مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد
سال ۶۵، شماره ۴
مهر-آبان۱۴۰۱، صفحه ۱۹۱۴-۱۸۹۱

www.mums.ac.ir
Medical Journal of Mashhad
University of Medical Sciences
Vol. 65, No.4, P: 1891-1914
Sep -Nov2022

مقاله مروری

روش های رایج تشخیص بیماری‌های ویروسی و معرفی نانوزیست-حسگرها در تشخیص ویروس‌ها

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۲/۲۱- تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۵/۲۰

مرجان ملک محمدی [۱]
مهسا کلانتر [۱]
علی حسین رضایان [۲*]

۱ گروه مهندسی علوم زیستی، دانشکده علوم و فنون نوین ، دانشگاه تهران

۲ گروه مهندسی علوم زیستی،دانشکده علوم و فنون نوین دانشگاه تهران

Email: ahrezayan@ut.ac.ir

خلاصه

ویروس‌ها پتاسیل اپیدمی و پاندمی بزرگی را از ابتدای هزاره جدید نشان داده اند: سندرم حاد تنفسی (SARS) در سال ۲۰۰۲، بیماری آنفولانزای خوکی در سال ۲۰۰۹ و شیوع بیماری ابولا در غرب آفریقا در سال ۲۰۱۴ و آخرین مورد آن‌ها کرونا ویروس در سال ۲۰۲۲-۲۰۱۹ است. بدون شک، ابزارهای سنجش رایج باید به‌صورت مداوم برای حل چالش‌های رو به رشد در تشخیص ویروس‌ها به روز شوند، ویروس‌ها به‌سرعت تغییر می کنند، عمدتا از شخصی به شخص دیگر، بنابراین نیاز به تشخیص زودهنگام محسوس است. در این مقاله مروری، بررسی پایگاه های داده در زمینه روشهای رایج تشخبص ویروس‌ها و چالش‌های آنها و هم‌چنین معرفی نانوزیست‌حسگرها و ضرورت بکارگیری نانوزیست‌حسگرها انجام شد. بررسی ما نشان داد زیست‌حسگرها تأثیر زیادی در تبدیل روش‌های تحلیلی رایج به استراتژی‌های تشخیصی جدید، بویژه استفاده از نانوذرات در شناسایی نشانگرهای زیستی پروتئینی و ویروس‌ها دارند. همچنین لزوم اجرای ابزارهای جدید و نوین در تحقق به هدف تشخیص سریع و دقیق بیماریهای ویروسی توسط نانوزیست‌حسگرها از الزامات حوزه تشخیص بیماری هاست.

کلمات کلیدی: ابزارهای سنجش، شناسایی نشانگر زیستی، عفونت، نانوذرات، نانوزیست-فناوری

پی نوشت: این مطالعه فاقد تضاد منافع می‌باشد.

مقدمه

بیماری‌های عفونی بیماری‌هایی هستند که توسط عوامل عفونی مانند باکتری‌ها، ویروس‌ها، قارچ‌ها و انگل‌های بیماری‌زا به‌وجود می‌آیند. بیماری‌های عفونی ممکن است قبل از علائم و نشانه‌های آن از یک فرد به فرد دیگر منتقل شود. پاندمی کرونا ویروس به‌روشنی ثابت کرد که، علی‌رغم پیشرفت‌های چشم‌گیر علم پزشکی در سده گذشته، هنوز انسان در برابر بیماری‌های عفونی به‌شدت آسیب‌پذیر است. بیماری‌های عفونی به اطلاعات دقیقی در مورد عوامل بیماری‌زا جهت اقدامات پیشگیرانه‌ی پزشکی مانند واکسیناسیون یا تکنیک‌های ضدعفونی‌کننده نیاز دارند. امروزه تعداد مرگ و میرهای ناشی از عفونت‌های مختلف، تقریباً به ۹ میلیون نفر در سال رسیده است (۱). با توجه به تغییرات گسترده در دهه گذشته ناشی از اقدامات بهداشتی و درمانی مؤثر مانند برنامه‌های واکسیناسیون در کشورهای جهان، آمار مرگ و میر در حال تغییر است. با این حال بیماری‌های عفونی به‌راحتی در میان کودکان پخش می‌شود. به‌عنوان مثال، یونسکو در سال ۲۰۱۳ گزارش کرد که هر ۲۰ ثانیه یک کودک زیر ۵ سال در اثر اسهال ناشی از آب آلوده می‌میرد که تقریباً منجر به مرگ ۱,۶ میلیون کودک در سال می‌شود و اسهال را در سطح جهانی به یک بیماری مهم تبدیل کرده است. هم‌چنین بان‌کی‌مون (Ban Ki-Moon) رییس سازمان ملل در سال ۲۰۱۳ در مورد بیش از ۸۰۰۰۰۰ کودک در معرض اسهال صحبت کرد، که می‌تواند مهم‌ترین بیماری برای کودکان زیر ۵ سال باشد (۲).

در مطالعه جهانی در مورد مرگ و میر ناشی از بیماری در سال‌های ۲۰۱۳ و ۲۰۱۵ (۱) معیار سن نیز در نظر گرفته شده است و این باعث شده است این گزارش بسیار جامع‌تر از اسناد سازمان ملل مورد ارزیابی قرار گیرد و در نتیجه، مطالعه جهانی در مورد مرگ و میر احتمالاً مطمئن‌ترین منبع اطلاعاتی در مورد دلایل مرگ در اثر عفونت‌ها و بیماری-های دیگر است. مهم‌ترین بیماری‌های عفونی و پاتوژن‌های جامعه انسانی و میزان مرگ و میر آن‌ها در جدول ۱ لیست شده است (۲).

جدول ۱- برخی از پاتوژن‌های مهم و میزان مرگ و میر جهانی آن‌ها در سال ۲۰۱۵ (Hessling et al., 2017)

نام علمی	عامل بیماری/پاتوژن	برآورد مرگ و میر (هزار نفر)
Streptococcus Pneumoniae	استرپتوکوک نومونیا	۱۶۲۹/۹
Human Immunodeficiency Virus	ویروس نقص ایمنی انسانی	۱۱۹۲/۶
Mycobacterium Tuberculosis	مایکوباکتریوم توبرکلوزیس	۱۱۱۲/۶
Plasmodium Falciparum	مالاریا	۷۲۳/۲
Mycoplasma Pneumoniae	مایکوپلاسما پنومونیه	۲۷۳/۷
Hepatitis B Virus	هپاتیت ب	۳۲۸/۵
Rotavirus	روتاویروس	۱۹۹/۴
Shigella spp. (without S. typhi and S. paratyphi)	گونه شیگلا (بجز سالمونلا تیفی و سالمونلا پاراتیفی)	۱۶۴
Salmonella Typhi	حصبه	۱۴۸/۷
Hepatitis C Virus	هپاتیت ث	۱۴۰/۳
Haemophilus Influenzae Type b	آنفلوانزای هموفیلوس نوع ب	۱۲۹/۱
Salmonella spp.	گونه سالمونلا	۹۰/۵

۸۲/۱	ویروس آنفلوانزا	Influenza virus
۸۲/۱	ویروس سن سی شیال تنفسی	Respiratory Syncytial virus
۷۳/۴	ویروس سرخک	Measles Virus
۷۰/۹	آدنوویروس	Adenovirus
۶۸/۲	وبا	Vibrio Cholerae
۶۸/۲	آمیب انتاموبا هیستولیتیکا	Entamoebea Histolytica
۶۰/۲	استافیلوکوک اورئوس	Staphylococcus Aureus
۵۶/۴	گونه آئروموناس	Aeromonas spp.
۴۷/۴	استرپتوکوک های گروه ب	Group B Streptococcus
۳۹/۴	آسترو ویروس	Astrovirus
۳۰/۲	نورووویروس	Norovirus
۲۹/۱	تب پاراتیفوئید (شبه حصبه)	Salmonella Paratyphi
۲۶/۷	هپاتیت ای	Hepatitis E virus
۱۸/۴	تب دنگی	Dengue Virus
۷/۳	مالاریا ویواکس	Plasmodium vivax
۶/۴	ویروس آبله‌مرغان و زونا	Varicella-Zoster-Virus
۵/۵	ویروس ابولا	Ebola Virus
۵/۱	ویروس تب زرد	Yellow Fever Virus

اپیدمی‌های جهانی تهدید جدی برای زندگی بشر است، در حالی که ویروس‌های شناخته شده و مشخص مانند ویروس نقص ایمنی بدن (۳) و هپاتیت هنوز میلیون‌ها نفر را می‌کشند، ویروس‌های نوظهور نیز مشکل‌ساز هستند و شیوع جدی از آن‌ها در سال‌های اخیر مشاهده شده است. به‌عنوان مثال، سندرم حاد تنفسی-کروناویروس (SARS-CoV) در سال-های ۲۰۰۲-۲۰۰۳، آنفلوانزای خوکی A (H1N1) در سال ۲۰۰۹ و شیوع تب خونریزی ابولا در سال ۲۰۱۴ باعث مرگ هزاران نفر در غرب آفریقا شده است (۴). میزان شیوع و مرگ و میر این بیماری‌ها بسیار زیاد است، به‌طوری که در سال ۲۰۱۳ سی و پنج میلیون نفر به ویروس HIV و ۳۵۰ تا ۴۰۰ میلیون نفر به ویروس هپاتیت B آلوده شده اند. براساس گزارش سازمان بهداشت جهانی (۵) از سال ۲۰۱۴ (WHO، 2014) بیش از ۷۸۰ هزار نفر هر ساله در اثر هپاتیت B می-میرند و تا ۵۰۰ هزار نفر در اثر بیماری‌های کبدی ایجاد شده توسط هپاتیت جان خود را از دست می‌دهند. شیوع بالای این بیماری‌ها تلاش‌ها را برای بهبود تشخیص بالینی آن‌ها افزایش داده است (۴).

ویروس‌ها برای تولید و تکثیر به سلول میزبان نیاز دارند. سلول‌های پستانداران برای شناسایی و جلوگیری از تکثیر ویروس‌ها، مکانیسم‌های دفاعی پیچیده‌ای را ایجاد می‌کنند. در مقابل، ویروس‌ها، قادر به شکست و کنترل واکنش‌های ایمنی میزبان هستند و این امر باعث ارتقا ویروس‌هایی شده است که در از بین بردن واکنش‌های ایمنی میزبان مهارت دارند (۶).

تشخیص عوامل بیماری‌زا برای برنامه‌های مراقبت از بیمار در محل (Point-Of-Care) اهمیت بسیار بالایی دارد. روش‌های بسیاری، از جمله واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (Polymerase Chain Reaction (PCR))، سنجش ایمنی وابسته به آنزیم، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز رونویسی معکوس و فناوری‌های نانوحسگرها، صرف نظر از اشکالات آن‌ها، توانایی تشخیص ویروس‌ها را دارند.

مبانی اصلی در نانوحسگرها شناسایی مولکول هدف و تبدیل

پاسخ‌ها به سیگنال‌ها است. نانوحسگرها در پنج کلاس اصلی شامل الکتروشیمیایی، نوری، پیزوالکتریک، حرارتی و مغناطیسی طبقه‌بندی می‌شوند. طی دهه‌های گذشته، نانو-حسگرها برای شناسایی آنالیت‌هایی همچون مواد منفجره، پروتئین، اسیدهای نوکلئیک، کارسینوژن‌ها، باکتری‌ها، ویروس‌ها، سموم در فرآوری مواد غذایی، نظارت بر محیط زیست، تشخیص بالینی و مبارزه با بیوتروریسم مورد توجه بوده‌اند (۷).

بنابراین، تشخیص سریع به بیماران در درمان به موقع برای جلوگیری از عوارض بیشتر کمک می‌کند و برای سلامت عمومی با جمع آوری داده‌ها در مطالعات اپیدمیولوژیک برای جلوگیری از شیوع بیماری‌ها مفید هستند، در همین زمینه، سازمان بهداشت جهانی برنامه‌های نظارتی زیادی را برای کنترل بیماری از جمله استراتژی جهانی برای کنترل و ارزیابی مقاومت به دارویی ویروس نقص ایمنی انسانی، سیستم نظارت و پاسخ جهانی آنفولانزا برای کنترل و پایش آنفلوانزا و سیاست جهانی در مورد هپاتیت ویروسی را ایجاد کرده است. هم‌چنین در مقیاس کوچک‌تر، آزمایشگاه‌های بالینی را با استفاده از طیف وسیعی از ابزارها و ماشین آلات با هزینه و کارآیی متفاوت برای تشخیص بیماری‌های ویروسی ایجاد کرده است. در دنیای فناوری که به سرعت در حال رشد است، صنعت به‌طور مداوم ابزارهای به روزی را ارائه می‌دهد اما عوامل زیادی اجرای آن‌ها را در زمینه مراقبت‌های بهداشتی با درآمد کم محدود می‌کند، که متأسفانه منافع جهانی را به تأخیر می‌اندازد (۴).

