌物等复杂的生物环境中检测,在临床诊断中具有良好的应用潜力。

2.1.4 产气荚膜梭菌病

产气荚膜梭菌(*Clostridium perfringens*)是一种在自然界中广泛存在的人兽共患病原体,该菌产生的致病性毒素可引起人气性坏疽、结肠炎以及各种动物的坏死性肠炎、肠毒血症等^[39]。其中 $\beta 2$ 毒素与仔猪肠出血症密切相关^[40]。王林康等^[41]成功地建立了间接 ELISA 方法检测 $\beta 2$ 毒素。但 ELISA 方法检测时间较长,灵敏度也有一定限制。因此,开发了一种用于测定产气荚膜梭菌 $\beta 2$ 毒素的电化学免疫传感器,使用简单超声混合制备二硫化钼-多壁碳纳米管复合材料($\text{MoS}_2\text{-MWCNTs}$),然后电沉积金纳米粒子(AuNPs),以此修饰玻碳电极构成传感界面;该传感器检测范围为 0.1–100 ng/mL,检测限为 15.89 pg/mL^[42]。这类便携式免疫传感器为户外临床诊断提供了一种新的思路与方法。

2.2 病毒引起的人兽共患病

2.2.1 高致病性禽流感

高致病性禽流感是由禽流感病毒(Avian influenza virus)引起的一种人兽共患传染病,具

有高度接触传染和广泛流行的特点,发病率和死亡率相对较高,严重威胁家禽养殖业与人类健康。因此,开发快速,灵敏的检测方法对其防治有重要意义。Bao 等^[43]开发了一种电化学免疫传感器对 H1N1 型禽流感病毒进行检测;将抗体固定在金纳米粒子基底电极表面形成 BSA/H1N1 Ab/Glu/Cys/AuNPs/CP 电极,30 s 即可得到检测结果。但禽流感病毒亚型众多,单一检测并不能满足临床诊断需求。Lee 等^[44]介绍了一种免疫传感器,使用纸基柔性丝网印刷碳纳米管聚二甲基硅氧烷电极对多种禽流感病毒(H5N1、H7N9 和 H9N2)抗原进行无标记检测,检测步骤如图 3 所示。新制备的电极在去离子水中反复弯折 20 次,峰值电流的相对标准差为 1.88%,克服了传统纸基电极在湿润条件下易损坏的弱点;最佳试验条件下,H5N1、H7N9 和 H9N2 抗原的检出限分别为 55.7、99.6 和 54.0 pg/mL,具有良好的选择性和重复性^[44]。这种纸基传感器经济、灵活、坚固,易于制造,可检测多种禽流感病毒,在流行病防控和禽类保护中具有重要应用价值。

2.2.2 日本脑炎

日本脑炎病毒(Japanese encephalitis virus, JEV)属于黄病毒科黄病毒属,是一种人兽共患的蚊媒脑炎病毒。感染 JEV 后死亡率超过 30%,30%–50%的幸存者患有严重的神经系统后遗症^[45]。快速检测 JEV 对于及时诊断和治疗感染患者以及有效控制 JEV 疫情至关重要。Roberts 等^[46]开发了一种简便的免疫传感器,用于检测 JEV 非结构蛋白 1 (non-structural protein 1, NS1)。将金纳米棒修饰在电极表面,增强电化学信号的同时可以固定抗体;在加标血清中,传感器的检测限为 0.53 fmol/L,当电极重复使用 4 次时,电极依旧能在 30 s 内提供稳定的电流响应^[46]。基于此,研究者随后开发了基于丝网印刷

