

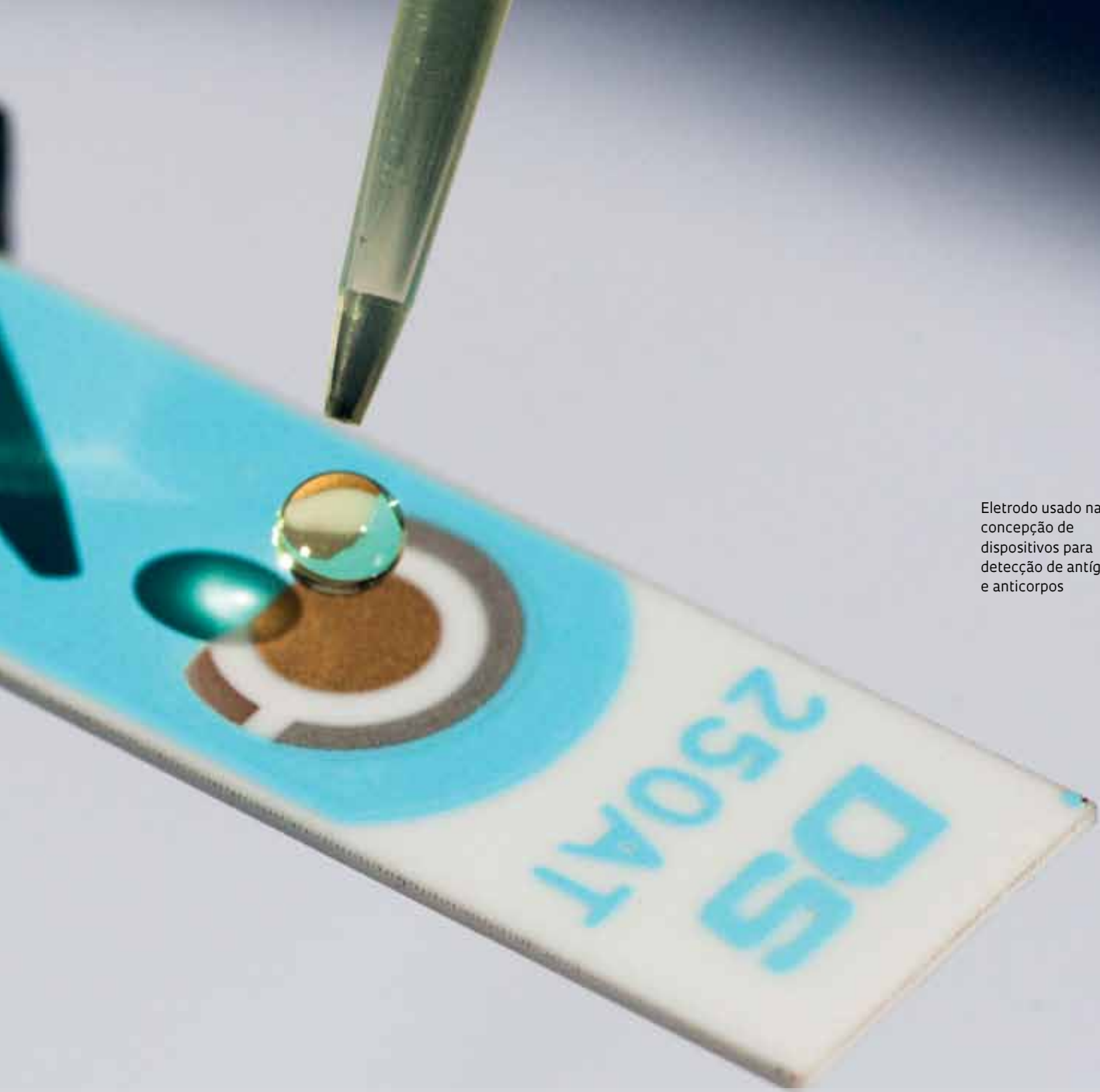
Biossensores na medicina

Portáteis e precisos, dispositivos pretendem aprimorar diagnóstico de doenças infecciosas e genéticas