مروری بر منابع و بحث

ویروس‌ها

ویروس‌ها را می‌توان به‌عنوان ساختارهای ساده ای در نظر گرفت، که اطلاعات ژنتیکی خود را از طریق میزبان تکثیر می‌کنند. آن‌ها عوامل درون سلولی کوچکی هستند که فقط یک نوع نوکلئیک اسید (RNA یا DNA) دارند، که در خارج از سلول میزبان تکثیر نمی‌شود. هنگامی که آن‌ها قادر به پیدا کردن سلول میزبان نیستند، به ساختاری بلوری تبدیل می‌شوند و می‌توانند برای مدت طولانی باقی بمانند. مواد ژنتیکی ویروس‌ها ممکن است از DNA یا RNA تک یا دو رشته تشکیل شود. مواد ژنتیکی ویروس‌ها با غلاف ساخته شده از پروتئین‌ها به نام کپسید احاطه شده است. بنابراین ویروس‌ها از نوکلئوپروتئین‌ها تشکیل شده اند. روند تکثیر ویروس‌ها که در یک میزبان اتفاق می‌افتد برای رتروویروس ها استثنایی است. به‌عنوان مثال، ژنوم ویروس نقص ایمنی انسان دارای RNA است، اما پس از تعامل با سلول میزبان، یک نسخه DNA ایجاد می‌کند. ویروس‌ها با استفاده از متابولیسم سلول میزبان خود را تکثیر می‌کنند و ممکن است در هنگام کپی شدن جهش پیدا کنند. جهش باعث افزایش تنوع ژنتیکی شده و بنابراین ویروس‌ها به راحتی می‌توانند با شرایط مختلف محیطی سازگار شوند (۸). همانطور که قبلاً ذکر شد، ویروس از سلول‌های میزبان برای ایجاد پروتئین‌های ویروسی و ذرات جدید ویروس استفاده می‌کند. این ذرات جدید به‌عنوان ویریون (Virion) شناخته می‌شوند، که سلول میزبان را رها می‌کنند و می‌توانند سلول‌های دیگر را آلوده کنند، از خصوصیت مهم دیگر ویروس‌ها نداشتن سیستم آنزیمی است و در ساختار آن‌ها، فقط آنزیم‌های گوارشی حضور دارد که می‌توانند غشای سلول میزبان را هضم کنند. هم‌چنین بدلیل نداشتن سیستم آنزیمی، تحت تأثیر آنتی-بیوتیک‌ها قرار نمی‌گیرند (۹).

آلودگی ناشی از ویروس‌ها

ویروس‌ها می‌توانند به روش‌های مختلفی موجودات را آلوده کنند. عفونت‌های ویروسی عامل بیماری‌های حادی هستند که نیازی به بستری در کشورهای توسعه یافته ندارد و علت مرگ و ناتوانی دائم در کشورهای در حال توسعه بویژه در شیرخواران و کودکان است. به‌عنوان مثال، ویروس واریسلا زوستر (Varicella-Zoster virus) که عضو خانواده هرپس است، باعث بیماری آبله مرغان کلی در کودکان و هرپس زوستر در بزرگسالان می‌شود. ویروس‌ها و هم‌چنین عفونت-های ویروسی می‌توانند به‌طور مستقیم بین افراد منتقل شوند،

اما از راه آب آلوده و یا مصرف مواد غذایی نیز قابل انتقال هستند. گاستروانتریت ویروسی، که سالانه علت مرگ تقریباً ۱ میلیون کودک زیر ۵ سال است، یک عفونت غذایی متداول است (۸). از طرف دیگر، انتقال ویروس هپاتیت B تنها با تماس با مایعات بدن یک فرد آلوده امکان پذیر است (۱۰). ویروس‌ها نه تنها انسان‌ها بلکه گیاهان و حیوانات را نیز آلوده می‌کنند. ویروس مرکبات تریستزا (Citrus Tristeza) که عضو خانواده کلاسترویریدا (Closteroviridae) است گونه‌های مرکبات را آلوده می‌کند و می‌تواند در درختان بیماری‌های جدی ایجاد کند که منجر به از دست رفتن میوه و مرگ درختان مرکبات می‌شود (۱۱). ویروس هاری از خانواده رابدوویرس‌ها عامل بیماری هاری است که بیماری است که می‌تواند از حیوانات به انسان منتقل شود و از طرف سازمان بهداشت جهانی (۵) یک خطر جدی برای سلامتی انسان و حیوان محسوب می‌شود (۱۲). برخی داده‌ها حاکی از آن است که طیف گسترده‌ای از بیماری‌های ویروسی که قبلاً گزارش شده‌اند، می‌توانند سایر بیماری‌های جدی انسانی مانند دیابت نوجوانان، آرتریت روماتوئید (Rheumatoid Arthritis)، انواع مختلف ناهنجاری‌های عصبی و ایمونولوژیکی و برخی از تومورها را منجر شوند (۱۳).

روش‌های شناسایی ویروس‌ها

تکنیک‌های بسیاری برای شناسایی نمونه‌های ویروسی توسعه یافته‌اند. متداول‌ترین روش‌ها برای تشخیص ویروس‌ها وقت-گیر، گران قیمت، اغلب با قابلیت ضعیف در تولید مجدد و نیازمند امکانات تخصصی و پرسنل آموزش دیده هستند. شناسایی دقیق، سریع و کم‌هزینه ویروس‌ها مورد توجه است زیرا چنین روشی می‌تواند تشخیص سریع قبل از انتشار را پیدا کند. متداول‌ترین روش‌های اندازه‌گیری ویروس‌ها را می-توان در حالت کلی به دسته‌های زیر تقسیم نمود (۸) .

اندازه گیری پروتئین‌ها و نوکلئیک اسید ویروسی

۱- واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، نوکلئیک اسید روشی بسیار مهم در زیست‌شناسی مولکولی و زیست‌فناوری است. این واکنش این امکان را فراهم می‌کند تا مقادیر بسیار کمی DNA مانند یک توالی تک ژن را به یک میلیون نسخه در شرایط آزمایشگاهی با استفاده از آنزیم‌ها افزایش دهد. بدین وسیله مقدار کافی از DNA برای تجزیه و تحلیل بیشتر از یک الگو ارائه می‌شود (۱۴). علاوه برآن، یک DNA الگو، آغازگرها، تگ پلیمراز (Taq Polymerase)، نوکلئوتیدها و یک دستگاه ترموسیکلر برای فرایند PCR مورد نیاز است. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز یک روش مهم برای اندازه گیری نه تنها نوکلئیک اسیدهای ویروسی بلکه در تشخیص پزشکی، صنعت گیاهان، مطالعات محیطی و ژن درمانی است (۱۴). واکنش زنجیره‌ای پلیمراز یکی از متداول‌ترین روش‌های تشخیص نوکلئیک اسیدهای ویروسی است. با استفاده از PCR می‌توان هویت و یا مقدار ژنوم ویروس و سلول‌های آلوده را تعیین کرد. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ، بعنوان یک روش حساس، امکان جستجوی چندین ویروس در نمونه‌ها و شناسایی گروه‌های ویروسی از طریق توالی‌های متداول را فراهم می‌آورد. با وجود این ویژگی‌ها، جلوگیری از آلودگی نمونه‌های بیمار بسیار دشوار است و می‌توان آن را یک عیب بزرگ قلمداد کرد (۸). برای تجزیه و تحلیل PCR ، هم‌چنین از PCR رونویسی معکوس نیز استفاده می‌شود، به‌طوری که با اضافه کردن یک مرحله اولیه که RNA به DNA تبدیل می‌شود، می‌تواند برای شناسایی RNA ویروسی استفاده شود (۱۵). رونویسی معکوس با استفاده از آنزیمی به نام ترانس-کریپتاز معکوس (Transcriptase Reverse) انجام می‌شود. این مرحله تبدیل بسیار مهم است، زیرا طی آن DNA پایدارتر از RNA بدست می‌آید و به آسانی مانند RNA در فرآیند واکنش زنجیره‌ای پلیمراز تغییر نمی‌کند (۱۶).

۲- ایمونوبلاتینگ (Immunoblotting)

ایمونوبلاتینگ با نام لکه‌گذاری وسترن (Western Blotting) نیز شناخته می‌شود، برای شناسایی پروتئین‌ها، پروتئین روی یک غشا و نیز تغییرات غلظت پروتئینی در نمونه‌ها با استفاده از آنتی‌بادی‌ها استفاده می‌شود (۱۶).

تکنیک ایمونوبلاتینگ پروتئین‌های خاص ویروسی درون یک سلول، بافت، ارگان و یا مایع بدن را تعیین می‌کند، اگرچه دشواری و هزینه تفسیر نتایج حاصل از ایمونوبلاتینگ منجر به کاهش استفاده از این روش شده است، اما ایمونوبلاتینگ هنوز به طور گسترده برای اهداف تشخیصی و تحقیقاتی استفاده می‌شود (۸).

۳- رسوب ایمنی ((Immunoprecipitation (IP))

رسوب ایمنی، روشی است که با استفاده از آنتی‌بادی که به‌طور ویژه به پروتئین خاصی متصل شده و آنتی‌ژن پروتئینی را از محلول جدا می‌کند. این روش می‌تواند برای جداسازی و تغلیظ پروتئین خاص از نمونه حاوی هزاران پروتئین مختلف استفاده شود (۱۷). رسوب ایمنی روش مفیدی برای تخلیص ویروس‌هایی است که با روش‌های استاندارد جداسازی نمی‌شوند و نیز امکان تخلیص سریع ویروس‌های دست نخورده از بافت‌های کوچک را برای تجزیه و تحلیل میکروسکوپ الکترونی عبوری (Transmission Electron Microscopy (TEM)) فراهم می‌کند. آنتی‌بادی‌های اختصاصی ویروسی برای تکنیک رسوب ایمنی ضروری است، که یک نقص محسوب می‌شود (۱۸).

٤- سنجش ایمنی وابسته به آنزیم (Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA))

سنجش ایمنی، که معروف‌ترین نوع آن الایزا است، امکان کمی و شناسایی آنتی‌ژن‌های مختلف را فراهم می‌کند (۳). الایزا سنجش آنزیمی ساده ای است که با کمک اختصاصیت در اتصال آنتی‌بادی‌ها به آنتی‌ژن یا آنتی‌بادی‌های متصل به آنزیم سنجش‌گر عمل می‌کند. اساس تکنیک الایزا فرآیند رادیو ایمونواسی است که شامل یک آنتی‌بادی نشاندار به منظور شناسایی آنتی‌ژن‌ها می‌باشد. آنزیمی که به سوبسترا، مولکول فلورسنت و یا ایزوتوپ رادیواکتیو متصل باشد، می‌تواند به‌عنوان برچسب توصیف شود (۳). الایزا در زمینه‌های مختلفی مانند مطالعات محیطی به منظور شناسایی آلاینده‌ها، صنایع غذایی به منظور کشف سموم یا آلرژن‌ها و مطالعات پزشکی به منظور تشخیص نشانگرهای بیماری استفاده می‌شود (۱۹). تشخیص ویروس به کمک الایزا، بصورتی است که ویروس یا آنتی‌بادی را در نمونه بیمار آلوده به ویروس تشخیص می‌دهد. مقدار ویروس‌ها از یک کشت سلولی یا آنتی‌بادی اختصاصی به یک پاتوژن خاص ویروسی را می‌توان با استفاده از الایزا تشخیص داد. این مطالعات برای تشخیص بسیار مهم هستند (۱۹). الایزا روشی بسیار سریع‌تر از ایمنوبلاتینگ برای تشخیص یک پروتئین خاص ویروسی است. الایزا روش بسیار حساسی محسوب می‌شود که می‌تواند مقادیر بسیار کمی پروتئین را تشخیص دهد و از طرف دیگر، آزمایش‌های الایزا به دلیل هزینه زیاد در استفاده از معرف‌ها می‌تواند بسیار گران باشند (۸).

٥- روش هماگلوتیناسیون (Hemagglutination)

در اصل، هموگلوتیناسیون می‌تواند به‌عنوان تجمع گلبول‌های قرمز بدلیل وجود عوامل همگلوتین کننده مانند ویروس‌ها توصیف شود (۲۰). برخی از ویروس‌ها، مانند ویروس آنفلوانزا، ویروس هاری، ویروس سرخچه، ویروس اوریون و ویروس سرخک، دارای پروتئین‌های سطحی هموگلوتینین هستند که به گلیکوپروتئین های سطحی گلبول‌های قرمز متصل می شوند. اصول هماگلوتیناسیون به این واقعیت متکی است که بسیاری از ویروس‌ها حاوی پروتئین‌هایی هستند که می‌توانند به گلبول‌های قرمز متصل و آن‌ها را آگلوتینات کنند. اساس این روش ساده است. با این حال، آماده سازی نمونه کار دشواری است و اشکالاتی دارد (۸). هماگلوتیناسیون یکی از تکنیک‌های بسیار پرکاربرد به منظور تشخیص حضور و تعداد کمی ویروس‌ها در نمونه‌های مختلف است. با این حال، نمی‌تواند اطلاعاتی در مورد سطح یا اندازه‌گیری عفونت ویروسی ارائه دهد (۲۰). هماگلوتیناسیون برای تشخیص سطح آنتی‌بادی در برابر ویروس‌های خاص در نمونه‌های بیمار نیز استفاده می‌شود. وجود آنتی‌بادی‌های خاص با اتصال به ویروس‌ها از هموگلوتیناسیون گلبول‌های قرمز جلوگیری می‌کند (۸).

