Journal of Military Medicine
2024, Volume 26, Issue 4
Pages: 2375-2394
10.30491/jmm.2024.1006736.1226

Recent Advances in Point-of-Care (POC) Devices in the Diagnosis of Blood Infection Diseases (Sepsis) based on Electrochemical Biosensors

Mahsa Kalantar [1], Ali Hossein Rezayan [1*], Hassan Hajghassem [2]

[1] *School of Life Science Engineering, College of Interdisciplinary Science and Technology, University of Tehran, Tehran, Iran*
[2] *School of Intelligent Systems, College of Interdisciplinary Science and Technology, University of Tehran, Tehran, Iran*

Received: 2 September 2024 **Accepted:** 26 October 2024

Abstract

As a potentially life-threatening immune response, sepsis is often caused by the body's interaction with various microorganisms, including bacteria, viruses, and fungi. This phenomenon is one of the leading causes of death worldwide, posing numerous challenges for medical professionals. Therefore, rapid diagnosis and effective treatment implementation with appropriate antibiotics are crucial for improving treatment outcomes. However, this issue is challenging, as current molecular detection methods are mostly time-consuming, expensive, and reliant on advanced equipment and specialized personnel. Considering that every moment of delay in sepsis diagnosis and treatment increases the likelihood of death, it is imperative to utilize diagnostic devices capable of reducing the time required to identify the onset of infection until appropriate therapy is administered. In this regard, advanced testing tools capable of detecting clinically relevant biomarkers play a significant role. Electrochemical biosensors, offering advantages such as high sensitivity, rapid response, compact size, and low cost, are well-suited to meet clinical needs. This review article examines the current status of electrochemical-based point-of-care detection platforms and their limitations for diagnosing and monitoring sepsis. It also discusses future directions and solutions to enhance and expand these technologies.

Keywords: Biosensor, Electrochemical, Sepsis, Infectious Diseases, Biomarkers.

*Corresponding author: **Ali Hossein Rezayan,** Email: ahrezayan@ut.ac.ir

مجله طب نظامی
دوره ۲۶، شماره ۴، مهر و آبان ۱۴۰۳
صفحات: ۲۳۹۴-۲۳۷۵
10.30491/jmm.2024.1006736.1226

پیشرفت‌های اخیر در دستگاه‌های تشخیص در محل بیماری‌های عفونت خون (سپسیس) بر پایه زیست حسگرهای الکتروشیمیایی

مهسا کلانتر[۱]، علی حسین رضایان[۱*]، حسن حاج قاسم[۲]

[۱] *دانشکده مهندسی علوم زیستی، دانشکدگان علوم و فناوری‌های میان رشته‌ای، دانشگاه تهران، تهران، ایران*
[۲] *دانشکده سامانه‌های هوشمند، دانشکدگان علوم و فناوری‌های میان رشته‌ای، دانشگاه تهران، تهران، ایران*

چکیده

سپسیس به عنوان یک پاسخ ایمنی بالقوه و تهدیدکننده زندگی است که اغلب ناشی از واکنش بدن به میکروارگانیسم‌های مختلف از جمله باکتری‌ها، ویروس‌ها و قارچ‌ها است. این پدیده، یکی از عوامل اساسی مرگ و میر در سطح جهان است و برای متخصصان حوزه سلامت چالش‌های بسیاری ایجاد کرده است. از این رو، تشخیص سریع و تجویز داروهای مؤثر با استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها، برای بهبود نتایج درمانی بسیار حیاتی است. اما این موضوع با مشکلاتی همراه است؛ زیرا روش‌های تشخیص مولکولی فعلی، عمدتاً زمان‌بر، پرهزینه و وابسته به تجهیزات پیشرفته و پرسنل متخصص هستند. با توجه به اینکه هر لحظه تأخیر در تشخیص و درمان سپسیس، باعث افزایش احتمال مرگ و میر می‌شود، ضروری است که دستگاه‌های تشخیصی، قادر به کاهش زمان لازم برای شناسایی آغاز عفونت تا ارائه درمان مناسب، مورد استفاده قرار گیرند. در این مسیر، ابزارهای آزمایشگاهی که قادر به تشخیص نشانگرهای زیستی بالینی مرتبط هستند، اهمیت زیادی دارند. حسگرهای زیستی الکتروشیمیایی، با مزایایی همچون حساسیت بالا، پاسخ سریع، اندازه کوچک و هزینه کم می‌توانند نیازهای بالینی را به خوبی برآورده سازند. این ابزارها، به‌ویژه در زمینه تشخیص سپسیس، امکانات و مزایایی بسیاری را فراهم می‌کنند. در این مقاله مروری، وضعیت فعلی و محدودیت‌های موجود در استفاده از دستگاه‌های تشخیص مراقبت بر بالین – مبتنی بر الکتروشیمیایی برای تشخیص زود هنگام عفونت خون (سپسیس) بررسی می‌شود. علاوه بر این، جهت‌گیری‌های آینده و راهکارهایی که بهبود و گسترش این فناوری‌ها را تضمین می‌کنند، مورد بحث و بررسی قرار می‌گیرند.

کلیدواژه‌ها: زیست حسگر، الکتروشیمیایی، سپسیس، بیماری‌های عفونی، نشانگرهای زیستی.

*نویسنده مسئول: **علی حسین رضایان.** پست الکترونیک: ahrezayan@ut.ac.ir
دریافت مقاله: ۱۴۰۳/۰۶/۱۲ پذیرش مقاله: ۱۴۰۳/۰۸/۰۵

مقدمه

بر اساس سومین تعریف اجماع بین‌المللی برای سپسیس (Sepsis) و شوک سپتیک (Septic shock) سپسیس به عنوان یک اختلال عملکرد ارگان تهدیدکننده حیات ناشی از پاسخ نامنظم میزبان به عفونت تعریف می‌شود. این تعریف بر ارتباط جمع‌آوری اطلاعات پاتوژن و ادغام این اطلاعات با پایش پاسخ میزبان تاکید می‌کند. به همین ترتیب، شناسایی بیماران در مراحل اولیه فرآیند عفونی همچنان مشکل‌ساز است. توصیه شده است که بیماران بالغ با احتمال عفونت را می‌توان به عنوان سپسیس مثبت در نظر گرفت اگر آن‌ها نمره ۲ یا بیشتر را در نمره سریع SOFA کسب کنند: تعداد تنفس بیشتر از ۲۲ در دقیقه، تغییر وضعیت ذهنی، یا فشار خون سیستولیک (Systolic blood pressure) کمتر از ۱۰۰ میلی‌متر جیوه باشد. این معیار به اندازه کافی ساده است که در محیط‌های سرپایی، بخش اورژانس و داخل بیمارستان استفاده شود. با این حال، این معیار نه حساس است و نه به اندازه کافی خاص که بتواند یک شناسه مستقل بیمار سپتیک باشد (۲,۱).

به گفته سازمان بهداشت جهانی (WHO) سپسیس در بیمارستان‌ها، بیشترین هزینه را برای درمان به بیماران بستری شده تحمیل می کند. طبق گزارش های منتشر شده در سال ۲۰۲۱ این بیماری بیش از ۳۰ میلیون نفر در سراسر جهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد، که از این تعداد حدود ۶ میلیون نفر جان خود را از دست می‌دهند. نرخ مرگ و میر بین ۲۰٪ تا ۵۰٪ به ویژه در کشورهای کم درآمد مسئله مهمی است. گزارش‌ها در سال ۲۰۲۰ نشان می‌دهند که ۳۱/۵ میلیون نفر به این بیماری مبتلا شده‌اند و هر ساله در سراسر جهان، حدود ۱۹/۴ میلیون نفر از سپسیس شدید (Severe sepsis) رنج می‌برند، که در نتیجه حدود ۵/۳ میلیون نفر جان خود را از دست می‌دهند. سپسیس در نوزادان تقریباً ۳ میلیون مورد تخمین زده می‌شود و ۱/۲ میلیون مورد هم در کودکان رخ می‌دهد که نرخ مرگ و میر آن‌ها بین ۱۱ تا ۱۹ درصد است. همچنین، هر ساله حدود ۷۵۰۰۰ زن به دلیل سپسیس مرتبط با زایمان (Puerperal sepsis) در سراسر جهان جان خود را از دست می‌دهند. طبق اطلاعات به‌دست‌آمده از مراکز کنترل و پیشگیری از بیماری، نزدیک به ۶۰٪ از بیماران بستری شده به دلیل سپسیس، شوک سپتیک (Septic shock) را تجربه می‌کنند، تقریباً ۳۶٪ به سپسیس شدید مبتلا می‌شوند، ۳۱٪ به سپسیس منتسب به یک موجود خاص مبتلا می‌شوند و ۲۷٪ به سپسیس ناشناخته مبتلا می‌شوند. آخرین آمارها نشان می‌دهند که مرگ و میر بیماران سپسیس در بیمارستان از ۲۸٪ به ۱۸٪ کاهش یافته است. بیماران مبتلا به سپسیس شدید که در بخش مراقبت‌های ویژه بستری می‌شوند، از ۷/۲٪ به ۱۱/۱٪ افزایش یافته و مرگ و میر بیمارستانی در این گروه از ۳۵٪ به ۱۸٪ کاهش یافته است. این نشان می‌دهد که بستری شدن در بیمارستان می‌تواند هم در کاهش بروز و هم در کاهش مرگ و میر اثرگذار باشد. در نهایت، شواهد اپیدمیولوژیک نشان می‌دهد که این بیماری در حال شایع‌تر شدن است، اما در عین حال نرخ مرگ و میر آن کاهش یافته است (۳).

هزینه درمان سپسیس می‌تواند به طور قابل توجهی بسته به شدت بیماری، مدت زمان بستری در بیمارستان و درمان‌های مورد نیاز متفاوت باشد. هزینه‌های سپسیس نه تنها برای بیماران، بلکه برای سیستم‌های مراقبت‌های بهداشتی نیز یک بار مالی قابل توجه است. در ایالات متحده، سپسیس سالانه میلیاردها دلار هزینه برای بیمارستان‌ها و بیمه‌گران دارد. طی مطالعه‌ای که در سال ۲۰۲۲ انجام شد، هزینه کل بستری در بیمارستان به ازای هر بیمار به طور قابل توجهی بین یورو ۱۱۰۱ تا یورو ۹۱/۹۵۱ بدست آمد. میانگین هزینه کل سپسیس به ازای هر کشور ۳۶۱۹۱ یورو (۱۷۱۵۸ یورو – ۵۳۳۴۹ یورو) است که معادل ۵۰ یورو (۳۴ یورو – ۸۴ یورو) به ازای هر نفر در سال است. نسبت بودجه مراقبت‌های بهداشتی که صرف سپسیس می‌شود ۲/۶۵ درصد می‌باشد که معادل ۰/۳۳درصد از تولید ناخالص ملی است. در نتیجه، تنوع زیادی بین کشورهای مختلف در مورد هزینه‌های سپسیس وجود دارد. بیشترین هزینه برای بیماران سپسیس در بخش عمومی است. مطالعات بیشتر در مورد بررسی تأثیر بر هزینه‌های سپسیس، به ویژه در بخش عمومی، می‌تواند به پایش در زمینه پیشگیری، تشخیص و درمان این بیماری بحرانی که اغلب قابل پیشگیری کمک کند. واقعیت این است که تاکنون توجه محدودی به جنبه اقتصادی این سندرم شده است. امید است مطالعات بیشتری در زمینه ترکیب استراتژی‌های بالقوه صرفه‌جویی در هزینه ارائه شود (۴).

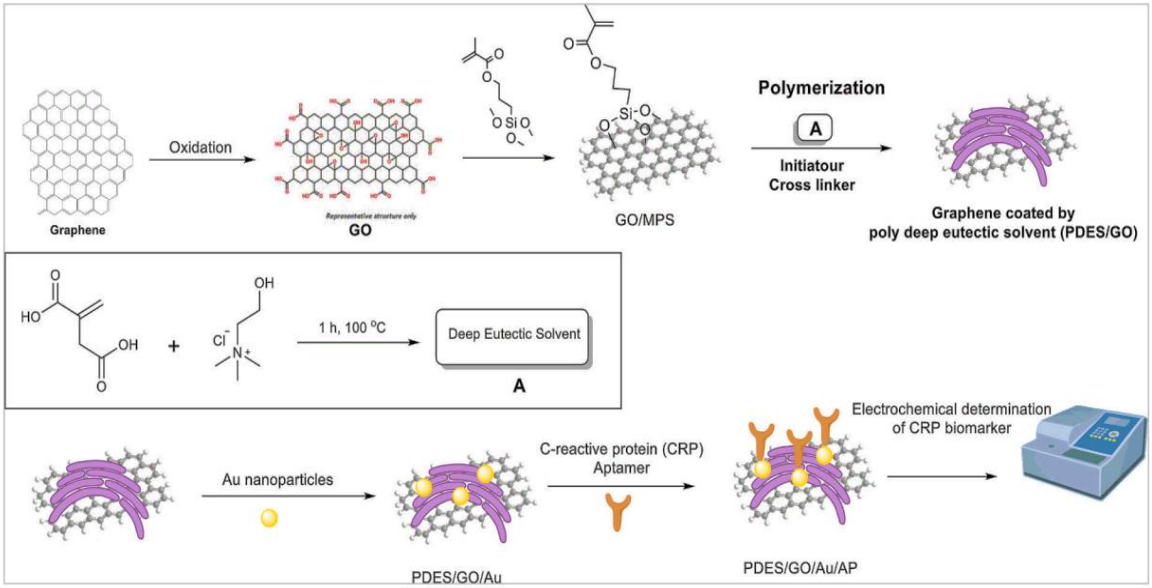
میزان مرگ و میر نوزادان یک شاخص سلامت حیاتی است. عفونت‌ها باعث تقریباً یک چهارم (۲۳ درصد) مرگ و میر نوزادان در سراسر جهان می‌شوند که ۱۵ درصد از این مرگ‌ها ناشی از سپسیس نوزادی است سپسیس نوزادان، به ویژه ناشی از باکتری‌های گرم منفی، یکی از علل مهم مرگ و میر در نوزادان است. متخصصان مراقبت‌های بهداشتی این موضوع را به دلیل مقاومت آنتی‌بیوتیکی چالش برانگیز می‌دانند. از این رو در سال ۲۰۲۳ مطالعه‌ای برای بررسی وضعیت نوزادان ایرانی مبتلا به سپسیس انجام شد. سپسیس چهارمین علت اصلی مرگ و میر نوزادان در ایران است که شیوع آن در نوزادان بستری در بیمارستان ۱۶ درصد برآورد شده است (۵).

در صورت مشکوک شدن به عفونت در محیط‌های بیمارستانی، معمولاً بلافاصله آنتی‌بیوتیک‌های گسترده اثر تجویز می‌شود و پس از آن آزمایش حضور باکتری (کشت و رشد باکتری) و آزمایش شناسایی پاتوژن (PCR) انجام می‌شود (۲). سپسیس می‌تواند در اثر عفونت از پاتوژن‌های باکتریایی، ویروسی و قارچی از جمله اما نه محدود به استافیلوکوکوس اورئوس (*S. Aureus*)، اشریشیا کلی (*E. coli*) (۶)، ویروس هرپس سیمپلکس، ویروس‌های آنفولانزا (۷) و قارچ کاندیدا آلبیکنس (۸) ایجاد شود (جدول ۱). متأسفانه، تجزیه و تحلیل کشت خون ۱ تا ۵ روز طول می‌کشد تا برطرف

شود (۵ روز برای منفی تایید شده) و نتایج منفی کاذب و مثبت کاذب را به همراه دارد. به همین ترتیب، هم کشت خون و هم آنالیز PCR بعدی نیاز به امکانات آزمایشگاهی تخصصی دارد و نمی‌توان آن را در محل مراقبت انجام داد (۹). با توجه به پایش پاسخ میزبان، در حالی که نشانگرهای زیستی منتقله از خون (پروتئین‌های در گردش، پروتئین‌های سطح سلول، microRNA) معمولاً استفاده می‌شوند زیرا با مراحل سپسیس خاص مرتبط هستند و می‌تواند سپسیس را قبل از ظهور علائم فیزیکی تشخیص دهد (۱۰). هیچ نشانگر زیستی به اندازه کافی برای تشخیص یا طبقه‌بندی سپسیس خاص نیست. علاوه بر این، غلظت نشانگرهای زیستی به طور مداوم تغییر می‌کند و نیاز به آزمایش متعدد و مقرون به صرفه دارند (۱۱).

