

ỨNG DỤNG CẢM BIẾN SINH HỌC ĐỂ PHÁT HIỆN NHANH VI KHUẨN ESCHERICHIA COLI TRONG THỰC PHẨM

Nguyễn Kim Phụng *

Tóm tắt

Phương pháp giúp phát hiện vi sinh vật một cách nhanh chóng và có độ nhạy cao là rất quan trọng để đảm bảo an toàn thực phẩm. Do đó, cảm biến sinh học được xem là phương pháp đầy hứa hẹn để phát hiện vi sinh vật trong thời gian khá ngắn. Bài báo cáo này đánh giá một số loại cảm biến sinh học phổ biến và ứng dụng trong việc phát hiện nhanh vi khuẩn Escherichia coli trong thực phẩm. Bài viết cũng nhấn mạnh những thuận lợi và bất lợi chính của mỗi phương pháp.

Từ khóa: Escherichia coli O157:H7; Cảm biến sinh học; An toàn thực phẩm.

Abstract

The rapid and sensitive detection of foodborne pathogen is a very importance method to ensure food safety. Therefore, biosensors come with promises of equally reliable results in much shorter times. This review critically evaluates some of the most common biosensors and their application for the rapid detection of Escherichia coli in foods. Major advantages and disadvantages for each method are also highlighted in this paper.

Keywords: Escherichia coli O157:H7; biosensors; Food safety.

1. Giới thiệu vi khuẩn Escherichia coli

Vi khuẩn *Escherichia coli* (*E. coli*) là vi khuẩn hiếu khí phổ biến trong đường tiêu hóa người, các loài động vật máu nóng. *E. coli* thuộc nhóm *Coliform* phân, hình que, gram âm, di động, chúng kỵ khí tùy ý, không tạo bào tử. Chúng có khả năng lên men nhiều loại đường và sinh hơi, có khả năng khử nitrat thành nitrit. *E.coli* có enzyme tryptophanase, nếu trong môi trường có tryptophan, chúng sẽ phân giải tryptophan thành Indol.

Nhiệt độ tối ưu phát triển ở 37°C (loài Entoroxigenic có thể phát triển ở 4°C).

pH tối ưu phát triển là 4,4.

Aw tối ưu 0,95.

Dòng vi khuẩn *Escherichia coli* O157: H7 là tác nhân gây bệnh đường ruột ở người. Bệnh gây ra bởi vi khuẩn này có thể từ nhẹ đến rất nặng như tiêu chảy nước cho đến đe dọa tính mạng, chẳng hạn như triệu chứng viêm đại tràng xuất huyết ban đầu và sau đó phát triển thành hội chứng ure huyết - tan huyết. *E.coli* O157: H7 là một trong những loài vi khuẩn gây hại nhất có trong thực phẩm và thường có mặt trong các thực phẩm: bánh mì, thịt bò chưa được nấu chín, sữa tươi, nước táo chưa thanh trùng, nước và sản phẩm nhiễm phân (Buchanan & Doyle, 1997). Năm 1996, xảy ra trận dịch lớn liên quan đến

sự hiện diện của *E. coli* O157: H7 ở Nhật Bản làm 8000 người phải nhập viện. Theo CDC năm 1999, có 804 người bị nhiễm *E. coli* O157: H7 và có hai người chết do nước uống (<http://www.about-ecoli.com>). Tháng 5 năm 2000 ở Walkerton, Ontario, Bắc Mỹ, khoảng 2.000 người bị bệnh do nhiễm *E. coli* O157: H7, có ít nhất 6 người đã thiệt mạng từ nước uống. Tháng 12 năm 2012, có 33 trường hợp bị nhiễm *E. coli* O157: H7, có hai người bị hội chứng tan huyết, 1 người bị suy thận xảy ra tại 5 tiểu bang của Mỹ (<http://www.cdc.gov/ecoli/2012/O157H7-11-12>).

