

# PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN 2021

## INFORME DEL PROYECTO REF. SV-21-GIJON-03

### 1. Datos del proyecto

**Título:** Test Rápido de Diagnóstico para Neumonía Bacteriana

**Fechas inicial y final del proyecto:** 1-enero-2021 a 31-diciembre-2021

**Investigador/a Principal:** Montserrat Rivas Ardisana

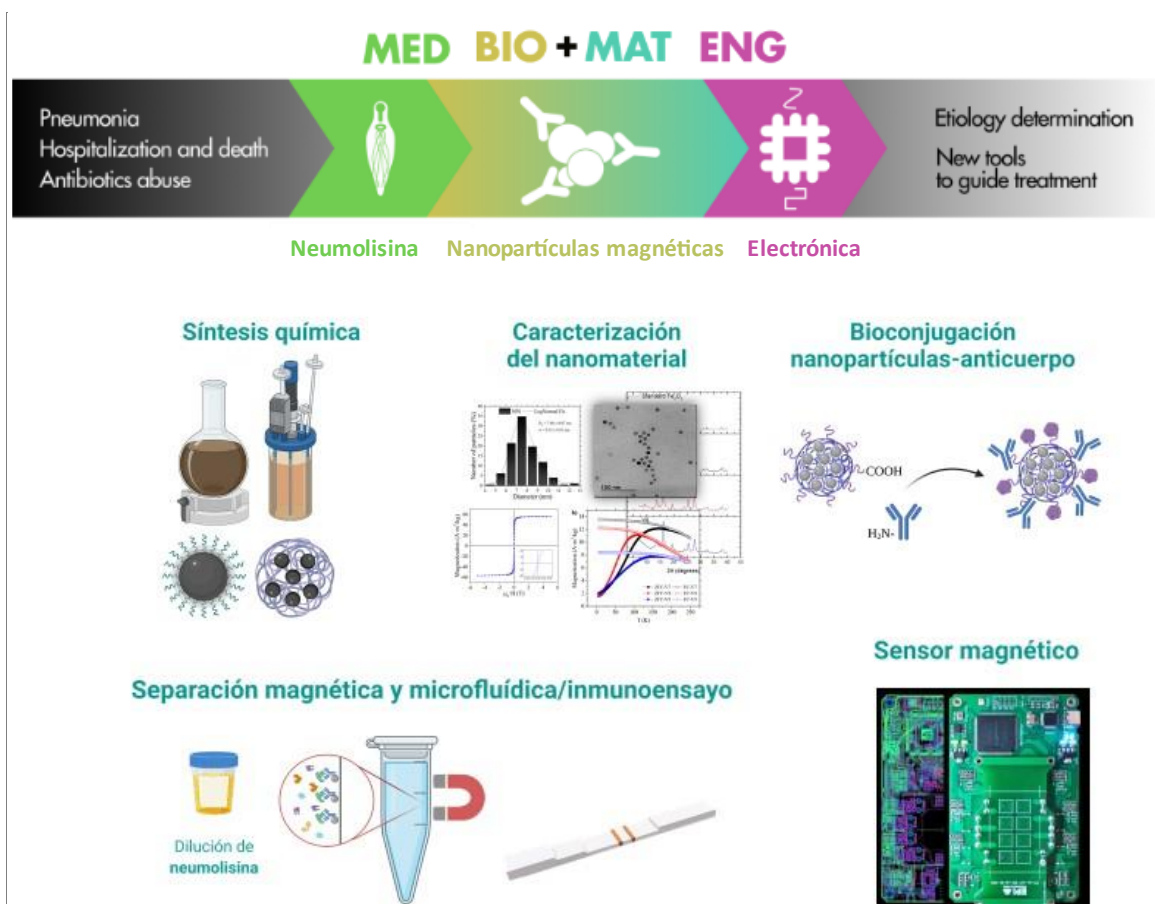
**Otros investigadores:** José Carlos Martínez García, María Salvador Fernández

**Personal contratado:** José Luis Marqués Fernández

**Fechas inicial y final de contratación:** 11-10-2021 al 31-12-2021

**Empresas o instituciones colaboradoras:** Táctica Industrial

### 2. Resumen Gráfico



### 3. Memoria descriptiva del proyecto

#### 3.1 Resumen ejecutivo

La neumonía provoca cada año más muertes infantiles (menores de 5 años) que cualquier otra enfermedad. Sin embargo, es una enfermedad detectable, prevenible y curable. Sin embargo, el acceso a los métodos de diagnóstico no es universal (el 84% de los fallecidos se concentran en Asia y África subsahariana). Pero incluso en los países más desarrollados sanitariamente el diagnóstico encuentra la dificultad de tomar muestras de esputo o líquido pleural en los niños pequeños o bebés.