در سال‌های گذشته تیم تحقیقاتی رضایان و همکاران روش‌های مختلفی برای تشخیص زودهنگام عفونت خون (سپسیس) گزارش کرده‌اند. از این رو، رضایان و همکاران در سال ۲۰۲۱ یک حسگر زیستی نوری بدون برچسب بر پایه طیف‌سنجی تبدیل فوریه تداخل بازتابی در بستر سیلیکون متخلخل، برای اندازه‌گیری پروتئین واکنش‌دهنده سی (CRP) و فاکتور نکروز دهنده توموری آلفا (TNF-α) به‌عنوان نشانگرهای زیستی شایع سپسیس پیشنهاد کردند. رفتار خطی در غلظت‌های ۱۰ تا ۱۰۰۰۰ نانوگرم برمیلی‌لیتر در پروتئین واکنش‌دهنده سی و در غلظت‌های ۱۰۰ تا ۱۰۰۰۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر در فاکتور نکروز دهنده توموری آلفا به‌دست آمد (۱۲).

در ادامه در سال ۲۰۲۱، یک آپتاحسگر الکتروشیمیایی با ساختار جدید متخلخل و مسطح بر پایه گرافن اکسید اصلاح شده با حلال پلی دیپ یوتکتیک پوشش داده شده با نانوذرات طلا برای تشخیص اختصاصی نشانگر زیستی CRP طراحی و سنتز شد. مراحل مختلف سنتز آپتاحسگر اسفنج مانند با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی، طیف‌سنجی پراش انرژی پرتو ایکس، طیف‌سنجی مادون قرمز فوریه، پراش پرتو ایکسو میکروسکوپ الکترونی عبوری با وضوح بالا مشخصه‌سازی شدند. آپتامرهای DNA طراحی شده از طریق میل ترکیبی طلا–گوگرد بر روی سطح الکترود اصلاح شده با نانوذرات طلا آماده شدند. وجود مقدار بالای نانوذرات طلا به عنوان تقویت‌کننده سیگنال بر روی سطح کامپوزیت، یک آپتاحسگر الکتروشیمیایی بدون برچسب برای تشخیص انتخابی و حساس CRP از طریق طیف‌سنجی امپدانس الکتروشیمیایی فراهم کرد. برای دستیابی به حساسیت مؤثر، بهینه‌سازی متغیرهای موثر بر این روش انجام شد. در شرایط بهینه، تکنیک پیشنهادی خطی بودن خوبی در محدوده ۰/۰۰۱ تا ۵۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر و همچنین حد تشخیص پایین ۰/۰۰۰۳ نانوگرم بر میلی‌لیتر را نشان داد. علاوه بر این، حسگر برای تعیین CRP در سرم انسانی استفاده شد. پلتفرم طراحی شده یک مسیر کارآمد برای تشخیص حساس بیومولکول‌های مختلف به صورت بدون برچسب با تغییر رشته تشخیص آپتامر مربوطه فراهم می‌کند (۱۳).

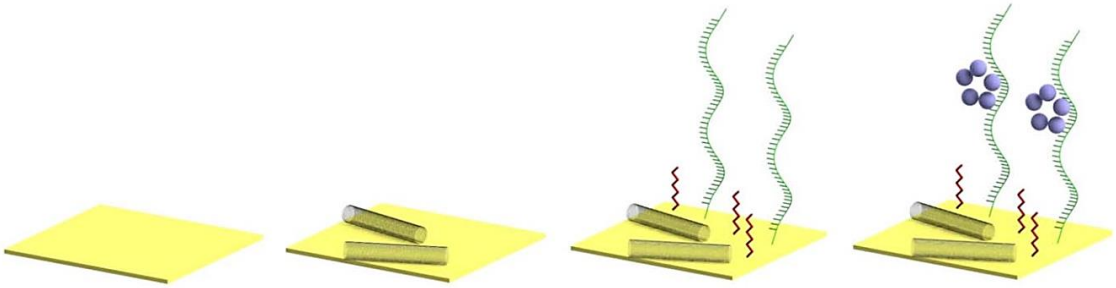


شکل-۱. نمایش شماتیک فرآیند ساخت آپتاحسگر (۱۳).

در سال ۲۰۲۲ تیم دکتر رضایان و همکاران یک زیست‌حسگر جدید برای سپسیس ارائه دادند. یک سیستم نانوحسگری مبتنی بر نانولوله کربنی برای تشخیص برخط و بدون برچسب CRP استفاده شد. این سیستم شامل یک ترانزیستور اثر میدان مبتنی بر نانولوله کربنی آپتامری است که از هندسه گیت مدفون شده آلومینیوم اکسید به عنوان لایه دی الکتریک بالای بهره می‌برد و می‌تواند غلظت پروتئین التهابی را نشان دهد. نتایج آزمایش نشان می‌دهد که دستگاه ظرف ۸ دقیقه به تغییرات CRP پاسخ می‌دهد (۱۴). در سال ۲۰۲۳ این تیم تحقیقاتی یک زیست‌حسگر آپتامری مبتنی بر رزونانس پلاسمون سطحی موضعی (Localized surface

(plasmon resonance پیشنهاد دادند. در این نانوزیست‌حسگر از نانوذرات طلای استوانه‌ای برای اندازه‌گیری غلظت CRP استفاده شد. نتایج نشان داد که نانوزیست‌حسگر می‌تواند طی ۳۰ دقیقه به غلظت‌های مختلف CRP پاسخ دهد. آزمایش انتخاب‌پذیری نشان داد که نانوزیست‌حسگر به پروتئین‌های آلبومین سرم گاوی و TNF-α که برای ارزیابی رفتار زیست‌حسگر در مواجهه با پروتئین‌های غیرهدف استفاده می‌شوند، واکنش قابل توجهی نشان نمی‌دهد. حد تشخیص این روش ۲ نانومولار و محدوده پاسخ خطی حسگر بین ۲ تا ۲۰ نانومولار تعیین شد (۱۵).

در ادامه سال ۲۰۲۳ این تیم یک زیست‌حسگر الکتروشیمیایی مبتنی بر الکترودهای طلا لایه نازک را معرفی کرد. رویکرد نوآورانه‌ای برای افزایش چرخه عمر زیست‌حسگرهای انعطاف‌پذیر در آزمایش‌های خمشی ارائه شد. نانولوله‌های کربنی با استفاده از روش الکتروفورتیک بر روی سطح زیست‌حسگر رسوب داده شدند. برای ارزیابی پایداری سوسپانسیون، اندازه‌گیری پتانسیل زتا انجام شد. پارامترهای بهینه شده روش الکتروفورتیک از طریق تصویربرداری میکروسکوپ الکترونی روبشی ارزیابی شدند. این مطالعه نشان می‌دهد که پوشش نانولوله کربنی چرخه عمر زیست‌حسگر را ده برابر افزایش می‌دهد (از ۱۰ تا ۱۶۰ چرخه). با استفاده از میکروسکوپ نیروی اتمی، تثبیت یک عنصر شناسایی (آپتامر) بر روی سطح زیست‌حسگر تأیید شد. علاوه بر این، عملکرد زیست‌حسگر با استفاده از دو روش الکتروشیمیایی (ولتامتری چرخه‌ای و طیف سنجی امپدانس) مشخص شد. زیست‌حسگر به محدوده تشخیص ۰/۰۲ تا ۰/۸ نانوگرم بر میلی‌لیتر دست یافت. انتخاب‌پذیری حسگر با محلولی از آلبومین سرم گاوی، ایمونوگلوبولین E، اینترلوکین-۶ (IL-۶) و TNF-α بررسی شد (۱۶).



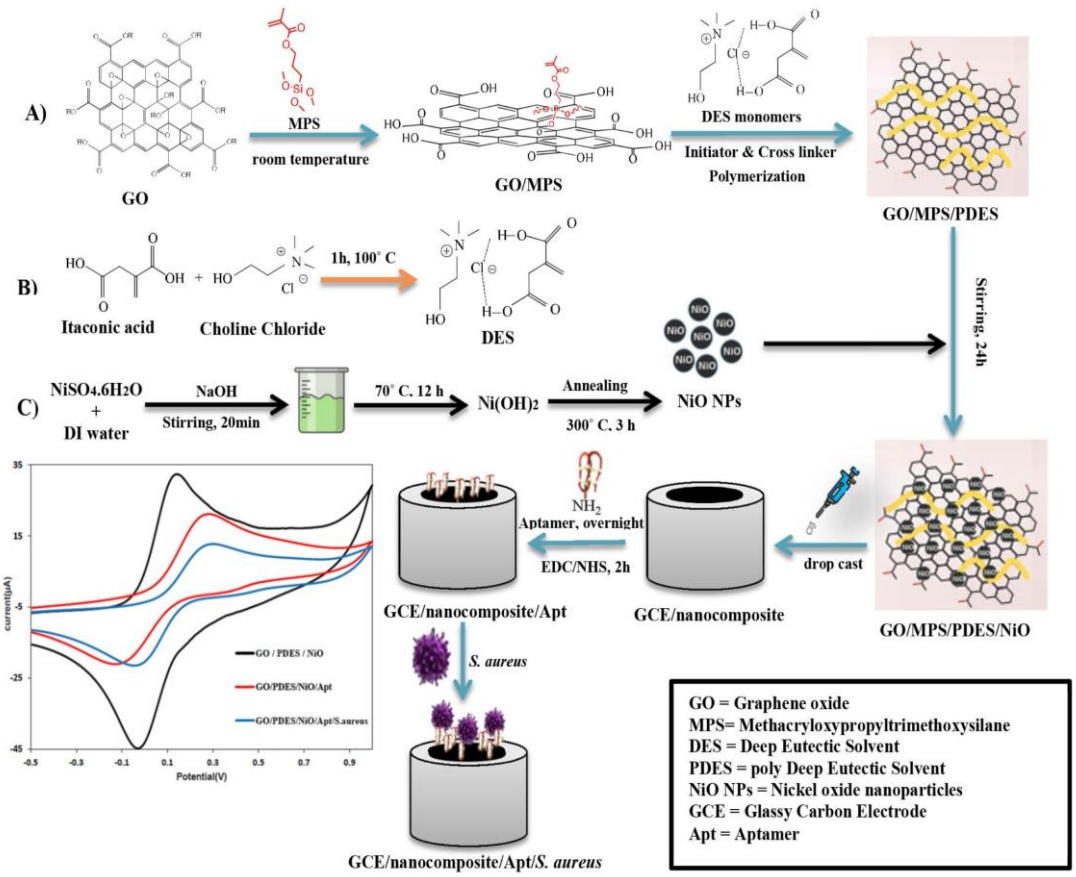
شکل-۲. زیست‌حسگر انعطاف‌پذیر CRP در چهار مرحله اصلی ساخته و آزمایش شد. این مراحل به صورت شماتیک نشان داده شده‌اند: الف) ساخت میکروالکترودهای انعطاف‌پذیر بر روی زیرلایه کاغذ تاتو، ب) رسوب‌گذاری نانولوله کربنی بر روی الکترود طلا، ج) عملکردسازی زیست‌حسگر با آپتامر و د) آزمایش زیست‌حسگر پیشنهادی با نشانگر زیستی CRP (۱۶).

در ادامه همان سال این تیم به ساخت یک پلتفرم مؤثر و حساس برای تشخیص اختصاصی استافیلوکوکوس اورئوس پرداخت. این پلتفرم بر پایه نانوذرات کامپوزیت اکسید گرافن-حلال عمیق یوتکتیک چندگانه- اکسید نیکل ساخته شد که روی سطح الکترود کربن شیشه‌ای قرار می‌گیرد. آپتامرهای DNA با استفاده از شیمی EDC/NHS بر روی الکترود اصلاح شده تثبیت شدند. هر مرحله از اصلاح الکترود به منظور ساخت آپتاحسگر با استفاده از تکنیک‌های ولتامتری چرخه‌ای و طیف‌سنجی امپدانس الکتروشیمیایی مورد بررسی قرار گرفت. محدوده دینامیکی خطی آپتاحسگر الکتروشیمیایی پیشنهادی طیف وسیعی از غلظت استافیلوکوکوس اورئوس را پوشش می‌دهد (از 10^{1} تا 10^{8} واحد تشکیل‌دهنده کلنی بر میلی‌لیتر). همچنین، با بهینه‌سازی شرایط، حد تشخیص این روش به ۱۰ واحد تشکیل‌دهنده کلنی بر میلی‌لیتر رسید. تحلیل نمونه‌های آب لوله‌کشی، آب دریاچه و سرم انسان آلوده به باکتری نشان داد که این آپتاحسگر پتانسیل بالایی به عنوان یک ابزار حساس، مؤثر و بدون برچسب برای تشخیص استافیلوکوکوس اورئوس دارد (۱۷).

آزمایش در محل مراقبت بر بالین (POC) بیمار به آزمایش‌های تشخیصی گفته می‌شود که در نزدیکی بیمار و در زمان نیاز انجام می‌شوند. ترکیب میکروفلوئیدیک با نانومواد عملکردی، روشی سریع و حساس برای تشخیص نشانگرهای زیستی فراهم می‌کند. به دلیل ویژگی‌های نوری، نانوذرات طلا و آپتامرها را می‌توان در یک تکنیک رنگ‌سنجی استفاده کرد. از این رو، تیم رضایان و همکاران در سال ۲۰۲۴ آپتاحسگرهای دقیق و سریعی با استفاده از آپتامر برای دو نشانگر زیستی سپسیس، IL-۶ و CRP پیشنهاد کردند. محدوده‌های تشخیص خطی در این روش ۵۰ تا ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و ۱ تا ۲۵ نانوگرم بر لیتر بودند و مقادیر حد تشخیص به ترتیب ۱/۹ میلی‌گرم بر لیتر و ۰/۰۷ نانوگرم در لیتر برای CRP و IL-۶ بودند (۱۸).

زیست حسگرهای الکتروشیمیایی

دستگاه‌های مبتنی بر روش‌های الکتروشیمیایی با قابلیت شناسایی چندگانه نشانگرهای زیستی، پتانسیل قابل توجهی برای نظارت سریع بر عوامل بیماری‌زا در محیط‌های مراقبت بر بالین مانند اتاق‌های اورژانس، مطب‌های پزشک و خدمات آمبولانس دارند، محلی که بیماران سپتیک برای اولین بار با ارائه خدمات



شکل-۳. تصویر شماتیک ساخت آپتاحسگر برای تشخیص باکتری استافیلوکوکوس اورئوس (۱۷).