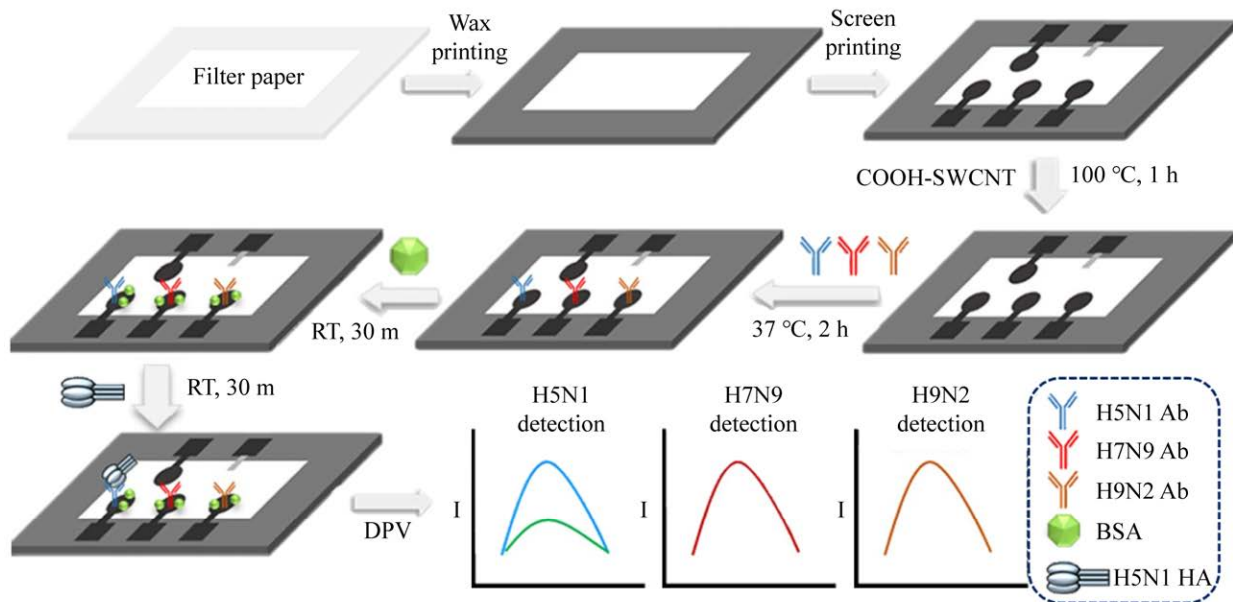


图3 用于检测3种不同禽流感病毒抗原的纸质电化学免疫传感器示意图^[44] DPV: 差分脉冲伏安法。

Figure 3 Schematic of the proposed paper-based electrochemical immunosensor for detection of three different avian influenza virus antigens^[44]. DPV: Differential pulse voltammetry.

碳电极(screen printed carbon electrode, SPCE), 使用连接智能手机的便携式设备检测感染者血清中 NS1 抗体的免疫传感器, 制备过程如图 4 所示; 传感器检测限为 0.45 fmol/L, 利用免疫传感器与 RT-PCR 对临床 62 份血清样本进行了检测, 2 种方法检测结果一致^[47]。因此, 将免疫传感器与便携式检测设备相结合, 发展为一种新型现场诊断方法, 可用于快速检测多种病原体。

2.2.3 狂犬病

狂犬病是由狂犬病病毒(Rabies virus, RV)引起的急性脑脊髓炎疾病, 几乎所有温血动物均可感染, 致死率几乎 100%^[48]。因此, 开发新方法快速、准确检测 RV 对疫病预防和治疗具有重要意义。Li 等^[49]以 MnO 纳米粒子为标记研制了一种电化学发光共振能量转移(electrochemiluminescence resonance energy transfer, ECL-RET)和电化学(electrochemistry, EC)双模免疫传感器灵敏地检测 RV 糖蛋白。使用 Ru(bpy)₃²⁺ 修饰枝状介孔二氧化硅纳米颗粒获

得电化学发光探针 Ru@DMSNs, 并将其修饰在电极表面连接一抗(Ab1); 接着, 以氧化锰纳米粒子(MnOx)标记二抗(Ab2), 在邻苯二胺(orthophenylenediamine, OPD)与过氧化氢存在下, MnOx 能够催化 OPD 氧化, 产生明显的差分脉冲伏安法(differential pulse voltammetry, DPV)信号; 在最佳条件下, 电化学检测范围为 1 pg/mL–2 ng/mL, 检测限为 0.1 pg/mL; 该免疫分析方法在 8 个脑组织样本中成功检测到 RV, 与实时反转录聚合酶链式反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)分析结果完全一致^[49]。另外, 该免疫传感器还有 ECL-RET 检测模式。当检测物被 Ab1 捕获, 电化学发光信号因电子转移受阻而下降, 当 Ab2 与检测物结合, MnOx 通过与 Ru@DMSNs 之间的共振能量转移进一步淬灭 Ru@DMSNs 的发光信号^[49]。双信号检测提高了免疫传感器的可靠性与准确性, 在疾病早期诊断中有一定的适用性。

