

Plataformas empleadas en el desarrollo de biosensores y nanobiosensores para la detección de patógenos transmitidos por alimentos y agua

América Selene Gaona Mendoza^{1,2}, Julio Armando Massange Sánchez³ y Luz Edith Casados Vázquez^{1,2,4*}

¹Programa de Posgrado en Biociencias, División de Ciencias de la Vida, Universidad de Guanajuato. Campus Irapuato-Salamanca. Irapuato, Guanajuato, 36500, México.

²Departamento de Alimentos, División de Ciencias de la Vida, Universidad de Guanajuato. Campus Irapuato-Salamanca. Irapuato, Guanajuato, 36500, México.

³Unidad de Biotecnología Vegetal, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C. (CIATEJ), Guadalajara 44270, México.

⁴CONAHCyT-Universidad de Guanajuato.

*Autor de correspondencia: edith.casados@ugto.mx

Palabras clave:

bacteriófagos, biosensores, BMCC, ETAs, nanobiosensores.

Resumen

Las enfermedades transmitidas por alimentos se desarrollan debido a la contaminación de productos alimenticios con microorganismos patógenos, toxinas u otros contaminantes. Una estrategia para evitar los brotes infecciosos consiste en la detección oportuna de estos contaminantes. Existen diversos métodos para evaluar y asegurar la inocuidad de los alimentos, los métodos convencionales suelen ser lentos y algunos requieren de personal capacitado para poder realizar la detección. Ante esta problemática ha surgido la generación de métodos rápidos e innovadores en los cuales se hace uso de la ingeniería genética para el desarrollo de biosensores, estos pueden utilizar una amplia gama de plataformas para su construcción, entre ellas destacan las células completas, los fagos e inclusive material inerte como nanotubos de diversos materiales. Los biosensores brindan la ventaja de que traducen el reconocimiento del contaminante en una señal visible que facilita la detección y por lo tanto las estrategias de contención.

Introducción

Las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETAs) surgen por la presencia de agentes patógenos como virus, parásitos, bacterias, mohos y levaduras o toxinas en los productos alimenticios; estos pueden ser contaminados por diversas vías que pueden ir

Enfoques Transdisciplinarios:
Ciencia y Sociedad, 3(1), 103-118.
ISSN: 3061-709X. <https://doi.org/10.5281/zenodo.14708224>

Recibido: 20 septiembre 2024
Revisado: 7 de noviembre 2024
Aceptado: 13 de diciembre 2024
Publicado: 21 de enero 2025



Este artículo es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos y condiciones de la licencia CC BY-NC-SA 4.0. Para ver una copia de esta licencia visite <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>



desde la producción hasta el procesamiento y distribución como se muestra en la figura 1 y suelen estar asociadas a síntomas gastrointestinales como diarrea, vómito, dolor abdominal y fiebre. Además, pueden causar otros efectos adversos para la salud humana, como complicaciones neurológicas, hepáticas y renales, y en algunos casos, llegar a ser un problema de mortalidad para personas que pertenecen al grupo de alto riesgo que incluye mujeres embarazadas, neonatos, adultos mayores y personas inmunocomprometidas (Mohammad et al., 2018).

Los patógenos, como bacterias, virus o parásitos son los principales contribuyentes en la aparición de las ETAs; se caracterizan por su dosis mínima necesaria para causar una infección, alta virulencia, amplia accesibilidad y estabilidad en los productos contaminados (Ali et al., 2020). Hablando específicamente de bacterias, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* y los géneros *Salmonella* y *Campylobacter* son los patógenos transmitidos por alimentos de mayor incidencia. Cada año se presentan hasta 60 millones de casos por ETAs, de los cuales en promedio 420,000 terminan en decesos, principalmente en países en vías de desarrollo y situación de extrema pobreza (Foodborne Diseases Estimates, s.f.).

Las ETAs son prevenibles y la detección temprana de estos patógenos es fundamental para evitar la propagación de enfermedades. Por lo tanto, es de vital importancia el desarrollo de nuevos y mejores métodos de detección que cumplan con las siguientes características; rápidos, confiables y de fácil uso. En la actualidad hay diversos métodos de detección, dentro de los cuales, los más asequibles son las técnicas convencionales como el uso de cultivos e identificación mediante pruebas bioquímicas. También están disponibles técnicas de ingeniería genética como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), que es mucho más sensible, pero requiere de varios pasos adicionales en el procesamiento de la muestra, además de personal calificado (Kabiraz et al., 2023). La biotecnología alimentaria es un campo en creciente desarrollo cuyo objetivo es mejorar la producción, calidad, seguridad y sostenibilidad de los alimentos. Busca soluciones a problemas mediante la mejora e innovación de procesos para hacerlos más rápidos, confiables y fáciles de ejecutar. Un área de particular interés, es la detección de patógenos, en la que el desarrollo de biosensores juega un papel crucial. Estos dispositivos son útiles debido a que nos permiten detectar moléculas de interés nutrimental, moléculas contaminantes como toxinas y metales pesados; y además, una amplia gama de organismos patógenos, entre ellos se pueden mencionar bacterias, virus e incluso parásitos (Ali et al., 2020; Singh et al., 2023; Sa'adon et al., 2024). Por todo lo mencionado, el objetivo de esta revisión es dar un panorama general sobre las plataformas que se emplean en el desarrollo de estos biosensores y nanosensores para la detección de patógenos transmitidos por alimentos y agua.