شمارش مستقیم ذرات ویروسی

۱- فلوسایتومتری (Flow Cytometry (FCM)

فلوسایتومتری روشی متداول در زیست‌شناسی، میکروبیولوژی، ویروس‌شناسی و ایمونولوژی است. تکنیک فلوسایتومتری شامل بررسی سلول‌ها، جمعیت سلولی و آنتی-ژن‌های نمونه انسانی است (۲۱, ۲۲). امروزه، با پیشرفت فناوری، روش فلوسایتومتری تعیین اندازه از ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ نانومتر از جمله ویروس‌ها / ذرات ویروسی را فراهم می‌کند (۲۲). فلوسایتومتری به‌دلیل کاربردهای مختلف در تکثیر ویروس و تعاملات سلول- ویروس و پتانسیل آن برای تعیین کمیت پروتئین‌ها، به یک وسیله مهم در ویروس‌شناسی تبدیل شده است (۲۳). فلوسایتومتری برای تشخیص بیماری‌های ویروسی نیز استفاده می‌شود (۲۱).

۲- میکروسکوپ الکترونی عبوری

میکروسکوپ الکترونی عبوری روشی مورد توجه در حوزه تشخیص است، که در آن الکترون‌ها از نمونه‌های مختلف عبور می‌کنند و تصویری از نمونه را تهیه می‌کنند. میکروسکوپ الکترونی عبوری این امکان را فراهم کرده است که مواد در مقادیر اندک را تجزیه و تحلیل کند و به این علت در علوم پزشکی، ویروس‌شناسی، علوم فیزیکی و غیره مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۴). ویروس‌ها بسیار کوچک هستند و بیشتر آن‌ها فقط با میکروسکوپ الکترونی عبوری قابل مشاهده هستند. بنابراین میکروسکوپ الکترونی عبوری سهم بسزایی در ویروس‌شناسی از جمله کشف بسیاری از ویروس‌ها، تشخیص عفونت‌های مختلف ویروسی و تحقیقات اساسی در مورد تعاملات سلول میزبان- ویروس داشته است. علیرغم اینکه روشی نسبتاً سریع است و اطلاعات کمّی و کیفی در مورد ویروس‌ها ارائه می‌دهد، اما فقط در غلظت بالای ویروس (بیش از۱۰۷ ذره در میلی لیتر) قابل استفاده است (۲۵).

۳- روش‌های تعیین ویروس

روش اول: کشت سلول

کشت سلول به معنای رشد سلول‌های زنده در خارج از موجودات زنده در شرایط کنترل شده است. برای تولید یک کشت سلولی مهم‌ترین کار انجام کلیه کارها در شرایط استریل است. اولین قدم برای تولید یک کشت سلولی خرد کردن بافت مورد نیاز است. پس از آن، آنزیم‌های مختلفی از جمله کلاژناز برای تخریب ماتریکس خارج سلولی و آزاد سازی سلول‌ها بر روی بافت اعمال می شود. سپس مرحله سانتریفیوژ انجام می‌شود و بعد از آن سلول‌ها و محیط کشت در ظروف کشت ترکیب شده و در دستگاه انکوباتور با رطوبت، دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و دی اکسید کربن ۵٪ قرار می‌گیرند. سرانجام، سلول‌ها رشد کرده و با اتصال به ظرف تقسیم می‌شوند. جداسازی ویروس از کشت سلولی به‌عنوان یک "استاندارد طلایی (Gold Standard)" در تشخیص و شناسایی ویروس‌ها پذیرفته شده است و روشی است که با استفاده از آن همه روش‌های دیگر آزموده می-شود (۲۶).

روش دوم: روش ایمونوفلورسانس (Immunofluorescence Assay)

ایمونوفلورسانس روش تشخیصی است که از تعامل بین ویروس‌ها و آنتی‌بادی‌های اختصاصی استفاده می‌کند. ایمونوفلورسانس را می‌توان روشی نسبتاً سریع در نظر گرفت و بدون تکنسین‌های ویژه به راحتی قابل استفاده است. این یکی از تکنیک‌های متداول برای شناسایی سریع عفونت‌های ویروسی با شناسایی آنتی‌ژن‌های ویروس است. رنگ‌آمیزی ایمونوفلورسانس، شناسایی بسیار سریع، حساس و اختصاصی ویروس را معمولاً در حدود ۲-۱ ساعت ارائه می‌دهد. متأسفانه، روش ایمونوفلورسانس ممکن است نتواند هویت همه سویه‌های ویروس را تأیید کند و ممکن است به دلیل هزینه آنتی‌بادی‌های استفاده شده بسیار گران باشد. قبل از دسترسی به تست‌های الایز، ایمونوفلورسانس برای تشخیص استفاده می‌شد، اما اکنون فقط برای مطالعات تحقیقاتی استفاده می‌شود (۲۷).

اندازه‌گیری عفونت ویروسی

۱- سنجش پلاک ویروسی

آنالیز پلاک ویروسی یکی از متداول‌ترین روش‌های ویروس‌شناسی برای تعیین تیتر ویروسی است و تصور می-شود این تکنیک فقط برای ویروس‌هایی که می‌توانند سلول-های تک سلولی شده (تک لایه ای از سلول ها) را آلوده کنند موثر است. با استفاده از این روش می‌توان دوز عفونت را تعیین کرد. به عبارت دیگر، مقدار کمّی از ذرات ویروس عفونی است. نتایج به صورت واحدهای تشکیل دهنده پلاک (Forming Units (PFU) Plaque) نمایان می‌شود. این روش بسته به آنالیز ویروس معمولاً به ۱۰-۴ روز زمان نیاز دارد و وقت‌گیر محسوب می‌شود. نتایج آزمایش پلاک ویروسی بسته به شرایط سنجش ممکن است تغییر کند و نتایج PFU2 همیشه ممکن است مقدار مشخصی از ذرات ویروسی عفونی را نشان ندهد (۲۰).

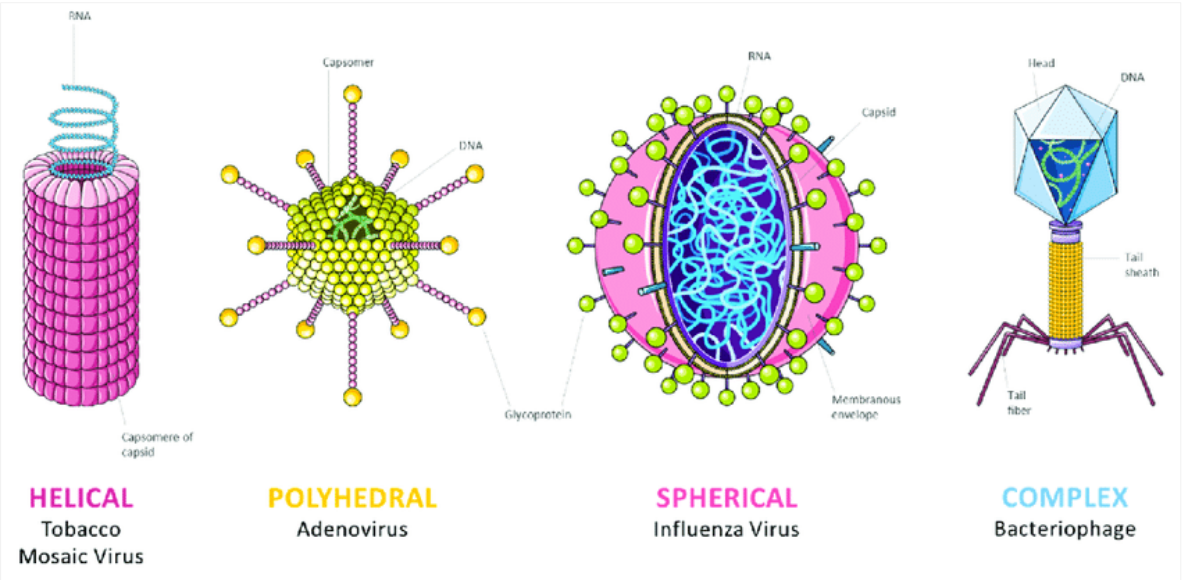
۲- سنجش های کوانتومی (Quantal Assays) (EID50 ،LD50 ،TCID50)

روش‌های TCID50، LD50 و EID50 برای تعیین تیتر عفونی انواع ویروس‌ها استفاده می‌شوند که می‌تواند در مدت زمان ۲۰-۵ روز باعث ایجاد اثرات سیتوپاتی در کشت بافت شود. دوز عفونی کشت بافت پنجاه درصد (Fifty-Percent (Tissue Culture Infective Dose) (TCID50) اندازه‌گیری تیتر ویروس عفونی است. این روش رقت نقطه پایانی مقدار ویروس مورد نیاز برای از بین بردن ۵۰٪ میزبان آلوده یا تولید اثر سیتوپاتی در ۵۰٪ سلول‌های کشت بافت تلقیح را تعیین می‌کند. این روش ممکن است در مطالعات تحقیقاتی بالینی که دوز کشنده ویروس باید تعیین شود یا اینکه ویروس پلاک ایجاد نمی‌کند، مطرح است. دوز کشنده متوسط (Lethal Dose Median) (LD50) اندازه‌گیری دوز کشنده یک سموم، پرتودرمانی یا پاتوژن (مانند ویروس) است. مقدار LD50 (Egg Infective Dose) برای یک ویروس، دوز مورد نیاز برای از بین بردن نیمی از سلول‌های میزبان پس از مدت زمان مشخصی است. یک واحد EID50 مقدار ویروسی است که ۵۰ درصد تخم‌های تلقیح شده را آلوده می‌کند (۲۰).

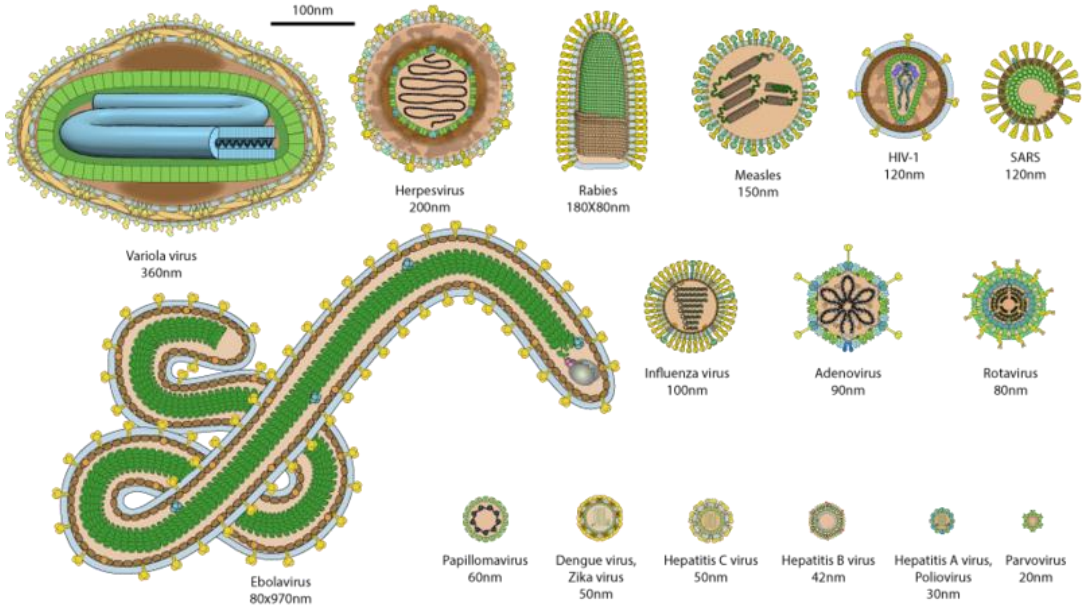
۳- سنجش کانونی ایمونوفلورسانس (Immunofluorescence Foci Assay)

کانونی ایمونوفلورسانس روش سریع تیتراسیون ویروس است که امکان اندازه‌گیری ویروس در رده‌های سلولی را فراهم می‌کند، که باعث بروز پلاک نمی‌شوند و یا اثر سیتوپاتی قابل تشخیص را نشان نمی‌دهد (۲۰).

