DOI:10.16016/j.2097-0927.202401080

# 基于 PB-MWCNTs-GNPs 修饰的电化学免疫传感器检测流产布鲁氏菌

迟 宇[1,2],曹 宇[1],程 浩[2],曹静文[1],敖建玥[3],李海波[2],马 雷[1,4],刘 明[2] 154007 黑龙江 佳木斯,佳木斯大学临床医学院[1];400038 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)药学与检验医学系[2];401320 重庆,重庆医科大学附属巴南医院检验科[3];401331 重庆,重庆市沙坪坝区陈家桥医院检验科[4]

[**摘要**] **目的** 构建一种高性能的电化学免疫传感器用于检测流产布鲁氏菌。**方法** 制备普鲁士蓝(prussian blue,PB)-多壁碳纳米管(multi walled carbon nanotubes,MWCNTs)-纳米金粒子(gold nanoparticles,GNPs)纳米复合物,以流产布鲁氏菌作为待测样本,选择合适的抗体构建电化学免疫传感器,通过对传感器构建关键因素的考察确定最优条件,最后对传感器进行性能评价。**结果** 明确传感器最优构建条件为:MWCNTs-PB 混合比例为 1∶5,材料干燥温度为 37 ℃,缓冲体系最佳 pH=7.5,抗体孵育时间为 1 h,样本孵育时间为 30 min;流产布鲁氏菌在 10~1×10$^5$CFU/mL 范围内呈良好的线性关系,传感器抗干扰能力、检测重复性与稳定性好,准确度高。**结论** 基于 PB-MWCNTs-GNPs 纳米材料所修饰的用于检测流产布鲁氏菌的电化学免疫传感器构建简便,性能良好,可为布鲁氏病的临床早期诊断提供参考。

[**关键词**] 电化学免疫传感器;PB-MWCNTs-GNPs;流产布鲁氏菌
[**中图法分类号**] R318.08;R378.5;R446.61 [**文献标志码**] A

# Detection of *Brucella abortus* using an electrochemical immunosensor modified with PB-MWCNTs-GNPs

CHI Yu[1,2], CAO Yu[1], CHENG Hao[2], CAO Jingwen[1], AO Jianyue[3], LI Haibo[2], MA Lei[1,4], LIU Ming[2] [1]Clinical Medicine College, Jiamusi University, Jiamusi, Heilongjiang Province, 154007; [2]Faculty of Pharmacy and Laboratory Medicine, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400038; [3]Department of Clinical Laboratory, Banan Hospital Affiliated to Chongqing Medical University, Chongqing, 401320; [4]Department of Clinical Laboratory, Chenjiaqiao Hospital of Shapingba District, Chongqing, 401331, China

[**Abstract**] Objective To prepare a high performance electrochemical immunosensor for detecting *Brucella abortus* (*B. abortus*). Methods Prussian blue (PB), multi walled carbon nanotubes (MWCNTs) and gold nanoparticles (GNPs) (PB-MWCNTs-GNPs) nanocomposites were prepared, and appropriate antibody was used to construct the immunosensor for detecting *B. abortus* samples. The optimal conditions were clarified by examining the key factors in sensor construction, and then the performance of the sensor was evaluated. Results The optimal construction conditions were determined as follows: the ratio of MWCNTs-PB was 1∶5, the drying temperature was 37 ℃, the pH value of buffer system was 7.5, and the incubation time of antibody and sample was 1 h and 30 min, respectively. *B. abortus* exhibited a good linear relationship, when ranging from 10 to $1\times10^5$ CFU/mL. The sensor had good anti-interference ability, repeatability, stability and high accuracy. Conclusion Our prepared PB-MWCNTs GNPs nanomaterials modified electrochemical immunosensor for detecting *B. abortus* is easy to prepare, has good performance, and can provide reference for the early clinical diagnosis of brucellosis.

[**Key words**] electrochemical immunosensor; PB-MWCNTs-GNPs; *Brucella abortus*

Corresponding author: LIU Ming, E-mail: lm1859@163.com; MA Lei, E-mail: maleijms@163.com

[**通信作者**] 刘 明, E-mail: lm1859@163.com
马 雷, E-mail: maleijms@163.com

2097-0927/Copyright © 2024, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

布鲁氏病是由动物传播的最广泛的人畜共患疾病之一,典型症状是波浪热、乏力、长期不明原因的发烧和四肢关节疼痛,身体活动能力降低,还可引起心内膜炎、骨关节器质性损害以及严重的系统并发症,该疾病已成为全球性的健康问题[1]。流产布鲁氏菌(*Brucella abortus*)是一种可引起布鲁氏病的病原菌,一般通过饮食、受损的皮肤和黏膜以及呼吸道传播感染[2]。流产布鲁氏菌的精准检测对布鲁氏病的临床早期诊断与有效治疗具有重要意义。