2. Cảm biến sinh học

Một phương pháp để phát hiện mầm bệnh nhanh chóng là sử dụng cảm biến sinh học. Đó là một loại cảm biến miễn dịch dựa trên tương tác kháng nguyên - kháng thể đặc hiệu. Theo Pathak và Savelkoul (1997) nhấn mạnh, cảm biến sinh học là một thiết bị có bộ phận nhận dạng sinh học với bộ cảm biến phù hợp phát ra tín hiệu do dựa trên sự thay đổi nồng độ vi sinh vật tại bề mặt cảm biến. Một định nghĩa tương tự được đề nghị bởi Wilkins và ctv (1998), cảm biến sinh học phát hiện kháng nguyên liên kết với các kháng thể bằng cách cố định phản ứng trên bề mặt của một thiết bị được gọi là đầu dò, đầu dò sẽ chuyển đổi các thông số thay đổi bề mặt thành tín hiệu

điện phát hiện. Một cách khác, cảm biến sinh học là một thiết bị thu nhỏ. Trong mỗi trường hợp, cảm biến sinh học dựa trên nguyên tắc pha rắn được cấy lên bề mặt của cảm biến.

Trong bài này, những cảm biến sinh học được sử dụng để phát hiện vi khuẩn *E. coli* O157: H7 với giới hạn phát hiện của dụng cụ là “tế bào/ml” trong thời gian ngắn và độ chính xác cao thông qua các bài báo công bố. Để rõ thêm các thông tin về những cảm biến sinh học khác nhau. Sau đây là một số loại cảm biến sinh học đã được nghiên cứu để dò phát hiện vi khuẩn *E. coli* O157: H7 trong thực phẩm.

2.1. Cảm biến cộng hưởng plasmon bề mặt (SPR)

Cộng hưởng plasmon bề mặt (SPR) dựa trên các electron của một lớp kim loại bị kích động và hấp thụ ánh sáng ở một góc tới cụ thể phù hợp với bước sóng, làm giảm khả năng phản xạ của ánh sáng. Góc tới phụ thuộc vào tính chất điện môi của các vật liệu tiếp giáp với bề mặt kim loại, bị ảnh hưởng bởi phức hợp kháng thể - kháng nguyên liên kết với bề mặt (Ivnitski và ctv., 1999; Leonard và ctv., 2003). Cảm biến sinh học SPR thương mại đầu tiên đã được đưa ra thị trường là Pharmacia BiosensorAB, bây giờ được gọi là BIAcoreAB.

Waswa và ctv, (2005) cũng đã nghiên cứu sử dụng cảm biến SPR để phát hiện vi khuẩn *E. coli* trên sản phẩm nước trái cây, sữa tiệt trùng và chất chiết xuất từ thịt bò. Ở đây, họ sử dụng kháng thể đơn dòng cố định trên bề mặt vàng để phát hiện. Thời gian phát hiện 30 phút với độ nhạy của *E. coli* khảo nghiệm là $10^2 - 10^3$ CFU/ml. Sử dụng các cảm biến miễn dịch SPR rất thuận lợi trong việc nghiên cứu sự tương tác giữa *E. coli* O157: H7 và các kháng thể khác nhau, và nếu kháng thể thích hợp được sử dụng, thì cảm biến này được dùng để phát hiện nhanh vi sinh vật trong thực phẩm, nó làm phong phú thêm cho ngành vi sinh thực phẩm.

2.2. Cảm biến trở kháng điện hóa (EI)

Cảm biến này bao gồm một điện cực kết hợp với kháng thể. Sau khi cấy các tế bào vi khuẩn lên bề mặt của điện cực đã nhúng chìm trong mẫu thử nghiệm, sự thay đổi tính chất điện hóa của điện cực xảy ra do lớp vi khuẩn xuất hiện trên bề mặt của nó. Varshney và Li (2007) phát triển cảm biến trở kháng dựa trên tương tác màng vi điện cực với sự kết hợp kháng thể - hạt nano từ tính để phát hiện nhanh vi khuẩn *E. coli* O157: H7 trong mẫu thịt bò. Cường độ trở kháng được đo ở tần số 10Hz đến 1

MHz trong dung dịch mannitol 0.1M. Giới hạn phát hiện trong mẫu thịt bò là 8.10^5 tế bào/ml với tổng thời gian dò tìm là 35 phút từ lúc lấy mẫu cho đến kết quả.

Một loại cảm biến trở kháng điện hóa khác được chế tạo từ silicon với lớp oxit nhiệt $2\mu\text{m}$ như một lớp cách điện, một vùng hoạt động 9.6 mm^2 bao gồm các điện cực vàng sắp xếp xen kẽ với nhau, trong đó kháng thể đa dòng được cố định lên bề mặt cảm biến. Vi khuẩn lơ lửng trong dung dịch sẽ bám lên kháng thể khi thử nghiệm trên mẫu lỏng và sự thay đổi trở kháng gây ra bởi vi khuẩn được đo ở tần số 100Hz - 10MHz. Cảm biến có khả năng phát hiện vi khuẩn *E. coli* O157: H7 với nồng độ $10^4 - 10^7$ CFU/ml, (Radke và Alocilja, 2005).

