

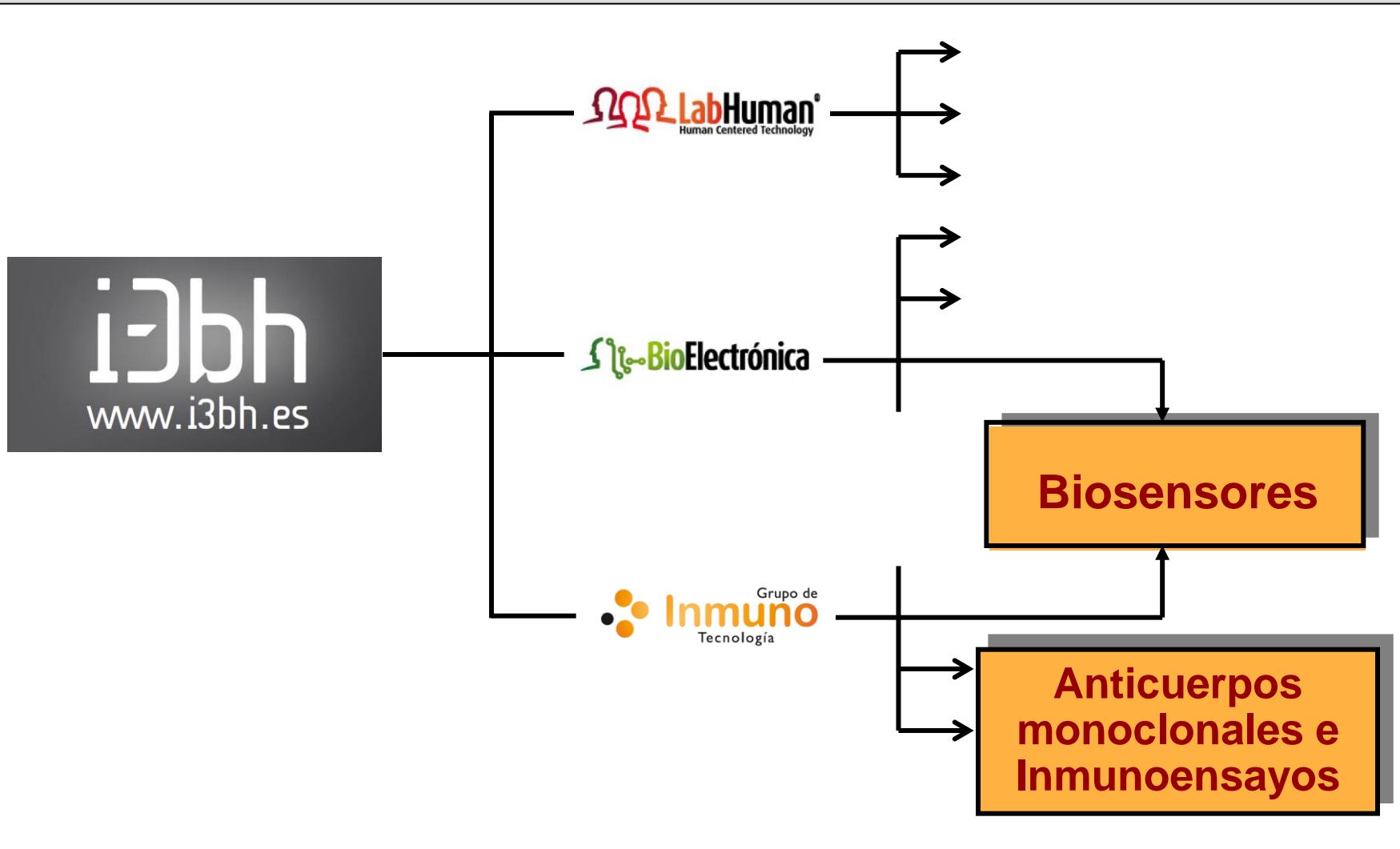


Inmunoensayos (ELISA) e Inmunosensores basados en anticuerpos monoclonales para aplicaciones analíticas en los sectores agroalimentario, medioambiental y biomédico

Dr. Ángel Montoya

Instituto Interuniversitario de Investigación en Bioingeniería
y Tecnología Orientada al Ser Humano (I3BH)