临床检测流产布鲁氏菌最常用的方法是细菌培养,从患者的血液、骨髓、淋巴结等体液或组织中分离出流产布鲁氏菌,然后进行培养和鉴定[3-4],但该方法存在检测耗时、效率低的缺点,容易耽误后续的治疗进度。此外还可以通过检测患者的血清中的抗体水平来诊断布鲁氏病,补体结合试验(complement fixation test, CFT)、血清凝集试验(serum agglutination test,SAT)、酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)和聚合酶链式反应(polymerase Chain Reaction, PCR)等技术也被用作检测布鲁氏菌的辅助方法[5-8]。然而,这些方法存在耗时长、低精度、低效率、假阳性或成本昂贵等问题,限制了它们的广泛应用。

电化学免疫传感器兼具高灵敏度与高特异性,还具有成本低、操作简单快捷等优点,近年来成为检测病原微生物的有效手段[9]。本研究以普鲁士蓝(prussian blue, PB)-多壁碳纳米管(multi walled carbon nanotubes,MWCNTs)-纳米金粒子(gold nanoparticles, GNPs)组成纳米复合物作为免疫反应的载体,设计构建了一种检测流产布鲁氏菌的电化学免疫传感器,并对其性能进行评价。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

电化学工作站(瑞士万通公司,PGSTAT302N);全波长酶标仪(美国 Molecular Devices 公司,SPECTRA190);电镜玻碳电极(天津艾达恒晟科技发展有限公司,DGC130);四氯金酸三水合物(美国 Sigma 公司,G4022-1G);MWCNTs(南京先丰纳米材料科技有限公司,100256);PB 由铁氰化钾(上海阿拉丁生化科技股份有限公司,P111564)、氯化铁、氯化钾、盐酸混合制备;流产布鲁氏菌抗体(美国 NOVUS 公司,NB100-73111,单克隆抗体);牛血清白蛋白(北京索莱宝科技有限公司,A8020);其他试剂均为分析纯;实验用水均为超纯水;流产布鲁氏菌疫苗菌株以及其余菌株均由陆军军医大学微生物与生化药学教研室提供。

### 1.2 待测样本制备

流产布鲁氏菌培养、活化按文献[10]进行。将第2次活化的菌液以 2 392×*g* 离心 30 min,然后用 0.01 mol/L PBS 重悬,重复洗涤 3 次,调节至 OD(600)值为 1,此时细菌浓度为 $1.45\times10^{10}$CFU/mL,使用时以 PBS 稀释至所需浓度。

### 1.3 ELISA 检测流产布鲁氏菌抗体活性

将流产布鲁氏菌稀释至 $1\times10^{8}$CFU/mL,在 80 ℃下加热 5 min 灭活,检测方法按文献[11]进行,验证所购抗体以及被梯度稀释(1∶125、1∶250、1∶500、1∶1 000、1∶2 000)后与流产布鲁氏菌的特异性结合情况。

### 1.4 玻碳电极预处理

电极抛光、清洗与扫描的过程按文献[12]进行。

### 1.5 电化学免疫传感器的组装及表征

取 1 mg MWCNTs 粉末,加入 5 mL PB 中,超声 30 min,得到 PB-MWCNTs 结合产物;取 4 μL PB-MWCNTs 纳米复合物液体滴加于处理后的玻碳电极表面,37 ℃干燥 2 h 后,将电极置于 1%的四氯金酸水溶液中进行电沉积(-0.4 V,20 s),在电极表面得到均匀光亮的金色薄膜,通过扫描电镜(scanning electronic microscopy, SEM)对电极修饰过程进行表征;滴加 10 μL 20 μg/mL 抗体于电极表面,室温孵育 1 h,用 0.01 mol/L PBS 清洗电极表面后吹干;继续在电极上滴加 10 μL 0.25%牛血清蛋白(BSA),室温反应 1 h,封闭非特异性结合位点,清洗吹干,即完成传感器组装。

使用时将 10 μL 待测样本滴加于传感器表面,室温孵育 30 min 后进行检测。采用三电极体系,以玻碳电极为工作电极,铂片电极为对电极,甘汞电极为参比电极,在 pH=7.5 的 10 mmol/L $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$(含 0.1 mol/L KCL)扫描溶液中,以循环伏安法(CV)对传感器的组装、测定过程加以表征。

### 1.6 传感器构建条件的优化

1.6.1 纳米复合物混合比例 制备 MWCNTs∶PB 为 1∶1、1∶3、1∶5 比例的纳米复合物,修饰电极,在 0.1~0.5 V 内以脉冲伏安法(DPV)检测电化学信号响应,考察修饰后电极的电流响应值。

1.6.2 纳米复合物干燥温度 制备 MWCNTs∶PB 比例为1∶5的纳米复合物,取 4 μL 滴加于玻碳电极表面,分别在 4、25、37、60 ℃条件下干燥,考察不同干燥温度下的 DPV 电流响应值。

1.6.3 缓冲体系 pH 值 按 1.5 法制备传感器,选择 $1\times10^{3}$ CFU/mL 流产布鲁氏菌待测溶液,分别调节扫描溶液 pH=4.0、6.5、7.0、7.5、9.0,考察不同酸度条件对 DPV 电流响应差值的影响。