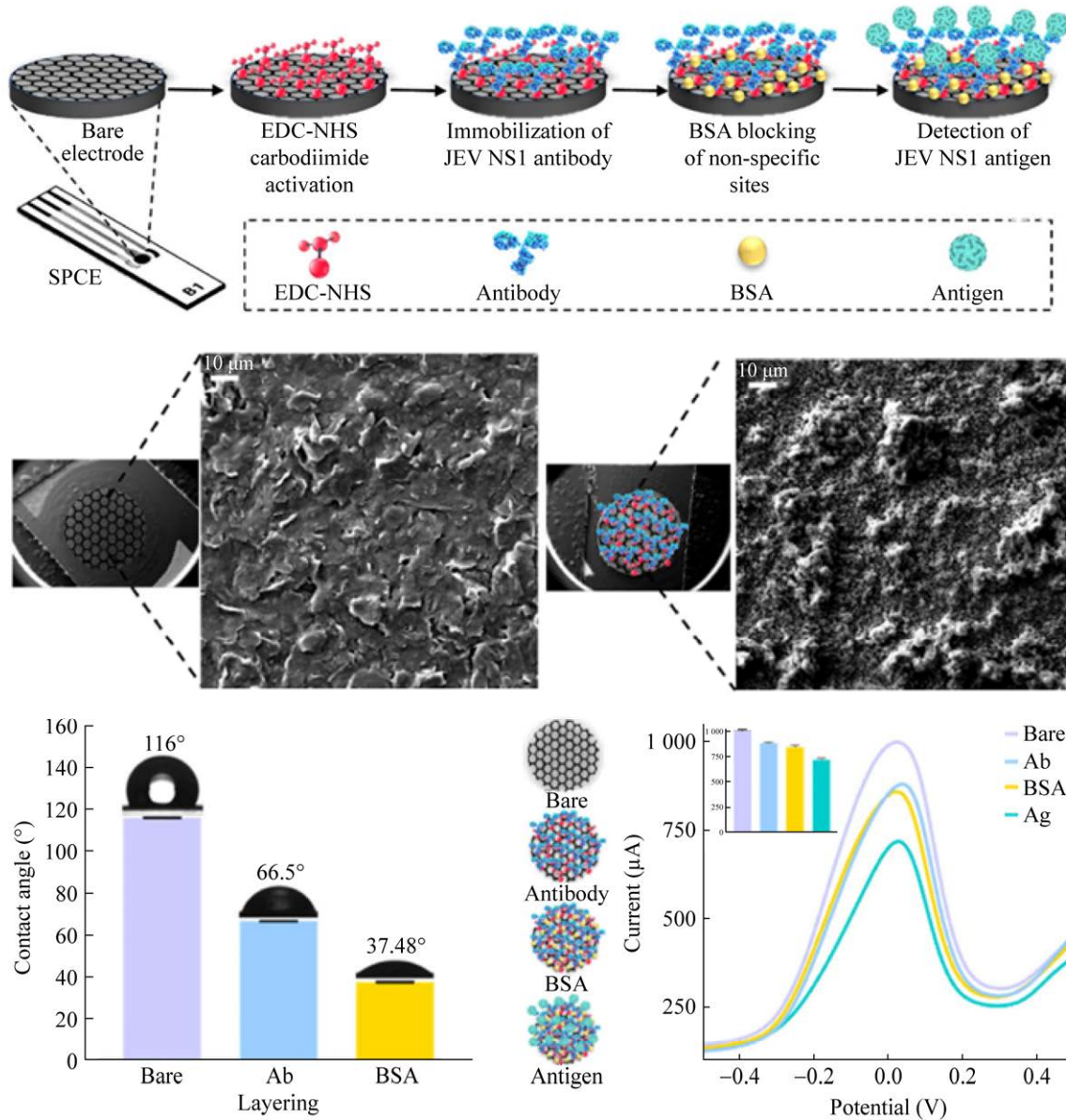


图 4 基于 SPCE 构建检测日本脑炎病毒免疫传感器中工作电极的制备步骤^[47] EDC: 1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺; NHS: N-羟基琥珀酰亚胺。

Figure 4 Preparation steps of working electrodes in the construction of SPCE based immunosensors for the detection of Japanese encephalitis virus^[47]. EDC: 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide; NHS: N-hydroxysuccinimide.

2.3 寄生虫引起的人兽共患病

2.3.1 弓形虫病

弓形虫病是由弓形虫(*Toxoplasma gondii*)引起的人兽共患传染病。弓形虫为专性胞内寄

生虫，可以感染几乎所有类型的温血脊椎动物和人类的有核细胞。感染后，免疫功能正常个体通常无症状，但免疫功能低下者可能危及生命^[50]。弓形虫感染后，体液反应导致特异性免

疫球蛋白水平升高,如 IgM、IgG、IgA 和 IgE,它们在弓形虫病的临床诊断中起着至关重要的作用。Salimi 等^[51]开发了一种基于碳纳米纤维(carbon nanofiber, CNF)和金纳米粒子的电化学免疫传感器,用于检测人血清中的弓形虫 IgG 抗体。将 CNF 电沉积在丝网印刷电极表面,使用金纳米粒子进行修饰后连接弓形虫抗原,通过辣根过氧化物酶标记的二抗进行检测;最佳试验条件下,免疫传感器的检测范围为 0–200 U/mL,检测限为 9×10^{-3} U/mL^[51]。此外,通过对 252 份人血清样本进行检测,免疫传感器测得的结果与酶联免疫吸附试验获得的结果相似^[51]。证明开发的免疫传感器是快速准确临床诊断弓形虫病的有效途径。

2.3.2 棘球蚴病

棘球蚴病又称包虫病,是棘球绦虫的幼虫引起的人兽共患寄生虫病。犬为终末宿主,牛、羊则是中间宿主,人因误食虫卵感染^[52]。寄生于人体的主要有伏氏棘球绦虫、多房棘球绦虫、细粒棘球绦虫和少节棘球绦虫,感染后人体的肝脏、肺部和其他器官造成严重损害^[53]。早期血清学诊断和持续监测对于预防和治疗包虫病非常重要。Eissa 等^[54]报道了基于方波伏安法检测包虫抗原或抗体的电化学免疫传感器;将纯化的兔多克隆抗体或重组抗原 B 固定在半胱胺/苯二异硫氰酸酯功能化的金电极上构建传感平台;免疫传感器检测浓度范围为 1 pg/mL–1 μg/mL,对抗原和抗体的检测限分别为 0.4 pg/mL 和 0.3 pg/mL。在加标血清样本中对开发的免疫传感器进行了初步应用,检测的回收率良好^[54]。该传感器简单易制备,适用于包虫病早期诊断及治疗评估。

