

M.Nieves Aranda-Sobrino^{a,b}, Andy Hernández-Montoto^{a,b,c}, Alba López-Palacios^{a,b}, M.Isabel Caballos^{a,b}, Elena Aznar^{a,b,c} y Ramón Martínez-Mañez^{a,b,c}.

^a Instituto Interuniversitario de Investigación de Reconocimiento Molecular y Desarrollo Tecnológico (IDM), Universidad Politécnica de Valencia, Universidad de Valencia, Camino de Vera s/n, 46022, València (Spain),

^b Unidad Mixta de Investigación en Nanomedicina y Sensores, Universidad Politécnica de Valencia, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, València (Spain)

^c CIBER de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN).

mnnarasob@upv.es

Programa de Doctorado en Química.

INTRODUCCIÓN

El desarrollo de nuevas estrategias para una detección rápida y fiable de patógenos se ha convertido en un reto importante en el campo biomédico. Aquí se presenta una plataforma altamente selectiva basada en nanomateriales para la detección específica de *C.albicans*. En el diseño propuesto, se desarrollaron sensores fluorogénicos basados en películas de alúmina anódica nanoporosa (NAA). Las moléculas fluoróforas se encapsularon dentro de la estructura porosa y la superficie externa se funcionalizó con oligonucleótidos que contenían secuencias de base específicas de material genético de diferentes bacterias

Las moléculas de oligonucleótido sobre las películas nanoporosas bloquearon los poros y evitaron la difusión de la rodamina B dentro de los poros a la fase líquida. La apertura de los poros se produjo cuando el ADN específico de patógenos estaba presente en el medio, lo que llevó a la liberación de colorantes, que finalmente se detectaron mediante mediciones de fluorescencia.

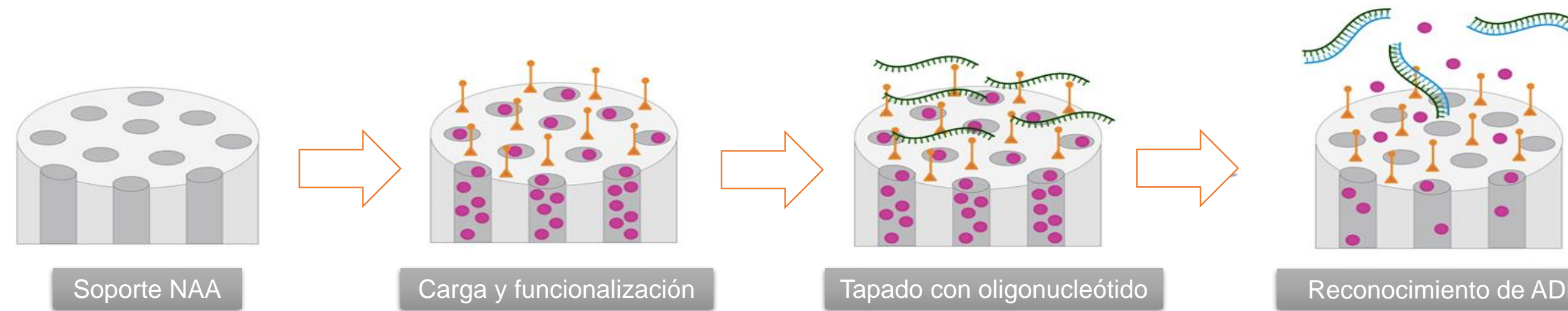


Figura 1. Esquema del soporte nanoporoso tapado con el oligonucleótido seleccionado. La liberación del fluoróforo encapsulado, rodamina B, se logra selectivamente en presencia del patógeno de interés.

OPTIMIZACIÓN DEL SISTEMA

Objetivos generales

- ✓ El protocolo de síntesis fue optimizado para la producción a escala de sensores.
- ✓ El ensayo de detección fue optimizado para una correcta lectura de la señal de fluorescencia.