Universitat Politècnica de València





UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA

i3bh |  **Inmuno**
Grupo de
Tecnología



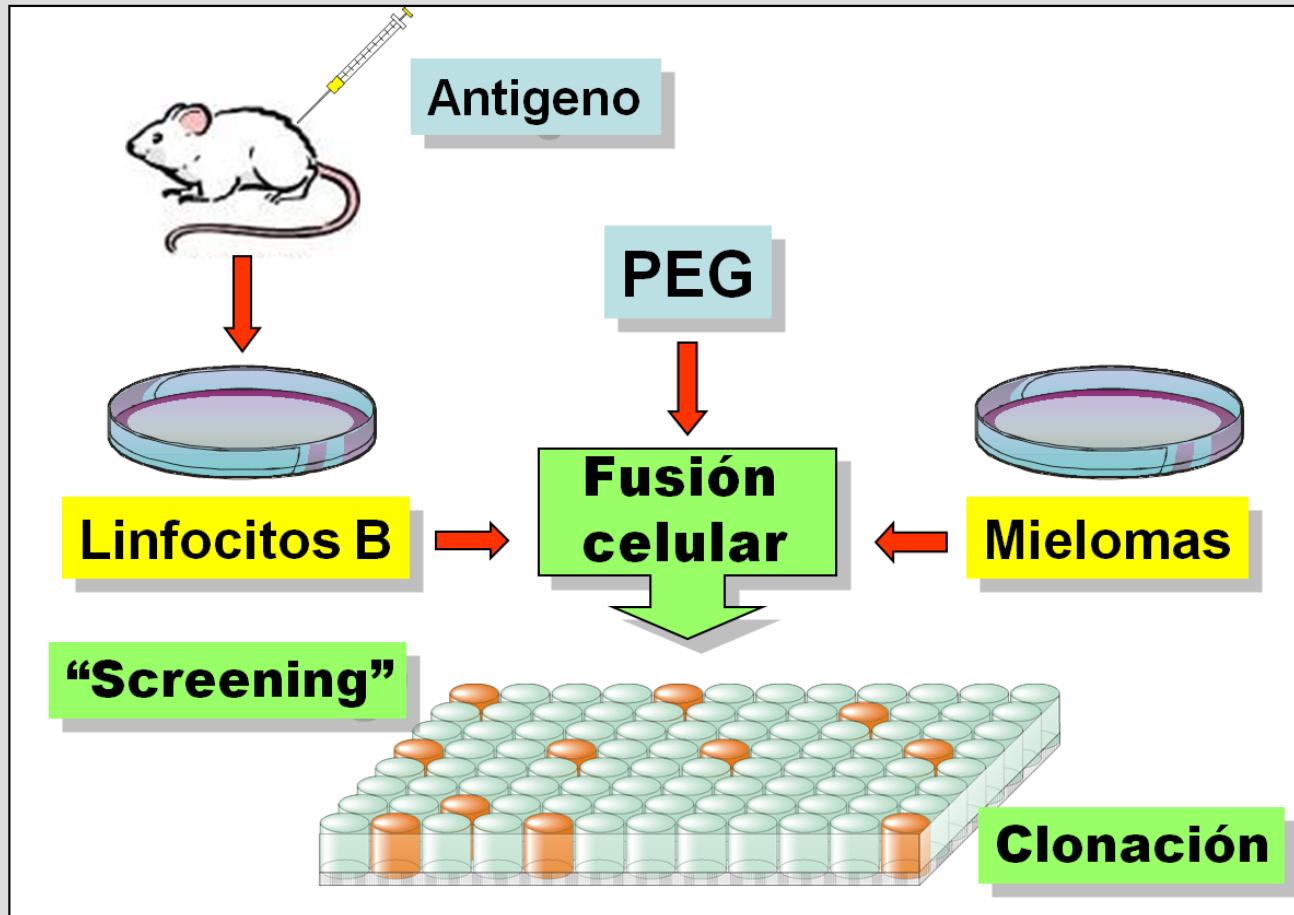


Contenido de la presentación

- Los anticuerpos monoclonales como reactivo de la máxima especificidad y afinidad
- Inmunoensayos de aglutinación de partículas de látex para la detección de *Candida Albicans*
- Inmunoensayos quimioluminiscentes para la detección precoz de bacterias lácticas en la industria cervecera
- Métodos inmunoquímicos para el análisis de plaguicidas
 - Inmunoensayos en placa (ELISA)
 - Inmunosensores de SPR y piezoeléctricos

Anticuerpos monoclonales

Fundamento de la tecnología de hibridomas

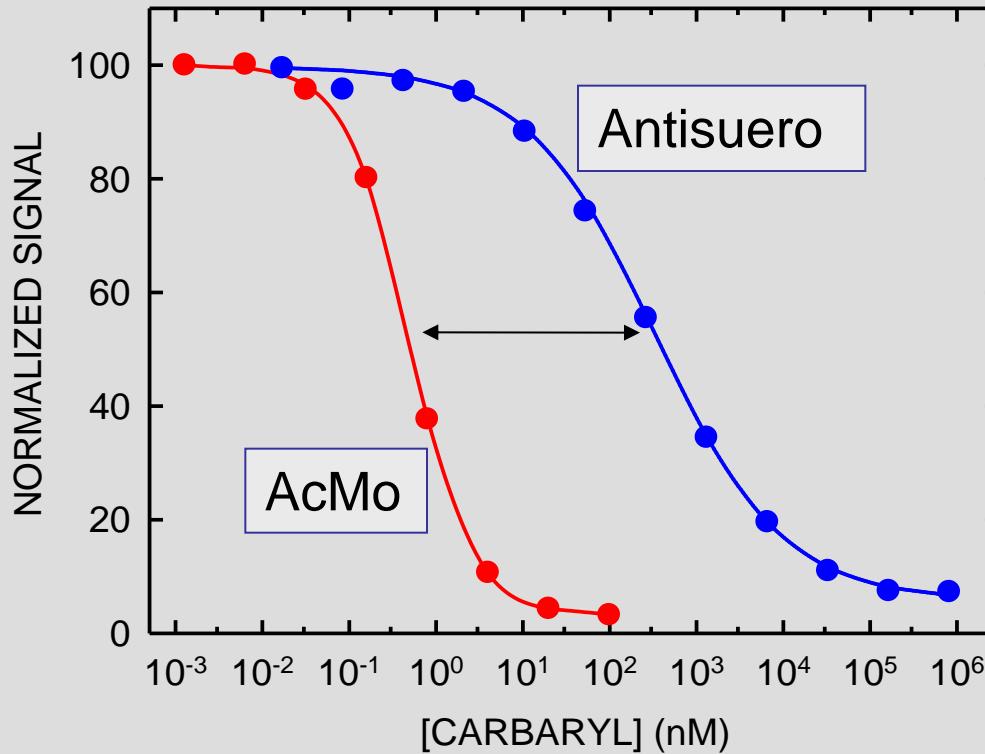




Anticuerpos monoclonales

- Material homogéneo e inagotable
- Propiedades analíticas seleccionables
 - Selectividad, especificidad
 - Afinidad