La neumonía está causada por infección vírica (como SARS-CoV-2) o bacteriana (por ejemplo, neumococo o micoplasma). Es importante distinguir el origen para evitar el abuso de antibióticos.

El proyecto que deseamos iniciar con la presente ayuda del IUTA es el desarrollo de un test rápido de detección de neumolisina en orina. Para ello, aunaremos el conocimiento del grupo de la UNIR con nuestra experiencia en biosensores magnéticos e inmunoensayos en papel.

El inmunoensayo de flujo lateral es una técnica de biodetección rápida, económica, fácil de usar y transportar. El ejemplo más popular es el test de embarazo que puede adquirirse en cualquier farmacia sin prescripción médica. En el año 2020 una nueva aplicación de esta técnica se ha hecho tristemente popular: los tests rápidos para diagnóstico o seguimiento de COVID-19. Actualmente deseamos sobre todo mejorar la técnica en dos aspectos: su sensibilidad (y la disminución del límite de detección) y su capacidad cuantificadora (innecesaria en los tests positivo/negativo, pero requerida en muchas aplicaciones diagnósticas y de seguimiento).

En este proyecto se utilizaron nanopartículas superparamagnéticas (obtenidas de una colaboración científica con el INCDTIM de Rumanía) para marcar la neumolisina y hacerla así visible y cuantificable mediante un sensor magnético expresamente diseñado para este fin. El trabajo se realizó en varias etapas:

- Marcaje de la neumolisina mediante partículas magnéticas.
- Inmunoensayo de flujo lateral.
- Calibración de la señal del inmunoensayo.
- Estudio de la preconcentración magnética de la molécula seguido de nuevos inmunoensayos y calibración.
- Análisis de los resultados, realización de un informe y propuestas de mejora.
- Presentación en congresos de los primeros resultados del trabajo. Redacción de un artículo científico (en revisión).

#### Beneficios para Gijón

Gracias a esta línea de trabajo y las colaboraciones y proyectos asociados a ella el grupo de investigación tiene una proyección internacional que ha permitido conseguir que la sede del congreso IEEE NANO 2024 sea Gijón. Este congreso es el buque enseña del IEEE Nanotechnology Council y reúne anualmente a 500-700 participantes internacionales.

Gijón se percibe cada vez más como ciudad que apoya la tecnología orientada a la salud y el medio ambiente gracias al soporte que proporciona a proyectos de esta naturaleza. Los estudiantes que reciben esta

formación con frecuencia contribuyen a proyectar esta imagen de nuestra ciudad en el desarrollo de su carrera profesional.

### Beneficio para la empresa colaboradora

Gracias a los resultados preliminares de este proyecto y otros anteriores de esta línea de investigación, el grupo de investigación y la empresa colaboradora han recibido financiación para un proyecto de investigación concertada público-privada de la FICYT relacionado con la detección de ciguatoxina en pescado.

### 3.2 Objetivos iniciales del proyecto y grado de consecución

O1. Conseguir un bioconjugado anticuerpo-nanopartícula magnética que permita hacer detectable la proteína neumolisina.	100%
O2. Desarrollar un inmunoensayo de flujo lateral para detección de neumolisina.	100%
O3. Calibrar el sistema sensor en el rango de interés.	100%
O4. Proponer un plan de mejora para optimizar la sensibilidad y límite de detección del método.	100%

### 3.3 Tareas realizadas

- Caracterización magnética, estructural y química de nanopartículas magnéticas (procedentes de una colaboración científica con el INCDTIM de Rumanía)
- Bioconjugación de las nanopartículas a anticuerpos PLY9 contra la neumolisina
- Desarrollo y optimización del inmunoensayo de flujo lateral mediante inmovilización de PLY7, el segundo anticuerpo monoclonal contra la neumolisina.
- Calibración de la técnica mediante cuantificación en el sensor inductivo de diluciones estándar de neumolisina.
- Mejora de la detección y cuantificación gracias a la pre-concentración magnética de la neumolisina marcada con nanopartículas.
- Cálculo de los parámetros característicos de la biodetección: resolución, sensibilidad, rango y correlación de la linealidad y límite de detección.
- Redacción de un artículo científico sobre este trabajo (actualmente en revisión).
- Presentación de los resultados en varios congresos y workshops.

