

DESARROLLO DE UN INMUNOSENSOR PARA LA DETECCIÓN DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

Fernando Iván Ramírez Luna¹, Luis Ramiro Caso Vargas¹, Norma Elena Rojas Ruíz¹, Leslie S. Arcila Lozano²

¹Facultad de Ciencias Biológicas – Biotecnología. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Ciudad Universitaria, Col. San Manuel, C.P. 72570, Puebla, Pue. ²CONACyT – CIBA – IPN. Ex-Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal Tecuexcomac-Tepetitla Km 1.5, Tlaxcala C.P. 90700. fernandoi.ramirezluna@viep.com.mx; ramiro.caso@correo.buap.mx

Palabras clave: Biosensor; Pseudomona; FTIR

Introducción. *Pseudomonas aeruginosa* es un patógeno oportunista que afecta principalmente a personas con un sistema inmunosuprimido que en casos graves lleva a la muerte. Los métodos más comunes para su detección son las pruebas bioquímicas y moleculares, pero son tardados y laboriosos.

El objetivo de este trabajo es desarrollar un biosensor capaz de detectar a *P. aeruginosa* empleando anticuerpos biotinilados que interactúen con estreptavidina inmovilizada sobre capas autoensambladas de aminosilanos sobre soportes de SiO₂ cristalino.

Metodología. Los soportes de SiO₂ fueron limpiados, hidroxilados y funcionalizados con 3-APTMS, se utilizó glutaraldehído como crosslinker, por último, se inmovilizó la estreptavidina y el anticuerpo biotinilado contra *P. aeruginosa*. Cada etapa fue monitoreada empleando FT-IR, SEM y AFM. Se utilizaron diferentes UFC/mL de la bacteria para comprobar el sensado. Esta fue depositada sobre el biosensor e incubada durante 30 minutos; se enjuagó el sistema 3 veces para remover las células no adheridas.

Resultados. Los cambios espectrales se muestran en la Figura 1: 1663 y 1558 cm⁻¹ corresponden a las bandas Amida I y II del biosensor; el espectro de *P. aeruginosa* muestra la tensión N-H en 3292 cm⁻¹, las bandas Amida I y II en 1645 y 1639 cm⁻¹, respectivamente, los grupos PO₂⁻ en 1233 cm⁻¹ y las vibraciones de polisacáridos en 1150-105 cm⁻¹. En el espectro del biosensor más la bacteria se observan bandas en 2936 y 2891 cm⁻¹ de la tensión de los grupos metilos y metilenos; las bandas Amida I y II en la misma posición que en el espectro anterior, confirma la detección de la bacteria. A través del SEM se corrobora visualmente el reconocimiento de la bacteria por el biosensor (Figura 2).

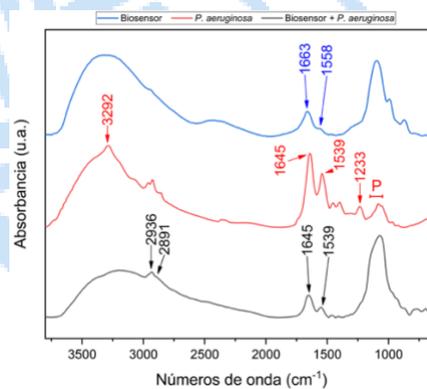


Figura 1. Espectros de IR del biosensor (azul), la bacteria (rojo) y el biosensor detectando la bacteria (negro); P región de vibraciones asociadas a polisacáridos.

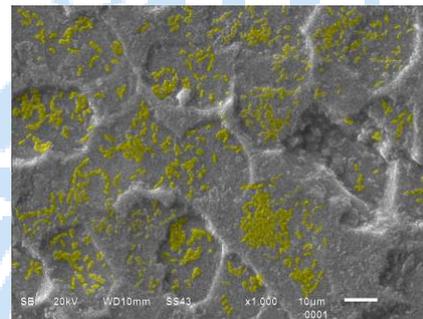


Figura 2. SEM de *P. aeruginosa* detectada por el biosensor. La bacteria se ha resaltado en color amarillo.

Conclusión. Se lograron desarrollar biosensores contra *P. aeruginosa* con reproducibilidad y estabilidad.

Bibliografía. 1. Mobed, A., Baradaran, B., de la Guardia, M., Agazadeh, M., Hasanzadeh, M., Rezaee, M. A., ... & Hamblin, M. R. (2019). Advances in detection of fastidious bacteria: From microscopic observation to molecular biosensors. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 113, 157-171.