

## Primena senzora na bazi molekularski otisnutih polimera za detekciju virusa

### Application of sensors based on molecularly imprinted polymers for virus detection

*Tamara Tadić<sup>1\*</sup>, Bojana Marković<sup>2</sup>, Ljiljana Suručić<sup>3</sup>, Aleksandra Nastasović<sup>4</sup>, Antonije Onjia<sup>5</sup>*

<sup>1,2,4</sup>Univerzitet u Beogradu, Institut za hemiju, tehnologiju i metalurgiju, Njegoševa 12, Beograd, Srbija / University of Belgrade, Institute of Chemistry, Technology and Metallurgy, Njegoševa 12, Belgrade, Serbia

<sup>3</sup>Univerzitet u Banjoj Luci, Medicinski fakultet, Save Mrkalja 14, Banja Luka, Republika Srpska, BiH / University of Banja Luka, Faculty of Medicine, Save Mrkalja 14, Banja Luka, Republic of Srpska, BiH

<sup>5</sup>Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet, Karnegijeva 4, Beograd, Srbija / University of Belgrade, Faculty of Technology and Metallurgy, Karnegijeva 4, Belgrade, Serbia

\*Autor za prepisku / Corresponding author

Rad primljen / Received: 09.10.2021, Rad prihvaćen / Accepted: 02.11.2021.

**Sažetak:** Molekularski otisnuti polimeri (MIP) predstavljaju nove funkcionalne polimere sa unapred dizajniranom molekularskom selektivnošću. Sinteza MIP-a se vrši korišćenjem šablona koji se dodaje u polimernu matricu, nakon čega se uklanja ostavljajući šupljine i aktivna mesta vezivanja. Šablon može biti ciljno jedinjenje, njegov fragment ili molekul veličine, oblika i funkcionalnih grupa sličnih ciljnom. Na taj način molekularski otisnuti polimeri mogu vezati kako originalne, tako i srodne molekule šablona. Zahvaljujući robusnosti, dugoročnoj stabilnosti, visokoj selektivnosti, obnovljivosti i ekonomičnosti pogodni su za širok spektar primene kao što su hemijski i biološki senzori, ekstrakcija čvrste faze, selektivni nosači za različite vrste hromatografije, veštački receptori za ispitivanje lekova, kao i za detekciju humanih virusnih patogena. Zbog stalne evolucije i brzine mutiranja virusa javlja se potreba za tehnologijama koje će ići u korak sa novonastalim situacijama. U ovom radu dat je prikaz QCM senzora na bazi molekularski otisnutih polimera za detekciju različitih vrsta virusa.

**Ključne reči:** MIP, molekularno otisnuti polimeri, COVID-19, QCM, sinteza, patogen, virus, detekcija virusa.

**Abstract:** Molecularly imprinted polymers (MIPs) are new functional polymers with pre-designed molecular selectivity. Synthesis of MIP is performed using a template added into a polymer matrix. After that, the template is removed, leaving cavities and active binding sites. A template could be a target compound, its fragment or a molecule similar to the target molecule by its size, shape and functional groups. In this way, the molecularly imprinted polymers can be bonded to original templates, as well as related template molecules. Due to their robustness, long-term stability, high selectivity, reproducibility, and cost-effectiveness, they are suitable for a wide range of applications such as chemical and biological sensors, solid-phase extraction, selective carriers for various types of chromatography, artificial receptors for drug testing, and human viral pathogens detection. Because of continuous evolution and fast virus mutation, there is a need for technologies that would evolve as fast. Herein, we summarize the literature of a QCM sensors based on molecularly imprinted polymers for the detection of different types of viruses.

**Keywords:** MIP, molecularly imprinted polymers, COVID-19, QCM, synthesis, pathogen, virus, viral detection.

<sup>1</sup>[orcid.org/0000-0003-4484-1568](https://orcid.org/0000-0003-4484-1568), e-mail: [tamara.tadic@ihtm.bg.ac.rs](mailto:tamara.tadic@ihtm.bg.ac.rs)

<sup>2</sup>[orcid.org/0000-0001-7608-8289](https://orcid.org/0000-0001-7608-8289), e-mail: [bojana.markovic@ihtm.bg.ac.rs](mailto:bojana.markovic@ihtm.bg.ac.rs)

<sup>3</sup>[orcid.org/0000-0003-4332-8690](https://orcid.org/0000-0003-4332-8690), e-mail: [ljiljana.surucic@med.unibl.org](mailto:ljiljana.surucic@med.unibl.org)

<sup>4</sup>[orcid.org/0000-0002-8589-6437](https://orcid.org/0000-0002-8589-6437), e-mail: [anastaso@chem.bg.ac.rs](mailto:anastaso@chem.bg.ac.rs)

<sup>5</sup>[orcid.org/0000-0002-5694-7960](https://orcid.org/0000-0002-5694-7960), e-mail: [onjia@tmf.bg.ac.rs](mailto:onjia@tmf.bg.ac.rs)

## UVOD / INTRODUCTION

Poslednjih godina uočen je porast zaraznih bolesti koje imaju veliki uticaj na zdravlje ljudi, životinja i biljaka. Mnogi virusi poseduju visoku stopu mutacije, a promena antigenog epitopa na površinskom proteinu mogla bi stvoriti nove varijante virusa, izazivajući tako ponovnu infekciju. Zbog toga se javlja potreba za razvojem tehnologija koje bi išle u korak sa promenama koje se mogu pojaviti u budućnosti (Malik et al., 2017).