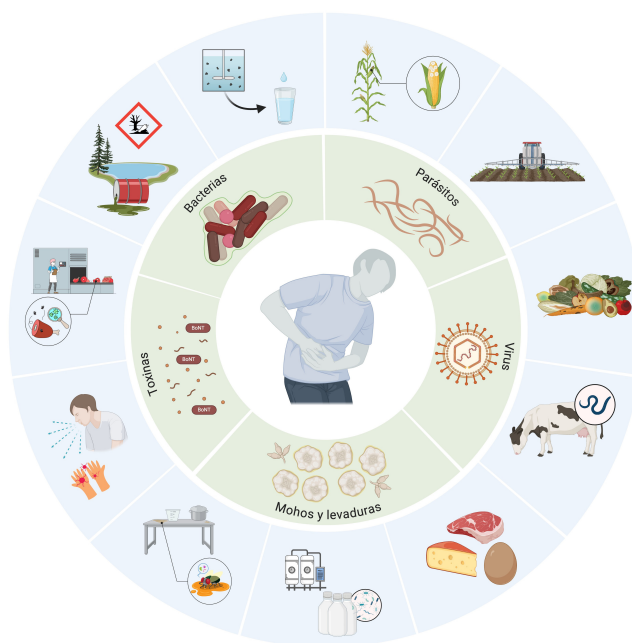


Figura 1. Principales agentes causantes de Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETAs) y las fuentes más susceptibles a contaminación que les permiten su diseminación
Fuente: Creada con BioRender

¿Qué son los biosensores?

Un biosensor es un dispositivo de diagnóstico que utiliza componentes biológicos de microorganismos, como orgánulos, células completas, enzimas aisladas, anticuerpos o tejidos, acoplados a un elemento transductor. Este transductor genera una señal cuantitativa o cualitativa que es proporcional a la concentración de la molécula o analito objetivo (Hasan et al., 2014).

Para que un biosensor funcione se requieren tres componentes básicos: a) un elemento que efectuará el reconocimiento del analito b) un transductor que se activará en presencia de esta molécula y generará un cambio físico, químico, óptico, térmico o incluso eléctrico, y finalmente c) un detector que permitirá convertir estos cambios en señales que son fáciles de interpretar (Valenzuela-Amaro et al., 2023). En resumen, un biosensor es un dispositivo que cuenta con un elemento biológico, que le permite detectar biomarcadores específicos de los patógenos, utilizando señales cuantificables y detectables con las que se puede correlacionar la presencia de patógeno (Fracchiolla et al., 2013; Hegde et al., 2022).

Para el desarrollo de biosensores se emplean diversas plataformas que servirán como “chasis” para contener al elemento receptor, estos pueden ser elementos complejos como por ejemplo: bacterias y células eucariotas modificadas genéticamente para reconocer al analito en cuestión; se han utilizado de igual manera virus que han sido diseñados usando herramientas de ingeniería genética; e incluso se



pueden utilizar matrices inertes como es el caso de los nanobiosensores que utilizan nanomateriales para la fijación del elemento de reconocimiento. Una vez que la plataforma ha detectado al analito para el cual fue diseñada se genera una señal de salida que nos indica que el analito está presente en la muestra; esta señal de salida debe ser medible u observable y depende de la naturaleza del diseño del biosensor, podemos observar señales electroquímicas, piezo-eléctricas u ópticas (Figura 2).

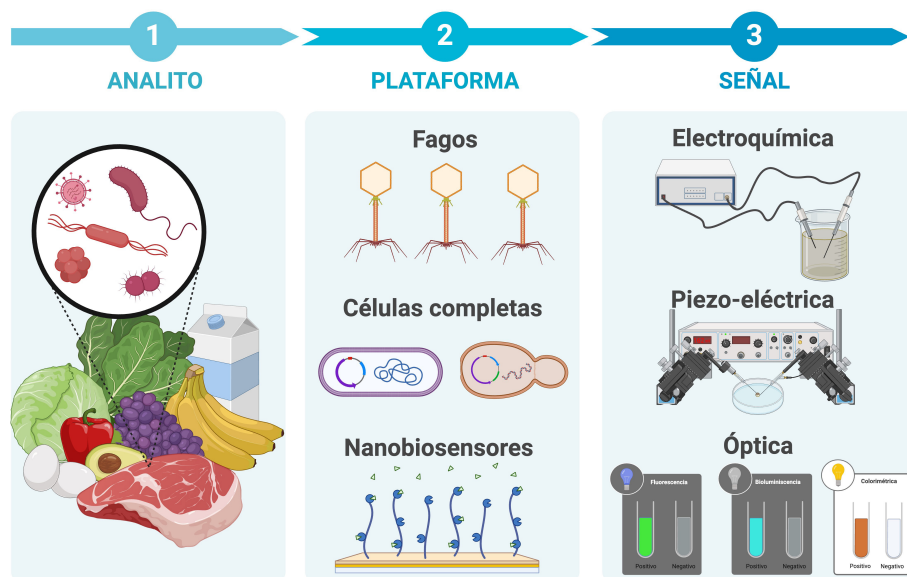


Figura 2. Estrategias de detección de contaminantes en alimentos utilizando diferentes plataformas biosensoras
Fuente: Creada con BioRender

Biosensores microbianos de células completas (BMCC)

Como su nombre lo dice, los BMCC utilizan células completas de origen procariota y eucariota como chasis para contener a los circuitos genéticos necesarios para que se efectúe el reconocimiento y la transducción de la señal. Estos circuitos consisten en el ensamble de diversas piezas como genes de receptores, reporteros, promotores, terminadores, etc., que conforman al elemento de reconocimiento y de transducción.

Generalmente, para el diseño de estos biosensores se aprovecha la capacidad natural de los microorganismos patógenos para detectar la presencia de moléculas propias en el ambiente y a través de técnicas moleculares se mimetiza esta capacidad de detección en la célula que será el chasis del biosensor. Por ejemplo, podemos mencionar el caso de la detección de la población bacteriana, mejor conocido como *quórum sensing* bacteriano (QS). Este es un sistema de comunicación celular que se basa en la detección de moléculas autoinductoras (AI) por parte de la comunidad



bacteriana. La detección en sistemas de QS se realiza mediante un sistema de dos componentes que consta de un receptor de membrana que reconoce la molécula AI. Una vez detectada, el receptor se activa y fosforila a un regulador transcripcional específico, que regula la transcripción de un gen blanco. En el diseño de los biosensores, este gen puede ser reemplazado por un gen reportero. Este sistema de dos componentes es un candidato ideal como elemento de reconocimiento debido a su especificidad y su capacidad para desencadenar una reacción que permite visualizar la presencia del patógeno como se observa en la figura 3.