Rodrigo de Oliveira Andrade

Avanços recentes no campo da biologia molecular estão ampliando as possibilidades de uso de biossensores no diagnóstico e na prevenção de doenças. Desenvolvidos com base em elementos de reconhecimento biológico, como antígenos e anticorpos, esses dispositivos podem se tornar aparelhos portáteis e baratos, semelhantes aos utilizados na medição das taxas de glicose no sangue. Amplamente usados em outros países, os biossensores atraem cada vez mais a atenção de grupos de pesquisa brasileiros, que nos últimos anos passaram a investir em dispositivos voltados especificamente para a detecção de doenças

infecciosas negligenciadas, associadas à pobreza e à falta de saneamento básico. É o caso dos pesquisadores do Grupo de Nanomedicina e Nanotoxicologia do Instituto de Física de São Carlos da Universidade de São Paulo (IFSC-USP). Desde 2010 eles trabalham no desenvolvimento de um conjunto de sensores capazes de identificar sinais de doenças diversas. Caso se mostrem eficazes nos próximos estágios de avaliação, esses aparelhos podem se tornar uma alternativa aos exames realizados em laboratórios de análises clínicas e ser usados em consultórios médicos ou por agentes de saúde em visitas às residências de pessoas que vivem em regiões remotas do país.



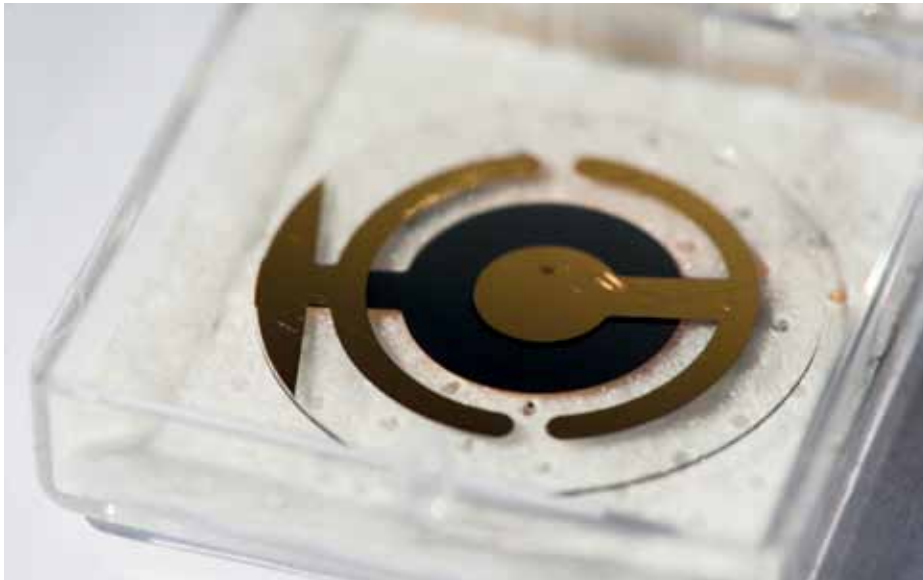
Eletrodo usado na concepção de dispositivos para detecção de antígenos e anticorpos

Nos Estados Unidos, os biossensores há algum tempo estão sendo usados por médicos para acelerar os resultados de exames ou no monitoramento das condições de saúde de indivíduos acometidos por doenças como Aids e hepatite C. Em outras situações, ajudam a medir os níveis de oxigênio ou álcool no sangue, como no caso de um biossensor flexível criado por pesquisadores da Universidade da Califórnia em San Diego. Também os Institutos Nacionais de Saúde (NIH) daquele país investem em pesquisas para a concepção de biossensores médicos baseados em sistemas diversos, seja de atração química, correntes elétricas, detecção de luz, entre outros.