### 3.4 Resultados obtenidos

1. Se constató la posibilidad de detectar neumolisina marcada con nanopartículas magnéticas mediante el análisis de las imágenes tomadas con un teléfono móvil. Esta solución, si bien no es la más sensible de las estudiadas y no permite la cuantificación, sí es la más económica para resultados positivo/negativo.
2. Comprobamos que el sensor inductivo utilizado para medir las nanopartículas inmovilizadas en la línea de test del inmunoensayo mejora en un factor 3 el límite de detección y la sensibilidad y, lo que es aún más importante, permite la cuantificación de la proteína con gran reproducibilidad.

3. Probamos la técnica de preconcentración inmunomagnética de la molécula, que permitió reducir los límites de detección en un factor 20. Esta técnica demostró un gran potencial que exploraremos más exhaustivamente en futuros proyectos. |

### 3.5 Trabajos o necesidades futuras

- 1) Optimización de la técnica de preconcentración inmunomagnética de la molécula.
- 2) Estudio de la recolocación magnética de las nanopartículas en la línea de test para una detección más sensible.
- 3) Optimización de la técnica sensora.
- 4) Aplicación de la técnica de inmunoensayos magnéticos de flujo lateral a la detección de biomarcadores de otras bacterias causantes de neumonía (especialmente las resistentes a antibióticos). |

### 3.6 Divulgación de los resultados

|Publicaciones científicas, capítulos de libro y presentaciones en congresos en los que se ha mencionado al IUTA como patrocinador en 2021 (relacionados con este y anteriores proyectos financiados parcialmente por el IUTA):

- 1- Electrodecoration and Characterization of Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles with Bioactive Synergistic Nanocopper: Magnetic Hyperthermia-Induced Ionic Release for Anti-Biofilm Action, *Antibiotics* 2021, 10, 119. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10020119>
- 2- Magnetic Lateral Flow Immunoassay for Small Extracellular Vesicles Quantification: Application to Colorectal Cancer Biomarker Detection, *Sensors* 2021, 21, 3756. <https://doi.org/10.3390/s21113756>
- 3- FORC-Diagram Analysis for a Step-like Magnetization Reversal in Nanopatterned Stripe Array, *Materials* 2021, 14, 7523. <https://doi.org/10.3390/ma14247523>
- 4- Biological and Medical Applications of Magnetic Nanoparticles. In: Franco V., Dodrill B. (eds) *Magnetic Measurement Techniques for Materials Characterization*. Springer, Cham. Print ISBN: 978-3-030-70442-1, Online ISBN: 978-3-030-70443-8.

Presentaciones en congresos:

- 1- Differential refractometry for detection of magnetic nanoparticles

Tipo: POSTER; primer premio al mejor poster

Ponente: José Luis Marqués (beneficiario de la ayuda SV-21-GIJON-03)

Congreso: 5th Young Researchers in Magnetism Workshop, Girona, 10-12 de noviembre de 2021

- 2- Nanolabel optimization for the development of a magnetic immunoserological test for COVID-19

Tipo: ORAL

Ponente: María Salvador

Congreso: 5th Young Researchers in Magnetism Workshop, Girona, 10-12 de noviembre de 2021

3- A New Generation of Rapid Diagnostic Tests: The Role of Magnetic Nanoparticles

Tipo: CHARLA INVITADA

Ponente: Montserrat Rivas

Congreso: Trends in MAGnetism 2020, Sicilia, 6-10 de septiembre de 2021

4- Magnetism and Paper: Nanotags for Bioanalysis in Lateral Flow Magnetoimmunoassays.

Tipo: CHARLA INVITADA

Ponente: Montserrat Rivas

Congreso: 7th International Conference on Superconductivity and Magnetism ICSM, Bodrum (Turkey), October 2021.