Na tržištu je dostupno nekoliko tehnika za otkrivanje interakcija antigen-antitelo i/ili receptor-ligand. Pored brojnih prednosti, takvi biomolekuli pokazuju nedostatke u pogledu stabilnosti i ponovne upotrebe. Javlja se potreba za sensorima koji su sposobni za brzo otkrivanje i tačnu identifikaciju širokog spektra patogena. Zbog toga tehnologija molekuskog otiskivanja pruža pravu alternativu antitelima (Gast et al., 2019). Zahvaljujući stabilnosti, jednostavnosti i jeftinom postupku sinteze, hemijski senzori na bazi molekuskog otiskivanja predstavljaju veliki potencijal. Ključna komponenta ovih senzora je receptor (molekularno otisnut polimer - MIP) koji omogućava selektivnost i prepoznavanje analita od interesa (Ye, 2016). Molekularno otiskivanje je atraktivna metoda za stvaranje selektivnih mesta prepoznavanja unutar makromolekularne polimerne mreže (Ansari, 2017). Postupak otiskivanja vrši se dodavanjem šablona (ciljnog analita) u polimernu matricu, nakon čega se uklanja, ostavljajući šupljine i aktivna mesta vezivanja. Šablon može biti ciljno jedinjenje, njegov fragment ili molekul koji je veličinom ili oblikom sličan ciljnom (tzv. lažni šablon). Stoga, ova vrsta polimera može vezati kako originalne, tako i srodne molekule šablona (Ansari, Karimi, 2017). MIP-ovi imaju sposobnost prepoznavanja kako molekula malih dimenzija, tako i velikih molekula kao što su proteini, virusi, pa i cele ćelije. Njihova sposobnost da se odupru ekstremnim temperaturama i pH vrednostima predstavlja ključnu prednost u odnosu na biološke receptore (Diltemiz et al., 2017). Primenu su pronašli u različitim oblastima kao što su hemijski i biološki senzori (Zeni et al., 2018), ekstrakcija na čvrstoj fazi; predstavljaju selektivne nosače za različite vrste hromatografije (Refaat et al., 2019), koriste se kao veštački receptori za ispitivanje lekova (Zaidi, 2020), kao i za detekciju humanih virusnih patogena (Malik et al., 2017). Robusnost i obnovljivost MIP-ova olakšava brzu izradu prilagođenih receptora koji idu u korak sa novonastalim virusnim infekcijama. Sa druge strane, QCM senzori (eng. Quartz Crystal Microbalance) predstavljaju jednostavne, visoko osetljive, pristu-

pačne uređaje koji modifikovanjem molekularno otisnutim polimerima poboljšavaju svoje karakteristike. Cilj ovog rada je da istraži potencijalnu mogućnost primene hemijskih senzora na bazi molekularno otisnutih polimera za detekciju virusa.

1. MATERIJALI I METODE /  
MATERIALS AND METHODS

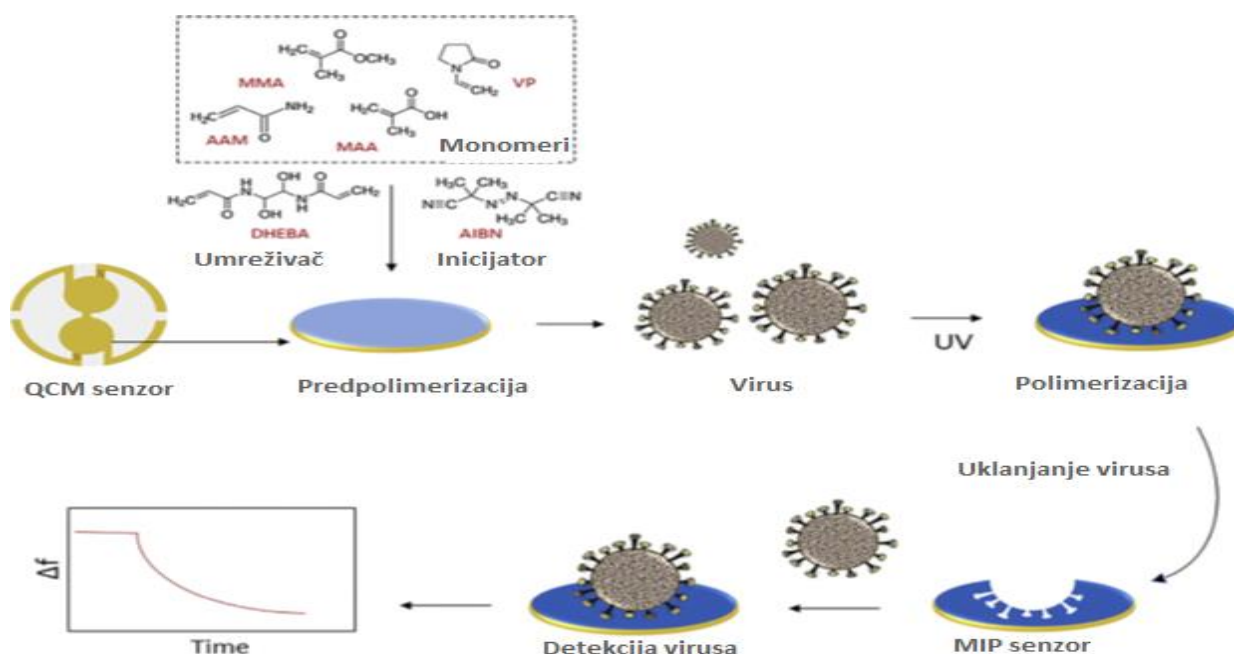
Prema IUPAC-u (eng. International Union of Pure and Applied Chemistry) hemijski senzor je uređaj koji transformiše hemijsku informaciju u analitički koristan signal. Svaki hemijski senzor se sastoji od selektivnog receptora (prevlake) i specifičnog pretvarača signala. Interakcije receptora i ispitivanog analita su „nevidljive”, pa je funkcija pretvarača (senzora) pretvaranje informacije o odigranoj interakciji u signal koji može biti izmeren. Najvažnije karakteristike koje svaki senzor treba da poseduje su: direktni kontakt sa ispitivanim analizom, brzo vreme odgovora, pretvaranje ne-električnog u električni signal, ponovljivost, ekonomičnost, selektivnost, nizak limit detekcije (Lowdon et al., 2020).