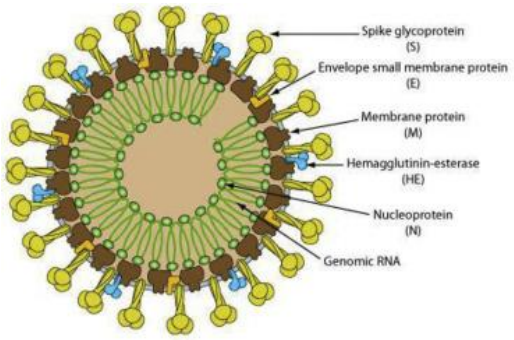
الف)



ب)



ج)

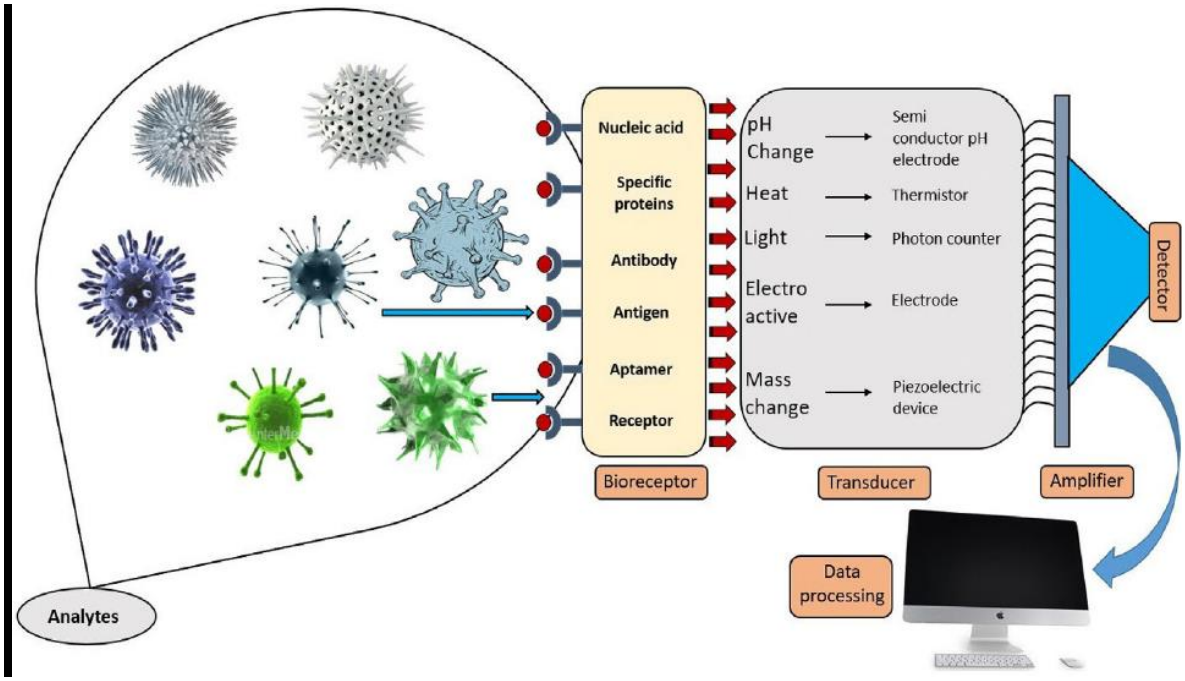


شکل ۱- اشکال مختلف ویروس‌ها.

الف) ساختارهای مختلف ویروسی(۱)، ب) چند نوع ویروس رایج انسانی(۲) و ج) کروناویروس(۳).

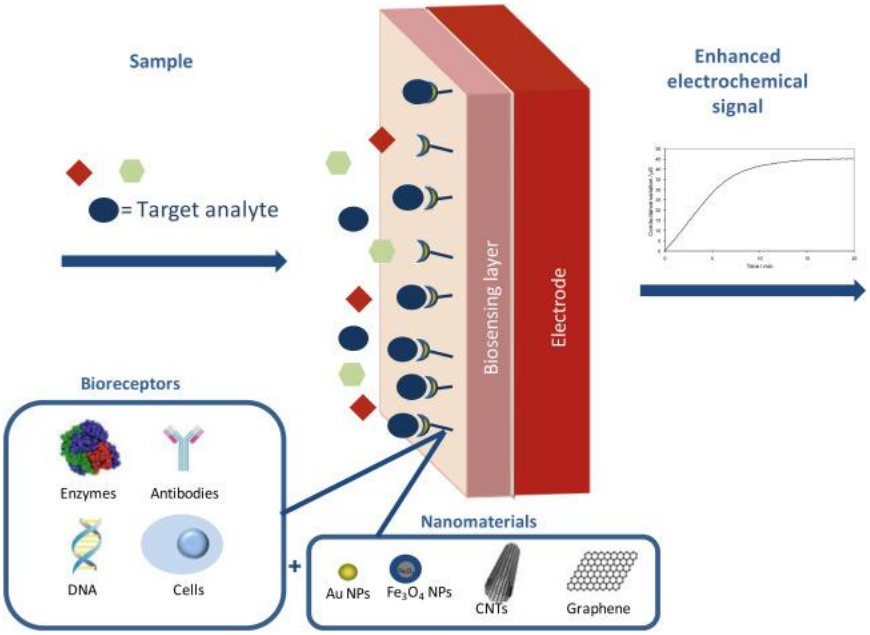
نانوزیست‌حسگرها

زیست‌حسگر دارای سه بخش اصلی: مبدل، گیرنده و یک آشکارساز با خروجی دیجیتالی (مانند روش الکتروشیمیایی) یا غیردیجیتالی (مانند روش رنگ‌سنجی) است (شکل ۲)، بعد از اینکه مولکول هدف با گیرنده ارتباط برقرار کرد، شناساگر زیستی، واکنش بین آن‌ها را می‌شناسد و پس از آن، مبدل تغییرات را به سیگنالی که توسط آشکارساز اندازه گیری می‌شود، تبدیل می‌کند (۲۸). نانوزیست‌حسگرها، زیست-حسگرهایی هستند که از نانوذرات و قابلیت های آنها در یکی از بخش های خود استفاده کرده اند. نانوحسگرها توانایی‌های مختلفی از جمله قابل اجرا بودن، عملکرد در موارد خاص، اختصاصیت و حساسیت بالا، واکنش سریع، قابلیت حمل و آنالیز درجا دارند. امروزه محققان با تمرکز بر کیفیت تولید نانوزیست‌حسگرها، افزایش تمایل در سطح و استفاده از نانوکامپوزیت‌ها مانند نانوفیلم، نانوذرات طلا یا کوانتوم دات اختصاصیت و حساسیت روش‌ها را بهبود می‌بخشند (۲۹).



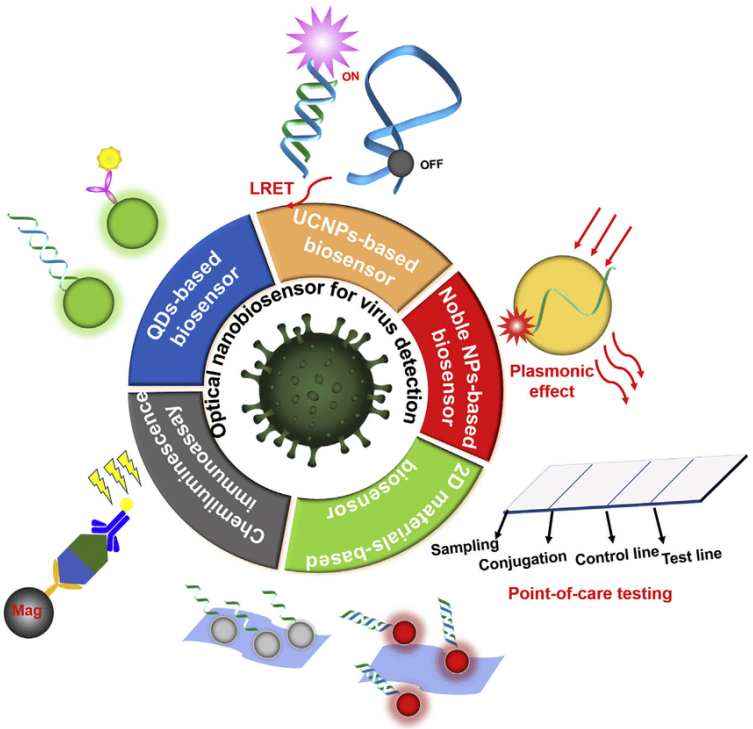
شکل ۲- شناسایی پاتوژن ویروسی به کمک نانوزیست‌حسگرها (٤).

نانوحسگرهای الکتروشیمیایی (شکل ۳) دارای کاربردهای متعددی می‌باشند. این نانوحسگرها شامل نیمه-رساناها و الکترودهای چاپی و نظارت بر هرگونه تغییر در ابعاد، خواص دی الکتریک، توزیع بار و شکل تولید شده بر روی الکترود می‌باشد. مبدل‌های الکتروشیمیایی را می‌توان به آمپرسنجی (Amperometric)، مقاومت‌سنجی و پتانسیل-سنجی(Potentiometric) تفکیک کرد و برای تشخیص اهداف مختلف استفاده کرد(۳۰, ۳۱).



شکل ۳- شکل شماتیک نانوزیست حسگر الکتروشیمیایی(۵).

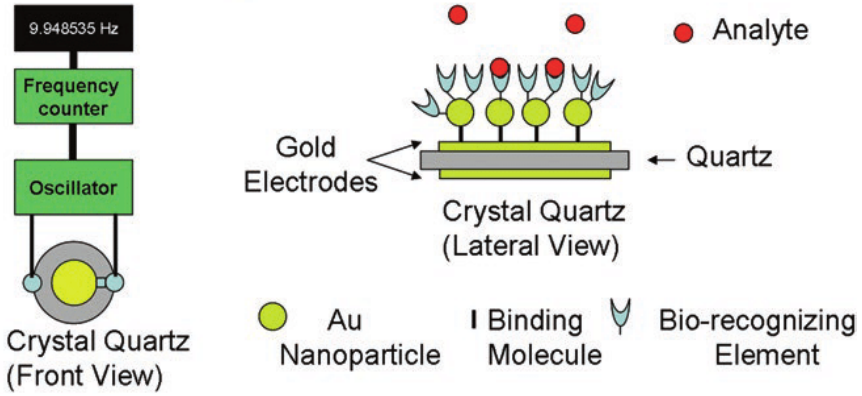
نانوحسگرهای نوری (شکل ۴) ، تغییر در شاخص نور بازتابی از مبدل را بعد از اتصال هدف و عنصر تشخیصی اندازه‌گیری می‌کند. این نانوحسگرها را می‌توان به دو نوع طبقه‌بندی کرد. نانوحسگرهای نوری مستقیم، تولید سیگنال در سطح مبدل است، در حالی که نانوحسگرهای نوری غیر مستقیم اغلب با برچسب‌های مختلف برای تشخیص اتصال و گسترش سیگنال طراحی شده اند. علیرغم اینکه نانوحسگرهای غیرمستقیم می‌توانند سیگنال‌های بالاتری ایجاد کنند، دارای مشکل هزینه بالای برچسب و اتصال غیر اختصاصی می باشد. آن‌ها توانایی تشخیص چند منظوره دارند و انواع مختلف زیست مولکول‌ها را از نمونه‌های مختلف تشخیص می‌دهند(۳۲).



شکل٤- انواع نانوزیست حسگرهای نوری برای شناسایی ویروسها(٦).

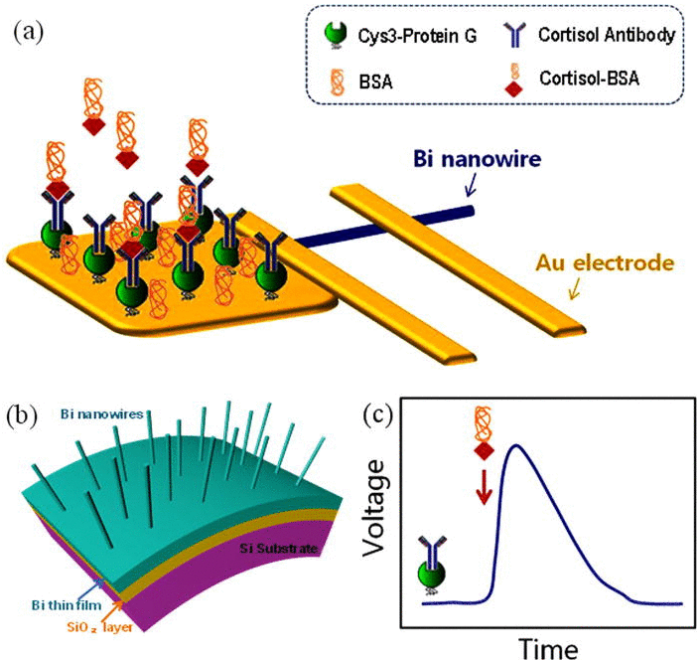
در این ابزار ها از نانوذراتی استفاده شده است که بر اساس خواص نوری خود، موجب ایجاد سیگنال در تشخیص مولکول هدف می شوند.

نانوحسگرهای پیزوالکتریک (شکل ۵) با ثبت فرکانس و اصلاح یک تشدید کننده کریستال کوارتزی، تغییر جرم و ویسکوالاستیسیته (رفتاری میان دو خاصیت کلی ویسکوز بودن و کشسان بودن) را اندازه می گیرند. این نوع سنجش به تجهیزات ایزوله کردن نیاز دارد که بدلیل حساسیت زیاد به شرایط محیطی، هرگونه اثرات جانبی را به حداقل می‌رساند. این نانوحسگرها در کاربردهای متنوعی برای شناسایی اهداف استفاده می‌شوند (۳۱, ۳۳).



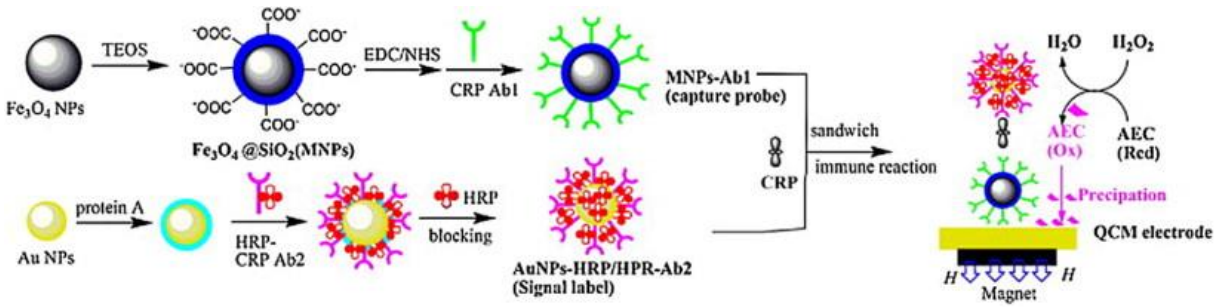
شکل ۵- نانوزیست حسگر پیزوالکتریک(۷).