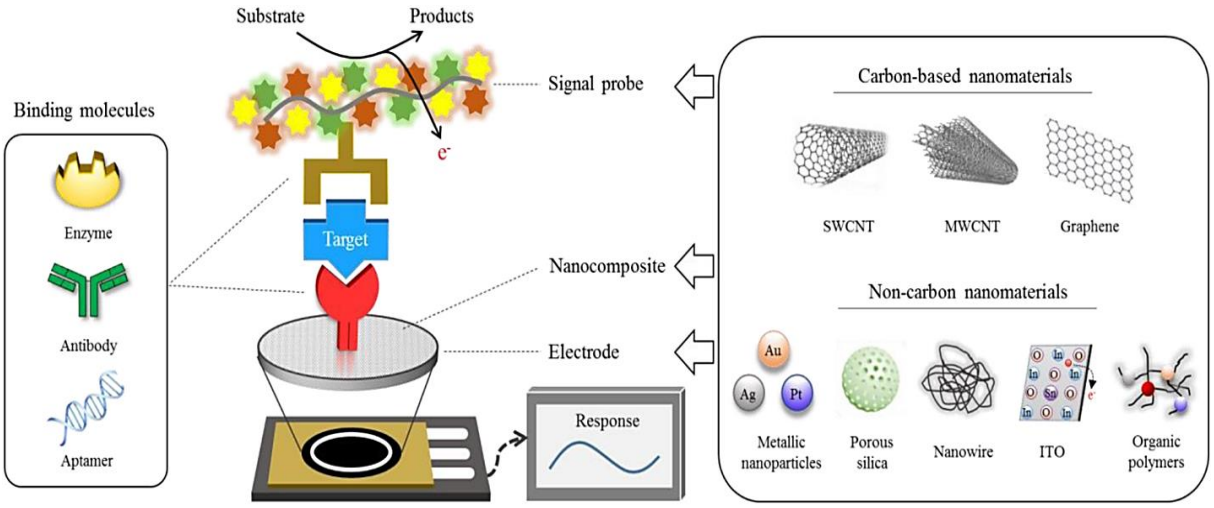
بهداشتی روبرو می‌شوند. توانایی جمع‌آوری اطلاعات پاتوژن و نشانگرهای زیستی در محل، تشخیص و طبقه‌بندی سریع و دقیق سپسیس را امکان‌پذیر می‌سازد و منجر به تجویز درمان‌های مناسب برای سپسیس می‌شود. انجام این آزمایشات در یک محیط مراقبت بر بالین تنگناهای ناشی از حمل‌ونقل نمونه‌ها به آزمایشگاه‌ها و همچنین محدودیت در دسترس بودن پرسنل آزمایشگاهی بسیار آموزش دیده برای انجام این آزمایش‌ها را از بین می‌برد. نکته بسیار مهم با توجه به هزینه کم، حساسیت بالا، پاسخ سریع و قابل حمل بودن، دستگاه‌های مراقبت بر بالین مبتنی بر الکتروشیمیایی این است که آن‌ها قادر به آزمایش با تعداد بالا نشانگرهای زیستی مرتبط بالینی برای مطالعه پیشرفت بیماری هستند. بنابراین، دستگاه‌های تشخیصی مراقبت بر بالین تا حد زیادی سرعت تشخیص و درمان بیمار را بهبود می‌بخشند (۳۰). زیست‌حسگرهای الکتروشیمیایی دستگاه‌های تحلیلی هستند که واکنش های بیوشیمیایی مبتنی بر اتصال عناصر شناسایی و آنالیت مانند واکنش آنزیم- سوبسترا و برهم‌کنش آنتی‌ژن- آنتی‌بادی را به سیگنال‌های الکتریکی (مانند جریان، ولتاژ، امپدانس و ...) تبدیل می‌کنند. از زمان توسعه اولین نسخه زیست‌حسگر الکتروشیمیایی برای گلوکز خون توسط کلارک، انواع مختلفی از زیست‌حسگر برای کاربردهای متنوع معرفی و تجاری‌سازی شده‌اند. در این زیست‌حسگرهای الکتروشیمیایی، الکترود یک جزء کلیدی است که به عنوان یک پایه جامد برای تثبیت مولکول‌های زیستی (آنزیم، آنتی‌بادی و اسید نوکلئیک) و حرکت الکترون استفاده می‌شود. روش‌های مختلف اصلاح شیمیایی برای این منظور با استفاده از گروه‌های آمین و کربوکسیل و تیول بسته به گروه‌های شیمیایی موجود روی الکترود در حضور و یا عدم استفاده از مواد پشتیبان اعمال می‌شود. از آنجایی که تثبیت نامناسب می‌تواند باعث از دست دادن فعالیت، کاهش ویژگی و زیست‌سازگاری پایین شود، حفظ جهت‌گیری و فعالیت زیستی مولکول‌های زیستی پس از تثبیت بسیار مهم است (۳۱).

عناصرشناسایی

در دستگاه های الکتروشیمیایی از عوامل شناسایی مختلفی بر روی سطح الکترود استفاده می‌شود. از جمله آن‌ها می‌توان به آپتامرها اشاره کرد. آپتامرها به عنوان جایگزینی مناسب برای آنتی- بادی‌ها در توسعه زیست‌حسگر الکتروشیمیایی مراقبت بر بالین ظهور کرده‌اند. اگرچه آپتاحسگرهای DNA و RNA در اوایل دهه ۱۹۹۰ معرفی شدند، اما این مولکول‌ها تنها در سال‌های اخیر توجه زیادی را در زمینه زیست‌حسگری جلب کرده‌اند. معرفی روش موسوم به تکامل سیستماتیک لیگاندها از طریق غنی‌سازی نمایی (SELEX) به عنوان یک فرآیند چند مرحله‌ای برای به دست آوردن آپتامرها، نقش مهمی در توسعه این نوع زیست‌حسگر ایفا

جدول-۱. فهرست ارگانیسم‌هایی که باعث سپسیس می‌شوند

ارگانیسم‌ها		
باکتری‌ها	**گرم مثبت**	**گرم منفی**
	• استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (میزان مرگ و میر ۱۵ تا ۶۰ درصد (۱۹). • استافیلوکوکوس اورئوس حساس به متی سیلین (۲۰). • استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس (۲۱). • استرپتوکوک پنومونیه، استرپتوکوک پیوژنز، استرپتوکوک آگالاکتیه (علت اصلی سپسیس نوزادان و مادران (۲۲)، استرپتوکوک دیساگالاکتیه، استرپتوکوک آنژینوسوس، استرپتوکوک کنستلاتوس. • انتروکوک فکالیس، انتروکوک فاسیوم. • کلستریدیوم دیفیسیل، کلستریدیوم پرفرنژنس، کلستریدیوم تتانی.	• اشریشیا کلی (شایع‌ترین در برخی مطالعات، بیش از ۲۰ درصد) (۲۳). • موراکسلا کاتارالیس. • نایسریا منتژیتیدیس. • اسینتوباکتر بومانی. • آئروموناس هیدروفیلا. • باکتروئیدس فراژیلیس. • بورخولدریا سپاسیا. • سیتروباکتر فروندی. • انتروباکتر • هموفیلوس آنفولانزا. • کلبسیلا پنومونیه، کلبسیلا اکسی توکا. • لژیونلا پنوموفیلا. • سودوموناس آئروژینوزا. • پروتئوس میرابیلیس. • سالمونلا انتریتیدیس. • سراشیا مارسسنس. • استنوتروفوموناس مالتوفیلیا. • ویبریو ولنیفیکوس، ویبریو وبا.
ویروس‌ها	• ویروس هرپس سیمپلکس (شایع‌ترین علل ویروسی سپسیس نوزادی) (۲۴). • پارکوویروس انسانی (شایع‌ترین علل سپسیس ویروسی در کودکان خردسال) (۲۵). • انتروویروس (شایع‌ترین علل سپسیس ویروسی در نوزادان و کودکان خردسال) (۲۴,۲۵). • ویروس آنفولانزا. • ویروس دنگی (علت اصلی سپسیس در جنوب شرقی آسیا) (۲۶). • آدنوویروس (۷). • کروناویروس سندرم حاد تنفسی ۲ (۲۷).	
قارچ‌ها	• گونه‌های آسپرژیلوس (۲۸). • کاندیدا آلبیکانس، کاندیدا پاراپسیلوزیس، کاندیدا تروپیکالیس، کاندیدا کروسی (گونه‌های کاندیدا عامل اصلی سپسیس قارچی هستند) (۲۹).	



شکل-۴. اصول زیست‌حسگرهای الکتروشیمیایی (۳۱).

کرد و امکان دستیابی به آپتامرهای خاص برای مولکول‌های هدف مختلف را فراهم کرد. این فرآیند بر اساس تکرار مراحل متوالی اتصال هدف و حذف الیگونوکلئوتیدهای غیر متصل از یک کتابخانه تصادفی تقریبا $۱۰^{۱۵}$ توالی مختلف، به دنبال آن شست‌وشو، تقویت و خالص‌سازی الیگونوکلئوتید انتخاب شده استوار است (۳۲).

جایگزینی آنتی‌بادی‌های خاص با آپتامرها به نظر می‌رسد یک روند رو به رشد باشد. استفاده از آپتامرها در شناسایی زیستی مزایای بی‌شماری دارد. یکی از آن‌ها امکان سنتز آپتامرها با استفاده از دستگاه‌ها به جای حیوانات (یا خطوط سلولی) در فرآیند سنتز است که برای آنتی‌بادی‌ها غیر عملی است. آپتامرها در شرایط سخت نمک، دما و PH پایداری بیشتری از خود نشان می‌دهند. این پایداری، مشتق‌سازی، خالص‌سازی و تثبیت روی سطوح مختلف را بدون از دست دادن توانایی‌های تشخیص زیستی تسهیل می‌کند. آپتامرها مزایای بیشتری نسبت به آنتی‌بادی دارند، زیرا آن‌ها اندازه کوچکتری دارند، هزینه سنتز آن‌ها ارزان‌تر است که امکان استفاده در مقیاس بزرگ را فراهم می‌کند و می‌توان از آن‌ها مجددا استفاده کرد. یکی از جالب‌ترین ویژگی‌های آپتامرها که استفاده گسترده آن‌ها در کاربردهای حسگری را ترویج می‌کند، تغییر ساختاری ناشی از هدف است که برای پیکربندی‌های مختلف آزمایش مناسب است، برخلاف ساختار سفت و سخت سایر مولکول‌های تشخیصی مانند آنتی‌بادی‌ها. اتصال آپتامرها به اهداف شناخته شده خود باعث تغییرات مختلفی در خواص آپتامرهای متصل می‌شود که همراه با تغییرات ساختاری رخ می‌دهد، از نظر جنبه‌های الکتریکی و نوری. این تغییرات قابل تبدیل به خروجی‌های سیگنالی هستند که می‌توان برای نشان دادن برهمکنش زیستی بین آپتامر و هدف اندازه‌گیری کرد (۳۳).

در آپتاحسگرهای الکتروشیمیایی، اتصال صحیح آپتامر به سطح الکترود بسیار مهم است. برای دستیابی به این هدف، یکی از رایج‌ترین استراتژی‌ها افزودن گروه‌های تیول در انتهای ' ۳ یا ' ۵ از طریق واکنش شیمیایی است که می‌تواند به عنوان مثال، تثبیت مستقیم روی الکترودهای طلا را تسهیل کند. تثبیت از طریق برهمکنش‌های بیوتین- استرپتاویدین یا جذب فیزیکی از دیگر استراتژی‌های مورد استفاده فعلی است. در آپتاحسگرهای الکتروشیمیایی، سیگنال انتقال می‌تواند بسته به پارامترهای اندازه‌گیری شده مانند جریان و پتانسیل، فقط جریان، فقط پتانسیل، امپدانس یا هدایت، به ترتیب به صورت ولتامتری، آمپرمتری، پتانسیومتری، امپدانسی یا هدایت‌سنجی تقسیم شود. آپتامرها همچنین بسیار کوچکتر از آنتی‌بادی‌ها هستند که برای توسعه حسگرهای الکتروشیمیایی کوچک‌شده بسیار جالب است. این ویژگی امکان پوشش متراکم‌تر سطح الکترود را فراهم می‌کند و منجر به کوچک‌سازی بیشتر می‌شود که باعث سازگاری حسگرها با فناوری‌های میکرو ساخت مدرن می‌شود. اندازه کوچکتر این مولکول همراه با توانایی آن‌ها برای تشکیل تک لایه‌های خودآرایی روی سطوح طلا، الکترودهای طلا را به امیدوارکننده‌ترین نامزد فعلی برای توسعه آپتاحسگرهای الکتروشیمیایی تبدیل می‌کند (۳۲).

الکترود

زیست‌حسگرهای الکتروشیمیایی اساساً تغییرات الکتریکی یا الکتروشیمیایی در رابط الکترود- محلول پس از اتصال آنالیت هدف به یک عنصر شناسایی زیستی رسوب شده بر روی سطح الکترود کار را اندازه‌گیری می‌کنند. تشخیص الکتروشیمیایی از الکترودها به عنوان مبدل استفاده می‌کند که عمدتا شامل الکترودهای کربنی یا فلزی می‌شود که گاهی اوقات تحت اصلاح سطح قرار می‌گیرند. اندازه‌گیری مبتنی بر الکتروشیمیایی در حال پیشرفت به سمت الکترودهای کوچک، کم هزینه و حساس است که می‌تواند حجم نمونه و هزینه ساخت را به شدت کاهش دهد. از مواد مختلفی برای ساخت الکترود استفاده می‌شود که بهترین آن طلا است. طلا یک فلز نجیب است و گران‌تر از اکثر مواد موجود است. یک راه جایگزین برای غلبه بر این مشکل در تحقیقات از مواد الکترودی جدید مانند الکترودهای کربنی، مواد مغناطیسی و نانوذرات استفاده می‌شود. اخیراً زیرلایه های کاغذ، پلاستیک، پارچه، پلیمر یا خالکوبی موقت مزایای زیادی برای کاربردهای مراقبت بر بالین دارند. از اصلاح‌کننده‌های مختلفی برای الکترودهای کار مانند نانولوله‌های کربنی، گرافن و نانوذرات معمولاً برای افزایش نسبت سطح به حجم استفاده می‌شوند که سطح فعال بزرگتری را برای گیرنده‌های زیستی فراهم می‌کند و همچنین امکان انتقال بار سریع‌تر را فراهم می‌کند، در نتیجه منجر به بهبود حساسیت، محدوده تشخیص و زمان واکنش می‌شود (۳۴). توسعه میکروالکترودها در سیستم‌های کوچک شده می‌تواند هزینه ساخت را کاهش دهد. در چنین مواردی، آخرین روندها استفاده از میکروالکترودهای اینتر دیجیتال، الکترودهای چاپ صفحه‌ای و ترانزیستورهای اثر میدان را نشان می‌دهد. بنابراین، فناوری‌های میکرو ساخت نقش فزاینده‌ای در آینده ایفا خواهند کرد زیرا در این موارد هزینه بالای مواد و معرف‌ها، مانند طلا و آپتامرهای کوچک‌تر، توسط مقادیر کم مورد استفاده در توسعه این دستگاه‌ها جبران می‌شود (۳۳).