QCM senzori pripadaju grupi piezoelektričnih senzora. To su pretvarači koji mere male promene mase na površina senzora. Mogu naći primenu u različitim oblastima kao što su klinička toksikologija (Yang et al., 2011), bezbednost hrane (Zhao et al., 2020), zaštita životne sredine (Feng et al., 2019; Lazarevic et al., 2010) i otkrivanje virusa (Malik et al., 2017).

Enzimski imunosorbentni test ELISA (eng. Enzyme-linked immunosorbent assay) i PCR ili lančana reakcija polimeraze (eng. Polymerase Chain Reaction) su visoko osetljive tehnike za prepoznavanje virusa (Boonham et al., 2014). Međutim, ovakvi testovi su pogodni za kvalitativno otkrivanje virusa. Zbog toga je neophodan razvoj dijagnostičkih uređaja za kvantitativno određivanje virusa. QCM senzori pokazuju brojne prednosti u odnosu na druge tehnike za detekciju patogena. Ova vrsta senzora je posebno značajna za otkrivanje virusa, koji nisu ni fluorescentni ni elektroprovodni, pa ih je teško otkriti optičkim ili elektrohemijskim metodama. QCM senzor je visoko osetljiv na veoma male promene površinske mase (u opsegu od  $\text{ng/cm}^2$ ) (Höök et al., 2001). Prednost ovih senzora ogleda se u jednostavnosti, pristupačnosti, visokoj osetljivosti, stabilnosti, kao i u tome što ne zahtevaju prethodnu obradu uzorka. Pored toga, ovi senzori se mogu lako kombinovati sa sintetičkim ili prirodnim receptorima za selektivno i specifično prepoznavanje bilo kog analita. U Tabeli 1 je dato kvalitativno poređenje najčešće korišćenih tehnika za prepoznavanje virusa.

Tabela 1. Kvalitativno poređenje tehnika za prepoznavanje virusa  
Table 1. Qualitative comparison of virus recognition techniques

| Tehnika                    | Princip detekcije                                  | Vreme        | Cena   | Osobine   |
|----------------------------|--|--------------|--------|---|
| Imunofluorescentni testovi | Virusni protein                                    | Umereno brzo | Visoka | Visoka osetljivost, loša ponovljivost   |
| ELISA test                 | Vezivanje virusnog proteina za enzim               | Brzo         | Niska  | Visoka osetljivost I ponovljivost   |
| PCR                        | Amplifikacija nukleinske kiseline                  | Brzo         | Niska  | Visoka osetljivost I ponovljivost   |
| Test hemaglutinacije       | Virusni protein                                    | Sporo        | Niska  | Konvencionalan, Loša ponovljivost   |
| QCM                        | Selektivno vezivanje virusnih čestica ili proteina | Jako brzo    | Niska  | Jednostavan i reverzibilan, dobra ponovljivost, visoka osetljivost i selektivnost |



Slika 1. Princip rada QCM senzora na bazi MIP-a ( Modifikovano po (Klangprapan et al., 2020) )  
Figure 1. Principle of QCM sensors based on MIP (Modified by (Klangprapan et al., 2020) ).

QCM senzori se sastoje od tankog kvarcnog kristalnog diska koji se nalazi između dve kružne metalne elektrode. QCM sa dvostrukim zlatnim elektrodama smešten je u ćeliju koja je povezana sa oscilatorom i brojačem frekvencije. Sauerbrejeva (Sauerbrey) jednačina prikazuje zavisnost promene frekvencije oscilovanja piezoelektričnog kristala i mase koja se na njega nanosi (Huang et al., 2017). Kada se masa na površini senzora poveća ( $\Delta m$ ) (ng), javlja se promena rezonantne frekvencije ( $\Delta f$ ) (Hz), što je prikazano jednačinom (1):

$$\Delta m = - C \Delta f \quad (1)$$

gde su:  $\Delta m$  - promena mase (ng),  $\Delta f$  - promena rezonantne frekvencije (Hz),  $C$  - konstanta osetljivosti ( $C$ ) ( $\text{ng cm}^{-2} \text{Hz}^{-1}$ ).