Anticuerpo monoclonal vs. Antisuero de ratón



La afinidad del anticuerpo monoclonal es 3 órdenes de magnitud superior a la del antisuero del ratón del cual se obtuvo dicho anticuerpo monoclonal

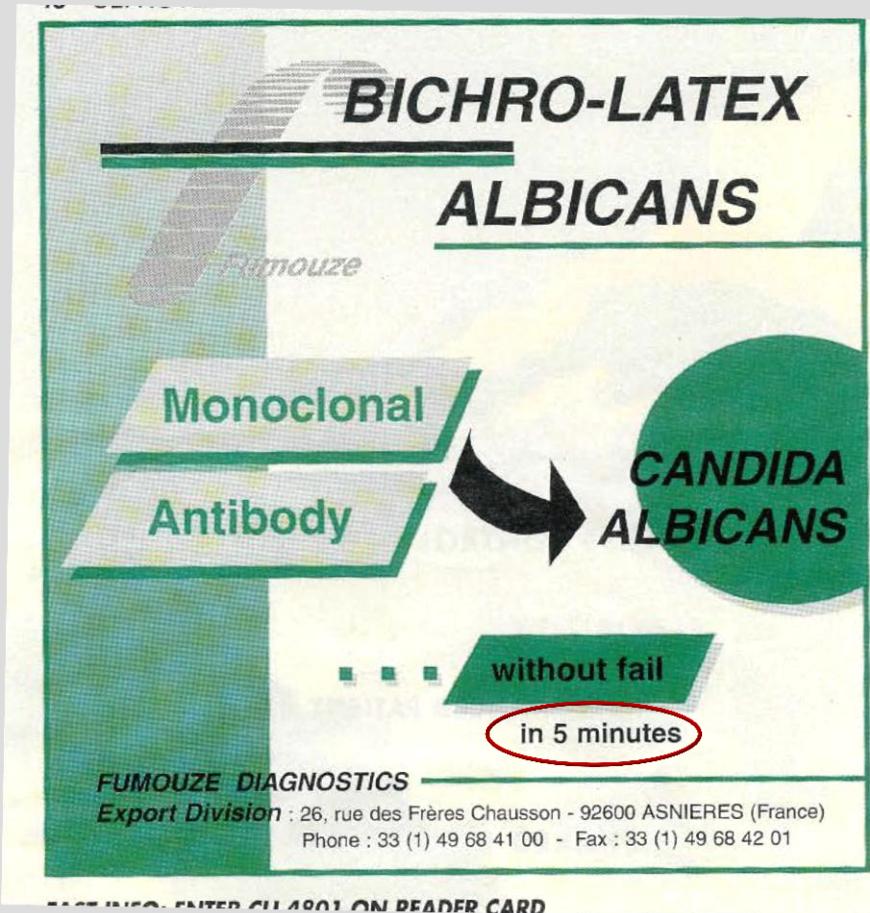


Analitos para los cuales se han obtenido anticuerpos monoclonales en el GI - UPV

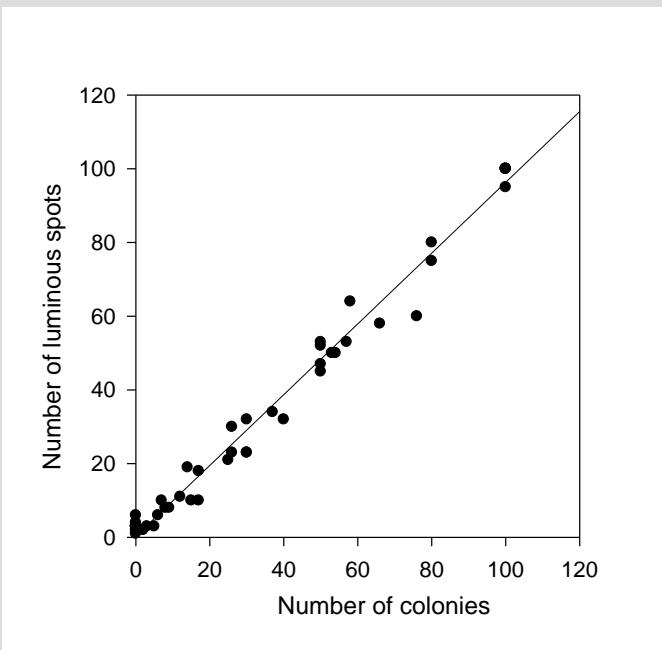
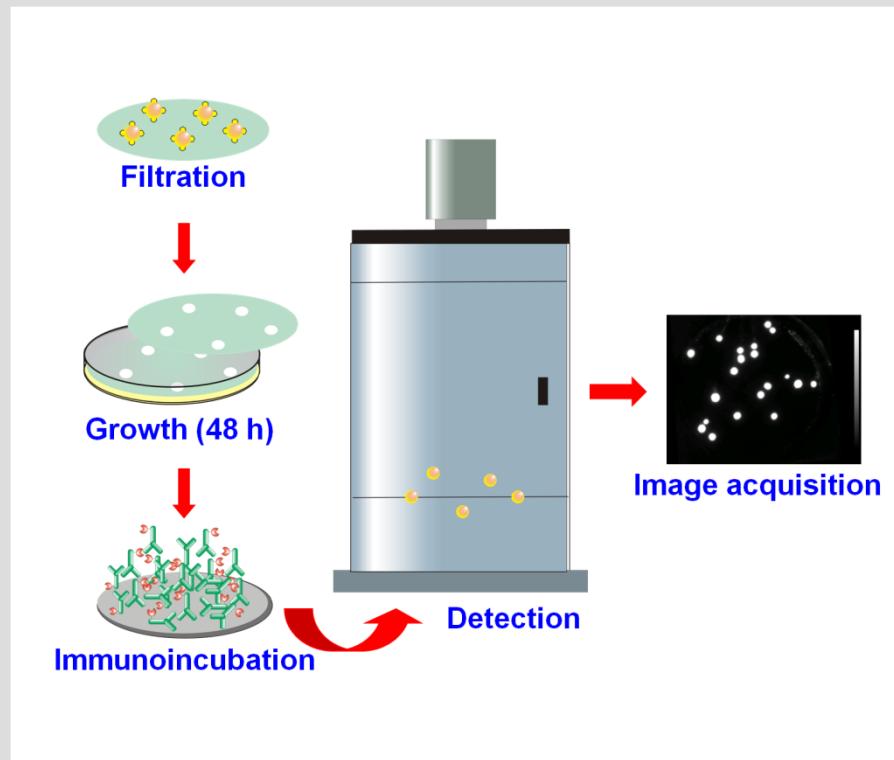
- Plaguicidas y otros contaminantes químicos
- Proteínas y virus vegetales
- Microorganismos (levaduras) de interés biomédico
- Bacterias de interés en la industria agroalimentaria