2.4 钩端螺旋体病

钩端螺旋体病是由致病性钩端螺旋体(*Pathogenic leptospira*)引起的人兽共患病,通过

接触被感染动物尿液污染的水源或土壤传播,严重威胁热带地区人类健康^[55]。现有的诊断方法在疫病急性期检测的灵敏度和特异性较低,临床实践需要快速的即时诊断(point of care, POC)方法。外膜蛋白 LipL32 是检测钩端螺旋体最常用的靶标之一^[56]。Jampasa 等^[57]开发了夹心电化学免疫传感器,用于检测 LipL32 蛋白;首先将捕获抗体固定在改性后的丝网印刷石墨烯电极表面,当检测物存在时,利用金纳米粒子标记的检测抗体完成检测。在 1–100 ng/mL 的浓度范围下,检测物浓度与 DPV 信号呈现良好的线性关系,检测限为 0.28 ng/mL^[57]。同样地, Sapna 等^[58]利用碳纳米管标记的检测抗体建立了用于检测 LipL32 的纸基免疫传感器;该传感器的检测限为 348 fg/mL。将免疫传感器与显微镜凝集试验(microscopic agglutination test, MAT)、IgG-ELISA 和 IgG 斑点试验等方法比较,检测 20 例疑似患者血清,传感器检测结果与 MAT 检测结果一致^[58]。免疫传感器制作简便、分析快速且灵敏度更高,可作为快速检测 LipL32 和早期诊断钩端螺旋体病的可靠替代方法。

2.5 Q 热

贝氏柯克斯体(*Rickettsia burneti*)是一种广泛分布的专性细胞内寄生细菌,引起 Q 热感染。临床上分为急性与慢性感染,慢性 Q 热导致心内膜炎、慢性肝炎、慢性血管感染等,严重时危及生命^[59]。Mathioudaki 等^[60]报道了一种阻抗型电化学免疫传感器,用于快速、简便地诊断慢性 Q 热。GroEl 是一种高度敏感的抗原,与针对慢性 Q 热的抗体特异性相互作用。将 GroEl 固定在金电极上,检测患者血清中存在的 Q 热抗体,抗原抗体结合引起传感器表面的阻抗发生变化;该生物传感器可用于慢性 Q 热的特异性血清学检测,也可用于检测其他生物标志物^[60]。

3 总结与展望

过去十几年, 电化学生物传感器在肿瘤标志物、抗生素、病原体(如细菌、霉菌毒素、病毒、寄生虫)检测中取得重大进展。特别是在 SARS-CoV-2 大流行背景下, 开发快速、高灵敏度检测方法对疫情防控至关重要^[61]。电化学免疫传感器通过抗原抗体的特异性反应, 利用固定在电极界面上的抗体、抗原识别目标分析物并产生电信号变化, 或通过结合分子标志物放大电信号完成检测。本文概述了电化学免疫传感器的原理及分类, 并总结其近 5 年来在我国畜间人兽共患病病原体检测中的应用及性能分析。

相较于常规病原体检测方法, 电化学免疫传感器操作简单、成本低, 但也存在以下问题: (1) 生物识别元件稳定性有待提高, 传感器性能受温度、湿度、pH 等环境影响, 导致抗原抗体活性下降, 损伤传感器使用寿命。需要开发导电性高、生物相容性好的纳米材料提升稳定性; (2) 非特异性吸附影响检测准确性, 需要创建钝化电极界面的策略, 例如具有防污性能的传感界面, 以阻止生物材料在电极界面处的非特异性吸附; (3) 抗原、抗体在传感界面固定、磁分离或被电活性物质标记的过程中易失活, 需要开发抗体固定化新技术, 或生物相容性良好的新材料包覆蛋白, 提高蛋白固载量同时保护抗体的活性; (4) 目前开发的免疫传感器多针对单一检测物, 检测效率较低。开发多通道、阵列化、高通量的免疫传感器可以同时检测多种抗原或抗体, 提高检测效率。这些缺点可通过开发新型功能纳米材料和优化传感界面解决, 纳米材料具有广阔的应用范围, 在生物医学材料、建筑材料、金属污染治理、农业环境监测及电子元件制备中发挥重要作用^[62]。随着检测技术的发展, 电化学工作站向便携化发展, 借助蓝

牙连接手机实现数据传输^[63]。同时, 生物、物理、化学、软件设计等多学科交叉, 从多方面进行性能优化, 有利于电化学免疫传感器的发展与革新。免疫学分析的敏感性往往受限于抗体的质量和检测体系的优化程度。