El diseño de estos biosensores ha permitido la detección de moléculas de señalización de grampositivas como el autoinductor AIP-I de *S. aureus* (Lubkowitz et al., 2018) y de gramnegativas moléculas de acil-homoserina lactona (AHLs) de *P. aeruginosa* y *B. pseudomallei* (Wu et al., 2021) (Tabla 1).

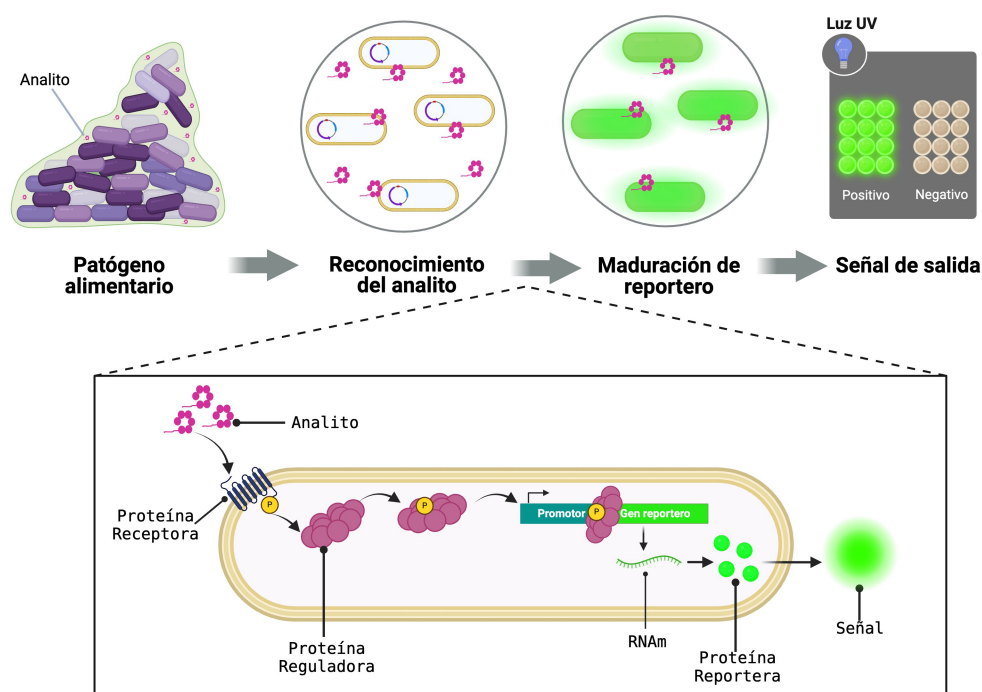


Figura 3. Mecanismo de detección basados en el sistema de quorum sensing para la generación de biosensores microbianos de células completas (BMCC)

Fuente: Creada con BioRender

Ventajas de los BMCC

Debido a que se trata de organismos vivos, la vida útil de los BMCC puede ser limitada, siendo de días a meses; no obstante, el uso de hospederos formadores de esporas como *Bacillus subtilis* puede extender la durabilidad del biosensor hasta por 1 año (Sangal et al., 2011). Estrategias como la encapsulación, liofilización e



inmovilización de las células permiten su conservación y transporte hasta su uso. Aunado a ello la encapsulación permite una fácil manipulación y almacenamiento de las células biosensoras, mientras que la liofilización permite su adhesión en tiras de papel o membranas para la preparación de tiras reactivas de uso rápido y sencillo, sin la necesidad de requerir personal altamente capacitado para su uso. Por otra parte, al tratarse de células bacterianas en su mayoría, los requerimientos para su crecimiento son bajos, mismos que se ven reflejados en la parte económica por lo que pueden considerarse herramientas accesibles.

Bacteriófagos

Los biosensores que emplean bacteriófagos como plataformas aprovechan la capacidad natural de estos virus para infectar específicamente a una bacteria. Existe una gran diversidad de fagos, aunque para el desarrollo de biosensores se utilizan principalmente los bacteriófagos líticos y templados (Al-Hindi et al., 2022).

¿Cómo funcionan los biosensores basados en fagos?

A diferencia de los BMCC, que requieren un elemento de reconocimiento, los biosensores que utilizan fagos se valen de la capacidad y especificidad de estos para infectar al patógeno de manera selectiva. Por medio de las herramientas moleculares se inserta en el bacteriófago un biomarcador que será el que nos genere una señal de salida, señal que se puede ver solo si el bacteriófago infecta al patógeno para el cual es específico. Algunos de los biomarcadores se basan en reacciones catalíticas, por ejemplo, el uso de la β -D-galactosidasa que posterior a su liberación y al añadir p-aminofenil- β -D-galactopiranosido como sustrato se obtiene p-aminofenol, cuya oxidación genera una señal electroquímica como respuesta, lo que ha permitido la detección de patógenos como *Bacillus cereus*, *Mycobacterium smegmatis* y *E. coli* en alimentos y agua (Neufeld et al., 2003; Yemini et al., 2007; Hinkley et al., 2018).