Inmunoensayo de aglutinación de partículas de látex, basado en anticuerpos monoclonales, para la detección de *Candida Albicans*



Enzimoinmunoensayo quimioluminiscente, basado en anticuerpos monoclonales y una cámara CCD, para la detección precoz de bacterias lácticas en la industria cervecera





**Inmunoensayos e Inmunosensores,
basados en anticuerpos monoclonales,
para la detección de plaguicidas y otros
contaminantes de interés en productos
agroalimentarios y en el medio
ambiente**



Inmunoensayos (ELISA) para plaguicidas desarrollados en el GI - UPV

	I_{50}		LOD
	nM	ng ml^{-1}	(ng ml^{-1})
Organofosforados			
Azinphos	0.4	0.13	0.05
Chlorpyrifos	1.0	0.35	0.05
Diazinon	0.6	0.18	0.04
Fenitrothion	1.0	0.28	0.06
Phosmet	0.3	0.09	0.03
Pirimifos	18.0	4.80	1.00
TCP (metabolite)	0.6	0.12	0.02

El LMR establecido por la Unión Europea para plaguicidas individuales en aguas potables es de ... 0.1 ng ml^{-1}



Inmunoensayos (ELISA) para plaguicidas desarrollados en el GI - UPV

	I_{50}		LOD
	nM	ng ml ⁻¹	(ng ml ⁻¹)
N-Methylcarbamatos			
Bendiocarb	1.1	0.24	0.07
Carbaryl	0.3	0.06	0.01
Carbofuran	3.2	0.70	0.14
Methiocarb	0.1	0.03	0.01
Propoxur	6.5	1.35	0.30



Inmunoensayos (ELISA) para plaguicidas desarrollados en el GI - UPV

	I_{50}		LOD
	nM	ng ml ⁻¹	(ng ml ⁻¹)
Organoclorados			
Cl-Cyclodienes	3.0	1.20	0.30
<i>p,p'</i> -DDT / congeners	2.0	0.67	0.15
Fungicidas post-cosecha			
Enilconazole (Imazalil)	5.0	1.50	0.38
Hexaconazole	5.1	1.60	0.40
Penconazole	4.9	1.40	0.35
Tetraconazole	2.1	0.80	0.20
Thiabendazole	1.0	0.20	0.05



Inmunoensayos para otros contaminantes alimentarios:

Compuestos que forman parte de los envases plásticos de los alimentos y pueden migrar hasta éstos, contaminándolos