Objetivos específicos

- ✓ Aproximación covalente para conseguir alta reproducibilidad del sistema de puertas moleculares para la detección de *C.albicans*.

Caracterización

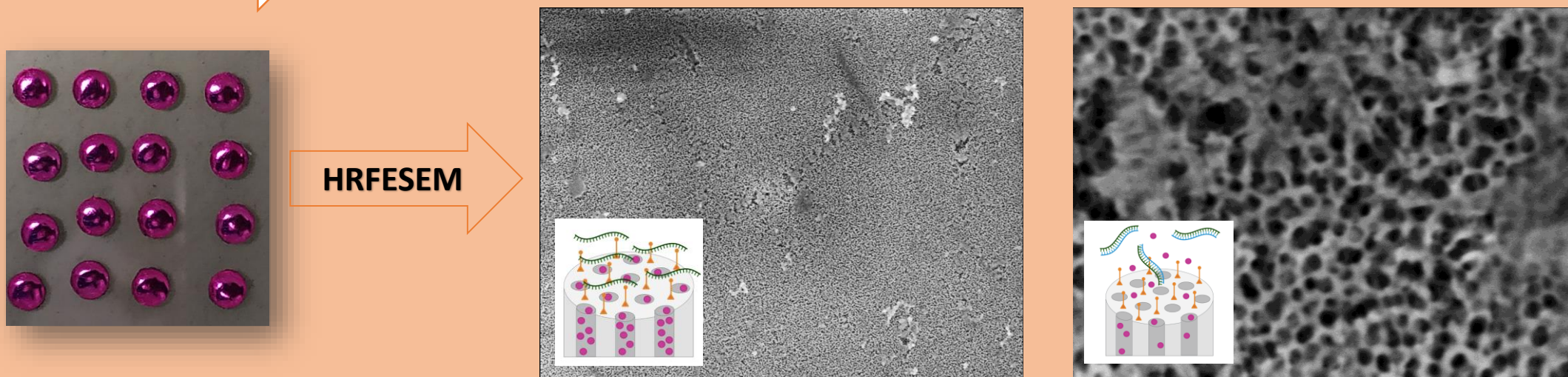


Figura 2. Caracterización de las placas NAA cargadas con rodamina B y funcionalizadas covalentemente en HRFSEEM.