1.6.4 抗体孵育时间 将玻碳电极包被纳米复合

物材料后,滴加 10 μL 20 μg/mL 流产布鲁氏菌抗体于电极表面,分别于孵育 0、0.5、1、2、3 和 4 h 时进行 DPV 检测,考察电流响应情况。

1.6.5　抗原孵育时间　　按 1.5 法制备传感器,选择 $1\times10^3$CFU/mL 流产布鲁氏菌待测样本,分别于孵育 0、10、20、30、40 和 50 min 时进行 DPV 检测,考察电流响应情况。

1.7　电化学传感器性能评价

1.7.1　线性范围　　在 1.6 法确定的最优条件下,测定在 10~$1\times10^5$ CFU/mL 浓度内待测样本的 DPV 电信号响应,以菌液浓度对数值为横坐标,传感器检测前后电流差值为纵坐标,绘制校正曲线。

1.7.2　抗干扰性　　在 $1\times10^3$ CFU/mL 流产布鲁氏菌待测样本中,分别加入等体积的 PBS、$1\times10^3$CFU/mL 大肠埃希菌、鲍曼不动杆菌、金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌作为待测溶液,考察干扰物质对传感器检测的影响。

1.7.3　重复性　　分别配制 10、$1\times10^3$、$1\times10^5$CFU/mL 的流产布鲁氏菌待测样本,分别重复测定 5 次,计算相对标准偏差(RSD)。

1.7.4　稳定性　　将制备好的传感器放入 4 ℃冰箱保存,分别于第 0、1、2、3、5、10、15 天对 $1\times10^3$CFU/mL 样本进行测量,评估传感器稳定性。

1.7.5　回收实验　　分别采用免疫传感器与平板菌落计数法测定 1%小牛血清中 10、$1\times10^3$ 和 $1\times10^5$CFU/mL 的流产布鲁氏菌,计算回收率,公式为:(检测到的菌落数/已知浓度的样本的菌落数)×100%。

1.8　统计学分析

本研究实验数据采用 GraphPad Prism 9.0 软件进行整理分析,采用 SPSS 29.0 进行统计分析,数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较使用单因素方差分析,以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 2　结果

2.1　流产布鲁氏菌抗体活性检测结果

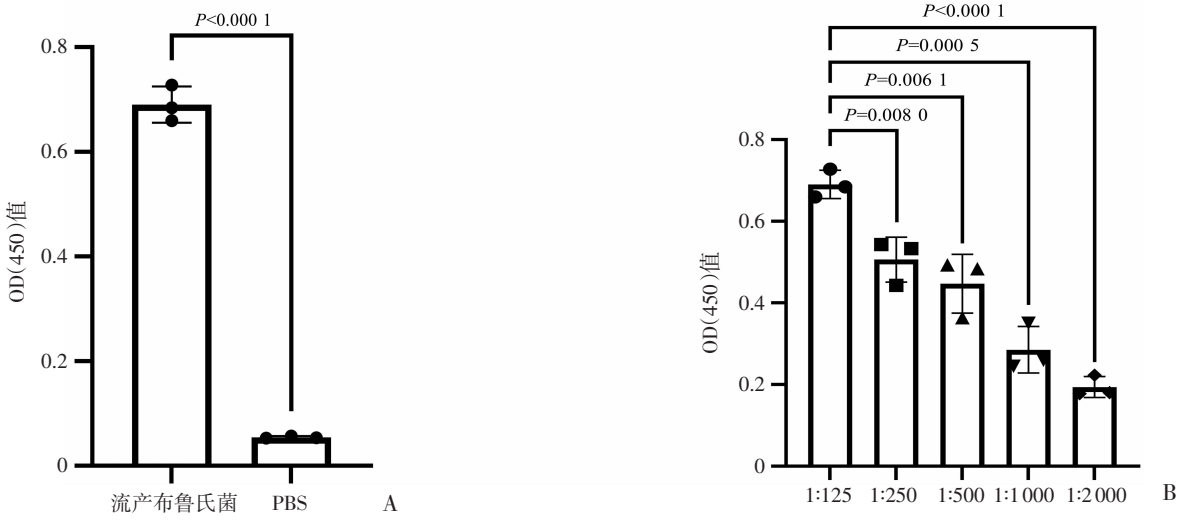
图 1 表明,流产布鲁氏菌的光密度显著高于 PBS 对照组($P<0.000\ 1$),此外,光密度随着抗体浓度的降低而降低($P$ 均<0.01),表明抗体和流产布鲁氏菌之间结合具有浓度依赖性。ELISA 检测结果证实,所购抗体与流产布鲁氏菌具有良好的结合活性,可用于制备免疫传感器。