- * Bisfenol A
- * Nonil-fenol
- * Ftalatos

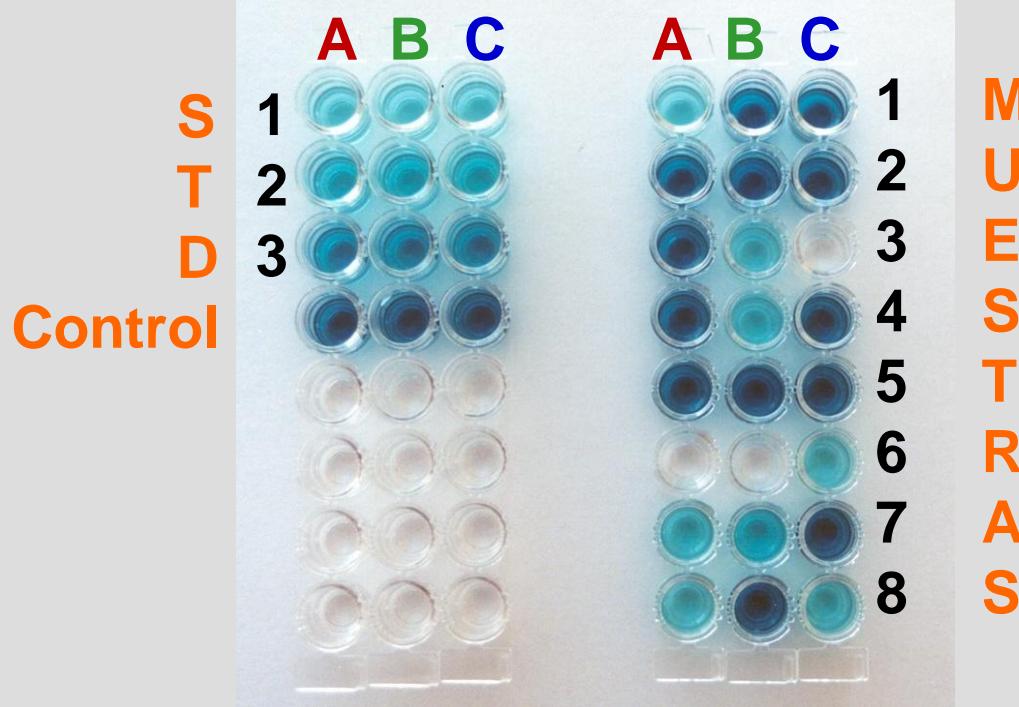


Componentes de un “kit” de ELISA trianalito

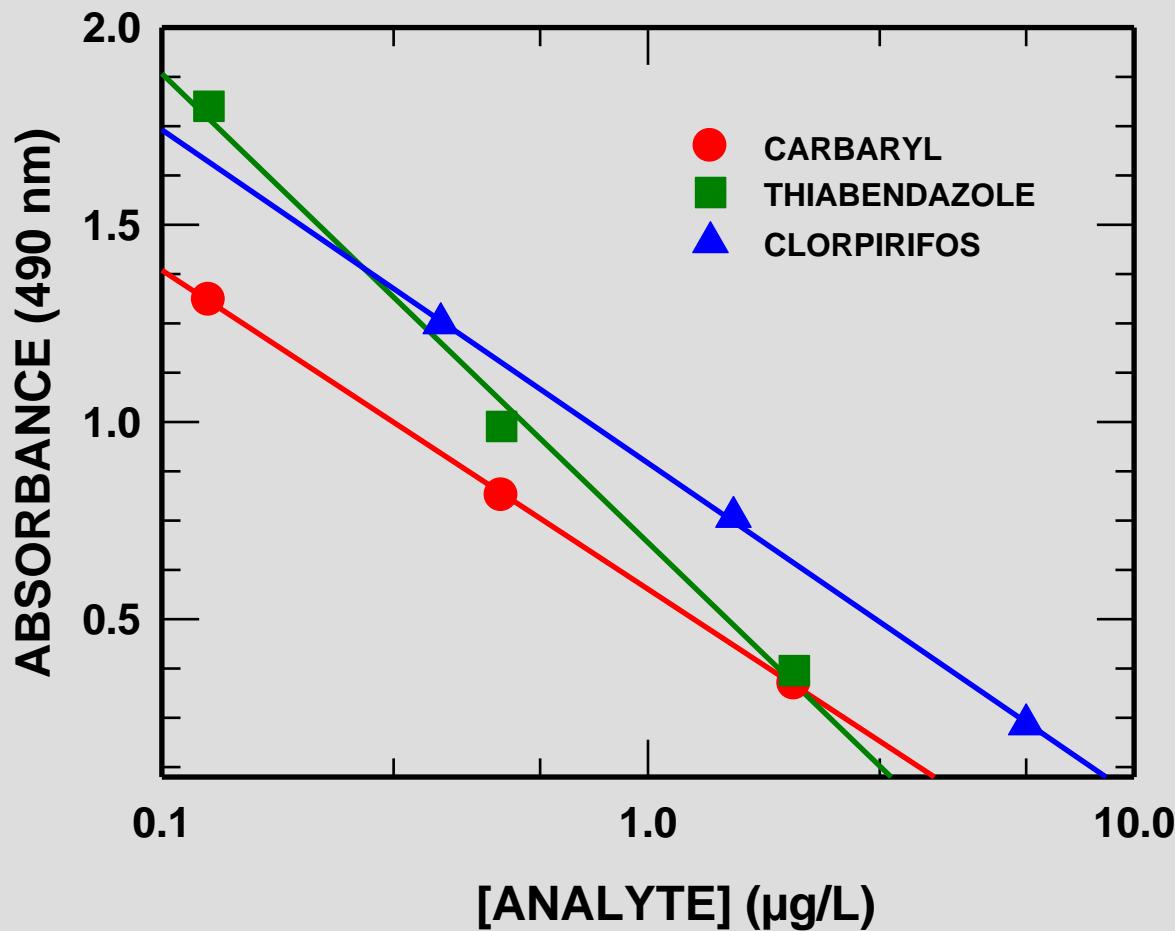




PLAGUICIDAS

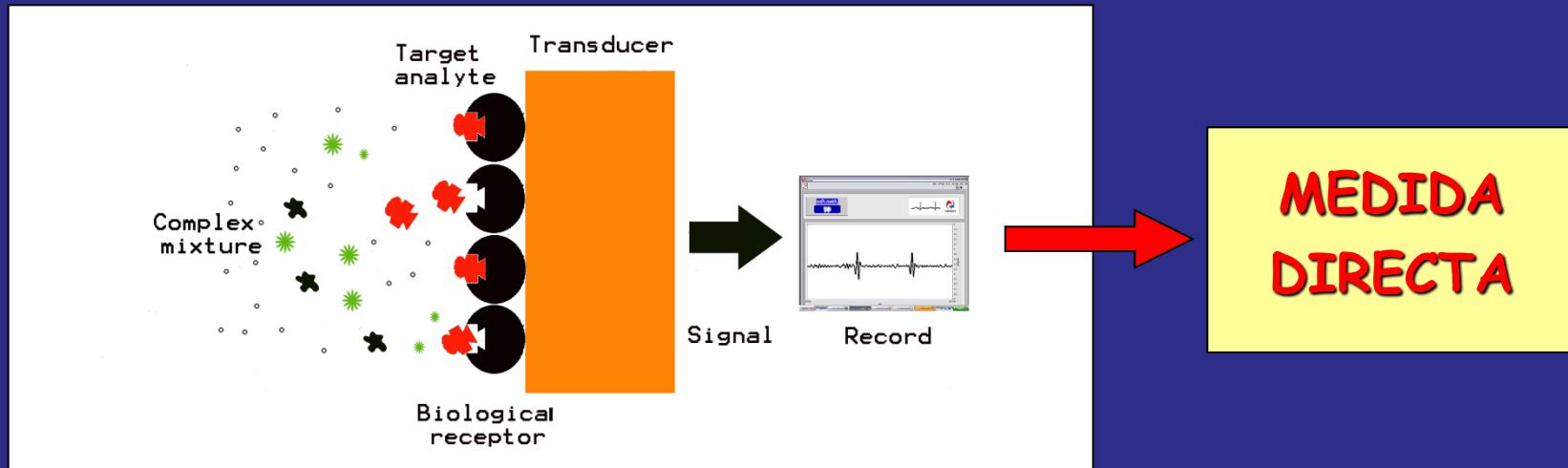


Kit ELISA multianalito para plaguicidas de diferentes familias



BIOSENSOR

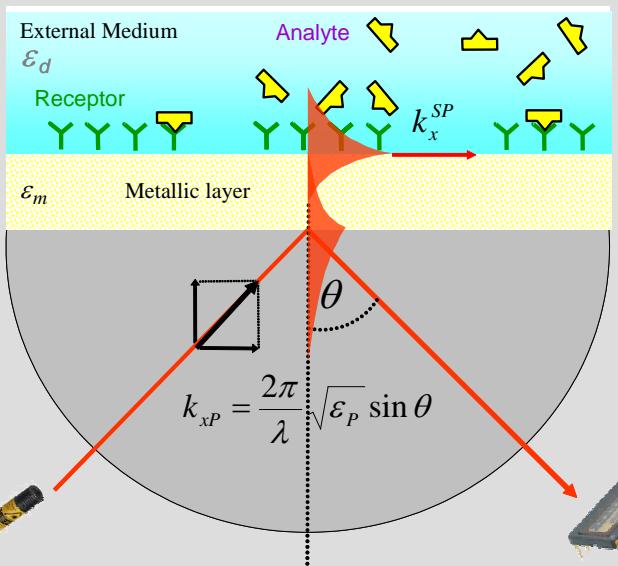
Dispositivo analítico capaz de detectar substancias (analitos) con alta sensibilidad, en base a un