Otros biomarcadores que resaltan son el trifosfato de adenosina (ATP) y la adenilato-kinasa (AK) que pueden utilizarse en ensayos de bioluminiscencia, pues su liberación impulsa la reacción catalítica de la enzima luciferasa (Brovko et al., 2012), generando una señal de salida de tipo óptica para la detección de *Salmonella*, *L. monocytogenes*, *E. coli* O157 (Wu & Griffiths, 2001). En particular, el gen que codifica para la enzima luciferasa, es uno de los biomarcadores de mayor interés para crear reacciones de bioluminiscencia; gracias a la inserción de este gen mediante ingeniería genética y posterior expresión en fagos reporteros, se facilita la conversión del sustrato cromogénico que genera una señal óptica fácilmente detectable.

A la actualidad, se han desarrollado una diversidad de fagos que permiten detectar bacterias como *E. coli* (Zurier et al., 2020) o *Listeria monocytogenes* (Meile et al., 2020) en concentraciones muy pequeñas, incluso hasta una sola célula (Tabla 1). En la Figura 4 se detalla el uso del fago A500: *nluc* Δ LCR como biosensor para la detección de *Listeria monocytogenes*; en un primer paso se lleva a cabo el muestreo del alimento contaminado, posteriormente se lleva a cabo un proceso de enriquecimiento en medio de cultivo selectivo para permitir el crecimiento del patógeno y con ello la infección por fagos. Una vez que el fago se replica en el huésped y comienza la lisis celular y síntesis de la enzima luciferasa (NLuc), se adiciona el sustrato para la generación de bioluminiscencia. Este método permitió detectar una UFC (unidad formadora de colonias) de *L. monocytogenes* en 25 g de leche, embutidos y lechuga en menos de 24 h (Meile et al., 2020).

Además de las reacciones enzimáticas, se han utilizado otras formas de detección con estas plataformas, como el cambio en la conductividad (impedancia) del medio de crecimiento del patógeno (Falahee et al., 2003) e incluso proteínas asociadas a fagos (RBP) responsables de reconocer receptores específicos de las bacterias huésped (He et al., 2018; Kunstmann et al., 2018).

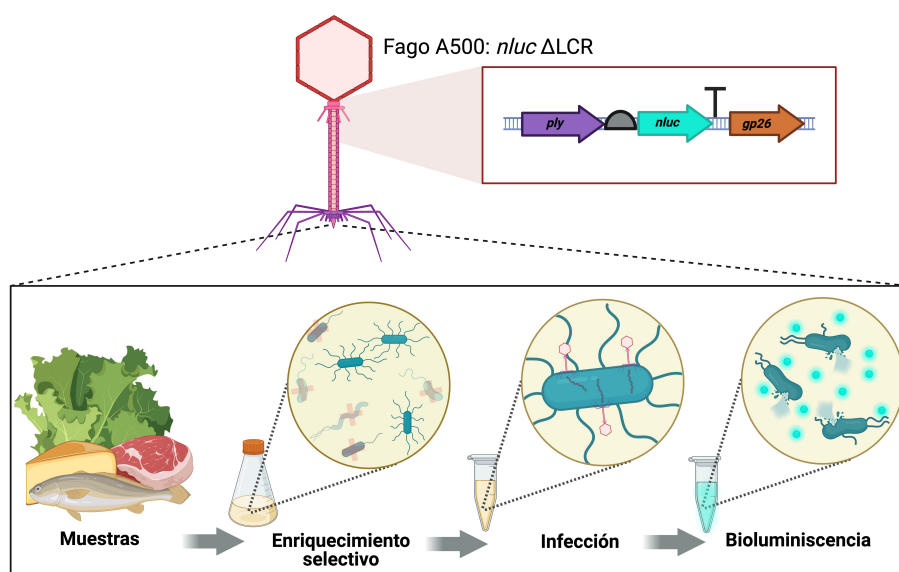


Figura 4. Detección de *Listeria monocytogenes* en alimentos mediante fagos A500 modificados con un reportero basados en bioluminiscencia
Fuente: Tomado de Meile et al., 2020 con modificaciones

Ventajas de los fagos

Una de las principales ventajas de los fagos como método de detección es su alta especificidad hacia una bacteria huésped, por lo que además son seguros de usar



ya que no infectan humanos. A diferencia de las técnicas de biología molecular, como la PCR, los fagos permiten diferenciar entre células vivas y muertas puesto que los fagos solo se replican en las bacterias vivas (Qian et al., 2017). El tiempo es un factor importante que se considera al seleccionar un método de detección, en el caso de los fagos virulentos el tiempo para completar el ciclo de infección ocurre entre 1 y 2 h post-infección por lo que la liberación del biomarcador en el huésped infectado es rápida, lo que acelera el proceso de detección en comparación con otros métodos. Por su parte, ventajas como la estabilidad ante diversas condiciones ambientales como altas temperaturas, variaciones de pH y la resistencia a solventes orgánicos (Xu et al., 2019), hace de los fagos un método de detección interesante. Finalmente, su producción a gran escala se considera viable debido a su simpleza y costos bajos, (Bárdy et al., 2016).

Nanobiosensores

Un nanobiosensor se caracteriza por incorporar nanomateriales para la fabricación del elemento transductor, lo que permite detectar patógenos y sus biomoléculas en una escala extremadamente pequeña ya que convierten una interacción biomolecular en señales detectables, que van desde cambios en la concentración de protones, emisiones de calor o alteraciones en propiedades de la luz, como la fluorescencia o la absorbancia generando señales electroquímicas, ópticas o magnéticas (Saha et al., 2012; Valenzuela-Amaro et al., 2023).

¿Qué son los nanobiosensores y cómo funcionan?