Na površinu QCM senzora se radi povećanja selektivnosti i specifičnosti u detekciji raznih supstanci mogu nanositi različite prevlake (Rajaković, Onjia, 1998). Zbog visoke selektivnosti i jednostavnosti uklanjanja molekula od interesa, MIP-ovi se koriste za modifikovanje postojećih senzora kako bi poboljšali njihove performanse. U sintezi MIP-a se kao monomeri najčešće koriste metakrilati, akrilamidi, N-vinilpirolidon. Kao monomer može se koristiti i glicidil-metakrilat, GMA, koji se zbog veoma reaktivne epoksidne grupe može modifikovati i na taj način omogućiti različite oblasti primene (Marković et al., 2017). Kada se ciljani molekul veže za MIP, senzor detektuje promenu mase na površini. Dakle, za kvarcne / MIP elektrode frekvencija oscilovanja se menja u zavisnosti od količine vezanih šablona za

molekularno otisnuti polimer. Zbog svoje selektivnosti, analiti koji nisu ciljni ne dovode do merljivih senzornih signala. Nakon uspešnog postupka otiskivanja, molekularno otisnuti polimeri se premazuju na Au elektrode QCM senzora. Referentna elektroda koja služi za procenu uticaja spoljnih faktora (pH, temperature, interakcija polimer-virus) premazana je neotisnutim polimerom (NIP), dok je radna elektroda premazana molekularno otisnutim polimerom (MIP). Razlika signala između dve elektrode dolazi samo iz apsorbirane mase na radnoj elektrodi (Lowdon et al., 2020). QCM senzori presvučeni molekularno otisnutim polimerima našli su primenu u detekciji različitih analita poput proteina, lekova, pesticida, metala, patogena, itd.

## 2. REZULTATI I DISKUSIJA / RESULTS AND DISCUSSION

### 2.1. Detekcija virusa gripa / Detection of influenza virus

Grip je akutna respiratorna virusna infekcija uzrokovana jednim od virusa influence. Može se javiti kod ljudi i životinja (svinje, ptice i dr.). Postoji nekoliko tipova virusa gripa značajnih za ljudski rod: A, B i C. Zaraznost, aktivnost gripa i težina kliničke slike koju izaziva zavisi od tipa virusa, osetljivosti populacije, kao i klimatskih uslova sredine. Virus gripa fluktuiraju po raširenosti i intenzitetu ostavljajući posledice na razvijene i zemlje u razvoju (Radić et al., 2020). Virus gripa su veoma infektivni i mogu se preneti direktnim kontaktom sa zaraženom osobom, kapljičnim putem, indirektnim kontaktom (preko sveže kontaminiranih površina). Kod virusa gripa genom je sastavljen od osam segmenata, a kapsid čine neuraminidaze (N ili NA) i hemaglutinini (H ili HA). Neuraminidaza (NA) zajedno sa hemaglutininom (HA) ima značajnu ulogu u interakcijama sa površinskim receptorima ćelije domaćina. Neuraminidaza (NA) svojom enzimskom aktivnošću smanjuje viskoznost sluzi na ćelijama respiratornog trakta čime se oštećuje respiratorna sluznica i na taj način omogućava vezivanje hemaglutinina (HA). Nakon replikacije virusa u inficiranim ćelijama dolazi do oslobađanja virusnih čestica koje napadaju susedne ćelije i inficiraju ih. Težina kliničke slike zavisi od stepena replikacije virusa. Za dijagnostikovanje virusa dostupne su različite vrste testova: brzi testovi čija osetljivost varira od 40-80%, molekularni dijagnostički testovi (PCR), serološki testovi.

Molekularno otiskivanje kao način detekcije virusa gripa tipa A prvi put se javlja u radovima Wangchareansak-a i saradnika (Wangchareansak et al., 2013). Detekcija različitih podtipova virusa gripa (H5N1, H5N3, H1N1, H1N3 i H6N1) ostvarena je pomoću kvarcnog senzora QCM koji je premazan MIP-om na bazi metakrilata i N-vinilpirolidona. Smeša

monomera korišćena za sintezu sastojala se od akrilamida, metakrilne kiseline, metilmetakrilata i N-vinilpirolidona. Dodatkom N-vinilpirolidona povećana je selektivnost MIP-a za prepoznavanje tačno određenih podtipova virusa. Takođe je utvrđeno da na osetljivost i selektivnost metode utiče odnos monomer-umreživač. Kao umreživač korišćen je N, N- (1,2-dihidroksietilen) bisakrilamid (DHEBA). Polimerizacija se vršila na 70°C tokom 40 minuta do postizanja stanja gela. Dobijeni polimer je premazan na QCM elektrodu u vidu tankog sloja. Zatim je inaktivirani šablon virusa utisnut na sloj polimera i polimerizovan pod UV svetlom. Utisnute šupljine virusa su dobijene uklanjanjem uzorka virusa iz polimera hlorovodoničnom kiselinom (Wangchareansak et al., 2013). Na ovaj način dobijeni su hemijski senzori na bazi MIP-a za detekciju pet najčešćih sojeva virusa gripa.