reconocimiento biomolecular específico, de modo rápido y directo.



Analitos: microorganismos patógenos, proteínas, ADN, metabolitos, contaminantes orgánicos, metales pesados, ...

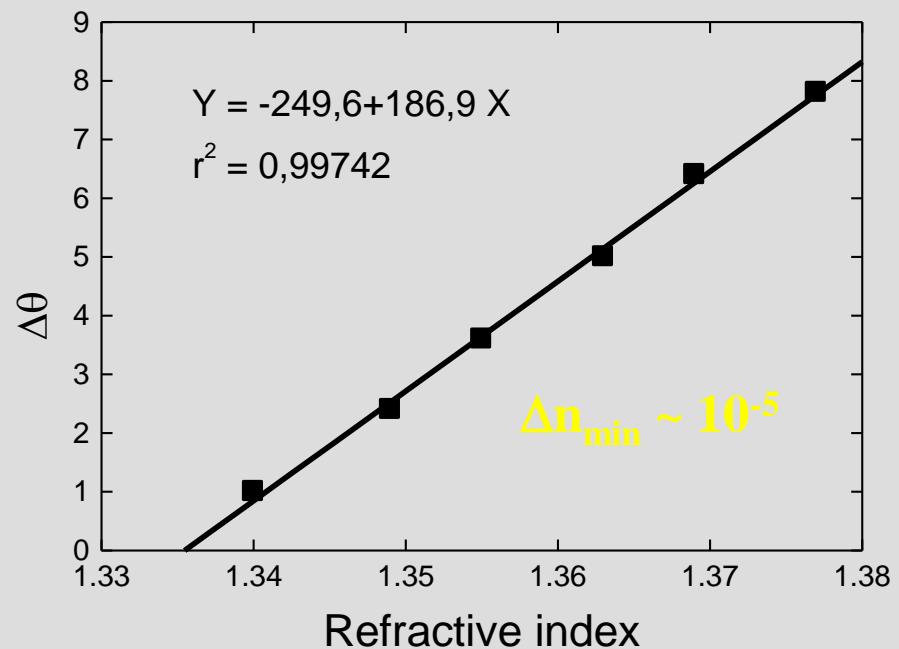
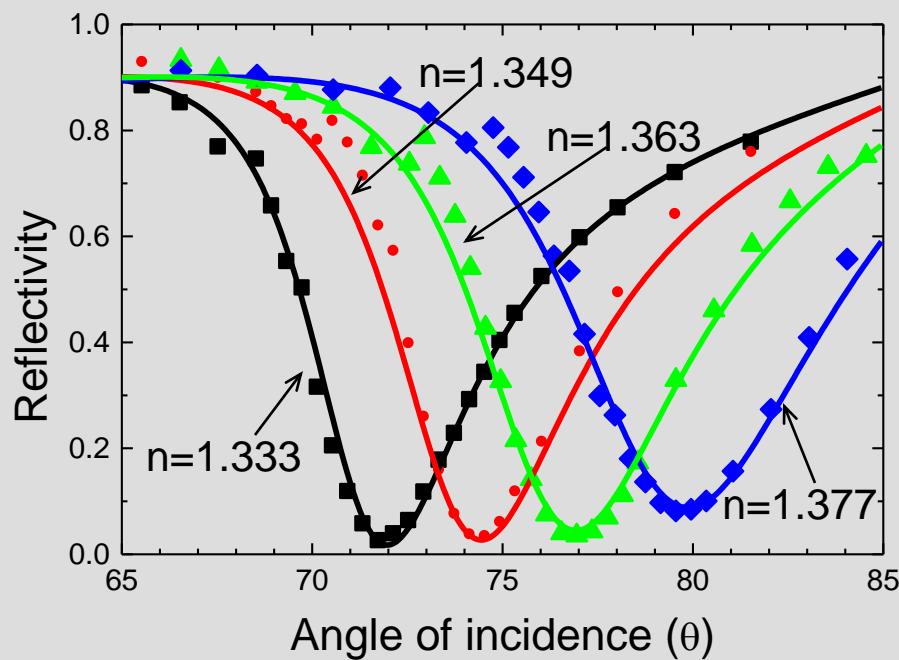
Biosensor de Resonancia de Plasmón Superficial: SPR

$$k_{SP} = k_0 \sqrt{\frac{\epsilon_m \epsilon_d}{\epsilon_d + \epsilon_m}}$$



Evanescence Field ~ 80 nm
(Au, $\lambda = 632$ nm)

