



## DESARROLLO DE NUEVAS PLATAFORMAS DE DETECCIÓN DE ENFERMEDADES EN FLUIDOS BIOLÓGICOS

Yissel D. Contreras Valeriano\*, Luz Ma. López Marín, Ma. Concepción Arenas, Víctor Manuel Castaño  
Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada, UNAM Campus Juriquilla.  
Boulevard Juriquilla 3001, Juriquilla 76230 Querétaro, México.

\* [yissel.tecnologia@gmail.com](mailto:yissel.tecnologia@gmail.com)

*Palabras clave: Tuberculosis, inmunodiagnóstico, biosensores basados en polímeros conductores*

**Introducción.** La tuberculosis, enfermedad infecciosa causada por el bacilo *Mycobacterium tuberculosis*, representa actualmente un problema de interés mundial. La realización de inmunodiagnósticos es una atractiva alternativa a los métodos de diagnóstico actuales, los cuales poseen baja sensibilidad, y requieren ser confirmados en muestras tomadas en tres días consecutivos.

Los sistemas de inmunodiagnóstico son, además, susceptibles de ser miniaturizados, ofreciendo la posibilidad de aplicarlos con pequeñas cantidades de reactivos, en un lapso corto y sin necesidad de equipos altamente especializados. Para que un sistema inmunodiagnóstico sea miniaturizado, la primera condición requerida es la descripción de un biosensor, sistema capaz de generar una señal como resultado de la unión de un biomarcador.

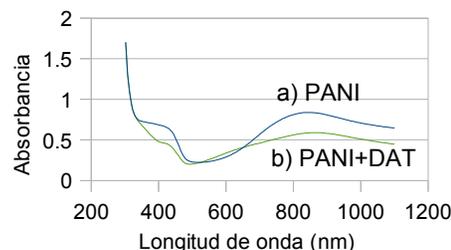
En este trabajo se describe el desarrollo de una plataforma novedosa de diagnóstico basada en la detección de anticuerpos presentes en individuos con tuberculosis por amperometría. Un glicolípido antigénico<sup>2</sup> de la bacteria fue purificado e inmovilizado en micropelículas de polianilina (PANI), que es un polímero semiconductor.

**Metodología.** En primer lugar, se obtuvieron bioreactivos necesarios para realizar los ensayos. Se purificó di-*o*-aciltrealosa (DAT, glicolípido antigénico de la pared celular de *M. tuberculosis*) por cromatografía en columna. Se analizó el DAT por cromatografía en capa fina (TLC) y espectroscopia FTIR. Se sintetizaron películas de polianilina (PANI) depositadas en vidrio por oxidación química de anilina, con persulfato de amonio (APS) como agente oxidante. Se caracterizaron estas películas por espectroscopias UV-vis y FTIR. Se obtuvieron grandes cantidades de suero rico en anticuerpos contra DAT mediante inmunización de conejos Nueva Zelanda. El suero se tituló para obtener la dilución de suero adecuada para los inmunoensayos. Se elaboró la plataforma de diagnóstico depositando DAT en las películas de PANI, en una mezcla de hexano-etanol (1:1, vol/vol). Se caracterizó la plataforma empleando principalmente inmunoensayos colorimétricos.

**Resultados.** La caracterización de los reactivos por

espectroscopias permitió identificar las respectivas bandas de absorción de los compuestos analizados. La titulación del suero obtenido permitió determinar la dilución ideal de trabajo (1/100).

Al caracterizar las películas de PANI modificadas, se observó una modificación en la banda polarónica de la PANI<sup>3</sup> (figura 1), indicando una reducción en la conductividad debido a la adición de DAT.



**Fig. 1.** Espectros UV-vis de una micropelícula de PANI sintetizada por baño químico, a) Sin modificación b) Al ser modificada con DAT

Finalmente, se comparó la respuesta colorimétrica, indicativa de la reacción antígeno-anticuerpo, en ensayos realizados con el suero hiperinmune y con suero control, encontrándose que la nueva plataforma es capaz de discriminar entre los dos tipos de muestras.

**Conclusiones.** La selección de un sistema de solventes orgánicos consistente en hexano-etanol permitió la inmovilización de DAT, un glicolípido antigénico de carácter anfipático, sobre el polímero conductor. Se encontró que el sistema PANI+DAT es capaz de atrapar anticuerpos específicos contra DAT, discriminando entre un suero control y suero hiperinmune que contiene los anticuerpos. En vista del carácter multi-iónico de los anticuerpos, ensayos en curso son realizados a fin de determinar si la captura de anticuerpos sobre PANI se relaciona con cambios de conductividad. Este trabajo representa un avance hacia el desarrollo de un dispositivo de diagnóstico de tuberculosis portátil y libre de reactivos secundarios.

### Bibliografía.

1. Shrutli N., Yeow J. (2010). *Biosens. Bioelectron.* 26(2011): 1825-1832.
2. Steingart K.R et. al. (2008). *CVI.* 16: 260-276.
3. Dhand C., Das M., Datta M., Malhotra B. (2010). *Biosens. Bioelectron.* 26(2011): 2811-2821.