Kako molekularno otisnuti polimeri mogu prepoznati molekule slične šablonu, naredni korak bio je utvrđivanje selektivnosti. MIP-ovi za svaki podtip virusa gripa A pokazali su dobro prepoznavanje originalnog virusnog šablona. U molekularnom prepoznavanju i neuraminidaze i hemaglutinini igraju važnu ulogu, ali u većini slučajeva domeni neuraminidaze više doprinose svojstvu selektivnosti nego hemaglutinin. Ovako napravljeni MIP-ovi predstavljaju brz alternativni način za skrining virusa gripa A u nepoznatim uzorcima sa granicom detekcije do 105 čestica/mL (Tabela 2). Wangchareansak i saradnici su takođe koristili senzore na bazi MIP-a za identifikovanje molekularnog vezivanja na virus ptičjeg gripa (H5N1). Ovi MIP-ovi su korišćeni da se olakša identifikacija inhibitora koji mogu da se vezuju i inhibiraju funkciju virusa izazivajući konformacionu promenu. Vezanje molekula inhibitora na virus izaziva značajne konformacione promene koje dovode do ograničenog vezivanja virusa za MIP (Wangchareansak et al., 2014).

### 2.2. Detekcija virusa denge / Detection of dengue virus

Denga je akutna, zarazna bolest koju izaziva virus denge. Rasprostranjena je širom sveta, naročito u tropskim i subtropskim krajevima i dovodi do širokog spektra kliničkih simptoma. Virus denge pripada porodici Flaviviridae. Prenosioci virusa su inficirani mosquito-komarci (*Aedes aegypti*, *A. albopictus*) (Hassan et al., 2016). Zbog teške kliničke slike koju izaziva, dijagnoza ovog virusa u ranim fazama bolesti je presudna. Za tradicionalne metode dijagnostikovanja potrebna je skupa oprema, pa se sve veća pažnja usmerava na proizvodnju efikasnih senzora za otkrivanje denga virusa sa velikom tačnošću, osetljivošću, specifičnošću i jednostavnošću (Eivaz-zadeh-Keihan et al., 2019).

Tai i saradnici (Tai et al., 2005) su prvi izvestili o uspešnosti prepoznavanja virusa denge na osnovu QCM/MIP tehnike. Oni su razvili MIP za prepoznavanje proteina NS1 (nestrukturani protein 1) koji se nalazi u virusu denge. NS1 je protein prisutan u serumu inficiranih pacijenata na samom početku kliničkih simptoma i proizvodi snažan humoralni odgovor. Molekularno otisnuti polimer, specifičan za protein NS1, nastao je polimerizacijom monomera (smeša akrilne kiseline, akrilamida) i umreživača (N-benzilakrilamid) u prisustvu 15-mernog peptida (šablona) pod UV svetlom. Linearni 15-merni peptidi izvedeni iz NS1 proteina Japanskog encefalitisa izabrani su za šablon (Thr-Glu-Leu-Arg-Tir-Ser-Trp-Lis-Thr-Trp-Gli-Lis-Ala-Lis-Met) prema mapiranju epitopa virusa denge NS1 prema antitelu D2 / 8-1 (Tai et al., 2005). Ovaj pentadekapeptid poznat je kao linearni epitop NS1 proteina virusa denga. Ovako sintetisan MIP presvučen je na QCM senzor. Dobijeni rezultati su pokazali da se ovako dobijeni senzor može koristiti za prepoznavanje četiri različita tipa virusa denga sa granicom detekcije 1 µg/L (Tabela 2) (Parkash, Shueb, 2015).

### 2.3. Detekcija HIV virusa / Detection of HIV virus

HIV infekciju uzrokuje virus humane imunodeficijencije (HIV) koji pripada familiji retrovirusa. HIV napada imuni sistem pacijenta, čineći ga osetljivim na druge infekcije. Glikoprotein 41 (gp41) nalazi se na