Los nanobiosensores deben su nombre a la utilización de nanomateriales, que son la clave de la sensibilidad y especificidad de estos biosensores. Entre los materiales más utilizados se encuentran las nanopartículas de oro metálico, óxido de hierro, puntos cuánticos, óxido de grafeno y nanotubos de carbono (Srivastava et al., 2018; Ansari & Malhotra, 2022); han demostrado ser excelentes plataformas para el transporte de elementos de bioconocimiento, tales como enzimas, anticuerpos, moléculas de DNA, aptámeros o polímeros de impresión molecular, que son esenciales para detectar y unirse específicamente a microorganismos y sus biomoléculas (Guruprasath et al., 2024). Un aspecto fundamental en el diseño de los nanobiosensores es la biofuncionalización de la nanoestructura generada con el agente de reconocimiento sin alterar su actividad (Valenzuela-Amaro et al., 2023). El diseño de un nanobiosensor se basa en el uso de materiales a escala nanométrica como nanotubos magnéticos, metálicos, de óxido de grafeno, de carbono y puntos cuánticos acoplados a componentes biológicos como enzimas, DNA, anticuerpos,

aptámeros, entre otros. Este acoplamiento permite la detección del analito que por medio de un transductor generará una señal visible como se muestra en la Figura 5.

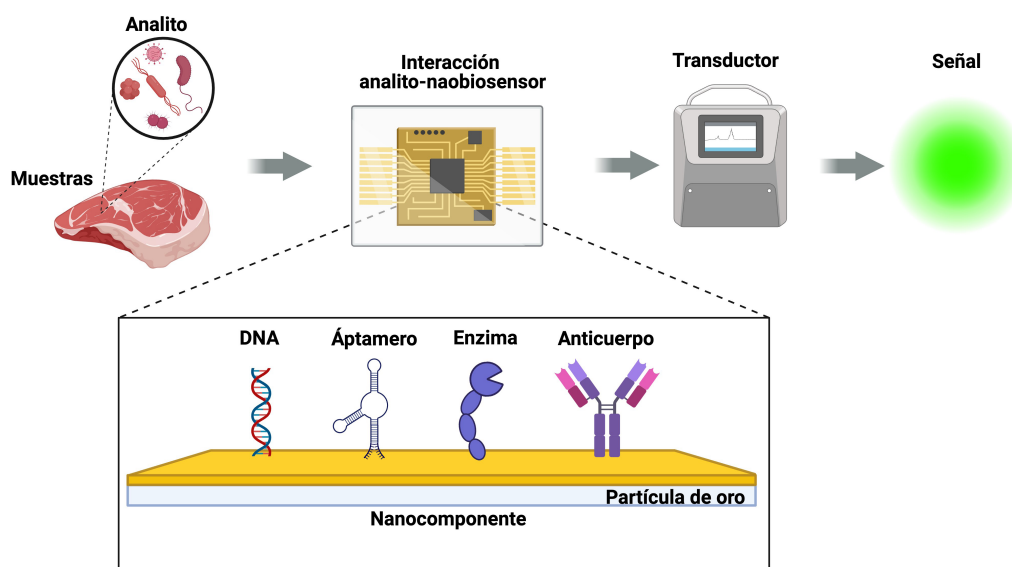


Figura 5. Los nanobiosensores como plataformas de detección de patógenos alimentarios
Fuente: Creada con BioRender

Los nanobiosensores son de gran interés en la industria alimentaria debido a su versatilidad. En general, se ha logrado la detección de patógenos como *Campylobacter jejuni*, contaminante de carne de pollo y agua de consumo no tratada, (McVey et al., 2017) y *Salmonella enterica* Typhimurium, patógeno presente en huevo, carne cruda y leche, esto mediante la funcionalización de nanopartículas de oro con anticuerpos (Guo et al., 2020) o nanopartículas de plata con moléculas de DNA, respectivamente (Leng et al., 2018). Otra aplicación interesante es el uso de estas plataformas en combinación con aptámeros, es decir pequeñas moléculas de DNA o RNA que pueden unirse específicamente a una molécula objetivo, técnicas que se han empleado en la detección de *Staphylococcus aureus* al utilizar un aptasensor modificado con nanopartículas de óxido de hierro (Fe₃O₄) y puntos de carbono modificados (Cui et al., 2019) (Tabla 1).

Ventajas de los nanobiosensores

El integrar nanomateriales en los biosensores mejora la sensibilidad del dispositivo y por lo tanto el control de la seguridad alimentaria, incluso durante la etapa de envasado (Thakur et al., 2022). Características como velocidad y especificidad de detección ha hecho que los nanosensores reemplacen a los métodos tradicionales ya que además de detectar bajas concentraciones del patógeno, presenta un mínimo de falsos positivos o negativos. Además, son considerados como una tecnología portátil que facilita el monitoreo *in situ*,



es decir en tiempo real en el alimento e instalaciones (Davidescu et al., 2024). Otra ventaja de estos dispositivos es la capacidad de desarrollar plataformas multiplexadas capaces de detectar varios patógenos en un solo ensayo (Fathi et al., 2012; Lotfi-Attari et al., 2017). Aunado a ello, el diseño de nanobiosensores de un solo uso, es decir, desechables evita la contaminación de los sistemas de detección (Bhalla et al., 2020).

Tabla 1. Plataformas empleadas para el diseño de biosensores y nanobiosensores usados en la detección de bacterias patógenas