REFERENCES

- [1] LIBERA K, KONIECZNY K, GRABSKA J, SZOPKA W, AUGUSTYNIAK A, POMORSKA-MÓL M. Selected livestock-associated zoonoses as a growing challenge for public health[J]. *Infectious Disease Reports*, 2022, 14(1): 63-81.
- [2] RECHT J, SCHUENEMANN VJ, SÁNCHEZ-VILLAGRA MR. Host diversity and origin of zoonoses: the ancient and the new[J]. *Animals*, 2020, 10(9): 1672.
- [3] FILHO WL, TERNOVA L, PARASNIS SA, KOVALEVA M, NAGY GJ. Climate change and zoonoses: a review of concepts, definitions, and bibliometrics[J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2022, 19(2): 893.
- [4] 姚思梦, 曹胜波, 李翠霞. 同一健康视角下的人兽共患病全球研究态势分析[J]. *中国人兽共患病学报*, 2024, 40(10): 994-1002.
YAO SM, CAO SB, LI CX. Global research trends in zoonotic diseases from a One Health perspective[J]. *Chinese Journal of Zoonoses*, 2024, 40(10): 994-1002 (in Chinese).
- [5] HILDERINK MH, WINTER IID. No need to beat around the bushmeat: the role of wildlife trade and conservation initiatives in the emergence of zoonotic diseases[J]. *Heliyon*, 2021, 7(7): e07692.
- [6] 吴玉霞, 马彩云, 杨飞, 王宇, 李建亮. 沙门氏菌分子生物学检测方法研究进展[J]. *山东畜牧兽医*, 2024, 45(8): 90-91, 95.
- [7] WU J, LIU H, CHEN WW, MA B, JU HX. Device integration of electrochemical biosensors[J]. *Nature Reviews Bioengineering*, 2023, 1(5): 346-360.
- [8] WANG YT, WANG WQ, LU XY, CHEN T, WANG YH, WEN YP, HU JQ, SONG JB, WANG XQ. Novel RNA genosensor based on highly stable gold nanoparticles decorated phosphorene nanohybrid with graphene for highly sensitive and low-cost electrochemical detection of coconut cadang-cadang viroid[J]. *Mikrochimica Acta*, 2023, 191(1): 52.
- [9] RASAMSETTI S, BERRANG ME, COX NA, SHARIAT NW. Assessing *Salmonella* prevalence and complexity through processing using different culture methods[J]. *Poultry Science*, 2022, 101(7): 101949.
- [10] ZHOU YY, KANG XL, MENG C, XIONG D, XU Y, GENG SZ, PAN ZM, JIAO XN. Multiple PCR assay based on the *cigR* gene for detection of *Salmonella* spp. and *Salmonella pullorum/gallinarum* identification[J]. *Poultry Science*, 2020, 99(11): 5991-5998.
- [11] WAN JJ, ZHENG LP, KONG LY, LU ZX, TAO Y, FENG ZY, LV FX, MENG FQ, BIE XM. Development