سیستم‌های تحلیلی کوچک (Miniaturized Analytical Systems)

سیستم‌های تحلیلی کوچک‌شده با مزایای خاص قابل حمل بودن و هزینه پایین، می‌توانند برای کاربردهای خارج از محیط آزمایشگاه استفاده شده و معایب روش‌های تحلیلی سنتی را برطرف کنند. تکنیک‌های مرتبط برای کاهش زمان کل تحلیل یا افزایش راندمان استخراج توسعه یافته‌اند، با توجه به نیاز فزاینده به آزمایش‌های مراقبت بر بالین، توجه بیشتری به دستگاه‌های تحلیلی کوچک‌شده شده است. حسگرهای الکتروشیمیایی کوچک‌شده که دستگاه‌های تحلیلی کوچک‌شده معمولی هستند، برای تشخیص مقادیر کمی از هدف، از جمله مولکول‌های کوچک آلی، یون‌های فلزی و بیومولکول‌ها، از طریق اندازه‌گیری تغییرات سیگنال

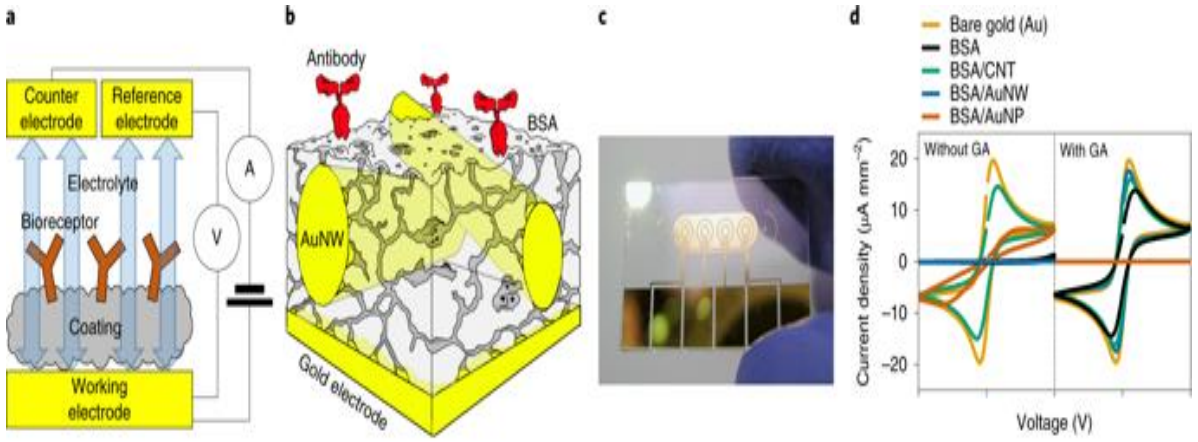
الکتروشیمیایی مانند جریان، ولتاژ، پتانسیل یا امپدانس، به دلیل اکسیداسیون/کاهش مولکول‌های شیمیایی/زیستی با کمک الکترودها و واحدهای الکتروشیمیایی استفاده شده‌اند. به طور کلی، الکترودها برای بهبود گزینش‌پذیری حسگرها عمدتاً با استفاده از عناصر شناسایی خاص مانند آپتامرها، آنتی‌بادی‌ها و گیرنده‌های مورد علاقه اصلاح می‌شوند. سیستم‌های حسگر الکتروشیمیایی کوچک‌شده دارای مزایایی از قبیل سادگی دستگاه، سهولت استفاده، حساسیت و انتخاب‌پذیری بالا، پیش‌پردازش کم نمونه، زمان آنالیز کوتاه، قابل حمل بودن و هزینه پایین هستند. در حال حاضر، تلاش‌های تحقیقاتی قابل توجهی برای توسعه حسگرهای الکتروشیمیایی کوچک‌شده مختلف برای استفاده در آزمایش‌های مراقبت بر بالین جهت آنالیز مقادیر کمی از هدف در زمینه‌های مختلف از جمله مراقبت‌های بهداشتی، ایمنی غذایی و پایش محیط زیست به دلیل مزایای عالی فناوری‌های الکتروشیمیایی انجام شده است (۳۵). سیستم‌های زیست‌حسگری الکتروشیمیایی مراقبت بر بالین مبتنی بر تلفن هوشمند امروزه بسیار مورد توجه قرار گرفته است. به طور کلی، سازگاری با تلفن‌های هوشمند، مقدار توان موجود، نیاز به منبع تغذیه خارجی و حساسیت و قابلیت‌های پتانسیواستات‌ها در این زیست‌حسگر حائز اهمیت است. شایان ذکر است که اخذ تأییدیه سازمان غذا دارو امریکا برای دستگاه‌های مبتنی بر تلفن هوشمند اغلب دشوار است زیرا خود تلفن‌های هوشمند برای استفاده پزشکی مجاز نیستند. با این حال، پلتفرم‌های بیشتری در حال دریافت تأییدیه هستند که از اجزای مختلف دستگاه هوشمند استفاده می‌کنند و به ما امید می‌دهند که زیست‌حسگرهای زیستی مبتنی بر فناوری تلفن هوشمند روزی بتوانند به دستگاه‌های پزشکی واقعی تبدیل شوند (۳۶). این بررسی آخرین پیشرفت‌ها در دستگاه‌های مراقبت بر بالین مبتنی بر الکتریکی و الکتروشیمیایی را که برای تشخیص حساس و سریع نشانگرهای زیستی پروتئینی در گردش پلاسما، نشانگرهای زیستی سطح سلولی و باکتری‌هایی که نشان‌دهنده سپسیس هستند، برجسته می‌کند. این بررسی شامل روش‌های الکتریکی/مبتنی بر امپدانس و روش‌های الکتروشیمیایی است که در آن یک واکنش ردوکس برای تولید سیگنال اندازه‌گیری شده انجام می‌شود. با توجه به تنوع گسترده نشانگرهای زیستی و علاقه ویژه به دستگاه‌های شناسایی چندگانه، روی پروتئین‌ها تمرکز شده است. به همین ترتیب، نشانگرهای زیستی سطح سلول برای بررسی چالش تشخیص سلول‌ها و پروتئین‌ها از یک نمونه گنجانده شده است. از میان پاتوژن‌ها، روی باکتری‌ها تمرکز شده، زیرا آن‌ها در ایجاد سپسیس بسیار شایع‌تر هستند و تشخیص بدون کشت آن‌ها در غلظت‌های پایین از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

دستگاه‌های مبتنی بر زیست حسگری الکتروشیمیایی برای نشانگرهای زیستی پروتئینی

نشانگر زیستی سپسیس باید اطلاعاتی را که از قبل در دسترس است، مانند تاریخچه بیمار، معاینات فیزیکی و بررسی‌های معمول (مانند شمارش گلبول‌های سفید) تکمیل کند. همچنین باید بتواند سپسیس را به سرعت و با دقت از سایر معیارهای تشخیصی همپوشان تشخیص دهد. نشانگرهای زیستی متعددی با سپسیس مرتبط هستند، از جمله پروکلسی تونین (PCT)، پروتئین واکنشی سی، اینترلوکین‌ها (IL-۶، IL-۸ و IL-۱۰)، گلبول‌های سفید (نسبت نوتروفیل به لنفوسیت و بیان CD۶۴ روی نوتروفیل‌ها) (۱۰). هیچ نشانگر زیستی به اندازه کافی خاص برای پیش‌بینی سپسیس نیست، بنابراین این بخش بر روی دستگاه‌هایی تمرکز می‌کند که قادر به چندگانه کردن نشانگرهای زیستی هستند. به طور ویژه، این بخش از مقاله روی دستگاه‌هایی متمرکز شده است که قادر به شناسایی نشانگرهای زیستی پروتئینی در گردش پلاسما و یا نشانگرهای زیستی سطح سلولی هستند تا چالش تشخیص سلول‌ها و پروتئین‌ها از یک نمونه را نشان دهند. فناوری‌های الکتریکی که نشانگرهای زیستی پروتئین را شناسایی می‌کنند شامل طیف‌سنجی امپدانس و فناوری‌های مبتنی بر شمارنده است (۳۷).

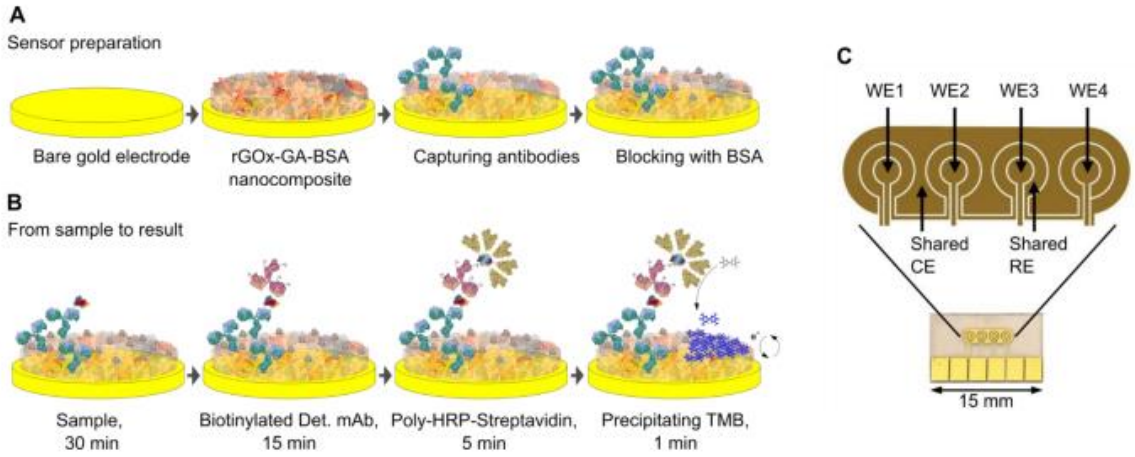
تشخیص الکتروشیمیایی مبتنی بر میل ترکیبی در سیالات بیولوژیکی پیچیده می‌تواند تشخیص‌های چندگانه مراقبت بر بالین را برای مراقبت‌های بهداشتی در خانه فعال کند. با این حال، تجاری‌سازی دستگاه‌های مراقبت بر بالین دلیل از دست دادن سریع حساسیت ناشی از غیرفعال شدن سطح الکترود و رسوب زیستی محدود شده است از این رو در سال ۲۰۱۹ آزمایشگاه اینگبر یک پوشش ضد رسوب ساده و قوی را برای الکترود بکار کرد (شکل ۵) که شامل یک ماتریس متخلخل سه بعدی از آلبومین سرم گاوی کراس لینک شده با شبکه‌ای از نانومواد رسانا متشکل از نانوسیم‌های طلا، نانوذرات طلا یا نانولوله‌های کربنی پشتیبانی می‌شد. این نانوکامپوزیت‌ها از برهمکنش‌های غیر اختصاصی جلوگیری می‌کنند و در عین حال انتقال الکترون به سطح الکترود را افزایش می‌دهند، ۸۸ درصد از سیگنال اصلی را پس از یک ماه قرار گرفتن در معرض پلاسمای فرآوری‌نشده انسانی حفظ می‌کنند و اصلاح کردن سطح با آنتی‌بادی‌های اختصاصی، کمی‌سازی اینترلوکین ۶ را در پلاسما با حساسیت بالا امکان‌پذیر می‌سازد. آماده‌سازی آسان، پایداری و سادگی این نانوکامپوزیت امکان تولید زیست‌حسگرهای الکتروشیمیایی را فراهم می‌کند که می‌توانند در مایعات زیستی پیچیده مانند پلاسمای خون یا سرم عمل کنند (۳۸).

در ادامه پژوهش در سال ۲۰۲۱ آن‌ها یک پلتفرم حسگر الکتروشیمیایی را که با ترکیب یک پوشش نانوکامپوزیت متشکل از آلبومین سرم گاوی دارای شبکه‌ای از نانوذرات اکسید گرافن کاهش‌یافته ارائه کردند که از رسوب زیستی در عین حفظ رسانایی الکتریکی جلوگیری می‌کند و به طور همزمان چندین نشانگر زیستی سپسیس را شناسایی می‌کند (شکل ۶). با استفاده از الکترودهای طلای مسطح پوشش داده شده با نانوکامپوزیت، یک حسگر حساس پروکلسی تونین ساخته شد و در سرم رقیق نشده



شکل-۵. پوشش نانوکامپوزیت. الف) شماتیک سیستم سه الکترودی الکتروشیمیایی، ب) شماتیک پوشش بر روی الکترود طلا که حاوی گلوتارالدهید، آلبومین سرم گاوی و نانوسیم‌های طلا است که آنتی‌بادی بر روی آن عامل‌دار شده است، ج) عکس یک تراشه الکترود متشکل از چهار الکترود کار با یک مرجع و الکترود مقابل مشترک، د) ولتاموگرام‌های معمولی نشان دهنده پیک‌های اکسیداسیون و کاهش محلول هم مولار ۵ میلی مولار فری/فروسیانید الکترودهای با پوشش مختلف نانوذره کامپوزیت (چپ) و الکترودهای پوشش شده با نانوذره کامپوزیتی که به گلوتارالدهید ۱ درصد اتصال عرضی دار هستند (۳۸).

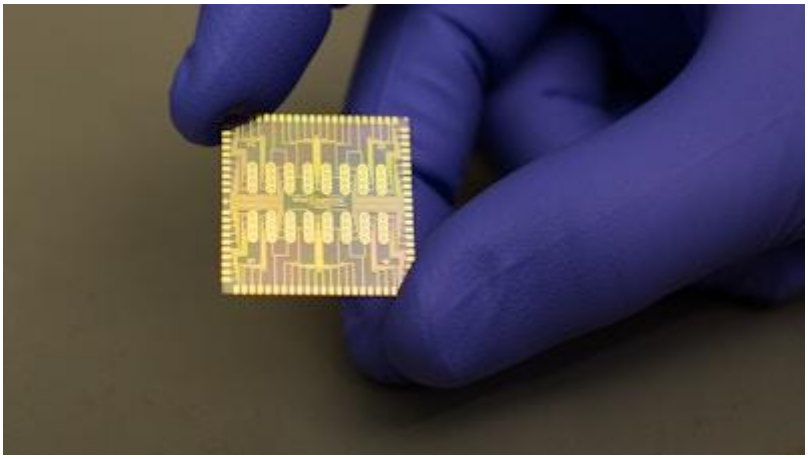
تایید شد و با استفاده از نمونه‌های بالینی همبستگی عالی با الایزای مرسوم (r^2 = ۰/۹۵) ارائه کرد. این رویکرد برای توسعه دستگاهی با چهار الکترود کار مجزا و نشان دادن تشخیص همزمان چهار نشانگر زیستی سپسیس پروکلسی تونین، CRP، الگوهای مولکولی مرتبط با پاتوژن (PAMPs) و (syndecan-۱) در خون کامل استفاده شد که پاسخ‌های خاصی را در محدوده بالینی معنی‌دار و بدون هیچ واکنش متقاطع نشان دادند. این پلتفرم تشخیص حساس الکتروشیمیایی چندین آنالیت در خون انسان را امکان‌پذیر می‌کند و می‌توان آن را برای شناسایی هر آنالیت هدف با جفت آنتی‌بادی مناسب به کار برد. بنابراین، این پلتفرم حسگر الکتروشیمیایی مجهز به نانوکامپوزیت ممکن است ابزار بالقوه ارزشمندی برای توسعه طیف وسیعی از تشخیص‌های بالینی ارائه دهد (۳۹).



شکل-۶. الایزای الکتروشیمیایی: الف) آماده‌سازی حسگر الکتروشیمیایی. بین هر مرحله، یک فرآیند شستشوی اضافی معرفی می‌شود، ب) یک فرآیند گام‌به‌گام شامل استفاده از نمونه، آنتی‌بادی تشخیص بیوتینیله، مزدوج پلیمریزه شده از استرپتاویدین و پراکسیداز ترب کوهی و رسوب TMB، ج) تراشه الکترود طلای مسطح متشکل از چهار الکترود کاری مجزا (WE ۱-۴)، الکترود شمارنده مشترک (CE) و الکترود شبه مرجع مشترک (RE) که امکان ساخت چهار حسگر جداگانه را در مساحتی کوچکتر از ۲/۵×۷ میلی‌متر فراهم می‌کند (۳۹).