2.3. Cảm biến Amperometric (A)

Phát hiện vi sinh vật bằng cảm biến amperometric dựa trên việc đo cường độ dòng điện tạo ra thông qua quá trình oxy hóa/khử điện cực được phân tích bởi enzyme hoặc phản ứng ái lực sinh học tại bề mặt điện cực. Kháng thể chống *E. coli* O157: H7 được cố định trên bề mặt của các thanh carbon, hoạt động như điện cực làm việc và bề mặt hấp thụ. Phương pháp sandwich của xét nghiệm miễn dịch được sử dụng và axit 5- aminosalicylic làm một chất trung gian oxy hóa khử để phát hiện amperometric có đánh dấu enzyme. Các miễn dịch điện di vận hành trong khi nhúng chìm trong tế bào phát hiện dẫn đến sự tăng tốc của phản ứng enzyme và điện hóa. Cảm biến immunoelectrode amperometric có giới hạn phát hiện thấp hơn đáng kể (thấp hơn 40 lần) so với phương pháp tiêu chuẩn ELISA sử dụng cùng hóa chất miễn dịch. Cảm biến Amperometric xác định nồng độ tế bào *E. coli* trong khoảng từ $10^2 - 10^7$ tế bào/ml với tổng thời gian phân tích 40 phút (Ivnitski và ctv., 1998).

2.4. Cảm biến đánh dấu huỳnh quang (TRF)

Hoạt động dựa trên sự phân tách từ tính miễn dịch và thời gian phân rã huỳnh quang để phát hiện vi khuẩn *E. coli* O157: H7 được phát triển (Yu và ctv., 2002). Cảm biến này sử dụng một kháng thể cấy lên hạt kim loại từ tính miễn dịch để cố định kháng thể, bằng cách sử dụng một ống mao dẫn huỳnh quang pha rắn đơn giản. Đây là một kỹ thuật cao và hiệu quả đối với việc cấy vi khuẩn, đầu tiên tế bào vi khuẩn được giữ trên

những hạt miễn dịch và sau đó tách những hạt miễn dịch với việc bổ sung kháng thể thứ hai với một hợp chất huỳnh quang. Độ nhạy của phương pháp này là 103 tế bào/ml đối với *E. coli* O157: H7 và không phản ứng với K-12. Việc nuôi cấy *E. coli* O157: H7 ($10^1 - 10^5$ CFU/ml) trong cider táo được phát hiện trong 6 giờ, với 4 giờ cho việc ủ trong huyết thanh EC với kháng nguyên và 2 giờ cho việc xét nghiệm. Khi nồng độ *E. coli* O157: H7 tăng từ 1 đến 10^3 tế bào/ml trong cider táo thì giới hạn phát hiện là 10 tế bào/ml trong mẫu bị nhiễm ban đầu. Trong điều kiện tương tự, nhưng nếu thêm 10^6 tế bào/ml *E. coli* K-12 vào trong mẫu bị nhiễm ban đầu, thì giới hạn phát hiện của vi khuẩn *E. coli* O157: H7 tăng lên đến 10^2 tế bào/ml. Điều này cho thấy rằng, khi có mặt của *E. coli* K12 trong mẫu ủ sẽ ức chế sự phát triển của tác nhân gây bệnh (Yu và ctv., 2002).

2.5. Cảm biến dẫn điện (C)

Bộ cảm biến gồm hai thành phần: một cảm biến dựa trên xét nghiệm miễn dịch nhiều lớp điện hóa và một đầu đọc để đo tín hiệu. Hệ thống này liên quan đến việc khảo nghiệm nhiều lớp điện hóa, mà kháng thể đầu tiên được giữ trong khoảng trống giữa hai điện cực. Một kháng nguyên với một kháng thể thứ hai liên kết với một polymer dẫn điện được giữ qua dòng chảy của nó thông qua khoảng trống giữa các điện cực. Giới hạn phát hiện khoảng $7,9.101$ tế bào/ml trong nuôi cấy với thời gian thử nghiệm 10 phút. *E. coli* O157: H7 được pha loãng trong dung dịch peptone 0,1% trước khi sử dụng bộ cảm biến. Các nhà nghiên cứu đã thử nghiệm với thể tích 0,1 ml để phân tích, phát hiện được tám tế bào trong mẫu (Muhammad - Tahir và Alocilja, 2003).