Limit of detection $\sim \Delta n: 10^{-5}$
 $\sim 1 \text{ pg} \cdot \text{mm}^{-2}$





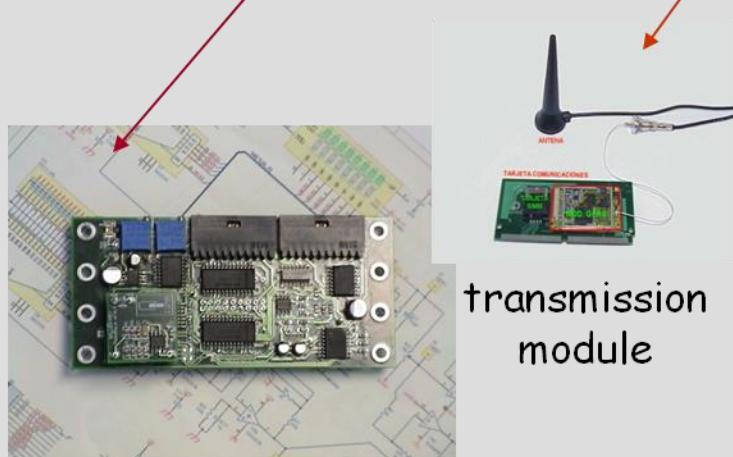
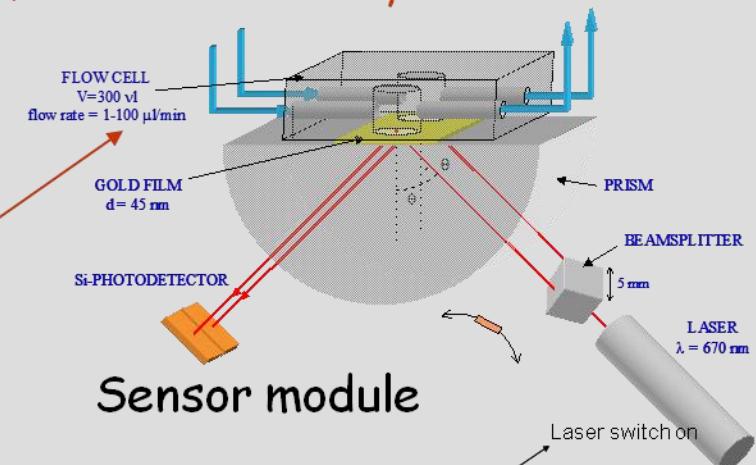
ANALITOS:

- Carbaryl
- Chlorpyrifos
- DDT
- Thiabendazol
- Bisfenol A

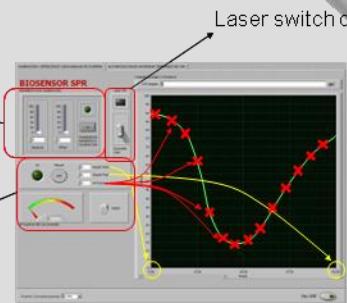
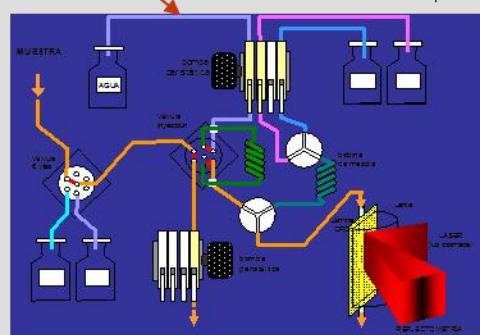
Sensibilidad comparable a los ELISA ($LOD < 0,1 \text{ ng ml}^{-1}$),
compatible con la legislación europea sobre LMRs

Equipo comercial de SPR (SENSIA)

Incluye el sensor, la óptica, la microfluídica, la electrónica y el "software"



transmission
module



Software

Electronics

BIOSENSOR PIEZOELÉCTRICO (QCM)

QUARTZ CRYSTAL MICROBALANCE (QCM) FUNDAMENTALS

Extremely sensitive mass device

Detection of mass changes at modified and functionalized quartz electrode surface