ستاتادکس یک تیم چند رشته‌ای در موسسه ویس است که یک فناوری حسگر الکتروشیمیایی قابل حمل مبتنی بر تمایل را به عنوان یک پلتفرم تشخیصی چندگانه و کم هزینه توسعه داده که می‌تواند به طور همزمان طیف وسیعی از نشانگرهای زیستی با حساسیت و گزینش‌پذیری بالا را در حجم کمی از خون یا سایر مایعات بیولوژیکی پیچیده شناسایی و کمی کند که برای بیماری‌های عصبی، قلبی عروقی و کلیوی استفاده می‌شود. کشف اساسی که توسط این تیم انجام شد، یک پوشش جدید نانوکامپوزیتی ضد رسوب بود که الکترودهای حسگرهای الکتروشیمیایی را قادر می‌سازد تا در برابر حمله مولکول‌های رسوب زیستی موجود در سیالات زیستی مختلف از جمله خون مقاومت کنند. در نتیجه، قابلیت‌های سنجش الکترودها در طول هفته‌ها استفاده مداوم حفظ می‌شود و سیگنال‌های

پس‌زمینه تداخل احتمالی به حداقل می‌رسد. سپس این تیم الکترودهای پوشش داده شده خود را با فرآیندی ادغام کردند که باعث تشکیل رسوب شیمیایی در محلول و قرارگیری آن روی سطح الکترود در پاسخ به اتصال یک بیومولکول هدف می‌شود. این امر رسانایی الکتریکی الکترود را تغییر می‌دهد که با استفاده از یک بازخوانی الکترونیکی به راحتی قابل تشخیص است. فرآیند رسوب را می‌توان به طور مستقل بر روی الکترودهای همسایه یک آرایه الکترود انجام داد، با هر الکترود نشانگر زیستی متفاوتی را بدون تداخل سیگنال تشخیص داد و رسوب متصل به الکترود را می‌توان به طور پایدار برای بیش از یک هفته حفظ کرد. نکته مهم این است که پوشش ضد رسوب می‌تواند برای جاسازی پروب‌ها برای طیف وسیعی از نشانگرهای زیستی، از جمله پروتئین‌ها، آنتی‌بادی‌ها، متابولیت‌ها، هورمون‌ها و مولکول‌های RNA، که می‌توانند به طور همزمان در یک قطره خون یا بزاق با استفاده از آرایش الکترود مالتی پلکس شناسایی شوند، استفاده شود. از سال ۲۰۲۲، این تیم در حال ادغام قابلیت تشخیص و کمیت همزمان حداکثر ۳۰ نشانگر زیستی است (۴۰).

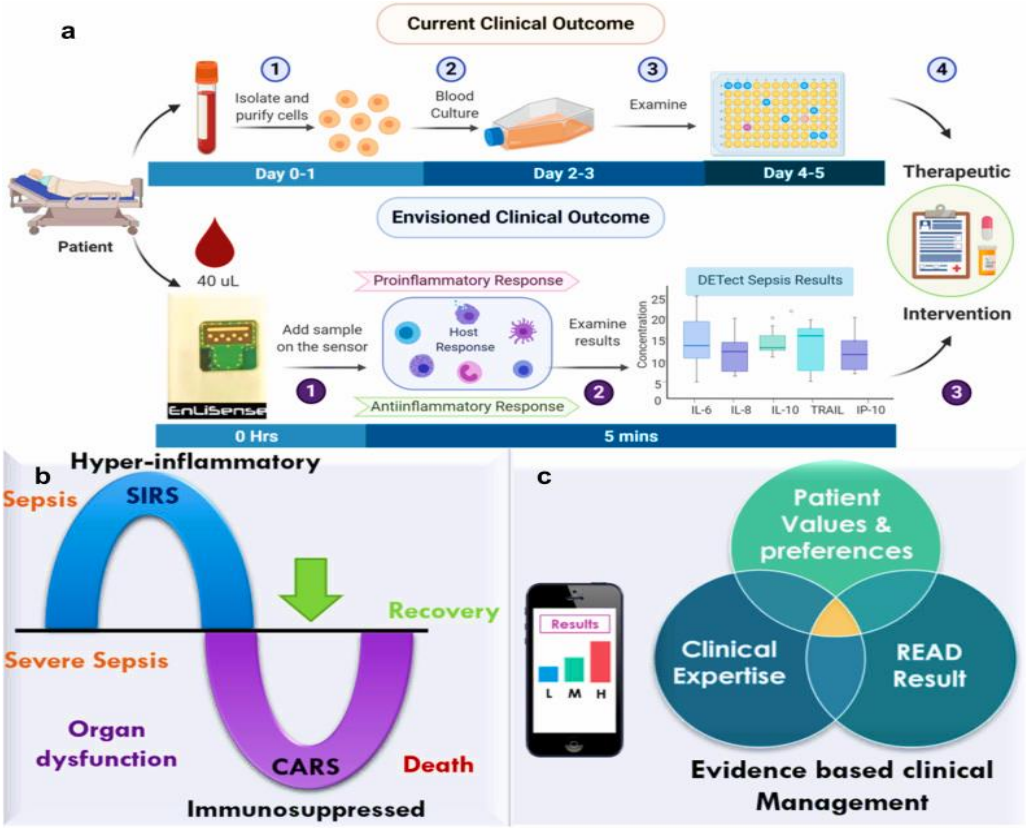


شکل-۷. eRapid: تشخیص الکتروشیمیایی چندگانه بیماری‌های پیچیده (۴۰).

غربالگری سریع و کنترل مکرر پاسخ‌های ایمنی برای تصمیم‌گیری‌های آگاهانه مبتنی بر شواهد در ساعات اولیه ورود بیمار بسیار مهم است. فناوری‌های کنونی بر شناسایی پاتوژن تمرکز دارند که فاقد آزمایش سریع پاسخ ایمنی بیمار است و پزشکان را از ارائه درمان مناسب سپسیس باز می‌دارد. موتوکومار و پراساد در سال ۲۰۲۰ دستگاه جدیدی را برای اولین بار دستگاه DETecT (تکنیک مستقیم الکتروشیمیایی هدف قرار دادن سپسیس) ارائه کردند که از یک رویکرد منحصربه‌فرد با کنترل مستقیم بر پنج نشانگر زیستی سایتوکاین استفاده که به عنوان نشانه‌ای از پاسخ ایمنی میزبان بدن به سپسیس، نسبت داده می‌شود. دستگاه مراقبت بر بالین توسعه یافته شامل یک حسگر یکبار مصرف متصل به یک خواننده الکتروشیمیایی است. حساسیت بالا به دلیل طراحی منحصربه‌فرد حسگر با آرایه‌ای از نانوفیلم نیمه‌رسانا/ الکترود فلزی، که با گیرنده‌های زیستی اختصاصی عامل‌دار شده برای اندازه‌گیری نشانگرهای هدف به طور همزمان با استفاده از طیف‌سنجی امپدانس الکتروشیمیایی غیر فارادیک، به دست می‌آید. در این روش، آنالیت هدف به آنتی‌بادی اختصاصی در داخل لایه دوگانه متصل می‌شود. مکانیسم میل ترکیبی آنتی‌بادی- آنتی‌ژن در سراسر هر الکترود کار رخ می‌دهد. در حالی که نسخه ۱.۰ این دستگاه تشخیص همزمان پنج سایتوکاین (IL-۶، IL-۸ و IL-۱۰، لیگاند القاکننده آپوپتوز مرتبط با TNF و پروتئین القا شده با اینترفرون گاما ۱۰) را در پلاسما نشان داد (۴۱).

در سال ۲۰۲۲ این تیم به نسخه دو، ۳ نشانگر زیستی دیگر (CRP، فاکتور تحریک‌کننده کلنی گرانولوسیت و d-dimer اضافه کرد و سیستمی با ۱۶ الکترود کار در تماس با نمونه‌های خون کامل را نشان می‌دهد. دستگاه (سپسیس DeTecT) ۲، تشخیص همزمان هشت نشانگر زیستی سیتوکین را با یک الگوریتم ماشینی برای پیش‌بینی نتایج یکپارچه کرد. برای جلوگیری از تداخل اجزای خون کامل، دستگاه بهینه‌سازی شده از زمان‌های تجزیه و تحلیل کوتاه‌تر، حجم نمونه بالاتر (۱۰۰ میلی‌لیتر) و محدوده فرکانس نمونه کوچک‌تر استفاده کرد (۴۲).

سنجش‌های مبتنی بر شمارشگر کولتر (Coulter-counter-based assays) پتانسیل منحصربه‌فردی را برای ارزیابی الکتریکی چندگانه پروتئین‌های در گردش پلاسما و پروتئین‌های متصل به سلول نشان می‌دهند. آزمایشگاه میکرو و نانوتکنولوژی در دانشگاه الینویز در سال ۲۰۱۷ یک فناوری ضبط شمارش افتراقی را گزارش کرده است که در یک پلتفرم میکروسیالی برای شمارش لکوسیت‌ها و تعیین کمیت سطح nCD۶۴ از یک نمونه خون کامل کوچک بدون هیچ‌گونه پردازش دستی استفاده می‌شود تعداد لکوسیت‌ها و بیان CD۶۴ روی نوتروفیل‌ها (nCD۶۴) به شدت با بهبود حساسیت و تشخیص سپسیس در شروع آن ارتباط دارد. یک چالش بزرگ فقدان یک دستگاه مراقبت بر بالین سریع و دقیق است که



شکل-۸. الف) تصویری از جدول زمانی بالینی کنونی در مقابل رویکرد سپسیس DETecT به عنوان آزمایش سریع نزدیک بیمار برای غربالگری شدت بیماری بر اساس سطوح نشانگر زیستی، ب) فاز بیش التهابی و سرکوب شده سیستم ایمنی در فرضیه سپسیس، ج) اثبات امکان‌سنجی در جهت ایجاد رویکرد مدیریت بالینی مبتنی بر شواهد با استفاده از ۴۰ نمونه بیمار (۴۱).

بتواند این اندازه‌گیری‌ها را از یک نمونه خون در دقیقه انجام دهد. اندازه‌گیری‌های ریزتراشه همبستگی بسیار خوبی با نتایج فلوسایتومتر نشان داده‌اند. در این مطالعات بالینی، از ریزتراشه میکروسیالی برای نظارت بر تعداد لکوسیت‌ها و سطوح nCD۶۴ از خون بیماران در زمان‌های مختلف اقامت آن‌ها در بیمارستان استفاده شد. در این روش، یک محفظه جذب میکروسیال با الکترودهای ورودی و خروجی، کل سلول‌های گرفته شده را با شمارش افتراقی شمارش می‌کند. ویژگی این روش بر اساس استفاده از آنتی‌بادی‌ها در محفظه جذب است (۴۳).

چندین سطح نشانگر زیستی ایمنی، از جمله IL-۶، ارتباط بالایی با شروع و پیشرفت سپسیس نشان داده‌اند. در ادامه پژوهشگران دانشگاه الینویز در سال ۲۰۱۸ از یک پلتفرم ریزتراشه میکروسیالی را برای تشخیص پروتئین‌ها در نمونه‌های پلاسمای رقیق نشده انسانی گزارش کردند. این دستگاه از یک پلتفرم شمارش دیفرانسیل استفاده می‌کند که اصول شمارش کولتر محفظه‌های جذب اختصاصی آنتی‌ژن و تشخیص ایمنی مبتنی بر میکروبیدها را برای تعیین کمیت سایتوکاین‌ها یکپارچه می‌کند. در ترکیب با برنامه‌های قبلی، این پلتفرم مراقبتی می‌تواند به طور بالقوه بیومارکرهای سلولی و پروتئینی را به طور همزمان برای طبقه‌بندی سپسیس شناسایی کند (۴۴).

در سال ۲۰۲۰ این تیم از میکروبیدهای کوچک در دسترس تجاری برای تشخیص IL-۶ و پروکلسی‌تونین استفاده کرد. این تیم بر اساس سنجش تک پروتئین که در سال ۲۰۱۸ به آن دست یافته بود به سمت قابلیت‌های تشخیص چندگانه با هدف اندازه‌گیری پروتئین همزمان از یک نمونه را ارائه داد (۴۵).

آزمایشگاه میکرو و نانوتکنولوژی دانشگاه الینویز به عنوان آخرین دستاورد خود در این زمینه با در نظر گرفتن تشخیص سریع، کم‌هزینه و چندگانه بیومولکول که یک هدف مهم در توسعه تشخیص مولکولی مؤثر است و با توجه به کارهای قبلی خود و دستیابی به یک دستگاه تراشه زیستی میکروسیالی که می‌تواند یک هدف پروتئینی با حساسیت بالا را به صورت الکتریکی کمی کند. این پلتفرم یک آنالیت هدف را با شمارش و گرفتن بیدهای میکرونی در پاسخ به یک سنجش ایمنی روی سطح بید شناسایی و کمی می‌کند. با همکاری آزمایشگاه هان این تیم میکروذرات جدیدی را با مهندسی دقیق معرفی کرد که در نهایت به مالتی پلکس الکتریکی پیشرفته دست یافت. با استفاده از سیستم میکروفلوییدیک مبتنی بر قطره، سنتز یکنواخت میکروبیدهای هیدروژل مغناطیسی با خواص مورد نیاز برای عامل‌سازی و شمارش الکتریکی چندگانه به‌دست آورد. هر جمعیت از میکروبیدها به گونه‌ای طراحی شده بود که حاوی مقدار متفاوتی از مواد هیدروژل باشد، که منجر به یک

شکل-۹. روش اندازه‌گیری ریزتراشه زیستی. روش خارج از تراشه: اول، ابتدا پلاسما پس از سانتریفیوژ از خون جدا شد. سپس، نمونه پلاسما حاوی اینترلوکین-۶ با محلولی از میکروبیدهای حاوی آنتی‌بادی اینترلوکین-۶ (که قبلاً کونژوگه شده بود) انکوبه شد. پس از مراحل شستشو، سوسپانسیون آنتی‌بادی شماره ۲ بیوتین‌دار نیز برای به دست آوردن مجموعه ایمونواسی ساندویچ انکوبه شد. روش روی تراشه: ابتدا بیدهای اصلاح شده از طریق پیشخوان ورودی جریان یافتند. بیدهای حاوی بیوتین به طور اختصاصی در در محفظه استرپتاویدین + البومین سرم گاوی مسدود شد. متعاقباً، دانه‌های بدون اینترلوکین-۶ (و در نتیجه بدون بیوتین) از طریق شمارنده خروجی جریان یافتند. در نهایت، تجزیه و تحلیل شمارش انجام شد و غلظت IL-۶ کمی‌سازی شد (۴۴).

امپدانس الکتریکی منحصربه‌فرد می‌شود. این تیم تحقیقاتی با ترکیب دانه‌های هیدروژل، تشخیص مولکول‌های زیستی پروتئین و هدف DNA را نشان داد (۴۶). در جدول ۲ خلاصه‌ای از نتایج این بخش آورده شده است.

دستگاه‌های مبتنی بر زیست حسگری الکتروشیمیایی برای تشخیص باکتری‌ها

شناسایی سریع و دقیق پاتوژن‌هایی که باعث سپسیس در نمونه‌های بالینی و در محل مراقبت می‌شوند، یک هدف چالش برانگیز بوده است. حساسیت بالا، زمان کوتاه برای رسیدن به نتایج و هزینه کم اجزای مهمی برای دستگاه‌های POC هستند. به طور خاص، در این بخش بر روی دستگاه هایی متمرکز شده که قادر به شناسایی باکتری‌ها هستند، زیرا عفونت‌های باکتریایی باعث بیشتر موارد سپسیس می‌شوند و تشخیص بدون کشت آن‌ها در غلظت-های پایین مورد توجه ویژه است. فناوری‌های الکتریکی که باکتری‌ها را شناسایی می‌کنند شامل روش‌های الکتروشیمیایی و بدون کشت هستند. روش‌های دیگر شامل آزمایش حساسیت الکتریکی است (۴۷).