5- Rapid Diagnostic Tests for Medicine and Food: The Role of Magnetic Nanomaterials

Tipo: KEYNOTE

Ponente: Montserrat Rivas

Congreso: 4ª JFBFT (Jornada Franco-Brasilian Francisco Tourinho), Brasilia, March 2021.

6- Rapid Diagnostic Tests for Medicine and Food: The Role of Magnetic Nanomaterials.

Tipo: CHARLA INVITADA

Ponente: Montserrat Rivas

Congreso: International Conference in Advanced Physics - IEMPHYS-21, Kolkata, April 2021.

7- A New Generation of Rapid Diagnostic Tests: The Role of Magnetic Nanoparticles

Tipo: CHARLA INVITADA

Ponente: Montserrat Rivas

Congreso: CTMSE 2021 International Conference on Current Trends in Materials Science and Engineering, Kolkata, India, March 2021

8- Rapid Diagnostic Tests for medicine and food: The role of magnetic nanomaterials

Tipo: CHARLA INVITADA

Ponente: Montserrat Rivas

Congreso: IEMPHYS 2021, Kolkata, India, April 2021

#### SEMINARIOS IMPARTIDOS RELACIONADOS CON ESTE PROYECTO

1- What Magnetism can do for rapid diagnostic testing: Biodetection with magnetic nanoparticles

Ponente: Montserrat Rivas

Organizador y fecha: Petaspin (Sicilia, Italia), 21 de mayo de 2021

2- El Papel del Magnetismo en los Tests de Diagnóstico Rápido

Ponente: Montserrat Rivas

Organizador y fecha: CONICET (Bariloche, Argentina), 16 de noviembre de 2021

3- The Role of Magnetism in New Rapid Diagnostic Tests

Ponente: Montserrat Rivas

Organizador y fecha: IEEE Magnetics Society - Spanish chapter, Collaboration Days, 19-21 octubre de 2021

4- A New Generation of Rapid Diagnostic Tests: The Role of Magnetic Nanoparticles

Ponente: Montserrat Rivas

Organizador y fecha: Exeter Metamaterials, University of Exeter (Inglaterra), 28 de mayo de 2021

## 4. Memoria económica

### 4.1 Gastos:

CONCEPTO	GASTOS
Personal	5000 €
Fungibles	3800 €
Amortización	-
TOTAL GASTOS	8800 €

### 4.2 Ingresos:

Entidad/Empresa financiadora Ref. Proyecto/Contrato	Personal	TOTAL INGRESOS
FICYT/ IDI/2021/000100	-	800 €
FICYT/ IDI/2021/000273	-	1000 €
..IEEE/MAG-Covid	-	2000 €

## 5. Bibliografía

1- H. J. Zar, S. A. Madhi, S. J. Aston, and S. B. Gordon, "Pneumonia in low and middle income countries: Progress and challenges," *Thorax*, vol. 68, no. 11. BMJ Publishing Group Ltd, pp. 1052–1056, Nov. 01, 2013, doi: 10.1136/thoraxjnl-2013-204247.

2- R. A. Hirst, A. Kadioglu, C. O'Callaghan, and P. W. Andrew, "The role of pneumolysin in pneumococcal pneumonia and meningitis," *Clinical and Experimental Immunology*, vol. 138, no. 2. John Wiley & Sons, Ltd, pp. 195–201, Nov. 01, 2004, doi: 10.1111/j.1365-2249.2004.02611.x.

3- D. Lago-Cachón, M. Rivas, J. C. Martínez-García, M. Oliveira-Rodríguez, M. C. Blanco-López, and J. A. García, "High frequency lateral flow affinity assay using superparamagnetic nanoparticles," *J. Magn. Mater.*, vol. 423, pp. 436–440, Feb. 2017, doi: 10.1016/j.jmmm.2016.09.106.

4- M. Salvador et al., "Improved magnetic lateral flow assays with optimized nanotags for point-of-use inductive biosensing," *Analyst*, vol. 145, no. 17, pp. 5905–5914, Sep. 2020, doi: 10.1039/d0an00849d.



5- D. Lago-Cachón et al., "Scanning Magneto-Inductive Sensor for Quantitative Assay of Prostate-Specific Antigen," IEEE Magn. Lett., vol. 8, 2017, doi: 10.1109/LMAG.2017.2702108. |