Gravimetric operation

Requires $\Delta R \approx \text{constant}$

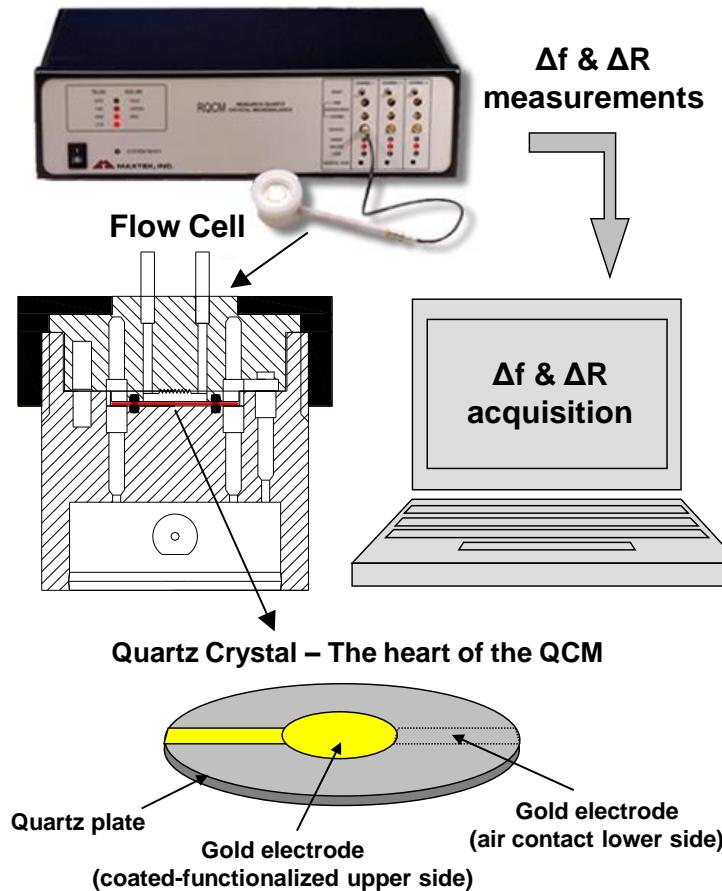
Frequency shifts are proportional to surface mass density changes

Sauerbrey
Equation: $\Delta f = -C_f \Delta \rho_s$

$$C_f = -2,269 \cdot 10^{-15} f^2 (\text{Hz cm}^2 \text{ ng}^{-1})$$

Very low mass detection limits

4 ng/cm⁻² for 1Hz change
for a 10MHz AT-cut quartz



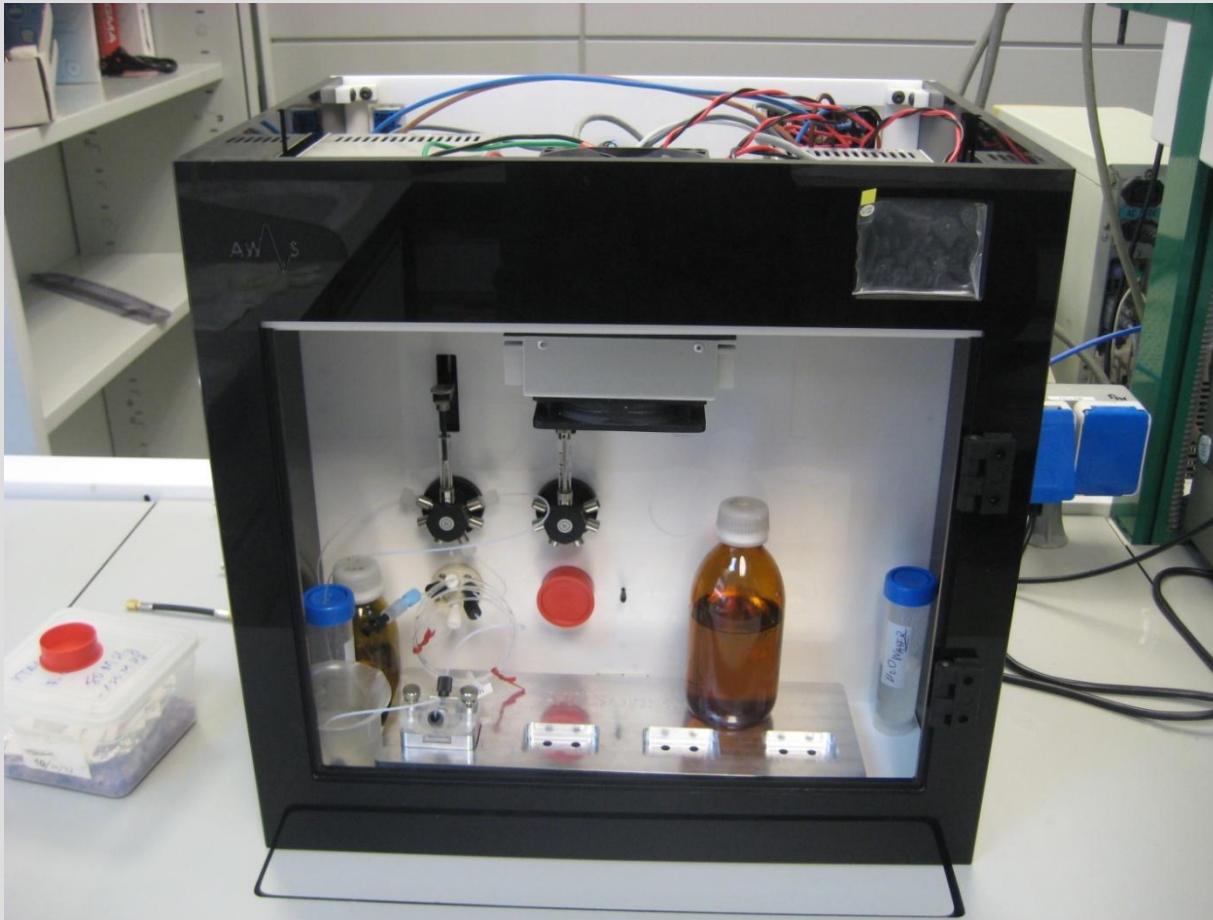


Recuperación de los Immunosensores QCM en muestras de zumos fortificadas

Fruit juice	Recovery (%)	
	Carbaryl	TCP
Orange	81-131	76-98
Apple	81-137	90-127



Inmunosensor Piezoeléctrico de alta sensibilidad, basado en la medida de cambios de fase a alta frecuencia



Comercializado
por:
[AWSensors](#)