نانوحسگرهای حرارتی (شکل ۶) از خواص پایه واکنش‌های بیولوژیکی مانند جذب یا دفع گرما استفاده می-کنند و سیگنال آن‌ها با تغییر دما در محیط واکنش نشان داده می‌شود. در نانو حسگرهای حرارتی، گرما با استفاده از ترمیستور (Thermistor) های حساس که اغلب به‌عنوان مبدل دما انتخاب می‌شوند، اندازه‌گیری می‌شود. تعدادی از ابزارهایی که در دهه‌های گذشته استفاده شده است را در این نوع حسگرها از جمله اصول کاتالیز آنزیم کالری سنجی، آنالیز تزریق جریان و تثبیت در ماتریس‌های مناسب را ادغام کرده‌اند (۳۴, ۳۵).



شکل٦- شکل شماتیک یک نانوزیست حسگر حرارتی مبتنی بر نانوسیم ها (۸).

نانوحسگرهای مغناطیسی (شکل ۷) دانه‌های مغناطیسی را که با یک لیگاند پوشانده شده‌اند را در یک میدان مغناطیسی تشخیص می‌دهند. آن‌ها مزایای متمایزی دارند؛ به دلیل اینکه اگر فقط نمونه مورد نظر خاصیت مغناطیسی داشته باشد سیگنال‌های پس زمینه به حداقل می‌رسد. علاوه بر این، نه تنها راه‌های جدید تحقیق و روش‌های بالینی مانند درمان هایپرترومی (Hyperthermia) ، تحریک مغناطیسی، تحویل هدفمند دارو با استفاده از ذرات مغناطیسی صورت گرفته، بلکه سنجش زیستی مبتنی بر تشخیص فلورسنت یا روش‌های مناسب توالی‌یابی در ژنتیک نیز به کمک آنها مورد استفاده قرار گرفته است (۳۶, ۳۷).



شکل ۷- شماتیک یک نانوزیست حسگر مغناطیسی (۹).

اهمیت نانوزیست‌حسگرها در تشخیص پزشکی

نانوحسگرها سال‌ها پیش توسعه یافته‌اند و محققان از جمله زیست‌شناسان، شیمیدانان، فیزیکدانان، پزشکان از زیست-حسگرها به‌عنوان یک ابزار در زمینه های مختلف مانند آنالیز دوپینگ (۳۸)، ایمنی مواد غذایی (۳۹, ۴۰)، تشخیص در پزشکی و آزمایشگاه (۴۱) و غیره به کار گرفته شده اند. به-دلیل نیاز به آنالیز سریع ،پیشرفت در تشخیص و نیز ویژگی-هایی مانند پایداری، انتخابیت و سودآور بودن، عناصر شناساگر جدیدی در آنها بکار رفته است. بکارگیری ترکیبات جدید و استفاده از فناوری نانو جهت توسعه بخش شناساگر در بهبود زیست‌حسگرها نقش داشته است. زیست-حسگرها برای تشخیص در محل مراقبت بیمار مناسب می-باشند زیرا قابلیت تشخیص سریع و چند آنالیتی را دارند (۴۱). همانطور که پیشتر اشاره شد، انواع مختلفی از زیست‌حسگرها شامل: نوری، الکتروشیمیایی، پیزوالکتریک، مغناطیسی، میکرومکانیکی و حرارتی برای تشخیص پزشکی وجود دارد (۳۱, ۴۰, ۴۲-۴۶).

نقش نانوذرات در حسگرها

فناوری نانو ساخت نانوساختارها که دارای خصوصیات نوری، مغناطیسی و الکتریکی ویژه هستند را امکان پذیر کرده است. ساختارهای نانو در هر زمینه‌ای از جمله مکانیک، پزشکی، نوری و الکترونیک دارای مزیت‌هایی است. باید در نظر داشت که تکنیک‌ها از نظر ماهیت کور هستند زیرا به هر مولکولی که از نظر فیزیکی به سطح آنها متصل باشد پاسخ می‌دهند و این بدلیل دارا بودن برخی از خصوصیات فیزیکی مانند جرم و ضریب شکست توسط مولکول‌ها است. کوچک سازی هر تکنیکی از مزایای متمایز آن تکنیک است، اما به ندرت این سؤال مطرح می‌شود که چرا یک فناوری باید تا حد ممکن کوچک باشد (۴۷).

نانوساختارها شامل نانوذرات، نانولوله‌ها و نانوسیم‌ها، نانوحفره‌ها، تک‌لایه‌های خودچسب (Self-adhesive monolayers) و نانوکامپوزیت‌ها با مولکول‌های بیولوژیکی مانند پروتئین‌ها و DNA در ابعاد مشترک هستند. بنابراین، ترکیب نانوساختارها با مولکول‌های زیستی منجر به ایجاد یک رابط زیست‌مواد – نانوساختار با خواص و عملکرد مطلوب می‌شود. هدف از تحقیقات گسترده اخیر در زمینه بیوالکتروشیمی، بهره برداری از پتانسیل این فصل مشترک است. استفاده از سیستم های خود چسب مانند تک لایه ها و چند لایه برای طراحی جزء نانوساختار نیز توجه زیادی را به خود جلب کرده است. تک لایه های خود چسب روی طلا بیشتر برای ایجاد اتصالات حسگر استفاده می شوند. یکی از مزایای لایه های خود چسب نسبت به سایر روش های اصلاح سطح، امکان کنترل آسان ضخامت تک لایه با انتخاب مولکول های مناسب است. وجود برهمکنش خاص بین لایه و آنالیت مورد نظر، گزینش پذیری خوب و حساسیت بالا که با استفاده از لایه هایی با گروه های عاملی مناسب ایجاد می شود، از دیگر مزایای این روش اصلاح سطح است (۴۸).

نانوذرات نقش های متفاوتی در ساختار حسگرهای الکتروشیمیایی دارند. این نقش ها در پنج دسته طبقه بندی

می شوند. نانوساختارها در ساخت حسگرها به منظور تثبیت گیرنده، کاتالیزور، بهبود دهنده انتقال الکترون ، برچسب‌گذاری و مشارکت در واکنش‌های تشخیص استفاده می‌شوند (۴۸).

۱- تثبیت مولکول های زیستی با نانوذرات

نانوذرات دارای خواص فیزیکی، الکترونیکی و شیمیایی خاصی هستند که از اندازه آنها ناشی می شود و آنها را از مواد در مقیاس بزرگ متمایز می کند. به دلیل مساحت سطح بزرگ و انرژی بالای سطح آزاد، نانوذرات قادر به جذب قوی مولکول‌های زیستی در سطح خود هستند و نقش مهمی در تثبیت مولکول‌های زیستی در سطح حسگر زیستی دارند. جذب مستقیم مولکول های زیستی بر روی سطح خالی مواد بالک (غیرنانویی) معمولاً منجر به دناتوره شدن و از بین رفتن فعالیت بیولوژیکی بیومولکول می شود. در حالی که جذب چنین مولکول های زیستی روی سطح نانوذرات می تواند فعالیت بیولوژیکی آنها را حفظ کند، این پدیده به دلیل زیست سازگاری نانوذرات است (۴۹). از آنجایی که نانوذرات معمولاً باردار هستند، می‌توانند مولکول‌های زیستی با بار مخالف را جذب الکتریکی کنند. علاوه بر فعل و انفعالات الکترواستاتیکی، روش های دیگری نیز برای اتصال مولکول های زیستی به نانوذرات وجود دارد. افزایش نسبت سطح به حجم، مساحت سطح مولکول های زیستی تثبیت شده را افزایش می دهد، بنابراین حساسیت و میزان سیگنال را افزایش می دهد(۵۰).

۲- کاتالیز واکنش با نانوذرات

نانوذرات به دلیل انرژی بالای سطحی خود نسبت به مواد حجیم فعال تر هستند. فعالیت سطحی بالا باعث می شود که اکثر نانوذرات، به ویژه نانوذرات فلزی، اثرات کاتالیزوری قوی داشته باشند و در اکثر واکنش ها به عنوان کاتالیزور مورد استفاده قرار گیرند. نانوذرات فلزی کاتالیزوری در حسگرهای الکتروشیمیایی پتانسیل اضافی واکنش‌های الکتروشیمیایی را کاهش می‌دهند و برخی از واکنش‌های ردوکس برگشت‌پذیر را روی الکترودهای معمولی اصلاح نشده قابل برگشت می کنند (۴۸, ۵۱).

۳- بود انتقال الکترون با نانوذرات

اتصال الکتریکی پروتئین‌های ردوکس، عمدتا آنزیم‌ها، به سطح الکترود فرآیند مهمی در ساخت حسگرهای زیستی است. از آنجایی که محل‌های فعال پروتئین‌های ردوکس توسط یک پوسته پروتئینی ضخیم و غیر رسانا احاطه شده‌اند، این پروتئین‌ها اتصال الکتریکی به الکترود ندارند، بنابراین انتقال الکترون بین الکترود و محل فعال امکان‌پذیر نیست. خواص رسانایی نانوذرات، عمدتاً نانوذرات فلزی، در مقیاس نانو، آنها را به محیطی مفید در افزایش انتقال الکترون بین الکترود و مرکز فعال تبدیل می کند (۴۸, ۵۲).

٤- برچسب گذاری بیومولکول‌ها با نانوذرات

برچسب گذاری بیومولکول هایی مانند آنتی ژن ها، آنتی بادی ها و DNA توسط نانوذرات نقش مهم و فزاینده ای در توسعه حسگرهای زیستی ایفا می کند. بیومولکول های برچسب گذاری شده توسط نانوذرات فعالیت بیولوژیکی خود را حفظ می کنند. پس از اتصال بین گیرنده آنالیت و تشخیص نانوذرات، غلظت آنالیت تعیین می شود(۵۳, ۵۴).

۵- نانوذرات به عنوان واکنش دهنده

نانوذرات با انرژی سطحی بالا نسبت به مواد بالک فعال تر هستند و در برخی موارد خواص شیمیایی متفاوتی از خود نشان می دهند. برخی از سیستم‌های جدید تجزیه الکتروشیمیایی مبتنی بر این مزیت نانوساختارها هستند(۵۵).

مولکول‌های زیست شناختی مورد استفاده در زیست‌حسگرهای ویروسی

زیست‌حسگرها باید تشخیص سریع، اختصاصی و حساس را برای بیماری‌های ویروسی ارائه دهند (۵۶). دقت طراحی و عملکرد زیست‌حسگر باعث بهبود میل ترکیبی، انتخابیت و اختصاصیت آن می شود، که می‌تواند موفقیت یا عدم

موفقیت کل فناوری تشخیص را تعیین کند. بنابراین، ارزیابی اینکه کدام عنصر شناساگر زیستی برای تشخیص یک پاتوژن هدف استفاده شود، دشوار است (۵۶, ۵۷). دو استراتژی زیست شناختی اصلی وجود دارد: شناسایی توالی نوکلئیک اسید ویروسی (۵۶) و تشخیص بیومولکول‌های ویروسی اختصاصی مانند پروتئین / آنتی ژن سطح (۴۰, ۵۸). زیست-حسگرهای مبتنی بر فناوری نانو پس از نشانگذاری نوکلئیک اسید، آنتی‌بادی یا سایر مولکول‌های اختصاصی با میل ترکیبی به ساختار هدف، اختصاصیت و حساسیت بالایی را نشان می‌دهند (۵۹).

۱- نوکلئیک اسید

زیست‌حسگرهای مبتنی بر نوکلئیک اسیدها از موضوعات پر مخاطب است و وعده‌های بزرگی برای تشخیص بالینی داشته است(۶۰). در دو دهه گذشته شاهد توسعه زیست‌حسگرهای نوکلئیک اسید مختلف بر اساس روش‌های مختلف تشخیصی از جمله نوری، الکتروشیمیایی، الکتروکمی لومینسانس، ریزترازوی کریستالی کوارتز و تکنیک‌های رزونانس پلاسمون سطح بوده‌ایم (۶۱). به‌طور کلی، تشخیص مبتنی بر نوکلئیک اسیدها از تشخیص مبتنی بر ایمونولوژیک اختصاصی‌تر و حساس‌تر است، در حالی که تشخیص مبتنی بر ایمونولوژیک سریع‌تر و قوی‌تر است (۶۲). برای تولید یا تقویت سیگنال، این پروب را می‌توان با انواع مولکول‌های مختلف ازجمله مواد الکترواکتیو، فلوروفورها، رادیوایزوتوپ‌ها، آنزیم‌ها و اخیراً هاپتن‌ها نیز برچسب-گذاری کرد (۵۶). زیست‌حسگرهای هیبریدی پتانسیل بالاتری در بدست آوردن حساسیت و انتخابیت نسبت به روش‌های مرسوم دارند. با کنترل توزیع و جهت‌گیری پروب‌ها بر روی سطح مبدل می‌توان کارآیی بهینه هیبریداسیون را بدست آورد (۶۰). امروزه استفاده از نانومواد برای ساخت مبدل‌ها بیشتر مورد توجه قرار گرفته است. کوانتوم‌دات ها، نانولوله‌ها، نانوسیم‌ها، نانوذرات، ذرات مغناطیسی و اخیراً نانوپیلارها (Nanopillar) جذاب‌ترین مبدل‌های سیگنال هستند. کاربردهای فناوری نانو، با خصوصیات منحصر به فرد برای ساخت زیست‌حسگرهای جدید، به‌طور مداوم توسط تحقیقات گسترش می‌یابند (۶۱).