virusnom omotaču HIV-1. HIV se, kao i većina virusa, ne može replikovati samostalno, već samo u ćeliji domaćina. Kada dospe u organizam, virus se vezuje za zid ciljne ćelije. Ciljne ćelije za koje HIV ima afinitet su one koje na svojoj površini imaju CD4 molekul, a to su pre svega CD4+T limfociti i makrofazi, ali i ćelije kao što su ćelije nervnog sistema, creva, kože itd. Kontakt ciljne ćelije i virusa se ostvaruje interakcijom CD4 molekula i molekula na površini virusa, gp 120, uz sadejstvo koreceptora, čime dolazi do fuzije virusa i ćelije domaćina. HIV-1 gp41 igra značajnu ulogu u fuziji membrane nakon vezanje glikoproteina 120 (gp120) prema ćelijama CD4 (Xu et al., 2019). Lu i saradnici su razvili senzor zasnovan na tehnici utiskivanja epitopa (Lu et al., 2012). Glikoprotein 41 (gp41) nalazi se na virusnom omotaču HIV-1. Sintetičko oponašanje 35 aminokiselinskih ostataka (aa 579–613) korišćeno je kao šablon zbog toga što je glavna imuno-dominantna regija koja sadrži antitela koja su prepoznali pacijenti sa AIDS-om. Funkcionalni monomer u sintezi bio je dopamin, čijom polimerizacijom nastaje polidopamin koji se odlikuje visokom stabilnošću, hidrofilnosti i biokompatibilnosti. Zatim se sintetički peptid (šablon) ugrađuje u polimernu matricu. Hidrofoban MIP film premazan je na kvarcni senzor koji je pokazao veliki specifični afinitet prema peptidnom uzorku i detekcioni limit do 2 ng/mL (Tabela 2) (Lu et al., 2012).

Tabela 2. Detekcioni limit QCM senzora na bazi MIP-a  
Table 2. Limit of detection (LOD) of QCM sensors based on MIP

| Virus       | Šablon   | Detekcioni limit           | Referenca                   |
|-------------|--|----------------------------|-----------------------------|
| Virus gripa | H5N1, H5N3, H1N1, H1N3, H6N1                                   | 10 <sup>5</sup> čestica/mL | Wangchareansak et al., 2014 |
| Denga virus | 15-merni peptid izveden iz NS1 proteina Japanskog encefalitisa | 1 µg/L                     | Tai et al., 2005            |
| HIV virus   | HIV-1 gp41   | 2 ng/mL                    | Lu et al., 2012             |

### 2.4. Detekcija korona virusa / Detection of coronavirus

Korona virusi (SARS-CoV-2) su jednolančani RNK virusi. Pripadaju rodu Betacoronavirus (Zhu et al., 2020). Na globalnom nivou javlja se strah kako će novi sojevi virusa uticati na život. Posledice su dugoročne na socijalnom, ekonomskom i demografskom planu (Ivanović, Vujić, 2021; Dobričanin et al., 2021). Javlja se širok spektar simptoma: primarni simptomi su kašalj, otežano disanje, groznica. Takođe, pacijenti mogu biti asimptomatski, bez ikakvog vidljivog znaka infekcije ili mogu imati blage simptome. Kako bi se virus otkrio u početnoj fazi, razvoj novih, brzih tehnika za otkrivanje SARS-CoV-2 je od presudnog značaja.

Ideja o senzoru na bazi molekularni otisnutih polimera kao potencijalnom načinu detekcije korona

virusa prvi put se javlja u radu Chatterjee i saradnika (Nandy Chatterjee, Bandyopadhyay, 2020). Virus bi se mogao detektovati pomoću grafitne elektrode premazane polimerom na bazi akrilata (akrilamid, akrilna kiselina, metil akrilat, metil metakrilat, etil akrilat ili njihova smeša). Kao element prepoznavanja (šablon) koristio bi se specifični aptamer korona virusa. Zatim, o primeni elektrohemijjskih senzora na bazi MIP-a prvi su izvestili Raziq i saradnici (Raziq et al., 2021). Ključna komponenta ovog tipa senzora je tankoslojna elektroda (TFE) povezana sa MIP-om koji je sposoban za selektivno otkrivanje šablona. Nukleokapsidni protein SARS-CoV-2 (ncovNP) je odgovoran za pakovanje i zaštitu genomske RNK korona virusa. Velika zastupljenost i imunogenost čine ga pogodnim antigenom za razvoj dijagnostičkih testova, pa se

ovaj protein koristi kao šablon u molekulskom otiskivanju.

Kako u literaturi i dalje ne postoje podaci o kombinaciji QCM senzora i MIP-a, na osnovu prethodnih saznanja o sličnim virusima koji su pomenuti u radu, ova vrsta senzora mogla bi da ima potencijalnu primenu u budućnosti.

#### ZAKLJUČAK / CONCLUSION

Postoji velika potražnja za testovima koji omogućavaju brzo otkrivanje i tačnu identifikaciju širokog spektra patogena. Međutim, trenutno dostupni testovi mogu biti skupi, a proces složen i dugotrajan. Hemijski senzori na bazi MIP-a koriste se za selektivno i osetljivo otkrivanje virusa i primenljivi su i kod diferencijacije virusnih podtipova. Primeri opisani u ovom pregledu pokazuju da QCM senzori na bazi molekulskog otiskivanja korišćeni za detekciju različitih vrsta virusa pokazuju visoku selektivnost, kako za originalne, tako i za molekule slične originalnom. QCM senzori na bazi molekulski otisnutih polimera mogu dovesti do komercijalne dostupnosti jeftinije i pouzdanije virusne dijagnostike, jer su MIP-ovi stabilni, selektivni i pokazuju visoku osetljivost, a laki su za proizvodnju i regeneraciju, čime se smanjuje njihov ukupni trošak i vreme analize. Ova kombinacija dovela je do dizajna i razvoja senzorskih platformi koje pružaju korisne informacije za napredak analitičke hemije, pa bi senzori na bazi MIP-a mogli da imaju potencijalnu primenu za detekciju virusa u budućnosti.

