



Biomarkers detection of global infectious diseases based on magnetic particles /

Carinelli, Soledad,
autor

Manuscrito

Las enfermedades infecciosas suponen una gran amenaza para la salud mundial debido a la rápida diseminación y adaptación de los patógenos. El papel principal del diagnóstico clínico es identificar de forma fehaciente una enfermedad en un paciente. Los dispositivos de diagnóstico rápido permiten detectar enfermedades y monitorearlas de forma confiable en cualquier centro sanitario. Entre estos dispositivos, los biosensores electroquímicos presentan una alta sensibilidad y especificidad así como una instrumentación sencilla, pudiendo expandirse fácilmente a plataformas de detección múltiple. Además, la integración de partículas magnéticas (MPs) en métodos de diagnóstico rápido incrementa la sensibilidad y especificidad debido su capacidad para aislar y preconcentrar una molécula diana cuando éstas son modificadas con elementos de bioreconocimiento específico. Así, las MPs modificadas pueden unirse específicamente a biomarcadores y concentrarlos de muestras complejas bajo la actuación magnética, eliminando posibles interferencias. En esta tesis se presenta el desarrollo de estrategias de diagnóstico basados en tecnologías emergentes, asequibles y que requieren un entrenamiento mínimo de los usuarios finales, tales como los biosensores electroquímicos con accionamiento magnético. Primero, se presentan dos tipos de pruebas diagnósticas para la cuantificación de linfocitos CD4 en sangre entera, usando MPs, para el seguimiento rápido de pacientes con HIV en entornos de bajos recursos. Se describen dos formatos, uno en formato tipo ELISA con detección óptica y otro usando electrodos de grafito-epoxi con biosensado electroquímico. En ambos casos la estrategia involucra a) el aislamiento de células CD4 usando MPs-antiCD3 y su marcación utilizando anticuerpos antiCD4 biotinilados; b) la marcación enzimática con estreptavidina-peroxidasa; y c) la detección basada en la actividad enzimática. Esta doble marcación (a través de los receptores CD3 y CD4) no sólo evita interferencias de otras células que expresan alguno de estos receptores, sino que aumenta la especificidad del ensayo. Segundo, se describe un ensayo de liberación de interferon- γ ; basado en la detección electroquímica de dicho transcrito producido por linfocitos T previamente aislados de sangre. Este test utiliza MPs para el aislamiento y preconcentración de tres dianas diferentes (linfocitos T, mRNA y ADN doblemente marcado) en el mismo ensayo. Primero, los linfocitos T se aíslan usando MPs-antiCD3. En segundo lugar, el mRNA de los linfocitos se preconcentra sobre MPs modificadas con polidT mediante unión a la cola de poli(A). Posteriormente se retrotranscribe el mRNA y se amplifica el cDNA mediante PCR múltiplex con marcación doble para la amplificación de IFN- γ ; y GAPDH. Finalmente, se inmovilizan los amplicones biotinilados en MPs-estreptavidina, y se realiza el genosensado electroquímico para la detección de IFN- γ ; a través del otro marcador del cebador. Esta estrategia se propone como alternativa a los ensayos de liberación de IFN- γ ; que se usan en la actualidad para la identificación de la Tuberculosis. Por último, se presenta el diseño de un test de diagnóstico rápido, específico y altamente sensible basado en la amplificación isotérmica sobre MPs con detección electroquímica. Las técnicas de amplificación isotérmicas

han surgido como una alternativa a la PCR para la identificación de microorganismos infecciosos, debido a la barrera que éstos últimos muestran para su implementación en entornos de bajos recursos. El último capítulo presenta la detección electroquímica de ADN usando sondas candado con amplificación isotérmica de círculo rodante y amplificación círculo a círculo. Esta estrategia ha demostrado ser una poderosa herramienta para la detección específica y sensible de ácidos nucleicos para su aplicación en el diagnóstico clínico. Los biosensores desarrollados en esta tesis representan una gran promesa para la detección de forma más rápida, simple y económica comparado con los métodos tradiciona

<https://rebiunoda.pro.baratznet.cloud:38443/OpacDiscovery/public/catalog/detail/b2FpOmNlbGVicmF0aW9uOmVzLmJhcmF0ei5yZW4vMzQ5ODY2NTA>

Título: Biomarkers detection of global infectious diseases based on magnetic particles Soledad Carinelli ; supervisora María Isabel Pivideri Gurgo

Editorial: 2019

Descripción física: 249 pàgines 30 cm

Nota general: Departament responsable de la tesi: Departament de Química

Tesis: Tesi Doctorat Universitat Autònoma de Barcelona. Departament de Química 2019

Bibliografía: Bibliografia

Materia: Biosensors Partícules (Matèria)

Autores: Pivideri, María Isabel, supervisor acadèmic

Entidades: Universitat Autònoma de Barcelona. Departament de Química

Baratz Innovación Documental

- Gran Vía, 59 28013 Madrid
- (+34) 91 456 03 60
- informa@baratz.es