2.2　PB-MWCNTs-GNPs 的表征

通过 SEM 表征 PB-MWCNTs-GNPs 纳米复合物对电极的修饰。如图 2 所示,裸玻碳电极表面平滑(图 2A),说明电极打磨处理良好;修饰 PB-MWCNTs 后的电极表面出现彼此交叠的复杂管型结构(图 2B),呈现出 MWCNTs 的结构特征;电沉积纳米金后,能明显地看到纳米金粒子均匀附着在纵横交错的 MWCNTs 上(图 2C)。结果证明 PB-MWCNTs-GNPs 纳米复合物成功制备并固载于电极表面。

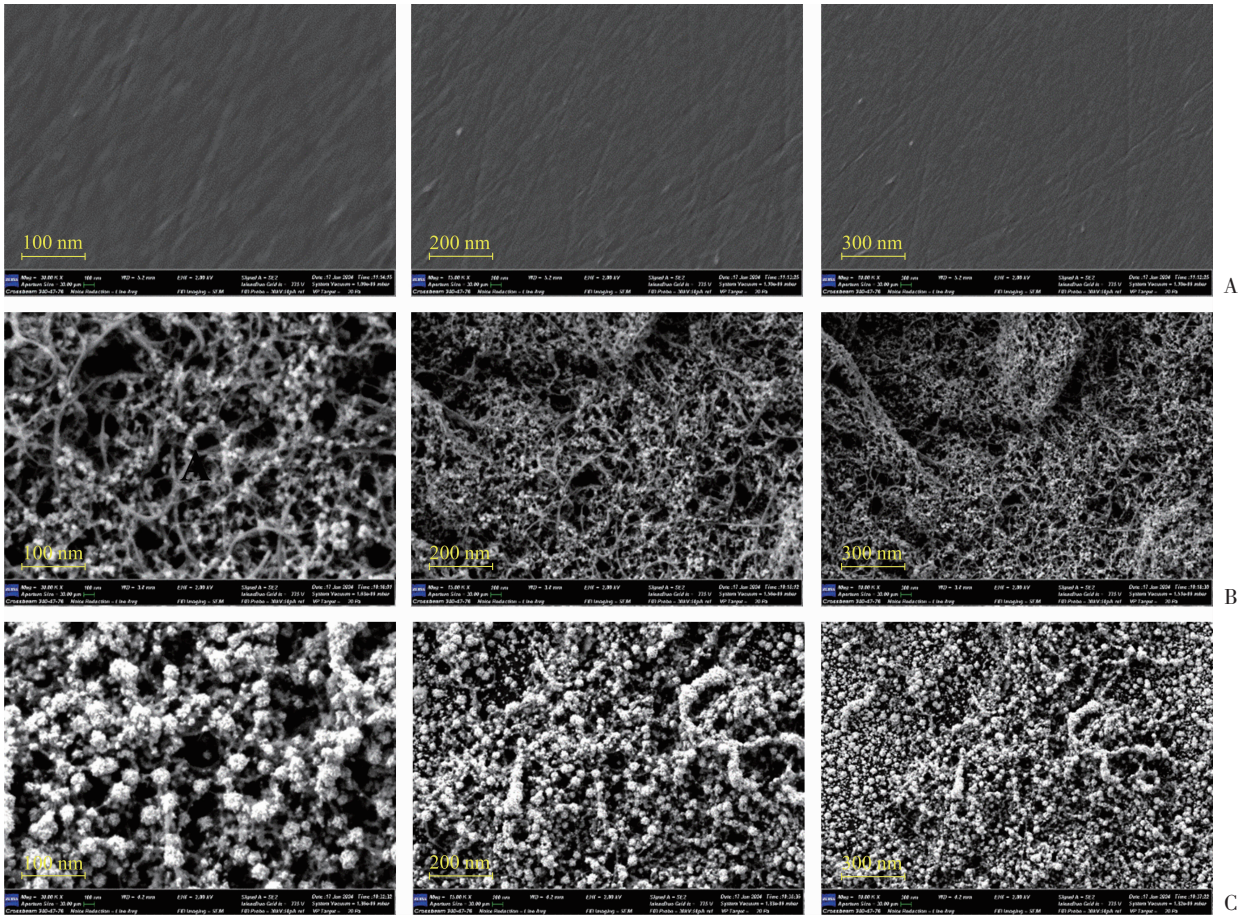
2.3　电化学传感器组装及界面表征

图 3A 为传感器组装示意图,如图 3B 中 CV 曲线所示,裸玻碳电极包被 PB-MWCNTs-GNPs 纳米复合物材料后,电流显著增大,提示电子媒介体 PB 与金纳米颗粒提高了电子转移效率;当将流产布鲁氏菌抗体、BSA 和流产布鲁氏菌依次固定在电极表面上时,电子在电极表面的转移被阻碍,导电率降低,表现为电流下降。组装过程中的电化学特性证实了免疫传感器的成功构建。



