

Desarrollo y evaluación de un Inmunosensor Electroquímico para la detección de Flavivirus

Lisdalys Barbera-Borroto^a, Pilar Morales-San Claudio^{a*}, Daniel Arellano-Soto^b, Juan Hernández-López^a, Ana M. Rivas-Estilla^b.

^a Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Químicas, Laboratorio de Biotecnología, Ave. Universidad S/N, Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza N.L. México, C.P. 66455.

^b Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Medicina, Av. Dr. José Eleuterio González 235, Mitras Centro, Monterrey, N.L, México, C.P. 64460

*E-mail pilar.moralesnc@uanl.edu.mx.

Palabras clave: Flavivirus, inmunosensor, voltamperometría, detección de antígeno, diagnóstico.

Introducción

En las últimas décadas las enfermedades causadas por Flavivirus, principalmente dengue y zika han ido en aumento, convirtiéndose en un problema de salud mundial¹. Para poder combatir estas enfermedades de una manera eficiente y brindarle al paciente la mejor atención se hace necesario desarrollar métodos de diagnóstico económicos que puedan llegar a todos y al mismo tiempo rápidos y confiables. Una alternativa que está cobrando mucha fuerza son los sensores para la detección de agentes infecciosos. Por estas razones nuestro trabajo se centra en desarrollar un inmunosensor voltamperométrico para detectar la proteína E de Flavivirus^{2,3}.

Metodología

Se trabajo con electrodos con un diseño clásico de tres electrodos: un electrodo de trabajo de oro, un electrodo de referencia de plata y un contraelectrodo de oro. El electrodo de trabajo se trató con ácido 11-mercaptoundecanoico (11-MUA), a continuación, se trabajó con 1-etil-3-(3-diaminopropil) carbodiimida (EDC) y N-hidroxisuccinimida (NHS) y finalmente se inmovilizo el anticuerpo monoclonal anti-flavivirus 4G2. Se evaluó el electrodo funcionalizado frente a sueros de individuos sanos, sobrenadante de cultivos celulares infectados con el virus del Dengue y de Chikungunya. Las mediciones electroquímicas de voltamperometría cíclica se realizaron en un potenciostato-galvanostato a temperatura ambiente, aplicando voltaje 100mV/s, potencial -0.5-0.6V y se realizaron 3 ciclos consecutivos.

Resultados y discusión

Los voltamperogramas cíclicos mostraron una disminución en las corrientes anódicas y catódicas en cada una de las mediciones llevadas a cabo, en cada etapa de la funcionalización del electrodo (figura 1), a partir de ahí se evaluaron las reacciones antígeno-anticuerpo y se observó cambios en el flujo de electrones por la detección de la proteína E de DENV 1,2 y 3, en diluciones de 1:5, 1:10 y 1:50, así como DENV 1 y 2 aislados de pacientes de Nuevo León, mostrando picos disminuidos con respecto al electrodo sin modificar (figura 2). También se presentaron cambios en los ciclos voltamperométricos entre muestras que tienen dengue y las con el otro agente viral (virus de Chikungunya como control) donde no hubo disminución de la corriente y se puede decir que no se unió. Otro control fue el suero de personas sanas, en este caso tampoco se registraron cambios en el electrodo lo que nos indica que no se dieron reconocimientos inespecíficos (datos no mostrados en el resumen).

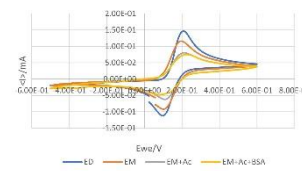


Figura 1. Voltamperogramas cíclicos de cada paso de la modificación o funcionalización de la superficie del electrodo.

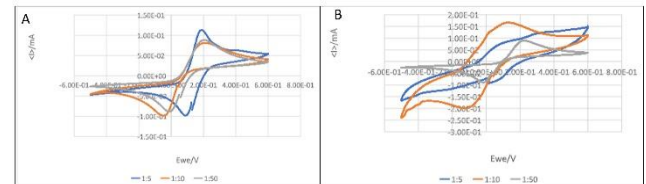


Figura 2. Voltamperograma cíclico de la reacción antígeno-anticuerpo de diluciones 1:5, 1:10 y 1:50 de DENV1 (A) diluciones 1:5, 1:10 y 1:50 de DENV2 (B).

Conclusiones

Se logró la modificación y funcionalización del electrodo de oro para poder ser empleado como un inmunosensor evaluando por voltamperometrías cíclicas, como herramienta de detección y diagnóstico. Además, si se podría de manera cualitativa discriminar entre los agentes virales que se evaluaron y que son transmitidos por artrópodos y cuya sintomatología son similares.

Agradecimientos

- A CONACYT por beca otorgada.
- Al laboratorio de Biotecnología, al Laboratorio de tratamientos superficiales y fotocatalisis de la Fac. de Ciencias Químicas, al departamento de Bioquímica y biología molecular de la Fac. de Medicina por permitirme trabajar en sus instalaciones.

Referencias

1. Arredondo JL, Aguilar CG, Aguilar JJ, Osnaya N, Pérez G, Medina H. Panorama epidemiológico de dengue en México 2000-2019. *Revista Latinoamericana de Infectología Pediátrica*. 2020;33(2):78-83.
2. Yung C-F, Lee K-S, Thein T-L, Tan L-K, Gan VC, Wong JGX, *et al*. Dengue Serotype-Specific Differences in Clinical Manifestation, Laboratory Parameters and Risk of Severe Disease in Adults, Singapore. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* [Internet]. 2015 May 6;92(5):999-1005.
3. Hassanpour *et al* "Recent trends in rapid detection of influenza infections by bio and nanobiosensor" *Trends in Analytical Chemistry* 98 (2018) 201-2