- of a rapid detection method for real-time fluorescent quantitative PCR of *Salmonella* spp. and *Salmonella enteritidis* in ready-to-eat fruits and vegetables[J]. LWT, 2021, 149: 111837.
- [12] KREITLOW A, BECKER A, SCHOTTE U, MALORNY B, PLÖTZ M, ABDULMAWJOOD A. Establishment and validation of a loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay targeting the *ttrRSBCA* locus for rapid detection of *Salmonella* spp. in food[J]. Food Control, 2021, 126: 107973.
- [13] YIN HB, CHEN CH, KATCHMAN B, NEWLAND C, MAY M, PATEL J. Rapid detection of *Salmonella enterica* in leafy greens by a novel DNA microarray-based PathogenDx system[J]. Food Microbiology, 2022, 107: 104086.
- [14] GU K, SONG ZX, ZHOU CY, MA P, LI C, LU QZ, LIAO ZW, HUANG ZR, TANG YZ, LI H, ZHAO Y, YAN WJ, LEI CW, WANG HN. Development of nanobody-horseradish peroxidase-based sandwich ELISA to detect *Salmonella enteritidis* in milk and *in vivo* colonization in chicken[J]. Journal of Nanobiotechnology, 2022, 20(1): 167.
- [15] ZHAN K, CHEN LL, LI SS, YU QY, ZHAO Z, LI JW, XING YR, REN HT, WANG N, ZHANG GP. A novel metal-organic framework based electrochemical immunosensor for the rapid detection of *Salmonella typhimurium* detection in milk[J]. Food Chemistry, 2024, 444: 138672.
- [16] ZHENG SM, YANG Q, YANG HY, ZHANG YZ, GUO W, ZHANG W. An ultrasensitive and specific ratiometric electrochemical biosensor based on SRCA-CRISPR/Cas12a system for detection of *Salmonella* in food[J]. Food Control, 2023, 146: 109528.
- [17] HU J, TANG F, WANG LH, TANG M, JIANG YZ, LIU C. Nanozyme sensor based-on platinum-decorated polymer nanosphere for rapid and sensitive detection of *Salmonella typhimurium* with the naked eye[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2021, 346: 130560.
- [18] LIU XX, WEN YP, HU WT, LU XY, CHEN LL, ZHAO L, ZENG Q, TANG HY, HONG YP, TANG KJ. A signal-amplified electrochemical immunosensor for the detection of sulfadimidine in crayfish using COOH-MWCNTs-Fe₃O₄-GO nanohybrids modified working electrode[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2024, 134: 106501.
- [19] 朱蕾静, 安雅睿. 电化学免疫传感器中纳米材料信号放大策略的研究进展[J]. 理化检验-化学分册, 2024, 60(5): 536-548.
- ZHU LJ, AN YR. Research progress on signal amplification strategies of nanomaterials in electrochemical immunosensors[J]. Physical Testing and Chemical Analysis (Part B (Chemical Analysis)), 2024, 60(5): 536-548 (in Chinese).
- [20] 刘情情, 詹珂, 胡晓飞, 王墨涵, 余秋颖, 邢广旭, 王凡, 王娜. 电化学免疫传感技术在食品安全中的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(2): 419-425.
- LIU QQ, ZHAN K, HU XF, WANG MH, YU QY, XING GX, WANG F, WANG N. Research progress of electrochemical immunosensing technology in food safety[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2022, 13(2): 419-425 (in Chinese).
- [21] JANATA J. Immuno-electrode[J]. Journal of the American Chemical Society, 1975, 97(10): 2914-2916.
- [22] AIZAWA M. Immunosensors[J]. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences, 1987, 316(1176): 121-134.
- [23] AYDIN EB, AYDIN M, SEZGINTÜRK MK. Chapter One Advances in electrochemical immunosensors[J]. Advances in Clinical Chemistry, 2019, 92: 1-57.
- [24] 王思远, 张悦, 张国军, 沈昕. 基于纳米材料的电化学免疫传感器在传染性病原体即时检测中的应用[J]. 化学通报, 2022, 85(8): 918-926.
- WANG SY, ZHANG Y, ZHANG GJ, SHEN X. Application of electrochemical immunosensor based on nanomaterials in POCT for infectious pathogen[J]. Chemistry, 2022, 85(8): 918-926 (in Chinese).
- [25] 王纯, 张若鸿, 杨洋, 郭云昌. 电化学生物传感器在细菌病原体检测中的应用及发展趋势[J]. 卫生研究, 2021, 50(1): 168-172.
- [26] CANCELLIERE R, PAIALUNGA E, GRATAGLIANO A, MICHELI L. Label-free electrochemical immunosensors: a practical guide[J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2024, 180: 117949.
- [27] 白拓男, 梁新义. 基于电化学生物传感器检测食源性致病菌的研究进展[J]. 现代食品, 2024, 30(9): 22-26.
- BAI TN, LIANG XY. Research progress in the detection of food-borne pathogens based on electrochemical biosensor[J]. Modern Food, 2024, 30(9): 22-26 (in Chinese).
- [28] 李爽. 基于 CoFe-MOFs@MWCNTs 和 Fe₃O₄-IL 电化学免疫传感器的构建及其在牛乳中检测的应用[D]. 南昌: 南昌大学硕士学位论文, 2024.
- LI S. Construction and application of electrochemical immunosensors based on CoFe-MOFs@MMWCNTs and Fe₃O₄-IL for detection in milk[D]. Nanchang: Master's Thesis of Nanchang University, 2024 (in Chinese).
- [29] 刘希雅, 田春妹, 郑鹭飞, 钟平胜, 张馨方, 任佳丽. 磁性三维还原石墨烯的制备及其在电化学免疫检测牛乳中结核杆菌 H37Ra 的应用[J]. 食品科学, 2020, 41(22): 308-314.
- LIU XY, TIAN CM, ZHENG LF, ZHONG PS, ZHANG XF, REN JL. Preparation of magnetic three-dimensional reduced graphene and its application in electrochemical immunoassay of *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra in milk[J]. Food Science, 2020, 41(22): 308-314 (in Chinese).
- [30] ZHUANG LL, GONG JS, SHEN QP, YANG JB, SONG CL, LIU QX, ZHAO B, ZHANG Y, ZHU ML. Advances in detection methods for viable *Salmonella* spp.: current applications and challenges[J]. Analytical Sciences, 2023, 39(10): 1643-1660.
- [31] LV SL, SHENG JL, ZHAO SY, LIU MC, CHEN LH. The detection of brucellosis antibody in whole serum based on the low-fouling electrochemical immunosensor fabricated with magnetic Fe₃O₄@Au@PEG@HA nanoparticles[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2018, 117: 138-144.