2.6. Cảm biến trao đổi điện tích trực tiếp (DCT)

Cảm biến này là một sự kết hợp các sợi nano nitrocellulose và bề mặt kháng thể tạo nên bề mặt functionalization để phát hiện *E. coli* O157: H7 và virus gây tiêu chảy ở bò (BVDV) (Luo và ctv., 2010). Kháng thể thay đổi tính chất điện từ của các hạt nano được trộn lẫn và ủ với mẫu thử tạo thành dung dịch. Dung dịch sau khi tách từ trở thành mẫu tinh khiết. Mẫu tinh khiết được cố định trên kháng thể thứ cấp tạo thành một phức hợp nhiều lớp, chúng tích lũy điện tạo thành dòng điện đi qua điện cực bạc. Kháng thể chống *E. coli* O157: H7 hoặc kháng thể chống BVDV được phân phối trên màng electrospun với nồng độ 10 g/in² ủ ở 25°C trong 30 phút. Các giao thức kháng thể liên kết đã được xác nhận bằng cách sử dụng kính hiển vi

đồng tiêu quét laser (CLSM) để đo lượng phát thải của các kháng thể huỳnh quang. Hiệu quả kháng thể liên kết trên lưới electrospun xác nhận ở mức phát quang 530 nm. Các tín hiệu cảm biến sinh học được đo thông qua máy thu thập dữ liệu (DAQ) được kết nối với dây cảm biến sinh học. Hệ thống DAQ kết nối với một máy tính với giao diện USB và được điều khiển bởi phần mềm LabVIEW. Khi mao mạch đã đạt được trạng thái cân bằng khoảng 8 phút, điện trở cảm biến sinh học đã được ghi lại để xác định nồng độ tác nhân gây bệnh 103 CFU/mL.

2.7. Cảm biến impedimetric (I)

Từ ứng dụng màng polymer bán dẫn, nhà khoa học Chowdhury và ctv. (2012) đưa ra phương pháp mới để phát hiện vi khuẩn *E. coli* O157: H7 bằng cách sử dụng phương pháp kết hợp kháng thể - kháng nguyên dựa trên kháng thể liên kết cộng hóa trị trên bề mặt lớp phim polyaniline bán dẫn (PANi), một phương pháp đơn giản và không cần phải sử dụng bất kỳ loại kháng thể thứ cấp nào. Các giao thức cố định cộng hóa trị của *E. coli* kháng thể lên chất nền polyaniline tổng hợp theo điện hóa bằng cách sử dụng glutaraldehyde như là các mối liên kết chéo. Liên kết cộng hóa trị giữa màng mỏng PANi và glutaraldehyde đã được khám phá bằng cách sử dụng đặc tính FTIR và kỹ thuật phân tích điện thế tuần hoàn. Quang phổ kháng điện hóa (EIS) đã được sử dụng để kiểm tra độ nhạy và độ hiệu quả của điện cực cảm biến bằng cách đo sự thay đổi của trở kháng trước và sau khi ủ điện cực kháng thể với các nồng độ khác nhau của vi khuẩn. Với nồng độ nhỏ 102 CFU/mL của *E. coli* O157: H7 được phát hiện trên cảm biến Au/PANi/Glu/kháng thể so với giới hạn phát hiện trên 107 CFU/mL.

2.8. So sánh cảm biến sinh học với các phương pháp phân tích nhanh khác để phát hiện vi khuẩn *Escherichia coli* O157: H7

Có 3 phương pháp chủ yếu để phát hiện nhanh vi khuẩn: dựa trên mẫu sinh hóa, chuỗi DNA và tương tác kháng thể. Trong đó, phương pháp tương tác kháng thể được áp dụng nhiều nhất. Hiện nay phương pháp kiểm nghiệm nhanh để phát hiện vi sinh vật được nhiều nước áp dụng là phương pháp PCR và phương pháp ELISA.

Phương pháp ELISA là phương pháp hấp phụ miễn dịch liên kết enzyme (Lazcka và ctv.2007).