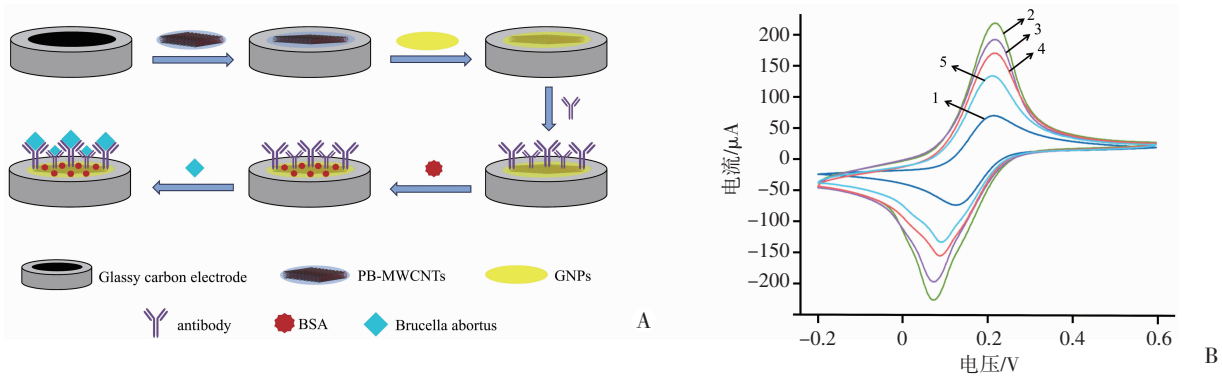

A:流产布鲁氏菌待测样本与 PBS 对照组对比; B:抗体被梯度稀释后与流产布鲁氏菌结合情况

**图 1　ELISA 考察样本与流产布鲁氏菌抗体的结合情况**




A：裸玻碳电极表面；B：修饰 PB-MWCTs 材料后的玻碳电极表面；C：修饰 PB-MWCNTs-GNPs 材料后的玻碳电极表面

**图 2　扫描电镜图**

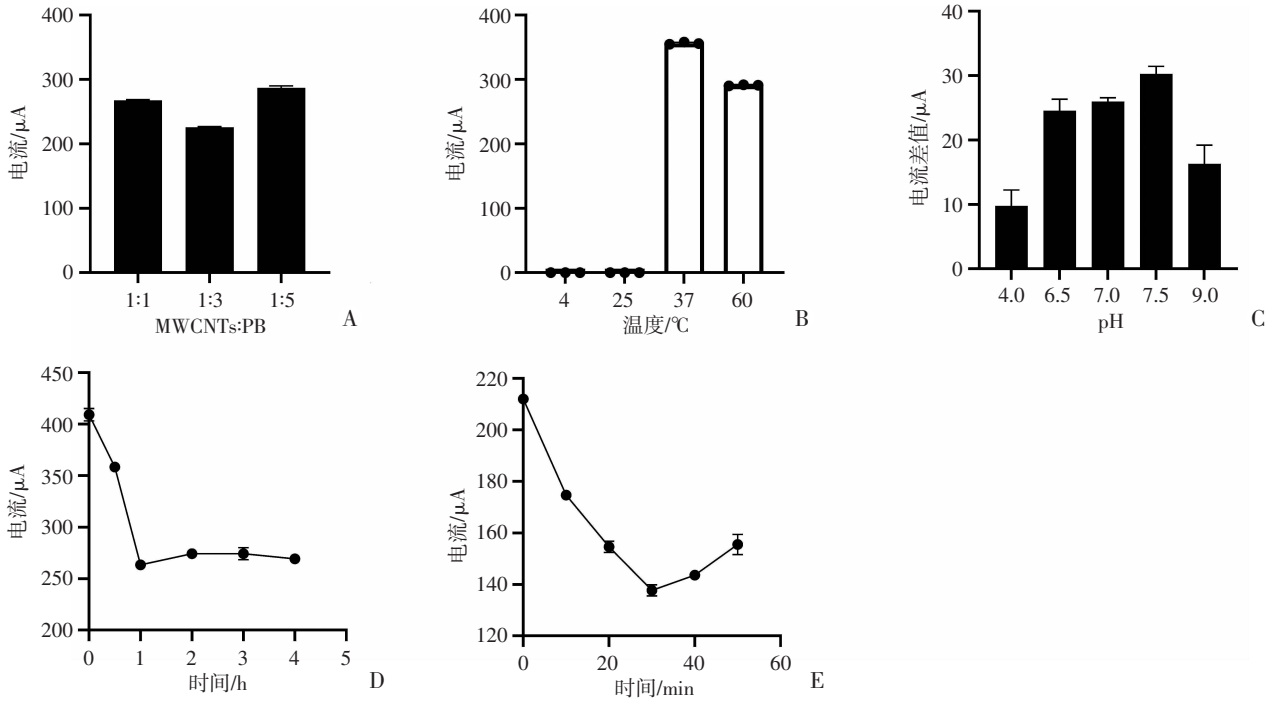



A：电化学免疫传感器的组装图；B：循环伏安曲线图　1：裸玻碳电极；2：固载 PB-MWCNTs-GNPs 材料后的电流值；3：孵育流产布鲁氏菌抗体后的电流值；4：使用 BSA 封闭后的电流值；5：孵育流产布鲁氏菌待测样本后的电流值