- [32] SOLDADO A, BARRIO LC, DÍAZ-GONZALEZ M, deLa ESCOSURA-MUÑIZ A, COSTA-FERNANDEZ JM. Chapter One Advances in quantum dots as diagnostic tools[J]. *Advances in Clinical Chemistry*, 2022, 107: 1-40.
- [33] MURASOVA P, KOVAROVA A, KASPAROVA J, BROZKOVA I, HAMIOT A, PEKARKOVA J, DUPUY B, DRBOHLAVOVA J, BILKOVA Z, KORECKA L. Direct culture-free electrochemical detection of *Salmonella* cells in milk based on quantum dots-modified nanostructured dendrons[J]. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2020, 863: 114051.
- [34] SONG YJ, GE X, CHEN YL, HUSSAIN T, LIANG ZM, DONG YH, WANG YZ, TANG CY, ZHOU XM. *Mycobacterium bovis* induces mitophagy to suppress host xenophagy for its intracellular survival[J]. *Autophagy*, 2022, 18(6): 1401-1415.
- [35] WOOD PR, CORNER LA, PLACKETT P. Development of a simple, rapid *in vitro* cellular assay for bovine tuberculosis based on the production of γ interferon[J]. *Research in Veterinary Science*, 1990, 49(1): 46-49.
- [36] YANG ZJ, JIAN ZQ, CHEN X, LI J, QIN PY, ZHAO J, JIAO XA, HU XY. Electrochemical impedance immunosensor for sub-picogram level detection of bovine interferon gamma based on cylinder-shaped TiO₂ nanorods[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2015, 63: 190-195.
- [37] SHI CX, WANG LZ, LV DM, WANG G, MENGIST HM, JIN TC, WANG B, HUANG Y, LI YJ, XU YH. Epidemiological, clinical and laboratory characteristics of patients with *Brucella* infection in Anhui Province, China[J]. *Infection and Drug Resistance*, 2021, 14: 2741-2752.
- [38] 迟宇, 曹宇, 程浩, 曹静文, 敖建玥, 李海波, 马雷, 刘明. 基于PB-MWCNTs-GNPs修饰的电化学免疫传感器检测流产布鲁氏菌[J]. *陆军军医大学学报*, 2024, 46(17): 1969-1975.
CHI Y, CAO Y, CHENG H, CAO JW, AO JY, LI HB, MA L, LIU M. Detection of *Brucella abortus* using an electrochemical immunosensor modified with PB-MWCNTs-GNPs[J]. *Journal of Army Medical University*, 2024, 46(17): 1969-1975 (in Chinese).
- [39] GOHARI IM, NAVARRO MA, LI JH, SHRESTHA A, UZAL F, McCLANE BA. Pathogenicity and virulence of *Clostridium perfringens*[J]. *Virulence*, 2021, 12(1): 723-753.
- [40] ZENG X, LIU BS, ZHOU J, DAI YM, HAN CS, WANG LK, WU YZ, ZHANG JH. Complete genomic sequence and analysis of β 2 toxin gene mapping of *Clostridium perfringens* JXJA17 isolated from piglets in China[J]. *Scientific Reports*, 2021, 11(1): 475.
- [41] 王林康, 张玲, 曾秀, 戴益民, 吴允正, 王婧祺, 张锦华. A型产气荚膜梭菌 β 2毒素蛋白间接ELISA抗体检测方法的建立[J]. *中国动物传染病学报*, 2022, 30(5): 92-99.
WANG LK, ZHANG L, ZENG X, DAI YM, WU YZ, WANG JQ, ZHANG JH. Development of an indirect ELISA method for detection of β 2 toxin antibodies of *Clostridium perfringens* type A[J]. *Chinese Journal of Veterinary Parasitology*, 2022, 30(5): 92-99 (in Chinese).
- [42] YANG BY, ZENG X, GE Y, LIU WN, HAO WX, LONG C, WANG LK, WU QY, WEN YP, ZHANG JH. A new method for rapid, portable, low-cost detection of *Clostridium perfringens* β 2 toxin in animal fecal using smartphone-based electrochemical immunosensor[J]. *Microchemical Journal*, 2024, 198: 110138.
- [43] BAO QW, LI G, YANG ZC, LIU J, WANG HJ, PANG GJ, GUO QJ, WEI J, CHENG WB, LIN L. Electrochemical biosensor based on antibody-modified Au nanoparticles for rapid and sensitive analysis of influenza A virus[J]. *Ionics*, 2023, 29(5): 2021-2029.
- [44] LEE D, BHARDWAJ J, JANG J. Paper-based electrochemical immunosensor for label-free detection of multiple avian influenza virus antigens using flexible screen-printed carbon nanotube-polydimethylsiloxane electrodes[J]. *Scientific Reports*, 2022, 12(1): 2311.
- [45] ASHRAF U, DING Z, DENG SZ, YE J, CAO SB, CHEN Z. Pathogenicity and virulence of Japanese encephalitis virus: neuroinflammation and neuronal cell damage[J]. *Virulence*, 2021, 12(1): 968-980.
- [46] ROBERTS A, MAHARI S, GANDHI S. Signal enhancing gold nanorods (GNR) and antibody modified electrochemical nanosensor for ultrasensitive detection of Japanese Encephalitis Virus (JEV) secretory Non-Structural 1 (NS1) biomarker[J]. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2022, 919: 116563.
- [47] ROBERTS A, DHANZE H, SHARMA GT, GANDHI S. Point-of-care detection of Japanese encephalitis virus biomarker in clinical samples using a portable smartphone-enabled electrochemical "Sensit" device[J]. *Bioengineering & Translational Medicine*, 2023, 8(3): e10506.
- [48] LI SS, XU BW, LUO YW, LUO J, HUANG SL, GUO XF. Autophagy and apoptosis in rabies virus replication[J]. *Cells*, 2024, 13(2): 183.
- [49] LI JW, WANG CQ, WANG WJ, ZHAO L, HAN HY. Dual-mode immunosensor for electrochemiluminescence resonance energy transfer and electrochemical detection of rabies virus glycoprotein based on Ru(bpy)₃²⁺-loaded dendritic mesoporous silica nanoparticles[J]. *Analytical Chemistry*, 2022, 94(21): 7655-7664.
- [50] MATTA SK, RINKENBERGER N, DUNAY IR, SIBLEY LD. *Toxoplasma gondii* infection and its implications within the central nervous system[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2021, 19(7): 467-480.
- [51] SALIMI M, KESHAVARZ-VALIAN H, MOHEBALI M, GERAVAND M, ADABI M, SHOJAEI S. Electrochemical immunosensor based on carbon nanofibers and gold nanoparticles for detecting anti-*Toxoplasma gondii* IgG antibodies[J]. *Mikrochimica Acta*, 2023, 190(9): 367.
- [52] GESSESE AT. Review on epidemiology and public health significance of hydatidosis[J]. *Veterinary Medicine International*, 2020, 2020(1): 8859116.
- [53] ALVI MA, ALI RMA, KHAN S, SAQIB M, QAMAR W, LI L, FU BQ, YAN HB, JIA WZ. Past and present of diagnosis of echinococcosis: a review (1999–2021)[J].