۲- آنتی‌ژن‌ها / پروتئین‌های اختصاصی / گیرنده ها

عفونت‌های ویروسی اغلب با علائم عمومی، نه اختصاصی همراه هستند، بنابراین منشاء آن‌ها به سختی تشخیص داده می‌شود (۶۳). وجود آنتی‌بادی‌ها و آنتی‌ژن‌های اختصاصی، تشخیص پاتوژن اختصاصی ویروسی را امکان پذیر می‌کند و امکان شروع درمان مناسب را فراهم می‌کند. آنتی‌بادی‌ها یکی از مؤثرترین عناصر زیست‌شناختی برای ساخت زیست-حسگرها هستند و در پاسخ به حضور مولکول‌ها و ارگانیسم-های خارجی توسط میزبان تولید می‌شود (۶۴).

بازار تشخیص مبتنی بر آنتی‌بادی هنوز در حال رشد است؛ بنابراین یک روش تشخیصی ایمونولوژی جدید، سریع و دقیق لازم است. تا به امروز، چندین استراتژی برای "زیست-حسگرهای بدون معرف" بر اساس آنتی‌بادی‌ها و پروتئین-های متصل شونده طبیعی یا مهندسی شده، شرح داده شده است (۶۵). آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال در گذشته استفاده می-شدند، اما اخیرا، آن‌ها توسط آنتی‌بادی‌های مونوکلونال با میل ترکیبی بالا جایگزین شده‌اند (۶۶).

پپتیدها (اسیدهای آمینه پلیمری) به‌طور اختصاصی می‌توانند به پروتئین‌های ویروسی یا آنتی‌بادی‌ها متصل شوند. این پپتیدهای کوتاه می‌توانند توسط نمایش فاژی طراحی و سنتز شوند. فاژها با توانایی شناسایی بالا برای ساخت زیست-حسگرها استفاده می‌شوند. روش دیگر تشخیص ویروسی بر اساس، برهم‌کنش پروتئین-گلیکان استوار است که در چندین فرآیند بیولوژیکی از اهمیت بالایی برخوردار است (۶۷).

انواع باقی مانده‌های (Residues) اسکلت کربوهیدراتی (کدهای-گلیکول) نقش اساسی برای ایجاد ابزارهای تشخیص با میل ترکیبی بالا و اختصاصی را در تعاملات به اصطلاح قفل و کلیدی بازی می کنند. این تعاملات و واکنش ها در طیف گسترده ای از پاتولوژی وجود دارد و رویکرد بسیار جدیدی را برای طراحی و سنتز گیرنده‌های مصنوعی

(گیرنده‌های قالب های مولکولی) ارائه می‌دهد. آن‌ها قادر به شناسایی و اتصال به مولکول‌های هدف مختلف با میل ترکیبی بالا و اختصاصیت در مقایسه با همتایان بیولوژیکی هستند. از مزایای آن می‌توان به پایداری طولانی مدت، قابلیت استفاده مجدد، مقاومت در برابر فساد میکروبی و سنتز مرسوم بدون نیاز به تلقیح حیوانات آزمایشگاهی و هم‌چنین ادغام آسان با مبدل‌ها اشاره کرد (۶۸).

بکارگیری زیست‌حسگرها در شناسایی چند ویروس مهم انسانی

ویروسها انواع گسترده‌ای از خانواده‌های ویروس وجود دارد که به بیماری‌های مختلف انسانی مربوط می‌شوند، برای مثال هرپس ویروس‌ها (Herpesviridae)، پاروویروس‌ها (Parvoviridae) و آدنوویروس‌ها که DNA ویروس هستند و رتروویروس (Retroviridae)، آسترو ویروس‌ها و رابدو ویروس‌ها (Rhabdoviridae) که RNA ویروس هستند (۸, ۶۹-۷۱).

ویروس نقص ایمنی انسان یک رتروویروس است و عضوی از جنس لنتی ویروس ها (Lentivirus) است. در این ویروس‌ها بین شروع عفونت و ظهور علائم بازه زمانی وجود داد. ویروس نقص ایمنی سلول‌های T (CD4+) را آلوده می‌کند و به سرعت شروع به تکثیر می‌کند و وارد جریان خون می‌شود (۷۲). مرحله آخر عفونت، سندرم نقص ایمنی (ایدز) ایجاد می‌شود، که یکی از مهم‌ترین مشکلات بهداشت عمومی است. براساس آمار سازمان بهداشت جهانی، تاکنون بیش از ۳۵ میلیون نفر به HIV مبتلا شده اند، در سال ۲۰۱۷، ۹۴۰۰۰۰ نفر در جهان در اثر ایدز درگذشته‌اند (۵). نانوزیست‌حسگرهای حساس و با اختصاصیت بالا برای تشخیص ویروس نقص ایمنی انسان ضروری است. دو نوع ویروس HIV وجود دارد، که HIV-1 شایع ترین نوع برای ایجاد بیماری است. اخیرا نانوزیست‌حسگرهایی برای شناسایی ویروس HIV-1 مورد مطالعه قرار گرفته اند از جمله نانوزیست‌حسگرهای الکتروشیمیایی (۷۳)،پیزوالکتریک (۷۴)و نوری (۷۵).

هپاتیت B یکی از مهم‌ترین عفونت‌های بشریت است که تخمین زده می‌شود حدود ۸۰۰۰۰۰ کشته برای هر سال داشته باشد، که بیشتر با سیروز کبدی و رشد تومور بدخیم در کبد مرتبط است. تقریباً ۱۵-۴۰٪ از بیماران آلوده به نارسایی کبد، سیروز کبدی و سرطان کبدی مبتلا هستند و ۱۵-۲۵٪ سرانجام خواهند مرد (۷۶). از دهه ۱۹۴۰ این موضوع که نمونه‌های خون و پلاسما ممکن است حاوی ویروسی باشند که باعث هپاتیت موقت و مزمن می‌شود، مطرح شد (۷۷). اهمیت روز افزون تشخیص بی نقص این ویروس غیر قابل انکار است. از جمله نانوزیست‌حسگرهای ارائه شده برای شناسایی این ویروس شامل انواع الکتروشیمیایی (۸۰-۷۸) و نوری (۸۳-۸۱) است.

عفونت ابولا باعث بیماری شدید در انسان می‌شوند. بیماران قبل از پیشرفت سریع بیماری، اثرات جانبی آنفلوانزا مانند، نارسایی اندام‌های متعدد، خونریزی و سندرم شوک مانند را پس از دوره نهفتگی (۳-۲۱ روز) نشان می‌دهند (۸۴). بزرگ‌ترین شیوع عفونت ویروس ابولا، با ۱۵۹۳۵ بیمار و ۵۶۸۹ فوت در سال ۲۰۱۴ گزارش شده است (۸۵). از جمله زیست‌حسگرهای موفق برای شناسایی ویروس ابولا انواع الکتروشیمیایی (۸۶) و نوری (۸۷, ۸۸) است.

زیکا ویروسی است که از پشه به انسان منتقل می‌شود و اولین بار در اوگاندا شناسایی شد. قبل از سال ۲۰۰۷، فقط موارد پراکنده‌ای از بیماری در کشورهای آفریقایی و آسیایی مشاهده شد. اولین شیوع از عفونت ویروس زیکا در ایالات فدرال میکرونزی در سال ۲۰۰۷ گزارش شد (۸۹). ظهور بیماری‌های عفونی، از جمله شیوع ویروس ابولا در غرب آفریقا و بیماری اپیدمی ویروس زیکا در نیمکره غربی، نیاز به تشخیص سریع و ساده را تجدید کرده است (۹۰). در شناسایی این ویروس به کمک زیست‌حسگرها از انواع الکتروشیمیایی (۹۱, ۹۲) و نوری (۹۳) بهره گرفته شده است.

نورو ویروس، یک پاتوژن روده انسان است که باعث ایجاد بیماری می‌شود. نورو ویروس عامل ایجاد کننده بیماری‌های گوارشی مسری است و باعث التهاب معده و دیواره روده

بزرگ می‌شود (۹۴). آلودگی به نورو ویروس به‌طور کلی با آب یا مواد غذایی آلوده اتفاق می‌افتد و عفونت می‌واند به راحتی از راه مدفوع یا دهان از فردی به فرد دیگری گسترش یابد (۹۵). مهم‌ترین دلیل شیوع بیماری حاد گوارشی در سراسر جهان نورو ویروس‌ها هستند (۹۶). در این ویروس نیز تشخیص به کمک زیست‌حسگرها با روش الکتروشیمیایی (۹۷) و نوری (۹۸, ۹۹) گزارش شده است.

آنفلوانزا بیماری عفونی ویروسی و یکی از مسائل حساس در علم پزشکی است و بار مالی بسیار زیادی برای آن صرف می‌شود (۱۰۰). تکنیک‌های مرسوم برای تشخیص عفونت‌ها دارای نقایص زیادی هستند، به‌طور کلی دشوار بودن روش‌ها و وقت گیربودن آن‌ها مشکل ساز است. بر این اساس، تحقیقات با هدف بهبود روش‌های جایگزین به جای روش‌های مرسوم ضروری است (۱۰۱). از جمله زیست‌حسگرهای توسعه داده شده برای تشخیص این ویروس انواع الکتروشیمیایی (۱۰۲-۱۰۴) و نوری (۱۰۵, ۱۰۶) می باشد.

تب دنگی که با ظهور دوباره آن بیش از ۲,۵ میلیارد نفر که در معرض خطر عفونت هستند و بیش از ۱۰۰ میلیون بیمار در سال و ۲۵۰۰۰ مرگ و میر یکی از مهم‌ترین چالش‌های سلامت عمومی در سراسر جهان است (۱۰۵). تب دنگی از خانواده فلاوی ویروس‌ها از ویروس‌های RNA تک رشته‌ای با قطبیت مثبت و پوشش‌دار هستند. اکثر موارد آلودگی با ویروس دنگی منجر به عفونت بالینی می‌گردد که این میزان می‌تواند از ۴۰ تا ۸۰ درصد متغییر باشد. موارد علامت دار قبلا به سه دسته تب دنگی، تب خونریزی دهنده دنگی و سندروم شوک دنگی تقسیم می‌شد، اما امروزه به دو فرم کلاسیک دنگی و دنگی شدید طبقه‌بندی می‌شود (۱۰۷). تشخیص IgM و گلیکوپروتئین NS دنگی بر اساس آزمایشات تشخیصی سریع و روش‌های ELISA، روش‌های متداول تشخیص دنگی در بسیاری از کشورها هستند. به همین دلیل، بسیاری از محققان زیست‌حسگرها را به‌عنوان یک فناوری جدید جایگزین برای تشخیص ویروس دنگی گسترش دادند، این روش دارای چندین مزیت مانند حساسیت بالاتر، کاهش وزن، ساخت ساده، کوچک سازی، تجزیه و تحلیل کمی و نظارت در محل آزمایش است (۱۰۸). در مطالعاتی از زیست-حسگرهای انواع الکتروشیمیایی (۱۱۱-۱۰۹) و نوری (۱۱۲) برای تشخیص این ویروس بهره گرفته اند.

نتیجه گیری

ویروس ها از آنجا که سلول های میزبان را آلوده می کنند و باعث بیماری های شدید مانند آنفلوانزا ، هپاتیت، ایدز، کووید ۱۹، دنگ و بسیاری دیگر می شوند ، به یک مشکل بزرگ در تمدن بشری تبدیل شده اند. بنابراین، بسیاری از سیستم های هشدار دهنده برای شناسایی ابتلا به عفونت‌ها ایجاد شده‌اند، اما با ظهور عصر فناوری نانو که دارای ویژگی‌های نوری، الکتریکی، مغناطیسی و الکتروشیمیایی است، شناسایی دقیق این ویروس ها انجام شده است.

همانطور که پیشتر اشاره شد، در شناسایی نشانگرهای زیستی پزشکی ، روشهای مختلفی به کار گرفته می شود ، برخی قدیمی و برخی دیگری بسیار جدید هستند. در یک آزمایشگاه ممکن است بسته به ماهیت ویروس و فناوری های موجود از هر یک از این تحقیقات استفاده کنند. جداسازی ویروس از کشت سلولی، روش ایمونوفلورسانس و تکنیک های مولکولی برای تعیین اسید نوکلئیک ، همه با موفقیت برای شناسایی ویروس ها استفاده شده است. از طرف دیگر ، متداولترین روشهای کمی سازی ویروسها را می توان به سه دسته وسیع تر تقسیم کرد، مانند تکنیک های اندازه گیری عفونت ویروسی (روش پلاک ویروسی ، TCID50 و روش کانونی ایمونوفلورسانس) ، اندازه گیری پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک ویروسی (qPCR ، لکه گذاری ایمنی، رسوب ایمنی ، الایزا و روش همگلوتیناسیون) و مواردی که به شمارش مستقیم ذرات ویروسی (فلوسایتومتری ویروسی و میکروسکوپ الکترونی عبوری) متکی هستند.