Kỹ thuật này sử dụng kháng thể đơn dòng phủ bên ngoài những giếng nhỏ nhằm mục đích giữ những kháng nguyên mục tiêu. Những kháng nguyên thu giữ được phát hiện bằng cách sử dụng kháng thể thứ hai có gắn với enzyme phát tín hiệu. Khi cho vào hỗn hợp phản ứng một cơ chất đặc hiệu của enzyme, phản ứng xảy ra và làm đổi màu phản ứng, nhìn vào đó ta biết được có hay không có vi khuẩn gây bệnh. Để phản ứng xảy ra thuận lợi, thì mẫu cho vào giếng phải có lượng vi sinh vật đủ lớn. Do đó, phương pháp này phải mất vài giờ cho bước tăng sinh làm giàu trước khi thực hiện phản ứng. Trong một số trường hợp, phải thay đổi phản ứng và kháng nguyên phù hợp với loài vi sinh vật phát hiện. Vì vậy, thời gian để phát hiện vi sinh vật thường kéo dài, được thể hiện qua Bảng 1.

Phương pháp PCR (polymerase chain reaction) dựa vào kỹ thuật khuếch đại axit nucleic. Phương pháp này phụ thuộc nhiều vào chất lượng, số lượng DNA thu được. Để phân lập DNA tổng số, thì phải tiến hành qua nhiều bước: đầu tiên phá vỡ màng tế bào và màng nhân, loại bỏ các protein và thu được kết tủa DNA, rửa tủa được DNA tinh sạch. Do đó, mất nhiều thời gian để thu được DNA tinh sạch. Cả hai phương pháp ELISA và PCR chỉ xác định là có vi sinh vật trong mẫu nhưng không xác định số

lượng vi sinh vật có trong mẫu, muốn xác định được phải tiến hành thêm các bước hoặc kết hợp với các phương pháp khác (Lazcka và ctv. 2007).

Nếu so sánh về giới hạn phát hiện, cảm biến sinh học không có khác biệt nhiều so với phương pháp PCR hay ELISA. Mặc dù phương pháp ELISA và PCR phát hiện vi sinh vật cũng khá nhanh, nhưng cảm biến sinh học có thời gian phân tích ngắn hơn, độ chính xác cao, đồng thời cách xử lý mẫu đơn giản và có thể phát hiện một loạt các chất phân tích trong các mẫu phức tạp. Hầu hết các cảm biến sinh học đều cho kết quả trong vòng 20 - 90 phút. Một lợi thế của việc sử dụng cảm biến sinh học là kết quả được đọc thông qua các tín hiệu kỹ thuật số và không phụ thuộc vào định kiến chủ quan của cá nhân, sự mệt mỏi, trình độ chuyên môn hoặc rối loạn thị giác. Cảm biến sinh học có thể được xem là một thiết bị di động dễ dàng đem ra ngoài môi trường, phát hiện nhanh chóng, độ chính xác cao và là một thiết bị tự động hóa, có thể phân tích cùng lúc nhiều mẫu từ 46 đến 94 mẫu.

Tôi tin rằng cảm biến sinh học có rất nhiều tiềm năng trong việc xét nghiệm vi sinh vật trong thực phẩm và được xem là lĩnh vực hấp dẫn các nhà nghiên cứu trong thế kỉ XXI này.

Bảng 1: Các phương pháp phát hiện vi khuẩn E.coli O157: H7

Phương pháp	Giới hạn phát hiện, cell/ml	Thời gian phân tích	Ứng dụng trong thực phẩm trực tiếp, giới hạn phát hiện	Nguồn
PCR	$10^2 - 10^3$	4 giờ	Thịt bò	Tahamtan và ctv., 2006
PCR-ELISA	$10^0 - 10^4$	5 giờ	Sữa	Daly and Doyle (2002)
ELISA	10^3	16 giờ	Thịt bò	Abdulrasool, 2011.
SPR	$10^2 - 10^3$	30 phút	$10^2 - 10^3$ CFU/ml nước trái cây, sữa tiệt trùng và chất chiết xuất từ thịt bò.	Waswa và ctv., 2005
EI	$10^4 - 10^7$	35 phút	8.10^5 CFU/ml thịt bò 10^7 CFU/ml nước rửa rau diếp.	Varshney và Li, 2007
A	$10^2 - 10^7$	40 phút	Chưa test	Ivnitski và ctv., 1998
TRF	10^3	120 phút	$10 - 10^2$ CFU/ml apple cider.	Yu và ctv., 2002
C	$7.9.10^1$	10 phút	$8.1.10$ cfu/ml nước rửa rau diếp.	Muhammad - Tahir và Alocilja, 2003
DCT	10^3	8 phút	Chưa test	Luo và ctv., 2010
I	$10^2 - 10^7$	10 giây	Chưa test	Chowdhury và ctv., 2012