Plataforma empleada	Patógeno a detectar	Señal de salida	Sensibilidad	Tiempo de detección	Fuente
Células enteras de <i>Lactobacillus reuteri</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	Colorimétrica	Detección de AIP de 10^{-9} a 10^{-7} M.	3 h	(Lubkowitz, et al., 2018)
Células enteras de <i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> y <i>Burkholderia pseudomallei</i>	Fluorescencia	Detección de AHL de 10^{-8} a 10^{-7} M.	6 a 8 h	(Wu et al, 2021)
Fago λ vir	<i>E. coli</i> MG1655	Electroquímica	Detección de 1 a 10^5 UFC/mL.	6 a 8 h	(Neufeld, et al., 2003)
Fago B1-7064	<i>Bacillus cereus</i>	Amperométrica	Detección de 10 a 10^2 células viables/mL.	8 h	(Yemini et al., 2007)
Fago D29	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	Amperométrica	Detección de 10 a 10^2 células viables/mL.	8 h	(Yemini et al., 2007)
Fago T7	<i>E. coli</i>	Luminiscencia	Detección de 10 a 80 UFC/100 mL.	10 h	(Hinkley, et al., 2018)
Fago A500	<i>Listeria monocytogenes</i>	Luminiscencia	Detección de 1 a 10^7 UFC/25 g.	19 h	(Meile, et al., 2020)
Nanopartículas de oro	<i>Campylobacter jejuni</i>	Colorimétrica	Detección de 10^{-9} a 10^{-6} M de DNA.	3 h	(McVey et al., 2017)
Nanobarras de oro	<i>Salmonella enterica</i> serovar Thyphimorium	Colorimétrica	Detección de 10^1 a 10^5 UFC/mL.	3 h	(Guo, et al., 2020)
Nanoclusters de plata	<i>S. Typhimorium</i>	Fluorescencia	Detección de 10 a 5^{10} UFC/mL.	2 h	(Leng, et al., 2018)
Puntos de carbono	<i>S. aureus</i>	Fluorescencia	Detección de 8 a 10^7 UFC/mL.	30 min	(Cui, et al., 2019)

AIP: Péptido Autoinductor Activo. **AHL:** Acil Homoserina Lactona. **UFC:** Unidad Formadora de Colonia.

Desafíos, limitaciones y perspectivas

El uso de biosensores como métodos de detección en la industria alimentaria ha sido de gran interés por la plétora de moléculas que se pueden detectar; sin embargo, la estandarización y validación de un protocolo de ensayo puede verse limitado por las regulaciones de seguridad alimentaria actuales (Davidescu et al., 2024).

Algunas implicaciones que limitan el uso de plataformas como los nanobiosensores en la industria alimentaria son la estabilidad del dispositivo ante cambios ambientales como temperatura, pH y humedad. Se debe considerar que dependiendo del tipo de alimento la variación en las condiciones mencionadas puede ser impor-



tante. Se han reportado dificultades en la detección de contaminantes o adulterantes en niveles muy bajos en matrices complejas (Kumar et al., 2017).

Con respecto a los biosensores derivados de bacteriófagos que muestran un alto grado de especificidad, se debe mencionar que una de sus limitaciones es debido a que son dispositivos que requieren un alto nivel de conocimientos tecnológicos para su desarrollo y manipulación.

Las perspectivas del uso de biosensores y nanobiosensores en la industria alimentaria son amplias y prometedoras, ya que su implementación puede abordar varios retos actuales y futuros relacionados con la calidad, seguridad y sostenibilidad. El desarrollo de estos dispositivos nos ayudaría a realizar detecciones en tiempo real lo que llevaría a un aseguramiento de la calidad que rendiría en la disminución de costos operativos y de producción (Singh et al., 2023).

Conclusiones

Los biosensores son dispositivos que han permitido garantizar la seguridad y calidad de alimentos crudos y procesados, así como del agua para consumo humano al detectar de manera rápida y confiable a patógenos como virus, bacterias o parásitos, responsables de las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETAs). Por lo que la utilización de este tipo de herramientas ha ido reemplazando el uso de tecnologías convencionales debido a las ventajas que estos presentan y a la versatilidad de los elementos biológicos y materiales que pueden utilizarse para su diseño. Siendo una parte importante la selección de la plataforma en que se quiere diseñar el biosensor, pues de ello dependerá en gran medida la sensibilidad y especificidad del dispositivo. El aprovechamiento de células completas procariotas y eucariotas e incluso bacteriófagos y el acoplamiento de materiales a escala nanométrica han permitido generar biosensores con características específicas, lo cual contribuye a la generación de un sistema alimentario más seguro y sostenible.

Las implicaciones sociales alrededor de la generación y uso de los biosensores y nanobiosensores son diversas. Entre las más destacadas se encuentra su aplicación en el monitoreo de la calidad e inocuidad de los alimentos, lo que repercute directamente sobre la salud y de esta manera se promueve el desarrollo de una sociedad más saludable, estos dispositivos pueden contribuir indirectamente a la reducción de los costos del sistema de salud pública, al disminuir la incidencia de enfermedades gastrointestinales y sus posibles complicaciones.

Conflictos de interés

Los autores declaran no tener conflictos de interés.



Financiamiento

Esta investigación fue apoyada por el CIIC 2023 bajo el número de proyecto 021/2023 y por Ciencia de Frontera 2023 del CONAHCyT con el número de proyecto CF-2023-I-1758.

Referencias

- Al-Hindi, R. R., Teklemariam, A. D., Alharbi, M. G., Alotibi, I., Azhari, S. A., Qadri, I., & Bhunia, A. K. (2022). Bacteriophage-based biosensors: A platform for detection of foodborne bacterial pathogens from food and environment. *Biosensors*, 12(10), 905. <https://doi.org/10.3390/bios12100905>
- Ali, A. A., Altemimi, A. B., Alhelfi, N., & Ibrahim, S. A. (2020). Application of biosensors for detection of pathogenic food bacteria: a review. *Biosensors*, 10(6), 58. Retrieved from Biosensors. <https://doi.org/10.3390/bios10060058>
- Ansari, A. A., & Malhotra, B. D. (2022). Current progress in organic–inorganic hetero-nano-interfaces based electrochemical biosensors for healthcare monitoring. *Coordination Chemistry Reviews*, 452, 214282. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2021.214282>
- Bhalla, N., Pan, Y., Yang, Z., & Payam, A. F. (2020). Opportunities and challenges for biosensors and nanoscale analytical tools for pandemics: COVID-19. *ACS nano*, 14(7), 7783-7807. <https://doi.org/10.1021/acsnano.0c04421>
- Bárdy, P., Pantůček, R., Benešík, M., & Doškař, J. (2016). Genetically modified bacteriophages in applied microbiology. *Journal of Applied Microbiology*, 121(3), 618-633. <https://doi.org/10.1111/jam.13207>
- Brovko, L. Y., Anany, H., & Griffiths, M. W. (2012). Bacteriophages for detection and control of bacterial pathogens in food and food-processing environment. *Advances in food and nutrition research*, 67, 241-288. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394598-3.00006-X>
- Cui, F., Sun, J., de Dieu Habimana, J., Yang, X., Ji, J., Zhang, Y. & Sun, X. (2019). Ultrasensitive fluorometric angling determination of *Staphylococcus aureus* *in vitro* and fluorescence imaging *in vivo* using carbon dots with full-color emission. *Analytical chemistry*, 91(22), 14681-14690. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b03916>
- Davidescu, M. A., Panzaru, C. C., Simeanu, C., Simeanu, D., Dolis, M., Madescu, B., & Usturoi, A. (2024). Exploring Nanobiotechnologies in the Food Industry: Applications, Benefits and Challenges. *Scientific papers animal science and biotechnologies*, 57(1), 63-63. Recuperado de https://spasb.ro/index.php/public_html/article/view/2226/2119