**图 3　电化学免疫传感器组装和表征过程**

## 2.4　传感器组装条件优化

为了获得免疫传感器组装的最佳条件，进行了优化实验。如图 4A 所示，当 MWCNTs 与 PB 的混合比为 1∶5时，测得电流值最大，表明该比例具有最佳的导电活性；图 4B 表明，4 ℃和 25 ℃条件下材料不能有效固载于电极表面，干燥温度为 37 ℃时，电流响应值最高，因此选择其为最佳温度；图 4C 显示，扫描溶液的 pH=7.5 时，免疫传感器获得了最大检测灵敏度，确定该酸度为最佳条件；传感器表面生物分子的固载随着孵育时间的延长而增加，直到达到最大值，此时电流信号达到最小值，如图 4D、E 可见，流产布鲁氏菌抗体和待测样本的最佳孵育时间分别为 1 h 和 30 min。




A：纳米复合物材料的配比；B：纳米复合物材料的干燥温度；C：扫描液的 pH 值；D：流产布鲁氏菌抗体孵育时间；E：待测样本孵育时间

**图 4 传感器构建条件优化**

### 2.5 电化学免疫传感器性能考察

如图 5A、B 所示，在 10～$1\times10^5$CFU/mL 范围内，传感器电流信号的降低值（ΔI 表示为电流差值）随着细菌浓度的增大而升高，表明免疫传感器检测具有良好的线性关系和高灵敏度。

对 10、$1\times10^3$ 和 $1\times10^5$CFU/mL 浓度的流产布鲁氏菌进行重复测量，由表 1 所示，对应 RSD 值分别为 3.09%、2.59%和 3.48%，表明免疫传感器具有良好的检测重复性，表格中每一个数据为使用一次电化学免疫传感器检测流产布鲁氏菌的检测结果；由图 5C 可见，传感器在 4 ℃储存 1、2、3、5、10、15 d 后，传感器的检测结果没有显著变化，RSD 值为 2.46%，提示该传感器具有较好的稳定性。在流产布鲁氏菌样品中加入大肠埃希菌、鲍曼不动杆菌、金黄色葡萄球菌和表皮葡萄球菌等干扰后，电流值的下降与 PBS 对照组没有显著差异（图 5D），表明该传感器具有良好的特异性。

采用电化学免疫传感器法和平板菌落计数法分别测定小牛血清中的流产布鲁氏菌，结果表明（表 2），免疫传感器法的回收率在 89.0%～105.0%，优于平板计数法（80.0%～124.0%），证实了传感器的准确性和可靠性。