تشخیص و شناسایی باکتری‌ها در حال حاضر به مراحل غنی‌سازی مانند کشت باکتری و تکثیر اسید نوکلئیک برای افزایش غلظت آنالیت‌های هدف بستگی دارد. این مراحل زمان سنجش، هزینه و پیچیدگی را افزایش می‌دهند و انجام یک آزمایش واقعاً سریع مراقبت بر بالین را دشوار می‌کنند. تیم سلیمانی در سال ۲۰۲۱ در دانشگاه مک مستر مجموعه‌ای از روش‌های بدون کشت را برای تعیین کمی باکتری‌ها به روش الکتریکی از نمونه‌های ادرار بالینی در کمتر از ۱ ساعت توسعه دادند. در این روش، DNAzyme جداکننده RNA الکترواکتیو مخصوص اهداف پروتئینی آزاد شده توسط باکتری اشریشیاکلی را در یک تراشه الکتریکی با الکترودهای نانوساختار یکپارچه کرد. برهم کنش بین DNAzyme و پروتئین‌های باکتریایی منجر به برش DNAzyme شده و باعث انتشار یک بارکد DNA قابل تشخیص می‌شود. حد تشخیص اولیه 10^3 واحد تشکیل کلنی بر میلی‌لیتر به‌دست آمد (۴۸). در ادامه در سال ۲۰۲۲ تیم سلیمانی دانه‌های مغناطیسی میکروژل چند منظوره برای تثبیت DNAzyme در یک داربست هیدراته و سه‌بعدی و الکترودهای سلسله مراتبی برای بازخوانی الکتروشیمیایی فوق حساس برنامه‌ریزی کرد. تجزیه و تحلیل سریع باکتریایی در ادرار رقیق نشده و فرآوری نشده جمع‌آوری شده از بیماران علامت‌دار مشکوک به عفونت‌های دستگاه ادراری انجام شد. سنجش بیدهای مغناطیسی میکروژل توانایی کونژوگاسیون بسیار کارآمد و هیدراتاسیون DNAzyme تثبیت شده را دارد و با استفاده از یک سنجش بید مغناطیسی میکروژل با DNAzymes تشخیص به ۱۳۸ CFU/ml در ادرار فرآوری‌نشده افزایش یافت (۴۹).

آزمایشگاه مرکوس در سال ۲۰۱۸ روش‌های مختلف الکتروشیمیایی را برای شناسایی باکتری‌ها بررسی و یک استراتژی کم هزینه برای تشخیص ساده و سریع سلول‌های باکتریایی در ماتریکس‌های بیولوژیکی را ارائه کرد. اشریشیا کلی و سالمونلا تیفی موریوم به عنوان باکتری مدل برای توسعه یک روش الکتروشیمیایی بر اساس نانوپوسته‌های طلا/ نقره انتخاب شدند. با بهره‌گیری از خواص الکتروکاتالیستی آن‌ها برای تولید درجا سیگنال الکتروشیمیایی بدون نیاز به هر نوع معرف، بستر یا آنزیم ردوکس، حساسیت بالایی (تا 10^2 واحد تشکیل کلنی بر میلی‌لیتر) به‌دست آمد. علاوه بر این، تشخیص و تمایز سلول‌های باکتریایی مدل در ماتریس نمونه تنها با تکیه بر برهم‌کنش‌های میل غیراختصاصی بین دیواره‌های سلولی و سطح نانوپوسته‌های طلا/ نقره، اجتناب از استفاده از گیرنده‌های بیولوژیکی گران قیمت و شکننده امکان‌پذیر بود. پس از اتصال به سلول‌ها، توده‌های نانوپوسته‌ها با استفاده از الکترودهای

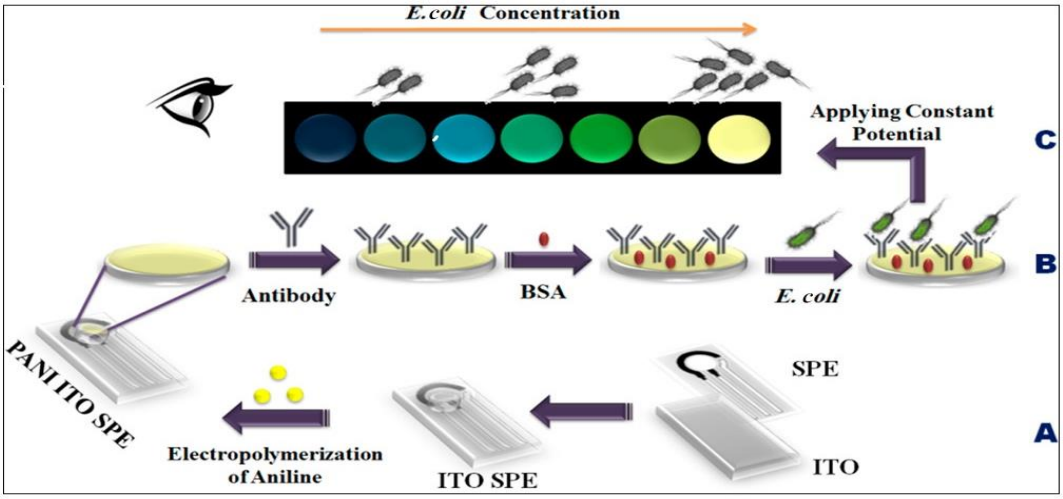
جدول-۲. خلاصه‌ای از جزئیات تحقیقات دستگاهای مبتنی بر الکتروشیمیایی برای نشانگرهای زیستی پروتئین

ردیف	فناوری	آنالیت	محیط نمونه	حد تشخیص	نمونه بالینی	منبع
۱	نانوکامپوزیت سه بعدی دوپ شده با نانومواد رسانا برای حسگر زیستی الکتروشیمیایی	اینترلوکین-۶	پلاسمای فرآوری نشده	۲۳ پیکوگرم بر میلی‌لیتر	خیر	(۳۸)
۲	حسگر زیستی الکتروشیمیایی مبتنی بر میل ترکیبی با گرافن فعال	پروکلسی‌تونین، پروتئین واکنشی سی، الگوهای مولکولی مرتبط با پاتوژن، syndecan-۱	سرم رقیق نشده: ۵۰٪ پروکلسی‌تونین خون کامل: همه اهداف	پروکلسی تونین سرم ۶۴/۵ پیکوگرم بر میلی‌لیتر و پروکلسی تونین خون کامل ۲۴/۷ پیکوگرم بر میلی‌لیتر پروتئین واکنشی سی ۰/۴۹۲ میلی گرم بر میلی‌لیتر، الگوهای مولکولی مرتبط با پاتوژن ۴/۱ نانوگرم بر میلی‌لیتر، syndecan-۱ ۰/۹ نانوگرم بر میلی‌لیتر	۲۱ نمونه سرم (فقط آزمایش پروکلسی-تونین)	(۳۹)
۳	دستگاه طیف‌سنجی امپدانس الکتروشیمیایی	اینترلوکین-۶، اینترلوکین-۸، اینترلوکین-۱۰، لیگاند القاءکننده آپوپتوز مرتبط با TNF و پروتئین القاء شده با اینترفرون گاما ۱۰	پلاسمای رقیق نشده	اینترلوکین-۶ و اینترلوکین-۸ ۰/۱ پیکو گرم بر میلی‌لیتر اینترلوکین-۱۰ و لیگاند القاءکننده آپوپتوز مرتبط با TNF ۱ پیکوگرم بر میلی‌لیتر،	۲۰ نمونه پلاسما سپتیک و ۲۰ نمونه غیر سپتیک	(۴۱)
۴	دستگاه طیف‌سنجی امپدانس الکتروشیمیایی	اینترلوکین-۶، اینترلوکین-۸، اینترلوکین-۱۰، لیگاند القاکننده آپوپتوز مرتبط با TNF، پروتئین القاء شده با اینترفرون گاما ۱۰، پروتئین واکنشی سی، فاکتور تحریک کننده کلنی گرانولوسیت و d-dimer	خون کامل	گزارش نشده است	۳۰ نمونه سپتیک و ۱۰ نمونه خون کامل سالم حساسیت ۱۰۰٪؛ اختصاصیت ۷۵٪	(۴۲)
۵	پلتفرم زیست تراشه ایمونوکپچر	CD۶۴	خون کامل	گزارش نشده است	۷۶ نمونه سپتیک، ۳۶۸ نمونه خون کامل غیرعفونی	(۴۳)
۶	پلتفرم زیست تراشه ایمونوکپچر	اینترلوکین-۶	پلاسما	۱۲۲ پیکوگرم بر میلی‌لیتر	۱۵ نمونه پلاسما از بیماران بالقوه سپتیک	(۴۴)
۷	پلتفرم زیست تراشه ایمونوکپچر	اینترلوکین-۶ و پروکلسی-تونین	بافر	اینترلوکین-۶ ۱۵۰ پیکو گرم بر میلی‌لیتر و پروکلسی تونین ۱۳۰ پیکوگرم بر میلی‌لیتر	خیر	(۴۵)

کربن چاپ‌شده روی صفحه شناسایی شدند. در مقایسه با تست‌های تحلیلی سنتی و مبتنی بر آزمایشگاه موجود، این روش یک جایگزین امیدوارکننده اثبات مفهوم را ارائه می‌دهد که علاوه بر هزینه کم، امکان دستیابی به حساسیت‌ها و انتخاب‌پذیری خوبی را در زمان‌های بسیار کوتاه فراهم می‌کند (۵۰).

این تیم در سال ۲۰۱۹ یک سنجش جدید را بر اساس تبدیل یک سیگنال الکتروشیمیایی به یک خواندن نوری راحت‌تر برای تشخیص بصری اشریشیاکلی ارائه کرد (شکل ۱۰). پلی آنیلین الکتروپلیمریزاسیون (PANI) بر روی الکترود چاپ شده با صفحه نمایش اکسید قلع ایندیم، نه تنها به خواص الکتروکرومیک مورد نظر دست یافت، بلکه به یک روش مناسب برای اصلاح سطح الکترود با آنتی‌بادی‌ها نیز دست یافت (با بهره‌گیری از بسیاری از گروه‌های آمین پلی آنیلین). اعمال یک پتانسیل ثابت به الکترود چاپ شده با صفحه نمایش اکسید قلع ایندیم اصلاح شده با پلی آنیلین باعث ایجاد تغییر در حالت اکسیداسیون آن‌ها می‌شود که به نوبه خود باعث ایجاد تغییر رنگ در سطح الکترود می‌شود. وجود اشریشیاکلی بر روی سطح الکترود مقاومت در مدار را افزایش می‌دهد که بر حالت‌های اکسیداسیون پلی آنیلین تأثیر می‌گذارد و

پاسخ الکتروکرومیک متفاوتی را ایجاد می‌کند. در این کار نشان داده شد که ادغام سیستم الکتروشیمی با یک خوانش نوری می‌تواند یک کلاس جدید و قدرتمند از حسگرهای زیستی با کاربردهای بالقوه نامحدود در زمینه‌های مختلف ایجاد کند. اگرچه این دستگاه برای پایش آب استفاده شد، محققان معتقدند که می‌توان آن را برای استفاده با نمونه‌های بالینی نیز تطبیق داد (۵۱).



شکل-۱۰. شماتیک و عملکرد حسگر الکتروکرومیک پیشنهادی. الف) طرح ساخت و استفاده حسگر، ب) اصلاح سطح حسگر به منظور شناسایی باکتری، ج) حالت‌های مختلف اکسیداسیون پلی آنیلین با رنگ‌های نسبی آن‌ها و ارتباط آن‌ها با غلظت اشریشیاکلی (۵۱).

آزمایشگاه گوئل در سال ۲۰۲۲ یک پلتفرم ساده، مقرون به صرفه و مینیاتوری آزمایشگاهی روی یک تراشه ساخته شده است که برای انجام کشت و شناسایی همزمان باکتری‌ها سازگار است. یک محفظه میکروسیال برای تشخیص الکتروشیمیایی باکتری‌ها به الکترودهای چاپ شده روی صفحه ادغام شد. دمای مورد نیاز برای کشت باکتری از طریق گرمکن‌های گرافنی القاءشده با لیزر بهینه‌سازی شد. برای بررسی رشد باکتری‌ها از تکنیک‌های ولتامتری چرخه‌ای و کرونوآمپرومتری استفاده شد. دستگاه به حد تشخیص ۲×۱۰^{۴} واحد تشکیل کلنی بر میلی‌لیتر دست یافت و با جایگزینی انکوباسیون باکتریایی معمولی با میکروسیال، زمان انکوباسیون را کاهش داد. غلظت باکتری‌ها به طور دقیق با سیستم سه الکترودی بدون نیاز به تغییرات بیولوژیکی در الکترودها اندازه‌گیری شد. زنده ماندن باکتری‌های کشت شده در دستگاه میکروسیال نیز از طریق تصویربرداری فلورسنت تائید شد. علاوه بر این، فعالیت متابولیک باکتری‌های کشت شده از طریق یک سلول سوختی میکروبی کوچک شده تائید شد. همچنین ویژگی الکترودها نیز از طریق تکنیک الکتروشیمیایی انجام شد. در نهایت، یک پلتفرم آزمایشگاه روی تراشه دستی و قابل حمل با بسته‌بندی سه‌بعدی، ادغام شده با یک پتانسیواستات قابل حمل برای کاربردهای آنی و در میدان ساخته شد (۵۲).

تشخیص دقیق و به موقع پاتوژن‌های باکتریایی مدیریت بالینی عفونت‌ها را بهبود می‌بخشد. وانگ و همکاران در سال ۲۰۱۷ یک زیست حسگر الکتروشیمیایی را ارائه دادند که مستقیماً باکتری‌ها را در نمونه‌های خون انسان تشخیص می‌دهد و منجر به تشخیص سریع عفونت در جریان خون می‌شود. زیست‌حسگر چندگانه توالی‌های اختصاصی گونه‌ای از RNA ریبوزومی S۱۶ باکتری را برای شناسایی پاتوژن در نمونه‌های فیزیولوژیکی بدون پیش تکثیر تشخیص می‌دهد. ویژگی‌های عملکرد تحلیلی حسگر زیستی، از جمله حد تشخیص و واکنش متقابل پروب، به طور سیستماتیک ارزیابی می‌شوند. امکان‌سنجی زیست حسگر برای تشخیص عفونت جریان خون با شناسایی بالینی باکتریایی نشان داده می‌شود. زیست حسگر برای تشخیص عفونت جریان خون با شناسایی ایزوله‌های بالینی باکتریایی که در نمونه‌های خون کامل و کشت خون که برای باکتری‌ها مثبت بوده، نشان داده می‌شود. زیست‌حسگر الکتروشیمیایی به درستی تمام گونه‌های موجود در نمونه‌ها را با تطابق ۱۰۰٪ با آنالیز میکروبیولوژیکی شناسایی می‌کند. الکترودهای عامل‌دار با پروب‌های جذب DNA نیز برای ایجاد حسگرهای الکتروشیمیایی که قادر به تجزیه و تحلیل استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیاکلی، سودوموناس آئروژینوزا و پروتئوس میرابیلیس در نمونه‌های خون کامل در عرض ۱ ساعت هستند، استفاده شده است. این دستگاه متشکل از ۱۶ حسگر طلا است که در آن الکترود مرکزی کار با گیرنده‌های DNA تیول دار عامل‌دار شده است. این رویکرد از یک طرح اتصال ساندویچ با یک پروب گیرنده و یک پروب آشکارساز DNA (مرتبط با HRP) برای تشخیص RNA ریبوزومی استفاده کرد. این دستگاه به حساسیت $۱۰^{۴}$ واحد تشکیل کلنی بر میلی‌لیتر دست یافت که استفاده از آن را در موارد سپسیسی که ناشی از غلظت‌های پایین‌تر باشد را محدود می‌کند (۵۳).