- Falahee, M. B., Park, S. F., & Adams, M. R. (2003). Detection and enumeration of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* by indirect impedimetry with an oxygen scavenging system. *Journal of food protection*, 66(9), 1724-1726. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-66.9.1724>
- Fathi, M., Mozafari, M. R., & Mohebbi, M. (2012). Nanoencapsulation of food ingredients using lipid based delivery systems. *Trends in food science & technology*, 23(1), 13-27. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.08.003>
- World Health Organization. (s.f.). *Foodborne Diseases Estimates*. Recuperado el septiembre de 2024. <https://www.who.int/data/gho/data/themes/who-estimates-of-the-global-burden-of-foodborne-diseases>
- Fracchiolla, N. S., Artuso, S., & Cortelezzi, A. (2013). Biosensors in clinical practice: focus on oncohematology. *Sensors*, 13(5), 6423-6447. <https://doi.org/10.3390/s130506423>
- Fuertes, G., Soto, I., Carrasco, R., Vargas, M., Sabattin, J., & Lagos, C. (2016). Intelligent packaging systems: Sensors and nanosensors to monitor food quality and safety. *Journal of Sensors*, 2016(1), 4046061. <https://doi.org/10.1155/2016/4046061>
- Guo, R., Huang, F., Cai, G., Zheng, L., Xue, L., Li, X. & Lin, J. (2020). A colorimetric immunosensor for determination of foodborne bacteria using rotating immunomagnetic separation, gold nanorod indication, and click chemistry amplification. *Microchimica Acta*, 187, 1-9. <https://doi.org/10.1007/s00604-020-4169-z>
- Guruprasath, N., Sankarganesh, P., Adeyeye, S. A., Babu, A. S., & Parthasarathy, V. (2024). Review on emerging applications of nanobiosensor in food safety. *Journal of Food Science*, 89(7), 3950-3972. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.17149>
- Hasan, A., Nurunnabi, M., Morshed, M., Paul, A., Polini, A., Kuila, T., Al, M., Lee, Y., & Jaffa, A. (2014). Recent advances in application of biosensors in tissue engineering. *Biomed research international*, 2014, 307519. <https://doi.org/10.1155/2014/307519>
- He, Y., Shi, Y., Liu, M., Wang, Y., Wang, L., Lu, S., & Fu, Z. (2018). Nonlytic recombinant phage tail fiber protein for specific recognition of *Pseudomonas aeruginosa*. *Analytical chemistry*, 90(24), 14462-14468. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b04160>
- Hegde, M., Pai, P., Shetty, M. G., & Babitha, K. S. (2022). Gold nanoparticle based biosensors for rapid pathogen detection: A review. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, 18, 100756. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2022.100756>



- Hinkley, T. C., Singh, S., Garing, S., Le Ny, A. L., Nichols, K. P., Peters, J. E., Talbert, J.N. & Nugen, S. R. (2018). A phage-based assay for the rapid, quantitative, and single CFU visualization of *E. coli* (ECOR# 13) in drinking water. *Scientific reports*, 8(1), 14630. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-33097-4>
- Kabiraz, M. P., Majumdar, P. R., Mahmud, M. C., Bhowmik, S., & Ali, A. (2023). Conventional and advanced detection techniques of foodborne pathogens: A comprehensive review. *Heliyon*, 9(4). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e15482>
- Kumar, V., Guleria, P., & Mehta, S. K. (2017). Nanosensors for food quality and safety assessment. *Environmental Chemistry Letters*, 15, 165-177. <https://doi.org/10.1007/s10311-017-0616-4>
- Kunstmann, S., Scheidt, T., Buchwald, S., Helm, A., Mulard, L. A., Fruth, A., & Barbirz, S. (2018). Bacteriophage Sf6 tailspike protein for detection of Shigella flexneri pathogens. *Viruses*, 10(8), 431. <https://doi.org/10.3390/v10080431>
- Leng, X., Wang, Y., Li, R., Liu, S., Yao, J., Pei, Q., & Huang, J. (2018). Circular exponential amplification of photoinduced electron transfer using hairpin probes, G-quadruplex DNAzyme and silver nanocluster-labeled DNA for ultrasensitive fluorometric determination of pathogenic bacteria. *Microchimica Acta*, 185, 1-8. <https://doi.org/10.1007/s00604-018-2698-5>
- Lotfi-Attari, J., Pilehvar-Soltanahmadi, Y., Dadashpour, M., Alipour, S., Farajzadeh, R., Javidfar, S., & Zarghami, N. (2017). Co-delivery of curcumin and chrysin by polymeric nanoparticles inhibit synergistically growth and hTERT gene expression in human colorectal cancer cells. *Nutrition and cancer*, 69(8), 1290-1299. <https://doi.org/10.1080/01635581.2017.1367932>
- Lubkowitz, D., Ho, C. L., Hwang, I. Y., Yew, W. S., Lee, Y. S., & Chang, M. W. (2018). Reprogramming probiotic Lactobacillus reuteri as a biosensor for Staphylococcus aureus derived AIP-I detection. *ACS Synthetic Biology*, 7(5), 1229-1237. <https://doi.org/10.1021/acssynbio.8b00063>
- McVey, C., Huang, F., Elliott, C., & Cao, C. (2017). Endonuclease controlled aggregation of gold nanoparticles for the ultrasensitive detection of pathogenic bacterial DNA. *Biosensors and Bioelectronics*, 92, 502-508. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.10.072>
- Meile, S., Sarbach, A., Du, J., Schuppler, M., Saez, C., Loessner, M. J., & Kilcher, S. (2020). Engineered reporter phages for rapid bioluminescence-based detection and differentiation of viable Listeria cells. *Applied and environmental microbiology*, 86(11), e00442-20. <https://doi.org/10.1128/AEM.00442-20>
- Mohammad, A. M., Chowdhury, T., Biswas, B., & Absar, N. (2018). Food poisoning and intoxication: A global leading concern for human health. En A. M.