- Acta Tropica, 2023, 243: 106925.
- [54] EISSA S, NOORDIN R, ZOUROB M. Voltammetric label-free immunosensors for the diagnosis of cystic echinococcosis[J]. Electroanalysis, 2020, 32(6): 1170-1177.
- [55] BRADLEY EA, LOCKABY G. Leptospirosis and the environment: a review and future directions[J]. Pathogens, 2023, 12(9): 1167.
- [56] YEOH TS, TANG TH, CITARTAN M. Isolation of a novel DNA aptamer against LipL32 as a potential diagnostic agent for the detection of pathogenic *Leptospira*[J]. Biotechnology Journal, 2023, 18(3): 2200418.
- [57] JAMPASA S, LAE-NGEE P, PATARAKUL K, NGAMROJANAVANICH N, CHAILAPAKUL O, RODTHONGKUM N. Electrochemical immunosensor based on gold-labeled monoclonal anti-LipL32 for leptospirosis diagnosis[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2019, 142: 111539.
- [58] SAPNA K, SONIA J, SHIM YB, ARUN AB, PRASAD KS. Au nanoparticle-based disposable electrochemical sensor for detection of leptospirosis in clinical samples[J]. ACS Applied Nano Materials, 2022, 5(9): 12454-12463.
- [59] BAUER BU, KNITTLER MR, HERMS TL, FRANGOULIDIS D, MATTHIESEN S, TAPPE D, RUNGE M, GANTER M. Multispecies Q fever outbreak in a mixed dairy goat and cattle farm based on a new bovine-associated genotype of *Coxiella burnetii*[J]. Veterinary Sciences, 2021, 8(11): 252.
- [60] MATHIOUDAKI E, ALIFRAGIS Y, FOUSKAKI M, CHOCHLAKIS D, XIE H, PSAROULAKI A, TSIOTIS G, CHANIOTAKIS N. Electrochemical antigenic sensor for the diagnosis of chronic Q fever[J]. Current Research in Biotechnology, 2022, 4: 537-543.
- [61] KHAN MZH, HASAN MR, HOSSAIN SI, AHOMMED MS, DAIZY M. Ultrasensitive detection of pathogenic viruses with electrochemical biosensor: state of the art[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2020, 166: 112431.
- [62] ZHU XY, LIN L, WU RM, ZHU YF, SHENG YY, NIE PC, LIU P, XU LL, WEN YP. Portable wireless intelligent sensing of ultra-trace phytohormone α -naphthalene acetic acid using self-assembled phosphorene/Ti₃C₂-MXene nanohybrid with high ambient stability on laser induced porous graphene as nanozyme flexible electrode[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2021, 179: 113062.
- [63] RAO LM, ZHU YF, DUAN ZS, XUE T, DUAN XM, WEN YP, KUMAR AS, ZHANG WM, XU JK, HOJJATI-NAJAFABADI A. Lotus seedpods biochar decorated molybdenum disulfide for portable, flexible, outdoor and inexpensive sensing of hyperin[J]. Chemosphere, 2022, 301: 134595.