3. Kết luận và kiến nghị

Cảm biến sinh học phát hiện vi khuẩn E. coli O157: H7 vẫn đang ngày càng phát triển nhanh chóng. Độ nhạy của cảm biến tốt hơn so với phương

pháp miễn dịch sẵn có hiện nay như ELISA, vì thế, đây là một dụng cụ có giá trị để làm giảm các bước làm giàu và rút ngắn thời gian phát hiện, giúp tiết kiệm thời gian và tiền bạc. Ưu

điểm chính của sử dụng cảm biến miễn dịch là độ nhạy cao, thời gian thử nghiệm ngắn, tự động hóa, không cần những tiến trình thực hiện bằng tay, có thể kết hợp với các thiết bị internet để thực hiện điều khiển từ xa và đặc biệt là loại bỏ những thành kiến của con người. Tuy nhiên, bất lợi chính của công nghệ này là kỹ thuật chế tạo cảm biến phức tạp, nguyên liệu để chế tạo cảm biến thường đắt tiền. Mặt khác, đối với mỗi loại cảm biến khác nhau thì thời gian, nồng độ phát hiện và tính đặc hiệu đối với vi sinh vật cũng khác nhau, điều này

cũng gây khó khăn cho việc chọn lựa cảm biến trong việc phát hiện vi sinh vật. Qua quá trình tìm hiểu, chúng tôi thấy rằng với những ưu việt của cảm biến, những phương pháp cải thiện độ nhạy và sự chọn lọc của cảm biến miễn dịch được mô tả thì cảm biến sinh học là một công nghệ đầy hứa hẹn để phát hiện vi khuẩn trong ngành công nghiệp thực phẩm. Vì thế, ta nên nghiên cứu thêm để chế tạo những chip sinh học thành sản phẩm thương mại phục vụ công tác kiểm nghiệm.

Tài liệu tham khảo

- Abdulrasool, M.I.. 2011. *The rapid detection of E. coli O157 Antigen in meat products by using ELISA Test Kit*. The Iraqi J.Vet. Med. Số 35 (2).tr.61 – 65.
- Buchanan, R.L., Doyle, M.P. 1997. *Foodborne disease significance of Escherichia coli O157:H7 and other enterohemorrhagic E. coli*. Food Technol. Số 51 (10).tr. 69–76.
- Chowdhury, A.D., Dea, A., Chaudhuri, C.R., Bandyopadhyay, K., Send, P. 2012. *Label free polyani-line based impedimetric biosensor for detection of E. coli O157:H7 Bacteria*. Sensors and Actuators B .tr.171– 172, 916– 923.
- Daly, P., Collier, T., Doyle, S. 2002. *PCR-ELISA detection of Escherichia coli in milk*. Letters in Applied Microbiology 34.tr. 222–226.
- Ivnitski, D., Abdel-Hamid, I.,Atanasov, P., Wilkins, E.. 1998. *Fast Amperometric Assay for E. coli O157:H7 Using Partially Immersed Immuno-electrodes*. Biosens.Bioelectron 14.tr.599–624.
- Kellie P. Burris and C. Neal Stewart Jr. 2012. *Fluorescent nanoparticles: ensing pathogens and toxins in foods and crops*. Trends in Food Science & Technology.tr.1-10.
- Luo, Y., Nartker, S., Millera, H., Hochhalter, D., Wiederodera, M., Wiederoderb, S., Settingertona, E.,Drzalb, LT., Alocilja, EC.. 2010. *Surface functionalization of electrospun nanofibers for detecting E. coli O157:H7 and BVDV cells in a direct-charge transfer biosensor*. Biosensors and Bioelectronics 26.tr.1612–1617.
- Muhammad-Tahir, Z., Alocilja, E.C.. 2003. *A conductometric biosensor for biosecurity*. Biosensors and Bioelectronics 18.tr.813 – 819.
- Pathak, S.S., Savelkoul, H.F.J.. 1997. *Biosensors in immunology: the story so far*. Immunol.Today 18tr.464–467.
- Radke, S.M., Alocilj, EC.. 2005. *A high density microelectrode array biosensor fordetection of E. coli O157:H7*. Biosensors and Bioelectronics 20.tr.1662–1667.