No IFSC-USP, um dos biossensores médicos em estágio mais avançado de desenvolvimento é o de diagnóstico da dengue, doença que acomete 390 milhões de pessoas no mundo por ano, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS). O dispositivo baseia-se na identificação elétrica da proteína NS1, secretada pelo vírus na corrente sanguínea nos primeiros dias após a infecção. Essa proteína, um antígeno, induz uma resposta imune no organismo humano para produzir anticorpos contra ela. O problema é que isso acontece somente após o quinto dia, o que dificulta a detecção precoce da doença. Para acelerar esse processo, os físicos Nirton Cristi e

Alessandra Figueiredo, sob coordenação do engenheiro de materiais Valtencir Zucolotto e do físico Francisco Guimarães, desenvolveram um sistema de diagnóstico da dengue com base na imunoglobulina IgY, anticorpo que combate a NS1.

A IgY foi isolada de galinhas inoculadas com NS1 e, em seguida, imobilizada em um eletrodo de ouro acoplado a um circuito, sobre o qual há um fluxo constante de elétrons. A ideia é que o exame seja feito por meio de uma gota de sangue sobre o dispositivo. Se houver infecção, ao entrar em contato com a NS1, a imunoglobulina IgY altera o fluxo de elétrons, produzindo um sinal que é registrado e processado por um softwa-



Microbalanço de cristal de quartzo utilizada pelos pesquisadores da UFPR no desenvolvimento de equipamento para diagnóstico da dengue

re. O resultado sai em até 20 minutos. “Quanto maior a concentração de NS1 no eletrodo, mais intensa será a alteração do potencial elétrico”, explica Nirton, hoje professor no Instituto de Ciência e Tecnologia da Universidade Federal de São Paulo (Unifesp), em São José dos Campos. O projeto foi desenvolvido com a empresa DNApta Biotecnologia, de São José do Rio Preto, que compartilha os direitos da patente da tecnologia.

Por meio de uma abordagem distinta, a professora Maria Rita Sierakowski e o doutorando Cleverton Luiz Pirich, do grupo BioPol da Universidade Federal do Paraná (UFPR), criaram um biodispositivo de detecção da NS1 baseado em uma microbalança de quartzo com sensores piezoelétricos, capazes de gerar corrente elétrica quando deformados por uma pressão mecânica. O sistema foi desenvolvido em colaboração com o Instituto de Química da USP. É composto por um cristal de quartzo, um eletrodo de ouro revestido com polietilenimina e nanofilmes de nanocristais de celulose bacteriana, modificados para reagir quimicamente ao entrar em contato com a NS1, alterando os padrões de frequência e dissipação de energia nos nanocristais. “Desse modo, quando uma amostra de soro contendo NS1 é colocada sobre o biossensor, é possível verificar, a partir de um software, se a proteína se ligou à superfície do material por meio da detecção de microvibrações mecânicas”, explica Maria Rita.

Estima-se que o mercado mundial de biossensores alcance US\$ 27 bilhões até 2022

O biossensor para diagnóstico de dengue integra uma série de outros dispositivos criados pelos pesquisadores de São Carlos. Todos baseiam-se em sistemas eletroquímicos que alteram padrões de sinais elétricos ao detectarem eventos biológicos específicos. Um dos primeiros biossensores concebidos por eles é capaz de identificar e distinguir anticorpos de leishmaniose e da doença de Chagas, hoje diagnosticadas com o auxílio do teste Elisa, que permite detectar anticorpos específicos em amostras de sangue. Apesar de ser amplamente usado pelos laboratórios de análise clínica, o Elisa é incapaz de diferenciar os anticorpos produzidos contra infecções causadas por essas doenças, o que leva à necessidade de exames complementares.

