

INMOVILIZACIÓN DE ANTICUERPOS ANTI - *BRUCELLA ABORTUS* SOBRE SOPORTES DE SILICIO CRISTALINO Y SU CARACTERIZACIÓN POR FT-IR PARA LA CONSTRUCCIÓN DE UN BIOSENSOR

¹Daniela Bonilla Luna, ¹Edith Chávez Bravo, ²Leslie S. Arcila Lozano, ¹Alexis Juárez Zamora & ¹Luis Ramiro Caso Vargas, ¹Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Ciencias Biológicas, Puebla, Pue. C.P. 72570. ²CONACyT – CIBA – IPN. Ex-Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal Tecuexcomac-Tepetitla Km 1.5, Tlaxcala C.P. 90700.

daniela.bonilla@alumno.buap.mx

Palabras clave: *Brucelosis, biosensor y anticuerpo.*

Introducción. La brucelosis es una enfermedad producida por diferentes especies de bacterias pertenecientes al género *Brucella*. Existen reportes en México que estiman la pérdida en 217 litros de leche promedio por vaca y un índice de fertilidad tan bajo como del 65% debido a los abortos producidos por *Brucella abortus* (Xolapa, *et al.*, 2010).

El objetivo es la construcción de un prototipo de biosensor basado en anticuerpos anti-*Brucella* inmovilizados sobre soportes de silicio funcionalizados con aminosilanos para la detección temprana y específica de brucelosis en muestras biológicas de ganado infectado.

Metodología. Fragmentos de 1X1cm² de SiO₂ cristalino dopado con Boro tipo P fueron limpiados por ultrasonificación, hidroxilados mediante inmersión en solución piranha y funcionalizados con 3-APTMS. Se utilizó glutaraldehído como crosslinker para inmovilizar el anticuerpo. Cada etapa de la construcción del biosensor fue comprobada empleando FT-IR ya sea por transmisión o por ATR en cristal de ZnSe. El anticuerpo utilizado fue obtenido a partir de suero de conejo proveniente de trabajos de investigación realizados por la Dra. Elsa Castañeda Roldán del Instituto de Ciencias de la BUAP.

Resultados. En la Figura 1 se observan los espectros de infrarrojo correspondientes a cada etapa del proceso de ensamblado del biosensor. El espectro del silicio silanizado con 3-APTMS muestra las bandas características del crecimiento de la red de silanos lateral y transversal en 1130 y 1034 cm⁻¹, así también como la presencia de grupo amino por las bandas de 3356, 3292 (tensión N-H) y 1661 (flexión N-H) (Figura 1A). La unión del glutaraldehído se corrobora por la presencia de la banda de 1686cm⁻¹ (imina) y la presencia de grupos C=O libres (1722cm⁻¹); la banda de 1387cm⁻¹ corresponde a flexiones del grupo aldehído (Figura 1B). El incremento en las bandas que corresponden a la tensión de los grupos metilos y

metilenos en la región de ~2870-2950cm⁻¹ se debe a la adición de estos grupos conforme a la cadena originalmente de propilos se adicionan 5 átomos de carbono con sus hidrógenos respectivos (Figura 1A y B). En el espectro del anticuerpo se observan las bandas Amida I y II en 1635 y 1545cm⁻¹, respectivamente debido a los enlaces C-N y -N-C=O, así como la banda Amida A en 3288cm⁻¹. El análisis de infrarrojo anterior demuestra que el biosensor se ensambla de acuerdo al diseño.

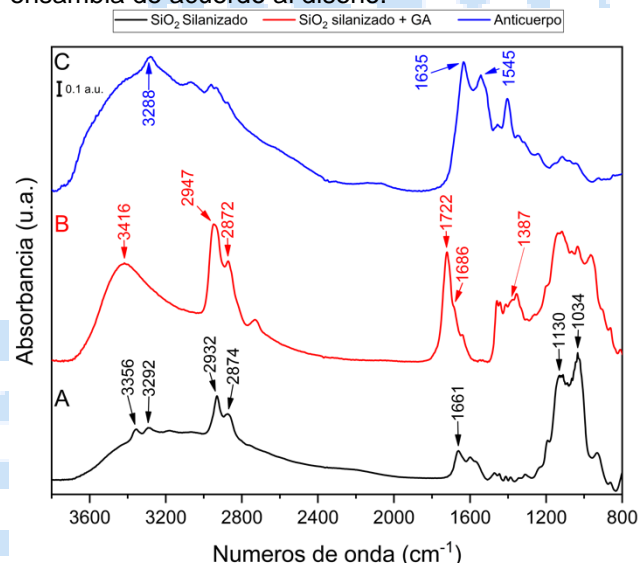


Fig. 1. Espectros de IR de: A, Silicio silanizado; B, Silicio silanizado mas crosslinker; y C, Anticuerpo Anti-*Brucella*. Todos los espectros fueron normalizados

Conclusiones. Se tiene estandarizado el proceso de ensamblado del biosensor para la detección de *Brucella*, sin embargo, se sigue evaluando su capacidad de detección *in-vitro*.

Bibliografía. Xolapa Campos, V. M., Pérez Ruano, M., & Córdova Izquierdo, A. (2010). *Revista Científica de la Universidad del Zulia*. 20 (2): 190-195.