#### Zahvalnica / Acknowledgments

Ovaj rad podržalo je Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije (Broj ugovora. 451-03-9/2021-14/200026 i 451-03-9/2021-14/200135)).

#### LITERATURA / REFERENCES

- [1] Ansari, S. (2017). Application of magnetic molecularly imprinted polymer as a versatile and highly selective tool in food and environmental analysis: Recent developments and trends. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 90, 89-106. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.03.001>
- [2] Ansari, S., Karimi, M. (2017). Recent progress, challenges and trends in trace determination of drug analysis using molecularly imprinted solid-phase microextraction technology. *Talanta*, 164, 612-625. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.11.007>
- [3] Boonham, N., Kreuze, J., Winter, S., van der Vlugt, R., Bergervoet, J., Tomlinson, J., Mumford, R. (2014). Methods in virus diagnostics: From ELISA to next generation sequencing. *Virus Research*, 186, 20-31. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2013.12.007>
- [4] Diltemiz, S. E., Keçili, R., Ersöz, A., Say, R. (2017). Molecular imprinting technology in Quartz Crystal Microbalance (QCM) sensors. *Sensors (Switzerland)*, 17(3). <https://doi.org/10.3390/s17030454>
- [5] Dobričanin, S., Arsić, L., Dobričanin, V., Tripković, A. (2021). Krizni menadžment zdravstvenih sistema u uslovima pandemije. *Ecologica*, 28 (102), 193-200. <https://doi.org/10.18485/ecologica.2021.28.102.8>
- [6] Eivazzadeh-Keihan, R., Pashazadeh-Panahi, P., Mahmoudi, T., Chenab, K. K., Baradaran, B., Hashemzaei, M., Radinekiyan, F., Mokhtarzadeh, A., Maleki, A. (2019). Dengue virus: a review on advances in detection and trends – from conventional methods to novel biosensors. *Microchimica Acta*, 186(6). <https://doi.org/10.1007/s00604-019-3420-y>
- [7] Feng, J., Tao, Y., Shen, X., Jin, H., Zhou, T., Zhou, Y., Hu, L., Luo, D., Mei, S., Lee, Y. I. (2019). Highly sensitive and selective fluorescent sensor for tetrabromobisphenol-A in electronic waste samples using molecularly imprinted polymer coated quantum dots. *Microchemical Journal*, 144, 93-101. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.08.041>
- [8] Gast, M., Sobek, H., Mizaikoff, B. (2019). Advances in imprinting strategies for selective virus recognition a review. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 114, 218-232. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.03.010>
- [9] Hasan, S., Jamdar, S. F., Alalowi, M., Al Ageel Al Beajji, S. M. (2016). Dengue virus: A global human threat: Review of literature. *Journal of International Society of Preventive and Community Dentistry*, 6(1), 1-6. <https://doi.org/10.4103/2231-0762.175416>
- [10] Höök, F., Kasemo, B., Nylander, T., Fant, C., Sott, K., Elwing, H. (2001). Variations in coupled water, viscoelastic properties, and film thickness of a Mefp-1 protein film during adsorption and cross-linking: A quartz crystal microbalance with dissipation monitoring, ellipsometry, and surface plasmon resonance study. *Analytical Chemistry*, 73(24), 5796-5804. <https://doi.org/10.1021/ac0106501>
- [11] Huang, X., Bai, Q., Hu, J., & Hou, D. (2017). A practical model of quartz crystal microbalance in actual applications. *Sensors (Switzerland)*, 17(8), 1-9. <https://doi.org/10.3390/s17081785>
- [12] Ivanović, O. M., Vujić, M. (2021). Posledice delovanja Covid-19 na ekonomski sektor i životnu sredinu. *Ecologica*, 28(101), 118-124. <https://doi.org/10.18485/ecologica.2021.28.101.18>