O biodispositivo foi desenvolvido em parceria com diversas instituições de pesquisa do país. É composto de circuitos elétricos impressos em pequenos eletrodos, sobre os quais é depositado um conjunto de proteínas antigênicas isoladas do protozoário *Leishmania amazonensis*, uma das espécies que causam a forma tegumentar da leishmaniose no

Brasil, ou *Trypanosoma cruzi*, causador da doença de Chagas, que acomete cerca de 8 milhões de pessoas no mundo por ano, segundo a OMS. “Se o anticorpo de interesse estiver presente na amostra analisada, a ligação entre ele e a proteína antigênica produz uma alteração na resposta elétrica do eletrodo, acusando a presença do patógeno”, explica Zucolotto. O biodispositivo do IFSC, em fase de protótipo, demora cerca de 20 minutos para apresentar a resposta e teve patente depositada no Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI).

ANÁLISES GENÉTICAS

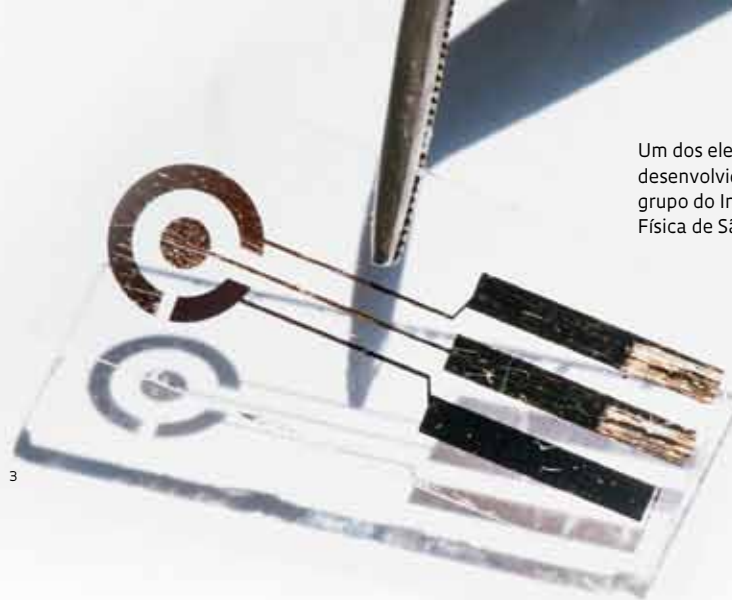
Mais recentemente, a equipe de São Carlos também começou a trabalhar na concepção de genossensores para reconhecer sequências específicas do material genético de vírus e mutações associadas a tumores. Em 2016, Zucolotto, a física Laís Ribovski e o químico Bruno Campos Janegitz, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), criaram um sensor capaz de identificar a mutação 185delAG, associada aos tumores de mama e ovário. No

experimento que fizeram, eles imobilizaram na superfície do dispositivo um trecho da sequência complementar à região do DNA onde ocorre essa mutação, de modo que, quando a sequência correspondente fosse colocada no eletrodo, a ligação desencadeasse uma alteração na resposta elétrica do equipamento, indicando a presença da sequência-alvo ligada à mutação. Os resultados dos testes com o dispositivo foram descritos em um artigo publicado na *Microchemical Journal*. Por ora, foram usadas apenas sequências sintetizadas em laboratório.

A mesma técnica foi usada para diferenciar infecções causadas pelos vírus zika e da dengue. Tal como acontece nas infecções por dengue, o zika também secreta quantidades expressivas de NS1 na corrente sanguínea nos primeiros dias após a infecção, o que pode comprometer a análise feita pelos biossensores desenvolvidos para dengue até aqui. Usando ferramentas de bioinformática, eles identificaram regiões específicas do material genético dos dois vírus para serem imobilizadas, cada um, na superfície de um eletrodo. A ligação entre a sequência que está no dispositivo e a da amostra produz uma alteração no sinal elétrico, indicando a presença do material genético dos vírus. O sensor mostrou bons resultados em testes preliminares envolvendo sequências sintetizadas em laboratório.