از آنجا که هر یک از این روشهای تعیین شده دارای محدودیتهای متعددی هستند ، بنابراین استفاده از نانوزیست-حسگرها با خصوصیات منحصر به فردشان، برای غلبه بر محدودیتهای آنها توسعه یافته است. نانوزیست‌حسگرها می

توانند نسبت به سایر روشها حساس تر، دقیق تر، سریع تر و کاربرپسندتر باشند. فناوری های نانو برای غلبه بر برخوردها و دستیابی به تشخیص مستقیم اهداف مولکولی در زمان واقعی ، راه حل های جدیدی را پیشنهاد داده است. جدا از مزایای اصلی، باید در انتخاب دقیق نانومواد و روشهای تثبیت آنها نیز تلاش شود. مسئله مهم دیگر این است که دستگاه باید ماهیتی قابل حمل و قابل استفاده مجدد داشته باشد و توانایی تشخیص اهداف ویروسی را از سایر عناصر با انتخاب و حساسیت بالا داشته باشد. ظهور فناوری نانو چشم اندازهای جدیدی را برای بهبود حسگرهای نانو و دستگاه های نانوپروب با ابعاد میکرون منتشر کرده است. این روش نوین تشخیصی ویروس ها در حال تغییر دادن به حوزه میکروبیولوژی بالینی است و می تواند به کاهش جدی شیوع بیماریهای عفونی کمک کند. پیشرفت های اخیر در حسگرهای زیستی با حساسیت، ویژگی و ثبات بالا باعث افزایش تجاری سازی و کاربرد بیش از بیش آنها در حوزه تشخیص شده است.

References

1. Wang H, Naghavi M, Allen C, Barber RM, Bhutta ZA, Carter A, et al. Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. The lancet. 2016;388(10053):1459-544.
2. Hessling M, Feiertag J, Hoenes K. Pathogens provoking most deaths worldwide: a review. Biosci Biotech Res Comm. 2017;10(2):1-7.
3. Drijvers JM, Awan IM, Perugino CA, Rosenberg IM, Pillai S. The Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: The Application of ELISA in Clinical Research. Basic Science Methods for Clinical Researchers: Elsevier; 2017. p. 119-33.
4. Souf S. Recent advances in diagnostic testing for viral infections. Bioscience Horizons: The International Journal of Student Research. 2016;9.
5. WHO. HIV/AIDS: World Health Organization; 2019 [Available from: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hiv-aids.
6. Chan YK, Gack MU. Viral evasion of intracellular DNA and RNA sensing. Nature Reviews Microbiology. 2016;14(6):360.
7. Saylan Y, Denizli A. Virus detection using nanosensors. Nanosensors for Smart Cities: Elsevier; 2020. p. 501-11.
8. Kaya SI, Karadurmus L, Ozcelikay G, Bakirhan NK, Ozkan SA. Electrochemical virus detections with nanobiosensors. Nanosensors for Smart Cities: Elsevier; 2020. p. 303-26.
9. Oldstone M. History of Virology. 2014.
10. Cabral DG, Lima EC, Moura P, Dutra RF. A label-free electrochemical immunosensor for hepatitis B based on hyaluronic acid–carbon nanotube hybrid film. Talanta. 2016;148:209-15.
11. Haji-Hashemi H, Norouzi P, Safarnejad MR, Ganjali MR. Label-free electrochemical immunosensor for direct detection of Citrus tristeza virus using modified gold electrode. Sensors and Actuators B: Chemical. 2017;244:211-6.
12. Guo Y, Duan M, Wang X, Gao J, Guan Z, Zhang M. Early events in rabies virus infection—Attachment, entry, and intracellular trafficking. Virus research. 2019.
13. Geme Jr JWS. Seminars in Virology: A Biological Perspective of Slow Virus Infection and Chronic Disease. Western Journal of Medicine. 1978;128(5):382.
14. Champaign U. Polymerase Chain Reaction. Brenner's Encyclopedia of Genetics. 2013;5(3):392-5.
15. Pallas V, Sanchez-Navarro J, Varga A, Aparicio F, James D. Multiplex polymerase chain reaction (PCR) and real-time multiplex PCR for the simultaneous detection of plant viruses. Plant Pathology: Springer; 2009. p. 193-208.
16. Corthell JT. Basic Molecular Protocols in Neuroscience: Tips, Tricks, and Pitfalls: Academic Press; 2014.

17. Lee TI, Johnstone SE, Young RA. Chromatin immunoprecipitation and microarray-based analysis of protein location. Nature protocols. 2006;1(2):729.
18. Seo J-K, Kang M, Phan MSV, Kim K-H. Rapid purification of Soybean mosaic virus from small quantities of tissue by immunoprecipitation. Journal of virological methods. 2013;191(1):31-2.
19. González-Martínez MÁ, Puchades R, Maquieira Á. Immunoanalytical technique: enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Modern Techniques for Food Authentication: Elsevier; 2018. p. 617-57.
20. Burleson FG, Chambers TM, Wiedbrauk DL. Virology: a laboratory manual: Elsevier; 2014.
21. Delmonte OM, Fleisher TA. Flow cytometry: surface markers and beyond. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2019;143(2):528-37.
22. Zamora JLR, Aguilar HC. Flow virometry as a tool to study viruses. Methods. 2018;134:87-97.
23. Vázquez D, López-Vázquez C, Olveira JG, Bandín I, Dopazo CP. Quantitative Flow Cytometry to Measure Viral Production Using Infectious Pancreatic Necrosis Virus as a Model: A Preliminary Study. Applied Sciences. 2018;8(10):1734.
24. Malenovska H. Virus quantitation by transmission electron microscopy, TCID50, and the role of timing virus harvesting: A case study of three animal viruses. Journal of virological methods. 2013;191(2):136-40.
25. Roingeard P. Viral detection by electron microscopy: past, present and future. Biology of the Cell. 2008;100(8):491-501.
26. Hematian A, Sadeghifard N, Mohebi R, Taherikalani M, Nasrolahi A, Amraei M, et al. Traditional and modern cell culture in virus diagnosis. Osong public health and research perspectives. 2016;7(2):77-82.
27. A. Hogan C, Caya C, Papenburg J. Rapid and simple molecular tests for the detection of respiratory syncytial virus: a review. Expert review of molecular diagnostics. 2018;18(7):617-29.
28. Tepeli Y, Ülkü A. Electrochemical biosensors for influenza virus a detection: The potential of adaptation of these devices to POC systems. Sensors and Actuators B: Chemical. 2018;254:377-84.
29. Anik Ü, Tepeli Y, Sayhi M, Nsiri J, Diouani MF. Towards the electrochemical diagnostic of influenza virus: development of a graphene–Au hybrid nanocomposite modified influenza virus biosensor based on neuraminidase activity. Analyst. 2018;143(1):150-6.
30. Dridi F, Marrakchi M, Gargouri M, Saulnier J, Jaffrezic-Renault N, Lagarde F. Nanomaterial-based electrochemical biosensors for food safety and quality assessment. Nanobiosensors: Elsevier; 2017. p. 167-204.
31. Sobiepanek A, Kobiela T. Application of biosensors in cancer research. Review and Research on Cancer Treatment. 2018;4(1):4-12.
32. Song M, Yang M, Hao J. Pathogenic virus detection by optical nanobiosensors. Cell Reports Physical Science. 2021;2(1):100288.
33. Romero MR, Picchio ML. Biosensors based on nanomaterials: transducers and modified surfaces for diagnostics. Nanobiomaterial Engineering: Springer; 2020. p. 15-47.
34. Fu X, Chen L, Choo J. Optical nanoprobes for ultrasensitive immunoassay. Analytical chemistry. 2017;89(1):124-37.
35. Lee S, Hyun Lee J, Kim M, Kim J, Song M-J, Jung H-I, et al. Bi nanowire-based thermal biosensor for the detection of salivary cortisol using the Thomson effect. Applied Physics Letters. 2013;103(14):143114.
36. Haun JB, Yoon TJ, Lee H, Weissleder R. Magnetic nanoparticle biosensors. Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology. 2010;2(3):291-304.
37. Rocha-Santos TA. Sensors and biosensors based on magnetic nanoparticles. TrAC Trends in Analytical Chemistry. 2014;62:28-36.
38. Feng M, Zhang X. Immunity to avian leukosis virus: where are we now and what should we do? Frontiers in immunology. 2016;7:624.
39. Srivastava AK, Dev A, Karmakar S. Nanosensors and nanobiosensors in food and agriculture. Environmental chemistry letters. 2018;16(1):161-82.

40. Dehghani Z, Mohammadnejad J, Hosseini M, Rezayan AH. Whole cell FRET immunosensor based on graphene oxide and graphene dot for Campylobacter jejuni detection. Food chemistry. 2020;309:125690.
41. Attaallah R, Antonacci A, Arduini F, Amine A, Scognamiglio V. Nanobiosensors for Bioclinical Applications: Pros and Cons. Green Nanoparticles: Springer; 2020. p. 117-49.
42. Bagdeli S, Rezayan AH, Taheri RA, Kamali M, Hosseini M. FRET-based immunoassay using CdTe and AuNPs for the detection of OmpW antigen of Vibrio cholerae. Journal of Luminescence. 2017;192:932-9.
43. Nikfarjam A, Rezayan AH, Mohammadkhani G, Mohammadnejad J. Label-free detection of digoxin using localized surface plasmon resonance-based nanobiosensor. Plasmonics. 2017;12(1):157-64.
44. Taheri R, Rezayan A, Rahimi F, MOHAMMADNEZHAD J, Kamali M, Saberi F. APPLICATION OF SURFACE PLASMON RESONANCE (SPR) SENSORS FOR DETECTIONOF VIBRIO CHOLERA. 2015.
45. Taheri RA, Rezayan AH, Rahimi F, Mohammadnejad J, Kamali M. Development of an immunosensor using oriented immobilized anti-OmpW for sensitive detection of Vibrio cholerae by surface plasmon resonance. Biosensors and Bioelectronics. 2016;86:484-8.
46. Taheri RA, Rezayan AH, Rahimi F, Mohammadnejad J, Kamali M. Evaluating the potential of an antibody against recombinant OmpW antigen in detection of Vibrio cholerae by surface plasmon resonance (SPR) biosensor. Plasmonics. 2017;12(5):1493-504.
47. Vijayan AL, Ravindran S, Saikant R, Lakshmi S, Kartik R. Procalcitonin: a promising diagnostic marker for sepsis and antibiotic therapy. Journal of intensive care. 2017;5(1):51.
48. Luo X, Morrin A, Killard AJ, Smyth MR. Application of nanoparticles in electrochemical sensors and biosensors. Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis. 2006;18(4):319-26.
49. Kianfar M, Kianfar F, Kianfar E. The effect of nano-composites on the mechanic and morphological characteristics of NBR/PA6 blends. American Journal of Oil and Chemical Technologies: Volume. 2016;4(1).
50. Li W, Kuai L, Qin Q, Geng B. Ag–Au bimetallic nanostructures: co-reduction synthesis and their component-dependent performance for enzyme-free H 2 O 2 sensing. Journal of Materials Chemistry A. 2013;1(24):7111-7.
51. Khan SB, Faisal M, Rahman MM, Jamal A. Exploration of CeO2 nanoparticles as a chemi-sensor and photo-catalyst for environmental applications. Science of the total Environment. 2011;409(15):2987-92.
52. Maduraiveeran G, Kundu M, Sasidharan M. Electrochemical detection of hydrogen peroxide based on silver nanoparticles via amplified electron transfer process. Journal of materials science. 2018;53(11):8328-38.
53. Li G, Wang SX, Sun S. Model and experiment of detecting multiple magnetic nanoparticles as biomolecular labels by spin valve sensors. IEEE transactions on magnetics. 2004;40(4):3000-2.
54. Tansil NC, Gao Z. Nanoparticles in biomolecular detection. Nano Today. 2006;1(1):28-37.
55. Xu J-J, Zhao W, Luo X-L, Chen H-Y. A sensitive biosensor for lactate based on layer-by-layer assembling MnO 2 nanoparticles and lactate oxidase on ion-sensitive field-effect transistors. Chemical Communications. 2005(6):792-4.
56. Dai Tran L, Nguyen BH, Van Hieu N, Tran HV, Le Nguyen H, Nguyen PX. Electrochemical detection of short HIV sequences on chitosan/Fe3O4 nanoparticle based screen printed electrodes. Materials Science and Engineering: C. 2011;31(2):477-85.
57. Esfandyarpour R, Esfandyarpour H, Harris JS, Davis RW. Simulation and fabrication of a new novel 3D injectable biosensor for high throughput genomics and proteomics in a lab-on-a-chip device. Nanotechnology. 2013;24(46):465301.
58. Krejcova L, Nejdl L, Hynek D, Krizkova S, Kopel P, Adam V, et al. Beads-based electrochemical assay for the detection of influenza hemagglutinin labeled with CdTe quantum dots. Molecules. 2013;18(12):15573-86.