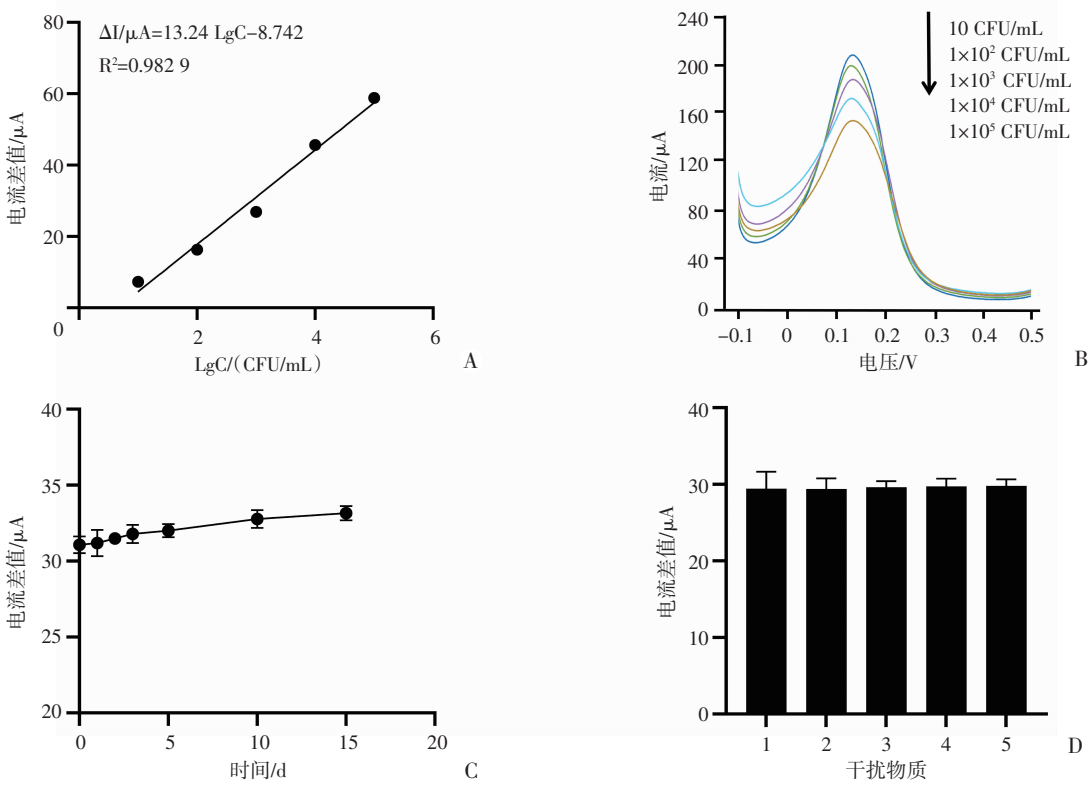
## 3 讨论

布鲁氏菌感染的特点是潜伏期长，根据感染情况和患者的身体状况，受染者大多于 10～50 d 内发病。因此，布鲁氏病的早期诊断可以显著提高治疗效果，改善预后。

电化学免疫传感器已被报道用于检测各种微生物，如大肠埃希菌、副伤寒沙门氏菌、铜绿假单胞菌和金黄色葡萄球菌[13-14]。但针对布鲁氏菌的电化学检测的研究较少，虽然有研究设计构建了传感器对流产布鲁氏菌进行检测[15]，但提高传感器检测灵敏度仍然是当前需要解决的关键问题。

传感器设计的关键在于选择合适的材料，MWCNTs 因其较大的比表面积、优异的催化导电性和高化学稳定性而被广泛用于电化学传感器的组装[16]。GNPs 具有良好的生物相容性，通常用于固定生物分子，促进电子转移和放大传感器信号[17]。PB 具有优良的电化学可逆性、高稳定性、易于制备等优点，在电化学催化及分析方面具有很好的应用前景[18]。

本研究采用 PB-MWCNTs-GNPs 纳米复合物作为免疫反应的载体，通过考察纳米复合材料比例、干燥温度、缓冲体系 pH 和孵育时间等关键条件，成功地制备了一种高效的电化学免疫传感器，可检测最低浓度为 10 CFU/mL 的流产布鲁氏菌样本，1 h 内即可完成测定，与现有多数方法相比，在灵敏度与快速检测方面具有明显优势。此外，该传感器检测不易受到其他介质的影响，抗干扰能力较强。在回收实验中将本法与经




A：电化学免疫传感器检测不同浓度的流产布鲁氏菌待测样本的线性曲线；B：梯度浓度流产布鲁氏菌待测样本的 DPV 曲线；C：传感器稳定性考察；D：传感器抗干扰性考察　1：PBS；2：大肠埃希菌；3：鲍曼不动杆菌；4：金黄色葡萄球菌；5：表皮葡萄球菌

**图 5　传感器性能评价**

**表 1　重复性评估结果**

| 样本浓度/(CFU/mL) | ΔI/μA | | | | | RSD 值/% |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 10 | 10.54 | 10.72 | 9.9 | 10.63 | 10.5 | 3.09 |
| $1\times10^3$ | 28.54 | 29.15 | 28.92 | 28.73 | 30.45 | 2.59 |
| $1\times10^5$ | 58.36 | 60.17 | 55.37 | 56.69 | 55.75 | 3.48 |

**表 2　回收率测定结果**

| 样本浓度/(CFU/mL) | 检测结果/(CFU/mL) | | 回收率/% | |
|---|---|---|---|---|
| | 平板计数法 | 电化学传感器法 | 平板计数法 | 电化学传感器法 |
| 10 | 8.00 | 9.18 | 80.0 | 91.8 |
| $1\times10^3$ | $1.24\times10^3$ | $1.05\times10^3$ | 124.0 | 105.0 |
| $1\times10^5$ | $1.11\times10^5$ | $0.89\times10^5$ | 110.0 | 89.0 |

典细菌培养法进行了对比,在检测准确度方面占有一定优势。

综上所述,本研究以全菌为特异性识别对象,以 PB-MWCNTs-GNPs 为免疫反应载体,成功制备了一种检测流产布鲁氏菌的电化学免疫传感器。构建过程简便,检测快速、灵敏、准确,稳定且抗干扰能力强,可以为布鲁氏病的临床早期诊断提供支持和参考。

**参考文献:**

[1] QURESHI K A, PARVEZ A, FAHMY N A, *et al*. Brucellosis: epidemiology, pathogenesis, diagnosis and treatment—a comprehensive review[J]. Ann Med, 2023, 55(2): 2295398. DOI: 10.1080/07853890.2023.2295398.

[2] SHIM S, SOH S H, IM Y B, *et al*. Elicitation of Th1/Th2

related responses in mice by chitosan nanoparticles loaded with *Brucella abortus* malate dehydrogenase, outer membrane proteins 10 and 19[J]. Int J Med Microbiol, 2020, 310(1): 151362. DOI: 10.1016/j.ijmm.2019.151362.

[3] KHURANA S K, SEHRAWAT A, TIWARI R, *et al*. Bovine brucellosis—a comprehensive review[J]. Vet Q, 2021, 41(1): 61-88. DOI: 10.1080/01652176.2020.1868616.