TRANSFERÊNCIA DE TECNOLOGIA

Os biossensores constituem uma tecnologia em ascensão no mundo. De acordo com dados da Markets and Markets, empresa de pesquisa e consultoria norte-americana na área de tecnologia da informação, o mercado de biossensores foi avaliado em cerca de US\$ 16 bilhões em 2016. Estima-se que alcance US\$ 27 bilhões até 2022. Os biossensores médicos detêm 66% desse mercado. As principais empresas que investem na concepção desses equipamentos são as norte-americanas Abbott Laboratories e Johnson & Johnson, e a alemã Bayer Healthcare. A demanda por esses dispositivos deve ser catapultada nos próximos anos, devido sobretudo à crescente prevalência de doenças como diabetes e à necessidade de dispositivos que monitorem os níveis de glicose no sangue. Segundo a Federação Internacional de Diabetes, a doença deverá acometer 552 milhões de pessoas no mundo em 2030.



Um dos eletrodos desenvolvidos pelo grupo do Instituto de Física de São Carlos

No Brasil, ainda há um longo caminho até que esses aparelhos sejam produzidos em larga escala

Os Estados Unidos é o principal mercado de biossensores, resultado de uma cultura de rápida adoção de produtos tecnologicamente avançados por médicos e pesquisadores. No Brasil ainda há um longo caminho até que eles sejam produzidos e comercializados em larga escala. Esses equipamentos são desenvolvidos majoritariamente em universidades e centros públicos de pesquisa. Após sua concepção em laboratório, eles precisam ainda passar por testes de segurança e eficácia, ser patenteados e, especialmente, atrair o interesse de empresas dispostas a fazer com que cheguem ao mercado consumidor.

Estima-se que o custo de produção dos eletrodos usados em biossensores, em escala de laboratório, seja de cerca de US\$ 2. “A ideia é desenvolver aparelhos completos cujo valor da unidade não ultrapasse US\$ 100 (cerca de R\$ 315)”, comenta Zucolotto. Ainda assim,

a maioria dos dispositivos desenvolvidos no Brasil encontra-se em fase de protótipo, sem aprovação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Há também um longo caminho até que esses dispositivos sejam capazes de dar conta do grande volume de amostras que todos os dias são analisadas nos laboratórios. “Para além do potencial de aplicação dessa tecnologia em grandes laboratórios, é preciso que os biossensores sejam capazes de analisar, identificar e quantificar elementos de interesse clínico em grandes quantidades de amostras”, diz a médica Jeane Tsutsui, diretora-executiva do Fleury Medicina e Saúde. “Para que os biossensores possam chegar aos consultórios médicos e agentes de saúde é preciso investimento em projetos conjuntos entre empresas e universidades para sua validação clínica”, conclui. ■

Projetos

1. Desenvolvimento de sensores e biossensores eletroquímicos para diversos fins analíticos (nº 15/19099-2); Modalidade Auxílio à Pesquisa – Regular; Pesquisador responsável Bruno Campos Janegitz (UFSCAR); Investimento R\$ 169.539,83.
2. Estudo da interação entre materiais nanoestruturados e sistemas biológicos: Aplicações ao estudo de nanotoxicidade e desenvolvimento de sensores para diagnóstico (nº 08/08639-2); Modalidade Auxílio à Pesquisa – Regular; Pesquisador responsável Valtencir Zucolotto (IFSC-USP); Investimento R\$ 368.230,90.

Artigos científicos

- RIBOVSKI, L. A. Label-free electrochemical DNA sensor to identify breast cancer susceptibility. *Microchemical Journal*. v. 133, p. 37-42. jul. 2017.
- FIGUEIREDO, A. et al. Electrical detection of dengue biomarker using egg yolk immunoglobulin as the biological recognition element. *Scientific Reports*. jan. 2015.
- PIRICH, C. L. et al. Piezoelectric immunochip coated with thin films of bacterial cellulose nanocrystals for dengue detection. *Biosensors and Bioelectronics*. v. 15, n. 92, p. 47-53. jun. 2015.