- Grumezescu, & A. M. Holban, *Food Safety and Preservation* (págs. 307-352). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814956-0.00011-1>
- Neethirajan, S., & Jayas, D. S. (2011). Nanotechnology for the food and bioprocessing industries. *Food and Bioprocess Technology*, 4, 39–47. <https://doi.org/10.1007/s11947-010-0328-2>
- Neufeld, T., Schwartz-Mittelmann, A., Biran, D., Ron, E. Z., & Rishpon, J. (2003). Combined phage typing and amperometric detection of released enzymatic activity for the specific identification and quantification of bacteria. *Analytical chemistry*, 75(3), 580-585. <https://doi.org/10.1021/ac026083e>
- Qian, Y., Fan, T., Wang, P., Zhang, X., Luo, J., Zhou, F., Yao, Y., Liao, X., Li, Y. & Gao, F. (2017). A novel label-free homogeneous electrochemical immunosensor based on proximity hybridization-triggered isothermal exponential amplification induced G-quadruplex formation. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 248, 187-194. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.03.152>
- Sa'adon, S. A., Jasni, N. H., Hamzah, H. H., & Othman, N. (2024). Electrochemical biosensors for the detection of protozoan parasite: a scoping review. *Pathogens and Global Health*, 118(6), 459-470. doi: 10.1080/20477724.2024.2381402
- Saha, K., Agasti, S. S., Kim, C., Li, X., & Rotello, V. M. (2012). Gold nanoparticles in chemical and biological sensing. *Chemical reviews*, 112(5), 2739-2779. <https://doi.org/10.1021/cr2001178>
- Sangal, A., Pasini, P., & Daunert, S. (2011). Stability of spore-based biosensing systems under extreme conditions. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 158(1), 377-382. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2011.06.039>
- Singh, P., Pandey, V. K., Srivastava, S., & Singh, R. (2023). A systematic review on recent trends and perspectives of biosensors in food industries. *Journal of Food Safety*, 43(5), e13071. <https://doi.org/10.1111/jfs.13071>
- Srivastava, A. K., Dev, A., & Karmakar, S. (2018). Nanosensors and nanobiosensors in food and agriculture. *Environmental Chemistry Letters*, 16, 161-182. <https://doi.org/10.1007/s10311-017-0674-7>
- Thakur, M., Wang, B., & Verma, M. L. (2022). Development and applications of nanobiosensors for sustainable agricultural and food industries: Recent developments, challenges and perspectives. *Environmental Technology & Innovation*, 26, 102371. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2022.102371>
- Valenzuela-Amaro, H. M., Aguayo-Acosta, A., Meléndez-Sánchez, E. R., de la Rosa, O., Vázquez-Ortega, P. G., Oyervides-Muñoz, M. A., Sosa-Hernández, J.E. & Parra-Saldívar, R. (2023). Emerging applications of nanobiosensors in



- pathogen detection in water and food. *Biosensors*, 13(10), 922. <https://doi.org/10.3390/bios13100922>
- Wang, J., Kanach, A., Han, R., & Applegate, B. (2021). Application of bacteriophage in rapid detection of *Escherichia coli* in foods. *Current Opinion in Food Science*, 39, 43-50. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.12.015>
- Wu, Y. B., & Griffiths, M. W. (2001). Influence of phage population on the phage-mediated bioluminescent adenylate kinase (AK) assay for detection of bacteria. *Letters in applied microbiology*, 33(4), 311-315. <https://doi.org/10.1046/j.1472-765X.2001.01002.x>
- Wu, Y., Wang, C. W., Wang, D., & Wei, N. (2021). A whole-cell biosensor for point-of-care detection of waterborne bacterial pathogens. *ACS synthetic biology*, 10(2), 333-344. <https://doi.org/10.1021/acssynbio.0c00491>
- Xu, J., Chau, Y., & Lee, Y. K. (2019). Phage-based electrochemical sensors: A review. *Micromachines*, 10(12), 855. <https://doi.org/10.3390/mi10120855>
- Yemini, M., Levi, Y., Yagil, E., & Rishpon, J. (2007). Specific electrochemical phage sensing for *Bacillus cereus* and *Mycobacterium smegmatis*. *Bioelectrochemistry*, 70(1), 180-184. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2006.03.014>
- Zurier, H. S., Duong, M. M., Goddard, J. M., & Nugen, S. R. (2020). Engineering biorthogonal phage-based nanobots for ultrasensitive, *in situ* bacteria detection. *ACS applied bio materials*, 3(9), 5824-5831. <https://doi.org/10.1021/acsabm.0c00546>