59. Yao C-Y, Fu W-L. Biosensors for hepatitis B virus detection. World Journal of Gastroenterology: WJG. 2014;20(35):12485.
60. Gao W, Zhang A, Chen Y, Chen Z, Chen Y, Lu F, et al. A novel probe density controllable electrochemiluminescence biosensor for ultra-sensitive detection of Hg2+ based on DNA hybridization optimization with gold nanoparticles array patterned self-assembly platform. Biosensors and Bioelectronics. 2013;49:139-45.
61. Krejcova L, Michalek P, Rodrigo MM, Heger Z, Krizkova S, Vaculovicova M, et al. Nanoscale virus biosensors: state of the art. Nanobiosensors in Disease Diagnosis. 2015;4:47-66.
62. Qasim M, Lim D-J, Park H, Na D. Nanotechnology for diagnosis and treatment of infectious diseases. Journal of nanoscience and nanotechnology. 2014;14(10):7374-87.
63. Kirsch J, Siltanen C, Zhou Q, Revzin A, Simonian A. Biosensor technology: recent advances in threat agent detection and medicine. Chemical Society Reviews. 2013;42(22):8733-68.
64. Buchapudi KR, Huang X, Yang X, Ji H-F, Thundat T. Microcantilever biosensors for chemicals and bioorganisms. Analyst. 2011;136(8):1539-56.
65. Ueda H, Dong J. From fluorescence polarization to Quenchbody: Recent progress in fluorescent reagentless biosensors based on antibody and other binding proteins. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics. 2014;1844(11):1951-9.
66. Holliger P, Hudson PJ. Engineered antibody fragments and the rise of single domains. Nature biotechnology. 2005;23(9):1126-36.
67. Su W, Cho M, Nam J-D, Choe W-S, Lee Y. Highly sensitive electrochemical lead ion sensor harnessing peptide probe molecules on porous gold electrodes. Biosensors and Bioelectronics. 2013;48:263-9.
68. Chabre YM, Roy R. Multivalent glycoconjugate syntheses and applications using aromatic scaffolds. Chemical Society Reviews. 2013;42(11):4657-708.
69. : Swiss Institute of Bioinformatics; [Available from: https://viralzone.expasy.org/resources/Virus%5Fsize.png.
70. Artasensi A, Mazzotta S, Fumagalli L. Back to Basics: Choosing the Appropriate Surface Disinfectant. Antibiotics. 2021;10(6):613.
71. Mousavizadeh L, Ghasemi S. Genotype and phenotype of COVID-19: Their roles in pathogenesis. Journal of Microbiology, Immunology and Infection. 2021;54(2):159-63.
72. Inci F, Tokel O, Wang S, Gurkan UA, Tasoglu S, Kuritzkes DR, et al. Nanoplasmonic quantitative detection of intact viruses from unprocessed whole blood. ACS nano. 2013;7(6):4733-45.
73. Babamiri B, Salimi A, Hallaj R. A molecularly imprinted electrochemiluminescence sensor for ultrasensitive HIV-1 gene detection using EuS nanocrystals as luminophore. Biosensors and Bioelectronics. 2018;117:332-9.
74. Lu C-H, Zhang Y, Tang S-F, Fang Z-B, Yang H-H, Chen X, et al. Sensing HIV related protein using epitope imprinted hydrophilic polymer coated quartz crystal microbalance. Biosensors and Bioelectronics. 2012;31(1):439-44.
75. Shafiee H, Lidstone EA, Jahangir M, Inci F, Hanhauser E, Henrich TJ, et al. Nanostructured optical photonic crystal biosensor for HIV viral load measurement. Scientific reports. 2014;4:4116.
76. Lavanchy D, Kane M. Global epidemiology of hepatitis B virus infection. Hepatitis B virus in human diseases: Springer; 2016. p. 187-203.
77. Seeger C, Mason WS. Molecular biology of hepatitis B virus infection. Virology. 2015;479:672-86.
78. Hassen WM, Chaix C, Abdelghani A, Bessueille F, Leonard D, Jaffrezic-Renault N. An impedimetric DNA sensor based on functionalized magnetic nanoparticles for HIV and HBV detection. Sensors and Actuators B: Chemical. 2008;134(2):755-60.
79. İstek MM, Erdem MM, Gürsan AE. Impedimetric nanobiosensor for the detection of sequence-selective DNA hybridization. Hacettepe Journal of Biology and Chemistry. 2019;46(4):495-503.
80. Li X, Scida K, Crooks RM. Detection of hepatitis B virus DNA with a paper electrochemical sensor. Analytical chemistry. 2015;87(17):9009-15.

81. Liu Y, Shen T, Hu L, Gong H, Chen C, Chen X, et al. Development of a thermosensitive molecularly imprinted polymer resonance light scattering sensor for rapid and highly selective detection of hepatitis A virus in vitro. Sensors and Actuators B: Chemical. 2017;253:1188-93.
82. Uzun L, Say R, Ünal S, Denizli A. Production of surface plasmon resonance based assay kit for hepatitis diagnosis. Biosensors and Bioelectronics. 2009;24(9):2878-84.
83. Zengin A, Tamer U, Caykara T. SERS detection of hepatitis B virus DNA in a temperature-responsive sandwich-hybridization assay. Journal of Raman Spectroscopy. 2017;48(5):668-72.
84. Qiu X, Wong G, Audet J, Bello A, Fernando L, Alimonti JB, et al. Reversion of advanced Ebola virus disease in nonhuman primates with ZMapp. Nature. 2014;514(7520):47-53.
85. Kreil TR. Treatment of Ebola virus infection with antibodies from reconvalescent donors. Emerging infectious diseases. 2015;21(3):521.
86. Ilkhani H, Farhad S. A novel electrochemical DNA biosensor for Ebola virus detection. Analytical biochemistry. 2018;557:151-5.
87. Cai H, Parks J, Wall T, Stott M, Stambaugh A, Alfson K, et al. Optofluidic analysis system for amplification-free, direct detection of Ebola infection. Scientific reports. 2015;5:14494.
88. Yanik AA, Huang M, Kamohara O, Artar A, Geisbert TW, Connor JH, et al. An optofluidic nanoplasmonic biosensor for direct detection of live viruses from biological media. Nano letters. 2010;10(12):4962-9.
89. Hennessey M, Fischer M, Staples JE. Zika virus spreads to new areas—region of the Americas, May 2015–January 2016. American Journal of Transplantation. 2016;16(3):1031-4.
90. Meagher RJ, Negrete OA, Van Rompay KK. Engineering paper-based sensors for Zika virus. Trends in molecular medicine. 2016;22(7):529-30.
91. Afsahi S, Lerner MB, Goldstein JM, Lee J, Tang X, Bagarozzi Jr DA, et al. Novel graphene-based biosensor for early detection of Zika virus infection. Biosensors and Bioelectronics. 2018;100:85-8.
92. Kaushik A, Yndart A, Kumar S, Jayant RD, Vashist A, Brown AN, et al. A sensitive electrochemical immunosensor for label-free detection of Zika-virus protein. Scientific reports. 2018;8(1):1-5.
93. Song J, Mauk MG, Hackett BA, Cherry S, Bau HH, Liu C. Instrument-free point-of-care molecular detection of Zika virus. Analytical chemistry. 2016;88(14):7289-94.
94. Robilotti E, Deresinski S, Pinsky BA. Norovirus. Clinical microbiology reviews. 2015;28(1):134-64.
95. Hwang HJ, Ryu MY, Park CY, Ahn J, Park HG, Choi C, et al. High sensitive and selective electrochemical biosensor: Label-free detection of human norovirus using affinity peptide as molecular binder. Biosensors and Bioelectronics. 2017;87:164-70.
96. Bierhoff M, Arvelo W, Estevez A, Bryan J, McCracken JP, López MR, et al. Incidence and clinical profile of norovirus disease in Guatemala, 2008–2013. Clinical Infectious Diseases. 2018;67(3):430-6.
97. Lee J, Morita M, Takemura K, Park EY. A multi-functional gold/iron-oxide nanoparticle-CNT hybrid nanomaterial as virus DNA sensing platform. Biosensors and Bioelectronics. 2018;102:425-31.
98. Ashiba H, Sugiyama Y, Wang X, Shirato H, Higo-Moriguchi K, Taniguchi K, et al. Detection of norovirus virus-like particles using a surface plasmon resonance-assisted fluoroimmunosensor optimized for quantum dot fluorescent labels. Biosensors and Bioelectronics. 2017;93:260-6.
99. Weerathunge P, Ramanathan R, Torok VA, Hodgson K, Xu Y, Goodacre R, et al. Ultrasensitive colorimetric detection of murine norovirus using NanoZyme aptasensor. Analytical chemistry. 2019;91(5):3270-6.
100. Krammer F, Palese P. Advances in the development of influenza virus vaccines. Nature reviews Drug discovery. 2015;14(3):167-82.
101. Moulick A, Richtera L, Milosavljevic V, Cernei N, Haddad Y, Zitka O, et al. Advanced nanotechnologies in avian influenza: current status and future trends–a review. Analytica chimica acta. 2017;983:42-53.

102. Pang Y, Wang J, Xiao R, Wang S. SERS molecular sentinel for the RNA genetic marker of PB1-F2 protein in highly pathogenic avian influenza (HPAI) virus. Biosensors and Bioelectronics. 2014;61:460-5.
103. Sayhi M, Ouerghi O, Belgacem K, Arbi M, Tepeli Y, Ghram A, et al. Electrochemical detection of influenza virus H9N2 based on both immunomagnetic extraction and gold catalysis using an immobilization-free screen printed carbon microelectrode. Biosensors and Bioelectronics. 2018;107:170-7.
104. Tam PD, Van Hieu N, Chien ND, Le A-T, Tuan MA. DNA sensor development based on multi-wall carbon nanotubes for label-free influenza virus (type A) detection. Journal of Immunological Methods. 2009;350(1-2):118-24.
105. Mustafa M, Rasotgi V, Jain S, Gupta V. Discovery of fifth serotype of dengue virus (DENV-5): A new public health dilemma in dengue control. Medical Journal Armed Forces India. 2015;71(1):67-70.
106. Vollmer F, Arnold S, Keng D. Single virus detection from the reactive shift of a whispering-gallery mode. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2008;105(52):20701-4.
107. Diamond MS, Pierson TC. Molecular insight into dengue virus pathogenesis and its implications for disease control. Cell. 2015;162(3):488-92.
108. Parkash O, Shueb RH. Diagnosis of dengue infection using conventional and biosensor based techniques. Viruses. 2015;7(10):5410-27.
109. Deng J, Toh C-S. Impedimetric DNA biosensor based on a nanoporous alumina membrane for the detection of the specific oligonucleotide sequence of dengue virus. Sensors. 2013;13(6):7774-85.
110. Lim JM, Kim JH, Ryu MY, Cho CH, Park TJ, Park JP. An electrochemical peptide sensor for detection of dengue fever biomarker NS1. Analytica chimica acta. 2018;1026:109-16.
111. Zhang G-J, Zhang L, Huang MJ, Luo ZHH, Tay GKI, Lim E-JA, et al. Silicon nanowire biosensor for highly sensitive and rapid detection of Dengue virus. Sensors and Actuators B: Chemical. 2010;146(1):138-44.
112. Jahanshahi P, Zalnezhad E, Sekaran SD, Adikan FRM. Rapid immunoglobulin M-based dengue diagnostic test using surface plasmon resonance biosensor. Scientific reports. 2014;4:3851.

Review Article

Common methods of diagnosing viral diseases and introducing nanobiosensors in the detection of viruses

Received: 12/03/2022 - Accepted: 11/08/2022

Marjan Malekmohamadi [1]
Mahsa Kalantar [1]
Ali Hossein Rezayan [2*]

1 Life Science Engineering department,, Faculty of New Sciences and Technologies,, University of Tehran
2 Life Science Engineering department, Faculty of New Sciences and Technologies, University of Tehran

Email: ahrezayan@ut.ac.ir

Abstract

Abstract: Since the beginning of the new millenary, viruses have shown huge epidemiological and pandemic potential: severe acute respiratory syndrome (SARS) in 2002, pandemic swine flu in 2009, the West African Ebola outbreak in 2014, and last but not least SARS-COV19 in 2019-2022. Undoubtedly, current sensing tools need to be constantly updated to solve the growing challenges in detecting viruses, as viruses change rapidly, mostly from person to person, so indicating the need for early diagnosis.

In this review article, databases on common methods of virus detection and their challenges, as well as the introduction of nanobiosensors and the necessity of using biosensors were performed. Our study showed that biosensors have a great impact on the conversion of common analytical methods into new diagnostic strategies, especially the use of nanoparticles in the identification of protein biomarkers and viruses. Also, the need to implement new and innovative tools to achieve the goal of rapid and accurate diagnosis of viral diseases by nanosensors is one of the requirements in the field of disease diagnosis.

Keywords: Biomarker identification, Detection tools, Infection, Nanobiotechnology, Nanoparticle

Acknowledgement: There is no conflict of interest