- [13] Klangprapan, S., Choke-arpornchai, B., Lieberzeit, P. A., Choowongkamon, K. (2020). Sensing the classical swine fever virus with molecularly imprinted polymer on quartz crystal microbalance. *Heliyon*, 6(6), e04137. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04137>
- [14] Lazarevic, T., Momić, T., Onjia, A. E., Vujisić, L., Vasić, V. (2010). Myeloperoxidase-mediated oxidation of organophosphorus pesticides as a pre-step in their determination by AChE based bioanalytical methods. *Microchimica Acta*, 170 (3-4), 289-297. <https://doi.org/10.1007/s00604-010-0324-2>
- [15] Lowdon, J. W., Diliën, H., Singla, P., Peeters, M., Cleij, T. J., van Grinsven, B., Eersels, K. (2020). MIPs for commercial application in low-cost sensors and assays – An overview of the current status quo. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 325(August). <https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.128973>
- [16] Lu, C. H., Zhang, Y., Tang, S. F., Fang, Z. Bin, Yang, H. H., Chen, X., Chen, G. N. (2012). Sensing HIV related protein using epitope imprinted hydrophilic polymer coated quartz crystal microbalance. *Biosensors and Bioelectronics*, 31(1), 439-444. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2011.11.008>
- [17] Malik, A. A., Nantasenamat, C., Piacham, T. (2017). Molecularly imprinted polymer for human viral pathogen detection. *Materials Science and Engineering C*, 77, 1341-1348. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.03.209>
- [18] Marković, B. M., Spasojević, V. V., Kusigerski, V. B., Pavlović, V. B., Onjia, A. E., Nastasović, A. B. (2017). Selective magnetic GMA based potential sorbents for molybdenum and rhenium sorption. *Journal of Alloys and Compounds*, 705, 38-50. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2017.02.108>
- [19] Nandy Chatterjee, T., Bandyopadhyay, R. (2020). A Molecularly Imprinted Polymer-Based Technology for Rapid Testing of COVID-19. *Transactions of the Indian National Academy of Engineering*, 5(2), 225–228. <https://doi.org/10.1007/s41403-020-00125-7>
- [20] Parkash, O., Shueb, R. H. (2015). Diagnosis of dengue infection using conventional and biosensor based techniques. *Viruses*, 7(10), 5410-5427. <https://doi.org/10.3390/v7102877>
- [21] Radić, N., Radić, V., Stevanović, M. (2020). Economic impact of the coronavirus pandemic on the automobile industry. *Oditor*, 6(3), 55-88. <https://doi.org/10.5937/oditor2003055r>
- [22] Rajaković, L. V., Onjia, A. E. (1998). The potential of piezoelectric sensors for characterization of activated carbon cloth applied in adsorption of phenols from air. *ACS Symposium Series*, 690, 168-173. <https://doi.org/10.1021/bk-1998-0690.ch015>
- [23] Raziq, A., Kidakova, A., Boroznjak, R., Reut, J., Öpik, A., Syriski, V. (2021). Development of a portable MIP-based electrochemical sensor for detection of SARS-CoV-2 antigen. *Biosensors and Bioelectronics*, 178(January). <https://doi.org/10.1016/j.bios.2021.113029>
- [24] Refaat, D., Aggour, M. G., Farghali, A. A., Mahajan, R., Wiklander, J. G., Nicholls, I. A., Piletsky, S. A. (2019). Strategies for molecular imprinting and the evolution of MIP nanoparticles as plastic antibodies - synthesis and applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(24). <https://doi.org/10.3390/ijms20246304>
- [25] Tai, D., Lin, C., Wu, T., Chen, L. (2005). Recognition of Dengue Virus Protein Using Epitope-Mediated Molecularly Imprinted Film of a penta-decapeptide onto a quartz crystal microbalance. *Analytical Chemistry*, 77(16), 5140-5143.
- [26] Wangchareansak, T., Thitithanyanont, A., Chuakheaw, D., Gleeson, M. P., Lieberzeit, P. A., Sangma, C. (2013). Influenza A virus molecularly imprinted polymers and their application in virus sub-type classification. *Journal of Materials Chemistry B*, 1(16), 2190-2197. <https://doi.org/10.1039/c3tb00027c>
- [27] Wangchareansak, T., Thitithanyanont, A., Chuakheaw, D., Gleeson, M. P., Lieberzeit, P. A., Sangma, C. (2014). A novel approach to identify molecular binding to the influenza virus H5N1: Screening using molecularly imprinted polymers (MIPs). *MedChemComm*, 5(5), 617-621. <https://doi.org/10.1039/c3md00272a>
- [28] Xu, J., Merlier, F., Avalle, B., Vieillard, V., Debré, P., Haupt, K., Tse Sum Bui, B. (2019). Molecularly Imprinted Polymer Nanoparticles as Potential Synthetic Antibodies for Immunoprotection against HIV. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 11(10), 9824-9831. <https://doi.org/10.1021/acsami.8b22732>
- [29] Yang, M.-H., Jong, S.-B., Chung, T.-W., Huang, Y.-F., Ty, Y.-C. (2011). Quartz crystal microbalance in clinical application. *Biosensors for Health, Environment and Biosecurity*, June 2014. <https://doi.org/10.5772/17143>
- [30] Ye, L. (2016). Molecularly imprinted polymers with multi-functionality. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 408(7), 1727-1733. <https://doi.org/10.1007/s00216-015-8929-2>
- [31] Zaidi, S. A. (2020). Molecular imprinting: A useful approach for drug delivery. *Materials Science for*

- Energy Technologies*, 3, 72-77. <https://doi.org/10.1016/j.mset.2019.10.012>
- [32] Zeni, L., Cennamo, N., Pesavento, M. (2018). Chemical Sensors in Plastic Optical Fibers. *Sensordevices 2018*, 36-39.
- [33] Zhao, X., He, Y., Wang, Y., Wang, S., Wang, J. (2020). Hollow molecularly imprinted polymer based quartz crystal microbalance sensor for rapid detection of methimazole in food samples. *Food Chemistry*, 309(May 2019). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125787>
- [34] Zhu, N., Zhang, D., Wang, W., Li, X., Yang, B., Song, J., Zhao, X., Huang, B., Shi, W., Lu, R., Niu, P., Zhan, F., Ma, X., Wang, D., Xu, W., Wu, G., Gao, G. F., Tan, W. (2020). A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *New England Journal of Medicine*, 382(8), 727-733. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2001017>.