جدول-۳. خلاصه‌ای از جزئیات تحقیقات دستگاه‌های مبتنی بر الکتروشیمیایی برای تشخیص باکتری‌ها

ردیف	فناوری	آنالیت	محیط نمونه	حد تشخیص	نمونه بالینی	منبع
۱	روش DNAzyme برش دهنده RNA الکترواکتیو	اشریشیا کلی	بافر و ادرار	10^3 واحد تشکیل کلنی بر میلی‌لیتر	۳۰ نمونه اشریشیا کلی مثبت، ۶ کشت مثبت، اشریشیا کلی منفی، ۵ نمونه ادرار منفی کشت	(۴۸)
۲	سنجش بید مغناطیسی میکروژل با DNAzymes	اشریشیا کلی	بافر و ادرار	۶ واحد تشکیل کلنی بر میلی‌لیتر در بافر و ۱۳۸ واحد تشکیل کلنی بر میلی‌لیتر در ادار	حساسیت ۱۰۰٪؛ اختصاصیت ۷۸٪، ۴ نمونه اشریشیاکلی مثبت؛۲ کشت مثبت، اشریشیاکلی منفی؛ ۲ نمونه ادرار منفی کشت	(۴۹)
۳	حسگر نانوپوسته طلا/نقره	اشریشیا کلی	بافر	10^2 واحد تشکیل کلنی بر میلی‌لیتر	خیر	(۵۰)
۴	پلی آنیلین الکتروپلیمریزه بر روی یک الکترود صفحه چاپی	اشریشیا کلی	بافر	10^2 واحد تشکیل کلنی بر میلی‌لیتر	خیر	(۵۱)
۵	آزمایشگاه روی تراشه یکپارچه الکترود	اشریشیا کلی	محیط کشت لوریا برتانی	2×10^4 واحد تشکیل کلنی بر میلی‌لیتر	خیر	(۵۲)
۶	حسگر زیستی RNA s۱۶ الکتروشیمیایی	اشریشیا کلی	محیط کشت، خون کامل	10^4 واحد تشکیل کلنی بر میلی‌لیتر (اشریشیا کلی در محیط کشت) ۱۰۸ واحد تشکیل کلنی بر میلی‌لیتر برای همه باکتری‌های آزمایش شده در خون کامل	خیر	(۵۳)

چالش‌های فعلی و آینده

تشخیص سریع و دقیق سپسیس، یکی از چالش‌های بزرگ در مدیریت بیماری‌های حاد است که می‌تواند تأثیر مستقیمی بر نتیجه بیماری و بقا داشته باشد. در این راستا، دستگاه‌های مراقبت بر بالین الکتروشیمیایی اخیراً به عنوان ابزارهای مؤثر برای تشخیص سریع سپسیس مورد توجه قرار گرفته‌اند. این دستگاه‌ها قادر به شناسایی جداگانه نشانگرهای زیستی مانند اینترلوکین-۶، پروکلسی‌تونین، CRP، نشانگرهای زیستی سطح سلول مانند CD۶۴ و حتی باکتری‌ها از نمونه‌های بالینی هستند. اما با وجود پیشرفت‌های اخیر، هنوز چالش‌هایی وجود دارد که باید قبل از استفاده گسترده از این دستگاه‌ها حل شوند.

تشخیص چندگانه

تاکنون، اندازه‌گیری و کنترل پاسخ ایمنی میزبان در بیماران با استفاده از شمارش سلولی، نشانگرهای زیستی سطح سلولی و پروتئین‌های در گردش پلاسما به عنوان ابزارهای مهمی در تشخیص و پیگیری بیماری‌ها و وضعیت سلامتی استفاده می‌شود. اما به دلیل چالش‌های فنی و فناوری، ایجاد یک دستگاه کامل که بتواند این معیارها را به صورت همزمان و دقیق از یک نمونه خون اندازه‌گیری کند، همچنان یک چالش بزرگ برای پژوهش‌ها و صنعت است. این فقدان فناوری، راه‌های بالقوه برای تشخیص چندگانه را محدود می‌کند، زیرا دستیابی به درک کامل و جامع از وضعیت بیمار نیازمند آزمایش‌های متعدد است. به عنوان مثال، نشان داده شده است که اندازه‌گیری ترکیبی از CRP و سلول‌های CD۶۴ تا حد زیادی تشخیص سپسیس را بهبود می‌بخشد، با این حال، در حال حاضر، باید با استفاده از دو آزمایش جداگانه انجام شود. به دست آوردن «اثر انگشت» نشانگر زیستی دقیق بیمار، امکان تشخیص واضح، عملی و درمان فردی موفق را فراهم می‌کند. فناوری‌های مبتنی بر شمارشگر کولتر که می‌توانند با نمونه‌های خون کامل کار کنند، پتانسیل غلبه بر این محدودیت‌ها را دارند. فناوری‌های مبتنی بر شمارشگر کولتر، که از اصول فیزیکی مانند اندازه‌گیری تغییرات حجم سلول‌ها برای تشخیص و شمارش آن‌ها استفاده می‌کنند، به عنوان یکی از راه‌حل‌های بالقوه برای این چالش‌ها مطرح شده‌اند. این فناوری‌ها قادر به شمارش سلول‌ها، اندازه‌گیری ویژگی‌های سطحی سلول‌ها و تشخیص تغییرات در ترکیب پروتئین‌های در گردش در نمونه‌های خون هستند. با این حال، برای استفاده از این فناوری‌ها در زمینه پاسخ ایمنی، نیاز به توسعه و بهینه‌سازی روش‌هایی است که بتوانند نشانگرهای زیستی خاصی که مرتبط با پاسخ ایمنی هستند، را به طور دقیق تشخیص دهند. این شامل بهینه‌سازی روش‌های نمونه‌برداری، پیش‌پردازش نمونه و توسعه روش‌های تحلیل داده است. با پیشرفت‌های اخیر در زمینه فناوری‌های شمارشگر کولتر و دیگر فناوری‌های مرتبط، امید است دستگاه‌هایی تولید شوند که امکان شمارش و تحلیل همزمان و دقیق نشانگرهای زیستی سطح سلولی و پروتئین‌های در گردش را از یک نمونه خون فراهم کنند. این اقدامات می‌توانند بهبود قابل توجهی در تشخیص، پیگیری و درمان بیماری‌ها، به ویژه در مواردی مانند سپسیس ایجاد کنند (۵۴).

نیاز به سیستم یکپارچه

هوش مصنوعی این پتانسیل را دارد که تشخیص به موقع و دقیق سپسیس را ارائه دهد و به طور بالقوه بهتر از علایم هشدار بالینی فعلی، که مبتنی بر مدل‌های ریاضی پیچیده نیستند، عمل کند. پیش‌بینی اولیه سپسیس را می‌توان با توسعه یک سیستم پشتیبانی تصمیم بر اساس الگوریتم‌های یادگیری ماشین آموزش‌دیده بر روی داده‌های بیمار معمولاً بر اساس سوابق پزشکی الکترونیکی، سیگنال‌های زیست پزشکی و یا نتایج آزمایشگاهی به دست آورد. از این رو توسعه یک سیستم یکپارچه که از طریق هوش مصنوعی پشتیبانی می‌شود، به منظور پیش‌بینی پاسخ بیمار به درمان، یک گام مهم در پزشکی است. این سیستم می‌تواند با تجمیع اطلاعات بیماری، داده‌های بالینی و نشانگرهای زیستی به پزشکان کمک کند تا تصمیم‌گیری‌های بهتری برای درمان بیماران خود بگیرند. استفاده از هوش مصنوعی در این سیستم‌ها، این امکان را به پزشکان می‌دهد که با دقت بیشتری از وضعیت بیماری‌ها و پاسخ بیماران به درمان‌ها آگاه شوند. این سیستم‌ها می‌توانند الگوریتم‌های پیش‌بینی را با استفاده از داده‌های بیماران پیشین و داده‌های زمان واقعی، به‌روزرسانی کنند تا پاسخ به درمان‌ها را بهتر پیش‌بینی کنند. همچنین این سیستم‌ها می‌توانند به پزشکان اطلاعات جامع‌تری از نشانگرهای زیستی مهمی که ممکن است در پیش‌بینی پاسخ به درمان مؤثر باشند فراهم کنند (۵۵).

تشخیص دقیق از خون کامل

تا به حال، تعداد محدودی از فناوری‌های مراقبت بر بالین توانایی خود را در ارائه تشخیص حساس نشانگرهای زیستی مستقیماً از خون کامل به جای پلاسما نشان داده‌اند. استفاده از خون کامل به جای پلاسما از مزایایی برخوردار است که از جمله آن‌ها می‌توان به این نکته اشاره کرد که پردازش خون به پلاسما نیاز به یک دستگاه جداسازی دارد و این مرحله می‌تواند کاربرد دستگاه را برای آزمایش تشخیص در محل کاهش دهد. همچنین، در حالی که کار با تشخیص چندگانه نشانگرهای زیستی پروتئین در ۵۰ درصد خون کامل در غلظت‌های پروکلسی تونین بالا انجام شده است، اما پلتفرم‌های حساس‌تری که بتوانند نشانگرهای زیستی را در خون کامل در محدوده‌های مرتبط بالینی شناسایی کنند، مورد نیاز است (۵۶). برای بهبود دقت و حساسیت در تشخیص نشانگرهای زیستی در خون کامل، نیاز به توسعه پلتفرم‌هایی است که قادر به شناسایی نشانگرهای زیستی در شرایط و غلظت‌های مختلف باشند. این پلتفرم‌ها باید قابلیت تفکیک نشانگرهای زیستی مختلف را داشته باشند و قابلیت تطبیق با محیط بالینی و شرایط مختلف بیماری را داشته باشند. علاوه بر این، توسعه الگوریتم‌های هوش مصنوعی و یادگیری عمیق می‌تواند به توسعه سیستم‌های تشخیصی کمک کند تا اطلاعات بیشتری را از داده‌های بیماران جمع‌آوری کرده و با دقت بالاتری نشانگرهای زیستی را تشخیص دهند (۵۷).

تشخیص باکتری بدون کشت

دستیابی به تشخیص دقیق بدون کشت اولیه خون چالشی علمی است. آزمایش مالتی پلکسی که از کشت خون مثبت (یعنی پس از مراحل کشت خون) بهره می‌برد، فعلاً با استفاده از پانل Biofire FilmArray شناسایی کشت خون که توسط سازمان غذا و دارو آمریکا تأیید شده است، انجام می‌شود. این پانل قادر است با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز و تکنیک‌های تشخیص نوری به طور همزمان بیش از ۴۰ هدف پاتوژن را تشخیص دهد (۵۸).

به همین ترتیب، در حالی که تشخیص باکتری بدون کشت در نمونه‌های ادرار (خوانش الکتروشیمیایی) و در نمونه‌های خون کامل (خوانش نوری) گزارش شده است، آن‌ها در هر زمان تنها یک پاتوژن را شناسایی می‌کنند. مرحله بعدی دستیابی به تشخیص الکتروشیمیایی و مالتی پلکس بدون کشت باکتری در مراقبت بر بالین است، زیرا تشخیص مالتی پلکس به دلیل پیچیدگی سپسیس ضروری است. پانل باکتری T۲ مورد تائید سازمان غذا و دارو آمریکا، تشخیص مالتی پلکسی ۳–۵ ساعته ۵ عدد از رایج‌ترین باکتری عامل سپسیس اشریشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس، کلبسیلا پنومونیه، سودوموناس آئروژینوزا و انتروکوک فاسیوم را نشان داده است که ۶۱/۴ درصد از موارد سپسیس را در حساسیت ۲–۱۱ CFU/ml از نمونه خون کامل با استفاده از تکثیر اسید نوکلئیک و رزونانس مغناطیسی تشکیل می‌دهند (۵۹). با این حال، تشخیص در محل ممکن نیست و در حالی که پانل T۲Bacteria به سرعت و با دقت عفونت‌های جریان خون (BSIs) ناشی از ۵ باکتری در پانل را تشخیص می‌دهد. یک مطالعه نشان داد که ۴۰ درصد از نمونه‌های آزمایش شده ۵۸۱۴۶ بیمار با کشت خون منفی و نتایج T۲Bacteria مثبت) معیارهای احتمالی عفونت‌های جریان خون موجود را برآورده نمی‌کنند و نمونه‌ها به عنوان موارد مثبت کاذب فرضی تعریف شدند. بنابراین، گام بعدی در این زمینه کوچک‌سازی و افزودن قابلیت‌های چندگانه‌سازی به روش‌های تشخیص باکتری بدون کشت گزارش شده است (۶۰).

پردازش حجم زیاد

با توجه به غلظت کم باکتریایی که می‌تواند باعث سپسیس شود، تشخیص قابل اطمینان بدون کشت نیاز به مقدار زیادی خون دارد که نیاز به سیستم‌های تشخیصی دارد که می‌توانند مقادیر میلی‌لیتر را در چند ساعت یا کمتر پردازش کنند. در حال حاضر، پنل باکتری T۲، ۴–۳ میلی‌لیتر خون را پردازش می‌کند که ارزش حجم خون زیاد را در آزمایش‌های حساس بدون کشت برای باکتری نشان می‌دهد. زیرا حجم خون در بزرگسالان محدودیت قابل توجهی نیست (از آنجایی که ۴–۵ میلی‌لیتر به یکباره کشیده می‌شود)، تشخیص حساس باید با استفاده از آزمایش‌های‌های حجم کم اولویت داشته باشد (۶۱).

نتیجه‌گیری

تشخیص سپسیس در مراحل اولیه آن بسیار حیاتی است و

می‌تواند به درمان مؤثر بیماران سپسیس با شانس بالایی برای بهبودی فرد کمک کند. برای این منظور، توسعه و به‌کارگیری پروتکل‌های سنجش زیستی ساده و حساس بسیار مهم است که قادر باشند نشانگرهای زیستی سپسیس را در غلظت‌های بسیار کم در مایعات زیستی شناسایی کنند و همچنین عوامل بیماری‌زای باکتریایی را تشخیص دهند. در این مقاله، وضعیت فعلی دستگاه‌های تشخیص در محل الکتریکی و الکتروشیمیایی برای تشخیص سپسیس بررسی شده است. تکنیک‌های جدید و جذاب الکتریکی و الکتروشیمیایی توصیف شده و چالش‌های موجود در شناسایی بیومارکرهای مختلف سپسیس مورد بحث قرار گرفته است. همچنین، زمینه‌های تحقیقاتی برای غلبه بر این چالش‌ها پیشنهاد شده است. موفقیت آینده در استفاده از قدرت نرم‌افزارهای هوشمند و روش‌های یادگیری ماشینی به توسعه حسگرهای قوی و کوچک وابسته است. یافتن راه‌حل‌هایی در تخصص‌های مختلف علمی برای توسعه فناوری حسگرهای زیستی و مشارکت دادن محققان و کارشناسان مهندسی برای همکاری با یکدیگر برای حل چالش‌های پیچیده مربوط به توسعه سخت‌افزار حسگر زیستی بسیار مهم است. پلتفرم‌های الکتروشیمیایی که ویژگی‌هایی خاصی را نشان می‌دهند که با الزامات ابزارهای تحلیلی با دقت بالا برای تشخیص مولکولی مطابقت دارد، به عنوان یک مورد ویژه مدنظر قرار می‌گیرند. حسگرهای زیستی الکتروشیمیایی، توسعه دستگاه‌های انتخابی، حساس، با کاربری آسان و مقرون‌به‌صرفه و همچنین امکان کوچک‌سازی را برای ارائه دستگاه‌های مراقبت بر بالین چندتایی تسهیل می‌کنند. بنابراین کلید آینده این فناوری، توسعه دستگاه‌های مراقبت بر بالین مینیاتوری و چندگانه است. علاوه بر این، پلتفرم‌های اصلی الکتروشیمیایی که این تقاضا را برآورده می‌کنند، عمدتاً بر اساس دستگاه‌های میکروفلوییدیک و الکترودهای لایه نازک هستند. این تکنولوژی‌ها به دستگاه‌های سنجش زیستی امکاناتی ارائه می‌دهند که قادرند به طور دقیق بیومارکرهای سپسیس را تشخیص دهند و در نهایت به بهبود درمان و پیش‌بینی بیماری کمک کنند.

نکات بالینی کاربردی برای جوامع نظامی

- تشخیص و مدیریت سریع بیماری سپسیس در شرایط جنگی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است، چرا که این بیماری می‌تواند به سرعت در این وضعیت گسترش یافته و تهدیدی جدی برای سلامت سربازان باشد. پیشرفت‌های اخیر در فناوری‌های تشخیصی، مانند زیست‌حسگرهای الکتروشیمیایی، امکان شناسایی سریع و دقیق نشانه‌های سپسیس را فراهم کرده و به بهبود نتایج درمانی و کاهش مرگ‌ومیر کمک می‌کند. همچنین نظارت بر وضعیت فیزیولوژیکی قابل پوشیدن (WPSM)بخشی از پزشکی دقیق مدرن است که امکان پیش‌بینی سلامت و عملکرد فرد را از وضعیت فیزیولوژیکی زمان واقعی فراهم می‌کند. سیستم‌های RT-PSM دارای کاربردهای نظامی مفیدی هستند.