[4] YANG X G, WANG Y, LIU Y, *et al*. A label-based polymer nanoparticles biosensor combined with loop-mediated isothermal amplification for rapid, sensitive, and highly specific identification of *Brucella abortus*[J]. Front Bioeng Biotechnol, 2021, 9: 758564. DOI: 10.3389/fbioe.2021.758564.

[5] KHAN A U, SAYOUR A E, MELZER F, *et al*. Seroprevalence and molecular identification of *Brucella* spp. in camels in Egypt[J]. Microorganisms, 2020, 8(7): 1035. DOI: 10.3390/microorganisms8071035.

[6] LEGESSE A, MEKURIAW A, GELAYE E, *et al*. Comparative evaluation of RBPT, I-ELISA, and CFT for the diagnosis of brucellosis and PCR detection of *Brucella* species from Ethiopian sheep, goats, and cattle sera[J]. BMC Microbiol, 2023, 23(1): 216. DOI: 10.1186/s12866-023-02962-2.

[7] ALMUZAINI A M. An epidemiological study of brucellosis in different animal species from the Al-qassim Region, Saudi Arabia[J]. Vaccines, 2023, 11(3): 694. DOI: 10.3390/vaccines11030694.

[8] YANG H, ZHANG G X, LUO P F, *et al*. Detection of *Brucellae* in peripheral blood mononuclear cells for monitoring therapeutic efficacy of brucellosis infection[J]. Antimicrob Resist Infect Control, 2019, 8: 154. DOI: 10.1186/s13756-019-0607-2.

[9] BRACAGLIA S, RANALLO S, RICCI F. Electrochemical cell-free biosensors for antibody detection[J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2023, 62(8): e202216512. DOI: 10.1002/anie.202216512.

[10] FENG Q S, HA X Q, LIN T, *et al*. *Brucella* cultures characteristics, clinical characteristics, and infection biomarkers of human Brucellosis[J]. J Infect Public Health, 2023, 16(3): 303-309. DOI: 10.1016/j.jiph.2023.01.002.

[11] XU N N, WANG W, CHEN F Z, *et al*. ELISA is superior to bacterial culture and agglutination test in the diagnosis of brucellosis in an endemic area in China[J]. BMC Infect Dis, 2020, 20(1): 11. DOI: 10.1186/s12879-019-4729-1.

[12] 杜聪聪, 郭婷, 周鸿媛, 等. 一种基于劈裂适配体和双信号的黄曲霉毒素M1电化学传感器[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(10): 22-27. DOI: 10.13995/j.cnki.11-1802/ts.030026.
DU C C, GUO T, ZHOU H Y, *et al*. An electrochemical sensor based on split aptamer and dual signal for the detection of aflatoxin M1[J]. Food Ferment Ind, 2022, 48(10): 22-27. DOI: 10.13995/j.cnki.11-1802/ts.030026.

[13] YOU Z H, QIU Q M, CHEN H Y, *et al*. Laser-induced noble metal nanoparticle-graphene composites enabled flexible biosensor for pathogen detection[J]. Biosens Bioelectron, 2020, 150: 111896. DOI: 10.1016/j.bios.2019.111896.

[14] YANG H, CHEN H, CAO L, *et al*. An immunosensor for sensitive photoelectrochemical detection of *Staphylococcus aureus* using ZnS-$Ag_2S$/polydopamine as photoelectric material and $Cu_2O$ as peroxidase mimic tag[J]. Talanta, 2020, 212: 120797. DOI: 10.1016/j.talanta.2020.120797.

[15] CHEN H S, LIU H B, CUI C J, *et al*. Recombinant protein G/Au nanoparticles/graphene oxide modified electrodes used as an electrochemical biosensor for *Brucella* Testing in milk[J]. J Food Sci Technol, 2022, 59(12): 4653-4662. DOI: 10.1007/s13197-022-05544-8.

[16] NAIK S S, LEE S J, THEERTHAGIRI J, *et al*. Rapid and highly selective electrochemical sensor based on ZnS/Au-decorated f-multi-walled carbon nanotube nanocomposites produced via pulsed laser technique for detection of toxic nitro compounds[J]. J Hazard Mater, 2021, 418: 126269. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2021.126269.

[17] LIU Y, WEERASOORIYA R, CHEN X. The metal-organic framework supported gold nanoparticles as a highly sensitive platform for electrochemical detection of methyl mercury species in the aqueous environment[J]. J Hazard Mater, 2022, 431: 128608. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2022.128608.

[18] VESSELLA T, ZHANG H, ZHOU Z R, *et al*. *In-situ* synthesized $V_2CT_x$ MXene-based immune tag for the electrochemical detection of Interleukin 6 (IL-6) from breast cancer cells[J]. Biosens Bioelectron, 2023, 237: 115512. DOI: 10.1016/j.bios.2023.115512.

(**收稿**:2024-01-20;**修回**:2024-04-18)

(编辑 邓强庭)