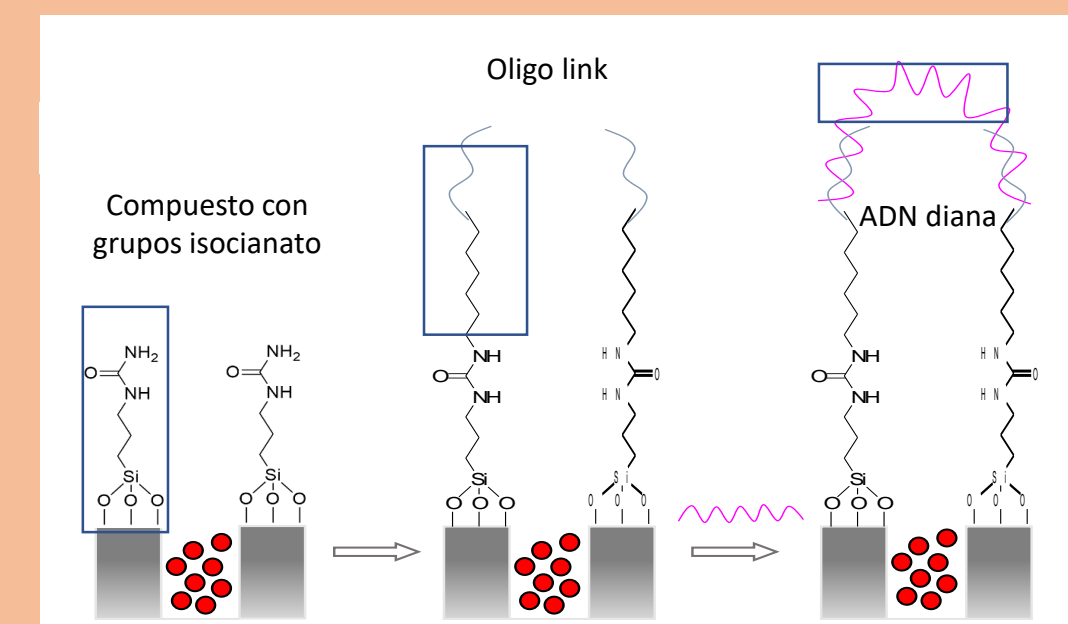


Figura 3. Etapas del proceso de funcionalización covalente de la superficie

Resultados

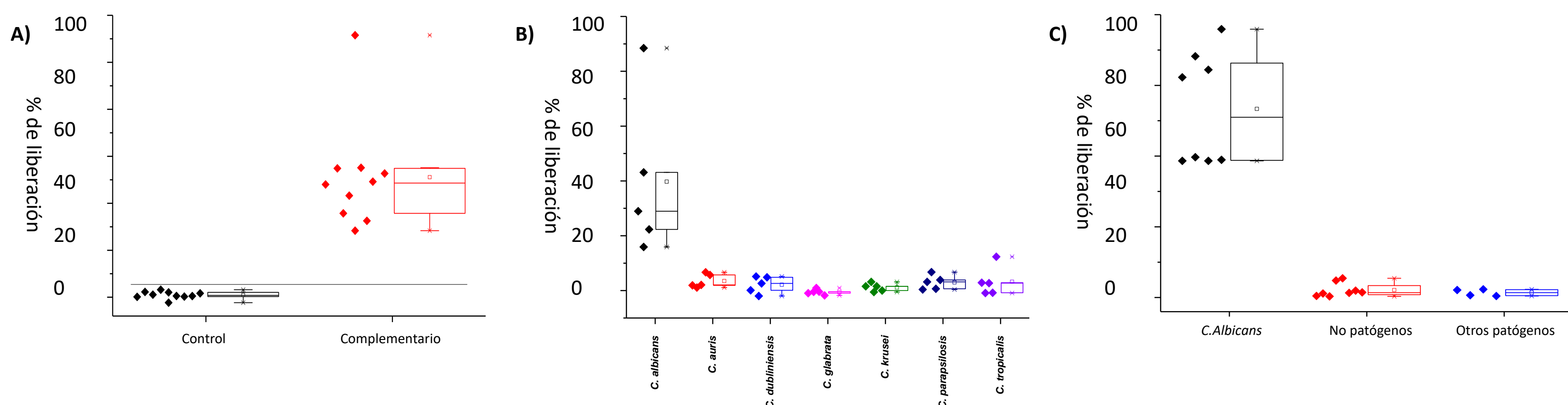


Figura 4. A) Perfil de liberación de rodamina B de NAA funcionalizada en presencia (color naranja) y la ausencia (color negro) de oligonucleótido complementario en tampón de hibridación. B) Liberación de rodamina B del material cerrado en presencia de 100 UFC/ml de *C. albicans* y diferentes interferentes de candida, al 10% de hemocultivo. C) Ensayo de liberación del fluoróforo en muestras reales de controles y pacientes, en medio al 10% de hemocultivo.

Conclusiones

- ✓ Se ha optimizado con éxito el biosensor diseñado para la detección de *C. albicans*.
- ✓ Se calculó un límite de detección tan bajo como 30 UFC/ml, que son muy similares a otros sistemas de detección publicados de última generación para *C. albicans*.
- ✓ El método se aplicó con éxito para detectar *C. albicans* en muestras clínicas competitivas, demostrando su alto potencial para fines diagnósticos.
- ✓ Usando este método simple, se ha logrado un rendimiento similar a la PCR y una detección de eficacia en muestras reales en 30 minutos