تضاد منافع: نویسندگان تصریح می‌کنند که هیچ‌گونه تضاد منافعی در مطالعه حاضر وجود ندارد.

منابع

1. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3). JAMA. 2016;315(8): 801-10. doi:10.1001/jama.2016.0287
2. Reddy Jr B, Hassan U, Seymour C, Angus DC, Isbell TS, White K, et al. Point-of-care sensors for the management of sepsis. Nat Biomed Eng. 2018;2(9):640-8. doi:10.1038/s41551-018-0288-9
3. Gupta E, Saxena J, Kumar S, Sharma U, Rastogi S, Srivastava VK, et al. Fast track diagnostic tools for clinical management of sepsis: Paradigm shift from conventional to advanced methods. Diagnostics. 2023;13(2):277. doi:10.3390/diagnostics13020277
4. van den Berg M, van Beuningen FE, ter Maaten JC, Bouma HR. Hospital-related costs of sepsis around the world: a systematic review exploring the economic burden of sepsis. J Crit Care. 2022;71: 154096. doi:10.1016/j.jcrc.2022.154096
5. Moftian N, Rezaei-Hachesu P, Arab-Zozani M, Samad-Soltani T, Esfandiari A, Tabib MS, et al. Prevalence of gram-negative bacteria and their antibiotic resistance in neonatal sepsis in Iran: a systematic review and meta-analysis. BMC Infect Dis. 2023;23(1):534. doi:10.1186/s12879-023-08508-1
6. Tang A, Shi Y, Dong Q, Wang S, Ge Y, Wang C, et al. Prognostic differences in sepsis caused by gram-negative bacteria and gram-positive bacteria: a systematic review and meta-analysis. Crit Care. 2023;27(1):467. doi:10.1186/s13054-023-04750-w
7. Lin GL, McGinley JP, Drysdale SB, Pollard AJ. Epidemiology and pathogenesis of viral sepsis. Front Immunol. 2018;9:2147. doi:10.3389/fimmu.2018.02147
8. Macias-Paz IU, Pérez-Hernández S, Tavera-Tapia A, Luna-Arias JP, Guerra-Cárdenas JE, Reyna-Beltrán E. *Candida albicans*: the main opportunistic pathogenic fungus in humans. Rev Argent Microbiol. 2023;55(2):189-98. doi:10.1016/j.ram.2022.08.003
9. Sinha M, Jupe J, Mack H, Coleman TP, Lawrence SM, Fraley SI. Emerging technologies for molecular diagnosis of sepsis. Clin Microbiol Rev. 2018;31(2): 10-128. doi:10.1128/cmr.00089-17

10. Ahuja N, Mishra A, Gupta R, Ray S. Biomarkers in sepsis-looking for the Holy Grail or chasing a mirage! World J Crit Care Med. 2023;12(4):188-203. doi:10.5492/wjccm.v12.i4.188
11. Chambliss AB, Devaraj S, Hinson JS, Katz SE, Kerbel RB, Ledeboer NA. New sepsis diagnostics and their impacts on clinical decision-making and treatment protocols. Clin Chem. 2024;70(2):361-7. doi:10.1093/clinchem/hvad211
12. Mohammadi S, Rahimi F, Rezayan AH, Mehrizi AA, Sedighi M. CRP and TNF-α Detection using Porous Silicon Substrate Based on Reflectometric Interference Fourier Transform Spectroscopy. J Adv Mater Eng. 2022;41(3):p1. doi:10.47176/jame.41.3.24551
13. Mahyari M, Hooshmand SE, Sepahvand H, Gholami S, Rezayan AH, Zarei MA. Gold nanoparticles anchored onto covalent poly deep eutectic solvent functionalized graphene: an electrochemical aptasensor for the detection of C-reactive protein. Mater Chem Phys. 2021;269:124730. doi:10.1016/j.matchemphys.2021.124730
14. Firoozbakhtian A, Rezayan AH, Hajghassem H, Rahimi F, Faraghi Ghazani M, Kalantar M, et al. Buried-gate MWCNT FET-based nanobiosensing device for real-time detection of CRP. ACS Omega. 2022;7(8):7341-9. doi:10.1021/acsomega.1c07271
15. Hosseinniay S, Rezayan AH, Ghasemi F, Malekmohamadi M, Taheri RA, Hosseini M, et al. Fabrication and evaluation of optical nanobiosensor based on localized surface plasmon resonance (LSPR) of gold nanorod for detection of CRP. Anal Chim Acta. 2023;1237:340580. doi:10.1016/j.aca.2022.340580
16. Takaloo S, Zand MM, Kalantar M, Rezayan AH. Detection of C-reactive protein using a flexible biosensor with improved bending life. J Electrochem Soc. 2023;170(5):057513. doi:10.1149/19457111/acd1bc
17. Rabiei MR, Rezayan AH, Hosseini M, Pebdeni AB. Electrochemical Aptasensor for Selective and Sensitive Detection of Staphylococcus aureus Using Graphene oxide/poly Deep Eutectic Solvent/Nickel Oxide Nanocomposite Modified Electrode. ChemistrySelect. 2024;9(3):e202302099. doi:10.1002/slct.202302099
18. Malekmohamadi M, Mirzaei S, Rezayan AH, Abbasi V, Abouei Mehrizi A. µPAD-based colorimetric nanogold aptasensor for CRP and IL-6 detection as sepsis biomarkers. Microchem J. 2024;197:109744. doi:10.1016/j.microc.2023.109744
19. Umemura Y, Ogura H, Takuma K, Fujishima S, Abe T, Kushimoto S, et al. Current spectrum of causative pathogens in sepsis: A prospective nationwide cohort study in Japan. Int J Infect Dis. 2021;103:343-51. doi:10.1016/j.ijid.2020.11.168
20. Siddiqui AH, Koirala J. Methicillin resistant Staphylococcus aureus. 2018.
21. Hanna M, Noor A. Streptococcus group B. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK553143/
22. World Health Organization. Sepsis. Available: https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/sepsis
23. Briggs-Steinberg C, Roth P. Early-onset sepsis in newborns. Pediatr Rev. 2023;44(1):14-22. doi:10.1542/pir.2020-001164
24. Shane AL, Sánchez PJ, Stoll BJ. Neonatal sepsis. Lancet. 2017;390(10104):1770-80. doi:10.1016/S0140-6736(17)31002-4
25. Wolthers KC, Benschop KS, Schinkel J, Molenkamp R, Bergevoet RM, Spijkerman IJ, et al. Human parechoviruses as an important viral cause of sepsislike illness and meningitis in young children. Clin Infect Dis. 2008;47(3):358-63. doi:10.1086/589752
26. Teparrukkul P, Hantrakun V, Day NP, West TE, Limmathurotsakul D. Management and outcomes of severe dengue patients presenting with sepsis in a tropical country. PloS One. 2017;12(4):e0176233. doi:10.1371/journal.pone.0176233
27. Koçak Tufan Z, Kayaaslan B, Mer M. COVID-19 and sepsis. Turk J Med Sci. 2021;51(SI-1):3301-11. doi:10.3906/sag-2108-239
28. López-Herrero R, Sánchez-de Prada L, Tamayo-Velasco A, Heredia-Rodríguez M, Bardají Carrillo M, Jorge Monjas P, et al. Epidemiology of fungal infection in COVID 19 in Spain during 2020 and 2021: a nationwide study. Sci Rep. 2024;14(1):5203. doi:10.1038/s41598-024-54340-1
29. Prout AJ, Talisa VB, Carcillo JA, Decker BK, Yende S. Bacterial and fungal etiology of sepsis in children in the United States: reconsidering empiric therapy. Crit Care Med. 2020;48(3):e192-9. doi:10.1097/CCM.0000000000004140
30. Durkin TJ, Barua B, Savagatrup S. Rapid detection of sepsis: recent advances in biomarker sensing platforms. ACS Omega. 2021;6(47):31390-5. doi:10.1021/acsomega.1c04788
31. Cho IH, Kim DH, Park S. Electrochemical biosensors: Perspective on functional nanomaterials for on-site analysis. Biomater Res. 2020;24(1):6. doi:10.1186/s40824-019-0181-y
32. da Silva ET, Souto DE, Barragan JT, de F. Giarola J, de Moraes AC, et al. Electrochemical biosensors in point-of-care devices: recent advances and future trends. ChemElectroChem. 2017;4(4):778-94. doi:10.1002/celc.201600758
33. Citartan M, Tang TH. Recent developments of aptasensors expedient for point-of-care (POC) diagnostics. Talanta. 2019;199:556-66. doi:10.1016/j.talanta.2019.02.066
34. Campuzano S, Pedrero M, Yáñez-Sedeño P, Pingarrón JM. New challenges in point of care electrochemical detection of clinical biomarkers. Sens Actuators B Chem. 2021;345:130349. doi:10.1016/j.snb.2021.130349
35. Zhang W, Wang R, Luo F, Wang P, Lin Z. Miniaturized electrochemical sensors and their point-of-care applications. Chin Chem Lett. 2020;31(3):589-600. doi:10.1016/j.cclet.2019.09.022
36. Sun AC, Hall DA. Point-of-care smartphone-based electrochemical biosensing. Electroanalysis. 2019;31(1):2-16. doi:10.1002/elan.201800474
37. Farkas JD. The complete blood count to diagnose septic shock. J Thorac Dis. 2020;12(Suppl 1):S16-S21. doi:10.21037/jtd.2019.12.63
38. Sabaté del Río J, Henry OY, Jolly P, Ingber DE.

An antifouling coating that enables affinity-based electrochemical biosensing in complex biological fluids. Nat Nanotechnol. 2019;14(12):1143-9. doi:10.1038/s41565-019-0566-z
39. Zupančič U, Jolly P, Estrela P, Moschou D, Ingber DE. Graphene enabled low-noise surface chemistry for multiplexed sepsis biomarker detection in whole blood. Adv Funct Mater. 2021; 31(16):2010638. doi:10.1002/adfm.202010638
40. The Wyss Institute at Harvard University. ERapid: multiplexed electrochemical detection of complex diseases. 2023. Available from: https://wyss.harvard.edu/technology/erapid-multiplexed-electrochemical-detection-of-complex-diseases/
41. Tanak AS, Muthukumar S, Krishnan S, Schully KL, Clark DV, Prasad S. Multiplexed cytokine detection using electrochemical point-of-care sensing device towards rapid sepsis endotyping. Biosens Bioelectron. 2021;171:112726. doi:10.1016/j.bios.2020.112726
42. Tanak AS, Sardesai A, Muthukumar S, Prasad S. Simultaneous detection of sepsis host response biomarkers in whole blood using electrochemical biosensor. Bioeng Transl Med. 2022;7(3):e10310. doi:10.1002/btm2.10310
43. Hassan U, Ghonge T, Reddy Jr B, Patel M, Rappleye M, Taneja I, et al. A point-of-care microfluidic biochip for quantification of CD64 expression from whole blood for sepsis stratification. Nat Commun. 2017;8(1):15949. doi:10.1038/ncomms15949
44. Valera E, Berger J, Hassan U, Ghonge T, Liu J, Rappleye M, et al. A microfluidic biochip platform for electrical quantification of proteins. Lab Chip. 2018;18(10):1461-70. doi:10.1039/C8LC00033F
45. Berger J, Valera E, Jankelow A, Garcia C, Akhand M, Heredia J, et al. Simultaneous electrical detection of IL-6 and PCT using a microfluidic biochip platform. Biomedical microdevices. 2020;22:36. doi:10.1007/s10544-020-00492-6
46. Cowell TW, Valera E, Jankelow A, Park J, Schrader AW, Ding R, et al. Rapid, multiplexed detection of biomolecules using electrically distinct hydrogel beads. Lab Chip. 2020;20(13):2274-83. doi:10.1039/d0lc00243g
47. Tang T, Liu X, Yuan Y, Zhang T, Kiya R, Yang Y, et al. Parallel Impedance Cytometry for Real-Time Screening of Bacterial Single Cells from Nano- to Microscale. ACS Sens. 2022;7(12):3700-9. doi:10.1021/acssensors.2c01351
48. Pandey R, Chang D, Smieja M, Hoare T, Li Y, Soleymani L. Integrating programmable DNAzymes with electrical readout for rapid and culture-free bacterial detection using a handheld platform. Nat Chem. 2021;13(9):895-901. doi:10.1038/s41557-021-00718-x
49. Pandey R, Lu Y, Osman E, Saxena S, Zhang Z, Qian S, et al. DNAzyme-Immobilizing Microgel Magnetic Beads Enable Rapid, Specific, Culture-Free, and Wash-Free Electrochemical Quantification of Bacteria in Untreated Urine. ACS Sens. 2022; 7(4):985-994. doi:10.1021/acssensors.1c02440
50. Russo L, Leva Bueno J, Bergua JF, Costantini M, Giannetto M, Puntes V, et al. Low-cost strategy for the development of a rapid electrochemical assay for bacteria detection based on AuAg nanoshells. ACS Omega. 2018;3(12):18849-56. doi:10.1021/acsomega.8b02458
51. Ranjbar S, Nejad MA, Parolo C, Shahrokhian S, Merkoçi A. Smart chip for visual detection of bacteria using the electrochromic properties of polyaniline. Anal Chem. 2019;91(23):14960-6. doi:10.1021/acs.analchem.9b03407
52. Srikanth S, Jayapiriya US, Dubey SK, Javed A, Goel S. A lab-on-chip platform for simultaneous culture and electrochemical detection of bacteria. Iscience. 2022;25(11):105388. doi:10.1016/j.isci.2022.105388
53. Gao J, Jeffries L, Mach KE, Craft DW, Thomas NJ, Gau V, et al. A multiplex electrochemical biosensor for bloodstream infection diagnosis. SLAS Techno. 2017;22(4):466-74. doi:10.1177/2211068216651232
54. Dimoula A, Pradier O, Kassengera Z, Dalcomune D, Turkan H, Vincent J-L. Serial determinations of neutrophil CD64 expression for the diagnosis and monitoring of sepsis in critically ill patients. Clin Infect Dis. 2013;58(6):820-9. doi:10.1093/cid/cit936
55. Pepic I, Feldt R, Ljungström L, Torkar R, Dalevi D, Maurin Söderholm H, et al. Early detection of sepsis using artificial intelligence: a scoping review protocol. Syst Rev. 2021;10:28. doi:10.1186/s13643-020-01561-w
56. Liu SC, Yoo PB, Garg N, Lee AP, Rasheed S. A microfluidic device for blood plasma separation and fluorescence detection of biomarkers using acoustic microstreaming. Sensors and Actuators A: Physical. 2021;317:112482. doi:10.1016/j.sna.2020.112482
57. Brakewood W, Lee K, Schneider L, Lawandy N, Tripathi A. A capillary flow-driven microfluidic device for point-of-care blood plasma separation. Front Lab Chip Technol. 2022;1:1051552. doi:10.3389/frlct.2022.1051552
58. BioFire-Diagnostics. The biofire® FilmArray® blood culture identification (BCID) panel [Internet]. Available from: https://www.biofiredx.com/products/the-filmarray-panels/filmarraybcid/
59. T2-Biosystems. T2bacteria panel. 2022. Available from: https://www.t2biosystems.com/products-technology/t2bacteria-panel/
60. Nguyen MH, Clancy CJ, Pasculle AW, Pappas PG, Alangaden G, Pankey GA, et al. Performance of the T2Bacteria panel for diagnosing bloodstream infections: a diagnostic accuracy study. Ann Intern Med. 2019;170(12):845-52. doi:10.7326/M18-2772
61. U.S. Food and Drug Administration. 510(k) premarket notification - T2Bacteria panel. 2023. Available from: https://www.fda.gov/medical-devices/premarket-submissions-selecting-and-preparing-correct-submission/premarket-notification-510k